

BỘ Y TẾ

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Số: 4159/QĐ-BYT

Hà Nội, ngày 31 tháng 12 năm 2024

QUYẾT ĐỊNH

**Về việc ban hành quy trình kỹ thuật
dịch vụ về dinh dưỡng tại cơ sở y tế công lập**

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Nghị định số 95/2022/NĐ-CP ngày 15/11/2022 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Thông tư số 34/2024/TT-BYT ngày 15/11/2024 của Bộ Y tế quy định đặc điểm kinh tế - kỹ thuật dịch vụ kiểm dịch y tế, y tế dự phòng.

Theo đề nghị của Cục trưởng Cục Y tế dự phòng, Bộ Y tế.

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết định này 180 quy trình kỹ thuật dịch vụ về dinh dưỡng.

Điều 2. Quyết định này có hiệu lực kể từ ngày 31/12/2024.

Điều 3. Các Ông (Bà): Chánh Văn phòng Bộ; Cục trưởng Cục Y tế dự phòng; Cục trưởng, Vụ trưởng các Cục, Vụ thuộc Bộ Y tế; Viện trưởng các Viện thuộc hệ y tế dự phòng; Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc trung ương và Thủ trưởng các đơn vị có liên quan chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này./.

Nơi nhận:

- Như Điều 3;
- Đ/c Bộ trưởng (để báo cáo);
- Các đ/c Thứ trưởng;
- Lưu: VT, DP.

KT. BỘ TRƯỞNG

THỨ TRƯỞNG



Nguyễn Thị Liên Hương

Phụ lục:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT DỊCH VỤ VỀ DINH DƯỠNG

(Ban hành kèm theo Quyết định số 4159/QĐ-BYT ngày 31 tháng 12 năm 2024 của Bộ trưởng Bộ Y tế)

**Phần I.
QUY ĐỊNH CHUNG**

1. Đối tượng áp dụng:

1.1. Cơ sở cung cấp dịch vụ về dinh dưỡng.

1.2. Thủ trưởng đơn vị cung cấp dịch vụ về dinh dưỡng: Căn cứ điều kiện cụ thể của từng đơn vị, Thủ trưởng đơn vị xây dựng và ban hành quy trình kỹ thuật phù hợp để thực hiện tại đơn vị.

1.3. Nhân viên y tế và người tham gia cung cấp dịch vụ về dinh dưỡng.

1.4. Người sử dụng các dịch vụ về dinh dưỡng.

2. Dịch vụ về dinh dưỡng được hướng dẫn quy trình kỹ thuật gồm:

TT	Dịch vụ
1	Đo chu vi vòng cánh tay ở người
2	Đo chu vi vòng đầu ở người
3	Đo chu vi vòng eo ở người
4	Đo chu vi vòng mông ở người
5	Đo cân nặng cơ thể người
6	Đo chiều cao/chiều dài cơ thể người
7	Cân phân tích thành phần cơ thể người
8	Đo bề dày lớp mỡ dưới da
9	Đo chiều cao ngồi cho trẻ từ 2 tuổi
10	Đo chiều dài cẳng chân
11	Đo thành phần cơ thể bằng cân Inbody 120
12	Đo thành phần cơ thể bằng phương pháp DXA
13	Đánh giá thành phần cơ thể thông qua định lượng Deuterium oxide trong nước bọt bằng phương pháp FTIR
14	Đo mật độ xương 1 vị trí bằng phương pháp DXA
15	Đo mật độ xương 2 vị trí bằng phương pháp DXA
16	Hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua ở người theo mẫu
17	Hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua ở người theo mẫu
18	Hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua ở trẻ em dưới 5 tuổi theo mẫu

30

TT	Dịch vụ
19	Hỏi ghi tần suất tiêu thụ thực phẩm theo mẫu
20	Hỏi ghi tần suất tiêu thụ thực phẩm bán định lượng theo mẫu
21	Đánh giá khẩu phần dựa vào nhật ký khẩu phần cá thể 24 giờ
22	Cân đong trực tiếp khẩu phần cá thể 24 giờ
23	Cân đong khẩu phần suất ăn tập thể
24	Hướng dẫn thực hành dinh dưỡng cho người lớn
25	Khám tư vấn dinh dưỡng người lớn tại cơ sở y tế
26	Đánh giá hoạt động thể lực người trưởng thành bằng bộ câu hỏi GPAQ
27	Đánh giá chất lượng khẩu phần người trưởng thành bằng chỉ số VHEI
28	Thu thập, bảo quản và vận chuyển mẫu phân
29	Thu thập, bảo quản và vận chuyển mẫu niêm mạc má
30	Lấy mẫu sữa mẹ, bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ tại thực địa
31	Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ để phân tích các chất đa lượng và một số chất dinh dưỡng bằng phương pháp hóa sinh
32	Lấy máu tĩnh mạch, xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu máu tại thực địa
33	Uống liều Deuterium oxide và lấy mẫu nước bọt trên đối tượng từ 2 tuổi để đánh giá thành phần cơ thể
34	Uống liều Deuterium oxide và lấy mẫu nước bọt trên đối tượng dưới 2 tuổi để đánh giá thành phần cơ thể
35	Uống liều nước đánh dấu đồng vị kép và lấy mẫu nước tiểu để đánh giá tổng năng lượng tiêu hao và thành phần cơ thể ở trẻ dưới 2 tuổi
36	Uống liều nước đánh dấu đồng vị kép và lấy mẫu nước tiểu để đánh giá tổng năng lượng tiêu hao và thành phần cơ thể ở đối tượng từ 2 tuổi
37	Lấy mẫu và xử lý mẫu thực phẩm tại thực địa cho nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng bằng phương pháp cân bằng chuyển hóa
38	Lấy mẫu nước tiểu 24 giờ cho nghiên cứu Nhu cầu dinh dưỡng bằng phương pháp cân bằng chuyển hóa
39	Lấy mẫu phân cho nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng bằng phương pháp cân bằng chuyển hóa
40	Vô cơ hóa mẫu phân để định lượng canxi bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử
41	Vô cơ hóa mẫu nước tiểu để định lượng canxi bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử
42	Xác định độc tố TTX của cá nóc bằng phương pháp thử nghiệm sinh học trên chuột

TT	Dịch vụ
43	Xét nghiệm một đoạn gen bằng phản ứng chuỗi Polymerase (PCR)
44	Xét nghiệm đa hình đơn nucleotide trên gen người bằng phương pháp nhân gen với mỗi đặc hiệu alen (AS-PCR)
45	Xét nghiệm đa hình đơn nucleotide trên gen người bằng phương pháp đa hình chiều dài giới hạn (RFLP-PCR)
46	Định lượng vi khuẩn chí trong phân người bằng phương pháp Realtime PCR
47	Xác định độ ẩm trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng
48	Định lượng chất béo tổng số trong thực phẩm
49	Định lượng xơ tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp Enzym – khối lượng
50	Định lượng độ cồn (hàm lượng ethanol) trong đồ uống có cồn bằng rượu kế
51	Xác định hàm lượng tro tổng số trong thực phẩm
52	Định lượng xơ thô trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng
53	Xác định hàm lượng muối ăn (NaCl) trong thực phẩm bằng phương pháp chuẩn độ
54	Định lượng nitơ tổng và protein thô trong thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp Kjeldahl
55	Xác định hàm lượng nitơ acid amin trong thực phẩm
56	Định lượng chloride trong sữa và sản phẩm từ sữa bằng phương pháp chuẩn độ.
57	Định lượng phospho tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS)
58	Định lượng polysaccharide trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS)
59	Định lượng iodate trong gia vị bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử
60	Định lượng tinh bột trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS)
61	Định lượng vitamin B1 trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
62	Định lượng vitamin B2 trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
63	Định lượng vitamin C trong thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
64	Định lượng vitamin B6 trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
65	Định lượng acid amin trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

TT	Dịch vụ
66	Định lượng các vitamin B1, B2, B3, B6, B9 tự do trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
67	Định lượng cholesterol trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
68	Định lượng carotenoids trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
69	Định lượng taurine trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
70	Định lượng tryptophan trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
71	Định lượng vitamin A và vitamin E trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).
72	Định lượng đường tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
73	Định lượng human milk oligosaccharides (HMOs) trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
74	Định lượng lactulose trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
75	Định lượng vitamin B12 trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
76	Định lượng các axit béo trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký khí
77	Định lượng I-ốt trong thực phẩm bằng kỹ thuật sắc ký khí với detector ECD
78	Định lượng vitamin nhóm B dạng tự do trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS)
79	Định lượng vitamin D trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS)
80	Định lượng vitamin K1 trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS)
81	Định lượng human milk oligosaccharides (HMOs) trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS)
82	Định lượng kẽm trong huyết thanh bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)
83	Định lượng các kim loại trong thực phẩm (Fe, Zn, Cu, Ca, K, Na) bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)
84	Xác định carbohydrate trong thực phẩm
85	Xác định giá trị năng lượng của thực phẩm

TT	Dịch vụ
86	Xét nghiệm định lượng Acid Uric trong máu
87	Xét nghiệm định lượng Albumin trong máu
88	Xét nghiệm định lượng Bilirubin toàn phần trong máu
89	Xét nghiệm định lượng Bilirubin trực tiếp trong máu
90	Xét nghiệm định lượng Canxi ion trong máu
91	Xét nghiệm định lượng Canxi toàn phần trong máu
92	Xét nghiệm định lượng Cholesterol toàn phần trong máu
93	Xét nghiệm định lượng Creatinine trong máu
94	Xét nghiệm định lượng Ferritin trong máu
95	Xét nghiệm định lượng Fructosamin trong máu
96	Xét nghiệm định lượng Glucose trong máu
97	Xét nghiệm định lượng HDL-Cholesterol trong máu
98	Xét nghiệm định lượng hs – CRP (High Sensitive C-Reactive Protein) trong máu
99	Xét nghiệm định lượng Kẽm trong máu bằng phương pháp đo quang
100	Xét nghiệm định lượng LDL - Cholesterol trong máu
101	Xét nghiệm định lượng Magie trong máu
102	Xét nghiệm định lượng Phospho trong máu
103	Xét nghiệm định lượng Pre - Albumin trong máu
104	Xét nghiệm định lượng Protein toàn phần trong máu
105	Xét nghiệm định lượng Sắt trong máu
106	Xét nghiệm định lượng tổng các chất chống oxy hóa -TAS (Total Antioxidant status) trong máu
107	Xét nghiệm định lượng Transferin trong máu
108	Xét nghiệm định lượng Triglycerid trong máu
109	Xét nghiệm định lượng Urea trong máu
110	Xét nghiệm đo hoạt độ ALT (GPT) trong máu
111	Xét nghiệm đo hoạt độ AST (GOT) trong máu
112	Xét nghiệm đo hoạt độ GGT trong máu
113	Xét nghiệm đo hoạt độ ALP (Phosphatase kiềm) trong máu
114	Xét nghiệm nghiệm pháp dung nạp Glucose
115	Xét nghiệm định lượng Creatinine niệu
116	Xét nghiệm định lượng Micro Albumin niệu

TT	Dịch vụ
117	Xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu
118	Xét nghiệm định lượng các chất điện giải niệu
119	Xét nghiệm định lượng các chất điện giải trong máu
120	Xét nghiệm Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi bằng máy đếm laser
121	Xét nghiệm định lượng HbA1c trong máu bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp
122	Xét nghiệm định lượng 25OH Vitamin D trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy Architect i1000
123	Xét nghiệm định lượng 25-OH Vitamin D trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
124	Xét nghiệm định lượng β -CTX trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
125	Xét nghiệm định lượng GH trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
126	Xét nghiệm định lượng Insulin trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
127	Xét nghiệm định lượng Osteocalcin trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
128	Xét nghiệm định lượng PTH trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
129	Xét nghiệm định lượng Vitamin B12 trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
130	Xét nghiệm định lượng Acid folic trong máu bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang
131	Xét nghiệm định lượng MDA (Malondialdehyde) trong máu bằng phương pháp hấp thụ phân tử UV-VIs
132	Xét nghiệm định nhóm máu hệ ABO
133	Xét nghiệm định nhóm máu hệ Rh (D)
134	Xét nghiệm đo hoạt độ Superoxide Dismutase (SOD) trong tế bào hồng cầu bằng phương pháp đo quang
135	Xét nghiệm đo hoạt độ Glutathione Peroxidase (GPX) trong tế bào hồng cầu bằng phương pháp đo quang
136	Xét nghiệm đánh giá vi hệ đường ruột (Vi khuẩn chí) bằng phương pháp nhuộm soi
137	Xét nghiệm xác định hồng cầu, bạch cầu trong phân bằng phương pháp soi trực tiếp
138	Xét nghiệm xác định trứng giun, trứng sán trong phân bằng phương pháp soi trực tiếp
139	Xét nghiệm xác định vi nấm trong phân bằng phương pháp soi tươi
140	Xét nghiệm cận dư phân

TT	Dịch vụ
141	Xét nghiệm phát hiện Rotavirus Ag test nhanh
142	Xét nghiệm HBsAg test nhanh
143	Định lượng Alpha 1-acid glycoprotein (AGP) máu bằng kỹ thuật ELISA
144	Định lượng Immunoglobuline D (IgD) máu bằng kỹ thuật ELISA
145	Định lượng Alpha 1- antitrypsin (AAT) máu bằng kỹ thuật ELISA
146	Định lượng Interferon gama (IFN- γ) máu bằng kỹ thuật ELISA
147	Định lượng C-Reactive Protein (CRP) máu bằng kỹ thuật ELISA
148	Định lượng Ferritin máu bằng kỹ thuật ELISA
149	Định lượng Immunoglobuline E (IgE) máu bằng kỹ thuật ELISA
150	Định lượng Insulin – like Growth Factor 1 (IGF-1) máu bằng kỹ thuật ELISA
151	Định lượng Interleukine - 2 (IL-2) máu bằng kỹ thuật ELISA
152	Định lượng Interleukine - 6 (IL-6) máu bằng kỹ thuật ELISA
153	Định lượng Leptin máu bằng kỹ thuật ELISA
154	Định lượng Retinol binding protein (RBP) máu bằng kỹ thuật ELISA
155	Định lượng Vitamin D binding protein (DBP) máu bằng kỹ thuật ELISA
156	Định lượng Immunoglobuline A (IgA) máu bằng kỹ thuật ELISA
157	Định lượng Immunoglobuline G (IgG) máu bằng kỹ thuật ELISA
158	Định lượng Immunoglobuline M (IgM) máu bằng kỹ thuật ELISA
159	Định lượng Folate tổng số trong máu toàn phần bằng phương pháp vi sinh
160	Định lượng Folate tổng số trong huyết tương bằng phương pháp vi sinh
161	Định lượng vitamin E (Alpha-tocopherol) máu bằng phương pháp LC-MS/MS
162	Định lượng vitamin A (Retinol) máu bằng phương pháp LC-MS/MS
163	Định lượng vitamin D (25-hydroxyvitamin D) máu bằng phương pháp LC-MS/MS
164	Định lượng vitamin K1 (Phylloquinone) máu bằng phương pháp LC-MS/MS
165	Định lượng vitamin K2 (Menaquinone-4, Menaquinone-7) máu bằng phương pháp LC-MS/MS
166	Định lượng vitamin B1 (Thiamine Pyrophosphate) máu bằng phương pháp LC-MS/MS.
167	Định lượng vitamin B6 (Pyridoxal 5'-phosphate) máu bằng phương pháp LC-MS/MS
168	Định lượng Hemoglobin trong máu toàn phần bằng phương pháp cyanmethemoglobin

TT	Dịch vụ
169	Định lượng Hemoglobin trong máu bằng máy phân tích HemoCue Hb 301
170	Chuẩn bị liều uống Deuterium oxide để xác định thành phần cơ thể người từ 2 tuổi
171	Chuẩn bị liều uống Deuterium oxide để xác định thành phần cơ thể trẻ em dưới 2 tuổi
172	Chuẩn bị dung dịch nước đánh dấu đồng vị kép cho đánh giá tổng năng lượng tiêu hao và thành phần cơ thể ở trẻ em dưới 2 tuổi
173	Chuẩn bị dung dịch nước đánh dấu đồng vị kép cho đánh giá tổng năng lượng tiêu hao và thành phần cơ thể ở người từ 2 tuổi
174	Đánh giá sức bật của phần thân dưới bằng bài kiểm tra bật xa tại chỗ cho đối tượng từ 6-20 tuổi
175	Hướng dẫn thực hiện bài kiểm tra chạy con thoi 15 mét cho trẻ 6-11 tuổi
176	Đánh giá sức mạnh của phần thân dưới thông qua bài kiểm tra nằm ngửa gấp bụng cho đối tượng từ 6-20 tuổi
177	Hướng dẫn thực hiện bài kiểm tra ngồi chữ V và vói cho đối tượng từ 6-20 tuổi
178	Đánh giá sức mạnh tay-vai thông qua bài kiểm tra lực bóp tay thuận cho đối tượng từ 6-20 tuổi
179	Xác định mức vận động và mô hình giấc ngủ bằng gia tốc kế GENEActiv trong 7 ngày
180	Sàng lọc sự phát triển của trẻ 1-66 tháng tuổi bằng bộ câu hỏi ASQ-3

Phần II. QUY TRÌNH KỸ THUẬT

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 01: ĐO CHU VI VÒNG CÁNH TAY Ở NGƯỜI

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn cách đo chu vi vòng cánh tay ở người thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa:

Chu vi vòng cánh tay (MUAC) là số đo chu vi vòng cánh tay ở người, đây là một trong những chỉ số nhân trắc để đánh giá tình trạng dinh dưỡng. Nó được đo trên cánh tay trái ở tư thế bỏ thông tự nhiên, điểm đo ở giữa đầu vai và đầu khuỷu tay. MUAC được sử dụng để chẩn đoán tình trạng suy dinh dưỡng cấp tính ở trẻ em từ 6-59 tháng tuổi cũng như phụ nữ mang thai. MUAC dưới 115 mm biểu thị tình trạng suy dinh dưỡng nghiêm trọng hoặc suy dinh dưỡng cấp tính nghiêm trọng (SAM). MUAC lớn hơn hoặc bằng 115 mm và nhỏ hơn 125 mm biểu thị tình trạng suy dinh dưỡng vừa phải hoặc suy dinh dưỡng cấp tính vừa phải (MAM).

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Cán bộ y tế: 1 người; đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật đo chu vi vòng cánh tay.

2.2. Vật tư

- Thước đo vòng cánh tay: 1 cái; Thước dây mềm, không chun giãn với độ chính xác 0,1 cm. Thước đo chu vi vòng cánh tay trẻ em được làm từ sợi polymer (polypropylen), có khoảng đo tối đa 26,5 cm, độ dày tối thiểu 0,3 mm, được in với các dải màu khác nhau, chỉ thị cho tình trạng dinh dưỡng khác nhau. Vùng màu đỏ tương ứng với chu vi vòng cánh tay dưới 11,5 cm, vùng màu vàng tương ứng với chu vi vòng cánh tay từ 11,5 đến 12,5 cm, vùng màu xanh lá tương ứng với chu vi vòng cánh tay lớn hơn 12,5 cm. Mỗi giá trị của chu vi vòng cánh tay tương ứng gần đúng với phần trăm cân nặng theo chiều cao.

- Áo Blouse: 1 bộ

- Phiếu ghi kết quả đo: 1 bộ; là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về số đo chu vi vòng cánh tay hoặc có thể được sử dụng chung với sổ khám sức khỏe tùy thuộc vào mục đích của người tiến hành thu thập số liệu về đo chu vi vòng cánh tay. Ngoài ra, máy tính bảng hoặc các thiết bị điện tử cầm tay có thể dùng thu thập số liệu nhân trắc. Phiếu ghi kết quả đo chu vi vòng cánh tay cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày đo, kết quả đo chu vi vòng cánh tay, chữ ký đối tượng.

- Bút bi hoặc bút mực: 1 cái.

Được *MU*

2.3. Thiết bị: Không áp dụng

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

- Chuẩn bị dụng cụ: thước dây, mẫu phiếu ghi kết quả, bút viết.
- Chuẩn bị người được đo:

+ Cần được thông báo trước mặc trang phục phù hợp từ nhà (áo có tay rộng, cổ dẫn có thể kéo vén lên được tới nách), cần cởi bỏ bớt áo khoác ngoài, áo bên tay không thuận có thể vén được lên móm cùng xương vai.

+ Người được đo ngồi ở khu vực chờ, được sắp xếp phiếu đợi vào đo theo thứ tự, được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện.

+ Đối với trẻ em, trước khi tiến hành đo, điều tra viên cần kiểm tra xem trẻ có bị phù liên quan đến suy dinh dưỡng thể Kwashiorkor không. Để kiểm tra phù, ấn tay phía trước ống chân và giữ trong 3 giây. Nếu như vết lõm do ấn không hồi lại sẽ chứng tỏ trẻ bị phù. Trong trường hợp này sẽ không đo vòng cánh tay và trẻ được xác nhận là suy dinh dưỡng nặng. Nếu không có dấu hiệu trẻ bị phù thì tiến hành đo chu vi vòng cánh tay.

+ Người thực hiện đo cần duy trì tính chuyên nghiệp trong mọi thời điểm tiếp xúc với người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính của trẻ.

- Hỏi ghi các thông tin chung của người được đo: tuổi, giới, nghề nghiệp, tình trạng sinh lý (có thai, cho con bú).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: Thời gian đo trung bình là 7 phút/lần/người (Tùy từng đối tượng có thể là từ 5-10 phút/lần/người)

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

- Thực hiện ở nơi đảm bảo đủ ánh sáng để đo.

3. An toàn: quy trình này chỉ đo chu vi vòng cánh tay, không có nguy cơ gây mất an toàn nào.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Đo cánh tay không thuận (thường là tay trái), tư thế bỏ thông tự nhiên.

4.1.2. Bước 2: Xác định điểm giữa cánh tay (là điểm giữa của cánh tay được tính từ móm cùng xương vai đến móm trên lồng cầu xương cánh tay):

+ Trước hết xác định móm cùng vai (mũi tên 1 và 2, hình 1). Sau đó gập khuỷu tay vuông góc (mũi tên 3), xác định móm trên lồng cầu xương cánh tay.

+ Đặt vị trí số 0 của thước đo vào móm cùng xương vai (mũi tên 4), kéo thẳng thước đo đến móm trên lồng cầu xương cánh tay (mũi tên 5), đánh dấu điểm giữa bằng bút trên cánh tay (mũi tên 6)

4.1.3. Bước 3: Duỗi thẳng cánh tay đối tượng, vòng thước đo quanh điểm giữa cánh tay, mặt số của thước đo hướng lên trên, áp sát thước đo vào cánh tay của đối tượng, đảm bảo sao cho thước đo có độ căng vừa phải không quá chặt (ấn lõm trên da) hoặc quá lỏng (*mũi tên 7, 8, 9*). Lặp lại bất kỳ bước nào nếu thấy cần thiết.

4.1.4. Bước 4: Khi thước đo ở đúng vị trí trên cánh tay với độ căng phù hợp, đọc và ghi lại kết quả chính xác đến 0,1 cm (*mũi tên 10*). Thông báo kết quả đo chu vi vòng cánh tay cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.



Hình 1: Sơ đồ quy trình đo vòng cánh tay trái ở trẻ

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, cẩn thận trong ghi chép số đo và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao là yếu tố then chốt đảm bảo việc đo chu vi vòng cánh tay được chính xác.

- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế.

- Số liệu thu thập về chu vi vòng cánh tay ở người đảm bảo chính xác.

Các ngưỡng đánh giá:

- Áp dụng với trẻ em dưới 5 tuổi: Theo khuyến nghị của WHO 2006, đo chu vi vòng cánh tay chủ yếu thường áp dụng trong sàng lọc suy dinh dưỡng cấp tính trên cộng đồng vì phương pháp đơn giản và có chung một điểm ngưỡng mà không phụ thuộc vào tuổi của trẻ. Các ngưỡng đánh giá suy dinh dưỡng cấp tính dựa trên chu vi vòng cánh tay như sau:

+ Từ 13,5 cm trở lên: Bình thường.

Handwritten signatures: "Bao" and "MT"

- + Từ 12,5 cm đến dưới 13,5 cm: Báo động suy dinh dưỡng cấp tính
- + Từ 11,5 cm đến dưới 12,5 cm: Suy dinh dưỡng cấp tính vừa
- + Dưới 11,5 cm: *Suy dinh dưỡng cấp tính nặng*

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả đo chu vi vòng cánh tay được thông báo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.
- Phiếu ghi kết quả đo được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: không có

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Trường hợp người được đo tay quá to hoặc quá nhỏ so với thước, cần sử dụng loại thước dây phù hợp để đo.
- Thước dây thường được làm từ nhựa hoặc polymer, có thể bị biến dạng hoặc hỏng ở nhiệt độ cao, cần bảo quản thẳng, không gấp khúc, để ở nhiệt độ thích hợp, tránh ánh nắng trực tiếp. Thay thước dây nếu thấy rằng nó bị hỏng, giảm độ chính xác.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:
 - + Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
 - + Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Lê Danh Tuyên. Phương pháp nhân trắc trong đánh giá dinh dưỡng trẻ em dưới 5 tuổi. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội
- National Center for Health Statistics. (2004). NHANES: Anthropometry procedures manual: Revised.
- <https://bionumbers.hms.harvard.edu/bionumber.aspx?s=n&v=4&id=115457>
- Krishnan, R. H., Devanandh, V., Brahma, A. K., & Pugazhenth, S. (2016). Estimation of mass moment of inertia of human body, when bending forward, for the design of a self-transfer robotic facility. Journal of Engineering Science and Technology, 11(2), 166-176.
- Hà Huy Khôi, Lê Thị Hợp. Phương pháp dịch tễ học dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội, 184-185.
- National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). (2007). Anthropometry procedures manual. P45.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 01

Phụ lục 1: Phiếu thu thập thông tin

PHIẾU ĐO CHU VI VÒNG CÁNH TAY

Mã số phiếu:

--	--	--	--	--	--

Địa chỉ: Thôn:.....xã:.....huyện:.....tỉnh:.....

Ngày đo: ngày.....tháng.....năm.....

Cán bộ đo:.....

Họ và tên	Ngày sinh (ngày/tháng/năm)	Giới tính (Trai, gái)	Chu vi vòng cánh tay (_ _ . _ cm)	Ghi chú



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 02:

ĐO CHU VI VÒNG ĐẦU Ở NGƯỜI

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn cách đo chu vi vòng đầu ở người thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa:

Chu vi vòng đầu hay chu vi cằm là số đo chu vi vòng đầu của trẻ, bằng cách đo ngang chân mày phía trước, trên vành tai hai bên và ngang ụ cằm phía sau. Đây là một trong những chỉ số nhân trắc quan trọng cần phải theo dõi vì nó cung cấp các dấu hiệu để đánh giá sự phát triển não của trẻ mỗi tháng.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Cán bộ y tế: 1 người; đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật đo chu vi vòng đầu.

2.2. Vật tư

- Thước đo vòng đầu: 1 cái; Thước dây mềm, không chun giãn với độ chính xác 0,1 cm.

- Áo Blouse: 1 bộ

- Phiếu ghi kết quả đo: 1 bộ; là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về số đo chu vi vòng đầu hoặc có thể được sử dụng chung với sổ khám sức khỏe tùy thuộc vào mục đích của người tiến hành thu thập số liệu về đo chu vi vòng đầu. Ngoài ra, máy tính bảng hoặc các thiết bị điện tử cầm tay có thể dùng thu thập số liệu nhân trắc. Phiếu ghi kết quả đo chu vi vòng đầu cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày đo, kết quả đo chu vi vòng đầu, chữ ký đối tượng.

- Bút bi hoặc bút mực: 1 cái.

2.3. Thiết bị: không áp dụng

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

- Chuẩn bị dụng cụ: thước dây, mẫu phiếu ghi kết quả, bút viết.

- Đối với người được đo:

+ Người được đo ngồi ở khu vực chờ, được sắp xếp phiếu đợi vào đo theo thứ tự, được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện.

- Đối với người thực hiện đo:

+ Người thực hiện đo cần được tập huấn kỹ về mục đích, ý nghĩa và tầm quan trọng của cuộc điều tra, đặc biệt là kỹ thuật và kỹ năng thực hiện.

+ Người thực hiện đo cần duy trì tính chuyên nghiệp trong mọi thời điểm tiếp xúc với người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính của trẻ.

+ Hỏi ghi các thông tin chung của người được đo.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian đo trung bình là 7 phút/lần/người (Tùy từng đối tượng có thể là từ 5-10 phút/lần/người)

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

- Thực hiện ở nơi đảm bảo đủ ánh sáng để đo.

3. An toàn: quy trình này chỉ đo chu vi vòng đầu, không có nguy cơ gây mất an toàn nào

4. Các bước tiến hành

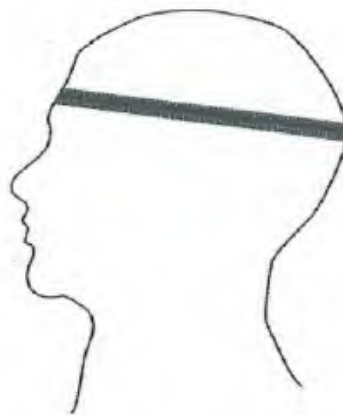
4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Đối tượng: đứng sao cho phía trái của mặt hướng về người đo, tư thế thoải mái, tay bỏ lỏng tự nhiên, mắt nhìn thẳng, giữ vị trí đầu sao cho đường thẳng tưởng tượng đi qua ống tai và bờ dưới hốc mắt song song mặt phẳng nằm ngang

4.1.2. Bước 2: Người đo: vòng thước đo quanh đầu ở vòng lớn nhất đi qua viền trên lông mày và chằm. Đảm bảo thước dây quần hai bên đầu song song nhau, mặt số của thước đo hướng lên trên, thước đo quấn chặt đủ ấn xẹp tóc.

4.1.3. Bước 3: Lặp lại bước đo trên nếu thấy cần thiết

4.1.4. Bước 4: Khi thước đo ở đúng vị trí với độ căng phù hợp, đọc và ghi lại kết quả chính xác đến 0,1 cm. Thông báo kết quả đo chu vi vòng đầu cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.



Hình 1: Vị trí đo chu vi vòng đầu

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, cẩn thận trong ghi chép số đo và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao là yếu tố then chốt đảm bảo việc đo chu vi vòng đầu được chính xác.

- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế.

Được *Mở*

- Số liệu thu thập về chu vi vòng đầu ở người đảm bảo chính xác.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả đo chu vi vòng đầu được thông báo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.
- Phiếu ghi kết quả đo được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: không có

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Thước dây thường được làm từ nhựa hoặc polymer, có thể bị biến dạng hoặc hỏng ở nhiệt độ cao, cần bảo quản thẳng, không gấp khúc, để ở nhiệt độ thích hợp, tránh ánh nắng trực tiếp. Thay thước dây nếu thấy rằng nó bị hỏng, giảm độ chính xác.
- Cần sử dụng loại thước dây phù hợp để đo.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:
 - + Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
 - + Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Lê Danh Tuyên. Phương pháp nhân trắc trong đánh giá dinh dưỡng trẻ em dưới 5 tuổi. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội
- National Center for Health Statistics. (2004). NHANES: Anthropometry procedures manual: Revised.
- National Health and Nutrition Examination Survey. (2007). (NHANES): Anthropometry procedures manual
- <https://bionumbers.hms.harvard.edu/bionumber.aspx?s=n&v=4&id=115457>
- Krishnan, R. H., Devanandh, V., Brahma, A. K., & Pugazhenth, S. (2016). Estimation of mass moment of inertia of human body, when bending forward, for the design of a self-transfer robotic facility. Journal of Engineering Science and Technology, 11(2), 166-176.
- Hà Huy Khôi, Lê Thị Hợp. Phương pháp dịch tễ học dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội, 184-185.
- National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). (2007). Anthropometry procedures manual. P45.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 02

Phụ lục 1: Phiếu thu thập thông tin

PHIẾU ĐO CHU VI VÒNG ĐẦU

Mã số phiếu:

--	--	--	--	--	--

Địa chỉ: Thôn:.....xã:.....huyện:.....tỉnh:.....

Ngày đo: ngày.....tháng.....năm.....

Cán bộ đo:.....

Họ và tên (In)	Ngày sinh (ngày/tháng/năm)	Giới tính (Trai, gái)	Chu vi vòng đầu (...cm)	Ghi chú

Được *mo*

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 03:
ĐO CHU VI VÒNG EO Ở NGƯỜI

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn cách đo chu vi vòng eo ở người thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa:

Chu vi vòng eo được tính là số đo chu vi của phần eo nhỏ nhất trên khu vực bụng, nằm ngay trên rốn. Được đo bằng cách vòng thước dây đi qua điểm giữa đường nổi bờ dưới xương sườn và đỉnh mào chậu nằm trên đường nách giữa. Đây là một chỉ số quan trọng trong việc đánh giá sức khỏe, kiểm soát cân nặng và dự đoán nguy cơ của các bệnh như tiểu đường type 2, huyết áp cao, cholesterol cao, béo phì, bệnh tim mạch...

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Cán bộ y tế: 1 người; đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật đo chu vi vòng eo.

2.2. Vật tư

- Thước đo vòng eo: 1 cái; thước đo mềm, không chun giãn với độ chính xác 0,1 cm.

- Áo Blouse: 1 bộ

- Phiếu ghi kết quả đo: 1 bộ; là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về số đo chu vi vòng eo hoặc có thể được sử dụng chung với sổ khám sức khỏe tùy thuộc vào mục đích của người tiến hành thu thập số liệu về đo chu vi vòng eo. Ngoài ra, máy tính bảng hoặc các thiết bị điện tử cầm tay có thể dùng thu thập số liệu nhân trắc. Phiếu ghi kết quả đo chu vi vòng eo cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày đo, kết quả đo chu vi vòng eo, chữ ký đối tượng.

- Bút bi hoặc bút mực: 1 cái.

2.3. Thiết bị: không áp dụng

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

- Chuẩn bị dụng cụ: thước dây, mẫu phiếu ghi kết quả, bút viết.

- Chuẩn bị người được đo: người được đo cần được thông báo trước mặc trang phục phù hợp từ nhà, cần cởi bỏ bớt áo dày. Người được đo được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện. Người thực hiện đo cần duy trì tính chuyên nghiệp trong mọi thời điểm tiếp xúc với người được đo.

- Hỏi ghi các thông tin chung của người được đo: tuổi, giới, nghề nghiệp, tình trạng sinh lý (có thai, cho con bú).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Thời gian đo trung bình là 7 phút/lần/người (Tùy từng đối tượng có thể là từ 5-10 phút/lần/người)

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

- Thực hiện ở nơi kín đáo, đảm bảo đủ ánh sáng để đo.

3. An toàn: quy trình này chỉ đo chu vi vòng eo, không có nguy cơ gây mất an toàn nào

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Đối tượng: người đo yêu cầu đối tượng cởi bỏ áo dày, chỉ mặc áo mỏng, vén áo lên ngay dưới ngực, đồng thời nói lỏng cạp quần để bộc lộ phần bụng, đứng thẳng, tư thế thoải mái, tay buông thõng tự nhiên, hít thở bình thường.

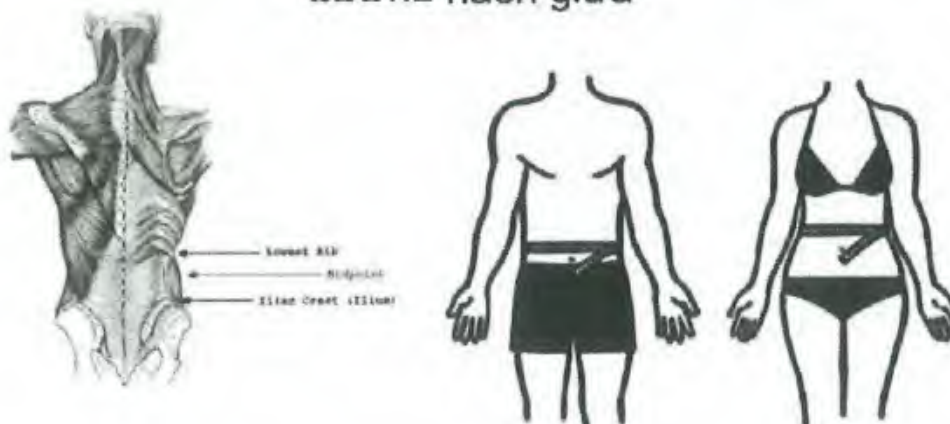
4.1.2. Xác định điểm đo: vòng eo là vòng đi qua điểm giữa đường nối bờ dưới xương sườn và đỉnh mào chậu nằm trên đường nách giữa (Hình 1). Đánh dấu vị trí đo vòng eo (Hình 2).

4.1.3. Người đo: đứng về một bên của đối tượng, giữ một đầu của thước dây ở điểm đo đã xác định, vòng dây xung quanh eo đối tượng ra phía trước, mặt số của thước đo hướng ra ngoài, áp sát thước đo vào eo của đối tượng đảm bảo thước đo có độ căng vừa phải và vòng đo quanh eo song song với mặt phẳng nằm ngang.

4.1.4. Đọc kết quả ở cuối thì thở ra bình thường, đơn vị là cm với 1 số lẻ thập phân (0,1 cm).

4.1.5. Ghi số đo vào phiếu điều tra và thông báo kết quả đo chu vi vòng eo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

Điểm giữa bờ dưới sườn và mào chậu tại đường nách giữa



Hình 1: Xác định vị trí đo vòng eo

Handwritten signatures in blue ink.



Hình 2: Điểm đánh dấu vị trí đo vòng eo

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, cẩn thận trong ghi chép số đo và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao là yếu tố then chốt đảm bảo việc đo chu vi vòng eo được chính xác.

- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế.

- Số liệu thu thập về chu vi vòng eo ở người đảm bảo chính xác.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả đo chu vi vòng eo được thông báo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

- Phiếu ghi kết quả đo được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Khi đo cho người khác giới cần có ít nhất 3 người: người đo, người được đo và một người khác (người nhà hoặc cán bộ y tế khác)

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Trường hợp người được đo không hợp tác (không vén áo), cần giải thích cho đối tượng hiểu đây là một bước trong quy trình kỹ thuật đo chu vi vòng eo cần phải thực hiện, cần giảm bớt sự sợ hãi và căng thẳng, sau đó đề nghị đối tượng hợp tác.

- Nếu xác định vị trí đo không đúng, người đo cần thực hiện lại, cần cố gắng cải thiện kỹ thuật và luôn tuân theo từng bước của quy trình.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:

+ Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.

+ Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình

7. Tài liệu tham khảo

- Lê Danh Tuyên. Phương pháp nhân trắc trong đánh giá dinh dưỡng trẻ em dưới 5 tuổi. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội

- National Center for Health Statistics. (2004). NHANES: Anthropometry procedures manual: Revised.

- <https://bionumbers.hms.harvard.edu/bionumber.aspx?s=n&v=4&id=115457>

- Krishnan, R. H., Devanandh, V., Brahma, A. K., & Pugazhenth, S. (2016). Estimation of mass moment of inertia of human body, when bending forward, for the design of a self-transfer robotic facility. *Journal of Engineering Science and Technology*, 11(2), 166-176.

- Hà Huy Khôi, Lê Thị Hợp. Phương pháp dịch tễ học dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội, 186.

- National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). (2007). Anthropometry procedures manual. P45.

Handwritten signatures:

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 03**Phụ lục 1: Phiếu thu thập thông tin****PHIẾU ĐO CHU VI VÒNG EO**

Mã số phiếu:

--	--	--	--	--	--

Địa chỉ: Thôn:.....xã:.....huyện:.....tỉnh:.....

Ngày đo: ngày.....tháng.....năm.....

Cán bộ đo:.....

Họ và tên	Ngày sinh (ngày/tháng/năm)	Giới tính (Trai, gái)	Chu vi vòng eo (_ _ _ cm)	Ghi chú

Quy trình kỹ thuật dịch vụ 04:
ĐO CHU VI VÒNG MÔNG Ở NGƯỜI

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn cách đo chu vi vòng mông ở người thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa

Chu vi vòng mông được tính là số đo chu vi của phần mông tại vị trí lớn nhất. Được đo bằng cách vòng thước dây quanh mông của đối tượng qua vị trí lớn nhất có thể.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị**2.1. Người thực hiện**

Cán bộ y tế: 1 người; đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật đo chu vi vòng mông.

2.2. Vật tư

- Thước đo vòng mông: 1 cái; thước đo mềm, không chun giãn với độ chính xác 0,1 cm.

- Áo Blouse: 1 bộ

- Phiếu ghi kết quả đo: 1 bộ; là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về số đo chu vi vòng mông hoặc có thể được sử dụng chung với sổ khám sức khỏe tùy thuộc vào mục đích của người tiến hành thu thập số liệu về đo chu vi vòng mông. Ngoài ra, máy tính bảng hoặc các thiết bị điện tử cầm tay có thể dùng thu thập số liệu nhân trắc. Phiếu ghi kết quả đo chu vi vòng mông cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày đo, kết quả đo chu vi vòng mông, chữ ký đối tượng.

- Bút bi hoặc bút mực: 1 cái.

2.3. Thiết bị: không áp dụng**2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện**

- Chuẩn bị dụng cụ: thước dây, mẫu phiếu ghi kết quả, bút viết.

- Chuẩn bị người được đo: người được đo cần được thông báo trước mặc trang phục phù hợp từ nhà, cần mặc quần mỏng, bỏ hết đồ để trong túi quần ra ngoài. Người được đo được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện. Người thực hiện đo cần duy trì tính chuyên nghiệp trong mọi thời điểm tiếp xúc với người được đo.

- Hỏi ghi các thông tin chung của người được đo: tuổi, giới, nghề nghiệp, tình trạng sinh lý (có thai, cho con bú).

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

- Thời gian đo trung bình là 7 phút/lần/người (Tùy từng đối tượng có thể là từ 5-10 phút/lần/người)

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

- Thực hiện ở nơi kín đáo, đảm bảo đủ ánh sáng để đo.

3. An toàn: quy trình này chỉ đo chu vi vòng hông, không có nguy cơ gây mất an toàn nào

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Đối tượng: mặc quần mỏng, bỏ hết đồ để trong túi quần, đứng thẳng, tư thế thoải mái, tay buông thõng tự nhiên.

4.1.2. Bước 2: Người đo: đứng về một phía của đối tượng, vòng thước đo quanh hông của đối tượng qua chỗ chu vi lớn nhất, mặt số của thước đo hướng ra ngoài, áp sát thước đo sao cho có độ căng vừa phải và vòng đo quanh hông song song với mặt phẳng nằm ngang.

4.1.3. Bước 3: Đọc kết quả chính xác đến 0,1 cm.

4.1.4. Bước 4: Ghi số đo vào phiếu điều tra và thông báo kết quả đo chu vi vòng hông cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, cẩn thận trong ghi chép số đo và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao là yếu tố then chốt đảm bảo việc đo chu vi vòng hông được chính xác.

- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế.

- Số liệu thu thập về chu vi vòng hông ở người đảm bảo chính xác.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả đo chu vi vòng hông được thông báo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

- Phiếu ghi kết quả đo được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Chú ý khi đo cho người khác giới cần có ít nhất 3 người: người đo, người được đo và một người khác (người nhà hoặc cán bộ y tế khác).

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Trường hợp người được đo không hợp tác, cần giải thích cho đối tượng hiểu đây là một bước trong quy trình kỹ thuật đo chu vi vòng hông cần phải thực hiện, cần giảm bớt sự sợ hãi và căng thẳng, sau đó đề nghị đối tượng hợp tác.

- Nếu xác định vị trí đo không đúng, vòng đo không song song với mặt phẳng nằm ngang, người đo cần thực hiện lại, cần cố gắng cải thiện kỹ thuật và luôn tuân theo từng bước của quy trình.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:

+ Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.

+ Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Lê Danh Tuyên. Phương pháp nhân trắc trong đánh giá dinh dưỡng trẻ em dưới 5 tuổi. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội

- National Center for Health Statistics. (2004). NHANES: Anthropometry procedures manual: Revised.

- <https://bionumbers.hms.harvard.edu/bionumber.aspx?s=n&v=4&id=115457>

- Krishnan, R. H., Devanandh, V., Brahma, A. K., & Pugazhenth, S. (2016). Estimation of mass moment of inertia of human body, when bending forward, for the design of a self-transfer robotic facility. *Journal of Engineering Science and Technology*, 11(2), 166-176.

- Hà Huy Khôi, Lê Thị Hợp. Phương pháp dịch tễ học dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội, 186.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 04

Phụ lục 1: Phiếu thu thập thông tin

PHIẾU ĐO CHU VI VÒNG MÔNG

Mã số phiếu:

--	--	--	--	--	--

Địa chỉ: Thôn:.....xã:.....huyện:.....tỉnh:.....

Ngày đo: ngày.....tháng.....năm.....

Cán bộ đo:.....

Họ và tên	Ngày sinh (ngày/tháng/năm)	Giới tính (Trai, gái)	Chu vi vòng mông (_ _ _ cm)	Ghi chú

Được *trả*

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 05:
ĐO CÂN NẶNG CƠ THỂ NGƯỜI

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn cách xác định cân nặng ở người thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa:

Cân nặng là số đo trọng lượng cơ thể người được tính bằng kilogam, được đo khi cơ thể người mặc quần áo mỏng nhưng không mang những vật dụng ảnh hưởng tới cân nặng như chìa khóa, điện thoại, áo dày, mũ nón, giày dép, bím/tã ở trẻ nhỏ. Cân nặng dư thừa hoặc thiếu được coi là một chỉ số xác định tình trạng sức khỏe của một người.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Cán bộ y tế: 2 người; đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật cân trọng lượng cơ thể:

- Người cân: 1 người
- Người trợ giúp: 1 người

Lưu ý: cần xác định/phân công rõ ai là “người cân” và ai là “người trợ giúp”. Người cân sẽ hướng dẫn, thao tác và đọc to kết quả đo được. Người trợ giúp điền kết quả vào phiếu và bế trẻ trong trường hợp cân kiểu mẹ bồng con.

2.2. Vật tư

- Áo Blouse: 2 bộ
- Phiếu ghi kết quả: 1 bộ; là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về số đo cân nặng hoặc có thể được sử dụng chung với sổ khám sức khỏe tùy thuộc vào mục đích của người tiến hành thu thập số liệu về cân nặng. Ngoài ra, máy tính bảng hoặc các thiết bị điện tử cầm tay có thể dùng thu thập số liệu nhân trắc. Phiếu ghi kết quả cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày cân đo, cân nặng, chữ ký. Ngoài ra có thể có thêm thông tin của người bảo hộ/người chăm sóc chính (đối với trẻ nhỏ hoặc người khuyết tật, người cao tuổi).

- Bút bi hoặc bút mực: 2 cái.
- Pin tiêu hoặc pin đũa: 4 quả; dùng cho cân điện tử, tùy thuộc loại cân.

2.3. Thiết bị

- Cân: 1 cái; có nhiều loại cân như cân điện tử, cân lòng máng, cân kim đồng hồ (cân cơ), cân tạ/cân đòn, cân năng lượng mặt trời và một số loại cân điện tử hoặc cân cơ có thùng/rổ để cân trẻ nhỏ. Nên sử dụng các loại cân đã được công nhận có độ chính xác cao, cân được trọng lượng tối đa 150 kg với độ chính xác dao động từ 0,05 đến 0,1 kg (tùy trọng lượng tối đa của cân), có khả năng kháng nước, không dẫn điện và có thể cân “cả bì” (tức là khi có người đứng lên trên cân vẫn có thể chỉnh cân về số 0 được).

- Quả cân chuẩn: 1 quả; Loại 2 kg hoặc 5 kg. Quả cân chuẩn sử dụng để kiểm tra độ chính xác cân, dựa vào mức cân tối đa để sử dụng quả cân chuẩn có trọng lượng phù hợp

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

- Trước khi tiến hành cân: lấy cân ra khỏi vỏ/hộp đựng, kiểm tra các núm, chân đỡ ở mặt dưới của cân phải được lắp đầy đủ đảm bảo khi cân được thăng bằng, an toàn và không bị sai số.

- Kiểm tra pin của cân điện tử: pin yếu có thể làm sai số kết quả cân. Cách kiểm tra và thay pin: lật ngược cân, mở nắp, lắp pin vào dưới đáy của cân. Bật công tắc nguồn của cân sang vị trí "ON".

- Hiệu chuẩn cân: Cân cần được kiểm tra và hiệu chuẩn mỗi ngày. Chính cân về vị trí thăng bằng ở số 0. Kiểm tra cân 2 lần bằng cách dùng quả cân chuẩn để kiểm tra độ chính xác và độ nhạy của cân. Kết quả chuẩn cân hàng ngày cần được ghi lại. Các quả cân chuẩn cũng cần được kiểm tra từ ban đầu để đảm bảo rằng trọng lượng là chính xác. Trong điều kiện hạn chế ngoài cộng đồng, khi không có quả cân chuẩn có thể sử dụng các vật có trọng lượng cố định phù hợp để chuẩn cân.

- Chuẩn bị người được cân: người được cân ngồi ở khu vực chờ, được sắp xếp phiếu đợi cân theo thứ tự, được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện cởi, bỏ bớt những vật dụng ảnh hưởng tới cân nặng của cơ thể như chìa khóa, điện thoại, áo dày, mũ nón, giày dép, bím/tã ở trẻ nhỏ... Người cân cần duy trì tính chuyên nghiệp trong mọi thời điểm tiếp xúc với người được cân hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính của trẻ.

- Hỏi ghi các thông tin chung của người được cân: tuổi, giới, nghề nghiệp, tình trạng sinh lý (có thai, cho con bú), tình trạng khuyết tật (mất một phần hoặc cả tay, chân, tay/chân giả, bó bột, nẹp...).

- Hỏi người được cân xem họ có thực hiện các hoạt động thể lực mức độ nặng hoặc ăn nhiều thức ăn hoặc nước uống trước khi vào cân hay không. Nếu có một trong các trường hợp này, thông tin đó cần được ghi lại trong phiếu cân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Thời gian cân trung bình là 7 phút/lần/người (Tùy từng đối tượng có thể là từ 5-10 phút/lần/người)

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Địa điểm cân: tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

- Vị trí đặt cân:

+ Điều tra viên cần quan sát và tìm vị trí thích hợp để đặt cân. Đặt cân ở vị trí ổn định, bề mặt cứng và bằng phẳng (nền gỗ, xi măng, gạch men...). Nền đất mềm hoặc thảm hoặc không bằng phẳng có thể dẫn đến sai số khi cân. Trong các điều kiện khó tìm được vị trí cứng, bằng phẳng (thiên tai, sạt lở đất...), nhóm khảo sát có thể chuẩn bị một miếng gỗ/tấm ván đủ lớn để che phủ một bề mặt hợp lý và đủ chắc chắn để chịu được trọng lượng của cân và những vật/người được cân.

+ Cân ở nơi có đủ ánh sáng. Tốt nhất là cân ngoài trời, chỗ mát hoặc trong nhà nhưng đảm bảo đủ ánh sáng.

+ Đối với cân điện tử, cần kiểm tra lại cân trước mỗi lần đo khi cân được di chuyển đến vị trí mới và vận hành trong điều kiện thời tiết khắc nghiệt. Không dùng cân ở nơi nhiệt độ dưới 0°C hoặc trên 45°C. Không để cân trực tiếp dưới nắng mặt trời hoặc nơi quá nóng. Bảo vệ cân không bị ẩm ướt.

3. An toàn: quy trình này chỉ cân trọng lượng cơ thể, không có nguy cơ gây mất an toàn nào

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Cân người trưởng thành và trẻ trên 2 tuổi

- Bước 1: Đối với cân điện tử: bật cân, chờ đến khi màn hình cân điện tử hiện số 0.0 thì yêu cầu người được cân đứng lên cân. Đối với cân kim đồng hồ: sau khi cân được đặt vào vị trí, kim đồng hồ ổn định ở vị trí số 0 thì yêu cầu người được cân đứng lên cân.

- Bước 2: Hướng dẫn người được cân đứng vào giữa cân, đứng thẳng người, hai tay buông xuôi dọc thân, không cử động, mắt nhìn thẳng, trọng lượng dồn đều vào hai chân.

- Bước 3: Trong quá trình cân, kiểm tra cân để chắc chắn rằng không có vật gì khác trên mặt cân, ngoài người được cân; không có vật hay người nào chạm vào cân.

- Bước 4: Khi kết quả hiển thị ổn định (không còn nhấp nháy hoặc thay đổi) thì ghi kết quả được cân theo đơn vị là kg với một số lẻ thập phân (0,1 kg).

- Bước 5: Thông báo kết quả cân cho người được cân hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

- Bước 6: Nếu cân phụ nữ có thai thì cần hỏi và ghi lại tuổi thai của bà mẹ và cân nặng trước khi mang thai của người mẹ.

4.1.2. Cân trẻ theo phương pháp “mẹ bồng con” đối với trẻ dưới 2 tuổi

4.1.2.1. Đối với cân điện tử không có chức năng trừ bì

- Bước 1: Bật cân và đợi cho đến khi xuất hiện 0.0 trên màn hiển thị.

- Bước 2: Yêu cầu bà mẹ/người chăm sóc trẻ đứng vào giữa cân, đứng thẳng người, hai tay buông xuôi dọc thân, không cử động, mắt nhìn thẳng, trọng lượng dồn đều vào hai chân. Trọng lượng bà mẹ/người chăm sóc trẻ sẽ hiện lên cân. Ghi lại cân nặng của bà mẹ/người chăm sóc trẻ với một số lẻ thập phân (0,1 kg).

- Bước 3: Yêu cầu bà mẹ/người chăm sóc trẻ bước xuống cân.

- Bước 4: Bật cân lần 2 và đợi cho đến khi xuất hiện số 0.0 trên màn hiển thị.

- Bước 5: Yêu cầu bà mẹ/người chăm sóc trẻ bồng/bế con, và đứng ở giữa cân sao cho trọng lượng dồn đều lên hai chân. Ghi lại cân nặng của bà mẹ/người chăm sóc trẻ bồng/bế con với một số lẻ thập phân (0,1 kg).

- Bước 6: Trong quá trình cân, kiểm tra cân để chắc chắn rằng không có vật gì khác trên mặt cân, ngoài bà mẹ và/hoặc trẻ được cân; không có vật hay người nào chạm vào cân.

- Bước 7: Trọng lượng của trẻ được cân là hiệu số của cân nặng giữa hai lần đo (Trọng lượng trẻ = Trọng lượng của bà mẹ/người chăm sóc trẻ ở lần bông/bé con - Trọng lượng của bà mẹ/người chăm sóc trẻ), với một số lẻ thập phân (0,1 kg).

- Bước 8: Tính toán, ghi kết quả và thông báo lại số cân của trẻ cho bà mẹ/người chăm sóc trẻ.

4.1.2.2. Đối với cân điện tử có chức năng trừ bì

Đối với cân điện tử có chức năng trừ bì, sau khi bà mẹ/người chăm sóc trẻ đứng lên cân, chuyển cân về 0.0 và tiến hành cân trẻ như sau:

- Bước 1: Bật cân và đợi cho đến khi xuất hiện 0.0 trên màn hiển thị.

- Bước 2: Người trợ giúp bế trẻ và yêu cầu bà mẹ đứng lên cân. Trọng lượng của bà mẹ sẽ hiện lên cân.

- Bước 3: Khi bà mẹ đang đứng trên cân, nhấn phím chức năng “mẹ bông con”, chờ màn hình hiển thị 0.0 thì đưa trẻ cho bà mẹ bông/bé trong khi vẫn đứng ở trên cân. Để số trên màn hình hiển thị không bị nhảy thì phải giữ trẻ yên không được cử động mạnh.

- Bước 4: Khi kết quả hiển thị ổn định (không còn nhấp nháy hoặc thay đổi), đọc và ghi lại cân nặng của trẻ với một số lẻ thập phân (0,1 kg).

- Lặp lại các bước trên khi chuyển sang trẻ khác. Chức năng mẹ bông con vẫn tiếp tục hoạt động cho đến khi nhấn lại vào nút “mẹ bông con”.

Đối với cân điện tử, không có chức năng cân “mẹ bông con” nhưng có chức năng trừ bì thì quy trình tiến hành như sau:

- Bước 1: Khi bà mẹ đứng yên, ổn định trên cân thì bắt đầu bật cân và đợi cho đến khi xuất hiện 0.0 trên màn hiển thị.

- Bước 2: Người trợ giúp đưa trẻ cho bà mẹ bông/bé trong khi bà mẹ vẫn đứng ở trên cân. Để số trên màn hình hiển thị không bị nhảy thì phải giữ trẻ yên không được cử động mạnh.

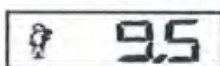
- Bước 3: Khi kết quả hiển thị ổn định, đọc và ghi lại cân nặng của trẻ với một số lẻ thập phân (0,1 kg).

- Bước 4: Lặp lại các bước trên khi chuyển sang trẻ khác.

Lưu ý trong kỹ thuật cân trừ bì:

- Cân nặng của người bế trẻ sẽ hiện lên trước khi bế trẻ để cân, sau đó sẽ được ghi nhớ/ẩn đi.

- Trọng lượng trẻ trong thực hiện cân trừ bì ít nhất là 2 kg.



Cân nặng trẻ xuất hiện trên màn hình hiển thị

4.1.3. Cân trẻ dưới 2 tuổi bằng cân lòng máng

Ngoài việc cân trẻ dưới 2 tuổi bằng cân điện tử theo phương pháp mẹ bồng con, có thể dùng cân lòng máng để cân trẻ. Tiến trình cân trẻ nhỏ với cân lòng máng như sau:

- Bước 1: Chỉnh cân về số 0 (đối với cân kim đồng hồ) hoặc bật cân và đợi đến khi cân hiển thị số 0.0 (đối với cân điện tử).
- Bước 2: Đặt trẻ vào giữa lòng máng, giữ cho trẻ ngồi hoặc nằm ổn định trong máng cân, không cử động, quấy khóc.
- Bước 3: Trong quá trình cân, kiểm tra cân để chắc chắn rằng không có vật gì khác trên mặt cân, ngoài trẻ được cân; không có vật hay người nào chạm vào cân.
- Bước 4: Khi kết quả hiển thị ổn định, đọc và ghi lại cân nặng của trẻ với một số lẻ thập phân (0,1 kg).
- Bước 5: Thông báo kết quả cân cho người bảo hộ/chăm sóc chính.

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, kiểm soát trẻ nhỏ, tập trung cân và cẩn thận trong ghi chép số đo là yếu tố then chốt đảm bảo việc xác định trọng lượng cơ thể được chính xác.

- Cán bộ cân đo nhân trắc phải có sức khỏe, chiều cao và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao.

- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế.

- Số liệu thu thập về trọng lượng cơ thể đảm bảo chính xác.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả đo cân nặng được thông báo cho người được cân hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

- Phiếu ghi kết quả đo cân nặng được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: không có

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Trường hợp cân người có trọng lượng vượt quá mức cân được của cân

Đối với người có cân nặng vượt quá ngưỡng của cân, hãy xác định cân nặng bằng hai cân di động. Cách làm như sau:

- Bước 1: Đặt 2 cân song song cạnh nhau.
- Bước 2: Bật đồng thời 2 cân và đợi cho đến khi xuất hiện 0 trên màn hiển thị.
- Bước 3: Hướng dẫn người được cân đứng bằng 1 chân trên mỗi cân, đứng thẳng người, hai tay buông xuôi dọc thân, không cử động, mắt nhìn thẳng, trọng lượng dồn đều vào hai chân.
- Bước 4: Trong quá trình cân, kiểm tra cân để chắc chắn rằng không có vật gì khác trên mặt cân, ngoài người được cân; không có vật hay người nào chạm vào cân.
- Bước 5: Ghi lại con số hiển thị trọng lượng cơ thể hiển thị ở trên 2 cân.
- Bước 6: Ghi lại cân nặng của người được cân là tổng của con số hiển thị trên 2 cân, với một số lẻ thập phân (0,1 kg).
- Bước 7: Thông báo kết quả cân cho người được cân.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Trường hợp cân người có khuyết tật (mất một phần hoặc cả tay/chân, mang tay/chân giả, bó bột, nẹp)

Đối với những người có khuyết tật như mất một phần hoặc cả tay/chân hoặc đang mang tay/chân giả, đang bó bột, nẹp gãy xương... thì sau khi tiến hành cân như trên, số liệu cuối cùng về cân nặng của họ cần được hiệu chỉnh với các khuyết tật tương ứng để có số cân nặng chính xác hoặc có ghi chú cụ thể vào phiếu thu thập thông tin nhân trắc.

Một số giá trị tham chiếu về trọng lượng các chi ở người trưởng thành như sau:

- Trọng lượng cánh tay: 2,6 - 3,25% tổng trọng lượng cơ thể người.
- Trọng lượng cẳng tay: 1,6 - 1,8% tổng trọng lượng cơ thể người.
- Trọng lượng bàn tay: 0,6 - 0,9% tổng trọng lượng cơ thể người.
- Trọng lượng đùi: 9,9 - 11,9% tổng trọng lượng cơ thể người.
- Trọng lượng cẳng chân: 4,3 - 4,8% tổng trọng lượng cơ thể người.
- Trọng lượng bàn chân: 1,4 - 2,1% tổng trọng lượng cơ thể người.

Trường hợp người được cân có một phần/toàn bộ chân/tay giả, nếu có thể tháo rời các phần chân/tay giả thì cân riêng các phần này rồi tính toán trọng lượng cơ thể thực của người được cân. Nếu không thể tháo rời các phần chi giả và không ước lượng được trọng lượng các phần chi bị thiếu, cần ghi chú vào kết quả cân của đối tượng là có bao gồm phần chân/tay giả.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:
- + Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
- + Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Lê Danh Tuyên. Phương pháp nhân trắc trong đánh giá dinh dưỡng trẻ em dưới 5 tuổi. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội
- National Center for Health Statistics. (2004). NHANES: Anthropometry procedures manual: Revised.
- <https://bionumbers.hms.harvard.edu/bionumber.aspx?s=n&v=4&id=115457>
- Krishnan, R. H., Devanandh, V., Brahma, A. K., & Pugazhenth, S. (2016). Estimation of mass moment of inertia of human body, when bending forward, for the design of a self-transfer robotic facility. *Journal of Engineering Science and Technology*, 11(2), 166-176.
- WHO and UNICEF. (2019). Anthropometric indicators in children under 5 years old, 28-30.
- WHO. (2008). Training Course on Child Growth Assessment: Measuring a child's growth. Geneva, 15-18.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 05

Phụ lục 1: Phiếu cân đo

PHIẾU CÂN ĐO

Mã số phiếu:

--	--	--	--	--	--

Địa chỉ: Thôn:.....xã:.....huyện:.....tỉnh:.....

Ngày cân/đo: ngày.....tháng.....năm.....

Cán bộ cân/đo:.....

Họ và tên	Ngày sinh (ngày/tháng/năm)	Giới tính (Trai, gái)	Cân nặng (_ _ _ kg)	Chiều cao (_ _ _ _ cm)	Ghi chú (*)

(*) Ghi chú tình trạng sinh lý, bệnh lý của đối tượng: bà mẹ có thai ghi số 1, trẻ bị phù ghi số 2, trẻ dưới 24 tháng tuổi ghi số 3, ghi chú đặc biệt khác ghi số 4 và ghi rõ tại đây:

.....

.....

Phụ lục 2: Cách xác định tuổi trẻ

Quy tắc tính tuổi:

- Kể từ khi mới sinh đến trước ngày tròn tháng (từ 1 đến 29 ngày) được coi là 0 tháng tuổi.
- Từ tròn 12 tháng đến 12 tháng 29 ngày được coi là 12 tháng tuổi.
- Từ khi sinh đến trước ngày đầy năm (năm thứ nhất) gọi là dưới 1 tuổi.
- Khi nói trẻ dưới 2 tuổi tức là trẻ từ khi sinh đến dưới 24 tháng, trẻ dưới 5 tuổi tức là trẻ từ khi sinh đến dưới 60 tháng.

Cách tính tuổi:

- Sử dụng bảng trống để tính tháng tuổi:

Tháng Năm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2018												
2019												
2020												
2021												
2022												
2023												

- Khi điều tra ta sẽ ghi số 0 vào ô giống giữa tháng và năm điều tra, sau đó đánh số thứ tự tiến dần tính từ ô số 0 đó theo quy tắc từ phải qua trái, từ dưới lên trên đến hết ô trong bảng trống. Ví dụ: ngày điều tra tháng 4/2023

Tháng Năm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2018	63	62	61	60	59	58	57	56	55	54	53	52
2019	51	50	49	48	47	46	45	44	43	42	41	40
2020	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29	28

Sưu *nh*

2021	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16
2022	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4
2023	3	2	1	0								

- Tiếp theo, giống ô tương ứng với tháng và năm sinh của trẻ. Nếu ngày điều tra lớn hơn hay bằng ngày sinh của trẻ thì giữ nguyên số đã tra được trong bảng. Nếu ngày điều tra nhỏ hơn ngày sinh của trẻ thì ta trừ đi một so với số tháng tra được ở trong bảng.

- Ví dụ: ngày điều tra là 10/4/2023

+ Trẻ sinh ngày 9/7/2021, ta giống trong bảng trẻ được 21 tháng tuổi

+ Trẻ sinh ngày 24/3/2019, ta giống trong bảng theo hướng dẫn thì trẻ được: 49-1 = 48 tháng tuổi.

Ngoài ra, một cách khác có thể tính tháng tuổi bằng máy tính như sau :

Tháng tuổi = (Ngày điều tra – Ngày sinh)/30,4375

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 06:

ĐO CHIỀU CAO/CHIỀU DÀI CƠ THỂ NGƯỜI

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn cách đo chiều cao/chiều dài ở người thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình

1.2. Định nghĩa

Chiều cao cơ thể người là số đo khoảng cách từ lòng bàn chân đến đỉnh đầu của cơ thể người lúc đứng thẳng, được tính bằng centimet. Người trưởng thành và trẻ trên 2 tuổi đo chiều cao đứng. Trẻ dưới 2 tuổi đo chiều dài nằm.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Cán bộ y tế: 2 người; đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật đo chiều cao/chiều dài cơ thể:

- Người đo chính: 1 người
- Người trợ giúp: 1 người

Lưu ý: cần xác định/phân công rõ ai là “người đo chính” và ai là “người trợ giúp”. Người đo chính hướng dẫn, thao tác, đo và đọc to kết quả đo được. Người trợ giúp hỗ trợ người đo chính trong quá trình thực hiện các động tác, điền kết quả vào phiếu, gọi người tiếp theo vào đo.

2.2. Vật tư

- Thước đo chiều cao: 1 cái; thước gỗ 2 mảnh, thước gỗ 3 mảnh, thước dây, thước dán tường...

- Áo Blouse: 2 bộ

- Phiếu ghi kết quả đo: 1 bộ; Là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về số đo chiều dài nằm/chiều cao đứng hoặc có thể được sử dụng chung với sổ khám sức khỏe tùy thuộc vào mục đích của người tiến hành thu thập số liệu về đo chiều cao. Ngoài ra, máy tính bảng hoặc các thiết bị điện tử cầm tay có thể dùng thu thập số liệu nhân trắc. Phiếu ghi kết quả đo chiều cao cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày đo, chiều cao, chữ ký. Ngoài ra có thể có thêm thông tin của người bảo hộ/người chăm sóc chính (đối với trẻ nhỏ hoặc người khuyết tật, người cao tuổi).

- Bút bi hoặc bút mực: 2 cái.

2.3. Thiết bị: không áp dụng

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

- Chuẩn bị người được đo: người được đo được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện cởi, bỏ giày, dép, tất chân, mũ, bôm, cặp tóc hay bất cứ thứ gì trên đầu làm ảnh hưởng đến việc đo chiều cao... Người đo cần duy trì tính chuyên nghiệp trong mọi thời điểm tiếp xúc với người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính của trẻ.

- Nếu đo chiều dài cho trẻ dưới 2 tuổi, trẻ cần được bỏ bớt quần áo dày, giày, tất, mũ, cần có mẹ/người chăm sóc trẻ đứng bên cạnh hỗ trợ trong quá trình đo.

- Hỏi ghi các thông tin chung của người được đo: tuổi, giới, nghề nghiệp, tình trạng sinh lý (có thai, cho con bú), tình trạng khuyết tật (không áp dụng đo chiều cao với người đang phải ngồi xe lăn...).

- Chuẩn bị dụng cụ:

+ Thước có thể được làm từ gỗ hoặc plastic, với đặc điểm là nhỏ, gọn, trọng lượng vừa phải, dễ vận chuyển, lắp đặt và tháo rời, nhưng vẫn đảm bảo độ chắc chắn và vững trong khi tiến hành đo.

+ Có thang chia độ dài được in rõ ràng trên mặt thước với độ bền cao, không bị mờ, nhòe bởi nước hoặc các cọ xát vật lý khi vận chuyển. Thang chia độ có thể được dán ở 1 mặt (trước) hoặc 2 mặt (trước và sau) của thước.

+ Phạm vi đo nhỏ nhất là 1 mm, tối đa có thể 210 cm đối với thước đo người trưởng thành và 120 cm đối với thước đo cho trẻ nhỏ dưới 5 tuổi¹.

+ Thước có thể ở dạng ván hoặc dạng thanh

+ Có phần cố định và phần thanh trượt di động

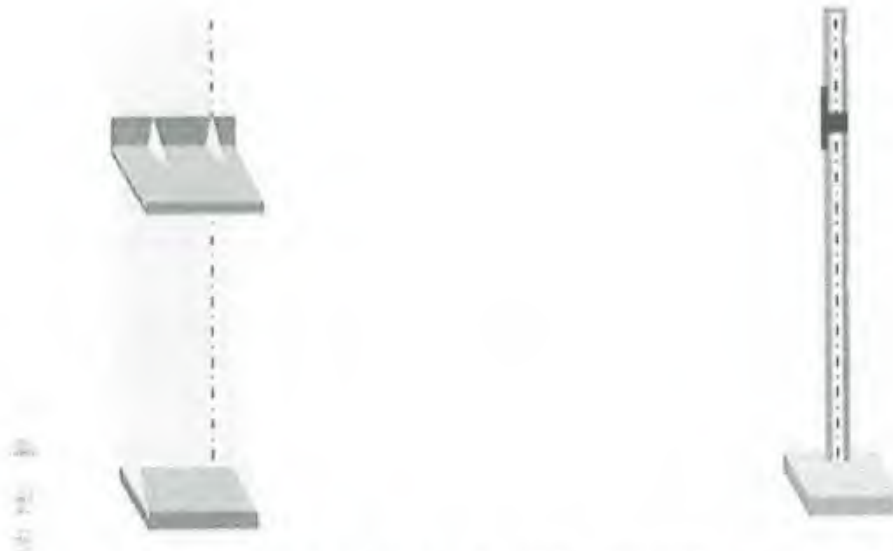
+ Thước có thể bao gồm 2, 3 hoặc 4 mảnh tùy loại, nhưng phải đảm bảo độ chính xác về thang đo.

+ Thước không bị biến dạng, cong vênh trong các điều kiện thời tiết thông thường hoặc khi gặp nước mưa, nhiệt độ quá cao trong thời tiết mùa hè hoặc quá thấp trong thời tiết mùa đông, các va đập ở mức độ vừa.

+ Trong một số trường hợp (khi cần thiết), đoàn điều tra có thể có thêm thước Nivo để đánh giá mức độ phẳng của thước khi đặt nằm ngang, đo chiều dài cho trẻ nhỏ dưới 2 tuổi.

+ Thanh chuẩn thước có thể được sử dụng đối với những nghiên cứu cần đảm bảo độ chính xác cao. Các thanh chuẩn thước có thể có các độ dài 50, 100 hoặc 150 cm. Khi hiệu chuẩn thước, các kết quả chuẩn thước cũng cần được ghi chép lại. Hiệu chuẩn thước lý tưởng là được tiến hành trước mỗi lần đo, tuy nhiên, trên thực tế, việc hiệu chuẩn thước có thể được tiến hành hàng ngày, hoặc sau mỗi lần tháo và lắp lại thước.

¹ World Health Organization and WHO Multicentre Growth Reference Study Group, 'Reliability of Anthropometric Measurements in the WHO Multicentre Growth Reference Study', *Acta Paediatrica*, 2018



Hình 1: Hai dạng thước đo chiều dài/chiều cao chủ yếu²

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Thời gian đo trung bình là 7 phút/lần/người (Tùy từng đối tượng có thể là từ 5-10 phút/lần/người)

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Địa điểm đo: tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

- Vị trí đo:

+ Đo chiều dài nằm của trẻ dưới 2 tuổi: cần quan sát và tìm vị trí thích hợp để đặt thước. Đặt thước ở vị trí cân bằng, ổn định, bề mặt cứng và bằng phẳng. Trong các điều kiện khó tìm được vị trí cứng, bằng phẳng (thiên tai, sạt lở đất...), nhóm khảo sát có thể chuẩn bị một miếng gỗ/tấm ván đủ lớn để che phủ một bề mặt hợp lý và đủ chắc chắn để đặt thước.

+ Đo chiều cao đứng của trẻ trên 2 tuổi và người trưởng thành: cần quan sát và tìm vị trí thích hợp để đặt thước đứng vững. Đặt thước ở nơi bằng phẳng, cân bằng, dựa thẳng vào tường theo phương thẳng đứng.

+ Đo ở nơi có đủ ánh sáng. Tốt nhất là đo ngoài trời, chỗ mát hoặc trong nhà nhưng đảm bảo đủ ánh sáng.

+ Khi di chuyển thước đến một vị trí mới, cần lắp đặt lại thước và kiểm tra lại thước trước mỗi lần đo đảm bảo thước được lắp đúng hướng dẫn, đặt thước ở vị trí thích hợp.

3. An toàn: quy trình này chỉ đo chiều cao/ chiều dài cơ thể, không có nguy cơ gây mất an toàn nào

² United Nations Children's Fund, 'Market Research on Height/Length Boards and Stadiometers', UNICEF Data and Analytics Section, 2015

Handwritten signatures in blue ink.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Đo chiều cao người trưởng thành và trẻ trên 2 tuổi

- Bước 1: Người trợ giúp kiểm tra, đối chiếu các thông tin (tên, tuổi, giới tính...) trên phiếu cân đo hoặc thiết bị điện tử thu thập số liệu.

- Bước 2: Người đo chính hướng dẫn đối tượng đứng quay lưng vào thước sao cho đảm bảo các điểm chạm ở 2 gót chân, 2 bắp chân, 2 mông, 2 vai và cằm áp sát vào tấm thước, đứng thẳng người sao cho trục của thân người trùng với trục của thước, hai tay buông thẳng theo hai bên mình. Các ngón chân hướng ra ngoài một góc khoảng 60° . Mắt nhìn thẳng ra phía trước, đầu thẳng, sao cho ống tai và bờ dưới của mắt cùng nằm trên một mặt phẳng (đường Frankfort) (Mũi tên số 8, hình 2).

- Bước 3: Người trợ giúp đứng đối diện với người được đo. Nếu đo trẻ em thì người trợ giúp quỳ gối chân ở phía trước của trẻ, yêu cầu trẻ đứng theo tư thế ở trên, giữ tay ở hai đầu gối để giúp trẻ đứng duỗi thẳng chân và đảm bảo hai gót chân trẻ áp sát vào tấm thẳng đứng của thước.

- Bước 4: Người đo chính dùng tay giữ dưới cằm của người được đo để cằm của họ nằm ở khoảng nối giữa ngón cái và ngón trỏ, một tay giữ cằm, một tay kéo thanh trượt xuống sát đỉnh đầu đối tượng, đảm bảo thanh trượt ấn xẹp tóc đối tượng với một lực vừa phải. Hướng dẫn người được đo tiếp tục đứng thẳng, hít vào sâu và giữ ở tư thế này. Hành động hít thở sâu giúp làm thẳng cột sống để đo được số đo ở mức ổn định hơn. Lưu ý rằng việc hít vào sẽ làm cho phần đầu hơi nâng lên nên có thể người đo chính cần nới lỏng một chút thanh trượt.

- Bước 5: Người đo chính và người trợ giúp cần cùng kiểm tra tư thế và vị trí của người được đo, lặp lại nếu thấy cần thiết, khi người được đo đứng chưa đúng như hướng dẫn.

- Bước 6: Khi các thao tác trên đã chính xác, người đo chính đọc to số đo đo được với đơn vị là cm với 1 số lẻ thập phân (0,1 cm). Người trợ giúp ghi ngay kết quả vào phiếu/nhập vào máy tính bảng và đọc to lại cho người đo chính nghe rõ để cùng kiểm tra, tránh đọc và ghi sai số liệu.

- Bước 7: Sau khi đọc kết quả đo, người đo chính bỏ thanh trượt ra khỏi đầu của người được đo, bỏ tay khỏi cằm và giúp đối tượng bước ra khỏi thước.

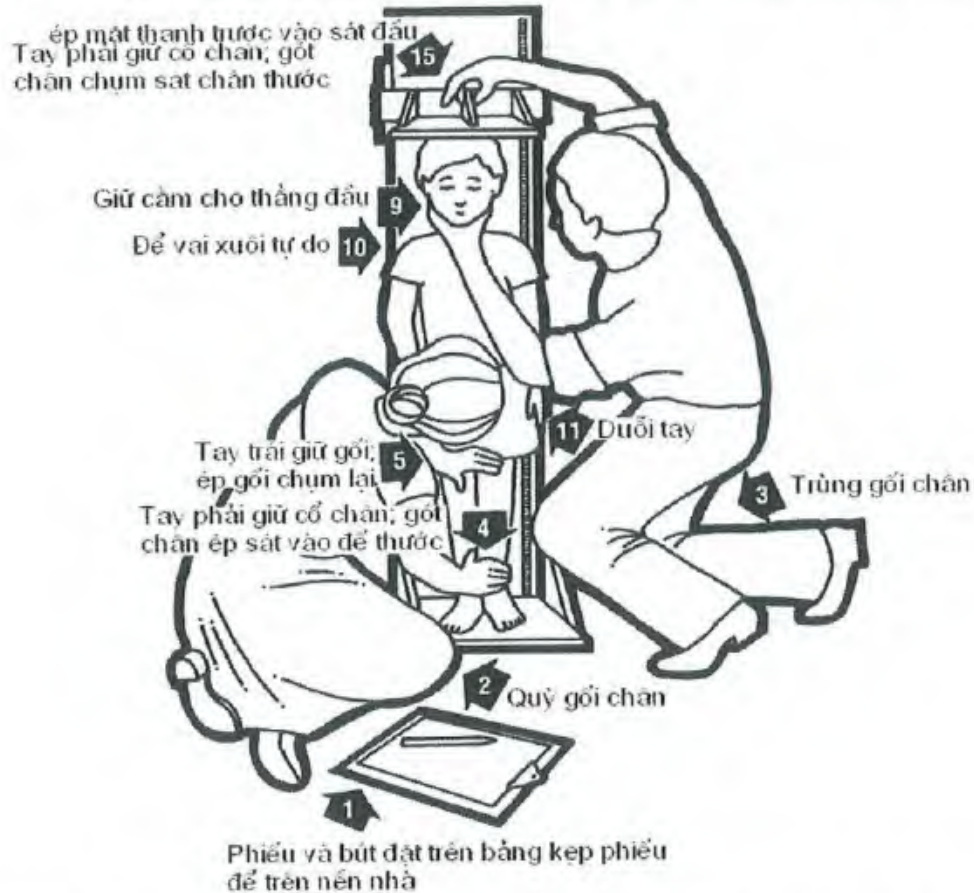
- Bước 8: Người đo chính kiểm tra kết quả đo được ghi trong phiếu hoặc máy tính bảng hay các thiết bị cầm tay xem có chính xác không và hướng dẫn người trợ giúp sửa lại nếu phát hiện lỗi.

- Bước 9: Thông báo kết quả đo chiều cao cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính của trẻ.

ép người sát vào mặt thước



Hình 2: Tư thế đo chiều cao cho người trưởng thành và trẻ em trên 2 tuổi

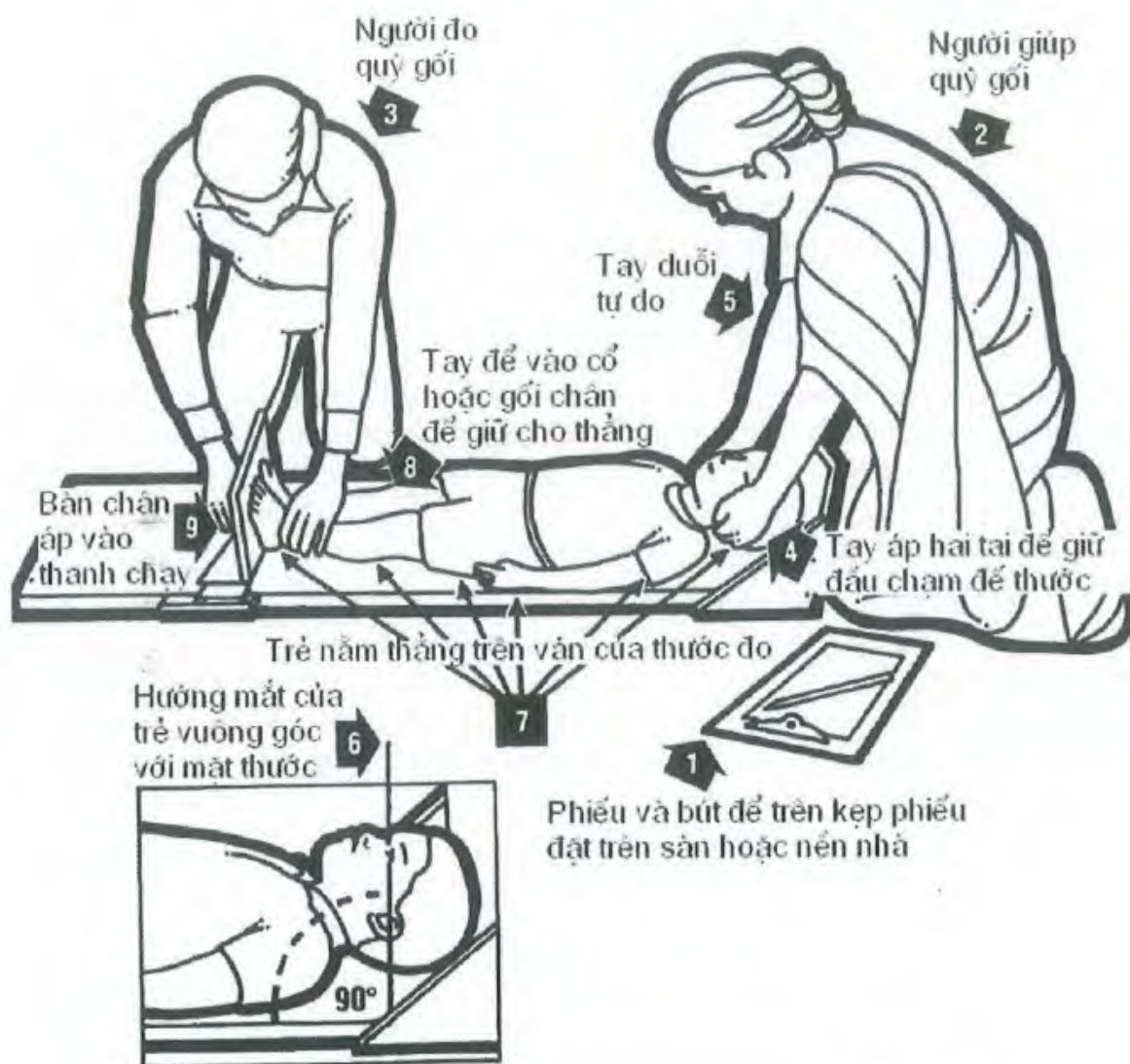


Hình 3: Sơ đồ quy trình đo chiều cao cho người trưởng thành và trẻ em trên 2 tuổi

Handwritten signatures and marks.

4.1.2. Đo chiều dài nằm đối với trẻ dưới 2 tuổi

- Bước 1: Người trợ giúp kiểm tra các thông tin (tên, tuổi, giới tính...) trên phiếu của trẻ.
- Bước 2: Người đo chính đỡ đầu của trẻ và từ từ đặt trẻ nằm ngửa trên mặt thước với đỉnh đầu trẻ áp sát tấm gỗ cố định của thước, 2 vai chạm mặt thước, mắt trẻ nhìn thẳng và đầu ở vị trí đường Frankfort.
- Bước 3: Người trợ giúp đứng về phía đầu của trẻ, đặt úp hai tay vào hai tai của trẻ và giữ cố định vị trí và tư thế đầu của trẻ như trên.
- Bước 4: Người đo chính chỉnh cơ thể trẻ sao cho trục của thân trùng với trục của thước, dùng tay ấn nhẹ vào đầu gối và giữ để chân trẻ duỗi thẳng, trong khi tay kia đưa mảnh gỗ di động áp sát gót chân, cho đến khi gót chân và bàn chân thẳng đứng tạo thành góc vuông với mặt phẳng nằm ngang thì đọc kết quả.
- Bước 5: Người đo chính và người trợ giúp kiểm tra lại vị trí nằm trên thước của trẻ. Lặp lại các thao tác trên nếu cần thiết.
- Bước 6: Người đo chính đọc to kết quả với 1 chữ số thập phân theo cm (0,1 cm) và gõ bỏ thanh trượt.
- Bước 7: Người trợ giúp lập tức bỏ hai tay giữ đầu trẻ, ghi lại kết quả đo, đọc to lần nữa kết quả, rồi đưa cho người đo chính kiểm tra lại kết quả đo trong phiếu hoặc máy tính bảng, hoặc các thiết bị cầm tay.
- Bước 8: Người đo chính kiểm tra lại kết quả đo trên phiếu có chính xác không. Hướng dẫn người trợ giúp sửa lại nếu phát hiện lỗi.
- Bước 9: Thông báo kết quả đo chiều dài nằm cho bố, mẹ trẻ hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính của trẻ.



Hình 4: Sơ đồ đo chiều dài nằm cho trẻ em dưới 2 tuổi

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, kiểm soát trẻ nhỏ, tập trung và cẩn thận trong ghi chép số đo là yếu tố then chốt đảm bảo việc đo chiều cao/ chiều dài cơ thể người được chính xác.

- Cán bộ cân đo nhân trắc phải có sức khỏe, chiều cao và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao.

- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế.

- Số liệu thu thập về chiều cao/ chiều dài cơ thể người đảm bảo chính xác.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả đo chiều cao/ chiều dài cơ thể được thông báo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

- Phiếu ghi kết quả đo được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

Handwritten signatures: *Đuân* and *MT*

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Tình huống trẻ nhỏ chưa có tờ khai sinh, hoặc ngày tháng trong tờ khai sinh không đúng với tuổi thật, hoặc bà mẹ/người chăm sóc trẻ không nhớ ngày tháng năm sinh của con để xác định tuổi thì cần khai thác thêm từ sổ sinh, sổ tiêm chủng của cán bộ y tế, hoặc phải đối chiếu từ âm lịch sang dương lịch hoặc dựa vào một sự kiện ở địa phương mà nhiều người biết đến để ước tính tuổi.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Một số người thừa cân mức độ vừa hoặc nặng có thể không thể đứng đảm bảo đủ tất cả các điểm chạm trên thân thước. Trong trường hợp này, điều quan trọng là đạt được phép đo tốt nhất có thể theo quy trình. Nếu thân của người được đo vẫn thẳng đứng trên thắt lưng, cánh tay và vai được thả lỏng, đầu nằm trong mặt phẳng Frankfort, thì tư thế này có thể chấp nhận được.

- Có một số trường hợp, người được đo từ chối không bỏ giày/dép hoặc cột tóc/búi tóc như được yêu cầu mà vẫn phải tiến hành đo chiều cao với cả giày/dép và búi tóc thì người đo chính phải xác định độ dài của búi tóc hoặc giày/dép để trừ đi để hiệu chỉnh với kết quả đo được. Tuy nhiên, đây không phải là một thực hành được khuyến nghị, cần hạn chế tối đa việc đo chiều cao cho người vẫn đeo giày/dép và cột tóc/búi tóc.

- Nếu trường hợp người được đo có chiều cao vượt mức giới hạn trên của thước thì chấp nhận ghi lại số đo chiều cao tự báo cáo của người đó.

- Khi trẻ 24 tháng tuổi có thể đo đứng hoặc nằm nhưng lưu ý khi đo đứng hoặc nằm thì ghi chú cụ thể phương pháp đo trên phiếu/sổ ghi kết quả. Nếu trường hợp trẻ trên 2 tuổi đo nằm thì kết quả được tính là kết quả đo được - 0,7 cm.

- Đối với trẻ sơ sinh và trẻ dễ bị kích động thì các kỹ thuật viên cần phải thật bình tĩnh và cẩn thận khi thực hiện các thao tác đo, không để trẻ một mình trên thước, luôn giữ trẻ trong tầm kiểm soát để phòng trẻ trườn ra hoặc té ngã, có thể yêu cầu bố, mẹ hoặc người chăm sóc trẻ tham gia hỗ trợ trong quá trình đo.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:

+ Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.

+ Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- World Health Organization and WHO Multicentre Growth Reference Study Group, 'Reliability of Anthropometric Measurements in the WHO Multicentre Growth Reference Study', *Acta Paediatrica*, 2018

- United Nations Children's Fund, 'Market Research on Height/Length Boards and Stadiometers', UNICEF Data and Analytics Section, 2015

- Lê Danh Tuyên. Phương pháp nhân trắc trong đánh giá dinh dưỡng trẻ em dưới 5 tuổi. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội

- National Center for Health Statistics. (2004). NHANES: Anthropometry procedures manual: Revised.

- Krishnan, R. H., Devanandh, V., Brahma, A. K., & Pugazhenth, S. (2016). Estimation of mass moment of inertia of human body, when bending forward, for the design of a self-transfer robotic facility. *Journal of Engineering Science and Technology*, 11(2), 166-176.

- WHO and UNICEF. (2019). Anthropometric indicators in children under 5 years old, 28-30.

- WHO. (2008). Training Course on Child Growth Assessment: Measuring a child's growth. Geneva, 15-18.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 06

Phụ lục 1: Phiếu cân đo

PHIẾU CÂN ĐO

Mã số phiếu:

--	--	--	--	--	--

Địa chỉ: Thôn:.....xã:.....huyện:.....tỉnh:.....

Ngày cân/đo: ngày.....tháng.....năm.....

Cán bộ cân/đo:.....

Họ và tên	Ngày sinh (ngày/tháng/năm)	Giới tính (Trai, gái)	Cân nặng (... kg)	Chiều cao (... cm)	Ghi chú (*)

(*) Ghi chú tình trạng sinh lý, bệnh lý của đối tượng: bà mẹ có thai ghi số 1, trẻ bị phù ghi số 2, trẻ dưới 24 tháng tuổi ghi số 3, ghi chú đặc biệt khác ghi số 4 và ghi rõ tại đây:

.....

Được *MT*

Phụ lục 2: Cách xác định tuổi trẻ

Quy tắc tính tuổi:

- Kể từ khi mới sinh đến trước ngày tròn tháng (từ 1 đến 29 ngày) được coi là 0 tháng tuổi.
- Từ tròn 12 tháng đến 12 tháng 29 ngày được coi là 12 tháng tuổi.
- Từ khi sinh đến trước ngày đầy năm (năm thứ nhất) gọi là dưới 1 tuổi.
- Khi nói trẻ dưới 2 tuổi tức là trẻ từ khi sinh đến dưới 24 tháng, trẻ dưới 5 tuổi tức là trẻ từ khi sinh đến dưới 60 tháng.

Cách tính tuổi:

- Sử dụng bảng trống để tính tháng tuổi:

Tháng Năm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2018												
2019												
2020												
2021												
2022												
2023												

- Khi điều tra ta sẽ ghi số 0 vào ô giống giữa tháng và năm điều tra, sau đó đánh số thứ tự tiến dần tính từ ô số 0 đó theo quy tắc từ phải qua trái, từ dưới lên trên đến hết ô trong bảng trống. Ví dụ: ngày điều tra tháng 4/2023

Tháng Năm	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
2018	63	62	61	60	59	58	57	56	55	54	53	52
2019	51	50	49	48	47	46	45	44	43	42	41	40
2020	39	38	37	36	35	34	33	32	31	30	29	28
2021	27	26	25	24	23	22	21	20	19	18	17	16
2022	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4
2023	3	2	1	0								

- Tiếp theo, giống ô tương ứng với tháng và năm sinh của trẻ. Nếu ngày điều tra lớn hơn hay bằng ngày sinh của trẻ thì giữ nguyên số đã tra được trong bảng. Nếu

ngày điều tra nhỏ hơn ngày sinh của trẻ thì ta trừ đi một số với số tháng tra được ở trong bảng.

- Ví dụ: ngày điều tra là 10/4/2023

+ Trẻ sinh ngày 9/7/2021, ta giống trong bảng trẻ được 21 tháng tuổi

+ Trẻ sinh ngày 24/3/2019, ta giống trong bảng theo hướng dẫn thì trẻ được: 49-1 = 48 tháng tuổi.

Ngoài ra, một cách khác có thể tính tháng tuổi bằng máy tính như sau :

Tháng tuổi = (Ngày điều tra – Ngày sinh)/30,4375



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 07:

SỬ DỤNG CÂN PHÂN TÍCH THÀNH PHẦN CƠ THỂ TANITA SC 330

1. Đại cương

1.1. Mục đích

- Thu thập được cân nặng, phần trăm mỡ cơ thể, khối lượng xương, khối lượng cơ, khối lượng nước... của đối tượng hoặc người bệnh đến khám phục vụ cho đánh giá tình trạng dinh dưỡng trong quá trình thăm khám hoặc điều tra.

1.2. Định nghĩa

- Thành phần cơ thể trong phạm vi quy trình này bao gồm các chỉ số về cân nặng, phần trăm mỡ cơ thể, khối lượng xương, khối lượng cơ, phần trăm nước, chỉ số mỡ nội tạng cụ thể:

- Phần trăm mỡ cơ thể được tính là tỉ lệ giữa khối lượng mỡ toàn phần và trọng lượng cơ thể.

- Khối lượng xương là khối lượng khoáng trong toàn bộ xương.

- Khối lượng cơ là khối lượng mô nạc trong cơ thể.

- Phần trăm nước là tổng lượng nước trong toàn bộ cơ thể so với tổng trọng lượng cơ thể và khác nhau giữa hai giới nam, nữ. Trong đó phần trăm nước trong cơ thể người nữ thường cao hơn so với nam.

- Mỡ nội tạng là mỡ nằm trong khoang bụng, bên trong, bao quanh các cơ quan quan trọng ở vùng bụng.

1.3. Nguyên lý hoạt động

- Cân Tanita SC 330 sử dụng công nghệ phân tích trở kháng điện sinh học BIA, truyền vào cơ thể một tín hiệu điện tần số thấp và tuyệt đối an toàn, tín hiệu điện này sẽ dễ dàng đi qua các tế bào máu, nước và dung dịch trong các tế bào vào cơ, nhưng sẽ gặp trở kháng khi tiếp xúc với chất béo trong cơ thể. Các thông số trở kháng này sẽ được ghi lại, phân tích và kết hợp với thông tin cá nhân của người dùng như cân nặng, chiều cao, giới tính và độ tuổi để đưa ra kết quả phân tích thành phần cơ thể chính xác nhất.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Sтт	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người cân (Dinh dưỡng viên hoặc Điều dưỡng, hoặc Kỹ thuật viên)	1	Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật cân. Trình độ trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư trực, công cụ dụng cụ

2.2.1. Vật tư trực tiếp

- Giấy in kết quả CT 100: 1/150 cuộn (20cm/lần cân).

- Bút ghi: 1 cái.

- Giấy A4: 1 tờ.
- Bộ quần áo bảo hộ y tế: 1 bộ.
- Khẩu trang y tế: 1 cái.

2.2.2. Công cụ dụng cụ

- Bàn làm việc: 1 cái.
- Ghế ngồi chờ: 2 cái.

2.3. Thiết bị

- Cân Tanita SC 330: 1 cái.

2.4. Chuẩn bị đối tượng

- Người thực hiện cân yêu cầu đối tượng cân cởi bỏ bớt quần áo, tư trang cá nhân (giày dép, tất, thắt lưng, điện thoại, ví, móc chìa khóa...).

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 10 phút.

Stt	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Người cân	Chuẩn bị dụng cụ	2 phút
		Chuẩn bị bệnh nhân	3 phút
		Cài đặt thông tin bệnh nhân	2 phút
		Tiến hành cân	2 phút
		Ghi kết quả	1 phút
	Tổng thời gian thực hiện kỹ thuật		10 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Quy trình này được thực hiện tại các khoa khám hoặc các phòng khám tư vấn dinh dưỡng có cân phân tích SC 330.

3. An toàn

- Cân Tanita SC sử dụng trực tiếp kết nối với nguồn điện vì vậy đảm bảo an toàn về điện phòng chống cháy nổ tại cơ sở y tế khám chữa bệnh theo Quyết định số 3047/QĐ-BYT ngày 10/11/2022 của Bộ trưởng Bộ Y tế.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Đối với trường hợp không phân tích thành phần cơ thể

*** Áp dụng cho phụ nữ mang thai, người bệnh bị phù.**

- Bước 1: bật nút nguồn “Bật/tắt”(“On/off”) ở bảng điều khiển

- Bước 2: ấn nút Phân tích thành phần cơ thể/Cân nặng (Body Composition/Weight only) để chuyển sang cân không phân tích (chỉ cho mỗi thông số cân nặng).

- Bước 3: nhập ước tính trọng lượng quần áo (Enter close weight), ấn Enter →

- Bước 4: đối tượng bước lên cân (Step on), chú ý đối tượng đứng đúng tư thế sao cho hai bàn chân đặt vào 4 ô vuông, đứng im, mắt nhìn thẳng →

- Bước 5: đợi 10 giây, máy phát ra tín hiệu “tít tít” kết thúc quá trình cân. Mời đối tượng bước xuống cân.

- Bước 6: nhận giấy in kết quả chạy ra từ bảng điều khiển. Ghi kết quả vào phiếu khám bệnh.

4.1.2. Đối với trường hợp có phân tích thành phần cơ thể

*** Áp dụng cho đối tượng từ 5 tuổi – 99 tuổi, không mang thai.**

- Bước 1: bật nút nguồn “Bật/tắt”(“On/off”) ở bảng điều khiển cân, đèn đang báo ở nút Phân tích thành phần cơ thể (Body Composition).

- Bước 2: nhập ước tính trọng lượng quần áo (Enter close weight) → ấn Enter. Nhập mã code đối tượng → Enter. Nhập thông tin Người bệnh theo tín hiệu trên cân:

+ Body type: chọn đối tượng ở dạng cơ thể (Standard - tiêu chuẩn hoặc Athletic - Vận động viên) → Enter,

+ Gender: chọn giới tính (Male – Nam hoặc Female -Nữ) → Enter

+ Age: nhập tuổi dương lịch (5-99) → Enter

+ Height: nhập chiều cao đối tượng theo cm chính xác với 1 số lẻ (90.0-249.9) → Enter

- Bước 3: Điều dưỡng hoặc Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân dinh dưỡng mời đối tượng đứng lên cân (Step on), chú ý đối tượng đứng đúng tư thế sao cho hai bàn chân đặt vào 4 ô vuông, đứng im, mắt nhìn thẳng) → Bước 4: Đợi 10 giây (khi máy phát ra tiếng tít tít) mời người bệnh bước xuống cân. In kết quả phân tích. Ghi kết quả vào phiếu khám bệnh.

4.2. Nhận định kết quả

- Điều dưỡng hoặc Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân dinh dưỡng ghi kết quả đo được vào phiếu khám bệnh. Đối với cân không phân tích, máy chỉ hiện thị thông số cân nặng của đối tượng được đo. Đối với cân có phân tích các thành phần cơ thể thì cân sẽ hiển thị thêm các chỉ số khác như sau:

4.2.1. Cân nặng (weight)

- Cân nặng hiện tại của đối tượng hiển thị theo đơn vị kg chính xác với 1 số lẻ sau dấu thập phân.

4.2.2. Cân nặng lý tưởng (ideal body weight)

- Cân nặng được tính theo BMI chuẩn 22. Tính theo đơn vị kg chính xác với 1 số lẻ sau dấu thập phân.

4.2.3. Phần trăm mỡ cơ thể (fat percentage)

- Phần trăm mỡ cơ thể được tính là tỉ lệ giữa khối lượng mỡ toàn phần và trọng lượng cơ thể. Phần trăm mỡ cơ thể cao thì tỉ lệ mắc các bệnh mạn tính như: tăng huyết áp, bệnh lý tim mạch, bệnh đái tháo đường và ung thư...cũng cao.

Tham khảo bảng phần trăm mỡ cơ thể dưới đây:

Tuổi	Nữ 5-60 tuổi trở lên				Nam 5-60 tuổi trở lên			
	Gầy	Khỏe mạnh	Béo	Béo phì	Gầy	Khỏe mạnh	Béo	Béo phì
5	1-14	14-22	22-26	≥ 26	1-12	12-19	19-23	≥ 23
6	1-14	14-23	23-27	≥ 27	1-12	12-20	20-24	≥ 24
7	1-15	15-25	25-29	≥ 29	1-13	13-20	20-25	≥ 25
8	1-15	15-26	26-30	≥ 30	1-13	13-21	21-26	≥ 26
9	1-16	16-27	27-31	≥ 31	1-13	13-22	22-27	≥ 27
10	1-16	16-29	29-33	≥ 33	1-13	13-23	23-28	≥ 28
11	1-16	16-29	29-33	≥ 33	1-13	13-23	23-28	≥ 28
12	1-16	16-29	29-33	≥ 33	1-12	12-23	23-28	≥ 28
13	1-16	16-29	29-33	≥ 33	1-12	12-22	22-27	≥ 27
14	1-16	16-30	30-34	≥ 34	1-11	11-21	21-26	≥ 26
15	1-16	16-30	30-34	≥ 34	1-10	10-21	21-25	≥ 25
16	1-16	16-30	30-34	≥ 34	1-10	10-20	20-24	≥ 24
17	1-16	16-30	30-35	≥ 35	1-10	10-20	20-24	≥ 24
18	1-17	17-31	31-36	≥ 36	1-10	10-20	20-24	≥ 24
19	1-19	19-32	32-37	≥ 37	1-9	9-20	20-24	≥ 24
20-39	1-21	21-33	33-39	≥ 39	1-8	8-20	20-25	≥ 25
40-59	1-23	23-34	34-40	≥ 40	1-11	11-22	22-28	≥ 28
60 trở lên	1-24	24-36	36-42	≥ 42	1-13	13-25	25-30	≥ 30

4.2.4. Khối lượng xương (bone mass)

- Khối lượng khoáng trong toàn bộ xương. Tham khảo bảng dưới đây:

Handwritten signatures and marks.

Nam			Nữ		
<65kg	65-95kg	>95 kg	<50 kg	50-70 kg	>70 kg
2,66	3,29	3,69	1,95	2,4	2,95

4.2.5. Tổng lượng nước toàn phần cơ thể (total body water)

- Tổng lượng nước trong cơ thể là lượng nước được lưu lại trong cơ thể. TBW được tính từ 50%-70% tổng trọng lượng cơ thể. Nhìn chung nam giới có trọng lượng nước cao hơn nữ giới do khối lượng cơ lớn hơn.

- Trọng lượng nước tham khảo như sau:

Nữ: 45-60%

Nam: 50-65% trọng lượng cơ thể

4.2.6. Tuổi sinh học (metabolic age)

- Hiện thị tuổi sinh học của đối tượng, chỉ số này cho biết độ tuổi thực tế của cơ thể. Được đánh giá là trẻ khi khối lượng cơ và chuyển hóa cơ bản lớn hơn so với người cùng tuổi.

4.2.7. Chuyển hóa cơ bản (BMR-basal metabolic rate)

- Là năng lượng tiêu hao của cơ thể để duy trì các chức năng sống của cơ thể như: hô hấp, tiêu hóa, tuần hoàn... khi cơ thể nghỉ ngơi. Chuyển hóa cơ bản chiếm tới 60- 70% tổng năng lượng cả ngày. Chuyển hóa cơ bản tính theo đơn vị kcal.

4.2.8. Chỉ số mỡ nội tạng (visceral fat rating)

- Mỡ nội tạng là mỡ nằm trong khoang bụng, bên trong, bao quanh các cơ quan quan trọng ở vùng bụng. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng ngay cả khi cân nặng và lượng mỡ trong cơ thể không đổi, thì khi cơ thể già đi, sự phân bố mỡ cũng sẽ thay đổi và có nhiều khả năng chuyển sang vùng bụng, đặc biệt là sau thời kỳ mãn kinh ở phụ nữ. Chỉ số mỡ nội tạng trong giới hạn cho phép sẽ giảm nguy cơ mắc một số bệnh như bệnh tim mạch, tăng huyết áp, đái tháo đường tip 2...

- Chú ý: khi tỷ lệ mỡ cơ thể thấp thì chỉ số mỡ nội tạng vẫn có thể cao.

Ngưỡng đánh giá như sau:

Chỉ số mỡ nội tạng	Đánh giá	Giải pháp
1 - 12	Bình thường	Duy trì lối sống lành mạnh.
13 – 59*	Cao	Thay đổi lối sống thông qua: + Chế độ ăn lành mạnh + Tăng cường tập thể dục.

* Cân Tanita SC 330 cung cấp cho các đối tượng có mức chỉ số mỡ nội tạng từ 1-59

4.2.9. Chỉ số khối cơ thể (body mass index)

- Tổ chức Y tế thế giới khuyến dùng “Chỉ số khối cơ thể” để đánh giá tình trạng dinh dưỡng người trưởng thành.

- Chỉ số khối cơ thể được tính theo công thức:

$$\text{BMI} = \text{Cân nặng (kg)} / \text{Chiều cao}^2 (\text{m}^2)$$

- Đánh giá BMI như sau:

BMI (kg/m ²)	Đánh giá
< 18,5	Suy dinh dưỡng
18,5 - 22,9	Bình thường
≥ 23	Thừa cân, béo phì

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Kết quả cân phân tích được thông báo cho người được đo hoặc người bảo hộ/chăm sóc chính.

- Phiếu ghi kết quả đo được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

Thứ tự	Tình huống	Xử lý
1	Người bệnh đang mang thai.	- Điều dưỡng hoặc Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân dinh dưỡng chỉ cài đặt phần đo cân nặng mà không phân tích các chỉ số cơ thể.
2	Cân không phân tích được.	- Điều dưỡng hoặc Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân dinh dưỡng kiểm tra tư thế đứng của người bệnh, yêu cầu người bệnh phải đứng đúng vị trí trên bàn cân và đứng im.
3	Sau khi cân phân tích xong. Máy không in được kết quả.	- Kiểm tra lại khay giấy in của cân xem còn giấy hay hết.
4	Người bệnh nghe kém, có vấn đề về nhận thức, không thể hiểu và làm theo hướng dẫn của Điều dưỡng hoặc Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân dinh dưỡng.	- Điều dưỡng hoặc Kỹ thuật viên hoặc Cử nhân dinh dưỡng nhờ người đi cùng hoặc trực tiếp hỗ trợ người bệnh đứng lên cân.
5	Màn hình hiển thị “Err 40” → Điện trở kháng bị lỗi.	- Đo bằng chân trần - Lòng bàn chân có thể bị khô, hãy nhỏ vài giọt nước khoảng 0,5ml lên điện cực trước khi đo.

Được

Được

Thứ tự	Tình huống	Xử lý
		- Kiểm tra thông tin nhập vào.
Thứ tự	Tình huống	Xử lý
6	Màn hình hiển thị “Err 61” → Điểm lỗi.	- Tắt nguồn và tháo bỏ các mục trên bộ đứng và bật nguồn trở lại sau đó thực hiện đo lường.
7	Màn hình hiển thị “00000” → Đo trọng lượng không ổn định.	- Kiểm tra xem cân có được đặt tại nơi rung lắc không? - Bộ đứng bị nghiêng? => Giữ bộ đứng trên bề mặt phẳng ngang. - Có vật gì vướng ở dưới bộ đứng không? => Kiểm tra và tháo vật đó ra.
8	Màn hình hiển thị “-----” → Không hiển thị bật nguồn.	- Kiểm tra nguồn điện đã kết nối chắc chắn chưa.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Thiết bị cân phân tích Tanita SC 330 hoạt động tốt, được kiểm tra và bảo dưỡng định kỳ.
- Môi trường đặt bàn cân trên mặt phẳng cố định, bằng phẳng, không rung lắc. Đảm bảo khô ráo, sạch sẽ.
- Nhân viên thực hiện cân được tập huấn thành thạo, đảm bảo được các quy trình kỹ thuật sử dụng cân phân tích.

7. Tài liệu tham khảo

- Sách hướng dẫn sử dụng máy phân tích thành phần cơ thể Tanita SC 330.
- National Center for Health Statistics. (2020). NHANES: Anthropometry procedures manual.
- WHO (1995). Physical status: The use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO expert committee. Technical report series No. 854. Geneva: World Health Organization.
- <http://viendinhduong.vn/vi/pho-bien-kien-thuc-chuyen-mon/danh-gia-tinh-trang-dinh-duong-va-theo-doi-tang-truong.html>.
- [Cách phân loại và đánh giá tình trạng dinh dưỡng dựa vào Z-Score \(viendinhduong.vn\)](#).

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 07**- Hình ảnh cân Tanita SC 330***Được**200*

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 8:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO BỀ DÀY LỚP MỠ DƯỚI DA

1. Đại cương:

1.1. Mục đích

Xác định bề dày lượng mỡ ở dưới da thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa

- Nếp gấp dưới da ở cơ tam đầu: Là phần sau của cơ tam đầu khi nhìn từ bên cạnh ở mức giữa móm cùng xương vai và móm trên lồi cầu xương cánh tay.

- Nếp gấp da dưới xương bả vai: Vị trí nếp gấp da dưới da nằm dưới đỉnh của góc dưới của xương vai phải. Vị trí này dài khoảng 2cm dọc theo một đường chạy dọc và xiên xuống từ móm dưới xương vai ở góc 45°. Vuốt theo bờ xương vai để xác định góc dưới của xương vai bằng ngón cái bên trái.

- Mỡ dưới da là (subcutaneous fat) là mô mỡ nằm ngay bên dưới lớp biểu bì và hạ bì của da.

- Lớp mỡ dưới da nằm giữa hạ bì và lớp cơ, các tiểu thùy mỡ (chủ yếu mỡ trắng) được liên kết bởi các vách xơ (fibrous septa).

1.3. Nguyên lý

Việc đo này có thể giúp đánh giá tình trạng mỡ cơ thể, theo dõi sức khỏe tổng thể, hoặc trong các nghiên cứu về dinh dưỡng, thể thao, và các vấn đề y tế liên quan đến béo phì hay thiếu cân.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện:

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người đo	01	Được đào tạo sử dụng thành thạo kỹ thuật đo bề dày lớp mỡ dưới da; trình độ: cao đẳng trở lên
2	Người trợ giúp đo	01	Được đào tạo sử dụng thành thạo kỹ thuật đo bề dày lớp mỡ dưới da; trình độ: cao đẳng trở lên

Người trợ giúp đo, chuẩn bị dụng cụ liên quan đến kỹ thuật đo bề dày lớp mỡ dưới da, hỏi ghi thông tin đối tượng vào phiếu kết quả (tối thiểu có bằng cao đẳng): 01 người.

2.2. Vật tư trực tiếp:

- Giấy A4: 01 tờ.

- Bút bi: 01 cái.

- Bút dạ bảng: 02 cái.

- Thước đo bề dày lớp mỡ dưới da: 01 cái.

- Thước dây chun không giãn, chia vạch cm: 01 cái.

2.3. Thiết bị:

Không áp dụng

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

Không áp dụng

2.5. Phiếu chỉ định/ xét nghiệm

- Đối với nghiên cứu, chủ nhiệm đề tài chịu trách nhiệm hoạt động sẽ quyết định việc sử dụng.

- Ở các phòng khám, bác sĩ hoặc cán bộ chuyên môn phù hợp sẽ chỉ định kỹ thuật cho người bệnh hoặc người có nhu cầu (nếu cần).

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Người đo	Hướng dẫn kỹ thuật và đọc kết quả	0,25
2	Người trợ giúp đo	Chuẩn bị dụng cụ liên quan đến kỹ thuật, hỏi ghi thông tin đối tượng và ghi kết quả vào phiếu kết quả	0,25

Thời gian trung bình thực hiện kỹ thuật: 0,5 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại các địa điểm thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn

- Các tình trạng da như vết thương, viêm da, mụn nhọt, nhiễm trùng hoặc các bệnh lý khác gây tổn thương da có thể gây khó khăn hoặc không an toàn khi thực hiện đo bề dày lớp mỡ dưới da. Việc đo có thể gây đau đớn hoặc làm tổn thương thêm vùng da bị viêm.

- Các vết sẹo lớn, phẫu thuật hoặc vết thương ở các vùng cơ thể cần đo bề dày mỡ dưới da (ví dụ: bụng, đùi, cánh tay) có thể ảnh hưởng đến kết quả đo vì lớp mỡ dưới da có thể bị thay đổi cấu trúc hoặc không thể đo được do sẹo hoặc các thay đổi do phẫu thuật.

- Một số người có thể bị dị ứng với kim loại hoặc vật liệu trong caliper hoặc thiết bị đo khác. Điều này có thể gây ra phản ứng dị ứng hoặc kích ứng da, vì vậy cần phải thận trọng khi sử dụng dụng cụ đo.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị đầy đủ và kiểm tra dụng cụ theo danh mục như phía trên.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị người được đo:

- Xác định thông tin chung: họ tên, ngày sinh, tuổi, giới tính và ghi vào mẫu phiếu.

- Giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện bỏ bớt quần áo dày.

4.1.3. Nguyên tắc chung khi thực hiện đo bề dày lớp mỡ dưới da bằng thước Skinfold Caliper

- Giữ ngón trỏ và ngón cái cách nhau khoảng 5 cm. Nắm lấy phần da và gấp lại. Chú ý chỉ gấp phần da và mô dưới da, không bầu vào phần cơ bên dưới.



- Đặt caliper khoảng 1 cm dưới ngón tay



- Đo với đầu Caliper ở trung tâm của nếp gấp da (không phải ở đỉnh hoặc ở đế)



- Đầu caliper phải vuông góc với nếp gấp da



- Sau khi nhả tay kẹp Caliper, để đầu caliper tự điều chỉnh khoảng 2 giây. Sau đó đọc và ghi lại số đo đến milimet gần nhất.

- Đo 3 lần với mỗi vị trí nếp gấp da.

- Báo trước với đối tượng là khi Caliper kẹp vào da thì có thể khó chịu một chút.

- Làm sạch Skinfold Caliper sau khi dùng với mỗi đối tượng.

4.1.4. Các bước thực hiện đo bề dày lớp mỡ dưới da dưới cơ tam đầu

- Chia chiều dài giữa móm cùng xương vai và móm trên lồi cầu xương cánh tay. Đánh dấu '+' tại điểm giữa móm cùng xương vai và móm trên lồi cầu xương cánh tay từ góc nhìn sau và trước. Đây là nếp gấp da cơ tam đầu.

- Xác định điểm chính giữa phía sau cánh tay, dùng ngón cái và ngón trỏ kéo phần nếp gấp da, đặt Caliper 1cm dưới ngón trỏ và ngón cái (90 độ so với cánh tay).



4.1.5. Các bước thực hiện đo bề dày lớp mỡ dưới da dưới xương bả vai

- Xác định điểm móm dưới cùng của xương bả vai bên phải. Nếu khó xác định điểm này, đề nghị đối tượng dùng tay quạt vẩy về phía sau để cảm nhận sự di chuyển của xương bả vai.

- Dùng ngón cái và ngón trỏ kéo phần nếp gấp da tại ngay dưới điểm này, tạo thành nếp gấp chạy ra phía ngoài cơ thể và có hướng đi xuống khoảng 45°.

- Đặt Caliper 1cm dưới ngón trỏ và ngón cái (90° so với bề mặt lưng).

Handwritten signatures in blue ink.



4.1.6. Các bước thực hiện đo bề dày lớp mỡ dưới da trên xương mào chậu

- Xác định điểm móm trên cùng của xương mào chậu bên trái, dùng ngón cái và ngón trỏ kéo phần nếp gấp da tại ngay trên điểm này.
- Phần da kéo lên theo nếp gấp tự nhiên hướng về phía trung tâm cơ thể và đi xuống khoảng 45° .
- Đặt calipers 1cm dưới ngón trỏ và ngón cái (90° so với bề mặt hông).



4.2. Nhận định kết quả

Quy trình này không áp dụng QC

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ở các phòng khám, bác sĩ hoặc người có chuyên môn phù hợp sẽ trả kết quả ngay cho từng đối tượng.
- Đối với các hoạt động tại cộng đồng hoặc nghiên cứu, kết quả không trả cho tất cả đối tượng, trừ một số trường hợp có vấn đề về dinh dưỡng, sức khỏe hoặc đối tượng yêu cầu thì chủ nhiệm đề tài hoặc người phụ trách hoạt động cân nhắc để trả kết quả phù hợp.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Chọn vị trí đo không chính xác: Việc chọn sai vị trí hoặc không tuân thủ đúng quy trình đo bề dày lớp mỡ dưới da có thể dẫn đến kết quả sai lệch. Các vị trí đo thường được chọn là các khu vực có mỡ dưới da rõ rệt như bắp tay, bụng, đùi, và các vùng khác.

+ Quá trình chuẩn bị không đầy đủ: Đo trong điều kiện không thoải mái như cơ thể chưa được thư giãn, người đo không hiểu rõ phương pháp có thể dẫn đến sai sót.

+ Chọn sai dụng cụ đo: Dụng cụ đo bề dày lớp mỡ dưới da, thường là caliper, cần phải có độ chính xác cao. Sử dụng dụng cụ cũ, không chính xác có thể dẫn đến sai sót.

- Xử trí:

+ Chọn đúng vị trí đo: Đảm bảo thực hiện theo các hướng dẫn cụ thể về vị trí đo để có kết quả chính xác. Ví dụ, đo ở những khu vực mỡ dưới da dày như bụng, đùi, bắp tay.

+ Chuẩn bị cơ thể: Người đo nên thư giãn, không căng thẳng, tránh tập thể dục hoặc ăn uống trước khi đo.

+ Kiểm tra dụng cụ đo: Đảm bảo caliper hoặc các dụng cụ đo được kiểm tra và đảm bảo độ chính xác trước khi sử dụng.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Kỹ thuật đo không chính xác: Đo không đúng kỹ thuật, không giữ caliper đúng góc hoặc áp lực không đều có thể ảnh hưởng đến kết quả.

+ Lực kẹp quá mạnh hoặc quá nhẹ: Nếu kẹp quá mạnh, có thể gây đau hoặc sai lệch kết quả. Ngược lại, kẹp quá nhẹ có thể không đo được đúng bề dày mỡ.

+ Không giữ bề mặt đo ổn định: Đo không ổn định do người đo di chuyển quá nhanh hoặc không kiên nhẫn.

- Xử trí:

+ Giữ kỹ thuật đo chuẩn: Đảm bảo sử dụng kỹ thuật đo đúng, giữ caliper vuông góc với bề mặt cơ thể và tạo lực kẹp ổn định.

+ Kiểm soát lực kẹp: Lực kẹp cần được điều chỉnh sao cho vừa đủ để đo chính xác nhưng không gây đau đớn cho người đo.

+ Đảm bảo ổn định trong suốt quá trình đo: Đảm bảo tay người đo ổn định và không di chuyển quá nhiều khi đo.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Ghi kết quả không chính xác: Quá trình ghi kết quả có thể bị sai sót do không chú ý hoặc ghi thiếu.

+ Đánh giá kết quả sai: Không so sánh kết quả đo với các chỉ số chuẩn hoặc không sử dụng đúng phương pháp tính toán để ước tính tỉ lệ mỡ cơ thể.

- Xử trí:

+ Kiểm tra lại kết quả: Sau khi đo, nên ghi lại kết quả ngay lập tức và kiểm tra lại để đảm bảo không có sai sót trong quá trình ghi chép.

+ So sánh với các chỉ số chuẩn: Đánh giá kết quả dựa trên các chỉ số chuẩn về mỡ cơ thể theo độ tuổi và giới tính, không chỉ dựa vào một lần đo mà cần phải có sự so sánh nhiều lần để có kết quả chính xác hơn.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình và giám sát viên trong cuộc điều tra hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Cashin, K., & Oot, L. (2018) Guide to Anthropometry: A practical tool for program planners, managers, and implementers. Washington DC: Food and Nutrition Assistance III Project (FANTA).

- CDC (2017). National Health and Nutrition Examination Survey. Anthropometry Procedures Manual.

- de Onis, M., Onyango, A. W., Van den Broeck, J., Chumlea, C. W., & Martorell, R. (2004). Measurement and standardization protocols for anthropometry used in the construction of a new international growth reference. Food and nutrition bulletin, 25(1_suppl1), S27-S36.

- International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK) (2011). International standards for Anthropometric Assessment. Lower Hutt: New Zealand.

- WHO (2008). Training course on Child Growth Assessment. WHO Child Growth Standards. B. Measuring a Child's Growth. Geneva: WHO.

- WHO (2011). Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation, Geneva, 8-11 December 2008.

8. Phụ lục, biểu mẫu đính kèm

Phụ lục 1: Phiếu đo bề dày lớp mỡ dưới da

Ngày đo: Ngày Tháng Năm

THÔNG TIN ĐỐI TƯỢNG:

Tên: _____

Giới: Nam Nữ Ngày sinh: Ngày Tháng Năm

Tuổi: _____

Trường/Mẫu giáo: _____

Lớp: _____

Phép đo	Người đo	Thời điểm	Lần đo			Trung bình/Trung vị
			1	2	3	
Bề dày lớp mỡ dưới da tại cơ tam đầu phải(mm)						
Bề dày lớp mỡ dưới da tại xương bả vai phải(mm)						
Bề dày lớp mỡ dưới da tại xương mào chậu phải(mm)						



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 9:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO CHIỀU CAO NGỒI CHO TRẺ TỪ 2 TUỔI

1. Đại cương:

1.1. Mục đích:

Xác định chiều cao ngồi cho trẻ từ 2 tuổi trở lên thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa

Chiều cao ngồi là thước đo được tính từ đỉnh đầu đến mông ngồi (từ sỏ tay nhân trắc học NHANES).

1.3. Nguyên lý

Chiều cao ngồi được sử dụng trong các nghiên cứu về tư thế, phát triển cơ thể, cũng như trong các ứng dụng lâm sàng hoặc y học, đặc biệt trong việc đánh giá sự phát triển của trẻ em và giúp thiết kế ghế ngồi, phương tiện giao thông, và thiết bị công thái học.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người đo	01	Được đào tạo sử dụng thành thạo kỹ thuật đo chiều cao ngồi; trình độ: cao đẳng trở lên
2	Người trợ giúp đo	01	Được đào tạo sử dụng thành thạo kỹ thuật đo chiều cao ngồi; trình độ: cao đẳng trở lên

Người trợ giúp đo, chuẩn bị dụng cụ liên quan đến kỹ thuật đo chiều cao ngồi, hỏi ghi thông tin đối tượng vào phiếu kết quả (tối thiểu có bảng cao đẳng): 01 người.

2.2. Vật tư trực tiếp:

- Giấy A4: 01 tờ.
- Bút bi: 01 cái.
- Thước đo chiều cao ngồi: 01 cái.
- Ghế gỗ tiêu chuẩn cao 40cm, dài 50cm, rộng 30cm: 01 cái.

2.3. Thiết bị:

Không áp dụng

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

Không áp dụng

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm:

- Tại phòng khám, bác sỹ hoặc cán bộ chuyên môn phù hợp chỉ định việc đo chiều cao ngồi bằng quy trình này cho từng bệnh nhân nếu cần.

- Trong hoạt động nghiên cứu, chủ nhiệm đề tài hoặc phụ trách hoạt động cần nhắc sử dụng quy trình này nếu cần để đo chiều cao ngồi cho đối tượng tham gia nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Người đo	Hướng dẫn kỹ thuật và đọc kết quả	0,15
2	Người trợ giúp đo	Chuẩn bị dụng cụ liên quan đến kỹ thuật, hỏi ghi thông tin đối tượng và ghi kết quả vào phiếu kết quả	0,15

Thời gian trung bình thực hiện kỹ thuật: 0,3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật:

Tại các địa điểm thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn

Các thiết bị phải đảm bảo không gây tổn thương cho đối tượng, tránh việc va chạm hoặc sử dụng lực quá mạnh trong quá trình đo.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị và kiểm tra dụng cụ theo danh mục như phía trên.

4.1.2. Bước 2:

- Đặt thước ở nơi bằng phẳng, cân bằng, thước đo phải dựa thẳng vào tường theo phương hướng thẳng đứng.

- Đặt ghế phía trước và dựa sát vào thước đo.

Chú ý:

- Thước và ghế ngồi không bị biến dạng, cong vênh trong các điều kiện thời tiết thông thường hoặc khi gặp nước mưa, nhiệt độ quá cao trong thời tiết mùa hè hoặc quá thấp trong thời tiết mùa đông, các va đập ở mức độ vừa.

- Thanh chuẩn thước cần đảm bảo độ chính xác cao. Các thanh chuẩn thước có thể có các độ dài 50, 100 hoặc 150cm. Khi hiệu chuẩn thước, các kết quả chuẩn thước cần được ghi chép lại. Hiệu chuẩn thước lý tưởng là được tiến hành trước mỗi lần đo, tuy nhiên, trên thực tế, việc hiệu chuẩn thước có thể được tiến hành trước khi đo đối tượng đầu tiên, hoặc sau mỗi lần tháo và lắp lại thước.

4.1.3. Bước 3: Chuẩn bị người được đo

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

- Xác định thông tin chung: họ tên, ngày sinh, tuổi, giới tính và ghi vào mẫu phiếu.

- Giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện bỏ bớt quần áo dày, mũ, kẹp tóc hay bất cứ thứ gì trên đầu làm ảnh hưởng đến việc đo chiều cao ngồi.

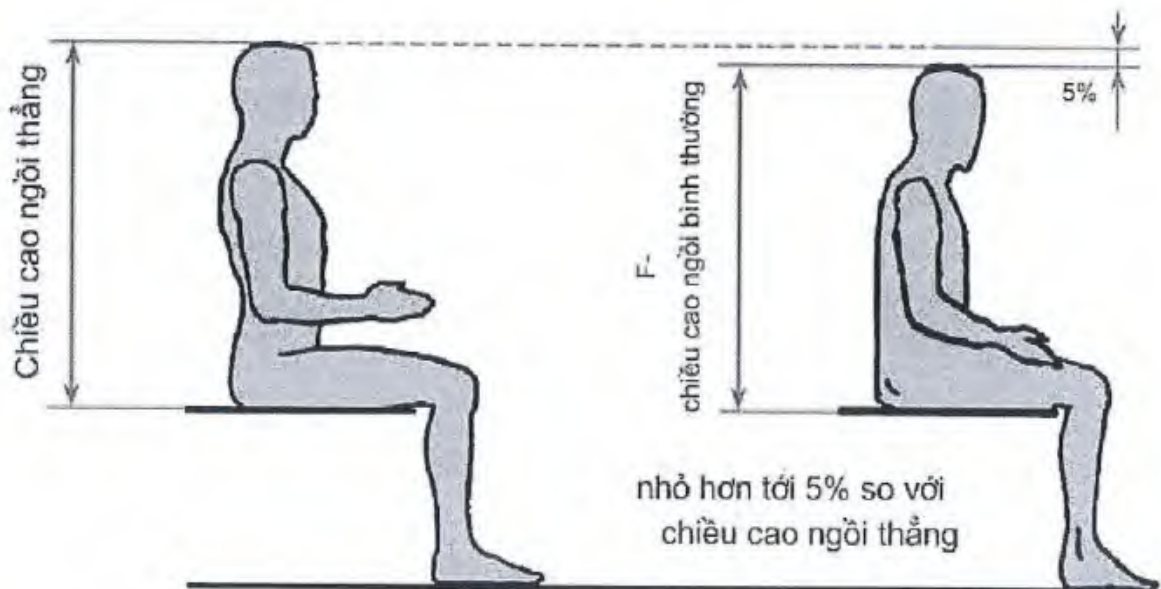
4.1.4. Bước 4: Quy trình thực hiện

- Người trợ giúp đo kiểm tra, đối chiếu các thông tin (tên, tuổi, giới tính ...) trên phiếu kết quả.

- Người đo yêu cầu đối tượng ngồi vào ghế đúng tư thế, đảm bảo lưng thẳng và áp sát vào thước sao cho trục của lưng trùng với trục của thước. Mắt nhìn thẳng ra phía trước, đầu thẳng sao cho ống tai và bờ dưới của mắt cùng nằm trên mặt phẳng. Đối tượng có thể ngồi theo 2 tư thế sau:

- Chiều cao ngồi thẳng đứng: 2 cánh tay duỗi thẳng và áp sát thân mình, cẳng tay duỗi thẳng về phía trước và vuông góc với cánh tay, 2 lòng bàn tay hướng vào nhau.

- Chiều cao ngồi bình thường: Cánh tay dọc 2 bên thân mình, 2 bàn tay đặt trên đùi.



- Người đo một tay giữ cầm, một tay kéo thanh trượt xuống sát đỉnh đầu đối tượng, đảm bảo thanh trượt ấn xẹp tóc của trẻ với một lực vừa phải.

- Chiều cao ngồi sau đó được đo bằng khoảng cách từ điểm cao nhất trên đầu đến mặt phẳng ngồi của ghế. Thực hiện đo lặp lại 2 lần, nếu kết quả lần đo thứ hai lệch quá **0,5 cm** so với lần đo thứ nhất, thì thực hiện lần đo thứ ba. Tính giá trị trung bình của hai lần đo, hoặc trung vị của ba lần đo là giá trị cuối cùng.

- Người đo đọc to số đã đo được với đơn vị là cm cùng 1 số lẻ thập phân (0.1cm). Người trợ giúp đo ghi ngay kết quả vào phiếu thông tin và đọc to lại cho người đo nghe rõ để cùng kiểm tra, tránh đọc và ghi sai số liệu.

- Sau khi đọc kết quả đo, người đo bỏ thanh trượt ra khỏi đầu của đối tượng, bỏ tay khỏi cầm và giúp đối tượng bước ra khỏi thước.

- Người đo kiểm tra kết quả đo được ghi trong phiếu xem có chính xác không và hướng dẫn người trợ giúp đo sửa lại nếu phát hiện lỗi.
- Thông báo kết quả đo chiều cao cho đối tượng.

Chú ý:

- Đối với Chiều cao ngồi bình thường, thì kết quả chiều cao ngồi của đối tượng cần được cộng thêm 5%.

- Không có tiêu chuẩn vàng nào cho việc đo chiều cao ngồi, nhưng khuyến nghị đề xuất rằng mặt sau của đầu gối phải tiếp xúc chặt với cạnh của dụng cụ ngồi, hoặc tiếp xúc với cạnh, đùi và bắp chân phải tạo thành một góc 90 độ, và các chân được hỗ trợ bởi một kệ có thể điều chỉnh được, mặc dù việc loại bỏ kệ sau đã mang lại kết quả gần giống nhau. Phải cẩn thận để đảm bảo đối tượng không co cơ mông cũng như không đẩy chân.

4.2. Nhận định kết quả

Quy trình này không áp dụng QC

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ:

- Ở các phòng khám, bác sĩ hoặc người có chuyên môn phù hợp sẽ trả kết quả ngay cho từng đối tượng.

- Đối với các hoạt động tại cộng đồng hoặc nghiên cứu, kết quả không trả cho tất cả đối tượng, trừ một số trường hợp có vấn đề về dinh dưỡng, sức khỏe hoặc đối tượng yêu cầu thì chủ nhiệm đề tài hoặc người phụ trách hoạt động cần nhắc để trả kết quả phù hợp.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Chuẩn bị không đúng tư thế: Nếu đối tượng không ngồi đúng tư thế (lưng thẳng, đầu thẳng, hai chân để xuống sàn), sẽ dẫn đến việc đo không chính xác.

+ Không sử dụng dụng cụ đo phù hợp: Dụng cụ đo chiều cao ngồi cần phải có độ chính xác cao. Nếu sử dụng dụng cụ kém chất lượng hoặc không đúng chuẩn, kết quả đo sẽ không chính xác.

+ Không đo trong môi trường thích hợp: Đo trong không gian không có đủ ánh sáng hoặc không gian không phẳng có thể làm sai lệch kết quả.

- Xử trí:

+ Hướng dẫn tư thế đúng: Trước khi đo, cần yêu cầu đối tượng ngồi thẳng lưng, hai chân đặt ngay ngắn trên mặt đất, đầu nhìn thẳng về phía trước và không nghiêng người.

+ Kiểm tra dụng cụ đo: Đảm bảo rằng dụng cụ đo (thước đo chiều cao ngồi, các bộ phận đo) được kiểm tra và hiệu chỉnh đúng cách.

+ Đảm bảo môi trường đo lý tưởng: Lựa chọn một không gian thoáng đãng, ánh sáng đầy đủ, và sàn phẳng để đảm bảo độ chính xác.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Được *MU*

- Sai sót:

+ Sai sót về vị trí của dụng cụ đo: Dụng cụ đo có thể không được đặt chính xác theo hướng thẳng đứng hoặc không đặt vào đúng điểm cần đo.

+ Chuyển động của người đo: Nếu đối tượng di chuyển hoặc thay đổi tư thế trong khi đo, kết quả có thể bị sai lệch.

- Xử trí:

+ Kiểm tra vị trí thước đo: Đảm bảo rằng dụng cụ đo được đặt vuông góc với mặt đất và đo từ đúng điểm (thường là từ mặt ghế ngồi đến đỉnh đầu khi người đó ngồi thẳng).

+ Giữ cho đối tượng không di chuyển: Hướng dẫn đối tượng giữ nguyên tư thế và không di chuyển trong suốt quá trình đo.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Không ghi kết quả đúng cách: Việc ghi lại kết quả không chính xác hoặc không rõ ràng có thể dẫn đến sai sót khi sử dụng kết quả sau này.

+ Quên kiểm tra lại kết quả đo: Đôi khi, người đo có thể quên kiểm tra lại kết quả sau khi đã đo xong.

- Xử trí:

+ Ghi kết quả ngay lập tức: Sau khi đo xong, ghi lại kết quả ngay lập tức để tránh quên hoặc sai sót.

+ Kiểm tra lại kết quả: Đảm bảo rằng kết quả đo đã được thực hiện đúng, nếu cần có thể đo lại để xác nhận tính chính xác.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình và giám sát viên trong cuộc điều tra hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK) (2011). International standards for Anthropometric Assessment. Lower Hutt: New Zealand.

- Hyegjoo E. Choi-Rokas, Todd Garlie (August 2014). Characterizing the Size of the Encumbered Soldier. U.S. Army Natick Soldier Research, Development and Engineering Center Natick, Massachusetts 01760-5020.

- Samuel A. Oyewole, Joel M. Haight (October 2015). The ergonomic design of classroom furniture computer work station for first. International Journal of Industrial Ergonomics.

- Classification Measurements (September 28, 2014).

- Measurement of Growth Anthropometry (November 18, 2014).
- Tim Massard, Job Fransen, Rob Duffield, Tony Wignell, Ric Lovell. Comparison of sitting height protocols used for the prediction of somatic maturation.
- Mohan Shenoy (February 28, 2014). Growth measures in Clinical Practice.
- Harriet V Kuhnlein (May 2005). Body mass index may overestimate the prevalence of overweight and obesity among the Inuit. International Journal of Circumpolar Health.

8. Phụ lục

Phụ lục 1: Phiếu đo chiều cao ngồi

Ngày đo: Ngày Tháng Năm

THÔNG TIN TRẺ:

Tên: _____

Giới: Nam ☐ Nữ ☐

Ngày sinh: Ngày Tháng Năm

Tuổi: _____

Trường/Mẫu giáo: _____

Lớp: _____

Phép đo	Người đo	Thời điểm	Lần đo			Trung bình/ Trung vị
			1	2	3	
Chiều cao ngồi (cm), hộp: 40 cm						

Sun *MO*

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 10:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT ĐO CHIỀU DÀI CẰNG CHÂN

1. Đại cương:

1.1. Mục đích:

Xác định chiều dài cẳng chân thông qua việc tiêu chuẩn hoá quy trình.

1.2. Định nghĩa:

Chiều dài cẳng chân là khoảng cách từ bề mặt của đầu gối gấp phải đến đáy của gót.

1.3. Nguyên lý:

Đo chiều dài cẳng chân là một bước quan trọng trong việc xác định sự phát triển của cơ thể và trong các ứng dụng y khoa hoặc thể thao. Nguyên lý đo chiều dài cẳng chân dựa trên việc đo khoảng cách giữa các điểm xác định trên cơ thể, từ đó tính toán chiều dài của cẳng chân. Cẳng chân được tính từ điểm trên đầu gối (mỏm chày) đến mắt cá chân (mỏm ngoài xương chày).

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người đo	01	Được đào tạo sử dụng thành thạo kỹ thuật đo chiều dài cẳng chân; trình độ: cao đẳng trở lên
2	Người trợ giúp đo	01	Được đào tạo sử dụng thành thạo kỹ thuật đo chiều dài cẳng chân; trình độ: cao đẳng trở lên

Người trợ giúp đo, chuẩn bị dụng cụ liên quan đến kỹ thuật đo chiều dài cẳng chân, hỏi ghi thông tin đối tượng vào phiếu kết quả (tối thiểu có bằng cao đẳng): 01 người.

2.2. Vật tư trực tiếp:

- Giấy A4: 01 tờ.
- Bút bi: 01 cái.
- Thước đo chiều dài cẳng chân: 01 cái.
- Ghế gỗ tiêu chuẩn cao 40cm, dài 50cm, rộng 30cm: 01 cái.

2.3. Thiết bị:

Không áp dụng

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

Không áp dụng

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm:

- Tại phòng khám, bác sỹ hoặc cán bộ chuyên môn phù hợp chỉ định việc đo bề dày lớp mỡ dưới da bằng quy trình này cho từng bệnh nhân nếu cần.

- Trong hoạt động nghiên cứu, chủ nhiệm đề tài hoặc phụ trách hoạt động cần nhắc sử dụng quy trình này nếu cần để đo chiều dài cẳng chân cho đối tượng tham gia nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Người đo	Hướng dẫn kỹ thuật và đọc kết quả	0,15
2	Người trợ giúp đo	Chuẩn bị dụng cụ liên quan đến kỹ thuật, hỏi ghi thông tin đối tượng và ghi kết quả vào phiếu kết quả	0,15

Thời gian trung bình thực hiện kỹ thuật: 0,3 giờ

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật:

Tại các địa điểm thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn:

- Thiết bị hỗ trợ: Các thiết bị đo tự động hoặc các dụng cụ chuyên dụng cần đảm bảo không gây áp lực lên cơ thể đối tượng và không làm tổn thương mô mềm hoặc xương trong quá trình đo.

- Đảm bảo không tạo áp lực lên cơ thể

+ Áp lực vừa phải: Khi đo, không nên tạo áp lực quá mạnh vào vùng xương (đặc biệt là đầu gối hoặc mắt cá chân) vì điều này có thể gây khó chịu hoặc tổn thương mô mềm. Cần phải đo nhẹ nhàng, tránh gây đau.

+ Không di chuyển quá mạnh: Trong khi đo, người đo hoặc người trợ giúp đo cần đảm bảo không di chuyển hoặc vặn vẹo chân của đối tượng, vì điều này có thể gây tổn thương cho khớp gối hoặc mắt cá chân.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị và kiểm tra dụng cụ theo danh mục như phía trên.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị dụng cụ

- Đặt thước và ghế ngồi ở vị trí ổn định, cân bằng, chắc chắn, theo phương thẳng đứng.

- Đặt ghế phía sau thước đo.

Chú ý:

- Thước và ghế ngồi không bị biến dạng, cong vênh trong các điều kiện thời tiết thông thường hoặc khi gặp nước mưa, nhiệt độ quá cao trong thời tiết mùa hè hoặc quá thấp trong thời tiết mùa đông, các va đập ở mức độ vừa.

- Thanh chuẩn thước cần đảm bảo độ chính xác cao. Khi hiệu chuẩn thước, các kết quả chuẩn thước cần được ghi chép lại. Hiệu chuẩn thước lý tưởng là được tiến hành trước mỗi lần đo, tuy nhiên, trên thực tế, việc hiệu chuẩn thước có thể được tiến hành trước khi đo đối tượng đầu tiên.

4.1.3. Bước 3: Chuẩn bị người được đo

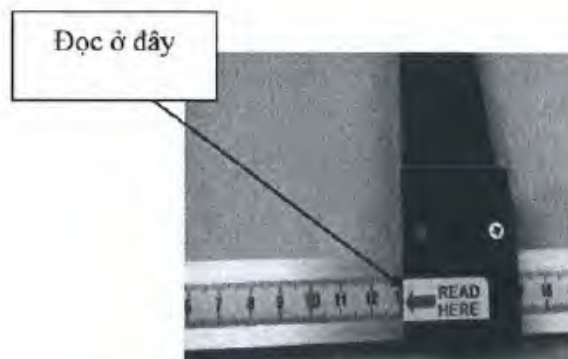
- Thu thập thông tin chung của đối tượng: họ tên, ngày sinh, tuổi, giới tính và ghi vào mẫu phiếu.

- Giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện bỏ bớt quần áo dày và giày dép.

4.1.4. Quy trình thực hiện

- Người trợ giúp đo kiểm tra, đối chiếu các thông tin (tên, tuổi, giới tính của đối tượng...) trên phiếu kết quả của đối tượng. Người đo yêu cầu đối tượng cởi bỏ giày dép và ngồi vào ghế, bộc lộ cẳng chân phải. Hướng dẫn đối tượng ngồi đúng tư thế: ghế với đầu gối được tạo thành một góc 90° . Bàn tay đặt ngang đùi và cách phía trước đầu gối khoảng 4cm.

- Người đo đặt lưỡi cố định của thước Caliper dưới gót chân phải và lưỡi thước di động ở mặt trước của đùi phải. Đặt trục thước Caliper song song với xương mác và trên mặt cá ngoài và ngay phía sau đầu xương mác. Một tay giữ chân đối tượng, một tay kéo thanh trượt xuống sát xương bánh chè, đảm bảo thanh trượt được kéo với một lực vừa phải.



- Thực hiện đo 3 lần và ghi kết quả vào phiếu. Người đo đọc to số đã đo được với đơn vị là cm cùng 1 số lẻ thập phân (0.1cm). Người trợ giúp đo ghi ngay kết quả vào phiếu thông tin và đọc to lại cho người đo nghe rõ để cùng kiểm tra, tránh đọc và ghi sai số liệu.

- Sau khi đọc kết quả đo, người đo nhắc dụng cụ đo ra khỏi chân của đối tượng, kiểm tra kết quả đo được ghi trong phiếu xem có chính xác không và hướng dẫn người trợ giúp đo sửa lại nếu phát hiện lỗi. Thông báo kết quả đo cho đối tượng/người chăm sóc của đối tượng.

4.2. Nhận định kết quả

Quy trình này không áp dụng QC

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ở các phòng khám, bác sĩ hoặc người có chuyên môn phù hợp sẽ trả kết quả ngay cho từng đối tượng.

- Đối với các hoạt động tại cộng đồng hoặc nghiên cứu, kết quả không trả cho tất cả đối tượng, trừ một số trường hợp có vấn đề về dinh dưỡng, sức khỏe hoặc đối tượng yêu cầu thì chủ nhiệm đề tài hoặc người phụ trách hoạt động cân nhắc để trả kết quả phù hợp.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Chọn sai điểm bắt đầu và kết thúc đo: Đo chiều dài cẳng chân cần phải xác định rõ điểm bắt đầu (từ mắt cá chân) và điểm kết thúc (đến đầu gối). Nếu xác định không chính xác, kết quả sẽ bị sai lệch.

+ Không chuẩn bị đúng tư thế: Đối tượng không đứng hoặc nằm đúng tư thế (chân thẳng, không co duỗi).

+ Dụng cụ đo không chính xác: Sử dụng thước đo không chính xác hoặc không đủ dài sẽ không đảm bảo được kết quả đúng.

- Xử trí:

+ Đảm bảo xác định điểm bắt đầu và kết thúc đúng: Xác định điểm đo từ xương lồi của mắt cá chân đến đầu gối của đối tượng. Đảm bảo không nhầm lẫn trong việc xác định các điểm này.

+ Hướng dẫn đối tượng đúng tư thế: Đối tượng cần ngồi thẳng, với chân phải duỗi thẳng, không co gối hoặc uốn cong chân. Nếu đo trong tư thế nằm, cần yêu cầu đối tượng nằm thẳng, giữ chân duỗi.

+ Kiểm tra dụng cụ đo: Sử dụng thước đo chính xác, đủ dài và hiệu chuẩn đúng cách để đo chiều dài cẳng chân. Có thể dùng thước cuộn hoặc thước dây mềm.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Sai lệch trong việc đo chiều dài: Nếu thước đo không được giữ thẳng và song song với mặt đất hoặc không theo đúng đường chéo của chân, kết quả sẽ không chính xác.

+ Đối tượng không duy trì đúng tư thế: Đối tượng có thể không giữ chân duỗi thẳng, khiến kết quả đo bị sai lệch.

+ Không chú ý đến các yếu tố gây sai lệch: Sự co thắt cơ hoặc thay đổi vị trí của người đo trong quá trình đo có thể dẫn đến sai sót.

- Xử trí:

+ Đảm bảo giữ thước đo thẳng: Khi đo, thước phải luôn song song với mặt đất và không bị lệch. Đảm bảo thước đo được giữ cố định từ điểm bắt đầu đến điểm kết thúc.

+ Giữ đối tượng trong tư thế đúng: Yêu cầu đối tượng giữ chân thẳng trong suốt quá trình đo, không co gối hoặc thay đổi tư thế.

+ Chú ý đến sự ổn định của cơ thể: Đảm bảo đối tượng không di chuyển hoặc thay đổi tư thế trong quá trình đo.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Sai sót:

+ Ghi kết quả sai hoặc không rõ ràng: Việc ghi lại kết quả không chính xác hoặc ghi sai đơn vị có thể dẫn đến hiểu nhầm hoặc mất đi tính chính xác của phép đo.

+ Không kiểm tra lại kết quả đo: Sau khi đo, không kiểm tra lại kết quả có thể dẫn đến sai sót trong kết quả cuối cùng.

- Xử trí:

+ Ghi kết quả ngay sau khi đo: Sau khi đo xong, ghi lại kết quả ngay lập tức và xác nhận đơn vị đo (centimet hoặc inch). Đảm bảo không bỏ sót bất kỳ thông tin nào liên quan đến phép đo.

+ Kiểm tra lại kết quả: Nếu cần, có thể thực hiện lại phép đo để đảm bảo tính chính xác. So sánh các lần đo để xác nhận kết quả.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình và giám sát viên trong cuộc điều tra hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo, tham chiếu

- Hyegjoo E. Choi-Rokas, Todd Garlie (August 2014). Characterizing the Size of the Encumbered Solder. U.S. Army Natick Soldier Research, Development and Engineering Center Natick, Massachusetts 01760-5020.

- Ihsane Hmamouchi. (January 2012). Clinically important improvement in the WOMAC and predictor factors for response to non-specific non-steroidal anti-inflammatory drugs in osteoarthritic patients: A prospective study. BMC Research Notes.

- Best C, Shepherd E (2020) Accurate measurement of weight and height 2: calculating height and BMI. Nursing Times.

- Samuel A. Oyewole, Joel M. Haight (October 2015). The ergonomic design of classroom furniture computer work station for first.

- Anita E Wluka, Yuanyuan Wang (February 2012). The associations between body and knee height measurements and knee joint structure in an asymptomatic cohort. BMC Musculoskeletal Disorders.

- Julieth Quiceno (February 17, 2021). How to Measure Height of Bedridden Adults.

- Anna Szczepanek, PhD and Aleksandra Zajac, MD (April 2014). Bedridden Patient Height Calculator.

- Gerardo Medina (June 14, 2017). How to use must.

8. Phụ lục

Phụ lục 1: Phiếu đo chiều dài cẳng chân

Ngày đo: Ngày Tháng Năm

THÔNG TIN ĐỐI TƯỢNG:

Tên: _____

Giới: Nam ☐ Nữ ☐

Ngày sinh: Ngày Tháng Năm

Tuổi: _____

Trường/Mẫu giáo: _____ Lớp: _____

Phép đo	Người đo	Thời điểm	Lần đọc			Trung bình/ Trung vị
			1	2	3	
Chiều dài cẳng chân (cm), hộp: 40 cm						

Được *không*

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 11:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN CƠ THỂ BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH TRỞ KHÁNG ĐIỆN SINH HỌC SỬ DỤNG CÂN INBODY 120

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Thu thập được cân nặng, khối mỡ cơ thể, khối cơ xương, phần trăm nước... của đối tượng hoặc người bệnh đến khám phục vụ cho đánh giá tình trạng dinh dưỡng trong quá trình thăm khám hoặc điều tra.

1.2. Định nghĩa

Thành phần cơ thể trong phạm vi quy trình này bao gồm các chỉ số về cân nặng, khối mỡ cơ thể, khối cơ xương, phần trăm nước cơ thể, mức độ mỡ nội tạng, tỷ số vòng eo/vòng hông, chuyển hóa cơ bản cụ thể:

- Khối mỡ cơ thể là tổng lượng mỡ trong cơ thể, bao gồm lớp mỡ dưới da và mỡ nội tạng.

- Khối cơ xương là tổng lượng cơ xương trong cơ thể.

- Phần trăm nước là tổng lượng nước trong toàn bộ cơ thể so với tổng trọng lượng cơ thể và khác nhau giữa hai giới nam, nữ. Trong đó phần trăm nước trong cơ thể người nữ thường cao hơn so với nam.

- Mức độ mỡ nội tạng là mỡ nằm trong khoang bụng, bên trong, bao quanh các cơ quan quan trọng ở vùng bụng.

- Tỷ số vòng eo/vòng hông được tính bằng cách lấy chu vi vòng eo chia cho chu vi vòng hông.

- Chuyển hóa cơ bản là năng lượng tiêu hao của cơ thể khi ở trạng thái nghỉ ngơi.

1.3. Nguyên lý

Loại cân này sử dụng phương pháp phân tích trở kháng điện sinh học (Bioelectrical impedance analysis- BIA) để phân tích thành phần cơ thể. Có thể sử dụng đo trở kháng ở từng phần cơ thể bằng phương pháp BIA từng phần (cánh tay trái, chân trái, thân người, cánh tay phải và chân phải). Mỡ và da trong cơ thể có trở kháng tương đối cao hơn do tính dẫn điện kém hơn so với cơ và máu. Phương pháp BIA sử dụng dòng điện mức thấp an toàn, không gây hại cho cơ thể, điều này đã được kiểm nghiệm và chứng minh.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người thực hiện	01	Được huấn luyện thành thạo kỹ thuật này, trình độ: cao đẳng trở lên
3	Người phê duyệt kết quả	01	Được huấn luyện thành thạo kỹ thuật này, trình độ: đại học trở lên

2.2. Vật tư trực tiếp

- Pin AA: 4 viên
- Ổ điện kéo dài: 1 cái
- Nhiệt ẩm kế: 1 cái
- Bút bi: 4 cái
- Máy in: 1 cái
- Giấy A4 (In phiếu ghi kết quả): 2 tờ
- Bộ quần áo bảo hộ y tế: 2 bộ

2.3. Thiết bị

- Cân Inbody 120 (nước sản xuất: Hàn Quốc): 1 bộ
- Máy vi tính được cài đặt phần mềm quản lý dữ liệu Lookin'Body120: 1 bộ
- Bàn làm việc (có thể sử dụng bàn tại địa phương): 1 chiếc
- Ghế (có thể sử dụng ghế tại địa phương): 4 chiếc

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

- Chuẩn bị cân và máy vi tính:

+ Trước khi tiến hành cân: lấy cân ra khỏi hộp đựng, kiểm tra các nút ấn trên cân, dây nguồn, các thiết bị kết nối.

+ Kiểm tra nguồn điện của cân Inbody 120: kết nối dây nguồn của cân Inbody 120 với nguồn điện. Bật công tắc nguồn của cân.

+ Cắm thiết bị kết nối qua bluetooth USB Lookin'Body vào máy vi tính.

Lưu ý: khoảng cách giữa máy vi tính và cân Inbody 120 nên ngắn hơn 10m (khoảng cách càng xa thì kết nối Bluetooth càng kém).

- Chuẩn bị địa điểm cân:

+ Khu vực đặt cân cần có đủ ánh sáng, đảm bảo ẩm vào mùa đông, tránh gió lùa.

+ Đặt cân ở vị trí ổn định, cân bằng, chắc chắn.

+ Cân Inbody 120 cần được bảo quản, vận chuyển và vận hành trong điều kiện nhiệt độ trên 10°C, độ ẩm từ 10-80% RH (không ngưng tụ).

+ Không để cân trực tiếp dưới ánh nắng mặt trời hoặc nơi quá nóng. Bảo vệ cân không bị ẩm ướt.

- Chuẩn bị cho đối tượng:

+ Đối tượng ngồi ở khu vực chờ, được sắp xếp phiếu đợi cân theo thứ tự, được giải thích rõ mục tiêu và hướng dẫn cách thực hiện còi, bỏ bớt những vật dụng ảnh hưởng tới cân nặng của cơ thể và tới tiếp xúc với vị trí điện cực chân của cân Inbody 120 như chìa khóa, vòng, nhẫn, điện thoại, áo dày, mũ nón, giày dép, tất/vớ...

- Chuẩn bị cho người thực hiện:

+ Người thực hiện sẽ nhập thông tin đối tượng vào phần mềm trên máy vi tính gồm: tên, code đối tượng, ngày sinh, giới tính, chiều cao (cm).

- + Tổ chức, sắp xếp đối tượng lên cân theo thứ tự.
- + Hướng dẫn đối tượng bỏ tất/vớ, bỏ bớt quần áo, đồ vật.
- + Hướng dẫn đối tượng đứng lên cân và nắm tay cầm (điện cực tay) đúng chỗ, đúng cách.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Đối với các nghiên cứu hoặc các hoạt động tại cộng đồng, chủ nhiệm đề tài hoặc người phụ trách hoạt động sẽ là người chịu trách nhiệm quyết định sử dụng kỹ thuật trong nghiên cứu hoặc hoạt động đó.

- Đối với các phòng khám, bác sĩ hoặc cán bộ chuyên môn phù hợp sẽ chỉ định kỹ thuật cho người bệnh hoặc người có nhu cầu (nếu cần).

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Người thực hiện	Chuẩn bị cân, nhập thông tin đối tượng, hướng dẫn đối tượng thực hiện quy trình cân, tiến hành cân cho đối tượng	0,6
2	Người phê duyệt kết quả	Giám sát toàn bộ quy trình cân của người thực hiện, kiểm tra việc trích xuất dữ liệu, lưu trữ và in kết quả ra giấy (nếu cần)	0,1
	Tổng thời gian		0,7

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại các địa điểm thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn

- Những người có thiết bị cấy ghép y tế như máy điều hòa nhịp tim hoặc thiết bị hỗ trợ cần thiết như hệ thống theo dõi bệnh nhân không được sử dụng cân Inbody 120. Dòng điện sẽ chạy qua cơ thể trong thời gian kiểm tra, có thể gây trực tiếp cho thiết bị hoặc gây nguy hiểm đến tính mạng.

- Cân Inbody 120 sử dụng trực tiếp kết nối với nguồn điện vì vậy đảm bảo an toàn về điện phòng chống cháy nổ tại cơ sở y tế khám chữa bệnh theo Quyết định số 3047/QĐ-BYT ngày 10/11/2022 của Bộ trưởng Bộ Y tế.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

- Bước 1: người thực hiện mở phần mềm Lookin'body 120, nhấn vào “đăng kí mới” đối tượng.

- Bước 2: người thực hiện hỏi thông tin đối tượng gồm: code, tên, ngày sinh, giới tính, chiều cao (cm) và nhập vào phần mềm Lookin'body 120, sau đó nhấn "sẵn sàng cân".

- Bước 3: người thực hiện hướng dẫn đối tượng đứng chân trần lên vị trí 4 điện cực chân (2 trước và 2 sau), đứng thẳng người, hai tay buông xuôi dọc thân, không cử động, mắt nhìn thẳng, trọng lượng dồn đều vào hai chân (chi tiết tại Phụ lục.Tư thế đứng và nắm điện cực tay đúng cách). Sau khi tiến trình cân hoàn thành, kết quả cân nặng hiển thị ổn định (màn hình LCD nhấp nháy biểu tượng người đứng).

- Bước 4: người thực hiện hướng dẫn đối tượng nắm tay cầm (điện cực tay) của cân Inbody 120 lên bằng hai tay sao cho 8 ngón tay bao phủ được bề mặt 2 vị trí của mặt dưới điện cực tay và 2 ngón tay cái đặt lên 2 vị trí điện cực tay hình oval. Cánh tay nắm điện cực tay cần được giữ thẳng tay và điện cực tay ở vị trí ngang bụng. Trong quá trình này vẫn giữ nguyên tư thế đứng khi được cân cân nặng ở bước trên (chi tiết tại Phụ lục.Tư thế đứng và nắm điện cực tay đúng cách).

- Bước 5: người thực hiện theo dõi phần mềm trên máy vi tính. Sau khi phần mềm báo "thành công", thì kết thúc quy trình thực hiện cân Inbody 120, mời đối tượng bước xuống cân.

- Bước 6: người thực hiện nhấn vào "Cài đặt", tại mục "Quản lý dữ liệu Lookin'Body", chọn "Trích xuất dữ liệu ra dạng Excel", chọn đối tượng cần trích xuất dữ liệu, sau đó nhấn "OK".

- Bước 7: người phê duyệt kết quả kiểm tra việc trích xuất dữ liệu thành công, nhận định kết quả và lưu trữ cẩn thận file dữ liệu trên máy tính hoặc in kết quả ra giấy (nếu cần).

4.2. Nhận định kết quả

Người phê duyệt kết quả được huấn luyện thành thạo kỹ thuật ghi kết quả đo được vào phiếu khám bệnh như sau:

4.2.1. Cân nặng (weight)

- Cân nặng hiện tại của đối tượng hiển thị theo đơn vị kg chính xác với 1 số lẻ sau dấu thập phân.

4.2.2. Khối mỡ cơ thể (Body fat mass)

- Khối mỡ cơ thể là tổng lượng mỡ trong cơ thể. Khối mỡ cơ thể cao thì tỉ lệ mắc các bệnh mạn tính như: tăng huyết áp, bệnh lý tim mạch, bệnh đái tháo đường và ung thư...cũng cao.

4.2.3. Khối cơ xương (Skeletal muscle mass)

- Chỉ số khối cơ xương (Skeletal muscle index, SMI) được tính bằng công thức (Khối cơ xương/chiều cao²). Giảm khối cơ được xác định khi SMI < 7 kg/m², và < 5,7 kg/m² tương ứng ở nam và nữ.

4.2.4. Tổng lượng nước toàn phần cơ thể (total body water)

- Tổng lượng nước trong cơ thể là lượng nước được lưu lại trong cơ thể. TBW được tính từ 50%-70% tổng trọng lượng cơ thể. Nhìn chung nam giới có trọng lượng nước cao hơn nữ giới do khối lượng cơ lớn hơn.

- Trọng lượng nước tham khảo như sau:

Nữ: 45-60% Nam: 50-65% trọng lượng cơ thể

4.2.5. Chuyển hóa cơ bản (BMR-basal metabolic rate)

- Là năng lượng tiêu hao của cơ thể để duy trì các chức năng sống của cơ thể như: hô hấp, tiêu hóa, tuần hoàn... khi cơ thể nghỉ ngơi. Chuyển hóa cơ bản chiếm tới 60-70% tổng năng lượng cả ngày. Chuyển hóa cơ bản tính theo đơn vị kcal.

4.2.6. Mức độ mỡ nội tạng (visceral fat level)

- Mỡ nội tạng là mỡ nằm trong khoang bụng, bên trong, bao quanh các cơ quan quan trọng ở vùng bụng. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng ngay cả khi cân nặng và lượng mỡ trong cơ thể không đổi, thì khi cơ thể già đi, sự phân bố mỡ cũng sẽ thay đổi và có nhiều khả năng chuyển sang vùng bụng, đặc biệt là sau thời kỳ mãn kinh ở phụ nữ. Mức độ mỡ nội tạng trong giới hạn cho phép sẽ giảm nguy cơ mắc một số bệnh như bệnh tim mạch, tăng huyết áp, đái tháo đường típ 2...

4.2.7. Chỉ số khối cơ thể (body mass index)

- Tổ chức Y tế thế giới khuyến dùng “Chỉ số khối cơ thể” để đánh giá tình trạng dinh dưỡng người trưởng thành.

- Chỉ số khối cơ thể được tính theo công thức:

$$\text{BMI} = \text{Cân nặng (kg)} / \text{Chiều cao}^2 (\text{m}^2)$$

- Đánh giá BMI như sau:

BMI (kg/m ²)	Đánh giá
< 18,5	Suy dinh dưỡng
18,5 - 22,9	Bình thường
≥ 23	Thừa cân, béo phì

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

4.3.1. Trả kết quả

- Ở các phòng khám, bác sĩ hoặc người có chuyên môn phù hợp sẽ trả kết quả ngay cho từng đối tượng.

- Đối với nghiên cứu hoặc các hoạt động tại cộng đồng, kết quả không trả cho tất cả đối tượng trừ một số trường hợp đối tượng có vấn đề về sức khỏe, vấn đề dinh dưỡng hoặc đối tượng yêu cầu thì chủ nhiệm đề tài hặc người phụ trách hoạt động sẽ quyết định việc cách thức trả kết quả phù hợp.

4.3.2. Lưu trữ hồ sơ

- Lưu trữ dữ liệu điện tử hoặc bản giấy (nếu cần).

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

- Cân không thực hiện tiến trình đo. Xử trí:
- + Cần đảm bảo tư thế đứng và nắm điện cực đúng cách.
- + Cần đảm bảo nguồn điện cho cân.
- + Cần đảm bảo kết nối giữa cân và máy vi tính.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Không áp dụng.

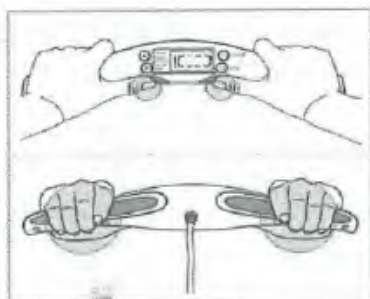
6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Kỹ thuật này không áp dụng đánh giá kiểm tra chất lượng bằng nội kiểm, ngoại kiểm, so sánh liên phòng hoặc kiểm tra mẫu mù.
- Nhân viên thực hiện cân và hỗ trợ được tập huấn thành thạo, đảm bảo các quy trình kỹ thuật.
- Kiểm tra kết quả phân loại theo ngưỡng.

7. Tài liệu tham khảo

- Youngseok Yi, Ji Yeon Baek, Eunju Lee, Hee-Won Jung, and Il-Young Jang (2022). A Comparative Study of High-Frequency Bioelectrical Impedance Analysis and Dual-Energy X-ray Absorptiometry for Estimating Body Composition. Life, 12, 994.
- Inbody Co., (2018). Inbody120 User's Manual.
- Osong Health Technology Administration Complex (2020). Certificate of Free Sales No. 20200048278 dated 2020/05/04.
- SGS United Kingdom Ltd (2016). ISO 13485:2016.
- IEC (2019). IEC system for mutual recognition of test certificates for electrical equipment (IECEE) CB scheme. Certificate No. KR-KETI3872.

8. Phụ lục. Tư thế đứng và nắm điện cực tay đúng cách



Giữ điện cực tay sao cho 4 ngón tay quấn bề mặt phía dưới điện cực cầm tay và đặt ngón tay cái lên điện cực hình bầu dục.



Cánh tay của bạn không được chạm vào hai bên cơ thể bạn. Khuyến khích mặc áo sơ mi có tay áo.

Giữ cánh tay thẳng.

Hai đùi không được chạm vào nhau. Mặc quần short mà sẽ tách đùi ra, nếu cần thiết.



Bước lên tất lót chân bằng chân trần.



Cân chỉnh bàn chân sao cho gót chân che các điện cực của đế sau trong khi lòng bàn chân che các điện cực của đế trước.

Handwritten signatures in blue ink.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 12:

ĐO THÀNH PHẦN CƠ THỂ BẰNG PHƯƠNG PHÁP DXA

1. Đại cương

1.1. Mục đích

- Quy trình này hướng dẫn kỹ thuật đo đánh giá thành phần cơ thể bằng phương pháp DXA cho các nhân viên vận hành và sử dụng kỹ thuật DXA, các nhân viên tại các Cơ sở y tế có sử dụng máy DXA.

- Đánh giá thành phần cơ thể của người đến khám và điều trị tại các Cơ sở y tế.

1.2. Định nghĩa

Trong phạm vi quy trình kỹ thuật này, thành phần của cơ thể bao gồm: khoáng chất của xương, khối mỡ và khối không mỡ.

1.3. Nguyên lý

Đo hấp phụ Photon kép nhưng nguồn phát tia X. Nguồn photon phát xạ lớn hơn DPA gấp 500-1000 lần, cho phép thời gian thăm dò ngắn (khoảng 5-7 phút), khả năng tái lập kỹ thuật tốt, mức độ sai số là 1%.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Người phụ trách an toàn phòng máy DXA, theo dõi quá trình đo, đọc và phê duyệt kết quả đo thành phần cơ thể, có Quyết định giao phụ trách an toàn, có chứng chỉ đào tạo về an toàn bức xạ: 1 bác sĩ chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ (hoặc nhân viên phù hợp). Cơ sở có thể bố trí người đọc kết quả đo thành phần cơ thể riêng.

- Người vận hành máy đo thành phần cơ thể (KTV1) đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật, có chứng chỉ nhân viên bức xạ, có chứng chỉ đào tạo an toàn bức xạ: 1 người.

- Người hỗ trợ đo, điều chỉnh tư thế người được đo (KTV2) đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật, có chứng chỉ đào tạo an toàn bức xạ: 1 người.

2.2. Vật tư trực tiếp, công cụ, dụng cụ,

2.2.1. Vật tư trực tiếp: ước tính trên 1 ca đo

- Khẩu trang y tế: 3 cái
- Thùng rác y tế, sinh hoạt: 2 cái
- Máy in màu (4 màu đen, đỏ, xanh, vàng/in kết quả): 1 cái
- Liều kế cá nhân: 3 cái
- Bộ quần áo bảo hộ lao động cho nhân viên đo: 3 bộ
- Quần áo người được đo: 1 bộ
- Ga giường đo: 1 cái
- Dung dịch sát khuẩn tay: 1 chai
- Giấy A4: 2 tờ

- Giấy A5 màu hồng: 1 tờ
- Mực in màu: 4 hộp
- Bút viết: 3 cái
- Dập ghim: 2 cái

2.2.2. Công cụ, dụng cụ

- Bộ máy tính dùng nhập và lưu kết quả (case, màn hình, máy in): 1 bộ
- Máy hút âm: 1 cái
- Máy điều hòa 1 chiều: 1 cái
- Đèn chiếu sáng: 9 cái
- Cây nước nóng lạnh: 1 cái
- Quạt treo tường: 1 cái
- Ghế băng ngồi chờ: 4 băng
- Bàn ghế làm việc: 1 bộ
- Ghế ngồi: 2 cái
- Tủ đựng tài liệu: 1 cái
- Móc treo quần áo: 1 cái
- Khung, rèm ri đô: 1 bộ
- Điện thoại bàn: 1 cái

2.3. Thiết bị

Hệ thống máy đo gồm: Máy DXA HOLOGIC EXPLORER, máy tính có đủ dây dẫn điện, cáp dẫn tín hiệu, màn hình, lưu điện, Phantom cột sống (Spine phantom), dụng cụ điều chỉnh tư thế người được đo: 1 bộ

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

2.4.1 Chuẩn bị đối tượng được đo:

- Bác sĩ trực tiếp hỏi kiểm tra loại trừ có mang thai hoặc nghi ngờ mang thai (đặc biệt phụ nữ tiền mãn kinh), có kim loại tại vị trí sẽ đo và một số chống chỉ định khác?
- Thông báo và giải thích cho người được đo việc đo đánh giá thành phần cơ thể mà mình sắp tiến hành làm cho người được đo theo chỉ định của bác sĩ.
- Kiểm tra, đối chiếu thông tin được ghi trên phiếu chỉ định đo với người được đo các thông tin như: họ và tên, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, cân nặng, chiều cao.

2.4.2 Chuẩn bị máy- Hiệu chỉnh QC máy.

- Hệ thống sẽ tự động thực hiện hiệu chuẩn đo thành phần cơ thể 1 lần/ tuần thông qua việc quét Daily Quality Control (Daily QC). Hệ thống theo dõi thời điểm hiệu chuẩn được thực hiện lần cuối và nếu một tuần đã trôi qua, hệ thống sẽ tự động thực hiện hiệu chuẩn khi chạy QC. Khi quá trình hiệu chuẩn này hoàn tất, nhấn OK để quay lại màn hình chính .

Được *mo*

- Kiểm tra các yếu tố gây nhiễu quá trình đo như các vật dụng che chắn bề mặt bộ phận phát tia, đảm bảo không có gì cản trở tia.

2.5. Phiếu chỉ định đo DXA

Quy trình tiếp đón người được đo đánh giá thành phần cơ thể trước khi tiến hành quá trình đo: Người được đo cần đăng ký khám và sàng lọc loại trừ mang thai hoặc nghi ngờ có thai (đặc biệt phụ nữ tiền mãn kinh) và một số chống chỉ định khác, được cân nặng và đo chiều cao đầy đủ. Tại phòng khám được bác sĩ chỉ định đo DXA, sau khi có chỉ định đo DXA → người được bác sĩ chỉ định đo nộp phí đo DXA tại quầy thu ngân → Nộp phiếu chỉ định đo DXA kèm theo biên lai thu tiền đo DXA tại phòng đo DXA.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Bảng 1: Tổng thời gian đo thành phần cơ thể: 35 phút/ca đo

STT	Nhân lực tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung thực hiện	Thời gian (phút)	
				Thao tác của cán bộ thực hiện	Tổng thời gian/ca đo
1	Người vận hành máy đo (KTV1)	Kỹ thuật viên đã được đào tạo về vận hành X-quang, được đào tạo về An toàn bức xạ, hiểu rõ các quy trình kỹ thuật đo. Có chứng chỉ Nhân viên bức xạ, chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1	5	23
			Bước 2	2	
			Bước 4	10	
			Bước 5	5	
			Bước 6	1	
2	Người hỗ trợ đo (KTV2).	Kỹ thuật viên đã được đào tạo, hiểu rõ các quy trình kỹ thuật đo và quy định An toàn bức xạ. Yêu cầu có chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1	2	22
			Bước 3	5	
			Bước 4	10	
			Bước 5	5	
3	Người phê duyệt kết quả	Bác sĩ chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ hoặc cử nhân chẩn đoán hình ảnh. Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và quy định ATBX, nắm vững kiến thức giúp chẩn đoán bệnh. biện luận kết quả. Có Quyết định phụ trách phòng Máy DXA, có chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1	2	20
			Bước 4	10	
			Bước 6	8	

- Bước 1: 5 phút

- Bước 2: 2 phút

- Bước 3: 5 phút
- Bước 4: 10 phút
- Bước 5: 5 phút
- Bước 6: 8 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Kỹ thuật đo đánh giá thành phần cơ thể được thực hiện tại phòng đo DXA. Phòng đo DXA được xây dựng và vận hành đảm bảo an toàn theo đúng quy định của pháp luật.

3. An toàn

Máy đo mật độ xương và thành phần cơ thể Hologic Explorer là thiết bị X-quang dùng trong chẩn đoán y tế. Trước khi tiến hành quy trình đo đánh giá mật độ xương tất cả nhân viên phòng máy phải tuân thủ nội quy an toàn bức xạ và vận hành an toàn thiết bị bức xạ được quy định trong Nghị định 142/2020/NĐ-CP ngày 09/12/2020 của Chính phủ Quy định về việc tiến hành công việc bức xạ và hoạt động dịch vụ hỗ trợ ứng dụng năng lượng nguyên tử và Thông tư liên tịch số 13/2014/TTLT-BKHCN-BYT ngày 9 tháng 6 năm 2014, tuân thủ đúng quy trình vận hành thiết bị X-quang theo đúng quy định trước, trong, sau khi tiến hành đo cho người được đo.

3.1. Cơ sở y tế phải xây dựng quy trình làm việc với thiết bị bức xạ, nguồn phóng xạ, nội quy an toàn bức xạ bảo đảm các yêu cầu sau:

a) Quy trình làm việc cần chỉ rõ các bước tiến hành công việc trong vận hành thiết bị bức xạ, làm việc với nguồn phóng xạ, làm việc trong khu vực có nguy cơ bị chiếu xạ hoặc nhiễm bẩn phóng xạ, chăm sóc người được đo uống thuốc phóng xạ hoặc cấy nguồn phóng xạ; quy trình thao tác đối với từng thiết bị, phác đồ điều trị đối với từng loại bệnh;

b) Nội quy an toàn bức xạ phải chỉ rõ các yêu cầu bảo vệ an toàn bức xạ cho nhân viên bức xạ y tế, các nhân viên khác trong cơ sở y tế, người được đo, người chăm sóc hoặc hỗ trợ người được đo và công chúng.

3.2. Nhân viên vận hành thiết bị bức xạ phải thực hiện nghiêm các bước tiến hành công việc:

a) Kiểm tra an toàn thiết bị trước khi bắt đầu và sau khi kết thúc công việc;

b) Đóng cửa ra vào trong suốt quá trình vận hành thiết bị;

c) Tuân thủ quy trình vận hành thiết bị;

d) Chú ý những tín hiệu bất thường của thiết bị bức xạ và thiết bị kiểm tra để kịp thời phát hiện sự cố, ngăn ngừa tai nạn;

đ) Không được tháo bỏ các bộ phận hư hỏng trong hệ thống bảo vệ của thiết bị và nối tắt để vận hành, ví dụ nối tắt hệ thống khóa liên động cửa ra vào phòng xạ trị.

4. Các bước tiến hành

Bước 1: Chuẩn bị người được đo

- Kỹ thuật viên sử dụng máy tính (KTV1):

+ Thông báo và giải thích cho người được đo việc đo đánh giá mật độ xương mà mình sắp tiến hành làm cho người được đo theo chỉ định của bác sĩ.

Được *MS*

+ Kiểm tra, đối chiếu thông tin được ghi trên phiếu chỉ định đo với người được đo các thông tin như: họ và tên, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, cân nặng, chiều cao.

+ Bác sĩ trực tiếp hỏi kiểm tra loại trừ có mang thai hoặc nghi ngờ mang thai, có kim loại tại vị trí sẽ đo và một số chống chỉ định khác?

- Kỹ thuật viên hiệu chỉnh tư thế đo của người được đo (KTV2): Hướng dẫn người được đo thay đồ và tháo bỏ các vật dụng, đồ dùng trang sức kim loại trên người vào hộp để đồ dành cho người được đo để chuẩn bị đo. Do độ nhạy của phân tích mô mềm, người được đo chỉ nên mặc quần áo bệnh viện hoặc quần áo vải mềm không có kim loại.

Bước 2: KTV1 Nhập thông tin của người được đo

- Kích biểu tượng Perform exam, chọn New patient màn hình sẽ hiện trang nhập thông tin của người được đo, cần điền đầy đủ thông tin của người được đo vào bao gồm:

+ Last Name, First Name, Middle Initial: Tên (gõ tiếng việt, không dấu, tên gõ trước, họ và tên đệm gõ sau)

+ Ethnicity: Phân loại người được đo: < 20 tuổi chọn Pediatric, > 20 chọn Asian

+ DOB (Month, Day, Year): tháng ngày năm sinh

+ Sex (Female hoặc Male): Giới tính (Chọn nữ hoặc nam)

+ Patient ID, Identifier2: Mã người được đo theo Phiếu khám

+ Referring Physician: Bác sĩ chỉ định

+ Menopause Age: Tuổi mãn kinh

+ Weight: cân nặng của người được đo (thông tin trên phiếu chỉ định đã được KTV tiếp đón thực hiện cân)

+ Height: chiều cao của người được đo (thông tin trên phiếu chỉ định đã được KTV tiếp đón thực hiện đo chiều cao)

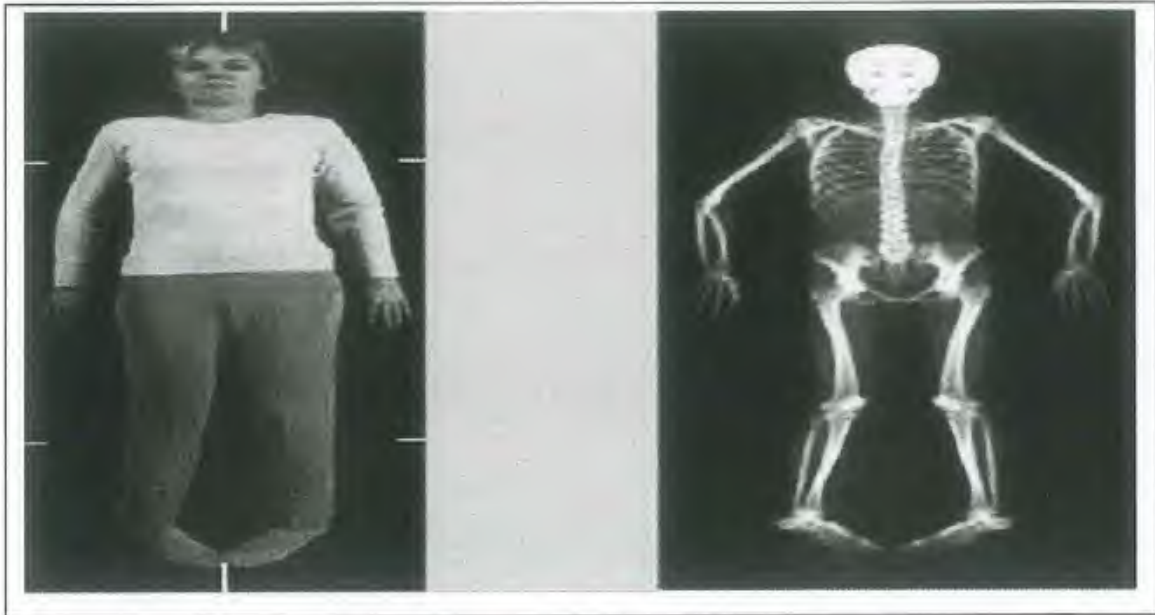
+ Patient comment:

+ Body Mass Index: Hệ thống sẽ tự động tính chỉ số khối cơ thể cho người được đo thông qua việc nhập dữ liệu tháng ngày năm sinh phía trên.

- Sau khi nhập hết các thông tin dữ liệu KTV1 → chọn OK

+ Máy tính hiển thị bảng thông tin đã nhập của người được đo. KTV1 kiểm tra lại thông tin của người được đo. Nếu tất cả các thông tin đã chính xác KTV1 chọn OK, nếu thông tin chưa chính xác chọn Edit để hiệu chỉnh lại thông tin cho chính xác.

Tại Select scan type, chọn vị trí cần đo → Chọn Whole body → Next (trên màn hình máy tính hiển thị hình ảnh mẫu về tư thế người được đo như hình 1)



Hình 1: Mẫu hiệu chỉnh tư thế đo toàn thân

Bước 3: Hiệu chỉnh người được đo trong phòng máy DXA

- Không được để gối trong quá trình quét, vì vật liệu này sẽ ảnh hưởng đến việc hiệu chỉnh mô mềm.

- Điều chỉnh tư thế người được đo đảm bảo trục của cơ thể trùng với trục dọc của bàn đo, đỉnh đầu chạm vào vạch dọc phía trên bàn đo, 2 ngón chân cái chạm vào nhau. Hai tay duỗi thẳng dọc thân, không để tay quá sát thân người được đo nhưng vẫn nằm trong khung vạch sẵn của bàn đo (quá trình phân tích kết quả sẽ thuận tiện hơn). Yêu cầu người được đo giữ nguyên tư thế, không được thay đổi tư thế cho đến khi quá trình đo kết thúc (tư thế này có thể gây khó chịu cho người được đo khi đo), có thể dặn người được đo trong quá trình đo có thể nhắm mắt như nằm ngủ để bớt căng thẳng.

** Lưu ý: Tại bước 3 quy trình đo thành phần cơ thể KTV1 không thể dùng quét để hiệu chỉnh trường quét trên máy tính. Nên yêu cầu KTV2 hiệu chỉnh tư thế nằm của người được đo chính xác và yêu cầu người được đo tuyệt đối không được thay đổi tư thế đã chỉnh cho đến khi được thông báo đã hoàn thành đo.*

Bước 4: Tiến hành đo

- KTV1 chọn Start scan để máy bắt đầu quét. Máy sẽ quét 07 lượt quét theo hết chiều dọc của bàn đo, hiển thị toàn bộ cấu trúc cơ thể. Mỗi lượt quét trung bình 02 phút. Đèn báo X-quang On nhấp nháy cho đến khi quá trình quét dừng lại.

- Bác sĩ giám sát người được đo và quyết định tiếp tục hay dừng đo trong trường hợp người được đo có vấn đề bất thường.

- Trong quá trình quét KTV1 có 3 sự lựa chọn:

- + Reposition scan (đặt lại vị trí quét)
- + Stop scan (dừng quét)
- + Abort scan (hủy bỏ quá trình quét)

Bước 5: Phân tích kết quả

Handwritten signatures in blue ink.

** Lưu ý: để có kết quả chính xác, KTV1 cần điều chỉnh các vùng bao gồm mô mềm một cách chính xác. Ví dụ: điều chỉnh vùng chân sao cho mô đùi nằm trong vùng chân thích hợp, không phải vùng cánh tay. Ở một số trường hợp, có thể có một phần nhỏ của bàn tay ở vùng đùi của người được đo. Đảm bảo rằng cánh tay của người được đo được đưa vào quá trình quét ở lần quét đầu tiên và cuối cùng của C-arm. Việc đó dẫn đến kết quả không chính xác.*

- Quá trình quét hoàn tất KTV1 nhấn vào ô Analay scan → Next

- KTV1 nhận định đủ kết quả BMD - Bone Mineral Density (mật độ khoáng xương) và kết quả BCA - Body Composition Analysis (phân tích thành phần cơ thể), (cách phân tích kết quả chi tiết tại phụ lục 1) → nhấn Close (đóng cửa sổ phân tích thành phần cơ thể) → Report (in kết quả).

- Cảnh báo: Nếu đèn báo X-quang của Bảng điều khiển không tắt trong vòng 10 giây sau khi kết thúc quá trình quét, hãy nhấn nút Dừng khẩn cấp màu đỏ ngay lập tức. Gọi cho kỹ thuật hãng Hologic trước khi tiếp tục hoạt động.

- KTV2 hướng dẫn người được đo và đỡ người được đo xuống khỏi bàn đo, dặn người được đo thay quần áo và kiểm tra lại đồ dùng cá nhân trước khi ra khỏi phòng đo.

Bước 6 : Trả lời kết quả cho người được đo

- KTV1 in kết quả.

- BS đọc kết quả, kết luận, trả kết quả cho người được đo. Quá trình đo thành phần cơ thể cho người được đo kết thúc.

- Theo Nghị định 155/NĐ-CP ngày 12 tháng 11 năm 2018 sửa đổi khoản a Điều 23a như sau: Phụ trách chuyên môn của Phòng khám chẩn đoán hình ảnh, phòng X – quang là bác sĩ chuyên khoa chẩn đoán hình ảnh hoặc cử nhân X – quang trình độ đại học trở lên, có chứng chỉ hành nghề. Khoản d Điều 23a như sau: Cử nhân X – quang trình độ đại học được đọc và mô tả hình ảnh chẩn đoán. Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không có bác sĩ chuyên khoa chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ X – quang thì bác sĩ chỉ định kỹ thuật hình ảnh đọc và ký kết quả chẩn đoán hình ảnh.

** Lưu ý:*

- Đối với phân tích thành phần cơ thể bằng Phép đo hấp thụ tia X năng lượng kép (DXA), nước dường như chứa một lượng nhỏ chất béo so với mô nạc nguyên chất. Giả định là nước có 8,6% chất béo. Do đó, nếu một người được đo tăng hoặc giảm một lượng lớn nước, 91,4% thay đổi sẽ xuất hiện ở khoang khối nạc và 8,6 % thay đổi sẽ xuất hiện ở khoang khối mỡ.

- Hệ thống chia cơ thể thành 7 Tiểu vùng và chúng có thể chồng lên nhau và có hình dạng không đều. Nếu các vùng chồng lên nhau thì giá trị trung bình dòng sẽ là sự kết hợp toán học của các vùng riêng lẻ.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Phiếu chỉ định sai, thiếu thông tin người được đo, thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, cần yêu cầu người được đo quay trở lại phòng bác sĩ cho chỉ định để bổ sung và điều chỉnh lại thông tin sai của người được đo.

- Chỉ định sai (phụ nữ đang mang thai, có kim loại tại vị trí đo), cần giải thích người được đo về việc tạm dừng đo và trao đổi với bác sĩ ra chỉ định.

- Trường hợp người được đo là trẻ em/người cao tuổi/người khuyết tật, cần sự hỗ trợ. Cần có người nhà/người chăm sóc hỗ trợ đảm bảo tư thế đo an toàn, tránh té ngã.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Người được đo không nằm yên, thay đổi tư thế trong quá trình đo, cần giải thích rõ để người được đo hiểu tác dụng của việc nằm yên trong quá trình đo, dặn dò người được đo thật kỹ về việc nằm yên trong quá trình đo sau khi hiệu chỉnh tư thế người được đo xong.

- Người được đo không hợp tác đo, cần Giải thích, động viên, trấn an tâm lý cho người được đo hiểu và bớt lo lắng, sử dụng ngôn ngữ hướng dẫn phù hợp với từng đối tượng để người được đo dễ hiểu dễ thực hiện.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

- Người được đo cảm thấy chóng mặt sau khi quá trình đo kết thúc, cần hỗ trợ cùng người nhà người được đo để di chuyển người được đo ra ghế ngồi chờ ngoài hành lang để người được đo có không gian thoáng, cho người được đo ngồi nghỉ ngơi và ăn nhẹ và uống sữa nếu người được đo đang đói.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Hiệu chuẩn máy đạt yêu cầu chất lượng.
- Máy được vận hành trong môi trường phù hợp.
- Nhập thông tin chính xác.
- Quá trình đo đảm bảo đúng kỹ thuật.
- Người được đo hiểu được các hướng dẫn của nhân viên y tế và phối hợp thực hiện tốt, nhanh chóng.
- Trường quét hiển thị vị trí quét chính xác, tránh làm mất thêm thời gian điều chỉnh lại vùng quét.
- Phân tích, biện luận kết quả chính xác.

7. Tài liệu tham khảo

- Body composition measured by dual-energy X-ray absorptiometry half-body scans in obese adults. Rothney MP1, Brychta RJ, Schaefer EV, Chen KY, Skarulis MC. Pubmed 2009 Jun;17(6):1281-6

- https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes/2011-2012/manuals/Body_Composition_Procedures_Manual.pdf

- Laskey M, Phil D. Dual-energy x-ray absorptiometry and body composition. Nutrition. 1996;12(1):45-51. [PubMed] [Google Scholar]

- Kelly TL, Berger N, Richardson TL. DXA body composition: theory and practice. Appl Radiat Isot. 1998;49(5-6):511-3. [PubMed] [Google Scholar]

- Blake GM, Wahner HW, Fogelman I. The evaluation of osteoporosis: Dual energy X-ray absorptiometry and ultrasound in clinical practice. 2nd ed. London: Martin Dunitz; 1999. [Google Scholar]

- Determining body composition using fan beam dual-energy x-ray absorptiometry. In: USA2001. 2001. [Google Scholar]

- Mazess RB, Barden HS, Ohlrich ES. Skeletal and body-composition effects of anorexia nervosa. Am J Clin Nutr. 1990;52(3):438–41. [PubMed] [Google Scholar]

- Shepherd JA, Sommer MJ, Fan B, Powers C, Stranix-Chibanda L, Zadzilka A, Basar M, George K, Mukwasi-Kahari C, Siberry G. Advanced Analysis Techniques Improve Infant Bone and Body Composition Measures by Dual-Energy X-Ray Absorptiometry. The Journal of pediatrics. 2017;181:248–53e3. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

- Demerath EW, Fields DA. Body composition assessment in the infant. American Journal of Human Biology. 2014;26(3):291–304. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

- Rothney MP, Brychta RJ, Schaefer EV, Chen KY, Skarulis MC. Body composition measured by dual-energy X-ray absorptiometry half-body scans in obese adults. Obesity. 2009;17(6):1281–6. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 012

Phụ lục 1: Phiếu chỉ định đo DXA

PHIẾU CHỈ ĐỊNH ĐO DXA

Họ tên:.....Ngày sinh...../...../.....1. Nam/ 2. Nữ

Địa chỉ:.....

Cân nặng (kg): □□□,□

Chiều cao (cm): □□□,□

Chẩn đoán lâm sàng:.....Mã BN:.....

STT	Chỉ định	KTV	Ghi chú
1	Đo 2 vị trí		
2	Đo toàn thân		

.....giờ....., ngày.....tháng.....năm 20.....

Bác sĩ chỉ định

Phụ lục 2: Yêu cầu bảo đảm an toàn bức xạ

Trích dẫn từ Điều 4, Điều 5 Thông tư liên tịch số 13/2014/TTLT- BKHCN-BYT

YÊU CẦU BẢO ĐẢM AN TOÀN BỨC XẠ

Điều 4. Yêu cầu chung về bảo đảm an toàn đối với thiết bị bức xạ, thiết bị sử dụng trong y học hạt nhân

1. Các thiết bị bức xạ sử dụng cho chẩn đoán, điều trị bệnh và các thiết bị được sử dụng trong y học hạt nhân phải có chứng chỉ chất lượng cho dạng hoặc loại thiết bị (type hoặc model) chỉ rõ việc tuân thủ với các yêu cầu bảo đảm an toàn theo tiêu chuẩn của Ủy ban Kỹ thuật điện quốc tế (IEC), Tổ chức Tiêu chuẩn hóa quốc tế (ISO) hoặc các tiêu chuẩn quốc gia tương đương.

2. Có các tài liệu đi kèm theo thiết bị, bao gồm tài liệu về thông số kỹ thuật của thiết bị, hướng dẫn vận hành và bảo trì, hướng dẫn an toàn. Các tài liệu hướng dẫn vận hành, hướng dẫn an toàn phải được dịch ra tiếng Việt.

3. Các chỉ dẫn vận hành hoặc các chữ viết tắt và các giá trị vận hành trên bảng điều khiển của thiết bị bức xạ phải bằng tiếng Việt hoặc bằng ngôn ngữ phù hợp với ngôn ngữ mà người vận hành máy sử dụng.

4. Thiết bị bức xạ phải có các cơ cấu kiểm soát chùm tia bức xạ chỉ thị rõ và tin cậy trạng thái chùm tia đang “ngắt” hay “mở”.

5. Thiết bị bức xạ phải có cơ cấu để khu trú chùm tia cho mục đích kiểm soát chùm tia chỉ vào vùng cơ thể người được đo cần chẩn đoán hoặc điều trị.

6. Trường bức xạ phát ra trong vùng để chẩn đoán hay điều trị trên người được đo phải đồng đều và độ không đồng đều của trường bức xạ phải được nhà cung cấp chỉ rõ.

Điều 5. Yêu cầu an toàn đối với thiết bị X - quang chẩn đoán trong y tế

Thiết bị X - quang chẩn đoán trong y tế ngoài việc thực hiện yêu cầu theo quy định tại Điều 4 Thông tư liên tịch này phải bảo đảm các yêu cầu sau:

1. Mức bức xạ rò của đầu bóng phát tia X không vượt quá 1mGy/giờ tại khoảng cách 1m từ vỏ đầu bóng phát tia X lấy trung bình trên diện tích không vượt quá 100 cm² cho mọi chế độ làm việc của thiết bị được nhà sản xuất khuyến cáo.

2. Giá trị lọc cố định của hệ đầu bóng phát X - quang trong đơn vị milimét nhôm tương đương (mm Al) phải ghi rõ trên vỏ hộp chứa bóng.

3. Có hệ kiểm tra kích thước chùm tia bằng nguồn sáng, trừ thiết bị X - quang chụp răng sử dụng phim đặt sau huyết ỏ răng và thiết bị X - quang chụp vú.

4. Các thông số điện áp phát (kV), dòng bóng phát (mA), thời gian phát tia (s) hoặc hằng số phát tia (mAs) phải được hiển thị trên tủ điều khiển khi đặt chế độ làm việc và khi chụp.

5. Đối với thiết bị chụp X - quang, việc phát tia phải được chấm dứt sau một thời gian đặt trước hoặc sau khi đạt giá trị mAs đặt trước hoặc đạt giá trị liều chiếu xạ đặt trước.

6. Đối với thiết bị X - quang soi chiếu phải có bộ kiểm soát tự động chế độ phát tia AEC hoặc công tắc điều khiển phát tia dạng bấm và giữ, bảo đảm thiết bị chỉ phát tia nếu công tắc được bấm, giữ chặt và sẽ ngừng phát tia khi thả công tắc.

7. Thiết bị X - quang di động phải có cáp nối đủ dài để bảo đảm khoảng cách giữa người vận hành thiết bị và bóng phát tối thiểu 2 m. Đối với thiết bị bức xạ khác, khoảng cách này tối thiểu là 3 m.

8. Thiết bị X - quang can thiệp phải có các tấm che chắn cao su chì lắp tại bàn người được đo để che chắn các tia bức xạ ảnh hưởng đến nhân viên và hệ che chắn treo trên trần để sử dụng cho mục đích bảo vệ mắt và tuyến giáp của nhân viên khi theo dõi người được đo. Các tấm che chắn cao su chì phải bảo đảm có chiều dày che chắn không nhỏ hơn 0,5 milimét chì tương đương.

Phụ lục 3: Nội quy an toàn bức xạ và quy trình vận hành máy X – quang **NỘI QUY AN TOÀN BỨC XẠ**

1. Phòng đo phải có biển cảnh báo phóng xạ, đèn báo phát tia.
2. Phải đóng cửa phòng máy trước khi tiến hành đo.
3. Không để chùm tia sơ cấp chiếu thẳng tới cửa ra vào và phòng điều khiển.
4. Trong khi đo tất cả các nhân viên phải đứng trong phòng điều khiển.
5. Cần phải sử dụng các dụng cụ bảo vệ để che chắn bộ phận sinh dục của người được đo khi cần thiết và cần điều chỉnh chùm tia vừa đủ để ghi hình.
6. Khi phải đỡ hoặc giữ người được đo để đo nên sử dụng giá đỡ cơ khí nếu có thể.
7. Không để người được đo chờ hoặc thay đồ trong phòng đo khi người được đo khác đang đo.
8. Nếu ai đó cần ở lại trong phòng đo để giữ người được đo trong khi đo thì người đó phải: Tránh hướng chùm tia trực tiếp.
9. Ghi chép hàng tháng, lịch làm việc của các nhân viên X - quang, người trợ giúp, số lần phát tia và kỹ thuật đã làm.
10. Nhân viên X – quang phải mang liều xạ kể trong giờ làm việc.
11. Quy định này áp dụng cho tất cả các nhân viên và mọi người đến Phòng đo mật độ xương.

Thủ trưởng đơn vị
(Ký tên và đóng dấu)

BẢN QUY TRÌNH VẬN HÀNH MÁY VÀ BẢO DƯỠNG MÁY

X – QUANG ĐO DXA

- Máy X- quang đo DXA là máy có công suất lớn, khi được sử dụng máy mới không được sử dụng hết công suất của máy.
- Không được sử dụng điện cao thế ngay từ đầu mà phải tập dượt cho máy quen dần với các thông số chiếu hoặc chụp.
- Khi nút chống chế quá tải báo hiệu đèn đỏ thì không được chiếu chụp cần phải kiểm tra và báo ngay cho người phụ trách trong khoa phòng.
- Trong quá trình làm việc của máy nếu ta thấy bóng X- quang quá nóng thì không được chiếu chụp chờ khi nào bóng nguội mới được làm.
- Trước khi chiếu chụp phải chuẩn bị các thông số cần thiết, chuẩn bị phim và các dụng cụ khác cần thiết để chiếu chụp, kiểm tra bộ phận, các núm trên máy và hoạt động của bóng X – quang.
- Vận hành nhẹ nhàng, nhanh chóng chính xác.
- Hàng ngày phải kiểm tra dây cáp, dây dẫn điện, các núm điều khiển thông số chiếu chụp, sau giờ làm việc phải vệ sinh phòng máy và các thiết bị khác.
- Chống ẩm ướt bằng cách phòng máy phải được lắp điều hòa, máy hút ẩm về mùa xuân để đảm bảo phòng máy luôn luôn khô ráo, thông thoáng.
- Chống han rỉ bằng cách thường xuyên sơn lại vỏ máy ở những vị trí bong sơn.
- Chống các côn trùng cắn dây cáp, dây điện trong tủ điện bằng cách cửa ra vào phòng chụp luôn được đóng kín.
- Hàng ngày sau khi làm việc phải đưa các thông số chiếu chụp về mức tối thiểu, bóng X – quang về vị trí nghỉ sau đó mới được ngắt nguồn điện.
- Vệ sinh phòng làm việc không được lau máy bằng khăn ướt, trước khi lau chùi phải ngắt điện lưới toàn bộ vào máy và các trang thiết bị khác.
- Hàng tháng phải kiểm tra đường dây điện trong tủ điều khiển, đặc biệt là các rò le, các ốc vặn, các má tiếp xúc nếu không tốt phải báo cho kỹ sư hoặc kỹ thuật chuyên ngành máy X – quang để có biện pháp khắc phục.



BẢN QUY TRÌNH VẬN HÀNH MÁY X - QUANG ĐO DXA

I. Khi đo cần tiến hành theo các bước sau :

1. Bật cầu dao
2. Bật điện vào máy
3. Chỉnh các núm tiêu chuẩn, đo theo từng vị trí được chỉ định.
4. Bấm nút đo

II. Khi dừng đo

1. Xoay vặn các núm tiêu chuẩn về vị trí thấp nhất
2. Cho máy ở vị trí nghỉ
3. Tắt nguồn điện vào máy rồi tắt cầu dao điện
4. Thường xuyên vệ sinh máy theo ca làm việc

Thủ trưởng đơn vị

(Ký tên và đóng dấu)

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 13:

ĐÁNH GIÁ THÀNH PHẦN CƠ THỂ THÔNG QUA ĐỊNH LƯỢNG DEUTERIUM OXIDE TRONG NƯỚC BỌT BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH QUANG PHỔ HỒNG NGOẠI BIẾN ĐỔI FOURIER (FTIR)

1. Đại cương

1.1. Mục đích:

Quy trình kỹ thuật này để đánh giá thành phần cơ thể thông qua định lượng deuterium oxide trong nước bọt bằng phương pháp phân tích quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR).

1.2. Định nghĩa:

- Thành phần cơ thể: là tỷ lệ phần trăm mỡ, nước, xương, cơ và các mô khác trong cơ thể. Trong quy trình này, thành phần cơ thể được chia thành hai khối: khối mỡ và khối không mỡ.

- D₂O: deuterium oxide

- IAEA: Tổ chức Năng lượng Nguyên tử Quốc tế (International Atomic Energy Agency).

- QC: Kiểm soát chất lượng (Quality control).

- Mẫu QC: Mẫu Kiểm soát.

- FTIR: Máy Quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy).

- TBW: Tổng lượng nước cơ thể (Total Body Water).

- FFM: Trọng lượng khối không mỡ (Fat Free Mass)

- FM: Trọng lượng khối mỡ (Fat Mass)

- BW: Trọng lượng cơ thể (Body Weight)

1.3. Nguyên lý

Chùm tia hồng ngoại phát ra từ nguồn được tách thành hai phần, một đi qua mẫu và một đi qua môi trường đo tham chiếu (dung môi), sau đó được bộ tạo đơn sắc tách thành từng bức xạ có tần số khác nhau và chuyển đến detector. Detector sẽ so sánh cường độ hai chùm tia và chuyển thành tín hiệu điện có cường độ tỉ lệ với phần bức xạ đã bị hấp thụ bởi mẫu. Mức làm giàu deuterium oxide trong nước bọt được dùng để ngoại suy tổng lượng nước cơ thể và tính thành phần cơ thể.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 2 nhân viên xét nghiệm đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật định lượng deuterium oxide trong nước bọt bằng phương pháp phân tích quang phổ hồng ngoại FTIR.

- 1 người phê duyệt kết quả được đào tạo về đánh giá thành phần cơ thể bằng phương pháp pha loãng đồng vị bền sử dụng máy FTIR có trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình, thẩm định, tính toán và phê duyệt kết quả.

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	02	Được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật định lượng deuterium oxide trong nước bọt bằng phương pháp phân tích quang phổ hồng ngoại FTIR
2	Người phê duyệt kết quả	1	Được đào tạo về đánh giá thành phần cơ thể bằng phương pháp pha loãng đồng vị bền sử dụng máy FTIR có trách nhiệm giám sát việc tuân thủ quy trình, thẩm định, tính toán và phê duyệt kết quả.

2.2. Vật tư

Sinh phẩm, hóa chất

Cồn 70% 10ml

Deuterium oxide D₂O 99,8% 02ml

Vật tư khác

Mũ trùm đầu dùng 1 lần 02 cái

Găng tay y tế không bột talc 02 đôi

Khẩu trang y tế 02 cái

Tem ghi nhãn 04 cái

Nước uống đun sôi để nguội 01 L

Bình định mức thủy tinh 50 mL 01 cái

Lọ/bình/chai thủy tinh 5L có nắp vặn 01 cái

Lọ/bình/chai thủy tinh 1L có nắp vặn 01 cái

Lọ/bình/chai thủy tinh 100mL có nắp vặn 07 cái

Bình tia nước cất nhựa 500 mL 01 cái

Micropipet (bán tự động, dung tích 500-5000 µL) 01 cái

Micropipet (bán tự động, dung tích 100-1000 µL) 01 cái

Micropipet (bán tự động, dung tích 20-200 µL) 01 cái

Micropipet (bán tự động, dung tích 10-100 μL)	01 cái
Đầu côn (tip) trắng có chia vạch, sử dụng cho pipet tự động dung tích 500 - 5000 μL)	01 cái
Đầu côn (tip) xanh có chia vạch, sử dụng cho pipet tự động dung tích 100 - 1000 μL)	10 cái
Đầu côn (tip) vàng có chia vạch, sử dụng cho pipet tự động dung tích 20 - 200 μL)	25 cái
Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia	01 cái
Tấm bông	10 cái
Găng tay không bột talc	02 đôi
Tuýp ly tâm 2mL	07 cái
Parafilm	15 cm^2
Khăn giấy	02 cái
Giấy A4	02 tờ
Bút dạ không phai	01 cái

2.3. Thiết bị

Máy phân tích quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier hãng Agilent 4500sFTIR hoặc tương đương	01 hệ thống
Cân kỹ thuật có độ chính xác $\pm 0,0001$ g hoặc tương đương	01 cái
Cân kỹ thuật có độ chính xác $\pm 0,001$ g hoặc tương đương	01 cái
Máy lắc vortex.	01 cái
Máy ly tâm, có thể đạt tốc độ vòng quay 4000 vòng/phút.	01 cái
Tủ bảo quản mẫu, nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.	01 cái
Tủ đông bảo quản mẫu nhiệt độ ≤ -18 °C.	01 cái

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

- Lượng mẫu thử nghiệm tối thiểu cho một lần phân tích là 0,2 ml nước bọt chưa trong ống ly tâm eppendorf.
- Mẫu thử nghiệm trước khi phân tích nếu được cất trong tủ đông thì được lấy ra để tan đá và về nhiệt độ phòng.
- Lắc bằng máy vortex cho đồng nhất rồi ly tâm ở 3500rpm trong vòng 10 phút.

Handwritten signatures and initials in blue ink.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: nếu tại phòng khám thì chỉ định theo bác sĩ, trong phạm vi nghiên cứu thì chỉ định làm thử nghiệm là do người nghiên cứu chính quyết định.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3,7 giờ

STT	Người tham gia	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Nhân viên xét nghiệm	Pha và phân tích dãy chuẩn và mẫu kiểm soát QC.	0,8
		Xử lý mẫu, phân tích mẫu, ghi kết quả và vệ sinh máy	0,8
		Xây dựng đường chuẩn và khoảng QC	0,5
		Kiểm soát độ ổn định máy	0,1
		Phân tích kết quả và kiểm soát chất lượng kết quả	0,5
		Báo cáo kết quả	0,8
		Kiểm soát môi trường làm thí nghiệm	0,1
2	Người phê duyệt kết quả	Kiểm tra, phê duyệt kết quả	0,1

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Quy trình có khả năng rủi ro có tác nhân gây bệnh trong mẫu nước bọt.
- Quá trình ly tâm, vortex có khả năng xảy ra văng mẫu, vỡ ống mẫu.
- Cán bộ kiểm nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các biện pháp phòng cháy nổ, an toàn điện được thực hiện theo quy định của cơ quan quản lý.
- Các chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng qui định trong An toàn sinh học.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chuẩn bị dung dịch trung gian 10000ppm (dung dịch A):

- Cân lọ thủy tinh 1L có nắp trên cân phân tích có độ chính xác 0,001g, ghi lại trọng lượng lọ + nắp.

- Mở nắp, thêm 10g deuterium oxide D₂O 99,8%; ghi lại trong lượng chính xác.
- Thêm 890g nước uống đun sôi để nguội vào lọ, ghi lại trọng lượng chính xác.
- Đóng nắp lại, cân trọng lượng chính xác của cả lọ và dung dịch; ghi lại.

Lưu ý: Cất dự trữ 5L nước uống đun sôi để nguội cùng loại dùng trong bước này trong tủ lạnh 4-8°C, ghi nhãn có ngày bắt đầu lưu (tối đa 2 năm) để sử dụng làm mẫu nền do hàng ngày trên máy FTIR.

4.1.2. Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu chuẩn deuterium oxide D₂O 1000ppm (mẫu B) được pha như sau:

- Cân lọ thủy tinh 100ml có nắp trên cân phân tích có độ chính xác 0,001g, ghi lại trọng lượng lọ + nắp.

- Mở nắp, dùng pipet nhựa bóp lấy 12g dung dịch A đã pha ở trên vào lọ (chú ý đảo trộn đều lọ đựng dung dịch A trước khi hút dung dịch); ghi lại trong lượng chính xác.

- Thêm 100g nước uống đun sôi để nguội vào lọ, ghi lại trọng lượng chính xác.

- Đóng nắp lại, cân trọng lượng chính xác của cả lọ và dung dịch; ghi lại.

Mẫu chuẩn deuterium oxide D₂O 300ppm (mẫu C) được pha như sau:

- Cân lọ thủy tinh 100ml có nắp trên cân phân tích có độ chính xác 0,001g, ghi lại trọng lượng lọ + nắp.

- Mở nắp, dùng pipet nhựa bóp lấy 3,4g dung dịch A đã pha ở trên vào lọ (chú ý đảo trộn đều lọ đựng dung dịch A trước khi hút dung dịch); ghi lại trong lượng chính xác.

- Thêm 100g nước uống đun sôi để nguội vào lọ, ghi lại trọng lượng chính xác.

- Đóng nắp lại, cân trọng lượng chính xác của cả lọ và dung dịch và ghi lại.

4.1.3. Chuẩn bị dãy chuẩn

Dãy chuẩn gồm các dung dịch D₂O 100ppm, 200ppm, 400ppm, 600ppm và 800ppm, được pha trong lọ 100ml tương tự như mô tả trong phần 5.1.2. Lượng tính toán cho mỗi dung dịch được liệt kê trong Bảng 1 dưới đây. Nồng độ thực tế dựa trên lượng cân thực sẽ được tính toán trong file Excel.

Bảng 1: Tính toán pha mẫu kiểm soát và dãy chuẩn

Nồng độ	Lượng dung dịch A	Lượng nước uống	Tính nồng độ làm giàu
ppm ² H	(g)	(g)	ppm ² H thực tế
100 ppm	1,110	100,01	100,48
200 ppm	2,220	100,00	198,80
400 ppm	4,580	100,01	400,85
600 ppm	7,030	100,02	601,15

Handwritten signatures and initials in blue ink.

800 ppm	9,590	100,01	801,00
1000ppm (mẫu B)	12,350	100,010	1006,21
300ppm (mẫu C)	3,400	100,00	300,99

Phân tích trên hệ thống FTIR 4500s

4.1.4. Chuẩn bị hệ thống FTIR 4500s:

Trước khi tiến hành đo, bật máy và để máy làm ấm trong 2,5 giờ. Thực hiện các bước tiếp theo theo quy trình vận hành máy FTIR của hãng sản xuất.

4.1.5. Phân tích mẫu kiểm soát (mẫu QC) và mẫu nước bọt

- Dùng tấm bông lau mặt phẳng quang bằng cồn y tế rồi lau khô bằng tấm bông khô.

- Dùng pipet hút 30 μ l mẫu lên mặt phẳng quang và tiến hành đo theo Quy trình sử dụng máy của nhà sản xuất.

- Chờ 90 giây để đọc kết quả, ghi lại vào phiếu theo dõi. Lau mặt phẳng quang bằng cồn, lau khô rồi lặp lại các bước đo trên máy.

- Phân tích mẫu kiểm soát lặp lại 3 lần, phân tích mẫu nước bọt trước và sau khi uống liều deuterium oxide 3 lần. Sự khác biệt giữa hai lần lặp lại nên trong khoảng 3 mg/kg. Nếu không đạt, tiến hành đo lại tới khi kết quả hai lần đo liên tiếp khác nhau trong khoảng 3 mg/kg. Ghi lại kết quả duplicate đạt yêu cầu vào sổ thí nghiệm hoặc bảng excel.

Bảng 2: Bảng ghi kết quả đo mức làm giàu D₂O trong mẫu thử nghiệm

Ngày phân tích	ID mẫu	Trước liều D ₂ O (mg/kg)		Sau liều D ₂ O lần 1 (mg/kg)		Sau liều D ₂ O lần 2 (mg/kg)	
		Lần 1	Lần 2	Lần 1	Lần 2	Lần 1	Lần 2

Chú ý khi phân tích mẫu nước bọt:

- Mức làm giàu deuterium trong mẫu nước bọt trước khi uống liều thử nghiệm cần phải tương tự giữa những người sống trong cùng khu vực. Nếu một người có giá trị khác biệt nhiều so với mức trung bình thì có khả năng mẫu đã bị ô nhiễm. Nếu người đó gần đây sống ở vùng khác trên thế giới trong thời gian dài thì người đó cũng có mức làm giàu deuterium khác biệt.

- Luôn thay đầu tip pipet giữa các mẫu để hạn chế lây nhiễm chéo.

4.1.6. Phân tích mức làm giàu trong mẫu liều D₂O

Đối với trường hợp cần phân tích mức làm giàu D2O trong mẫu 10% D2O (liều uống), phải pha loãng 1:500 rồi tiến hành đo như mô tả ở Phụ lục 3.

4.1.7. Đóng máy cuối ngày

- Sau khi hoàn thành phân tích mẫu trong ngày, phân tích lại mẫu kiểm soát, bắt đầu bằng mẫu 0ppm (nước uống) rồi tới mẫu 1000ppm (mẫu B) hoặc mẫu 300ppm (mẫu C).

- Đóng máy đúng theo hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

4.2. Nhận định kết quả

- Tổng lượng nước cơ thể (Total Body Water TBW) theo kg được tính từ mức làm giàu D2O trung bình của lần lấy mẫu sau 2,5h và 3h (E) (mg/kg) hiệu chỉnh cho mức làm giàu D2O trong mẫu nền lấy trước khi uống liều D2O.

- Hệ số hiệu chỉnh cho lượng D2O hòa vào phần không nước của cơ thể là 1,041 được thêm vào.

- Công thức tính tổng lượng nước cơ thể được xác định như sau:

$$TBW(kg) = VD(kg)/1.041$$

Trong đó:

$$VD(kg) = \text{Liều D2O(mg)}/\text{Mức làm giàu } ^2\text{H trong nước bọt (E) (mg/kg)}$$

- Trọng lượng Khối không mỡ (Fat Free Mass – FFM) được tính bằng TBW nhân với hệ số nước cơ thể (hydration factor) 0,73 cho người lớn.

$$FFM = TBW \times 0,73$$

- Trường hợp đối tượng nhỏ hơn 20 tuổi thì theo bảng hệ số cho nhóm tuổi và giới theo Phụ lục 5.

- Trọng lượng Khối mỡ (Fat Mass – FM) là hiệu số giữa tổng trọng lượng cơ thể (Body Weight – BW) và trọng lượng Khối không mỡ. Tỷ lệ mỡ cơ thể là tỷ lệ % của trọng lượng của khối mỡ trên tổng trọng lượng cơ thể (BW).

$$FM = \text{Tổng trọng lượng cơ thể} - FFM$$

$$\%FM = FFM/BW \times 100\%$$

- Mức làm giàu D2O trong mỗi mẫu thử nghiệm được báo cáo trong Bảng 2. Bảng ghi kết quả đo mức làm giàu D2O trong mẫu thử nghiệm, Mục 5.2.2.

- Kết quả phân tích từng mẫu được báo cáo theo đơn vị mg/kg, chính xác đến 0,1 mg/kg.

- Các mẫu làm lặp lại 2 lần và lấy kết quả trung bình.

Thành phần cơ thể được báo cáo theo mẫu Bảng 4:

Bảng 4: Kết quả đánh giá thành phần cơ thể:

ID	Tuổi	Giới	Cân nặng (kg)	Chiều cao (cm)	BMI	Tổng lượng nước (kg)	Trọng lượng khối	Trọng lượng khối mỡ (kg)	Tỷ lệ khối mỡ cơ thể (%)
----	------	------	---------------	----------------	-----	----------------------	------------------	--------------------------	--------------------------

Handwritten signatures and initials in blue ink.

							không mỡ (kg)		

Theo Williams và cộng sự (1992), tỷ lệ phần trăm khối mỡ được coi là cao ở nam là >25% và ở nữ là >30%.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Nếu là xét nghiệm theo chỉ định của bác sĩ thì trả kết quả theo quy định của cơ quan.
- Nếu là xét nghiệm thuộc nghiên cứu thì báo cáo kết quả theo đề cương.
 - Hồ sơ xác định mức làm giàu D₂O trong mẫu nước bọt theo bảng sau:

Danh mục hồ sơ thử nghiệm

TT	Ký Hiệu	Tên
1		Bảng tính toán pha mẫu kiểm soát và dãy chuẩn
2		Bảng ghi kết quả đo mức làm giàu D ₂ O trong mẫu thử nghiệm

5. Những sai sót và xử trí

Bảng 3: Các tình huống và cách xử lý

TT	Tình huống	Xử lý
1	Sự khác biệt kết quả giữa hai lần lặp lại của mẫu nước bọt ngoài khoảng 3 mg/kg.	Tiến hành đo lại tới khi kết quả hai lần đo liên tiếp khác nhau trong khoảng 3 mg/kg.
2	Bất cứ kết quả nào ở ngoài mức giá trị trung bình $\pm 3SD$ khoảng QC	Phân tích lại. Nếu vẫn ngoài mức $\pm 3SD$ khoảng QC, thực hiện: ✓ Xem xét máy đã được làm ấm đủ thời gian chưa? ✓ Làm sạch mặt phẳng quang với iso-propanol hoặc ethanol. ✓ Lặp lại với các mẫu kiểm soát mới. ✓ Chạy phần mềm Microlab QC để kiểm tra chức năng hệ thống.

3	Xây ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình kỹ thuật xử lý tràn đổ mã số: NIN.G.01.LS.01.
---	---	--

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Lập đường cong chuẩn hàng tuần theo Phụ lục 2.
- Xác định tính chính xác của kết quả D₂O thông qua phân tích chuẩn có chứng nhận và/hoặc đạt các chỉ tiêu yêu cầu trong các chương trình kiểm soát chất lượng liên phòng thí nghiệm hàng năm với IAEA.

7. Tài liệu tham khảo

- IAEA Recommend Procedures for Determination of Total Body Water Using the Portable Agilent FTIR 2022.
- Protocols for Sample Preparation and Analysis by FTIR; St. John's Research Institute, Bangalore, India.
- Recommend Operating Procedures for the Use of the Agilent 4500 Portable FTIR to measure deuterium oxide in saliva; Agilent 2014.

Handwritten signatures:

Phụ lục 1: Sơ đồ phân tích mẫu nước bọt.

Phụ lục 2: Xây dựng đường cong chuẩn.

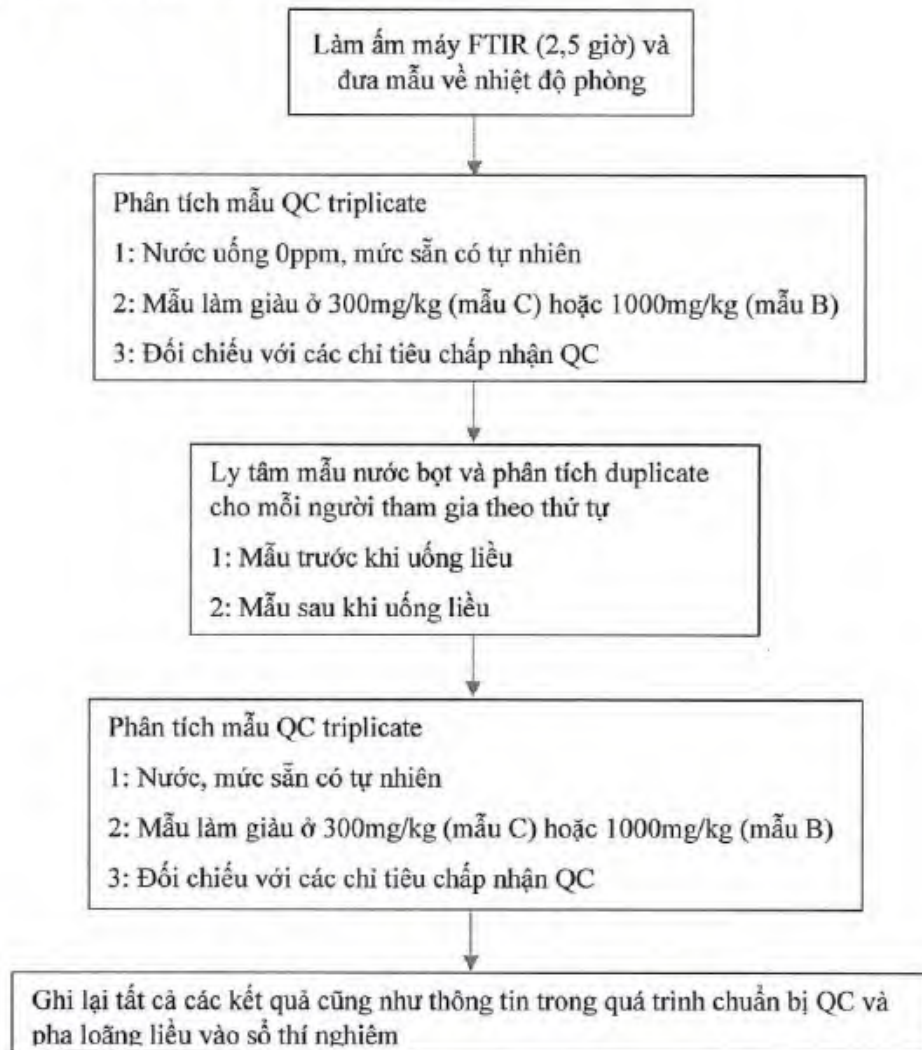
Phụ lục 3: Xây dựng khoảng QC và đảm bảo QC trong quá trình phân tích mẫu.

Phụ lục 4: Xác định thành phần D₂O trong liều uống.

Phụ lục 5: Bảng hệ số nước cơ thể.

Phụ lục 6: Nhân lực cho kiểm nghiệm.

Phụ lục 1: Sơ đồ phân tích mẫu nước bọt



Phụ lục 2: Xây dựng đường cong chuẩn

Mặc dù không được dùng để xác định mức D₂O, đường cong chuẩn vẫn cần được lập ra để xác định kết quả đo được và tăng tính tin cậy của phương pháp.

- Dây chuẩn 0ppm (nước uống lưu trữ trong mục 5.1.1), 100ppm, 200ppm, 400ppm, 600ppm và 800ppm được chạy hàng tuần và dựng đường chuẩn theo Phụ lục 2 để đảm bảo độ chính xác của kết quả đo.

- Chuẩn bị dây chuẩn từ 0 – 1000 mg/kg theo Mục 5.1.3 Bảng 1.

- Phân tích mức làm giàu D₂O triplicate cho tất cả chuẩn.

- Vẽ đường giá trị làm giàu D₂O đo được (mg/kg) trên trục y và giá trị làm giàu tính được (mg/kg) trên trục x.

- Công thức tuyến tính ($y=mx+c$) được tổng hợp và cần đáp ứng các điều kiện sau:

✓ Độ nghiêng (m) gần với 1 (giữa 0.95 và 1.05).

✓ Giá trị c gần với 0.

✓ Giá trị R^2 gần với 1 và trên 0.95.

- Nếu độ nghiêng hoặc R^2 của đường cong chuẩn không gần với 1 thì có vấn đề với quá trình cân, tính toán hoặc phân tích. Kiểm tra đầu vào và chuẩn bị dây chuẩn mới nếu cần.

- Dây chuẩn có thể được cất trong lọ kín để tủ lạnh (quấn parafilm quanh nút) và phân tích định kỳ, đặc biệt khi không có mẫu phân tích trong thời gian dài (hơn 6 tháng).

Phụ lục 3: Xây dựng khoảng QC và đảm bảo QC trong quá trình phân tích mẫu

- Nếu máy ngừng chạy trên 1 tháng, tiến hành phân tích mẫu kiểm soát nước uống (0ppm) và 1000ppm (mẫu B) duplicate 10 lần trong 3 ngày đầu tiên bắt đầu phân tích. Lấy giá trị trung bình của các lần duplicate để xây dựng khoảng QC từ nước và chuẩn 1000ppm.

- Khoảng QC được tính từ trung bình và độ lệch chuẩn (SD) thu được từ 3 ngày đo này (từ -2SD đến +2SD).

- Để thẩm định QC, phân tích mẫu kiểm soát nước uống (0ppm) và 1000ppm (mẫu B) trong 3 ngày khác, đảm bảo trong những ngày này máy FTIR được chạy từ sáng đến tối).

- Trong mỗi ngày phân tích mẫu, bắt đầu và kết thúc mỗi buổi làm việc làm việc bằng phân tích lặp lại 3 lần mẫu kiểm soát nước uống (0ppm) và 1000ppm (mẫu B). Có thể thay mẫu B bằng mẫu 300ppm (mẫu C), việc chọn mẫu B hay C tùy thuộc mẫu nào có giá trị gần với giá trị ước tính của mẫu cần đo nhất. Việc này đảm bảo mức làm giàu deuterium đo được trong ngày ở trong khoảng cho phép.

- Phân tích mẫu 0ppm (nước uống) 3 lần và kết quả nên ở khoảng 3 mg/kg. Sau đó phân tích mẫu QC 1000ppm (mẫu B) hoặc 300ppm (mẫu C), lặp lại 3 lần.

- Mẫu nước bọt thử nghiệm thực hiện duplicate. Sự khác biệt giữa hai lần lặp lại nên trong khoảng 3 mg/kg. Nếu không đạt, tiến hành đo lại tới khi kết quả hai lần đo liên tiếp khác nhau trong khoảng 3 mg/kg.

- Nếu các kết quả phân bố ngẫu nhiên trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ của khoảng QC xác định trong 3 ngày đầu tiên nêu ở trên thì mức độ chính xác của thiết bị FTIR là chấp nhận được.

- Nếu bất cứ kết quả nào ở ngoài mức giá trị trung bình $\pm 3SD$ khoảng QC thì phân tích mẫu kiểm soát cần phải lặp lại. Nếu kết quả vẫn ngoài khoảng đó, dừng phân tích mẫu cho tới khi giải quyết được vấn đề. Các giải pháp có thể là:

- ✓ Xem xét máy đã được làm ấm đủ thời gian chưa?
- ✓ Làm sạch mặt phẳng quang với iso-propanol hoặc ethanol.
- ✓ Lặp lại với các mẫu kiểm soát mới.
- ✓ Chạy phần mềm Microlab QC để kiểm tra chức năng hệ thống.

- Các mẫu nước uống (0ppm), 300ppm (mẫu B) và 1000 mg/kg có thể được chia ra để cất trong các ống nghiệm (ví dụ 500 μ L) để dùng như QC hàng ngày và cất giữ trong tủ đá. Việc này sẽ giảm thiểu nguy cơ bốc hơi không đồng nhất nhờ tránh mở lọ nhiều lần.

Phụ lục 4: Xác định thành phần D₂O trong liều uống

Nếu phân vân về giá trị cân của liều uống hoặc cần xác định lại thành phần D₂O trong liều uống ở bất cứ thời điểm nào thì có thể tiến hành đo bằng FTIR. Tuy nhiên do hàm lượng D₂O trong dung dịch D₂O 10% cao hơn khoảng 500 lần mẫu nước bọt, liều uống cần phải được pha loãng trước khi phân tích để về trong khoảng đo được. Để pha mẫu loãng với tỷ lệ 1:500, tiến hành như sau:

- Chuẩn bị sẵn sàng file Laboratory dose record example.xlsx đã ghi khi pha liều uống theo Quy trình NIN.G.03.S.039 cho người từ 2 tuổi hoặc NIN.G.03.S.040 cho trẻ dưới 2 tuổi. Trong file này, hệ số pha loãng và mức làm giàu của liều uống đã được tính tự động.

- Cân lọ thủy tinh dung tích 100 ml cùng nắp trên cân phân tích (độ chính xác 0.0001g). Ghi lại trọng lượng.

- Cho vào bình khoảng 50 ml nước uống. Bỏ nắp bình ra và ghi lại trọng lượng của bình + nước (thu được trọng lượng nước lần 1 N1).

- Dùng pipet nhỏ 200 µl liều uống D₂O đã lưu (D₂O 10%) vào bình nửa đầy. Bỏ nắp bình và ghi lại trọng lượng của bình + nước + liều (thu được trọng lượng liều L).

- Thêm vào khoảng 50 ml nước uống. Bỏ nắp bình và ghi lại trọng lượng của bình + nước + liều + nước (thu được trọng lượng nước lần 2 N2).

- Đậy nắp bình, lắc đảo chiều bình từ 5-10 lần để hòa trộn toàn bộ chất lỏng.

- Đo mức D₂O của nước dùng cho pha loãng 1:500 duplicate trên máy FTIR và ghi lại giá trị.

- Đo mức D₂O của dung dịch pha loãng 1:500 duplicate trên máy FTIR và ghi lại giá trị.

- Tính mức làm giàu D₂O của dung dịch pha loãng 1:500 từ liều uống (mức D₂O của dung dịch 1:500 – mức D₂O của nước).

- Từ đó tính lại mức làm giàu của liều uống bằng cách nhân mức làm giàu của dung dịch pha loãng 1:500 với hệ số pha loãng.

- Hệ số pha loãng được tính theo công thức:

$$\frac{\text{Trọng lượng nước lần 1 N1 (g)} + \text{Trọng lượng nước lần 2 N2 (g)}}{\text{Trọng lượng liều L (g)}}$$

Trọng lượng liều L (g)).

Với dung dịch pha loãng 10%, mức làm giàu dự đoán sẽ là khoảng 100 000 mg/kg vì trong nước D₂O tinh khiết mức D₂O là 1 000 000 mg/kg.

Phụ lục 5: Bảng hệ số nước cơ thể**Bảng 1: Hệ số nước cơ thể ở trẻ nhỏ và trẻ vị thành niên**

Tuổi (năm)	Nam	Nữ
1	79	78,8
1-2	78,6	78,5
3-4	77,8	78,3
5-6	77,0	78,0
7-8	76,8	77,6
9-10	76,2	77,0
11-12	75,4	76,6
13-14	74,7	75,5
15-16	74,2	75,0
17-20	73,8	74,5

Bảng 2: Hệ số nước cơ thể ở trẻ dưới 1 tuổi

Tuổi (tháng)	Nam	Nữ
Sơ sinh	80,6	80,6
1	80,5	80,5
2	80,3	80,2
3	80,0	79,9
4	79,9	79,7
5	79,6	79,5
6	79,3	79,4
9	79,0	79,0
12	78,5	78,8

Phụ lục 6: Nhân lực cho kiểm nghiệm

- Nhân công trực tiếp kiểm nghiệm: 02 người tham gia trong toàn bộ quy trình.
- Tổng số giờ làm việc: 3,6 giờ.

Người tham gia	Yêu cầu năng lực	Số lượng người	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Người thực hiện	Đã được đào tạo nghiệp vụ phân tích mẫu nước bọt trên máy FTIR Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và yêu cầu chất lượng kiểm nghiệm	1	Pha và phân tích dãy chuẩn và mẫu kiểm soát QC.	0,8	0,8
			Xử lý mẫu, phân tích mẫu, ghi kết quả và vệ sinh máy	0,8	0,8
			Xây dựng đường chuẩn và khoảng QC	0,5	0,5
			Kiểm soát độ ổn định máy	0,1	0,1
			Phân tích kết quả và kiểm soát chất lượng kết quả	0,5	0,5
			Báo cáo kết quả	0,8	0,8
			Kiểm soát môi trường làm thí nghiệm	0,1	0,1
			Cộng		3,6
Người phê duyệt kết quả	Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và yêu cầu chất lượng kiểm nghiệm	1	Kiểm tra, phê duyệt kết quả	0,1	0,1
TỔNG					3,7



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số: 14 – 15

ĐO MẬT ĐỘ XƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP DXA

1. Đại cương

1.1. Mục đích

- Quy trình này hướng dẫn kỹ thuật đo đánh giá mật độ xương bằng phương pháp DXA cho các nhân viên vận hành và sử dụng kỹ thuật DXA, các nhân viên tại các Cơ sở y tế có sử dụng máy DXA.

- Đánh giá mật độ xương của người đến khám và điều trị tại các Cơ sở y tế.
- Chẩn đoán loãng xương, giảm mật độ xương.

1.2. Định nghĩa

Mật độ xương hay mật độ khoáng xương (BMD – Body Mineral Density) là mật độ khoáng chất trong 1 đơn vị diện tích (cm^2) hoặc thể tích (cm^3) của mô xương.

1.3. Nguyên lý

Đo hấp phụ Photon kép nhưng nguồn phát tia X. Nguồn photon phát xạ lớn hơn DPA gấp 500-1000 lần, cho phép thời gian thăm dò ngắn (khoảng 5-7 phút), khả năng tái lập kỹ thuật tốt, mức độ sai số là 1%.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Người phụ trách an toàn phòng máy DXA, theo dõi quá trình đo, đọc và phê duyệt kết quả đo mật độ xương, có Quyết định giao phụ trách an toàn, có chứng chỉ đào tạo về an toàn bức xạ: 1 bác sĩ chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ (hoặc nhân viên phù hợp). Cơ sở có thể bố trí người đọc kết quả đo mật độ xương riêng.

- Người vận hành máy đo mật độ xương (KTV1) đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật, có chứng chỉ nhân viên bức xạ, có chứng chỉ đào tạo an toàn bức xạ: 1 người.

- Người hỗ trợ đo, điều chỉnh tư thế và hỗ trợ cho người được đo (KTV2) đã được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật, có chứng chỉ đào tạo an toàn bức xạ: 1 người.

2.2. Vật tư trực tiếp, công cụ, dụng cụ

2.2.1. Vật tư trực tiếp: ước tính trên 1 ca đo

- Khẩu trang y tế: 3 cái
- Thùng rác y tế, sinh hoạt: 2 cái
- Máy in màu (4 màu đen, đỏ, xanh, vàng/in kết quả): 1 cái
- Liều kê cá nhân: 3 cái
- Bộ quần áo bảo hộ lao động cho nhân viên đo: 3 bộ
- Quần áo người được đo: 1 bộ
- Ga giường đo: 1 cái
- Dung dịch sát khuẩn tay: 1 chai
- Giấy A4: 2 tờ

- Giấy A5 màu hồng: 1 tờ
- Mực in màu: 4 hộp
- Bút viết: 3 cái
- Dập ghim: 2 cái

2.2.2. Công cụ, dụng cụ

- Bộ máy tính dùng nhập và lưu kết quả (case, màn hình, máy in): 1 bộ
- Máy hút âm: 1 cái
- Máy điều hòa 1 chiều: 1 cái
- Đèn chiếu sáng: 9 cái
- Cây nước nóng lạnh: 1 cái
- Quạt treo tường: 1 cái
- Ghế băng ngồi chờ: 4 băng
- Bàn ghế làm việc: 1 bộ
- Ghế ngồi: 2 cái
- Tủ đựng tài liệu: 1 cái
- Móc treo quần áo: 1 cái
- Khung, rèm ri đô: 1 bộ
- Điện thoại bàn: 1 cái

2.3. Thiết bị

Hệ thống máy đo gồm: Máy DXA HOLOGIC EXPLORER, máy tính có đủ dây dẫn điện, cáp dẫn tín hiệu, màn hình, lưu điện, Phantom cột sống (Spine phantom), dụng cụ điều chỉnh tư thế người được đo: 1 bộ

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

2.4.1. Chuẩn bị đối tượng được đo

+ Bác sĩ trực tiếp hỏi kiểm tra loại trừ có mang thai hoặc nghi ngờ mang thai (đặc biệt phụ nữ tiền mãn kinh), có kim loại tại vị trí sẽ đo và một số chống chỉ định khác?

+ Thông báo và giải thích cho người được đo việc đo đánh giá mật độ xương mà mình sắp tiến hành làm cho người được đo theo chỉ định của bác sĩ.

+ Kiểm tra, đối chiếu thông tin được ghi trên phiếu chỉ định đo với người được đo các thông tin như: họ và tên, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, cân nặng, chiều cao.

2.4.2. Chuẩn bị máy- Hiệu chỉnh QC máy

- Hệ thống thực hiện quét phantom (dụng cụ hỗ trợ thực hiện hiệu chuẩn đo mật độ xương). Sau khi hệ thống thực hiện quét xong, bước và tự động phân tích kết quả. Trong quá trình phân tích, hệ thống sẽ xác định vị trí của đoạn đốt sống giả trên phantom trong quá trình quét. Nếu không thể xác định vị trí của đoạn đốt sống giả, một thông báo lỗi sẽ hiển thị và quy trình bị hủy bỏ. Xác định được vị trí của đoạn đốt sống giả, quá trình hiệu chuẩn thành công. KTV1 nhấn OK để quay lại màn hình chính. Quá trình

hiệu chuẩn này được thực hiện hàng ngày trước khi tiến hành đo người được đo đầu tiên.

- Kiểm tra các yếu tố gây nhiễu quá trình đo như các vật dụng che chắn bề mặt bộ phận phát tia, đảm bảo không có gì cản trở tia.

2.5. Phiếu chỉ định đo DXA

Quy trình tiếp đón người được đo đánh giá mật độ xương trước khi tiến hành quá trình đo đánh giá mật độ xương: Người được đo cần đăng ký khám và sàng lọc loại trừ mang thai hoặc nghi ngờ có thai (đặc biệt phụ nữ tiền mãn kinh) và một số chống chỉ định khác, được cân nặng và đo chiều cao đầy đủ. Tại phòng khám được bác sĩ chỉ định đo DXA, sau khi có chỉ định đo DXA → người được bác sĩ chỉ định đo nộp phí đo DXA tại quầy thu ngân → Nộp phiếu chỉ định đo DXA kèm theo biên lai thu tiền đo DXA tại phòng đo DXA.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Bảng 1: Tổng thời gian đo mật độ xương 2 vị trí: 25 phút/ca đo

Cán bộ tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung thực hiện	Thời gian (phút)	
			Thời gian máy chạy	Thao tác của cán bộ thực hiện
Người vận hành máy đo (KTV1)	Kỹ thuật viên đã được đào tạo về vận hành X-quang, được đào tạo về An toàn bức xạ, hiểu rõ các quy trình kỹ thuật đo. Có chứng chỉ Nhân viên bức xạ, chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1	2	2
		Bước 2		2
		Bước 4		2
		Bước 5		2
		Bước 6a (hoặc b)		2
		Bước 7a (hoặc b)	2	2
		Bước 8a (hoặc b)		2
		Bước 9		1
Người hỗ trợ đo (KTV2).	Kỹ thuật viên đã được đào tạo, hiểu rõ các quy trình kỹ thuật đo và quy định An toàn bức xạ. Yêu cầu có chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1		2
		Bước 2		3
		Bước 3		3
		Bước 6a (hoặc b)		3
		Bước 8a (hoặc b)		2

Cán bộ tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung thực hiện	Thời gian (phút)	
			Thời gian máy chạy	Thao tác của cán bộ thực hiện
Người phê duyệt kết quả	Bác sĩ chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ hoặc cử nhân chẩn đoán hình ảnh. Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và quy định ATBX, nắm vững kiến thức giúp chẩn đoán bệnh. biện luận kết quả. Có Quyết định phụ trách phòng Máy DXA, có chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 4	2	2
		Bước 7a(hoặc b)	2	2
		Bước 9		6
➤ Bước 1: 4 phút		➤ Bước 6a hoặc 6b: 3 phút		
➤ Bước 2: 2 phút		➤ Bước 7a hoặc 7b: 2 phút		
➤ Bước 3: 3 phút		➤ Bước 8a hoặc 8b: 2 phút		
➤ Bước 4: 2 phút		➤ Bước 9: 5 phút		
➤ Bước 5: 2 phút				

Bảng 2: Tổng thời gian đo mật độ xương 1 vị trí: 15 phút/ca đo

Cán bộ tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung thực hiện	Thời gian (phút)	
			Thời gian máy chạy	Thao tác của cán bộ thực hiện
Người vận hành máy đo (KTV1)	Kỹ thuật viên đã được đào tạo về vận hành X-quang, được đào tạo về An toàn bức xạ, hiểu rõ các quy trình kỹ thuật đo. Có chứng chỉ Nhân viên bức xạ, chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1	2	2
		Bước 2		2
		Bước 3 (hoặc 6a, hoặc 6b)		2
		Bước 4 (hoặc 7a, hoặc 7b)		2
		Bước 5 (hoặc 8a, hoặc 8b)		2
		Bước 9		1

Được *✓*

Cán bộ tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung thực hiện	Thời gian (phút)	
			Thời gian máy chạy	Thao tác của cán bộ thực hiện
Người hỗ trợ đo (KTV2).	Kỹ thuật viên đã được đào tạo, hiểu rõ các quy trình kỹ thuật đo và quy định An toàn bức xạ. Yêu cầu có chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 1		2
		Bước 3 (hoặc 6a, hoặc 6b)		3
		Bước 5 (hoặc 8a, hoặc 8b)		2
Người phê duyet kết quả	Bác sĩ chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ hoặc cử nhân chẩn đoán hình ảnh. Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và quy định ATBX, nắm vững kiến thức giúp chẩn đoán bệnh. biện luận kết quả. Có Quyết định phụ trách phòng Máy DXA, có chứng chỉ An toàn bức xạ. Được trang bị liều kế cá nhân.	Bước 4 (hoặc 7a, hoặc 7b)	2	2
		Bước 9		2
➤ Bước 1: 4 phút		➤ Bước 4 hoặc 7a hoặc 7b: 2 phút		
➤ Bước 2: 2 phút		➤ Bước 5 hoặc 8a hoặc 8b: 2 phút		
➤ Bước 3 hoặc 6a hoặc 6c: 3 phút		➤ Bước 9: 2 phút		

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Kỹ thuật đo đánh giá mật độ xương được thực hiện tại phòng đo DXA. Phòng đo DXA được xây dựng và vận hành đảm bảo an toàn theo đúng quy định của pháp luật.

3. An toàn

Máy đo mật độ xương và thành phần cơ thể Hologic Explorer là thiết bị X-quang dùng trong chẩn đoán y tế. Trước khi tiến hành quy trình đo đánh giá mật độ xương tất cả nhân viên phòng máy phải tuân thủ nội quy an toàn bức xạ và vận hành an toàn thiết bị bức xạ được quy định trong Nghị định 142/2020/NĐ-CP ngày 09/12/2020 của Chính phủ Quy định về việc tiến hành công việc bức xạ và hoạt động dịch vụ hỗ trợ ứng dụng năng lượng nguyên tử và Thông tư liên tịch số 13/2014/TTLT-BKHCN-BYT ngày 9 tháng 6 năm 2014, tuân thủ đúng quy trình vận hành thiết bị X-quang theo đúng quy định trước, trong, sau khi tiến hành đo cho người được đo.

3.1. Cơ sở y tế phải xây dựng quy trình làm việc với thiết bị bức xạ, nguồn phóng xạ, nội quy an toàn bức xạ bảo đảm các yêu cầu sau:

a) Quy trình làm việc cần chỉ rõ các bước tiến hành công việc trong vận hành thiết bị bức xạ, làm việc với nguồn phóng xạ, làm việc trong khu vực có nguy cơ bị chiếu xạ hoặc nhiễm bẩn phóng xạ, chăm sóc người được đo uống thuốc phóng xạ hoặc cấy nguồn phóng xạ; quy trình thao tác đối với từng thiết bị, phác đồ điều trị đối với từng loại bệnh;

b) Nội quy an toàn bức xạ phải chỉ rõ các yêu cầu bảo vệ an toàn bức xạ cho nhân viên bức xạ y tế, các nhân viên khác trong cơ sở y tế, người được đo, người chăm sóc hoặc hỗ trợ người được đo và công chúng.

3.2. Nhân viên vận hành thiết bị bức xạ phải thực hiện nghiêm các bước tiến hành công việc:

a) Kiểm tra an toàn thiết bị trước khi bắt đầu và sau khi kết thúc công việc;

b) Đóng cửa ra vào trong suốt quá trình vận hành thiết bị;

c) Tuân thủ quy trình vận hành thiết bị;

d) Chú ý những tín hiệu bất thường của thiết bị bức xạ và thiết bị kiểm tra để kịp thời phát hiện sự cố, ngăn ngừa tai nạn;

đ) Không được tháo bỏ các bộ phận hư hỏng trong hệ thống bảo vệ của thiết bị và nối tắt để vận hành, ví dụ nối tắt hệ thống khóa liên động cửa ra vào phòng xạ trị.

4. Các bước tiến hành

Bước 1: Chuẩn bị người được đo

- Kỹ thuật viên sử dụng máy tính (KTV1):

+ Thông báo và giải thích cho người được đo việc đo đánh giá mật độ xương mà mình sắp tiến hành làm cho người được đo theo chỉ định của bác sĩ.

+ Kiểm tra, đối chiếu thông tin được ghi trên phiếu chỉ định đo với người được đo các thông tin như: họ và tên, giới tính, ngày tháng năm sinh, địa chỉ, cân nặng, chiều cao.

- Bác sĩ trực tiếp hỏi kiểm tra loại trừ có mang thai hoặc nghi ngờ mang thai, có kim loại tại vị trí sẽ đo và một số chống chỉ định khác?

- Kỹ thuật viên hiệu chỉnh tư thế đo của người được đo (KTV2): Hướng dẫn người được đo thay đồ và tháo bỏ các vật dụng, đồ dùng trang sức kim loại trên người vào hộp để đồ dành cho người được đo để chuẩn bị đo.

Bước 2: KTV1 Nhập thông tin của người được đo

- Kích biểu tượng Perform exam hộp công cụ Biography hiện ra, chọn New patient màn hình sẽ hiện trang thông tin của người được đo, cần điền đầy đủ thông tin của người được đo vào bao gồm :

+ Last Name, First Name, Middle Initial: Tên (gõ tiếng việt, không dấu, tên gõ trước, họ và tên đệm gõ sau)

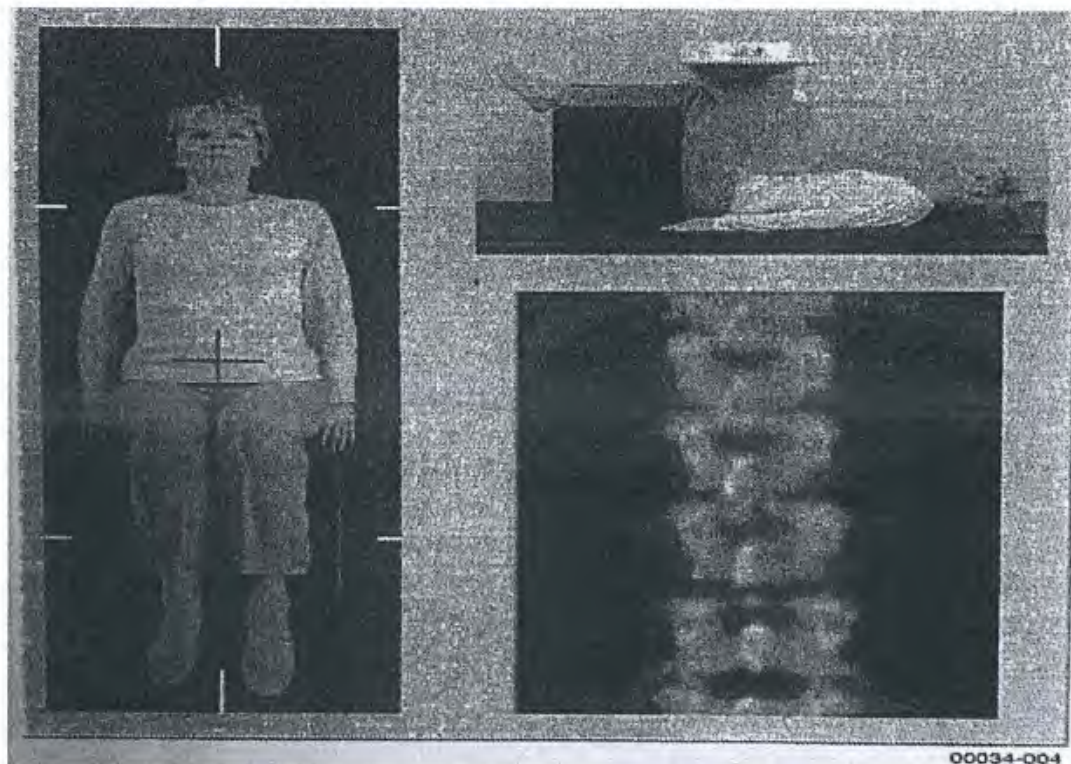
+ Ethnicity: Phân loại người được đo: < 20 tuổi chọn Pediatric, > 20 chọn Asian

+ DOB (Month, Day, Year): tháng ngày năm sinh

+ Sex (Female hoặc Male): Giới tính (Chọn nữ hoặc nam)

+ Patient ID, Identifier2: Mã người được đo

- + Referring Physician: Bác sĩ chỉ định
- + Menopause Age: Tuổi mãn kinh (nếu có)
- + Weight: cân nặng của người được đo (thông tin trên phiếu chỉ định đã được KTV tiếp đón thực hiện cân)
- + Height: chiều cao của người được đo (thông tin trên phiếu chỉ định đã được KTV tiếp đón thực hiện đo chiều cao)
- + Patient comment:
- + Body Mass Index: Hệ thống sẽ tự động tính chỉ số khối cơ thể cho người được đo thông qua việc nhập dữ liệu tháng ngày năm sinh phía trên.
- Sau khi nhập hết các thông tin dữ liệu KTV1 → chọn OK
- Máy tính hiển thị bảng thông tin đã nhập của người được đo. KTV1 kiểm tra lại thông tin của người được đo. Nếu tất cả các thông tin đã chính xác KTV1 chọn OK, nếu thông tin chưa chính xác chọn Edit để hiệu chỉnh lại thông tin cho chính xác.
- Bước 3: Đo mật độ xương tại cột sống thắt lưng (từ L1 đến L4)
- KTV1 tại hộp công cụ Select scan type, chọn vị trí cần đo → Chọn Lumbar style (cột sống thắt lưng) → Next
- (trên màn hình máy tính hiển thị hình ảnh mẫu về tư thế người được đo)
- KTV2 hướng dẫn người được đo tư thế nằm đo đúng như hình 1:



Hình 1: Hình mẫu hiệu chỉnh tư thế đo cột sống thắt lưng

- + Hướng dẫn người được đo nằm ngửa lên bàn đo, 2 vai người được đo trùng hai vạch ngang đã được đánh dấu sẵn trên bàn đo. Người được đo đặt 2 cẳng chân lên dụng cụ gác chân, KTV2 đặt dụng cụ kê chân sát mông người được đo. Người được đo duỗi thẳng tay dọc thân, hai bàn tay úp trên bàn đo.

+ Bộc lộ vùng đo, hiệu chỉnh tia laser (tia trung tâm) sao cho trục dọc của tia laser trùng với đường thẳng qua rốn và trục ngang của tia laser ở vị trí dưới rốn 2,5-5cm.

- Yêu cầu người được đo nằm im, hít thở bình thường trong quá trình đo để tránh sai số.

Bước 4: Tiến hành đo mật độ xương

- Sau khi chọn Lumbar style → Next thì KTV1 tiếp tục chọn Start scan để bắt đầu quét vị trí thứ 1. Đèn báo X-quang on nhấp nháy cho đến khi quá trình quét dừng lại. Trường quét hiển thị chính xác vị trí. Để quá trình quét hoàn tất.

- Bác sĩ giám sát người được đo và quyết định tiếp tục hay dừng đo trong trường hợp người được đo có vấn đề bất thường.

- Trong quá trình quét nếu thấy hình ảnh đo chưa chính xác thì có thể hiệu chỉnh trực tiếp trên máy bằng cách sau. KTV1 có 3 sự lựa chọn để hiệu chỉnh:

+ Reposition scan (hiệu chỉnh lại vùng quét)

+ Stop scan (dừng quét)

+ Abort scan (hủy bỏ quét)

- Kích chuột vào ô → Hiệu chỉnh lại vùng quét (Reposition scan) và hiệu chỉnh lại vùng theo mẫu có vạch màu xanh lam trên trường quét để quét lại cột sống, KTV1 nhấp và kéo hình ảnh sao cho: Tâm của cột sống thắt lưng thẳng hàng với màu xanh lam đường định vị thẳng đứng. Đỉnh chậu nằm ngang hàng hoặc dưới đường định vị ngang màu xanh lam.

- Trường quét hiển thị đúng nhất vị trí 4 đốt sống L1, L2, L3, L4. Sau khi hiệu chỉnh lại chính xác vị trí KTV1 tiếp tục kích chuột vào ô → Quét lại (Restart scan).

- Cảnh báo: Nếu đèn báo X-quang của Bảng điều khiển không tắt trong vòng 10 giây sau khi kết thúc quá trình quét, hãy nhấn nút Dừng khẩn cấp màu đỏ ngay lập tức. Gọi cho kỹ thuật hãng Hologic trước khi tiếp tục hoạt động.

Bước 5: Phân tích kết quả đo mật độ xương cột sống thắt lưng

- KTV1 sau khi máy đã quét xong thì chọn vào ô Analyze scan (phân tích quét) để phân tích kết quả → Hộp công cụ Analyse set up hiện ra → tại Choose Analysis Method (kiểm tra lại đã chọn đúng vị trí để phân tích) → Next → Bảng phân tích kết quả hiện ra.

- KTV1 tiếp tục quá trình phân tích bằng cách → Global ROI ((toàn bộ vùng phân tích từ L1 (bắt đầu từ đốt sống ngay dưới đôi xương sườn cụt) T12 đến L4 (đốt sống thắt lưng thứ 4)) → Bone Map (hiệu chỉnh điểm xanh vào vị trí xương) → Vertebral Lines (đường chia các đốt sống phải trùng với các khe khớp) → Result → Close → KTV1 lựa chọn 1 trong 2 phương thức sau tùy theo chỉ định.

+ Tiếp tục chọn new scan nếu chỉ định quét 2 vị trí, KTV1 quét tiếp vị trí thứ 2 → chuyển tiếp sang bước 6a theo trình tự (bước 6a, bước 7a, bước 8a) hoặc bước 6b theo trình tự (bước 6b, bước 7b, bước 8b) → Chọn Report để in kết quả → Bước 9.

- Chọn Report để in kết quả → Chuyển Bước 9 nếu chỉ đo 1 vị trí. KTV2 hướng dẫn người được đo xuống khỏi bàn đo, thay quần áo và nhắc nhở người được đo kiểm tra lại tư trang và đồ dùng cá nhân trước khi ra khỏi phòng đo.

Handwritten signatures and initials in blue ink.

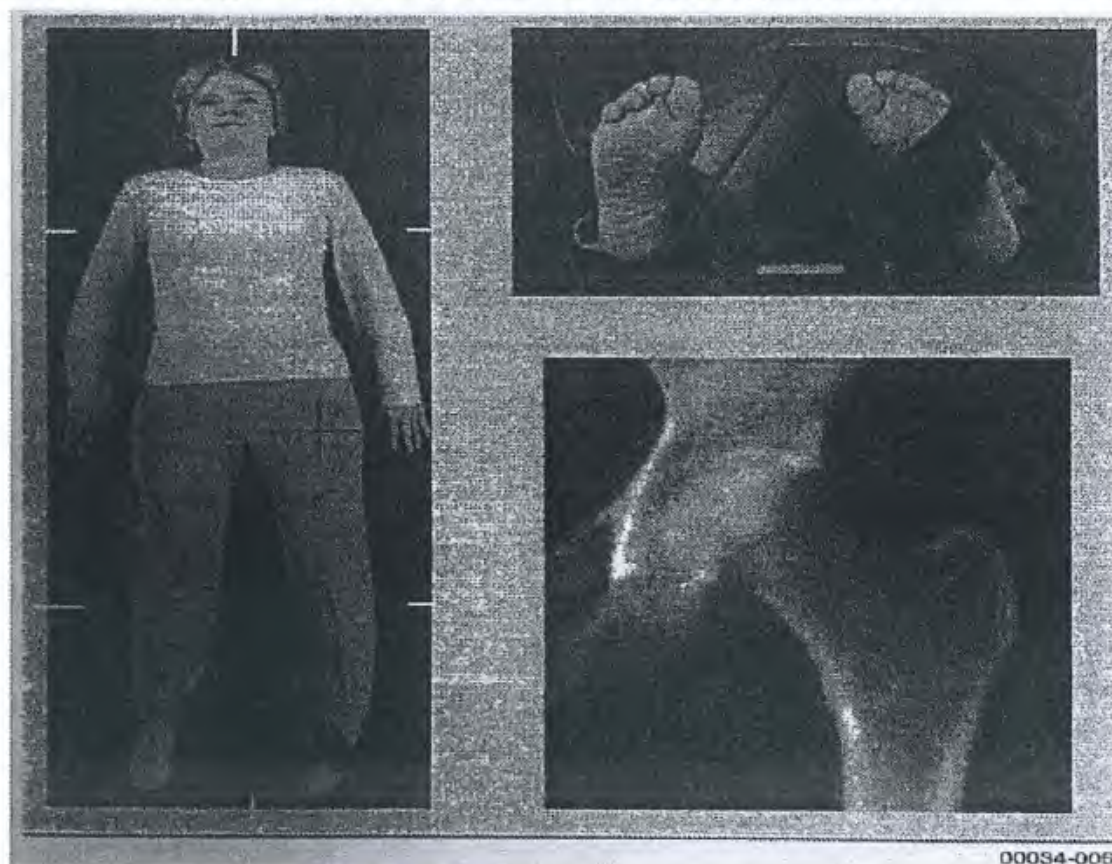
Bước 6a: Tiến hành đo mật độ xương cổ xương đùi trái

- Chọn New Scan → tiếp tục chọn vị trí đo thứ hai Left hip (cổ xương đùi trái) hoặc Right hip (cổ xương đùi phải) theo phiếu chỉ định đo. Với chỉ định đo Left hip (cổ xương đùi trái).

- KTV2 nhắc dụng cụ gác chân ra khỏi người được đo và bàn đo, thay vào đó là dụng cụ cố định giữ chân.

- KTV1 kiểm tra lại bằng thông tin đã nhập của người được đo. Đối với người được đo có chỉ định đo cổ xương đùi phải thao tác thực hiện tương tự như đối với cổ xương đùi trái: Tại Select scan type, chọn vị trí cần đo → Chọn Left Hip → Next (trên màn hình máy tính hiển thị hình ảnh mẫu về tư thế người được đo).

- KTV2 hướng dẫn người được đo tư thế nằm đo đúng như hình 2:



Hình 2: Hình mẫu hiệu chỉnh tư thế đo cổ xương đùi trái

+ Đảm bảo người được đo nằm thẳng trên bàn đo, đảm bảo xương đùi trái song song với trục dài của bàn đo, hai bàn chân cố định vào dụng cụ giữ chân đã chuẩn bị sẵn, lòng bàn chân hướng vào trong mục đích là để hiển thị mẫu chuyển lớn và mẫu chuyển bé trên một mặt phẳng cắt ngang qua đó đánh giá vị trí Liên mẫu chuyển xương đùi khi chụp, Người được đo duỗi thẳng tay dọc thân, hai bàn tay úp trên bàn đo.

+ Hiệu chỉnh tia trung tâm ở vị trí sao cho dưới rãnh mẫu chuyển lớn 7,6 cm (3 inch) và 2,5 cm (1 inch) ở giữa trục xương đùi (1/3 mặt trong của đùi trái và ngang bẹn người được đo). Ngoài cách xác định mẫu chuyển lớn theo giải phẫu KTV2 có thể xác định mẫu chuyển lớn như sau: đặt ngón tay cái lên mào chậu và xòe các ngón tay ra,

hướng ngón tay út của KTV2 về phía đầu gối của người được đo (mẫu chuyển lớn nằm ngay dưới ngón tay út của KTV2, tia ngang nằm ngang hàng xương mu người được đo).

- Yêu cầu người được đo nằm im, hít thở bình thường trong quá trình đo để tránh sai số.

Bước 7a: Tiến hành đo cổ xương đùi trái

- KTV1 sau khi chọn Left hip → Next → chọn Start scan để bắt đầu quét. Đèn báo X-quang On nhấp nháy cho đến khi quá trình quét dừng lại. Trường quét hiển thị chính xác vị trí. Để quá trình quét hoàn tất.

- Bác sĩ giám sát người được đo và quyết định tiếp tục hay dừng đo trong trường hợp người được đo có vấn đề bất thường.

- Trong quá trình quét nếu thấy hình ảnh đo chưa chính xác thì có thể hiệu chỉnh trực tiếp trên máy bằng cách sau. KTV1 có 3 sự lựa chọn để hiệu chỉnh:

+ Reposition scan (hiệu chỉnh lại vị trí quét)

+ Stop scan (dừng quét)

+ Abort scan (hủy bỏ quét)

- Kích chuột vào ô → Hiệu chỉnh lại vị trí quét (Reposition scan) và hiệu chỉnh lại vị trí theo mẫu có vạch màu xanh trên trường quét để quét lại (yêu cầu: trục xương đùi trái thẳng và song song với cạnh của cửa sổ hình ảnh, trục xương đùi trái nằm giữa 1/2 bên phải hình và cổ xương đùi trái thì nằm chính giữa hình. Sao cho đường định vị thẳng đứng chạm vào mép ngoài của mẫu chuyển lớn, Đường định vị nằm ngang có tâm là mẫu chuyển lớn).

- Sau khi hiệu chỉnh lại chính xác vị trí KTV1 tiếp tục kích chuột vào ô → Quét lại (Restart scan) → Khi trường quét hiển thị đủ hình ảnh quét → KTV1 có thể nhấn Stop scan.

- Cảnh báo: Nếu đèn báo X-quang của Bảng điều khiển không tắt trong vòng 10 giây sau khi kết thúc quá trình quét, hãy nhấn nút Dừng khẩn cấp màu đỏ ngay lập tức. Gọi cho kỹ thuật hãng Hologic trước khi tiếp tục hoạt động.

Bước 8a: Phân tích kết quả đo mật xương cổ xương đùi trái

- KTV1 sau khi máy đã quét xong thì vào ô Analyze scan để phân tích kết quả chọn Global ROI → Bone Map → Neck → Results → Close → Next → chọn Report

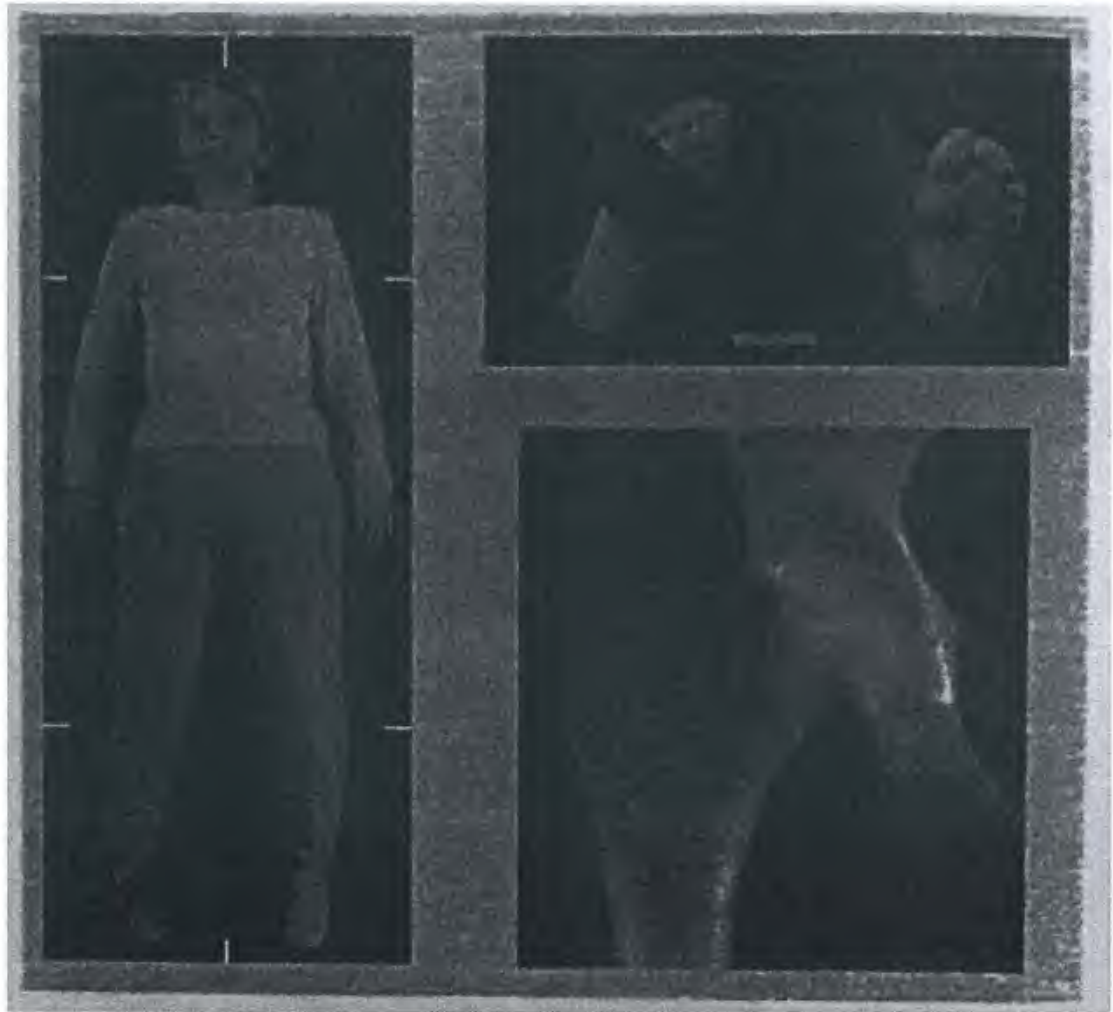
- KTV2 hướng dẫn người được đo xuống khỏi bàn đo, thay quần áo và nhắc nhở người được đo kiểm tra lại tư trang và đồ dùng cá nhân trước khi ra khỏi phòng đo.

Bước 6b: Tiến hành đo mật độ xương cổ xương đùi phải

- Chọn New Scan → tiếp tục chọn Right hip (cổ xương đùi phải theo phiếu chỉ định đo.

- KTV1 kiểm tra lại bảng thông tin đã nhập của người được đo. Đối với người được đo có chỉ định đo cổ xương đùi phải thao tác thực hiện tương tự như đối với cổ xương đùi trái: Tại Select scan type, chọn vị trí cần đo → Chọn Right hip → Next (trên màn hình máy tính hiển thị hình ảnh mẫu về tư thế người được đo).

- KTV2 hướng dẫn người được đo tư thế nằm đo đúng như hình 3:



Hình 3: Hình mẫu hiệu chỉnh tư thế đo cổ xương đùi phải

+ Đảm bảo người được đo nằm thẳng trên bàn đo, đảm bảo xương đùi phải song song với trục dài của bàn đo, hai bàn chân cố định vào dụng cụ giữ chân đã chuẩn bị sẵn, lòng bàn chân hướng vào trong mục đích là để hiển thị mẫu chuyển lớn và mẫu chuyển bé trên một mặt phẳng cắt ngang qua đó đánh giá vị trí Liên mẫu chuyển xương đùi khi chụp, hai tay người được đo xuôi bên mình.

+ Hiệu chỉnh tia trung tâm ở vị trí sao cho dưới rãnh mẫu chuyển lớn 7,6 cm (3 inch) và 2,5 cm (1 inch) ở giữa trục xương đùi (1/3 mặt trong của đùi phải và ngang bẹn người được đo). Ngoài cách xác định mẫu chuyển lớn theo giải phẫu KTV2 có thể xác định mẫu chuyển lớn như sau: đặt ngón tay cái lên mào chậu và xòe các ngón tay ra, hướng ngón tay út của KTV2 về phía đầu gối của người được đo (mẫu chuyển lớn nằm ngay dưới ngón tay út của KTV2, tia ngang nằm ngang hàng xương mu người được đo).

- Yêu cầu người được đo nằm im, hít thở bình thường trong quá trình đo để tránh sai số.

Bước 7b: Tiến hành đo mật độ xương cổ xương đùi phải

- KTV1 sau khi chọn Right hip → Next → chọn Start scan để bắt đầu quét. Đèn báo X-quang On nhấp nháy cho đến khi quá trình quét dừng lại. Trường quét hiển thị chính xác vị trí. Để quá trình quét hoàn tất.

- Bác sĩ giám sát người được đo và quyết định tiếp tục hay dừng đo trong trường hợp người được đo có vấn đề bất thường.

- Trong quá trình quét nếu thấy hình ảnh đo chưa chính xác thì có thể hiệu chỉnh trực tiếp trên máy bằng cách sau. KTV1 có 3 sự lựa chọn để hiệu chỉnh:

- + Reposition scan (hiệu chỉnh lại vị trí quét)
- + Stop scan (dừng quét)
- + Abort scan (hủy bỏ quét)

- Trong quá trình quét nếu thấy hình ảnh đo chưa chính xác thì có thể hiệu chỉnh trực tiếp trên máy bằng cách sau: Kích chuột vào ô → Hiệu chỉnh lại vị trí quét (Reposition scan) và hiệu chỉnh lại vị trí theo mẫu có vạch màu xanh trên trường quét để quét lại (yêu cầu: trục xương đùi phải thẳng và song song với cạnh của cửa sổ hình ảnh, trục xương đùi phải nằm giữa 1/2 bên trái hình và cổ xương đùi thì nằm chính giữa hình. Sao cho đường định vị thẳng đứng chạm vào mép ngoài của mẫu chuyển lớn, Đường định vị nằm ngang có tâm là mẫu chuyển lớn).

- Sau khi hiệu chỉnh lại chính xác vị trí KTV1 tiếp tục kích chuột vào ô → Quét lại (Restart scan) → Khi trường quét hiển thị đủ hình ảnh quét → KTV1 có thể nhấn Stop scan.

- Cảnh báo: Nếu đèn báo X-quang của Bảng điều khiển không tắt trong vòng 10 giây sau khi kết thúc quá trình quét, hãy nhấn nút Dừng khẩn cấp màu đỏ ngay lập tức. Gọi cho kỹ thuật hãng Hologic trước khi tiếp tục hoạt động.

Bước 8b: Phân tích kết quả đo mật độ xương cổ xương đùi phải

- KTV1 sau khi máy đã quét xong thì vào ô Analyze scan để phân tích kết quả chọn Global ROI → Bone Map → Neck → Results → Close → Next → chọn Report

- KTV2 hướng dẫn người được đo xuống khỏi bàn đo, thay quần áo và nhắc nhở người được đo kiểm tra lại tư trang và đồ dùng cá nhân trước khi ra khỏi phòng đo.

Bước 9: Đọc và trả kết quả cho người được đo

- KTV1 in kết quả.

- BS đọc kết quả, kết luận, trả kết quả cho người được đo.

- Theo Nghị định 155/2018/NĐ-CP ngày 12 tháng 11 năm 2018 sửa đổi, bổ sung một số quy định liên quan đến điều kiện đầu tư kinh doanh thuộc phạm vi quản lý nhà nước của Bộ Y tế, tại khoản a Điều 23a như sau: Phụ trách chuyên môn của Phòng khám chẩn đoán hình ảnh, phòng X – quang là bác sĩ chuyên khoa chẩn đoán hình ảnh hoặc cử nhân X – quang trình độ đại học trở lên, có chứng chỉ hành nghề. Khoản d Điều 23a như sau: Cử nhân X – quang trình độ đại học được đọc và mô tả hình ảnh chẩn đoán. Trường hợp cơ sở khám bệnh, chữa bệnh không có bác sĩ chuyên khoa chẩn đoán hình ảnh hoặc bác sĩ X – quang thì bác sĩ chỉ định kỹ thuật hình ảnh đọc và ký kết quả chẩn đoán hình ảnh.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Phiếu chỉ định sai, thiếu thông tin người được đo, thiếu thông tin trên phiếu chỉ định, cần yêu cầu người được đo quay trở lại phòng bác sĩ cho chỉ định để bổ sung và điều chỉnh lại thông tin sai của người được đo.

- Chỉ định sai (phụ nữ đang mang thai, có kim loại tại vị trí đo), cần giải thích người được đo về việc tạm dừng đo và trao đổi với bác sĩ ra chỉ định.

- Trường hợp người được đo là trẻ em/người cao tuổi/người khuyết tật, cần sự hỗ trợ. Cần có người nhà/người chăm sóc hỗ trợ đảm bảo tư thế đo an toàn, tránh té ngã.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Người được đo không nằm yên, thay đổi tư thế trong quá trình đo, cần giải thích rõ để người được đo hiểu tác dụng của việc nằm yên trong quá trình đo, dặn dò người được đo thật kỹ về việc nằm yên trong quá trình đo sau khi hiệu chỉnh tư thế người được đo xong.

- Người được đo không hợp tác đo, cần Giải thích, động viên, trấn an tâm lý cho người được đo hiểu và bớt lo lắng, sử dụng ngôn ngữ hướng dẫn phù hợp với từng đối tượng để người được đo dễ hiểu dễ thực hiện.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

- Người được đo cảm thấy chóng mặt sau khi quá trình đo kết thúc, cần hỗ trợ cùng người nhà người được đo để di chuyển người được đo ra ghế ngồi chờ ngoài hành lang để người được đo có không gian thoáng, cho người được đo ngồi nghỉ ngơi và ăn nhẹ và uống sữa nếu người được đo đang đói.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Hiệu chuẩn máy đạt yêu cầu chất lượng.
- Máy được vận hành trong môi trường phù hợp.
- Nhập thông tin chính xác.
- Quá trình đo đảm bảo đúng kỹ thuật.
- Người được đo hiểu được các hướng dẫn của nhân viên y tế và phối hợp thực hiện tốt, nhanh chóng.
- Trường quét hiển thị vị trí quét chính xác, tránh làm mất thêm thời gian điều chỉnh lại vùng quét.
- Phân tích, biện luận kết quả chính xác.

7. Tài liệu tham khảo

- Bouxsein ML, Seeman E. 2009 Quantifying the material and structural determinants of bone strength. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 23:741–753.

- Kanis JA. 1994 Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. WHO Study Group. *Osteoporos Int* 4:368–381.

- Miller PD, Bonnick SL, Rosen CJ. 1996 Consensus of an international panel on the clinical utility of bone mass measurements in the detection of low bone mass in the adult population. *Calcif Tissue Int* 58:207–214.

- Marshall D, Johnell O, Wedel H. 1996 Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 312:1254–1259.

- Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, et al. 2014 Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int* 25:2359–2381.

- Grossman JM, Gordon R, Ranganath VK, et al. 2010 American College of Rheumatology 2010 recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 62:1515–1526.

- Papaioannou A, Morin S, Cheung AM, et al. 2010 2010 Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. *CMAJ* 182:1864–1873.

- Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, et al. 2013 European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 24:23–57.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 014-015

Phụ lục 1: Phiếu chỉ định đo DXA

PHIẾU CHỈ ĐỊNH ĐO DXA

Họ tên:.....Ngày sinh...../...../.....1. Nam/ 2. Nữ

Địa chỉ:.....

Cân nặng (kg): □□□,□

Chiều cao (cm): □□□,□

Chẩn đoán lâm sàng:.....Mã BN:.....

STT	Chỉ định	KTV	Ghi chú
1	Đo 2 vị trí		
2	Đo toàn thân		

.....giờ....., ngày.....tháng.....năm 20.....

Bác sĩ chỉ định

Phụ lục 2: Yêu cầu bảo đảm an toàn bức xạ

Trích dẫn từ Điều 4, Điều 5 Thông tư liên tịch số 13/2014/TTLT- BKHCN-BYT

YÊU CẦU BẢO ĐẢM AN TOÀN BỨC XẠ

Điều 4. Yêu cầu chung về bảo đảm an toàn đối với thiết bị bức xạ, thiết bị sử dụng trong y học hạt nhân

1. Các thiết bị bức xạ sử dụng cho chẩn đoán, điều trị bệnh và các thiết bị được sử dụng trong y học hạt nhân phải có chứng chỉ chất lượng cho dạng hoặc loại thiết bị (type hoặc model) chỉ rõ việc tuân thủ với các yêu cầu bảo đảm an toàn theo tiêu chuẩn của Ủy ban Kỹ thuật điện quốc tế (IEC), Tổ chức Tiêu chuẩn hóa quốc tế (ISO) hoặc các tiêu chuẩn quốc gia tương đương.

2. Có các tài liệu đi kèm theo thiết bị, bao gồm tài liệu về thông số kỹ thuật của thiết bị, hướng dẫn vận hành và bảo trì, hướng dẫn an toàn. Các tài liệu hướng dẫn vận hành, hướng dẫn an toàn phải được dịch ra tiếng Việt.

3. Các chỉ dẫn vận hành hoặc các chữ viết tắt và các giá trị vận hành trên bảng điều khiển của thiết bị bức xạ phải bằng tiếng Việt hoặc bằng ngôn ngữ phù hợp với ngôn ngữ mà người vận hành máy sử dụng.

4. Thiết bị bức xạ phải có các cơ cấu kiểm soát chùm tia bức xạ chỉ thị rõ và tin cậy trạng thái chùm tia đang “ngắt” hay “mở”.

5. Thiết bị bức xạ phải có cơ cấu để khu trú chùm tia cho mục đích kiểm soát chùm tia chỉ vào vùng cơ thể người được đo cần chẩn đoán hoặc điều trị.

6. Trường bức xạ phát ra trong vùng để chẩn đoán hay điều trị trên người được đo phải đồng đều và độ không đồng đều của trường bức xạ phải được nhà cung cấp chỉ rõ.

Điều 5. Yêu cầu an toàn đối với thiết bị X - quang chẩn đoán trong y tế

Thiết bị X - quang chẩn đoán trong y tế ngoài việc thực hiện yêu cầu theo quy định tại Điều 4 Thông tư liên tịch này phải bảo đảm các yêu cầu sau:

1. Mức bức xạ rò của đầu bóng phát tia X không vượt quá 1mGy/giờ tại khoảng cách 1m từ vỏ đầu bóng phát tia X lấy trung bình trên diện tích không vượt quá 100 cm² cho mọi chế độ làm việc của thiết bị được nhà sản xuất khuyến cáo.

2. Giá trị lọc cố định của hệ đầu bóng phát X - quang trong đơn vị milimét nhôm tương đương (mm Al) phải ghi rõ trên vỏ hộp chứa bóng.

3. Có hệ kiểm tra kích thước chùm tia bằng nguồn sáng, trừ thiết bị X - quang chụp răng sử dụng phim đặt sau huyệt ổ răng và thiết bị X - quang chụp vú.

4. Các thông số điện áp phát (kV), dòng bóng phát (mA), thời gian phát tia (s) hoặc hằng số phát tia (mAs) phải được hiển thị trên tủ điều khiển khi đặt chế độ làm việc và khi chụp.

5. Đối với thiết bị chụp X - quang, việc phát tia phải được chấm dứt sau một thời gian đặt trước hoặc sau khi đạt giá trị mAs đặt trước hoặc đạt giá trị liều chiếu xạ đặt trước.

6. Đối với thiết bị X - quang soi chiếu phải có bộ kiểm soát tự động chế độ phát tia AEC hoặc công tắc điều khiển phát tia dạng bấm và giữ, bảo đảm thiết bị chỉ phát tia nếu công tắc được bấm, giữ chặt và sẽ ngừng phát tia khi thả công tắc.

7. Thiết bị X - quang di động phải có cáp nối đủ dài để bảo đảm khoảng cách giữa người vận hành thiết bị và bóng phát tối thiểu 2 m. Đối với thiết bị bức xạ khác, khoảng cách này tối thiểu là 3 m.

Được

8. Thiết bị X - quang can thiệp phải có các tấm che chắn cao su chì lắp tại bàn người được đo để che chắn các tia bức xạ ảnh hưởng đến nhân viên và hệ che chắn treo trên trần để sử dụng cho mục đích bảo vệ mắt và tuyến giáp của nhân viên khi theo dõi người được đo. Các tấm che chắn cao su chì phải bảo đảm có chiều dày che chắn không nhỏ hơn 0,5 milimét chì tương đương.

Phụ lục 3: Nội quy an toàn bức xạ và quy trình vận hành máy X – quang

NỘI QUY AN TOÀN BỨC XẠ

1. Phòng đo phải có biển cảnh báo phóng xạ, đèn báo phát tia.
2. Phải đóng cửa phòng máy trước khi tiến hành đo.
3. Không để chùm tia sơ cấp chiếu thẳng tới cửa ra vào và phòng điều khiển.
4. Trong khi đo tất cả các nhân viên phải đứng trong phòng điều khiển.
5. Cần phải sử dụng các dụng cụ bảo vệ để che chắn bộ phận sinh dục của người được đo khi cần thiết và cần điều chỉnh chùm tia vừa đủ để ghi hình.
6. Khi phải đỡ hoặc giữ người được đo để đo nên sử dụng giá đỡ cơ khí nếu có thể.
7. Không để người được đo chờ hoặc thay đồ trong phòng đo khi người được đo khác đang đo.
8. Nếu ai đó cần ở lại trong phòng đo để giữ người được đo trong khi đo thì người đó phải: Tránh hướng chùm tia trực tiếp.
9. Ghi chép hàng tháng, lịch làm việc của các nhân viên X - quang, người trợ giúp, số lần phát tia và kỹ thuật đã làm.
10. Nhân viên X – quang phải mang liều xạ kế trong giờ làm việc.
11. Quy định này áp dụng cho tất cả các nhân viên và mọi người đến Phòng đo mật độ xương.

Thủ trưởng đơn vị
(Ký tên và đóng dấu)



BẢN QUY TRÌNH VẬN HÀNH MÁY VÀ BẢO DƯỠNG MÁY

X - QUANG ĐO DXA

- Máy X- quang đo loãng xương là máy có công suất lớn, khi được sử dụng máy mới không được sử dụng hết công suất của máy.
- Không được sử dụng điện cao thế ngay từ đầu mà phải tập dượt cho máy quen dần với các thông số chiếu hoặc chụp.
- Khi nút chống chế quá tải báo hiệu đèn đỏ thì không được chiếu chụp cần phải kiểm tra và báo ngay cho người phụ trách trong khoa phòng.
- Trong quá trình làm việc của máy nếu ta thấy bóng X- quang quá nóng thì không được chiếu chụp chờ khi nào bóng nguội mới được làm.
- Trước khi chiếu chụp phải chuẩn bị các thông số cần thiết, chuẩn bị phim và các dụng cụ khác cần thiết để chiếu chụp, kiểm tra bộ phận, các nút trên máy và hoạt động của bóng X - quang.
- Vận hành nhẹ nhàng, nhanh chóng chính xác.
- Hàng ngày phải kiểm tra dây cáp, dây dẫn điện, các nút điều khiển thông số chiếu chụp, sau giờ làm việc phải vệ sinh phòng máy và các thiết bị khác.
- Chống ẩm ướt bằng cách phòng máy phải được lắp điều hòa, máy hút ẩm về mùa xuân để đảm bảo phòng máy luôn luôn khô ráo, thông thoáng.
- Chống han rỉ bằng cách thường xuyên sơn lại vỏ máy ở những vị trí bong sơn.
- Chống các côn trùng cắn dây cáp, dây điện trong tủ điện bằng cách cửa ra vào phòng chụp luôn được đóng kín.
- Hàng ngày sau khi làm việc phải đưa các thông số chiếu chụp về mức tối thiểu, bóng X - quang về vị trí nghỉ sau đó mới được ngắt nguồn điện.
- Vệ sinh phòng làm việc không được lau máy bằng khăn ướt, trước khi lau chùi phải ngắt điện lưới toàn bộ vào máy và các trang thiết bị khác.
- Hàng tháng phải kiểm tra đường dây điện trong tủ điều khiển, đặc biệt là các rơ le, các ốc vặn, các má tiếp xúc nếu không tốt phải báo cho kỹ sư hoặc kỹ thuật chuyên ngành máy X - quang để có biện pháp khắc phục.

BẢN QUY TRÌNH VẬN HÀNH MÁY X - QUANG ĐO DXA

I. Khi đo cần tiến hành theo các bước sau :

1. Bật cầu dao
2. Bật điện vào máy
3. Chỉnh các núm tiêu chuẩn, đo theo từng vị trí được chỉ định.
4. Bấm nút đo

II. Khi dừng đo

1. Xoay vặn các núm tiêu chuẩn về vị trí thấp nhất
2. Cho máy ở vị trí nghỉ
3. Tắt nguồn điện vào máy rồi tắt cầu dao điện
4. Thường xuyên vệ sinh máy theo ca làm việc

Thủ trưởng đơn vị
(Ký tên và đóng dấu)



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 16:

HỎI GHI KHẨU PHẦN CÁ THỂ 24 GIỜ QUA Ở NGƯỜI THEO MẪU

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua ở người theo mẫu.

1.2. Định nghĩa:

Phương pháp hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua (hay còn gọi là hỏi ghi khẩu phần ngày hôm qua) là một cuộc phỏng vấn có cấu trúc để hỏi ghi các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống và xác định trọng lượng của thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng đã tiêu thụ trong vòng 24 giờ qua.

Có 2 cách ấn định thời gian cần hỏi:

- Cách 1: Hỏi ghi tất cả những thực phẩm, món ăn, đồ uống được đối tượng ăn, uống trong 1 ngày hôm trước (bắt đầu từ sau khi thức dậy của ngày hôm qua cho đến cùng thời điểm đầy của sáng ngày hôm nay).

- Cách 2: Hỏi ghi tất cả những thực phẩm, món ăn, đồ uống được đối tượng ăn, uống trong giai đoạn 24 giờ kể từ lúc điều tra viên bắt đầu phỏng vấn đối tượng trở về trước.

Ví dụ: Cuộc phỏng vấn bắt đầu vào lúc 10h ngày 20/09/2022 thì giai đoạn 24 giờ qua được tính từ 10h ngày 19/9/2022 cho tới thời điểm phỏng vấn.

Chú ý: Quy trình kỹ thuật này để đánh giá khẩu phần thường có, không điều tra những ngày đặc biệt như giỗ, tết, liên hoan...

1.3. Nguyên lý: Mức tiêu thụ lương thực thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần được tính từ lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ. Việc hỏi ghi khẩu phần ăn 24 giờ qua sẽ tính được lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ, từ đó tính được khối lượng từng loại thực phẩm đơn lẻ đã được đối tượng tiêu thụ, tính được giá trị dinh dưỡng của từng thực phẩm đơn lẻ có trong khẩu phần, tính được mức tiêu thụ của từng thực phẩm đơn lẻ, nhóm thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của cả khẩu phần.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp: 01 người hỏi ghi khẩu phần (điều tra viên - ĐTV) thực hiện phỏng vấn có trình độ từ đại học trở lên được tập huấn về kỹ thuật hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua.

- Nhân lực gián tiếp: 01 người chịu trách nhiệm quản lý người thu thập số liệu có trình độ từ đại học trở lên, 01 người hỗ trợ có trình độ đào tạo từ trung cấp trở

2.2. Vật tư trực tiếp

- Quyển ảnh dùng cho điều tra khẩu phần: 1 quyển

- Bộ dụng cụ bát, đĩa, thìa, âu đựng nước, cốc các kích cỡ khác nhau

- Cân điện tử độ chính xác $\pm 1g$: 1 cái

- Pin tiêu: 1 bộ (4 quả)
- Quả cân chuẩn 500g: 1 quả
- Phiếu điều tra: 1 bộ phiếu (gồm 02 tờ A3 và 02 tờ A4)
- Bút bi: 1 cái
- Sổ ghi chép: 1 cuốn

2.3. Thiết bị: không áp dụng

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

a. Đối với điều tra viên:

- Trước khi tiến hành thu thập số liệu, điều tra viên cần được tập huấn kỹ về mục đích, ý nghĩa và tầm quan trọng của cuộc điều tra, đặc biệt là kỹ thuật và kỹ năng điều tra.

- Trong khi hỏi, điều tra viên cần tạo không khí thân mật, cởi mở với đối tượng điều tra để họ có thể kể thoải mái, tự nhiên việc ăn uống của họ. Tránh tuyệt đối những câu hỏi gợi mở mang tính chất điều chỉnh câu trả lời cho đối tượng (VD: Bát cơm đầy không, ăn ít thế...). Luôn đưa ra những câu hỏi kiểm tra chéo để đánh giá tính chân thực của câu trả lời. Tổng thời gian thực hiện cuộc phỏng vấn hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua trung bình khoảng 60 phút, tùy thuộc mức độ nhớ lại của đối tượng và số loại thực phẩm mà đối tượng tiêu thụ.

- ĐTV cần sử dụng những dụng cụ hỗ trợ (bộ dụng cụ đo lường, cốc, chén, thìa, quyền ảnh thực phẩm, cân thực phẩm...) để giúp đối tượng có thể dễ nhớ, dễ mô tả các kích cỡ thực phẩm, món ăn, đồ uống so với số lượng đã tiêu thụ và giúp cho việc qui đổi đơn vị đo lường một cách chính xác.

b. Đối với đối tượng được phỏng vấn

- Phỏng vấn trực tiếp đối tượng
- Người được trả lời phỏng vấn phải đảm bảo có khả năng giao tiếp thông thường.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: người hỏi ghi khẩu phần phỏng vấn trung bình trong tổng thời gian dự kiến 60 phút/ đối tượng

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn: quy trình này chỉ thực hiện hỏi ghi khẩu phần ăn 24 giờ qua, không có nguy cơ gây mất an toàn nào.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

a. Bước 1: Chào hỏi, giới thiệu và điền các thông tin chung của mẫu phiếu

- Chào hỏi

- Giới thiệu mục đích, nội dung, cách thức tiến hành, thời gian dự kiến của cuộc phỏng vấn với đối tượng để họ hiểu và cùng cộng tác nhằm đảm bảo tính chân thực của số liệu.

- Hỏi và điền các thông tin hành chính theo các nội dung in trên phiếu:

+ Họ và tên đối tượng

+ Giới tính

+ Ngày tháng năm sinh (dương lịch/âm lịch theo câu trả lời của đối tượng)

+ Họ và tên người phỏng vấn

+ Địa chỉ

+ Mã số đối tượng

+ Ngày điều tra

b. Bước 2: Liệt kê danh mục các thực phẩm, món ăn, đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ qua

Mục tiêu: Có được danh mục hoàn chỉnh các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống (bao gồm cả nước) đã được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ qua.

Điều tra viên đề nghị người trả lời phỏng vấn kể lại các thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng đã tiêu thụ cùng với thời gian và địa điểm tiêu thụ các thực phẩm, món ăn, đồ uống đó.

Lưu ý khi hỏi đối tượng cần hỏi theo trình tự thời gian, hạn chế việc hỏi vào các bữa ăn cụ thể (như bữa sáng, bữa trưa, bữa tối), điều này có thể làm nhiều các câu trả lời của đối tượng điều tra.

Khuyến khích người trả lời phỏng vấn nhớ lại các lần ăn, uống trong vòng một ngày qua dựa trên các hoạt động hàng ngày của họ, tránh việc bỏ sót thực phẩm, món ăn, đồ uống mà họ đã tiêu thụ.

Phiếu 1: Phiếu danh mục nhanh

Số thứ tự	Thời gian ăn (viết theo giờ quốc tế, VD: 17:00)	Nơi ăn (1.tại nhà 2.nơi khác)	Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống
(1)	(2)	(3)	(4)
1	06:30	1	Cơm tẻ
2	06:30	1	Trứng đúc thịt rán
3	09:00	2	Chuối tây

- Cột 1 (Số thứ tự): Viết số thứ tự xuất hiện của từng loại thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng đã tiêu thụ theo trình tự thời gian.

- Cột 2 (Thời gian ăn): Viết thời gian đối tượng đã tiêu thụ thực phẩm, món ăn, đồ uống. Thời gian viết theo giờ quốc tế, ví dụ: 17:00

- Cột 3 (Nơi ăn): Viết mã số nơi tiêu thụ từng loại thực phẩm, món ăn, đồ uống đó.

- Cột 4 (Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống): Viết tên mỗi thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ: với thực phẩm đơn ghi tên chính xác của thực phẩm, với món ăn hỗn hợp ghi tên thực phẩm chính và cách chế biến.

Một số câu hỏi gợi ý khi hỏi:

- Sau khi thức dậy ngày hôm qua anh/ chị làm gì?
- Loại thực phẩm, món ăn, đồ uống nào anh/ chị ăn đầu tiên, sau khi thức dậy?
- Anh/ chị ăn thực phẩm, món ăn, đồ uống đó vào lúc mấy giờ?
- Ngoài thực phẩm, món ăn, đồ uống đó, anh/ chị còn ăn hoặc uống thêm thứ gì khác vào lúc ... giờ đó không?
- Sau đó anh/ chị làm gì?
- Sau đó anh/ chị ăn/uống gì? Vào lúc mấy giờ?
- Ngoài thực phẩm, món ăn, đồ uống đó, anh/ chị còn ăn hoặc uống thêm thứ gì khác vào lúc ... giờ đó không?

Tiếp tục hỏi để có danh mục tất cả các thực phẩm, món ăn, đồ uống đối tượng đã tiêu thụ trong ngày hôm trước cho đến khi họ đi ngủ. Trước khi chuyển sang bước 2, hỏi thêm một lần nữa xem họ có ăn hoặc uống thêm bất kỳ thứ gì trước khi đi ngủ không.

c. Bước 3: Mô tả chi tiết thực phẩm, món ăn, đồ uống

Mục tiêu: Mô tả chi tiết về tất cả các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ trong vòng 24 giờ qua.

Các thông tin thu thập trong phần này sẽ thuộc 3 cột đầu tiên trong phiếu điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ qua của người trưởng thành. Cách ghi 3 cột đầu như dưới đây:

Điều tra viên chép lại các thông tin cột 1 và cột số 2 ở phiếu số 1

STT	Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống
(1)	(4)	(5)
1	Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ
2	Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai
		Trứng gà ta
		Dầu ăn
		Bột canh
3	Chuối tây	Chuối tây

Chú ý khi mô tả về thực phẩm, món ăn, đồ uống:

- Với món ăn hỗn hợp: Mô tả chi tiết về công thức chế biến món ăn (món ăn gồm các loại thực phẩm nào), đối tượng ăn gì trong món ăn đó (nếu không ăn cả món). Đối với những món ăn không được chế biến tại nhà hoặc đối tượng không biết rõ thành phần trong món ăn thì yêu cầu người được phỏng vấn liệt kê chi tiết các thông tin về thành phần của món ăn đó.

- Với thực phẩm đơn và đồ uống: Mô tả thông tin chi tiết về chủng loại đa dạng (ví dụ: gạo - nếp, tẻ), màu (ví dụ: gạo - trắng, nâu, tím), vị trí (ví dụ: thịt lợn - thăn, vai, móng), thành phần chất béo (ví dụ: thịt lợn - nạc, nửa nạc nửa mỡ, mỡ), dạng (ví dụ: thịt lợn - miếng nhỏ/to/vừa) của thực phẩm.

Các thông tin chi tiết cần thu thập theo nhóm thực phẩm đơn và đồ uống:

- Thịt: Loại thịt gì? Thịt ở vị trí nào? Thịt nạc hay thịt mỡ? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- Cá và hải sản: Loại cá/hải sản gì? Phần được ăn nằm ở vị trí nào? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- Gia cầm: Loại gia cầm gì? Phần được ăn nằm ở vị trí nào? Có da hay không? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- Trứng: Loại trứng gì? Chế biến như thế nào?

- Đậu đỗ các loại: Loại đậu đỗ gì? Tươi hay khô? Chế biến như thế nào?

- Sữa và chế phẩm từ sữa: Sữa loại gì? Tên thương hiệu là gì? Sữa tươi, sữa cô đặc hay sữa hoàn nguyên? Tỷ lệ phần trăm chất béo bao nhiêu? Sữa có đường/ít đường hay không đường?

- Rau: Rau gì? Rau sống hay nấu chín? Chế biến như thế nào?

- Trái cây: Trái cây gì? Trái cây tươi, đóng hộp hay sấy khô? Trái cây đã gọt vỏ chưa? Có hạt không? Non hay chín? Ăn cả miếng hay xay nhuyễn?

- Đồ uống: Loại gì? Tươi hay đóng hộp? Có gas hay không? Ngọt hay có đường? Có đá hay không đá?

- Nước trái cây: Loại nước trái cây nào? Nếu trộn lẫn các loại quả thì những loại quả nào? Có đường hoặc không đường? Bổ sung vi chất không? Có đá hay không đá?

...

- Gạo: Gạo loại gì? Xay sát trắng hay còn vỏ cám? Chế biến như thế nào?

- Khoai củ: Loại gì? Màu gì? Tươi hay khô? Chế biến như thế nào?

- Đồ ăn mua ngoài nhà: Loại gì? Dạng chế biến? Thành phần gồm những gì?

- Món ăn hỗn hợp: Thành phần gồm những gì? Phương pháp nấu là gì?

- Đồ ăn vặt: Kích thước? Tên thương hiệu?

- Bánh ngọt: Tự làm hay đồ thương mại? Nếu tự làm, thành phần gồm những gì? Nếu đồ thương mại, tên thương hiệu, kích thước?

Chú ý: Với một số thực phẩm như xúc xích, giò chả, pate... thì liệt kê như một thực phẩm đơn lẻ. Trong trường hợp đây là thực phẩm do gia đình tự chế biến thì phải khai thác chi tiết thành phần của món ăn đó.

d. Bước 4: Ước tính số lượng, trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đã tiêu thụ

Mục tiêu: Ước tính được số lượng, trọng lượng của mỗi loại thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ qua.

Một số phương pháp được sử dụng để ước lượng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống:

- Cân trực tiếp (g):

+ Được sử dụng trong trường hợp thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng tiêu thụ ngày hôm qua có sẵn ở hộ gia đình, đề nghị đối tượng biểu diễn lại lượng đã tiêu thụ sau đó cân lại để lấy trọng lượng.

+ Phương pháp này áp dụng với tất cả loại thực phẩm, món ăn, đồ uống có sẵn trong nhà như đã tiêu thụ ngày hôm trước và sẵn sàng cho phép điều tra viên cân trực tiếp.

- Cân gián tiếp với gạo (g)

+ Sử dụng gạo như công cụ hỗ trợ trực quan để ước lượng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ. Cân lượng gạo tương ứng và ghi trọng lượng gạo vào phiếu, trọng lượng gạo sau đó được chuyển đổi sang trọng lượng thật (g) của thực phẩm, món ăn, đồ uống đó ở bước xử lý số liệu bằng hệ số chuyển đổi.

+ Áp dụng: Dùng phương pháp này khi thực phẩm, món ăn được tiêu thụ có thể vun thành đống trong bát hoặc đĩa (VD rau muống xào, cơm rang...)

- Cân gián tiếp với nước (g)

+ Sử dụng nước như công cụ hỗ trợ trực quan để ước lượng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ. Cân lượng nước tương ứng và ghi trọng lượng nước vào phiếu, trọng lượng nước sau đó được chuyển đổi sang trọng lượng thật (g) của thực phẩm, món ăn, đồ uống đó ở bước xử lý số liệu bằng hệ số chuyển đổi.

+ Áp dụng: Dùng phương pháp này khi ước tính trọng lượng các thực phẩm, món ăn, đồ uống dạng lỏng như cháo, món hầm nhuyễn, đồ uống và bất kỳ thực phẩm hay món ăn có bề mặt phẳng (như sữa chua). Trong tất cả các trường hợp cân trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống gián tiếp với nước được sử dụng, trọng lượng với gạo cũng có thể được dùng.

- Sử dụng quyển ảnh tiêu chuẩn:

+ Sử dụng quyển ảnh thực phẩm trong điều tra khẩu phần. Người trả lời phỏng vấn lựa chọn hình ảnh của thực phẩm, món ăn, đồ uống có kích cỡ phù hợp với lượng đối tượng đã tiêu thụ.

+ Áp dụng: Dùng để ước tính trọng lượng của các thực phẩm, món ăn, đồ uống được trình bày dưới dạng miếng/khúc (thịt bò, thịt lợn, quả chín, trứng...)/ bát/ cốc/ thìa/ đĩa/ cái...

+ Với các thực phẩm, món ăn dạng miếng, khúc mà trong quyền ảnh không có ảnh thì sử dụng các phương pháp ước lượng khác như hỏi trọng lượng, kích cỡ, giá tiền...

- Nhớ lại trọng lượng hoặc nhớ lại giá tiền: Với các thực phẩm, món ăn, đồ uống có bán tại chợ địa phương (ví dụ: mớ rau, bìa đậu...) hoặc các thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng mua bên ngoài nhưng không rõ thành phần chi tiết thì yêu cầu ghi rõ giá tiền, kích thước... sau đó tiến hành mua thực phẩm, món ăn, đồ uống đó tại địa bàn đang thực hiện điều tra, cân và điền trọng lượng vào phiếu hỏi ghi.

- Chú ý: Tùy mục đích mà mỗi hoạt động có thể sử dụng các phương pháp ước lượng trọng lượng khác nhau. Trong phạm vi của quy trình này chúng tôi đề cập đến phương pháp ước lượng trọng lượng thực phẩm bằng phương pháp hỏi ghi kết hợp cân đong trực tiếp, sử dụng quyền ảnh và phương pháp nhớ lại trọng lượng hoặc giá tiền.

Để ước tính được trọng lượng tiêu thụ đối với mỗi thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng tiêu thụ, điều tra viên cần khai thác và điền đầy đủ các thông tin trên phiếu hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua với các nội dung như sau:

Toàn bộ quá trình xác định trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống ăn được của bước 3 sẽ được thực hiện trong phiếu hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua từ cột số 4 đến cột số 21 và được chia làm 3 phần:

+ Trước ăn: Cột số 4 đến cột số 13

+ Sau ăn (phần thừa): Cột số 14 đến cột số 20

+ Phần ăn được: Cột số 21

Trước ăn: Cột số 4 đến cột số 13

Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống	Trước ăn									
		1.Sống/ 2.Chín	Sơ chế	PP đo lường1: Cân trực tiếp; 2:Quyền ảnh; 3: Nhớ lại; 4: Khác	Đơn vị đo lường (ĐVĐL)	Số lượng ĐVĐL	Trọng lượng 1 ĐVĐL	Tổng trọng lượng (g)	Phần cho trẻ ăn so với tổng lượng nấu	Thải bỏ (1. Có/ 2. Không)	Quy ra trọng lượng sống (cách ăn được (g))
2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ	2		1	g	1	80	80	1	2	

Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai	1	băm	3	g	1	100	100	0,5	2	
	Trứng gà ta	1		2	g	2	58	116	0,5	1	
	Dầu ăn	1		1	g	1	30	30	0,5	2	
	Bột canh	1		1	g	1	3	3	0,5	2	
Chuối	Chuối tây	1		2	g	1	52	52	1	1	

- Cột 4: Hỏi xác định từng thành phần thực phẩm của thực phẩm, món ăn, đồ uống ở dạng sống hay chín.

1. Sống 2. Chín

- Cột 5: Hỏi xác định thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên được sơ chế theo cách nào?

Ví dụ: Xay nhuyễn, băm nhỏ, thái miếng...

- Cột 6: Hỏi và xác định thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên được xác định bằng phương pháp đo lường nào?

1. Cân trực tiếp

3. Nhớ lại

2. Quyển ảnh

4. Khác

- Cột 7: Hỏi xác định từng thực phẩm, món ăn, đồ uống trên được đong/đo bằng đơn vị đo lường gì?

+ Đơn vị đo lường: là đơn vị đong, đo thực phẩm, món ăn, đồ uống như bát, thìa, cốc, chén, bơ, mớ rau... và đảm bảo có thể quy đổi ra được đơn vị đo lường chung là gam.

+ Đối với các thực phẩm, món ăn, đồ uống đơn vị đo lường khác mà không thể quy đổi ra gam, ví dụ: bó, mớ, nắm,... thì cần ghi kèm các thông tin chi tiết để có thể hỗ trợ việc quy đổi trọng lượng (Ví dụ: giá tiền, nơi mua, tình trạng... để điều tra viên mua và cân lại trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đó).

- Cột 8: Hỏi xác định số lượng đơn vị đo lường của từng loại thực phẩm và thực phẩm thành phần

Số lượng đơn vị đo lường có thể là dạng số nguyên (1,2,3...) hoặc dạng số thập phân (0,25; 0,5...)

- Cột 9: Xác định trọng lượng của 1 đơn vị đo lường

+ Trong trường hợp thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng tiêu thụ ngày hôm qua hiện vẫn còn, yêu cầu đối tượng biểu diễn lại lượng ăn rồi cân lại để lấy trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đó.

Handwritten signature in blue ink.

+ Với thực phẩm, món ăn, đồ uống có bán tại chợ địa phương (ví dụ: mớ rau, bìa đậu...) ghi rõ giá tiền, kích thước sau đó tìm hiểu và điền trọng lượng vào sau.

+ Sử dụng quyền ảnh thực phẩm, bộ dụng cụ, mô hình thực phẩm hỗ trợ để đối tượng ước lượng.

+ Lưu ý: Khi đối tượng ăn cùng một loại thực phẩm, món ăn, đồ uống với cùng đơn vị đo lường nhưng có nhiều trọng lượng khác nhau (Ví dụ 1 miếng thịt gà luộc to, 1 miếng nhỏ), ĐTV có thể ghi ra số nháp trọng lượng của các phần của thực phẩm đó rồi cộng tổng trước khi điền vào ô này.

- Cột 10: Tính tổng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống trước khi chế biến.

Tổng trọng lượng chế biến được tính bằng tích của số lượng đơn vị đo lường với trọng lượng 1 đơn vị đo lường (cột 8 x cột 9).

- Cột 11: Hỏi xác định phần thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng ăn so với tổng lượng chế biến.

+ Phần mà đối tượng ăn so với tổng lượng chế biến có thể là số nguyên hoặc số thập phân.

+ Ví dụ: Phần ăn của đối tượng là $1/2$ (0,5) hoặc $1/3$ (0,33) so với lượng chế biến.

- Cột 12: Hỏi và xác định phần thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng ăn có bao gồm thải bỏ không?

1. Có 2. Không

Nếu thực phẩm, món ăn, đồ uống đó có thải bỏ thì chọn 1; không có thải bỏ chọn 2

- Cột 13: Quy ra trọng lượng sống sạch ăn được

Để quy ra được trọng lượng sống sạch ăn được của thực phẩm, món ăn, đồ uống thì cần có thông tin về tỷ lệ thải bỏ của thực phẩm đó và bước này sẽ được xử lý sau khi kết thúc cuộc điều tra.

Sau ăn (phần thừa): Cột số 14 đến cột số 20

Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống	Sau ăn (phần thừa)						
		1.Có/ 2.Không	1.Sống/ 2.Chín	ĐVĐL	Số lượng ĐVĐL/ tỷ lệ so với tổng số trước ăn	Trọng lượng 1 ĐVĐL	Tổng trọng lượng còn lại (g)	Quy ra trọng lượng sống sạch (g)
2	3	14	15	16	17	18	19	20
Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ	2	-	-	-	-	-	
Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai	2	-	-	-	-	-	
	Trứng gà ta	2	-	-	-	-	-	
	Dầu ăn	2	-	-	-	-	-	
	Bột canh	2	-	-	-	-	-	
Chuối	Chuối tây	2	-	-	-	-	-	

- Cột 14: Hỏi xác định lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên có tiêu thụ hết trong bữa đó không?

+ Nếu đối tượng ăn hết, chọn 1. CÓ và kết thúc hỏi về thực phẩm, món ăn, đồ uống này và chuyển sang hỏi thực phẩm, món ăn, đồ uống khác. Trong trường hợp này phần thực phẩm, món ăn, đồ uống được hỏi trước chế biến cũng chính là thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng ăn được.

+ Nếu đối tượng ăn không hết, chọn 2. KHÔNG và tiếp tục khai thác thông tin về phần thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa.

- Cột 15: Hỏi xác định phần thừa của thực phẩm, món ăn, đồ uống ở dạng sống hay chín

Hỏi tương tự cột 4

- Cột 16: Hỏi xác định phần thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa được đo lường bằng đơn vị/dụng cụ nào

Được 22/5

- Cột 17: Hồi xác định số lượng đơn vị đo lường, hoặc tỷ lệ thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa so với tổng số ăn

- Cột 18: Xác định trọng lượng của 1 đơn vị đo lường

- Cột 19: Xác định tổng trọng lượng của phần thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa

Trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống còn thừa chính là tích của 2 cột 17 và 18 (Cột 17 x Cột 18)

- Cột 20: Tính trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống còn thừa quy ra sống sạch ăn được

Thực hiện tương tự cột số 13, phần này sẽ được thực hiện sau khi kết thúc cuộc điều tra.

Phần ăn được

Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống	Trọng lượng thực ăn quy ra sống sạch	Mã thực phẩm	Ghi chú
2	3	21	22	23
Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ			
Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai			
	Trứng gà ta			
	Dầu ăn			
	Bột canh			
Chuối	Chuối tây			

- Cột 21: Tính trọng lượng thực ăn quy ra sống sạch ăn được

Phần thực phẩm đối tượng ăn được là hiệu số của thực phẩm chế biến với thực phẩm còn thừa (hiệu số của cột 13 và cột 20).

- Cột 22: Ghi mã số của thực phẩm, món ăn, đồ uống dựa theo bảng thành phần thực phẩm Việt Nam.

- Cột 23: Ghi chú: Dùng để ghi chú các thông tin cần giải thích thêm hoặc các thông tin cần thiết khác có liên quan đến thực phẩm.

- Chú ý: Cột 21, 22 sẽ được xử lý ngoài cuộc điều tra trước khi nhập số liệu ăn được của đối tượng để tính giá trị dinh dưỡng trong khẩu phần.

e. Bước 5: Xem xét lại toàn bộ các thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được kể lại

Mục tiêu: Xem lại và xác nhận các thực phẩm thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng kể lại và đảm bảo rằng không có thực phẩm, món ăn, đồ uống nào mà đối tượng quên không kể hoặc bị thêm nhầm vào.

Bước này hoàn thành khi đã điền đầy đủ bước 3 cho tất cả các thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ.

Xem xét toàn bộ danh sách tất cả thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ, xác nhận rằng đối tượng không quên bất kỳ thứ gì đã tiêu thụ ngày hôm qua hoặc không có thực phẩm, món ăn, đồ uống nào được thêm nhầm vào mà đối tượng đã không ăn trong 24 giờ qua.

Trường hợp đối tượng quên một thực phẩm, món ăn, đồ uống nào đó thì quay lại bước 1 để ghi vào phiếu và lần lượt hoàn thành các bước cho thực phẩm đó.

Trường hợp có thực phẩm, món ăn, đồ uống nào đó mà đối tượng không ăn hôm qua nhưng kể lại nhầm, cần xóa/gạch khỏi tất cả các bước.

Ghi chép các thực phẩm, món ăn, đồ uống cần được thu thập thông tin về trọng lượng, chủng loại, thành phần... để tiến hành mua và cân đong lại trọng lượng.

Ký tên vào phiếu phỏng vấn.

4.2. Nhận định kết quả

- Việc điều tra hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua được thực hiện đúng quy trình với đầy đủ thông tin gồm: tổng số các bữa ăn, địa điểm ăn, món ăn, thực phẩm và lượng thực phẩm mà đối tượng ăn được ở dạng thực phẩm sống sạch ăn được.

- Tổng số thực phẩm, món ăn, đồ uống ăn vào của đối tượng trong vòng 24 giờ qua và trọng lượng ăn vào của từng loại thực phẩm cho phép ước lượng mức tiêu thụ lương thực, thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần. Phương pháp ước lượng trọng lượng thực phẩm được dựa trên các công cụ đo lường tại địa phương, hoặc các dụng cụ ước lượng thực phẩm chuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả hỏi ghi khẩu phần 24 giờ sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại cơ quan quản lý thực hiện theo quy định.

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

- Sử dụng sai các công cụ ước lượng trọng lượng thực phẩm. Để khắc phục lỗi này sử dụng các công cụ đo lường (bát, thìa, cốc...) thường dùng tại địa phương và các công cụ ước lượng thực phẩm chuẩn.

- Báo cáo quá mức hoặc dưới mức về lượng thực phẩm tiêu thụ. Để khắc phục tình huống này, điều tra viên cần được tập huấn kỹ trước khi điều tra thực địa. Hoặc trong quá trình phỏng vấn, điều tra viên cần khéo léo và kiên trì gợi mở để đối tượng được phỏng vấn có thể nhớ hết các bữa ăn, món ăn và thực phẩm mà họ đã ăn trong 24 giờ qua.

- Dữ liệu khẩu phần từ hồi ghi 24 giờ qua có thể bị sai lệch nếu cuộc phỏng vấn hỏi về khẩu phần của một ngày ăn kiêng hoặc ăn tiệc, hoặc một ngày trẻ được đi dã ngoại, du lịch. Do đó, điều tra viên cần phỏng vấn khẩu phần ăn một ngày bình thường của đối tượng.

- Bỏ sót/bỏ qua một hoặc một vài thực phẩm mà có thể đối tượng quên chưa nhắc đến vì các loại thực phẩm này được tiêu thụ rải rác giữa các bữa ăn chính. Cách khắc phục: Điều tra viên luôn cần nhớ hỏi tất cả thực phẩm mà đối tượng ăn/uống giữa các bữa ăn/hoặc nhớ hỏi lại đối tượng sau khi họ đã liệt kê hết tất cả các loại thực phẩm với câu hỏi "Bạn còn ăn/uống gì khác nữa vào lần này không?"

- Tên thực phẩm có thể được gọi khác nhau ở các vùng miền, sự sẵn có của thực phẩm cũng khác nhau ở các địa phương. Do đó, để hạn chế việc này, cơ sở dữ liệu về thực phẩm quốc gia cần được sử dụng và hiệu chỉnh theo tên gọi cụ thể đối với từng địa phương, danh mục các thực phẩm tương đương cần được chuẩn bị để có thể dùng trong quá trình phỏng vấn. Điều tra viên cần được tập huấn kỹ về những điểm này để hạn chế sai số trong quá trình phỏng vấn.

- Dữ liệu khẩu phần 24 giờ qua có thể bị sai lệch với những người có hạn chế về khả năng nhớ lại hoặc các hạn chế về ngôn ngữ hoặc những người không trực tiếp nấu ăn. Do đó, để hạn chế lỗi này, việc lựa chọn đối tượng phỏng vấn cần được thực hiện kỹ càng, căn cứ theo các tiêu chuẩn loại trừ và lựa chọn một cách nghiêm ngặt.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: Việc mã hóa thực phẩm để tính giá trị dinh dưỡng có thể bị sai lệch nếu điều tra viên sử dụng sai mã thực phẩm hoặc cơ sở dữ liệu không phù hợp. Vì thế, tập huấn điều tra viên trước điều tra cũng như sử dụng cơ sở dữ liệu về thực phẩm và danh mục thực phẩm tương đương theo vùng miền, theo mùa, dân tộc cần được thực hiện kỹ càng trước khi điều tra thực địa để tránh các sai số này.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng với kỹ thuật này.

- Cần có giám sát viên kiểm tra việc thực hiện, bao gồm cả giám sát thực địa (kiểm các các bước thực hiện, thu và kiểm tra tính đầy đủ của phiếu ghi kết quả) và giám sát số liệu (kiểm tra mã thực phẩm được điền, số liệu thu thập được và tính logic của số liệu).

7. Tài liệu tham khảo

- Rosalind Gibson. (2005). Chapter 3: Measuring food consumption of individuals. In Principles of Nutritional Assessment. 2nd edition. New York: Oxford University Press

- Tom Baranowski. (2013). Chapter 4: 24 giờ recall and diet record methods. In Nutritional Epidemiology. 3rd edition. Walter Willett editor. New York: Oxford University Press.

- Lê Bạch Mai, Lê Danh Tuyên, Đỗ Thị Phương Hà. Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội

- National Library of Medicine. Overview of Dietary Assessment Methods for Measuring Intakes of Foods, Beverages, and Dietary Supplements in Research Studies. Author manuscript; available in PMC 2022 Aug 1.

- Published online 2021 Mar 11. doi: 10.1016/j.copbio.2021.02.007

- Overview of dietary assessment methods for measuring intakes of foods, beverages, and dietary supplements in research studies. Current Opinion in Biotechnology Volume 70, August 2021, Pages 91-96

- FAO. Methods of assessing dietary intake.

- The International Dietary Data Expansion (INDDEX) Project, 2019

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 16

Phụ lục 1: Phiếu danh mục nhanh

PHIẾU DANH MỤC NHANH

Họ và tên đối tượng: Giới: 1. Nam 2. Nữ Ngày sinh: ../../....

Họ và tên ĐTV: Ngày điều tra: ../../..... Địa chỉ:

Mã số đối tượng:

Ngày hôm qua là ngày như thế nào: 1. Bình thường 2. Ăn cố/ liên hoan/ sự kiện

STT	Thời gian ăn (viết theo giờ quốc tế, VD: 17:00)	Nơi ăn (1.tại nhà 2.nơi khác)	Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống
(1)	(2)	(3)	(4)

Số trang.

Handwritten signatures and initials in blue ink.

Mã số:

Họ và tên đối tượng:

Ngày sinh:/...../..... Giới: 1.Nam 2.Nữ

Ngày điều tra:/...../.....

Họ và tên ĐTV: Mã phiếu:

[illegible]

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 17:

HỎI GHI KHẨU PHẦN HỘ GIA ĐÌNH 24 GIỜ QUA Ở NGƯỜI THEO MẪU

1. Đại cương

1.1 Mục đích: Hướng dẫn hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua ở người theo mẫu.

1.2 Định nghĩa: Phương pháp hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua (hay còn gọi là hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình ngày hôm qua) là một cuộc phỏng vấn có cấu trúc kết hợp với cân đong để hỏi ghi các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống và xác định trọng lượng của thực phẩm, món ăn, đồ uống mà các thành viên hộ gia đình đã tiêu thụ trong vòng 24 giờ qua (bắt đầu từ sau khi thức dậy của ngày hôm trước đến trước khi thức dậy của ngày điều tra) dù là ăn thức ăn tại hộ gia đình hay ngoài hộ gia đình.

Nguyên lý: Mức tiêu thụ lương thực thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần được tính từ lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ. Việc hỏi ghi khẩu phần ăn 24 giờ qua sẽ tính được lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ, từ đó tính được khối lượng từng loại thực phẩm đơn lẻ đã được đối tượng tiêu thụ, tính được giá trị dinh dưỡng của từng thực phẩm đơn lẻ có trong khẩu phần, tính được mức tiêu thụ của từng thực phẩm đơn lẻ, nhóm thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của cả khẩu phần.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện:

- 01 cán bộ được đào tạo/tập huấn về hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua sẽ trực tiếp hỏi ghi

- 01 cán bộ phụ trách quản lý triển khai thu thập số liệu tại thực địa,
- 01 cán bộ hỗ trợ công tác triển khai thực địa, có trình độ từ trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư

- Quyền ảnh dùng cho điều tra khẩu phần cho trẻ 2- 5 tuổi: 1 quyền
- Quyền ảnh dùng cho điều tra khẩu phần: 1 quyền
- Bộ dụng cụ bát, đĩa, thìa, đũa, âu đựng nước, cốc các kích cỡ khác nhau thường dùng tại địa phương: 1 bộ (số lượng và chủng loại xem chi tiết phần phụ lục I).
- Vật liệu thay thế (gạo, nước): 3 kg gạo tẻ
- Phiếu điều tra: 1 bộ phiếu gồm 1 tờ phiếu A4 và 4 tờ phiếu A3
- Bút bi: 1 cái
- Sổ ghi chép: 1 cuốn
- Dụng cụ, giấy vệ sinh, chất tẩy rửa...1 bộ

2.3. Thiết bị

- Cân điện tử cân được trọng lượng tối đa 5kg, độ chính xác tối thiểu $\pm 1g$: 1 cân
- Pin theo cân: 4 quả pin tiểu
- Quả cân chuẩn 500g: 1 quả

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

❖ Đối với điều tra viên

- Trước khi tiến hành thu thập số liệu, điều tra viên (ĐTV) cần được tập huấn kỹ về mục đích, ý nghĩa và tầm quan trọng của cuộc điều tra, đặc biệt là kỹ thuật và kỹ năng điều tra.

- Trong khi hỏi, điều tra viên cần tạo không khí thân mật, cởi mở với đối tượng điều tra để họ có thể kể thoải mái, tự nhiên việc ăn uống của gia đình họ. Tránh tuyệt đối những câu hỏi gợi mở mang tính chất điều chỉnh câu trả lời cho đối tượng (VD: Sao bát cơm đầy thế? ăn ít thế...). Luôn đưa ra những câu hỏi kiểm tra chéo để đánh giá tính chân thực của câu trả lời. Tổng thời gian thực hiện cuộc phỏng vấn hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua trung bình khoảng 50 – 60 phút, tùy thuộc mức độ nhớ lại của đối tượng và số loại thực phẩm mà hộ gia đình tiêu thụ.

- ĐTV cần sử dụng những dụng cụ hỗ trợ (bộ dụng cụ đo lường, cốc, chén, thìa, quyển ảnh thực phẩm, cân thực phẩm...) để giúp đối tượng có thể dễ nhớ, dễ mô tả các kích cỡ thực phẩm, món ăn, đồ uống so với số lượng đã tiêu thụ và giúp cho việc qui đổi đơn vị đo lường một cách chính xác.

❖ Đối với đối tượng được phỏng vấn

- Phỏng vấn trực tiếp người chế biến các bữa ăn cho gia đình trong thời gian quy định của nghiên cứu.

- Người được trả lời phỏng vấn phải đảm bảo có khả năng giao tiếp thông thường.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: Kỹ thuật được thực hiện dự kiến 60 phút/đối tượng

2.7. Địa điểm thực hiện: Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng

3. An toàn:

Sử dụng quả cân chuẩn để kiểm tra độ chính xác của cân, kiểm tra cân đảm bảo về 0 trước mỗi lần cân.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chào hỏi, giới thiệu

- Chào hỏi

- Giới thiệu mục đích, nội dung, cách thức tiến hành, thời gian dự kiến của cuộc phỏng vấn với đối tượng để họ hiểu và cùng cộng tác nhằm đảm bảo tính chân thực của số liệu.

Bước 2: Phần 1 của phiếu: Bảng chấm cơm (mẫu 1a)

Mục đích: Thu thập thông tin về số thành viên gia đình đã ăn các bữa ăn được chế biến tại hộ gia đình và ngoài gia đình, số khách đã ăn/uống các bữa ăn trong ngày tại hộ gia đình.

❖ Phần thông tin hành chính:

- Mã địa điểm (xã/phường), Mã hộ.
- Họ và tên chủ hộ: Ghi đầy đủ họ và tên của chủ hộ. Phải ghi rõ ràng, không được viết tắt.
- Số thành viên trong hộ gia đình (bao gồm cả chủ hộ): Ghi lần lượt tên, năm sinh, giới, tình trạng sinh lý của tất cả thành viên trong hộ gia đình.
- Số khách ăn các bữa ăn trong hộ gia đình: Ghi lần lượt tên, năm sinh, giới, tình trạng sinh lý của tất cả khách đã ăn bất kỳ các thực phẩm món ăn nào trong các bữa ăn của hộ gia đình.
- Họ và tên điều tra viên: Điều tra viên ghi rõ và đầy đủ họ và tên của mình vào phần này.
- Ngày điều tra: là ngày mà ĐTV đến điều tra tại nhà đối tượng
- ❖ Bảng chấm ăn của từng người trong từng bữa ăn của từng thành viên trong hộ gia đình.

Định nghĩa:

- Bữa chính là các bữa sáng, bữa trưa và bữa chiều (tối), mang mã số lẻ 1, 3, 5
- Bữa ăn thêm là những bữa xen giữa các bữa chính và không thay thế bữa chính, mang mã số chẵn 2, 4, 6
- Ai ăn bữa nào thì chấm ăn tương ứng với người đó ở bữa đó.

Ví dụ: Một người ăn:

a) Bữa sáng	1	→ Bữa sáng tại nhà
b) Bữa trưa	3	→ Bữa trưa ăn tại nhà
c) Bữa chiều	5	→ Bữa chiều (tối) ăn ở ngoài.

Định nghĩa:

- Không ăn (0): nghĩa là tại bữa ăn đó thành viên đã không ăn bất cứ gì kể cả tại nhà hay ngoài nhà.
- Ăn ở nhà (1): là những bữa ăn (ở tại nhà hoặc mang từ nhà đến chỗ khác ăn) được tự nấu tại gia đình.
- Ăn ở ngoài nhà (2): là những bữa ăn ở ngoài gia đình và không do gia đình tự nấu (Quán ăn, nhà hàng, cỗ, giỗ...)

Ghi chú:

- Với những thức ăn không do gia đình chế biến, được làm từ một hoặc hai loại thực phẩm (VD: bánh mì...) thường giống nhau về trọng lượng và thành phần theo cùng đơn vị giá cả ở tại địa phương ta có thể quy định ăn tại nhà hay ngoài nhà theo địa điểm ăn.

Ví dụ: Bánh mì ăn ở quán = ăn ngoài nhà, nếu mua về nhà ăn = ăn tại nhà.

- Với những thức ăn được làm từ nhiều thành phần, nhiều loại thực phẩm (VD: Phở, Miến...) hoặc thức ăn được nấu tại nhà mang đi ra ngoài nhà ăn ta quy định theo nơi nấu món ăn.

Ví dụ: Nấu cơm và thức ăn tại nhà rồi mang đi làm, mang ra đồng ăn = ăn tại nhà.
Mua phở, miến ở cửa hàng đem về nhà ăn = ăn ngoài nhà.

Bước 3: Phần 2: Hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua (mẫu 1b)

- Các bước hỏi, nội dung hỏi và điền phiếu

1. Ngày hôm qua, sau khi thức dậy, các thành viên trong gia đình có ăn bữa sáng không?	Viết câu trả lời vào cột số 1
2. Các thành viên trong gia đình ăn bữa sáng ở nhà hay ngoài nhà? (chú ý ghi theo định nghĩa ở phần trên)	Viết câu trả lời vào cột số 2
3. Bữa sáng ngày hôm qua, sau khi thức dậy hộ gia đình ông/bà ăn món ăn gì?	Viết câu trả lời vào cột 3.
4. Món ăn [Tên] được nấu gồm những TP gì?	Viết câu trả lời vào cột 4.
5. Thành phần [Tên] của món ăn [Tên] được đo bằng đơn vị đo lường gì?	Viết câu trả lời vào cột 5
6. Hộ gia đình ông/bà đã dùng hết bao nhiêu đơn vị đo lường [Tên] của thành phần để nấu món ăn [Tên] của bữa [Tên] ngày hôm qua?	Ghi câu trả lời vào cột 6.
7. Ông/bà vui lòng biểu diễn lại cách ông/bà đo TP [Tên] bằng đơn vị đo lường [Tên] và cho phép tôi cân lại (sử dụng khi đối tượng sử dụng phương pháp ước lượng trọng lượng bằng các dụng cụ chứa đựng thực phẩm như thìa, bát, cốc...) hoặc cân trực tiếp. Nếu đối tượng sử dụng quyển ảnh thì ghi lại trọng lượng 1 ĐVDL theo trọng lượng hoặc mã của ảnh	ĐTV cân lại và ghi kết quả vào cột 7
8. Tính toán tổng số lượng của nguyên liệu sử dụng (bằng cách lấy cột 6 * cột 7) – không cần tính nếu phương pháp ước lượng trọng lượng là cân trực tiếp.	ĐTV ghi lại vào cột số 8
9. Tổng trọng lượng của món ăn [Tên] – dùng cho các món ăn mà đối tượng phỏng vấn không phải là người chế biến. ĐTV cân lại món ăn (nếu có sẵn), hoặc hướng dẫn đối tượng sử dụng vật liệu thay thế để biểu diễn lượng đã ăn để cân lại	ĐTV ghi lại số liệu vào cột 9
10. Thành phần [Tên] để nấu món ăn [Tên] bữa [Tên] ngày hôm qua ở dạng thực phẩm chín hay sống?	Điền kết quả vào cột 10
11. Thành phần [Tên] để nấu món ăn [Tên] bữa [Tên] ngày hôm qua có kể cả thái bỏ hay không?	Điền kết quả vào cột 11

12. Món ăn [Tên] của bữa [Tên] ngày hôm qua có còn thừa không?	Ghi câu trả lời vào cột 12
13. Phần thức ăn còn thừa của món ăn [Tên] ở dạng sống hay chín?	Ghi câu trả lời bằng chữ vào cột 13
14. Phần thức ăn còn thừa của món ăn [Tên] chiếm tỷ lệ bao nhiêu so với phần món ăn đã chế biến. Lưu ý nếu đối tượng trả lời câu này thì không cần hỏi tiếp các câu từ 15 -18.	Ghi câu trả lời bằng chữ vào cột 14
15. Phần thức ăn còn thừa của món ăn [Tên] được đo lường bằng đơn vị đo lường gì?	Ghi kết quả trả lời vào cột 15
16. Lượng thức ăn còn thừa của món ăn [Tên] tương đương với bao nhiêu đơn vị đo lường [Tên].	Ghi kết quả trả lời vào cột 16
17. Ông/bà vui lòng biểu diễn lại cách ông/bà đo TP [Tên] bằng đơn vị đo lường [Tên] và cho phép tôi cân lại.	ĐTV cân lại và ghi kết quả vào cột 17
18. Tính toán tổng số lượng của nguyên liệu sử dụng/món ăn còn lại (bằng cách lấy cột 15 * cột 16) – không cần tính nếu phương pháp ước lượng trọng lượng là cân trực tiếp.	ĐTV cân lại và ghi kết quả vào cột 18
19. Có thành viên nào của hộ gia đình ăn món ăn khác hoặc ở nhà hoặc ở ngoài nhà không? - Nếu có lại bắt đầu hỏi các bước lần lượt như trên.	

- Nguyên tắc chung

+ ĐTV hỏi lần lượt mỗi món ăn của từng bữa, mỗi món ăn hỏi lần lượt các thành phần của món từ cột 1 đến cột 18. Hỏi xong hết các thành phần của một món thì mới chuyển sang món khác.

+ Hỏi hết bữa ăn này rồi mới chuyển sang bữa tiếp theo. Cứ tiếp tục như vậy cho đến món cuối cùng của bữa cuối cùng.

+ Chỉ hỏi ăn uống của ngày hôm qua (Từ lúc thức dậy của ngày hôm qua đến trước khi thức dậy của ngày tiến hành phỏng vấn).

+ Hỏi tất cả các LTTP mà từng thành viên trong hộ gia đình đã tiêu thụ ngày hôm qua, cả ăn tại nhà và ngoài nhà. Nếu có ít nhất 1 thành viên trong hộ gia đình vắng nhà mà họ có bữa ăn ngoài hộ gia đình, ĐTV nhất thiết phải hẹn với hộ gia đình để phỏng vấn thành viên đó.

- Giải thích các cột trong phiếu và cách thức hỏi điền thông tin cho các cột

+ Cột 1: Bữa ăn

Quy định chia cắt một ngày ăn của đối tượng làm 6 khoảng thời gian tương ứng với 6 bữa:

Tên bữa	Khoảng thời gian của bữa	Mã bữa ăn
---------	--------------------------	-----------

ĐTV *mm*

Bữa sáng (1)	Từ khi thức dậy đến ăn xong bữa sáng	1
Bữa thêm (2)	Từ sau bữa sáng đến trước bữa trưa	2
Bữa trưa (3)	Bữa ăn chính, giữa của ngày	3
Bữa thêm (4)	Từ sau bữa trưa đến trước bữa tối	4
Bữa tối (5)	Bữa ăn chính, vào buổi tối	5
Bữa thêm (6)	Từ sau bữa tối đến trước khi thức dậy của ngày hôm sau	6

Trong các bữa ăn thêm, có thể ăn nhiều lần ở những lúc khác nhau, nhưng nằm trong khoảng thời gian quy định trên thì vẫn được tính trong cùng một bữa đó.

+ Cột 2: Ăn tại nhà hay ngoài nhà

Quy định ăn tại nhà hay ngoài nhà như đã nói ở trên.

Điền số 1 thay cho trong nhà và số 2 thay cho ăn ngoài nhà, 0 = không ăn

+ Cột 3: tên món ăn bao gồm cả phương pháp chế biến

+ Cột 4: tên thành phần món ăn: bao gồm tất cả các thành phần nguyên liệu sử dụng trong chế biến món ăn, kể cả dầu, mỡ, gia vị.

+ Cột 5: Phương pháp ước lượng trọng lượng gồm : Cân trực tiếp, sử dụng quyền ảnh, sử dụng trọng lượng chuẩn, cân vật liệu thay thế, tự nhớ trọng lượng, hỏi giá

+ Cột 6: Đơn vị đo lường trọng lượng (ĐVĐLT) là những đơn vị chứa đựng thực phẩm như bát, thìa, cốc, chén, bơ, quả, mớ rau... phải đảm bảo quy đổi được ra đơn vị đo lường chung là gam. Khi sử dụng quyền ảnh điều tra khẩu phần thì ĐVĐLT tương đương với mã của 1 ảnh. Với các LTTP mua ở chợ nhưng ĐVĐL không phải là gam mà là bó, miếng.. thì phải ghi kèm theo giá tiền của 1 ĐVĐL đó. Số lượng của đơn vị đo lường: là số lần của đơn vị đo lường để đạt được khối lượng hoặc trọng lượng TP mà gia đình đã sử dụng ngày hôm qua đối với mỗi thành phần nguyên liệu hoặc món ăn cụ thể.

+ Cột 7: Trọng lượng 1 đơn vị đo lường - phải xác định xem 1 ĐVĐL đó nặng bao nhiêu gam.

- Cách xác định trọng lượng theo một số phương pháp chính như sau:

Với phương pháp cân trực tiếp:

ĐTV sử dụng phương pháp này để cân trực tiếp các TP sau:

- Những TP mà hộ gia đình tiêu thụ ngày hôm qua hiện vẫn còn tại hộ
- Lượng gạo mà gia đình đã sử dụng ngày hôm qua.
- Các gia vị mặn _ghi và cân riêng từng loại
- Chất béo các loại

- Đường, mật các loại.

Đối với phương pháp cân đong trực tiếp thì kết quả được vào cột 8

Với phương pháp sử dụng quyền ảnh

- Với trọng lượng ước lượng theo quyền ảnh dùng cho điều tra khẩu phần cho trẻ 2- 5 tuổi:

Ta ghi cách mô tả trong quyền ảnh kèm theo trọng lượng của TP.

Ví dụ:

TP	Đơn vị đo lường	Số lượng ĐVĐL	Trọng lượng 1 ĐVĐL
4	5	6	7
Cơm tẻ	Bát đầy Hải Dương	2	200g
Thịt sấn	Miếng	10	13g
Bí xanh	Lưng bát con TQ	4	80g

Trong trường hợp sử dụng quyền ảnh điều tra khẩu phần, cột số 5 sẽ ghi lại mã ảnh tương ứng trong quyền ảnh, cột số 6 ghi lại số lượng mã ảnh sử dụng. Cột số 7 trong trường hợp này có 2 cách xử lý: cách thứ nhất, ĐTV tra trọng lượng của mã ảnh tương ứng trong phụ lục của quyền ảnh hoặc cách thứ 2 là sẽ để trống và bổ sung trọng lượng này trong bước làm sạch và quy đổi khẩu phần (để tiết kiệm thời gian tại thực địa).

Với LTTP mà đối tượng trả lời trọng lượng theo giá mua: ĐTV ghi rõ giá tiền vào cột số 5, đặc điểm ước lượng của thực phẩm/món ăn khi mua: mớ, bìa, quả kích thước như thế nào vào cột số 6. Cột số 7 trọng lượng 1 ĐVĐL ta để dấu hỏi để sau khi kết thúc ngày phỏng vấn, ĐTV sẽ đi mua, cân và ghi vào bảng đề nghị quy đổi LTTP địa phương để điền bổ sung khi làm sạch và quy đổi khẩu phần.

+ Cột 8: Tổng trọng lượng thành phần: trọng lượng của 1 ĐVĐL nhân với số lượng ĐVĐL sẽ được tổng trọng lượng thành phần của thực phẩm mà hộ gia đình đã sử dụng ngày hôm qua.

+ Cột 9: Một số trường hợp ĐTV không thể có được thông tin về ĐVĐL và trọng lượng của thành phần nguyên liệu thì ĐTV cố gắng khai thác thông tin của tổng trọng món ăn và ghi vào cột số 9.

+ Cột 10 - Sống hay chín: Ghi rõ “1” là sống hoặc “2” là chín

+ Cột 11 – Thái bỏ: Ghi rõ “1” là có hoặc “2” là không.

+ Cột 12: Phần còn lại : Ghi rõ “1” là có hoặc “2” là không có phần thực phẩm còn lại của bữa ăn đó.

+ Cột 13: Ghi rõ phần còn lại là sống hay chín

+ Cột 14: Trong trường hợp hộ gia đình ước lượng được tỷ lệ phần còn lại bằng bao nhiêu phần so với ban đầu, ta có thể ghi vào mục đơn vị đo lường (cột 14) tỷ lệ phần còn lại so với phần ban đầu sau khi ăn. Trong trường hợp này ta không điền gì cả ở các cột từ 15- 18.

+ Cột 15 -cột 18: ý nghĩa các cột tương tự như từ cột 5- cột 8

4.2. Nhận định kết quả

- Việc điều tra hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ qua được thực hiện đúng quy trình với đầy đủ thông tin gồm: tổng số các bữa ăn, địa điểm ăn, món ăn, thực phẩm và lượng thực phẩm mà hộ gia đình đã tiêu thụ

- Tổng số thực phẩm, món ăn, đồ uống ăn vào của hộ gia đình trong vòng 24 giờ qua và trọng lượng ăn vào của từng loại thực phẩm cho phép ước lượng mức tiêu thụ lương thực, thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần. Phương pháp ước lượng trọng lượng thực phẩm được dựa trên các công cụ đo lường tại địa phương, hoặc các dụng cụ ước lượng thực phẩm chuẩn

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả hỏi ghi khẩu phần hộ gia đình 24 giờ sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại cơ quan quản lý thực hiện theo quy định.

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

- Hộ gia đình có những thành viên ăn ngoài nhà mà ĐTV không gặp trực tiếp để phỏng vấn các thực phẩm, món ăn và đồ uống mà họ tiêu thụ ngoài gia đình: ĐTV có thể xin chủ hộ số điện thoại của thành viên vắng mặt, sau đó liên hệ gặp trực tiếp hoặc phỏng vấn qua điện thoại để có được thông tin về các món ăn đồ uống mà đối tượng này đã tiêu thụ.

- Không gặp được người chế biến món ăn cho gia đình để phỏng vấn: công tác chuẩn bị thực địa phải đảm bảo mời đúng đối tượng.

- Trọng lượng món ăn hoặc đồ uống của hộ vượt quá dung lượng 5 kg của cân: chia tổng món ăn, đồ uống để cân thành nhiều lần.

- Một số món ăn đồ uống mà người trả lời phỏng vấn không biết được thành phần món (thường xảy ra đối với món hỗn hợp chế biến sẵn): điều tra viên ghi lại chi tiết giá tiền, nhãn mác, chụp lại hình ảnh của món nếu có sẵn nhãn mác bao bì của thực phẩm, ĐTV khai thác thông tin để xác định thành phần chính của món, trọng lượng món mà đối tượng đã tiêu thụ. Sau đó ĐTV có thể tra cứu thông tin chi tiết hơn về thành phần nguyên liệu qua các tài liệu liên quan.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: Việc mã hóa thực phẩm để tính giá trị dinh dưỡng có thể bị sai lệch nếu điều tra viên sử dụng sai mã thực phẩm hoặc cơ sở dữ liệu không phù hợp. Vì thế, tập huấn điều tra viên trước điều tra cũng như sử dụng cơ sở dữ liệu về thực phẩm và danh mục thực phẩm tương đương theo vùng miền, theo mùa, dân tộc cần được thực hiện kỹ càng trước khi điều tra thực địa để tránh các sai sót này.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng với kỹ thuật này.

- Cần có giám sát viên kiểm tra việc thực hiện, bao gồm cả giám sát thực địa (kiểm tra các bước thực hiện, thu và kiểm tra tính đầy đủ của phiếu ghi kết quả) và giám sát

số liệu (kiểm tra mã thực phẩm được điền, số liệu thu thập được và tính logic của số liệu).

7. Tài liệu tham khảo

- Lê Bạch Mai, Lê Danh Tuyên, Đỗ Thị Phương Hà. Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội

- National Library of Medicine. Overview of Dietary Assessment Methods for Measuring Intakes of Foods, Beverages, and Dietary Supplements in Research Studies. Author manuscript; available in PMC 2022 Aug 1.

- Published online 2021 Mar 11. doi: 10.1016/j.copbio.2021.02.007

- Overview of dietary assessment methods for measuring intakes of foods, beverages, and dietary supplements in research studies. Current Opinion in Biotechnology Volume 70, August 2021, Pages 91-96

- FAO. Methods of assessing dietary intake. <https://www.fao.org/3/i9940en/I9940EN.pdf>

- The International Dietary Data Expansion (INDDEX) Project, 2019

Số thứ tự	Thông tin cá nhân (Phiếu 2a)				Tình trạng sinh lý		Các bữa ăn trong ngày					
	Tên	Năm sinh (Lịch dương)	Tuổi	Giới 1=Nam 2=Nữ	Có thai	Con bú	Sáng 1	Phụ sáng 2	Trưa 3	Phụ chiều 4	Tối 5	Phụ tối
6												
7												
	Khách											
1												
2												
3												
4												
5												
6												

0=Không ăn/ không biết; 1=Ăn tại gia đình; 2=Ăn ngoài gia đình

Được 

Họ tên chủ hộ:.....	Mã hộ: ____
Tên thành viên trả lời:.....	Tên điều tra viên
Tên xã/phường	Mã xã/phường ____
Ngày điều tra: Ngày/thángnăm	

Món và thành		Phần chế biến và sử dụng của HỘ GIA ĐÌNH						Phần còn lại không ăn trong ngày									
Tên món ăn	Thành phần món ăn	Đơn vị đo lường		Tổng trọng lượng của thành phần	TỔNG TL MÓN	Sống/ chín	Thải bỏ	Ăn hết hay còn	Sống/ chín	Tỷ lệ so với phần đã ăn	Phương pháp ước lượng T.lượng	Số lượng	T.lượng 1 đơn vị đo lường	Trọng lượng còn lại	Ghi chú sử dụng phần còn lại		
		Phương pháp ước lượng T.lượng	Số lượng ĐVĐL	T.lượng 1 đơn vị đo lường		8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Bữa ăn	Nơi ăn																
1	2																

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 18:

HỎI GHI KHẨU PHẦN CÁ THỂ 24 GIỜ QUA Ở TRẺ EM DƯỚI 5 TUỔI THEO MẪU

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Hướng dẫn hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua ở trẻ em dưới 5 tuổi theo mẫu.

1.2. Định nghĩa:

Phương pháp hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua (hay còn gọi là hỏi ghi khẩu phần ngày hôm qua) là một cuộc phỏng vấn có cấu trúc để hỏi ghi các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống và xác định trọng lượng của thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ đã tiêu thụ trong vòng 24 giờ qua.

Có 2 cách ấn định thời gian cần hỏi:

- *Cách 1:* Hỏi ghi tất cả những thực phẩm, món ăn, đồ uống được trẻ ăn, uống trong 1 ngày hôm trước (bắt đầu từ sau khi thức dậy của ngày hôm qua cho đến cùng thời điểm đầy của sáng ngày hôm nay).

- *Cách 2:* Hỏi ghi tất cả những thực phẩm, món ăn, đồ uống được trẻ ăn, uống trong giai đoạn 24 giờ kể từ lúc điều tra viên bắt đầu phỏng vấn trở về trước.

Ví dụ: Cuộc phỏng vấn bắt đầu vào lúc 10h ngày 20/09/2022 thì giai đoạn 24 giờ qua được tính từ 10h ngày 19/9/2022 cho tới thời điểm phỏng vấn.

Chú ý: Quy trình kỹ thuật này áp dụng cho tất cả các điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ qua ở trẻ em < 5 tuổi. Tuy nhiên để đánh giá khẩu phần thường có, không điều tra những ngày đặc biệt như giỗ, tết, liên hoan...

1.3. Nguyên lý: Mức tiêu thụ lương thực thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần được tính từ lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được trẻ tiêu thụ trong 24 giờ. Việc hỏi ghi khẩu phần ăn 24 giờ qua sẽ tính được lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được trẻ tiêu thụ trong 24 giờ, từ đó tính được khối lượng từng loại thực phẩm đơn lẻ đã được trẻ tiêu thụ, tính được giá trị dinh dưỡng của từng thực phẩm đơn lẻ có trong khẩu phần, tính được mức tiêu thụ của từng thực phẩm đơn lẻ, nhóm thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của cả khẩu phần.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp: 01 người hỏi ghi khẩu phần (điều tra viên - ĐTV) thực hiện phỏng vấn có trình độ từ đại học trở lên được tập huấn về kỹ thuật hỏi ghi khẩu phần cá thể 24 giờ qua.

- Nhân lực gián tiếp: 01 người chịu trách nhiệm quản lý người thu thập số liệu có trình độ từ đại học trở lên, 01 người hỗ trợ có trình độ đào tạo từ trung cấp trở

2.2. Vật tư

- Quyển ảnh dùng cho điều tra khẩu phần: 1 quyển

- Bộ dụng cụ bát, đĩa, thìa, âu đựng nước, cốc các kích cỡ khác nhau

- Cân điện tử độ chính xác $\pm 1g$: 1 cái
- Pin tiểu: 1 bộ (4 quả)
- Quả cân chuẩn 500g: 1 quả
- Phiếu điều tra: 1 bộ phiếu (gồm 02 tờ A3 và 02 tờ A4)
- Bút bi: 1 cái
- Sổ ghi chép: 1 cuốn

2.3. Thiết bị: không áp dụng

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

a. Đối với điều tra viên:

- Trước khi tiến hành thu thập số liệu, điều tra viên cần được tập huấn kỹ về mục đích, ý nghĩa và tầm quan trọng của cuộc điều tra, đặc biệt là kỹ thuật và kỹ năng điều tra.

- Trong khi hỏi, điều tra viên cần tạo không khí thân mật, cởi mở với người trả lời phỏng vấn để họ có thể kể thoải mái, tự nhiên việc ăn uống của họ. Tránh tuyệt đối những câu hỏi gợi mở mang tính chất điều chỉnh câu trả lời (VD: Bát cơm đầy không, ăn ít thế...). Luôn đưa ra những câu hỏi kiểm tra chéo để đánh giá tính chân thực của câu trả lời. Tổng thời gian thực hiện cuộc phỏng vấn hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua trung bình khoảng 80 phút, tùy thuộc mức độ nhớ lại của người trả lời phỏng vấn và số loại thực phẩm mà trẻ tiêu thụ.

- DTV cần sử dụng những dụng cụ hỗ trợ (bộ dụng cụ đo lường, cốc, chén, thìa, quyền ảnh thực phẩm, cân thực phẩm...) để giúp người trả lời phỏng vấn có thể dễ nhớ, dễ mô tả các kích cỡ thực phẩm, món ăn, đồ uống so với số lượng đã tiêu thụ và giúp cho việc qui đổi đơn vị đo lường một cách chính xác.

b. Đối với đối tượng được phỏng vấn

- Phỏng vấn trực tiếp đối tượng
- Người được trả lời phỏng vấn phải đảm bảo có khả năng giao tiếp thông thường.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: người hỏi ghi khẩu phần phỏng vấn trung bình trong tổng thời gian dự kiến 80 phút/ đối tượng

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn: quy trình này chỉ thực hiện hỏi ghi khẩu phần ăn 24 giờ qua, không có nguy cơ gây mất an toàn nào.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

a. Bước 1: Chào hỏi, giới thiệu và điền các thông tin chung của mẫu phiếu

- Chào hỏi

- Giới thiệu mục đích, nội dung, cách thức tiến hành, thời gian dự kiến của cuộc phỏng vấn với người trả lời phỏng vấn để họ hiểu và cùng cộng tác nhằm đảm bảo tính chân thực của số liệu.

- Hỏi và điền các thông tin hành chính theo các nội dung in trên phiếu:

+ Họ và tên trẻ

+ Giới tính của trẻ

+ Ngày tháng năm sinh (dương lịch/âm lịch theo câu trả lời của đối tượng)

+ Họ và tên người phỏng vấn

+ Họ và tên người trả lời phỏng vấn

+ Mối quan hệ với trẻ

+ Địa chỉ

+ Mã số của trẻ

+ Ngày điều tra

Các thông tin khái quát về tình trạng nuôi dưỡng trẻ: trẻ còn bú mẹ hay không, trẻ có ăn tại trường học không...

b. Bước 2: Liệt kê danh mục các thực phẩm, món ăn, đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ qua

Mục tiêu: Có được danh mục hoàn chỉnh các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống (bao gồm cả nước) đã được trẻ tiêu thụ trong 24 giờ qua.

Điều tra viên đề nghị người trả lời phỏng vấn kể lại các thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ đã tiêu thụ cùng với thời gian và địa điểm tiêu thụ các thực phẩm, món ăn, đồ uống đó.

Khi hỏi về việc ăn uống của trẻ, hỏi theo trình tự thời gian, hạn chế việc hỏi vào các bữa ăn cụ thể (như bữa sáng, bữa trưa, bữa tối), điều này có thể làm nhiều các câu trả lời của đối tượng điều tra.

Khuyến khích người trả lời phỏng vấn nhớ lại các lần cho trẻ ăn, uống trong vòng một ngày qua dựa trên các hoạt động hàng ngày của họ, tránh việc bỏ sót thực phẩm, món ăn, đồ uống trẻ đã tiêu thụ.

Phiếu 1: Phiếu danh mục nhanh

Số thứ tự	Thời gian ăn (viết theo giờ quốc tế, VD: 17:00)	Nơi ăn (1.tại nhà 2.tại lớp 3.nơi khác)	Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống
(1)	(2)	(3)	(4)
1	06:30	1	Cơm tẻ

2	06:30	1	Trứng đúc thịt rán
3	09:00	2	Chuối tây
4	09:00	2	Sữa tươi

- Cột 1 (Số thứ tự): Viết số thứ tự xuất hiện của từng loại thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ đã tiêu thụ theo trình tự thời gian.

- Cột 2 (Thời gian ăn): Viết thời gian trẻ đã tiêu thụ thực phẩm, món ăn, đồ uống. Thời gian viết theo giờ quốc tế, ví dụ: 17:00

- Cột 3 (Nơi ăn): Viết mã số nơi tiêu thụ từng loại thực phẩm, món ăn, đồ uống đó.

- Cột 4 (Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống): Viết tên mỗi thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ: với thực phẩm đơn ghi tên chính xác của thực phẩm, với món ăn hỗn hợp ghi tên thực phẩm chính và cách chế biến.

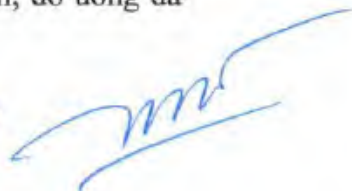
Một số câu hỏi gợi ý khi hỏi:

- Sau khi thức dậy ngày hôm qua trẻ làm gì?
- Loại thực phẩm, món ăn, đồ uống nào trẻ ăn đầu tiên, sau khi thức dậy?
- Trẻ ăn thực phẩm, món ăn, đồ uống đó vào lúc mấy giờ?
- Ngoài thực phẩm, món ăn, đồ uống đó, trẻ còn ăn hoặc uống thêm thứ gì khác vào lúc ... giờ đó không?
- Sau đó trẻ làm gì?
- Sau đó trẻ ăn/uống gì? Vào lúc mấy giờ?
- Ngoài thực phẩm, món ăn, đồ uống đó, trẻ còn ăn hoặc uống thêm thứ gì khác vào lúc ... giờ đó không?
- Đối với trẻ còn bú mẹ:
 - + Trẻ bú mẹ khi nào?
 - + Trẻ bú bao nhiêu lần/ ngày?
 - + Thời gian mỗi lần bú?
 - + Bú một bên hay hai bên?
 - + Trẻ có bú đêm hoặc ăn sữa ngoài khi ngủ không?

Tiếp tục hỏi để có danh mục tất cả các thực phẩm, món ăn, đồ uống trẻ đã tiêu thụ trong ngày hôm trước cho đến khi trẻ đi ngủ. Trước khi chuyển sang bước 2, hỏi thêm một lần nữa xem trẻ có ăn hoặc uống gì trước khi đi ngủ không.

c. Bước 3: Mô tả chi tiết thực phẩm, món ăn, đồ uống

Mục tiêu: Mô tả chi tiết về tất cả các loại thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ trong vòng 24 giờ qua.

Được 

Các thông tin thu thập trong phần này sẽ thuộc 3 cột đầu tiên trong phiếu điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ qua của trẻ em dưới 5 tuổi. Cách ghi 3 cột đầu như dưới đây:

Điều tra viên chép lại các thông tin cột 1 và cột số 2 ở phiếu số 1

STT	Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống
(1)	(4)	(5)
1	Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ
2	Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai
		Trứng gà ta
		Dầu ăn
		Bột canh
3	Chuối tây	Chuối tây
4	Sữa tươi	Sữa tươi có đường TH true milk

Chú ý khi mô tả về thực phẩm, món ăn, đồ uống:

- Với món ăn hỗn hợp: Mô tả chi tiết về công thức chế biến món ăn (món ăn gồm các loại thực phẩm nào), trẻ ăn gì trong món ăn đó (nếu không ăn cả món). Đối với những món ăn không được chế biến tại nhà hoặc người cho ăn không biết rõ thành phần trong món ăn thì yêu cầu người được phỏng vấn liệt kê chi tiết các thông tin về thành phần của món ăn đó.

- Với thực phẩm đơn và đồ uống: Mô tả thông tin chi tiết về chủng loại đa dạng (ví dụ: gạo - nếp, tẻ), màu (ví dụ: gạo - trắng, nâu, tím), vị trí (ví dụ: thịt lợn - thăn, vai, móng), thành phần chất béo (ví dụ: thịt lợn - nạc, nửa nạc nửa mỡ, mỡ), dạng (ví dụ: thịt lợn - miếng nhỏ/to/vừa) của thực phẩm.

Các thông tin chi tiết cần thu thập theo nhóm thực phẩm đơn và đồ uống:

- Thịt: Loại thịt gì? Thịt ở vị trí nào? Thịt nạc hay thịt mỡ? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- Cá và hải sản: Loại cá/hải sản gì? Phần được ăn nằm ở vị trí nào? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- Gia cầm: Loại gia cầm gì? Phần được ăn nằm ở vị trí nào? Có da hay không? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- Trứng: Loại trứng gì? Chế biến như thế nào?

- Đậu đỗ các loại: Loại đậu đỗ gì? Tươi hay khô? Chế biến như thế nào?

- Sữa và chế phẩm từ sữa: Sữa loại gì? Tên thương hiệu là gì? Sữa tươi, sữa cô đặc hay sữa hoàn nguyên? Tỷ lệ phần trăm chất béo bao nhiêu? Sữa có đường/ít đường hay không đường?

- Rau: Rau gì? Rau sống hay nấu chín? Chế biến như thế nào?

- Trái cây: Trái cây gì? Trái cây tươi, đóng hộp hay sấy khô? Trái cây đã gọt vỏ chưa? Có hạt không? Non hay chín? Ăn cả miếng hay xay nhuyễn?

- Đồ uống: Loại gì? Tươi hay đóng hộp? Có gas hay không? Ngọt hay có đường? Có đá hay không đá?

- Nước trái cây: Loại nước trái cây nào? Nếu trộn lẫn các loại quả thì những loại quả nào? Có đường hoặc không đường? Bổ sung vi chất không? Có đá hay không đá?

...

- Gạo: Gạo loại gì? Xay sát trắng hay còn vỏ cám? Chế biến như thế nào?

- Khoai củ: Loại gì? Màu gì? Tươi hay khô? Chế biến như thế nào?

- Đồ ăn mua ngoài nhà: Loại gì? Dạng chế biến? Thành phần gồm những gì?

- Món ăn hỗn hợp: Thành phần gồm những gì? Phương pháp nấu là gì?

- Đồ ăn vặt: Kích thước? Tên thương hiệu?

- Bánh ngọt: Tự làm hay đồ thương mại? Nếu tự làm, thành phần gồm những gì? Nếu đồ thương mại, tên thương hiệu, kích thước?

Chú ý: Với một số thực phẩm như xúc xích, giò chả, pate... thì liệt kê như một thực phẩm đơn lẻ. Trong trường hợp đây là thực phẩm do gia đình tự chế biến thì phải khai thác chi tiết thành phần của món ăn đó.

d. Bước 4: Ước tính số lượng, trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đã tiêu thụ

Mục tiêu: Ước tính được số lượng, trọng lượng của mỗi loại thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ trong 24 giờ qua.

Một số phương pháp được sử dụng để ước lượng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống:

- Cân trực tiếp (g):

+ Được sử dụng trong trường hợp thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ tiêu thụ ngày hôm qua có sẵn ở hộ gia đình, đề nghị đối tượng biểu diễn lại lượng trẻ đã tiêu thụ sau đó cân lại để lấy trọng lượng.

+ Phương pháp này áp dụng với tất cả loại thực phẩm, món ăn, đồ uống có sẵn trong nhà như đã tiêu thụ ngày hôm trước và sẵn sàng cho phép điều tra viên cân trực tiếp.

- Cân gián tiếp với gạo (g)

+ Sử dụng gạo như công cụ hỗ trợ trực quan để ước lượng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ. Cân lượng gạo tương ứng và ghi trọng lượng gạo vào phiếu, trọng lượng gạo sau đó được chuyển đổi sang trọng lượng thật (g) của thực phẩm, món ăn, đồ uống đó ở bước xử lý số liệu bằng hệ số chuyển đổi.

+ Áp dụng: Dùng phương pháp này khi thực phẩm, món ăn được tiêu thụ có thể vun thành đống trong bát hoặc đĩa (VD rau muống xào, cơm rang...)

- Cân gián tiếp với nước (g)

+ Sử dụng nước như công cụ hỗ trợ trực quan để ước lượng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ. Cân lượng nước tương ứng và ghi trọng lượng nước vào phiếu, trọng lượng nước sau đó được chuyển đổi sang trọng lượng thật (g) của thực phẩm, món ăn, đồ uống đó ở bước xử lý số liệu bằng hệ số chuyển đổi.

+ Áp dụng: Dùng phương pháp này khi ước tính trọng lượng các thực phẩm, món ăn, đồ uống dạng lỏng như cháo, món hầm nhuyễn, đồ uống và bất kỳ thực phẩm hay món ăn có bề mặt phẳng (như sữa chua). Trong tất cả các trường hợp cân trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống gián tiếp với nước được sử dụng, trọng lượng với gạo cũng có thể được dùng.

- Sử dụng quyền ảnh tiêu chuẩn:

+ Sử dụng quyền ảnh thực phẩm trong điều tra khẩu phần. Người trả lời phỏng vấn lựa chọn hình ảnh của thực phẩm, món ăn, đồ uống có kích cỡ phù hợp với lượng trẻ đã tiêu thụ.

+ Áp dụng: Dùng để ước tính trọng lượng của các thực phẩm, món ăn, đồ uống được trình bày dưới dạng miếng/khúc (thịt bò, thịt lợn, quả chín, trứng...)/ bát/ cốc/ thìa/ đĩa/ cái...

+ Với các thực phẩm, món ăn dạng miếng, khúc mà trong quyền ảnh không có ảnh thì sử dụng các phương pháp ước lượng khác như hỏi trọng lượng, kích cỡ, giá tiền...

- Nhớ lại trọng lượng hoặc nhớ lại giá tiền: Với các thực phẩm, món ăn, đồ uống có bán tại chợ địa phương (ví dụ: mớ rau, bìa đậu...) hoặc các thực phẩm, món ăn, đồ uống mua bên ngoài nhưng không rõ thành phần chi tiết thì yêu cầu ghi rõ giá tiền, kích thước... sau đó tiến hành mua thực phẩm, món ăn, đồ uống đó tại địa bàn đang thực hiện điều tra, cân và điền trọng lượng vào phiếu hỏi ghi.

- Chú ý: Tùy mục đích mà mỗi hoạt động có thể sử dụng các phương pháp ước lượng trọng lượng khác nhau. Trong phạm vi của quy trình này chúng tôi đề cập đến phương pháp ước lượng trọng lượng thực phẩm bằng phương pháp hỏi ghi kết hợp cân đong trực tiếp, sử dụng quyền ảnh và phương pháp nhớ lại trọng lượng hoặc giá tiền.

- Để ước tính được trọng lượng tiêu thụ đối với mỗi thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ tiêu thụ, điều tra viên cần khai thác và điền đầy đủ các thông tin trên phiếu hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua với các nội dung như sau:

- Toàn bộ quá trình xác định trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống ăn được của bước 3 sẽ được thực hiện trong phiếu hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua từ cột số 4 đến cột số 21 và được chia làm 3 phần:

- Trước ăn: Cột số 4 đến cột số 13
- Sau ăn (phần thừa): Cột số 14 đến cột số 20
- Phần ăn được: Cột số 21

Trước ăn: Cột số 4 đến cột số 13

Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống	Trước ăn									
		1.Sống/ 2.Chín	Sơ chế	PP đo lường 1: Cân trực tiếp; 2:Quyển ảnh; 3: Nhớ lại; 4: Khác	Đơn vị đo lường (ĐVĐL)	Số lượng ĐVĐL	Trọng lượng 1 ĐVĐL	Tổng trọng lượng (g)	Phần cho trẻ ăn so với tổng lượng nấu	Thái bô (1. Có/ 2. Không)	Qui ra trọng lượng sống (a)
2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ	2		1	g	1	80	80	1	2	
Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai	1	băm	3	g	1	100	100	0,5	2	
	Trứng gà ta	1		2	g	2	58	116	0,5	1	
	Dầu ăn	1		1	g	1	30	30	0,5	2	
	Bột canh	1		1	g	1	3	3	0,5	2	
Chuối	Chuối tây	1		2	g	1	52	52	1	1	
Sữa tươi	Sữa TH true milk có đường	1		4(bao bì)	ml	1	110	110	1	2	

- Cột 4: Hỏi xác định từng thành phần thực phẩm của thực phẩm, món ăn, đồ uống ở dạng sống hay chín.

1. Sống

2. Chín

- Cột 5: Hỏi xác định thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên được sơ chế theo cách nào?

Ví dụ: Xay nhuyễn, băm nhỏ, thái miếng...

- Cột 6: Hỏi và xác định thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên được xác định bằng phương pháp đo lường nào?

1. Cân trực tiếp

3. Nhớ lại

2. Quyển ảnh

4. Khác

- Cột 7: Hỏi xác định từng thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên được đo/đong bằng đơn vị đo lường gì?

Handwritten signature in blue ink.

+ Đơn vị đo lường: là đơn vị đo, đo thực phẩm, món ăn, đồ uống như bát, thìa, cốc, chén, bơ, mớ rau... và đảm bảo có thể quy đổi ra được đơn vị đo lường chung là gam.

+ Đối với các thực phẩm, món ăn, đồ uống đơn vị đo lường khác mà không thể quy đổi ra gam, ví dụ: bó, mớ, nắm,... thì cần ghi kèm các thông tin chi tiết để có thể hỗ trợ việc quy đổi trọng lượng (Ví dụ: giá tiền, nơi mua, tình trạng... để điều tra viên mua và cân lại trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đó).

- Cột 8: Hỏi xác định số lượng đơn vị đo lường của từng loại thực phẩm và thực phẩm thành phần

Số lượng đơn vị đo lường có thể là dạng số nguyên (1,2,3...) hoặc dạng số thập phân (0,25; 0,5...)

- Cột 9: Xác định trọng lượng của 1 đơn vị đo lường

+ Trong trường hợp thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ tiêu thụ ngày hôm qua hiện vẫn còn, yêu cầu đối tượng biểu diễn lại lượng ăn rồi cân lại để lấy trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống đó.

+ Với thực phẩm, món ăn, đồ uống có bán tại chợ địa phương (ví dụ: mớ rau, bìa đậu...) ghi rõ giá tiền, kích thước sau đó tìm hiểu và điền trọng lượng vào sau.

+ Sử dụng quyển ảnh thực phẩm, bộ dụng cụ, mô hình thực phẩm hỗ trợ để đối tượng ước lượng.

+ Lưu ý: Khi trẻ ăn cùng một loại thực phẩm, món ăn, đồ uống với cùng đơn vị đo lường nhưng có nhiều trọng lượng khác nhau (Ví dụ 1 miếng thịt gà luộc to, 1 miếng nhỏ), ĐTV có thể ghi ra số nháp trọng lượng của các phần của thực phẩm đó rồi cộng tổng trước khi điền vào ô này.

- Cột 10: Tính tổng trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống trước khi chế biến.

Tổng trọng lượng chế biến được tính bằng tích của số lượng đơn vị đo lường với trọng lượng 1 đơn vị đo lường (cột 8 x cột 9).

- Cột 11: Hỏi xác định phần thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ ăn so với tổng lượng chế biến.

+ Phần mà đối tượng ăn so với tổng lượng chế biến có thể là số nguyên hoặc số thập phân.

+ Ví dụ: Phần ăn của đối tượng là 1/2 (0,5) hoặc 1/3 (0,33) so với lượng chế biến.

- Cột 12: Hỏi và xác định phần thực phẩm, món ăn, đồ uống được lấy cho trẻ ăn có bao gồm thải bỏ không?

1. Có 2. Không

Nếu thực phẩm, món ăn, đồ uống đó có thải bỏ thì chọn 1; không có thải bỏ chọn

2

- Cột 13: Quy ra trọng lượng sống sạch ăn được

Để quy ra được trọng lượng sống sạch ăn được của thực phẩm, món ăn, đồ uống thì cần có thông tin về tỷ lệ thải bỏ của thực phẩm đó và bước này sẽ được xử lý sau khi kết thúc cuộc điều tra.

Sau ăn (phần thừa): Cột số 14 đến cột số 20

Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống	Sau ăn (phần thừa)						
		1.Có/ 2.Không	1.Sống/ 2.Chín	ĐVĐL	Số lượng ĐVĐL/ tỷ lệ so với tổng số trước ăn	Trọng lượng 1 ĐVĐL	Tổng trọng lượng còn lại (g)	Quy ra trọng lượng sống sạch (g)
2	3	14	15	16	17	18	19	20
Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ	2	-	-	-	-	-	
Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai	2	-	-	-	-	-	
	Trứng gà ta	2	-	-	-	-	-	
	Dầu ăn	2	-	-	-	-	-	
	Bột canh	2	-	-	-	-	-	
Chuối	Chuối tây	2	-	-	-	-	-	
Sữa tươi	Sữa TH true milk có đường	1	1	ml	0,5	110	55	

- Cột 14: Hỏi xác định lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống nêu trên có tiêu thụ hết trong bữa đó không?

+ Nếu trẻ ăn hết, chọn 1. CÓ và kết thúc hỏi về thực phẩm, món ăn, đồ uống này và chuyển sang hỏi thực phẩm, món ăn, đồ uống khác. Trong trường hợp này phần thực phẩm, món ăn, đồ uống được hỏi trước chế biến cũng chính là thực phẩm, món ăn, đồ uống mà trẻ ăn được.

+ Nếu trẻ ăn không hết, chọn 2. KHÔNG và tiếp tục khai thác thông tin về phần thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa.

- Cột 15: Hỏi xác định phần thừa của thực phẩm, món ăn, đồ uống ở dạng sống hay chín

Hỏi tương tự cột 4

- Cột 16: Hỏi xác định phần thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa được đo lường bằng đơn vị/dụng cụ nào

- Cột 17: Hỏi xác định số lượng đơn vị đo lường, hoặc tỷ lệ thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa so với tổng số ăn

- Cột 18: Xác định trọng lượng của 1 đơn vị đo lường

- Cột 19: Xác định tổng trọng lượng của phần thực phẩm, món ăn, đồ uống thừa

Trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống còn thừa chính là tích của 2 cột 17 và 18 (Cột 17 x Cột 18)

- Cột 20: Tính trọng lượng thực phẩm, món ăn, đồ uống còn thừa quy ra sống sạch ăn được

Thực hiện tương tự cột số 13, phần này sẽ được thực hiện sau khi kết thúc cuộc điều tra.

Phần ăn được

Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống	Chi tiết của thực phẩm, món ăn, đồ uống	Trọng lượng thực ăn quy ra sống sạch	Mã thực phẩm	Ghi chú
2	3	21	22	23
Cơm tẻ	Cơm gạo tẻ			
Trứng đúc thịt rán	Thịt lợn nạc vai			
	Trứng gà ta			
	Dầu ăn			
	Bột canh			
Chuối	Chuối tây			
Sữa tươi	Sữa TH true milk có đường			

- Cột 21: Tính trọng lượng thực ăn quy ra sống sạch ăn được

Phần thực phẩm trẻ ăn được là hiệu số của thực phẩm chế biến với thực phẩm còn thừa (hiệu số của cột 13 và cột 20).

- Cột 22: Ghi mã số của thực phẩm, món ăn, đồ uống dựa theo bảng thành phần thực phẩm Việt Nam.

- Cột 23: Ghi chú: Dùng để ghi chú các thông tin cần giải thích thêm hoặc các thông tin cần thiết khác có liên quan đến thực phẩm.

- Chú ý: Cột 21, 22 sẽ được xử lý ngoài cuộc điều tra trước khi nhập số liệu ăn được của trẻ để tính giá trị dinh dưỡng trong khẩu phần.

e. Bước 5: Xem xét lại toàn bộ các thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được kể lại

Mục tiêu: Xem lại và xác nhận các thực phẩm thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được người trả lời phỏng vấn kể lại và đảm bảo rằng không có thực phẩm, món ăn, đồ uống nào quên không kể hoặc bị thêm nhầm vào.

Bước này hoàn thành khi đã điền đầy đủ bước 3 cho tất cả các thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ.

Xem xét toàn bộ danh sách tất cả thực phẩm, món ăn, đồ uống đã được trẻ tiêu thụ, xác nhận rằng người trả lời phỏng vấn không quên bất kỳ thứ gì đã tiêu thụ ngày hôm qua hoặc không có thực phẩm, món ăn, đồ uống nào được thêm nhầm vào mà trẻ đã không ăn trong 24 giờ qua.

Trường hợp người trả lời phỏng vấn quên một thực phẩm, món ăn, đồ uống nào đó thì quay lại bước 1 để ghi vào phiếu và lần lượt hoàn thành các bước cho thực phẩm đó.

Trường hợp có thực phẩm, món ăn, đồ uống nào đó mà trẻ không ăn hôm qua nhưng kể lại nhầm, cần xóa/gạch khỏi tất cả các bước.

Ghi chép các thực phẩm, món ăn, đồ uống cần được thu thập thông tin về trọng lượng, chủng loại, thành phần... để tiến hành mua và cân đo lại trọng lượng.

Ký tên vào phiếu phỏng vấn.

4.2. Nhận định kết quả

- Việc điều tra hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua được thực hiện đúng quy trình với đầy đủ thông tin gồm: tổng số các bữa ăn, địa điểm ăn, món ăn, thực phẩm và lượng thực phẩm mà đối tượng ăn được ở dạng thực phẩm sống sạch ăn được.

- Tổng số thực phẩm, món ăn, đồ uống ăn vào của trẻ trong vòng 24 giờ qua và trọng lượng ăn vào của từng loại thực phẩm cho phép ước lượng mức tiêu thụ lương thực, thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần. Phương pháp ước lượng trọng lượng thực phẩm được dựa trên các công cụ đo lường tại địa phương, hoặc các dụng cụ ước lượng thực phẩm chuẩn.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả hỏi ghi khẩu phần 24 giờ sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại cơ quan quản lý thực hiện theo quy định.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: Mời sai đối tượng, nhiều trường hợp bà mẹ lại không phải là người chăm sóc và cho trẻ ăn, nên việc mời bà mẹ tham gia hỏi ghi

khẩu phần 24 giờ qua của trẻ lại không mang đến các thông tin chính xác. Để tránh sai số này, cần mời đúng người nấu ăn và cho trẻ ăn ở hộ gia đình hoặc cô nuôi ở nhà trẻ.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Sử dụng sai các công cụ ước lượng trọng lượng thực phẩm. Để khắc phục lỗi này sử dụng các công cụ đo lường (bát, thìa, cốc...) thường dùng tại địa phương và các công cụ ước lượng thực phẩm chuẩn.

- Báo cáo quá mức hoặc dưới mức về lượng thực phẩm tiêu thụ. Để khắc phục tình huống này, điều tra viên cần được tập huấn kỹ trước khi điều tra thực địa. Hoặc trong quá trình phỏng vấn, điều tra viên cần khéo léo và kiên trì gợi mở để người được phỏng vấn có thể nhớ hết các bữa ăn, món ăn và thực phẩm mà họ đã ăn trong 24 giờ qua.

- Dữ liệu khẩu phần từ hồi ghi 24 giờ qua có thể bị sai lệch nếu cuộc phỏng vấn hỏi về khẩu phần của một ngày ăn kiêng hoặc ăn tiệc, hoặc một ngày trẻ được đi dã ngoại, du lịch. Do đó, điều tra viên cần phỏng vấn khẩu phần ăn một ngày bình thường của đối tượng.

- Bỏ sót/bỏ qua một hoặc một vài thực phẩm mà có thể người trả lời phỏng vấn quên chưa nhắc đến vì các loại thực phẩm này được tiêu thụ rải rác giữa các bữa ăn chính. Cách khắc phục: Điều tra viên luôn cần nhớ hỏi tất cả thực phẩm mà trẻ ăn/uống giữa các bữa ăn/hoặc nhớ hỏi lại đối tượng sau khi họ đã liệt kê hết tất cả các loại thực phẩm với câu hỏi "Trẻ còn ăn/uống gì khác nữa vào lần này không?"

- Tên thực phẩm có thể được gọi khác nhau ở các vùng miền, sự sẵn có của thực phẩm cũng khác nhau ở các địa phương. Do đó, để hạn chế việc này, cơ sở dữ liệu về thực phẩm quốc gia cần được sử dụng và hiệu chỉnh theo tên gọi cụ thể đối với từng địa phương, danh mục các thực phẩm tương đương cần được chuẩn bị để có thể dùng trong quá trình phỏng vấn. Điều tra viên cần được tập huấn kỹ về những điểm này để hạn chế sai số trong quá trình phỏng vấn.

- Dữ liệu khẩu phần 24 giờ qua có thể bị sai lệch với những người có hạn chế về khả năng nhớ lại hoặc các hạn chế về ngôn ngữ hoặc những người không trực tiếp nấu ăn. Do đó, để hạn chế lỗi này, việc lựa chọn đối tượng phỏng vấn cần được thực hiện kỹ càng, căn cứ theo các tiêu chuẩn loại trừ và lựa chọn một cách nghiêm ngặt.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: Việc mã hóa thực phẩm để tính giá trị dinh dưỡng có thể bị sai lệch nếu điều tra viên sử dụng sai mã thực phẩm hoặc cơ sở dữ liệu không phù hợp. Vì thế, tập huấn điều tra viên trước điều tra cũng như sử dụng cơ sở dữ liệu về thực phẩm và danh mục thực phẩm tương đương theo vùng miền, theo mùa, dân tộc cần được thực hiện kỹ càng trước khi điều tra thực địa để tránh các sai số này.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng với kỹ thuật này.

- Cần có giám sát viên kiểm tra việc thực hiện, bao gồm cả giám sát thực địa (kiểm các các bước thực hiện, thu và kiểm tra tính đầy đủ của phiếu ghi kết quả) và giám sát số liệu (kiểm tra mã thực phẩm được điền, số liệu thu thập được và tính logic của số liệu).

7. Tài liệu tham khảo

- Rosalind Gibson. (2005). Chapter 3: Measuring food consumption of individuals. In Principles of Nutritional Assessment. 2nd edition. New York: Oxford University Press
- Tom Baranowski. (2013). Chapter 4: 24 giờ recall and diet record methods. In Nutritional Epidemiology. 3rd edition. Walter Willett editor. New York: Oxford University Press.
- Lê Bạch Mai, Lê Danh Tuyên, Đỗ Thị Phương Hà. Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội
- National Library of Medicine. Overview of Dietary Assessment Methods for Measuring Intakes of Foods, Beverages, and Dietary Supplements in Research Studies. Author manuscript; available in PMC 2022 Aug 1.
- Published online 2021 Mar 11. doi: 10.1016/j.copbio.2021.02.007
- Overview of dietary assessment methods for measuring intakes of foods, beverages, and dietary supplements in research studies. Current Opinion in Biotechnology Volume 70, August 2021, Pages 91-96
- FAO. Methods of assessing dietary intake.
<https://www.fao.org/3/i9940en/i9940EN.pdf>
- The International Dietary Data Expansion (INDDEX) Project, 2019

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 18

Phụ lục 1: Phiếu danh mục nhanh

PHIẾU DANH MỤC NHANH

Họ và tên trẻ: Giới: 1. Nam 2. Nữ Ngày sinh: .../.../....

Họ và tên người trả lời PV: Quan hệ với trẻ: Địa chỉ:

Mã số của trẻ: Ngày điều tra:/...../..... Họ và tên ĐTV:

Ngày hôm qua là ngày như thế nào: 1. Bình thường 2. Ăn cỗ/ liên hoan/ sự kiện

STT	Thời gian ăn (viết theo giờ quốc tế, VD: 17:00)	Nơi ăn (1.tại nhà 2.tại lớp 3.nơi khác)	Tên thực phẩm, món ăn, đồ uống
(1)	(2)	(3)	(4)

Số trang..

Phụ lục 2: Phiếu hỏi ghi khẩu phần 24 giờ qua ở trẻ em dưới 5 tuổi

HỎI GHI KHẨU PHẦN CÁ THỂ 24 GIỜ QUẢ Ở TRẺ EM DƯỚI 5 TUỔI THEO MẪU

Họ và tên trẻ: Giới: 1.Nam 2. Nữ Ngày sinh:/...../..... Mã số:

Ngày điều tra:/...../..... Họ và tên ĐTV: Mã phiếu:

Số lần bú trong 24 giờ qua: Thời gian trung bình mỗi lần bú: phút Trẻ bú 1 hay 2 bên:

STT	Tên thực phẩm và món ăn	Chi tiết của thực phẩm và món ăn	Trước ăn/ Phần chế biến										Sau ăn (phần thừa)						Trọng lượng thực ăn quy ra số sạch	Mã thực phẩm	Ghi chú	
			1. Sông/ 2. Chín	Sơ chế	PP đo lường: 1: Cân trực tiếp; 2: Quyền ảnh; 3: Nhớ lại; 4: Khác	Đơn vị đo lường (BVBL)	Số lượng BVBL	Trọng lượng 1 BVBL	Tổng trọng lượng (g)	Phần cho trẻ ăn so với tổng	Thải bỏ (1. Cỏ/ 2. Không)	Quy ra trọng lượng sạch (g)	BVBL	Số lượng BVBL/ tỷ lệ so với tổng số trước ăn	Trọng lượng 1 BVBL	Tổng trọng lượng còn lại (g)	Quy ra trọng lượng sạch (g)					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 19:

HỎI GHI TẦN SUẤT TIÊU THỤ THỰC PHẨM THEO MẪU

1. Đại cương

1.1. Mục đích:

Hướng dẫn cho các cán bộ y tế/điều tra viên cách phỏng vấn, thu thập thông tin về khẩu phần ăn của người bằng phương pháp hỏi ghi tần suất tiêu thụ thực phẩm FFQ (Food Frequency Questionnaire) theo mẫu.

1.2. Định nghĩa

Điều tra tần suất tiêu thụ thực phẩm (FFQ) là phương pháp điều tra sử dụng một bảng câu hỏi trong đó người trả lời được đưa ra một danh sách các loại thực phẩm/nhóm thực phẩm/chất dinh dưỡng và được yêu cầu cho biết tần suất tiêu thụ mỗi loại thực phẩm đó (chẳng hạn như x lần mỗi ngày/mỗi tuần/mỗi tháng,...).

1.3. Nguyên lý:

Việc điều tra được tần suất tiêu thụ của các loại thực phẩm giúp cho biết những thực phẩm phổ biến nhất (nhiều gia đình/nhiều người dùng nhất), những thực phẩm có số lần sử dụng cao nhất và cả những dao động thực phẩm theo mùa.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp: 01 người hỏi ghi tần suất (điều tra viên - ĐTV) thực hiện phỏng vấn có trình độ từ đại học trở lên đã được tập huấn về kỹ thuật điều tra khẩu phần bằng FFQ.

- Nhân lực gián tiếp: 01 người chịu trách nhiệm việc thu thập số liệu có trình độ đào tạo đại học trở lên, 01 người hỗ trợ có trình độ đào tạo từ trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư trực tiếp

- Bút bi: 01 cái.

- Sổ ghi chép: 01 cuốn.

- Phiếu điều tra: 01 bộ giấy A4 (số tờ giấy tùy theo thiết kế của từng cuộc điều tra, trung bình 5 tờ/bộ).

- Áo blouse: 01 cái

2.3. Thiết bị: 01 cái (nếu điều tra trên điện thoại/máy tính bảng).

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

a) Chuẩn bị đối tượng

Cần chuẩn bị sẵn danh sách đối tượng. Khi triển khai tại thực địa, điều tra viên kiểm tra đối chiếu lại danh sách để đảm bảo đúng các đối tượng được lựa chọn trước khi tiến hành phỏng vấn.

b) Chuẩn bị kỹ thuật

- Chuẩn bị phiếu điều tra: ĐTV chuẩn bị sẵn sàng phiếu/mẫu phiếu điều tra trước khi tiến hành phỏng vấn.

- Chuẩn bị điều tra viên: ĐTV được tập huấn kỹ để đảm bảo có thể thực hiện phỏng vấn một cách chuyên nghiệp và thu thập được số liệu chính xác, đầy đủ nhất.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: người hỏi ghi tần suất phỏng vấn trung bình trong tổng thời gian 35 phút/đối tượng

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn: Kỹ thuật được thực hiện bằng hình thức phỏng vấn, không ảnh hưởng đến an toàn sức khỏe người trả lời.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chào hỏi, giới thiệu về cuộc phỏng vấn và điền các thông tin hành chính liên quan:

- Chào hỏi, giới thiệu với đối tượng về mục đích và nội dung và thời gian dự kiến của cuộc điều tra, để đối tượng dễ dàng phối hợp thực hiện điều tra.

- Nếu đối tượng đồng ý tham gia, hướng dẫn để đối tượng ký vào biên bản đồng ý tham gia nghiên cứu trước khi tiến hành phỏng vấn.

- Hướng dẫn đối tượng về cách thức thực hiện cuộc phỏng vấn: gồm phương pháp phỏng vấn và các nội dung chính của phiếu điều tra.

- Hỏi và điền các thông tin hành chính có liên quan đến đối tượng theo các nội dung sẵn có trên phiếu điều tra gồm: mã đối tượng/hộ gia đình, tên, tuổi, giới, địa chỉ,... hoặc các thông tin chung khác.

- Thời gian thực hiện trung bình cho bước 1: 5 phút

4.1.2. Bước 2: Hỏi và điền thông tin về tần suất tiêu thụ thực phẩm:

(ĐTV sử dụng tài liệu hướng dẫn dùng bộ câu hỏi để phỏng vấn đối tượng)

a) Bước 2a: Danh sách thực phẩm

- Hỏi bắt đầu từ tên thực phẩm đầu tiên trong danh sách đã được liệt kê trong phiếu điều tra lần lượt theo số thứ tự hoặc từ trên xuống dưới (hoặc từ trái qua phải).

- Điều tra viên có thể giải thích thêm về thực phẩm/nhóm thực phẩm điều tra nếu đối tượng chưa rõ thông tin về danh mục của thực phẩm. Nếu danh sách hỏi là các nhóm thực phẩm, giải thích rõ cho đối tượng về các thực phẩm thuộc nhóm thực phẩm đó để tránh bị bỏ sót câu trả lời.

b) Bước 2b: Xác định tần suất tiêu thụ của thực phẩm

- Hỏi để xác định thông tin xem tần suất đối tượng sử dụng/tiêu thụ thực phẩm này là bao nhiêu lần trong theo các khoảng thời gian đã được chia sẵn trong phiếu, thông thường các khoảng thời gian chia theo ngày, tuần, tháng, 6 tháng, mùa hoặc năm.... Ví dụ: Không bao giờ; hàng ngày; 2-3 lần/tuần; 2-3 lần/tháng,....

- Lựa chọn một đáp án theo câu trả lời của đối tượng và ghi lại khoảng thời gian tương ứng với tần suất trên mẫu phiếu (có thể đánh dấu tại phiếu, khoanh chọn đáp án hoặc ghi chép tùy theo thiết kế của mỗi mẫu phiếu theo cuộc điều tra).

c) Bước 2c:

- Hỏi lần lượt từng tên thực phẩm và điền/chọn đáp án tương ứng vào cột tần suất thực phẩm, hỏi lần lượt cho đến hết danh sách thực phẩm cần điều tra.

- Tổng thời gian thực hiện trung bình cho bước 2: 25 phút

4.1.3. Bước 3: Kiểm tra và hoàn thiện phiếu sau phỏng vấn.

- Sau khi cuộc phỏng vấn đối tượng kết thúc, ĐTV xem xét lại kỹ lưỡng phiếu hỏi ngay để tránh những sai sót hoặc nhầm lẫn do sơ xuất nếu có. ĐTV ký tên vào phiếu hỏi sau đó tiếp tục cuộc điều tra với đối tượng kế tiếp.

- Sau khi thu thập được đầy đủ số liệu với các đối tượng được yêu cầu trong ngày, ĐTV tổng hợp lại tất cả các số liệu điều tra đưa cho đội trưởng/người chịu trách nhiệm chính của cuộc điều tra kèm theo các ghi chú/lưu ý nếu có để kết thúc điều tra.

- Thời gian thực hiện trung bình cho bước 3: 5 phút.

4.2. Nhận định kết quả

- Người hỏi ghi tần suất cần được đào tạo/tập huấn và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, tập trung và cẩn thận trong quá trình phỏng vấn/ghi chép các câu trả lời của đối tượng là yếu tố quan trọng để phiếu điều tra có chất lượng và độ chính xác cao.

- Cán bộ thực hiện điều tra cần có kiến thức, kinh nghiệm về điều tra khẩu phần và thực hiện công việc với tinh thần trách nhiệm cao.

- Đối tượng được hỗ trợ dễ dàng thực hiện được các bước của quy trình và phối hợp trả lời đầy đủ các thông tin trên mẫu phiếu.

- Số liệu và các thông tin thu thập cần đảm bảo chính xác.

- Hỏi ghi tần suất tiêu thụ thực phẩm được thực hiện đúng quy trình, thu thập đủ các thông tin chung, thông tin về tần suất tiêu thụ của tất cả các nhóm/loại thực phẩm đã được đối tượng tiêu thụ.

- Phiếu ghi kết quả sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra để tính tần suất thực phẩm tiêu thụ và loại thực phẩm được tiêu thụ phổ biến.

- Đánh giá tần suất tiêu thụ thực phẩm bằng cách so với khuyến cáo trong các tháp dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam phù hợp với lứa tuổi hoặc tùy theo mục đích nghiên cứu đề ra.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả tần suất tiêu thụ thực phẩm sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại cơ quan quản lý thực hiện theo quy định.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

Danh mục thực phẩm cố định có thể không phản ánh đầy đủ chế độ ăn uống của đối tượng được nghiên cứu (ví dụ sự khác biệt về cách gọi tên theo thực phẩm địa phương; Hoặc đối tượng không rõ cách phân loại/chưa biết phân loại những thực phẩm mình ăn vào nhóm thực phẩm phù hợp). Để khắc phục lỗi này, điều tra viên cần được

tập huấn kỹ và được phổ biến trước về một số đặc điểm ăn uống hay thực phẩm địa phương để có kỹ năng xử lý tình huống trước khi bắt đầu điều tra.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Độ chính xác của số liệu phụ thuộc vào trí nhớ của đối tượng nghiên cứu, do đó, để tránh sai số, người phỏng vấn cần giải thích rõ và hỗ trợ người được điều tra nhớ lại tần suất tiêu thụ các loại thực phẩm một cách phù hợp và chính xác nhất.

- Đối với các bữa ăn chuẩn bị sẵn hay đồ ăn mang đi có thể dễ bị đối tượng quên hoặc bỏ sót trong quá trình phỏng vấn. Do vậy để khắc phục lỗi này ĐTV có thể hỏi nhắc lại đối tượng trước khi kết thúc mỗi câu trả lời với từng thực phẩm/nhóm thực phẩm để đảm bảo không bị bỏ sót các thực phẩm mà đối tượng đã tiêu thụ.

- Một số sai số có thể xuất hiện khi người trả lời cho biết họ ăn thực phẩm 'tốt' thường xuyên hơn (đánh giá quá cao) hoặc tiêu thụ thực phẩm 'xấu' ít thường xuyên hơn (đánh giá thấp hơn). Có một số bằng chứng cho thấy việc ước tính quá mức tăng theo độ dài của danh sách thực phẩm. Do đó, để khắc phục thì người phỏng vấn tránh đưa ra những lời giải thích có tính chất đánh giá về thực phẩm.

- Việc trả lời danh sách dài các câu hỏi sẽ tốn thời gian, đòi hỏi sự tập trung cao độ. Do vậy ĐTV cần được tập huấn kỹ và cần phải cân nhắc cách đặt câu hỏi và ghi lại câu trả lời phù hợp chứ không chỉ đọc bảng câu hỏi đơn thuần.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không áp dụng

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng với kỹ thuật này.

- Cần có người chịu trách nhiệm giám sát kiểm tra việc thực hiện, bao gồm cả giám sát thực địa (kiểm các bước thực hiện, thu và kiểm tra tính đầy đủ của phiếu ghi kết quả) và giám sát số liệu (kiểm tra các cột tần suất được điền, các số liệu thu thập được và tính logic của số liệu).

7. Tài liệu tham khảo

- FAO. 2018. Dietary Assessment: A resource guide to method selection and application in low resource settings. Rome.

- Bộ Y tế - Viện Dinh dưỡng. 2017. Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học

- Hà Huy Khôi, Lê Thị Hợp. 2012. Phương Pháp dịch tễ học dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học

- Cade J, Thompson R, Burley V, Warm D. 2001. Development, validation and utilization of food-frequency questionnaires-a review. Public Health Nutr 5, 567-587

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 20:

**HỎI GHI TẦN SUẤT TIÊU THỤ THỰC PHẨM BÁN ĐỊNH LƯỢNG
THEO MẪU**

1. Đại cương

1.1. Mục đích:

Hướng dẫn cho các cán bộ y tế/điều tra viên cách phỏng vấn, thu thập thông tin về khẩu phần ăn của người bằng phương pháp hỏi ghi tần suất tiêu thụ thực phẩm bán định lượng (sq-FFQ - Semi-quantative Food Frequency Questionnaire) theo mẫu.

1.2. Định nghĩa:

Điều tra tần suất tiêu thụ thực phẩm bán định lượng (sq-FFQ) là phương pháp điều tra thường được sử dụng để nghiên cứu mối liên quan giữa ăn uống hoặc khả năng tiêu thụ những loại thực phẩm đặc hiệu nào đó theo hộ gia đình/cá thể hoặc cộng đồng với bệnh mạn tính không lây liên quan tới dinh dưỡng.

1.3. Nguyên lý:

Việc điều tra được tần suất tiêu thụ thực phẩm bán định lượng giúp cho biết những thực phẩm phổ biến nhất (nhiều gia đình/nhiều người dùng nhất), những thực phẩm có số lần sử dụng cao nhất và cả những dao động thực phẩm theo mùa và lượng tiêu thụ của các loại thực phẩm đó. Mục đích của phương pháp này không chỉ là tìm hiểu tính thường xuyên của các loại thực phẩm trong thời gian nghiên cứu mà còn giúp đánh giá về số lượng các thực phẩm đã tiêu thụ và có thể tính được mức đáp ứng nhu cầu khuyến nghị về một chất nào đó. Tuy nhiên, do các kích cỡ thực phẩm chỉ mang tính quy ước trung bình nên kết quả về định lượng của phương pháp này chỉ mang tính tương đối.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- Nhân lực trực tiếp: 01 người hỏi ghi tần suất (điều tra viên - ĐTV) thực hiện phỏng vấn có trình độ từ đại học trở lên đã được tập huấn về kỹ thuật điều tra khẩu phần bằng sq-FFQ.

- Nhân lực gián tiếp: 01 người chịu trách nhiệm việc thu thập số liệu có trình độ đào tạo đại học trở lên, 01 người hỗ trợ có trình độ đào tạo từ trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư trực tiếp

- Bút bi: 01 cái.
- Sổ ghi chép: 01 cuốn.
- Phiếu điều tra: 01 bộ giấy A4 (sổ tờ giấy tùy theo thiết kế của từng cuộc điều tra, trung bình 5 tờ/bộ).
- Dụng cụ hỗ trợ: 01 quyển ảnh dùng cho điều tra khẩu phần, 01 bộ dụng cụ hỗ trợ (bát, thìa, cốc...)
- Áo blouse: 01 cái

2.3. Thiết bị: 01 cái (nếu điều tra trên điện thoại/máy tính bảng)..

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh

a) Chuẩn bị đối tượng

Cần chuẩn bị sẵn danh sách đối tượng. Khi triển khai tại thực địa, điều tra viên kiểm tra đối chiếu lại danh sách để đảm bảo đúng các đối tượng được lựa chọn trước khi tiến hành phỏng vấn.

b) Chuẩn bị kỹ thuật

- Chuẩn bị phiếu điều tra: ĐTV chuẩn bị sẵn sàng phiếu/mẫu phiếu điều tra trước khi tiến hành phỏng vấn.

- Chuẩn bị điều tra viên: ĐTV được tập huấn kỹ để đảm bảo có thể thực hiện phỏng vấn một cách chuyên nghiệp và thu thập được số liệu chính xác, đầy đủ nhất.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: người hỏi ghi tần suất phỏng vấn trung bình trong tổng thời gian 45 phút/đối tượng.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn: Kỹ thuật được thực hiện bằng hình thức phỏng vấn, không ảnh hưởng đến an toàn sức khỏe người trả lời.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chào hỏi, giới thiệu về cuộc phỏng vấn và điền các thông tin hành chính liên quan:

- Chào hỏi, giới thiệu với đối tượng về mục đích và nội dung và thời gian dự kiến của cuộc điều tra, để đối tượng dễ dàng phối hợp thực hiện điều tra.

- Nếu đối tượng đồng ý tham gia, hướng dẫn để đối tượng ký vào biên bản đồng ý tham gia nghiên cứu trước khi tiến hành phỏng vấn.

- Hướng dẫn đối tượng về cách thức thực hiện cuộc phỏng vấn: gồm phương pháp phỏng vấn; các nội dung chính của phiếu điều tra và giới thiệu cho đối tượng biết các công cụ hỗ trợ để qui đổi/ước lượng các kích cỡ thực phẩm tùy thuộc theo mẫu phiếu đã được thiết kế.

- Hỏi và điền các thông tin hành chính có liên quan đến đối tượng theo các nội dung sẵn có trên phiếu điều tra gồm: mã đối tượng/hộ gia đình, tên, tuổi, giới, địa chỉ,... hoặc các thông tin chung khác.

- Thời gian thực hiện trung bình cho bước 1: 5 phút

4.1.2. Bước 2: Hỏi và điền thông tin về tần suất tiêu thụ thực phẩm:

(ĐTV sử dụng tài liệu hướng dẫn dùng bộ câu hỏi để phỏng vấn đối tượng)

a) Bước 2a: Danh sách thực phẩm

- Hỏi bắt đầu từ tên thực phẩm đầu tiên trong danh sách đã được liệt kê trong phiếu điều tra lần lượt theo số thứ tự hoặc từ trên xuống dưới (hoặc từ trái qua phải).

- Điều tra viên có thể giải thích thêm về thực phẩm/nhóm thực phẩm điều tra nếu đối tượng chưa rõ thông tin về danh mục của thực phẩm. Nếu danh sách hỏi là các nhóm

thực phẩm, giải thích rõ cho đối tượng về các thực phẩm thuộc nhóm thực phẩm đó để tránh bị bỏ sót câu trả lời.

b) Bước 2b: Xác định tần suất tiêu thụ của thực phẩm

- Hỏi để xác định thông tin xem tần suất đối tượng sử dụng/tiêu thụ thực phẩm này là bao nhiêu lần trong theo các khoảng thời gian đã được chia sẵn trong phiếu, thông thường các khoảng thời gian chia theo ngày, tuần, tháng, 6 tháng, mùa hoặc năm.... Ví dụ: *Không bao giờ; hàng ngày; 2-3 lần/tuần; 2-3 lần/tháng,*

- Lựa chọn một đáp án theo câu trả lời của đối tượng và ghi lại khoảng thời gian tương ứng với tần suất trên mẫu phiếu (có thể đánh dấu tại phiếu, khoanh chọn đáp án hoặc ghi chép tùy theo thiết kế của mỗi mẫu phiếu theo cuộc điều tra).

c) Bước 2c: Xác định kích cỡ của thực phẩm được tiêu thụ

- Hỏi đối tượng để xác định kích cỡ/trọng lượng thực phẩm trung bình mà đối tượng thường tiêu thụ đối với mỗi loại thực phẩm/nhóm thực phẩm. Ví dụ: 1 bát con 200g, 1 cốc 200ml, 1 hộp 180ml.... Đơn vị đo lường và cách thức đo lường tùy thuộc vào thiết kế của mẫu phiếu/cuộc điều tra hay các dụng cụ có sẵn tại địa phương. Tại bước này, ĐTV có thể hỗ trợ đối tượng cách xác định kích cỡ trung bình của thực phẩm bằng các công cụ ước lượng kèm theo, ví dụ: dùng quyển ảnh thực phẩm.

- Hỏi đối tượng để xác định thông tin về kích cỡ phần suất ăn được tiêu thụ so với kích cỡ trung bình đã mô tả, tùy theo thiết kế của mẫu phiếu có thể theo tỷ lệ phần trăm hoặc ước tính độ lớn. Ví dụ: Nhỏ/vừa/to; hoặc theo khoảng chia tỷ lệ 100%, 75%, 25% ... Sau đó điền lựa chọn đáp án theo câu trả lời của đối tượng vào mẫu phiếu.

- Lưu ý: Tại một số mẫu phiếu điều tra, bước 2b và 2c có thể thay đổi thứ tự cho nhau, tức là xác định kích cỡ thực phẩm trước và tần suất tiêu thụ của loại thực phẩm đó sau. Điều này tùy thuộc vào thiết kế của mỗi cuộc điều tra hay mẫu phiếu có sẵn. ĐTV cần đảm bảo thu thập đủ cả 2 loại thông tin này.

d) Bước 2d:

- Hỏi lần lượt từng tên thực phẩm và điền/chọn đáp án tương ứng vào cột tần suất và cột xác định kích cỡ thực phẩm, hỏi lần lượt cho đến hết danh sách thực phẩm cần điều tra. Hỏi lần lượt từng tên thực phẩm và điền/chọn đáp án tương ứng vào cột tần suất và cột xác định kích cỡ thực phẩm, hỏi lần lượt cho đến hết danh sách thực phẩm cần điều tra.

- Tổng thời gian thực hiện trung bình cho bước 2: 35 phút

4.1.3. Bước 3: Kiểm tra và hoàn thiện phiếu sau phỏng vấn.

- Sau khi cuộc phỏng vấn đối tượng kết thúc, ĐTV xem xét lại kỹ lưỡng phiếu hỏi ngay để tránh những sai sót hoặc nhầm lẫn do sơ xuất nếu có. ĐTV ký tên vào phiếu hỏi sau đó tiếp tục cuộc điều tra với đối tượng kế tiếp.

- Sau khi thu thập được đầy đủ số liệu với các đối tượng được yêu cầu trong ngày, ĐTV tổng hợp lại tất cả các số liệu điều tra đưa cho đội trưởng/người chịu trách nhiệm chính của cuộc điều tra kèm theo các ghi chú/lưu ý nếu có để kết thúc điều tra.

- Thời gian thực hiện trung bình cho bước 3: 5 phút.

4.2. Nhận định kết quả

- Người hỏi ghi tần suất cần được đào tạo/tập huấn và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, tập trung và cẩn thận trong quá trình phỏng vấn/ghi chép các câu trả lời của đối tượng là yếu tố quan trọng để phiếu điều tra có chất lượng và độ chính xác cao.

- Cán bộ thực hiện điều tra cần có kiến thức, kinh nghiệm về điều tra khẩu phần và thực hiện công việc với tinh thần trách nhiệm cao.

- Đối tượng được hỗ trợ để dễ dàng thực hiện được các bước của quy trình và phối hợp trả lời đầy đủ các thông tin trên mẫu phiếu.

- Số liệu và các thông tin thu thập cần đảm bảo chính xác.

- Hỏi ghi tần suất tiêu thụ thực phẩm được thực hiện đúng quy trình, thu thập đủ các thông tin chung, thông tin về tần suất tiêu thụ của tất cả các nhóm/loại thực phẩm đã được đối tượng tiêu thụ và xác định được kích cỡ tiêu thụ của loại thực phẩm đó.

- Phiếu ghi kết quả sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra để tính tần suất thực phẩm tiêu thụ và loại thực phẩm được tiêu thụ phổ biến, lượng thực phẩm tiêu thụ và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần.

- Đánh giá tần suất tiêu thụ thực phẩm bán định lượng bằng cách so với khuyến cáo trong các tháp dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam phù hợp với lứa tuổi hoặc tùy theo mục đích nghiên cứu đề ra.

- Đánh giá giá trị dinh dưỡng của khẩu phần, mức đáp ứng nhu cầu khuyến nghị của khẩu phần bằng cách so sánh với nhu cầu khuyến nghị về năng lượng và các chất dinh dưỡng cho người Việt Nam theo lứa tuổi, giới tính và tình trạng sinh lý. Ngoài ra có thể đánh giá chất lượng của khẩu phần tùy theo mục đích của nghiên cứu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả tần suất tiêu thụ thực phẩm sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại cơ quan quản lý thực hiện theo quy định.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

- Danh mục thực phẩm cố định có thể không phản ánh đầy đủ chế độ ăn uống của đối tượng được nghiên cứu (ví dụ sự khác biệt về cách gọi tên theo thực phẩm địa phương; Hoặc đối tượng không rõ cách phân loại/chưa biết phân loại những thực phẩm mình ăn vào nhóm thực phẩm phù hợp). Để khắc phục lỗi này, điều tra viên cần được tập huấn kỹ và được phổ biến trước về một số đặc điểm ăn uống hay thực phẩm địa phương để có kỹ năng xử lý tình huống trước khi bắt đầu điều tra.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Độ chính xác của số liệu phụ thuộc vào trí nhớ của đối tượng nghiên cứu, do đó, để tránh sai sót, người phỏng vấn cần giải thích rõ và hỗ trợ người được điều tra nhớ lại tần suất tiêu thụ các loại thực phẩm một cách phù hợp và chính xác nhất.

- Đối với các bữa ăn chuẩn bị sẵn hay đồ ăn mang đi có thể dễ bị đối tượng quên hoặc bỏ sót trong quá trình phỏng vấn. Do vậy để khắc phục lỗi này ĐTV có thể hỏi nhắc lại đối tượng trước khi kết thúc mỗi câu trả lời với từng thực phẩm/nhóm thực phẩm để đảm bảo không bị bỏ sót các thực phẩm mà đối tượng đã tiêu thụ.

- Một số sai số có thể xuất hiện khi người trả lời cho biết họ ăn thực phẩm 'tốt' thường xuyên hơn (đánh giá quá cao) hoặc tiêu thụ thực phẩm 'xấu' ít thường xuyên hơn (đánh giá thấp hơn). Có một số bằng chứng cho thấy việc ước tính quá mức tăng theo độ dài của danh sách thực phẩm. Do đó, để khắc phục thì người phỏng vấn tránh đưa ra những lời giải thích có tính chất đánh giá về thực phẩm.

- Có thể gặp các sai số liên quan đến ước lượng do kích cỡ của thực phẩm ở dạng sống/chín hay đã thái bỏ/không thái bỏ... là khác nhau. Do vậy điều tra viên cần được tập huấn rõ về danh sách thực phẩm để giải thích cho đối tượng khi cần thiết, tránh xảy ra các sai sót do ước lượng trên.

- Với các mẫu phiếu dạng tự điền, đối tượng cần có kỹ năng đọc viết và tính toán, ước lượng kích thước phần ăn để tự hoàn thiện phiếu. Do vậy điều tra viên có thể giúp khắc phục vấn đề này bằng việc hỗ trợ đối tượng bằng các dụng cụ hỗ trợ (quyển ảnh, mẫu thực phẩm...) để đối tượng dễ dàng hơn trong việc ước lượng. Điều tra viên cũng cần được tập huấn kỹ để có thể dễ dàng hướng dẫn đối tượng cách thức ước lượng kích cỡ thực phẩm theo định dạng yêu cầu trên mỗi mẫu phiếu.

- Việc trả lời danh sách dài các câu hỏi sẽ tốn thời gian, đòi hỏi sự tập trung cao độ. Do vậy ĐTV cần được tập huấn kỹ và cần phải cân nhắc cách đặt câu hỏi và ghi lại câu trả lời phù hợp chứ không chỉ đọc bảng câu hỏi đơn thuần.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không áp dụng

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm hoặc so sánh liên phòng với kỹ thuật này.

- Cần có người chịu trách nhiệm giám sát kiểm tra việc thực hiện, bao gồm cả giám sát thực địa (kiểm các bước thực hiện, thu và kiểm tra tính đầy đủ của phiếu ghi kết quả) và giám sát số liệu (kiểm tra các cột tần suất và kích cỡ thực phẩm được điền, các số liệu thu thập được và tính logic của số liệu).

7. Tài liệu tham khảo

- FAO. 2018. Dietary Assessment: A resource guide to method selection and application in low resource settings. Rome.

- Bộ Y tế - Viện Dinh dưỡng. 2017. Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học

- Hà Huy Khôi, Lê Thị Hợp. 2012. Phương Pháp dịch tễ học dinh dưỡng. Nhà xuất bản Y học

- Cade J, Thompson R, Burley V, Warm D. 2001. Development, validation and utilization of food-frequency questionnaires-a review. Public Health Nutr 5, 567-587

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 21:

ĐÁNH GIÁ KHẨU PHẦN DỰA VÀO NHẬT KÝ KHẨU PHẦN CÁ THỂ 24 GIỜ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Hướng dẫn đối tượng tự ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể trong thời gian 24 giờ.

1.2. Định nghĩa

- Kỹ thuật ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ bằng phương pháp tự ghi theo hướng dẫn là yêu cầu đối tượng tự ghi lại tất cả các thực phẩm, món ăn, đồ uống cùng với lượng tiêu thụ trong vòng 24 giờ.

- Thời gian điều tra: 24 giờ kể từ khi thức dậy của ngày điều tra cho đến cùng thời điểm đó của ngày hôm sau (1 ngày). Kỹ thuật ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ để đánh giá mức tiêu thụ các thực phẩm và chất dinh dưỡng của cá thể. Việc xác định số ngày điều tra, lựa chọn ngày điều tra phụ thuộc vào mục đích và nguồn lực của nghiên cứu.

- Thời gian điền phiếu: tùy thuộc vào khả năng của đối tượng, có thể ghi ngay sau bữa ăn hoặc ghi cả ngày vào cuối ngày. Trường hợp có ăn thêm sau khi đã điền phiếu, đối tượng có thể ghi ngay hoặc đánh dấu đã ăn để sáng hôm sau ghi lại vào phiếu.

1.3. Nguyên lý

Việc đối tượng tự ghi lại khẩu phần ăn uống cá thể trong 24 giờ sẽ giúp nhà nghiên cứu đánh giá được khẩu phần của đối tượng thông qua việc tính toán được lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ, từ đó tính được khối lượng từng loại thực phẩm đơn lẻ đã được đối tượng tiêu thụ, tính được giá trị dinh dưỡng của từng thực phẩm đơn lẻ có trong khẩu phần, tính được mức tiêu thụ của từng thực phẩm đơn lẻ, nhóm thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của cả khẩu phần.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người hướng dẫn đối tượng ghi phiếu	01	Được tập huấn thành thạo về quy trình kỹ thuật ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ
2	Người thu thập, rà soát và kiểm tra phiếu	01	Được tập huấn thành thạo về quy trình kỹ thuật ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ

2.2. Vật tư trực tiếp

- Phiếu ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ: gồm 3 tờ A4; là biểu mẫu thu thập riêng thông tin về khẩu phần ăn uống của đối tượng, số lượng trang A4 tùy quy mô cuộc điều tra. Phiếu cần đảm bảo các thông tin tối thiểu như sau: thời gian ăn, nơi

ăn, tên món ăn, thành phần món ăn, phương pháp chế biến, nhãn hiệu, giá tiền (nếu có), lượng ăn vào, xác nhận của đối tượng, và phần ghi chú dành cho đối tượng và điều tra viên thu phiếu.

- Phiếu hướng dẫn ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ cần đảm bảo các thông tin tối thiểu (họ tên, địa chỉ, giới tính, ngày sinh, ngày bắt đầu điều tra, ngày kết thúc cuộc điều tra, tên điều tra viên kèm theo số liên hệ của điều tra viên đó và biểu mẫu hướng dẫn chi tiết cách ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ): 1 tờ A4.

- Bút bi hoặc bút mực: 2 cái (1 cái cho điều tra viên, 1 cái cho đối tượng).

- Túi đựng tài liệu: 1 cái.

2.3. Thiết bị: Không áp dụng.

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh: Không áp dụng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm:

Cán bộ y tế tại phòng khám sẽ chỉ định đánh giá cho đối tượng tùy theo tình hình cụ thể.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Thời gian thực hiện kỹ thuật: 110 phút, bao gồm:

+ Hướng dẫn đối tượng ghi phiếu nhật ký thực phẩm: 90 phút.

+ Thu phiếu và rà soát lại thông tin: 20 phút.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại nhà của đối tượng hoặc tại các địa điểm thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn

Không áp dụng do quy trình này không thực hiện xâm lấn.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Hướng dẫn đối tượng ghi nhật ký thực phẩm

- Bước 1: Điều tra viên chào hỏi giới thiệu bản thân, giải thích về mục đích ghi chép nhật ký ăn uống.

- Bước 2: Điều tra viên hướng dẫn đối tượng thực hiện ghi nhật ký ăn uống như sau:

“Sau mỗi bữa ăn hoặc cuối mỗi ngày, _____ tự ghi lại tất cả những gì _____ đã ăn và uống trong ngày (từ sáng sau khi thức dậy đến khi đi ngủ). Cố gắng ghi cụ thể, chính xác.”

Chú ý: đối tượng giữ nguyên thói quen ăn uống như bình thường.

+ Thời gian: Ghi lại cụ thể thời gian của mỗi lần ăn, uống, bao gồm cả khi uống thực phẩm chức năng, đồ uống các loại (ghi rõ từng loại).

+ Địa điểm: Đối tượng ghi rõ địa điểm mỗi lần ăn: ở nhà, cơ quan hay nhà hàng...

+ Thực phẩm: Yêu cầu đối tượng mô tả chi tiết nhất có thể những món ăn, đồ uống mà đối tượng đã ăn, uống trong thời gian điều tra. Nêu cụ thể phương pháp chế biến (luộc, rán, ...) và thành phần cụ thể của món ăn, những gia vị thêm vào (bao gồm đường, dầu/ mỡ, hạt tiêu, ...)

+ Nếu món ăn được chuẩn bị và ăn tại nhà: hãy ghi lại công thức bao gồm tên món ăn, các nguyên liệu sử dụng và số lượng hoặc khối lượng từng loại thực phẩm sử dụng nấu ăn (ước lượng bằng bát, đĩa, thìa, cân trọng lượng nếu có), số lượng người cùng ăn và phương pháp chế biến.

+ Nếu ăn ngoài gia đình hoặc các món ăn chế biến sẵn mua ở ngoài:

• Với bữa ăn phụ: ghi tên món ăn, giá tiền, nhãn hiệu, địa điểm.

• Với bữa ăn chính: mô tả từng món ăn, ước lượng số lượng. Với lương thực như cơm, bánh mì... ghi rõ số bát ăn/ chén ăn, số lượng bánh mì...

- Lượng thực phẩm:

+ Trong trường hợp đối tượng ăn chung cùng cả gia đình: Yêu cầu đối tượng chia riêng phần ăn của bản thân thành một bữa riêng và ghi lại trọng lượng từng loại thực phẩm. Nếu có lấy thêm phần thức ăn, yêu cầu đối tượng ghi lại riêng phần lấy thêm đó. Không chia sẻ phần thức ăn đã lấy riêng của mình.

+ Chú ý các loại đồ ăn chế biến sẵn hoặc đồ uống sẽ có dán nhãn trọng lượng, thể tích hoặc thành phần món ăn ở bên ngoài bao bì.

- Cuối ngày, điều tra viên thu và soát phiếu đảm bảo tất cả các trường phải được trả lời đầy đủ.

4.1.2. Hướng dẫn thu thập thông tin về phiếu ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ

	Hướng dẫn
Thời gian	⇒ Ghi thông tin thời gian ăn uống.
Địa điểm	⇒ Ghi thông tin tên nơi tiến hành điều tra.
Tên bữa ăn.	⇒ Xác định bữa ăn, thời gian ăn cần điều tra (Ví dụ: Bữa sáng/6h00,..)
Tên món ăn, thực phẩm	⇒ Điền tên món ăn, thực phẩm, đồ uống và phương pháp chế biến
Thành phần món ăn	⇒ Liệt kê chi tiết từng loại thành phần/nguyên liệu của từng món ăn.
Nhãn hiệu	⇒ Liệt kê nhãn dán/bao bì của món ăn/ thực phẩm chế biến sẵn.
Giá tiền	⇒ Ghi giá tiền món ăn/ thực phẩm (nếu món ăn/ thực phẩm đó được mua bên ngoài).

Handwritten signature and initials in blue ink.

Trọng lượng ăn vào	⇒ Đối tượng ghi lại chính xác số lượng và trọng lượng từng loại thực phẩm đã ăn. Ví dụ: 3 gấp, lưng bát con....
Xác nhận	⇒ Đối tượng xác nhận lại các câu trả lời

4.1.3. Hướng dẫn đối tượng trong quá trình ghi nhật ký

a. Ví dụ mẫu:

Thời gian	Nơi ăn	Tên món ăn, uống	Thành phần món ăn và khối lượng tương ứng	Phương pháp chế biến	Nhãn hiệu	Giá tiền (nếu có)	Lượng ăn vào	Xác nhận
			5h sáng – 9h sáng					
6h30	Hộ gia đình	Phở bò	Bánh phở Thịt bò Rau thơm	Nấu			1 bát to	x
			9h sáng – 12h trưa					
12h00	Quán ăn	Cơm	Cơm			1 suất ăn 30k	2 lưng bát	x
12h00	Quán ăn	Trứng rán	Trứng vịt Dầu ăn Gia vị			1 suất ăn 30k	1 miếng to bằng miệng bát con	x
12h00	Quán ăn	Rau luộc	Rau muống luộc			1 suất ăn 30k	5 gấp	x

b. Ví dụ về ghi chú:

Ghi chú:

1. Dành cho đối tượng:

- VD: Đang trong chế độ ăn kiêng giảm cân....

2. Dành cho điều tra viên thu phiếu:

- VD: Đối tượng không nhớ giá tiền....

4.1.4. Thu phiếu điều tra

- Cuối ngày khi đối tượng hoàn thiện phiếu ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ, điều tra viên rà soát lại các thông tin và kết thúc quá trình thu thập thông tin khẩu phần.

- Điều tra viên đọc lại từng món ăn, thời gian ăn, thành phần nguyên liệu, số lượng và nơi ăn để đối tượng xác nhận lại.

- Khi tất cả các trường được hoàn thiện, đối tượng xác nhận đúng những nội dung đã ghi, điều tra viên chào hỏi cảm ơn đối tượng đã tham gia.

4.2. Nhận định kết quả

- Cán bộ y tế được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
- Đối tượng dễ dàng thực hiện các bước của quy trình theo sự hướng dẫn của cán bộ y tế, thu thập đủ các công thức bao gồm thông tin chung, thông tin về công thức chế biến món ăn, thông tin về lượng thực phẩm thực tế được đối tượng tiêu thụ.
- Phiếu ghi nhật ký khẩu phần ăn uống cá thể 24 giờ sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra để tính lượng thực phẩm tiêu thụ và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần.
- Đánh giá mức tiêu thụ lương thực thực phẩm bằng cách so với khuyến cáo trong các tháp dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam phù hợp với lứa tuổi hoặc tùy theo mục đích nghiên cứu đề ra.
- Đánh giá giá trị dinh dưỡng của khẩu phần, mức đáp ứng nhu cầu khuyến nghị của khẩu phần bằng cách so sánh với nhu cầu khuyến nghị về năng lượng và các chất dinh dưỡng cho người Việt Nam theo lứa tuổi, giới tính và tình trạng sinh lý. Ngoài ra có thể đánh giá chất lượng của khẩu phần theo theo mục đích nghiên cứu đề ra.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Nếu quy trình này được chỉ định thực hiện ở phòng khám, kết quả đánh giá sẽ trả cho đối tượng sau khi có.
- Đối với các nghiên cứu tại cộng đồng, kết quả này không trả cho tất cả đối tượng trừ trường hợp đối tượng có vấn đề về sức khỏe thì sử dụng kết quả để tư vấn cho đối tượng, do chủ nhiệm đề tài quyết định.
- Phiếu sẽ được lưu trữ tại phòng khám hoặc đơn vị thực hiện, hoặc đơn vị khác có liên quan.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Tình huống	Cách xử trí
- Đối tượng không hiểu câu hỏi và đưa ra câu trả lời không phù hợp; - Đối tượng mất nhiều thời gian để trả lời câu hỏi và do dự; - Đối tượng yêu cầu làm rõ một thuật ngữ.	Người phỏng vấn làm rõ thông tin cho người tham gia hiểu

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Khi thực hiện tự điền phiếu, nếu đối tượng có bất kì thắc mắc nào có thể liên hệ ngay với điều tra viên để được hướng dẫn chi tiết.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tình huống	Cách xử trí
- Đối tượng có vẻ hiểu câu hỏi nhưng đưa ra câu trả lời không phù hợp. - Đối tượng không hiểu những gì đã được nói hoặc làm rõ câu trả lời. - Đối tượng cung cấp thông tin không đầy đủ hoặc câu trả lời không rõ ràng. - Đối tượng nói rằng họ không biết câu trả lời.	Người thu phiếu cần hỏi thăm dò thêm để có câu trả lời phù hợp từ người tham gia.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Chất lượng thực hiện quy trình được đảm bảo thông qua việc đào tạo điều tra viên và giám sát viên sẽ là người đảm bảo thực hiện đúng quy trình.
- Phiếu tự ghi của đối tượng có đầy đủ các thông tin theo yêu cầu.

7. Tài liệu tham khảo

- Bộ Y tế, Viện dinh dưỡng (2017). Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học.
- Rosalind S. Gibson (2005), Principles nutritional assessment - The second edition. Oxford University Press.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật số 21

Phụ lục 1:

PHIẾU HƯỚNG DẪN GHI NHẬT KÝ KHẨU PHẦN ĂN UỐNG CÁ THỂ 24 GIỜ

Cập nhật ngày ____ / ____ /20__

Ngày điều tra: ____ / ____ / ____

Tên đối tượng: _____ Giới tính: Nam / Nữ Năm sinh: ____

Mã đối tượng: _____ Địa chỉ: _____

Ngày bắt đầu điều tra: ____ / ____ / ____ Ngày kết thúc điều tra: ____ / ____ / ____

Tên điều tra viên: _____ SDT: _____

Phần hướng dẫn của điều tra viên:

Mỗi ngày, xin _____ hãy ghi lại tất cả những gì _____ đã ăn và uống trong ngày (từ sáng sau khi thức dậy đến khi đi ngủ) kể cả những thực phẩm chức năng mà _____ đã sử dụng trong ngày. Xin hãy giữ nguyên thói quen ăn uống của _____ như bình thường:

Thời gian: ghi cụ thể thời gian mỗi lần ăn. Khoảng thời gian nào không ăn thì để trống.

Địa điểm và với ai: Với mỗi lần ăn, xin hãy cho chúng tôi biết địa điểm _____ đã ăn ở đâu, vd: nhà, cơ quan, nhà hàng....

Anh/chị ăn những gì? Hãy mô tả chi tiết nhất có thể những thứ anh/chị đã ăn/uống. Nêu cụ thể phương pháp nấu nướng (vd: rán, luộc,...) và gia vị thêm vào (dầu/mỡ, đường/chất làm ngọt, sốt, hạt tiêu,...)

- Nếu món ăn được chuẩn bị và ăn tại nhà: xin hãy ghi lại công thức bao gồm tên món ăn, các nguyên liệu sử dụng và số lượng hoặc khối lượng tương ứng (bát, đĩa, thìa, trọng lượng cân), số lượng người cùng ăn món ăn đó, và phương pháp chế biến.

- Nếu ăn ở ngoài hoặc các món ăn không được nấu ở nhà, xin hãy ghi lại chi tiết tất cả các nguyên liệu mà anh/chị thấy có trong món ăn đó, giá tiền để mua phần thức ăn đó.

Tên nhãn hiệu: Hãy ghi tên nhãn hiệu (nếu biết) vd: Hào hảo, omachi...

Lượng ăn: Chúng tôi muốn biết lượng anh/chị ăn thực tế.

Khối lượng thực phẩm/ đồ ăn: Có thể mô tả khối lượng bằng các cách đo lường như sau:

+ Dựa theo dụng cụ nấu ăn: vd: 1 thìa cà phê đường, 2 bát cơm, ...

+ Khối lượng ghi trên nhãn: vd: hộp sữa chua 100g, ...

+ Số lượng: vd: 2 quả trứng gà, 1 quả táo...

Dung tích chất lỏng/đồ uống: có thể mô tả dung tích đồ uống bằng:

+ Mô tả kích cỡ của cốc (vd: cốc thủy tinh to) hoặc dung tích (vd 300ml)

+ Dung lượng được ghi trên nhãn sản phẩm (vd: hộp sữa 180ml...)

Phụ lục 2:

PHIẾU GHI NHẬT KÝ KHẨU PHẦN ĂN UỐNG CÁ THỂ 24 GIỜ

NGÀY 1

Thời gian	Nơi ăn	Tên món ăn/uống	Thành phần món ăn và khối lượng tương ứng	Phương pháp chế biến	Nhãn hiệu	Giá tiền (nếu có)	Lượng ăn vào	Xác nhận
			5h sáng – 9h sáng					
6h30	Hộ gia đình	Thịt kho trứng	Thịt lợn					
			9h sáng – 12h trưa					
			12h trưa – 2h chiều					
			2h chiều – 5h chiều					
			5h chiều – 8h tối					
			8h tối – 12h đêm					
			12h đêm – 5h sáng					

Anh/chị có uống bất kỳ loại vitamin, khoáng chất hoặc thực phẩm chức năng nào không?

1. Có.
2. Không.

Nếu có, xin hãy mô tả cụ thể theo bảng dưới đây:

Nhãn hiệu	Tên (đầy đủ) có bao gồm các chất	Số lượng viên, muỗng cà phê...

Ghi chú:

1. Dành cho đối tượng:

.....

2. Dành cho điều tra viên thu phiếu (ghi rõ họ tên):

.....

Handwritten signature: "mr" with a flourish.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 22:

CÂN ĐONG TRỰC TIẾP KHẨU PHẦN CÁ THỂ 24 GIỜ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Hướng dẫn thực hiện kỹ thuật điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ bằng phương pháp cân đong trực tiếp.

1.2. Định nghĩa

Điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ bằng phương pháp cân đong trực tiếp (Weight food record - WFR) là phương pháp mà điều tra viên (ĐTV) quan sát, cân và ghi lại trọng lượng tất cả các thực phẩm, món ăn và đồ uống được chuẩn bị và được đối tượng tiêu thụ trong vòng 24 giờ. Với mỗi loại thực phẩm, món ăn, đồ uống, điều tra thực hiện cân đong một cách chính xác ở 4 giai đoạn: trước khi nấu, sau khi nấu chín, lượng thực phẩm được bày ra để ăn, lượng thực phẩm còn lại sau khi ăn để tính được lượng thực phẩm thực tế đã ăn.

1.3. Nguyên lý

Mức tiêu thụ lượng thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần được tính từ lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ. Việc cân đong trực tiếp sẽ tính được lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ, từ đó tính được khối lượng từng loại thực phẩm đơn lẻ đã được đối tượng tiêu thụ, tính được giá trị dinh dưỡng của từng thực phẩm đơn lẻ có trong khẩu phần, tính được mức tiêu thụ của từng thực phẩm đơn lẻ, nhóm thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của cả khẩu phần.

Lưu ý khi điều tra khẩu phần cá thể bằng phương pháp cân đong trực tiếp

- Cần xác định thời gian đối tượng ngủ dậy khi liên hệ điều tra để đến nhà đối tượng trước khi đối tượng chuẩn bị và ăn bữa ăn đầu tiên trong ngày và sẽ ở lại suốt cả ngày đến khi kết thúc bữa ăn cuối cùng của ngày.
- ĐTV cần nhấn mạnh để đối tượng ăn như ngày bình thường; cần tạo không khí để có thể thoải mái, tự nhiên cân đong tất cả các thực phẩm được đối tượng tiêu thụ ở các giai đoạn khác nhau.
- ĐTV cần đảm bảo vệ sinh cá nhân: cắt ngắn móng tay, rửa tay trước khi cân đong, giữ tóc gọn gàng, đeo khẩu trang khi cân đong...
- Đảm bảo thực phẩm của đối tượng được sạch sẽ: dụng cụ cân đong phải sạch sẽ; không sờ tay trực tiếp vào thực phẩm, nhất là thực phẩm sau khi chế biến; tránh làm phiền tới phần thực phẩm của các thành viên khác trong gia đình.
- Thực hiện các công việc để cân đong thực phẩm nhanh nhất có thể.
- Địa điểm cân đong có thể là nhà bếp hoặc phòng ăn, yêu cầu thuận lợi, không gây phiền toái và được sự đồng ý của đối tượng và gia đình.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người cân đong khẩu phần	01	Được tập huấn kỹ thuật điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ bằng phương pháp cân đong trực tiếp, trình độ từ trung cấp trở lên
2	Người phụ trách	01	Nắm vững kỹ thuật, trình độ từ đại học trở lên
3	Người hỗ trợ	01	Trình độ từ trung cấp trở lên

2.2. Vật tư

- Pin phù hợp với cân: 4 quả.
- Phiếu điều tra (phụ lục phiếu điều tra): 1 bộ phiếu gồm 15 trang A4 và 2 trang A3.
- Khẩu trang: 4 cái.
- Găng tay: 4 đôi.
- Khăn lau: 1 cái.
- Bút bi: 1 cái.
- Sổ ghi chép: 1 cuốn.
- Cân điện tử có mức cân tối đa 5kg, độ chính xác $\pm 1g$: 1 cái.
- Quả cân chuẩn 500g: 1 quả.

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh: không áp dụng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Thời gian số liệu được thu thập: 24 giờ kể từ khi thức dậy của ngày điều tra cho đến cùng thời điểm đó của ngày hôm sau (1 ngày).

- Thời gian thực hiện kỹ thuật:

STT	Nhân lực	Nội dung	Thời gian
1	Người cân đong khẩu phần	Thực hiện cân đong trực tiếp công thức chế biến món ăn và lượng thực phẩm thực ăn	14 giờ
2	Người phụ trách	Quản lý, kiểm tra, giám sát việc thực hiện	10 phút
3	Người hỗ trợ	Hỗ trợ các công việc hậu cần, hành chính để thực hiện điều tra	10 phút

Lưu ý: Để đánh giá tiêu thụ thường xuyên các thực phẩm và chất dinh dưỡng của cá thể, cần thực hiện cân đong thực phẩm lặp lại nhiều ngày Việc xác định số ngày điều tra, lựa chọn ngày điều tra phụ thuộc vào mục đích và nguồn lực của nghiên cứu.

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Địa điểm thực hiện kỹ thuật không cố định do điều tra viên cần đồng hành cùng đối tượng trong suốt thời gian điều tra, thực hiện cân đong khi đối tượng có tiêu thụ thực phẩm.

3. An toàn

Quy trình này chỉ cân đồng thực phẩm được tiêu thụ, không có nguy cơ gây mất an toàn nào, không có tác động trực tiếp vào người đối tượng; sử dụng quả cân chuẩn để kiểm tra độ chính xác của cân, kiểm tra cân đảm bảo về 0 trước mỗi lần cân.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Chào hỏi, giới thiệu và điền các thông tin chung của mẫu phiếu

- Chào hỏi, giới thiệu bản thân ĐTV.
- Giới thiệu mục đích, nội dung, cách thức tiến hành, thời gian dự kiến của cuộc điều tra với đối tượng để họ hiểu và cùng cộng tác.
- Hỏi và điền các thông tin hành chính theo các nội dung in trên phiếu (phụ lục 1 và phụ lục 2), tối thiểu cần có các thông tin: mã số, giới tính, ngày sinh của đối tượng; thời gian, địa điểm điều tra; người điều tra.

4.1.2. Cân đồng công thức chế biến các món ăn

Phân ghi công thức món ăn (phụ lục 1) được dùng để ghi lại tất cả các thực phẩm thành phần và số lượng của chúng trong mỗi món ăn được chế biến tại hộ gia đình trong quá trình cân đồng, mỗi món ăn được viết vào một trang riêng. Điều tra công thức món ăn được thực hiện với tất cả các món ăn có nhiều hơn một thành phần kể cả nước, bao gồm cả các thức ăn đã nấu đơn giản (ví dụ như cơm, rau luộc...) hoặc thực phẩm sống (ví dụ như sinh tố trái cây, salad sống). Có 3 loại món ăn nói chung có thể gặp trong cuộc điều tra:

- 1) Món ăn điều tra được công thức: Là những món ăn được chế biến tại hộ gia đình và có thể cân đồng được chính xác mỗi thực phẩm thành phần có trong món ăn.
- 2) Món ăn nhớ lại công thức: Là những món ăn được chế biến tại hộ gia đình từ ngày hôm trước, cần dựa vào việc nhớ lại của người chế biến để ghi lại các thành phần, tổng trọng lượng của món ăn và phương pháp chế biến đã được sử dụng.
- 3) Món ăn không có công thức: Là những món ăn được chế biến ở ngoài gia đình, không điều tra được công thức chế biến (ví dụ món mua về, món được người khác cho...), vì vậy không điền thông tin của các món ăn này trong phần 1 của phiếu điều tra.

Ứng với mỗi nội dung, mỗi cột trong phiếu, điều tra công thức chế biến với mỗi món ăn được thực hiện lần lượt như sau:

- *Mục e - Tên món ăn cần điều tra công thức:* Hỏi người chế biến họ đang nấu món gì, nếu là món nấu tại hộ gia đình từ ngày hôm trước, hỏi đó là món gì. Viết tên món ăn vào phiếu. Chú ý: có thể cần phải điều chỉnh tên sau khi xem lại toàn bộ quá trình chuẩn bị món ăn.

- *Mục f - Phương pháp chế biến:* Lựa chọn và ghi lại phương pháp chế biến phù hợp ở góc trên bên phải của phiếu.

- *Mục g - Nơi chế biến:* Lựa chọn và ghi lại nơi chế biến phù hợp: 1=ở nhà; 2=ngoài nhà hoặc chuẩn bị bởi người khác; 3=Món ăn đã chuẩn bị từ các ngày trước. Nếu là '2', ghi rõ nơi mua ở phần Nhận xét.

- *Mục h - Trọng lượng của xoong/nồi không dùng để nấu*: Cân và ghi lại trọng lượng xoong/nồi sẽ dùng để chế biến món ăn, trước khi cho thực phẩm hoặc nước vào.

- *Cột 1 - Thứ tự*: Đánh số thứ tự các món ăn theo trật tự được chuẩn bị/chế biến trong ngày.

- *Cột 2 - Tên thực phẩm thành phần của món ăn*: Ghi tên của thực phẩm thành phần vào phiếu. Với món ăn được chuẩn bị từ các ngày trước, đề nghị đối tượng nhớ lại và ghi tên các thực phẩm thành phần.

- *Cột 3 - Chi tiết về thực phẩm thành phần*: Ghi lại đầy đủ các thông tin liên quan đến: loài, giống, nhãn hiệu, màu sắc, miếng, thành phần chất béo hoặc dạng thực phẩm (nếu phù hợp). Xem chú ý về các thông tin cần mô tả theo nhóm thực phẩm ở phụ lục 3.

- *Cột 4 - Mã phương pháp chế biến của thực phẩm thành phần*: Lựa chọn và ghi mã số tương ứng với phương pháp và/hoặc tình trạng chế biến phù hợp ở góc trên bên phải của phiếu.

- *Cột 5 - Trọng lượng chai/lọ/hộp... và thực phẩm trước khi cho vào chế biến*: Cân và ghi lại trọng lượng thực phẩm đã làm sạch + bao bì (nếu có) trước khi cho vào xoong/nồi để chế biến.

- *Cột 6 - Trọng lượng chai/lọ/hộp... và thực phẩm còn lại sau khi cho vào chế biến*: Cân trọng lượng bao bì và thực phẩm còn lại (nếu có) sau khi đã cho đủ thực phẩm vào xoong/nồi để chế biến.

- *Cột 7 - Trọng lượng thực phẩm thành phần*: ĐTV không cần điền cột này vì sẽ được tính khi nhập số liệu, trọng lượng thực phẩm thành phần ở cột 7 = trọng lượng ở cột 5 – trọng lượng ở cột 6.

- *Cột 8 - Phần bỏ đi cân sau khi nấu*: Sau khi nấu nếu có thực phẩm không được sử dụng hết (ví dụ dầu ăn còn lại trong chảo sau khi chiên rán), cân và ghi lại trọng lượng của thực phẩm đó.

- *Cột 9 - Mã thực phẩm thực phẩm thành phần*: Ghi mã của thực phẩm theo mã có trong bảng thành phần thức ăn Việt Nam, nếu thực phẩm không có trong bảng thành phần, viết mã “7777”.

- *Mục i - Trọng lượng của xoong/nồi và món ăn sau khi nấu*: Sau khi hoàn thành chế biến món ăn, cân và ghi lại tổng trọng lượng xoong/nồi cùng với toàn bộ món ăn đã được chế biến.

- *Mục j - Trọng lượng của món ăn đã chế biến*: ĐTV không cần điền cột này vì sẽ được tính khi nhập số liệu, trọng lượng món ăn ở mục j = trọng lượng ở mục i – trọng lượng ở mục h.

Phần nhận xét:

- Thêm bất kỳ nhận xét nào vào cuối mẫu phiếu hoặc các vấn đề cụ thể hoặc câu hỏi gặp phải. Nếu thực phẩm đã tiêu thụ được chế biến bên ngoài hộ gia đình, ghi lại thông tin về nơi chế biến.

- Số trang: khi hoàn thành hộ gia đình này hãy ghi tổng số trang đã thu thập cho hộ gia đình này.

4.1.3. Cân đo lượng thực phẩm được đối tượng tiêu thụ

Sử dụng phần 2 của phiếu điều tra (phụ lục 2) để thu thập thông tin về tất cả các thực phẩm, món ăn và đồ uống (bao gồm cả nước) được đối tượng tiêu thụ. Nếu đối tượng ăn một thực phẩm đơn mà không cần chuẩn bị/nấu/chế biến (ví dụ quả chuối) hoặc các món ăn không điều tra được công thức chế biến, chỉ ghi vào thông tin vào phần 2 của phiếu điều tra (phụ lục 2) mà không cần ghi vào phần 1 của phiếu điều tra (phụ lục 1).

Ứng với mỗi nội dung, mỗi cột trong phần 2 của phiếu (phụ lục 2), cân đo trọng lượng mỗi thực phẩm, món ăn và đồ uống đối tượng tiêu thụ được thực hiện lần lượt như sau:

- *Cột 1 - Thứ tự*: Ghi theo trật tự ăn các thực phẩm, món ăn và đồ uống trong ngày, từ 1 đến hết.

- *Cột 2 - Thời gian bắt đầu tiêu thụ*: Ghi thời gian mà đối tượng bắt đầu ăn một thực phẩm, món ăn hoặc đồ uống cụ thể.

- *Cột 3 - Tên thực phẩm hoặc món ăn*: Ghi tên thực phẩm, món ăn hoặc đồ uống được tiêu thụ. Nếu món ăn có trong phần 1 của phiếu, ghi tên giống như trong phần 1.

- *Cột 4 - Mô tả chi tiết về thực phẩm/ món ăn*: Ghi càng chi tiết càng tốt: loài, tính đa dạng, nhãn hiệu, màu, vị trí, thành phần chất béo, dạng thực phẩm, cách chế biến nếu phù hợp. Không điền thông tin ở cột này với các món ăn đã được thu thập thông tin về công thức chế biến trong phần 1 của phiếu.

- *Cột 5 - Mã phương pháp/ trạng thái chế biến*: Lựa chọn và ghi lại phương pháp chế biến và (các) trạng thái chế biến phù hợp ở góc trên phải của phiếu.

- *Cột 6 - Mã thực phẩm/món ăn*:

+ Với thực phẩm đơn: ghi mã của thực phẩm có trong bảng thành phần thức ăn Việt Nam, nếu thực phẩm không có trong bảng thành phần, viết "7777".

+ Với món ăn thu thập được công thức chế biến: mã thực phẩm chính là thứ tự của món ăn đó ở cột 1, phần 1 của phiếu.

+ Với món ăn không thu thập được công thức chế biến (không có ở phần 1 phụ lục 1), viết "9999".

- *Cột 7 - Nơi ăn*: Lựa chọn và ghi mã nơi ăn uống phù hợp ở góc trên bên phải của phiếu.

- *Cột 8 - Trọng lượng đồ vật chứa đựng 1*: Cân và ghi lại trọng lượng dụng cụ chứa đựng thực phẩm mà đối tượng dự định sử dụng để ăn và uống (đĩa, bát, cốc...). Nếu không dùng dụng cụ chứa đựng, viết "0".

- *Cột 9 - Trọng lượng đồ vật chứa đựng và thực phẩm 1*: Sau khi thực phẩm được bày ra, cân và ghi lại trọng lượng của thực phẩm và đồ chứa đựng thực phẩm.

- *Cột 10 - Trọng lượng thực phẩm 1*: ĐTV không cần điền cột này vì sẽ được tính khi nhập số liệu, trọng lượng thực phẩm được bày ra trước khi ăn = trọng lượng ở cột 8 - trọng lượng ở cột 9.

- *Cột 11 - Trọng lượng đồ vật chứa đựng 2*: Cân và ghi lại trọng lượng dụng cụ chứa đựng thực phẩm đối tượng ăn không hết hoặc không ăn được (đĩa, bát, cốc...). Nếu đối tượng ăn hết thực phẩm hoặc không dùng dụng cụ chứa đựng, viết "0".

- **Cột 12 - Trọng lượng đồ vật chứa đựng và thực phẩm 2:** Cân và ghi lại trọng lượng dụng cụ chứa đựng và thực phẩm đối tượng ăn không hết hoặc không ăn được (đĩa, bát, cốc...). Nếu đối tượng ăn hết thực phẩm, điền “0”.

- **Cột 13 - Trọng lượng thực phẩm 2:** ĐTV không cần điền cột này vì sẽ được tính khi nhập số liệu, trọng lượng thực phẩm còn thừa lại sau khi ăn = trọng lượng ở cột 11 - trọng lượng ở cột 12.

- **Cột 14 - Trọng lượng thực ăn:** ĐTV không cần điền cột này vì sẽ được tính khi nhập số liệu, trọng lượng thực phẩm thực ăn = trọng lượng ở cột 10 – trọng lượng ở cột 13.

- **Cột 15 - Thời gian kết thúc ăn uống:** Ghi lại thời gian đối tượng dùng ăn thực phẩm, món ăn, hoặc đồ uống đó.

Phần nhận xét:

- Thêm bất kỳ nhận xét nào vào cuối mẫu phiếu hoặc các vấn đề cụ thể hoặc câu hỏi gặp phải. Nếu thực phẩm đã tiêu thụ được chế biến bên ngoài hộ gia đình, ghi lại thông tin về nơi chế biến.

- **Sổ trang:** khi hoàn thành hộ gia đình này hãy ghi tổng số trang đã thu thập cho hộ gia đình này.

Chú ý: Trường hợp các thực phẩm và món ăn bày ra và trộn lẫn với nhau trên cùng một đĩa (ví dụ cơm, nước sốt), mỗi thực phẩm/món ăn được ghi vào 1 dòng riêng, thực hiện theo các bước sau và xem cách điền phiếu trong hình 1 dưới đây.

- Bước 1: Cân và ghi trọng lượng đĩa vào cột 8 dòng dành cho cơm.

- Bước 2: Lấy cơm vào đĩa, cân, ghi trọng lượng đĩa + cơm vào cột 9 dòng dành cho cơm.

- Bước 3: Ghi trọng lượng đĩa + cơm ở cột 9 dòng dành cho cơm vào cột 8 dòng dành cho nước sốt.

- Bước 4: Thêm nước sốt vào đĩa cơm, cân và ghi trọng lượng vào cột 9 dòng dành cho nước sốt.

- Bước 5: Viết riêng một dòng dành cho cơm + nước sốt, điền các thông tin ở phần bày ra trước khi ăn, thực hiện cân đong và ghi lại trọng lượng ăn thừa nếu có. Mã của thực phẩm/món ăn ở dòng này điền “8888”.

(1)	(2)	(3)	(5)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(16)
TT	Thời gian bắt đầu tiêu thụ	Toàn bộ thực phẩm và đồ uống được ăn uống		Phần bày ra trước khi ăn			Phần còn thừa/thải bỏ			Trọng lượng thực ăn (g)	Thời gian kết thúc ăn uống
		Tên thực phẩm hoặc món ăn	Mã thực phẩm/món ăn	Trọng lượng đồ vật chứa đựng 1 (g)	Trọng lượng đồ vật chứa đựng và thực phẩm 1 (g)	Trọng lượng thực phẩm 1 (g)	Trọng lượng đồ vật chứa đựng 2 (g)	Trọng lượng đồ vật chứa đựng và thực phẩm 2 (g)	Trọng lượng phần thải bỏ/phần không ăn hết (g)		
10	11:30	Cơm	3	103	226	123					12:15
11	11:30	Nước sốt cà chua	4	226	285	59					12:15
12	11:30	Cơm + nước sốt	8888	103	285	182	98	141	43	139	12:15

Hình 1: Ví dụ về cách điền phiếu cân đong các thực phẩm trộn lẫn với nhau

4.1.4. Một số tình huống cụ thể có thể xảy ra

a. Cân đong các thực phẩm/món ăn dùng chung bát, đĩa và gắp bằng đũa

Trong bữa ăn gia đình, khi đối tượng điều tra ăn đồ ăn được chứa trong các bát/dĩa chung với các thành viên khác trong gia đình, đối tượng dùng đũa gấp hoặc thìa múc đồ ăn để ăn làm cho việc cân đong lượng thực phẩm tiêu thụ trở nên khó khăn hơn. Trong trường hợp này, đề nghị đối tượng lấy đồ ăn của mình ra thành một bữa ăn riêng, không để chung với các thành viên khác của gia đình với lượng đồ ăn mà đối tượng thường ăn. ĐTV thực hiện cân mỗi món ăn trước khi đối tượng bắt đầu ăn bữa ăn của mình, để đối tượng ăn thoải mái cho đến khi kết thúc bữa ăn và cân lượng thực phẩm thừa của mỗi món ăn (nếu có) theo hướng dẫn ở trên.

Trong khi đối tượng ăn bữa ăn của mình, ĐTV cần quan sát một cách lịch sự để đảm bảo nếu đối tượng lấy thêm đồ ăn, đề nghị đối tượng dừng lại và chờ ĐTV cân lượng thực phẩm lấy thêm đó. Bên cạnh đó, cũng cần đảm bảo đối tượng không chia sẻ đồ ăn đã lấy riêng ra (và đã được ĐTV cân) với các thành viên khác của gia đình (ví dụ như là gấp đồ ăn trong đĩa của mình cho người khác).

b. Thực phẩm đã chuẩn bị từ ngày hôm trước -> dùng phương pháp nhớ lại các thành phần và số lượng.

Trong trường hợp đối tượng ăn “món ăn còn thừa” (từ ngày hôm trước), ĐTV vẫn cần hoàn thiện phần điều tra công thức món ăn (phụ lục 1) dựa vào việc nhớ lại của người chế biến về việc chuẩn bị món ăn đó. Đề nghị người chế biến ước tính trọng lượng các thực phẩm thành phần được sử dụng và tổng lượng của món ăn đã nấu (vẫn điền phiếu mặc dù không quan sát được quá trình chế biến món ăn đó). Nếu công thức món ăn được ghi lại dựa trên việc nhớ lại mà không phải quan sát trực tiếp, vì đã được chuẩn bị ngày hôm trước, viết ghi chú vào phần “Nhận xét” ở cuối của mẫu phiếu.

c. Món ăn được chuẩn bị/tiêu thụ bên ngoài không biết công thức chế biến

Đối với món ăn được chuẩn bị/tiêu thụ ngoài nhà, ĐTV không điền thông tin của món ăn này ở phần 1 của phiếu điều tra (phụ lục 1). Ở phần 2 của phiếu điều tra (phụ lục 2), ĐTV cần mô tả càng chi tiết càng tốt về món ăn này: các thực phẩm thành phần có trong món ăn, nơi ăn/mua, địa điểm bán, giá tiền... Cán bộ nghiên cứu dựa vào thông tin chi tiết của món ăn để điều tra, thu thập hoặc xây dựng công thức chế biến của món ăn này, sử dụng để tính toán lượng thực phẩm được đối tượng tiêu thụ.

d. Làm việc bên ngoài

Điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ bằng phương pháp cân đong trực tiếp cần cân đong tất cả các thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ bất kể ăn tại nhà hay ngoài nhà. Nếu đối tượng làm việc bên ngoài và đồng ý tham gia điều tra, ĐTV cần trao đổi xác nhận đối tượng đồng ý cho ĐTV đi cùng trong suốt ngày làm việc và việc làm như vậy sẽ không gây ra bất kỳ nguy cơ an ninh hay tiềm ẩn mối nguy hại nào.

Nếu món ăn được chuẩn bị sáng sớm trước khi đi làm, ĐTV cần đến nhà đối tượng sớm để cân đong ghi lại công thức chế biến món ăn. Việc cân đong và điền phiếu điều tra được thực hiện theo hướng dẫn.

e. Đối tượng có ăn đêm

Thông thường, ĐTV sẽ kết thúc việc cân đong trực tiếp tại nhà đối tượng sau khi kết thúc cân đong bữa ăn tối hoặc bữa ăn phụ cuối cùng của ngày trước khi đi ngủ. Trước khi kết thúc điều tra, ĐTV cần hỏi đối tượng có thường ăn đêm không, nếu có cần hỏi dự định đêm nay ăn gì. Đề nghị đối tượng lấy thực phẩm dự kiến dùng để ăn đêm để

cân, nhắc đối tượng giữ lại phần ăn không hết và bao bì (nếu không ăn hết) để ĐTV cân lại vào sáng ngày hôm sau. Khi đến cân, ĐTV cần hỏi lại xem ngoài các thực phẩm, món ăn, đồ uống dùng để ăn đêm đã được cân đóng, đối tượng có ăn thêm bất kỳ thực phẩm nào khác không, nếu có hỏi và ghi thông tin của các thực phẩm này vào phiếu.

f. Không cân đóng được một số thực phẩm, món ăn, đồ uống đã tiêu thụ -> dùng phương pháp nhớ lại và hỏi ghi.

Một số trường hợp ĐTV không thể cân và ghi lại trọng lượng một số thực phẩm, món ăn, hoặc đồ uống đã được đối tượng tiêu thụ (ví dụ đối tượng ăn trong giờ học, trong cuộc họp...), ĐTV vẫn cần điền phiếu phần thực phẩm đã được đối tượng tiêu thụ (phụ lục 2) dựa vào việc nhớ lại của đối tượng về lượng thực phẩm đã ăn. Trong trường hợp này, cần viết ghi chú vào phần “Nhận xét” ở cuối của mẫu phiếu.

4.2. Nhận định kết quả

- Cân đóng trực tiếp khẩu phần cá thể 24 giờ được thực hiện đúng quy trình, thu thập đủ các công thức bao gồm thông tin chung, thông tin về công thức chế biến món ăn, thông tin về lượng thực phẩm thực tế được đối tượng tiêu thụ.

- Phiếu ghi kết quả cân đóng khẩu phần 24 giờ sẽ được xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra để tính lượng thực phẩm tiêu thụ và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần.

- Đánh giá mức tiêu thụ lượng thực phẩm bằng cách so với khuyến cáo trong các tháp dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam phù hợp với lứa tuổi hoặc tùy theo mục đích nghiên cứu đề ra.

- Đánh giá giá trị dinh dưỡng của khẩu phần, mức đáp ứng nhu cầu khuyến nghị của khẩu phần bằng cách so sánh với nhu cầu khuyến nghị về năng lượng và các chất dinh dưỡng cho người Việt Nam theo lứa tuổi, giới tính và tình trạng sinh lý. Ngoài ra có thể đánh giá chất lượng của khẩu phần theo mục đích nghiên cứu đề ra.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả cân đóng khẩu phần 24 giờ sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và cách xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: không có.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Đến nhà đối tượng sau khi đối tượng đã chế biến hoặc ăn: Đề nghị đối tượng cho xem các thực phẩm cùng lượng mà họ đã sử dụng để chế biến món ăn để cân; nếu đối tượng đã ăn gì đó, đề nghị đối tượng cung cấp một lượng giống hệt như lượng đã ăn để cân lại lượng thực phẩm đã tiêu thụ. Trường hợp này cần ghi chú vào phần nhận xét.

- Trong lượng tổng món ăn vượt quá khả năng cân của cân: chia món ăn ra thành 2-3 phần, cân trọng lượng của các phần và cộng lại để có tổng trọng lượng của cả món ăn.

- Sai mã thực phẩm: Việc mã hóa thực phẩm để tính giá trị dinh dưỡng có thể bị sai lệch nếu ĐTV sử dụng sai mã thực phẩm. Vì thế, cần tập huấn ĐTV kỹ càng trước khi điều tra thực địa để tránh các sai số này.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình và giám sát viên trong cuộc điều tra hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình. Việc giám sát bao gồm cả giám sát thực địa (kiểm các các bước thực hiện, thu và kiểm tra tính đầy đủ của phiếu ghi kết quả) và giám sát số liệu (kiểm tra mã thực phẩm được điền, số liệu thu thập được và tính logic của số liệu).

7. Tài liệu tham khảo

- Rosalind Gibson. (2005). Chapter 3: Measuring food consumption of individuals. In Principles of Nutritional Assessment. 2nd edition. New York: Oxford University Press.

- Lê Bạch Mai, Lê Danh Tuyên, Đỗ Thị Phương Hà (2017). Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học.

- FAO (2018). Dietary Assessment - A resource guide to method selection and application in low resource settings. <https://www.fao.org/3/i9940en/I9940EN.Pdf>.

PHẦN 1: CÔNG THỨC MÓN ĂN								
			Phương pháp chế biến/Trạng thái chế biến:		Nơi chế biến			
a.	Ngày điều tra:		1=Sống 2=Luộc/Nấu cơm 3=Nấu canh 4=Hấp 5=Hầm 6=Kho 7=Chiên rán	9=Xào 10=Rang 11=Nướng 12=Quay 13=Chần 14=Sốt	1=Ở nhà 2=Ngoài nhà hoặc chuẩn bị bởi người khác 3=Món ăn được chế biến từ ngày hôm trước			
b.	Địa điểm điều tra:							
c.	Mã số đối tượng:	Ngày sinh: / ... /	Giới tính:					
d.	Mã số điều tra viên:							
e.	Tên món ăn cần điều tra công thức:							
f.	Phương pháp chế biến	(quan sát và ghi lại mã số của phương pháp chế biến) :						
g.	Nơi chế biến	(ghi mã nơi chế biến)						
h.	Trọng lượng của xoong, nồi không dùng để nấu (g):							
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
TT	Tên thực phẩm thành phần của món ăn	Chỉ tiết về thực phẩm thành phần	Mã phương pháp/trạng thái chế biến của thực phẩm thành phần	Trọng lượng chảo/lọ/hộp ... và thực phẩm trước khi cho vào chế biến (g)	Trọng lượng chảo/lọ/hộp ... và thực phẩm còn lại sau khi cho vào chế biến (g)	Trọng lượng thực phẩm thành phần (g)	PHÂN BỐ ĐI (VD: dầu) cân sau khi nấu (g)	Mã thực phẩm thành phần
1								
2								
i.	Trọng lượng của xoong, nồi và món ăn sau khi nấu (g)					Nhận xét:		
j.	Trọng lượng của món ăn đã chế biến (g)							
Trang số		Trên tổng số		Giám sát viên:				

Sur

Phụ lục 2

PHẦN 2: LƯỢNG THỰC PHẨM TIÊU THỤ														
a. Ngày điều tra: b. Địa điểm điều tra: c. Mã số đối tượng: d. Mã số điều tra viên: Ngày sinh:/...../..... Giới tính: Phương pháp chế biến/Trạng thái chế biến: Nơi ăn uống														
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
TT	Thời gian bắt đầu tiêu thụ	Tên thực phẩm hoặc món ăn	Mô tả chi tiết về thực phẩm/ món ăn	Mã phương pháp/ trạng thái chế biến	Mã thực phẩm/món ăn	Phần bày ra trước khi ăn			Trọng lượng thực phẩm 1 (g)	Phần còn thừa/thải bỏ		Trọng lượng thực phẩm ăn hết (g)	Thời gian kết thúc ăn uống	
						Trọng lượng đồ vật chứa đựng 1 (g)	Trọng lượng đồ vật chứa đựng và thực phẩm 1 (g)	Trọng lượng đồ vật chứa đựng và thực phẩm 2 (g)		Trọng lượng phần thải bỏ/ phần không ăn hết (g)				
1														
2														
3														
4														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
Nhận xét:												Trang số trong tổng số trang Giám sát viên kiểm tra		

Phụ lục 3:**CÁC THÔNG TIN CHI TIẾT CẦN THU THẬP THEO NHÓM THỰC PHẨM VÀ ĐỒ UỐNG**

- *Thịt*: Loại thịt gì? Thịt ở vị trí nào? Thịt nạc hay thịt mỡ? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- *Cá và hải sản*: Loại cá/hải sản gì? Phần được ăn nằm ở vị trí nào? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- *Gia cầm*: Loại gia cầm gì? Phần được ăn nằm ở vị trí nào? Có da hay không? Có xương hay không? Chế biến như thế nào?

- *Trứng*: Loại trứng gì? Chế biến như thế nào?

- *Đậu đỗ các loại*: Loại đậu đỗ gì? Tươi hay khô? Chế biến như thế nào?

- *Sữa và chế phẩm từ sữa*: Sữa loại gì? Tên thương hiệu là gì? Sữa tươi, sữa cô đặc hay sữa hoàn nguyên? Tỷ lệ phần trăm chất béo bao nhiêu? Sữa có đường/ít đường hay không đường?

- *Rau*: Rau gì? Rau sống hay nấu chín? Chế biến như thế nào?

- *Trái cây*: Trái cây gì? Trái cây tươi, đóng hộp hay sấy khô? Trái cây đã gọt vỏ chưa? Có hạt không? Non hay chín? Ăn cả miếng hay xay nhuyễn?

- *Đồ uống*: Loại gì? Tươi hay đóng hộp? Có gas hay không? Ngọt hay có đường? Có đá hay không đá?

- *Nước trái cây*: Loại nước trái cây nào? Nếu trộn lẫn các loại quả thì những loại quả nào? Có đường hoặc không đường? Bổ sung vi chất không? Có đá hay không đá?

...

- *Gạo*: Gạo loại gì? Xay sát trắng hay còn vỏ cám? Chế biến như thế nào?

- *Khoai củ*: Loại gì? Màu gì? Tươi hay khô? Chế biến như thế nào?

- *Đồ ăn mua ngoài nhà*: Loại gì? Dạng chế biến? Thành phần gồm những gì?

- *Món ăn hỗn hợp*: Thành phần gồm những gì? Phương pháp nấu là gì?

- *Đồ ăn vặt*: Kích thước? Tên thương hiệu?

- *Bánh ngọt*: Tự làm hay đồ thương mại? Nếu tự làm, thành phần gồm những gì? Nếu đồ thương mại, tên thương hiệu, kích thước?

Chú ý: Với một số thực phẩm như xúc xích, giò chả, pate... thì liệt kê như một thực phẩm đơn lẻ. Trong trường hợp đây là thực phẩm do gia đình tự chế biến thì phải khai thác công thức chế biến của món ăn đó và ghi vào phần 1 (phụ lục 1) của phiếu điều tra.

Handwritten signature and initials in blue ink.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 23:
CÂN ĐONG KHẨU PHẦN SUẤT ĂN TẬP THỂ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Hướng dẫn kỹ thuật điều tra khẩu phần suất ăn tập thể bằng phương pháp cân đong trực tiếp. Quy trình này dùng cho 1 bữa ăn, với các đối tượng có đặc điểm đồng nhất.

1.2. Định nghĩa

- Điều tra khẩu phần: quá trình thu thập thông tin về tất cả các thực phẩm, món ăn, đồ uống mà đối tượng tiêu thụ trong 1 khoảng thời gian nhất định.

- Bếp ăn tập thể: một cơ sở chế biến và phục vụ thực phẩm được thiết kế để cung cấp ăn uống cho một nhóm lớn người, thường là trong các tổ chức, doanh nghiệp, cơ quan, trường học, hoặc các tổ chức có số lượng nhân viên, thành viên hoặc học sinh đông đúc.

- Phương pháp cân đong trực tiếp: là phương pháp mà ở đó, điều tra viên sử dụng các phương tiện kỹ thuật dùng để cân đong khối lượng tất cả các loại thực phẩm được tiêu thụ của một người hay một nhóm người trong một thời gian nhất định. Điều tra viên thực hiện cân đong thực phẩm theo các trình tự: trước khi làm sạch, sau khi làm sạch, sau khi nấu chín; trước, trong và sau bữa ăn.

- Cân đong: là một thao tác kỹ thuật thường được sử dụng trong điều tra khẩu phần mà ở đó, điều tra viên sử dụng phương tiện kỹ thuật (cân thực phẩm...) để cân khối lượng của một hay nhiều loại thực phẩm tiêu thụ của một hay một nhóm người.

- Thực phẩm sống sạch: là phần thực phẩm sau khi đã sơ chế để loại bỏ đi những phần không ăn được như: các bộ phận rễ, vỏ, phần thân lá già úa, sâu bệnh...(đối với thực phẩm có nguồn gốc thực vật) hoặc các bộ phận như: lông, da, xương, vẩy, ruột...(đối với thực phẩm có nguồn gốc động vật).

- Thực phẩm sau chế biến tại bếp ăn bán trú: là phần thực phẩm sống sạch đã được chế biến bởi nhân viên bếp tại bếp ăn bán trú để tạo ra món ăn theo yêu cầu của thực đơn.

1.3. Nguyên lý

Mức tiêu thụ lương thực thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của khẩu phần được tính từ lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ. Việc cân đong trực tiếp sẽ tính được lượng thực phẩm, món ăn và đồ uống được đối tượng tiêu thụ trong 24 giờ, từ đó tính được khối lượng từng loại thực phẩm đơn lẻ đã được đối tượng tiêu thụ, tính được giá trị dinh dưỡng của từng thực phẩm đơn lẻ có trong khẩu phần, tính được mức tiêu thụ của từng thực phẩm đơn lẻ, nhóm thực phẩm và giá trị dinh dưỡng của cả khẩu phần.

- Kỹ thuật cân đong thực phẩm suất ăn tập thể sử dụng phương pháp cân đong trực tiếp. Phương pháp này chính xác, chất lượng cao, cho phép đánh giá lượng thực phẩm và chất dinh dưỡng ăn vào của đối tượng. Tuy nhiên phương pháp này được coi là khó khăn, tiêu tốn nhiều thời gian và kinh phí.

- Cân đong bữa ăn bán trú của tại cơ sở giáo dục phổ thông trải qua hai giai đoạn.

+ *Giai đoạn 1 – Cân đong thực phẩm tại bếp ăn*: ĐTV tiến hành cân đong toàn bộ thực phẩm tại thời điểm ngày điều tra với các nội dung: Cân đong trước khi sơ chế, cân đong sau khi sơ chế (thực phẩm sống sạch) và cân đong thực phẩm chế biến.

+ *Giai đoạn 2 – Cân đong suất ăn cá thể*: Đối với mỗi cá thể được điều tra, ĐTV tiến hành cân đong từng thực phẩm có trong từng món ăn đã được chia suất ở thời điểm trước khi ăn; cân đong từng thực phẩm có trong món mà đối tượng ăn thêm tại thời điểm trong ăn và cân đong từng thực phẩm còn lại trong món tại thời điểm kết thúc ăn

Từ viết tắt

- ĐTV: Điều tra viên.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Thực hiện cân đong thực phẩm chế biến tại bếp ăn và lượng thực phẩm thực ăn của 10 suất ăn. Nhân lực thực hiện như sau:

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người cân đong khẩu phần	02	Được tập huấn kỹ thuật điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ bằng phương pháp cân đong trực tiếp, trình độ từ trung cấp trở lên
2	Người phụ trách	01	Nắm vững kỹ thuật, trình độ từ đại học trở lên
3	Người hỗ trợ	01	Trình độ từ trung cấp trở lên

2.2. Vật tư

- Phiếu điều tra:

+ Phiếu cân đong thực phẩm tại bếp ăn trước và sau sơ chế: 1 bộ/điểm điều tra x 5 tờ A4.

+ Phiếu cân đong thực phẩm chế biến: 1 bộ/điểm điều tra x 10 tờ A4 (1 món ăn x 1 tờ).

+ Phiếu cân đong trong suất ăn cá thể: 10 độ/ điểm điều tra x 1 tờ A4.

- Bút bi: 2 cái (1 cái dùng được tối đa 100 lượt đối tượng điều tra).

- Bút lông dầu: 1 cái (1 cái dùng được tối đa 100 lượt đối tượng điều tra).

- Giấy Decal dán nhãn A5, 36mm x 19mm: 15 cái.

- Sổ ghi chép: 2 cuốn.

- Bìa cứng kẹp giấy A4: 2 cái.

- Túi nhựa khổ A4 có khuy bấm: 2 cái.

- Pin tiểu 4 quả.

- Khẩu trang y tế: 2 cái.

- Găng tay cao su không bột talc, dùng để cân đong thực phẩm tại nhà bếp: 2 đôi.

- Găng tay nilon: 4 đôi.

- Bao chân y tế: 2 đôi.

- Mũ trùm đầu y tế: 2 cái.
- Áo blouse trắng: 2 cái.
- Cân điện tử 5 kg, độ sai số cho phép 1g: 1 cái.
- Cân 60 kg, độ sai số 100g: 1 cái.

Lưu ý: dụng cụ chứa đựng thực phẩm, bát, đĩa, thìa,...sẽ sử dụng sẵn có tại địa điểm điều tra.

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

Thực hiện cân đong thực phẩm chế biến tại bếp ăn và lượng thực phẩm thực ăn của 10 suất ăn. Thời gian thực hiện như sau:

STT	Nhân lực	Nội dung	Thời gian
1	Người cân đong khẩu phần	Thực hiện cân đong trực tiếp công thức chế biến món ăn tại bếp ăn và lượng thực phẩm thực ăn	5 giờ
2	Người phụ trách	Quản lý, kiểm tra, giám sát việc thực hiện	6 phút
3	Người hỗ trợ	Hỗ trợ các công việc hậu cần, hành chính để thực hiện điều tra	6 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại các bếp ăn tập thể do đơn vị quản lý quy định.

3. An toàn

- Quy trình này chỉ cân đong thực phẩm và các suất ăn, không có nguy cơ gây mất an toàn, không có tác động trực tiếp vào người đối tượng.

- Điều tra viên đeo khẩu trang, găng tay nhà bếp, đi ủng, đội mũ chụp đầu trong suốt quá trình cân đong tại bếp ăn.

- Kiểm tra cân đảm bảo về 0 trước mỗi lần cân.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Cân đong thực phẩm tại bếp ăn

4.1.1.1. Thu thập thông tin thực đơn của ngày điều tra

Liên hệ trước với quản lý bếp để thu thập các thông tin liên quan đến bữa ăn được điều tra, bao gồm: khung thực đơn, phiếu kê chợ, phiếu nhập thực phẩm, sổ suất ăn sẽ chế biến, công thức chế biến các món ăn với trọng lượng từ thực phẩm thành phần theo kế hoạch.

4.1.1.2. Cân đong thực phẩm tại bếp ăn

Phần ghi công thức món ăn (phụ lục 1) được dùng để ghi lại tất cả các thực phẩm thành phần và khối lượng trong mỗi món ăn được chế biến tại bếp ăn tập thể trong quá trình cân đong, mỗi món ăn được viết vào một tờ riêng. Điều tra công thức món ăn được

thực hiện với tất cả các món ăn có nhiều hơn một thành phần kể cả nước, bao gồm cả các thức ăn đã nấu đơn giản (ví dụ như cơm, rau luộc...) hoặc thực phẩm sống (ví dụ như sinh tố trái cây, salad sống). Chi tiết cách thực hiện như sau:

Bước 1: Cân đong thực phẩm trước khi sơ chế

- Sử dụng cân loại 60 kg kết hợp với cân loại 5 kg để cân. Đặt cân ở vị trí bằng phẳng, chắc chắn, khô ráo trước khi cân, hạn chế tối đa sai số và rơi đổ thực phẩm trong quá trình cân.

- Cân và ghi vào phiếu tên và khối lượng thực các từng loại thực phẩm được tiếp nhận để chế biến món ăn. Chú ý trừ bì để có được khối lượng thực của các thức phẩm trước khi sơ chế.

+ Với các thực phẩm không tiếp nhận vào ngày điều tra mà đã có sẵn tại bếp ăn như khoai củ, bí ngô, đồ khô (hành củ, mỳ sợi....), thực hiện cân như các loại thực phẩm được tiếp nhận.

+ Với các loại thực phẩm cần có nước trong quá trình vận chuyển đến nơi tiếp nhận (tôm, cá...), cần đảm bảo thực phẩm trước khi cân đã được để ráo nước.

- Ví dụ điền phiếu:

+ *Cột 1 - thứ tự*: Đánh số thứ tự các thực phẩm theo trật tự được chuẩn bị.

+ *Cột 2 - Tên thực phẩm*: Ghi tên các loại thực phẩm được sử dụng để chế biến món ăn. Các loại thực phẩm này phải được phải được ghi rõ đúng như hình thái lúc được tiếp nhận hoặc lấy từ kho. VD: gà công nghiệp đã giết mổ (bỏ đầu, chân, nội tạng), thịt lợn nạc vai...

+ *Cột 3 - Khối lượng trước sơ chế*: Ghi rõ khối lượng của từng loại thực phẩm tương ứng với cột "Tên thực phẩm".

+ *Cột 4 - Cách thức sơ chế*: Ghi rõ cách thức dùng để sơ chế thực phẩm trước khi dùng để chế biến món ăn. Trường hợp không sơ chế thì ghi là "không".

Bước 2: Cân đong thực phẩm sau khi sơ chế

- Sử dụng cân loại 60 kg kết hợp với cân loại 5 kg để cân. Đặt cân ở vị trí bằng phẳng, chắc chắn, khô ráo trước khi cân, hạn chế tối đa sai số và rơi đổ thực phẩm trong quá trình cân.

- Cân và ghi vào phiếu tên và khối lượng từng loại thực phẩm sau khi sơ chế, làm sạch để sử dụng cho chế biến món ăn. Cần đảm bảo thực phẩm sau sơ chế phải được làm sạch và để ráo nước trước khi cân. Chú ý trừ bì để có được khối lượng thực của các thức phẩm sau khi sơ chế.

+ Đối với các loại rau lá, cân và ghi lại khối lượng ngay sau khi làm sạch, trước khi rửa để có kết quả chính xác nhất.

+ Với các loại thực phẩm không cần sơ chế, khối lượng sau sơ chế = khối lượng trước khi sơ chế.

- Ví dụ điền phiếu:

PHIẾU CÂN ĐONG THỰC PHẨM TRƯỚC VÀ SAU SƠ CHẾ								
a. Tên trường: _____			Số tờ _____ / Tổng số tờ _____					
b. Ngày điều tra: ____ / ____ / ____								
c. Điều tra viên: _____								
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Stt	Tên thực phẩm (ghi rõ loại)	Khối lượng trước khi sơ chế (g)	Cách thức sơ chế	Khối lượng sau khi sơ chế (g)	Khối lượng thải bỏ (g)	Khối lượng vật chứa đựng (g)	Mã thực phẩm	Ghi chú
1	Thịt lợn nạc vai	12000	Bỏ bì	11500	500	700		
2	Tôm nõn	5000	Không	5000	0	500		
3	Rau cải xanh	4500	Loại bỏ rễ, lá già úa	3200	1300	500		
4	Bí ngô	8000	Gọt vỏ, bỏ ruột	4500	3500	500		
5	Trứng gà CN	1200	Bỏ vỏ	1050	150	350		
6	Hành lá	1000	Bỏ rễ, lá già	800	200	0		
7	Gà CN đã giết mổ (bỏ đầu, chân, nội tạng)	15300	Rửa sạch, luộc chín rồi gỡ bỏ xương	7350	5250	650		Khối lượng sau sơ chế là khối lượng chín

Hình 1: Ví dụ cân đong thực phẩm trước và sau sơ chế

+ **Cột 5 - Khối lượng sau khi sơ chế:** Ghi rõ khối lượng của từng loại thực phẩm tương ứng với cột “Tên thực phẩm” sau khi đã sơ chế, loại bỏ những phần không được sử dụng để chế biến món ăn. Trường hợp thực phẩm phải qua xử lý nhiệt rồi mới sơ chế để loại bỏ những phần không ăn được trước khi dùng chế biến món ăn, ghi chú thích vào cột 9 trạng thái của thực phẩm sau sơ chế.

+ **Cột 6 - Khối lượng thải bỏ:** Là khối lượng của phần đã được loại bỏ khi sơ chế thực phẩm. Thông thường, $\text{Khối lượng thải bỏ} = \text{Khối lượng trước sơ chế} - \text{Khối lượng sau sơ chế}$. Tuy nhiên, với một số trường hợp có sự khác biệt do yêu cầu của món ăn, nếu món ăn sử dụng nguyên liệu đã qua xử lý nhiệt thì phần thải bỏ cần phải tính cả khối lượng không sử dụng để chế biến món. VD: “gà luộc gỡ bỏ xương” thì phần thải bỏ phải tính cả phần xương đã bị gỡ bỏ.

+ **Cột 7 - Khối lượng vật chứa đựng:** Ghi rõ khối lượng của vật chứa đựng của thực phẩm sau sơ chế để sử dụng tính khối lượng thực tế của thực phẩm sau sơ chế. Trường hợp ĐTV cân đong được khối lượng thực tế của thực phẩm sau sơ chế thì mục này ghi là 0.

+ **Cột 8 - Mã thực phẩm:** Dành cho người quy đổi số liệu, ĐTV không cần ghi mục này.

+ **Cột 9 - Ghi chú:** ghi lại những lưu ý hoặc diễn giải cụ thể về thực phẩm trong quá trình trước và sau sơ chế.

Bước 3: Cân khối lượng thực phẩm chế biến.

Đối với mỗi món ăn được chế biến, thực hiện cân tất cả các thực phẩm nguyên liệu thành phần được sử dụng để chế biến món ăn kể cả nước. Phụ lục 2 – cân đong thực phẩm chế biến được sử dụng để ghi kết quả cân. Cần lưu ý thay gắng tay khi cân các món ăn đã chế biến. Cách thực hiện với mỗi món ăn như sau:

- Liệt kê các thực phẩm thành phần sẽ được sử dụng để chế biến món ăn (cột 2).

- Cân (nếu cần) và ghi khối lượng thực phẩm trước khi chế biến với mỗi loại thực phẩm tương ứng với tên thực phẩm (cột 3):

+ Với các loại thực phẩm chỉ sử dụng để chế biến 1 món duy nhất, khối lượng thực phẩm trước khi chế biến = khối lượng thực phẩm sau sơ chế (bước 2).

+ Với các loại thực phẩm được sử dụng để chế biến từ 2 món trở lên, đề nghị người nấu lấy riêng lượng thực phẩm sẽ dùng để chế biến món ăn, cân và ghi lại khối lượng.

+ Với các loại dầu, mỡ, gia vị dùng để chế biến, cân toàn bộ khối lượng trước khi chế biến (bao gồm cả bì chứa đựng).

- Theo dõi quá trình, chế biến món ăn. Cân (nếu cần) và ghi lại khối lượng thực phẩm sử dụng để chế biến món ăn (cột 4).

+ Nếu sử dụng hết thực phẩm đã chuẩn bị để chế biến món ăn, không lượng cột 4 = khối lượng ở cột 3.

+ Nếu không sử dụng hết (để thừa lại), cân và ghi lại lượng không sử dụng hết (cột 8). Khối lượng thực phẩm sử dụng để chế biến món ăn = khối lượng ở cột 3 – khối lượng ở cột 8.

+ Với các loại dầu/mỡ, gia vị dùng để nấu, cân loại toàn bộ khối lượng (kể cả bì chứa đựng) sau khi chế biến món ăn. Khối lượng dầu, mỡ, gia vị được sử dụng để chế biến món ăn = khối lượng cột 3 - khối lượng sau khi chế biến.

- Cân và ghi lại tổng khối lượng của cả món ăn sau khi chế biến (cột 7). Khối lượng món ăn ghi lại là phần đã được trừ khối lượng dụng cụ chứa đựng. Khối lượng này bao gồm cả phần nước sử dụng thêm trong quá trình chế biến đối với các món ăn hỗn hợp không tách được thành phần của món.

- Cân và ghi lại khối lượng phần dầu mỡ còn thừa lại trong chảo/ xoong/nồi sau khi chế biến các món chiên/xào/rán... (cột 8).

- Trường hợp món ăn không được chia hết vào các suất ăn ở giai đoạn 2, khối lượng phần không chia hết sẽ được ghi vào cột “KL món còn lại sau khi chia suất” (cột 9).

- Ghi lại những lưu ý hoặc diễn giải cụ thể về thực phẩm trong quá trình chế biến món ăn (cột 10).

PHIẾU CẢN ĐONG THỰC PHẨM CHẾ BIẾN

TÊN MÓN ĂN: Trứng đúc thịt Phương pháp chế biến: Rán Số tờ / Tổng số tờ

Mô tả cách tạo món: Băm nhỏ, trộn đều d. Số lượng suất ăn:

a. Tên trường: _____ e. KL vật chứa đựng môn sau khi chế biến: _____ (g)

b. Ngày điều tra: / / g. KL nước sử dụng để chế biến: 0 (g)

c. Tên điều tra viên: _____ h. KL dầu/mỡ thừa tại dụng cụ nấu sau chiên rán: 30 (g)

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
Stt	Tên thực phẩm thành phần của món	KL thực phẩm trước khi chế biến (g)	KL thực phẩm sử dụng để chế biến (g)	KL thực phẩm sử dụng thêm trong chế biến (g)	KL thực phẩm còn lại sau chế biến (g)	KL món sau khi chế biến (g)	KL món còn lại sau khi chia suất (g)	Mã thực phẩm	Ghi chú
1	Trứng gà ta	800	800	0	0	2700	350		
2	Thịt lợn nạc vai	1500	1500	0	0				
3	Nấm hương	100	80	0	20				
4	Hành lá	50	30	0	20				
5	Dầu ăn Simply	2000	200	50	1750				
6	Nước mắm Nam ngư	500	50	0	450				
7	Hạt nêm Aji	450	30	0	420				
8	Bột canh Vifon	200	20	0	180				

Hình 2: Ví dụ về cân bằng thực phẩm chế biến tại bếp ăn

Bước 4: Hoàn thiện phiếu, thu dọn dụng cụ

- Sau khi thu thập số liệu về thực phẩm tại bếp ăn qua 3 bước ở trên kết thúc, ĐTV kiểm tra lại phiếu để đảm bảo thông tin trên phiếu cần đã được điền đầy đủ, chính xác, không bỏ sót hoặc điền không đúng quy định.

- Kiểm đếm lại dụng cụ; sử dụng khăn mềm và/hoặc chất tẩy rửa lau sạch cân và tiến hành niêm cất, sử dụng cho các lần sau.

4.1.2. Cân đong suất ăn cá thể

4.1.2.1. Bước 1 - Chuẩn bị khu vực cân đong

- Chọn khu vực riêng cho các đối tượng được cân đong khẩu phần suất ăn bán trú. Nhóm đối tượng được cân đong cần được ngồi riêng tại một khu vực nhất định để thuận tiện cho việc cân đong. Khoảng cách các chỗ ngồi đủ rộng để hạn chế tối đa sự nhầm lẫn thực phẩm trước, trong và sau khi ăn.

- Tiến hành dán các nhãn, đánh số/ghi tên tại mỗi khay ăn tương ứng với mỗi đối tượng tham gia điều tra cân đo.

Sau khi các suất ăn được chuẩn bị xong tại các vị trí đã dán nhãn, thực hiện cân đong suất ăn trước, trong và sau khi ăn. Quy trình này thực hiện cân đong với 10 đối tượng tham gia. Sử dụng cân thực phẩm với độ chính xác 1g để cân, sử dụng mẫu phiếu cân đong suất ăn cá thể (phụ lục 3) để ghi kết quả, số liệu của mỗi đối tượng được ghi vào một phiếu. Điều tra viên cần đeo găng tay thực phẩm, đảm bảo vệ sinh trong suốt quá trình thực hiện.

4.1.2.2. Bước 2 - Cân đong trước khi ăn

- Điền thông tin chung của đối tượng vào phần trên của phiếu.

- Ghi thời gian bắt đầu ăn (cột 1).

- Ghi tên của từng thực phẩm, món ăn (cột 2) và các loại thực phẩm cấu thành lên món ăn (cột 3). Đặc biệt chú ý ghi rõ tên thương hiệu, liệt kê các thành phần chính với các thực phẩm chế biến sẵn.

- Cân từng loại thực phẩm, món ăn riêng biệt và ghi lại khối lượng (tính theo gam) của mỗi loại vào phiếu (cột 4). Cần thực hiện nhanh, gọn gàng, sạch sẽ để không làm nguội và đảm bảo tính thẩm mỹ của suất ăn như lúc chia ban đầu.

+ Đối với các món ăn hỗn hợp mà tách riêng được (món ăn phức không đồng nhất) từng thành phần thực phẩm (canh ngót nấu xương, canh khoai nấu sườn, canh bí nấu tôm nõn...), thực hiện cân riêng các loại thực phẩm ăn được có trong món ăn của học sinh, không cân phần nước canh.

+ Đối với các món ăn hỗn hợp mà không tách được (món ăn phức đồng nhất) các thành phần thực phẩm (súp, canh cua rau đay, cháo...), cân cả phần hỗn hợp và ghi kết quả vào phiếu.

+ Đối với các loại thực phẩm đã được định lượng theo tiêu chuẩn nhà sản xuất (hộp sữa, sữa chua, bánh mì ruốc đóng gói...), chỉ cần cân 1 lần lúc đầu (chung cho tất cả các suất).

4.1.2.3. Bước 3 - Phổ biến quy định ngay trước khi ăn và cân đong trong khi ăn

- Phổ biến quy định trước khi ăn:

+ Hướng dẫn đối tượng ngồi đúng vị trí, không được đổi vị trí của nhau. Trong trường hợp đổi vị trí, cần báo trước cho ĐTV để ghi lại nhãn tên tương ứng với vị trí ngồi mới.

+ Trong suốt quá trình ăn, đối tượng không được đổi đồ ăn, không được ăn phần ăn của người khác.

+ Nếu có yêu cầu ăn thêm, phải báo cho ĐTV để cân phần ăn thêm.

+ Tất cả phần thực phẩm không ăn được (xương, vỏ trái cây...) cần được để lại trên bàn ăn ngay tại vị trí ngồi, không được vứt bỏ xuống sàn nhà.

+ Để nguyên phần thực phẩm không ăn hết (còn thừa) tại khay ăn. Không được đổ dồn hoặc trộn lẫn.

- Cân và ghi lại khối lượng thực phẩm/món ăn ăn thêm (nếu có) vào cột 5. Trường hợp không ăn thêm, ghi số "0".

- Phần không ăn được và phần không ăn hết được giữ nguyên trong khay và tại bàn ăn để được cân đong ở bước sau.

4.1.2.4. Bước 4 - Cân đong sau khi ăn

- Sau khi đối tượng ăn xong và dời khỏi bàn ăn, thực hiện cân và ghi lại khối lượng các loại thực phẩm không ăn hết và phần không ăn được (cột 6).

+ Trường hợp món ăn có cả phần không ăn được và phần không ăn hết, cân cả hai phần này và ghi kết quả cộng dồn.

+ Trường hợp ăn hết, ghi số "0".

- Đối với các món ăn hỗn hợp mà tách riêng được từng thành phần của phần không ăn hết, cân riêng từng thành phần còn lại có trong món ăn, không cân phần nước canh.

- Đối với các món ăn hỗn hợp mà không tách được các thành phần của phần không ăn hết, cân phần hỗn hợp còn lại.

4.1.2.5. Bước 5 - Hoàn thiện phiếu, thu dọn dụng cụ

- Sau khi thu thập số liệu về suất ăn cá thể qua 4 bước ở trên kết thúc, ĐTV kiểm tra lại phiếu để đảm bảo thông tin trên phiếu cần đã được điền đầy đủ, chính xác, không bỏ sót hoặc điền không đúng quy định.

- Kiểm đếm lại dụng cụ; sử dụng khăn mềm và/hoặc chất tẩy rửa lau sạch cân và tiến hành niêm cất, sử dụng cho các lần sau.

4.2. Nhận định kết quả

- Cân đong khẩu phần suất ăn cá thể được thực hiện đúng quy trình, thu thập đủ các công thức bao gồm thông tin chung, thông tin về công thức chế biến món ăn, thông tin về lượng thực phẩm của mỗi suất ăn được cung cấp là thực tế được đối tượng tiêu thụ.

- Phiếu ghi kết quả cân đong khẩu phần suất ăn cá thể sẽ được xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra để tính lượng thực phẩm tiêu thụ và giá trị dinh dưỡng của suất ăn và của khẩu phần.

- Đánh giá mức tiêu thụ lương thực thực phẩm bằng cách so với khuyến cáo trong các tháp dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam phù hợp với lứa tuổi hoặc tùy theo mục đích nghiên cứu đề ra.

- Đánh giá giá trị dinh dưỡng của khẩu phần, mức đáp ứng nhu cầu khuyến nghị của suất ăn và khẩu phần bằng cách so sánh với nhu cầu khuyến nghị về năng lượng và các chất dinh dưỡng cho người Việt Nam theo lứa tuổi, giới tính và tình trạng sinh lý. Ngoài ra có thể đánh giá chất lượng của suất ăn và khẩu phần theo theo mục đích nghiên cứu đề ra.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Phiếu ghi kết quả cân đong suất ăn thập thể sẽ xử lý, quy đổi sau khi kết thúc điều tra nên việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi kết thúc điều tra.

- Phiếu điều tra được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và cách xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: không có

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Món ăn được chuẩn bị từ các ngày trước hoặc có loại thực phẩm được chuẩn bị từ các ngày trước: ĐTV dựa vào thực đơn hàng tháng/hàng tuần, phiếu đi chợ hoặc hóa đơn mua thực phẩm của từng ngày và việc nhớ lại của người chế biến để ghi lại các thành phần, trọng lượng thực phẩm thành phần, tổng trọng lượng của món ăn (có thể căn cứ vào món ăn điều tra được công thức có phương pháp chế biến tương tự) và phương pháp chế biến đã được sử dụng.

- Món ăn được chế biến tại nơi khác: Ghi ở phần 2 của phiếu điều tra (phụ lục 2), ĐTV cần mô tả càng chi tiết càng tốt về món ăn này: các thực phẩm thành phần có trong món ăn, nơi ăn/mua, địa điểm bán, giá tiền... Người nghiên cứu dựa vào thông tin chi tiết của món ăn để điều tra, thu thập hoặc xây dựng công thức chế biến của món ăn này, sử dụng để tính toán lượng thực phẩm được đối tượng tiêu thụ.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Rosalind Gibson. (2005). Chapter 3: Measuring food consumption of individuals. In Principles of Nutritional Assessment. 2nd edition. New York: Oxford University Press.

- Lê Bạch Mai, Lê Danh Tuyên, Đỗ Thị Phương Hà. Các phương pháp điều tra và đánh giá khẩu phần. Nhà xuất bản Y học: Hà Nội.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ

Phụ lục 1:

PHIẾU CÂN ĐONG THỰC PHẨM TRƯỚC VÀ SAU SƠ CHẾ

a. Tên trường: _____		Số tờ _____ / Tổng số tờ _____	
b. Ngày điều tra: ____ / ____ / ____			
c. Điều tra viên: _____			

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
Stt	Tên thực phẩm (ghi rõ loại)	Khối lượng trước khí sơ chế (g)	Cách thức sơ chế	Khối lượng sau khí sơ chế (g)	Khối lượng thải bỏ (g)	Khối lượng vật chứa đựng (g)	Mã thực phẩm	Ghi chú

Handwritten signature and initials in blue ink.

TÊN MÓN ĂN: _____		Phương pháp chế biến: _____		Số tờ _____ / Tổng số tờ _____	
Mô tả cách tạo món: _____		d. Số lượng suất ăn: _____			
a. Tên trường: _____		e. KL vật chứa đựng món sau khi chế biến: _____ (g)			
b. Ngày điều tra: ____ / ____ / ____		g. KL nước sử dụng để chế biến: _____ (g)			
c. Tên điều tra viên: _____		h. KL dầu/mỡ thừa tại dụng cụ nấu sau chiên rán: _____ (g)			

Phụ lục 3:

a. Tên trưởng: _____ Lớp: _____ Số tờ _____ / Tổng số _____
b. Ngày điều tra: ____ / ____ / ____
c. Họ tên học sinh: _____ Ngày sinh: ____ / ____ / ____ Giới: _____
d. Mã số học sinh: _____
e. Điều tra viên: _____

[illegible]

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 24:

HƯỚNG DẪN THỰC HÀNH CHẾ BIẾN BỮA ĂN HỢP LÝ CHO NGƯỜI LỚN

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Hướng dẫn người bệnh, người chăm sóc, người có nhu cầu chế biến bữa súp hoặc cháo hoặc cơm cân đối, đủ dinh dưỡng, phù hợp với tình trạng sức khỏe hiện tại.

1.2. Định nghĩa

1.2.1. Bữa ăn hợp lý

Bữa ăn hợp lý là bữa ăn có sự phối hợp giữa các loại thực phẩm để cung cấp đầy đủ các chất dinh dưỡng phù hợp với từng đối tượng.

1.2.2. Hệ thống chuyển đổi thực phẩm

- Hệ thống chuyển đổi thực phẩm được xây dựng trên cơ sở nhóm các thực phẩm có giá trị năng lượng hoặc số lượng các chất sinh nhiệt tương đương vào cùng một nhóm. Vì vậy các thực phẩm trong cùng một nhóm có thể chuyển đổi cho nhau để có giá trị dinh dưỡng tương đương nhau.

- Nhóm ngũ cốc, khoai củ và các sản phẩm chế biến: gồm ngũ cốc, khoai củ và các sản phẩm chế biến, đây là nhóm thực phẩm cung cấp tinh bột. Nhóm này cung cấp năng lượng chủ yếu trong khẩu phần (thường từ 50-60% tổng năng lượng khẩu phần). Đối với những người cần tăng cường chất xơ trong chế độ ăn, nên ăn các loại ngũ cốc xay xát dối để có nhiều chất xơ như gạo lứt hoặc gạo lật nảy mầm...

- Nhóm hạt, quả giàu đạm và các sản phẩm chế biến: gồm các loại đậu, lạc vùng có nhiều chất đạm. Đậu nành có giá trị dinh dưỡng cao, có thể chế biến nhiều loại thức ăn như sữa đậu nành, đậu phụ, tương... vừa giàu đạm lại có nhiều acid béo không no. Lạc, vùng cũng là nguồn cung cấp chất béo cho bữa ăn. Đây là nhóm cung cấp chất đạm chủ yếu cho những người ăn chay.

- Nhóm rau, củ, quả dùng làm rau: đây là nguồn cung cấp vitamin, chất khoáng và chất xơ quan trọng cho cơ thể. Nên chọn rau, củ, quả tươi, theo mùa, không ăn rau quả khô, hoặc bảo quản lâu vì sẽ mất các vitamin chứa trong rau quả. Nên ăn đa dạng, phối hợp các loại rau quả và thay đổi trong tuần. Người trưởng thành nên sử dụng 3 - 4 đơn vị ăn rau củ quả mỗi ngày (mỗi đơn vị tương đương 80g thực phẩm). Nên phối hợp nhiều loại rau củ quả trong một bữa ăn.

- Nhóm quả chín: đây là nguồn cung cấp vitamin và chất khoáng rất phong phú. Các loại quả có hàm lượng đường thấp và chất xơ cao như giøi, ổi, bưởi tốt cho tiêu hóa và cho người bệnh cần tăng cường chất xơ. Nhóm hoa quả có hàm lượng đường cao như chuối tiêu, mít, sầu riềng, quả trứng gà người bệnh đái tháo đường nên hạn chế.

- Nhóm dầu ăn, mỡ, bơ: bao gồm dầu thực vật, mỡ động vật các sản phẩm từ dầu mỡ như bơ, pho mai chứa nhiều chất béo, đây là nguồn cung cấp chất béo và là dung môi hòa tan các loại vitamin tan trong dầu như vitamin A, D, E, K.

- Nhóm thịt các loại, cá và hải sản: đây là nguồn cung cấp chất đạm, là các thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, chứa nhiều acid amin giá trị cao, ở tỷ lệ cân đối. Đặc biệt nhóm thực phẩm này có chứa nhiều sắt ở dạng dễ hấp thu. Tùy vào tình trạng bệnh

Handwritten signature and initials in blue ink.

lý mà có thể chọn thịt nạc, thịt ít béo hay nhiều béo. Cá và hải sản là loại thức ăn dễ tiêu hóa, có giá trị dinh dưỡng cao, có nhiều acid amin và acid béo không no cần thiết.

- Nhóm trứng và các sản phẩm từ trứng: thuộc nhóm cung cấp chất đạm cho bữa ăn. Trứng là thức ăn có giá trị dinh dưỡng cao, đạm trứng dễ tiêu hóa và hấp thu, có thể sử dụng xen kẽ với nhóm cung cấp chất đạm khác. Ngoài ra, trứng còn cung cấp các vitamin A, B1, B2 và các chất khoáng. Trứng là nguồn chất đạm cho bữa ăn đơn giản, giá thành rẻ và dễ tìm.

- Nhóm sữa các loại và các sản phẩm từ sữa (sữa chua, váng sữa): Sữa là thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao. Với những người bệnh không ăn đủ năng lượng nên uống thêm sữa để bổ sung dinh dưỡng vừa tiện lợi vừa đủ chất.

1.2.3. Đơn vị chuyển đổi thực phẩm

- Đơn vị chuyển đổi thực phẩm là số lượng glucid, lipid, protid, năng lượng qui ước cho một khẩu phần chuyển đổi của từng nhóm thực phẩm.

- 1 đơn vị chuyển đổi gạo chứa 20g glucid có thể chuyển đổi thực phẩm dưới dạng sống sạch đã thái bỏ như sau:

- + Gạo tẻ 26g;
- + Bún 80g;
- + Bánh phở tươi 60g;
- + Bánh mỳ 38g;
- + Củ sắn 60g;
- + Khoai lang, khoai sọ 80g...

- 1 đơn vị chuyển đổi thịt chứa 7g protein có thể chuyển đổi thực phẩm dưới dạng sống sạch đã thái bỏ như sau:

- + Thịt lợn nạc, thịt bò nạc 35g;
- + Ruốc thịt lợn 15g;
- + Giò lụa 33g;
- + Cá trắm 40g;
- + Tôm đồng 40g;
- + Trứng gà 47g;
- + Trứng vịt 54g;
- + Ốc 60g;
- + Đậu phụ 65g...

- 1 đơn vị chuyển đổi dầu mỡ 5g có thể thay thế như sau:

- + Dầu thực vật 5g;
- + Mỡ lợn 5g;
- + Lạc, vừng 8g;

- 1 đơn vị chuyển đổi rau chứa 4g glucid có thể chuyển đổi thực phẩm dưới dạng sống sạch đã thái bỏ như sau:

- + Cải bắp 90g;
- + Giá đỗ 60g;
- + Rau dền 60g;
- + Hành tây 60g;
- + Rau ngót 70g;
- + Rau muống 110g...

- 1 đơn vị chuyển đổi quả chín chứa 10g glucid có thể chuyển đổi thực phẩm dưới dạng sống sạch đã thái bỏ như sau:

- + Táo tây 100g;
- + Quýt 150g;
- + Cam 150g;
- + Lê 110g;
- + Đu đủ chín 150g;
- + Dứa 160g...

- 1 đơn vị chuyển đổi sữa cung cấp 100gm canxi có thể thay thế như sau:

- + 1 miếng phô mai 15g;
- + 1 hộp sữa chua 100g;
- + 1 cốc sữa dạng lỏng 100 ml;
- + 1g muối có thể thay thế như sau:
- + 1,5g bột canh;
- + 2,2g bột nêm;
- + 5 ml nước mắm;
- + 7 ml xì dầu.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Stt	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên giảng lý thuyết (Bác sĩ hoặc Dinh dưỡng viên)	1	Trình độ đại học trở lên.
2	Nhân viên hướng dẫn thực hành chính (Dinh dưỡng viên)	1	Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật hướng dẫn chế biến. Trình độ đại học trở lên.

Handwritten signatures in blue ink.

3	Nhân viên hướng dẫn thực hành trợ giúp (Dinh dưỡng viên hoặc Điều dưỡng, hoặc Kỹ thuật viên)	1	Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật hướng dẫn chế biến. Trình độ trung cấp trở lên.
4	Nhân viên đón tiếp (Dinh dưỡng viên hoặc Điều dưỡng, hoặc Kỹ thuật viên)	1	Trình độ trung cấp trở lên.
5	Nhân viên thu ngân (Kế toán)	1	Trình độ trung cấp trở lên.

2.2. Vật tư, công cụ dụng cụ

2.2.1. Vật tư trực tiếp

- Thực phẩm cần thiết chuẩn bị cho buổi hướng dẫn thực hành chế biến: thịt, cá, rau, quả, dầu mỡ...
- Bút bi: 2 cái
- Giấy A4: 3 tờ
- Bút chì giảng bài: 1 cái
- Ô điện: 1 cái
- Quyển ảnh dùng trong điều tra khẩu phần: 1 quyển
- Bếp từ: 1 cái
- Nồi nấu các loại: 1 bộ.
- Chảo: 1 bộ.
- Thớt thái thực phẩm sống: 1 cái.
- Thớt thái thực phẩm chín: 1 cái.
- Dao các loại: 1 bộ.
- Cân thực phẩm mini nhà bếp: 1 cái.
- khay đựng thực phẩm: 4 cái.
- Rổ kèm chậu rửa: 1 bộ.
- Bát tô: 1 bộ.
- Đĩa các loại: 1 bộ.
- Bát các loại: 1 bộ.
- Thìa các loại: 1 bộ.
- Đũa: 20 đôi.
- Rây lọc các loại: 3 cái các kích cỡ.

- Cối: 1 cái.
- Cốc chia vạch các mức: 1 bộ (4 cái).
- Thùng đựng rác thải sinh hoạt: 1 cái.
- Hộp đựng gia vị các loại: 1 bộ.
- Máy xay đa năng: 1 cái.
- Tạp dề: 2 chiếc.
- Mũ đầu bếp: 2 cái.
- Bộ quần áo bảo hộ y tế: 4 bộ.

2.2.2. Công cụ dụng cụ

- Máy tính: 1 bộ
- Máy chiếu: 1 cái.
- Tủ lạnh bảo quản thực phẩm: 1 cái.
- Hộp bảo quản thực phẩm dùng cho tủ lạnh: 1 bộ.
- Bàn dài đựng thực phẩm chế biến: 1 cái.
- Nồi cơm điện: 1 cái.
- Phòng đủ rộng. Ghế nhựa cho người bệnh, người chăm sóc ngồi: 20 cái.
- Đèn chiếu sáng: 2 cái.

2.3. Thiết bị

Hệ thống bếp từ: 1 cái.

2.4. Chuẩn bị thực phẩm cho buổi hướng dẫn thực hành

Chuẩn bị thực phẩm đa dạng, phù hợp, đủ dùng phù hợp với nội dung từng buổi hướng dẫn.

2.5. phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

Stt	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (phút)
1	Nhân viên đón tiếp	Đón tiếp, sắp xếp ổn định vị trí đối tượng tham gia buổi thực hành.	20
2	Nhân viên thu ngân	Thu tiền	20
3	Nhân viên giảng lý thuyết	Chào hỏi, giới thiệu mục đích buổi thực hành dinh dưỡng Giảng lý thuyết	60

Handwritten signatures:

4	Nhân viên hướng dẫn thực hành chính, nhân viên hướng dẫn thực hành trợ giúp	Thực hành tiết chế dinh dưỡng	120
5	Nhân viên giảng lý thuyết hoặc nhân viên hướng dẫn thực hành chính	Giải đáp thắc mắc	15
6	Nhân viên đón tiếp	Hướng dẫn người bệnh/người chăm sóc ra về	5
Tổng thời gian thực hiện			240

2.6. Địa điểm thực hiện

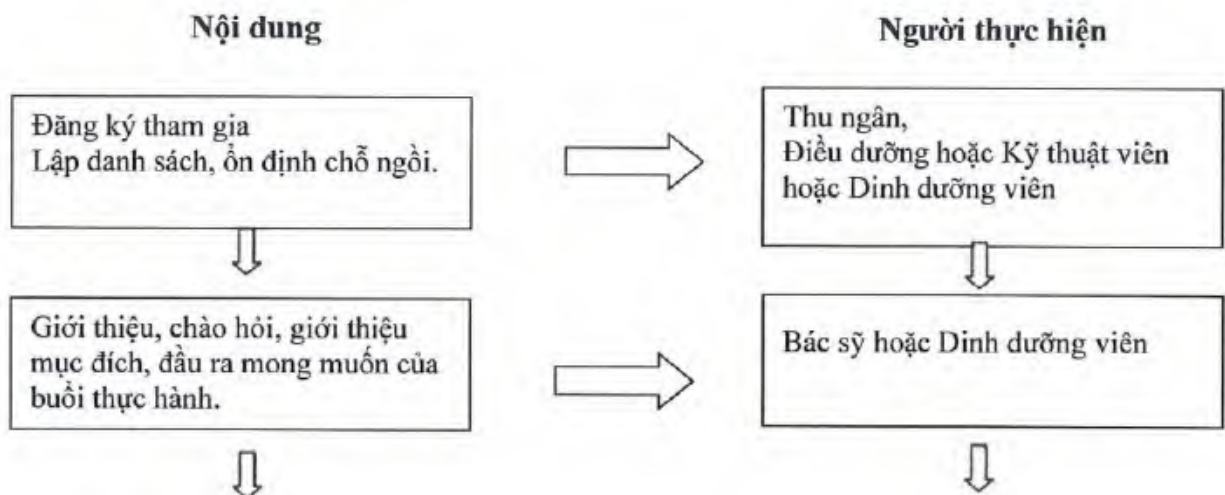
Quy trình này được thực hiện tại các Khoa, Phòng khám tư vấn dinh dưỡng người lớn, và các cơ sở đủ điều kiện thực hiện hoạt động hướng dẫn thực hành chế biến bữa ăn hợp lý cho người lớn.

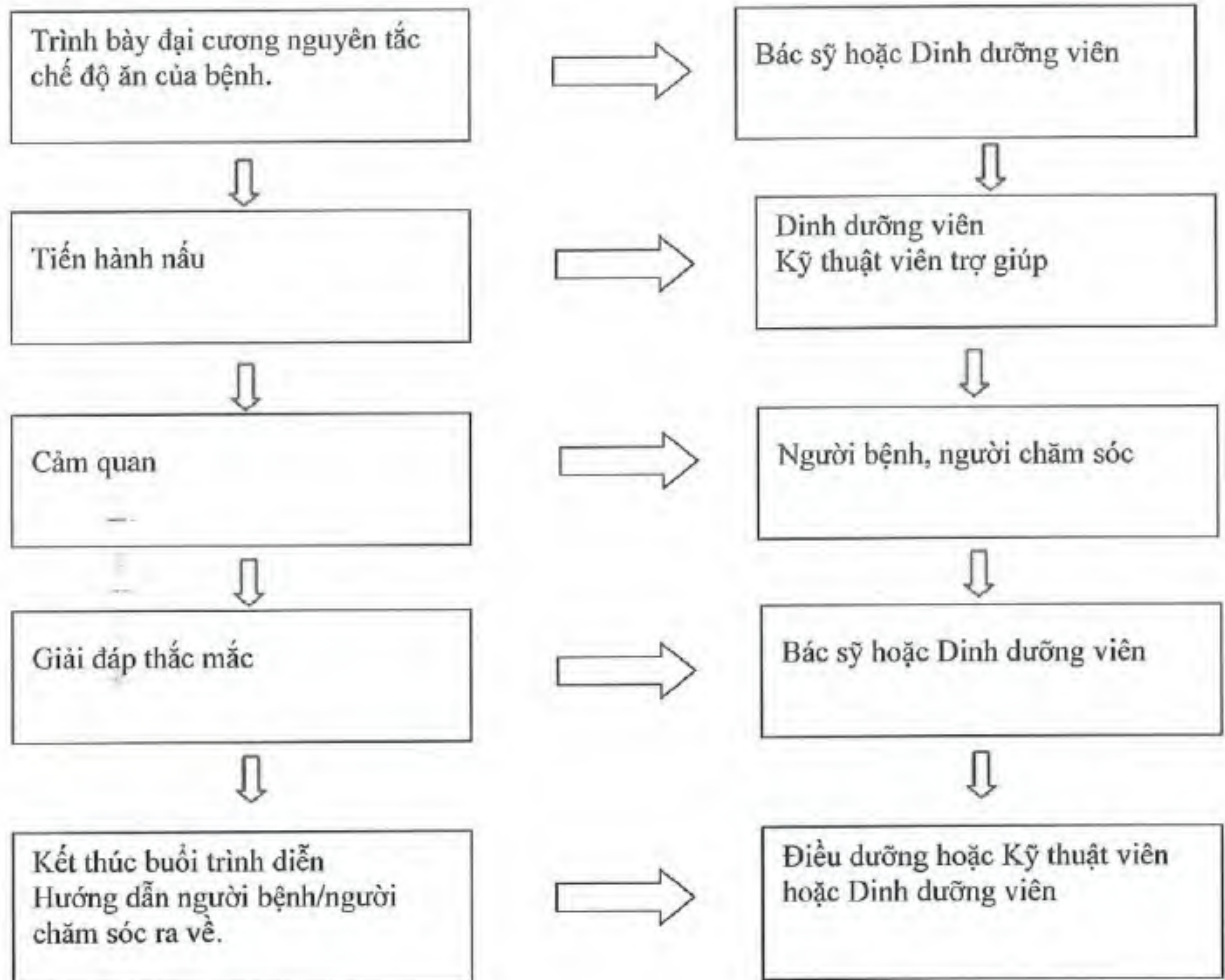
3. An toàn

- **Đảm bảo các vấn đề an toàn về điện và phòng chống cháy nổ trong khi nấu ăn, các thiết bị sử dụng để nấu đảm bảo an toàn về điện.**
- Đảm bảo các vấn đề về an toàn sinh học: không lây nhiễm chéo thực phẩm sống chín.
- Đảm bảo an toàn về các hóa chất tẩy rửa dùng để vệ sinh dụng cụ hay sơ chế thực phẩm.
- Phòng chống tai nạn do nấu ăn gây ra: bỏng, vật sắc nhọn...

4. Các bước tiến hành

- Sơ đồ thực hiện:





4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Thủ tục hành chính

- Tiếp đón người bệnh hoặc người chăm sóc, người có nhu cầu đăng ký tham gia lớp truyền thông thực hành chế biến.

- Lập danh sách ký tham gia buổi truyền thông thực hành chế biến.

- Sắp xếp, ổn định chỗ ngồi.

4.1.2. Nội dung buổi truyền thông thực hành chế biến

4.1.2.1. Phần lý thuyết

Hướng dẫn nội dung bệnh chuẩn bị thực hành chế biến dinh dưỡng, giúp người bệnh và người chăm sóc, người có nhu cầu hiểu được các nội dung cơ bản sau:

- Nguyên tắc chung trong việc thực hành tiết chế dinh dưỡng:

+ Xác định được nhu cầu năng lượng phù hợp với giới tính, độ tuổi, và bệnh đang mắc phải.

+ Phân phối số bữa ăn trong ngày phù hợp. Đối với người bình thường hoặc người có các bệnh lý kèm theo ví dụ như đái tháo đường, cần chia bữa phù hợp với phác đồ sử dụng thuốc để đảm bảo không tăng đường huyết sau bữa ăn và tránh hạ đường huyết xa bữa ăn. Những người bệnh có bệnh lý dạ dày cũng cần giờ ăn phù hợp tránh làm tăng tiết dịch vị.

Handwritten signatures in blue ink.

+ Cách lựa chọn thực phẩm phù hợp từng bệnh đảm bảo đủ 4 nhóm chất dinh dưỡng: nhóm cung cấp tinh bột, nhóm cung cấp chất đạm, nhóm cung cấp chất béo, nhóm cung cấp vitamin, chất khoáng và đa dạng trong các nhóm thực phẩm.

- Một số lưu ý:

+ Cần lựa chọn thực phẩm tươi sống, đảm bảo dinh dưỡng và an toàn vệ sinh thực phẩm.

+ Thực phẩm nên dùng, hạn chế dùng và không nên dùng tùy từng bệnh. Ví dụ đối với người bệnh đái tháo đường, bữa ăn cần tăng cường rau xanh, nên dùng gạo xay sát dối, gạo lật nảy mầm thay gạo trắng để tăng cường chất xơ, quả chín chọn loại hàm lượng đường thấp như quả gioi, ổi, bưởi, dưa chuột... với người bệnh thận, do chế độ ăn cần hạn chế đạm nên khi lựa chọn thực phẩm nhóm đạm cần ưu tiên đạm động vật vì có giá trị sinh học cao hơn đạm nguồn thực vật. Đối với người bệnh rối loạn mỡ máu cần hạn chế phủ tạng động vật...

+ Người có tiền sử dị ứng với thực phẩm nào thì nên tránh sử dụng loại thực phẩm đó...

+ Thay thế thực phẩm: Để đảm bảo đa dạng thực phẩm, sử dụng những thực phẩm cùng loại để thay thế cho nhau.

4.1.2.2. Phần thực hành chế biến

- Bước 1: Chuẩn bị thực phẩm

Chuẩn bị thực phẩm phù hợp, đủ dùng.

- Bước 2: Sơ chế thực phẩm

+ Đảm bảo vệ sinh thực phẩm bằng các nguyên tắc sơ chế thực phẩm một chiều từ sống đến chín.

+ Sử dụng thực phẩm tươi sạch sẵn có tại địa phương. Trước khi nấu cần phải sơ chế và rửa sạch bằng nước sạch, cách sơ chế với từng nhóm thực phẩm cụ thể như sau:

- Thịt hoặc cá: rửa sạch, lọc bỏ gân, xương, thái, xay nhỏ theo yêu cầu của món ăn
- Tôm: nhặt sạch hoặc bóc vỏ tùy ý, lột chỉ đen đối với tôm to băm nhuyễn, xay hoặc thái tùy mục đích chế biến.
- Cua: rửa sạch, nhặt sạch, lấy gạch, xay hoặc để nguyên tùy mục đích chế biến.
- Rau củ hoặc lá: nhặt sạch, rửa sạch, thái, xay nhuyễn theo yêu cầu món ăn
- Hoa quả: rửa sạch, gọt vỏ để nguyên hoặc thái miếng.

- Bước 3: Thực hiện chế biến món ăn hoặc bữa ăn cụ thể theo chủ đề: Súp hoặc cháo hoặc cơm.

- Bước 4: Hoàn thiện món ăn hoặc bữa ăn.

- Bước 5: Cảm quan.

- Bước 6: Giải đáp thắc mắc người tham gia.

- Bước 7: Hướng dẫn người bệnh, người chăm sóc ra về.

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Yêu cầu với món ăn hoặc bữa ăn

- Đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.
- Đảm bảo tất cả các thành phần món ăn đã nấu chín.
- Đẹp mắt, mùi vị thơm ngon.
- Đảm bảo đủ các nhóm chất dinh dưỡng cần thiết, đa dạng thực phẩm, đảm bảo dinh dưỡng theo nhu cầu dinh dưỡng phù hợp với tình trạng bệnh lý người bệnh.

4.2.2. Yêu cầu chung

- Món ăn đơn giản, dễ chế biến.
- Phù hợp với kinh tế của gia đình và tập quán của địa phương.
- Sử dụng thực phẩm sẵn có tại địa phương.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ: không áp dụng.

5. Những sai sót và xử trí

- Không đủ thực phẩm sẵn có tại địa phương: Hướng dẫn sử dụng thực phẩm theo mùa, thực phẩm thay thế có sẵn tại địa phương.

- Kinh tế gia đình hạn hẹp không có đủ điều kiện mua thực phẩm: Giúp người bệnh hoặc người chăm sóc, người có nhu cầu lựa chọn những thực phẩm cùng nhóm có giá thành rẻ hơn, dễ tìm mà vẫn đảm bảo giá trị dinh dưỡng.

- Thói quen ăn uống của gia đình khó thay đổi: Động viên, giải thích chế độ ăn uống không khoa học, thiếu chất dinh dưỡng sẽ ảnh hưởng đến việc phát triển thể chất cũng như ảnh hưởng đến bệnh lý mắc kèm. Vì vậy cần thay đổi dần dần để đảm bảo phát triển thể chất, cải thiện tình trạng bệnh lý.

- Người bệnh hoặc người chăm sóc, người có nhu cầu không có thời gian chế biến món ăn: Hướng dẫn cách chuẩn bị thực phẩm nhanh và tiện lợi, thay thế thực phẩm mà vẫn đảm bảo đủ chất dinh dưỡng.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra và chất lượng

- Các bước thực hiện quy trình không bị vướng mắc, không sai sót, thuận lợi cho người thực hiện quy trình.

- Món ăn sau khi chế biến đảm bảo đúng yêu cầu chất lượng.

- Người bệnh, người chăm sóc, người có nhu cầu hài lòng về thái độ phục vụ và kết quả buổi truyền thông thực hành chế biến dinh dưỡng.

7. Tài liệu tham khảo

- Bộ Y tế (2017). Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

- Bộ Y tế (2017). Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

- Bộ Y tế (2019). Dinh dưỡng lâm sàng. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

- Bộ Y tế, Viện Dinh dưỡng (2018). “Hệ số sống chín và bảng chuyển đổi trọng lượng thực phẩm”. Nhà xuất bản Y học.

Đuân *Mi*

- Nguyễn Thị Tuyết – Uông thị Toan. “Giáo trình thực hành, chế biến món ăn”.
Nhà xuất bản Giáo dục

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 24

Phụ lục 1:

DANH SÁCH HỌC VIÊN THAM DỰ LỚP HƯỚNG DẪN THỰC HÀNH

STT	Họ và tên học viên	Địa chỉ	Số điện thoại
1			
2			
...			

Phụ lục 2:

DANH SÁCH THỰC PHẨM CHO BUỔI HƯỚNG DẪN THỰC HÀNH

STT	Tên thực phẩm	Số lượng thực phẩm sống sạch	Thực phẩm chưa qua sơ chế
1			
2			
3			

Phụ lục 3:

DANH SÁCH CHUYỂN ĐỔI THỰC PHẨM

Danh sách 1: Gạo và thực phẩm chuyển đổi

<i>Nhóm ngũ cốc và khoai tây: 1 đơn vị 1 ĐVCEĐ = 20 g glucid + 2 g protein = 90 Kcal</i>
Nhóm khoai củ: 1 ĐVCEĐ = 20 g glucid = 80 Kcal

Tên Thực phẩm	Trọng lượng ăn được (g)	Trọng lượng cả thải bỏ (g)	Kích cỡ ước lượng
<i>Nhóm ngũ cốc và khoai tây</i>			
Gạo nếp cái	27		
Gạo tẻ	27		

Bột gạo nếp	25		
Bột gạo tẻ	24		
Bột mỳ	27		3 thìa (thìa 5ml)
Ngô nếp luộc	61		½ bắp trung bình
Khoai tây	95		1 củ trung bình kích cỡ 6cmx5.5cm
<i>Nhóm khoai củ</i>			
Củ sắn	59	74	1 khúc 5 x 3cm*
Củ từ	98	104	
Khoai lang	76	88	1/2 củ trung bình
Khoai lang nghệ	78	88	1/2 củ trung bình

*: Chiều dài x chiều rộng

Danh sách 2: đơn vị chuyển đổi thịt

Đơn vị chuyển đổi thịt, cá ít béo

1 ĐVCD = 7 g protein + 2,5 g lipid = 50 Kcal

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ
Thịt bê nạc	35	36	Ruốc thịt lợn	15	15
Thịt bê mỡ	37	38	Nem chạo	42	42
Thịt bò khô	14	14	Nem chua	32	32
Thịt bò loại I	33	34	Bì lợn	30	33
Đuôi bò	36	66	Thịt ngựa	33	33
Thịt dê (nạc)	34	35	Thịt thỏ nhà	33	59
Gân chân bò	23	23	Thịt thỏ rừng	30	54

Đuôi *mo*

Gân chân bò	23	23	Thịt trâu đùi	33	34
Thịt gà rừng	29	68	Thịt trâu bắp	32	33
Thịt hươu	37	38	Thịt trâu cổ	33	34
Thịt lợn nạc	37	38	Thịt trâu khô	14	14
Giò lụa	33	33	Thịt trâu thăn	31	31

Cá

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ
Cá bống	44	81	Cá mòi	40	73
Cá chày	35	50	Cá nạc	40	66
Cá chép	44	73	Cá ngừ	33	57
Cá dàu	37	41	Cá nục	35	35
Cá diếc	40	72	Cá phèn	44	44
Cá đao	38	38	Cá quả	38	64
Cá đé	37	37	Cá rô đồng	37	65
Cá đối	36	62	Cá rô phi	36	62
Cá đồng tiền	35	35	Cá trạch	34	46
Cá hồi	32	53	Cá thồn bơn	40	40
Cá khô	16	19	Cá trôi	37	52
Cá lóc	42	42	Cá thu đao	35	50

Thủy sản khác

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ
Cua đồng	57	114	Mực tươi	43	55
Cua bể	40	67	Rươi	56	59

Cá dưa	40	40	Rạm tươi	54	109
Ốc đá	63	313	Ruốc tôm	11	11
Ốc bươu	63	191	Sò	80	398
Ốc nhồi	59	280	Tôm đồng	38	42
Cua đồng	57	114	Mực tươi	43	55
Cua bể	40	67	Rươi	56	59
Cá dưa	40	40	Rạm tươi	54	109
Ốc đá	63	313	Ruốc tôm	11	11
Ốc bươu	63	191	Sò	80	398

Trứng

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ
Lòng trắng trứng vịt (g)	65 (2 quả)	65	Lòng trắng trứng vịt (g)	65 (2 quả)	65
Lòng trắng trứng gà (g)	68 (3 quả)	68	Lòng trắng trứng gà (g)	68 (3 quả)	68
Lòng trắng trứng vịt (g)	65 (2 quả)	65	Lòng trắng trứng vịt (g)	65 (2 quả)	65

Đậu và sản phẩm chế biến

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ
Đậu phụ nướng	52	52	Đậu tương	21	21
Đậu phụ chúc	14	14	Sữa bột đậu nành	23	23

Đơn vị chuyển đổi thịt, cá béo trung bình

$$1 \text{ ĐVCE} = 7 \text{ g protein} + 5 \text{ g lipid} = 70 \text{ Kcal}$$

Đậu nành

Thịt béo trung bình

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Đơn vị đo
Thịt bò loại II	39	40	
Đầu bò	39	121	
Thịt gà ta	34	72	
Thịt gà tây	35	74	
Sườn lợn(bỏ xương)	39	91	

Cá béo trung bình

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Đơn vị đo
Cá mỡ	42	42	
Cá mè	45	71	
Cá trê	42	71	
Cá trích	40	61	

Trứng

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Đơn vị đo
Trứng gà	47	55	
Trứng vịt lộn	51	58	

Đơn vị chuyển đổi thịt, cá nhiều béo

1 DVCD = 7 g protein + 7.5 g lipid = 100 Kcal

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Đơn vị đo
Thịt gà ta(cánh)	40	40	
Thịt chó vai	39	44	
Chân giò lợn (bỏ xương)	45	87	

Thịt lợn ba chỉ sẵn	46	47	1,5 miếng kho tàu nhỏ
Thịt vịt	39	40	

Trứng

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Đơn vị đo
Trứng chim cút	56	56	4 quả
Trứng vịt	54	61	1 quả

Danh sách 3: Đơn vị chuyển đổi chất béo

1 ĐVCD= 5g Lipid=45 Kcal		
Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được (g)	Đơn vị đo
Bơ	6	1/2 miếng 10 g (4,5 x 2,5 x 0,8 cm)
Dầu thực vật	5	1 thìa nhỏ đầy (thìa 7ml)
Mỡ lợn đặc	5	1 thìa nhỏ đầy (thìa 2,5 ml)
Mỡ lợn nước	5	
Vùng	8	1 thìa đầy trung bình (thìa 5ml)
Lạc	8	1 thìa đầy trung bình (thìa 5ml)
Cùi dừa già	12	

Danh sách 4: Đơn vị chuyển đổi rau

1 ĐVCD= 5 g glucid + 2 g protein=25 Kcal

Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ	Tên thực phẩm	Trọng lượng ăn được	Trọng lượng kể cả thải bỏ
Bầu	178.6	207.1	Dọc mùng	500	600
Bí xanh (bí đao)	208.3	264.6	Dưa chuột	166.7	175

Handwritten signatures:

Được *mt*

Bí ngô	104.2	118.8	Dưa gang	227.3	238.6
Cà bát	113.6	119.3	Đậu cove	34.2	37.7
Cà chua	131.6	138.2	Đậu đũa	43.9	48.2
Cà tím	113.6	119.3	Đậu rồng	73.5	77.2
Cải bắp	86.2	94.8	Đu đủ xanh	113.6	142
Rau muống	110	176	Rau mồng tơi	180	200
Rau cải xanh	170	200	Cải bắp	90	100

Danh sách 5: Đơn vị chuyển đổi hoa quả chín

$$1 \text{ ĐVCD} = 10\text{g glucid} + 1 \text{ gprotein} = 45 \text{ Kcal}$$

Tên thực phẩm	1 đơn vị (g)	Trọng lượng kể cả thái bỏ (g)	Đơn vị đo
Bưởi	137	185	3 múi trung bình (9x3,5x2cm)
Cam	119	149	1/2 quả to (9,5x7cm)
Chanh	208	260	
Chôm chôm	61	93	4-5 quả trung bình
Chuối tây	67	83	1/2 quả trung bình
Chuối tiêu	45	59	1/2 quả trung bình 130 g (17 x 3cm)
Dâu tây	123	142	6 quả
Dưa bở	250	260	
Dưa hấu	281	416	3 miếng nhỏ
Dưa hồng	263	305	
Dưa lê	238	281	1 quả trung bình (9,5x9cm)
Dứa ta	154	215	
Dứa tây	112	157	1/2 quả nhỏ
Đào	159	178	2 quả trung bình
Đu đủ chín	130	145	1 miếng nhỏ

Gioi	286	340	5 quả trung bình
Hồng đỏ	161	181	1 quả nhỏ
Hồng ngâm	116	131	1 quả trung bình
Hồng xiêm	100	110	1 quả trung bình
Lê	98	110	1 /2 quả nhỏ
Lựu	61	112	
Mận	225	259	10-12 quả
Mít dai	88	136	5 múi trung bình
Na	69	103	1/2 quả trung bình

Handwritten signature and initials in blue ink.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 25:

KHÁM TƯ VẤN DINH DƯỠNG NGƯỜI LỚN

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này quy định về việc Khám Tư vấn dinh dưỡng người lớn tại các Cơ sở y tế bao gồm: đón tiếp, thu kinh phí, khám, xét nghiệm, chẩn đoán, tư vấn và điều trị cải thiện tình trạng dinh dưỡng.

1.2. Nguyên tắc

Người bệnh đến khám bệnh, chữa bệnh ngoại trú đều được sàng lọc các yếu tố nguy cơ về dinh dưỡng, đánh giá tình trạng dinh dưỡng.

Người bệnh được chỉ định chế độ dinh dưỡng phù hợp với tình trạng dinh dưỡng và bệnh lý của mình.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

Stt	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên đón tiếp, hướng dẫn (Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên)	1	Trình độ trung cấp trở lên.
2	Nhân viên cân đo nhân trắc	1	Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật cân đo. Trình độ trung cấp trở lên.
3	Nhân viên thu ngân	1	Trình độ trung cấp trở lên.
4	Bác sĩ có chứng chỉ hành nghề	1	Trình độ đại học trở lên.
5	Dinh dưỡng viên	1	Trình độ đại học trở lên.

2.2. Vật tư, công cụ dụng cụ

2.2.1. Vật tư trực tiếp

- Khẩu trang y tế: 5 cái.
- Găng tay cao su không bột talc: 2 đôi.
- Thước đo chiều cao đứng có chia độ đến mm (cột chất lượng cao được làm bằng chất lượng không co, giãn nở), dài đo ít nhất từ 200-205cm: 1 cái.
- Thước dây đo vòng bụng, vòng mông bằng nhựa mềm, có chia độ đến milimet (mm): 1 cái.
- Huyết áp kế thủy ngân hoặc Huyết áp kế điện tử: 1 cái.

- Thiết bị gọi số tại phòng khám: 1 cái.
 - Ống nghe tim phổi: 1 cái.
 - Nhiệt kế điện tử đo nhiệt độ cơ thể: 1 cái.
 - Đèn pin nhỏ: 1 cái.
 - Đèn đọc phim X-Quang 2 phim: 1 cái.
 - Bộ dụng cụ tư vấn (bát, cốc, thìa, đĩa): 1 bộ.
 - Tranh tư vấn: 1 bộ.
 - Máy tính cá nhân: 1 cái.
 - Thùng rác y tế: 2 cái.
 - Thùng rác sinh hoạt: 2 cái.
 - Bộ quần áo bảo hộ y tế: 5 bộ.
 - Bút dính bàn: 2 bộ.
 - Bút bi: 5 cái.
 - Giấy A4: 6 tờ (1 tờ phiếu khám, 2 tờ thực đơn, 1 tờ hướng dẫn, 1 tờ đơn vị chuyển đổi, 1 tờ phác đồ điều trị).
 - Giấy A5: 6 tờ (2 tờ biên lai khám, 3 tờ biên lai xét nghiệm, 1 tờ đơn thuốc).
 - Dập gím: 5 cái.
 - Mực in đen trắng: mực in 9 tờ/dôi tượng.
 - Mực con dấu: 2 lọ.
 - Con dấu: 3 cái (1 thu phí khám và cận lâm sàng, 1 bác sĩ, 1 cái ghi tên đơn vị thực hiện).
 - Văn phòng phẩm khác (keo, ghim, cặp file...): 1 bộ.
 - Dung dịch sát khuẩn tay: 30ml.
 - Giấy in cân Tanita SC 330: 1 cuộn.
- 2.2.3. Công cụ dụng cụ
- Máy in đen trắng: 3 cái.
 - Bàn ghế làm việc: 5 bộ.
 - Ghế văn phòng: 4 cái.
 - Ghế phòng chờ: 4 băng
 - Tủ đựng tài liệu: 3 cái.
 - Thẻ nhân viên: 5 cái.
 - Quạt treo tường/quạt cây: 4 cái.
 - Bóng đèn chiếu sáng: 9 cái.
 - Máng đèn chiếu sáng: 3 bộ
 - Điện thoại bàn: 1 cái.



- Camera: 2 cái.
- Sách Hướng dẫn chế độ ăn bệnh viện: 1 quyển.
- Sách Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam: 1 quyển.
- Quyển ảnh điều tra khẩu phần: 1 quyển.
- Sách Dinh dưỡng lâm sàng: 1 quyển.
- Sách Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam: 1 quyển.
- Sách bệnh học nội khoa: 1 quyển.
- Bộ dụng cụ vệ sinh: 1 bộ.
- Cốc giấy: 1 cái.

2.3. Thiết bị

- Máy phân tích thành phần cơ thể SC 330, xác định được cân nặng, khối nạc, khối mỡ, khối lượng xương...: 1 cái.
- Bộ máy tính để bàn: 3 bộ.
- Điều hòa: 3 cái.
- Máy lọc nước Karofi: 1 cái.
- Máy lấy số thứ tự khám mini 4 nút: 1 cái
- Máy phát điện: 01 máy.

2.4. Chuẩn bị

- Chuẩn bị đối tượng trước khi cân đo theo quy trình kỹ thuật cân.

Người thực hiện cân đo hướng dẫn người bệnh phối hợp tốt để tiến hành cân đo được chuẩn xác: người bệnh tháo bỏ tư trang có nhân trên người, cởi bỏ quần áo đến mức mỏng nhất có thể, khăn đội đầu, kẹp tóc, tất chân...

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có xem phụ lục 4), đo mật độ xương (nếu có xem phần phụ lục 3).

- Bác sĩ sẽ chỉ định một trong những chỉ định sau tùy từng người bệnh:
 - + Xét nghiệm máu: công thức máu; nhóm máu; đường máu; mỡ máu; chức năng gan, thận; các vi chất dinh dưỡng như kẽm, sắt, canxi; các vitamin A, D...
 - + Xét nghiệm nước tiểu: tổng phân tích nước tiểu.
 - + Xét nghiệm phân: tìm ký sinh trùng, nấm, vi khuẩn, hạt mỡ...
 - + Đo DXA: đo mật độ xương và đo thành phần cơ thể (khối nạc, khối mỡ...)
- Bác sĩ ghi đầy đủ thông tin trên phiếu chỉ định theo quy định của từng loại chỉ định như: họ tên người bệnh, tuổi, địa chỉ, loại chỉ định, loại mẫu bệnh phẩm, thời gian lấy mẫu...

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Người thực hiện	Nội dung công việc	Thời gian/bước (phút) có cận lâm sàng	Thời gian/bước (phút) không cận lâm sàng
1	Bác sĩ	Khai thác tiền sử, bệnh sử, khám lâm sàng, xác định bệnh, kê đơn thuốc và các sản phẩm dinh dưỡng. Tư vấn dinh dưỡng cho đối tượng	10	30
		Đọc kết quả, tư vấn dinh dưỡng.	20	0
		Tổng thời gian thực hiện của bác sĩ/đối tượng	30	30
2	Nhân viên đón tiếp, hướng dẫn – Điều dưỡng viên/Kỹ thuật viên/Dinh dưỡng viên	Đón tiếp đối tượng hướng dẫn ghi phiếu.	1	1
		Hướng dẫn đối tượng ngồi vào phòng khám hoặc ngồi chờ số thứ tự vào khám.	1	1
		Hướng dẫn đối tượng nộp tiền đi làm các chỉ định cận lâm sàng.	1	0
		Tiếp nhận kết quả xét nghiệm của đối tượng, hướng dẫn, sắp xếp đối tượng đến lượt vào đọc kết quả và nghe tư vấn	2	0
		Hướng dẫn đối tượng ra về.	1	1
		Tổng thời gian thực hiện của điều dưỡng/đối tượng	6	3
3	Cân đo nhân trắc – Điều dưỡng	Đo chiều cao, cân nặng, huyết áp, vòng bụng, vòng mông (đối với đối tượng thừa cân, béo phì)	10	10

Handwritten signature and initials in blue ink.

STT	Người thực hiện	Nội dung công việc	Thời gian/bước (phút) có cận lâm sàng	Thời gian/bước (phút) không cận lâm sàng
	viên/Kỹ thuật viên/Dinh dưỡng viên	Tổng thời gian thực hiện của nhân viên cân đo nhân trắc/đối tượng	10	10
4	Thu ngân – Kế toán viên	Thu tiền khám	2	2
		Thu tiền chỉ định cận lâm sàng	3	0
		Tổng thời gian thực hiện của thu ngân/đối tượng	5	2
5	Dinh dưỡng viên - Bác sĩ/ dinh dưỡng viên	Dinh dưỡng viên xây dựng chế độ dinh dưỡng, hướng dẫn thực hiện và theo dõi chế độ ăn.	0	20
		Dinh dưỡng viên xây dựng chế độ dinh dưỡng, hướng dẫn thực hiện và theo dõi chế độ ăn.	20	0
		Tổng thời gian thực hiện của dinh dưỡng viên/đối tượng	20	20
Tổng thời gian thực hiện			71	65

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Quy trình Khám Tư vấn dinh dưỡng người lớn được thực hiện tại các Khoa khám hoặc phòng khám tư vấn dinh dưỡng của các cơ sở khám tư vấn dinh dưỡng đủ điều kiện bảo đảm và trách nhiệm thực hiện hoạt động khám tư vấn dinh dưỡng.

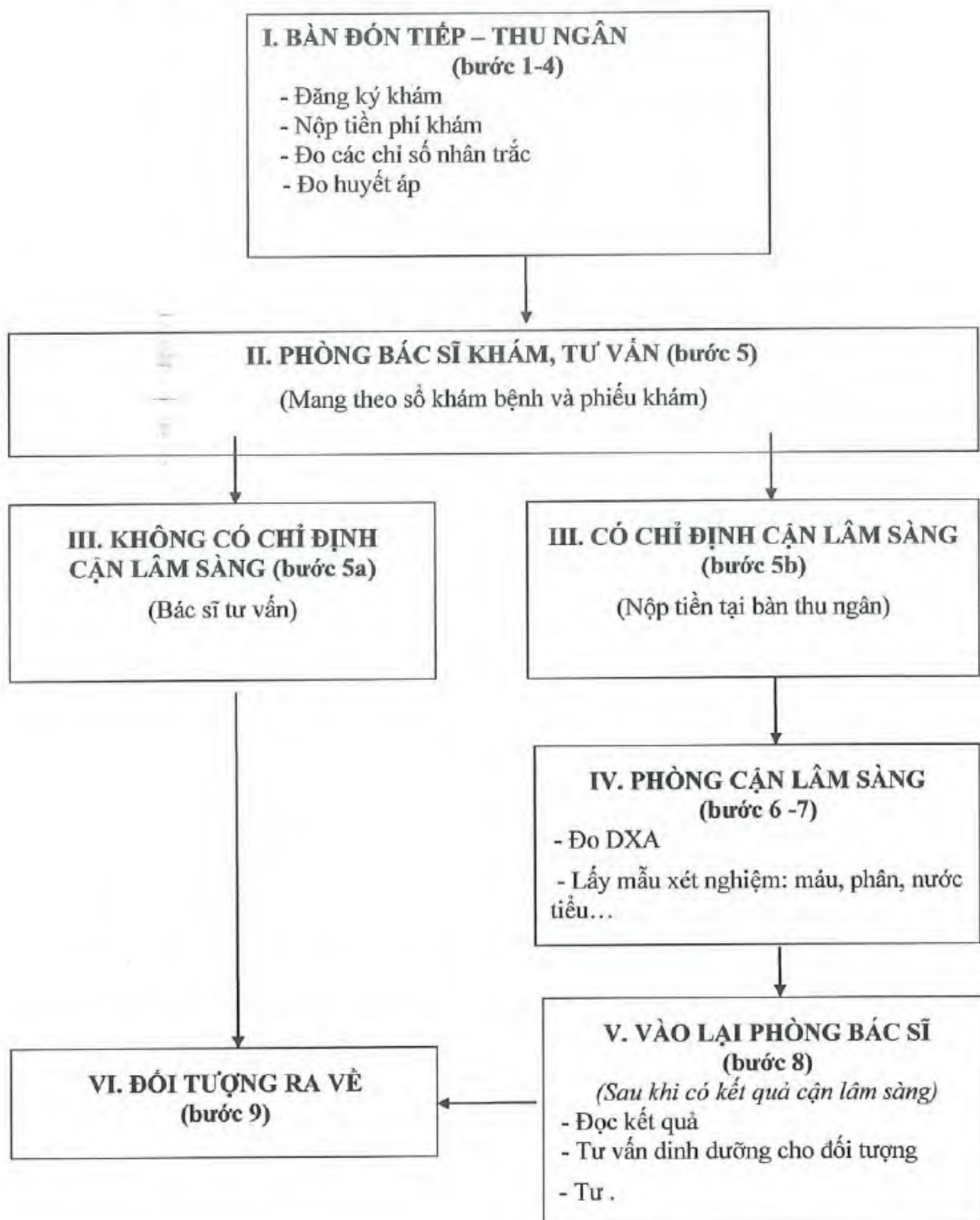
3. An toàn

- Đảm bảo các biện pháp phòng chống lây nhiễm trong cơ sở y tế khám chữa bệnh theo quyết định số 266/QĐ-BYT ngày 2/2/2024.

- Đảm bảo phòng chống cháy nổ tại cơ sở y tế khám chữa bệnh theo Quyết định số 3047/QĐ-BYT ngày 10/11/2022 của Bộ trưởng Bộ Y tế.

4. Các bước tiến hành

Sơ đồ dưới đây áp dụng tại các cơ sở khám tư vấn dinh dưỡng có thể áp dụng hoặc sửa đổi phù hợp với từng đơn vị.

Sơ đồ: QUY TRÌNH KHÁM TƯ VẤN DINH DƯỠNG NGƯỜI LỚN

Handwritten signature and initials in blue ink.

4.1. Các bước thực hiện

- **Bước 1:** Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...đón tiếp, hướng dẫn đối tượng bấm số thứ tự đăng ký khám.

- **Bước 2:** Kế toán viên nhập thông tin đối tượng vào máy tính theo mẫu (phụ lục 2), thu phí khám, hướng dẫn và trả hóa đơn thu tiền cho đối tượng.

- **Bước 3:** Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...hướng dẫn đối tượng đo cân nặng, chiều cao đứng và các chỉ số nhân trắc khác, đo huyết áp, nhiệt độ tại phòng đo nhân trắc. Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...nhập các thông tin đo được vào phiếu khám bệnh/ sổ y bạ và cập nhật vào phần mềm khám bệnh.

- **Bước 4:** Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...hướng dẫn đối tượng ngồi chờ/ hoặc đến khám tại phòng khám bác sĩ theo số thứ tự trên bảng điện tử, mang theo hồ sơ khám bệnh.

- **Bước 5:** Bác sĩ khai thác tiền sử, bệnh sử, khám lâm sàng. Tùy theo tình trạng bệnh và nhu cầu của đối tượng, bác sĩ có thể chỉ định các xét nghiệm cận lâm sàng (nếu cần) hoặc chẩn đoán và tư vấn dinh dưỡng trong trường hợp không có chỉ định cận lâm sàng.

+ Bước 5a: Đối với đối tượng không có chỉ định cận lâm sàng

- Bác sĩ chẩn đoán xác định bệnh, kê đơn thuốc và sản phẩm dinh dưỡng (nếu cần) và tư vấn chế độ dinh dưỡng cho đối tượng.
- Dinh dưỡng viên xây dựng chế độ dinh dưỡng, hướng dẫn thực hiện và theo dõi chế độ ăn.
- Hẹn đối tượng tái khám.
- Chuyển đến **bước 9**.

+ Bước 5b: Đối với đối tượng có chỉ định cận lâm sàng

- Bác sĩ kê chỉ định cận lâm sàng vào phiếu chỉ định (Phụ lục 3). Các xét nghiệm cận lâm sàng được chỉ định dựa trên cơ sở các quy trình kỹ thuật về các bệnh dinh dưỡng đã được lãnh đạo đơn vị thông qua các quy trình khám, điều trị, tư vấn dinh dưỡng cho người lớn.
- Các chỉ số về huyết học: Công thức máu.
- Các chỉ số về sinh hóa: Sắt, ferritin, kẽm, canxi, phosphatase kiềm, vitamin D, glucose, tryglycerid, cholesterol, HDL, LDL, acid uric, ure, creatinin...
- Xét nghiệm phân: pH, cặn dư, hồng cầu, bạch cầu...
- Xét nghiệm tổng phân tích nước tiểu: Glucose, protein, hồng cầu, bạch cầu, pH, tỷ trọng...
- Các chỉ định cận lâm sàng khác: Đo thành phần cơ thể, đo mật độ xương...
- Cập nhật thông tin chỉ định cận lâm sàng của đối tượng vào phần mềm.
- Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...hướng dẫn đối tượng nộp tiền theo các chỉ định cận lâm sàng: Xét nghiệm máu, phân, nước

tiêu, đo mật độ xương, đo thành phần cơ thể (khối nạc khối mỡ...) tại bàn thu ngân.

- Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...hướng dẫn đối tượng đến các phòng cận lâm sàng phù hợp.

- Bước 6: Tại phòng cận lâm sàng

+ Thực hiện xét nghiệm theo quy trình tiếp nhận và trả kết quả xét nghiệm cho đối tượng.

+ Thực hiện đo mật độ xương, đo khối nạc, khối mỡ bằng phương pháp DXA theo quy trình đo và trả kết quả cho đối tượng.

- Bước 7: Trả kết quả cận lâm sàng

+ Khi có kết quả cận lâm sàng, Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...sao lưu kết quả của đối tượng và chuyển kết quả của đối tượng vào phòng bác sĩ ban đầu.

- Bước 8: Kết luận và tư vấn dinh dưỡng

+ Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...hướng dẫn đối tượng vào phòng bác sĩ ban đầu.

Bác sĩ đọc kết quả, chẩn đoán xác định, kê đơn thuốc/ sản phẩm dinh dưỡng (nếu cần) và hướng dẫn tư vấn, điều trị dinh dưỡng phù hợp.

Dinh dưỡng viên xây dựng chế độ dinh dưỡng, hướng dẫn thực hiện và theo dõi chế độ ăn.

Hẹn đối tượng tái khám.

- Bước 9: Đối tượng ra về.

+ Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...hướng dẫn đối tượng ra về.

4.2. Nhận định kết quả

+ Các bước thực hiện quy trình không bị vướng mắc, không sai sót, thuận lợi cho đối tượng và các nhân viên thực hiện quy trình.

+ Đối tượng hài lòng về thái độ phục vụ và kết quả tư vấn dinh dưỡng của nhân viên khoa khám.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Kết quả khám bệnh được thông báo cho người bệnh hoặc người bảo hộ/ chăm sóc.

- Phiếu khám bệnh được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật.

5. Những sai sót và xử trí

TT	Tình huống	Xử lý
1	Đối tượng không thể tự kê khai các thông tin cá nhân do các nguyên nhân khách quan như: Già, mắt kém, nghe kém, chậm phát triển trí tuệ, bệnh lý tâm thần...	Người chăm sóc/Điều dưỡng viên hoặc Kỹ thuật viên hoặc Dinh dưỡng viên...sẽ hỗ trợ ghi phiếu.
2	Cân đo các chỉ số nhân trắc chưa chính xác	Hiệu chỉnh lại thiết bị cân đo hàng ngày và trước khi cân đo đối tượng. Thường xuyên cập nhật và tập huấn lại cho nhân viên các kỹ thuật đo đúng tiêu chuẩn.
3	Đối tượng chưa hài lòng về quá trình khám tư vấn dinh dưỡng	Bác sĩ và các nhân viên trong khoa khám cập nhật liên tục quy trình kỹ thuật khám, chẩn đoán và chế độ ăn điều trị các bệnh liên quan đến dinh dưỡng; Thái độ tiếp xúc đối với người bệnh đúng mực, nhiệt tình, chu đáo...
4	Đối tượng chưa hài lòng về xét nghiệm, cận lâm sàng khác	Cung cấp liên tục không bị gián đoạn các xét nghiệm trong danh mục của viện cho phòng khám, xét nghiệm đảm bảo chất lượng, kiểm tra chéo với các bệnh viện trung ương khác tại Hà Nội, bổ sung thêm một số xét nghiệm, cận lâm sàng cần thiết...
5	Đối tượng trong quá trình lấy máu xét nghiệm tại Viện bị choáng ngất, mệt, lo sợ....:	Trước khi lấy máu, nhân viên cần giải thích đầy đủ các vấn đề có thể xảy ra khi lấy máu với đối tượng, đồng thời động viên để đối tượng yên tâm khi lấy máu làm xét nghiệm. Khi đối tượng có tình trạng choáng, mệt, lo sợ...cần cho đối tượng ngồi/nằm nghỉ ngơi và xử lý kịp thời khi cần thiết.
6	Vật tư, trang thiết bị phục vụ quy trình khám gặp sự cố (máy in mờ, đen; mạng không ổn định...):	Đảm bảo vật tư, trang thiết bị đầy đủ, hoạt động ổn định. Phòng khám cần có nhân viên công nghệ thông tin hỗ trợ khi có sự cố xảy ra.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Cơ sở vật chất đảm bảo yêu cầu về chất lượng, đảm bảo phục vụ tốt công tác khám và tư vấn dinh dưỡng.
- Nhân viên thực hiện có chứng chỉ hành nghề và các yêu cầu chuyên môn theo từng vị trí phù hợp.
- Máy móc đảm bảo chất lượng, hoạt động hiệu quả được bảo dưỡng định kỳ.

7. Tài liệu tham khảo

- Quyết định số 1313/QĐ-BYT ngày 22/4/2013 của Bộ Trưởng Bộ Y tế về việc ban hành hướng dẫn quy trình khám bệnh tại khoa khám của bệnh viện.
- Bộ Y tế (2016). Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Bộ Y tế (2017). Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
- Bộ Y tế (2019). Dinh dưỡng lâm sàng. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật số 25

Phụ lục 1

CÁC TIÊU CHUẨN CHẨN ĐOÁN TRONG QUY TRÌNH KHÁM, TƯ VẤN DINH DƯỠNG

STT	Vấn đề	Chỉ số đánh giá	Chuẩn so sánh
1	Đánh giá tình trạng dinh dưỡng.	Cân nặng theo tuổi Chiều cao/dài theo tuổi Cân nặng theo chiều cao BMI (5-19 tuổi; người trưởng thành) Tỷ lệ phần trăm mỡ, cơ	Bảng chuẩn tăng trưởng WHO 2007, Phân loại BMI của WHO, Phân loại tỷ lệ % mỡ cơ thể.
2	Phân tích khẩu phần ăn thực tế: Dựa vào khai thác khẩu phần ăn 24h; thói quen ăn uống.	Năng lượng của khẩu phần Các chất sinh năng lượng: Protein/Lipid/Glucid Vitamin, Chất khoáng, Chất xơ...	Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam 2017. Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị của VDD cho người Việt Nam 2016.




STT	Vấn đề	Chỉ số đánh giá	Chuẩn so sánh
3	Xây dựng chế độ ăn dựa trên tình trạng dinh dưỡng, bệnh lý và thói quen ăn của đối tượng.	Bản thực đơn khuyến nghị cho đối tượng.	Bảng thành phần thực phẩm Việt Nam 2017. Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam 2016.
4	Cận lâm sàng Xét nghiệm sinh hoá máu. Xét nghiệm nước tiểu, phân. Đo Khối nạc, khối mỡ Đo Mật độ xương	Công thức máu Sắt, kẽm, canxi, vitamin D, Triglycerid, Cholesterol, HDL, LDL Glucose... Tổng phân tích nước tiểu Soi phân, cấy phân, cận dư phân... Đánh giá sự phân bố khối nạc/mỡ (đối với người TC-BP). Đánh giá mật độ xương.	Chuẩn huyết học Chuẩn sinh hoá Chuẩn vi sinh Giá trị tham chiếu Giá trị tham chiếu
5	Các bệnh lý liên quan dinh dưỡng	Triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng.	Dinh dưỡng lâm sàng- Viện Dinh dưỡng (2019). Bệnh học Nội khoa Trường Đại học Y Hà Nội (2022).

Phụ lục 2

Phiếu khám này áp dụng tại các cơ sở khám tư vấn dinh dưỡng có thể chỉnh sửa theo mục đích của từng đơn vị.

PHIẾU KHÁMPhòng khám số

Ngày khám:...../...../20.....

Lần khám:.....

Mã BN

--	--	--	--	--

I. THÔNG TIN CHUNG (đối tượng tự khai – khoanh số trả lời)

- | | |
|--|--|
| 1. Họ và tên:
Điện thoại:
3. Giới: 1. nam 2. nữ
5. Nghề nghiệp:
1. CBCNV 2. Kinh doanh
3. Công nhân 4. Nội trợ/nghỉ hưu
5. SV/Học sinh
99. Khác (ghi rõ)
7. Lý do đến khám:
1. Kiểm tra SK 2. Khám lại theo hẹn
3. Tư vấn dinh dưỡng
4. Gầy, mệt mỏi, ăn kém
5. Ho lâu, sốt 6. Thừa cân/béo phì
7. Rối loạn mỡ máu 8. Đái tháo đường | 2. Ngày sinh (dương lịch):/...../.....
4. Đ/c liên hệ:
Email (nếu có):
6. Trình độ văn hóa
1. ĐH, trên ĐH 2. Trung cấp/Cao đẳng
3. THPT (cấp 3) 4. THCS (cấp 2)
99. Khác (ghi rõ):
9. RLTH (Táo bón, tiêu chảy, sống phân...)
10. Viêm đại tràng 11. Mối xương khớp
12. Huyết áp không ổn định 13. Ung thư
14. Bệnh tự miễn
99. Khác (ghi rõ) |
|--|--|

II. PHÀN KHÁM (KTV, BÁC SĨ ghi)

- | | | |
|---|--|--|
| 8. Cân nặng (kg):
11. Vòng eo (cm):
14. Mỡ cơ thể (%):
17. Lượng xương (kg):
20. XN máu (số XN):
23. DEXA: 1. 2 vị trí 2. Toàn thân
24. Chẩn đoán (khoanh số)
1. Kiểm tra sức khỏe (XN, TVCĐA...)
2. Có thai, nuôi con bú 3. Thiếu NLTD
4. Thiếu VC (Zn, Fe, Ca, D, Magie....)
5. Viêm phế quản/ Phổi MT (COPD, HPQ...)
6. Thừa cân/ Béo phì (độ 1, 2, 3)
7. RL mỡ máu 8. Tăng huyết áp
9. RL đường máu, ĐTĐ typ 1, typ 2
10. RLTH (táo bón, tiêu chảy, sống phân...)
11. Viêm DD, đại tràng
12. Thừa/loãng xương
13. Gout 14. Ung thư
99. Khác (ghi rõ) | 9. Chiều cao (cm):
12. Vòng mông (cm):
15. Lượng nước (%):
18. CHCB (kcal):
21. XN nước tiểu:
25. Chế độ ăn: 1. XD thực đơn 2. Hướng dẫn
26. Điều trị (ghi rõ)
1. Vitamin :
2. Khoáng chất:
3. Đa vi chất:
4. Men enzym:
5. Men vi sinh:
6. Tp chức năng:
99. Khác (ghi rõ) | 10. BMI (kg/m²):
13. VE/VM:
16. Lượng cơ (kg): ...
19. HA (mmHg):
22. XN phân
25. Chế độ ăn : 1. XD thực đơn 2. Hướng dẫn
26. Điều trị (ghi rõ) |
|---|--|--|

Bác sĩ

Phụ lục 3

Phiếu chỉ định đo DXA này áp dụng tại cơ sở y tế, các đơn vị có thể chỉnh sửa theo mục đích của từng đơn vị.

PHIẾU CHỈ ĐỊNH ĐO DXA

Họ tên:Ngày sinh.....//.....1. Nam/ 2. Nữ

Địa chỉ:.....

Cân nặng (kg): ,

Chiều cao (cm): ,

Chẩn đoán lâm sàng:.....Mã BN:.....

STT	Chỉ định	KTV	Ghi chú
1	Đo 2 vị trí		
2	Đo toàn thân		

.....giờ....., ngày.....tháng.....năm 20.....

Bác sĩ chỉ định

Phụ lục 4

Phiếu chỉ định xét nghiệm này áp dụng tại áp dụng tại cơ sở y tế, các đơn vị có thể chỉnh sửa theo mục đích của từng đơn vị.

BỘ Y TẾ**PHIẾU CHỈ ĐỊNH XÉT NGHIỆM**

Họ và tên đối tượng: Ngày sinh: / / Giới tính: Nam/Nữ

Địa chỉ: Số điện thoại: Mã số đối tượng:

Chẩn đoán lâm sàng:

TÊN XÉT NGHIỆM	TRỊ SỐ BÌNH THƯỜNG	KẾT QUẢ	TÊN XÉT NGHIỆM	TRỊ SỐ BÌNH THƯỜNG	KẾT QUẢ
XÉT NGHIỆM HUYẾT HỌC					
☐ Tổng phân tích tế bào máu (15 thông số)			☐ Nhóm máu		
XÉT NGHIỆM HÓA SINH, MIỄN DỊCH					
☐ Calci TP (mmol/L)	2,15 - 2,7		☐ Vitamin D (nmol/L)	Trẻ em: 80-200	
☐ Ion canxi (mmol/L)	0,9 - 1,3			Người lớn: 75-200	
☐ Fe (μmol/L)	Trẻ em 6 - 28 Người lớn Nam: 6,3-30 Người lớn Nữ: 4,1-26,7		☐ Axit Uric (μmol/L)	Nam: 180-420 Nữ: 150-360	
☐ Ferritin (μg/L)	20 - 200		☐ Ure (mmol/L)	2,5-7,5	
☐ Kẽm (μmol/L)	Trẻ em: 10-18 Người lớn: 7-23		☐ Creatinin (μmol/L)	Nam: 62-115 Nữ: 44-88 Trẻ em: 26-88	
☐ Magiê (mmol/L)	0,75 - 1,0		☐ AST (GOT) (U/L, 37°C)	≤ 37	
☐ Phosphatase kiềm (IFCC) (U/L, 37 °C)	Người lớn nam: < 128 Người lớn nữ: < 98		☐ ALT (GPT) (U/L, 37°C)	≤ 40	
☐ Glucose (mmol/L)	3,9-5,6		☐ Men gan GGT (U/L)	< 49	
☐ Dung nạp Glucose (mmol/L)	< 7,8 (sau 2 giờ)		☐ Bilirubin TP (μmol/L)	≤ 17	
☐ HbA1C (%)	< 6%		☐ Bilirubin TT (μmol/L)	≤ 4,3	
☐ Triglycerid (mmol/L)	0,5-2,0		☐ HBsAg	Âm tính	
☐ Cholesterol (mmol/L)	3,9-5,2		☐ HBeAg	Âm tính	
☐ HDL-C (mmol/L)	≥ 1,03		☐ HBsAb		
☐ LDL-C (mmol/L)	< 3,4		☐ HBeAb		
☐ Albumin (g/L)	32-52		☐ Xét nghiệm khác:		
☐ Protein TP (g/L)	65-82				
XÉT NGHIỆM PHÂN, NƯỚC TIỂU					
☐ Phân (5 chỉ tiêu)			☐ Nước tiểu (10 chỉ tiêu)		

Số lượng XN: _____

Bác sỹ chỉ định

Người lấy mẫu

Người nhận mẫu

Họ tên:

Họ tên:

Họ tên:

..... giờ..... ngày..... tháng..... năm 20

..... giờ..... ngày..... tháng..... năm 20

..... giờ..... ngày..... tháng..... năm 20

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 26:

ĐÁNH GIÁ HOẠT ĐỘNG THỂ LỰC NGƯỜI TRƯỞNG THÀNH BẢNG BỘ CÂU HỎI GPAQ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Xây dựng quy trình kỹ thuật đánh giá hoạt động thể lực người trưởng thành bằng bộ câu hỏi GPAQ, làm cơ sở để thu thập thông tin và đánh giá hoạt động thể lực của người trưởng thành.

1.2. Định nghĩa

- **Hoạt động thể lực:** Là bất kỳ các chuyển động của cơ thể được thực hiện bởi hệ cơ xương mà đòi hỏi phải tiêu hao năng lượng bao gồm những hoạt động được thực hiện trong khi làm việc, làm việc nhà, vui chơi, di chuyển và tham gia vào các hoạt động giải trí, chơi thể thao.

- **Cường độ hoạt động thể lực:** Là tỷ lệ tiêu hao năng lượng hoạt động thể lực trên một đơn vị thời gian.

- **Mức tiêu hao năng lượng 1kcal/kg/giờ (MET):** là chỉ số tương quan giữa mức tiêu hao năng lượng khi thực hiện hoạt động thể lực so với năng lượng tiêu hao lúc nghỉ ngơi của một đối tượng. Một MET là năng lượng sử dụng khi ngồi yên hoàn toàn và tương đương với 1kcal/kg/giờ. Ước tính, so với ngồi yên, mức tiêu thụ calo của một người cao gấp 4 lần khi hoạt động cường độ trung bình và cao gấp 8 lần khi hoạt động cường độ cao.

- **Bộ câu hỏi đánh giá hoạt động thể lực GPAQ:** Là bộ câu hỏi được Tổ chức Y tế thế giới (WHO) phát triển để giám sát hoạt động thể lực ở các nước, bao gồm 16 câu hỏi (P1 - P16) về thời gian và mức độ hoạt động thể lực (HĐTL) chia theo 3 lĩnh vực hoạt động (công việc, đi lại và giải trí) và câu hỏi về thời gian và hoạt động tính tại trong một tuần điển hình (phụ lục số 1).

- **Hoạt động thể lực cường độ nặng:** là các hoạt động thể lực mà khi thực hiện phải gắng sức, nhịp thở gấp gấp hơn so với bình thường, nói chuyện đứt quãng, ví dụ: tập tạ, chạy nhanh, cuốc đất, bê gạch nặng, mang vác vật nặng...

- **Hoạt động thể lực cường độ vừa phải:** là các hoạt động thể lực mà khi thực hiện phải gắng sức một chút và làm cho nhịp thở nhanh hơn bình thường, ví dụ: mang vác những vật nhẹ, đạp xe với tốc độ vừa phải... nhưng không bao gồm việc đi bộ.

- **Hoạt động thể lực cường độ nhẹ:** là các hoạt động thể lực mà khi thực hiện không phải gắng sức và không làm cho nhịp thở nhanh hơn bình thường thời gian hoạt động liên tục một lần từ 10 phút trở lên.

(Phụ lục 3: Danh mục các loại HĐTL theo các mức độ cường độ nặng, cường độ vừa và cường độ nhẹ)

1.3. Nguyên lý

Đánh giá hoạt động thể lực nhằm đo lường, phân tích và đánh giá mức độ hoạt động thể chất của một cá nhân trong một khoảng thời gian cụ thể. Việc đánh giá này giúp hiểu rõ hơn về thói quen vận động, mức độ thể lực và tác động của hoạt động thể lực đối với sức khỏe. Bộ câu hỏi GPAQ tập trung vào ba loại hoạt động thể lực

chính mà người tham gia có thể thực hiện trong một tuần: hoạt động thể lực trong công việc, hoạt động thể lực trong di chuyển hàng ngày, hoạt động giải trí. GPAQ không chỉ đo lường tần suất (số lần thực hiện mỗi hoạt động trong một tuần) mà còn đo lường cường độ (mức độ gắng sức của hoạt động) và thời gian (số phút tham gia vào các hoạt động mỗi ngày hoặc mỗi tuần). GPAQ được thiết kế dễ sử dụng và có thể áp dụng trên diện rộng, các câu hỏi giúp người tham gia tự báo cáo về thói quen về hoạt động thể lực của mình trong một tuần qua mà không cần đến các thiết bị đo phức tạp.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người phỏng vấn phiếu điều tra	01	Được đào tạo thành thạo về kỹ thuật sử dụng bộ câu hỏi GPAQ, trình độ đại học trở lên.
2	Người thực hiện xử lý số liệu	01	Được đào tạo kỹ thuật làm sạch, xử lý số liệu, đánh giá kết quả bộ câu hỏi GPAQ, trình độ đại học trở lên.

2.2. Vật tư trực tiếp

Vật tư để thu thập thông tin

- Bộ câu hỏi được in sẵn ra giấy (phụ lục Bộ câu hỏi): 1 bộ/đối tượng (2 tờ giấy A4).
- Phiếu ghi kết quả đánh giá: 1 phiếu/ đối tượng (1 tờ giấy A4).
- Bộ ảnh minh hoạt và danh mục các loại HĐTL theo các mức độ cường độ nặng, cường độ vừa phải và cường độ nhẹ cho 1 cán bộ phỏng vấn: 1 bộ.
- Bút bi cho 1 người phỏng vấn: 1 cái.

2.3. Thiết bị

Trang thiết bị để phân tích, xử lý, đánh giá:

- Máy tính: 1 bộ.
- Bàn, ghế văn phòng: 1 bộ.

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm (nếu có): Không áp dụng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

- Tại phòng khám, bác sỹ hoặc cán bộ chuyên môn phù hợp chỉ định việc đánh giá hoạt động thể lực bằng quy trình này cho từng bệnh nhân nếu cần.
- Trong hoạt động nghiên cứu, chủ nhiệm đề tài hoặc phụ trách hoạt động cần nhắc sử dụng quy trình này nếu cần để đánh giá hoạt động thể lực cho đối tượng tham gia nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Người phỏng vấn phiếu điều tra	Phỏng vấn phiếu đánh giá hoạt động thể lực GPAQ	40 phút
2	Người thực hiện xử lý số liệu	Làm sạch, xử lý số liệu, đánh giá kết quả bộ câu hỏi GPAQ	10 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại các địa điểm thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các phòng khám dinh dưỡng.

3. An toàn

Không áp dụng do quy trình này chỉ hỏi và không có nguy cơ gây mất an toàn, không có tác động trực tiếp vào người đối tượng.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Phỏng vấn thu thông tin từ người tham gia

4.1.1.1. Các bước phỏng vấn thu thập thông tin

Bước 1: Người phỏng vấn giới thiệu bản thân, thông báo nội dung sẽ phỏng vấn thông tin về hoạt động thể lực.

Bước 2: Hỏi về các công việc có cường độ nặng (câu P1, P2, P3)

Bước 3: Hỏi về các công việc có cường độ vừa phải (câu P4, P5, P6)

Bước 4: Hỏi về hoạt động đi lại (câu P7, P8, P9)

Bước 5: Hỏi về các hoạt động giải trí có cường độ nặng (câu P10, P11, P12)

Bước 6: Hỏi về các hoạt động giải trí có cường độ vừa phải (câu P13, P14, P15)

Bước 7: Hỏi về thói quen tĩnh tại (câu P16)

Bước 8: Người phỏng vấn tóm tắt lại các câu trả lời của người được phỏng vấn.

Bước 9: Người phỏng vấn cảm ơn và kết thúc quá trình hỏi hoạt động thể lực.

4.1.1.2. Lưu ý khi phỏng vấn

- Phải hỏi tất cả các câu hỏi. Chỉ bỏ qua các câu hỏi chi tiết về ngày và giờ tương ứng nếu các câu P1, P4, P7, P10 hoặc P13 trả lời là không.

- Khi hỏi cần:

- + Đọc đúng như được viết trong phiếu
- + Đọc chậm rãi và rõ ràng, nhấn mạnh các từ được in đậm/gạch chân
- + Đọc bằng giọng dễ chịu, thể hiện sự quan tâm và chuyên nghiệp
- + Đảm bảo người được phỏng vấn đã nghe được toàn bộ câu hỏi

Chú ý: không được thay đổi:

- + Câu chữ
- + Thứ tự các câu hỏi
- Không đưa ra các giả định hay nhận xét về câu trả lời của người được phỏng vấn.

4.1.1.3. Hướng dẫn phỏng vấn bộ câu hỏi GPAQ

	Hướng dẫn phỏng vấn
Tôi sẽ hỏi anh/chị về thời gian dành cho các mức độ hoạt động thể lực khác nhau trong 1 tuần thông thường. Xin trả lời những câu hỏi này mặc dù anh/chị không coi mình là một người vận động nhiều. Trước tiên là về thời gian anh/chị làm các công việc. Đó là bất kỳ công việc gì anh/chị phải làm ví dụ công việc được trả tiền hoặc không được trả tiền, học tập, giảng dạy, công việc gia đình, làm ruộng, làm rẫy, chài lưới đánh bắt cá, săn bắn... Trong những câu hỏi sau đây, “Hoạt động cường độ nặng” là những hoạt động phải gắng sức nhiều làm anh/chị phải thở gấp và tim đập nhanh hơn bình thường rất nhiều. “Hoạt động cường độ vừa phải” là các hoạt động cần gắng sức nhẹ làm tăng nhẹ nhịp thở hoặc nhịp tim.	⇒ Đọc to lời mở đầu, không nên bỏ qua. Người trả lời sẽ phải suy nghĩ về thời gian họ dành cho công việc (được trả tiền hoặc không được trả tiền, học tập, giảng dạy, việc nhà, làm ruộng, chài lưới, săn bắn... (có thể thêm các ví dụ khác nếu cần), sau đó về thời gian anh ấy/cô ấy đi lại từ nơi này sang nơi khác, và cuối cùng là về thời gian dành cho hoạt động cường độ nặng cũng như vừa phải trong thời gian rảnh rỗi. Nhắc người trả lời rằng “hoạt động cường độ nặng” là các hoạt động đòi hỏi phải gắng sức và gây thở gấp và nhịp tim đập nhanh, “hoạt động cường độ vừa phải” là các hoạt động đòi hỏi nỗ lực thể chất vừa và gây ra sự gia tăng trong nhịp thở hoặc nhịp tim. Sử dụng hình ảnh minh họa để giúp người trả lời khi trả lời các câu hỏi.
Câu hỏi	
Làm việc	
P1. Công việc của anh/chị có đòi hỏi <u>hoạt động cường độ nặng</u> làm Anh/Chị phải <u>thở gấp và tim đập nhanh hơn bình thường</u> (như mang vác nặng, đào bới, công việc xây dựng) liên tục từ <u>10 phút trở lên</u> không?	⇒ Yêu cầu người tham gia chỉ suy nghĩ về các hoạt động cường độ nặng tại nơi làm việc. Chú ý giải thích rõ những điểm sau - Công việc có cường độ nặng là những công việc làm cho anh/chị phải thở gấp và nhịp tim đập nhanh; - Nêu một số ví dụ: nhắc, mang vác nặng, đào bới, xây dựng... (sử dụng tranh minh họa); Thời gian làm công việc đó mỗi lần phải ít nhất từ 10 phút trở lên

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

P2. Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị làm những công việc nặng như vậy?	⇒ “Tuần thông thường” có nghĩa là một tuần khi người trả lời tham gia vào các hoạt động thông thường của mình. Câu trả lời hợp lệ từ 1 – 7.
P3. Thông thường trong một ngày, anh/chị phải làm việc nặng như vậy trong tổng thời gian bao lâu?	⇒ Yêu cầu người trả lời nghĩ về một ngày điển hình mà họ có thể nhớ lại dễ dàng trong đó họ tham gia vào các hoạt động cường độ nặng tại nơi làm việc. Người trả lời chỉ nên xem xét những hoạt động thực hiện liên tục trong 10 phút trở lên. Hỏi lại xác minh nếu câu trả lời là rất lâu (trên 4 giờ).
P4. Công việc của anh/chị có liên quan đến các hoạt động <u>cường độ vừa phải</u> làm <u>tăng nhẹ nhịp thở hoặc nhịp tim</u> (như đi nhanh, mang vác nhẹ) <u>liên tục từ 10 phút trở lên</u> không?	⇒ Yêu cầu người trả lời chỉ suy nghĩ về các hoạt động cường độ vừa phải tại nơi làm việc. Chú ý giải thích rõ những điểm sau: - Công việc có cường độ vừa phải là những hoạt động làm cho nhịp tim hoặc/và nhịp thở tăng nhẹ; - Nêu một số ví dụ cụ thể: đi nhanh, mang vác nhẹ... (sử dụng tranh minh họa) Thời gian làm công việc đó mỗi lần phải ít nhất từ 10 phút trở lên
P5. Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị làm những công việc có cường độ vừa phải như vậy?	⇒ “Tuần thông thường” có nghĩa là một tuần khi người trả lời tham gia vào các hoạt động thông thường của mình. Câu trả lời hợp lệ từ 1 – 7.
P6. Thông thường trong 1 ngày, anh/chị phải làm những công việc có cường độ vừa phải phải đó trong tổng thời gian bao lâu.	⇒ Yêu cầu người trả lời nghĩ về một ngày điển hình mà họ có thể nhớ lại dễ dàng trong đó họ tham gia vào các hoạt động cường độ vừa phải tại nơi làm việc. Người tham gia chỉ nên xem xét những hoạt động được thực hiện liên tục trong 10 phút trở lên. Hỏi lại xác minh nếu câu trả lời là rất lâu (trên 4 giờ).
Hoạt động đi lại Ngoài những công việc đã nêu ở trên, bây giờ tôi xin được hỏi về cách thức đi lại của Anh/Chị, ví dụ như đi làm, đi mua sắm, đi chợ, đi chùa/nhà thờ...	⇒ Việc giới thiệu các câu hỏi liên quan đến di chuyển là rất quan trọng. Nó yêu cầu và giúp người trả lời suy nghĩ về cách thức họ di chuyển từ nơi này đến nơi khác.

(Không tính những lúc đi xe đạp hay đi bộ để luyện tập sức khỏe)	<i>Không nên bỏ qua câu giới thiệu này.</i>
P7. Anh/chị có đi bộ hoặc đạp xe liên tục từ 10 phút trở lên không? Không tính đi xe đạp thể dục hay đi bộ thể dục	⇒ <i>Chọn câu trả lời thích hợp</i>
P8. Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị đi bộ hoặc đạp xe liên tục từ 10 phút trở lên?	⇒ <i>“Tuần thông thường” có nghĩa là một tuần khi người trả lời tham gia vào các hoạt động thông thường của mình. Câu trả lời hợp lệ từ 1 – 7.</i>
P9. Thông thường trong 1 ngày, tổng cộng anh/chị đi bộ hoặc đạp xe trong bao lâu?	⇒ <i>Yêu cầu người trả lời nghĩ về một ngày điển hình mà họ có thể nhớ lại dễ dàng trong đó họ tham gia vào các hoạt động liên quan đến đi lại. Người trả lời chỉ nên xem xét những hoạt động được thực hiện liên tục trong 10 phút trở lên. Hỏi lại xác minh nếu câu trả lời là rất lâu (trên 4 giờ).</i>
Các hoạt động giải trí Bây giờ tôi muốn hỏi về các hoạt động thể thao, luyện tập, giải trí của anh/chị. Những câu hỏi tiếp theo này không tính đến các hoạt động khi làm việc và đi lại mà anh/chị đã trả lời ở những câu hỏi trước.	⇒ <i>Câu giới thiệu giúp người trả lời nghĩ về các hoạt động giải trí. Bao gồm thời gian rảnh rỗi và giải trí. Gồm hoạt động thể thao, và tập thể dục. Các hoạt động được hỏi là những hoạt động thực hiện thường xuyên. Không nên bỏ qua câu giới thiệu này.</i>
P10. Anh/chị có tham gia hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí nào với cường độ nặng làm nhịp thở hoặc nhịp tim tăng nhiều (ví dụ như chạy, đá bóng) ít nhất mỗi lần từ 10 phút trở lên không? (DÙNG TRANH MINH HỌA GIẢI THÍCH)	⇒ <i>Yêu cầu người trả lời chỉ suy nghĩ về các hoạt động cường độ nặng mà họ phải gắng sức, phải thở gấp hoặc nhịp tim tăng nhiều.</i>
P11. Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị tham gia những hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí cường độ nặng?	⇒ <i>“Tuần thông thường” có nghĩa là một tuần khi người trả lời tham gia vào các hoạt động thông thường của mình. Câu trả lời hợp lệ từ 1 – 7.</i>
P12. Thông thường trong 1 ngày, anh/chị tham gia các hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí cường độ nặng như vậy trong tổng thời gian bao nhiêu lâu?	⇒ <i>Yêu cầu người trả lời nghĩ về một ngày điển hình mà họ có thể nhớ lại dễ dàng trong đó họ tham gia vào các hoạt động giải trí có cường độ</i>

Được 

	<i>nặng. Người trả lời chỉ nên xem xét những hoạt động được thực hiện liên tục trong 10 phút trở lên. Hỏi lại xác minh nếu câu trả lời là rất lâu (trên 4 giờ).</i>
P13. Anh/chị có hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí nào với <u>cường độ vừa phải</u> <u>phải</u> làm cho <u>nhịp thở và nhịp tim của anh/chị tăng hơn bình thường một ít</u> (như đi bộ, đạp xe, bơi) ít nhất liên tục từ <u>10 phút trở lên không?</u> (DỪNG TRANH MINH HỌA GIẢI THÍCH)	⇒ <i>Yêu cầu người trả lời chỉ suy nghĩ về các hoạt động giải trí có cường độ vừa phải, làm cho nhịp tim hoặc/và nhịp thở tăng nhẹ. Thời gian làm công việc đó mỗi lần phải ít nhất từ 10 phút trở lên</i>
P14. Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị có những hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí cường độ vừa phải?	⇒ <i>“Tuần thông thường” có nghĩa là một tuần khi người trả lời tham gia vào các hoạt động thông thường của mình. Câu trả lời hợp lệ từ 1 – 7.</i>
P15. Thông thường trong 1 ngày, anh/chị tham gia các hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí với cường độ vừa phải phải như vậy trong tổng thời gian bao nhiêu lâu?	⇒ <i>Yêu cầu người trả lời nghĩ về một ngày bình thường mà họ có thể nhớ lại dễ dàng trong đó họ tham gia vào các hoạt động giải trí có cường độ vừa phải. Người trả lời chỉ nên xem xét những hoạt động được thực hiện liên tục trong 10 phút trở lên. Hỏi lại xác minh nếu câu trả lời là rất lâu (trên 4 giờ).</i>
Thói quen tĩnh (không vận động) <i>Câu hỏi tiếp theo là về việc ngồi hoặc nằm tựa trong khi làm việc, khi ở nhà, trong khi di chuyển hoặc với bạn bè (bao gồm cả thời gian ngồi ở bàn, ngồi ăn, ngồi với bạn bè, làm việc máy tính ở cơ quan ngồi làm công việc thủ công như đan lát, đi lại bằng ô tô, tàu hỏa, chơi bài, xem TV) không bao gồm thời gian ngủ (dùng tranh minh họa)</i>	
P16. Thông thường trong 1 ngày, anh/chị thường ngồi hoặc nằm tựa trong thời gian bao lâu?	<i>Xem xét tổng thời gian ngồi làm việc, trong văn phòng, đọc, xem tivi, sử dụng máy tính, làm thủ công như đan lát, nghỉ ngơi.... Không bao gồm thời gian ngủ.</i>

4.1.2 Làm sạch số liệu, xử lý

4.1.2.1. Làm sạch số liệu

- Đảm bảo tất cả các câu hỏi phải được trả lời.
- Nếu giá trị ở các biến “giờ” là 15, 30, 45 hoặc 60 => chuyển sang biến “phút” tương ứng nếu biến “phút” tương ứng để trống hoặc bằng không.
- Nếu ít nhất một “miền phụ” (làm việc nặng, làm việc vừa phải, đi lại, hoạt động giải trí nặng hoặc hoạt động giải trí vừa phải) có giá trị của “giờ” và “phút” lớn hơn 16 giờ => xem lại, loại bỏ đối tượng khi phân tích số liệu.
- Nếu người trả lời có các giá trị không hợp lý (ví dụ: >7 ngày trong bất kỳ ngày nào) => xem lại, loại bỏ đối tượng khi phân tích số liệu.
- Nếu người trả lời không có sự nhất quán câu trả lời (ví dụ: 0 ngày, nhưng giá trị >0 ở các biến về thời gian tương ứng) => xem lại, loại bỏ đối tượng khi phân tích số liệu.
- Nếu toàn bộ các “miền phụ” (làm việc cao, công việc vừa phải, đi lại, giải trí mức độ cao hoặc hoạt động giải trí mức độ vừa phải) bị thiếu giá trị, nhưng các “tên miền phụ” khác là hợp lệ => Bao gồm trường hợp trong phân tích, giả sử không có hoạt động nào (0 ngày, 0 lần) cho “tên miền phụ” này. Điều đó có nghĩa là miễn là ít nhất một “tên miền phụ” có câu trả lời hợp lệ và tất cả những phần khác bị thiếu thì người này vẫn được đưa vào để phân tích.

4.1.2.2. Xử lý số liệu

- Tính thời gian theo “phút” ở các biến về thời gian (P3, P6, P9, P12, P15).
- Khi tính chỉ tiêu năng lượng tổng thể của một người bằng GPAQ, 4 MET được gán cho thời gian dành cho các hoạt động cường độ vừa phải và 8 MET cho thời gian dành cho các hoạt động cường độ nặng.

Quy đổi thời gian thành mức năng lượng tiêu hao tương đương (MET) bằng cách:

- + Nhân 8 với loại công việc và hoạt động giải trí có mức độ nặng.
- + Nhân 4 với loại công việc, đi lại và hoạt động giải trí có mức độ vừa phải.
- Tính tổng hoạt động thể lực MET-phút/tuần.

Tổng Hoạt động thể lực = $[(P2 * P3 * 8) + (P5 * P6 * 4) + (P8 * P9 * 4) + (P11 * P12 * 8) + (P14 * P15 * 4)]$

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Đánh giá hoạt động thể lực

Khuyến nghị của WHO về hoạt động thể lực: Theo khuyến nghị của WHO, trong 1 tuần, bao gồm cả hoạt động cho công việc, đi lại và giải trí, người trưởng thành (từ 16 tuổi trở lên) nên thực hiện ít nhất:

- 150 – 300 phút hoạt động thể lực cường độ vừa phải **HOẶC**
- 75 -150 phút hoạt động thể lực cường độ nặng **HOẶC**
- Một sự kết hợp tương đương của hoạt động thể lực cường độ vừa phải và cường độ nặng đạt ít nhất 600MET-phút/tuần.

Handwritten signatures:

Phân loại mức hoạt động thể lực: Theo WHO, hoạt động thể lực được phân thành 3 mức độ: cao, trung bình, thấp.

- **Mức hoạt động thể lực cao:** Một người đạt mức HĐTL “cao” nếu đạt tiêu chí sau:

+ Hoạt động cường độ nặng trong ít nhất 3 ngày và đạt ít nhất 1500 MET-phút/tuần **HOẶC**

+ Có từ 7 ngày trở lên thực hiện các hoạt động kết hợp đi bộ, hoạt động thể lực cường độ vừa phải hoặc hoạt động cường độ nặng và đạt ít nhất 3000MET-phút/tuần.

- **Mức hoạt động thể lực trung bình:** Một người có mức HĐTL “trung bình” nếu không đạt mức HĐTL “cao” nhưng thỏa mãn bất kỳ một trong các điều kiện sau:

+ Có từ 3 ngày trở lên có các hoạt động thể lực cường độ nặng ít nhất 20 phút mỗi ngày **HOẶC**

+ Có từ 5 ngày trở lên có các hoạt động thể lực cường độ vừa phải hoặc đi bộ ít nhất 30 phút mỗi ngày **HOẶC**

+ Có từ 5 ngày trở lên thực hiện kết hợp các hoạt động đi bộ, hoạt động cường độ vừa phải hoặc hoạt động cường độ nặng và đạt ít nhất 600 MET-phút/tuần.

- **Mức hoạt động thể lực thấp:** Một người không đạt HĐTL “cao” và HĐTL “trung bình” thì được phân vào mức HĐTL “thấp”.

4.2.2. Đánh giá phân loại hoạt động thể lực dựa vào kết quả phỏng vấn GPAQ được phân loại như sau:

Phân loại của tổng hoạt động thể lực	Giá trị ngưỡng hoạt động thể lực
Cao	• Nếu $(P2 + P11) \geq 3$ ngày VÀ tổng hoạt động thể lực ≥ 1500 MET-phút/tuần HOẶC • Nếu $(P2 + P5 + P8 + P11 + P14) \geq 7$ ngày VÀ tổng hoạt động thể lực ≥ 3000 MET-phút/tuần
Trung bình	• Nếu không đạt tiêu chí của HĐTL mức cao VÀ đạt ít nhất một tiêu chí sau: • Nếu $(P2 + P11) \geq 3$ ngày VÀ $((P2 \cdot P3) + (P11 \cdot P12)) \geq 3 \cdot 20$ phút HOẶC • Nếu $(P2 + P11) \geq 3$ ngày VÀ $(P5 \cdot P6) + (P8 \cdot P9) + (P14 \cdot P15) \geq 150$ phút HOẶC • Nếu $(P2 + P5 + P8 + P11 + P14) \geq 5$ ngày VÀ tổng hoạt động thể lực ≥ 600 MET-phút/tuần
Thấp	Nếu HĐTL không đạt các tiêu chí của HĐTL mức cao và HĐTL mức trung bình.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ở phòng khám, kết quả đánh giá hoạt động thể lực bằng quy trình này sẽ được trả cho người được đánh giá.

- Đối với hoạt động nghiên cứu hoặc hoạt động tại cộng đồng, chủ nhiệm đề tài cân nhắc việc trả kết quả đánh giá hoạt động thể lực cho một số người có vấn đề về dinh dưỡng hoặc sức khỏe cần tư vấn hoặc khi đối tượng có yêu cầu.

- Phiếu hỏi sẽ được lưu trữ tại ở đơn vị thực hiện kỹ thuật như phòng khám hoặc đơn vị triển khai hoạt động đánh giá hoạt động thể lực theo thời gian quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật (không có)

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Tình huống	Cách xử trí
- Đối tượng không thể trả lời được câu hỏi; - Đối tượng không hiểu câu hỏi và đưa ra câu trả lời không phù hợp; - Đối tượng do dự và mất nhiều thời gian để trả lời câu hỏi; - Đối tượng hỏi lại về một nội dung của câu hỏi; - Đối tượng yêu cầu làm rõ một thuật ngữ.	Người phỏng vấn làm rõ thông tin cho người tham gia hiểu
- Đối tượng hiểu câu hỏi nhưng đưa ra câu trả lời không phù hợp; - Đối tượng không hiểu những gì đã được nói hoặc làm rõ câu trả lời; - Đối tượng cung cấp thông tin không đầy đủ hoặc câu trả lời không rõ ràng. - Đối tượng không biết câu trả lời	Người phỏng vấn cần hỏi thăm dò thêm để có câu trả lời phù hợp từ người tham gia
- Phân loại hoạt động thể lực sai	Người thực hiện quy trình tuân thủ đúng các bước, kiểm tra lại kết quả phân loại hoạt động thể lực, phụ trách đơn vị hoặc giám sát viên kiểm tra kết quả phân loại hoạt động thể lực.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật (không có)

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình và giám sát viên trong cuộc điều tra hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- WHO (2022), "Physical Activity". <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/physical-activity>.

- World Health Organization (2002). Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ). Analysis guide.

- Bộ Y tế, Cục Y tế dự phòng, "Điều tra quốc gia yếu tố nguy cơ bệnh không lây nhiễm tại Việt Nam năm 2015," 2016.

- Au, T. B., Blizzard, L., Schmidt, M., Pham, L. H., Magnussen, C., & Dwyer, T. (2010). Reliability and validity of the global physical activity questionnaire in Vietnam. *Journal of physical activity & health*, 7(3), 410–418.

- Ainsworth, B. E., Haskell, W. L., Herrmann, S. D., Meckes, N., Bassett, D. R., Jr, Tudor-Locke, C., Greer, J. L., Vezina, J., Whitt-Glover, M. C., & Leon, A. S. (2011). 2011 Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values. *Medicine and science in sports and exercise*, 43(8), 1575–1581.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 26

Phụ lục số 1:

**PHIẾU THU THẬP THÔNG TIN
BỘ CÂU HỎI GPAQ**

HOẠT ĐỘNG THỂ LỰC		
Tôi sẽ hỏi anh/chị về thời gian dành cho các mức độ hoạt động thể lực khác nhau trong 1 tuần thông thường. Xin trả lời những câu hỏi này mặc dù anh/chị không coi mình là một người vận động nhiều. Trước tiên là về thời gian anh/chị làm các công việc. Đó là bất kỳ công việc gì anh/chị phải làm ví dụ công việc được trả tiền hoặc không được trả tiền, học tập, giảng dạy, công việc gia đình, làm ruộng, làm rẫy, chài lưới đánh bắt cá, săn bắn... Trong những câu hỏi sau đây, “Hoạt động cường độ nặng” là những hoạt động phải gắng sức nhiều làm Anh/Chị phải thở gấp và tim đập nhanh hơn bình thường. “Hoạt động cường độ vừa phải” là các hoạt động cần gắng sức nhẹ làm tăng nhẹ nhịp thở hoặc nhịp tim.		
Câu hỏi	Trả lời	Code
Làm việc		
Công việc của anh/chị có đòi hỏi <u>hoạt động cường độ nặng</u> làm anh/chị phải <u>thở gấp</u> và <u>tim đập nhanh hơn bình thường</u> (như mang vác nặng, đào bới, công việc xây dựng) liên tục từ <u>10 phút trở lên</u> không? <i>Chú ý giải thích rõ những điểm sau</i> - Công việc gắng sức là những công việc làm cho Anh/Chị phải thở gấp và nhịp tim đập nhanh; - Nêu một số ví dụ: nhấc, mang vác nặng, đào bới, xây dựng... (sử dụng tranh minh họa); - Thời gian làm công việc đó mỗi lần phải ít nhất từ 10 phút trở lên	Có 1 Không 2 Chuyển P4	P1
Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị làm những công việc nặng như vậy?	Số ngày: (Không nhớ: 9)	P2
Thông thường trong một ngày, anh/chị phải làm việc nặng như vậy trong tổng thời gian bao lâu?	Giờ: phút : Giờ phút	P3 (a-b)

Handwritten signatures and marks in blue ink.

Công việc của anh/chị có liên quan đến các hoạt động <u>cường độ vừa phải làm tăng nhẹ nhịp thở hoặc nhịp tim</u> (như đi nhanh, mang vác nhẹ) <u>liên tục từ 10 phút trở lên</u> không? <i>Chú ý giải thích rõ những điểm sau</i> - Công việc có cường độ vừa phải là những hoạt động làm cho nhịp tim hoặc/và nhịp thở tăng nhẹ; - Nêu một số ví dụ cụ thể: đi nhanh, mang vác nhẹ... (sử dụng tranh minh) - Thời gian làm công việc đó mỗi lần phải ít nhất từ 10 phút trở lên	Có 1 Không 2 Chuyển P7	P4
Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị làm những công việc có cường độ vừa phải như thế?	Số ngày: (Không nhớ: 9)	P5
Thông thường trong 1 ngày, anh/chị phải làm những công việc có cường độ vừa phải đó trong tổng thời gian bao lâu?	Giờ: phút : Giờ phút	P6
Hoạt động đi lại <i>Ngoài những công việc đã nêu ở trên, bây giờ tôi xin được hỏi về cách thức đi lại của anh/chị, ví dụ như đi làm, đi mua sắm, đi chợ, đi chùa/nhà thờ... (Không tính những lúc đi xe đạp hay đi bộ để luyện tập sức khỏe)</i>		
Anh/chị có đi bộ hoặc đạp xe liên tục từ 10 phút trở lên không? Không tính đi xe đạp thể dục hay đi bộ thể dục	Có 1 Không 2 Chuyển P10	P7
Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh/chị đi bộ hoặc đạp xe liên tục từ 10 phút trở lên?	Số ngày: (Không nhớ: 9)	P8
Thông thường trong 1 ngày, tổng cộng anh/chị đi bộ hoặc đạp xe trong bao lâu?	Giờ: phút : Giờ phút	P9 (a-b)
Các hoạt động giải trí <i>Bây giờ tôi muốn hỏi về các hoạt động thể thao, luyện tập, giải trí của Anh/chị. Những câu hỏi tiếp theo này không tính đến các hoạt động khi làm việc và đi lại mà Anh/Chị đã trả lời</i>		

ở những câu hỏi trước.		
Anh/chị có tham gia hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí nào với cường độ nặng làm nhịp thở hoặc nhịp tim tăng nhiều (ví dụ như chạy, đá bóng) ít nhất mỗi lần từ 10 phút trở lên không? (DÙNG TRANH MINH HỌA GIẢI THÍCH)	Có 1 Không 2 Chuyển P13	P10
Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày Anh/chị tham gia những hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí cường độ nặng?	Số ngày: (Không nhớ: 9)	P11
Thông thường trong 1 ngày, Anh/chị tham gia các hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí cường độ nặng như vậy trong tổng thời gian bao nhiêu lâu?	Giờ: phút : Giờ phút	P12 (a-b)
Anh/chị có hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí nào với cường độ vừa phải phải làm cho <u>nhịp thở và nhịp tim của anh chị tăng hơn bình thường một ít</u> (như đi bộ, đạp xe, bơi) ít nhất liên tục từ 10 phút trở lên không? (DÙNG TRANH MINH HỌA GIẢI THÍCH) Chú ý giải thích rõ những điểm sau - Công việc có cường độ trung bình là những hoạt động làm cho nhịp tim hoặc/và nhịp thở tăng nhẹ; - Nêu một số ví dụ cụ thể: đi nhanh, mang vác nhẹ... (sử dụng tranh minh) Thời gian làm công việc đó mỗi lần phải ít nhất từ 10 phút trở lên	Có 1 Không 2 Chuyển P16	P13
Thông thường trong 1 tuần, bao nhiêu ngày anh chị có những hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí cường độ vừa phải?	Số ngày: (Không nhớ: 9)	P14
Thông thường trong 1 ngày, Anh/chị tham gia các hoạt động thể thao, luyện tập hoặc giải trí với cường độ vừa phải phải như vậy trong tổng thời gian bao nhiêu lâu?	Giờ: phút : Giờ phút	P15 (a-b)

Được *MS*

Thói quen tĩnh (không vận động)

Câu hỏi tiếp theo là về việc ngồi hoặc nằm tựa trong khi làm việc, khi ở nhà, trong khi di chuyển hoặc với bạn bè (bao gồm cả thời gian ngồi ở bàn, ngồi ăn, ngồi với bạn bè, làm việc máy tính ở cơ quan ngồi làm công việc thủ công như đan lát, đi lại bằng ô tô, tàu hỏa, chơi bài, xem TV) không bao gồm thời gian ngủ (dùng tranh minh họa)

Thông thường trong 1 ngày, anh/chị thường ngồi hoặc nằm tựa trong thời gian bao lâu?

Giờ: phút

:
 Giờ phút

P16
(a-b)

Phụ lục số 2:

DANH MỤC HOẠT ĐỘNG CÓ CƯỜNG ĐỘ NẶNG, CƯỜNG ĐỘ VỪA VÀ CƯỜNG ĐỘ NHẸ

STT	Hoạt động	Ghi chú (MET)	TLTK
I	Danh mục các hoạt động cường độ nặng		
1	Mang vác nặng		Bộ Y tế, Cục Y tế dự phòng, “Điều tra quốc gia yếu tố nguy cơ bệnh không lây nhiễm tại Việt Nam năm 2015,” 2016.
2	Đào bới đất		
3	Công việc làm đường		
4	Công việc xây dựng		
5	Bóng rổ		
6	Đá bóng		
7	Tennis		
8	Bóng chuyền		
9	Golf		
10	Cầu lông		
11	Chạy		
12	Chèo thuyền,		
13	Chạy bộ tại chỗ, chạy luyện tập, chạy đẩy xe lăn hoặc địu em bé	8	2011 Compendium of Physical Activities

14	Nghề nghiệp lính cứu hỏa	8	2011 Compendium of Physical Activities
15	Nghề sử dụng công cụ nặng như xẻng, cuốc, thuổng	8	2011 Compendium of Physical Activities
16	Chơi thể thao các môn huấn luyện tích cực với người chơi, bóng đá cạnh tranh	8	2011 Compendium of Physical Activities
17	Leo núi	8	2011 Compendium of Physical Activities
18	Leo cầu thang	8	2011 Compendium of Physical Activities
19	Bơi lội	8	2011 Compendium of Physical Activities
II	Danh mục các hoạt động cường độ vừa		
1	Gánh gồng nhẹ		Bộ Y tế, Cục Y tế dự phòng, "Điều tra quốc gia yếu tố nguy cơ bệnh không lây nhiễm tại Việt Nam năm 2015," 2016.
2	Mang vác nhẹ		
3	Đạp xe		
4	Đi bộ		
5	Dưỡng sinh		
6	Khiêu vũ		
7	Bơi ngựa, bơi giải trí	4,8	2011 Compendium of Physical Activities
8	Chặt gỗ, chẻ củi, nỗ lực vừa phải	4,5	2011 Compendium of Physical Activities
9	Trồng cây, làm vườn, làm cỏ	4,5	2011 Compendium of Physical Activities
10	Nghề liên quan đến trồng trọt, chăm sóc động vật (chải lông, xén lông, chăm sóc y tế...)	4,5	2011 Compendium of Physical Activities
11	Lao động chân tay hoặc không có kỹ năng, nỗ lực chung ở mức vừa phải	4,5	2011 Compendium of Physical Activities
12	Đứng gắng sức vừa phải, nâng vật liên tục, hạn chế đi bộ hoặc nghỉ ngơi	4,5	2011 Compendium of Physical Activities

13	Nghề mộc nói chung, nỗ lực vừa phải	4,3	2011 Compendium of Physical Activities
14	Trồng trọt, chăn nuôi gia súc, trâu, bò	4,3	2011 Compendium of Physical Activities
15	Nghề nghiệp đòi hỏi phải đi bộ trong công việc, trong văn phòng, tốc độ nhanh, không mang theo gì	4,3	2011 Compendium of Physical Activities
16	Chơi gôn, đi bộ, mang theo gậy	4,3	2011 Compendium of Physical Activities
17	Đi dạo: đi bộ, bằng phẳng, đi nhanh, đi bộ để tập thể dục	4,3	2011 Compendium of Physical Activities
18	Tập yoga	4	2011 Compendium of Physical Activities
19	Giặt quần áo bằng tay, giặt treo, gây tổn sức vừa phải	4	2011 Compendium of Physical Activities
20	Quét nhà, vỉa hè hoặc bên ngoài nhà	4	2011 Compendium of Physical Activities
21	Nhân viên dọn phòng, dọn phòng khách sạn, dọn dẹp nhà tắm	4	2011 Compendium of Physical Activities
22	Người thu gom rác, đi bộ, đổ thùng vào xe tải	4	2011 Compendium of Physical Activities
23	May vá, dệt vải, nỗ lực vừa phải (ví dụ: các hoạt động kéo sợi và dệt vải, cuộn dây, cắt vải...)	4	2011 Compendium of Physical Activities
24	Huấn luyện bóng đá, bóng đá, bóng rổ, bơi lội...	4	2011 Compendium of Physical Activities
III	Danh mục các hoạt động cường độ nhẹ		
1	Ngồi thư giãn		Bộ Y tế, Cục Y tế dự phòng, “Điều tra quốc gia yếu tố nguy cơ bệnh không lây nhiễm tại Việt Nam năm 2015,” 2016.
2	Xem tivi		
3	Ngồi sau xe đạp		
4	Nằm võng		
5	Ngồi các phương tiện di chuyển (xe, tàu...)		

6	Ngồi		
7	Ngồi làm việc văn phòng nhẹ nhàng	1,5	2011 Compendium of Physical Activities
8	Thái cực quyền, khí công, ngồi, nỗ lực nhẹ nhàng	1,5	2011 Compendium of Physical Activities
9	Công việc ngồi, nỗ lực nhẹ nhàng (ví dụ: công việc văn phòng, công việc trong phòng thí nghiệm hóa học, công việc máy tính, sửa chữa lắp ráp đèn, sửa đồng hồ, đọc sách tại bàn)	1,5	2011 Compendium of Physical Activities
10	Đi xe ô tô hoặc xe tải, xe buýt hoặc tàu hỏa	1,3	2011 Compendium of Physical Activities
11	Ngồi học tập nói chung bao gồm đọc và/hoặc viết, nỗ lực nhẹ	1,3	2011 Compendium of Physical Activities
12	Ngồi, viết tại bàn làm việc, đánh máy tính	1,3	2011 Compendium of Physical Activities
13	Ngồi, ngồi đọc sách, đọc báo...	1,3	2011 Compendium of Physical Activities
14	Ngà lưng, nói chuyện hoặc nói chuyện điện thoại	1,3	2011 Compendium of Physical Activities
15	Đan lát, may vá nhẹ nhàng, gói quà	1,3	2011 Compendium of Physical Activities

Phụ lục số 03:

PHIẾU KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ

PHIẾU KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ GPAQ

- Họ và tên:
- Giới tính: NAM/ NỮ
- Năm sinh:
- Tổng điểm Hoạt động thể lực (MET-phút/tuần):

Phân loại mức hoạt động thể lực	HĐTL mức cao	HĐTL mức trung bình	HĐTL mức thấp

- Thời gian:

- Ngày, tháng, năm:

Cán bộ đánh giá kết quả
(*ký, họ và tên*)

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 27:

**ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG KHẨU PHẦN NGƯỜI TRƯỞNG THÀNH BẢNG
CHỈ SỐ VHEI**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Hướng dẫn thực hiện đánh giá chất lượng khẩu phần của người trưởng thành sử dụng chỉ số ăn uống lành mạnh VHEI.

1.2. Định nghĩa

Chỉ số ăn uống lành mạnh được sử dụng để đánh giá chất lượng tổng thể của chế độ ăn uống, là thước đo đánh giá những thay đổi trong mô hình tiêu thụ thực phẩm. Chỉ số ăn uống lành mạnh cho người Việt Nam (VHEI) đánh giá chất lượng chế độ ăn của người Việt Nam theo Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị, lời khuyên dinh dưỡng hợp lý và tháp dinh dưỡng hợp lý cho người Việt Nam.

1.3. Nguyên lý

- Chỉ số VHEI được tính toán dựa trên lượng lương thực thực phẩm được tiêu thụ trong vòng 24 giờ. Thực phẩm được chia thành 8 nhóm gồm rau, trái cây, ngũ cốc, thực phẩm giàu protein, dầu mỡ, sữa và chế phẩm từ sữa, đường và đồ ngọt, muối và gia vị mặn. Dựa vào mức tiêu thụ mỗi nhóm thực phẩm để cho điểm và đánh giá chất lượng chế độ ăn.

- Số liệu sử dụng để đánh giá là số liệu khẩu phần cá thể 24 giờ được thu thập bằng một trong các phương pháp điều tra tần suất tiêu thụ bán định lượng, khẩu phần cá thể 24 giờ qua, nhật ký tiêu thụ thực phẩm, phương pháp cân đong trực tiếp. Số liệu điều tra đã được xử lý ban đầu, tính trọng lượng tiêu thụ của từng loại thực phẩm có trong khẩu phần theo gam.

Lưu ý: Trong trường hợp cuộc điều tra có nhiều phiếu điều tra, nên xử lý số liệu trên file nhập để số liệu được xử lý và đánh giá một cách thống nhất giữa tất cả các phiếu.

Từ viết tắt

- VHEI (Vietnamese Healthy Eating Index): chỉ số ăn uống lành mạnh của người Việt Nam

- BTP: Bảng thành phần thực ăn Việt Nam.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người đánh giá khẩu phần	01	Thành thạo kỹ thuật đánh giá chất lượng khẩu phần bằng VHEI; Có kinh nghiệm và đã từng tham gia điều tra khẩu phần cá thể 24 giờ; Trình độ từ đại học trở lên
2	Người phụ trách	01	Nắm vững kỹ thuật, trình độ từ đại học trở lên

(Chữ ký)

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
3	Người hỗ trợ	01	Trình độ từ trung cấp trở lên

2.2. Vật tư

- Bút bi: 1 cái.
- Sổ ghi chép: 1 cái.

2.3. Thiết bị

Máy tính để bàn: 1 bộ.

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh: không áp dụng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung	Thời gian
1	Người đánh giá khẩu phần	Thực hiện tính toán và đánh giá khẩu phần	10 phút
2	Người phụ trách	Quản lý, kiểm tra, giám sát việc thực hiện	0,5 phút
3	Người hỗ trợ	Hỗ trợ các công việc hậu cần, hành chính để thực hiện đánh giá	0,5 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại đơn vị thực hiện kỹ thuật.

3. An toàn

Không áp dụng do quy trình này không có nguy cơ gây mất an toàn, không có tác động trực tiếp vào người đối tượng.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Phân nhóm và tính trọng lượng mỗi đơn vị thực phẩm theo VHEI

Chia thực phẩm trong bảng thành phần thức ăn Việt Nam vào 8 nhóm thực phẩm thuộc 3 loại hợp phần: hợp phần cần đầy đủ, hợp phần tối ưu, hợp phần cần điều độ. Cụ thể như sau:

Hợp phần cần đầy đủ:

(1) Nhóm rau: bao gồm tất cả các loại rau, bao gồm cả rau đông lạnh, nấm, củ và đậu Hà Lan, không tính nước ép rau củ, nước luộc rau và các loại hạt họ đậu và khoai tây. Nhu cầu khuyến nghị 3-4 đơn vị/ngày, 1 đơn vị tương đương 80g rau ở dạng sống sạch.

(2) Nhóm trái cây: bao gồm tất cả các loại trái cây, bao gồm cả trái cây đông lạnh, không tính nước ép hoa quả, sinh tố, trái cây sấy khô, trái cây đóng hộp. Nhu cầu khuyến nghị 3 đơn vị/ngày, 1 đơn vị tương đương 80g trái cây.

Hợp phần cần tối ưu:

(3) Nhóm ngũ cốc: bao gồm tất cả các loại gạo, bánh mì, bún, miến, phở, khoai và ngô không phân biệt thực phẩm nguyên cám hay không. Nhu cầu khuyến nghị 12-15 đơn vị/ngày, 1 đơn vị chứa 20g glucid. Trọng lượng 1 đơn vị thực phẩm mỗi loại = $(100 \times 20) / \text{số gam glucid của thực phẩm tra từ BTP}$.

(4) Nhóm thực phẩm giàu Protein: bao gồm các loại thịt tươi sống, đông lạnh hoặc đóng hộp, cá, thủy hải sản, trứng, các sản phẩm đậu nành và các loại đậu khác (trừ đậu Hà Lan). Nhu cầu khuyến nghị 5-6 đơn vị/ngày, 1 đơn vị chứa 7g protein. Trọng lượng 1 đơn vị thực phẩm mỗi loại = $(100 \times 7) / \text{số gam protein của thực phẩm tra từ BTP}$.

(5) Nhóm dầu mỡ: bao gồm các loại dầu ăn, mỡ động vật, bơ động vật, bơ thực vật và các loại hạt giàu lipid. Nhu cầu khuyến nghị 5-6 đơn vị/ngày, 1 đơn vị chứa 5g chất béo. Trọng lượng 1 đơn vị thực phẩm mỗi loại = $(100 \times 5) / \text{số gam lipid của thực phẩm tra từ BTP}$.

(6) Nhóm sữa và các chế phẩm từ sữa: bao gồm sữa tươi, sữa bột, sữa chua, phô mai, không tính sữa đặc có đường và sữa đậu nành. Nhu cầu khuyến nghị 3-4 đơn vị/ngày, 1 đơn vị chứa 100 mg canxi. Trọng lượng 1 đơn vị thực phẩm mỗi loại = $(100 \times 100) / \text{số mg canxi của thực phẩm tra từ BTP}$.

Hợp phần cần điều độ:

(7) Nhóm đường và đồ ngọt: bao gồm đường, các sản phẩm chứa nhiều đường như kẹo, bánh ngọt, bánh quy, đồ tráng miệng ngọt, sữa đặc có đường. Các đồ uống dạng bột có đường để pha như bột cà phê hòa tan, bột ca cao, bột vị cam... Trái cây khô, trái cây đóng hộp, sinh tố và nước trái cây có đường cũng được xếp vào nhóm này vì có hàm lượng đường cao. Nhu cầu khuyến nghị ít hơn 5 đơn vị đường/ngày, 1 đơn vị chứa 5g đường, 6g mật ong, 8g kẹo được tính là 1 đơn vị.

(8) Nhóm muối và gia vị mặn: Nhu cầu khuyến nghị dưới 5g muối (1938 mg natri)/ngày. 5g muối tinh, 8g bột canh và 11g hạt nêm, 25g nước mắm, hoặc 35g xì dầu cực coi là 1 đơn vị.

4.1.2. Tính số đơn vị thực phẩm tiêu thụ cho từng nhóm

VHEI bao gồm 8 nhóm thực phẩm, điểm của mỗi nhóm thực phẩm nằm trong khoảng từ 0 đến 10, dẫn đến tổng điểm VHEI nằm trong khoảng từ 0 đến 80. Cách tính số đơn vị thực phẩm tiêu thụ của mỗi nhóm như sau:

(1) Nhóm rau: Số đơn vị rau đã tiêu thụ = Tổng trọng lượng các loại rau đã tiêu thụ/ 80.

(2) Nhóm trái cây: Số đơn vị trái cây tiêu thụ = Tổng trọng lượng các loại trái cây đã tiêu thụ/ 80.

(3) Nhóm ngũ cốc

- Với mỗi loại ngũ cốc, số đơn vị tiêu thụ = Trọng lượng ngũ cốc đã tiêu thụ/ trọng lượng của 1 đơn vị tính được ở mục 5.1.

- Cộng tổng số đơn vị của tất cả các loại ngũ cốc để có tổng số đơn vị ngũ cốc đã được đối tượng tiêu thụ.

(4) Nhóm thực phẩm giàu Protein

- Với mỗi loại thực phẩm giàu Protein tiêu thụ, số đơn vị tiêu thụ = Trọng lượng thực phẩm đã tiêu thụ/ trọng lượng của 1 đơn vị tính được ở mục 5.1.

- Cộng tổng số đơn vị của tất cả các loại thực phẩm giàu protein để có tổng số đơn vị đã được đối tượng tiêu thụ.

(5) Nhóm sữa và các chế phẩm từ sữa

- Với mỗi loại thực phẩm, số đơn vị tiêu thụ = Trọng lượng thực phẩm đã tiêu thụ/ trọng lượng của 1 đơn vị tính được ở mục 5.1.

- Cộng tổng số đơn vị của tất cả các loại sữa và sản phẩm chế biến từ sữa để có tổng số đơn vị đã được đối tượng tiêu thụ.

(6) Nhóm đường và đồ ngọt

- Với mỗi loại thực phẩm, số đơn vị tiêu thụ = Trọng lượng thực phẩm đã tiêu thụ/ trọng lượng của 1 đơn vị tính được ở mục 5.1.

- Cộng tổng số đơn vị của tất cả các loại sữa và sản phẩm chế biến từ sữa để có tổng số đơn vị đã được đối tượng tiêu thụ.

(7) Nhóm muối và gia vị

- Với mỗi loại muối và gia vị mặn, số đơn vị tiêu thụ = Trọng lượng muối và gia vị đã tiêu thụ/ trọng lượng của 1 đơn vị có ở mục 5.1.

- Cộng tổng số đơn vị của tất cả các loại muối và gia vị mặn để có tổng số đơn vị đã được đối tượng tiêu thụ.

4.1.3. Tính điểm cho từng nhóm thực phẩm

Sau khi tính được số đơn vị tiêu thụ của từng nhóm thực phẩm, thực hiện tính điểm cho từng nhóm thực phẩm. Bảng dưới đây thể hiện ngưỡng cho điểm với các nhóm thực phẩm:

Các nhóm thực phẩm	Ngưỡng cho điểm dựa vào số đơn vị thực phẩm tiêu thụ		
	0 điểm	Từ >0 đến <10 điểm	10 điểm
Hợp phần cần đầy đủ			
Rau	0	> 0 - < 3	≥ 3
Trái cây	0	> 0 - < 3	≥ 3
Hợp phần cần tối ưu			
Ngũ cốc	0 hoặc ≥ 30	> 0 - < 12 hoặc >15 - < 30	12 - 15
Thực phẩm giàu Protein	0 hoặc ≥ 12	> 0 - < 5 hoặc > 6 - < 12	5 - 6
Dầu mỡ	0 hoặc ≥ 12	> 0 - < 5 hoặc > 6 - < 12	5 - 6
Sữa và các chế phẩm từ sữa	0 hoặc ≥ 8	> 0 - < 3 hoặc > 4 - < 8	3 - 4
Hợp phần cần điều độ			
Đường và đồ ngọt	≥ 10	≥ 5 - <10	< 5

Muối và gia vị mặn	≥ 2	$\geq 0 - < 2$	< 1
--------------------	----------	----------------	-------

(1) Hợp phần cần đầy đủ

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm = 0, điểm của nhóm thực phẩm đó bằng "0".

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm $\geq$ mức khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm đó bằng "10".

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm nằm trong khoảng từ > 0 và $<$ số đơn vị khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm được tính theo công thức dưới đây:

$$\text{Điểm} = \frac{\text{Số đơn vị tiêu thụ}}{\text{Số đơn vị khuyến nghị}} \times 10$$

(2) Hợp phần cần tối ưu

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm nằm trong khoảng khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm là 10 điểm.

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm nhỏ hơn giới hạn dưới của khoảng khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Điểm} = 10 - \frac{\text{Giới hạn dưới của khoảng khuyến nghị} - \text{Số đơn vị tiêu thụ}}{\text{Giới hạn dưới của khoảng khuyến nghị}} \times 10$$

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm lớn hơn giới hạn trên của khoảng khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Điểm} = 10 - \frac{(\text{Số đơn vị tiêu thụ} - \text{Giới hạn trên của khoảng khuyến nghị})}{\text{Giới hạn trên của khoảng khuyến nghị}} \times 10$$

(3) Hợp phần cần điều độ

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm nằm dưới ngưỡng khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm là 10 điểm.

- Nếu tổng số đơn vị của nhóm thực phẩm lớn hơn ngưỡng khuyến nghị, điểm của nhóm thực phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Điểm} = 10 - \frac{(\text{Số đơn vị tiêu thụ} - \text{Ngưỡng khuyến nghị})}{\text{Ngưỡng khuyến nghị}} \times 10$$

Lưu ý: Số điểm của mỗi nhóm thực phẩm được làm tròn đến 1 số sau dấu phẩy. Điểm của nhóm thực phẩm được tính bằng 0 nếu điểm tính được nhỏ hơn 0.

4.1.4. Tính tổng số điểm VHEI và đánh giá

Cộng điểm của tất cả các nhóm thực phẩm để có được tổng số điểm VHEI, tổng số điểm VHEI sẽ nằm trong khoảng từ 0 đến 80 điểm.

4.2. Nhận định kết quả

Dựa vào tổng số điểm VHEI để đánh giá chất lượng khẩu phần:

- Tổng điểm đạt trên 80% số điểm: chất lượng chế độ ăn tốt.
- Tổng điểm đạt 50-80% số điểm: chất lượng chế độ ăn uống cần được cải thiện.
- Tổng điểm dưới 50% số điểm: chế độ ăn uống kém chất lượng.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Nếu quy trình này được chỉ định thực hiện ở phòng khám, kết quả đánh giá sẽ trả cho đối tượng sau khi có.

- Đối với các nghiên cứu tại cộng đồng, việc trả kết quả chỉ được thực hiện sau khi xử lý và đánh giá chất lượng khẩu phần của cả quần thể điều tra.

5. Những sai sót và cách xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật: không có.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

Phân nhóm thực phẩm không chính xác: Việc phân nhóm không chính xác sẽ ảnh hưởng đến điểm số của nhóm thực phẩm và từ đó gây sai lệch tổng điểm VHEI và đánh giá chưa đúng về chất lượng khẩu phần. Cần tập huấn điều tra viên kỹ trước khi điều tra thực địa để lựa chọn đúng mã thực phẩm; người xử lý số liệu cần lưu ý kỹ và thực hiện cẩn thận việc phân nhóm thực phẩm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo trước khi thực hiện quy trình hoặc phụ trách đơn vị triển khai quy trình giám sát và kiểm tra việc thực hiện đúng quy trình, thực phẩm tiêu thụ được xếp vào đúng nhóm, điểm của các nhóm thực phẩm được tính chính xác.

7. Tài liệu tham khảo

- Bộ y tế, Viện Dinh dưỡng, Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị của người Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội, 2016.

- Bộ y tế, Viện Dinh dưỡng, Tháp dinh dưỡng hợp lý cho người trưởng thành (giai đoạn 2016-2020). NXB Y học, Hà Nội, 2016.

- Bộ y tế, Viện Dinh dưỡng, Bảng thành phần thức ăn Việt Nam. NXB Y học, Hà Nội, 2016

- Duong T. T. Van et al. Development of Vietnamese Healthy Eating Index. Journal of Nutritional Science (2022), vol. 11, e45, page 1 of 10. Doi:10.1017/jns.2022.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 28:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT THU THẬP, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU PHÂN

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Các vi sinh vật đường ruột là hệ sinh thái riêng bao gồm hàng nghìn tỷ vi sinh vật (vi khuẩn, virus, ký sinh trùng...) sống trong ống tiêu hóa của con người. Theo thống kê, khi con người ở thể trạng tốt thì hệ vi sinh vật đường ruột sẽ có 85% là vi khuẩn có lợi và 15% còn lại là các vi khuẩn khác. Hệ vi sinh vật đường ruột thể hiện mối liên hệ giữa các yếu tố môi trường và phản ứng miễn dịch. Hệ vi sinh vật đường ruột khỏe mạnh rất quan trọng đối với sức khỏe đường ruột và sức khỏe con người.

Hiện nay có hơn 1.000 loại vi khuẩn khác nhau sống trong đường ruột với tổng cộng khoảng 3 triệu gen đã được tìm thấy, con số này nhiều hơn 150 lần nếu so sánh với gen người. Hệ gen của vi khuẩn chí đường ruột được thu thập và nghiên cứu thông qua các kỹ thuật phân tích di truyền phân tử từ các mẫu phân. Trong những năm gần đây, ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy rằng hệ vi khuẩn chí đường ruột bị thay đổi đáng kể ở người mắc bệnh không lây nhiễm so với người khỏe mạnh. Do đó, kết quả phân tích hệ vi khuẩn chí đường ruột là cơ sở khoa học cho việc điều chỉnh hệ vi sinh vật đường ruột bị rối loạn-một tiếp cận mới trong phòng chống và điều trị bệnh.

Lấy mẫu phân đúng quy trình là bước quan trọng có ảnh hưởng lớn đến kết quả xét nghiệm. Nếu lấy mẫu không đúng làm kết quả xét nghiệm bị sai lệch phải lấy mẫu lại gây phiền hà đến đối tượng cho mẫu và lãng phí thời gian.

Xét nghiệm phân có vai trò quan trọng trong lâm sàng cũng như trong nghiên cứu phòng thí nghiệm. Xét nghiệm phân áp dụng trên mọi đối tượng cả người khỏe và người bệnh với mục đích bao gồm:

- Xác định hệ vi sinh vật đường tiêu hóa;
- Đánh giá khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng sau khi ăn qua đường tiêu hóa;
- Chẩn đoán xác định một số bệnh về đường tiêu hóa;
- Tìm các nguyên nhân gây nhiễm khuẩn, nhiễm trùng như nấm, vi khuẩn, hoặc virus, ký sinh trùng gây bệnh.

1.2. Định nghĩa : Không áp dụng

1.3. Nguyên lý : Không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện/Nhân lực

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên lấy mẫu	01	Trình độ đại học Được đào tạo thành thạo về kỹ thuật lấy mẫu phân người.
2	Người phê duyệt kết quả	01	Trình độ đại học trở lên

2.2. Vật tư sử dụng cho lấy mẫu

2.2.1. Vật tư trực tiếp

- Găng tay y tế không bột talc: 1 đôi
- Túi zip hoặc túi nilon (kích thước 4x5cm): 2 cái
- Túi nilon đựng rác y tế: 1 cái
- Lọ nhựa có nắp, có thìa (vô khuẩn, thể tích 40-50mL): 1 cái
- Dụng cụ để hứng mẫu bệnh phẩm (ví dụ: Feces catcher Tag Hemi VOF, màng bọc thực phẩm, giấy chống thấm nước...): 1 cái
- Thìa gỗ cán dài (tối thiểu 15cm): 1 cái
- Bút viết kính không xóa được: 1 cái
- Tuýt ly tâm thể tích 2mL: 3 cái
- Bộ quần áo bảo hộ y tế: 1 bộ
- Khẩu trang y tế: 1 cái

2.3. Thiết bị dụng cho lấy mẫu

- Thùng giữ nhiệt (vận chuyển mẫu, thể tích 8L): 1 cái
- Túi đá gel giữ nhiệt (kích thước: 10x18x3,5cm, chất liệu bao bì nhựa PE tái sinh, trọng lượng 300g): 5 túi

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

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

Mẫu phân

Mẫu phân đạt yêu cầu để xét nghiệm phải đảm bảo không được lẫn nước tiểu, máu trong kinh nguyệt, máu từ ổ xuất huyết, các chất khác (như giấy vệ sinh hay chất tẩy rửa bồn cầu). Để mẫu phân không bị lẫn bởi những yếu tố trên cần phải đảm bảo:

- Người cho mẫu đi tiểu tiện trước khi lấy mẫu phân;
- Không để mẫu phân tiếp xúc với giấy vệ sinh hay các chất tẩy rửa;
- Người lấy mẫu phân phải đeo găng tay trong suốt quá trình lấy mẫu bệnh phẩm.

Nhân viên xét nghiệm

- Phải được tập huấn thành thạo cách lấy mẫu, bảo quản, vận chuyển bệnh phẩm, các nguyên vật liệu cần thiết.
- Phải nắm rõ kỹ thuật lấy mẫu, vị trí hoặc vùng lấy mẫu và vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm (thời gian, điều kiện nhiệt độ vận chuyển, tuyến đường, phương thức vận chuyển và các tài liệu thông tin liên quan đúng nguyên tắc) và áp dụng đúng quy trình khử khuẩn.

Trang bị xét nghiệm

- Kiểm tra các trang bị dụng cụ lấy mẫu theo hướng dẫn, trang phục bảo hộ cá nhân.
- Khi lấy mẫu phân nên tránh lây nhiễm và lấy đủ số lượng (theo hướng dẫn phòng xét nghiệm). Áp dụng đúng các biện pháp an toàn sinh học khi thực hiện lấy mẫu phân.

Đối tượng lấy mẫu

- Đối tượng được giải thích về mục đích lấy mẫu phân và hướng dẫn cách lấy mẫu để có kết quả tốt nhất, bao gồm : Đối tượng trước ngày lấy mẫu không được dùng các thuốc như kháng sinh, thuốc cản quang, thuốc điều trị tiêu chảy, thuốc bảo vệ niêm mạc dạ dày, viên sắt, vitamin C, các thuốc kháng viêm nonsteroid (NSAIDs), magiê.
- Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu : 1 bộ dụng cụ lấy mẫu phân bao gồm :

- Dụng cụ hứng mẫu phân
- Găng tay y tế
- Lọ đựng mẫu phân
- Khẩu trang y tế
- Thìa gỗ/thìa nhựa
- Túi zip



2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Nhân viên lấy mẫu	Chuẩn bị dụng cụ	10 phút
2	Nhân viên lấy mẫu	Lấy mẫu	15 phút
3	Người phê duyệt kết quả	Phê duyệt kết quả	5 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Quy trình này được nhân viên y tế thuộc các phòng xét nghiệm hoặc phòng thí nghiệm hoặc các đơn vị có liên quan thực hiện.

3. An toàn

- Lọ đựng mẫu phân 40-50mL cần sử dụng loại vô khuẩn trước khi sử dụng. Lọ đựng mẫu phân phải dán nhãn với các thông tin rõ ràng, cụ thể bên ngoài. Thông tin bao gồm: tên đối tượng, mã số đối tượng, ngày lấy mẫu (ngày/tháng/năm), giờ lấy mẫu.
- Túi zip chứa lọ đựng mẫu phân ghi rõ tên đối tượng, mã số, địa điểm lấy mẫu ở bên ngoài.
- Thùng chứa mẫu để vận chuyển mẫu về phòng xét nghiệm (bảo quản ngắn hạn) có chứa 5 túi đá khô, đá gel, trong thùng chứa luôn dao động trong khoảng $\leq 8^{\circ}\text{C}$.

Handwritten signatures in blue ink.

- Mẫu phân được lấy vào buổi sáng sớm tại nơi xét nghiệm, mẫu có thể được ở nhiệt độ 4°C trong vòng 8 giờ trước khi xét nghiệm. Nếu mẫu chưa được xử lý ngay, bảo quản mẫu phân ở nhiệt độ -70°C.
- Trong trường hợp đối tượng tự lấy mẫu ở nhà riêng mà đối tượng chưa thể đưa mẫu phân đến phòng xét nghiệm hoặc nhân viên y tế chưa đến lấy mẫu ngay thì hướng dẫn cho đối tượng bảo quản mẫu ở nhiệt độ 20-25°C tối đa 4 giờ trong các dung dịch định hình: đá, gel, tránh ánh sáng trực tiếp và đưa đến phòng xét nghiệm trong vòng 4 giờ đồng hồ kể từ khi lấy mẫu. Nếu muộn hơn, kết quả xét nghiệm sẽ không còn chính xác.
- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị ống đựng mẫu và thùng vận chuyển mẫu

Nhân viên được phân công lấy mẫu bệnh phẩm, thực hiện những nội dung sau:

1. Chuẩn bị bộ dụng cụ lấy mẫu phân bao gồm:

- Dụng cụ hứng mẫu phân
- Găng tay y tế
- Lọ đựng mẫu phân
- Khẩu trang y tế
- Thìa gỗ/thìa nhựa
- Túi zip



Bước 2: Hướng dẫn người cho mẫu hoặc đối tượng nghiên cứu (gọi chung là đối tượng) cách thức lấy mẫu phân.

1. Đối với nơi lấy mẫu có sử dụng bệ xí :

a. Sử dụng dụng cụ hứng mẫu phân Tag Hemi VOF (Feces catcher)

1. Đối tượng đi tiểu tiện trước khi cố định dụng cụ lấy mẫu vào bồn cầu.
2. Mở dụng cụ hứng phân **Tag Hemi VOF** theo chiều mũi tên (bóc nhẹ lớp băng dính theo chiều mũi tên trên dụng cụ ➡)

Here carefully loosen in the direction of the arrow

How to use the FecesCatcher

Dear user,

The FecesCatcher facilitates the taking of a stool sample. It is simple and hygienic. For reliable results, without the risk of contaminating the sample, Water, urine, detergents and deodorants may affect the outcome of the analysis of the sample.




You should use the FecesCatcher as follows:

1. Open the FecesCatcher carefully in the direction of the arrows.
2. Paste the FecesCatcher on the back of the toilet seat, as shown in the second image.
3. Avoid that the FecesCatcher comes in contact with water.
4. After the defecating, take the sample as indicated in the instructions that came with the test set.

Here carefully loosen in the direction of the arrow

Carefully loosen in the direction of the arrow, here



5. After taking the sample loosen the FecesCatcher on both ends and squeeze the ends together.
6. Drop the FecesCatcher in the toilet bowl and wait a moment, until the paper is soft and can easily be flushed down the toilet.

The FecesCatcher should also be used in shelf toilets, because detergents or fragrances contained in the flush water may adversely affect test results.



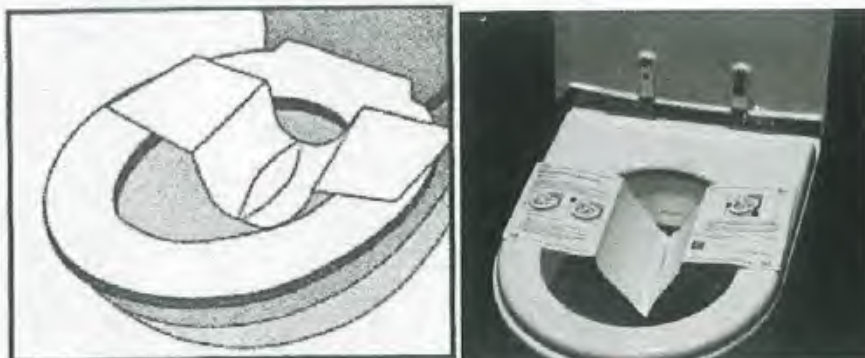
FecesCatcher

© Copyright, Tag Hemi
www.fecescatcher.com
info@fecescatcher.com

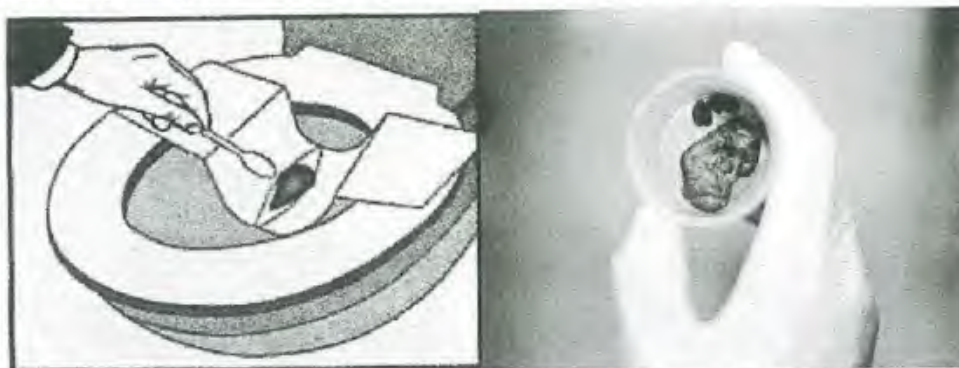
CE

Carefully loosen in the direction of the arrow, here

3. Cố định dụng cụ ở bên trên bề ngồi của bồn cầu (bằng cách dán 2 bên mặt chữ vừa bóc vào mép ngoài bề ngồi của bồn cầu giống như hình bên dưới).



4. Sau khi đại tiện, sử dụng lọ đựng mẫu phân đã được chuẩn bị (được cung cấp) để lấy mẫu phân → Sử dụng thìa gỗ / thìa nhựa có sẵn trong bộ dụng cụ để lấy mẫu. Quan sát và lấy một lượng mẫu phân ~10-15g (khoảng 1/4 lọ đựng mẫu phân) ở giữa bãi phân (bỏ đầu bãi và bỏ cuối bãi) vào lọ đựng mẫu phân.



5. Sau đó, đóng nắp lọ đựng mẫu phân lại và cho vào túi zip (được cung cấp).
6. Sau khi lấy mẫu, tháo dụng cụ hứng phân ra khỏi thành của bồn cầu và ép chặt 2

Handwritten signature

đầu lại với nhau → bỏ dụng cụ hứng phân vào trong bồn cầu, đợi một 2-3 phút trước khi xối nước cho đến khi phân giấy bị thấm ướt để chất thải được xối trong bồn cầu dễ dàng hơn.



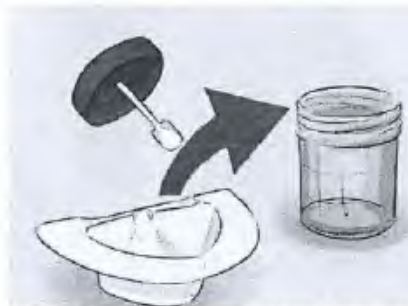
- Đặt túi zip chứa lọ đựng mẫu phân vào túi zip thứ 2 đã được dán nhãn và bảo quản ngay trong thùng chứa mẫu có sẵn đá gel.

b. Sử dụng tấm mica nhựa

- Đối tượng đi tiểu tiện trước khi cố định dụng cụ lấy mẫu vào bồn cầu.
- Đặt tấm mica nhựa vào bồn cầu (như hình bên dưới).



- Sau khi đối tượng đi đại tiện, sử dụng thìa gỗ/ thìa nhựa để lấy một lượng phân ~10-15g (khoảng $\frac{1}{4}$ lọ đựng mẫu phân) ở giữa bãi phân (bỏ đầu bãi và bỏ cuối bãi) vào lọ đựng mẫu phân. Đóng nắp cẩn thận và cho vào túi zip thứ 1.
- Bỏ tấm mica nhựa đi bằng cách thả mẫu phân không được dùng vào bồn cầu và xối nước. Cho tấm mica nhựa cùng các loại rác khác vào túi rác. Buộc chặt túi rác lại.



- Đặt túi zip chứa lọ đựng mẫu phân vào túi zip thứ 2 đã được dán nhãn và bảo

quản ngay trong thùng chứa mẫu có sẵn đá gel.

c. Sử dụng màng bọc thực phẩm

1. Đối tượng đi tiểu tiện trước khi cố định dụng cụ lấy mẫu vào bồn cầu.
2. Nâng bệ ngồi của bồn cầu lên và bọc màng bọc thực phẩm lên thành bồn cầu. Hạ bệ ngồi của bồn cầu xuống để giữ màng bọc thực phẩm được cố định (như hình bên dưới).

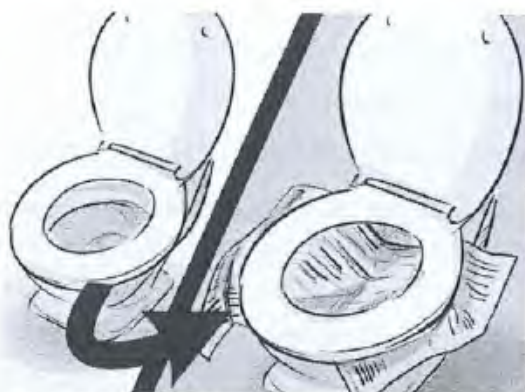


3. Miết mép màng bọc thực phẩm vào thành bồn cầu để màng bọc thực phẩm thêm dính chặt. *Lưu ý: Nếu màng bọc thực phẩm không dính vào bồn cầu, có thể sử dụng băng dính để cố định.*
4. Trước khi đại tiện, nhẹ nhàng ấn xuống lớp màng để tạo ra một vùng trống để dễ dàng hứng mẫu phân.
5. Sau khi đối tượng đi đại tiện, sử dụng thìa gỗ/ thìa nhựa để lấy một lượng phân ~10-15g (khoảng ¼ lọ đựng mẫu phân) ở giữa bãi phân (bỏ đầu bãi và bỏ cuối bãi) vào lọ đựng mẫu phân. Đóng nắp lọ đựng mẫu phân cẩn thận và cho vào túi zip thứ 1.
6. Thả mẫu phân không dùng đến trong màng bọc thực phẩm vào bồn cầu và xối nước. Cho màng bọc thực phẩm cùng các loại rác khác vào túi rác. Buộc chặt túi rác lại.
7. Đặt túi zip chứa lọ đựng mẫu phân vào túi zip thứ 2 đã được dán nhãn và bảo quản ngay trong thùng chứa mẫu có sẵn đá gel.

d. Sử dụng giấy chống thấm nước

1. Đối tượng đi tiểu tiện trước khi cố định dụng cụ lấy mẫu vào bồn cầu.
2. Mở nắp ngồi của bồn cầu lên, đặt giấy chống thấm nước lên bồn cầu sau đó đóng nắp ngồi xuống để cố định.
3. Miết giấy chống thấm nước lên thành bồn cầu để giữ giấy ngay ngắn.
4. Ấn xuống ở giữa giấy chống thấm nước để tạo ra một vùng trống để chứa mẫu phân.

Handwritten signatures in blue ink.



5. Sau khi đối tượng đi đại tiện, sử dụng thìa gỗ/ thìa nhựa để lấy lấy một lượng phân ~10-15g (khoảng $\frac{1}{4}$ lọ đựng mẫu phân) ở giữa bãi phân (bỏ đầu bãi và bỏ cuối bãi) vào lọ đựng mẫu phân. Đóng nắp cẩn thận và cho vào túi zip thứ 1.
6. Thả mẫu phân không được dùng đến vào bồn cầu và xối nước. Cho giấy chống thấm đã sử dụng cùng các loại rác khác vào túi rác. Buộc chặt túi rác lại.
7. Đặt túi zip chứa lọ đựng mẫu phân vào túi zip thứ 2 đã được dán nhãn và bảo quản ngay trong thùng chứa mẫu có sẵn đá gel.

e. Đối với nơi lấy mẫu không có bệ xí

1. Đối tượng vào nhà vệ sinh, lựa chọn nơi khô ráo, trải dụng cụ hứng phân (giấy chống thấm nước, màng nilon bọc thực phẩm...) lên sàn nhà vệ sinh.
2. Đi đại tiện vào trong dụng cụ hứng phân đã trải ra sàn (ở bước 1).
3. Sau khi đối tượng đi đại tiện, sử dụng thìa gỗ/ thìa nhựa để lấy lấy một lượng phân ~10-15g (khoảng $\frac{1}{4}$ lọ đựng mẫu phân) ở giữa bãi phân (bỏ đầu bãi và bỏ cuối bãi) vào lọ đựng mẫu phân. Đóng nắp cẩn thận và cho vào túi zip thứ 1.
4. Thả mẫu phân không được dùng đến vào bồn cầu và xối nước. Cho dụng cụ hứng phân đã sử dụng cùng các loại rác khác vào túi rác. Buộc chặt túi rác lại.
5. Đặt túi zip chứa lọ đựng mẫu phân vào túi zip thứ 2 đã được dán nhãn và bảo quản ngay trong thùng chứa mẫu có sẵn đá gel.

Bước 3: Sau khi thu thập mẫu.

- Đối với những mẫu được lấy ngay tại nơi xét nghiệm, mẫu có thể được ở nhiệt độ 4°C trong vòng 8 giờ trước khi xét nghiệm. Nếu mẫu chưa được xử lý ngay, bảo quản mẫu phân ở nhiệt độ -70°C.
- Đối với những mẫu được lấy tại nhà riêng của đối tượng cách xa nơi xét nghiệm và lưu trữ mẫu, phải bảo quản mẫu ở nhiệt độ 20-25°C và đưa đến phòng xét nghiệm trong vòng 4 giờ đồng hồ kể từ khi lấy mẫu. Nếu muộn hơn, kết quả xét nghiệm sẽ không còn chính xác.
- Mẫu sẽ được gửi về nơi xét nghiệm sau khi đã đóng gói mẫu theo nguyên tắc:
 - + Mẫu được chứa trong lọ đựng mẫu phân và phải được đóng kín để chống rò rỉ.
 - + Để lọ đựng mẫu phân trong túi zip và đảm bảo không rò rỉ, không thấm nước, đảm bảo lọ đựng mẫu phân không bị nghiêng, đổ.
 - + Để túi zip chứa lọ đựng mẫu phân vào trong thùng vận chuyển, đảm bảo chắc

chấn, chống va đập, không rò rỉ. Cần sử dụng đá gel xung quanh để bảo quản mẫu bệnh phẩm.

- Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu:

- + Có đủ lượng mẫu để xét nghiệm (lọ chứa 10-15 gam phân).
- + Dụng cụ chứa bệnh phẩm có ghi đúng và đủ thông tin bệnh nhân.
- + Đảm bảo quy định về thời gian từ lúc lấy mẫu đến lúc được xét nghiệm.
- + Lọ đựng mẫu phân được vận chuyển trong thùng không bị vỡ ống và nước ngâm vào ống, có túi gel lạnh để giữ nhiệt độ mát.

Bước 4: Lưu trữ mẫu.

- Mẫu được cân và chia vào các ống effendorf với khối lượng tùy theo yêu cầu phân tích. Với xét nghiệm hệ vi khuẩn chí đường ruột cần chia thành 3 ống, mỗi ống chứa 5g phân. Mẫu phân lưu phải có cùng nguồn gốc và mã số với mẫu thử nghiệm, được sắp xếp theo thứ tự dễ tìm.
- Lưu mẫu phân ở nhiệt độ -70°C cho đến khi xét nghiệm.

4.2. Đánh giá kết quả thực hiện

Các mẫu đạt yêu cầu đảm bảo các yêu cầu sau: lấy đủ 3 mẫu/ đối tượng, ống chứa mẫu còn bảo quản nguyên vẹn, không bị vỡ, không trào đổ ra bên ngoài. Ống chứa mẫu ghi đầy đủ thông tin đối tượng được lấy mẫu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Lưu tại Khoa, phòng theo quy định của các đơn vị có liên quan.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Trong trường hợp mẫu phân bị đổ, nhanh chóng đóng nắp lọ đựng mẫu phân, sử dụng cồn 70° để lau dọn những vị trí có mẫu phân bị đổ để tránh nhiễm khuẩn vào các dụng cụ khác.
- Các loại lọ đựng mẫu phân, găng tay được đựng thùng rác riêng, được thu gom vào túi nilon chuyên dụng trước khi đưa đi hủy.
- Rửa tay sạch.
- Sử dụng găng tay để xử lý.
- Thu gom các vật liệu bị nhiễm vào dụng cụ chứa rác thải chống rò rỉ.
- Báo cáo sự cố với người chịu trách nhiệm.

5.2. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Tất cả các chất thải trong quá trình lấy mẫu được thu gom và xử lý theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

7. Tài liệu tham khảo, tham chiếu

- [1] <http://vbpl.vn/boyte/Pages/vbpq-van-ban-goc.aspx?ItemID=135182>
- [2] https://www.fecesvanger.nl/en_GB/
- [3] <https://www.wikihow.vn/L%E1%BA%A5y-M%E1%BA%ABu-Ph%C3%A2n>
- [4] <http://www.webmd.com/digestive-disorders/stool-analysis>
- [6] <http://www.nhs.uk/chq/Pages/how-should-i-collect-and-store-a-stool-faeces-sample.aspx?CategoryID=69>
- [7] <https://www.seattlechildrens.org/pdf/PE810.pdf>
- [8] https://www.carteretgeneral.com/patient_ed/stool_collection.shtml
- [9] Quyết định số 5530/QĐ-BYT: Ban hành hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm.
- [10] Quyết định số 1539/QĐ-BYT: Hướng dẫn thực hành kỹ thuật xét nghiệm vi sinh lâm sàng.
- [11] TT40/2018-BYT: Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 29:

THU THẬP, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU NIÊM MẠC MÁ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Khoang miệng chứa lớp niêm mạc gồm các tế bào biểu mô. Các tế bào này thường xuyên được thay mới nhờ cơ chế tự bong tróc và được hòa trộn cùng nước bọt. Các tế bào biểu mô này chính là tế bào niêm mạc miệng được sử dụng trong phân tích ADN.

Hiện nay, mẫu niêm mạc miệng ngày càng được ưa chuộng trong xét nghiệm ADN bởi một số ưu điểm sau:

- Không sử dụng các biện pháp can thiệp hoặc xâm lấn nên rất an toàn và ít rủi ro.
- Thao tác đơn giản, có thể tự lấy mẫu tại nhà.
- Kết quả xét nghiệm chính xác.
- Có thể thực hiện trên mọi đối tượng, kể cả trẻ sơ sinh.

1.2. Định nghĩa

1.3. Nguyên lý

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện/Nhân lực

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên lấy mẫu	01	Trình độ đại học Được đào tạo thành thạo về kỹ thuật lấy mẫu niêm mạc má
2	Người phê duyệt kết quả	01	Trình độ đại học trở lên

2.2. Vật tư sử dụng cho lấy mẫu

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch sát khuẩn tay: 5 mL.

2.2.2. Vật tư khác

- Găng tay y tế không bột talc: 1 đôi.
- Túi zip 20x30 cm: 1 cái.
- Túi nilon đựng rác y tế: 1 cái.
- Tuýp chứa tăm bông lấy mẫu bệnh phẩm: 3 cái.
- Bút lông dầu viết không xóa được: 1 cái.
- Bút bi: 1 cái.
- Cốc giấy 5,2x6,8x7,2 cm: 1 cái.
- Nước lọc: 200 mL.
- Giá để ống chứa mẫu: 1 cái.
- Cuộn băng dính trong 1 cm: 1 cuộn.

Xuân *mr*

- Khẩu trang y tế: 1 cái.



Ví dụ một loại ống có que tăm bông (có thể thay thế bằng các loại khác nên có cán dài ≥ 10 cm)

2.2.3. Trang phục y tế

- Bộ quần áo blouse: 1 bộ.

2.3. Trang thiết bị sử dụng cho lấy mẫu

Máy sấy tóc: 1 cái.

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

Nhân viên xét nghiệm

- Phải được tập huấn thành thạo cách lấy mẫu, bảo quản, vận chuyển bệnh phẩm, về sử dụng các dụng cụ lấy mẫu cần thiết.

- Phải nắm rõ kỹ thuật lấy mẫu, vị trí hoặc vùng lấy mẫu và vận chuyển mẫu đến phòng xét nghiệm (thời gian, điều kiện nhiệt độ vận chuyển, tuyến đường, phương thức vận chuyển và các tài liệu thông tin liên quan đúng nguyên tắc) và áp dụng đúng quy trình khử khuẩn.

Trang bị xét nghiệm

- Kiểm tra các trang bị dụng cụ lấy mẫu theo hướng dẫn, trang phục bảo hộ cá nhân.

- Khi lấy mẫu nên tránh lây nhiễm và lấy đủ số lượng (theo hướng dẫn phòng xét nghiệm). Áp dụng đúng các biện pháp an toàn sinh học khi thực hiện lấy mẫu.

Chuẩn bị dụng cụ

Nhân viên được phân công lấy mẫu bệnh phẩm, thực hiện chuẩn bị đầy đủ bộ dụng cụ lấy mẫu niêm mạc má.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Nhân viên lấy mẫu	Chuẩn bị dụng cụ	10 phút

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
2	Nhân viên lấy mẫu	Lấy mẫu	15 phút
3	Người phê duyệt kết quả	Phê duyệt kết quả	5 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Quy trình này được nhân viên y tế thuộc các phòng xét nghiệm hoặc phòng thí nghiệm hoặc là các đơn vị có liên quan thực hiện.

3. An toàn

- Tắm bông và ống đựng cần sử dụng loại vô khuẩn trước khi sử dụng.
- Khi lấy mẫu không chạm tay vào đầu tăm bông, và không được để đầu tăm bông chạm vào bất cứ thứ gì kể cả thành ống.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Người lấy mẫu đeo khẩu trang và đi găng tay.

Bước 2: Làm sạch khoang miệng

Làm sạch khoang miệng bằng nước lọc để loại bỏ mảng bám thức ăn. Yêu cầu đối tượng súc miệng ba lần bằng nước lọc (hoặc nước ấm).

Chú ý:

- Mỗi người cần dùng một cốc riêng để tránh nhiễm tế bào niêm mạc miệng từ người khác. Đối với trường hợp tự lấy mẫu tại nhà, cốc phải được rửa sạch trước khi súc miệng.

- Đối với trẻ sơ sinh, chờ 2 giờ sau bữa ăn và cho bé uống một ít nước để làm sạch miệng.

Bước 3: Ghi thông tin đối tượng vào thành ống:

- Họ và tên, tuổi, giới của người vừa được lấy mẫu.
- Loại mẫu: tế bào niêm mạc.
- Thời gian lấy mẫu: ngày, giờ lấy mẫu.



Handwritten signatures in blue ink.

Bước 4.

Lấy tăm bông vô trùng từ ống đựng, cầm vào nắp đã cắm sẵn que để trong ống.

Chú ý: Không chạm tay vào đầu bông của tăm bông.

**Bước 5: Lấy mẫu**

- Yêu cầu đối tượng há to miệng và đưa đầu tăm bông vào miệng người cần lấy mẫu.

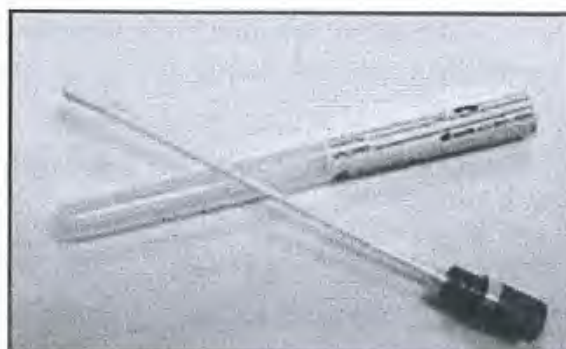
- Vừa quẹt vừa xoay đầu tăm bông vào mặt trong má 30 lần hoặc khoảng 1 phút vào mặt trong má của người cần lấy mẫu.

- Hãy chắc chắn để di chuyển tăm bông trên toàn bộ bề mặt bên trong má.

**Bước 6: Lặp lại quá trình lấy mẫu với 2 tăm bông khác**

- Lặp lại quá trình từ Bước 2 đến Bước 5 để mỗi người lấy đủ 3 tăm bông để trong 3 ống riêng.

- Đổi mặt trong của má khi lấy tiếp.

**Bước 7: Để khô và cất mẫu**

- Rút tăm bông ra khỏi miệng và dùng máy sấy tóc sấy khô mẫu trong vòng 5 phút.

- Hoặc để mẫu khô tự nhiên ít nhất 30 phút và đưa vào ống đựng mẫu và đậy nắp.

- Dùng băng dính cố định để nắp không bị rơi ra.

Chú ý: Không để đầu tăm bông chạm vào bất cứ ai và bất kỳ thứ gì, kể cả thành ống.

Bước 8: Bảo quản sau khi thu thập mẫu.

- Đối với những mẫu bông tăm sau khi lấy mẫu niêm mạc má để khô, mẫu có thể được ở nhiệt độ phòng trong vòng 7-10 ngày trước khi xét nghiệm. Nếu mẫu chưa được xử lý ngay, bảo quản ở nhiệt độ -20°C . Bảo quản lâu dài ở nhiệt độ -80°C .

- Mẫu sẽ được gửi về nơi xét nghiệm sau khi đã đóng gói mẫu theo nguyên tắc:

+ Tăm bông chứa mẫu được chứa trong ống và phải được đóng kín để chống lây nhiễm.

+ Các ống chứa tăm bông cất trong túi zip, ghi rõ thông tin ngày và địa điểm lấy mẫu, đảm bảo miệng túi zip được đóng kín.

- Tiêu chuẩn chấp nhận mẫu:

+ Có đủ 3 mẫu/ đối tượng.

+ Dụng cụ chứa bệnh phẩm có ghi đúng và đủ thông tin đối tượng.

Bước 9: Lưu trữ mẫu.

Lưu mẫu ở nhiệt độ -20°C cho đến khi xét nghiệm. Trường hợp bảo quản lâu dài lưu mẫu ở nhiệt độ -80°C .

4.2. Đánh giá kết quả thực hiện

Các mẫu đạt yêu cầu đảm bảo các yêu cầu sau: lấy đủ 3 mẫu/ đối tượng, mẫu khô, ống chứa tăm bông còn nguyên vẹn và ghi đầy đủ thông tin đối tượng được lấy mẫu.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Lưu tại Khoa, phòng theo quy định của các đơn vị có liên quan.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Các loại ống đựng mẫu, găng tay được đựng thùng rác riêng, được thu gom vào túi nilon chuyên dụng trước khi đưa đi hủy.

- Rửa tay sạch.

- Sử dụng găng tay để xử lý.

- Thu gom các vật liệu bị nhiễm vào dụng cụ chứa rác thải chống rò rỉ.

- Báo cáo sự cố với người chịu trách nhiệm.

5.2. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Tất cả các chất thải trong quá trình lấy mẫu được thu gom và xử lý theo thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018. Cụ thể như sau:

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

7. Tài liệu tham khảo, tham chiếu

- <http://vbpl.vn/boyte/Pages/vbpq-van-ban-goc.aspx?ItemID=135182>
- Quyết định số 5530/QĐ-BYT: Ban hành hướng dẫn xây dựng quy trình thực hành chuẩn trong quản lý chất lượng xét nghiệm.
- TT40/2018-BYT: Quy định về quản lý mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 30:

LẤY MẪU SỮA MẸ, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU SỮA MẸ TẠI THỰC ĐỊA

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp lấy mẫu sữa mẹ, bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ của bà mẹ đang cho con bú tham gia nghiên cứu tại thực địa.

1.2. Định nghĩa: không áp dụng.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người thực hiện	1	Thành thạo về kỹ thuật lấy mẫu sữa mẹ xét nghiệm.
2	Người thực hiện	1	Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và yêu cầu chất lượng xét nghiệm

2.2. Vật tư trực tiếp

- Máy hút sữa: 1 cái.
- Bình đựng sữa: 1 cái.
- Tuýp ly tâm 15 ml nắp xoáy: 2 cái.
- Khăn sạch dùng 1 lần: 1 cái.
- Đầu côn (típ) chia vạch 5000 µl, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 500-5000 µl: 1 cái.
- Túi zip 20 x 28 cm: 2 cái.
- Túi đựng rác thải y tế: 1 cái.
- Giá để tuýp: 1 cái.
- Găng tay y tế không bột talc: 1 đôi.
- Dung dịch sát khuẩn tay: 5 mL.
- Tem dán barcode: 6 cái.
- Đá gel giữ lạnh (chất liệu nhựa HDPE, 120 x 190 x 25 mm): 6 cái.
- Khẩu trang y tế: 2 cái.
- Mũ trùm đầu y tế 1 lần: 2 cái.
- Thuê tủ lạnh -20°C hoặc - 80°C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra dưới thực địa: 1 cái/đối tượng/ngày.

- Micropipet (bán tự động) dung tích 500-5000 μl , độ chính xác $\pm 3 \mu\text{l}$ (tại 500 μl): 1 cái.
- Thùng giữ nhiệt (vận chuyển mẫu bệnh phẩm): 1 cái.
- Nhiệt kế (theo dõi nhiệt độ thùng giữ nhiệt): 1 cái.
- Giấy A4: 1 tờ.
- Bút bi: 1 cái.
- Bút dạ: 1 cái.
- Bộ quần, áo bảo hộ y tế: 2 bộ.

2.3. Thiết bị

- Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra dưới thực địa.

- Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C lưu trữ mẫu tại nơi lưu mẫu.

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

- Sắp xếp tất cả các vật tư cần thiết cho thủ thuật lấy mẫu sữa mẹ trên mặt bàn phẳng, cách xa vị trí của bà mẹ.

- Thực hiện rửa tay 6 bước theo đúng quy trình rửa tay thường quy của Bộ y tế.

- Cán bộ y tế lấy mẫu sữa tiếp xúc, giải thích động viên bà mẹ, đối chiếu với hồ sơ của bà mẹ.

- Ghi đầy đủ thông tin bà mẹ (họ tên, ngày sinh, ngày giờ lấy mẫu sữa) vào danh sách chung ghi thông tin bà mẹ, dán nhãn barcode kẹp trong hồ sơ của bà mẹ vào danh sách lấy mẫu và dán nhãn trên bình sữa và các ống lưu mẫu sữa.

Lưu ý: Thực hiện lấy mẫu sữa vào buổi sáng sớm. Dặn trước bà mẹ không cho con bú bữa sáng ở nhà.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới, chẩn đoán của bà mẹ. Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)
1	Người thực hiện	- Hỏi ghi thông tin bà mẹ. - Hướng dẫn bà mẹ lấy mẫu sữa. - Theo dõi quá trình lấy mẫu sữa đảm bảo mẫu sữa được lấy đúng theo yêu cầu về số lượng và chất lượng.	1,0

Được *MR*

		- Chuẩn bị dụng cụ. - Xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ.	
--	--	--	--

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: tại thực địa

3. An toàn

- Khi thực hiện quy trình phải mặc quần áo blouse dài tay, dép kín mũi, găng tay, khẩu trang đảm bảo các tiêu chuẩn về an toàn sinh học.
- Vệ sinh bàn tay bằng dung dịch sát khuẩn. Thực hiện rửa tay 6 bước theo đúng quy trình rửa tay thường quy của Bộ y tế.
- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy mẫu sữa mẹ

- Đeo găng sạch, vệ sinh tay bằng dung dịch sát khuẩn.
- Hướng dẫn bà mẹ ngồi thoải mái, vệ sinh núm vú bằng nước sạch, sau đó thấm khô bằng khăn sạch.
- Kích thích phản xạ oxytocin: dùng tay kéo hoặc vê núm vú nhẹ nhàng, xoa bóp dọc 2 bên sống lưng của bà mẹ.
- Hướng dẫn bà mẹ sử dụng máy hút sữa, hút hết một bên bầu ngực để lấy được cả sữa đầu và sữa cuối, hút cho đến khi sữa ngừng chảy và vú cảm thấy đã hết sữa.
- Mẫu sữa được lắc đều để đảm bảo các thành phần trong sữa được trộn đều, sau đó sử dụng pipet bán tự động chia đều vào các ống đã được dán nhãn (ưu tiên 1, ưu tiên 2...)(ghi rõ họ tên, code giống với bình sữa của bà mẹ), mỗi ống khoảng 5ml.
- Nhặt từng ống bỏ vào các túi zip lưu mẫu tương ứng (ưu tiên 1, ưu tiên 2...).

Lưu ý: Phải chia đều luôn sữa từ bình đựng sữa vào các ống lưu mẫu khi sữa vẫn đang còn ấm.

4.1.2. Bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ

- Kiểm tra và xác nhận điều kiện tủ lạnh lưu mẫu tại nơi triển khai.
- Chuẩn bị tất cả các dụng cụ cần thiết cho việc vận chuyển và bảo quản mẫu sữa (bảng 2).
- Chuẩn bị tủ lạnh lưu mẫu tại nơi lưu mẫu.
- Mẫu sữa mẹ xét nghiệm trước khi vận chuyển được đảm bảo đóng gói 3 lớp theo quy định về “Đóng gói mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm” của Bộ y tế (Phụ lục IV, Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018).
- Vận chuyển mẫu trong thời gian ≤ 24 giờ hoặc theo từng chỉ tiêu đặt ra (Bảng 1, mục 3, quyết định 57/QĐ-DP ngày 27 tháng 3 năm 2018), bảo quản mẫu bằng đá gel,

đảm bảo nhiệt độ từ 2°C đến 8°C. Sau đó lưu trữ mẫu tại tủ âm (từ -20 °C hoặc -80°C) tại nơi điều tra.

- Cuối đợt điều tra, cán bộ điều tra thu gom mẫu bảo quản mẫu bằng đá khô đảm bảo mẫu không bị rã đông và vận chuyển về nơi lưu mẫu. Sau đó lưu trữ mẫu tại tủ âm sâu (từ -20°C hoặc -80°C).

4.2. Nhận định kết quả

Nhận định bằng mắt thường các trường hợp mẫu sữa mẹ lấy không đạt hoặc chưa đủ số lượng.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

Trả danh sách lấy sữa mẹ cho bên đơn vị nhận mẫu và lưu hồ sơ trong vòng 5 năm dưới dạng bản cứng và bản mềm.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

Cần kiểm tra và chuẩn bị đầy đủ các dụng cụ cần thiết trước khi thực hiện kỹ thuật. Mọi dụng cụ phải đảm bảo vô trùng để tránh nhiễm khuẩn.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Trường hợp chưa kịp chia sữa mẹ vào các ống lưu mẫu phải làm ấm lại bình chứa sữa sau đó mới lắc đều và chia.

- Những sự cố tràn đổ bệnh phẩm cần được xử trí kịp thời và đúng qui trình.

- Quá trình vận chuyển mẫu sữa mẹ cần tuân thủ các quy định nghiêm ngặt để đảm bảo mẫu không bị hư hại hoặc nhiễm khuẩn.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

Nếu mẫu sữa không đạt tiêu chuẩn phải ghi chép vào hồ sơ, báo cáo với cán bộ quản lý. Thực hiện lại quy trình lấy mẫu (nếu có thể).

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

Kiểm tra chất lượng mẫu sữa trong thời gian xử lý mẫu. Mẫu sữa được xử lý đúng, đạt chỉ tiêu về số lượng và chất lượng: màu sắc của sữa mẹ bình thường phải có màu trắng đục hoặc ánh vàng nhạt.

7. Tài liệu tham khảo

- Công văn số 7517/BYT-ĐTTr ngày 12 tháng 10 năm 2007 về “Quy trình rửa tay thường quy”.

- Thông tư số 25/2012/TT-BYT ngày 29 tháng 11 năm 2012 về việc “Ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về thực hành và an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm của Bộ Y tế”.

- Quyết định số 43/2007/QĐ-BYT ngày 30 tháng 11 năm 2007 về việc ban hành Quy chế Quản lý chất thải y tế của Bộ Y tế.

- Quyết định số 57/QĐ-DP ngày 27 tháng 03 năm 2018 về việc ban hành “Hướng dẫn lấy mẫu, đóng gói, bảo quản và vận chuyển mẫu xét nghiệm truyền nhiễm”.

- Phụ lục IV, Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018 về việc Đóng gói mẫu bệnh phẩm truyền nhiễm.
- Thông tư 43/2011/TT-BYT ngày 05/12/2011 “Quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm truyền nhiễm”.
- WHO (2022), “Cẩm nang An toàn sinh học phòng thí nghiệm”, tái bản lần thứ 4.
- Điều 7, Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018 về việc Xử lý sự cố khi bị tràn đổ mẫu bệnh phẩm.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 31:

**LẤY MẪU, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN MẪU SỮA MẸ ĐỂ PHÂN TÍCH
CÁC CHẤT ĐA LƯỢNG VÀ MỘT SỐ CHẤT DINH DƯỠNG
BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA SINH**

1. Đại cương:

1.1. Mục đích

Quy trình này mô tả các bước tiến hành Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ từ thực địa về Labo để phân tích các chất đa lượng và một số chất dinh dưỡng bằng phương pháp hóa sinh.

1.2. Định nghĩa

Lấy mẫu sữa để phân tích các chất đa lượng cần phải lấy hết bầu sữa mẹ và bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong vòng không quá 4 giờ trước khi đưa vào tủ cấp đông (-20°C)

1.3. Nguyên lý

Việc lấy mẫu phải được thực hiện sao cho thu được mẫu đại diện của sữa mẹ. Việc bảo quản và gửi mẫu phải sao cho duy trì được trạng thái của mẫu tại thời điểm lấy mẫu và không bị thay đổi cho đến khi phân tích.

2. CHUẨN BỊ

2.1. Người thực hiện:

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên lấy mẫu	1	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật lấy máu
2	Nhân viên xử lý và bảo quản mẫu	2	Đã được đào tạo, kỹ thuật ly tâm, xử lý mẫu máu, vận hành tốt quy trình kỹ thuật, an toàn sinh học phòng thí nghiệm
3	Người phê duyệt	1	Nắm rõ quy trình kỹ thuật và các yêu cầu đảm bảo chất lượng xét nghiệm, có khả năng biện luận và nhận định kết quả, phát hiện những điểm không phù hợp và đề xuất cải tiến

2.2. Vật tư :

Trang phục bảo hộ

- Quần, áo bảo hộ y tế: 01 bộ/người;
- Mũ bảo hộ y tế: 01 cái/người;
- Khẩu trang y tế: 01 cái/người;

- Găng tay y tế không chứa bột tan: 01 đôi/người.

Vật tư tiêu hao cho 1 mẫu sữa mẹ

- Túi zip nhựa có khóa để đựng sữa mẹ (chịu được nhiệt độ trong tủ -80°C): 02 cái
- Ống Falcon 20 mL để lấy mẫu : 02 cái
- Túi đá đông lạnh : 02 cái
- Thùng bảo quản mẫu khi vận chuyển: 01 cái
- Giá nhựa đựng mẫu : 01 cái
- Dung dịch sát khuẩn tay: 01 chai
- Nhãn in mã bệnh nhân: 04 tem
- Khăn giấy: 01 tờ
- Khẩu trang y tế dùng 1 lần: 01 cái
- Găng tay y tế không bột talc: 01 đôi
- Dung dịch xà phòng rửa tay: 01 chai
- Giấy A4: 5 tờ
- Bút bi: 01 cái
- Bút ghi kính: 01 cái
- Văn phòng phẩm (ghim dập...): 01 cái
- Nhiệt kế : 01 cái

2.3. Thiết bị:

- Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra dưới thực địa.
- Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C lưu trữ mẫu tại Labo xét nghiệm.
- Dụng cụ lấy mẫu: 01 bộ (máy hút sữa và bình đựng sữa)

2.4. Chuẩn bị đối tượng và mẫu bệnh phẩm:

2.4.1. Chuẩn bị đối tượng lấy mẫu:

Nhân viên lấy mẫu gặp gỡ và giải thích mục đích lấy mẫu, hướng dẫn bà mẹ cách vắt sữa và sử dụng máy hút sữa

Người mẹ sau khi cho con bú hết 1 bầu sữa, được hướng dẫn cách vắt sữa ở bầu vú còn lại

2.4.2. Mẫu xét nghiệm: Mẫu sữa của bà mẹ đang cho con bú trong vòng 6 tháng đầu.

2.4.3. Dụng cụ lấy mẫu và bảo quản mẫu:

Dụng cụ mẫu và nắp đậy phải làm từ chất liệu có kết cấu đảm bảo bảo vệ được mẫu và không làm biến đổi mẫu làm ảnh hưởng đến các kết quả phân tích sau này. Vật liệu thích hợp bao gồm thủy tinh, một số kim loại (ví dụ như thép không gỉ) và một số

chất dẻo (ví dụ như polypropylen). Tốt nhất nên dùng vật chứa có màu đục. Vật chứa và nắp đậy cần phải khô, sạch, tiệt trùng.

2.5. Phiếu thông tin đối tượng và dán nhãn:

Kiểm tra thông tin của đối tượng (họ tên, tuổi, thời gian lấy mẫu...) trên phiếu và nhãn barcode cho khớp nhau

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1 giờ

Nhân viên tham gia	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)
Nhân viên lấy mẫu	Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao lấy mẫu Trao đổi, giải thích và hướng dẫn cho bà mẹ cách lấy mẫu sữa, kiểm soát và đối chiếu thông tin trên phiếu thông tin của bà mẹ Thực hiện lấy mẫu sữa Vận chuyển mẫu và bàn giao mẫu tại phòng xét nghiệm Vệ sinh khu vực lấy mẫu Xử lý dụng cụ lấy mẫu Chăm sóc và tư vấn bà mẹ về nuôi con bằng sữa mẹ Ghi chép biểu mẫu	0,13
Nhân viên xử lý và bảo quản mẫu	Nhận bàn giao, rà soát mẫu với phiếu thông tin của bà mẹ Đóng gói, Bảo quản và lưu mẫu Vận chuyển mẫu trong thùng lạnh Ghi chép biểu mẫu	0,20
Người phê duyệt	Giám sát việc tuân thủ quy trình lấy mẫu Chỉ đạo giải quyết các sự cố phát sinh Chịu trách nhiệm toàn bộ các hoạt động trong dây truyền xét nghiệm	0,22
	Tổng thời gian:	0,55

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại nhà đối tượng

3. AN TOÀN

- Khi thực hiện quy trình phải mặc quần áo blouse dài tay, dép kín mũi, găng tay, khẩu trang đảm bảo các tiêu chuẩn về an toàn sinh học.
- Vệ sinh bàn tay bằng dung dịch sát khuẩn. Thực hiện rửa tay 6 bước theo đúng quy trình rửa tay thường quy của Bộ y tế.
- Các rác thải y tế phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy mẫu sữa mẹ

① Chuẩn bị:

Chuẩn bị đầy đủ dụng cụ lấy mẫu và lưu mẫu

Ghi đầy đủ thông tin bà mẹ (họ tên, ngày sinh, mã số, ngày giờ lấy mẫu sữa) vào

Phiếu thông tin, dán tem barcode vào phiếu và dụng cụ lấy mẫu và lưu mẫu

Thông tin ghi trên túi đựng mẫu gồm có: tên, mã số đối tượng, ngày giờ lấy mẫu

② Nhân viên lấy mẫu giải thích và động viên bà mẹ, để bà mẹ ngồi ở tư thế thoải mái và tinh thần vui vẻ

③ Bà mẹ thực hiện vắt sữa vào dụng cụ lấy mẫu:

- Thời điểm lấy mẫu: buổi sáng, sau khi trẻ bú mẹ

- Các bước thực hiện:

Bà mẹ sau khi cho con bú hết 1 bầu vú, thì bắt đầu thực hiện lấy mẫu ở bầu vú còn lại:

- Rửa sạch tay và bầu vú
- Dùng khăn lau khô bầu vú
- Dùng tay vê núm vú trong vòng 2 phút để kích thích phản xạ tiết sữa
- Vắt sữa vào dụng cụ lấy mẫu: vắt kiệt bầu sữa mẹ (tối thiểu là 20 ml). Nếu bầu vú không đủ số lượng 20ml thì cần kích thích thêm núm vú và để bà mẹ nghỉ ngơi rồi tiếp tục vắt sữa

④ Mở túi đựng sữa mẹ và đổ sữa từ dụng cụ lấy mẫu vào túi đựng sữa có khóa .

* Chú ý cẩn thận không cho ngón tay vào bên trong hoặc không thổi vào túi sữa



mẹ.

Mở rộng túi xuống tận phần đáy

Chuyển sữa mẹ thu được vào túi đựng sữa mẹ



⑤ Đậy kín túi đựng sữa mẹ.

- 1) Loại bỏ không khí ra khỏi túi đựng sữa mẹ.
- 2) Quấn phần trên cùng về phía băng dính ba lần và bóc lớp giấy ra khỏi phần băng dính.
- 3) Cuộn thêm một lần nữa và ấn chặt để cố định.



⑥ Đặt túi sữa mẹ vào một túi có khóa kéo trong suốt, sau đó cho vào túi vận chuyển.

4.1.2. Bảo quản và vận chuyển mẫu sữa mẹ



Chuẩn bị tất cả các dụng cụ cần thiết cho việc vận chuyển và bảo quản mẫu sữa (mục 2.2)

Mẫu sữa mẹ trước khi vận chuyển phải được đảm bảo đóng gói 3 lớp theo quy định về “Đóng gói mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm” của Bộ y tế theo Thông tư 40/2018/TT-BYT.

Handwritten signatures in blue ink.

Vận chuyển mẫu trong thùng bảo quản mẫu có chứa túi đá đông lạnh, đảm bảo nhiệt độ từ 2°C đến 8°C (có theo dõi bằng nhiệt kế), trong thời gian không quá 4 giờ. Sau đó lưu trữ mẫu tại tủ âm (từ -20 °C hoặc -80°C).

- ① Từ giai đoạn này các thao tác cần nhanh chóng để nhiệt độ của sữa mẹ và túi đá không tăng cao.
Sắp xếp 6 túi đá đông lạnh áp vào thành thùng bảo quản lạnh bằng thép không gỉ.



- ② Đặt túi vận chuyển có chứa túi đựng sữa mẹ vào giữa.



- ③ Đậy nắp thùng bảo quản lạnh bằng thép không gỉ và vận chặt chốt.



- ④ Đặt thùng bảo quản lạnh bằng thép không gỉ vào hộp xốp với nắp hướng lên trên và lấp đầy khoảng trống bằng vật liệu đệm.



- ⑤ Đậy nắp hộp xốp không để hở, dùng băng dính dán nhẹ hai đầu nắp hộp không bị trượt.



4.2. Nhận định kết quả

- Mẫu được lấy đúng cách phải đủ số lượng tối thiểu 20ml/mẫu và đóng gói 3 lớp, đủ thông tin ghi trên nhãn, được vận chuyển tới tủ đông lạnh không quá 4 giờ kể từ thời gian lấy sữa ra khỏi cơ thể người mẹ, nhiệt kế trong thùng đựng mẫu đảm bảo nhiệt độ từ 2°C đến 8°C

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ

Phiếu thông tin của bà mẹ được gửi cho Labo phân tích cùng với mẫu sữa. Lưu phiếu thông tin bà mẹ (01 bản cứng và 01 file mềm) tại Labo của Viện Dinh Dưỡng trong vòng 5 năm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

5.1. Trước khi lấy mẫu

TT	Tình huống	Xử lý
----	------------	-------

1	Chưa đầy đủ dụng cụ	Không được thực hiện lấy mẫu cho đến khi chuẩn bị đầy đủ dụng cụ đảm bảo yêu cầu
2	Trẻ đã bú hết 2 bầu sữa mẹ	Đợi cho bà mẹ nghỉ ngơi và uống thêm nước, sau 30 phút mới thực hiện lấy sữa mẹ

5.2. Trong quá trình lấy mẫu

TT	Tình huống	Xử lý
1	Bà mẹ đau vú quá nên không thể hút đủ sữa	Đợi cho bà mẹ nghỉ ngơi và uống thêm nước, sau 30 phút mới tiếp tục thực hiện lấy sữa mẹ
2	Không đủ lượng mẫu	Đợi cho bà mẹ nghỉ ngơi và uống thêm nước, sau 30 phút mới thực hiện lấy sữa mẹ

5.3. Sau khi lấy mẫu sữa mẹ

TT	Tình huống	Xử lý
1	Sữa mẹ sau khi lấy xong bị tràn đổ	Trao đổi với bà mẹ để nhận được sự đồng ý lấy lại mẫu sữa

6. TIÊU CHUẨN ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG

- Về số lượng: lấy hết 1 bầu sữa mẹ (tối thiểu 20ml/mẫu sữa).
- Chất lượng:
 - + Thông tin ghi trên phiếu điều tra khớp với thông tin trên túi đựng mẫu về tên, mã số, ngày giờ lấy mẫu
 - + Mẫu sữa mẹ được bảo quản và vận chuyển đúng cách (thời gian tới tủ cấp đông không quá 4 giờ, nhiệt độ trong thùng quản bảo mẫu luôn đảm bảo từ 2°C đến 8°C)

7. TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tiêu chuẩn TCVN 6400:2010 . ISO 707:2008. Hướng dẫn lấy mẫu sữa và sản phẩm sữa
2. Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018. Phụ lục IV. Đóng gói mẫu bệnh phẩm truyền nhiễm.
3. Nagel EM, Elgersma KM, Gallagher TT, Johnson KE, Demerath E, Gale CA. Importance of human milk for infants in the clinical setting: Updates and

Handwritten signatures and initials in blue ink.

- mechanistic links. *Nutr Clin Pract*. 2023 Oct;38 Suppl 2:S39-S55. doi: 10.1002/ncp.11037. PMID: 37721461.
4. Martin CR, Ling PR, Blackburn GL. Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*. 2016 May 11;8(5):279. doi: 10.3390/nu8050279. PMID: 27187450; PMCID: PMC4882692.
 5. Lauritzen L, Halkjaer LB, Mikkelsen TB, Olsen SF, Michaelsen KF, Løland L, Bisgaard H. Fatty acid composition of human milk in atopic Danish mothers. *Am J Clin Nutr*. 2006 Jul;84(1):190-6. doi: 10.1093/ajcn/84.1.190. PMID: 16825695.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 32:
LẤY MÁU TĨNH MẠCH, XỬ LÝ, BẢO QUẢN VÀ VẬN CHUYỂN
MẪU MÁU TẠI THỰC ĐỊA

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp lấy máu tĩnh mạch, xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu máu của các người bệnh tham gia nghiên cứu tại thực địa.

1.2. Định nghĩa: không áp dụng

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Người thực hiện	3	- Thành thạo về kỹ thuật lấy mẫu máu xét nghiệm. - Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và yêu cầu chất lượng xét nghiệm
2	Người thực hiện	1	Bác sĩ

- Người lấy mẫu máu: 01 người.
- Người khám đầu vào và theo dõi người bệnh trong và sau khi lấy máu, xử trí cấp cứu phân vệ: 01 người.
- Người xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu máu tại thực địa: 01 người.
- Người hỗ trợ lấy máu (ghi thông tin người bệnh và phiếu kết quả): 01 người.

2.2. Vật tư trực tiếp

- Hộp inox chữ nhật đựng dụng cụ y tế :1 cái.
- Panh y tế không máu: 2 cái.
- Kéo y tế: 1 cái.
- Khay quả đậu: 1 cái.
- Hộp đựng bông (01 đựng bông khô và 01 đựng bông cồn 70%): 2 cái.
- Túi đựng rác thải y tế: 2 cái.
- Túi đựng rác thải sinh hoạt: 1 cái.
- Hộp đựng vật sắc nhọn: 1 cái.
- Dây ga rô: 1cái.
- Đệm kê tay: 1 cái.
- Bông y tế cắt miếng: 1 miếng.
- Cồn 70%: 4 mL.

Được *mm*

- Găng tay y tế không bột talc: 2 đôi.
- Dung dịch sát khuẩn tay: 5 mL.
- Bơm tiêm lấy máu (cỡ kim 23 G) hoặc kim lấy máu (cỡ kim 23G) hoặc bộ lấy máu chân không (kim lấy máu chân không 2 đầu dốc trong cỡ kim 21 G, giá đỡ kim, băng dính y tế cố định kim lấy máu chân không): 1 cái/ bộ.
- Băng cá nhân vải (urgo) hoặc tương đương: 1 cái.
- Tuýp lấy máu: 1 cái.
- Tuýp ly tâm (lưu mẫu máu nắp xoáy hoặc nắp ấn): 2 cái.
- Tem dán barcode: 7 cái.
- Khẩu trang y tế vô trùng; 4 cái.
- Mũ trùm đầu y tế dùng 1 lần: 3 cái.
- Giá để ống lưu mẫu: 1 cái.
- Đầu côn (típ) có chia vạch 1000 μ L, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100 - 1000 μ L: 1 cái.
- Đầu côn (típ) có chia vạch 200 μ L, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 20 - 200 μ L: 1 cái.
- Đá gel giữ lạnh (chất liệu nhựa HDPE, 120 x 190 x 25 mm): 5 cái.
- Túi zip 20 x 28 cm: 1 cái.
- Micropipet (bán tự động) dung tích 100-1000 μ L, độ chính xác $\pm 3 \mu$ L tại 100 μ L: 1 cái.
- Micropipet (bán tự động) dung tích 20 – 200 μ L, độ chính xác $\pm 3 \mu$ L tại 20 μ L: 1 cái.
- Thùng giữ nhiệt (vận chuyển mẫu bệnh phẩm): 1 cái.
- Nhiệt kế (theo dõi nhiệt độ thùng giữ nhiệt): 1 cái.
- Ổ cắm điện: 1 cái.
- Thuê tủ lạnh -20°C hoặc - 80°C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra dưới thực địa: 1 cái/đối tượng/ngày.
- Giấy A4: 1 tờ.
- Bút bi: 1 cái.
- Bút dạ: 1 cái.
- Bút dạ không phai: 1 cái.
- Bộ quần, áo bảo hộ y tế: 03 bộ.

2.3. Thiết bị

- Máy li tâm: 01 máy
- Tủ lạnh -20°C hoặc -80 °C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra dưới thực địa.
- Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C lưu trữ mẫu tại nơi lưu mẫu.

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

- Sắp xếp tất cả các vật tư cần thiết cho thủ thuật lấy máu tĩnh mạch (bảng 1) trên mặt bàn phẳng, cách xa vị trí của người bệnh.
- Thực hiện rửa tay 6 bước theo đúng quy trình rửa tay thường quy của Bộ y tế.
- Cán bộ lấy máu tiếp xúc, giải thích động viên người bệnh, đối chiếu với hồ sơ của người bệnh, xác nhận thông tin nhìn ăn sáng của người bệnh đối với một số chỉ tiêu xét nghiệm. Xác nhận lại người bệnh đã được chỉ định lấy máu.
- Hướng dẫn người bệnh với tư thế phù hợp trước khi lấy máu.
- Ghi đầy đủ thông tin người bệnh (họ tên, ngày sinh, ngày giờ lấy máu) vào danh sách chung ghi thông tin người bệnh, dán nhãn barcode kẹp trong hồ sơ của người bệnh vào danh sách lấy mẫu và dán nhãn lần lượt trên từng loại ống nghiệm lấy máu.

Bảng 1: Danh mục các ống nghiệm lấy máu

Ống nghiệm không chứa chất chống đông (ống serum)	Ống nghiệm có chứa chất chống đông EDTA (ống EDTA)	Ống nghiệm có chứa chất chống đông (ống Heparin)
Thể tích máu cần lấy (tùy loại thể tích ống máu sẽ có thể tích máu tương ứng)	Thể tích máu cần lấy: 2ml	Thể tích máu cần lấy (tùy loại thể tích ống máu sẽ có thể tích máu tương ứng)
- Kẽm - Vitamin A - Vitamin D - Vitamin B12 - Folat huyết thanh - Các chỉ tiêu ELISA - Aflatoxin	- Hemoglobin - Vitamin B1 - Folat hồng cầu - Thalasamia - XN gen	- Kẽm - Elisa - Hemoglobin,...
Ghi chú: Thể tích máu trong ống nghiệm EDTA cần phải lấy đủ 2ml.		

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Phiếu xét nghiệm cần ghi đầy đủ thông tin về tên, tuổi, giới tính, khoa phòng, chẩn đoán của người bệnh. Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)
1	Người thực hiện	-Thực hiện lấy máu	0,62

Handwritten signatures and initials in blue ink.

		Chuẩn bị dụng cụ. Xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu máu Hỗ trợ lấy máu, hỏi ghi thông tin người bệnh và phiếu kết quả	
2	Người thực hiện	Khám đầu vào và theo dõi người bệnh trong và sau khi lấy máu, xử trí cấp cứu phân vệ	0,75
Tổng			1,37

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại thực địa

3. An toàn

- Khi thực hiện quy trình phải mặc quần áo blouse dài tay, dép kín mũi, găng tay, khẩu trang đảm bảo các tiêu chuẩn về an toàn sinh học.
- Vệ sinh bàn tay bằng dung dịch sát khuẩn. Thực hiện rửa tay 6 bước theo đúng quy trình rửa tay thường quy của Bộ y tế.
- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Lấy máu tĩnh mạch

- Đeo găng sạch, vệ sinh tay bằng dung dịch sát khuẩn.
- Chọn vị trí lấy máu thích hợp.
- Xác định vị trí tĩnh mạch. Buộc dây garo khoảng 4-5 đốt ngón tay phía trên vị trí lấy máu.
- Yêu cầu người bệnh nắm tay để các tĩnh mạch nổi hơn.
- Sát khuẩn vị trí nơi lấy máu:
- + Sử dụng cồn 70° sát khuẩn từ trung tâm của vị trí lấy máu tĩnh mạch ra ngoài theo hình tròn ốc để bao phủ diện tích khoảng 2 cm.
- + Chờ cồn khô trong khoảng 30 giây.
- + KHÔNG chạm vào vị trí đã sát khuẩn. Nếu chạm vào, lặp lại việc sát khuẩn.

a) Lấy máu bằng bơm kim tiêm

- Kiểm tra pít tông bằng cách kéo và đẩy pít tông 2-3 lần.
- Điều chỉnh mũi kim tiêm sao cho đầu vát hướng lên trên.
- Đặt ngón tay cái dưới vị trí lấy máu.
 - KHÔNG chạm vào vị trí lấy máu.
 - KHÔNG đặt ngón tay lên trên mạch máu nơi lấy máu.

- Yêu cầu người bệnh nắm chặt bàn tay lại.
- Tiến hành rút máu: đưa kim nhẹ nhàng vào mạch máu dưới một góc khoảng 30° .
- Khi có máu chảy vào đốc kim, tháo dây garô và đề nghị người bệnh mở bàn tay của mình, kéo nhẹ pittong cho máu vào bơm.
- Khi đã lấy đủ lượng máu, rút mũi kim nhanh, nhẹ nhàng.
- Dùng panh không có máu để nhẹ lên nơi lấy máu một miếng bông sạch, cố định bông bằng băng cá nhân.
- Yêu cầu người bệnh không gập tay lại, giữ chặt bông tại nơi lấy máu từ 5-10 phút. Đối với trẻ nhỏ, yêu cầu người bế giữ chặt bông cho trẻ cho tới khi vết thương nơi lấy máu ngưng chảy.
- Tháo kim ra khỏi bơm tiêm, cho kim vào hộp an toàn, bơm máu nhẹ nhàng vào thành ống nghiệm một góc 45° và để vào giá để ống nghiệm chứa mẫu máu (đối với ống có chất chống đông thì đảo ngược trong 30 giây cho máu trộn đều với chất chống đông). Bỏ bơm tiêm và bông đã sử dụng cho vào túi đựng rác thải y tế.

b) Lấy máu bằng ống hút chân không

- Kiểm tra kim lấy máu chân không, lắp kim lấy máu chân không vào giá đỡ kim (holder).
- Điều chỉnh mũi kim tiêm sao cho đầu vát hướng lên trên.
- Đặt ngón tay cái dưới vị trí lấy máu.
 - KHÔNG chạm vào vị trí lấy máu.
 - KHÔNG đặt ngón tay lên trên mạch máu nơi lấy máu.
- Yêu cầu người bệnh nắm chặt bàn tay lại.
- Tiến hành rút máu: đưa kim nhẹ nhàng vào mạch máu dưới một góc khoảng 30° .
- Khi có máu chảy vào đốc kim dùng băng dính y tế dán cố định kim, tháo dây garô và đề nghị người bệnh mở bàn tay của mình.
- Đẩy ống nghiệm vào giá đỡ kim (holder).
- Khi đã lấy đủ lượng máu rút kim nhanh nhẹ nhàng.
- Dùng panh không có máu để nhẹ lên nơi lấy máu một miếng bông sạch, cố định bông bằng băng cá nhân.
- Yêu cầu người bệnh không gập tay lại, giữ chặt bông tại nơi lấy máu từ 5-10 phút. Đối với trẻ nhỏ, yêu cầu người bế giữ chặt bông cho trẻ cho tới khi vết thương nơi lấy máu ngưng chảy.
- Rút ống nghiệm chứa máu ra khỏi giá đỡ kim và để vào giá để ống nghiệm.
- Tháo kim lấy máu chân không khỏi giá đỡ kim (holder) và cho vào hộp an toàn. Bỏ bông đã sử dụng cho vào túi đựng rác thải y tế.

4.1.2. Xử lý mẫu máu

- Chuẩn bị các dụng cụ xử lý mẫu máu. Đặt các dụng cụ xử lý mẫu máu trên mặt bàn phẳng, sắp xếp gọn gàng, ngăn nắp, để những nơi dễ thấy, dễ tìm để thuận tiện cho các thao tác kỹ thuật.

- Máy li tâm phải được đặt trên một bề mặt chắc chắn, bằng phẳng.
- a) *Li tâm, tách huyết thanh*
- Xếp các ống nghiệm đựng mẫu máu không chứa chất chống đông theo đúng số thứ tự.
- Đặt ống nghiệm đựng mẫu máu không chứa chất chống đông ở vị trí thẳng đứng trong khoảng từ 20 đến 30 phút để hình thành cục máu đông.
- Ghi và dán tem đầy đủ thông tin người bệnh (tên, code) vào các ống lưu mẫu huyết thanh giống với thông tin trên ống đựng mẫu máu không chứa chất chống đông của người bệnh.
- Kiểm tra đảm bảo ống đựng mẫu máu đã được đóng chặt nắp.
- Cho ống máu vào máy li tâm theo nguyên tắc cân bằng đối xứng. Tiến hành li tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút trong 15 phút.
- Sau khi kết thúc li tâm, lấy các ống máu đã li tâm để vào giá đựng mẫu máu.
- Dùng pipet bán tự động cầm đầu tip tương ứng có chia vạch nhẹ nhàng hút huyết thanh ở phần trên của ống, chia lần lượt đúng thể tích huyết thanh cần dùng vào các ống lưu mẫu huyết thanh đã được ghi thông tin ở trên.

Chú ý: Không bảo quản mẫu máu dưới 0°C trước khi tách huyết thanh.

b) *Li tâm, tách huyết tương (ống đựng mẫu máu có chứa chất chống đông)*

- Xếp các ống nghiệm đựng mẫu máu có chứa chất chống đông theo đúng số thứ tự.
- Ghi và dán tem đầy đủ thông tin người bệnh (tên, code) vào các ống lưu mẫu huyết tương giống với thông tin trên ống đựng mẫu máu có chứa chất chống đông của người bệnh.
- Kiểm tra đảm bảo ống đựng mẫu máu đã được đóng chặt nắp.
- Cho ống máu vào máy li tâm theo nguyên tắc cân bằng đối xứng. Tiến hành li tâm ở tốc độ 3.000 vòng/phút trong 15 phút.
- Sau khi kết thúc li tâm, lấy các ống máu để vào giá đựng mẫu.
- Dùng pipet bán tự động cầm đầu tip tương ứng có chia vạch nhẹ nhàng hút huyết tương ở phần trên của ống, chia lần lượt đúng thể tích huyết tương cần dùng vào các ống lưu mẫu huyết tương đã được ghi thông tin ở trên.

Chú ý: Không bảo quản mẫu máu dưới 0°C trước khi tách huyết tương.

c) *Chia mẫu máu toàn phần (ống đựng mẫu máu có chứa chất chống đông EDTA)*

- Xếp các ống nghiệm đựng mẫu máu toàn phần theo đúng số thứ tự.
- Ghi và dán tem đầy đủ thông tin người bệnh (tên, code) vào các ống lưu mẫu máu toàn phần giống với thông tin trên ống máu có chứa chất chống đông EDTA của người bệnh.
- Lắc đảo nhẹ nhàng đều 3-5 lần ống máu có chứa chất chống đông EDTA trước khi hút.

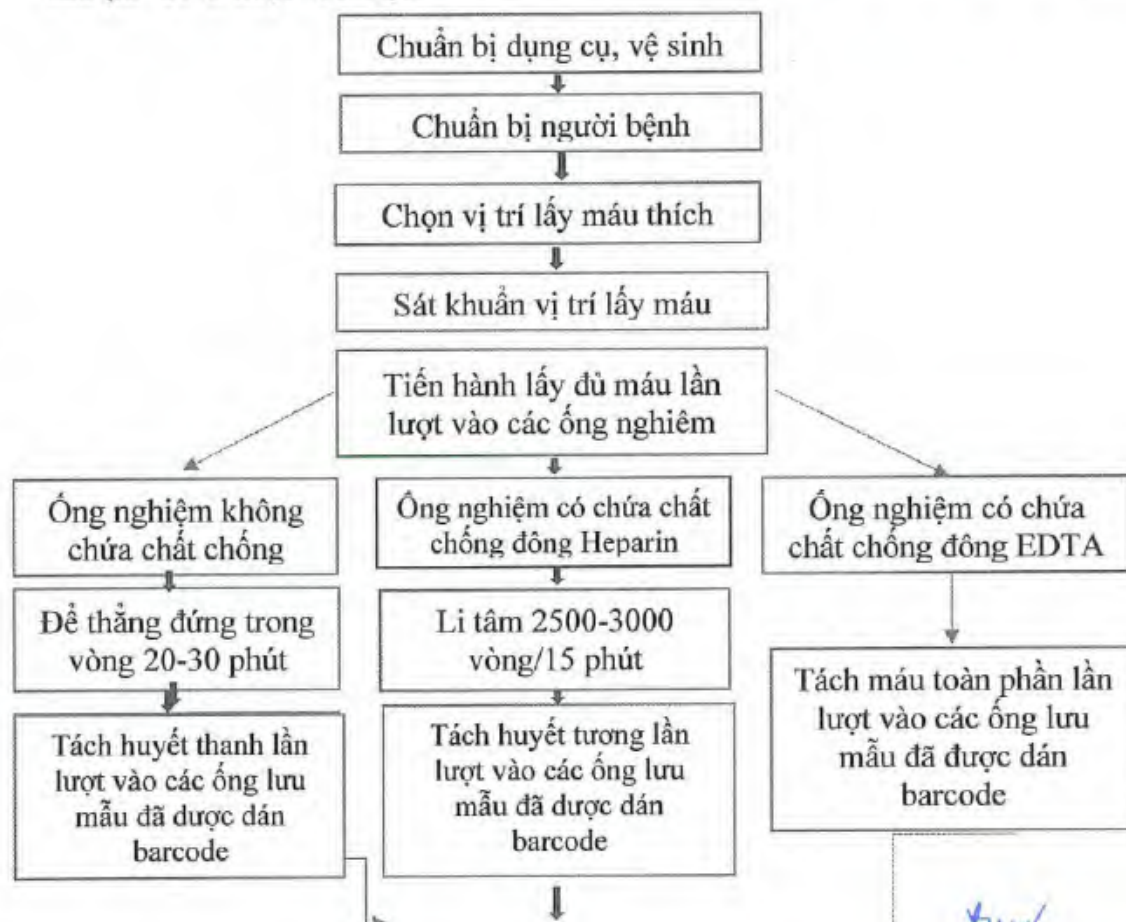
- Dùng pipet bán tự động cầm đầu tip tương ứng có chia vạch nhẹ nhàng hút máu toàn phần, chia lần lượt đúng thể tích máu toàn phần cần dùng cho vào các ống lưu mẫu máu toàn phần đã được ghi đầy đủ thông tin ở trên.

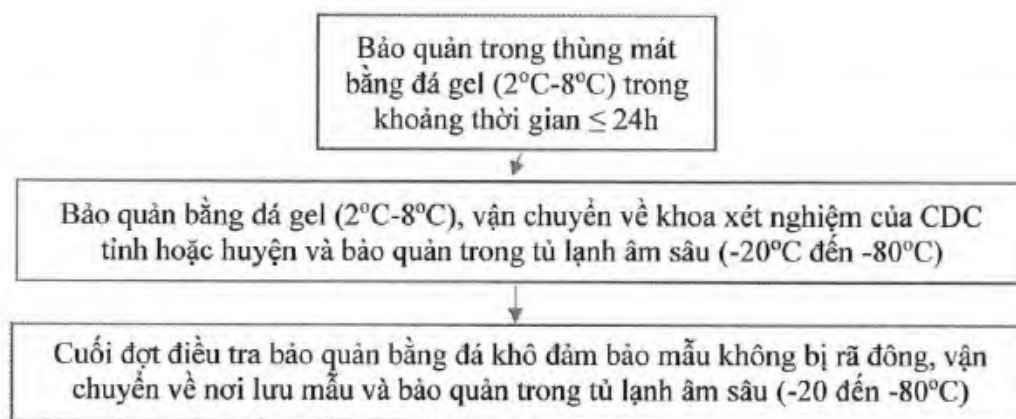
d) Sau khi xử lý sau mẫu máu

- Chia từng ống lưu mẫu vào các hộp hoặc túi đựng chỉ tiêu xét nghiệm tương ứng đã được ghi đầy đủ thông tin trên nhãn.
- Ống máu và rác thải y tế được cho vào túi rác thải y tế và mang về trạm y tế để xử lý vào cuối ngày.

4.1.3. Bảo quản và vận chuyển mẫu máu

- Chuẩn bị tất cả các dụng cụ cần thiết cho việc vận chuyển và bảo quản mẫu máu.
- Chuẩn bị tủ lạnh lưu mẫu tại nơi lưu mẫu.
- Mẫu máu xét nghiệm trước khi vận chuyển được đảm bảo đóng gói 3 lớp theo quy định về “Đóng gói mẫu bệnh phẩm bệnh truyền nhiễm” của Bộ y tế (Phụ lục IV, Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018).
- Vận chuyển mẫu trong thời gian ≤ 24 giờ hoặc theo từng chỉ tiêu đặt ra (Bảng 1, mục 3, quyết định 57/QĐ-DP ngày 27 tháng 3 năm 2018), bảo quản mẫu bằng đá gel, đảm bảo nhiệt độ từ 2°C đến 8°C . Sau đó lưu trữ mẫu tại tủ âm (từ -20°C hoặc -80°C) tại nơi điều tra.
- Cuối đợt điều tra, cán bộ điều tra thu gom mẫu bảo quản mẫu bằng đá khô đảm bảo mẫu không bị rã đông và vận chuyển về nơi lưu mẫu. Sau đó lưu trữ mẫu tại tủ âm sâu (từ -20°C hoặc -80°C).





Hình 1: Sơ đồ các bước thực hiện lấy máu tĩnh mạch, xử lý, bảo quản và vận chuyển mẫu máu tại thực địa

4.2. Nhận định kết quả

- Nhận định bằng mắt thường các trường hợp mẫu máu bị vỡ hồng cầu, đông máu... (cần ghi chú vào danh sách lấy mẫu).

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả danh sách lấy máu cho bên đơn vị nhận mẫu và lưu hồ sơ trong vòng 5 năm dưới dạng bản cứng và bản mềm.
- Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

- Cần kiểm tra và chuẩn bị đầy đủ các dụng cụ cần thiết trước khi thực hiện kỹ thuật. Mọi dụng cụ phải đảm bảo vô trùng để tránh nhiễm khuẩn.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

- Trong trường hợp người bệnh gặp tai biến như choáng ngất hoặc vỡ mạch, xét nghiệm viên cần biết cách xử lý kịp thời như ép bông, giữ bình tĩnh và liên hệ ngay với bác sĩ.
- Sai sót trong thao tác như lắc mạnh ống nghiệm có thể gây vỡ hồng cầu, dẫn đến kết quả xét nghiệm không chính xác. Xét nghiệm viên cần trộn nhẹ nhàng nếu sử dụng chất chống đông.
- Những sự cố tràn đổ bệnh phẩm, sự cố bị vật sắc nhọn bị vật sắc nhọn đâm vào hoặc bệnh phẩm bắn vào mắt, mũi, miệng hoặc vết thương hở trong khi làm việc với tác nhân gây bệnh cần được xử trí kịp thời và đúng qui trình.
- Quá trình bảo quản và vận chuyển mẫu máu cần tuân thủ các quy định nghiêm ngặt để đảm bảo mẫu không bị hư hại hoặc nhiễm khuẩn.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

- Nếu mẫu máu không đạt tiêu chuẩn phải ghi chép vào hồ sơ, báo cáo với cán bộ quản lý. Thực hiện lại quy trình lấy mẫu (nếu có thể).

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Kiểm tra chất lượng mẫu máu trong thời gian xử lý mẫu. Mẫu máu được xử lý đúng, đạt chỉ tiêu về số lượng và chất lượng: mẫu máu không bị đông, không bị vỡ hồng cầu.

7. Tài liệu tham khảo

- WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy (Hướng dẫn lấy máu tĩnh mạch năm 2010).
- WHO DIL LAB 99.1 REV.2. (Sử dụng chất chống đông trong xét nghiệm năm 2002).
- Công văn số 7517/BYT-ĐTr ngày 12 tháng 10 năm 2007 về “Quy trình rửa tay thường quy”.
- Thông tư số 25/2012/TT-BYT ngày 29 tháng 11 năm 2012 về việc “Ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về thực hành và an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm của Bộ Y tế”.
- Quyết định số 43/2007/QĐ-BYT ngày 30 tháng 11 năm 2007 về việc ban hành Quy chế Quản lý chất thải y tế của Bộ Y tế.
- Quyết định số 57/QĐ-DP ngày 27 tháng 03 năm 2018 về việc ban hành “Hướng dẫn lấy mẫu, đóng gói, bảo quản và vận chuyển mẫu xét nghiệm truyền nhiễm”.
- Phụ lục IV, Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018 về việc Đóng gói mẫu bệnh phẩm truyền nhiễm.
- Thông tư 43/2011/TT-BYT ngày 05/12/2011 “Quy định chế độ quản lý mẫu bệnh phẩm truyền nhiễm”.
- WHO (2022), “Cẩm nang An toàn sinh học phòng thí nghiệm”, tái bản lần thứ 4.
- Điều 7, Thông tư 40/2018/TT-BYT ngày 07 tháng 12 năm 2018 về việc Xử lý sự cố khi bị tràn đổ mẫu bệnh phẩm.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 33:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT UỐNG LIỀU DEUTERIUM OXIDE VÀ LẤY MẪU NƯỚC BỌT TRÊN ĐỐI TƯỢNG TỪ 2 TUỔI ĐỂ ĐÁNH GIÁ THÀNH PHẦN CƠ THỂ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này để cho người từ 2 tuổi uống liều deuterium oxide và sau đó tiến hành lấy mẫu nước bọt để đo thành phần cơ thể.

1.2. Định nghĩa

Thành phần cơ thể: là tỷ lệ phần trăm mỡ, nước, xương, cơ và các mô khác trong cơ thể. Trong quy trình này, thành phần cơ thể được chia thành hai khối: khối mỡ và khối không mỡ.

Một số từ viết tắt:

- D₂O: deuterium oxide

- Liều D₂O: liều deuterium oxide đã chuẩn bị cho sẵn cho đối tượng theo quy trình.

1.3. Nguyên lý

Khi người tham gia uống liều deuterium oxide, deuterium oxide sẽ phân bố đều trong cơ thể trừ phần mô mỡ và mẫu nước bọt sẽ được lấy khi deuterium oxide đạt cân bằng động trong cơ thể để xác định thành phần cơ thể sau đó.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	01	Được đào tạo về kỹ thuật hỗ trợ người tham gia uống liều deuterium oxide và lấy mẫu nước bọt

2.2. Vật tư

Sinh phẩm, hóa chất

+ Cồn 70%	80 mL
+ Liều D ₂ O chuẩn bị sẵn theo quy trình	1-2 lọ
+ Nước uống (nước đun sôi để nguội)	120

Vật tư khác

+ Giá đặt ống thu mẫu	01 cái
+ Xy lanh dùng 1 lần 20 mL	03 cái
+ Bông bọc gạc để thấm nước bọt	6 miếng

+ Tuýp ly tâm, dung tích 2 ml	06 cái
+ Màng nilon bọc thực phẩm	10 cm ²
+ Hộp lạnh bảo quản mẫu đi thực địa	01 cái
+ Túi zip đựng mẫu 10x14 cm	03 cái
+ Túi zip đựng mẫu 7x10 cm	03 cái
+ Bút dạ không phai	01 cái
+ Túi đựng rác thải y tế	01 cái
+ Khăn ướt sát khuẩn dùng 1 lần	01 gói
+ Tem ghi nhãn	05 cái
+ Giấy A4	02 tờ
+ Bút bi	01 cái
+ Khăn giấy	01 hộp 50 tờ
+ Đồng hồ để bàn/báo thức	01 cái
+ Parafilm	50 cm
+ Giá để ống đựng mẫu	01 cái
+ Ổ cắm điện	01 cái
+ Đá gel để giữ lạnh mẫu	05 cái
+ Mũ bảo hộ lao động	02 chiếc
+ Găng tay y tế nitrile không bột talc	08 đôi
+ Khẩu trang y tế	06 cái

2.3. Trang thiết bị

+ Tủ lạnh -20oC hoặc -80oC tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra tại thực địa.	01 chiếc
+ Tủ lạnh -20oC hoặc -80oC lưu trữ mẫu.	01 chiếc
+ Phòng diện tích khoảng 25 m ² , phòng đầy đủ ánh sáng và bàn ghế, đảm bảo ấm vào mùa đông, tránh gió lùa.	

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

- Đảm bảo là đối tượng không ăn hay uống gì trong vòng 30 phút trước khi lấy mẫu nước bọt.
- Ghi thông tin đối tượng lên phiếu Theo dõi cho đối tượng uống liều D2O (Phụ lục 1), dán mã code lên phiếu và các ống đựng mẫu.
- Đề nghị đối tượng tiểu trước khi lấy mẫu A.
- Cân trọng lượng cơ thể đối tượng theo quy trình.
- Liều D2O cần chuẩn bị sẵn 1-2 lọ theo quy trình ‘tên quy trình đã được duyệt’.

Lưu ý:

- Nếu liều đông đá, cần để liều tan hoàn toàn và hòa trộn đều trước khi uống.
- Trước khi đưa cho người tham gia, lọ đựng liều cần được lắc xoay, đảo vài lần để hòa trộn với chất lỏng dính ở nắp nếu có.
- Không nên mở nắp lọ chứa liều cho tới khi được uống.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có):

- Nếu tại phòng khám thì chỉ định theo bác sĩ.
- Nếu trong phạm vi nghiên cứu, thực hiện theo chỉ định của nghiên cứu viên chính.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

- Nhân công trực tiếp: 01 người tham gia trong toàn bộ quy trình.
- Tổng số giờ làm việc: 1,8 giờ.

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Nhân viên xét nghiệm	Quản lý liều và cho người tham gia uống liều	0,2
		Lưu thông tin liều	0,1
		Tính toán liều cho người sử dụng	1,0
		Kiểm soát quá trình cho người tham gia uống liều	0,5
		Quản lý thông tin liều uống của từng người tham gia	

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

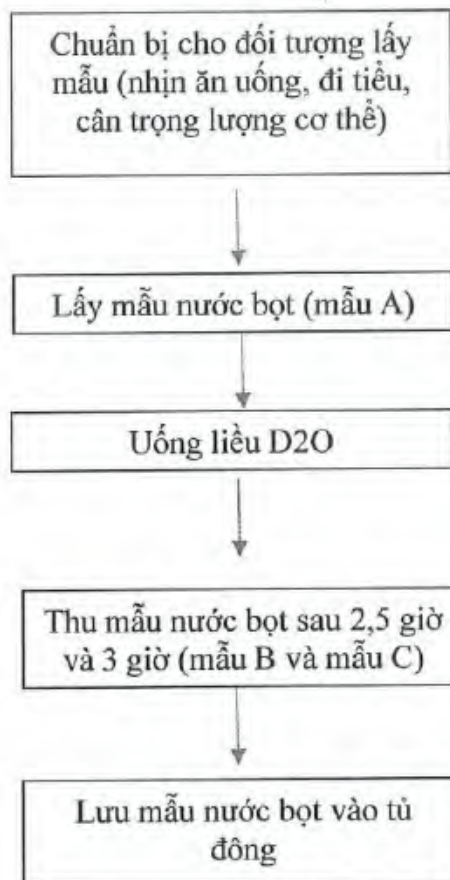
Quy trình được thực hiện tại thực địa hoặc cơ sở y tế

3. An toàn

- Để đảm bảo an toàn cho người thực hiện, cán bộ thực hiện phải sử dụng các dụng cụ bảo hộ trong quá trình cho người tham gia uống liều.
- Để tránh lây nhiễm chéo giữa các đối tượng, cán bộ thực hiện thay găng tay mới cho mỗi đối tượng.
- Với nồng độ được pha, liều D2O được biết không gây tác dụng có hại cho người.
- Trong thời gian chờ lấy mẫu nước bọt sau uống liều, đối tượng không nên uống nước và chỉ ăn nhẹ nếu cần thiết.
- Lọ đựng liều D2O nếu sử dụng lại phải hấp tiệt trùng và sấy khô trước lần sử dụng sau.

4. Các bước tiến hành

Sơ đồ các bước tiến hành



Chuẩn bị đối tượng lấy mẫu

- Đảm bảo là đối tượng không ăn hay uống gì trong vòng 30 phút trước khi lấy mẫu nước bọt.
- Ghi thông tin đối tượng lên phiếu Theo dõi cho uống liều D2O (Phụ lục 1), dán mã code lên phiếu và các ống đựng mẫu.
- Đề nghị đối tượng tiểu trước khi lấy mẫu A.
- Cân trọng lượng cơ thể đối tượng.

Lấy mẫu nước bọt trước khi uống liều

duu mr

Chú ý: mẫu nước bọt lấy tại 3 thời điểm:

- Mẫu trước khi uống liều (mẫu A): mẫu được lấy trước khi người tham gia uống liều D2O.
- Mẫu sau uống liều (mẫu B): lấy ở thời điểm 2,5 giờ sau khi người tham gia uống liều D2O.
- Mẫu sau uống liều liều (mẫu C): lấy ở thời điểm 3 giờ sau khi người tham gia uống liều D2O.

Các bước lấy mẫu nước bọt:

- Đưa cho người tham gia miếng bông để thấm nước bọt. Để người tham gia ngậm và di chuyển trong miệng từ 1-2 phút hoặc cho đến khi bông thấm đẫm nước bọt, giữ miếng ngậm chặt trong suốt quá trình.
- Chuẩn bị ống đựng mẫu có dán barcode ID của người tham gia, ngày và thời gian lấy mẫu (ghi rõ mẫu A, mẫu B hay mẫu C) lên ống đựng mẫu.
- Rút thanh ấn khỏi ống xy lanh dùng 1 lần 20ml mới.
- Người tham gia nhả viên bông từ miệng vào ống xy lanh.
- Ép nước bọt từ viên bông trong xy lanh vào ống đựng mẫu đã chuẩn bị sẵn.
- Đóng chặt nắp ống đựng mẫu để tránh bay hơi.
- Đặt ống đựng mẫu lên giá để mẫu hoặc hộp lạnh.
- Nếu cần thiết, lặp lại với viên bông khác cho tới khi thu đủ 0.5ml nước bọt.
- Thay xy lanh, viên bông và găng tay sau mỗi mẫu.
- Kiểm tra lại xem ống đựng mẫu đã ghi đúng ID người tham gia, ngày và thời gian lấy mẫu. Ghi lại tất cả ngày và thời gian lấy mẫu của người tham gia vào tờ thông tin.
- Đặt ống đựng mẫu vào tủ đông. Nếu có thể thì cho mẫu vào tủ đông ngay. Mẫu có thể được giữ trong tủ lạnh hoặc hộp mát nhưng cần được làm đông càng sớm càng tốt, tốt nhất là cùng trong ngày thu mẫu.

Cho đối tượng uống liều D2O

- Ghi lại số lọ chứa liều và khối lượng dung dịch D2O pha loãng, thời gian bắt đầu uống trong tờ phiếu lấy mẫu của đối tượng.
- Trải nilon sạch trên mặt bàn uống liều D2O.
- Lắc, xoay, đảo đều lọ đựng liều D2O trước khi uống.
- Đối tượng ngồi tại bàn, uống liều D2O bằng ống hút.
- Thêm 50 ml nước uống vào lọ chứa liều, đậy nắp lại để tránh, cho người tham gia uống bằng ống hút như trên. Lặp lại một lần nữa tương tự với 50ml nước uống để đảm bảo D2O được đối tượng uống hết.
- Ghi lại thời gian hoàn thành uống liều trong phiếu lấy mẫu của đối tượng.
- Nếu việc uống liều không hoàn tất (không uống hết, nôn sau khi uống ...) thì không thực hiện lấy mẫu sau liều. Toàn bộ quá trình, bao gồm lấy mẫu trước uống liều, uống liều và lấy mẫu sau uống liều có thể được thực hiện lại sau khoảng một tuần.

Lưu ý:

- Nếu liều D2O ở dạng đông đá, cần để tan hoàn toàn và hòa trộn đều trước khi uống.

- Không nên mở nắp lọ chứa liều cho tới khi được uống.

Lấy mẫu nước bọt sau khi uống liều D₂O:

- Mẫu B sau khi uống 2,5 giờ và mẫu C sau khi uống 3 giờ

- Các bước thực hiện như trong mục 5.2. Lưu ý ghi lại thời gian lấy mẫu trong phiếu lấy mẫu đối tượng.

Chú ý khi lấy mẫu nước bọt

- Giải thích kĩ lưỡng về quá trình cho người tham gia trước khi lấy mẫu. Có thể nên dùng từ “nước nặng” hay “nước đặc biệt” thay vì “nước đánh dấu đồng vị” hoặc “nước đồng vị bền” vì có khả năng nhầm lẫn về từ “đồng vị” hay đi cùng phóng xạ.

- Để tránh nhiễm chéo liều D2O, mẫu A, B, C và nhiễm chéo giữa các mẫu: dùng túi zip đựng riêng từng mẫu.

- Dùng găng sạch cho mỗi đối tượng.

- Có thể chia mẫu nước bọt vào hai ống để có mẫu dự phòng trong trường hợp có tai nạn với ống mẫu đầu.

- Sắp xếp khu vực làm việc và ghi nhãn các ống đựng mẫu trước khi lấy mẫu.

- Các ống đựng mẫu nên có nút vặn và quấn parafilm để tránh mất mát, bay hơi và ô nhiễm chéo trong quá trình lưu trữ. Xem xét dùng nắp màu khác nhau hoặc bút ghi nhãn màu khác nhau cho mẫu trước liều và sau liều.

- Mẫu nước bọt cần được cất trong tủ đông (-20oC) cho tới khi phân tích để giảm thiểu sự phát triển của vi khuẩn.

- Giữ mẫu nước bọt và liều D2O trong các hộp chứa riêng biệt trong quá trình lưu trữ và vận chuyển.

- Mẫu nước bọt có thể được giữ trong hộp chứa mẫu đông lạnh hoặc túi zip. Đảm bảo sắp xếp các ống đựng mẫu theo thứ tự hệ thống mẫu A, B và C.

4.1. Nhận định kết quả

Báo cáo lượng D2O pha loãng từng người tham gia đã uống ở trên và số mẫu nước bọt và thể tích đã thu (theo mẫu phiếu Theo dõi cho đối tượng uống liều D2O (Phụ lục 1).

4.2. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Nếu là xét nghiệm theo chỉ định của bác sĩ thì trả kết quả theo quy định của cơ quan.

- Nếu là xét nghiệm thuộc nghiên cứu thì báo cáo kết quả theo đề cương.

Hồ sơ lưu theo mục:

Bảng 1: Danh mục hồ sơ thử nghiệm

TT	Ký Hiệu	Tên	Thời hạn (năm)
1		Bảng tính toán tỷ lệ pha loãng	5 năm
2		Danh sách theo dõi mã liều	5 năm
3		Phiếu theo dõi liều của đối tượng	5 năm

5. Những sai sót và xử trí

STT	Vấn đề	Xử trí
1	Người tham gia nhầm lẫn “đồng vị bền” với “đồng vị phóng xạ”	Giải thích kỹ lưỡng về quá trình cho người tham gia trước khi lấy mẫu. Có thể nên dùng từ “nước nặng” hay “nước đặc biệt” thay vì “nước đánh dấu đồng vị” hoặc “nước đồng vị bền” vì có khả năng nhầm lẫn về từ “đồng vị” hay đi cùng phóng xạ.
2	Trẻ không chịu uống hoặc không có nước bọt	
3	Đảm bảo vệ sinh cho người tham gia	Dùng găng sạch cho mỗi đối tượng.
4	Nhiễm chéo liều D_2O , mẫu A, B, C và nhiễm chéo giữa các mẫu	Dùng túi zip đựng riêng từng mẫu. Giữ mẫu nước bọt và liều D_2O trong các hộp chứa riêng biệt trong quá trình lưu trữ và vận chuyển.
5	Tăm bông bị long ra hoặc que bị gãy trong quá trình lấy mẫu nước bọt trong miệng trẻ	Lấy đầu tăm bông khỏi miệng trẻ và lặp lại với một tăm bông mới
6	Có tai nạn với ống mẫu	Chia mẫu nước bọt vào hai ống để có mẫu dự phòng
7	Nhầm lẫn mẫu	Sắp xếp khu vực làm việc và ghi nhãn các ống đựng mẫu trước khi lấy mẫu Đảm bảo sắp xếp các ống đựng mẫu theo thứ tự hệ thống mẫu A, B và C.

8	Mất mát, bay hơi và ô nhiễm chéo trong quá trình lưu trữ	Các ống đựng mẫu nên có nút vặn và quấn parafilm để tránh. Xem xét dùng nắp màu khác nhau hoặc bút ghi nhãn màu khác nhau cho mẫu trước liều và sau liều.
9	Phát triển của vi khuẩn.	Mẫu nước bọt có thể được giữ trong hộp chứa mẫu đông lạnh tại thực địa và được chuyển cất trong tủ đông (-20°C) cho tới khi phân tích

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

Quy trình không yêu cầu thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm nhưng cần phải thực hiện tập huấn thành thạo cho người thực hiện.

7. Tài liệu tham khảo

- IAEA Recommended procedures for determination of total body water using the portable Agilent FTIR (2022)
- Introduction to body composition assessment using the deuterium dilution technique with analysis of saliva samples by Fourier Transform Infrared Spectrometry (IAEA Human Health Series No. 12, 2011)
- Assessment of Body composition and total energy expenditure in human using stable isotope technique (IAEA Human Health Series No. 3, 2009)
- Sample preparation and analysis by FTIR by St. John's Research Institute (2023)

PHỤ LỤC 1:

PHIẾU THEO DÕI CHO UỐNG LIỀU D₂O

ID: _____

Tên đối tượng: _____

Ngày sinh: _____

Cân nặng: _____ kg

Mã liều D₂O: _____

Ngày uống: _____

Loại mẫu nước bọt	Thời điểm lấy mẫu	Thể tích mẫu thu (ml)
Mẫu A		
Mẫu B		
Mẫu C		

Thời điểm uống liều D₂O: _____

Thời gian hoàn thành uống liều D₂O: _____ phút

Có uống hết liều: Có ☐ Không ☐

Ghi chú:

PHỤ LỤC 2:

BẢNG THEO DÕI LIỀU D₂O

Ngày chuẩn bị	ID đối tượng	Lô liều	Bộ kit không (g)	Bộ kit không + liều (g)	Bộ kit không sau uống (g)

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 34:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT UỐNG LIỀU DEUTERIUM OXIDE VÀ LẤY MẪU NƯỚC BỌT TRÊN ĐỐI TƯỢNG DƯỚI 2 TUỔI ĐỂ ĐÁNH GIÁ THÀNH PHẦN CƠ THỂ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này để cho người từ 2 tuổi uống liều deuterium oxide và sau đó tiến hành lấy mẫu nước bọt để xác định thành phần cơ thể.

1.2. Định nghĩa

Thành phần cơ thể: là tỷ lệ phần trăm mỡ, nước, xương, cơ và các mô khác trong cơ thể. Trong quy trình này, thành phần cơ thể được chia thành hai khối: khối mỡ và khối không mỡ.

Một số từ viết tắt:

- D₂O: deuterium oxide

- Liều D₂O: liều deuterium oxide đã chuẩn bị cho sẵn cho đối tượng theo quy trình

1.3. Nguyên lý

Khi trẻ uống liều deuterium oxide, deuterium oxide sẽ phân bố đều trong cơ thể trừ phần mô mỡ và mẫu nước bọt sẽ được lấy khi deuterium oxide đạt cân bằng động trong cơ thể để xác định thành phần cơ thể sau đó.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	01	Được đào tạo về kỹ thuật hỗ trợ người tham gia uống liều deuterium oxide và lấy mẫu nước bọt., trình độ

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hoá chất

- Cồn 70%: 80 mL.

2.2.2 Vật tư khác

STT	Vật tư	Số lượng	Đơn vị tính
1	Xy lạnh dùng 1 lần 20 mL (1 cái cho mỗi lần lấy nước bọt	03	Cái
2	Tăm bông để thấm nước bọt	04	Cái

Được 

3	Túi zip 10x14 cm (1 cái sử dụng khi cho đối tượng uống liều D ₂ O, 2 cái dùng để đựng mẫu nước bọt của đối tượng)	03	Cái
4	Ống ly tâm dung tích 2 mL (2 cái/lần lấy nước bọt)	06	Cái
5	Túi zip 7x10 cm dùng để đựng ống mẫu nước bọt (1 túi cho mẫu trước uống liều D ₂ O và 2 cái cho mẫu sau uống liều D ₂ O)	03	Cái
6	Khăn ướt sát khuẩn dùng 1 lần (khoảng 20 cái)	01	Gói 20 Cái
7	Thùng bảo quản mẫu có cắm điện (1 thùng đựng nước DLW và 1 thùng đựng mẫu nước tiểu)	01	Cái
8	Giá để ống đựng mẫu	01	Cái
9	Màng bọc thực phẩm	01	Hộp 300 m
10	Khẩu trang y tế dùng một lần (cho 3 lần lấy mẫu nước bọt và 1 lần uống nước D ₂ O x 2 người)	06	Cái
11	Găng tay không bột talc dùng một lần (1 đôi sử dụng khi cho đối tượng uống nước D ₂ O và 3 đôi cho 7 lần lấy mẫu nước tiểu)	08	Đôi
12	Túi đựng rác thải sinh hoạt	01	Cái
13	Ổ cắm điện	01	Cái
14	Parafilm	50	cm
15	Đá gel giữ lạnh (chất liệu nhựa HDPE, 120 x 190 x 25 mm)	05	Cái
16	Bút dạ ghi nhãn không phai	01	Cái

17	Thuê tủ lạnh 2-8°C để bảo quản nước DLW tại địa phương	01	Cái
18	Thuê tủ lạnh -20°C lưu trữ mẫu tạm thời tại địa phương	01	Cái
19	Giấy A4	02	Tờ
20	Bút bi	01	Cái
21	Khăn giấy	01	Hộp 50 tờ
22	Tem ghi nhãn	05	Cái
23	Đồng hồ để bàn/báo thức	01	Cái
24	Mũ bảo hộ lao động	02	Chiếc

2.3. Thiết bị

- + Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời trong đợt điều tra tại thực địa. 01 chiếc
- + Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C lưu trữ mẫu. 01 chiếc
- + Phòng diện tích khoảng 25 m², phòng đầy đủ ánh sáng và bàn ghế, đảm bảo ấm vào mùa đông, tránh gió lùa.

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

- Đảm bảo là đối tượng không ăn hay uống gì trong vòng 30 phút trước khi lấy mẫu nước bọt.
- Ghi thông tin đối tượng lên phiếu Theo dõi cho đối tượng uống liều D2O (Phụ lục 1), dán mã code lên phiếu và các ống đựng mẫu.
- Đề nghị đối tượng tiểu trước khi lấy mẫu A.
- Cân trọng lượng cơ thể đối tượng theo quy trình NIN.G.08.01.
- Liều D2O cần chuẩn bị sẵn 1-2 lọ theo quy trình 'tên quy trình đã được duyệt'.

Lưu ý:

- Nếu liều đông đá, cần để liều tan hoàn toàn và hòa trộn đều trước khi uống.
- Trước khi đưa cho người tham gia, lọ đựng liều cần được lắc xoay, đảo vài lần để hòa trộn với chất lỏng dính ở nắp nếu có.
- Không nên mở nắp lọ chứa liều cho tới khi được uống.



2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có):

- Nếu tại phòng khám thì chỉ định theo bác sĩ.
- Nếu trong phạm vi nghiên cứu, thực hiện theo chỉ định của nghiên cứu viên chính.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Nhân viên xét nghiệm	Quản lý liều và cho người tham gia uống liều, Lưu thông tin liều, Tính toán liều cho người sử dụng, Kiểm soát quá trình cho trẻ uống liều và lấy mẫu	2,1

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật:

Quy trình được thực hiện tại thực địa hoặc cơ sở y tế

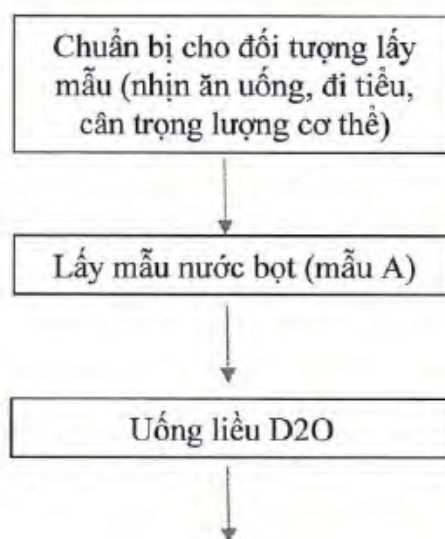
3. An toàn

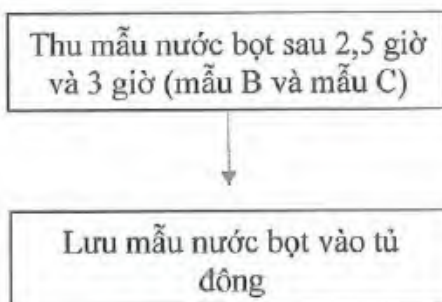
- Để đảm bảo an toàn cho người thực hiện, cán bộ thực hiện phải sử dụng các dụng cụ bảo hộ trong quá trình cho người tham gia uống liều.
- Để tránh lây nhiễm chéo giữa các đối tượng, cán bộ thực hiện thay găng tay mới cho mỗi đối tượng.
- Với nồng độ được pha, liều D2O được biết không gây tác dụng có hại cho trẻ.
- Trong thời gian chờ lấy mẫu nước bọt sau uống liều, trẻ không nên uống nước và chỉ ăn nhẹ nếu cần thiết. Trẻ nhỏ bị đói trong thời gian này có thể bú sữa nhưng cần cân và ghi lại cân nặng trẻ trước và sau khi bú sữa.
- Lọ đựng liều D2O nếu sử dụng lại phải hấp tiệt trùng và sấy khô trước lần sử dụng sau.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Sơ đồ các bước tiến hành





4.1.1. Lấy mẫu nước bọt trước khi uống liều

Chú ý: mẫu nước bọt lấy tại 3 thời điểm:

- Mẫu trước khi uống liều (mẫu A): mẫu được lấy trước khi người tham gia uống liều D₂O.
- Mẫu sau uống liều (mẫu B): lấy ở thời điểm 2,5 giờ sau khi người tham gia uống liều D₂O.
- Mẫu sau uống liều (mẫu C): lấy ở thời điểm 3 giờ sau khi người tham gia uống liều D₂O.

Các bước lấy mẫu nước bọt:

- Chuẩn bị ống đựng mẫu có dán barcode ID của trẻ, ngày và thời gian lấy mẫu (ghi rõ mẫu A, mẫu B hay mẫu C) lên ống đựng mẫu.
- Rút thanh ấn khỏi ống xy lanh dùng 1 lần 20ml mới.
- Đưa tăm bông thấm nước bọt vào miệng trẻ, cho trẻ ngậm và ngoáy nhẹ vùng trong má cho đến khi bông thấm đầy nước bọt.
- Lấy tăm bông khỏi miệng trẻ, cẩn thận dùng tay đi găng gỡ riêng phần bông ra và chuyển viên bông vào ống xy lanh.
- Ép nước bọt từ viên bông trong xy lanh vào ống đựng mẫu đã chuẩn bị sẵn.
- Đóng chặt nắp ống đựng mẫu để tránh bay hơi.
- Đặt ống đựng mẫu lên giá để mẫu hoặc hộp lạnh.
- Nếu cần thiết, lặp lại với tăm bông khác cho tới khi thu đủ 0.5ml nước bọt.
- Thay xy lanh và găng tay sau mỗi mẫu.
- Kiểm tra lại xem ống đựng mẫu đã ghi đúng ID người tham gia, ngày và thời gian lấy mẫu. Ghi lại tất cả ngày và thời gian lấy mẫu của người tham gia vào tờ thông tin.
- Đặt ống đựng mẫu vào tủ đông. Nếu có thể thì cho mẫu vào tủ đông ngay. Mẫu có thể được giữ trong tủ lạnh hoặc hộp mát nhưng cần được làm đông càng sớm càng tốt, tốt nhất là cùng trong ngày thu mẫu.

4.1.2. Cho đối tượng uống liều D₂O

- Ghi lại số lọ chứa liều và khối lượng dung dịch D₂O pha loãng, thời gian bắt đầu uống trong tờ phiếu lấy mẫu của đối tượng.
- Trải nilon sạch trên mặt bàn uống liều D₂O.

Handwritten signatures: *Đura* and *mr*

- Người giám hộ bé trẻ trong suốt quá trình cho uống liều D₂O và lấy mẫu nước bọt.
 - Cho trẻ tham gia uống liều:
 - + Người giám hộ bé trẻ nằm ngửa,
 - + Kỹ thuật viên dùng tay trái bóp nhẹ hai má để trẻ mở miệng, tay phải nhẹ nhàng bơm dung dịch liều từ xi lanh vào trong miệng trẻ, tránh để rớt ra ngoài.
 - Nếu dung dịch liều tràn khỏi miệng trẻ, dùng khăn giấy trong kit để thấm và cất trở lại vào túi kit.
 - Cân lại bộ kit liều D₂O và ghi lại trong phiếu theo dõi.
 - Ghi lại thời gian hoàn thành uống liều trong phiếu lấy mẫu của đối tượng.
 - Nếu việc uống liều không hoàn tất (không uống hết, nôn sau khi uống ...) thì không thực hiện lấy mẫu sau liều. Tiến hành lại các bước từ đầu sau khoảng một tuần.
- 4.1.3. Lấy mẫu nước bọt sau khi uống liều D₂O:
- Mẫu B sau khi uống 2,5 giờ và mẫu C sau khi uống 3 giờ
 - Các bước thực hiện như trong mục 5.2. Lưu ý ghi lại thời gian lấy mẫu trong phiếu lấy mẫu đối tượng.

4.2. Nhận định kết quả

Báo cáo lượng D₂O pha loãng từng người tham gia đã uống ở trên và số mẫu nước bọt và thể tích đã thu (theo mẫu phiếu Theo dõi cho đối tượng uống liều D₂O (Phụ lục 1).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Nếu là xét nghiệm theo chỉ định của bác sĩ thì trả kết quả theo quy định của cơ quan.
- Nếu là xét nghiệm thuộc nghiên cứu thì báo cáo kết quả theo đề cương.

Hồ sơ lưu:

Bảng 1: Danh mục hồ sơ thử nghiệm

TT	Ký Hiệu	Tên	Nơi lưu	Thời hạn (năm)
1		Bảng tính toán tỷ lệ pha loãng	Đơn vị thực hiện kỹ thuật	5 năm
2		Danh sách theo dõi mã liều	Đơn vị thực hiện kỹ thuật	5 năm
3		Phiếu theo dõi liều của đối tượng	Đơn vị thực hiện kỹ thuật	5 năm

5. Những sai sót và xử trí

STT	Vấn đề	Xử trí
1	Người tham gia nhầm lẫn “đồng vị bền” với “đồng vị phóng xạ”	Giải thích kĩ lưỡng về quá trình cho người tham gia trước khi lấy mẫu. Có thể nên dùng từ “nước nặng” hay “nước đặc biệt” thay vì “nước đánh dấu đồng vị” hoặc “nước đồng vị bền” vì có khả năng nhầm lẫn về từ “đồng vị” hay đi cùng phóng xạ.
2	Trẻ không chịu uống hoặc không có nước bọt	
	Đảm bảo vệ sinh cho người tham gia	Dùng găng sạch cho mỗi đối tượng.
3	Nhiễm chéo liều D ₂ O, mẫu A, B, C và nhiễm chéo giữa các mẫu	Dùng túi zip đựng riêng từng mẫu. Giữ mẫu nước bọt và liều D ₂ O trong các hộp chứa riêng biệt trong quá trình lưu trữ và vận chuyển.
4	Tăm bông bị long ra hoặc que bị gãy trong quá trình lấy mẫu nước bọt trong miệng trẻ	Lấy đầu tăm bông khỏi miệng trẻ và lặp lại với một tăm bông mới
5	Có tai nạn với ống mẫu	Chia mẫu nước bọt vào hai ống để có mẫu dự phòng
6	Nhầm lẫn mẫu	Sắp xếp khu vực làm việc và ghi nhãn các ống đựng mẫu trước khi lấy mẫu Đảm bảo sắp xếp các ống đựng mẫu theo thứ tự hệ thống mẫu A, B và C.
7	Mất mát, bay hơi và ô nhiễm chéo trong quá trình lưu trữ	Các ống đựng mẫu nên có nút vặn và quấn parafilm để tránh. Xem xét dùng nắp màu khác nhau hoặc bút ghi nhãn màu khác nhau cho mẫu trước liều và sau liều.
8	Phát triển của vi khuẩn.	Mẫu nước bọt có thể được giữ trong hộp chứa mẫu đông lạnh tại thực địa và được chuyển cất trong tủ đông (-20°C) cho tới khi phân tích



6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

Quy trình không yêu cầu thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm nhưng cần phải thực hiện tập huấn thành thạo cho người thực hiện.

7. Tài liệu tham khảo

- IAEA Recommended procedures for determination of total body water using the portable Agilent FTIR (2022)
- Introduction to body composition assessment using the deuterium dilution technique with analysis of saliva samples by Fourier Transform Infrared Spectrometry (IAEA Human Health Series No. 12, 2011)
- Assessment of Body composition and total energy expenditure in human using stable isotope technique (IAEA Human Health Series No. 3, 2009)
- Sample preparation and analysis by FTIR by St. John's Research Institute (2023)

PHỤ LỤC 1:

PHIẾU THEO DÕI CHO UỐNG LIỀU D₂O

ID: _____

Tên đối tượng: _____

Ngày sinh: _____

Cân nặng: _____ kg

Mã liều D₂O: _____

Ngày uống: _____

Loại mẫu nước bọt	Thời điểm lấy mẫu	Thể tích mẫu thu (ml)
Mẫu A		
Mẫu B		
Mẫu C		

Thời điểm uống liều D₂O: _____

Thời gian hoàn thành uống liều D₂O: _____ phút

Có uống hết liều: Có ☐ Không ☐

Ghi chú:

PHỤ LỤC 2:

BẢNG THEO DÕI LIỀU D₂O

Ngày chuẩn bị	ID trẻ tham gia	Lô liệu và bộ kit	Bộ kit không (g)	Bộ kit không + liệu (g)	Bộ kit không sau uống (g)



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 35:

**QUY TRÌNH KỸ THUẬT UỐNG LIỀU NƯỚC ĐÁNH DẤU ĐỒNG VỊ KÉP
(DOUBLE LABEL WATER-DLW) VÀ LẤY MẪU NƯỚC TIỂU ĐỂ ĐÁNH
GIÁ TỔNG NĂNG LƯỢNG TIÊU HAO VÀ THÀNH PHẦN CƠ THỂ Ở TRẺ
DƯỚI 2 TUỔI**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này quy định các bước cho trẻ uống liều nước dán nhãn kép DLW và lấy mẫu nước tiểu để đánh giá tổng năng lượng tiêu hao và thành phần cơ thể của trẻ dưới 2 tuổi

1.2. Định nghĩa

Thuật ngữ và chữ viết tắt:

DLW: Double Label Water (nước đánh dấu đồng vị kép)

1.3. Nguyên lý

Liều DLW cho trẻ uống được tính toán dựa trên trọng lượng cơ thể trẻ:

- Đối với trẻ $\leq 17,99$ tháng tuổi: liều DLW sẽ là 2,9 g x trọng lượng cơ thể của trẻ.
- Đối với trẻ $\geq 18,00$ tháng tuổi: liều DLW sẽ là 1,3 g x trọng lượng cơ thể của trẻ.

Lấy mẫu nước tiểu: Mỗi trẻ được lấy mẫu nước tiểu tại 6 thời điểm để đánh giá tỷ lệ thải trừ giữa hai đồng vị deuterium và oxy-18 theo thời gian.

- Trẻ từ 6 -12 tháng tuổi: Trẻ được lấy 06 mẫu nước tiểu vào các thời điểm: trước khi uống liều DLW, 4-6 giờ sau uống liều và vào các ngày 1, 2, 6 và 7 sau khi uống liều DLW.
- Trẻ từ ≥ 12 tháng tuổi: Trẻ được lấy 06 mẫu nước tiểu vào các thời điểm: trước khi uống liều DLW, 4-6 giờ sau uống liều và vào các ngày 1, 2, 9 và 10 sau khi uống liều DLW

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	02	Đã được tập huấn về kỹ thuật cho trẻ uống liều DLW và lấy mẫu nước tiểu
2	Người phê duyệt kết quả	01	Đã được tập huấn về kỹ thuật DLW trong đánh giá tiêu hao năng lượng và thành phần cơ thể

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

Cồn 70%: 70 ml

2.2.2. Vật tư khác

- Bình bú 50 mL

- Túi zip 12cm x 17cm (3 chiếc sử dụng khi cho trẻ uống liều DLW, 1 chiếc dùng để đựng mẫu nước tiểu của đối tượng)	4	Cái
- Chai thủy tinh 250 mL có nắp vặn	1	Cái
- Xi lanh dùng một lần 20 mL (1 chiếc dùng khi chuẩn bị liều DLW, 6 chiếc cho lấy nước tiểu)	7	Cái
- Xi lanh dùng một lần 10 mL (dùng khi cho trẻ uống liều DLW)	1	Cái
- Miếng lót dùng một lần (khăn xô)	1	Cái
- Khăn giấy dùng một lần	5	Cái
- Thùng bảo quản mẫu có cắm điện (1 thùng để bảo quản liều DLW và 1 thùng bảo quản mẫu nước tiểu)	1	Cái
- Khay nhựa kích thước 30 x 60 cm	1	Cái
- Màng bọc thực phẩm	1	Hộp 200 m
- Khẩu trang y tế dùng một lần (cho 6 lần lấy mẫu nước tiểu và 1 lần uống nước DLW x 2 người)	14	Cái
- Găng tay không bột talc dùng một lần (1 đôi sử dụng khi cho trẻ uống nước DLW và 6 đôi cho 6 lần lấy mẫu nước tiểu)	14	Đôi
- Túi đựng rác thải sinh hoạt	1	Cái
- Ổ cắm điện	1	Cái
- Túi bóng đựng nước tiểu có sẵn bông gòn (6 viên/lần x 6 lần)	36	Cái
- Cốc nhựa dùng một lần để lấy nước tiểu	6	Cái
- Bim	6	Cái
- Ống đựng mẫu 3 mL có nắp (6 lần x 2 ống/lần)	12	Cái
- Giá để ống đựng mẫu	1	Cái
- Túi zip 7cm x 10cm (dùng để đựng ống mẫu nước tiểu- 1 túi/1 ống nước tiểu x 12 ống)	12	Cái
- Parafilm	50	cm
- Đá gel giữ lạnh (chất liệu nhựa HDPE, 120 x 190 x 25 mm)	1	Cái
- Bút dạ không phai	1	Cái
- Thuê tủ lạnh 2-8°C để bảo quản nước DLW tại địa phương	1	Cái
- Thuê tủ lạnh -20°C lưu trữ mẫu tạm thời tại địa phương	1	Cái
- Giấy A4	2	Tờ
- Bút bi	1	Cái
- Khăn giấy	1	Hộp 50 tờ
- Tem ghi nhãn	14	Cái
- Đồng hồ để bàn/báo thức	1	Cái
- Quần áo trắng bảo hộ	21	Bộ

2.2. Trang thiết bị

- Cân trẻ sơ sinh có độ chính xác 0,001 kg:	01 chiếc
---	----------

Sun *mr*

- Cân điện tử có độ chính xác tối thiểu 0,01 g để cân liều DLW: 01 chiếc
- Thùng bảo quản mẫu có cắm điện: 01 chiếc
- Tủ lạnh 2-8°C để bảo quản liều DLW: 01 chiếc
- Tủ lạnh - 20°C để bảo quản mẫu nước tiểu: 01 chiếc

2.3. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

2.4. Phiếu chỉ định xét nghiệm

2.5. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)
1	Nhân viên xét nghiệm	Cho trẻ uống liều DLW	
		Chuẩn bị trang thiết bị dụng cụ và khu vực chuẩn bị và cho trẻ uống liều DLW	0,15
		Giải thích cho bà mẹ về mục đích và quy trình cho trẻ uống liều DLW.	0,25
		Cân trọng lượng trẻ	0,2
		Ghi chép thông tin vào mẫu phiếu	0,1
		Tính toán liều cho đối tượng	0,1
		Chuẩn bị liều DLW cho đối tượng	0,25
		Cho trẻ uống liều DLW	0,25
		Lưu trữ dung dịch DLW và biểu mẫu cho trẻ uống liều DLW	0,2
		Thu dọn dụng cụ và vệ sinh khu vực cho trẻ uống liều DLW khi kết thúc	0,2
		Lấy mẫu nước tiểu (6 lần lấy mẫu)	
		Chuẩn bị trang thiết bị dụng cụ và khu vực lấy mẫu nước tiểu	0,6
		Chuẩn bị trẻ	0,6
		Ghi chép và lưu giữa phiếu và sắp xếp, lưu mẫu nước tiểu	0,6
		Giải thích cho bà mẹ về mục đích và quy trình lấy mẫu nước tiểu	1,2

		Thực hiện lấy mẫu nước tiểu của trẻ	3
			7,7
2	Người phê duyệt kết quả	Đánh giá, kiểm tra kết quả của việc cho trẻ uống liều DLW	0,2
		Đánh giá và kiểm tra kết quả lấy mẫu nước tiểu	0,6
			0,8

2.6. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Cán bộ thực hiện kỹ thuật phải đảm bảo đeo khẩu trang và sử dụng găng tay không bột talc theo đúng quy định trong quá trình cho trẻ uống liều và lấy mẫu nước tiểu.

- Nước dán nhãn kép DLW cho trẻ uống được chuẩn bị cần được hấp cách thủy để đảm bảo diệt trùng và lưu trong tủ lạnh và thùng lạnh trước khi cho trẻ uống.

4. Các bước tiến hành

4.1. Chuẩn bị trước khi cho trẻ uống liều và thu thập mẫu nước tiểu

- Chuẩn bị bàn sạch
- Đảm bảo có sẵn cân để cân (độ chính xác tối thiểu 0,01 g) đã được hiệu chuẩn và cân bằng
- Cân bình bú + nắp + xi lanh 10 ml + túi zip, ghi lại trọng lượng phía trước túi (Z1)
- Cân miếng đệm lót + túi zip dùng một lần, ghi lại trọng lượng phía trước túi (Z2)
- Cân 5 miếng khăn giấy + túi zip, ghi trọng lượng phía trước túi (Z3)
- Miếng đệm lót và khăn giấy dùng một lần sẽ được sử dụng để lau DLW bị tràn, rơi, vãi trong khi trẻ sơ sinh đang uống liều DLW.
- Giải thích rõ ràng quy trình cho cha/mẹ và đảm bảo đã có sự đồng ý của cha/mẹ trẻ trước khi bắt đầu.

4.2. Lấy mẫu nước tiểu trước khi uống liều DLW

- Thay tã khô mới và túi đựng nước tiểu có bông gòn cho bé
- Kiểm tra thời gian đi tiểu và ghi lại thời gian ngay sau khi đi tiểu vào “Mẫu phiếu cho trẻ uống liều DLW và lấy mẫu”. (Thời điểm đi tiểu được lấy là thời điểm giữa hai lần kiểm tra cuối cùng). Đây là mẫu nước tiểu cơ bản: (T0)
- Lấy bông gòn đã ngâm nước tiểu ra và đặt vào xi lanh rộng 20 ml
- Ép nước tiểu ra và chia vào 2 ống đựng mẫu đã được nhãn với mã của trẻ, mỗi ống khoảng 3 ml. Đảm bảo rằng mức mẫu nước tiểu không đầy tới đỉnh của lọ đựng mẫu. Đậy nắp ngay và thật chặt rồi bọc lại bằng màng parafilm.

- Ghi lại ngày và giờ lấy mẫu và dán băng dính lên trên nhãn và ghi lại ngày và giờ lấy nước tiểu cơ bản vào mẫu phiếu thu thập nước tiểu.

- Cho các ống mẫu nước tiểu vào túi zip (nhãn mã của trẻ, ngày và giờ của trẻ). Đặt túi đựng mẫu vào thùng đựng mẫu có đá. Đóng chặt thùng mẫu.

4.3. Cho trẻ uống liều DLW

- Đặt khay nhựa và trái mangan bọc thực phẩm để đặt chai đồng vị và các dụng cụ cho trẻ uống liều DLW.

- Cân trẻ không mặc quần áo bằng cân trẻ em (theo NIN.G.08.01) và ghi vào phiếu cho trẻ uống DLW.

- Tính toán chính xác lượng liều DLW theo trọng lượng cơ thể của trẻ và ghi vào phiếu cho trẻ uống liều DLW.

- Đeo một đôi găng tay mới không có bột.

- **Trộn chai dung dịch gốc DLW.** Đổ liều DLW từ chai dự trữ DLW vào chai thủy tinh sạch 250 mL và đóng nắp lại.

- Tháo nắp bình bú và đặt lên cân. **Trừ bì bình bú.**

- **Trộn DLW trong chai 250 mL.** Sử dụng xi lanh 20 ml để hút liều DLW đã được tính toán theo trọng lượng của ở **mục 5.3.3** từ chai DLW 250 ml sang bình bú.

- Ghi lại trọng lượng của liều DLW “A” vào mẫu phiếu cho trẻ uống DLW.

- Đậy nắp chai DLW và bình bú lại.

- Ghi lại trọng lượng của miếng đệm lót (Z2) và khăn giấy (Z3) đã được cân trước đó vào mẫu phiếu cho trẻ uống DLW.

- Đặt tấm lót dưới quanh cổ trẻ đã cân trước đó, viết nhãn có mã trẻ lên túi zip (Z2).

- **Trộn DLW trong bình bú.** Cho trẻ uống từ từ liều DLW (hoặc dùng xi lanh 10 ml để cho trẻ uống DLW từ bình đựng DLW). Để đảm bảo toàn bộ DLW được uống hết. Có thể mất vài phút để trẻ uống hết toàn bộ liều DLW.

- Ghi lại thời điểm trẻ bắt đầu uống và uống hết liều vào phiếu phiếu cho trẻ uống DLW.

- Cân bình bú (Z1) + nắp + xi lanh + túi zip + liều DLW còn lại “B” và ghi vào phiếu cho trẻ uống DLW. Giữ bình bú đã qua sử dụng trong túi zip, dán nhãn mã của trẻ.

- Cân tấm lót (Z2) dùng một lần đã qua sử dụng + Túi zip “C” và ghi chép vào phiếu.

- Cân khăn giấy (Z3) đã sử dụng + túi zip “D” và ghi lại.

- Sau khi cho trẻ uống liều DLW, thu dọn khu vực cho trẻ uống liều bằng cách bọc mangan bọc thực phẩm lại và vứt bỏ.

- Tính toán lượng DLW mất mát [$50\%(C+D) - (Z2+Z3)$]: “E”

Ghi chú

- Đảm bảo cha/mẹ trẻ đã được giải thích rõ về quy trình uống DLW và lấy mẫu nước tiểu và đã có sự đồng ý trước khi bắt đầu.

- Đảm bảo tất cả các thiết bị được liệt kê dưới đây trước khi bắt đầu.

- Liều DLW phải được cân chính xác đến ít nhất 0,01 g.

- Khu vực cho trẻ uống liều DLW mặt bàn làm việc phải được phủ màng bọc thực phẩm (khoảng 60 x 30 cm). Đây là khu vực mà chai/nắp đồng vị sẽ được giữ trong quá trình cho trẻ uống liều DLW. Không giữ chai nước DLW ở bất kỳ vị trí nào khác khi đã lấy ra khỏi hộp đá.
- Mẫu phiếu cho trẻ uống liều DLW và thu thập mẫu nước tiểu cần được đặt ngay bên mặt bàn làm việc để theo dõi và ghi chép thông tin trong quá trình làm. Đảm bảo các thông tin trên phiếu được điền đầy đủ.
- Đảm bảo mẫu nước tiểu nền đã được thu thập trước khi cho trẻ uống liều DLW.
- Để đảm bảo vệ sinh tốt và tránh lây nhiễm chéo:
 - + Không nên bảo quản lọ nước DLW ở cùng nơi với mẫu nước tiểu hoặc các mẫu bệnh phẩm khác.
 - + Sử dụng hộp riêng đựng liều DLW và mẫu nước tiểu khi vận chuyển liều DLW
 - + Sử dụng găng tay riêng cho mỗi lần lấy mẫu nước tiểu và khi cho trẻ uống liều DLW.

4.4. Lấy mẫu nước tiểu sau khi uống liều DLW 4-6 giờ (Ngày 0).

Được thực hiện theo các bước tương tự ở mục 5.2.

4.5. Lấy mẫu nước tiểu sau uống liều DLW vào 1, 2, 6, 7 đối với trẻ 6-11,9 tháng tuổi và vào các ngày 1, 2, 9, 10 đối với trẻ từ 12 tháng tuổi.

Được thực hiện theo các bước tương tự ở mục 5.2.

5. Những sai sót và xử trí

Nếu trong quá trình uống liều DLW trẻ bị nôn chớ thì sẽ dừng việc cho trẻ uống liều và không thu thập mẫu nước tiểu tiếp theo của trẻ. Toàn bộ quá trình, bao gồm lấy mẫu trước uống liều DLW, uống liều DLW và lấy mẫu sau uống liều DLW có thể được thực hiện lại sau khoảng một tuần

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Phiếu cho trẻ uống liều DLW và lấy mẫu nước tiểu được điền đầy đủ thông tin về thời gian cho trẻ uống liều DLW và số lượng liều DLW mà trẻ uống được;
- Mẫu nước tiểu được lấy đúng theo hướng dẫn
- Thông tin về thời gian lấy mẫu nước tiểu và số lượng nước tiểu lấy được được ghi đầy đủ

7. Tài liệu tham khảo

Assessment of Body composition and total energy expenditure in human using stable isotope technique (IAEA Human Health Series No. 3, 2009).

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 36:

**QUY TRÌNH KỸ THUẬT UỐNG LIỀU NƯỚC ĐÁNH DẤU ĐỒNG VỊ KÉP
(DOUBLE LABELLED WATER - DLW) VÀ LẤY MẪU NƯỚC TIỂU TRÊN
ĐỐI TƯỢNG TỪ 2 TUỔI ĐỂ ĐÁNH GIÁ TIÊU HAO NĂNG LƯỢNG VÀ
THÀNH PHẦN CƠ THỂ**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này để cho người từ 2 tuổi uống liều nước đánh dấu đồng vị kép (DLW) và sau đó tiến hành lấy mẫu nước tiểu để đo mức tiêu hao năng lượng và thành phần cơ thể.

1.2. Định nghĩa

Thành phần cơ thể: là tỷ lệ phần trăm mỡ, nước, xương, cơ và các mô khác trong cơ thể. Trong quy trình này, thành phần cơ thể được chia thành hai khối: khối mỡ và khối không mỡ.

Tổng mức tiêu hao năng lượng: là tổng số kcal mà cơ thể tiêu hao trong một ngày
Một số từ viết tắt:

- D₂O: deuterium oxide
- H₂¹⁸O: nước oxy 18
- DLW: nước đánh dấu đồng vị kép (Double Labelled Water - DLW)
- Liều DLW: liều nước đánh dấu kép đồng vị bền đã chuẩn bị cho sẵn cho đối tượng theo quy trình.

1.3. Nguyên lý

Khi người tham gia uống liều nước đánh dấu đồng vị kép (DLW), deuterium oxide (D₂O) và nước oxy 18 (H₂¹⁸O) sẽ phân bố đều trong cơ thể và sau đó được thải trừ với tốc độ khác nhau. D₂O phân bố trong phần nước của cơ thể và deuterium (D) chỉ thải trừ dưới dạng nước (dịch cơ thể). Trong khi đó, oxy 18 (¹⁸O) được thải trừ dưới cả dạng nước và dạng khí CO₂ trong hơi thở. Tỷ lệ mức giảm giữa D và ¹⁸O trong dịch cơ thể (nước tiểu) sẽ cho biết lượng CO₂ cơ thể thở ra, và từ đó có thể suy ra tổng mức tiêu hao năng lượng của cơ thể trong khoảng thời gian lấy mẫu.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm đã được đào tạo về kỹ thuật hỗ trợ người tham gia uống liều DLW và lấy mẫu nước tiểu.
- 01 giám sát việc tuân thủ quy trình, thẩm định và phê duyệt kết quả.

2.2. Vật tư

2.2.1. Trang phục bảo hộ

- + Mũ bảo hộ lao động

02 chiếc

+ Găng tay y tế nitrile không bột talc	02 đôi
+ Khẩu trang y tế	02 cái
2.2.2. Hóa chất (sử dụng cho 1 mẫu thử nghiệm)	
+ Cồn y tế (70 độ).	10 ml
+ Liều DLW chuẩn bị sẵn theo quy trình NIN.G.03.M.034	1-2 lọ
+ Nước uống (nước đun sôi để nguội)	120 ml
2.2.3. Vật tư tiêu hao (sử dụng cho 1 mẫu thử nghiệm)	
+ Giá đặt ống thu mẫu	01 cái
+ Cốc thu nước tiểu	08 cái
+ Ống nhựa trữ đông 5ml có nắp vặn	14 cái
+ Màng nilon bọc thực phẩm	0.1 m ²
+ Hộp lạnh bảo quản mẫu đi thực địa	01 cái
+ Hộp lạnh bảo quản liều DLW đi thực địa	01 cái
+ Túi zip đựng mẫu	08 cái
+ Khăn ướt sát khuẩn	01 gói
+ Bút ghi kính không xóa được	01 cái
+ Túi đựng rác thải y tế	01 cái
+ Dung dịch sát khuẩn tay	01 lọ
+ Tem dán barcode	20 cái
+ Giấy A4	02 tờ
+ Đá gel để giữ lạnh mẫu	01 túi
+ Găng tay y tế không bột talc	16 đôi
+ Khẩu trang y tế	10 chiếc
+ Đồng hồ	01 cái
+ Parafilm	0,5 m

2.3. Trang thiết bị

- + Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C tại địa phương lưu trữ mẫu tạm thời 01 cái trong đợt điều tra tại thực địa
- + Tủ lạnh -20°C hoặc -80°C lưu trữ mẫu 01 cái
- + Phòng diện tích khoảng 25 m², phòng đầy đủ ánh sáng và bàn ghế, đảm bảo ấm vào mùa đông, tránh gió lùa.

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

- Ghi thông tin đối tượng lên phiếu Theo dõi cho uống liều DLW (Phụ lục 1), dán mã code lên phiếu và các ống đựng mẫu.

- Cân trọng lượng cơ thể đối tượng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)

- Nếu thực hiện ở bệnh viện, tuân theo quy trình chỉ định xét nghiệm bệnh viện.

- Nếu thực hiện trong phạm vi nghiên cứu, thực hiện theo chỉ định của nghiên cứu viên chính.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

Nhân công trực tiếp kiểm nghiệm: 2 người tham gia trong toàn bộ quy trình.

Tổng số giờ làm việc: giờ.

Cán bộ tham gia	Yêu cầu năng lực	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	Đã được đào tạo nghiệp vụ nhận mẫu, giao dịch với khách hàng	1	Quản lý liều và cho người tham gia uống liều DLW	0,5	0,5
		1	Ghi chép và nhập thông tin liều và thông tin lấy mẫu	0,3	0,3
		1	Thu mẫu	3,0	3,0
			Cộng		3,8
Người giám sát, phê duyệt kết quả	Hiểu rõ các quy trình kỹ thuật và yêu cầu chất lượng kiểm nghiệm	1	Tính toán liều cho người sử dụng	0,5	0,5
			Kiểm soát quá trình cho người tham gia uống liều	0,5	0,5
			Quản lý thông tin liều uống của từng người tham gia	0,5	0,5
			Cộng		1,5
TỔNG					5,3

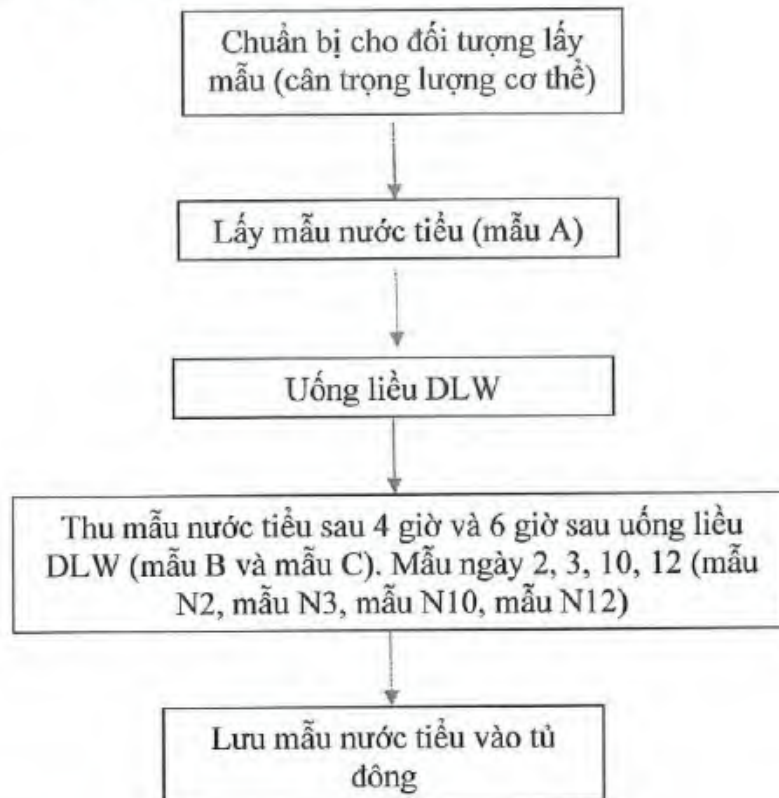
2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: tại thực địa

3. An toàn

- Cán bộ thực hiện phải sử dụng các dụng cụ bảo hộ trong quá trình cho người tham gia uống liều và lấy mẫu.
- Lọ đựng liều DLW nếu sử dụng lại phải hấp tiệt trùng và sấy khô trước lần sử dụng sau.

4. Các bước tiến hành

Sơ đồ các bước tiến hành



4.1. Lấy mẫu nước tiểu

Chú ý: trong suốt quy trình, mẫu nước tiểu được lấy tổng cộng tại 7 thời điểm:

- Mẫu trước khi uống liều (mẫu A): mẫu được lấy trước khi người tham gia uống liều DLW.
- Mẫu sau uống liều trong ngày (mẫu B và mẫu C): lấy ở thời điểm 4 giờ và 6 giờ sau khi người tham gia uống liều DLW.
- Mẫu sau uống liều vào ngày 2, ngày 3, ngày 10 và ngày 12 (mẫu N2, mẫu N3, mẫu N10 và mẫu N12): lấy ở quanh cùng khoảng thời gian uống liều DLW trong ngày 1.
- Trên đây là các thời điểm đại diện, trên thực tế tùy theo lứa tuổi và tình trạng thể chất đối tượng mà thời gian lưu chuyển nước trong cơ thể thay đổi. Do đó các thời điểm lấy mẫu có thể được điều chỉnh (trẻ sơ sinh thường được lấy mẫu trong

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

vòng 7 ngày, người lớn có thể được lấy mẫu trong 10-14 ngày, người già có thể có thời gian theo dõi trên 14 ngày).

Các bước lấy mẫu nước tiểu:

- Làm sạch vùng đầu niệu đạo bằng khăn ướt.
- Thu mẫu nước tiểu vào cốc lấy mẫu (chú ý: cốc phải đảm bảo khô, sạch trước khi sử dụng).
- Chuẩn bị ống đựng mẫu có dán barcode ID của người tham gia, ngày và thời gian lấy mẫu (ghi rõ mẫu A, B, C, N2, N3, N10, N12) lên ống đựng mẫu.
- Chuyển mẫu nước tiểu từ cốc vào 02 ống đựng mẫu đã ghi nhãn và đóng chặt nắp ống đựng mẫu để tránh bay hơi, cuộn parafilm kín nắp ống.
- Đặt ống đựng mẫu lên giá để mẫu hoặc hộp lạnh.
- Lấy khoảng 5ml mẫu, lấy hơn một ống mẫu nếu có thể. Không đổ quá đầy ống mẫu để tránh sinh hơi tràn đổ trong thời gian bảo quản. Ngược lại, không lấy quá ít để hạn chế bay hơi trong quá trình bảo quản.
- Kiểm tra lại xem ống đựng mẫu đã ghi đúng ID người tham gia, mã liệu DLW, ngày và thời gian lấy mẫu. Ghi lại tất cả ngày và thời gian lấy mẫu của người tham gia vào tờ thông tin.
- Đặt ống đựng mẫu vào tủ đông. Nếu có thể thì cho mẫu vào tủ đông ngay. Mẫu có thể được giữ trong tủ lạnh hoặc hộp mát nhưng cần được làm đông càng sớm càng tốt, tốt nhất là cùng trong ngày thu mẫu.

Cho đối tượng uống liệu DLW

- Ghi lại số lọ chứa liệu và khối lượng hỗn hợp DLW, thời gian bắt đầu uống trong tờ phiếu lấy mẫu của đối tượng.
- Trải nilon sạch trên mặt bàn uống liệu DLW.
- Lắc, xoay, đảo đều lọ đựng liệu DLW trước khi uống.
- Đối tượng ngồi tại bàn, uống liệu DLW bằng ống hút.
- Thêm 50 ml nước uống vào lọ chứa liệu, đậy nắp lại để tránh, cho người tham gia uống bằng ống hút như trên.
- Ghi lại thời gian hoàn thành uống liệu trong phiếu lấy mẫu của đối tượng.
- Nếu việc uống liệu DLW không hoàn tất (nôn sau khi uống ...) thì không thực hiện lấy mẫu sau uống liệu DLW. Nếu không uống hết, cân lọ chứa lượng liệu DLW còn lại và ghi vào phiếu. Toàn bộ quá trình, bao gồm lấy mẫu trước uống liệu DLW, uống liệu DLW và lấy mẫu sau uống liệu DLW có thể được thực hiện lại sau khoảng một tuần.

Lưu ý:

- Nếu liệu DLW ở dạng đông đá, cần để tan hoàn toàn và lắc trộn đều trước khi uống.
- Không nên mở nắp lọ chứa liệu cho tới khi cho đối tượng uống.

Lấy mẫu nước tiểu sau khi uống liệu DLW:

- Mẫu B sau khi uống 4 giờ và mẫu C sau khi uống 6 giờ. Mẫu N2, mẫu N3, mẫu N10 và mẫu N12 vào các ngày 2, 3, 10, 12 vào quanh khoảng thời gian uống liều DLW trong ngày 1
- Các bước thực hiện như trong mục 5.2. Lưu ý ghi lại thời gian lấy mẫu trong phiếu lấy mẫu đối tượng.

Chú ý khi lấy mẫu nước tiểu

- Giải thích kỹ lưỡng về quá trình cho người tham gia trước khi lấy mẫu. Có thể nên dùng từ “nước nặng” hay “nước đặc biệt” thay vì “nước đánh dấu đồng vị” hoặc “nước đồng vị bền” vì có khả năng nhầm lẫn về từ “đồng vị” hay đi cùng phóng xạ.
- Để tránh nhiễm chéo liều DLW với mẫu nước tiểu và nhiễm chéo giữa các mẫu: dùng túi zip đựng riêng từng mẫu.
- Dùng găng sạch cho mỗi đối tượng và mỗi lần lấy mẫu nước tiểu.
- Sắp xếp khu vực làm việc và ghi nhãn các ống đựng mẫu trước khi lấy mẫu.
- Các ống đựng mẫu cần có nút vặn và quấn parafilm để tránh mất mát, bay hơi và ô nhiễm chéo trong quá trình lưu trữ.
- Mẫu nước tiểu cần được cất trong tủ đông (-20°C) cho tới khi phân tích để giảm thiểu sự phát triển của vi khuẩn.
- Giữ mẫu nước tiểu và liều DLW trong các hộp chứa riêng biệt trong quá trình lưu trữ và vận chuyển.
- Mẫu nước tiểu có thể được giữ trong hộp chứa mẫu đông lạnh hoặc túi zip. Đảm bảo sắp xếp các ống đựng mẫu theo thứ tự hệ thống mẫu A, B, C, N2, N3, N10, N12.

4.2. Nhận định kết quả

Báo cáo lượng hỗn hợp DLW từng người tham gia đã uống ở trên và số mẫu nước tiểu và thể tích đã thu (theo mẫu phiếu Theo dõi uống liều DLW tại Phụ lục 1).

4.3. Trả kết quả lưu trữ hồ sơ

Quy trình này không trả kết quả cho đối tượng.

Hồ sơ lưu gồm:

Bảng 1: Danh mục hồ sơ thử nghiệm

TT	Ký Hiệu	Tên	Nơi lưu	Thời hạn (năm)
1		Bảng tính toán tỷ lệ pha loãng	Đơn vị triển khai kỹ thuật	5 năm
2		Danh sách theo dõi mã liều	Đơn vị triển khai kỹ thuật	5 năm
3		Phiếu theo dõi liều của đối tượng	Khoa Vi chất Dinh dưỡng	5 năm

Được 

5. Những sai sót và xử trí

STT	Vấn đề	Xử trí
1	Người tham gia nhầm lẫn “đồng vị bền” với “đồng vị phóng xạ”	Giải thích kỹ lưỡng về quá trình cho người tham gia trước khi lấy mẫu. Có thể nên dùng từ “nước nặng” hay “nước đặc biệt” thay vì “nước đánh dấu đồng vị” hoặc “nước đồng vị bền” vì có khả năng nhầm lẫn về từ “đồng vị” hay đi cùng phóng xạ.
	Đảm bảo vệ sinh cho người tham gia	Dùng găng sạch cho mỗi đối tượng.
2	Nhiễm chéo liều D_2O , mẫu A, B, C và nhiễm chéo giữa các mẫu	Dùng túi zip đựng riêng từng mẫu. Giữ mẫu nước bọt và liều D_2O trong các hộp chứa riêng biệt trong quá trình lưu trữ và vận chuyển.
3	Tăm bông bị long ra hoặc que bị gãy trong quá trình lấy mẫu nước bọt trong miệng trẻ	Lấy đầu tăm bông khỏi miệng trẻ và lặp lại với một tăm bông mới
4	Có tai nạn với ống mẫu	Chia mẫu nước bọt vào hai ống để có mẫu dự phòng
5	Nhầm lẫn mẫu	Sắp xếp khu vực làm việc và ghi nhãn các ống đựng mẫu trước khi lấy mẫu Đảm bảo sắp xếp các ống đựng mẫu theo thứ tự hệ thống mẫu A, B và C.
6	Mất mát, bay hơi và ô nhiễm chéo trong quá trình lưu trữ	Các ống đựng mẫu nên có nút vặn và quấn parafilm để tránh. Xem xét dùng nắp màu khác nhau hoặc bút ghi nhãn màu khác nhau cho mẫu trước liều và sau liều.
	Phát triển của vi khuẩn.	Mẫu nước bọt có thể được giữ trong hộp chứa mẫu đông lạnh tại thực địa và được chuyển cất trong tủ đông ($-20^{\circ}C$) cho tới khi phân tích

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

Quy trình không yêu cầu thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm nhưng cần phải thực hiện tập huấn thành thạo cho người thực hiện.

7. Tài liệu tham khảo

- Doubly labelled water technique to access total daily energy expenditure – Lecture by Christine Slater, PhD; IAEA Nutrition Specialist.
- Assessment of Body composition and total energy expenditure in human using stable isotope technique (IAEA Human Health Series No. 3, 2009)
- Assessment of total energy expenditure using stable isotope dilution techniques – Lecture by Kunchit Judprasong, PhD; Mahidol University, Thailand.
- Standard Operation Procedure to prepare DLW dose; Dr. Tippawan Pongcharoen, Mahidol University, Thailand.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 36:

PHỤ LỤC 1:

PHIẾU THEO DÕI CHO UỐNG LIỀU DLW

ID: _____

Tên đối tượng: _____

Ngày sinh: _____

Cân nặng: _____ kg

Mã liều DLW: _____

Ngày uống: _____

Thời điểm uống liều DLW: _____

Thời gian hoàn thành uống liều DLW: _____ phút

Có uống hết liều: Có ☐ Không ☐

Trường hợp không uống hết, trọng lượng lọ còn lại: _____ (g)

Loại mẫu nước tiểu	Thời điểm lấy mẫu		Thể tích mẫu thu (ml)
	Ngày	Giờ	
Mẫu A (mẫu trước uống liều DLW)			
Mẫu B			
Mẫu C			

Handwritten signatures and initials in blue ink.

Mẫu N2			
Mẫu N3			
Mẫu N10			
Mẫu N12			

Ghi chú:

PHỤ LỤC 2:

BẢNG THEO DÕI LIỀU DLW

Ngày chuẩn bị	ID đối tượng	Mã liều	Ngày uống liều DLW

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 37:

**LẤY MẪU VÀ XỬ LÝ MẪU THỰC PHẨM TẠI THỰC ĐỊA CHO
NGHIÊN CỨU NHU CẦU DINH DƯỠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP CÂN
BẰNG CHUYỂN HÓA**

1. Đại cương

1.1. Mục đích: Quy trình này hướng dẫn cách lấy mẫu và xử lý mẫu tại thực địa cho nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng bằng phương pháp cân bằng chuyển hóa.

1.2. Định nghĩa

- Phương pháp cân bằng chuyển hóa nhằm xác định nhu cầu dinh dưỡng của cơ thể thường được ứng dụng để nghiên cứu xác định nhu cầu protein, canxi và một số chất khoáng
- Lấy toàn bộ mẫu thực phẩm được cung cấp cho đối tượng trong những ngày nghiên cứu để phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng đang dự kiến xác định nhu cầu của cơ thể.
- Xử lý mẫu thực phẩm ngay tại thực địa nghiên cứu và bảo quản cho tới khi phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng tại Labo.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên lấy mẫu thực phẩm đã được đào tạo.
- 01 nhân viên xử lý mẫu thực phẩm đã được đào tạo về quy trình xử lý mẫu.
- 01 cán bộ giám sát việc tuân thủ quy trình.

2.2. Vật tư

Trang phục bảo hộ

- Quần, áo bảo hộ y tế: 01 bộ/người;
- Mũ bảo hộ y tế (1 lần) : 01 cái/người;
- Khẩu trang y tế: 01 cái/người/ 1 ngày;
- Găng tay y tế: 01 đôi/người/ 1 ngày.

Vật tư tiêu hao

- Nilon sạch: 1 cái/ mẫu;
- Nilon bọc thực phẩm: 0.2 m/ mẫu;
- Tem nhãn: 2 tem/ mẫu;
- Thìa nhựa: 1 cái/mẫu;
- Đũa tre 1 lần: 1 đôi/ mẫu;
- Găng tay thực phẩm: 1 đôi/ mẫu.
- Túi zip nilong đựng thực phẩm: 01 cái/ mẫu

Được *mm*

- Dụng cụ vệ sinh: dung dịch Javen (Sodium Hypochlorite 5,25%), giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, sổ (giao nhận mẫu, quản lý hóa chất, hủy mẫu...), bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị

- Cân tiểu ly 500gram, có độ chính xác 0,01gram: 01 cái;
- Máy xay mẫu, công suất >700 W hoặc tương đương: 01 cái;
- Tủ đông bảo quản mẫu nhiệt độ -20°C: 01 cái;
- Cân trọng lượng cơ thể (TANITA): 1 cái

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện và mẫu thực phẩm

2.4.1. Chuẩn bị đối tượng

- Đối tượng được hướng dẫn ăn theo thực đơn đã được tính toán trước trong 15 ngày và ăn tập trung tại địa điểm qui định.
- Đối tượng không được ăn, uống gì khác ngoài thực đơn mà nghiên cứu viên cung cấp.

2.4.2. Chuẩn bị mẫu thực phẩm

- Mẫu xét nghiệm là mẫu thực phẩm cung cấp cho đối tượng ăn trong cả một ngày: nghiên cứu viên xây dựng thực đơn để mua thực phẩm cung cấp miễn phí cho đối tượng tham gia nghiên cứu. Thực đơn được tính toán đảm bảo cung cấp đủ chất dinh dưỡng theo các mức quy định trong thuyết minh của nghiên cứu.
- Hàng ngày, với mỗi bữa ăn, các nghiên cứu viên đều chuẩn bị suất ăn cung cấp cho đối tượng và suất ăn mang về Labo phân tích (suất ăn phân tích) giống nhau.
- Suất ăn phân tích được bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: Không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

- Lấy mẫu thực phẩm để phân tích: lấy mẫu thực phẩm của tất cả các bữa ăn trong ngày (suất ăn phân tích) của đối tượng. Tổng thời gian thu thập mẫu: trong suốt 15 ngày nghiên cứu
- Thời gian lấy mẫu: 4,25 giờ/ngày thu thập mẫu

Nhân viên tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung công việc	Tổng thời gian thực hiện (giờ)
Nhân viên lấy mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật lấy mẫu	Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao lấy mẫu thực phẩm	1,25
		Quản lý đối tượng để thu thập mẫu thực phẩm	
		Thực hiện lấy mẫu thực phẩm	
Nhân viên xử lý mẫu	Đã được đào tạo về quy trình xử lý mẫu.	Vận xử lý mẫu, chuyển mẫu và bàn giao mẫu	2,5
		Xử lý dụng cụ lấy mẫu	
		Chăm sóc đối tượng (theo dõi sức khỏe, phân nân ...)	
		Ghi chép biểu mẫu	
Người giám sát quy trình	Nắm rõ quy trình và các yêu cầu chất lượng	Giám sát việc tuân thủ quy trình lấy mẫu và xử lý mẫu	0,5
		Phát hiện những điều không phù hợp và cải tiến quy trình	
Tổng cộng			4,25

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại nơi thực hiện các hoạt động điều tra, nghiên cứu ở cộng đồng hoặc tại các địa điểm chỉ định của nghiên cứu.

3. An toàn

- **An toàn cho người thực hiện**
 - + Được đào tạo về kỹ thuật lấy mẫu để hiểu và thực hành đúng về quy trình này.
 - + Được đào tạo về an toàn sinh học.
- **An toàn điện và phòng chống cháy nổ:** Thực hiện theo quy định phòng chống cháy nổ
- **Kiểm soát môi trường và môi trường lao động:**
 - + Thực hiện đúng các quy trình xử lý sự cố
 - + Xử lý và loại bỏ chất thải theo đúng quy trình.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Thu thập mẫu

Trong những ngày nghiên cứu: Hàng ngày, với mỗi bữa ăn, nghiên cứu viên chia đều các suất ăn (gồm tất cả các món ăn) cho đối tượng tham gia nghiên cứu. Ngoài suất ăn cung cấp cho các đối tượng, nghiên cứu viên chuẩn bị riêng 02 suất ăn (01 **suất ăn để phân tích** và 01 suất để lưu). Trọng lượng thực phẩm thu được của suất ăn phân tích được cân và ghi lại theo từng bữa và từng ngày (Phụ lục 1)

4.1.2. Bước 2. Bảo quản mẫu

Vào cuối mỗi ngày nghiên cứu, nghiên cứu viên sẽ gom tất cả các **suất ăn phân tích** vào 1 túi đựng chung, ghi thời gian lấy mẫu (ngày, tháng, năm) và đánh mã số mẫu theo từng ngày. Mẫu được bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ - 20°C.

4.1.3. Bước 3. Đồng nhất mẫu:

- Mẫu thực phẩm được gom lại theo ngày, sau đó trộn đều và xay nhuyễn bằng máy xay có công suất >700 W
- Phân loại thực phẩm: Thực phẩm cần loại bỏ xương như thịt gà, thịt vịt, thịt ngan, sườn, cá,... phải được gỡ bỏ phần xương, giữ lại phần thịt để xay riêng. Thực phẩm có tính cứng, hoặc dai như củ xu hào, rau muống, các loại rau củ khác xay riêng. Thực phẩm mềm như cơm, bún, bánh đa, bánh mỳ,... xay riêng.
- Mỗi mẻ đưa vào máy xay: cân trọng lượng thực phẩm trước khi xay (Phụ lục 2), sau đó đưa vào máy xay, cho thêm nước trắng để dễ xay. Khi xay, cho từ từ từng ít nước để mẫu được lỏng và nhuyễn. Ghi rõ lượng nước thêm vào Phụ lục 2.
- Trộn đều tất cả khối thực phẩm đã xay và xay lại lần nữa.
- Sau khi đồng nhất xong, cho mẫu vào 2 lọ, mỗi lọ 100g (1 lọ để phân tích, 1 lọ để lưu mẫu) và bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ - 20°C.
- Mẫu được vận chuyển về phòng xét nghiệm bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ - 20°C cho đến khi phân tích.

4.2. Nhận định kết quả:

- Cán bộ y tế tham gia được tập huấn để tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, cẩn thận trong ghi chép dữ liệu và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao là yếu tố then chốt đảm bảo việc thu thập mẫu được chính xác.

- Khi có kết quả phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng trong mẫu phân tích, cần nhân với tỷ lệ pha loãng với nước trong quá trình xay thực phẩm để có được hàm lượng chất dinh dưỡng thực tế trong mẫu suất ăn phân tích

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ: Các thông tin về mẫu được thu thập được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trong quá trình lấy mẫu và lưu mẫu thực phẩm

TT	Tình huống	Xử trí
1	Tủ lạnh lưu mẫu suất ăn phân tích bị mất điện	Chuyển mẫu đến nơi có tủ lưu mẫu đảm bảo đúng quy định

5.2. Trong quá trình xử lý mẫu

TT	Tình huống	Xử trí
1	Thức ăn rắn quá không xay nhuyễn được	Xay từ từ từng mẻ nhỏ, và thêm nhiều nước, xay nhiều lần

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:
 - + Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
 - + Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Coletti, C, et al, Exercise-mediated reinnervation of skeletal muscle in elderly people: An update. Eur J Transl Myol, 2022.32(1).
- Lynch, M.F, et al, Calcium balance in 1-4-y-old children. Am J Clin Nutr, 2007. 85(3): p. 750-4.
- Fisher, M.T., et al, A method for performing a calcium balance study in man and the interpretation of results. Clin Chim Acta, 1976. 70(2): p.297-311.
- Matkovic, V, et al, Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. Am J Clin Nutr, 1990.52(5): p.878-88.
- Vu Thi Thu Hien, N.A.T, Nguyen Doan Dung, Nguyen Thi Diep Anh, Luu Hong Anh, Le Hoang Dan, Pham Thuy Mai, Lai Thi Cam Nhung, Le Anh Hoa, Ryosuke Matsuoka, Yamamoto Shigeru, Determining Calcium requirement of Vietnamese children aged 55-65 years old Asian Journal of Dietetics 2-23, 2008.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 37:

Phụ lục 1: PHIẾU THEO DÕI THU THẬP MẪU THỰC PHẨM

Người thực hiện:.....

Thời gian thực hiện: ...từ ngày/tháng/năm... đến ngày/tháng/năm.....

Địa điểm:.....

STT	Ngày	Bữa ăn	Tên món ăn	Trọng lượng thực phẩm thu thập được trong suất ăn phân tích (g)

Được *mm*

Tổng trọng lượng				

Phụ lục 2: PHIẾU NHẬT KÝ XAY MẪU THỰC PHẨM

Người thực hiện:.....

Thời gian thực hiện:

Địa điểm:.....

STT	Mã số mẫu	Trọng lượng trước khi xay (g)	Lượng nước thêm vào (ml)	Tổng trọng lượng sau khi xay (g)	Tỷ lệ pha loãng nước (%)
Tổng trọng lượng					

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 38:

LẤY MẪU NƯỚC TIỂU 24 GIỜ CHO NGHIÊN CỨU NHU CẦU DINH DƯỠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP CÂN BẰNG CHUYỂN HÓA

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu nước tiểu của đối tượng tham gia nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng.

1.2. Định nghĩa

- Phương pháp cân bằng chuyển hóa nhằm xác định nhu cầu dinh dưỡng của cơ thể thường được ứng dụng để nghiên cứu xác định nhu cầu protein, canxi và một số chất khoáng. Nghiên cứu thường có ít nhất 3 giai đoạn, mỗi giai đoạn thực hiện trong 15 ngày. Giữa các giai đoạn là thời gian nghỉ (2 tuần).
- Toàn bộ mẫu nước tiểu trong cả ngày và đêm của đối tượng tham gia nghiên cứu được thu thập để phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng đang mong muốn xác định nhu cầu của cơ thể.

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện:

- 01 nhân viên lấy mẫu nước tiểu đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật cho đề tài nghiên cứu Nhu cầu dinh dưỡng.
- 01 nhân viên xử lý mẫu đã được đào tạo về quy trình xử lý mẫu.
- 01 cán bộ giám sát việc tuân thủ quy trình.

2.2. Vật tư:

Trang phục bảo hộ

- Quần, áo bảo hộ y tế: 01 bộ/người;
- Mũ bảo hộ y tế: 01 cái/người;
- Khẩu trang y tế: 01 cái/người/ 1 ngày;
- Găng tay y tế: 01 đôi/người/ 1 ngày.

Vật tư tiêu hao

- Dụng cụ lấy mẫu nước tiểu chuyên dụng, có nhãn ghi thông tin mẫu (tên, tuổi, mã đối tượng): 01 cái;
- Tem nhãn: 1 tem/ mẫu;
- Bút lông dầu (bút dạ) không xóa được: 1 cái/nghiên cứu viên;
- Bút bi: 1 cái/ nghiên cứu viên;
- Sổ ghi chép: 1 quyển/nghiên cứu viên.

(Mô tả: dụng cụ lấy nước tiểu chuyên dụng có 2 ngăn: ngăn trên đựng nước tiểu, có thể tích chứa 500ml; ngăn dưới chứa lượng nước tiểu đã được trích xuất ra 1/50 lượng nước tiểu từ ngăn trên, có thể tích chứa 100ml).



- Lọ lưu mẫu nước tiểu hàng ngày (dung tích 100ml) có nhãn ghi thông tin mẫu (tên, tuổi, mã đối tượng): 5 lọ;
- Lọ lưu mẫu nước tiểu (dung tích 20ml): 2 lọ
- Lọ lưu mẫu nước tiểu (dung tích 300ml): 1 lọ
- Pipet nhựa 10ml: 1 cái
- Dụng cụ vệ sinh: dung dịch Javen (Sodium Hypochlorite 5,25%), giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, sổ (giao nhận mẫu, quản lý hóa chất, hủy mẫu...), bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

Hóa chất

- Dung dịch acid HCL 37%: 180ml

2.3. Thiết bị

- Cân tiểu ly 500gram, có độ chính xác 0,01 gram: 01 cái;
- Tủ đông bảo quản mẫu nhiệt độ -200 C: 01 cái;

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

2.4.1. Chuẩn bị đối tượng lấy mẫu

Cho đối tượng uống carmine:

- Liều uống: 1g/ 1 lần uống (pha 1g carmine với 10ml nước lọc).
- Thời gian uống:
 - + Trước bữa ăn đầu tiên của ngày thứ 11 trong mỗi giai đoạn nghiên cứu, mỗi đối tượng được uống 1g chất đánh dấu carmine.
 - + Đến ngày thứ 15, sau bữa ăn cuối cùng trong giai đoạn nghiên cứu, mỗi đối tượng lại được uống 1g carmine.

Chú ý: Yêu cầu đối tượng đi tiểu hết trước khi uống carmine.

2.4.2. Chuẩn bị dung dịch acid HCL 37%

- Pha 500ml HCL 5%: cho 300ml nước cất vào bình định mức 500ml, nhỏ từ từ 60ml HCL 37% vào, lắc đều. Định mức đến vạch bằng nước cất.

2.4.3. Mẫu nước tiểu

- Mẫu nước tiểu được thu thập 24 giờ liên tục trong mỗi ngày.
- Mẫu nước tiểu sau khi thu thập thì được bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: Không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

- Thời gian thu thập (trong 5 ngày, từ ngày thứ 11 đến ngày thứ 15 của giai đoạn nghiên cứu:
 - + Thời gian bắt đầu thu thập mẫu nước tiểu: sau 2 giờ kể từ khi đối tượng uống carmine lần thứ nhất (ngày thứ 11).
 - + Thời gian kết thúc thu thập mẫu nước tiểu: sau 2 giờ kể từ khi đối tượng uống carmine lần thứ hai (ngày thứ 15).
- Thời gian lấy mẫu: 4.25 giờ/ 5 ngày thu thập mẫu

Nhân viên tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung công việc	Tổng thời gian thực hiện (giờ)
Nhân viên lấy mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật lấy mẫu	Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao lấy mẫu nước tiểu	1,25
		Quản lý đối tượng để thu thập mẫu nước tiểu	
		Thực hiện lấy mẫu nước tiểu	
01 nhân viên xử lý mẫu	Đã được đào tạo về quy trình xử lý mẫu.	Xử lý mẫu nước tiểu tại thực địa	2,5
		Xử lý dụng cụ lấy mẫu	
		Chăm sóc đối tượng (theo dõi sức khỏe, phản nản ...)	
		Ghi chép biểu mẫu	
Cán bộ giám sát quy trình	Nắm rõ quy trình và các yêu cầu chất lượng	Giám sát việc tuân thủ quy trình	0,5
		Phát hiện những điều không phù hợp và đề xuất phương án giải quyết	
Tổng cộng			4,25

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Thực hiện thu thập mẫu nước tiểu của đối tượng tại địa điểm nghiên cứu của đề tài.

3. An toàn

- **An toàn cho người thực hiện và dự phòng nguy cơ trước, trong và sau phơi nhiễm**
 - + Được đào tạo về kỹ thuật lấy mẫu nước tiểu để hiểu và thực hành đúng về quy trình.
 - + Được đào tạo về an toàn sinh học.
 - + Bảo hộ cá nhân: mang trang phục bảo hộ khi vào phòng xét nghiệm, thận trọng khi tiếp xúc với mẫu xét nghiệm và hóa chất.
- **An toàn điện và phòng chống cháy nổ:** Thực hiện theo quy định phòng chống cháy nổ
- **An toàn hóa chất:** Thực hiện đúng hướng dẫn sử dụng hóa chất.
- **Kiểm soát môi trường và môi trường lao động:**
 - + Thực hiện đúng các quy trình xử lý sự cố: Sự cố tràn đổ dung dịch có thể chứa tác nhân gây bệnh, sự cố tràn đổ hóa chất.
 - + Xử lý và loại bỏ chất thải theo đúng quy trình.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1. Hướng dẫn đối tượng thu thập mẫu nước tiểu

- Ngày đầu tiên thu thập mẫu nước tiểu, ngay sau khi đối tượng được uống carmin, nghiên cứu viên phát dụng cụ lấy mẫu nước tiểu chuyên dụng đã ghi sẵn tên, tuổi, mã code, ngày lấy mẫu cho đối tượng và dặn đối tượng bắt đầu lấy mẫu sau khi uống carmin 2 giờ,

- Nghiên cứu viên hướng dẫn cho đối tượng cách sử dụng dụng cụ lấy mẫu, cụ thể như sau: Mở nắp, đi tiểu vào ngăn trên của dụng cụ. Sau khi đi tiểu xong, vặn núm xoay ở trên thân hộp đựng nước tiểu để tự động trích xuất 1/50 lượng nước tiểu xuống ngăn dưới của hộp. Phần nước tiểu còn lại được đổ đi. Dụng cụ này được đối tượng cầm theo 24/24 giờ để thu mẫu nước tiểu cả ngày và đêm, không bỏ sót bất kỳ nước tiểu nào.

- Việc thu thập mẫu nước tiểu sẽ kết thúc sau khi đối tượng uống carmin lần thứ 2 khoảng 2 giờ đồng hồ.

4.1.2. Bước 2: Thu thập mẫu nước tiểu

- Sáng hôm sau (24 giờ, kể từ khi đối tượng uống carmin), đối tượng mang dụng cụ lấy mẫu chuyên dụng có chứa mẫu nước tiểu đến gặp nghiên cứu viên để thực hiện thu thập mẫu.

- Nghiên cứu viên tiến hành thu hết lượng nước tiểu có trong phần đáy của dụng cụ lấy mẫu chuyên dụng, chuyển sang lọ đựng nước tiểu có đánh mã số code của đối tượng, và ghi nhận lượng nước tiểu thu được vào biểu mẫu thiết kế sẵn (Phụ lục 1).

- Bốn ngày tiếp theo, đối tượng tiếp tục thu mẫu nước tiểu cả ngày và đêm, rồi đến gửi cho nghiên cứu viên để thu mẫu

4.1.3. Bước 3: Bảo quản mẫu

Mẫu nước tiểu 24 giờ của đối tượng được lưu giữ trong 1 lọ kín (mỗi ngày 1 lọ) có đánh code của từng đối tượng. Khi nghiên cứu viên đổ nước tiểu từ dụng cụ lấy mẫu chuyên dụng ra lọ đựng nước tiểu thì sẽ cho thêm 6ml dung dịch HCl 5%/ mẫu/ ngày. Mẫu nước tiểu được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

4.1.4. Bước 4: Đồng nhất mẫu

Kết thúc thời gian lấy mẫu, mẫu nước tiểu trong 5 ngày của đối tượng được gom vào lọ có dung tích 300ml và trộn đều. Dùng pipet lấy ra 10ml vào 1 lọ có dung tích 20ml để phân tích mẫu và 10ml vào 1 lọ đựng nước tiểu 20ml để lưu và bảo quản ở nhiệt độ - 200C cho đến khi phân tích.

4.2. Nhận định kết quả:

- Cán bộ y tế tham gia được tập huấn tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật, cẩn thận trong ghi chép dữ liệu và thực hiện các công việc với tinh thần trách nhiệm cao là yếu tố then chốt đảm bảo việc thu thập mẫu được chính xác.

- Khi có kết quả phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng trong mẫu phân tích, cần nhân với 50 để có được hàm lượng chất dinh dưỡng thực tế của đối tượng nghiên cứu

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ: Các thông tin về mẫu được thu thập được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

Đối tượng bị đau sán, tiểu buốt,... Trường hợp này báo cho bác sĩ của chương trình để khám và tư vấn. Nếu xác định đối tượng bị viêm nhiễm thì phải gửi bác sĩ chuyên khoa để khám và điều trị, đối tượng được dùng tham gia nghiên cứu.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:
 - + Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
 - + Có giám sát viên thực hiện giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Coletti, C, et al, Exercise-mediated reinnervation of skeletal muscle in elderly people: An update. Eur J Transl Myol, 2022.32(1).
- Lynch, M.F, et al, Calcium balance in 1-4-y-old children. Am J Clin Nutr, 2007. 85(3): p. 750-4.
- Fisher, M.T., et al, A method for performing a calcium balance study in man and the interpretation of results. Clin Chim Acta, 1976. 70(2): p.297-311.
- Matkovic, V, et al, Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. Am J Clin Nutr, 1990.52(5): p.878-88.
- Vu Thi Thu Hien, N.A.T, Nguyen Doan Dung, Nguyen Thi Diep Anh, Luu Hong Anh, Le Hoang Dan, Pham Thuy Mai, Lai Thi Cam Nhung, Le Anh Hoa, Ryosuke

Phụ lục 1: PHIẾU THEO DÕI THU THẬP MẪU NƯỚC TIỂU

Địa điểm:

[illegible]

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 39:

**LẤY MẪU PHÂN CHO NGHIÊN CỨU NHU CẦU DINH DƯỠNG
BẰNG PHƯƠNG PHÁP CÂN BẰNG CHUYỂN HÓA**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn kỹ thuật lấy mẫu phân của đối tượng cho nghiên cứu nhu cầu dinh dưỡng.

1.2. Định nghĩa

- Phương pháp cân bằng chuyển hóa nhằm xác định nhu cầu dinh dưỡng của cơ thể thường được ứng dụng để nghiên cứu xác định nhu cầu protein, canxi và một số chất khoáng. Nghiên cứu thường có ít nhất 3 giai đoạn, mỗi giai đoạn thực hiện trong 15 ngày. Giữa các giai đoạn là thời gian nghỉ (2 tuần).
- Toàn bộ mẫu phân của đối tượng trong 5 ngày cuối của mỗi giai đoạn nghiên cứu (được đánh dấu bằng chất đánh dấu carmin) được thu thập để phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng đang mong muốn xác định nhu cầu của cơ thể..

1.3. Nguyên lý: không áp dụng

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên lấy mẫu phân đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật cho đề tài nghiên cứu Nhu cầu dinh dưỡng.
- 01 nhân viên xử lý mẫu đã được đào tạo.
- 01 cán bộ giám sát việc tuân thủ quy trình..

2.2. Vật tư, hóa chất

Trang phục bảo hộ

- Quần, áo bảo hộ y tế: 01 bộ/người;
- Mũ bảo hộ y tế: 01 cái/người;
- Khẩu trang y tế: 01 cái/người/ 1 ngày;
- Găng tay y tế: 01 đôi/người/ 1 ngày.

Vật tư tiêu hao

- Dụng cụ thu/hứng mẫu phân có nắp (hoặc dụng cụ tương đương có đường kính 30cm, cao khoảng 15cm): 01 bộ nhựa/ mẫu;
- Ống đựng mẫu phân có nhãn ghi thông tin mẫu (tên, tuổi, mã đối tượng, đường kính khoảng 20cm, cao khoảng 15 cm): 01 bộ nhựa/ mẫu;
- Nilon sạch: 1 cái/ mẫu;
- Bọc thực phẩm: 1 mét/ mẫu;
- Tem nhãn: 2 tem/ mẫu;

- Thìa nhựa: 2 cái/mẫu;
- Bút lông dầu (bút dạ) không xóa được: 1 cái/nghiên cứu viên;
- Bút bi: 1 cái/ nghiên cứu viên;
- Sổ ghi chép: 1 quyển/nghiên cứu viên.
- Dụng cụ vệ sinh: dung dịch Javen (Sodium Hypochlorite 5,25%), giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, sổ (giao nhận mẫu, quản lý hóa chất, hủy mẫu...), bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilon đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

Hóa chất

- Carmine (chất có màu đỏ, không tham gia các quá trình chuyển hoá): 2g/ mẫu.

2.3. Thiết bị

- Cân tiểu ly 500gram, có độ chính xác 0,01gram: 01 cái;
- Máy xay mẫu, công suất >700 W hoặc tương đương: 01 cái;
- Tủ đông bảo quản mẫu nhiệt độ -20°C: 01 cái;

2.4. Chuẩn bị đối tượng và khử trùng:

2.4.1. Chuẩn bị đối tượng: cho đối tượng uống carmine.

- Liều uống: 1g/ 1 lần uống (pha 1g carmine với 10ml nước lọc).
- Thời gian uống:
 - + Trước bữa ăn đầu tiên của ngày thứ 11 trong giai đoạn nghiên cứu, mỗi đối tượng được uống 1g chất đánh dấu carmine.
 - + Đến ngày thứ 15, sau bữa ăn cuối cùng trong giai đoạn nghiên cứu, mỗi đối tượng lại được uống 1g carmine.
- Đối tượng được hướng dẫn rõ ràng về cách lấy mẫu, bao gồm:
 - + Đảm bảo không có nước tiểu hoặc các tạp chất khác lẫn vào mẫu phân.
 - + Hướng dẫn lấy toàn bộ mẫu phân vào dụng cụ chứa phân.

2.4.2. Khử trùng

Dụng cụ và khu vực lấy mẫu cần được khử trùng để tránh sự xâm nhập của vi khuẩn không mong muốn.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: Không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật:

- Thời gian thu thập (trong 5 ngày, từ ngày thứ 11 đến ngày thứ 15 của giai đoạn nghiên cứu):
 - + Thời gian bắt đầu thu thập mẫu phân: sau khi đối tượng uống carmine lần thứ nhất và khi nghiên cứu viên nhìn thấy phân của đối tượng bắt đầu có màu đỏ của carmin.

- + Thời gian kết thúc thu thập mẫu phân: sau khi đối tượng uống carmine lần thứ hai và khi nghiên cứu viên nhìn thấy phân của đối tượng có dấu màu đỏ của carmin.

- Thời gian lấy mẫu: 4.25 giờ/ 5 ngày thu thập mẫu

Nhân viên tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung công việc	Tổng thời gian thực hiện (giờ)
Nhân viên lấy mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật lấy mẫu	Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao lấy mẫu phân	1,0
		Quản lý đối tượng để thu thập mẫu phân	
		Thực hiện lấy mẫu phân	
Nhân viên xử lý mẫu	Đã được đào tạo về quy trình xử lý mẫu.	Xay phân và xử lý mẫu phân tại thực địa	0,9
		Xử lý dụng cụ lấy mẫu	
		Chăm sóc đối tượng (theo dõi sức khỏe, phản nản ...)	
		Ghi chép biểu mẫu	
Cán bộ giám sát quy trình	Nắm rõ quy trình và các yêu cầu chất lượng	Giám sát việc tuân thủ quy trình	0,5
		Phát hiện những điều không phù hợp và đề xuất phương án giải quyết	
Tổng cộng			1,95

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Tại nơi thực hiện nghiên cứu ở địa phương (trạm y tế).

3. An toàn

- **An toàn điện và phòng chống cháy nổ:** Thực hiện theo quy định phòng chống cháy nổ
- **An toàn hóa chất:** Thực hiện đúng hướng dẫn sử dụng hóa chất.
- **Kiểm soát môi trường và môi trường lao động:**
 - + Thực hiện đúng các quy trình xử lý sự cố: Sự cố tràn đổ dung dịch có thể chứa tác nhân gây bệnh, sự cố tràn đổ hóa chất.
 - + Xử lý và loại bỏ chất thải theo đúng quy trình.

4. Các bước tiến hành

Được *nm*

4.1. Các bước thực hiện:

4.1.1. Bước 1: Lấy mẫu phân

- Đảm bảo vệ sinh: Để tránh lây nhiễm, mỗi người lấy mẫu cần rửa tay sạch sẽ và đeo găng tay.
- Mỗi đối tượng được phát 1 xô đã ghi sẵn tên, tuổi, mã code, ngày lấy mẫu để lấy mẫu phân.
- Cách lấy mẫu như sau: Lót nilong bọc thực phẩm trong lòng xô và trùn cả thành xô. Khi đối tượng đi đại tiện thì cầm sẵn dụng cụ hứng nước tiểu để hứng riêng phân và nước tiểu. Sau khi đi đại tiện xong, đối tượng bọc nilong chứa phân lại để tránh bị mùi bay hơi ra ngoài.
- Lấy toàn bộ mẫu phân trong vòng 24 giờ kể từ sau khi thấy xuất hiện màu đỏ carmine trong mẫu phân.

Dấu hiệu nhận biết phần phân cần thu thập: Sau khi uống carmin, trong phân của đối tượng xuất hiện màu đỏ thì lấy phần mẫu phân từ sau đó trở đi. Cán bộ y tế được đào tạo để lấy mẫu đảm bảo không làm mất dấu vết của chất đánh dấu trong phân.



- Tiếp tục lấy toàn bộ mẫu phân 24 giờ trong những ngày tiếp theo, cho đến khi thấy trong phân xuất hiện màu đỏ của carmin sau khi uống carmine lần hai thì dừng lấy mẫu (phần mẫu có màu đỏ trở về sau được loại bỏ).
- Mỗi lần thu nhận mẫu phân của đối tượng, nghiên cứu viên cần cân trọng lượng mẫu thu được và ghi lại theo theo biểu mẫu thiết kế sẵn (Phụ lục 1)

4.1.2. Bước 2: Ghi nhãn cho mẫu phân

Mỗi mẫu phân cần được ghi nhãn rõ ràng với các thông tin như sau: Tên người tham gia nghiên cứu, thời gian và ngày lấy mẫu, mã số mẫu.

❖ Lưu ý:

Trường hợp đối tượng không đi đại tiện ở nơi tập kết thì sẽ được hướng dẫn mang xô về nhà đi ngoài vào xô và mang đến cho nghiên cứu viên.

4.1.3. Bước 3: Đóng gói và bảo quản mẫu

- Sau khi lấy mẫu, đóng chặt nắp hộp đựng mẫu để tránh bị ô nhiễm. Các mẫu phân được đựng trong một hộp đựng kín bằng bát nhựa và bọc bên ngoài 1 lớp bọc thực phẩm (mỗi ngày 1 bát) có đánh code của từng đối tượng.
- Mẫu phân được quản ở nhiệt độ phòng tại một khu riêng biệt.

4.1.4. Bước 4: Xử lý và đồng nhất mẫu

- Mẫu phân trong 5 ngày của đối tượng được gộp lại, trộn đều và xay nhuyễn bằng máy xay công suất > 700w.

- Với mẫu phân của mỗi đối tượng, cân tổng trọng lượng phân trong 5 ngày trước khi xay (Phụ lục 2), sau đó đưa vào máy xay, cho thêm nước trắng để dễ xay. Khi xay, cho từ từ từng ít nước để mẫu được lỏng và nhuyễn. Ghi rõ lượng nước thêm vào Phụ lục 2.
- Sau khi đồng nhất xong, cho mẫu vào 2 lọ, mỗi lọ 10g (1 lọ để phân tích, 1 lọ để lưu mẫu), ghi nhãn mẫu và bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ - 20°C.
- Mẫu được vận chuyển về phòng xét nghiệm, bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ - 20°C cho đến khi phân tích.

4.2. Nhận định kết quả:

Khi có kết quả phân tích hàm lượng chất dinh dưỡng trong mẫu phân tích, cần nhân với tỷ lệ pha loãng với nước trong quá trình xay phân để có được hàm lượng chất dinh dưỡng thực tế trong mẫu phân của đối tượng nghiên cứu

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ

Các thông tin về mẫu được thu thập được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

- Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường (phân lỏng, dạng nước, có máu hay vật thể lạ...). Trường hợp này báo cho bác sĩ để khám và tư vấn. Nếu xác định đối tượng bị tiêu chảy thì phải điều trị và đối tượng được dừng tham gia nghiên cứu.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Chất lượng thực hiện quy trình được đánh giá qua chỉ tiêu:
 - + Người thực hiện quy trình được tập huấn thành thạo và tuân thủ đúng các bước của quy trình kỹ thuật.
 - + Có giám sát viên hoặc người phụ trách đơn vị triển khai giám sát và kiểm tra việc thực hiện, đảm bảo chất lượng thu thập số liệu theo đúng quy trình.

7. Tài liệu tham khảo

- Coletti, C, et al, Exercise-mediated reinnervation of skeletal muscle in elderly people: An update. Eur J Transl Myol, 2022.32(1).
- Lynch, M.F, et al, Calcium balance in 1-4-y-old children. Am J Clin Nutr, 2007. 85(3): p. 750-4.
- Fisher, M.T., et al, A method for performing a calcium balance study in man and the interpretation of results. Clin Chim Acta, 1976. 70(2): p.297-311.
- Matkovic, V, et al, Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. Am J Clin Nutr, 1990.52(5): p.878-88.
- Vu Thi Thu Hien, N.A.T, Nguyen Doan Dung, Nguyen Thi Diep Anh, Luu Hong Anh, Le Hoang Dan, Pham Thuy Mai, Lai Thi Cam Nhung, Le Anh Hoa, Ryosuke

Matsuoka, Yamamoto Shigeru, Determining Calcium requirement of Vietnamese children aged 55-65 years old Asian Journal of Dietetics 2-23, 2008.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 39:

Phụ lục 1: PHIẾU THEO DÕI THU THẬP MẪU PHÂN

Người thực hiện:.....

Thời gian thực hiện: ...từ ngày/tháng/năm... đến ngày/tháng/năm.....

Địa điểm:.....

STT	Họ tên đối tượng	Mã số đối tượng	Trọng lượng mẫu phân thu được hàng ngày (g)					Tổng trọng lượng mẫu phân thu được (g)
			Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	

Phụ lục 2: PHIẾU NHẬT KÝ XỬ LÝ VÀ ĐỒNG NHẤT MẪU

Người thực hiện:.....

Thời gian thực hiện:

Địa điểm:.....

STT	Họ tên đối tượng	Mã số mẫu	Trọng lượng mẫu trước khi xay (g)	Lượng nước thêm vào (ml)	Tổng trọng lượng mẫu sau khi xay (g)	Tỷ lệ pha loãng nước (%)

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 40:

VÔ CƠ HÓA MẪU PHÂN ĐỂ ĐỊNH LƯỢNG CANXI BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ

1. Đại cương:

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp vô cơ hóa mẫu phân trong nghiên cứu xác định nhu cầu canxi để phân tích hàm lượng canxi.

1.2. Định nghĩa

Vô cơ hóa canxi trong phân là quá trình mà canxi trong phân được chuyển đổi thành các dạng muối canxi vô cơ, thường là **canxi oxalat** hoặc **canxi phosphate**

Thuật ngữ viết tắt

- AAS (Atomic absorption spectrometry).

1.3. Nguyên lý

Mẫu phân được vô cơ hóa bằng hỗn hợp acid HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 và H_2O_2 trong bình Kjeldahl, đun ở nhiệt độ 200°C trong khoảng 20 tiếng nhằm loại bỏ hết các chất hữu cơ, chỉ còn lại các chất vô cơ để tiến hành định lượng Canxi trong mẫu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Atomic absorption spectrometry AAS).

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện:

- 02 Kỹ thuật viên/ nhân viên đã được đào tạo chuyên môn thành thạo kỹ thuật vô cơ hóa mẫu.
- 01 Cán bộ giám sát quy trình và các yêu cầu chất lượng.

2.2. Vật tư, hóa chất:

Trang phục bảo hộ

- Quần, áo bảo hộ y tế: 01 bộ/người;
- Mũ bảo hộ y tế: 02 cái/người;
- Khẩu trang y tế: 01 cái/người/ 1 ngày;
- Găng tay y tế: 02 đôi/người/ 1 ngày.
- Khẩu trang phòng độc 3M 7502: 2cái/ người/1ngày.
- Giày hoặc dép kín mũi: 01 đôi/ người.
- Kính bảo hộ: 01 cái/ người.

Vật tư tiêu hao

- Nilon sạch: 1 cái/ mẫu
- Tem nhãn: 2 tem/ mẫu;
- Thìa nhựa: 2 cái/ mẫu

Handwritten signatures

- Bút lông dầu (bút dạ) không xóa được: 1 cái/nghiên cứu viên;
- Bút bi: 1 cái/ nghiên cứu viên;
- Sổ ghi chép: 1 quyển/nghiên cứu viên.
- Lọ lưu mẫu phân (tên, tuổi, mã đối tượng, dung tích 100ml): 1 lọ;
- Dụng cụ vệ sinh: dung dịch Javen (Sodium Hypochlorite 5,25%), giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, túi đựng rác thải, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, sổ (giao nhận mẫu, quản lý hóa chất, hủy mẫu...), bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

Hóa chất

- Nitric acid (HNO_3), hãng Merck – Đức, độ tinh khiết $\geq 65\%$ hoặc tương đương: 30 ml/ 1 mẫu.
- Hydrogen peroxide (H_2O_2), hãng Merck, độ tinh khiết $\geq 32\%$ hoặc tương đương: 50ml/ 1 mẫu.
- Axit sunfuric (H_2SO_4), nồng độ 95-97%, hãng Merck, hoặc tương đương: 20 ml/1 mẫu.
- Axit perchloric (HClO_4), nồng độ 70-72%, hãng Merck, hoặc tương đương: 20 ml/1 mẫu.
- Khí acetylen, gồm acetylen 5kg và 10kg aceton, hãng Việt Nam, hoặc tương đương: 1 bình.
- Nước cất 2 lần: 50ml/ mẫu.
- Kali bicromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$): 1 g

2.3. Thiết bị

- Cân tiểu ly 500gram, có độ chính xác 0,01gram: 01 cái;
- Tủ đông bảo quản mẫu nhiệt độ -20°C : 01 cái;
- Bếp đun bình Kjeldahl (6 vị trí đun): 01 bộ
- Bình cầu Kjeldahl (6 vị trí đun) 500ml vô cơ hóa mẫu: 09 cái
- Cân phân tích: 01 cái
- Máy lắc Vortex hãng Velp, tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/ phút hoặc tương đương: 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu hãng Sanaky, hoặc tương đương, nhiệt độ -20°C hoặc tương đương: 01 cái
- Tủ hút khí độc: 01 cái
- Pipet bầu thủy tinh 10ml: 01 cái
- Cốc có mỏ 100ml: 01 cái
- Cốc có mỏ 500ml: 01 cái
- Bình định mức 25ml: 1 cái

- Đũa thủy tinh, dài 30cm, đường kính 7 mm: 01 cái
- Ống có mỏ, dung tích 500ml, có vạch chia: 01 cái
- Quả bóp: 01 quả
- Pipet 10ml: 1 cái

2.4. Chuẩn bị mẫu bệnh phẩm: Mẫu phân

- Lượng mẫu thử tối thiểu cho qui trình phân tích: 01 mẫu (10g)
- Lượng mẫu lưu: 01 mẫu, việc lưu mẫu thực hiện theo qui định lưu mẫu tại phòng thí nghiệm: 01 mẫu (10g)

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: Không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,8 giờ

Nhân viên tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung công việc	Tổng thời gian thực hiện (giờ)
01 nhân viên xử lý mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật vô cơ hóa mẫu	Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao vô cơ hóa mẫu	0,4
		Pha hóa chất	
		Chuẩn bị máy, hóa chất và dụng cụ phòng xét nghiệm	
		Vận chuyển mẫu và bàn giao mẫu	
01 nhân viên vô cơ hóa mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật vô cơ hóa mẫu	Vô cơ hóa mẫu phân	1,2
		Xử lý dụng cụ vô cơ mẫu	
		Vệ sinh khu vực nhận mẫu và phân loại rác thải y tế	
		Ghi chép biểu mẫu	
Cán bộ giám sát quy trình	Nắm rõ quy trình và các yêu cầu chất lượng	Giám sát việc tuân thủ quy trình	0,2
		Phát hiện những điều không phù hợp và đề xuất phương án giải quyết	
Tổng cộng			1,8

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Tại các khoa/phòng xét nghiệm có đầy đủ chức năng nhiệm vụ và năng lực thực hiện xét nghiệm này.

3. An toàn

An toàn cho người thực hiện và dự phòng nguy cơ trước, trong và sau phơi nhiễm

- Được đào tạo về kỹ thuật để hiểu và thực hành đúng về quy trình này
- Được đào tạo về an toàn sinh học và phòng cháy chữa cháy.
- Bảo hộ cá nhân: mang trang phục bảo hộ khi vào phòng xét nghiệm, thận trọng khi tiếp xúc với mẫu xét nghiệm và hóa chất.

Hiệu chuẩn vật tư, thiết bị: Trang thiết bị, dụng cụ: Bảo trì, bảo dưỡng, hiệu chuẩn định kỳ và thực hiện đúng quy trình vận hành thiết bị.

An toàn điện và phòng chống cháy nổ: Thực hiện theo quy định phòng chống cháy nổ của phòng xét nghiệm

An toàn hóa chất: Thực hiện đúng hướng dẫn sử dụng hóa chất.

An toàn sinh học: Phòng xét nghiệm thực hiện theo quy định an toàn sinh học

Kiểm soát môi trường và môi trường lao động:

- Theo dõi đánh giá các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn, hóa chất, dung môi, yếu tố tiếp xúc nghề nghiệp
- Thực hiện đúng các quy trình xử lý sự cố: Sự cố tràn đổ dung dịch có thể chứa tác nhân gây bệnh, sự cố tràn đổ hóa chất.
- Hộp thuốc cấp cứu đầy đủ và luôn được kiểm tra, thay thế.
- Xử lý và loại bỏ chất thải theo đúng quy trình.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Pha dung dịch sulfocromic: cân 50g Kali bicromate ($K_2Cr_2O_7$), hòa tan với 100 ml nước cất (pha trong cốc betxe 1000ml). Vì sinh nhiệt, nên để cốc betxe vào chậu thủy tinh có nước, cho 500ml H_2SO_4 98% vào và khuấy đều tới khi tan hoàn toàn.

4.1.2. Bước 2: Cân 1g mẫu phân đã đồng nhất vào bình Kjeldahl. Thêm 10 ml HNO_3 đậm đặc vào bình đựng mẫu, đặt lên bếp đun nóng.

4.1.3. Bước 3: Đun nhẹ liên tục sao cho dung dịch có chút bọt khí nổi lên cho đến khi có khói nâu, dung dịch đồng nhất có màu sẫm.

4.1.4. Bước 4: Thêm tiếp 10 ml HNO_3 , 2 ml H_2SO_4 , 2 ml $HClO_4$ vào bình đựng mẫu rồi đun nhẹ cẩn thận cho đến khi có khói trắng thoát ra thì để nguội ở nhiệt độ phòng. (Nếu dung dịch vẫn còn màu nâu sẫm, vẩn mờ và bọt chưa tan hết, tiếp tục thêm HNO_3 , H_2SO_4 , $HClO_4$ với tỷ lệ $HNO_3 : H_2SO_4 : HClO_4 = 5:1:1$)

4.1.5. Bước 5: Thêm từng phần nhỏ H_2O_2 (khoảng 1 ml mỗi lần, khoảng 5 – 10 lần), rồi tiếp tục đun đến khi hỗn hợp không màu, trong suốt, các vẩn mờ, bọt tan hết.

4.1.6. Bước 6: Đun cạn cho đến khi dung dịch trở lên trong suốt, thể tích chất lỏng còn khoảng 3-4ml, làm nguội ở nhiệt độ phòng (trong quá trình đun cạn, nếu dung dịch có trở lại màu nâu thì cho thêm 1ml H_2O_2 như trên) thì kết thúc quá trình vô cơ hóa.

4.1.7. Bước 7: Pha loãng mẫu sau khi vô cơ hóa và trước khi đi phân tích. Thể tích pha loãng là 25ml bằng HNO_3 (1%). Cách pha như sau:

- + Thêm 5 ml HNO_3 (1%), lắc đều toàn bộ dung dịch, lắc tan kết tủa (nếu không tan hết thì lọc nóng bằng giấy lọc xóp vào bình định mức 25ml, rửa bình và giấy lọc vài lần bằng nước cất).
- + Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 25 ml. Tráng bình Kjeldahl 2 lần, mỗi lần 3-4ml HNO_3 (1%), thêm HNO_3 1% vào vừa đủ bình định mức 25 ml.

4.1.8. Bước 8: Sau khi quá trình phân hủy hoàn tất, dung dịch được làm nguội về nhiệt độ phòng, và cho vào lọ nhựa có dán thông tin theo biểu mẫu tại Phụ lục 1

Chú ý: Trong quá trình vô cơ mẫu cần phải tránh bị nhiễm KLN vào trong mẫu để kết quả phân tích tin cậy và có chất lượng. Các dụng cụ thủy tinh được rửa 2 lần bằng xà phòng, sau đó ngâm qua đêm trong HNO_3 10%. Sau đó, dụng cụ được tráng bằng dung dịch Sunphocromic sau đó tráng lại bằng nước cất hoặc nước khử ion trước khi sử dụng để đảm bảo không bị nhiễm KLN vào dụng cụ.

4.2. Nhận định kết quả

Thông qua cảm quan, dung dịch phải đạt yêu cầu: dung dịch phải trong suốt, còn khoảng 3ml thì kết thúc quá trình vô cơ hóa.

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ

Các thông tin về mẫu được thu thập được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trục trặc kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được trong 4 giờ	Thông báo cho hãng cung cấp về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường, tiến hành phân tích mẫu theo quy trình ở trên
2	Tràn đổ bệnh phẩm, hóa chất	Xử trí Theo Sổ tay An toàn Sinh học - Mã số NIN.STAT
3	Quá trình đun nóng mẫu bị bông lên	Cho chất chống trào.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.
- Quá trình vô cơ hóa cần đảm bảo rằng tất cả các chất hữu cơ đã bị phân hủy hoàn toàn, và chỉ còn lại khoáng chất vô cơ. Một số dấu hiệu cho thấy quá trình vô cơ hóa chưa hoàn tất:
 - + Mẫu vẫn còn màu đen hoặc nâu (có thể các hợp chất hữu cơ chưa bị cháy hết).
 - + Mẫu vẫn còn mùi đặc trưng của hợp chất hữu cơ (mùi cháy hoặc mùi carbon).

+ Lọc mẫu để loại bỏ các tạp chất không tan hoặc không phản ứng với axit (kiểm tra xem còn cặn hay không).

7. Tài liệu tham khảo

- Fisher, M.T., et al., *A method for performing a calcium balance study in man and the interpretation of results*. Clin Chim Acta, 1976. 70(2): p. 297-311.
- Sổ tay An toàn sinh học của phòng xét nghiệm.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 40:

Phụ lục 1: PHIẾU THEO DÕI QUÁ TRÌNH VÔ CƠ MẪU PHÂN

Người thực hiện:

Thời gian thực hiện:.....

Địa điểm:.....

STT	Tên đối tượng	Mã đối tượng	Trọng lượng mẫu phân trước vô cơ hóa (g)	Trọng lượng mẫu phân trước vô cơ hóa (g)

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 41:

**VÔ CƠ HÓA MẪU NƯỚC TIỂU ĐỂ ĐỊNH LƯỢNG CANXI BẰNG PHƯƠNG
PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ**

1. ĐẠI CƯƠNG

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn phương pháp vô cơ hóa mẫu nước tiểu trong nghiên cứu xác định nhu cầu canxi để phân tích hàm lượng canxi.

1.2. Định nghĩa

Vô cơ hóa canxi trong nước tiểu là quá trình mà canxi trong nước tiểu được chuyển đổi thành các dạng muối canxi vô cơ, thường là **canxi oxalat** hoặc **canxi phosphate**

Thuật ngữ viết tắt

- AAS (Atomic absorption spectrometry).

1.3. Nguyên lý

Mẫu nước tiểu được vô cơ hóa bằng hỗn hợp acid HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 và H_2O_2 trong bình Kjeldahl, đun ở nhiệt độ 200°C trong khoảng 20 tiếng nhằm loại bỏ hết các chất hữu cơ, chỉ còn lại các chất vô cơ để tiến hành định lượng Canxi trong mẫu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Atomic absorption spectrometry AAS).

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xử lý mẫu	1	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật xử lý mẫu
2	Nhân viên vô cơ hóa mẫu	1	Đã được đào tạo kỹ thuật vô cơ hóa mẫu, vận hành tốt quy trình kỹ thuật, an toàn sinh học phòng thí nghiệm
3	Người phê duyệt kết quả	1	Nắm rõ quy trình kỹ thuật và các yêu cầu đảm bảo chất lượng xét nghiệm, có khả năng biện luận và nhận định kết quả, phát hiện những điểm không phù hợp và đề xuất cải tiến

2.2. Vật tư, hóa chất

Trang phục bảo hộ

- Khẩu trang phòng độc 3M 7502: 3 cái;
- Giày hoặc dép kín mũi: 1 đôi;

- Kính bảo hộ: 1 cái;
- Quần, áo bảo hộ y tế: 1 bộ;
- Mũ bảo hộ y tế (1 lần): 1 cái;
- Găng tay y tế: 4 đôi;

Vật tư tiêu hao

- Lọ lưu mẫu phân (tên, tuổi, mã đối tượng, dung tích 100ml): 2 lọ;
- Tem nhãn: 30 cái;
- Dung dịch xà phòng rửa tay: 5mL;
- Giấy A4 (Phiếu theo dõi): 3 tờ;
- Bút bi: 1 cái;
- Bút ghi nhãn: 1 cái;
- Túi đựng rác: 2 cái;
- Dung dịch Javen (Sodium Hypochlorite 5,25%): 10 mL;
- Dung dịch rửa dụng cụ: 10 mL;
- Găng tay rửa dụng cụ: 1 đôi;
- Cặp lưu tài liệu: 1 cái;
- Sổ ghi chép: 1 quyển;
- Văn phòng phẩm khác (Dập ghim, lõi ghim túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note;
- Mực in: 1 hộp.

Hóa chất

- Nitric acid (HNO_3), Merck – Đức, độ tinh khiết $\geq 65\%$ hoặc tương đương: 30 ml/ 1 mẫu.
- Hydrogen peroxide (H_2O_2), Merck, độ tinh khiết $\geq 32\%$ hoặc tương đương: 50ml/ 1 mẫu.
- Axit sunfuric (H_2SO_4), nồng độ 95-97%, Merck, hoặc tương đương: 20 ml/1 mẫu.
- Axit perchloric (HClO_4), nồng độ 70-72%, Merck, hoặc tương đương: 20 ml/1 mẫu.
- Khí acetylen, gồm acetylen 5kg và 10kg aceton, Việt Nam, hoặc tương đương: 1 bình.
- Nước cất 2 lần: 50ml/ mẫu.
- Kali bicromate ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$): 1 g

2.3. Thiết bị

- Cân tiểu ly 500gram, có độ chính xác 0,01gram: 01 cái;
- Tủ đông bảo quản mẫu nhiệt độ -20°C : 01 cái;

- Bếp đun bình Kjeldahl (6 vị trí đun): 01 bộ
- Bình cầu Kjeldahl (6 vị trí đun) 500ml vô cơ hóa mẫu: 09 cái
- Cân phân tích: 01 cái
- Máy lắc Vortex hãng Velp, tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/ phút hoặc tương đương: 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu hãng Sanaky, hoặc tương đương, nhiệt độ -20oC hoặc tương đương: 01 cái
- Tủ hút khí độc: 01 cái
- Pipet bầu thủy tinh 10ml: 01 cái
- Cốc có mỏ 100ml: 01 cái
- Cốc có mỏ 500ml: 01 cái
- Bình định mức 25ml: 1 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30cm, đường kính 7 mm: 01 cái
- Ống có mỏ, dung tích 500ml, có vạch chia: 01 cái
- Quả bóp: 01 quả
- Pipet 10ml: 1 cái

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm: Mẫu nước tiểu

- Lượng mẫu thử tối thiểu cho Quy trình phân tích: 01 mẫu (50ml)
- Lượng mẫu lưu: 01 mẫu, việc lưu mẫu thực hiện theo Quy định lưu mẫu tại phòng thí nghiệm: 01 mẫu (50ml)

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: Không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 1,8 giờ

Nhân viên tham gia	Yêu cầu năng lực	Nội dung công việc	Tổng thời gian thực hiện (giờ)
Nhân viên xử lý mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật xử lý mẫu	Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao vô cơ hóa mẫu	0,4
		Pha hóa chất	
		Chuẩn bị máy, hóa chất và dụng cụ phòng xét nghiệm	
01 nhân viên vô		Vô cơ hóa mẫu nước tiểu	1,2
		Xử lý dụng cụ vô cơ mẫu	

Handwritten signatures:

Cơ hóa mẫu	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật vô cơ hóa mẫu	Vệ sinh khu vực xử lý mẫu và phân loại rác thải y tế	
		Ghi chép biểu mẫu	
Người phê duyệt kết quả	Nắm rõ quy trình và các yêu cầu chất lượng	Giám sát việc tuân thủ quy trình	0,2
		Nhận định kết quả vô cơ hóa mẫu	
		Phát hiện những điều không phù hợp và đề xuất phương án giải quyết	
Tổng cộng			1,8

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại các khoa/phòng xét nghiệm có đầy đủ chức năng nhiệm vụ thực hiện xét nghiệm này.

3. An toàn

An toàn cho người thực hiện và dự phòng nguy cơ trước, trong và sau phơi nhiễm

- Được đào tạo về kỹ thuật để hiểu và thực hành đúng về quy trình này
- Được đào tạo về an toàn sinh học và phòng cháy chữa cháy.
- Bảo hộ cá nhân: mang trang phục bảo hộ khi vào phòng xét nghiệm, thận trọng khi tiếp xúc với mẫu xét nghiệm và hóa chất.

Hiệu chuẩn vật tư, thiết bị: Trang thiết bị, dụng cụ: Bảo trì, bảo dưỡng, hiệu chuẩn định kỳ và thực hiện đúng quy trình vận hành thiết bị.

An toàn điện và phòng chống cháy nổ: Thực hiện theo quy định phòng chống cháy nổ của phòng xét nghiệm

An toàn hóa chất: Thực hiện đúng hướng dẫn sử dụng hóa chất.

An toàn sinh học: Phòng xét nghiệm thực hiện theo quy định an toàn sinh học

Kiểm soát môi trường và môi trường lao động:

- Theo dõi đánh giá các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn, hóa chất, dung môi, yếu tố tiếp xúc nghề nghiệp
- Thực hiện đúng các quy trình xử lý sự cố: Sự cố tràn đổ dung dịch có thể chứa tác nhân gây bệnh, sự cố tràn đổ hóa chất.
- Hộp thuốc cấp cứu đầy đủ và luôn được kiểm tra, thay thế.
- Xử lý và loại bỏ chất thải theo đúng quy trình.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Xử lý mẫu

- Chuẩn bị dụng cụ, rà soát thông tin mã, đối chiếu với biểu mẫu theo dõi (Phụ lục 1).
- Chuẩn bị vật tư tiêu hao và máy móc, thiết bị vô cơ hóa mẫu.

- Pha dung dịch sulfocromic: cân 50g Kali bicromate ($K_2Cr_2O_7$), hòa tan với 100 ml nước cất (pha trong cốc betxe 1000ml). Vì sinh nhiệt, nên để cốc betxe vào chậu thủy tinh có nước, cho 500ml H_2SO_4 98% vào và khuấy đều tới khi tan hoàn toàn.

4.1.2. Bước 2: Vô cơ hóa mẫu

- Cho 2ml nước tiểu vào bình cầu chuyên dụng để xử lý mẫu, cho 5 ml HNO_3 đậm đặc vào, đặt lên bếp đun nóng.

- Đun nhẹ liên tục sao cho dung dịch có chút bọt khí nổi lên cho đến khi có khói nâu, dung dịch đồng nhất có màu sẫm.

- Thêm 5 ml HNO_3 ; 0,5 ml H_2SO_4 ; 0,5 ml $HClO_4$, rồi đun nhẹ cẩn thận cho đến khi có khói trắng thoát ra, làm nguội. (Nếu dung dịch vẫn còn màu nâu sẫm, vàng mỡ và bọt chưa tan hết, tiếp tục cho HNO_3 , H_2SO_4 , $HClO_4$ với tỷ lệ $HNO_3 : H_2SO_4 : HClO_4 = 10:1:1$)

- Thêm từng phần nhỏ H_2O_2 (khoảng 1 ml mỗi lần, khoảng 5 – 10 lần), rồi tiếp tục đun đến khi hỗn hợp không màu, trong suốt, các vẩn mỡ, bọt tan hết.

- Đun cạn cho đến khi dung dịch trở lên trong suốt, thể tích chất lỏng còn khoảng 3-4ml, làm nguội ở nhiệt độ phòng (trong quá trình đun cạn, nếu dung dịch có trở lại màu nâu thì cho thêm 1ml H_2O_2 như trên) thì kết thúc quá trình vô cơ hóa.

- Pha loãng mẫu sau khi vô cơ hóa và trước khi đi phân tích. Thể tích pha loãng là 25ml bằng HNO_3 (1%). Cách pha như sau:

+ Thêm 5 ml HNO_3 (1%), lắc đều toàn bộ dung dịch, lắc tan kết tủa (nếu không tan hết thì lọc nóng bằng giấy lọc xốp vào bình định mức 25ml, rửa bình và giấy lọc vài lần bằng nước cất).

+ Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 25 ml. Tráng bình Kjeldahl 2 lần, mỗi lần 3-4ml HNO_3 (1%), thêm HNO_3 1% vào vừa đủ bình định mức 25 ml.

- Dung dịch để nguội về nhiệt độ phòng, đưa vào lọ nhựa dán thông tin theo biểu mẫu tại Phụ lục 1.

- Xử lý dụng cụ vô cơ mẫu.

- Vệ sinh khu vực xử lý mẫu và phân loại rác thải y tế.

- Ghi chép biểu mẫu.

4.1.3. Bước 3: Xét duyệt kết quả

- Giám sát việc tuân thủ quy trình.

- Nhận định kết quả vô cơ hóa mẫu.

- Phát hiện những điều không phù hợp và đề xuất phương án giải quyết.

Chú ý: Trong quá trình vô cơ mẫu cần phải tránh bị nhiễm KLN vào trong mẫu để kết quả phân tích tin cậy và có chất lượng. Các dụng cụ thủy tinh được rửa 2 lần bằng xà phòng, sau đó ngâm qua đêm trong HNO_3 10%. Sau đó, dụng cụ được tráng bằng dung dịch Sunphocromic sau đó tráng lại bằng nước cất hoặc nước khử ion trước khi sử dụng để đảm bảo không bị nhiễm KLN vào dụng cụ.

4.2. Nhận định kết quả

Thông qua cảm quan, dung dịch phải đạt yêu cầu: dung dịch phải trong suốt, còn khoảng 3ml thì kết thúc quá trình vô cơ hóa.

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ

Các thông tin về mẫu được thu thập được lưu giữ tại đơn vị thực hiện kỹ thuật theo quy định của đơn vị.

5. Những sai sót và xử trí

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trục trặc kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được trong 4 giờ	Thông báo cho hãng cung cấp về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường, tiến hành phân tích mẫu theo quy trình ở trên
2	Tràn đổ bệnh phẩm, hóa chất	Xử trí Theo Sổ tay An toàn Sinh học - Mã số NIN.STAT
3	Quá trình đun nóng mẫu bị bùng lên	Cho chất chống trào.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quy trình này không áp dụng nội kiểm, ngoại kiểm và kiểm tra chéo để đánh giá và kiểm tra chất lượng.

- Quá trình vô cơ hóa cần đảm bảo rằng tất cả các chất hữu cơ đã bị phân hủy hoàn toàn, và chỉ còn lại khoáng chất vô cơ. Một số dấu hiệu cho thấy quá trình vô cơ hóa chưa hoàn tất:

- Mẫu vẫn còn màu đen hoặc nâu (có thể các hợp chất hữu cơ chưa bị cháy hết).
- Mẫu vẫn còn mùi đặc trưng của hợp chất hữu cơ (mùi cháy hoặc mùi carbon).
- Lọc mẫu để loại bỏ các tạp chất không tan hoặc không phản ứng với axit (kiểm tra xem còn cặn hay không).

7. Tài liệu tham khảo

- Quyết định số 43/2007/QĐ-BYT ngày 30 tháng 11 năm 2007 về việc ban hành Quy chế Quản lý chất thải y tế của Bộ Y tế.
- Thông tư số 25/2012/TT-BYT ngày 29 tháng 11 năm 2012 về việc “Ban hành Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về thực hành và an toàn sinh học tại phòng xét nghiệm của Bộ Y tế”.
- WHO (2022), “Cẩm nang An toàn sinh học phòng thí nghiệm”, tái bản lần thứ 4.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 41:

Phụ lục 1: PHIẾU THEO DÕI QUÁ TRÌNH VÔ CƠ MẪU NƯỚC TIỂU

Người thực hiện:.....

Thời gian thực hiện:.....

Địa điểm:.....

STT	Tên đối tượng	Mã đối tượng	Trọng lượng mẫu nước tiểu trước vô cơ hóa (g)	Trọng lượng mẫu nước tiểu trước vô cơ hóa (g)

Handwritten signatures:

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 42:

**XÁC ĐỊNH ĐỘC TỔ TTX CỦA CÁ NÓC BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỬ
NGHIỆM SINH HỌC TRÊN CHUỘT**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này mô tả các bước tiến hành thực hiện kỹ thuật xác định độc tố TTX của cá nóc bằng phương pháp thử nghiệm sinh học trên chuột tại phòng thí nghiệm.

1.2. Định nghĩa:

- TTXs là một trong những chất độc thần kinh mạnh nhất mà con người biết đến từ trước đến nay. Nó độc gấp 1200 lần so với xyanua, và cho đến nay chưa có thuốc nào giải độc được. TTX có công thức phân tử $C_{11}H_{17}N_3O_8$.

- MU: đơn vị chuột - tiêu chuẩn đo lường chất độc Mouse Unit

- 1 MU là liều lượng độc tố có thể gây tử vong cho chuột 20 g trong 30 phút, tương đương với 0,22 μ g tetrodotoxin.

1.3. Nguyên lý:

Tiêm 1ml dung dịch kiểm nghiệm vào màng bụng của chuột và tính thời gian bằng giây cho đến khi chuột biểu hiện các triệu chứng điển hình do nhiễm độc TTXs. Xác định thời gian chết của chuột tính từ thời điểm tiêm đến khi xuất hiện triệu chứng nhiễm độc của chuột. Ước tính hàm lượng độc tố TTXs trong mẫu kiểm nghiệm dựa vào tương quan tuyến tính với thời gian chết của chuột. Hàm lượng TTXs được đo bằng MU/ml (MU - Đơn vị chuột: một lượng độc hại khiến chuột nặng 20g chết trong 30 phút được gọi là 1 MU).

2. Chuẩn bị:

2.1 Người thực hiện:

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên nuôi chuột, tách chiết cá nóc, tiêm chuột	2	Đã được đào tạo chuyên môn, kỹ thuật nuôi chuột, tách chiết cá nóc, tiêm chuột tách chiết cá nóc, tiêm chuột
2	Nhân viên xử lý mẫu và phân tích mẫu, theo dõi chuột sau tiêm	2	Đã được đào tạo để thực hiện tốt quy trình kỹ thuật, an toàn sinh học phòng thí nghiệm
3	Người phê duyệt kết quả	1	Nắm rõ quy trình kỹ thuật và các yêu cầu đảm bảo chất lượng xét nghiệm, có khả năng biện luận và nhận định kết quả, phát hiện những điểm không phù hợp và đề xuất cải tiến

2.2. Vật tư:

- Quần, áo bảo hộ y tế: 01 bộ/ người
- Mũ bảo hộ y tế: 01 cái/người
- Khẩu trang y tế: 01 cái/người
- Giấy hoặc dép kín mũi: 01 đôi/người
- Găng tay y tế: 01 đôi/người
- Kính mắt thí nghiệm: 01 cái/ người
- Bơm kim tiêm sử dụng 1 lần (1 mL): 01 cái/lần
- Cồn 70 %: 01 mL
- Hộp đựng rác thải y tế (vật sắc nhọn): 01 hộp
- Thùng đựng rác: 02 cái
- Túi đựng rác thải y tế: 01 cái (màu vàng kích thước 45 x 50 cm).
- Túi đựng rác sinh hoạt: 01 cái (màu xanh kích thước 45 x 50 cm)
- Bình định mức 500 ml: 01 cái
- Bình định mức 1000 ml: 01 cái
- Cốc thủy tinh chịu nhiệt 250 ml: 03 cái
- Giá để mẫu thí nghiệm: 02 cái
- Giấy lọc mẫu thí nghiệm: 01 hộp
- Phễu thủy tinh: 02 cái
- Đũa thủy tinh: 01 cái
- Ống lưu mẫu - eppendorf (50 mL): 03 ống
- Đầu côn (típ) thể tích 1000 μ l: 01 cái;
- Đầu côn (típ) thể tích 200 μ l: 01 cái;
- Bút ghi nhãn: 01 cái (bút dạ không phai).
- Bút bi: 01 cái.
- Khăn giấy khô để lau dọn: 02 tờ.
- Khăn vải: 1 cái.
- Dung dịch sát khuẩn tay: 01 lọ.
- Dung dịch xà phòng rửa tay: 1 chai.
- Dung dịch Javen (Sodium Hypochlorite 5,25%): 01 chai.
- Dung dịch rửa dụng cụ: 1 chai.
- Găng tay rửa dụng: 01 đôi.
- Giấy A4 (phiếu theo dõi chuột sau thí nghiệm): 5 tờ
- Sổ A4 (theo dõi nhiệt độ phòng thí nghiệm, theo dõi nuôi chuột...): 03 quyển.
- Cặp lưu tài liệu: 01 cái

- Văn phòng phẩm (dập ghim, lõi ghim...) : 01 cái

- Mực in: 1 hộp

Hóa chất: axit CH_3COOH 0,1%.

2.3. Thiết bị

2.3.1. Trang thiết bị tại phòng thí nghiệm động vật

- Lồng có nắp và bình nước nuôi chuột: 5 con chuột/lồng

- Ống trụ cắm panh: 02 cái

- Panh y tế không máu: 02 cái

- Khay inox: 02 cái

- Bàn giải phẫu mổ cá, chuột: 01 cái

- Dao phẫu thuật: 02 cái

- Kéo phẫu thuật: 02 cái

- Cân trọng lượng (độ chính xác 0,01g): 01 cái

- Đồng hồ bấm giây: 01 cái

- Nhíp y tế: 02 cái

2.3.2. Trang thiết bị phục vụ thí nghiệm

- Máy trộn Roller mixer : 01 cái

- Tủ mát (PHCBI hoặc tương đương) – đặt nhiệt độ ở 2°C đến 8°C : 01 cái;

- Tủ âm (Aucma hoặc tương đương) có nhiệt độ dưới -20°C , thể tích tối thiểu 150 lít: 01 cái

- Cối xay: 01 cái

- Bếp từ: 01 cái

- Nồi: 01 cái

- Micropipet 200-1000 μL (bán tự động): 01 cái

- Micropipet 20-200 μL (bán tự động): 01 cái

2.4. Chuẩn bị mẫu

- Cá nóc được đánh bắt tại vùng biển Việt Nam (bảo quản $< -20^{\circ}\text{C}$)

- Mổ tách mẫu da cá, thịt cá (tránh làm vỡ nội tạng của cá để không nhiễm sang phần thịt và da): 10g/mẫu

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm: không áp dụng

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 136 giờ

Nhân viên tham gia	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)
--------------------	--------------------	---------------------------

Nhân viên nuôi chuột, tách chiết cá nóc, tiêm chuột	Nhân viên nuôi chuột thí nghiệm, Chuẩn bị dụng cụ, vật tư tiêu hao xử lý mẫu cá, đối chiếu thông tin mẫu cá, Thực hiện mổ cá lấy da và thịt, Vệ sinh khu vực xử lý mẫu và phân loại rác thải y tế, Xử lý dụng cụ lấy mẫu cá, Bảo quản, lưu mẫu và hủy mẫu, Tiêm chuột, Ghi chép biểu mẫu	124
Nhân viên xử lý mẫu và phân tích mẫu, theo dõi chuột sau tiêm	Nhân viên chuẩn bị máy và dụng cụ phòng xét nghiệm, Theo dõi điều kiện môi trường phòng xét nghiệm, Chuẩn bị hóa chất, Pha chất chuẩn ra các nồng độ, Pha axit CH_3COOH , Ghi chép biểu mẫu (điều kiện môi trường, ...)	8
Người phê duyệt kết quả	Giám sát việc tuân thủ quy trình thí nghiệm, Chỉ đạo giải quyết các sự cố phát sinh trong thí nghiệm, Xem xét kết quả thí nghiệm, biện luận và diễn giải kết quả	4
	Tổng thời gian:	136

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

- Tại các khoa/phòng thí nghiệm có đầy đủ chức năng nhiệm vụ và năng lực thực hiện thí nghiệm này.

3. An toàn:

An toàn cho người thực hiện và dự phòng nguy cơ trước, trong và sau phơi nhiễm

- Được đào tạo về chuyên môn: hiểu và thực hành đúng về quy trình này.
- Được đào tạo, tập huấn về an toàn sinh học và phòng cháy chữa cháy.
- Bảo hộ cá nhân: mang trang phục bảo hộ khi thực hiện quy trình lấy mẫu, vào phòng xét nghiệm, thận trọng khi tiếp xúc với mẫu bệnh phẩm.

Hiệu chuẩn vật tư, thiết bị: Trang thiết bị, dụng cụ: Bảo trì, bảo dưỡng, hiệu chuẩn định kỳ và thực hiện đúng quy trình vận hành thiết bị.

An toàn điện và phòng chống cháy nổ: Thực hiện theo quy định phòng chống cháy nổ của phòng xét nghiệm

An toàn hóa chất: Thực hiện đúng hướng dẫn sử dụng hóa chất.

An toàn sinh học: Phòng xét nghiệm thực hiện theo quy định an toàn sinh học.

Kiểm soát môi trường và môi trường lao động:

- Theo dõi đánh giá các yếu tố vi khí hậu như nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, tiếng ồn, hóa chất, dung môi, yếu tố tiếp xúc nghề nghiệp

- Thực hiện đúng các quy trình xử lý sự cố: Sự cố tràn đổ dung dịch có thể chứa tác nhân gây bệnh, sự cố tràn đổ hóa chất.

Được *mm*

- Hộp thuốc cấp cứu đầy đủ và luôn được kiểm tra, thay thế.
- Xử lý và loại bỏ chất thải theo đúng quy trình.

4. Các bước tiến hành:

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Nuôi động vật thí nghiệm

*** Điều kiện phòng nuôi động vật thí nghiệm**

- Tiêu chuẩn môi trường nuôi được kiểm soát:

+ Nhiệt độ: $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

+ Độ ẩm: $55 \pm 10\%$

+ Chu kỳ chiếu sáng: 12 giờ sáng/ 12 giờ tối

+ Độ ồn $< 60\text{dB}$

*** Nuôi động vật thí nghiệm**

- Nuôi chuột trong các lồng có nắp (có bình nước và trấu).
- Chuột được uống nước tự do (nước cất) theo nhu cầu (khoảng 3-5ml/ngày/chuột), ăn thức ăn chuẩn với lượng thức ăn theo nhu cầu của chuột (khoảng 60g/ngày/chuột). Chế độ ăn bình thường của chuột nhất trong một ngày gồm: 28,05 % protein, 12,14% chất béo no, 59,81% carbohydrat, năng lượng 67,5 kcal/ngày.

- Chuột đủ điều kiện để sử dụng cho thử nghiệm độc tính: Trọng lượng chuột khi vào nghiên cứu 20 ± 1 (g), khỏe mạnh, ăn uống tốt.

4.1.2. Bước 2: Nghiền mẫu và Tách chiết mẫu cá

- Tên loài cá nóc phải được các chuyên gia lĩnh vực nông nghiệp xác nhận bằng văn bản.

- Tách các bộ phận thịt cá, da, gan, bộ phận sinh dục, tuyến tiêu hóa của con cá nóc để tiến hành kiểm nghiệm độc tố (sử dụng dao hoặc kéo phẫu thuật). Nếu cá nóc bị đông lạnh, bọc cá trong một màng nhựa để tránh tiếp xúc trực tiếp với nước và rửa đông nhanh chóng dưới vòi nước chảy. Không rửa đông hoàn toàn trước khi lấy mẫu (các bộ phận hoặc mô) vì độc tố có thể chuyển từ mô đến các bộ phận khác của cơ thể (ví dụ, từ da có độc tính cao đến cơ không độc).

- Với mỗi bộ phận, cắt mẫu thành từng miếng bằng kéo sao cho đủ 10g và nghiền mẫu bằng cối xay, xay thật nhuyễn để đồng nhất hóa.

- Cho 10g mẫu đã nghiền và 25 mL dung dịch axit axetic 0,1% vào cốc và ngâm trong nồi cách thủy để đun sôi trong 10 phút (khuấy đều chứa bên trong cốc 2 phút/1 lần).

- Làm nguội dịch đồng nhất và lọc dưới áp suất thấp.

- Rửa phần mẫu còn lại sau khi lọc nhiều lần bằng dung dịch axit axetic 0,1%, ly tâm và tạo ra dung dịch 50 mL dịch chiết thô (bao gồm cả dịch chiết xuất và dịch rửa). Mỗi ml dịch chiết thô này đại diện cho 0,2 g mẫu. Dịch chiết xuất thô được sử dụng ngay lập tức để thử nghiệm hoặc được niêm phong trong dụng cụ chứa polyethylene để bảo quản ở -20°C hoặc thấp hơn.

- Riêng đối với da cá: có thể được nghiền bằng một máy làm đồng nhất thay vì cối xay. Vì rất khó để lấy chiết xuất từ da bằng cách lọc, nên KTV sẽ làm nguội các chất đồng nhất sau khi đun nóng và chuyển sang ống ly tâm để chiết xuất bằng cách ly tâm trước khi lọc. Sau khi lọc được dịch lọc lần 1 thì tiếp tục rửa phần còn lại trên giấy lọc nhiều lần bằng dung dịch axit axetic 0,1%, ly tâm lần nữa và tạo ra dung dịch 50 mL dịch chiết thô (bao gồm cả dịch chiết xuất và dịch rửa).

- Không làm nhiễm bẩn dịch chiết với các chất gelatin và lipid trong hỗn hợp đồng nhất trước khi tách. Nếu mô có khối lượng <10g thì điều chỉnh lượng dịch chiết theo phương pháp trên.

4.1.3. Bước 3: Tiêm chuột tiêm dịch chiết vào phúc mạc hoặc dưới da con chuột

- Tiêm dung dịch kiểm nghiệm cho chuột và theo dõi:

+ Tiêm 1ml dung dịch kiểm nghiệm vào màng bụng chuột

+ Sau đó theo dõi chuột chuyển động trong vòng 60 phút. Ghi nhận các triệu chứng của từng con chuột.

Triệu chứng nhiễm độc TTXs: Một con chuột bị tiêm chất độc sẽ ngừng di chuyển một lúc và sau đó bắt đầu chạy. Sau đó, nó sẽ mất thăng bằng dần dần, tiếp theo là nhảy và xoay người nhanh chóng, co thắt dữ dội ở các chi và bụng, thờ hờn hờn dữ dội, thờ hờn hờn nông (với khoảng thời gian tăng dần) và tử vong. Chuột được xác định là chết khi ngừng thờ, nằm im và mất đổi màu nhạt. Thời gian chết của chuột được tính bằng đồng hồ bấm giây. Thời gian tử vong của chuột được tính bằng thời gian chết trung vị của 5 con chuột.

*** So với tham chiếu của Nhật:**

- So sánh đối chiếu thời gian chết của chuột tại Bảng 1 (Bảng chuyển đổi tham chiếu của Nhật, với giống chuột ddY, biểu thị mối liên quan giữa độc lượng TTX với thời gian chết ở chuột) để xác định mức độc lượng TTX.

Bảng 1. Mối liên quan giữa độc lượng TTX với thời gian chết ở chuột [1]

(Bảng chuyển đổi tham chiếu của Nhật)

Thời gian chết (phút: giây)	Độc lượng (MU)	Thời gian chết (phút: giây)	Độc lượng (MU)	Thời gian chết (phút: giây)	Độc lượng (MU)
4 : 00	5.62	40	2.53	13 : 00	1.42
05	5.40	50	2.46	15	1.40
10	5.19	7 : 00	2.39	30	1.38
15	5.00	10	2.33	45	1.36
20	4.82	20	2.27	14 : 00	1.34
25	4.66	30	2.22	30	1.33
30	4.50	40	2.17	15 : 00	1.30
35	4.36	50	2.12	30	1.28
40	4.23	8 : 00	1.08	16 : 00	1.26

45	4.10	15	2.01	30	1.24
50	3.99	30	1.96	17 : 00	1.23
55	3.88	45	1.91	30	1.21
5 : 00	3.77	9 : 00	1.86	18 : 00	1.19
05	3.68	15	1.81	30	1.18
10	3.58	30	1.77	19 : 00	1.17
15	3.50	45	1.74	30	1.15
20	3.42	10 : 00	1.70	20 : 00	1.14
25	3.34	15	1.67	30	1.13
30	3.26	30	1.64	21 : 00	1.12
35	3.19	45	1.61	30	1.11
40	3.13	11 : 00	1.58	22 : 00	1.10
45	3.07	15	1.56	30	1.09
50	3.01	30	1.53	23 : 00	1.08
55	2.95	45	1.51	30	1.08
6 : 00	2.89	12 : 00	1.49	24 : 00	1.07
10	2.79	15	1.47	30	1.06
20	2.70	30	1.45	25 : 00	1.05
30	2.61	45	1.43		

4.2. Nhận định kết quả

4.2.1. Tính kết quả

- Lấy giá trị thời gian chết của chuột trong bảng tham chiếu của Nhật (Bảng 1: Mối liên quan giữa độc lượng TTX với thời gian chết ở chuột) làm chuẩn.

4.2.2. Giới hạn tham chiếu

- Theo bảng tham chiếu của Nhật (Bảng 1: Mối liên quan giữa độc lượng TTX với thời gian chết ở chuột).

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Hồ sơ kết quả thử nghiệm được lưu theo quy định của phòng thí nghiệm.

5. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ:

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa đầy đủ hóa chất, vật tư	Không được thực hiện thí nghiệm cho đến khi chuẩn bị đầy đủ hóa chất, vật tư, hóa chất theo quy trình.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật:

STT	Tình huống	Xử lý
1	Sự cố tràn đổ dung dịch có thể chứa tác nhân gây bệnh, sự cố tràn đổ hóa chất.	Theo Sổ tay An toàn Sinh học của phòng xét nghiệm
2	Bị dao, kéo y tế cắt phải tay	Thực hiện sơ cứu và đưa ngay đến bệnh viện gần nhất (nếu cần)
3	Bị kim tiêm chứa độc tố TTX đâm vào tay	Thực hiện quy trình sơ cứu và đưa ngay đến bệnh viện gần nhất

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật: không có**6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng**

- Vật tư khô, sạch, đạt yêu cầu.
- Điều kiện môi trường được kiểm soát (01 lần/ngày)
- Nhân viên được đào tạo chuyên môn để thực hiện đúng quy trình.
- Kết quả được người có thẩm quyền xem xét, phê duyệt và ban hành.
- Kiểm soát sao lưu và bảo mật thông tin.

7. Tài liệu tham khảo

- Risk profile of natural poison: Fish: Puffer fish poison | Ministry of Health, Labor and Welfare. https://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/poison/animal_01.html. Accessed 14 Sep 2018
- Yotsu-Yamashita M (2001) Chemistry of Puffer Fish Toxin. J Toxicol Toxin Rev 20:51–66
- Quyết định số 5152/ QĐ- BYT ngày 12/12/2014 của Bộ Y tế về việc ban hành hướng dẫn chẩn đoán và điều trị rắn lục xanh đuôi đỏ cắn.
- Hodaka Suzuki (2016), “Differences in susceptibility of mouse strains to tetrodotoxin” Toxicon 119 168 – 170.



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 43:
XÉT NGHIỆM MỘT ĐOẠN GEN BẰNG PHẢN ỨNG CHUỖI POLYMERASE (PCR)

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này mô tả cách nhân một đoạn gen bằng chuỗi phản ứng Polymerase (PCR).

1.2. Định nghĩa

Thuật ngữ PCR chỉ một phản ứng nhân bản ADN dựa trên các chu kỳ nhiệt. Phản ứng diễn ra trong một ống nghiệm nhỏ chứa dung dịch phản ứng (gọi là PCR mix). Trong PCR mix sẽ chứa các thành phần:

1) Polymerase chịu nhiệt (Taq polymerase), enzyme này có nhiệt độ hoạt động tối ưu ở 72 °C.

2) 4 loại nucleotide (dNTP) gồm: dATP/dTTP/dGTP/dCTP là nguyên liệu để tổng hợp ra các bản sao ADN.

3) ADN chứa trình tự mục tiêu (Template): Thông thường trong xét nghiệm thì đây là DNA thu nhận từ mẫu cần xét nghiệm.

4) Cặp mồi đặc hiệu (Primer): Đây là các đoạn oligo-nucleotide dài khoảng 20 nucleotide và bắt cặp bổ sung đặc hiệu cho 2 đầu trình tự mục tiêu cần nhân bản.

5) Cation Mg^{2+} ($MgCl_2$): đây là co-factor quan trọng để Taq polymerase hoạt động hiệu quả.

6) Dung dịch đệm Tris-HCl (PCR Buffer): Cung cấp môi trường thuận lợi cho phản ứng nhân bản diễn ra.

Ống nghiệm chứa PCR mix sẽ được đặt vào trong buồng ủ của máy luân nhiệt (Thermo cycler), ở Việt Nam thường gọi là máy PCR. Nhiệt độ bên trong buồng ủ của máy PCR sẽ thay đổi theo chu kỳ, nhờ đó mà quá trình nhân bản ADN được diễn ra.

1.3. Nguyên lý

Kỹ thuật PCR là một phương pháp tổng hợp DNA dựa trên mạch khuôn từ một trình tự đích DNA ban đầu, sau đó khuếch đại, nhân số lượng bản sao của khuôn này thành hàng triệu bản sao nhờ hoạt động của enzyme polymerase và một cặp mồi (primer) đặc hiệu cho đoạn DNA.

Một chu kỳ nhiệt của PCR sẽ gồm 3 giai đoạn nhiệt độ:

1 - Giai đoạn biến tính: Nhiệt độ sẽ được đưa lên 94 °C, các liên kết hydro sẽ bị phá vỡ khiến ADN bị biến tính trở thành dạng mạch đơn.

2 - Giai đoạn bắt cặp: Nhiệt độ được hạ xuống 55 - 65 °C, các đoạn mồi sẽ bắt cặp bổ sung vào 2 đầu trình tự mục tiêu.

3 - Giai đoạn kéo dài: Nhiệt độ được đưa lên 72 °C, Taq polymerase sẽ sử dụng dNTP để kéo dài đầu 3' của mồi và tạo ra mạch bổ sung.

Như vậy, cứ qua một chu kỳ nhiệt, số mạch ADN sẽ được nhân đôi. Nếu chu kỳ nhiệt lặp lại liên tục 30 - 40 lần thì số bản sao sẽ là $2^{30} \sim 2^{40}$ bản sao. Số lượng bản sao ADN không lồ này khi được gắn các phân tử phát tín hiệu (ví dụ Ethidium Bromide) có thể nhìn thấy bằng mắt thường trên gel điện di dưới ánh đèn UV

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	01	Trình độ đại học Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật
2	Người phê duyệt kết quả	01	Trình độ đại học trở lên

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất (sử dụng cho phân tích 14 mẫu/lần phản ứng + 5% tiêu hao)

- Cồn khử khuẩn (70%): 50 mL
- Chứng dương: 2 μ L
- Chứng âm là nước khử ion đã tiệt trùng không có mẫu ADN : 1 mẫu
- Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) : 2mL
- Taq polymerase: 20 μ L
- dNTPs 100 mM: 20 μ L
- Ion ($MgCl_2$) Mg^{2+} : 25 μ L
- Đệm ổn định môi trường ADN polymerase 10x: 30 μ L
- Mỗi xuôi (10 pmol): 1 mỗi
- Mỗi ngược (10 pmol): 1 mỗi
- Dung dịch đệm TBE 0,5x: 1000 mL
- Dung dịch nhuộm ADN: 0,5 mL
- Dung dịch PBS dùng cho tách ADN: 4 mL
- Ethanol tinh khiết 99% dùng cho tách ADN: 4 mL
- Isopropanol tinh khiết dùng cho tách ADN: 1,4 mL
- Agarose dạng bột khô: 10 g
- Thanh ADN chuẩn: 1 tuýp

2.2.2. Vật tư khác (áp dụng cho 14 mẫu trong quy trình)

- Tuýp effendorf 1,5 mL: 8 cái
- Dài 8 tuýp PCR có nắp 0,2 mL: 2 cái (hoặc tuýp PCR lẻ có nắp 0,2 mL (1 tuýp/mẫu) hoặc phiên 96 lỗ hoặc phiên 384 lỗ kèm màng dán). Dung tích tuýp hoặc lỗ cho PCR có thể dùng loại 0,1 mL hoặc 0,5 mL tùy theo yêu cầu của thí nghiệm nhân từng loại gen)
- Đầu côn (típ) không lọc thể tích 1000 μ L: 3 cái

Đu 

- Đầu côn (típ) không lọc thể tích 200 μL : 20 cái
- Đầu côn (típ) có lọc thể tích 200 μL : 4 cái
- Đầu côn (típ) có lọc thể tích 10 μL : 20 cái
- Túi đựng rác thải y tế: 1 cái
- Bình xịt chứa cồn ethanol 70% sát khuẩn nhanh: 1 lọ
- Bút viết kính không xóa được: 1 cái
- Găng tay y tế không bột talc: 6 đôi
- Khẩu trang y tế: 6 cái

Lưu ý: Tùy điều kiện thực tế của phòng thí nghiệm có thể dùng các loại Master-mix thương phẩm có phối hợp các thành phần phản ứng PCR và tính toán tỷ lệ các thành phần theo quy trình.

2.2.3. Văn phòng phẩm

- Mực in : 1 hộp
- File đựng tài liệu : 1 cái
- Bút bi : 1 cái
- Giấy A4 : 1 tờ

2.3. Thiết bị

- Máy in: 1 cái
- Hộp đựng mẫu có 96 vị trí: 1 cái
- khay giữ lạnh dành cho tuýp PCR 0.2 mL có 96 vị trí: 1 cái
- khay giữ lạnh dành cho tuýp 1.5-2 mL: 1 cái
- Giá để tuýp 1,5-2 mL: 1 cái
- Tủ pha hóa chất sinh phẩm: 1 tủ
- Máy lắc vortex: 1 máy
- Máy lắc vortex: 1 máy
- Cân điện tử sai số $\pm 0,01$ g: 1 chiếc
- Giá hoặc hộp đựng túi rác: 1 cái
- Giá treo micropipet: 1 cái
- Micropipet 0,1-2 μL : 1 cái
- Micropipet 2-20 μL : 1 cái
- Micropipet 20-200 μL : 1 cái
- Micropipet 1000 μL : 1 cái
- Giá đỡ tuýp 1.5-2 mL có 96 vị trí: 1 cái
- Máy ly tâm nhanh tuýp 1,5 mL và 0,2 mL: 1 máy

- Máy luân nhiệt (máy Applied Biosystem 2720 Thermocycle hoặc Veriti Veriti™ 96-Well Thermal Cycler hoặc các loại máy luân nhiệt khác): 1 máy

- Tủ lạnh -20°C: 1 tủ

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

ADN khuôn mẫu

- Các mẫu ADN cần được đo nồng độ và xác định độ tinh sạch bằng cách dùng micropipetman với đầu côn 10 µl có lọc hút chính xác 2 µl ADN khuôn mẫu lên máy nanodrop.

- Các mẫu ADN cần được kiểm tra độ tinh sạch bằng tỷ số : OD260 nm/ OD280 nm nằm trong khoảng 1,8 – 2.

- Sau khi đo, mẫu ADN phải được pha loãng về cùng một nồng độ tối thiểu 10 ng/µL.

- Với các mẫu không đảm bảo nồng độ tối thiểu và độ tinh sạch như trên, kết quả PCR có thể không được như mong muốn vì thế sẽ không được sử dụng để phân tích mẫu.

Pha loãng môi

- Khi nhận môi từ nhà sản xuất, luôn kèm theo thông tin và thông số của các môi (xuôi và ngược), cần chú ý đến khối lượng bột bên trong tuýp (Amount of oligo) để pha môi gốc trước khi pha loãng môi thí nghiệm.

- Các dụng cụ dùng trong pha môi phải chiếu UV, nước pha là nước tiệt trùng dH₂O, phải chuẩn bị đá để giữ lạnh tuýp trong lúc pha môi.

Nhân viên xét nghiệm

- Phải được tập huấn thành thạo kỹ thuật trong PTN có liên quan đến quy trình.

- Phải nắm rõ đúng quy trình khử khuẩn trước và sau khi thực hiện quy trình.

Trang bị xét nghiệm

- Kiểm tra các trang bị dụng cụ lấy mẫu theo hướng dẫn, trang phục bảo hộ cá nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Nhân viên xét nghiệm	Chuẩn bị dụng cụ	15 phút
2	Nhân viên xét nghiệm	Pha hóa chất	30 phút
3	Nhân viên xét nghiệm	Chạy máy PCR	90 phút
4	Nhân viên xét nghiệm	Điện di kiểm tra sản phẩm PCR	60 phút
5	Người phê duyệt kết quả	Phê duyệt kết quả	5 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Quy trình này được nhân viên y tế thuộc các phòng xét nghiệm hoặc phòng thí nghiệm.

3. An toàn

- Một số rủi ro có thể gặp trong quy trình này : sử dụng tủ UV, sử dụng máy ly tâm có thể gây văng mẫu hoặc vỡ tuýp, hoá chất nhuộm sử dụng không an toàn, có thể dị ứng cồn.

- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Chuẩn bị dụng cụ thí nghiệm

- Bật tủ pha hóa chất sinh phẩm trước khi làm 15 phút.
- Khử trùng micropipet và mặt bàn bằng cồn 70% trước khi làm thí nghiệm.

Bước 2: Pha các thành phần của phản ứng

- Chuẩn bị hóa chất sinh phẩm cần thiết để tan đông trong tủ lạnh 4°C hoặc trong dụng cụ chứa đá vụn:

- + Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH₂O).
- + Các thành phần phản ứng PCR
- + Cặp mồi (mồi xuôi và mồi ngược) đã pha loãng nồng độ 10 pmol/μL hoặc nồng độ thích hợp cho phản ứng nhân gen.

- Trộn nhẹ các hóa chất cho đồng nhất máy vortex và ly tâm ngắn bằng máy ly tâm nhanh Minispin (hoặc máy tương đương), sau đó xếp lên phiến lạnh..

Bước 3: Pha dung dịch PCR Master Mix (áp dụng cho 14 mẫu cần 20 phút)

- Lấy hai tuýp eppendorf 1,5 mL, 1 tuýp để pha master mix (ghi trên nắp là **MIX**), 1 tuýp chứa nước để cân bằng khi ly tâm ghi trên nắp là H₂O.

- Xác định số phản ứng cho mỗi master mix:

$$\text{Số phản ứng} = \text{..... mẫu} + \text{.....chứng dương (nếu có)} + \text{..... chứng âm} + 1$$

Ví dụ: Có 14 mẫu cần phân tích kiểu gen, sẽ có : 14 mẫu + 1 mẫu chứng dương đã biết kết quả + 1 chứng âm (mẫu không chứa ADN) + 1 = 17 phản ứng.

- Sử dụng micropipetman phù hợp với các thể tích cần hút theo thứ tự các thành phần và tỉ lệ như bảng bên dưới vào tuýp pha dung dịch master mix.

Thành phần	Lượng cần 1 phản ứng	Số phản ứng	Thể tích cần pha
Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH ₂ O)	11,4 μL	x 17	193,8 μL
10x PCR buffer	2 μL		34 μL
50 mM MgCl ₂	1,5 μL		25,5 μL

10 mM dNTP mix	1 μ L		17 μ L
Taq DNA Polymerase	0,1 μ L		1,7 μ L
Môi xuôi	1 μ L		17 μ L
Môi ngược	1 μ L		17 μ L
Tổng thể tích	18 μL		306 μL

(Ghi chú: tùy vào mỗi loại đoạn gen cần nhân bản, có thể điều chỉnh các thành phần phản ứng PCR để đạt tối ưu và tổng thể tích cho 1 phản ứng PCR kể cả mẫu DNA có thể từ 5 μ L -50 μ L hoặc thể tích phù hợp khác; có thể dùng master mix thương phẩm pha sẵn chứa các thành phần của phản ứng PCR)

- Ly tâm ngắn hỗn hợp vừa pha bằng máy Minispin.

Lưu ý: Phải luôn bảo quản hỗn hợp phản ứng PCR trên phiến lạnh hoặc khay đá vụn để đưa sang phòng chạy máy luân nhiệt.

Bước 4: Chạy máy (cần khoảng 1,5h)

- Khởi động máy luân nhiệt máy Applied Biosystem 2720 Thermocycle hoặc Veriti Veriti™ 96-Well Thermal Cycler hoặc tương đương.

- Đặt tuýp PCR vào trong máy luân nhiệt.

- Đóng nắp máy luân nhiệt và cài đặt chu trình nhiệt.

Bước 5: Điện di kiểm tra sản phẩm PCR

- Trong khi đợi máy luân nhiệt, chuẩn bị thạch agarose 1,5%, pha đệm TBE 0,5X, và chuẩn bị máy điện di.

- Đặt thạch agarose 1,5% vào máy điện di có chứa dung dịch đệm TBE 0,5X.

- Sau khi hoàn thành chu trình nhiệt, lấy mẫu ra khỏi máy luân nhiệt để điện di kiểm tra sản phẩm PCR.

- Dùng micropipetman với đầu côn 10 μ L không lọc hút chính xác 10 μ L sản phẩm PCR lên trên thạch agarose 1,5%. Mỗi mẫu nhỏ sản phẩm PCR1 (A1) và PCR2 (A2) ở các giếng có vị trí tương ứng để dễ đánh giá kết quả kiểu gen.

- Dùng micropipetman với đầu côn 10 μ L không lọc hút chính xác 3,0 μ L thang ADN chuẩn Marker 100bp lên trên thạch agarose 1,5%.

- Khởi động máy điện di với điện trở 100V trong 20 phút.

- Sau khi điện di, chụp hình kết quả điện di bằng máy chụp ảnh GelDocXR Plus ImageLab System.

- Lưu hình ảnh và đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

Kết quả nhân gen bằng kỹ thuật PCR được chấp nhận khi đảm bảo 2 tiêu chí:

- Ở giếng có chứa mẫu nước không có băng (band) trên thạch agarose.

- Ở các giếng có chứa ADN khuôn mẫu phải có băng sáng.

Sưu *mm*

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ghi chú và nhập kết quả thực hiện thí nghiệm phân tích kiểu gen vào file mẫu (phụ lục 1)
- Lưu tại Khoa, phòng theo quy định.
- Đối với các chỉ định trong phòng khám, các kết quả sẽ được trả cho người bệnh.
- Đối với trong các nghiên cứu, không trả kết quả cho từng người, tuy nhiên, một số trường hợp có vấn đề về sức khỏe hoặc có yêu cầu cần trả kết quả sẽ do chủ nhiệm đề tài quyết định.

5. Những sai sót và xử trí

Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của đơn vị có liên quan.

Một số việc cần lưu ý gồm:

- Thu gọn các dụng cụ, hóa chất cẩn thận, tránh đổ vỡ.
- Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học.
- Vệ sinh bàn thí nghiệm, tủ an toàn sinh học bằng cồn khử trùng sau khi làm thí nghiệm.
- Rác thải từ quá trình thí nghiệm, găng tay, đồ tiêu hao cho vào thùng rác màu vàng.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Nội kiểm tại phòng thí nghiệm
- Một số mẫu sẽ được lấy ngẫu nhiên để giải trình tự Sanger hoặc các phương pháp khác đã được ban hành để đối chiếu.
- Một số giải pháp kiểm tra chất lượng khác : hiệu chuẩn trang thiết bị, giám sát viên hoặc trưởng phòng kiểm tra kết quả và quá trình thực hiện quy trình.

7. Tài liệu tham khảo, tham chiếu

Khehra N, Padda IS, Swift CJ. Polymerase Chain Reaction (PCR) [Updated 2023 Mar 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/>

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 43:

PHỤ LỤC 1:

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM NHÂN MỘT ĐOẠN GEN BẰNG PHẢN ỨNG CHUỖI POLYMERASE (PCR)	Trang số:.....
--	-------------------

Nhân viên thực hiện:
hiện:.....

Ngày thực

Sử dụng quy trình SOP số:

Các mẫu sử dụng

Mẫu chứng dương:..... Số lượng:.....

Mẫu chứng âm:..... Số lượng:.....

ADN của đối tượng:.....mẫu

Stt	Mẫu	Kiểu gen	Stt	Mẫu	Kiểu gen	Stt	Mẫu	Kiểu gen	Stt	Mẫu	Kiểu gen

1. Cặp môi sử dụng

Môi xuôi:

Môi ngược:

2. Thực hiện nhân đoạn gen bằng phản ứng PCR

Pha Master mix

– Tên master mix:

– Thành phần phản ứng:

Số phản ứng = mẫu +chứng dương + chứng âm + 1 =phản ứng

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Water, nuclease-free	8,5 µL		
+ Master mix (2X)	7,5 µL		
+ Môi xuôi	1,0 µL		
+ Môi ngược	1,0µL		

Được *mm*

+ ADN mẫu	2,0 μL	
Tổng lượng	20,0 μL	

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng $\times$ số phản ứng)

3. Chu trình nhiệt
4. Điện di kiểm tra 5 μl sản phẩm PCR trên Agarogel 1,5%, 100v trong 40 phút, dùng đệm TBE 0,5X, nhuộm Redsafe hoặc loại khác, Marker 100bp hoặc loại phù hợp. Chụp ảnh, lưu.
5. Nhận định kết quả:

Người giám sát

Ngày...../...../.....

Nhân viên thực hiện

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 44:

QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE TRÊN GEN NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHAN GEN VỚI MỖI ĐẶC HIỆU ALEN (AS-PCR)

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Đa hình nucleotide đơn (**Single nucleotide polymorphisms/SNPs**) là các dấu hiệu di truyền phong phú nhất trong bộ gen. Nhiều SNP được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực gen động vật và ngày càng được áp dụng rộng rãi trong các nghiên cứu di truyền thực vật. Nhiều phương pháp phát hiện SNP đã được phát triển và nhiều phương pháp trong số đó sử dụng hệ thống thông lượng cao tự động, theo quy luật đòi hỏi thiết bị đắt tiền và/hoặc có chi phí phát triển. Các phương pháp đơn giản và tiết kiệm chi phí để xác định kiểu gen SNP sẽ làm tăng khả năng tiếp cận của phòng thí nghiệm nghiên cứu trung bình đối với các dấu hiệu SNP.

Trong số các phương pháp xác định kiểu gen SNP đơn giản, PCR allele-specific (AS) (AS-PCR), còn được gọi là “khuếch đại đặc hiệu alen PCR” (PCR allele-specific amplification/ PASA) hoặc “đột biến kháng cự khuếch đại” (amplification refractory mutation), cho phép phát hiện SNP trong các phòng thí nghiệm được trang bị tối thiểu.

1.2. Định nghĩa

- Đa hình nucleotide

+ Đa hình nucleotide đơn (Single nucleotide polymorphism-SNP) được định nghĩa là một kiểu đa hình liên quan đến sự biến đổi của một cặp base duy nhất. Các nghiên cứu đang tìm kiếm các SNP trong hệ gen liên kết với bệnh, phản ứng thuốc và các kiểu hình khác của người nhằm mục đích lựa chọn được phẩm phù hợp trong điều trị bệnh ở người.

+ Các SNP là loại biến dị di truyền phổ biến nhất ở người. Mỗi SNP đại diện cho sự khác biệt về một cặp nucleotide của DNA, đó là sự thay thế nucleotide loại này bằng nucleotide loại khác không bổ sung (ví dụ cytosine -C bằng thymine -T) trong một đoạn DNA nhất định. SNP xảy ra bình thường trong một phân tử DNA của người, tần suất xuất hiện các SNP là thấp. Mỗi vị trí SNP trong hệ gene có thể có tối đa bốn phiên bản, ứng với 4 loại nucleotide A, C, G và T. Tuy nhiên, không phải tất cả các thay đổi nucleotide đều là SNP. Để được gọi là SNP, hai hoặc nhiều phiên bản của một trình tự phải có mặt trong ít nhất 1% cá thể trong quần thể. SNP xuất hiện trong toàn bộ hệ gene người với tần suất 1/300, nghĩa là cứ 300 bp có một SNP và trong 3 tỷ nucleotide của DNA người sẽ có khoảng 10 triệu SNP. Những biến thể SNP có thể là duy nhất hoặc xảy ra ở nhiều cá thể, hiện nay đã tìm thấy hơn 100 triệu SNP trong các quần thể người trên toàn thế giới. Sự phân bố các SNP trong quần thể theo tỷ lệ là: 40%A, 34%C, 25%G, 1%T.

- Phản ứng PCR

+ Thuật ngữ PCR chỉ một phản ứng nhân bản DNA dựa trên các chu kỳ nhiệt. Phản ứng diễn ra trong một ống nghiệm nhỏ chứa dung dịch phản ứng (gọi là PCR mix). Trong PCR mix sẽ chứa các thành phần:

1) **Polymerase chịu nhiệt (Taq polymerase)**, enzyme này có nhiệt độ hoạt động tối ưu ở 72 °C.

2) 4 loại nucleotide (dNTP) gồm: dATP/dTTP/dGTP/dCTP là nguyên liệu để tổng hợp ra các bản sao DNA.

3) DNA chứa trình tự mục tiêu (Template): Thông thường trong xét nghiệm thì đây là DNA thu nhận từ mẫu cần xét nghiệm.

4) Cặp mồi đặc hiệu (Primer): Đây là các đoạn oligo-nucleotide dài khoảng 20 nucleotide và bắt cặp bổ sung đặc hiệu cho 2 đầu trình tự mục tiêu cần nhân bản.

5) Cation Mg^{2+} ($MgCl_2$): đây là co-factor quan trọng để Taq polymerase hoạt động hiệu quả.

6) Dung dịch đệm Tris-KCl (PCR Buffer): Cung cấp môi trường thuận lợi cho phản ứng nhân bản diễn ra.

+ Ống nghiệm chứa PCR mix sẽ được đặt vào trong buồng ủ của máy luân nhiệt (Thermo cycler), ở Việt Nam thì thường gọi luôn là máy PCR. Nhiệt độ bên trong buồng ủ của máy PCR sẽ thay đổi theo chu kỳ, nhờ đó mà quá trình nhân bản DNA được diễn ra.

1.3. Nguyên lý

Trong Allen - specific PCR (AS - PCR) người ta thiết kế một đoạn primer có trình tự sai khác so với trình tự đặc hiệu một nucleotide ở đầu 3' để ngăn cản quá trình kéo dài chuỗi ADN của enzym Taq - polymeraza trong phản ứng PCR. Trong phương pháp này, người ta thiết kế hai ống phản PCR song song: Ống phản thứ nhất sử dụng cặp primer đặc hiệu cho allen bình thường, ống phản thứ hai sử dụng cặp primer để nhân bản allen đột biến. Phản ứng ASPCR luôn có ít nhất một sản phẩm: Nếu người bệnh dị hợp tử thì trong hai ống phản ứng PCR đều có một băng sản phẩm đặc hiệu, nếu người bệnh đồng hợp tử mang gen bệnh thì chỉ có ống phản ứng 2 có băng đặc hiệu, còn người bệnh đồng hợp tử bình thường thì chỉ ống phản ứng 1 có băng sản phẩm đặc hiệu.

Ưu điểm của AS-PCR cơ bản là chi phí thấp và phát hiện nhanh các sản phẩm khuếch đại trên gel agarose. Tuy nhiên, cần có hai phản ứng, một phản ứng cho mỗi alen SNP. Ngoài ra, sự thay đổi cặp bazơ đơn ở đầu 3' không phải lúc nào cũng đủ để đảm bảo sự phân biệt đáng tin cậy giữa hai alen SNP. Sự cải thiện còn đạt được hơn nữa bằng cách phát hiện tất cả các alen SNP trong phản ứng ống đơn sử dụng ít nhất hai môi cụ thể cùng nhau. Tuy nhiên, sự đơn giản rõ ràng của phản ứng ống đơn có những nhược điểm riêng. Loại công nghệ như vậy thường đòi hỏi thiết bị và thuốc thử đắt tiền hơn, ví dụ, liên quan đến nhu cầu sử dụng (và phát hiện) đầu dò huỳnh quang để cho phép phân biệt các sản phẩm trong một ống nghiệm.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	01	Trình độ đại học Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật
2	Người phê duyệt kết quả	01	Trình độ đại học trở lên

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất (sử dụng cho phân tích cho 44 mẫu/1 lần chạy quy trình + 5% tiêu hao)

- Mẫu ADN đã tách chiết do nồng độ đạt tối thiểu 10 ng/ μ L.
- Mẫu ADN có độ tinh sạch OD 260 nm/OD 280 nm nằm trong khoảng 1.8 – 2.
- Chứng dương đã biết kiểu gen bằng kỹ thuật giải trình tự.
- Chứng âm : nước khử ion đã tiệt trùng không có mẫu ADN.
- Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH₂O).
- Taq polymerase (100 units/1mL/ống): 50 μ L
- dNTPs 100 mM, 1mL/ống: 50 μ L
- Ion ($MgCl_2$) Mg^{2+} (1mL/ống): 66 μ L
- Dung dịch đệm cho phản ứng PCR (PCR buffer) 10x (1mL/ống): 88 μ L
- Mỗi nhân alen chung (10 pmol): 1 mỗi
- Mỗi phát hiện alen 1 (10 pmol): 1 mỗi
- Mỗi phát hiện alen 2 (10 pmol): 1 mỗi
- Dung dịch đệm TBE hoặc TAE 0,5X: 1000mL
- Dung dịch nhuộm ADN : 0,5mL
- Thạch Agarose: 10g
- Thanh ADN chuẩn: 1 ống

Lưu ý : Tùy điều kiện thực tế của phòng thí nghiệm có thể dùng các loại Master-mix thương phẩm có phối hợp các thành phần phản ứng PCR và tính toán tỷ lệ các thành phần theo quy trình.

2.2.2. Vật tư khác (áp dụng cho 44 mẫu trong quy trình)

- Bình xịt chứa cồn ethanol 70% sát khuẩn nhanh: 1 lọ
- Bút lông dầu viết không xóa được: 1 cái
- khay chứa đá vụn: 1 cái
- Cồn khử khuẩn (70%): ~50 mL
- Ethanol (96-100%): ~50 mL
- Túi rác đựng rác thải y tế: 1 cái
- Ống ly tâm thể tích 1,5 mL: 2 cái
- Dài 8 ống PCR (kèm nắp) thể tích 0,1 mL, 0,2 mL: 12 cái. (hoặc ống PCR lẻ có nắp 0,2 mL (1 ống/mẫu) hoặc phiên 96 lỗ hoặc phiên 384 lỗ kèm màng dán). Dung tích ống hoặc lỗ cho PCR có thể dùng loại 0,1 mL hoặc 0,5 mL tùy theo yêu cầu của thí nghiệm nhân từng loại gen)
- Đầu côn vô trùng không lọc thể tích 200 μ L: 8 cái
- Đầu côn vô trùng không lọc thể tích 10 μ L: 96 cái
- Đầu côn vô trùng có lọc thể tích 200 μ L: 4 cái

- Đầu côn vô trùng có lọc thể tích 10 μ L: 100 cái
- Khẩu trang y tế : 1 cái
- Găng tay y tế không bột talc: 2 đôi
- Quần áo bảo hộ: 1 bộ

2.3. Thiết bị

- Khay giữ nhiệt dành cho ống PCR 96 vị trí (block lạnh cho ống PCR 0.2 mL): 1 cái
- Tủ pha hóa chất sinh phẩm: 1 tủ
- Máy lắc vortex: 1 máy
- Cân điện tử sai số $\pm 0,01$ g: 1 chiếc
- Micropipet 2-20 μ L: 1 cái
- Micropipet 20-200 μ L: 1 cái
- Giá đỡ ống eppendorf 96 vị trí: 1 cái
- Máy điện di: 1 máy
- Máy minispin: 1 máy
- Máy luân nhiệt (máy Applied Biosystem 2720 Thermocycle hoặc Veriti Veriti™ 96-Well Thermal Cycler hoặc các loại máy luân nhiệt khác): 1 máy
- Máy chụp ảnh thạch: 1 máy
- Tủ pha hóa chất sinh phẩm: 1 tủ
- Giá hoặc hộp đựng túi rác: 1 cái
- Tủ mát +4°C: 1 tủ
- Tủ lạnh -20°C: 1 tủ
- Thùng rác đựng đầu côn (típ) và hóa chất : 1 cái

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

a) Nhân viên xét nghiệm

- Phải được tập huấn quy trình nhân gen bằng phương pháp môi đặc hiện alen.
- Phải nắm rõ các nguyên vật liệu cần thiết, hóa chất, vật liệu tiêu hao phục vụ cho việc nhân gen bằng phương pháp môi đặc hiện alen.
- Luôn mặc áo bảo hộ, găng tay dùng một lần trong phòng thí nghiệm.
- Phải nắm rõ đúng quy trình khử khuẩn trước và sau khi thực hiện quy trình.

b) ADN khuôn mẫu

- Các mẫu ADN cần được đo nồng độ và xác định độ tinh sạch bằng cách dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 μ L có lọc hút chính xác 2 μ L ADN khuôn mẫu lên máy nanodrop.
- Các mẫu ADN cần được kiểm tra độ tinh sạch bằng tỷ số : OD260 nm/ OD280 nm nằm trong khoảng 1,8 – 2.

- Sau khi đo, mẫu ADN phải được pha loãng về cùng một nồng độ tối thiểu 10 ng/ μ L.

- Với các mẫu không đảm bảo nồng độ tối thiểu và độ tinh sạch như trên, kết quả PCR có thể không được như mong muốn vì thế sẽ không được sử dụng để phân tích mẫu.

c) Chuẩn bị hoá chất

- Khi nhận mỗi từ nhà sản xuất, luôn kèm theo thông tin và thông số của các môi (xuôi và ngược), cần chú ý đến khối lượng bột bên trong ống (Amount of oligo) để pha mỗi gốc trước khi pha loãng mỗi thí nghiệm.

- Các dụng cụ dùng trong pha môi phải chiếu UV, nước pha tốt nhất là dùng nước tiệt trùng dH₂O, phải chuẩn bị đá để giữ lạnh ống trong lúc pha môi.

- Chuẩn bị hóa chất sinh phẩm cần thiết để tan đông trong tủ lạnh 4°C.

+ Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH₂O).

+ Cặp môi đã pha loãng nồng độ 10 pmol/ μ L

+ Taq polymerase (100 units/1mL/ống)

+ dNTPs 100 mM, 1mL/ống

+ Ion (MgCl₂) Mg²⁺ (1mL/ống)

+ Dung dịch đệm cho phản ứng PCR (PCR buffer) 10x (1mL/ống)

Trộn nhẹ các hóa chất cho đồng nhất bằng máy vortex và ly tâm ngắn bằng máy Minispin, sau đó xếp lên phiến lạnh hoặc đặt vào hộp đá vụn. Thứ tự xếp theo trình tự pha : dH₂O, Gotaq® Green Master Mix, môi xuôi và môi ngược.

d) Trang bị xét nghiệm

- Kiểm tra các trang bị, dụng cụ lấy mẫu theo hướng dẫn, trang phục bảo hộ cá nhân.

- Bật tủ pha hóa chất sinh phẩm trước khi làm 15 phút.

- Khử trùng pipet và mặt bàn bằng cồn 70° trước khi làm thí nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Nhân viên xét nghiệm	Chuẩn bị dụng cụ	15 phút
2	Nhân viên xét nghiệm	Pha hóa chất	15 phút
3	Nhân viên xét nghiệm	Chạy máy PCR	90 phút
4	Nhân viên xét nghiệm	Điện di kiểm tra sản phẩm PCR	60 phút

Handwritten signatures and initials in blue ink.

5	Người phê duyệt kết quả	Phê duyệt kết quả	5 phút
---	-------------------------	-------------------	--------

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Quy trình này được nhân viên y tế thuộc các phòng xét nghiệm hoặc phòng thí nghiệm hoặc là các đơn vị có liên quan thực hiện.

3. An toàn

- Một số rủi ro có thể gặp trong quy trình này : sử dụng tủ UV, sử dụng máy ly tâm có thể gây văng mẫu hoặc vỡ ống, hoá chất nhuộm sử dụng không an toàn, có thể dị ứng cồn.

- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Pha dung dịch PCR Master Mix (áp dụng cho 44 mẫu)

- Lấy hai ống eppendorf 1,5 mL để pha master mix (ghi trên nắp ống là: “A1” và “A2”), ống A1 để pha master mix cho PCR 1, ống A2 cho PCR 2.

- Xác định số phản ứng cho mỗi master mix:

Số phản ứng = mẫu +chứng dương (nếu có) + chứng âm + 2

Ví dụ: Có 12 mẫu cần phân tích kiểu gen, sẽ có : 44 mẫu + 3 mẫu chứng dương đã biết kết quả + 1 chứng âm (mẫu không chứa ADN) + 2 = 50 phản ứng.

- Sử dụng Micropipet phù hợp với các thể tích cần hút theo thứ tự các thành phần và tỉ lệ như bảng bên dưới vào ống pha dung dịch master mix.

A. PCR 1 phát hiện alen A1

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH ₂ O)	11,4 µl	X 50	570 µl
+ 10x PCR buffer	2 µl		100 µl
+ 50 mM MgCl ₂	1,5 µl		75 µl
+ 10 mM dNTP mix	1 µl		50 µl
+ Taq DNA Polymerase	0,1 µl		5,0 µl
+ <i>Mồi phát hiện alen 1</i>	0,75 µl		37,5 µl
+ <i>Mồi chung</i>	0,75 µl		37,5 µl
Tổng lượng	17,5 µl		875 µl

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng x số phản ứng)

B. PCR 2 phát hiện alen A2

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH ₂ O)	11,4 µl	X 50	570 µl
+ 10x PCR buffer	2 µl		100 µl
+ 50 mM MgCl ₂	1,5 µl		75 µl

+ 10 mM dNTP mix	1 μ l		50 μ l
+ Taq DNA Polymerase	0,1 μ l		5,0 μ l
+ <i>Mỗi phát hiện alen 2</i>	0,75 μ l		37,5 μ l
+ <i>Mỗi chung</i>	0,75 μ l		37,5 μ l
Tổng lượng	17,5 μl		875 μl

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng x số phản ứng)

(Ghi chú: có thể điều chỉnh tên thành phần, lượng mỗi thành phần và tổng lượng phản ứng AS-PCR cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm, máy móc và sinh phẩm hiện có và yêu cầu xét nghiệm)

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút chính xác 570 μ l nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) lần lượt vào ống A1 và A2.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút chính xác 100 μ l dung dịch đệm PCR 10X vào ống A1 và A2.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút chính xác 75 μ l dung dịch 50 mM MgCl_2 vào ống A1 và A2.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút chính xác 50 μ l dung dịch 10 mM dNTP mix vào ống A1 và A2.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 20 μ l không lọc hút chính xác 5,0 μ l Taq DNA Polymerase vào ống A1 và A2.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ l có lọc hút chính xác 37,5 μ l *Mỗi phát hiện alen 1* vào ống A1 và dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ l có lọc hút chính xác 37,5 μ l *Mỗi phát hiện alen 2* vào A2.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ l có lọc hút chính xác 37,5 μ l *Mỗi chung* lần lượt vào ống A1 và A2.

- Đậy nắp ống A1 và A2 và lắc nhẹ cho dung dịch đồng nhất.

- Ly tâm ngắn hỗn hợp vừa pha bằng máy Minispin.

Lưu ý: Phải luôn bảo quản hỗn hợp phản ứng PCR trên phiến lạnh hoặc khay đá vụn để đưa sang phòng chạy máy luân nhiệt.

Bước 2: Tra mẫu:

- Xếp các ống chứa ADN mẫu lên giá theo thứ tự ghi trên file kết quả (phụ lục).

- Lắc nhẹ các ống chứa ADN mẫu bằng tay để đảm bảo mẫu đã giải đông hoàn toàn.

- Ly tâm ống chứa ADN mẫu bằng máy ly tâm minispin.

- Đặt ống PCR có thể tích 0,2 mL trên đá vụn hoặc phiến lạnh.

- Đánh số thứ tự lên các ống PCR tương ứng với các mẫu ADN ghi trong biểu mẫu (phụ lục), ghi mỗi mẫu 2 ống PCR riêng. Với PCR 1 ghi kí hiệu lên ống là A1, với PCR 2 ghi kí hiệu lên ống là A2. Ghi ngày làm và lần làm trong ngày (nếu trong một ngày làm nhiều lần).

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút lần lượt 8 μ l hỗn hợp master mix 1 vào các ống PCR có ghi kí hiệu A1 và master mix 2 vào 2 ống PCR có ghi kí hiệu A2.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 μ l có lọc hút chính xác 2 μ l ADN mẫu vào

Được 

2 ống PCR đã chứa 2 dung dịch master mix.

(Chú ý: với mỗi mẫu phải đi với một số thứ tự riêng ghi trên ống PCR và có 2 ống PCR đựng 2 master mix khác nhau cho 1 mẫu.)

- Đóng nắp ống PCR.
- Ly tâm ống PCR bằng máy minispin.
- Kiểm tra nắp ống PCR đã được đóng chặt tránh bay hơi trong quá trình chạy máy.
- Đưa tới phòng đặt máy PCR.

Lưu ý: Phải luôn bảo quản hỗn hợp phản ứng PCR trên phiến lạnh hoặc khay đá vụn để đưa sang phòng chạy máy luân nhiệt.

Bước 3: Chu trình nhiệt

- Khởi động máy luân nhiệt máy Applied Biosystem 2720 Thermocycle hoặc Veriti Veriti™ 96-Well Thermal Cycler hoặc máy luân nhiệt khác.
- Đặt ống PCR vào trong máy luân nhiệt.
- Đóng nắp máy luân nhiệt và cài đặt chu trình nhiệt.

Bước 4: Điện di kiểm tra sản phẩm PCR

- Trong khi đợi máy luân nhiệt, chuẩn bị thạch agarose 1,5%, pha đệm TBE 0,5X, và chuẩn bị điện di.

- Đặt thạch agarose 1,5% vào máy điện di có chứa dung dịch đệm TBE 0,5X.

- Sau khi hoàn thành chu trình nhiệt, lấy mẫu ra khỏi máy luân nhiệt để điện di kiểm tra sản phẩm PCR.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 µl không lọc hút chính xác 10 µl sản phẩm PCR lên trên thạch agarose 1,5%. Mỗi mẫu nhỏ sản phẩm PCR1 (A1) và PCR2 (A2) ở các giếng có vị trí tương ứng để dễ đánh giá kết quả kiểu gen.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 µl không lọc hút chính xác 3,0 µl thang ADN chuẩn Marker 100bp lên trên thạch agarose 1,5%.

- Khởi động máy điện di với điện trở 100V trong 20 phút.

- Sau khi điện di, chụp hình kết quả điện di bằng máy chụp ảnh GelDocXR Plus ImageLab System.

- Lưu hình ảnh và đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

Kết quả nhận gen bằng kỹ thuật ASP được chấp nhận khi đảm bảo 2 tiêu chí:

- Ở giếng có chứa mẫu nước không có băng (band) trên thạch agarose.
- Ở các giếng có chứa ADN khuôn mẫu phải có băng sáng.

Nhận định kết quả:

Trường hợp	PCR 1	PCR 1 mẫu chứng dương A1	PCR 2	PCR 2 mẫu chứng dương T	Kiểu gen
------------	-------	--------------------------	-------	-------------------------	----------

1	Có band	Có band	Không có band	Không có band	A1A1
2	Không có band	Không có band	Có band	Có band	A2A2
3	Có band	Có band	Có band	Có band	A1A2

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Báo cáo kết quả : Ghi chú và nhập kết quả thực hiện thí nghiệm phân tích kiểu gen vào file mẫu « *Mẫu ghi kết quả genotyping gen bằng phương pháp ASP* » (Phụ lục 1).

- Lưu tại Khoa, phòng theo quy định.

- Đối với các chỉ định trong phòng khám, các kết quả sẽ được trả cho người bệnh.

- Đối với trong các nghiên cứu, không trả kết quả cho từng người, tuy nhiên, một số trường hợp có vấn đề về sức khỏe hoặc có yêu cầu cần trả kết quả sẽ do chủ nhiệm đề tài quyết định.

5. Những sai sót và xử trí

Một số việc cần lưu ý gồm:

- Thu gọn các dụng cụ, hóa chất cẩn thận, tránh đổ vỡ.

- Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học.

- Vệ sinh bàn thí nghiệm, tủ an toàn sinh học bằng Ethanol 70% sau khi làm thí nghiệm.

- Rác thải từ quá trình thí nghiệm, găng tay, đồ tiêu hao cho vào thùng rác màu vàng.

- Nước thải quá trình tách chiết ADN cho vào lọ riêng và đưa đi xử lý theo đúng quy trình.

- Rác thải từ quá trình thí nghiệm, găng tay, đồ tiêu hao cho vào thùng rác màu vàng.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Nội kiểm tại phòng thí nghiệm

- Một số mẫu sẽ được lấy ngẫu nhiên để giải trình tự Sanger hoặc các phương pháp khác đã được ban hành để đối chiếu.

- Một số giải pháp kiểm tra chất lượng khác : hiệu chuẩn trang thiết bị, giám sát viên hoặc trường phòng kiểm tra kết quả và quá trình thực hiện quy trình.

7. Tài liệu tham khảo, tham chiếu

- Soleimani, V. D., Baum, B. R. and Johnson, D. A. (2003) Efficient validation of single nucleotide polymorphisms in plants by allele-specific PCR, with an example from barley. *Plant Mol. Biol. Rep.* 21, 281–288.

- Gut, I. G. (2001) Automation in genotyping of single nucleotide polymorphisms. *Hum. Mutat.* 17, 475–492.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 44

Phụ lục 1 :

PHIẾU GHI KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE TRÊN GEN NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHÂN GEN VỚI MÔI ĐẶC HIỆU ALEN (AS-PCR)	Kết quả số:.....
---	------------------

Nhân viên thực hiện:

Ngày thực hiện...../...../.....

1. Các mẫu sử dụng

- Mẫu chứng dương **alen 1**:Số lượng:.....
- Mẫu chứng dương **alen 2**:Số lượng:.....
- Mẫu chứng âm: Số lượng:.....
- ADN của đối tượng:mẫu

Stt	Mẫu	Kiểu gen	Stt	Mẫu	Kiểu gen	Stt	Mẫu	Kiểu gen	Stt	Mẫu	Kiểu gen
1			25			49			73		
2			26			50			74		
3			27			51			75		
4			28			52			76		
5			29			53			77		
6			30			54			78		
7			31			55			79		
8			32			56			80		
9			33			57			81		
10			34			58			82		
11			35			59			83		
12			36			60			84		
13			37			61			85		
14			38			62			86		
15			39			63			87		
16			40			64			88		
17			41			65			89		
18			42			66			90		
19			43			67			91		
20			44			68			92		
21			46			69			93		
22			46			70			94		
23			47			71			95		
24			48			72			96		

2. Cặp mồi sử dụng

- Môi phát hiện alen 1:
- Môi phát hiện alen 2:
- Môi chung:

3. Thực hiện nhân đoạn gen bằng phản ứng PCR

3.1. Pha Master mix

Tên master mix: PromegaGoTaq® Green Master Mix. Ngày
mở:...../...../.....

Thành phần phản ứng:

Số phản ứng = mẫu + chứng dương + chứng âm + 2 = phản
ứng

A. PCR 1 phát hiện alen A1

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH ₂ O)	11,4 µl	X 50	570 µl
+ 10x PCR buffer	2 µl		100 µl
+ 50 mM MgCl ₂	1,5 µl		75 µl
+ 10 mM dNTP mix	1 µl		50 µl
+ Taq DNA Polymerase	0,1 µl		5,0 µl
+ Môi phát hiện alen 1	0,75 µl		37,5 µl
+ Môi chung	0,75 µl		37,5 µl
Tổng lượng	17,5 µl		875 µl

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng x số phản ứng)

B. PCR 2 phát hiện alen A2

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH ₂ O)	11,4 µl	X 50	570 µl
+ 10x PCR buffer	2 µl		100 µl
+ 50 mM MgCl ₂	1,5 µl		75 µl
+ 10 mM dNTP mix	1 µl		50 µl
+ Taq DNA Polymerase	0,1 µl		5,0 µl
+ Môi phát hiện alen 2	0,75 µl		37,5 µl
+ Môi chung	0,75 µl		37,5 µl
Tổng lượng	17,5 µl		875 µl

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng x số phản ứng)

4. Điện di kiểm tra 10 µl sản phẩm PCR trên thạch Agarogel 1,5% trong 20 phút (hoặc thạch 2.5% trong 30 phút), 100v, dùng đệm TBE 0,5X, nhuộm Redsafe. Marker 100bp.

5. Nhận định kết quả:

Handwritten signature and initials in blue ink.

Trường hợp	PCR 1	PCR 1 mẫu chứng dương A1	PCR 2	PCR 2 mẫu chứng dương T	Kiểu gen
1	Có band	Có band	Không có band	Không có band	A1A1
2	Không có band	Không có band	Có band	Có band	A2A2
3	Có band	Có band	Có band	Có band	A1A2

Người giám sát

Ngày...../...../.....

Nhân viên thực hiện

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 45:

**QUY TRÌNH KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE TRÊN
GEN NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐA HÌNH CHIỀU DÀI GIỚI HẠN
(RFLP-PCR)**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Đa hình nucleotide đơn (Single nucleotide polymorphisms/SNPs) là các dấu hiệu di truyền phong phú nhất trong bộ gen. Nhiều SNP được sử dụng rộng rãi trong lĩnh vực gen động vật và ngày càng được áp dụng rộng rãi trong các nghiên cứu di truyền thực vật. Nhiều phương pháp phát hiện SNP đã được phát triển và nhiều phương pháp trong số đó sử dụng hệ thống thông lượng cao tự động, theo quy luật đòi hỏi thiết bị đắt tiền và/hoặc có chi phí phát triển. Các phương pháp đơn giản và tiết kiệm chi phí để xác định kiểu gen SNP sẽ làm tăng khả năng tiếp cận của phòng thí nghiệm nghiên cứu trung bình đối với các dấu hiệu SNP.

Trong sinh học phân tử, **đa hình chiều dài đoạn cắt giới hạn**, hay là RFLP (thường đọc là "rif-lip"), là kỹ thuật khai thác những khác biệt trong trình tự DNA. Trong phân tích RFLP, DNA mẫu được cắt thành các đoạn nhỏ bằng cách sử dụng các enzyme cắt giới hạn, và sau đó các đoạn DNA nhỏ tạo thành được phân tách dựa theo kích thước bằng kỹ thuật điện di trên gel. Mặc dù ngày nay kỹ thuật này đã trở nên lỗi thời do bị thay thế bởi công nghệ giải trình tự, RFLP là công nghệ nghiên cứu đa hình DNA đầu tiên đủ rẻ để có thể được ứng dụng một cách rộng rãi. RFLP là công cụ quan trọng trong lập hồ sơ di truyền, lập bản đồ hệ gen, định vị gen chịu trách nhiệm cho các rối loạn di truyền, xác định nguy cơ mang bệnh, và xét nghiệm phả hệ.

1.2. Định nghĩa

- Đa hình nucleotide

+ Đa hình nucleotide đơn (Single nucleotide polymorphism-SNP) được định nghĩa là một kiểu đa hình liên quan đến sự biến đổi của một cặp base duy nhất. Các nghiên cứu đang tìm kiếm các SNP trong hệ gen liên kết với bệnh, phản ứng thuốc và các kiểu hình khác của người nhằm mục đích lựa chọn được phẩm phù hợp trong điều trị bệnh ở người.

+ Các SNP là loại biến dị di truyền phổ biến nhất ở người. Mỗi SNP đại diện cho sự khác biệt về một cặp nucleotide của DNA, đó là sự thay thế nucleotide loại này bằng nucleotide loại khác không bổ sung (ví dụ cytosine -C bằng thymine -T) trong một đoạn DNA nhất định. SNP xảy ra bình thường trong một phân tử DNA của người, tần suất xuất hiện các SNP là thấp. Mỗi vị trí SNP trong hệ gene có thể có tối đa bốn phiên bản, ứng với 4 loại nucleotide A, C, G và T. Tuy nhiên, không phải tất cả các thay đổi nucleotide đều là SNP. Để được gọi là SNP, hai hoặc nhiều phiên bản của một trình tự phải có mặt trong ít nhất 1% cá thể trong quần thể. SNP xuất hiện trong toàn bộ hệ gene người với tần suất 1/300, nghĩa là cứ 300 bp có một SNP và trong 3 tỷ nucleotide của DNA người sẽ có khoảng 10 triệu SNP. Những biến thể SNP có thể là duy nhất hoặc xảy ra ở nhiều cá thể, hiện nay đã tìm thấy hơn 100 triệu SNP trong các quần thể người trên toàn thế giới. Sự phân bố các SNP trong quần thể theo tỷ lệ là: 40%A, 34%C, 25%G, 1%T.

- Phản ứng PCR

+ Thuật ngữ PCR chỉ một phản ứng nhân bản DNA dựa trên các chu kỳ nhiệt. Phản ứng diễn ra trong một ống nghiệm nhỏ chứa dung dịch phản ứng (gọi là PCR mix). Trong PCR mix sẽ chứa các thành phần:

1) Polymerase chịu nhiệt (Taq polymerase), enzyme này có nhiệt độ hoạt động tối ưu ở 72 °C.

2) 4 loại nucleotide (dNTP) gồm: dATP/dTTP/dGTP/dCTP là nguyên liệu để tổng hợp ra các bản sao DNA.

3) DNA chứa trình tự mục tiêu (Template): Thông thường trong xét nghiệm thì đây là DNA thu nhận từ mẫu cần xét nghiệm.

4) Cặp mồi đặc hiệu (Primer): Đây là các đoạn oligo-nucleotide dài khoảng 20 nucleotide và bắt cặp bổ sung đặc hiệu cho 2 đầu trình tự mục tiêu cần nhân bản.

5) Cation Mg^{2+} ($MgCl_2$): đây là co-factor quan trọng để Taq polymerase hoạt động hiệu quả.

6) Dung dịch đệm Tris-KCl (PCR Buffer): Cung cấp môi trường thuận lợi cho phản ứng nhân bản diễn ra.

+ Ống nghiệm chứa PCR mix sẽ được đặt vào trong buồng ủ của máy luân nhiệt (Thermo cycler), ở Việt Nam thì thường gọi luôn là máy PCR. Nhiệt độ bên trong buồng ủ của máy PCR sẽ thay đổi theo chu kỳ, nhờ đó mà quá trình nhân bản DNA được diễn ra.

1.3. Nguyên lý

Khuếch đại gen bằng kỹ thuật PCR

Phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR) là một kỹ thuật nhanh chóng và hiệu quả được sử dụng để khuếch đại một đoạn ADN mục tiêu có kích thước nhỏ tạo ra hàng triệu bản sao của ADN. Sự khuếch đại này được thực hiện nhờ các chu trình luân nhiệt (có thể 20-40 chu kỳ) gồm 3 bước: (1) Biến tính (Denaturation): tách rời ADN mạch đôi thành mạch đơn bằng nhiệt tại nhiệt độ từ 94-96°C. (2) Bắt cặp (Annealing) cho phép sự bắt cặp giữa mồi với khuôn mẫu ADN trong khoảng nhiệt từ 40-70°C. (3) Kéo dài (Elongation) mạch mới được tổng hợp theo nguyên tắc bổ sung nhờ ADN polymerase tại 72°C.

Sau khi phản ứng khuếch đại hoàn thành, sử dụng phương pháp điện di trên thạch agarose để kiểm tra sự hiện diện và kích thước của các đoạn ADN được tạo ra.

Trong kỹ thuật RFLP-PCR là kỹ thuật nghiên cứu tính đa hình chiều dài của các phân đoạn DNA dựa trên điểm cắt các enzyme giới hạn (Restriction Enzyme, RE). Khi ủ ADN với enzyme giới hạn ở dung dịch đệm, nhiệt độ thích hợp sẽ tạo ra những phân đoạn ADN với kích thước khác nhau, từ đó sử dụng kỹ thuật điện di trên thạch agarose để xác định được các đa hình đơn gen.

Các enzyme giới hạn (RE)

Enzyme giới hạn được Werner Arber tìm thấy ở vi khuẩn vào năm 1962. Ông cho rằng các RE có khả năng rất đặc biệt đó là khả năng nhận biết DNA chủ và DNA lạ. Enzyme này hạn chế sự nhân lên của ADN lạ khi chúng xâm nhập vào tế bào vi khuẩn bằng cách cắt chúng ra thành từng đoạn một cách đặc hiệu, vì thế ông gọi là restriction có nghĩa là hạn chế. Với phát minh này ông cùng các cộng sự (Daniel Nathans và Hamilton O. Smith) đã giành giải thưởng Nobel vào năm 1978. Các RE hợp thành hệ

thống bảo vệ ở tế bào sơ hạch (procaryote), một câu hỏi đặt ra là vì sao các RE chỉ cắt DNA của các phage mà không cắt DNA của tế bào vi khuẩn? Câu trả lời là nhờ Methylase đây là enzym giúp vi khuẩn có khả năng này, chính enzym này chịu trách nhiệm gắn nhóm methyl (CH_3) vào các nucleotides ở vị trí cắt của các RE trên DNA của vi khuẩn vì thế bảo vệ DNA của vi khuẩn khỏi sự phân cắt của RE. Tuy vậy đôi lúc methylase lại gắn nhầm cả nhóm methyl vào chính DNA của phage, điều này giải thích vì sao đối với các dòng vi khuẩn kháng phage vẫn có các tế bào bị phân hủy.

Enzyme cắt giới hạn đầu tiên được phân lập vào năm 1968, cho đến nay có khoảng 3.400 RE được khám phá. Trong số này có khoảng 540 RE đã được thương mại hóa.

Có 3 loại **enzyme cắt giới hạn**: **Loại I**: khi enzym nhận biết trình tự nó sẽ di chuyển trên phân tử DNA cách đó 1000-5000 nucleotide và giải phóng độ vài chục nucleotide. **Loại II**: enzyme nhận biết trình tự và cắt ngay vị trí đó. **Loại III**: enzyme nhận biết trình tự và cắt DNA ở vị trí cách đó 20 nucleotide.

Điện di ngang trên thạch agarose

Điện di trên gel (gel electrophoresis) áp dụng trong sinh học phân tử là một kỹ thuật để phân tích các phân tử DNA, RNA hay protein dựa trên các đặc điểm vật lý của chúng như kích thước, hình dạng hay điểm đẳng điện tích (isoelectric point). Kỹ thuật này sử dụng một dung dịch đệm (buffer) để dẫn điện và tạo điện trường đều, một bản gel (thường là agarose hay polyacrylamide) đóng vai trò là thể nền để phân tách các phân tử, và các chất nhuộm khác nhau (ethidium bromide, bạc, xanh Coomassie) để phát hiện vị trí các phân tử trên gel sau khi điện di. Kỹ thuật điện di hoạt động nhờ vào lực kéo của điện trường tác động vào các phân tử tích điện và kích thước lỗ của thể nền (gel). Gel cấu tạo bởi các chuỗi cao phân tử (polymer) được liên kết chéo với nhau tạo thành một hệ thống mạng lưới với kích thước các mắt lưới tùy thuộc vào nồng độ chất cao phân tử (agarose, polyacrylamide) và phản ứng tạo liên kết chéo. Các phân tử được phân tách khi di chuyển trong gel với vận tốc khác nhau nhờ vào sự khác nhau của (a) lực của điện trường tác động lên chúng (nếu các phân tử tích điện khác nhau) (b) kích thước của phân tử so với kích thước lỗ của gel và (c) hình dạng, độ cong kênh của phân tử. Các đoạn DNA tách biệt có thể nhìn thấy dưới dạng các dải ở các vị trí khác nhau trong ma trận gel. Các dải DNA này giúp xác định kích thước của các phân tử DNA trên gel agarose dọc theo thang DNA (mẫu có kích thước đoạn DNA đã biết).

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhiệm vụ	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	01	Trình độ đại học Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật
2	Người phê duyệt kết quả	01	Trình độ đại học trở lên

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất (sử dụng cho phân tích 14 mẫu/lần phản ứng + 5% tiêu hao)

- Chứng âm là nước khử ion đã tiệt trùng không có mẫu ADN : 1 mẫu

Handwritten signatures:



- Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH₂O) : 2mL
- Taq polymerase: 20 μ L
- dNTPs 100 mM: 20 μ L
- Ion (MgCl₂) Mg²⁺ (1mL/ống): 25 μ L
- Dung dịch đệm cho phản ứng PCR (PCR buffer) 10x (1mL/ống): 30 μ L
- Mồi xuôi (10 pmol): 1 mỗi
- Mồi ngược (10 pmol): 1 mỗi
- Enzyme cắt giới hạn: 21 μ L
- Dung dịch đệm ổn định môi trường enzyme cắt giới hạn: 50 μ L
- Dung dịch đệm TBE hoặc TAE 0,5x: 60 mL
- Dung dịch nhuộm ADN : 5 μ L
- Thạch Agarose: 1g
- Thanh ADN chuẩn: 3 μ L

Lưu ý: Tùy điều kiện thực tế của phòng thí nghiệm có thể dùng các loại Master-mix thương phẩm có phối hợp các thành phần phản ứng PCR và tính toán tỷ lệ các thành phần theo quy trình.

2.2.2. Vật tư khác (áp dụng cho 14 mẫu trong quy trình)

- Bình xịt chứa cồn ethanol 70% sát khuẩn nhanh: 1 lọ
- Bút lông dầu viết không xóa được: 1 cái
- khay chứa đá vụn: 1 cái
- Cồn khử khuẩn (70%): ~50 mL
- Ethanol (96-100%): ~50 mL
- Tuýp ly tâm thể tích 1,5 mL : 2 cái
- Dải 8 tuýp PCR (kèm nắp) thể tích 0,1 mL, 0,2 mL: 2 cái. Có thể lựa chọn các loại ống PCR 0,1 mL, 0,2 mL rời (kèm nắp), phiên 96 giếng hoặc phiên 46 giếng (kèm miếng dán) phù hợp.

- Đầu côn (típ) vô trùng không lọc thể tích 1000 μ L: 2 cái
- Đầu côn (típ) vô trùng không lọc thể tích 200 μ L: 30 cái
- Đầu côn (típ) vô trùng có lọc thể tích 200 μ L: 45 cái
- Đầu côn (típ) vô trùng có lọc thể tích 10 μ L: 22 cái
- Túi rác đựng rác thải y tế: 1 cái
- Khẩu trang y tế: 1 cái
- Găng tay y tế: 2 đôi
- Quần áo bảo hộ: 1 bộ

2.3. Thiết bị

- Khay giữ nhiệt dành cho ống PCR 0.2mL, 96 vị trí: 1 cái

- khay đựng mẫu, 96 vị trí: 1 cái
- Giá để dụng cụ, hoá chất inox: 1 cái
- Hộp đựng mẫu, 96 vị trí: 1 cái
- Tủ pha hóa chất an toàn sinh học: 1 tủ
- Máy lắc vortex: 1 máy
- Máy ủ nhiệt khô hoặc máy ủ nhiệt nước có thể đạt 95°C: 1 máy
- Cân điện tử sai số $\pm 0,01\text{g}$: 1 chiếc
- Giá treo Micropipet : 1 cái
- Micropipet 2-20 μL : 1 cái
- Micropipet 20-200 μL : 1 cái
- Micropipet 100-1000 μL : 1 cái
- Máy điện di: 1 máy
- Máy minispin: 1 máy
- Máy luân nhiệt (máy Applied Biosystem 2720 Thermocycle hoặc Veriti Veriti™ 96-Well Thermal Cycler hoặc các loại máy luân nhiệt khác): 1 máy
- Tủ pha hóa chất sinh phẩm: 1 tủ
- Máy chụp ảnh thạch: 1 máy
- Tủ mát +4°C: 1 tủ
- Tủ lạnh -20°C: 1 tủ
- Tủ lạnh -80°C: 1 tủ
- Túi rác đựng đầu côn (típ) và hóa chất: 1 cái

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

a) Nhân viên xét nghiệm

- Phải được tập huấn quy trình nhân gen bằng phương pháp RFLP-PCR.
- Phải nắm rõ các nguyên vật liệu cần thiết, hóa chất, vật liệu tiêu hao phục vụ cho việc nhân gen bằng phương pháp RFLP-PCR.
- Luôn mặc áo bảo hộ, găng tay dùng một lần trong phòng thí nghiệm.
- Phải nắm rõ đúng quy trình khử khuẩn trước và sau khi thực hiện quy trình.

b) ADN khuôn mẫu

- Các mẫu ADN cần được đo nồng độ và xác định độ tinh sạch bằng cách dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 μL có lọc hút chính xác 2 μL ADN khuôn mẫu lên máy nanodrop.
- Các mẫu ADN cần được kiểm tra độ tinh sạch bằng tỷ số : OD260 nm/ OD280 nm nằm trong khoảng 1,8 – 2.
- Sau khi đo, mẫu ADN phải được pha loãng về cùng một nồng độ tối thiểu 10 ng/ μL .

- Với các mẫu không đảm bảo nồng độ tối thiểu và độ tinh sạch như trên, kết quả PCR có thể không được như mong muốn vì thế sẽ không được sử dụng để phân tích mẫu.

c) Pha loãng mỗi và chuẩn bị hoá chất (**20 phút**)

- Khi nhận mỗi từ nhà sản xuất, luôn kèm theo thông tin và thông số của các mỗi (xuôi và ngược), cần chú ý đến khối lượng bột bên trong ống (Amount of oligo) để pha mỗi gốc trước khi pha loãng mỗi thí nghiệm.

- Các dụng cụ dùng trong pha mỗi phải chiếu UV, nước pha tốt nhất là dùng nước tiệt trùng dH₂O, phải chuẩn bị đá để giữ lạnh ống trong lúc pha mỗi.

- Chuẩn bị hóa chất sinh phẩm cần thiết cho bước PCR để tan đông trong tủ lạnh 4°C:

+Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH₂O).

+Taq polymerase

+dNTPs 100 mM

+Ion (MgCl₂) Mg²⁺ (1mL/ống)

+Dung dịch đệm cho phản ứng PCR (PCR buffer) 10x (1mL/ống)

+Cặp mỗi (mỗi xuôi và mỗi ngược) đã pha loãng nồng độ 10 pmol/μL

- Trộn nhẹ các hóa chất cho đồng nhất máy vortex trong 30 giây và ly tâm ngắn bằng máy Minispin 30 giây, sau đó xếp lên phiên lạnh hoặc đặt vào hộp đá vụn. Thứ tự xếp theo trình tự pha gồm dH₂O, Master Mix, mỗi xuôi và mỗi ngược.

- Chuẩn bị hóa chất cần thiết cho bước ủ RE ra tủ mát 4°C trước 10 phút để rã đông, bao gồm:

*Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH₂O),

*Đệm ổn định enzyme cắt giới hạn 10X

*Enzyme cắt giới hạn (bảo quản ở tủ -20°C hoặc -80°C, lấy ra khi sử dụng và cất vào tủ bảo quản ngay khi sử dụng)

d) Trang bị xét nghiệm

- Kiểm tra các trang bị dụng cụ lấy mẫu theo hướng dẫn, trang phục bảo hộ cá nhân.

- Bật tủ pha hóa chất sinh phẩm trước khi làm 15 phút.

- Khử trùng pipet và mặt bàn bằng cồn 70° trước khi làm thí nghiệm.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Nhân viên xét nghiệm	Chuẩn bị dụng cụ	15 phút
2	Nhân viên xét nghiệm	Pha hóa chất	15 phút
3	Nhân viên xét nghiệm	Chạy máy PCR	90 phút

4	Nhân viên xét nghiệm	Điện di kiểm tra sản phẩm PCR	60 phút
	Nhân viên xét nghiệm	Ủ sản phẩm PCR với enzyme cắt giới hạn	60 phút
	Nhân viên xét nghiệm	Điện di kiểm tra sản phẩm PCR	60 phút
5	Người phê duyệt kết quả	Phê duyệt kết quả	5 phút

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

Quy trình này được nhân viên y tế thuộc các phòng xét nghiệm hoặc phòng thí nghiệm hoặc là các đơn vị có liên quan thực hiện.

3. An toàn

- Một số rủi ro có thể gặp trong quy trình này : sử dụng tủ UV, sử dụng máy ly tâm có thể gây văng mẫu hoặc vỡ ống, hoá chất nhuộm sử dụng không an toàn, có thể dị ứng cồn.

- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Thực hiện phản ứng PCR

5.1.1. Pha dung dịch PCR Master Mix (áp dụng cho 14 mẫu) (20 phút)

- Lấy hai ống eppendorf 1,5 mL, 1 ống để pha master mix (ghi trên nắp là « MIX »), 1 ống chứa nước để cân bằng khi ly tâm ghi trên nắp là H₂O.

- Xác định số phản ứng cho mỗi master mix:

Số phản ứng = mẫu +chứng dương (nếu có) + chứng âm + 1

Ví dụ: Có 14 mẫu cần phân tích kiểu gen, sẽ có : 14 mẫu + 1 mẫu chứng dương + 1 chứng âm (mẫu không chứa ADN) + 4 = 20 phản ứng.

- Sử dụng Micropipet phù hợp với các thể tích cần hút theo thứ tự các thành phần và tỉ lệ như bảng bên dưới vào ống pha dung dịch master mix.

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Nước khử ion đã hấp tiết trùng (dH ₂ O)	11,4 µl	X 20	228 µl
+ 10x PCR buffer	2 µl		40 µl
+ 50 mM MgCl ₂	1,5 µl		30 µl
+ 10 mM dNTP mix	1 µl		20 µl
+ Taq DNA Polymerase	0,1 µl		2,0 µl
+ Mỗi xuôi	1 µl		20 µl
+ Mỗi ngược	1 µl		20 µl
Tổng lượng	18 µL		324 µL

Handwritten signature and initials in blue ink.

(Ghi chú: có thể điều chỉnh tên thành phần, lượng mỗi thành phần và tổng lượng phản ứng RFLP-PCR cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm, máy móc và sinh phẩm hiện có và yêu cầu xét nghiệm)

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút chính xác 228 μ l nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) vào ống MIX.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ L không lọc hút chính xác 40 μ l dung dịch 10x PCR buffer vào ống MIX.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ L không lọc hút chính xác 30 μ l dung dịch 50 mM MgCl_2 vào ống MIX.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ L không lọc hút chính xác 20 μ l dung dịch 10 mM dNTP mix vào ống MIX.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 10 μ L không lọc hút chính xác 2,0 μ l Taq DNA Polymerase vào ống MIX.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ L có lọc hút chính xác 20 μ l mỗi xuôi vào ống MIX.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200 μ L có lọc hút chính xác 20 μ l mỗi ngược vào ống MIX.

- Đậy nắp ống MIX và lắc nhẹ cho dung dịch đồng nhất bằng máy vortex trong 60 giây.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 1000 μ l không lọc hút chính xác 306 μ L nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) vào 1 ống eppendorf khác để cân bằng với ống MIX khi ly tâm.

- Ly tâm ngắn hỗn hợp vừa pha bằng máy Minispin trong 30 giây.

Lưu ý: Phải luôn bảo quản hỗn hợp phản ứng PCR trên phiến lạnh hoặc khay đá vụn để đưa sang phòng chạy máy luân nhiệt.

Bước 2: Tra mẫu

- Xếp các ống chứa ADN mẫu lên giá theo thứ tự ghi trên file kết quả (phụ lục).

- Lắc nhẹ các ống chứa ADN mẫu bằng tay để đảm bảo mẫu đã giải đông hoàn toàn trong 60 giây.

- Ly tâm ống chứa ADN mẫu bằng máy ly tâm minispin trong 30 giây.

- Đặt ống PCR có thể tích 0,2 mL trên đá vụn hoặc phiến lạnh.

- Đánh số thứ tự lên các ống PCR tương ứng với các mẫu ADN ghi trong file kết quả.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 μ l hút chính xác 18 μ l hỗn hợp master mix từ ống MIX vào các ống PCR đã được đánh số (ở bước 5).

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 μ l có lọc hút chính xác 2 μ l ADN mẫu vào ống PCR có chứa master mix (ở bước 6).

Lưu ý: với mỗi ADN mẫu phải đi với một số thứ tự riêng ghi trên ống PCR

- Đóng nắp ống PCR.

Lưu ý: nếu sử dụng dài ống PCR thì sau khi có được tổng thể tích dung dịch của ống PCR, dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 μ l không lọc hút chính xác 20 μ l nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) vào 1 dài ống PCR khác có thể tích 0,2 mL để cân bằng khi ly tâm.

- Ly tâm ống PCR bằng máy minispin trong 30 giây.
- Kiểm tra nắp ống PCR đã được đóng chặt tránh bay hơi trong quá trình chạy máy.
- Đưa tới phòng đặt máy PCR.

Lưu ý: Phải luôn bảo quản hỗn hợp phản ứng PCR trên phiến lạnh hoặc khay đá vụn để đưa sang phòng chạy máy luân nhiệt.

Bước 3: Chu trình nhiệt (90 phút)

- Khởi động máy luân nhiệt.
- Đặt ống PCR vào trong máy luân nhiệt.
- Đóng nắp máy luân nhiệt và cài đặt chu trình nhiệt.

Bước 4: Điện di kiểm tra sản phẩm PCR (120 phút)

- Trong khi đợi máy luân nhiệt, chuẩn bị thạch agarose 1,5%, pha đệm TBE 0,5X, và chuẩn bị máy điện di.
- Đặt thạch agarose 1,5% vào máy điện di có chứa dung dịch đệm TBE 0,5X.
- Sau khi hoàn thành chu trình nhiệt, lấy mẫu ra khỏi máy luân nhiệt để điện di kiểm tra sản phẩm PCR.
- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 μ l không lọc hút chính xác 5,0 μ l sản phẩm PCR lên trên thạch agarose 1,5%.
- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 μ l không lọc hút chính xác 3,0 μ l thang ADN chuẩn Marker 100bp lên trên thạch agarose 1,5%.

- Khởi động máy điện di với điện trở 100V trong 30 phút.
- Sau khi điện di, chụp hình kết quả điện di bằng máy chụp ảnh.
- Lưu kết quả và lưu mẫu vào tủ mát 4°C để thực hiện các bước tiếp theo.

Bước 5: Ủ enzyme cắt giới hạn với sản phẩm PCR

5.2.1. Pha dung dịch ủ enzyme (20 phút)

- Lấy 1 ống effendorf có thể tích 1,5 mL để pha hỗn hợp ủ (gọi là ống «Ủ RE»).
- Xác định số lượng phản ứng theo công thức: **Số phản ứng = số mẫu + 4**

Ví dụ: Có 12 mẫu cần ủ, sẽ có : 16 mẫu + 4 = 20 phản ứng.

- Pha dung dịch ủ theo thứ tự các thành phần và tỉ lệ như bảng bên dưới vào ống pha dung dịch ủ; riêng RE khi nào dùng mới lấy từ tủ âm sâu và trả ngay vào tủ âm sâu.

Thành phần	Lượng cần phản ứng	Số phản ứng	Thể tích cần pha
Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O)	9,0 μ l	x 20	180 μ l

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

Dung dịch đệm 10X	3,2 µl		64 µl
Enzyme cắt giới hạn	0,3 µl		6 µl
Tổng	12,5 µl		250 µl

(Ghi chú: có thể điều chỉnh tên thành phần, lượng mỗi thành phần và tổng lượng phản ứng RE cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm, máy móc và sinh phẩm hiện có và yêu cầu xét nghiệm)

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200µl không lọc hút chính xác 180 µl nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) vào ống U RE .

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 200µl không lọc hút chính xác 64 µl dung dịch CutSmart® NEBuffer 10X vào ống U .

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 10µl có lọc hút chính xác 6,0 µl enzyme cắt giới hạn vào ống U RE . Sau khi sử dụng xong ống chứa enzyme cần bảo quản ngay vào tủ âm sâu (theo quy định của nhà sản xuất) để tránh ảnh hưởng đến chất lượng.

- Đậy nắp ống U RE và lắc nhẹ cho dung dịch đồng nhất trong 60 giây.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200µl không lọc hút chính xác 212,5 µl nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O) vào 1 ống effendorf khác để cân bằng với ống U RE khi ly tâm.

- Ly tâm ngắn hỗn hợp vừa pha bằng máy Minispin trong 30 giây. .

Bước 6 : Tra mẫu U enzyme cắt giới hạn (20 phút)

- Đánh số thứ tự lên các ống effendorf mới có thể tích 1,5 mL.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 µl không lọc hút chính xác 12.5 µl hỗn hợp vào các ống đã đánh số thứ tự ở bước 1.

- Lắc nhẹ các ống chứa sản phẩm PCR, sau đó ly tâm bằng máy minispin trong 30 giây.

- Dùng Micropipet với đầu côn (típ) 10 µl có lọc hút chính xác 7.5 µl sản phẩm PCR cho vào ống chứa hỗn hợp trên theo thứ tự ghi trên ống.

- Trộn nhẹ bằng máy voltex cho đến khi dung dịch đồng nhất.

- Ly tâm ngắn bằng máy Minispin trong 30 giây.

- Đưa các ống vào máy ổn nhiệt trong 20 phút.

Bước 7 : Điện di kiểm tra sản phẩm sau U enzyme (60 phút)

- Sau khi hoàn thành bước U , dùng Micropipet với đầu côn (típ) 200 µl có lọc hút chính xác 10µl lên thạch agarose 2,5%, TBE 0,5X, 100 V trong vòng 40 phút.

- Dùng Micropipet đầu côn (típ) 10 µl không lọc hút chính xác 3,0µl ADN thang ADN chuẩn Marker 100bp lên trên thạch agarose 1,5%.

- Chụp hình kết quả điện di bằng máy chụp ảnh. Lưu ảnh và đọc kết quả.

4.2. Nhận định kết quả

Kết quả nhân gen bằng kỹ thuật RFLP-PCR được chấp nhận khi đảm bảo 2 tiêu chí:

- Ở giếng có chứa mẫu nước không có băng (band) trên thạch agarose.

- ở giếng có chứa mẫu chứng dương có băng trên thạch agarose.

- Ở các giếng có chứa ADN khuôn mẫu phải có băng sáng.

Kết quả ủ sản phẩm PCR bằng enzyme cắt giới hạn được chấp nhận khi đảm bảo 2 tiêu chí:

- Ở giếng có chứa mẫu nước không có băng trên thạch agarose.
- Ở các giếng có sản phẩm PCR phải có băng sáng, kích thước và số lượng các băng được phân tách rõ ràng.

Nhận định kết quả:

- Có 1 băng sáng ở trên thạch agarose: kiểu gen đồng hợp tử alen 1
- Có 2 băng sáng ở trên thạch agarose: kiểu gen đồng hợp tử alen 2
- Có 3 băng sáng ở trên thạch agarose: kiểu gen dị hợp tử alen 1-alen 2

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ghi chú và nhập kết quả thực hiện thí nghiệm phân tích kiểu gen vào file mẫu «**Mẫu ghi kết quả genotyping gen bằng phương pháp RFLP-PCR**» (xem phụ lục 1)

- Lưu tại Khoa, phòng theo quy định.

- Đối với các chỉ định trong phòng khám, các kết quả sẽ được trả cho người bệnh.

- Đối với trong các nghiên cứu, không trả kết quả cho từng người, tuy nhiên, một số trường hợp có vấn đề về sức khỏe hoặc có yêu cầu cần trả kết quả sẽ do chủ nhiệm đề tài quyết định.

5. Những sai sót và xử trí

Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học.

Một số việc cần lưu ý gồm:

- Thu gọn các dụng cụ, hóa chất cẩn thận, tránh đổ vỡ.
- Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học.
- Vệ sinh bàn thí nghiệm, tủ an toàn sinh học bằng Ethanol 70% sau khi làm thí nghiệm.
- Rác thải từ quá trình thí nghiệm, găng tay, đồ tiêu hao cho vào thùng rác màu vàng.
- Nước thải quá trình tách chiết ADN cho vào lọ riêng và đưa đi xử lý theo đúng quy trình.
- Rác thải từ quá trình thí nghiệm, găng tay, đồ tiêu hao cho vào thùng rác màu vàng.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Nội kiểm tại phòng thí nghiệm
- Một số mẫu sẽ được lấy ngẫu nhiên để giải trình tự Sanger hoặc các phương pháp khác đã được ban hành để đối chiếu.
- Một số giải pháp kiểm tra chất lượng khác : hiệu chuẩn trang thiết bị, giám sát viên hoặc trưởng phòng kiểm tra kết quả và quá trình thực hiện quy trình.

PHỤ LỤC 1:

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE TRÊN GEN NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐA HÌNH CHIỀU DÀI GIỚI HẠN (RFLP-PCR)	Trang số:.....
--	-----------------------

Nhân viên thực hiện:
hiên:.....

Ngày thực

Sử dụng quy trình SOP số

Các mẫu sử dụng

Mẫu chứng dương:..... Số lượng:.....

Mẫu chứng âm:..... Số lượng:.....

ADN của đối tượng:.....mẫu

[illegible]

6. Cặp mồi sử dụng

Mồi xuôi: _____

Mồi ngược: _____

7. Thực hiện nhân đoạn gen bằng phản ứng PCR**Pha Master mix**

– Thành phần phản ứng:

Số phản ứng = mẫu + chủng dương + chủng âm + 4 = phản ứng

Thành phần	Lượng cần/phản ứng	Số phản ứng	Tổng lượng
+ Nước khử ion đã hấp tiết trùng (dH ₂ O)	11,4 µl	X 20	228 µl
+ 10x PCR buffer	2 µl		40 µl
+ 50 mM MgCl ₂	1,5 µl		30 µl
+ 10 mM dNTP mix	1 µl		20 µl
+ Taq DNA Polymerase	0,1 µl		2,0 µl
+ Mồi xuôi	1 µl		20 µl
+ Mồi ngược	1 µl		20 µl
Tổng lượng	18 µl		324 µl

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng x số phản ứng)

Điện di kiểm tra 5 µl sản phẩm PCR trên Agarogel 2,0%, 100v trong 40 phút, dùng đệm TBE 0,5X, nhuộm Redsafe, Marker 100bp. Chụp ảnh, lưu.

8. Ủ với enzyme giới hạn trong 20 phút

Thành phần	Bảng PCR rõ	Số phản ứng	Tổng
Water, nuclear-free	9.2 µl	x 20	180 µl
Dung dịch đệm 10X	3.3 µl		64 µl
Enzyme cắt giới hạn	0,3 µl		6 µl
Sản phẩm PCR	7.2 µl		250 µl
Tổng lượng	20 µl		180 µl

(Tổng lượng = Lượng cần/phản ứng x số phản ứng)

Điện di kiểm tra 20µl sản phẩm sau ủ trên Agarogel 2,0%, 100V trong 40 phút, dùng đệm TBE 0,5X, nhuộm ADN. Marker 100bp. Chụp ảnh, lưu.

9. Nhận định kết quả:

.....

.....

...

Người giám sát

Ngày...../...../.....

Nhân viên thực hiện

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 46:

ĐỊNH LƯỢNG VI KHUẨN CHỈ TRONG PHÂN NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP REALTIME PCR

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Mục đích của quy trình là hướng dẫn kỹ thuật phân tích thành phần vi khuẩn chỉ trong phân người bằng phương pháp realtime-PCR.

1.2. Định nghĩa

- Tương tự như PCR, kỹ thuật Real-time PCR cũng bao gồm các thành phần cơ bản như dNTP, DNA Polymerase, ADN mạch khuôn, cặp mồi và dung dịch đệm. Điểm khác biệt đó là real-time PCR sử dụng chất phát huỳnh quang để máy có thể phát hiện và đo được cường độ tín hiệu từ chất này. Khi phản ứng nhân bản xảy ra tới một chu kỳ nhất định, cường độ tín hiệu huỳnh quang sẽ bắt đầu có sự gia tăng rõ rệt và tương quan với số lượng bản sao ADN được tạo ra.

- Kết quả được thể hiện dưới dạng biểu đồ quan sát được qua mỗi chu kỳ, từ đó có thể đưa ra đánh giá về hiệu quả khuếch đại ADN mục tiêu. Real-time PCR yêu cầu có thiết bị đo cường độ phát huỳnh quang từ tuýp mẫu và cài chương trình phần mềm cho phép xử lý kết quả về sự biến đổi cường độ huỳnh quang.

1.3. Nguyên lý

- Chu trình nhiệt của Real-time PCR cũng có 3 giai đoạn cơ bản tương tự như PCR và theo dõi được số lượng bản sao theo chu kỳ phản ứng nhân gen bao gồm:

+ Giai đoạn biến tính: Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 94-95°C, lúc này liên kết hydro giữa các bazơ trong sợi ADN mạch đôi bị phá vỡ, dẫn đến tạo thành 2 sợi đơn ADN. Mỗi sợi đơn này trở thành khuôn để tổng hợp mạch mới. Thời gian biến tính có thể tăng lên nếu thành phần khuôn có nhiều GC.

+ Giai đoạn bắt cặp: Nhiệt độ phản ứng giảm xuống còn 50-65°C trong 20-40 giây để probe và mồi gắn lần lượt vào sợi DNA khuôn và bắt đầu quá trình tổng hợp mạch mới nhờ vào sự hoạt động của DNA polymerase.

+ Giai đoạn kéo dài: Nhiệt độ phản ứng tăng lên 72°C, đây là nhiệt độ tối ưu cho hoạt động tổng hợp mạch mới của ADN polymerase. Giai đoạn này không bắt buộc ở một số chu trình PCR định lượng (Qpcr), do kỹ thuật này thường dùng khuếch đại các đoạn có trình tự ngắn hơn PCR, vào khoảng <200bp, do vậy chỉ cần hai bước biến tính và bắt cặp là đủ để khuếch đại đoạn gen mục tiêu trong phản ứng qPCR. Chu trình chỉ gồm 2 bước giúp tiết kiệm thời gian, nhanh chóng phát hiện và định lượng được ADN.

- Các giai đoạn này được thực hiện thông qua sự luân chuyển nhiệt độ giữa các chu kỳ. Qua mỗi chu kỳ, tín hiệu huỳnh quang sẽ được ghi nhận có sự gia tăng tương ứng với lượng bản sao ADN nhân lên theo cấp số lũy thừa.

- Tỷ lệ % về số vi khuẩn của từng nhóm vi khuẩn được tính bằng cách so sánh giá trị ngưỡng Ct (Threshold cycle, là số chu kỳ mà tại đó sản phẩm khuếch đại có thể được phát hiện do sự thay đổi của tín hiệu huỳnh quang) của từng cặp gen đặc hiệu với gen đối chứng theo công thức:

Tỷ lệ (gen đối chứng/gen đích) = $2^{\Delta Ct}$, với $\Delta Ct = Ct \text{ gen đối chứng} - Ct \text{ gen đích}$

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

STT	Nhân lực	Số lượng	Yêu cầu năng lực
1	Nhân viên xét nghiệm	01	Trình độ đại học Được đào tạo thành thạo về quy trình kỹ thuật
2	Người phê duyệt kết quả	01	Trình độ đại học trở lên

2.2. Vật tư

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Bộ sinh phẩm tách ADN từ mẫu phân Qiaamp fast DNA stool mini: 1 Bộ
- Chứng dương: 2 μL
- Mẫu dung dịch ADN đã pha chuẩn nồng độ 10 ng/ μL : 2 μL
- Nước khử ion đã hấp tiệt trùng (dH_2O): 2,3 μL
- Master mix cho real-time PCR: 5 μL
- Đệm phản ứng: 0,25 μL
- Thuốc nhuộm: 0,15 μL
- Các cặp mồi xuôi và mồi ngược (10 pmol): 0,15 μL / mồi
- Ethanol tinh khiết (96-100%): 4 mL

Bảng 2. Trình tự mồi cho từng nhóm khi khuẩn cần định lượng

Stt	Nhóm vi khuẩn	Độ dài sản phẩm PCR (bp)	Tên mồi	Độ dài mồi	Trình tự mồi (5'-3')
1	<i>Clostridium coccooides</i> – <i>Eubacteria rectale</i>	429	ClEub F	19	CGGTACCTGACTAAGAAGC
			ClEub R	19	AGTTTYATTCTTGCGAACG
2	<i>Clostridium leptum</i>	239	CleptF	16	GCACAAGCAGTGGAGT
			CleptR	18	CTTCCTCCGTTTTGTCAA
3		440	CcocF	20	AAATGACGGTACCTGACTAA

Stt	Nhóm vi khuẩn	Độ dài sản phẩm PCR (bp)	Tên mồi	Độ dài mồi	Trình tự mồi (5'-3')
	<i>Clostridium coccoides</i>		CcocR	22	CTTTGAGTTTCATTCTTGCGA A
4	<i>Roseburia</i>	230	RosF	20	TACTGCATTGGAAACTGTCTG
			RosR	17	CGGCACCGAAGAGCAAT
5	<i>Bacteriodes – Prevotella</i>	410	BacF	17	GAAGGTCCCCCACATTG
			BacR	18	CAATCGGAGTTCTTCGTG
6	<i>Prevotella</i>	283	PrevF	17	CACCAAGGCGACGATCA
			PrevR	17	GGATAACGCCYGGACCT
7	<i>Lactobacillus</i>	341	LacF	19	AGCAGTAGGGAATCTTCCA
			LacR	17	CACCGCTACACATGGAG
8	<i>Bifidobacterium</i>	126	BifF	21	GCGTGCTTAACACATGCAAGT C
			BifR	21	CACCCGTTTCCAGGAGCTATT
9	Môi chung vi khuẩn	466	UnivF	19	TCCTACGGGAGGCAGCAGT
			UnivR	25	GACTACCAGGGTATCTAATCC TGTT

(Ghi chú: tùy thuộc vào yêu cầu phân tích chuyên biệt, có thể điều chỉnh và thay đổi số lượng mồi và loại mồi phù hợp)

2.2.2. Vật tư khác

Bảng 1. Nhu cầu vật tư tiêu hao cho số lượng mẫu khác nhau

Tên vật tư tiêu hao	Đơn vị tính	Số lượng cần tính theo số mẫu cần phân tích			
		1 mẫu	14 mẫu	x mẫu	96 mẫu
– Đầu côn (típ) 2 μ L không có đầu lọc	Cái	5	50	5x	480

– Đầu côn (típ) 10 μ L có đầu lọc	Cái	4	40	4x	384
– Đầu côn (típ) 200 μ L có lọc	Cái	0	2	2	2
– Tuýp PCR 0,2 mL có nắp*	Cái	1	14	x	96
– Găng tay y tế không bột talc	Đôi	1	1	1	1
– Bút viết không xóa	Cái	1	1	1	1
– Cồn khử khuẩn (70%)	mL	5	20	50	50
– Khẩu trang y tế	Cái	1	1	1	1
– Túi đựng rác thải y tế	Cái	1	1	1	1

* Tuýp PCR (kèm nắp) thể tích 0,1 mL, 0,2 mL. Có thể lựa chọn các loại tuýp PCR 0,1 mL, 0,2 mL rời (kèm nắp), phiên 96 giếng hoặc phiên 48 giếng (kèm miếng dán) phù hợp.

2.2.3. Trang phục y tế

- Bộ trang phục bảo hộ y tế : 1 bộ/ người

2.3. Thiết bị

- Tủ pha hóa chất: 1 tủ
- Máy lắc vortex: 1 máy
- khay giữ lạnh dành cho tuýp PCR 0,2 mL có 96 vị trí: 1 cái
- khay giữ lạnh dành cho tuýp 1,5-2 mL: 1 cái
- Micropipet 2-20 μ L: 1 cái
- Micropipet 20-200 μ L: 1 cái
- Micropipet 0,5-10 μ L: 1 cái
- Giá đỡ tuýp 1,5-2 mL có 96 vị trí: 1 cái
- Máy luân nhiệt StepOnePlus™ Real-Time PCR hoặc máy Real-Time PCR khác tương đương: 1 máy
- Máy ly tâm nhanh: 1 máy
- Tủ lạnh -20°C: 1 tủ

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện

ADN thu được từ tách chiết các mẫu phân được bảo quản ở -20°C cho tới khi phân tích.

Mỗi mẫu có nồng độ 10 ng/ μ L được dùng làm khuôn thực hiện phản ứng RT-PCR sử dụng từng cặp mỗi riêng (tổng có 8 cặp mỗi đặc hiệu) và với cặp mỗi chung cho toàn bộ vi khuẩn đường ruột (univF/univR), và thêm 1 mẫu chứng âm dùng H₂O như liệt kê

trong Bảng 2. Như vậy, cần có 10 phản ứng RT-PCR đơn cho mỗi mẫu và khi làm lặp lại 2 lần, cần tổng số 20 phản ứng RT-PCR cho mỗi mẫu.

Pha loãng môi

- Khi nhận môi từ nhà sản xuất, luôn kèm theo thông tin và thông số của các môi (xuôi và ngược), cần chú ý đến khối lượng bột bên trong tuýp (Amount of oligo) để pha mỗi gốc trước khi pha loãng môi thí nghiệm.

- Các dụng cụ dùng trong pha môi phải chiếu UV, nước pha là nước tiệt trùng dH₂O, phải chuẩn bị đá để giữ lạnh tuýp trong lúc pha môi.

Nhân viên xét nghiệm

- Phải được tập huấn thành thạo kỹ thuật trong PTN có liên quan đến quy trình.

- Phải nắm rõ đúng quy trình khử khuẩn trước và sau khi thực hiện quy trình.

Trang bị xét nghiệm

- Kiểm tra các trang bị dụng cụ lấy mẫu theo hướng dẫn, trang phục bảo hộ cá nhân.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Cán bộ chuyên môn sẽ chỉ định xét nghiệm phù hợp cho người bệnh hoặc trong nghiên cứu.

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật

STT	Nhân lực	Nội dung công việc	Thời gian
1	Nhân viên xét nghiệm	Chuẩn bị dụng cụ	15 phút
2	Nhân viên xét nghiệm	Tách chiết ADN từ mẫu phân	60 phút
3	Nhân viên xét nghiệm	Pha master-mix cho phản ứng Real time PCR	30 phút
4	Nhân viên xét nghiệm	Chạy máy PCR	100 phút
5	Người phê duyệt kết quả	Phê duyệt kết quả	10 phút

3. An toàn

- Một số rủi ro có thể gặp trong quy trình này : sử dụng tủ UV, sử dụng máy ly tâm có thể gây văng mẫu hoặc vỡ tuýp, hoá chất nhuộm sử dụng không an toàn, có thể dị ứng cồn.

- Xử lý mẫu, dụng cụ, trang thiết bị, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học của phòng thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

Bước 1: Pha hỗn hợp phản ứng RT-PCR

Bảng 3. Thành phần và lượng cho 1 phản ứng RT-PCR

Thành phần	Lượng cần/phản ứng (µL)	Tổng số phản ứng	Tổng lượng (µL)
- Master mix	5,00		

-40X Template Buffer	0,25		
-ROX Refence Dye	0,15		
-Mỗi xuôi	0,15		
-Mỗi ngược	0,15		
-Nước khử ion	2,30		
Tổng	8,00		

(Ghi chú: có thể điều chỉnh tên thành phần, lượng mỗi thành phần và tổng lượng phản ứng RT-PCR cho phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm, máy móc và sinh phẩm hiện có và yêu cầu xét nghiệm)

Hướng dẫn cách tính:

Tổng số phản ứng = 2 * số mẫu cần phân tích * (8 tuýp cho 8 cặp môi phát hiện 8 nhóm vi khuẩn + 1 tuýp cho cặp môi chung) + 1 mẫu chứng âm dH₂O=20 phản ứng/mẫu

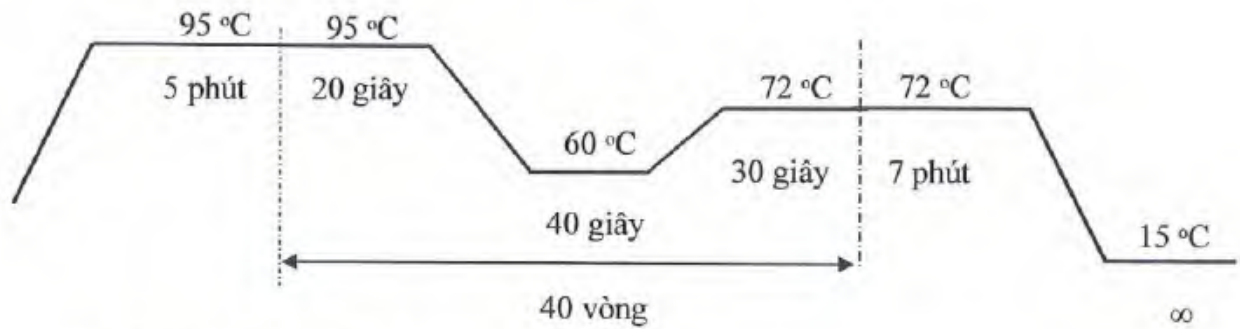
Mỗi phản ứng RT-PCR làm lặp lại 2 lần, kết quả lấy trung bình.

Bước 2: Tra mẫu:

- Xếp các tuýp chứa ADN mẫu lên giá theo thứ tự tăng dần ghi trong mẫu
- Lắc nhẹ các tuýp chứa ADN mẫu sau đó ly tâm nhanh 1.000 vòng/phút, xếp vào giá theo thứ tự tăng dần.
- Đánh số thứ tự lên các tuýp PCR tương ứng với các mẫu ADN ghi trong biểu mẫu. Tuýp PCR phải được đặt trên đá vụn hoặc phiến lạnh. Ghi ngày làm và lần làm trong ngày vào biểu mẫu (nếu trong một ngày làm nhiều lần).
- Chia lần lượt 8 µL hỗn hợp master mix vào mỗi tuýp PCR
- Dùng micropipet 0,5-10 µL hút 2,0 µL ADN mỗi mẫu cho vào tuýp PCR đã chứa dung dịch master mix. Đóng nắp tuýp PCR.
- Lắc trộn nhẹ tuýp PCR và đuổi hết bọt khí trong dung dịch, sau đó cho ly tâm ngắn bằng máy Minispin.
- Đóng và kiểm tra nắp tuýp PCR đã được đóng chặt để tránh bay hơi trong quá trình chạy máy.
- Đưa tới phòng đặt máy RT-PCR.

Bước 3: Chu trình nhiệt

- Sử dụng máy RT-PCR (StepOnePlus™ Real-Time PCR hoặc máy RT-PCR khác) theo hướng dẫn sử dụng với chu trình nhiệt như sau:



4.2. Nhận định kết quả

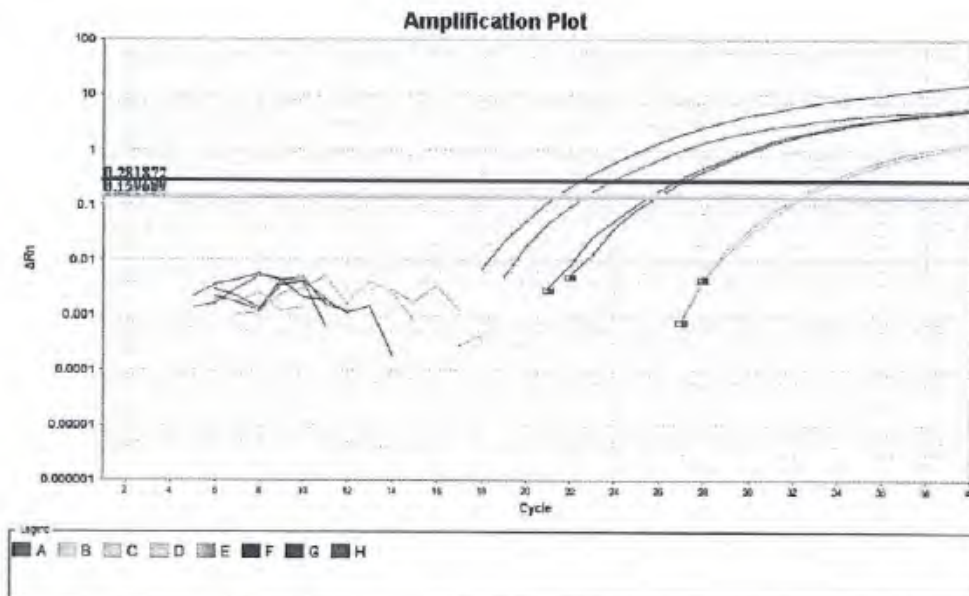
Quan sát tuýp PCR có mức dung dịch bằng nhau.

Kết quả RTqPCR được chấp nhận khi đạt các tiêu chí sau:

- Mẫu chứng âm không xác định giá trị Ct (Undetermined)
- Đường cong của các mẫu xuất hiện rõ ràng, liên tục

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Ghi chú và nhập kết quả thực hiện thí nghiệm phân tích kiểu gen vào file mẫu (phụ lục 1)
- Lưu tại Khoa, phòng theo quy định.
- Đối với các chỉ định trong phòng khám, các kết quả sẽ được trả cho người bệnh.
- Đối với trong các nghiên cứu, không trả kết quả cho từng người, tuy nhiên, một số trường hợp có vấn đề về sức khỏe hoặc có yêu cầu cần trả kết quả sẽ do chủ nhiệm đề tài quyết định.



	1	2	3
A	1 UHI Ct: 31.65	2 Sample 1 U	Sample 3 UHI Ct: 11.95
B	CCOC Ct: Undetermined	1 Sample 2 UHI Ct: 13.21	Sample 3 CCOC Ct: 17.01
C	N	1 Sample 2 UHI Ct: 12.07	Sample 3 CCOC Ct: 17.09
D	Sample 1 UHI Ct: 16.94	Sample 2 CCOC Ct: 18.47	Sample 3 U
E	Sample 1 UHI Ct: 16.96	Sample 2 CCOC Ct: 19	Sample 3 U
F	Sample 1 CCOC Ct: 20.75	Sample 2 U	
G	Sample 1 CCOC Ct: 21.1	Sample 2 U	
H	Sample 1 U	Sample 3 UHI Ct: 12.39	

Wells: U 18 Unknown N 3 Negative Control

5. Những sai sót và xử trí

Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học.

Một số việc cần lưu ý gồm:

- Thu gọn các dụng cụ, hóa chất cẩn thận, tránh đổ vỡ.
- Xử lý mẫu, dụng cụ, chất thải theo hướng dẫn an toàn sinh học.
- Vệ sinh bàn thí nghiệm, tủ an toàn sinh học bằng cồn khử trùng sau khi làm thí nghiệm.
- Rác thải từ quá trình thí nghiệm, găng tay, đồ tiêu hao cho vào thùng rác màu vàng.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Nội kiểm tại phòng thí nghiệm
- Một số mẫu sẽ được lấy ngẫu nhiên để giải trình tự Sanger hoặc các phương pháp khác đã được ban hành để đối chiếu.
- Một số giải pháp kiểm tra chất lượng khác : hiệu chuẩn trang thiết bị, giám sát viên hoặc trưởng phòng kiểm tra kết quả và quá trình thực hiện quy trình.

7. Tài liệu tham khảo, tham chiếu

- Hướng dẫn sử dụng máy RT-PCR
- Quy trình xử lý rác thải phòng thí nghiệm

Handwritten signature and initials in blue ink.

8. Phụ lục kèm theo quy trình kỹ thuật dịch vụ số 46:**Phụ lục 1****Mẫu ghi kết quả phân tích RT-PCR**

Ngày:

Nhân viên thực hiện:

Mẫu:

STT	Mã số mẫu	C_t của qPCR lần 1	Tỷ lệ của qPCR lần 1	C_t của qPCR lần 2	Tỷ lệ của qPCR lần 2

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 47:

XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm xác định độ ẩm trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có.

1.3. Nguyên lý

Độ ẩm của mẫu xét nghiệm được xác định bằng cách so sánh khối lượng mẫu trước và sau khi sấy đến khối lượng không đổi, ở nhiệt độ thích hợp đối với từng nền mẫu.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm xác định độ ẩm trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng.

- 01 người phê duyệt kết quả: trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|--|--------|
| - Hydrochloric acid (HC l) độ tinh khiết $\geq 37\%$ | 100 mL |
| - Nước cất 2 lần | 500 mL |

2.2.2 Vật tư khác

- | | |
|--|--------|
| - Chén nung (chén sứ chịu nhiệt), có nắp đậy, dung tích 100 mL | 02 cái |
| - Bình hút ẩm bằng thủy tinh, chứa silicagel | 01 cái |
| - Đũa thủy tinh, dài 10 cm | 02 cái |
| - Ống đong thủy tinh 100 mL, có chia vạch | 01 cái |
| - Rây lưới bằng inox có đường kính lỗ 4 – 5 mm | 01 cái |
| - Rây lưới bằng inox có đường kính lỗ 1 – 1,5 mm | 01 cái |
| - Giấy quỳ | 5 băng |
| - Kẹp gấp chén nung bằng sắt, có cán dài, chịu nhiệt | 01 cái |
| - Thìa cân các loại | 01 bộ |
| - Cát | 1 kg |
| - Trang phục bảo hộ | |
| + Quần, áo, mũ bảo hộ lao động | 01 bộ |
| + Dép đi trong phòng xét nghiệm | 01 đôi |
| + Găng tay y tế nitrile không có bột talc | 01 đôi |
| + Khẩu trang phòng độc 3M 7502 | 01 cái |
| + Khẩu trang y tế | 01 cái |
| + Kính bảo hộ lao động | 01 cái |
| + Găng tay chịu nhiệt | 01 ôi |

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, bình thủy tinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay,...
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilon đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note,...

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|---|--------|
| - Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01 cái |
| - Bếp cách thủy | 01 cái |
| - Tủ sấy, dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C | 01 cái |
| - Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01 cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01 cái |
| - Máy xay mẫu, công suất 600 W | 01 cái |
| - Máy nghiền mẫu khô, tốc độ nghiền 28000 vòng/phút | 01 cái |
| - Tủ hút khí độc | 01 cái |
| - Lò nung, dải nhiệt độ 30 °C - 3000 °C | 01 cái |

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

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm
- Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.
- Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)
 - Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:
 - + Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).
 - + Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 mL).
 - Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị
 - Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị
 - Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.
 - Phân tích mẫu xét nghiệm ngay sau khi đồng nhất.



2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3,75 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Chuẩn bị hóa chất, dụng cụ	0,25	0,25
		Xử lý mẫu, sấy mẫu	2	2
		Tổng hợp tính toán kết quả	0,3	0,3
		Nhập kết quả, lập phiếu trình ký kết quả	0,25	0,25
		Vệ dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng xét nghiệm	0,75	0,75
		Cộng		3,55
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả xét nghiệm	0,2	0,2
		Cộng		0,2
		Tổng		3,75

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Cán bộ xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị cát

- Đổ cát qua rây có đường kính lỗ từ 4 đến 5 mm.
- Rửa qua bằng nước, sau đó rửa bằng dung dịch HCl (dung dịch 1:1), bằng cách đổ dung dịch HCl vào cát rồi khuấy trong 1 giờ.
- Dùng nước để rửa cát cho tới khi pH = 7 thử bằng giấy quỳ.
- Dùng nước cất 2 lần rửa lại cát.
- Sấy khô cát ở nhiệt độ 105 °C trong 1 giờ và cho cát qua rây có đường kính lỗ từ 1 mm đến 1,5 mm.
- Nung cát ở lò nung nhiệt độ 550 °C trong 1 giờ để loại bỏ tạp chất hữu cơ.
- Để cát nguội trong lò đến nhiệt độ phòng.
- Cho cát đã qua xử lý vào trong hộp hoặc lọ đậy kín và ghi nhãn.

4.1.2. Bước 2: Tiến hành phân tích

- Xác định khối lượng ban đầu của chén sứ, cát, đĩa thủy tinh (m_0)
- + Cân 10 – 15 g cát cho vào chén sứ và một đĩa thủy tinh.
- + Sấy ở nhiệt độ 100 – 105 °C cho đến khối lượng không đổi.
- + Để nguội trong bình hút ẩm.
- + Cân ở cân phân tích chính xác đến 0,0001 g để xác định khối lượng ban đầu của chén có chứa cát và đĩa thủy tinh.
- + Quá trình sấy để xác định khối lượng mo được thực hiện tối thiểu 2 lần. Thời gian mỗi lần sấy tiếp theo là 30 phút.
- + Quá trình sấy kết thúc khi kết quả giữa 2 lần cân liên tiếp sau mỗi lần sấy không được cách nhau quá 0,002 g.
- Sấy mẫu xét nghiệm
- + Cân mẫu xét nghiệm vào chén sứ (lượng mẫu cho từng đối tượng cụ thể thực hiện theo bảng 1), dùng đĩa thủy tinh trộn đều mẫu xét nghiệm với cát.
- + Xác định m_1 : tổng khối lượng của m_0 và mẫu trước khi sấy.
- + Dàn đều mẫu thành lớp mỏng.
- + Đặt chén vào tủ sấy và cài đặt nhiệt độ theo hướng dẫn kiểm soát tủ sấy. Nhiệt độ và thời gian sấy cho từng đối tượng cụ thể thực hiện theo bảng 1.

Bảng 1: Nhiệt độ và thời gian sấy mẫu xét nghiệm cho từng loại thực phẩm

STT	Đối tượng mẫu	Khối lượng cân (g), ghi chính xác đến 0,0001 g	Nhiệt độ sấy (°C)	Thời gian (giờ)	Tài liệu tham khảo
1	Thực phẩm				

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

STT	Đối tượng mẫu		Khối lượng cân (g), ghi chính xác đến 0,0001 g	Nhiệt độ sấy (°C)	Thời gian (giờ)	Tài liệu tham khảo
1.1	Ngũ cốc, bột mỳ, thức ăn chín		5	130	3	Official Journal of the European Union, OJ L54/13, 26.5.2009
1.2	Kẹo		5 – 7	105	3	TCVN 4069:2009 Kẹo – Xác định độ ẩm
1.3	Thịt và sản phẩm thịt		5 – 8	103	2	TCVN 8135:2009 Thịt và sản phẩm thịt – Xác định độ ẩm (phương pháp chuẩn)
1.4	Thủy sản và sản phẩm thủy sản		3 - 5	60 - 80	2	TCVN 3700:1990 Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nước
				100 - 150	3	
1.5	Cà phê bột		5	103	2 ± 0,1	TCVN 7035:2002 Cà phê bột - Xác định độ ẩm - Phương pháp xác định sự hao hụt khối lượng ở 103 °C (phương pháp thông thường)
1.6	Chè và sản phẩm chè		5	103 ± 2	6	TCVN 5613:2007 Chè - Xác định hao hụt khối lượng ở 103 °C
1.7	Đường và sản phẩm đường		20 -30	105	3	TCVN 6332:2010 Đường - Xác định hao hụt khối lượng khi sấy
1.8	Sản phẩm ngũ cốc dạng sợi ăn liền	Sản phẩm ngũ cốc dạng sợi có chiên	2	105	2	TCVN 7879 : 2008 Sản phẩm ngũ cốc dạng sợi ăn liền
		Sản phẩm ngũ			4	

STT	Đối tượng mẫu		Khối lượng cân (g), ghi chính xác đến 0,0001 g	Nhiệt độ sấy (°C)	Thời gian (giờ)	Tài liệu tham khảo
		cốc dạng sợi không chiên				
1.9	Sữa và sản phẩm sữa		1- 5	102 ± 2	2	TCVN 8082 : 2013 Sữa, cream và sữa cô đặc - Xác định hàm lượng chất khô tổng số (phương pháp chuẩn)
1.10	Thực phẩm khác		5 – 8	105	4	Phương pháp nội bộ
2	Thực phẩm chức năng		2 – 5	105	4	Phương pháp nội bộ

➤ Chú ý: Trong thời gian sấy, cứ sau 1 tiếng dùng đũa thủy tinh nghiền nhỏ các phần vón cục, sau đó dàn đều và tiếp tục sấy.

- Xác định khối lượng chén có chứa cát, đũa, mẫu sau khi sấy (m_2)
- + Sau khi sấy xong, lấy chén sứ ra để nguội ở bình hút ẩm (25 – 30 phút)
- + Cân xác định khối lượng m_2 chính xác đến 0,0001 g.
- + Quá trình sấy để xác định khối lượng m_2 được thực hiện tối thiểu 2 lần. Thời gian mỗi lần sấy tiếp theo là 30 phút.
- + Quá trình sấy kết thúc khi kết quả giữa 2 lần cân liên tiếp sau mỗi lần sấy không được cách nhau quá 0,002 g.

4.2. Nhận định kết quả

Độ ẩm của mẫu xét nghiệm, X, biểu thị bằng phần trăm khối lượng, được tính theo công thức:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m_1 - m_0}$$

Trong đó :

X là độ ẩm của mẫu xét nghiệm (%)

m_0 là khối lượng của chén sứ, đũa và cát (g)

m_1 là khối lượng của chén cùng với phần mẫu xét nghiệm, đũa và cát trước khi sấy (g)

m_2 là khối lượng của chén cùng với phần mẫu xét nghiệm, đũa và cát sau khi sấy (g).

- Độ ẩm trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định độ ẩm và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.
- Kết quả xét nghiệm độ ẩm của mẫu được báo cáo theo đơn vị %, chính xác đến 0,01 %.
- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

- + Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính
- + Biểu mẫu xác định độ ẩm: 01 bản chính
- + Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
2	Mất điện trong quá trình sấy	Chờ có điện, tiến hành sấy lại mẫu xét nghiệm theo thời gian như bảng 1.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả sấy mẫu xét nghiệm không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (kết quả mẫu lặp lại không đạt...)	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- Official Journal of the European Union, OJ L54/13, 26.5.2009.
- TCVN 4069:2009 Kẹo – Xác định độ ẩm.
- TCVN 8135:2009 Thịt và sản phẩm thịt – Xác định độ ẩm (phương pháp chuẩn).
- TCVN 3700:1990 Thủy sản - Phương pháp xác định hàm lượng nước.
- TCVN 7035:2002 Cà phê bột - Xác định độ ẩm - Phương pháp xác định sự hao hụt khối lượng ở 103 oC (phương pháp thông thường).
- TCVN 5613:2007 Chè - Xác định hao hụt khối lượng ở 103 oC.
- TCVN 6332:2010 Đường - Xác định hao hụt khối lượng khi sấy.
- TCVN 7879 : 2008 Sản phẩm ngũ cốc dạng sợi ăn liền .
- TCVN 8082 : 2013 Sữa, cream và sữa cô đặc - Xác định hàm lượng chất khô tổng số (phương pháp chuẩn).
- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích
- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu
- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP của Chính phủ: Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 48:
ĐỊNH LƯỢNG CHẤT BÉO TỔNG SỐ TRONG THỰC PHẨM

1. Đại cương:

1.1. Mục đích

Quy trình xét nghiệm này để xác định chất béo tổng số trong thực phẩm.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

- Chất béo (Total Fat) là hợp chất hữu cơ không chứa nitơ, thành phần chính là triglycerid, các axit béo, cholesterol và phospholipid.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+ CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+ RM (Reference Material): mẫu chuẩn

1.3. Nguyên lý

Chất béo trong mẫu thực phẩm được chiết bằng dung môi ether theo phương pháp chiết Soxhlet. Sau khi để bay hơi hết ether, cân chất béo còn lại và tính ra hàm lượng chất béo trong 100 g mẫu thực phẩm.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về xét nghiệm định lượng chất béo tổng số trong thực phẩm.

- 01 người phê duyệt kết quả: trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch Petroleum ether, nhiệt độ sôi 40-60°C	270 mL
- Dung dịch Acid hydrochloric (HCl), độ tinh khiết $\geq 37\%$	72,5 - 200 mL
- Dung dịch Ammoniac (NH ₄ OH), độ tinh khiết 25-28%	20 mL
- Diethyl ether (C ₄ H ₁₀ O) độ tinh khiết $\geq 99,7\%$	100 mL
- Chloroform (CHCl ₃) độ tinh khiết $\geq 99,0\%$	270 mL
- Sodium sulfate (Na ₂ SO ₄) độ tinh khiết $\geq 99,0\%$	6 g
- Ethanol (C ₂ H ₅ OH) độ tinh khiết $\geq 99,9\%$	80 mL

- Nước cất 2 lần 2 lít

2.2.2 Vật tư khác

- Bình tam giác thủy tinh 250 mL 03 cái
- Ống đong thủy tinh 100 mL 01 cái
- Phễu chiết quả lê, dung tích 100 mL 03 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm 03 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ dung tích 500 mL, có vạch chia 01 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 110 mm 03 cái
- Bông không thấm nước 15 g
- Bông thấm nước 9 g
- Giấy lọc thường 1 tờ
- Thìa lấy mẫu 1 bộ
- Trang phục bảo hộ
 - + Quần, áo, mũ bảo hộ lao động 01 bộ
 - + Dép đi trong phòng thí nghiệm 01 đôi
 - + Găng tay y tế nitrile không bột 02 đôi
 - + Mặt nạ phòng độc 3M 7502 01 cái
 - + Khẩu trang y tế 02 cái
 - + Kính bảo hộ lao động 01 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip (15x20cm)
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, bi thủy tinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay,...
- Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note,...

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác đến $\pm 0,1$ mg 01 cái
- Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 1100 g, có độ chính xác đến $\pm 0,01$ g 01 cái
- Hệ thống chiết Soxhlet 01 cái
- Tủ sấy, dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C 01 cái
- Máy xay mẫu, công suất 600W 01 cái
- Tủ hút khí độc, kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C 01 cái
- Tủ mát bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 oC đến 15 oC 01 cái
- Bếp cách thủy 06 lỗ 01 cái

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu xét nghiệm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm
- Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.
- Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)
 - Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:
 - + Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).
 - + Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 mL).
 - Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị.
 - Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị.
 - Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện xét nghiệm: 2,7 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	0,2	0,2
		Xử lý mẫu thành dạng đồng nhất	0,1	0,1
		Cân, chiết xuất mẫu	1,9	1,9
		Xử lý và tính kết quả	0,2	0,2
		Vệ sinh máy, dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng thí nghiệm	0,1	0,1
		Cộng		2,5
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				2,7

2.7. Địa điểm thực hiện xét nghiệm: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

Handwritten signatures:

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện.

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 2 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch Acid hydrochloric (HCl) nồng độ 14.5%, 4N, 8M
- Dung dịch HCl 14.5 %: Rót từ từ 72,5 mL HCl và cốc thủy tinh có mỏ 500 mL có sẵn 400 mL nước cất 2 lần, thêm nước cất 2 lần tới vạch vừa đủ 500 mL.
- Dung dịch HCl 4 N: Rót từ từ 100 mL HCl và cốc thủy tinh có mỏ 500 mL có sẵn 150 mL nước cất 2 lần, thêm nước cất 2 lần tới vạch vừa đủ 300 mL.
- Dung dịch HCl 8 M: Rót từ từ 200 mL HCl và cốc thủy tinh có mỏ 500 mL có sẵn 150 mL nước cất 2 lần, thêm nước cất 2 lần tới vạch vừa đủ 300 mL.
- Dung dịch cồn ammoniac:
- Dùng ống đong lấy 208,5 mL ethanol, thêm 7,5 mL NH₄OH, thêm nước cất đến vừa đủ 250 mL.

4.1.3. Bước 3: Tiến hành phân tích

- Xác định khối lượng ban đầu của cốc chiết béo (X1)
- + Sấy cốc chiết béo ở nhiệt độ 100 – 105 °C cho đến khối lượng không đổi.
- + Để nguội trong bình hút ẩm.
- + Cân ở cân phân tích chính xác đến 0,0001 g để xác định khối lượng ban đầu của cốc chiết béo.
- + Quá trình sấy để xác định khối lượng ban đầu (X1) được thực hiện tối thiểu 2 lần. Thời gian mỗi lần sấy tiếp theo là 30 phút.
- + Quá trình sấy kết thúc khi kết quả giữa 2 lần cân liên tiếp sau mỗi lần sấy không được cách nhau quá 0,002 g.
- Phân tích mẫu
- Đối với mẫu sữa dạng lỏng:
 - + Hút 10mL sữa vào phễu chiết quả lê. Thêm 10mL dung dịch cồn ammoniac và 11mL diethyl ether. Thêm 1 giọt phenolphthalein 1% và lắc nhẹ sau đó lắc mạnh.
 - + Gạn bỏ lớp dưới, thêm 10mL petroleum ether, lắc mạnh.
 - + Gạn lớp bên dưới vào cốc chiết béo. Chiết lặp lại bằng 10 mL petroleum ether và gộp dịch chiết vào cốc chiết béo ở trên.
 - + Lắp cốc chiết vào hệ thống chiết. Đặt máy ở chế độ thu hồi (Recover) trong 60 phút. Sau đó để cốc chiết sấy 105°C trong 3 giờ. Để nguội trong bình hút ẩm, sau đó đem cân (X2).

- Đối với nền mẫu khác:

Cân lượng mẫu và thêm dung môi theo bảng dưới:

Đối tượng mẫu	Khối lượng cân(g), ghi chính xác đến 0,01 g	Hóa chất thủy phân	Tài liệu tham khảo
Kẹo	4 - 5	55 mL HCl 8M	TCVN 4072:2009 Kẹo – Xác định hàm lượng chất béo
Thịt và sản phẩm thịt	3 - 5	50 mL HCl 4N	TCVN 8136:2009 Thịt và sản phẩm thịt – Xác định hàm lượng chất béo tổng số AOAC Official Method 991.36 2010
Sản phẩm Cacao	3 - 10	55 mL HCl 8M	TCVN10730:2015 Sản phẩm ca cao – Xác định hàm lượng chất béo – phương pháp chiết Soxhlet
Sữa và sản phẩm sữa (trừ sữa dạng lỏng)	4 - 100	80 mL Etanol 20 mL amoniac	TCVN 8103:2009 Sữa và sản phẩm sữa – Phương pháp chiết Lipid và các hợp chất hòa tan trong lipid
Trứng	0,5 - 5	50 mL HCl 4N	Phương pháp nội bộ
Các thực phẩm khác	0,5 - 5	50 mL HCl 14,5%	Phương pháp nội bộ

+ Thủy phân mẫu trong 1 giờ. Sau đó lọc trên giấy lọc, tráng bình bằng nước cất nóng. Sấy giấy lọc đến khô, thêm Na_2SO_4 khan, sau đó gói bằng giấy lọc, cho vào ống chiết của máy.

+ Thêm 90 mL petroleum ether vào cốc rồi lắp vào hệ thống chiết. Đặt máy ở chế độ chiết (Immersion) là 110°C trong 30 phút, sau đó chuyển sang chế độ rửa (Washing) trong 60 phút, cuối cùng chuyển sang chế độ thu hồi (Recover) trong 60 phút. Sau đó để cốc chiết sấy 105°C trong 3 giờ. Để nguội trong bình hút ẩm, sau đó đem cân (X2).

Chú ý:

Đối với mẫu trứng: Thêm 90 mL cloroform vào cốc rồi lắp vào hệ thống chiết. Đặt máy ở chế độ chiết (Immersion) là 160°C trong 60 phút, sau đó chuyển sang chế độ rửa (Washing) trong 30 phút, cuối cùng chuyển sang chế độ thu hồi (Recover) trong 60 phút. Sau đó để cốc chiết sấy 105°C trong 3 giờ. Để nguội trong bình hút ẩm, sau đó đem cân (X2).

4.2. Nhận định kết quả

Hàm lượng chất béo tổng số X theo phần trăm tính theo công thức :

$$X = \frac{(X_2 - X_1) \times 100}{m}$$

Trong đó:

X: hàm lượng chất béo tổng số (g/100 g hoặc g/100 mL)

X₂: Khối lượng của cốc sau khi chiết chất béo (g)

X₁: Khối lượng của cốc sạch (g)

m: Khối lượng hoặc thể tích của mẫu xét nghiệm (g hoặc mL).

- Hàm lượng chất béo tổng trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định hàm lượng chất béo và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm hàm lượng chất béo tổng số theo phương pháp Soxhlet được báo cáo theo đơn vị g/100 g hoặc g/100 mL, chính xác đến 0,01g.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị HorRat(r) ≤ 1,3) lấy kết quả trung bình

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định độ ẩm: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

- Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1. Trước khi thực hiện xét nghiệm

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện xét nghiệm

TT	Tình huống	Xử lý
----	------------	-------

1	Thiết bị trực trực xét nghiệm hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng thí nghiệm: NIN.G.01.LS.01.

5.3. Sau khi thực hiện xét nghiệm

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.

7. Tài liệu tham khảo

- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 4072:2009 Kẹo – Xác định hàm lượng chất béo.
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8136:2009 Thịt và sản phẩm thịt – Xác định hàm lượng chất béo tổng số.
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 10730:2015 Sản phẩm ca cao – Xác định hàm lượng chất béo – phương pháp chiết Soxhlet.
- Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8103:2009 Sữa và sản phẩm sữa – Phương pháp chiết Lipid và các hợp chất hòa tan trong lipid.
- AOAC Official Method 991.36 (2010). Fat (Crude) in Meat and Meat Products Solvent Extraction (Submersion) Method. First Action 1991. Final Action 1996.
- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích
- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu
- TCVN 4833 - 1: 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử
- AOAC 2016 Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP của Chính phủ: Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 29/2023/TT-BYT ngày 30 tháng 12 năm 2023 về hướng dẫn ghi thành phần, giá trị dinh dưỡng trên nhãn thực phẩm.

Handwritten signatures:

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 49:

ĐỊNH LƯỢNG XƠ TỔNG SỐ TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP ENZYM – KHỐI LƯỢNG

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng xơ tổng số, xơ không tan, xơ hòa tan trong thực phẩm bằng phương pháp enzym - khối lượng.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống.

+IDF (Insoluble Dietary fiber): xơ không tan.

+SDF (Soluble Dietary fiber): xơ hòa tan.

+TDF (Total Dietary fiber): xơ tổng số.

+CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

1.3. Nguyên lý

- Hai phần mẫu xét nghiệm lặp lại của thực phẩm, nếu mẫu chứa hàm lượng chất béo lớn hơn 10 % thì chiết loại béo trước, sau đó mẫu được thủy phân bằng α -amylase bền nhiệt, protease và amyloglucosidase để loại tinh bột và protein.

- Xơ tổng số bao gồm xơ không tan và xơ hòa tan.

- Đối với xơ tổng số (TDF), dịch thủy phân bằng enzym được xử lý với ethanol để làm kết tủa xơ hòa tan, sau đó lọc và tủa TDF được rửa với nước ấm, ethanol và acetone, sấy khô và cân.

- Đối với xơ không tan (IDF): dịch thủy phân bằng enzym được lọc, thu tủa IDF, rửa tủa bằng nước ấm, ethanol và acetone, sấy khô và cân.

- Đối với xơ hòa tan (SDF): hỗn hợp dịch lọc với nước rửa (sau khi lọc IDF) được kết tủa với ethanol, sau đó lọc, rửa tủa rồi sấy khô và cân.

- Các giá trị TDF, IDF và SDF sau đó được hiệu chỉnh theo protein, tro và mẫu trắng.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 02 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng xơ tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Ethanol 95 % độ tinh khiết ≥ 95 % 1,1 L
- Aceton độ tinh khiết $\geq 99,8$ % 120 mL
- Bộ phản ứng dùng cho 100 mẫu kiểm nghiệm chiết xơ tổng số (The Total Dietary Fiber Assay Kit), gồm:
 - α -amylase (heat stable) 3000 U/mL 100 μ L
 - Protease 50 mg/mL 200 μ L
 - Amyloglucosidase 3300 U/mL 400 μ L
- di-Sodium hydrogen phosphate dihydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) độ tinh khiết $\geq 99,5$ % 0,3506 g
- Sodium dihydrogen phosphate monohydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) độ tinh khiết ≥ 99 % 1,936 g
- Hydrochloric acid (HCl) độ tinh khiết $\geq 37,0$ % 0,28 mL
- Sodium hydroxide (NaOH) độ tinh khiết $\geq 97,0$ % 0,11 g
- Celite 2 g
- Nước cất 2 lần 2 L
- Petroleum ether 75 mL
- Các sinh phẩm, hóa chất khác dùng cho phân tích protein (quy trình xét nghiệm số thứ tự 54 theo Thông tư 34/2024/TT-B YT)
- Các sinh phẩm, hóa chất khác dùng cho phân tích tro tổng số (quy trình xét nghiệm số thứ tự 51 theo Thông tư 34/2024/TT-B YT)

2.2.2 Vật tư khác

- Bình định mức thủy tinh 200 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm 02 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm 02 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 11 ± 1 mm 01 cái
- Bình thủy tinh có nắp vặn 1000 mL 01 cái

- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Bình tam giác thủy tinh 500 mL, có vạch chia	04 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 20 - 200 μ L, độ chính xác $\pm 0,5$ μ L (tại 20 μ L)	01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 20 - 200 μ L	03 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia	03 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 10 mL, chia vạch, cấp A	02 cái
- Ống đong thủy tinh 25 mL, có vạch chia	01 cái
- Ống đong thủy tinh 50 mL, có vạch chia	02 cái
- Bộ lọc hút chân không (bình hứng, phễu lọc, đầu lọc, kẹp kim loại)	01 bộ
- Giấy lọc định lượng, đường kính 11 cm	04 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	01 cái
- Chén nung chịu nhiệt, có nắp đậy, dung tích 30 mL	04 cái
- Bình hút ẩm bằng thủy tinh, chứa silica gel	01 cái
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Các vật tư khác dùng cho phân tích protein (quy trình xét nghiệm số thứ tự 54 theo Thông tư 34/2024/TT-B YT)	
- Các vật tư khác dùng cho phân tích tro tổng số (quy trình xét nghiệm số thứ tự 51 theo Thông tư 34/2024/TT-B YT)	
- Trang phục bảo hộ	
+ Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	02 bộ
+ Dép đi trong phòng thí nghiệm	01 đôi
+ Găng tay y tế nitrile không bột	02 đôi
+ Mặt nạ phòng độc 3M 7502	02 cái
+ Khẩu trang y tế	02 cái
+ Kính bảo hộ lao động	02 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

+ Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.

- + Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- + Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- + Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|---|-----------|
| - Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g có độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01
cái |
| - Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 1100 g có độ chính xác $\pm 0,01$ g | 01
cái |
| - Bếp cách thủy có chức năng cài đặt nhiệt độ | 01
cái |
| - Lò nung dải nhiệt độ 30 °C - 3000 °C | 01
cái |
| - Máy đo pH | 01
cái |
| - Bơm chân không | 01
cái |
| - Máy xay mẫu, công suất 600 W | 01
cái |
| - Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01
cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01
cái |
| - Tủ hút khí độc kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm | 01
cái |
| - Các thiết bị khác dùng cho phân tích protein (quy trình xét nghiệm số thứ tự 54 theo thông tư 34/2024/TT-BYT) | |
| - Các thiết bị khác dùng cho phân tích tro tổng số (quy trình xét nghiệm số thứ tự 51 theo thông tư 34/2024/TT-BYT) | |

2.4. Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu xét nghiệm (nếu có)

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

- Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)
- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).
- Lượng mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị.
- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị.
- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5,55 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,5	1,5
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Cân	0,10	0,10
		Chiết xuất mẫu	2,00	2,00
	1	Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,50	0,50
		Chạy máy		
		Xử lý kết quả	0,25	0,25
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,50	0,50
		Cộng		5,35
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2

		Cộng		0,2
Tổng				5,55

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 2 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch Ethanol 78 %

+ Dùng ống đong thêm 41,4 mL nước cất 2 lần vào bình định mức 200 mL

+ Thêm ethanol 95 % đến vạch định mức, lắc đều.

- Dung dịch đệm phosphate, pH 6,0

+ Cân 0,3506 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL. Thêm khoảng 50 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.

+ Cân 1,936 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL. Thêm khoảng 50 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.

+ Chuyển 2 dung dịch vừa pha vào bình định mức 200 mL, tráng cốc pha bằng khoảng 20 mL nước cất 2 lần. Định mức tới vạch bằng nước nước cất 2 lần, lắc đều.

- Dung dịch HCl 1 M

+ Hút 8,5 mL HCl vào bình định mức 100 mL có sẵn 40 mL nước cất 2 lần.

+ Thêm nước cất 2 lần tới vạch định mức, lắc đều.

- Dung dịch HCl 0,325 M

+ Dùng ống đong thêm 32,5 mL HCl 1 M vào bình định mức 100 mL có sẵn 40 mL nước cất 2 lần.

+ Thêm nước cất 2 lần tới vạch định mức, lắc đều.

- Dung dịch NaOH 0,275 M
- + Cân 0,11 g NaOH vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.
- + Thêm khoảng 40 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.
- + Chuyển dung dịch sang bình định mức 50 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành phân tích

- Chiết tách mẫu với enzym
- + Tiến hành làm hai mẫu song song M1, M2 và hai mẫu trắng B1, B2.
- + Cân 1 g mẫu (chính xác đến 0,1 mg) vào bình tam giác 500 mL.
- + Mẫu xét nghiệm được loại béo bằng petroleum ether nếu mẫu có hàm lượng chất béo $\geq 10\%$ (3 lần x 25 mL petroleum ether/ 1 g mẫu xét nghiệm).
- + Thêm 50 mL đệm phosphate pH 6,0, chỉnh pH đạt $6,0 \pm 0,2$ nếu cần.
- + Thêm 50 μ L enzym α -amylase bền nhiệt. Đậy nắp bình nón bằng giấy nhôm và để vào bếp cách thủy đang sôi (95 - 100 °C) trong 15 phút (mỗi 5 phút lắc nhẹ 1 lần). Sau đó làm nguội mẫu tới nhiệt độ phòng. Thêm 10 mL dung dịch NaOH 0,275 M, điều chỉnh pH đạt $7,5 \pm 0,2$ bằng NaOH 0,275 M.
- + Thêm 100 μ L enzym protease. Đậy nắp bình nón bằng giấy nhôm và để vào bếp cách thủy 60 °C trong 30 phút, lắc liên tục. Sau đó làm nguội mẫu tới nhiệt độ phòng. Thêm 10 mL HCl 0,325 M, điều chỉnh pH đạt 4,0 - 4,6 bằng HCl 0,325 M.
- + Thêm 0,3 mL enzym amyloglucosidase. Đậy nắp bình nón bằng giấy nhôm và để vào bếp cách thủy 60 °C trong 30 phút, lắc liên tục.
- Xác định IDF
- + Giấy lọc định lượng được sấy ở 105 °C đến khối lượng không đổi (≥ 4 giờ), cân ghi lại khối lượng của giấy sau sấy.
- + Chén nung được nung ở nhiệt độ 525 °C trong 5 giờ. Làm nguội trong bình hút ẩm và cân để xác định khối lượng ban đầu của chén.
- + Hạt celite được sấy ở 130 °C đến khối lượng không đổi (≥ 1 giờ).
- + Cân khoảng 0,3 - 0,5 g celite đã sấy thêm vào bình mẫu sau khi chiết tách với enzyme.
- + Lọc hút chân không mẫu chiết qua giấy lọc định lượng (đã sấy). Tráng bình chiết và rửa tủa trên giấy lọc 2 lần, mỗi lần với 10 mL nước cất 70 °C. Dịch lọc và nước rửa thu vào bình tam giác 500 mL (phần này sẽ dùng để xác định xơ hòa tan).
- + Tiếp tục rửa tủa trên giấy lọc: 2 lần x 15 mL ethanol 78 %, 2 lần x 15 mL ethanol 95 %, 2 lần x 15 mL acetone (cần rửa ngay để tránh sai số kết quả). Trong quá trình rửa, chất gom có thể hình thành và bao chứa chất lỏng. Khi đó, sử dụng thìa nhọn phá vỡ bề mặt gom, tăng hiệu suất lọc.
- + Sấy khô giấy lọc và tủa thu được ở 105 °C tới khối lượng không đổi. Cân, tính khối lượng của tủa.
- + Tủa của mẫu M1, B1: đốt tro trong 5 giờ ở 525 °C. Làm nguội trong bình hút ẩm, cân khối lượng tro A.

+ Tủa của mẫu M2, B2: xác định protein theo phương pháp Kjeldahl, với hệ số chuyển đổi N là 6,25; thu được kết quả P.

- Xác định SDF

+ Bình tam giác 500 mL chứa dịch lọc và nước rửa (sau khi lọc xơ không tan): thêm ethanol 95 % ở nhiệt độ 60 °C. Thể tích ethanol 95 % thêm vào gấp 4 lần thể tích phần dịch lọc trong bình. Bước này có thể làm bằng cách: điều chỉnh khối lượng dịch lọc, dịch rửa trong bình nón tới khoảng 100 g bằng nước cất; sau đó cho thêm 400 mL ethanol 95 % ở nhiệt độ 60 °C. Để lắng kết tủa trong 1 giờ tại nhiệt độ phòng.

+ Sau đó tiến hành lọc dung dịch chiết mẫu để thu tủa (thao tác lọc, rửa tủa giống phần xác định xơ không tan).

+ Cân tủa, xác định tro, protein tương tự phần xác định xơ không tan.

- Xác định TDF

+ Xơ tổng số sẽ là tổng kết quả của xơ không tan và xơ hòa tan.

4.2. Nhận định kết quả

- Hàm lượng SDF hoặc IDF trong mẫu trắng được tính toán theo công thức:

$$B = \frac{BR1+BR2}{2} - P_B - A_B$$

Trong đó:

B: Hàm lượng SDF hoặc IDF trong mẫu trắng (mg)

BR1, BR2: lần lượt là khối lượng chất rắn còn lại trong phễu sau sấy của 2 mẫu trắng B1, B2 (mg)

PB: khối lượng protein của B2 (mg)

AB: khối lượng tro của B1 (mg).

- Hàm lượng SDF hoặc IDF trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = \frac{\left(\frac{MR1+MR2}{2}\right) - P - A - B}{(M1+M2)/2} \times 100$$

Trong đó:

X: Hàm lượng SDF hoặc IDF trong mẫu xét nghiệm (g/100g)

MR1, MR2: lần lượt là khối lượng chất rắn còn lại trong phễu sau sấy của 2 mẫu M1, M2 (mg)

P: khối lượng protein của M2 (mg)

A: khối lượng tro của M1 (mg)

M1, M2: khối lượng cân mẫu xét nghiệm ban đầu (mg)

- Hàm lượng xơ tổng số trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$TDF = X_{SDF} + X_{IDF}$$

- Hàm lượng xơ tổng số trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng chất xơ và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm xơ tổng số được báo cáo theo đơn vị g/100g, chính xác đến 0,01 g.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

- + Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính
- + Biểu mẫu định lượng xơ tổng số: 01 bản chính
- + Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trục trặc kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
----	------------	-------

1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (mẫu kiểm soát/ kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.
---	--	--

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.
- Kết quả xét nghiệm mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích.
- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.
- TCVN 4833 - 1: 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử.
- TCVN 9050:2012, Thực phẩm - Xác định xơ tổng số, xơ hòa tan và xơ không hòa tan bằng phương pháp enzym-khối lượng.
- AOAC Official method 985.29, "Total dietary fiber in foods. Enzymatic Gravimetric method", 1986.
- AOAC Official method 991.43, "Total, soluble and insoluble dietary fiber in foods. Enzymatic-Gravimetric method, Mes-tris buffer", 1994.
- AOAC 2016, appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 50:

ĐỊNH LƯỢNG ĐỘ CÒN (HÀM LƯỢNG ETHANOL) TRONG ĐỒ UỐNG CÓ CÒN BẰNG RƯỢU KẾ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này hướng dẫn kỹ thuật xét nghiệm xác định độ còn trong đồ uống có cồn bằng rượu kế.

1.2. Định nghĩa

- Độ còn là số đo chỉ hàm lượng cồn thực phẩm có trong rượu, bia tính theo phần trăm thể tích. Độ còn được tính bằng số mililit ethanol nguyên chất trong 100 mL dung dịch ở 20 °C.

- Rượu là đồ uống có cồn thực phẩm, được sản xuất từ quá trình lên men (có hoặc không chưng cất) từ tinh bột của các loại ngũ cốc, dịch đường của cây và hoa quả hoặc được pha chế từ cồn thực phẩm (Ethanol)

Thuật ngữ và chữ viết tắt:

- AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống

- Rượu kế/ cồn kế/ tửu kế: dụng cụ dùng để đo độ còn trong nước. Dựa trên nguyên lý tỷ trọng của nước càng thấp khi độ cồn trong nước càng cao, độ chìm của cồn kế trong dung dịch sẽ cho biết độ cồn của dung dịch.

1.3. Nguyên lý

- Dùng rượu kế để đo độ cồn của mẫu thử đã chưng cất, sau đó tra bảng để quy về độ cồn ở 20 °C.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật định lượng độ cồn trong đồ uống có cồn bằng rượu kế.

- 01 người phê duyệt kết quả: trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Nước cất 2 lần	500 mL
------------------	--------

2.2.2 Vật tư khác

- Bình định mức thủy tinh 250 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm	01 cái
--	--------

- Ống đong thủy tinh 250 mL, có vạch chia	01 cái
---	--------

- Bình tam giác 250 mL, có vạch chia 01 cái
- Bình tia nước cắt nhựa 500 mL 01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm 01 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm 01 cái
- Trang phục bảo hộ:
 - +Quần, áo, mũ bảo hộ lao động: 01 bộ
 - +Dép đi trong phòng xét nghiệm: 01 đôi
 - +Găng tay y tế nitrile không có bột talc: 01 đôi
 - +Khẩu trang y tế: 01 cái
 - +Kính bảo hộ lao động: 01 cái
 - +Găng tay chịu nhiệt: 01 đôi

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

+Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.

+Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Rượu kế (0-60) có vạch chia 1 % (tính theo thể tích) 01 cái
- Nhiệt kế đo được từ 0 °C đến 50 °C, vạch chia nhỏ nhất 0,5 °C 01 cái
- Bộ dụng cụ chưng cất rượu (phụ lục 1 của SOP này) 01 bộ
- Tủ hút khí độc kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm 01 cái

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

2.4.1 Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 500 mL).

- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị

Handwritten signatures and initials in blue ink.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 2,95 giờ

Nhân viên tham gia	Số lượng nhân viên	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Chuẩn bị mẫu	0,25	0,25
		Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,25	0,25
		Cắt mẫu	1	1
		Đo mẫu	0,5	0,5
		Xử lý kết quả	0,25	0,25
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,25	0,25
		Cộng		2,75
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				2,95

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu xét nghiệm

- Rượu chưng cất: tiến hành xác định độ cồn trực tiếp (bước 2)
- Bia và rượu chưa qua chưng cất: tiến hành chưng cất mẫu sau đó xác định độ cồn (bước 2).

Chưng cất mẫu:

- Sử dụng ống đong, đong 250 mL mẫu thử chưa qua chưng cất vào bình cầu 500 mL của bộ chưng cất và cất lấy ít nhất khoảng 200 mL. Chú ý không để cồn bay hơi ra ngoài trong quá trình cất bằng cách nhúng đầu ra của ống sinh hàn vào 10 mL nước cất, ống sinh hàn được làm lạnh bằng nước không quá 20 °C.
- Sau khi cất xong, chuyển dịch cất sang bình định mức 250 mL, thêm nước cất tới vạch định mức, lắc đều.

4.1.2 Bước 2: Đo mẫu

- Giữ mẫu thử ở 20 °C trong 30 phút, rót mẫu thử cẩn thận theo thành vào ống đong 250 mL tránh tạo quá nhiều bọt khí.
- Thả từ từ rượu kế vào ống đong sao cho rượu kế không chìm quá sâu so với mức đọc. Không để bọt khí bám vào rượu kế vì sẽ làm sai lệch kết quả. Lưu ý không để rượu kế chạm sát vào thành ống đong.
- Để rượu kế ổn định. Đọc độ cồn trên rượu kế. Ghi lại kết quả.

Chú ý: Nếu nhiệt độ của mẫu thử không đạt 20 °C, cần đọc nhiệt độ và độ cồn của mẫu thử cùng một thời điểm rồi tra bảng hiệu chỉnh độ cồn ở 20 °C (Phụ lục 2 của SOP này).

4.2. Nhận định kết quả

- Độ cồn trong mẫu thử được thể hiện trực tiếp trên rượu kế.
- Xem xét kết quả mẫu kiểm tra chất lượng (QC): nếu kết quả mẫu kiểm soát, mẫu lặp lại đạt yêu cầu mới tiến hành trả kết quả -mẫu thử. Nếu kết quả mẫu QC hoặc mẫu lặp lại không đạt yêu cầu, tiến hành làm lại mẫu.
- Độ cồn trong mẫu được ghi theo biểu mẫu xác định độ cồn và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.
- Kết quả xác định độ cồn được báo cáo theo đơn vị % thể tích, chính xác đến 0,1%.

- Các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

- + Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

Handwritten signatures:

+ Biểu mẫu xác định độ cồn: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật:

Mẫu được lưu giữ ở nhiệt độ phòng hoặc 20 °C trước khi thực hiện kỹ thuật.

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật:

- Nếu mẫu có nhiều đường, dễ trào bọt. Sau khi mẫu sôi, cần hạ nhiệt độ về 70 °C - 80 °C.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật:

Kết quả đo mẫu không phù hợp → Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu thử.

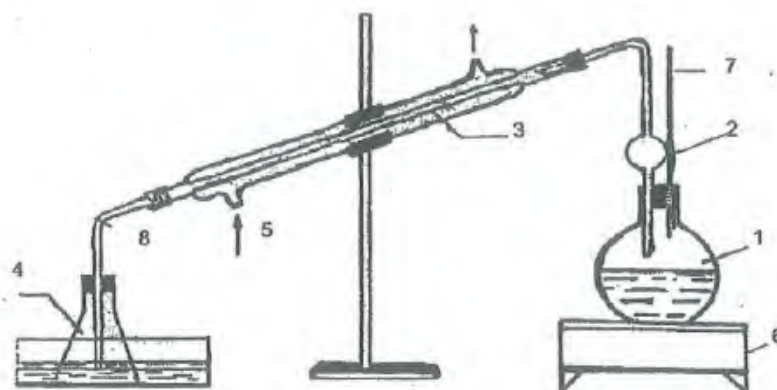
6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu.
- Kết quả phân tích mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$ (theo Quy trình xác nhận giá trị sử dụng phương pháp phân tích)

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 8008 :2009 – Rượu chưng cất – xác định độ cồn
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements

PHỤ LỤC 1
Hình minh họa bộ chưng cất cồn



Hình 1

- | | |
|-----------------------------------|------------------|
| 1. Bình cất dung tích 300 - 500ml | 5. Nước làm lạnh |
| 2. Bầu bảo hiểm | 6. Bếp đun |
| 3. Ống sinh hàn | 7. Nhiệt kế |
| 4. Bình hứng 100ml | 8. Sùng bỏ |

PHỤ LỤC 2

Bảng tính quy đổi độ cồn ở các nhiệt độ khác nhau về 20 °C

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	75.0	74.5	74.0	73.5	73.0	72.5	72.0	71.5	71.0	70.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20 °C									
+30	71.8	71.3	70.8	70.3	69.8	69.2	68.7	68.2	67.7	67.2
+29	72.1	71.6	71.1	70.6	70.1	69.6	69.1	68.6	68.0	67.5
+28	72.4	71.9	71.4	70.9	70.4	69.9	69.4	68.9	68.4	67.9
+27	72.8	72.3	71.8	71.2	70.7	70.2	69.7	69.2	68.8	68.2
+26	73.1	72.6	72.1	71.6	71.1	70.5	70.0	69.5	69.0	68.5
+25	73.4	72.9	72.4	71.9	71.4	70.9	70.4	69.9	69.4	68.9
+24	73.7	73.2	72.7	72.2	71.7	71.2	70.7	70.2	69.7	69.2
+23	74.1	73.6	73.0	72.5	72.0	71.5	71.0	70.5	70.0	69.5

Được *mm*

+22	74.4	73.9	73.4	72.9	72.4	71.9	71.4	70.8	70.3	69.8
+21	74.7	74.2	73.7	73.2	72.4	72.2	71.7	71.2	70.7	70.2
+20	75.0	74.5	74.0	73.5	73.0	72.5	72.0	71.5	71.0	70.5
+19	75.3	74.8	74.3	73.8	73.3	72.8	72.3	71.8	71.3	70.8
+18	75.6	75.1	74.6	74.1	73.6	73.1	72.6	72.1	71.6	71.1
+17	75.9	75.4	74.9	74.4	74.0	73.4	73.0	72.5	71.9	71.5
+16	76.2	75.8	75.3	74.8	74.3	73.8	73.3	72.8	72.3	71.8
+15	76.6	76.1	75.6	75.1	74.6	74.1	73.6	73.1	72.6	72.1
+14	76.9	76.4	75.9	75.4	74.9	74.4	73.9	73.4	72.9	72.4
+13	77.2	76.7	76.2	75.7	75.2	74.7	74.2	73.7	73.2	72.8
+12	77.5	77.0	76.5	76.0	75.4	75.0	74.5	74.1	73.6	73.1
+11	77.8	77.3	76.8	76.3	75.8	75.4	74.9	74.4	73.9	73.4
+10	78.1	77.6	77.1	76.6	76.2	75.7	75.2	74.7	74.2	73.7
+9	78.4	77.9	77.4	76.9	76.5	76.0	75.5	75.0	74.5	74.0
+8	78.7	78.2	77.7	77.2	76.8	76.3	75.8	75.3	74.8	74.3
+7	79.0	78.5	78.0	77.5	77.1	76.6	76.1	75.6	75.1	74.6
+6	79.3	78.8	78.3	77.8	77.4	76.9	76.4	75.9	75.4	75.0
+5	79.6	79.1	78.6	78.2	77.7	77.2	76.7	76.2	75.8	75.3
+4	79.9	79.4	78.9	78.4	78.0	77.5	77.0	76.5	76.0	75.6
+3	80.2	79.7	79.2	78.7	78.3	77.8	77.3	76.8	76.4	75.9
+2	80.4	80.0	79.5	79.0	78.6	78.1	77.6	77.1	76.0	76.2
+1	80.7	80.3	79.8	79.3	78.8	78.4	77.9	77.4	77.0	76.5
+0	81.0	80.5	80.1	79.6	79.1	78.7	78.2	77.7	77.2	76.8

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	70.0	69.5	69.0	68.5	68.0	67.5	67.0	66.5	66.0	65.5

	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	66.7	66.2	65.7	65.2	64.6	64.1	63.6	63.1	62.6	62.1
+29	67.0	66.5	66.0	65.5	65.0	64.5	64.0	63.4	62.9	62.4
+28	67.4	66.8	66.5	65.8	65.3	64.8	64.3	63.8	63.3	62.8
+27	67.7	67.2	66.7	66.2	65.7	65.2	64.6	64.1	63.6	63.1
+26	68.0	67.5	67.0	66.6	66.0	65.5	65.0	64.5	64.0	63.5
+25	68.4	67.8	67.3	66.8	66.3	65.8	65.3	64.8	64.3	63.8
+24	68.7	68.2	67.7	67.2	66.7	66.2	65.6	65.1	64.6	64.1
+23	69.0	68.5	68.0	67.5	67.0	66.5	66.0	65.5	65.0	64.5
+22	69.3	68.8	68.3	67.8	67.3	66.8	66.3	65.8	65.3	64.8
+21	69.7	69.2	68.7	68.2	67.7	67.2	66.7	66.2	65.7	65.2
+20	70.0	69.5	69.0	68.5	68.0	67.5	67.0	66.5	66.0	65.5
+19	70.3	69.8	69.3	68.8	68.3	67.8	67.3	66.8	66.3	65.8
+18	70.6	70.2	69.6	69.2	68.7	68.2	67.7	67.2	66.7	66.2
+17	71.0	70.5	70.0	69.5	69.0	68.5	68.0	67.5	67.0	66.5
+16	71.3	70.8	70.3	69.8	69.3	68.8	68.3	67.8	67.3	66.8
+15	71.6	71.1	70.6	70.1	69.6	69.1	68.6	68.2	67.7	67.2
+14	72.0	71.4	71.0	70.5	70.0	69.5	69.0	68.5	68.0	67.5
+13	72.3	71.8	71.3	70.8	70.3	69.8	69.3	68.8	68.3	67.8
+12	72.6	72.1	71.6	71.1	70.6	70.1	69.6	69.2	68.7	68.2
+11	72.9	72.4	71.9	71.4	71.0	70.5	70.0	69.5	69.0	68.5
+10	73.2	72.7	72.2	71.8	71.3	70.8	70.3	69.8	69.3	68.8
+9	73.5	73.0	72.6	72.1	71.6	71.1	70.6	70.1	69.6	69.2
+8	73.8	73.4	72.9	72.4	71.9	71.4	70.9	70.4	70.0	69.5
+7	74.2	73.7	73.2	72.7	72.2	71.8	71.3	70.8	70.3	69.8
+6	74.5	74.0	73.5	73.0	72.5	72.1	71.6	71.1	70.6	70.1

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

+5	74.8	74.3	73.8	73.3	72.9	72.4	71.9	71.4	70.9	70.4
+4	75.1	74.6	74.1	73.6	73.2	72.7	72.2	71.7	71.2	70.8
+3	75.4	74.9	74.4	73.8	73.5	73.0	72.5	72.0	71.6	71.1
+2	75.7	75.2	74.7	74.3	73.6	73.3	72.6	72.4	71.9	71.4
+1	76.0	75.5	75.0	74.6	74.1	73.6	73.1	72.7	72.2	71.7
+0	76.3	75.8	75.4	74.9	74.4	73.9	73.4	73.0	72.5	72.0

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	65.0	64.5	64.0	63.5	63.0	62.5	62.0	61.5	61.0	60.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	61.6	61.1	60.6	60.0	59.5	59.0	58.6	58.0	57.5	57.0
+29	61.9	61.4	60.9	60.4	59.9	59.4	58.8	58.3	57.8	57.3
+28	62.3	61.8	61.2	60.7	60.2	59.7	59.2	58.7	58.2	57.7
+27	62.6	62.1	61.6	61.1	60.6	60.1	59.6	59.0	58.5	58.0
+26	63.0	62.4	61.9	61.4	60.9	60.4	59.9	59.4	58.9	58.4
+25	63.3	62.8	62.3	61.8	61.3	60.8	60.3	59.8	59.2	58.7
+24	63.6	63.1	62.6	62.1	61.6	61.1	60.6	60.1	59.6	59.1
+23	64.0	63.5	63.0	62.5	62.0	61.5	61.0	60.4	60.0	59.4
+22	64.3	63.8	63.3	62.8	62.3	61.8	61.3	60.8	60.3	59.8
+21	64.6	64.2	63.6	63.2	62.6	62.2	61.6	61.2	60.6	60.1
+20	65.0	64.5	64.0	63.5	63.0	62.5	62.0	61.5	61.0	60.5
+19	65.3	64.8	64.3	63.8	63.3	62.8	62.3	61.8	61.3	60.8
+18	65.7	65.2	64.7	64.2	63.7	63.2	62.7	62.3	61.7	61.2
+17	66.0	65.5	65.0	64.5	64.0	63.5	63.0	62.5	62.0	61.5
+16	66.3	65.8	65.4	64.8	64.4	63.9	63.4	62.9	62.4	61.9
+15	66.7	66.2	65.7	65.2	64.7	64.2	63.7	63.2	62.7	62.2

+14	67.0	66.5	66.0	65.5	65.0	64.6	64.1	63.6	63.1	62.6
+13	67.4	66.8	66.4	65.9	65.4	64.9	64.4	63.9	63.4	62.9
+12	67.7	67.2	66.7	66.2	65.7	65.2	64.7	64.2	63.8	63.3
+11	68.0	67.5	67.0	66.5	66.0	65.6	65.1	64.6	64.1	63.6
+10	68.3	67.8	67.4	66.9	66.4	65.9	65.4	64.9	84.4	63.9
+9	68.7	68.2	67.7	67.2	66.7	66.2	65.7	65.2	64.8	64.3
+8	69.0	68.5	68.0	67.5	67.0	66.7	66.1	65.6	65.1	64.6
+7	69.3	68.8	68.4	67.9	67.4	66.9	66.4	65.9	65.4	65.0
+6	69.6	69.2	68.7	68.2	67.7	67.2	66.7	66.2	65.8	55.3
+5	70.0	69.5	69.0	68.5	68.0	67.5	67.0	66.6	66.1	65.6
+4	70.3	69.8	69.3	68.8	68.4	67.9	67.4	66.9	66.4	65.9
+3	70.6	70.1	69.6	69.2	68.7	68.2	67.7	67.2	66.8	66.3
+2	70.9	70.4	70.0	69.5	69.0	68.5	68.0	67.6	67.1	66.6
+1	71.2	70.8	70.3	69.8	69.3	68.8	68.4	67.8	67.4	66.9
+0	71.5	71.1	70.6	70.1	69.6	69.2	68.7	68.2	67.7	67.2

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	60.0	59.5	59.0	58.5	58.0	57.5	57.0	56.5	56.0	55.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	56.4	55.9	55.4	54.9	54.4	53.9	53.4	52.9	52.3	51.8
+29	56.8	56.3	55.8	55.3	54.8	54.2	53.7	53.2	52.7	52.2
+28	57.2	56.6	56.1	55.6	55.1	54.6	54.1	53.6	53.1	52.6
+27	57.5	57.0	56.5	56.0	55.5	55.0	54.5	54.0	53.4	52.9
+26	57.9	57.4	56.9	56.4	55.8	55.3	54.8	54.3	53.8	53.4
+25	58.2	57.7	57.2	56.7	56.2	55.7	55.2	54.7	54.2	53.7
+24	58.6	58.1	57.6	57.1	56.6	56.1	55.6	55.0	54.5	54.0

Handwritten signatures and initials in blue ink.

+23	58.9	58.4	57.9	57.4	56.9	56.4	55.9	55.4	54.9	54.4
+22	59.3	58.8	58.3	57.8	57.3	56.8	56.3	55.8	55.3	54.8
+21	59.6	59.1	58.5	58.1	57.6	57.1	56.6	56.1	55.6	55.4
+20	60.0	59.5	59.0	58.5	58.0	57.5	57.0	56.5	56.0	55.5
+19	60.4	59.8	59.4	58.8	58.4	57.8	57.4	56.9	56.4	55.9
+18	60.7	60.2	59.7	59.2	58.7	58.2	57.7	57.2	56.7	56.2
+17	61.0	60.5	60.0	59.6	59.1	58.6	58.1	57.6	57.1	56.6
+16	61.4	60.9	60.4	59.9	59.4	58.9	58.4	57.9	57.4	56.9
+15	61.7	61.2	60.8	60.2	59.8	59.3	58.8	58.3	57.8	57.3
+14	62.1	61.6	61.1	60.6	60.1	59.6	59.1	58.6	58.2	57.7
+13	62.4	61.9	61.4	61.0	60.5	60.0	59.5	59.0	58.5	58.0
+12	62.8	62.3	61.8	61.3	60.8	60.3	59.8	59.4	58.9	58.4
+11	63.1	62.6	62.1	61.6	61.2	60.7	60.2	59.7	59.2	58.7
+10	63.5	63.0	62.5	62.0	61.5	61.0	60.5	60.0	59.6	59.1
+9	63.8	63.3	62.8	62.3	61.9	61.4	60.9	60.4	59.9	59.4
+8	64.1	63.6	63.2	62.7	62.2	61.7	61.2	60.8	60.3	59.8
+7	64.5	64.0	63.5	63.0	62.5	62.1	61.6	61.1	60.6	60.1
+6	64.8	64.3	63.8	63.4	62.9	62.4	61.9	61.0	61.0	60.5
+5	65.1	64.7	64.2	63.7	63.2	62.7	62.3	61.8	61.3	60.8
+4	65.5	65.0	64.5	64.0	63.6	63.1	62.6	62.1	61.6	61.2
+3	65.8	65.3	64.8	64.4	63.9	63.4	62.9	62.4	62.0	61.5
+2	66.1	65.6	65.2	64.7	64.2	63.7	63.3	62.8	62.3	61.8
+1	66.4	66.0	65.5	65.0	64.6	64.1	63.6	63.1	62.6	62.2
+0	66.8	66.3	65.8	65.4	64.9	64.4	63.9	63.4	63.0	62.5

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	55.0	54.5	54.0	53.5	53.0	52.5	52.0	51.5	51.0	50.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	51.3	50.8	50.3	49.8	49.3	48.8	48.2	47.7	47.2	46.7
+29	51.7	51.2	50.7	50.2	49.6	49.1	48.6	48.1	47.6	47.1
+28	52.1	51.5	51.0	50.5	50.0	49.5	49.0	48.5	48.0	47.5
+27	52.4	51.9	51.4	50.9	50.4	49.9	49.4	48.8	48.3	47.8
+26	52.8	52.3	51.8	51.3	50.8	50.2	49.7	49.2	48.7	48.2
+25	53.2	52.6	52.2	51.6	51.1	50.9	50.1	49.6	49.1	48.6
+24	53.5	53.0	52.5	52.0	51.5	51.0	50.5	50.0	49.5	49.0
+23	53.9	53.4	52.9	52.4	51.9	51.4	50.9	50.4	49.9	49.4
+22	54.3	53.8	53.3	52.8	52.2	51.8	51.2	50.7	50.2	49.7
+21	54.6	54.1	53.6	53.1	52.6	52.1	51.6	51.1	50.6	50.1
+20	55.0	54.5	54.0	53.5	53.0	52.5	52.0	51.5	51.0	50.5
+19	55.4	54.9	54.4	53.9	53.4	52.9	52.4	51.9	51.4	50.9
+18	55.7	55.2	54.7	54.2	53.7	53.2	52.7	52.2	51.7	51.2
+17	56.1	55.6	55.1	54.6	54.1	53.6	53.1	52.6	52.1	51.6
+16	56.4	56.0	55.5	55.0	54.5	54.0	53.5	53.0	52.5	52.0
+15	56.8	56.3	55.8	55.3	54.8	54.4	53.9	53.4	52.9	52.4
+14	57.2	56.7	56.2	55.7	55.2	54.7	54.2	53.7	53.2	52.7
+13	57.5	57.0	56.5	56.0	55.6	55.1	54.6	54.1	53.6	53.1
+12	57.9	57.4	56.9	56.4	55.9	55.4	55.0	54.5	54.0	53.5
+11	58.2	57.7	57.2	56.8	56.3	55.8	55.3	54.8	54.3	53.8
+10	58.6	58.1	57.6	57.1	56.6	56.2	55.7	55.2	54.7	54.2
+9	58.9	58.4	58.0	57.5	57.0	56.5	56.0	55.6	55.1	54.6

Handwritten signatures:
 Suur
 mr

+8	59.3	58.8	58.3	57.8	57.4	56.9	56.4	55.9	55.4	54.9
+7	59.6	59.2	58.7	58.2	57.7	57.9	56.8	56.3	55.8	55.3
+6	60.0	59.5	59.0	58.5	58.1	57.6	57.1	56.6	56.1	55.6
+5	60.3	59.8	59.4	58.9	58.4	57.9	57.4	57.0	56.5	56.0
+4	60.7	60.2	59.7	59.2	58.8	58.3	57.8	57.3	56.8	56.4
+3	61.0	60.5	60.1	59.6	59.1	58.6	58.2	57.7	57.2	56.7
+2	61.4	60.9	60.4	59.9	59.4	59.0	58.5	58.0	57.5	57.1
+1	61.7	61.2	60.7	60.3	59.8	59.3	58.8	58.4	57.9	57.4
+0	62.0	61.6	61.1	60.6	60.1	59.7	59.2	58.7	58.2	57.8

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	45.0	44.5	44.0	43.5	43.0	42.5	42.0	41.5	41.0	40.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	41.1	40.6	40.1	39.5	39.0	38.5	38.0	37.5	37.0	36.5
+29	41.5	41.0	40.4	39.9	39.4	38.9	38.4	37.9	37.4	36.9
+28	41.9	41.4	40.8	40.3	39.8	39.3	38.8	38.3	37.8	37.3
+27	42.3	41.8	41.2	40.7	40.2	39.7	39.2	38.7	38.2	37.7
+26	42.7	42.2	41.6	41.1	40.6	40.1	39.6	39.1	38.6	38.1
+25	43.0	42.5	42.0	41.5	41.0	40.5	40.0	39.5	39.0	38.5
+24	43.4	42.9	42.4	41.9	41.4	40.9	40.4	39.9	39.4	38.9
+23	43.8	43.3	42.8	42.3	41.8	41.3	40.8	40.3	39.8	39.2
+22	44.2	43.7	43.2	42.7	42.2	41.7	41.2	40.7	40.2	39.7
+21	44.6	44.1	43.6	43.1	42.6	42.1	41.6	41.1	40.6	40.1
+20	45.0	44.5	44.0	43.5	43.0	42.5	42.0	41.5	41.0	40.5
+19	45.4	44.9	44.4	43.9	43.4	42.9	42.4	41.9	41.4	40.9
+18	45.8	45.3	44.8	44.3	43.8	43.3	42.8	42.3	41.8	41.3

+17	46.2	45.7	45.2	44.7	44.2	43.7	43.2	42.7	42.2	41.7
+16	46.6	46.1	45.6	45.1	44.6	44.1	43.6	43.1	42.6	42.1
+15	47.0	46.4	46.0	45.5	45.0	44.5	44.0	43.5	43.0	42.5
+14	47.3	46.8	46.4	45.8	45.4	44.9	44.4	43.9	43.4	42.9
+13	47.7	47.2	46.7	46.2	45.8	45.3	44.8	44.3	43.8	43.3
+12	48.1	47.6	47.1	46.6	46.1	45.6	45.2	44.7	44.2	43.7
+11	48.5	48.0	47.5	47.0	46.5	46.0	45.6	45.1	44.6	44.1
+10	48.9	48.4	47.9	47.4	46.9	46.4	46.0	45.5	45.0	44.5
+9	49.2	48.8	48.3	47.8	47.3	46.8	46.3	45.8	45.4	44.9
+8	49.6	49.1	48.6	48.2	47.7	47.2	46.7	46.2	45.8	45.3
+7	50.0	49.5	49.0	48.5	48.1	47.6	47.1	46.6	46.2	45.7
+6	50.4	49.9	49.4	48.9	48.4	48.0	47.5	47.0	46.5	46.0
+5	50.8	50.3	49.8	49.3	48.9	48.3	47.9	47.4	46.9	46.4
+4	51.1	50.6	50.2	49.7	49.2	48.7	48.2	47.8	47.3	46.8
+3	51.5	50.7	50.5	50.0	49.6	49.1	48.6	48.1	47.6	47.2
+2	51.8	51.4	50.9	50.4	49.9	49.5	49.0	48.5	48.0	47.6
+1	52.2	51.7	51.3	50.8	50.3	49.8	49.4	48.9	48.4	47.9
+0	52.6	52.1	51.6	51.1	50.7	50.2	49.7	49.3	48.8	48.3

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	40.0	39.5	39.0	38.5	38.0	37.5	37.0	36.5	36.0	35.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	36.0	35.5	35.0	34.5	34.0	33.5	33.0	32.4	32.0	31.4
+29	36.4	35.9	35.1	34.9	34.4	33.9	33.4	32.8	32.3	31.8
+28	36.8	36.3	35.8	35.3	34.8	34.3	33.8	33.2	32.8	32.2

Handwritten signature and initials in blue ink.

+27	37.2	36.7	36.2	35.7	35.2	34.7	34.3	33.7	33.2	32.7
+26	37.6	37.1	36.6	36.1	35.6	35.1	34.6	34.1	33.6	33.1
+25	38.0	37.5	37.0	36.5	36.0	35.5	35.0	34.5	34.0	33.5
+24	38.4	37.9	37.4	36.9	36.4	35.9	35.4	34.9	34.4	33.9
+23	38.8	38.3	37.8	37.3	36.8	36.3	35.8	35.3	34.8	34.3
+22	39.2	38.7	38.2	37.7	37.2	36.7	36.2	35.7	35.2	34.7
+21	39.6	39.1	38.6	38.1	37.6	37.1	36.6	36.4	35.6	35.1
+20	40.0	39.5	39.0	38.5	38.0	37.5	37.0	36.5	36.0	35.5
+19	40.4	39.9	39.1	38.9	38.4	37.9	37.4	36.9	36.4	35.9
+18	40.8	40.3	39.8	39.3	38.8	38.3	37.8	37.3	36.8	36.3
+17	41.2	40.7	40.2	39.7	39.2	38.7	38.2	37.7	37.2	36.7
+16	41.6	41.1	40.6	40.1	39.6	39.1	38.6	38.1	37.6	37.1
+15	42.0	41.5	41.0	40.5	40.0	39.5	39.0	38.5	38.0	37.5
+14	42.4	41.9	41.4	40.9	40.4	39.9	39.4	38.9	38.4	37.9
+13	42.8	42.3	41.8	41.3	40.8	40.3	39.8	39.3	38.8	38.3
+12	43.2	42.7	42.2	41.7	41.2	40.7	40.2	39.7	39.2	38.7
+11	43.6	43.1	42.6	42.1	41.6	41.1	40.6	40.2	39.6	39.2
+10	44.0	43.5	43.0	42.5	42.0	41.6	41.0	40.6	40.1	39.6
+9	44.4	43.9	43.4	42.9	42.4	42.0	41.5	41.0	40.5	40.0
+8	44.8	44.3	43.8	43.3	42.8	42.4	41.9	41.4	40.9	40.4
+7	45.2	44.7	44.2	43.7	43.2	42.8	42.3	41.8	41.3	40.8
+6	45.6	45.1	44.6	44.1	43.6	43.2	42.7	42.2	41.7	41.2
+5	46.0	45.6	45.0	44.5	44.0	43.6	43.1	42.6	42.1	41.6
+4	46.3	45.9	45.4	44.9	44.4	43.9	43.4	43.0	42.5	42.0
+3	46.7	46.2	45.8	45.3	44.8	44.3	43.8	43.4	42.9	42.4
+2	47.1	46.6	46.1	45.7	45.2	44.7	44.2	43.7	43.3	42.8

+1	47.5	47.0	46.5	46.0	45.5	45.1	44.6	44.1	43.7	43.2
+0	47.8	47.1	46.9	46.4	46.0	45.5	45.0	44.5	44.0	43.6

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	35.0	34.5	34.0	33.5	33.0	32.5	32.0	31.5	31.0	30.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	30.9	30.4	29.9	29.4	28.9	28.4	28.0	27.5	27.0	26.5
+29	31.3	30.8	30.3	29.8	29.4	28.8	28.4	27.9	27.4	26.9
+28	31.7	31.2	30.7	30.2	29.7	29.2	28.8	28.3	27.8	27.3
+27	32.2	31.6	31.2	30.6	30.2	29.6	29.2	28.7	28.2	27.7
+26	32.6	32.0	31.6	31.0	30.6	30.0	29.6	29.1	28.6	28.1
+25	33.0	32.5	32.0	31.5	31.0	30.5	30.0	29.5	29.0	28.5
+24	33.4	32.9	32.4	31.9	31.4	30.9	30.4	29.9	29.4	28.9
+23	33.8	33.3	32.8	32.3	31.8	31.3	30.8	30.3	29.8	29.3
+22	34.2	33.7	33.2	32.7	32.2	31.7	31.2	30.7	30.2	29.7
+21	34.6	34.1	33.6	33.1	32.6	32.1	31.6	31.1	30.6	30.1
+20	35.0	34.5	34.0	33.5	33.0	32.5	32.0	31.5	31.0	30.5
+19	35.4	34.9	34.4	33.9	33.4	32.9	32.4	31.9	31.4	30.9
+18	35.8	35.3	34.8	34.3	33.8	33.3	32.8	32.3	31.8	31.3
+17	36.2	35.7	35.2	34.7	34.2	33.7	33.2	32.7	32.2	31.7
+16	36.6	36.1	35.6	35.1	34.6	34.1	33.6	33.1	32.6	32.1
+15	37.0	36.5	36.0	35.5	35.0	34.5	34.0	33.5	33.0	32.5
+14	37.4	36.9	36.4	35.9	35.4	35.0	34.4	34.0	33.5	33.0
+13	37.8	37.3	36.8	36.4	35.9	35.4	34.9	34.4	33.9	33.4
+12	38.2	37.8	37.3	36.8	36.3	35.8	35.3	34.8	34.3	33.8
+11	38.7	38.2	37.7	37.2	36.7	36.2	35.7	35.2	34.7	34.2

Handwritten signatures and marks.

+10	39.1	38.6	38.1	37.6	37.1	36.6	36.1	35.6	35.1	34.6
+9	39.5	39.0	38.5	38.0	37.5	37.0	36.5	36.0	35.5	35.0
+8	39.9	39.4	38.9	38.4	37.9	37.4	36.9	36.4	36.0	35.4
+7	40.3	39.8	39.3	38.8	38.3	37.8	37.3	36.8	36.4	35.9
+6	40.7	40.2	39.7	39.2	38.7	38.2	37.8	37.3	36.8	36.3
+5	41.1	40.6	40.1	39.6	39.2	38.7	38.2	37.7	37.2	36.7
+4	41.5	41.0	40.5	40.0	39.6	39.1	38.6	38.1	37.6	37.1
+3	41.9	41.4	40.9	40.4	40.0	39.5	39.0	38.5	38.0	37.6
+2	42.3	41.8	41.3	40.8	40.4	39.9	39.4	38.9	38.4	38.0
+1	42.7	42.2	41.7	41.3	40.8	40.3	39.8	39.3	38.9	38.4
+0	43.1	42.6	42.1	41.6	41.2	40.7	40.2	39.7	39.3	38.8

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	30.0	29.5	29.0	28.5	28.0	27.5	27.0	26.5	26.0	25.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	26.1	25.6	25.1	24.6	24.2	23.7	23.2	22.8	22.3	21.9
+29	26.4	26.0	25.5	25.0	26.6	24.1	23.6	23.2	22.7	22.2
+28	26.8	26.4	25.9	25.4	24.9	24.4	24.0	23.5	23.0	22.6
+27	27.2	26.7	26.3	25.8	25.3	24.8	24.4	23.9	23.4	22.9
+26	27.6	27.1	26.6	26.2	25.7	25.2	24.7	24.2	23.8	23.3
+25	28.0	27.5	27.0	26.6	26.1	25.6	25.1	24.6	24.1	23.7
+24	28.4	27.9	27.4	26.9	26.4	26.0	25.5	25.0	24.5	24.0
+23	28.8	28.3	27.8	27.3	26.8	26.3	25.8	25.4	24.9	24.4
+22	29.2	28.7	28.2	27.7	27.2	26.7	26.2	25.8	25.3	24.8
+21	29.6	29.1	28.6	28.1	27.6	27.1	26.6	26.1	25.6	25.1
+20	30.0	29.5	29.0	28.5	28.0	27.5	27.0	26.5	26.0	25.5

+19	30.4	29.9	29.4	28.9	28.4	27.9	27.4	26.9	26.4	25.9
+18	30.8	30.3	29.8	29.3	28.8	28.3	27.8	27.2	26.7	26.2
+17	31.2	30.7	30.2	29.7	29.2	28.6	28.1	27.6	27.1	26.6
+16	31.6	31.1	30.6	30.1	29.6	29.0	28.5	28.0	27.5	27.0
+15	32.0	31.5	31.0	30.5	30.0	29.5	28.9	28.4	27.9	27.4
+14	32.4	31.9	31.4	30.9	30.4	29.9	29.3	28.9	28.3	27.8
+13	32.8	32.3	31.8	31.3	30.8	30.0	29.7	29.2	28.7	28.2
+12	33.3	32.8	32.2	31.7	31.2	30.7	30.2	29.6	29.1	28.5
+11	33.7	33.2	32.7	32.1	31.6	31.1	30.6	30.1	29.5	28.9
+10	34.1	33.6	33.1	32.6	32.0	31.5	31.0	30.4	29.9	29.3
+9	34.5	34.0	33.5	33.0	32.5	32.0	31.4	30.9	30.3	29.7
+8	35.0	34.4	33.9	33.4	32.9	32.4	31.8	31.3	30.7	30.2
+7	35.4	34.9	34.4	33.8	33.3	32.8	32.2	31.7	31.1	30.6
+6	35.8	35.3	34.8	34.2	33.7	33.2	32.7	32.1	31.6	31.0
+5	36.2	35.7	35.2	34.7	34.2	33.6	33.1	32.6	32.0	31.4
+4	36.6	36.1	35.6	35.1	34.6	34.0	33.5	33.0	32.4	31.8
+3	37.1	36.6	36.0	35.5	35.0	34.5	34.0	33.4	32.9	32.3
+2	37.5	37.0	36.5	36.0	35.4	34.9	34.4	33.8	33.3	32.7
+1	37.9	37.4	36.9	36.4	35.9	35.3	34.8	34.3	33.7	33.1
+0	38.3	37.8	37.3	36.8	36.3	35.8	35.3	34.7	34.2	33.6

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	25.0	24.5	24.0	23.5	23.0	22.5	22.0	21.5	21.0	20.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	21.4	20.9	20.5	20.0	19.6	19.1	18.6	18.2	17.7	17.3
+29	21.8	21.3	2.8	20.4	19.9	19.4	19.0	18.5	18.0	17.6

Handwritten signatures and marks.

+28	22.1	21.6	21.2	20.7	20.2	19.8	19.3	18.8	18.4	17.9
+27	22.5	22.0	21.5	21.0	10.6	20.1	19.6	19.2	18.7	18.2
+26	22.8	22.4	21.8	21.4	20.9	20.5	20.0	19.5	19.0	18.6
+25	23.2	22.7	22.2	21.8	21.3	20.8	20.3	19.8	19.4	18.9
+24	23.5	23.1	22.6	22.1	21.0	21.1	20.7	20.2	19.7	19.2
+23	23.9	23.4	22.9	22.4	22.0	21.5	21.1	20.5	20.0	19.5
+22	24.3	23.8	23.3	22.8	22.3	21.8	21.3	20.8	20.4	19.9
+21	24.6	24.1	23.6	23.1	22.6	22.2	21.7	21.2	20.7	20.2
+20	25.0	24.5	24.0	23.5	23.0	22.5	22.0	21.5	21.0	20.5
+19	25.1	24.8	24.4	23.8	23.3	22.8	22.3	21.8	21.3	20.8
+18	25.7	25.2	24.7	24.2	23.7	23.2	22.6	22.1	21.6	21.1
+17	25.4	25.6	25.1	24.5	24.0	23.5	23.0	22.5	22.0	21.4
+16	26.5	25.9	25.4	24.9	24.4	23.8	23.3	22.8	22.3	21.8
+15	26.8	26.3	25.8	25.3	24.7	24.2	23.7	23.1	22.6	22.1
+14	27.2	26.7	26.2	25.6	25.1	24.6	24.0	23.5	23.0	22.4
+13	27.6	27.1	26.5	26.0	25.4	24.9	24.4	23.8	23.3	22.7
+12	28.0	27.4	26.9	26.4	25.8	25.3	24.7	24.2	23.6	23.0
+11	28.4	27.8	27.3	26.7	26.2	25.6	25.0	24.5	23.9	23.4
+10	28.8	28.2	27.7	27.0	26.6	26.0	25.1	24.8	24.3	23.7
+9	29.2	28.6	28.1	27.5	26.9	26.3	25.3	25.8	25.2	24.6
+8	29.6	29.0	28.5	27.9	27.3	26.7	26.1	25.5	24.9	24.3
+7	30.0	29.4	28.9	28.3	27.7	27.1	26.5	25.9	25.3	24.7
+6	30.4	29.8	29.3	28.7	28.1	27.5	26.9	26.2	25.6	25.0
+5	30.8	30.3	29.7	29.1	28.5	27.9	27.2	26.6	26.0	25.4
+4	31.3	30.7	30.1	29.5	28.9	28.2	27.6	27.0	26.4	25.7
+3	31.7	31.1	30.5	29.9	29.3	28.6	28.0	27.4	26.8	26.1

+2	32.2	31.5	30.9	30.3	29.7	29.0	28.4	27.8	27.1	26.4
+1	32.6	32.0	31.4	30.7	30.1	29.5	28.8	28.2	27.5	26.8
+0	33.0	32.4	31.8	31.2	30.6	29.9	29.2	28.6	27.9	27.2

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	20.0	19.5	19.0	18.5	18.0	17.5	17.0	16.5	16.0	15.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	16.8	16.4	16.0	15.5	15.1	14.7	14.2	13.8	13.4	12.9
+29	17.2	16.7	16.3	15.8	15.4	15.0	14.5	14.1	13.6	13.2
+28	17.5	17.0	16.6	16.1	15.7	15.2	14.8	14.4	13.9	13.4
+27	17.8	17.3	16.9	16.4	16.0	15.5	15.1	14.6	14.2	13.7
+26	18.1	17.6	17.2	16.7	16.3	15.8	15.4	14.9	14.4	14.0
+25	18.4	18.0	17.5	17.0	16.6	16.1	15.6	15.2	14.7	14.2
+24	18.7	18.3	17.8	17.3	16.9	16.4	15.9	15.4	15.0	14.5
+23	19.0	18.6	18.1	17.8	17.1	16.6	16.2	15.7	15.2	14.7
+22	19.4	18.9	18.4	17.9	17.4	17.0	16.5	16.0	15.5	15.0
+21	19.7	19.2	18.7	18.2	17.7	17.2	16.7	16.2	15.7	15.2
+20	20.0	19.5	19.0	18.5	18.0	17.5	17.0	16.5	16.0	15.5
+19	20.3	19.8	19.3	18.6	18.3	17.8	17.3	16.8	16.3	15.8
+18	20.6	20.1	19.6	19.1	18.6	18.1	17.6	17.0	16.5	16.0
+17	20.9	20.4	19.9	19.4	18.9	18.3	17.8	17.3	16.8	16.2
+16	21.2	20.7	20.2	19.7	19.2	18.6	18.1	17.5	17.0	16.5
+15	21.6	21.0	20.5	20.0	19.4	18.9	18.3	17.8	17.2	16.7
+14	21.9	21.3	20.8	20.2	19.7	19.1	18.6	18.0	17.5	16.9
+13	22.2	21.6	21.1	20.5	20.0	19.4	18.8	18.3	17.7	17.2
+12	22.5	21.9	21.4	20.8	20.2	19.7	19.1	18.5	18.0	17.4

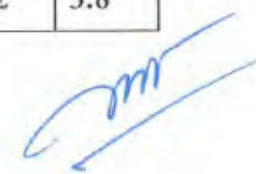
Handwritten signatures and marks in blue ink.

+11	22.8	22.2	21.7	21.1	20.5	20.0	19.4	18.8	18.2	17.6
+10	23.1	22.5	22.0	21.4	20.8	20.2	19.8	19.0	18.4	17.8
+9	23.4	22.8	22.3	21.7	21.1	20.5	19.9	19.2	18.6	18.0
+8	23.8	23.2	22.6	21.9	21.3	20.7	20.1	19.5	18.9	18.2
+7	24.1	23.4	22.8	22.2	21.6	21.0	20.4	19.7	19.1	18.4
+6	24.4	23.8	23.2	22.5	21.9	21.2	20.6	19.9	19.3	18.6
+5	24.7	24.1	23.4	22.8	22.2	21.5	21.9	20.2	19.5	18.8
+4	25.1	24.4	23.8	23.1	22.5	21.8	21.1	20.4	19.7	19.0
+3	25.4	24.8	24.1	23.4	22.7	22.0	21.4	20.6	19.9	19.2
+2	25.8	25.1	24.4	23.7	23.0	22.3	21.6	20.8	20.1	19.4
+1	26.1	25.4	24.7	24.0	23.3	22.6	21.8	21.1	20.3	19.6
+0	26.5	25.8	25.1	24.3	23.6	22.8	22.0	21.3	20.5	19.7

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	15.0	14.5	14.0	13.5	13.0	12.5	12.0	11.5	11.0	10.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	12.5	12.0	11.6	11.1	10.7	10.2	9.8	9.3	8.9	8.4
+29	12.7	12.3	11.8	11.4	10.9	10.5	10.0	9.5	9.1	8.6
+28	13.0	12.6	12.1	11.6	11.2	10.7	10.3	9.8	9.3	8.9
+27	13.2	12.8	12.3	11.9	11.4	10.9	10.5	10.0	9.5	9.1
+26	13.5	13.0	12.6	12.1	11.7	11.2	10.7	10.2	9.8	9.3
+25	13.8	13.3	12.8	12.4	11.9	11.4	10.9	10.4	10.0	9.5
+24	14.0	13.5	13.1	12.6	12.1	11.6	11.2	10.7	10.2	9.7
+23	14.3	13.8	13.3	12.8	12.3	11.8	11.4	10.9	10.4	9.9
+22	14.5	14.0	13.6	13.1	12.6	12.1	11.6	11.1	10.6	10.1
+21	14.8	14.3	13.8	13.3	12.8	12.3	11.8	11.3	10.8	10.3

+20	15.0	14.5	14.0	13.5	13.0	12.5	12.0	11.5	11.0	10.5
+19	15.2	14.7	14.2	13.7	13.2	12.7	12.2	11.7	11.2	10.7
+18	15.5	15.0	14.4	13.9	13.4	12.9	12.4	11.9	11.4	10.9
+17	15.7	15.2	14.7	14.1	13.6	13.1	12.6	12.1	11.5	11.0
+16	15.9	15.4	14.9	14.3	13.8	13.3	12.8	12.2	11.7	11.2
+15	16.2	15.6	15.1	14.5	14.0	13.5	12.9	12.4	11.9	11.3
+14	16.4	15.8	15.3	14.7	14.2	13.6	13.1	12.5	12.0	11.5
+13	16.6	16.0	15.5	14.9	14.4	13.8	13.2	12.7	12.2	11.6
+12	16.8	16.2	15.7	15.1	14.5	14.0	13.4	12.8	12.3	11.8
+11	17.0	16.4	15.8	15.3	14.7	14.1	13.6	13.0	12.4	11.9
+10	17.2	16.6	16.0	15.4	14.9	14.3	13.7	13.1	12.6	12.0
+9	17.4	16.8	16.2	15.6	15.0	14.4	13.8	13.2	12.7	12.1
+8	17.6	17.0	16.4	15.8	15.2	14.6	14.0	13.4	12.8	12.2
+7	17.8	17.2	16.5	15.9	15.3	14.7	14.1	13.5	12.9	12.3
+6	18.0	17.3	16.7	16.1	15.4	14.8	14.2	13.6	13.0	12.4
+5	18.2	17.5	16.8	16.2	15.6	14.9	14.3	13.7	13.0	12.4
+4	18.3	17.7	17.0	16.3	15.7	15.0	14.4	13.8	13.1	12.5
+3	18.5	17.8	17.1	16.4	15.8	15.1	14.2	13.8	13.2	12.6
+2	18.6	17.9	17.2	16.6	15.9	15.2	14.5	13.9	13.2	12.6
+1	18.8	18.1	17.3	16.8	15.9	15.3	14.6	13.9	13.3	12.6
+0	19.0	18.2	17.5	16.7	16.0	15.3	14.8	14.0	13.3	12.7

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kế									
	10.0	9.5	9.0	8.5	8.0	7.5	7.0	6.5	6.0	5.5
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C									
+30	7.9	7.5	7.0	6.6	6.1	5.9	5.2	4.7	4.2	3.8

Được 

+29	8.2	7.7	7.2	6.8	6.3	5.8	5.4	4.9	4.4	4.0
+28	8.4	7.9	7.7	7.0	6.5	6.1	5.6	5.1	4.6	4.2
+27	8.6	8.1	7.7	7.2	6.7	6.3	5.8	5.3	4.8	4.3
+26	8.8	8.3	7.9	7.4	6.9	6.4	6.0	5.5	5.0	4.5
+25	9.0	8.6	8.1	7.6	7.1	6.6	6.2	5.7	5.2	4.7
+24	9.2	8.8	8.3	7.8	7.3	6.8	6.3	5.8	5.4	4.9
+23	9.4	8.9	8.4	8.0	7.5	7.0	6.5	6.0	5.5	5.0
+22	9.7	9.1	8.6	8.2	7.7	7.2	6.7	6.2	5.7	5.2
+21	9.8	9.3	8.8	8.3	7.8	7.3	6.8	6.3	5.8	5.4
+20	10.0	9.5	9.0	8.5	8.0	7.5	7.0	6.5	6.0	5.5
+19	10.2	9.7	9.2	8.7	8.2	7.6	7.2	6.6	6.1	5.6
+18	10.4	9.8	9.3	8.8	8.3	7.8	7.3	6.8	6.3	5.8
+17	40.5	10.0	9.5	9.0	8.5	8.0	7.4	6.9	9.4	5.9
+16	10.7	10.2	9.6	9.1	8.6	8.1	7.6	7.0	6.5	6.0
+15	10.8	10.3	9.8	9.3	8.8	8.2	7.7	7.2	6.6	6.1
+14	11.0	10.4	9.9	9.4	8.9	8.3	7.8	7.3	6.7	6.2
+13	11.1	10.6	10.0	9.5	9.0	8.4	7.9	7.4	6.8	6.3
+12	11.2	10.7	10.1	9.6	9.1	8.5	8.0	7.5	6.9	6.4
+11	11.3	10.8	10.2	9.7	9.2	8.6	8.1	7.6	7.0	6.5
+10	11.4	10.9	10.3	9.8	9.3	8.7	8.2	7.6	7.1	6.5
+9	11.5	11.0	10.4	9.9	9.3	8.8	8.2	7.7	7.1	6.6
+8	11.6	11.1	10.5	10.0	9.4	8.8	8.3	7.7	7.2	6.6
+7	11.6	11.0	10.6	10.0	9.5	8.9	8.4	7.8	7.2	6.7
+6	11.8	11.2	10.6	10.1	9.5	8.9	8.4	7.8	7.3	6.9
+5	11.8	11.3	10.7	10.1	9.6	9.0	8.4	7.8	7.3	6.7
+4	11.9	11.3	10.7	10.2	9.6	9.0	8.4	7.8	7.3	6.7

+3	12.0	11.4	10.8	10.2	9.6	9.0	8.4	7.8	7.3	6.7
+2	12.0	11.4	10.8	10.2	9.6	9.0	8.4	7.8	7.3	6.7
+1	12.0	11.4	10.8	10.2	9.6	9.0	8.4	7.8	7.4	6.6
+0	12.0	11.4	10.8	10.2	9.6	9.0	8.4	7.8	7.4	6.6

Nhiệt độ °C	Thông số đo được trên cồn kể										
	5.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0.0
	Độ cồn tính theo thể tích ở 20°C										
+30	3.5	2.8	2.4	1.9	1.4	0.9	0.4	0.1			
+29	3.5	3.0	2.5	2.1	1.6	1.1	0.6	0.2			
+28	3.7	3.2	2.7	2.2	1.8	1.3	0.8	0.3			
+27	3.9	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	1.0	0.4	0.0		
+26	4.0	3.6	3.1	2.6	2.1	1.6	1.1	0.6	0.1		
+25	4.2	3.7	3.2	2.8	2.3	1.8	1.3	0.8	0.3		
+24	4.4	3.9	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	0.9	0.4	0.0	
+23	4.6	4.1	3.6	3.1	2.6	2.1	1.5	1.1	0.6	0.1	
+22	4.7	4.2	3.7	3.2	2.7	2.2	1.7	1.2	0.7	0.2	
+21	4.8	4.4	3.9	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	0.9	0.4	
+20	5.0	4.5	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5	0.0
+19	5.1	4.6	4.1	3.6	3.1	2.6	2.1	1.6	1.1	0.6	0.1
+18	5.3	4.8	4.2	3.7	3.2	2.7	2.2	1.7	1.2	0.7	0.2
+17	5.4	4.9	4.4	3.9	3.4	2.8	2.3	1.8	1.3	0.8	0.3
+16	5.5	5.0	4.5	4.0	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	0.9	0.4
+15	5.6	5.1	4.6	4.1	3.6	3.0	2.5	2.0	1.5	1.0	0.5
+14	5.7	5.2	4.7	4.2	3.6	3.1	2.6	2.1	1.6	1.1	0.6
+13	5.8	5.3	4.8	4.2	3.7	3.2	2.7	2.2	1.7	1.2	0.7

+12	5.9	5.4	4.8	4.3	3.8	3.3	2.8	2.2	1.7	1.2	0.7
+11	6.0	5.4	4.9	4.4	3.9	3.3	2.8	2.3	1.8	1.3	0.8
+10	6.0	5.5	5.0	4.4	3.9	3.4	2.9	2.4	1.8	1.5	0.8
+9	6.0	5.5	5.0	4.5	4.0	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	0.9
+8	6.1	5.6	5.0	4.5	4.0	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	0.9
+7	6.1	5.6	5.1	4.5	4.0	3.5	3.0	2.4	1.9	1.4	0.9
+6	6.2	5.6	5.1	4.6	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.4	0.9
+5	6.2	5.6	5.1	4.6	4.0	3.5	3.0	2.5	2.0	1.4	0.9
+4	6.2	5.6	5.1	4.5	4.0	3.5	3.0	2.4	1.9	1.4	0.9
+3	6.2	5.6	5.1	4.5	4.0	3.5	3.0	2.4	1.9	1.4	0.9
+2	6.1	5.6	5.0	4.5	4.0	3.4	2.9	2.4	1.9	1.4	0.8
+1	6.1	5.5	5.0	4.1	3.9	3.4	2.9	2.4	1.8	1.3	0.8
+0	6.0	5.5	4.9	4.4	3.9	3.3	2.8	2.3	1.8	1.3	0.8

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 51:

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRO TỔNG SỐ TRONG THỰC PHẨM BẰNG
PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG**

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm xác định hàm lượng tro tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thực phẩm chức năng là thực phẩm dùng để hỗ trợ chức năng của cơ thể con người, tạo cho cơ thể tình trạng thoải mái, tăng sức đề kháng, giảm bớt nguy cơ mắc bệnh, bao gồm thực phẩm bổ sung, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, thực phẩm dinh dưỡng y học.

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

+ Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

+ Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

+ Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm bổ sung (Supplemented Food) là thực phẩm thông thường được bổ sung vi chất và các yếu tố có lợi cho sức khỏe như vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzym, probiotic, prebiotic và chất có hoạt tính sinh học khác.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc

theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có

1.3. Nguyên lý

Mẫu xét nghiệm được nung ở nhiệt độ thích hợp để đốt cháy hết các hợp chất hữu cơ. Sau khi để nguội, hàm lượng tro tổng số được xác định bằng phương pháp cân khối lượng mẫu trước và sau nung nhiệt.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm xác định hàm lượng tro tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Dung dịch Nitric acid (HNO_3), độ tinh khiết $\geq 65\%$ 2 mL

2.2.2 Vật tư khác

- Chén nung (chén sứ chịu nhiệt), có nắp đậy, dung tích 100 mL 02 cái
- Bình hút ẩm thủy tinh, chứa silicagel 01 cái
- Kẹp gấp chén nung bằng sắt, có cán dài, chịu nhiệt 01 cái
- Thìa lấy mẫu 01 bộ
- Quần, áo, mũ bảo hộ lao động 01 bộ
- Dép đi trong phòng xét nghiệm 01 đôi
- Găng tay y tế nitrile không có bột talc 01 đôi
- Khẩu trang phòng độc 3M 7502 01 cái
- Khẩu trang y tế 01 cái
- Kính bảo hộ lao động 01 cái
- Găng tay chịu nhiệt 01 đôi

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, bi thủy tinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note,...

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|---|--------|
| - Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01 cái |
| - Bếp điện đôi, có 2 mâm gia nhiệt, công suất 2000W | 01 cái |
| - Bếp cách thủy; hoặc tương đương | 01 cái |
| - Tủ sấy, dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C | 01 cái |
| - Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01 cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01 cái |
| - Máy xay mẫu, công suất 600 W | 01 cái |
| - Máy nghiền mẫu khô, tốc độ nghiền 28000 vòng/phút | 01 cái |
| - Tủ hút khí độc | 01 cái |
| - Lò nung, dải nhiệt độ 30 °C - 3000 °C | 01 cái |

2.4. Chuẩn bị đối tượng và mẫu bệnh phẩm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm : Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.
- Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)
 - Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:
 - + Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).
 - + Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 mL).
 - + Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị
 - + Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị

Handwritten signatures:

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5. Phiếu thông tin đối tượng và dán nhãn

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3,75 giờ

Nhân viên tham gia	Số lượng nhân viên	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Chuẩn bị hóa chất, dụng cụ	0,25	0,25
		Xử lý mẫu, cân, nung mẫu	2	2
		Tổng hợp tính toán kết quả	0,3	0,3
		Nhập kết quả, lập phiếu trình ký kết quả	0,25	0,25
		Vệ dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng thí nghiệm	0,75	0,75
		Cộng		3,55
Người phê duyệt kết quả	1	Trưởng phòng xét nghiệm: đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả xét nghiệm	0,2	0,2
		Cộng		0,2
Tổng				3,75

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.

- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.

- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Tiến hành phân tích

- Xác định khối lượng ban đầu của chén (m1)

+ Cho chén vào lò nung và cài đặt nhiệt độ theo hướng dẫn kiểm soát lò nung.

+ Nung chén ở nhiệt độ $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ trong 1 giờ.

+ Để nguội trong bình hút ẩm.

+ Cân ở cân phân tích chính xác đến 0,0001 g để xác định khối lượng ban đầu của chén.

- Nung mẫu xét nghiệm

+ Cân mẫu xét nghiệm vào chén, lượng mẫu cho từng đối tượng cụ thể thực hiện theo bảng 1.

+ Đốt chén có chứa mẫu xét nghiệm từ từ trên bếp điện cho đến khi cháy hoàn toàn thành than đen (khi đốt không được để mẫu xét nghiệm cháy thành ngọn lửa).

Lưu ý: Trong quá trình đốt chén cần tránh gió.

+ Đối với mẫu dạng lỏng/sệt tiến hành cho bay hơi nước mẫu xét nghiệm trong chén đến khô trên bếp cách thủy.

+ Cho chén đã đốt vào lò nung, cài đặt nhiệt độ và thời gian cho từng đối tượng cụ thể thực hiện theo bảng 1.

Bảng 1: Khối lượng cân, nhiệt độ và thời gian nung mẫu xét nghiệm cho từng loại thực phẩm

STT	Đối tượng mẫu	Khối lượng cân (g), ghi chính xác đến 0,0001 g	Nhiệt độ nung ($^{\circ}\text{C}$)	Thời gian (giờ)	Tài liệu tham khảo
1	Thực phẩm				
1.1	Chè và sản phẩm chè	5	525	3	TCVN 5611:2007 Chè – Xác định tro tổng số

STT	Đối tượng mẫu	Khối lượng cân (g), ghi chính xác đến 0,0001 g	Nhiệt độ nung (°C)	Thời gian (giờ)	Tài liệu tham khảo
1.2	Thủy sản và sản phẩm thủy sản	10 - 15	550	6	TCVN 5105:2009 Thủy sản và sản phẩm thủy sản – Xác định hàm lượng tro
1.3	Cacao	2 - 5	600	2	TCVN 10732:2015 Sản phẩm cacao - Xác định hàm lượng tro
1.4	Thịt và sản phẩm từ thịt	1,5 - 2	525	6	TCVN 7142:2002 Thịt và sản phẩm thịt - Xác định tro tổng số
1.5	Tinh bột	2 - 10	900	0,5	TCVN 9939:2013 Tinh bột - Xác định hàm lượng tro
1.6	Kẹo	5 - 10	525	6	TCVN 4070:2009 Kẹo – Xác định hàm lượng tro tổng số
1.7	Gia vị	2	550	4	TCVN 7038:2002 Gia vị - Xác định tro tổng số
1.8	Cà phê	5	550	2,5	TCVN 5253:1990 Cà phê - Phương pháp xác định hàm lượng tro
1.9	Rau quả và sản phẩm rau quả	5 - 10	525	6	TCVN 8120 : 2009 Rau quả và sản phẩm rau quả - Xác định độ kiềm của tro tổng số và của tro tan trong nước
1.10	Ngũ cốc, đậu đỗ và phụ phẩm	3,9 – 4,1	900	1	TCVN 8124 : 2009 Ngũ cốc, đậu đỗ và phụ phẩm - Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung

STT	Đối tượng mẫu	Khối lượng cân (g), ghi chính xác đến 0,0001 g	Nhiệt độ nung (°C)	Thời gian (giờ)	Tài liệu tham khảo
1.11	Thực phẩm khác	1,5 - 2	550	5	Phương pháp nội bộ
2	Thực phẩm chức năng	1	550	5	Phương pháp nội bộ

- Xác định khối lượng chén sau khi nung (m_2)
- + Sau khi nung xong, chờ cho nhiệt độ hạ bớt thì lấy chén tro ra, cho vào bình hút ẩm để nguội 30 phút rồi cân, ghi chính xác đến 0,0001 g.
- + Cho chén đã nung lần 1 và cài đặt nhiệt độ cho từng đối tượng cụ thể thực hiện theo bảng 1 trong 30 phút.

Lưu ý: Nếu mẫu nung vẫn còn đen thì lấy chén nung ra, để nguội rồi thêm 1 mL dung dịch HNO_3 rồi tiến hành nung cho đến khi thành tro trắng.

- + Quá trình nung và cân kết thúc khi kết quả giữa 2 lần liên tiếp sau mỗi lần nung không được cách nhau quá 0,0020 g.

4.2. Nhận định kết quả

Hàm lượng tro tổng số, X, biểu thị bằng phần trăm khối lượng, được tính theo công thức:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) * 100}{m}$$

Trong đó :

X là hàm lượng tro tổng số (%)

m_1 là khối lượng của chén nung (g)

m_2 là khối lượng của chén chứa mẫu xét nghiệm sau nung (g)

m là khối lượng mẫu xét nghiệm (g hoặc mL).

- Hàm lượng tro tổng số trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định hàm lượng tro tổng số và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả phân tích hàm lượng tro tổng số của mẫu xét nghiệm được báo cáo theo đơn vị %, chính xác đến 0,01 %.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định hàm lượng tro tổng số: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
2	Mất điện trong quá trình nung	Chờ có điện, tiến hành nung lại mẫu xét nghiệm theo quy trình như trên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả nung mẫu xét nghiệm không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (kết quả mẫu lặp lại không đạt...)	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 5611:2007 Chè – Xác định tro tổng số.
- TCVN 5105:2009 Thủy sản và sản phẩm thủy sản – Xác định hàm lượng tro.
- TCVN 10732:2015 Sản phẩm cacao - Xác định hàm lượng tro.
- TCVN 7142:2002 Thịt và sản phẩm thịt - Xác định tro tổng số.
- TCVN 9939:2013 Tinh bột - Xác định hàm lượng tro.
- TCVN 4070:2009 Kẹo – Xác định hàm lượng tro tổng số.
- TCVN 7038:2002 Gia vị - Xác định tro tổng số.
- TCVN 5253:1990 Cà phê - Phương pháp xác định hàm lượng tro.
- TCVN 8120 : 2009 Rau quả và sản phẩm rau quả - Xác định độ kiềm của tro tổng số và của tro tan trong nước.
- TCVN 8124 : 2009 Ngũ cốc, đậu đỗ và phụ phẩm - Xác định hàm lượng tro bằng phương pháp nung.
- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích
 - TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu
 - TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử
 - AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP ngày 02/02/2018 của Chính phủ về việc Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 52:

ĐỊNH LƯỢNG XƠ THÔ TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng xơ thô trong thực phẩm bằng phương pháp khối lượng.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Xơ thô (Crude fiber (CF)): là phần còn lại của thực phẩm thực vật sau khi mẫu được chiết xuất lần lượt bằng axit loãng và kiềm loãng.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+ AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống.

+ CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+ RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

1.3. Nguyên lý

Mẫu được nghiền nhỏ thích hợp, sau đó xử lý lần lượt bằng dung dịch sulfuric acid và dung dịch potassium hydroxide đun sôi. Cặn được tách bằng cách lọc, rửa, sấy khô, cân sau đó hoá tro. Sự hao hụt khối lượng sau khi hoá tro được gọi là hàm lượng xơ thô.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng xơ thô trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|--|---------|
| - Aceton độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$ | 30 mL |
| - n-Octane độ tinh khiết $\geq 99 \%$ | 2 mL |
| - Sulfuric acid độ tinh khiết $\geq 98,0 \%$ | 3,25 mL |

- | | |
|---|--------|
| - Potassium hydroxide độ tinh khiết $\geq 85,0\%$ | 6,25 g |
| - Nước cất 2 lần | 2 l |
| - Petroleum ether 30-60 khoảng nhiệt độ sôi 30 - 60°C | 300 mL |

2.2.2 Vật tư khác

- | | |
|--|--------|
| - Bình định mức thủy tinh 1000 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 23 ± 2 mm | 01 cái |
| - Bình định mức thủy tinh 500 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 19 ± 2 mm | 01 cái |
| - Chai thủy tinh có nắp vặn 1000 mL | 02 cái |
| - Bình tia nước cất nhựa 500 mL | 01 cái |
| - Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia | 01 cái |
| - Pipet thủy tinh thẳng 10 mL, cấp A | 02 cái |
| - Ống đong thủy tinh 250 mL, có vạch chia | 01 cái |
| - Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm | 01 cái |
| - Cốc chiết xơ thủy tinh với bộ lọc P2, kích thước lỗ 40-100 μm , tương thích cho hệ thống phân tích xơ | 03 cái |
| - Pipet pasteur thủy tinh, chiều dài 230 mm | 02 cái |
| - Quả bóp cao su | 01 cái |
| - Bình hút ẩm thủy tinh chứa silica gel | 01 cái |
| - Thìa lấy mẫu | 01 bộ |
| - Quần, áo, mũ bảo hộ lao động | 01 bộ |
| - Dép đi trong phòng thí nghiệm | 01 đôi |
| - Găng tay y tế nitrile không bột | 01 đôi |
| - Mặt nạ phòng độc 3M 7502 | 01 cái |
| - Khẩu trang y tế | 01 cái |
| - Kính bảo hộ lao động | 01 cái |

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng kiểm nghiệm, cụ thể như sau:

- Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg 01 cái
- Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 1100 g, có độ chính xác $\pm 0,01$ g 01 cái
- Hệ thống phân tích sơ 01 cái
- Lò nung dải nhiệt độ 30 °C - 3000 °C 01 cái
- Bếp điện đôi, có 2 mâm gia nhiệt, công suất 2000 W 01 cái
- Tủ sấy dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C 01 cái
- Máy xay mẫu, công suất 600 W 01 cái
- Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C 01 cái
- Tủ hút khí độc kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm 01 cái

2.4. Chuẩn bị đối tượng và mẫu bệnh phẩm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm: Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

+ Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 4,6 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	0,5	0,5
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Cân	0,15	0,15
		Chiết xuất mẫu		
		Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,5	0,5
		Chạy máy	1,5	1,5
		Xử lý kết quả	0,5	0,5
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,75	0,75
		Cộng		4,4
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
		Tổng		4,6

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.

Sun *mr*

- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.

- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.4.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 2 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch sulfuric acid 1,25 %
- + Dùng pipet hút 7,5 mL sulfuric acid vào bình định mức 1000 mL có chứa sẵn khoảng 800 mL nước cất 2 lần.
- + Để nguội. Thêm nước cất 2 lần đến vạch định mức, lắc đều.
- Dung dịch potassium hydroxide 1,25 %
- + Cân 6,25 g potassium hydroxide vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL. Thêm khoảng 80 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.
- + Chuyển dung dịch vừa pha vào bình định mức 500 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.

4.1.3. Bước 3: Tiến hành phân tích

- Cân 1 g mẫu (chính xác đến 0,1 mg) vào cốc chiết xơ.

Mẫu xét nghiệm được loại béo bằng petroleum ether nếu mẫu có hàm lượng chất béo $\geq 10\%$ (3 lần x 25 mL petroleum ether/ 1 g mẫu xét nghiệm).

- Lắp cốc chiết xơ vào vị trí chiết trên hệ thống chiết xơ. Dùng ống đong thêm 150 mL dung dịch sulfuric acid 1,25 % vào cột chiết. Tiếp tục thêm 3-5 giọt n-octane chống tạo bọt. Bật hệ thống chiết xơ, đun sôi dung dịch chiết trong 30 phút (trong quá trình đun có thể sử dụng chức năng đảo chậm 1-2 lần). Sau đó tắt nguồn nhiệt, kết nối chân không hút dung dịch loại bỏ. Rửa tủa 3 lần (10 mL/lần) bằng nước cất 2 lần đun sôi.

- Dùng ống đong thêm 150 mL dung dịch Potassium hydroxide 1,25 % vào cột chiết, thêm 3-5 giọt n-octane chống tạo bọt. Bật hệ thống chiết xơ, đun sôi dung dịch chiết trong 30 phút (trong quá trình đun có thể sử dụng chức năng đảo chậm 1-2 lần). Sau đó tắt nguồn nhiệt, kết nối chân không hút dung dịch loại bỏ. Rửa tủa 3 lần (10 mL/lần) bằng nước cất 2 lần đun sôi, sau đó rửa lần lượt bằng 10 mL nước cất 2 lần lạnh và 10 mL acetone.

- Tháo cốc chiết ra khỏi máy chiết xơ. Sấy tại 105 °C đến khối lượng không đổi F1 (g). Tro hóa tại 550 °C trong 3 giờ, cân lượng tro thu được F2 (g).

4.2. Nhận định kết quả

- Hàm lượng xơ thô trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = (F1 - F2) \times 100 / m$$

Trong đó:

X: Hàm lượng xơ thô trong mẫu xét nghiệm (g/100 g)

F1: Khối lượng cốc xơ sau khi sấy khô (g)

F2: Khối lượng cốc xơ sau khi đốt tro (g)

m: Khối lượng cân mẫu (g)

- Hàm lượng xơ thô trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng xơ thô và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả phân tích xơ thô được báo cáo theo đơn vị g/100 g, chính xác đến 0,01 g.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị HorRat(r) ≤ 1,3) lấy kết quả trung bình

4.3. Trả kết quả và lưu giữ hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu định lượng xơ thô: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (mẫu kiểm soát/ kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.

- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.

- Kết quả phân tích mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$.

- Tiến hành phân tích lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 5714: 2007 Chè - Xác định hàm lượng xơ thô.

- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích.

- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.

- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu xét nghiệm.

- AOAC 2016, appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements.

- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 53:

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MUỐI NATRI CLORUA (NaCl) TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này để xác định hàm lượng muối natri clorua (NaCl) trong thực phẩm bằng phương pháp chuẩn độ.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

Thuật ngữ và chữ viết tắt:

- LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.
- LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.
- CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.
- RM (Reference Material): mẫu chuẩn.
- KPH: Không phát hiện

1.3. Nguyên lý

Chiết muối khỏi mẫu bằng nước nóng, chuẩn độ lượng ion Cl^- bằng dung dịch bạc nitrat 0,1 N với chỉ thị kali cromat, sau đó tính toán hàm lượng NaCl trong thực phẩm dựa trên hệ số quy đổi từ lượng ion Cl^- .

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm hàm lượng muối ăn trong thực phẩm bằng phương pháp chuẩn độ.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|---|---------|
| - Ống chuẩn bạc nitrat (AgNO_3) 0,1 N (pha đủ 1000 mL) | 20 mL |
| - Sodium hydroxide (NaOH), độ tinh khiết $\geq 97,0 \%$ | 0,008 g |
| - Ethanol, độ tinh khiết $\geq 99,9 \%$ | 1 mL |

- Phenolphthalein	0,001 g
- Potassium chromate (K_2CrO_4), độ tinh khiết $\geq 97,0\%$	0,5 g
- Nước cất 2 lần	2,5 lít
2.2.2 Vật tư khác	
- Bình định mức thủy tinh 1000 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 23 ± 2 mm	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 250 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm	03 cái
- Buret thủy tinh 10 mL, cấp chính xác AS, vạch chia nhỏ nhất 0,05 mL	01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia	02 cái
- Ống đong thủy tinh 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Bình tam giác 250 mL, loại chịu nhiệt, có vạch chia	09 cái
- Pipette pasteur thủy tinh, chiều dài 230 mm	03 cái
- Bình thủy tinh nắp vặn, dung tích 1000 mL, có vạch chia, loại tối màu	01 cái
- Bình thủy tinh nắp vặn, dung tích 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 25 mL, cấp A	03 cái
- Ống nghiệm thủy tinh có nắp, kích thước 16 x 150 mm	01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	01 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính miệng phễu 7 cm	03 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 cm	03 cái
- Thìa cân các loại	01 bộ
- Quả bóp cao su 3 van	01 quả
- Bóp hút cao su	01 cái
- Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	01 bộ
- Dép đi trong phòng xét nghiệm	01 đôi
- Găng tay y tế nitrile không bột talc	01 đôi

- Khẩu trang y tế 01 cái
- Kính bảo hộ lao động 01 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo, túi lưu mẫu.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, bình thủy tinh, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilon đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, độ chính xác $\pm 0,1$ mg 01 cái
- Cân kỹ thuật, tải trọng tối đa 1100 g, độ chính xác $\pm 0,01$ g 01 cái
- Máy lắc ngang, tốc độ lắc tối đa 300 vòng/phút 01 cái
- Bếp điện đơn, công suất 450 W, có nút điều chỉnh nhiệt độ 01 cái
- Máy xay mẫu hãng Philips, công suất 600 W hoặc tương đương 01 cái
- Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C 01 cái
- Tủ hút khí độc 01 cái

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

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm: Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

+ Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3,05 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng	Nội dung công việc	Thời gian (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	1	Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,25	0,25
		Cân, pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	0,5	0,5
		Cân mẫu	0,1	0,1
		Chiết xuất mẫu và chuẩn độ	1,0	1,0
		Xử lý kết quả	0,25	0,25
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,25	0,25
		Cộng		2,85
Người phê duyệt kết quả	1	Trưởng PTN: Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
Tổng				3,05

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Cán bộ kiểm nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình xét nghiệm mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.

- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 2 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị dung dịch chuẩn độ

- Dung dịch AgNO_3 nồng độ 0,1 N

Chuyển toàn bộ lượng AgNO_3 trong ống chuẩn vào bình định mức 1000 mL. Tráng ống chuẩn nhiều lần bằng nước cất. Định mức tới vạch và lắc đều.

- Dung dịch NaOH nồng độ 0,1 N

+ Cân 0,4 g NaOH vào cốc có mỏ 100 mL, thêm khoảng 60 mL nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy đều đến tan hoàn toàn.

+ Chuyển toàn bộ lượng dung dịch trong cốc vào bình định mức 100 mL, tráng cốc và định mức đến vạch bằng nước cất, lắc đều.

- Dung dịch phenolphthalein nồng độ 0,1 %

Cân 100 mg phenolphthalein vào bình thủy tinh có nắp vặn 100 mL. Dùng ống đong thêm 100 mL ethanol vào bình, đậy nắp và lắc cho tan hoàn toàn.

- Dung dịch K_2CrO_4 nồng độ 5 %

+ Cân 0,5 g K_2CrO_4 vào ống nghiệm.

+ Dùng ống đong thêm 10 mL nước cất vào ống nghiệm, lắc đều.

+ Dung dịch được pha mới cho từng ngày xét nghiệm.

4.1.3. Bước 3: Tiến hành chiết và chuẩn độ

- Cân khoảng 10-20 g mẫu thử (chính xác đến 0,01 g) vào bình tam giác 250 mL. Thêm khoảng 100 mL nước cất vào bình.

- Đun bình mẫu trên bếp điện trong 15 phút. Lấy mẫu ra để nguội. Chuyển toàn bộ mẫu sang bình định mức 250 mL, thêm nước cất đến vạch, lắc kỹ để lắng.

- Lọc mẫu trên phễu với giấy lọc gấp nếp. Thu dịch lọc vào một bình tam giác.

- Hút 25 mL dịch lọc vào bình tam giác khác. Nhỏ vài giọt chỉ thị phenolphthalein 0,1 % vào bình, vừa thêm từ từ dung dịch NaOH 0,1 N vừa lắc đều cho tới khi xuất hiện màu hồng bền (trong 30 giây).

Handwritten signature and initials in blue ink.

- Thêm vào bình mẫu 10 giọt dung dịch K_2CrO_4 5 %, chuẩn độ dịch lọc bằng dung dịch $AgNO_3$ 0,1 N cho đến khi xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch của Ag_2CrO_4 . Ghi số mL dung dịch $AgNO_3$ 0,1 N đã dùng.

4.2. Nhận định kết quả

- Hàm lượng muối ăn trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = \frac{0,00585 \times V \times V1 \times 100}{m \times V2}$$

Trong đó:

X: hàm lượng muối ăn trong mẫu xét nghiệm (g/100g)

0,00585: khối lượng NaCl tương ứng với 1mL dung dịch $AgNO_3$ 0,1 N (g)

V: thể tích $AgNO_3$ 0,1 N dùng để chuẩn độ (mL)

V1: dung tích bình định mức (mL)

V2: thể tích dịch lọc hút dùng để chuẩn độ (mL)

m: khối lượng hoặc thể tích của mẫu thử (g, mL).

- Xem xét kết quả mẫu kiểm tra chất lượng (QC): nếu kết quả mẫu kiểm soát, mẫu lặp lại đạt yêu cầu mới tiến hành trả kết quả mẫu thử. Nếu kết quả mẫu QC hoặc mẫu lặp lại không đạt yêu cầu, tiến hành làm lại mẫu.

- Hàm lượng muối ăn trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định hàm lượng muối ăn và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm hàm lượng muối ăn được báo cáo theo đơn vị g/100g, chính xác đến 0,01 g.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả xét nghiệm không phát hiện hàm lượng muối ăn thì báo cáo “KPH” đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả xét nghiệm có phát hiện hàm lượng muối ăn nhưng kết quả tính toán < LOQ thì báo cáo kết quả là “< LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.4. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định độ ẩm: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng và mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu.
- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 4591:1988 Đồ hộp - Phương pháp xác định hàm lượng muối ăn (natri clorua).
- TCVN 8148 : 2009 Bơ – Xác định hàm lượng muối
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 54:

ĐỊNH LƯỢNG NITƠ VÀ PROTEIN THỎ TRONG THỰC PHẨM VÀ THỰC PHẨM BẢO VỆ SỨC KHỎE BẰNG PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng nitơ và tính toán protein thô bằng phương pháp Kjeldahl.

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thực phẩm chức năng là thực phẩm dùng để hỗ trợ chức năng của cơ thể con người, tạo cho cơ thể tình trạng thoải mái, tăng sức đề kháng, giảm bớt nguy cơ mắc bệnh, bao gồm thực phẩm bổ sung, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, thực phẩm dinh dưỡng y học.

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm bổ sung (Supplemented Food) là thực phẩm thông thường được bổ sung vi chất và các yếu tố có lợi cho sức khỏe như vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzym, probiotic, prebiotic và chất có hoạt tính sinh học khác.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn

theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có.

- Sản phẩm sữa dạng lỏng: bao gồm sữa tươi nguyên liệu, sữa tươi nguyên chất thanh trùng/tiệt trùng, sữa tươi nguyên chất tách béo thanh trùng/tiệt trùng, sữa tươi thanh trùng/tiệt trùng, sữa tươi tách béo thanh trùng/tiệt trùng.

- Sản phẩm từ sữa: sản phẩm thu được từ quá trình chế biến sữa, có thể bổ sung phụ gia thực phẩm và các thành phần khác cần thiết cho quá trình chế biến

- Sữa bột: sản phẩm dạng bột thu được bằng cách loại nước từ sữa tươi nguyên liệu. Hàm lượng chất béo, protein của sữa có thể được điều chỉnh bằng cách thêm hoặc loại bớt các thành phần sữa mà không làm thay đổi tỷ lệ giữa whey protein và casein của sữa.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt

+ Hàm lượng nitơ (nitrogen content): khối lượng của nitơ xác định được bằng phương pháp quy định trong SOP này.

+ Lượng protein thô (nitrogen crude content) được tính từ hàm lượng nitơ xác định bằng phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này, bằng cách nhân hàm lượng nitơ với các hệ số thích hợp tùy thuộc vào từng loại thực phẩm.

1.3 Nguyên lý

Phân hủy phần mẫu xét nghiệm bằng H_2SO_4 đậm đặc với sự có mặt của chất xúc tác để chuyển hóa các nitơ hữu cơ thành $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. NaOH dư được thêm vào dịch phân hủy đã nguội để giải phóng NH_3 . NH_3 giải phóng được chưng cất vào dung dịch H_3BO_3 dư, sau đó được chuẩn độ bằng dung dịch HCl chuẩn. Hàm lượng nitơ được tính từ lượng NH_3 tạo thành.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về xét nghiệm xác định hàm lượng protein trong thực phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|--|--------|
| - Selenium độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$ | 0,21 g |
| - Sulfuric acid (H_2SO_4) độ tinh khiết $\geq 93,0 \%$ | 125 mL |
| - Sodium hydroxide (NaOH) độ tinh khiết $\geq 98,0 \%$ | 180 g |

- Methyl red	0,25 mg
- Bromocresol green	1,25 mg
- Boric acid (H_3BO_3) độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$	12 g
- Ống chuẩn hydrochloric acid (HCl) 0,1 N (pha đủ 1000 mL)	100 mL
- Ammonium sulfate (NH_4) $_2\text{SO}_4$ độ tinh khiết $\geq 99,9 \%$	0,12 g
- Tryptophan ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$) độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$	0,18 g
- Potassium sulfate (K_2SO_4) độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$	21 g
- Copper sulfate pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) độ tinh khiết $\geq 99 \%$	0,6 g
- Peroxide (H_2O_2) độ tinh khiết $\geq 30 \%$	10 mL
- Titanium Dioxide (TiO_2) độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$	0,42 g
- Sacarose độ tinh khiết $\geq 99 \%$	2,5 g
- Dung dịch Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) độ tinh khiết $\geq 99 \%$	1 mL
- Nước cất 2 lần	3,0 lít
- Silicon anti-foaming agent (chất chống tạo bọt)	0,3 g

2.2.2 Vật tư khác

- Ống phân hủy bằng thủy tinh, dung tích 250 mL	05 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 5 mL, cấp A	02 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 10 mL, cấp A	01 cái
- Ống đong thủy tinh 25 mL, có vạch chia	01 cái
- Ống đong thủy tinh 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Ống đong thủy tinh 500 mL, có vạch chia	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 1 L, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $23 \pm 2 \text{ mm}$	02 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm	01 cái
- Bình tam giác 500 mL, có vạch chia	02 cái

Handwritten signatures:

- Buret thủy tinh khóa nhựa PTFE 25 mL, cấp A, vạch chia nhỏ nhất 0,05 mL	01 cái
- Cốc thủy tinh có mô dung tích 2 L, có vạch chia, chịu nhiệt	01 cái
- Cốc thủy tinh có mô dung tích 500 mL, có vạch chia	02 cái
- Cốc thủy tinh có mô dung tích 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Bình thủy tinh có nắp vặn 250mL	01 cái
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Quả bóp cao su	01 quả
- Đũa thủy tinh đường kính 7 mm, chiều dài 30 cm	01 cái
- Quần, áo, mũ bảo hộ lao động:	01 bộ
- Dép đi trong phòng thí nghiệm	01 đôi
- Găng tay y tế nitrile không bột	01 đôi
- Mặt nạ phòng độc 3M 7502	01 cái
- Khẩu trang y tế	01 cái
- Kính bảo hộ lao động	01 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip (15x20cm)
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, bi thủy tinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay, ...
- Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note, ...

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác đến $\pm 0,1$ mg	01 cái
- Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 1100 g, có độ chính xác đến $\pm 0,01$ g	01 cái

- Hệ thống vô cơ hóa mẫu 01 cái
- Hệ thống cất đậm tự động 01 cái
- Máy xay mẫu công suất 600W 01 cái
- Tủ hút khí độc, kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ $\leq -18^{\circ}\text{C}$ 01 cái
- Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2°C đến 15°C 01 cái

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu xét nghiệm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm: Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

+ Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện xét nghiệm: 5,2 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Pha chế hóa chất, cân mẫu	1,0	1,0
		Vô cơ hóa, cất đậm, chuẩn độ	2	2

Được *mm*

		Tính toán kết quả	0,5	0,5
		Nhập kết quả, lập phiếu trình ký kết quả	0,25	0,25
		Vệ sinh máy, dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng thí nghiệm	1	1
		Cộng		5,0
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
Tổng				5,2

2.7 Địa điểm thực hiện xét nghiệm: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 2 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch dịch sodium hydroxide (NaOH) nồng độ 50 %

Cân 500 g NaOH vào cốc thủy tinh có mỏ 2 L, thêm nước cất 2 lần tới vạch 1 L, dùng đũa thủy tinh khuấy cho hòa tan hoàn toàn.

- Dung dịch ethanol 95 %

Cho 285 mL ethanol vào ống đong 500 mL thêm nước cất đến vạch 300 mL, khuấy đều.

- Dung dịch chất chỉ thị methyl red - bromocresol green

Cân 0,1 g methyl red vào cốc thủy tinh 100 mL, thêm ethanol 95 % đến vạch 50 mL, hòa tan (1).

Cân 0,5 g bromocresol green vào cốc thủy tinh 500 mL, thêm ethanol 95 % đến vạch 250 mL, hòa tan (2).

Trộn dung dịch methyl red (1) với dung dịch bromocresol green (2) theo tỉ lệ 1:5 hoặc gộp và trộn tất cả các phần của cả hai dung dịch.

- Dung dịch boric acid (H_3BO_3) nồng độ 4 %

Cân 40 g H_3BO_3 vào cốc thủy tinh 500 mL thêm khoảng 300 mL nước nóng, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 1 L.

Thêm 3 mL dung dịch chất chỉ thị và định mức bằng nước cất tới vạch 1 L. Bảo quản dung dịch trong chai thủy tinh borosilicat, dung dịch này sẽ có màu cam. Trong quá trình bảo quản dung dịch cần tránh ánh sáng và các nguồn khói amoniac

- Ammonium sulfate ($(NH_4)_2SO_4$)

Sấy khô $(NH_4)_2SO_4$ ở $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ít nhất 2 giờ. Để nguội trong tủ hút ẩm cho đến nhiệt độ phòng.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành phân tích

- Cân mẫu và chất xúc tác

+ Cân mẫu xét nghiệm vào một ống phân hủy cùng lượng chất xúc tác và thể tích các dung dịch tương ứng với các đối tượng thực phẩm như trong bảng sau:

TT	Loại thực phẩm	Khối lượng mẫu	Chất xúc tác	Thể tích H_2SO_4 (mL)	Thể tích H_2O_2 30% (mL)
1	Đậu, cây họ đậu đỗ	0,3 g	7 g K_2SO_4 + 0,2 g $CuSO_4.5H_2O$	15	
2	Nước uống chứa probiotic, Sữa tươi	5 mL	7 g K_2SO_4 + 0,2 g $CuSO_4.5H_2O$	20	5

Handwritten signatures:

3	Mỳ ống	1 g	7 g K_2SO_4 + 0,2 g $CuSO_4.5H_2O$	12	
4	Đậu phộng, hạnh nhân, các loại hạt quả hạch	0,5 g	7 g K_2SO_4 + 0,2 g $CuSO_4.5H_2O$ + 0,1 g Chất chống tạo bọt	20	5
5	Sữa bột	1 g	7 g K_2SO_4 + 0,2 g $CuSO_4.5H_2O$ + 0,1 g Chất chống tạo bọt	20	5
6	Thịt	1 g	7 g K_2SO_4 + 0,07 g Se	20	5
7	Thức ăn chăn nuôi	0,5-1 g	4,875 g Na_2SO_4 + 0,075 g $CuSO_4.5H_2O$ + 0,050 g Se	13	
8	Phô mai	1 g	7 g K_2SO_4 + 0,21 g $CuSO_4.5H_2O$ + 0,21 g TiO_2	12	
9	Ngũ cốc, lúa mì	2 g	7 g K_2SO_4 + 0,2 g $CuSO_4.5H_2O$ + 0,1 g Chất chống tạo bọt	20	

+ Dùng pipet hút 5 mL H_2SO_4 để rửa chất xúc tác hoặc mẫu xét nghiệm còn lại trên thành trên của ống phân hủy cho trôi hết xuống bình. Trộn nhẹ lượng chứa trong ống.

- Phân hủy mẫu xét nghiệm

+ Đặt ống phân hủy vào hệ thống vô cơ mẫu và cài đặt nhiệt độ theo bảng dưới, quy trình cài đặt nhiệt độ theo đúng hướng dẫn sử dụng của máy vô cơ hóa mẫu, cụ thể như sau:

TT	Loại thực phẩm	Nhiệt độ-thời gian phân hủy
1	Đậu, cây họ đậu đỗ	150°C- 15 phút 250°C-15 phút 420°C-90 phút
2	Nước uống chứa probiotic, Sữa tươi	150°C- 15 phút 250°C-15 phút 420°C-40 phút
3	Mỳ ống	150°C- 15 phút 250°C-15 phút 420°C-60 phút

4	Đậu phộng, hạnh nhân, các loại hạt quả hạch	150°C- 15 phút 300°C-30 phút 420°C-60 phút
5	Sữa bột	150°C- 15 phút 250°C-15 phút 420°C-40 phút
6	Thịt	250°C- 30 phút 350°C-30 phút 420°C-60 phút
7	Thức ăn chăn nuôi	150°C- 15 phút 250°C-15 phút 420°C-20 phút
8	Phô mai	150°C- 15 phút 250°C-15 phút 420°C-40 phút
9	Ngũ cốc, lúa mì	150°C- 15 phút 300°C-30 phút 420°C-60 phút

+ Tiến hành phân hủy mẫu cho đến khi dịch phân hủy trong suốt. Để dịch phân hủy nguội đến nhiệt độ phòng. Dịch phân hủy đã nguội phải ở dạng lỏng hoặc dạng lỏng có một ít kết tủa trên đáy ống phân hủy.

+ Thêm 50 mL nước cất 2 lần vào mỗi ống, lắc để các tinh thể tách ra được hòa tan.

+ Toàn bộ dịch phân hủy đã pha loãng có thể được giữ nguyên trong ống và để trên giá đỡ, đậy kín lại và bảo quản ở nhiệt độ phòng để chưng cất ở giai đoạn sau.

- Chưng cất mẫu xét nghiệm sau khi phân hủy

+ Bật bộ ngưng tụ nước của thiết bị chưng cất. Nối ống phân hủy có chứa dịch phân hủy đã pha loãng vào thiết bị chưng cất.

+ Đặt bình tam giác 250 mL có chứa 50 mL dung dịch H_3BO_3 4 % dưới đầu ra của ống ngưng tụ sao cho đầu ra của ống thấp hơn bề mặt của dung dịch boric acid.

+ Điều chỉnh thiết bị chưng cất để phân phối 50-70 mL dung dịch NaOH 50 %.

Handwritten signatures:

+ Cho vận hành thiết bị chưng cất theo chỉ dẫn của nhà sản xuất để chưng cất amoniac đã giải phóng, thu dịch cất vào bình chứa H_3BO_3 4 %. Tiếp tục quá trình chưng cất cho đến khi thu được khoảng 250 mL dịch cất.

+ Tháo bình nón ra khỏi thiết bị chưng cất tráng rửa bên trong và bên ngoài đầu ống bằng nước, thu lấy nước rửa cho vào bình nón. Sau mỗi mẫu xét nghiệm, tráng rửa đầu ống bằng nước cất 2 lần.

- Chuẩn độ mẫu xét nghiệm sau khi chưng cất

+ Dùng buret nhỏ dung dịch HCl 0,1 N vào bình nón chứa mẫu xét nghiệm sau khi chưng cất, điểm kết thúc đạt được khi dung dịch mẫu xét nghiệm có vết màu hồng. Đọc buret chính xác đến 0,05 mL và ghi lại thể tích HCl 0,1 N.

4.2 Nhận định kết quả

- Tính hàm lượng nitơ

Hàm lượng nitơ trong mẫu xét nghiệm W_n (g/100 g) được tính theo công thức sau:

$$W_n = \frac{(V_1 - V_0) \times T \times 0,014 \times 100}{m}$$

Trong đó:

W_n : là hàm lượng nitơ trong mẫu xét nghiệm (g/100 g)

V_0 : thể tích HCl 0,1 N dùng chuẩn độ mẫu trắng (mL);

V_1 : thể tích HCl 0,1 N dùng chuẩn độ mẫu xét nghiệm (mL);

0,014: lượng nitơ tương đương với việc sử dụng 1 mL dung dịch HCl 0,1 N (g);

T: nồng độ đương lượng của dung dịch HCl 0,1 N được sử dụng để chuẩn độ;

M: khối lượng của phần mẫu xét nghiệm, tính bằng gam (g).

Xem xét kết quả mẫu kiểm tra chất lượng (QC): nếu kết quả mẫu kiểm soát, mẫu lặp lại đạt yêu cầu mới tiến hành trả kết quả mẫu xét nghiệm. Nếu kết quả mẫu QC hoặc mẫu lặp lại không đạt yêu cầu, tiến hành làm lại mẫu.

- Tính hàm lượng protein thô

Tính hàm lượng protein thô của mẫu xét nghiệm, W_p , sử dụng công thức sau đây:

$$W_p = W_n \times \text{hệ số chuyển đổi}$$

Trong đó:

W_p : hàm lượng protein thô tính bằng phần trăm khối lượng (%).

W_n : hàm lượng nitơ của mẫu xét nghiệm, tính bằng phần trăm khối lượng được lấy đến bốn chữ số thập phân (%).

Hệ số chuyển đổi:

Loại thực phẩm	Hệ số
Ngũ cốc, thức ăn chăn nuôi, thịt, đậu tương, và các thực phẩm khác	6,25
Thức uống probiotic, sữa và các sản phẩm từ sữa	6,38
Hạnh nhân	5,18
Đậu phộng	5,46
Lúa mỳ, mỳ ống	5,7

- Hàm lượng nitơ và protein thô trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo Biểu mẫu định lượng nitơ và protein thô, được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.
- Kết quả hàm lượng nitơ: biểu thị kết quả chính xác đến bốn chữ số thập phân, nếu cần để tính toán tiếp theo. Đối với kết quả cuối cùng, biểu thị hàm lượng nitơ đến ba chữ số thập. Không làm tròn các kết quả thu được cho đến khi tính giá trị cuối cùng của phép thử.
- Kết quả hàm lượng protein thô: báo cáo kết quả thu được đến ba chữ số thập phân, nếu cần để tính toán tiếp. Đối với kết quả cuối cùng thì biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.
- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)
- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:
 - + Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính
 - + Biểu mẫu xác định định lượng nitơ và tính toán protein thô: 01 bản chính
 - + Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính
- Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện xét nghiệm

TT	Tình huống	Xử lý
1	Việc kết tinh quá nhiều sau khi để nguội ống phân hủy là do thất thoát axit quá mức trong quá trình phân hủy và có thể cho kết quả xét nghiệm thấp. Việc thất thoát axit quá mức là do hút khói quá mạnh hoặc do thời gian phân hủy quá dài từ việc cài đặt nhiệt độ tối đa của bộ gia nhiệt không đúng.	Điều chỉnh nút vặn của bộ hút chân không để giảm lưu lượng hút
2	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
3	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện xét nghiệm

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực xét nghiệm hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng thí nghiệm

5.3 Sau khi thực hiện xét nghiệm

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.

- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.

6.1 Phép thử trắng

+ Tiến hành phép thử trắng theo qui trình đối với mẫu xét nghiệm. Thay phần mẫu xét nghiệm bằng 5 mL nước và 0,86 g sacarose. Thực hiện chuẩn độ mẫu trắng bằng acid HCl 0,1 N và dùng buret như đã sử dụng đối với các phần mẫu xét nghiệm.

+ Ghi lại các giá trị mẫu xét nghiệm trắng. Nếu các giá trị của phép xác định mẫu xét nghiệm trắng thay đổi thì phải tìm nguyên nhân.

+ Đối với mục đích này có thể sử dụng 0,86 g sacarose mà không bổ sung nước.

Chú ý:

+ Mục đích của việc sử dụng sacarose trong phép thử trắng hoặc chuẩn thu hồi là đóng vai trò của chất hữu cơ để tiêu thụ một lượng H_2SO_4 trong quá trình phân hủy tương đương với phần mẫu xét nghiệm. Nếu lượng H_2SO_4 tự do còn lại tại điểm kết thúc phân hủy quá thấp thì độ thu hồi nitơ trong cả hai phép thử độ thu hồi trong mục 6.2.2 và mục 6.2.3 sẽ thấp. Tuy nhiên, nếu lượng axit dư có mặt trong giai đoạn cuối phân hủy đủ để giữ tất cả nitơ, nhưng các điều kiện nhiệt độ và thời gian trong quá trình phân hủy là không đủ để giải phóng tất cả nitơ ra khỏi mẫu, thì độ thu hồi nitơ trong mục 6.2.2 có thể chấp nhận được và độ thu hồi nitơ trong mục 6.2.3 sẽ thấp.

+ Lượng chất chuẩn độ được sử dụng trong phép thử trắng phải luôn lớn hơn 0,00 mL. Các phép thử trắng thực hiện trong cùng một phòng xét nghiệm luôn phải ổn định. Nếu mẫu trắng đã có màu hồng trước khi bắt đầu chuẩn độ thì đã có sai sót. Thông thường trong những trường hợp đó thì các bình nón không sạch hoặc nước từ không khí ẩm có thể ngưng tụ trên mặt ngoài của dụng cụ ngưng đã chảy vào bình thu nhận.

6.2 Các phép thử về độ thu hồi

6.2.1 Độ đúng của qui trình cần được kiểm tra thường xuyên bằng các phép thử về độ thu hồi sau đây, tiến hành theo mục 6.2.2 đến 6.2.3.

- Đối với mẫu sữa lỏng và mẫu ngũ cốc, đậu đỗ: sử dụng mẫu kiểm soát hiệu quả quá trình phân hủy là tryptophan theo mục 6.2.3, và sự thất thoát trong quá trình thủy phân hoặc chưng cất bằng ammonium sulfate theo mục 6.2.2

- Với các đối tượng mẫu còn lại sử dụng mẫu kiểm soát theo mục 6.2.2

6.2.2 Kiểm tra để chắc chắn rằng nitơ không bị thất thoát bằng cách sử dụng phần mẫu xét nghiệm 0,12 g $(NH_4)_2SO_4$ cùng với 0,85 g sacarose. Phần trăm nitơ thu hồi phải ở khoảng 99,0 % đối với tất cả các vị trí trên thiết bị. Đối với độ thu hồi nhỏ hơn 99 % thì nồng độ của chất chuẩn độ cao hơn giá trị đã nêu hoặc có thể thất thoát nitơ trong quá trình phân hủy hoặc chưng cất.

- Có thể sử dụng hỗn hợp của 0,12 g $(NH_4)_2SO_4$ và một lượng nhỏ H_2SO_4 (lượng còn lại ở cuối giai đoạn phân hủy) trong bình Kjeldahl. Pha loãng tiếp bằng một lượng nước và

Handwritten signatures:

thêm một lượng NaOH 50 % rồi chưng cất. Nếu độ thu hồi nitơ vẫn thấp thì việc thất thoát nitơ là do thiết bị chưng cất và không phải trong quá trình phân hủy. Khả năng có thể là do ống nối trong hệ thống chưng cất truyền thống bị hở hoặc đầu ra của bộ ngưng không được ngập trong axit boric trong khi chưng cất. Thiết bị chưng cất cần đạt yêu cầu này trước khi thực hiện kiểm tra độ thu hồi theo mục 6.2.3.

- Khi độ thu hồi nitơ vượt quá 100 % và không có sự thất thoát nitơ, có thể có một số nguyên nhân sau:

- a) Ammonium sulfat bị nhiễm bẩn;
- b) Nồng độ thực của chất chuẩn độ thấp hơn so với giá trị đã nêu;
- c) Việc hiệu chuẩn buret để chuẩn độ có sai sót;
- d) Nhiệt độ của chất chuẩn độ quá cao so với nhiệt độ hiệu chuẩn buret;
- e) Tốc độ chuẩn độ của buret vượt quá tốc độ tối đa của buret đó hiệu chuẩn.

- Cho dù độ thu hồi lý thuyết tối đa không vượt quá 100 % nhưng thực tế có thể thu được độ thu hồi cao hơn do độ không đảm bảo đo, nghĩa là 99 % đến 101 % có thể thu được. Nếu độ thu hồi trung bình của các phép thử cao hơn 100 %, thì cần nghiên cứu thêm.

6.2.3 Kiểm tra hiệu quả của qui trình phân hủy bằng cách sử dụng 0,18g tryptophan với 0,67 g sacarose.

Tryptophan là chất chỉ thị thích hợp về hiệu quả phân hủy đối với các loại sữa dạng lỏng, nhưng không phải đối với sữa bột và sản phẩm sữa bột. Lysin hydro clorua được sử dụng để cung cấp thêm chỉ thị đại diện hơn về hiệu quả phân hủy đối với các sản phẩm sữa bột này.

Ít nhất là 98,0 % nitơ phải được thu hồi. Nếu độ thu hồi thấp hơn 98 %, trong khi thu hồi được ammonium sulfate từ 99 % đến 100 % khối lượng, thì do nhiệt độ hoặc thời gian phân hủy là chưa đủ hoặc mẫu chưa phân hủy hết (nghĩa là hóa than) trong bình Kjeldahl.

6.2.4 Các kết quả thấp hơn trong các phép thử về độ thu hồi (mục 6.2.2 và 6.2.3) cho thấy có sai sót trong qui trình hoặc nồng độ của dung dịch HCl không đúng.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 8099-1:2015 Sữa và sản phẩm sữa - xác định hàm lượng nitơ - phần 1: nguyên tắc kjeldahl và tính protein thô.

- TCVN 8125:2015 Ngũ cốc và đậu đỗ - xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô - phương pháp kjeldahl.

- TCVN 10034:2013 (ISO 1871:2009) Thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Hướng dẫn chung về xác định hàm lượng nitơ bằng phương pháp Kjeldahl.

- QCVN 5-1:2017/BYT Quy chuẩn xét nghiệm quốc gia đối với các sản phẩm sữa dạng lỏng

- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP ngày 02/02/2018 của Chính phủ về việc Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.

- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng.

- VELP Application Note:

"Casein Determination in Milk according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Cereals according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Cheese according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Feed according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Meat according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Milk according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Milk Powder according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Nuts according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Pasta according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Probiotic Drink according to the Kjeldahl method"

"N/Protein Determination in Soybean according to the Kjeldahl method"

"Whey Protein Determination in Milk according to the Kjeldahl method"

- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích

- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử

- AOAC 2016 Guidelines for Standard Method Performance Requirements.

- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP của Chính phủ: Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm

- ISO 20483:2013 Cereals and pulses - Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content - Kjeldahl method.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 55:**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ ACID AMIN TRONG THỰC PHẨM****1. Đại cương****1.1. Mục đích**

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm xác định hàm lượng nitơ acid amin trong thực phẩm.

1.2. Định nghĩa

Thuật ngữ và chữ viết tắt

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists): hiệp hội hợp tác phân tích chính thức quốc tế.

1.3. Nguyên lý

Hàm lượng nitơ acid amin trong mẫu xét nghiệm được tính toán dựa vào kết quả xét nghiệm nitơ amin amoniac và nitơ amoniac.

2. Chuẩn bị**2.1 Người thực hiện**

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật định lượng iodate trong gia vị bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp**2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất**

- Các sinh phẩm, hóa chất dùng cho phân tích nitơ amin amoniac và nitơ amoniac

2.2.2 Vật tư khác

- Các vật tư khác dùng cho phân tích nitơ amin amoniac và nitơ amoniac

2.2.3 Công cụ, dụng cụ

- Các công cụ, dụng cụ dùng cho phân tích nitơ amin amoniac và nitơ amoniac.

2.3 Thiết bị**2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm**

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm: Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

+ Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...).

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 0,7 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Tổng hợp phiếu xét nghiệm, xử lý kết quả	0,3	0,3
				0,3
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
				0,2
Tổng				0,5

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.

- Cán bộ kiểm nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình xét nghiệm mẫu.

- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.

Được *mi*

- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Tập hợp các phiếu kết quả

- Quy trình kỹ thuật xét nghiệm xác định hàm lượng nitơ amin-amoniac trong thực phẩm bằng phương pháp chuẩn độ

- Quy trình kỹ thuật xét nghiệm xác định hàm lượng nitơ amoniac trong thực phẩm bằng phương pháp chuẩn độ

4.2 Nhận định kết quả

- Hàm lượng nitơ acid amin (X_F) có trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X_F \text{ (g/100g hoặc g/100mL)} = X_1 - X_2$$

Trong đó:

X_F là hàm lượng nitơ acid amin có trong mẫu xét nghiệm (g/100g hoặc g/100mL)

X_1 là hàm lượng nitơ amin-amoniac trong mẫu thử (g/100g hoặc g/100 mL);

X_2 là hàm lượng nitơ amoniac trong mẫu thử (g/100g hoặc g/100 mL).

- Hàm lượng nitơ acid amin trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng nitơ acid amin và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả phân tích hàm lượng nitơ acid amin của mẫu xét nghiệm được báo cáo theo đơn vị g/100g hoặc g/100 mL, chính xác đến 0,01 g.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu định lượng nitơ acid amin: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả phân tích mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, tiến hành phân tích lại nitơ amin-amoniac và nitơ amoniac.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng và mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu.
- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 12620:2019 Phân bón - Xác định tổng hàm lượng axit amin tự do bằng phương pháp định lượng nitơ formol và hiệu chỉnh với nitơ amoniac.
- AOAC 2016 Guidelines for Standard Method Performance Requirements.



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 56:

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHLORIDE TRONG SỮA VÀ SẢN PHẨM TỪ SỮA
BẰNG PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ**

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình kỹ thuật này để xác định hàm lượng chloride trong sữa và các sản phẩm từ sữa bằng phương pháp chuẩn độ.

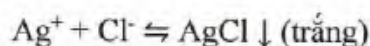
1.2 Định nghĩa

Thuật ngữ và chữ viết tắt

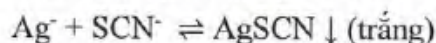
- LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.
- LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.
- CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.
- RM (Reference Material): mẫu chuẩn.
- KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

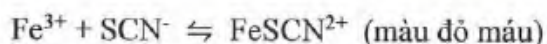
Chloride trong mẫu được xác định bằng phương pháp tạo kết tủa với lượng dư AgNO_3 , lượng AgNO_3 thừa được chuẩn độ bằng KSCN trong môi trường acid, sử dụng chỉ thị $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$.



Lượng dư AgNO_3 được chuẩn lại bằng dung dịch chuẩn KSCN (hay NH_4SCN) :



Phản ứng chỉ thị:



2. Chuẩn bị

2.2 Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm hàm lượng chloride trong sữa và sản phẩm từ sữa bằng phương pháp chuẩn độ.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.3 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

-

- Ống chuẩn bạc nitrat (AgNO_3) 0,1 N (pha đủ 1000 mL)	30 mL
- Ống chuẩn potassium thiocyanate (KSCN) 0,1 N (pha đủ 1000 mL)	30 mL
- Nitric acid (HNO_3) độ tinh khiết $\geq 65\%$	20 mL
- Ammonium iron (III) sulfate dodecahydrate ($(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) độ tinh khiết $\geq 99\%$	62,0 g
- Nước cất 2 lần	2,5 lít

2.2.2 Vật tư khác

- Bình định mức thủy tinh 1000 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 23 ± 2 mm	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 11 ± 1 mm	01 cái
- Dụng cụ phân phối dung môi 5-30 ml, độ chia vạch 0,5 ml, sai số thể tích $\pm 0,6\%$	02 cái
- Buret thủy tinh 25ml, cấp chính xác AS, vạch chia nhỏ nhất 0,1 ml	01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 ml, có vạch chia	03 cái
- Ống đong thủy tinh 50 ml, có vạch chia	02 cái
- Bình tam giác 250 ml, có vạch chia	03 cái
- Pipette pasteur thủy tinh, chiều dài 230 mm	02 cái
- Chai thủy tinh có nắp vặn 1000 ml, tối màu	02 cái
- Chai thủy tinh có nắp vặn 100 ml	02 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 ml	01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	03 cái
- Thìa cân các loại	01 bộ
- Quả bóp cao su	01 quả
- Trang phục bảo hộ:	
+ Quần, áo, mũ bảo hộ lao động:	01 bộ
+ Dép đi trong phòng xét nghiệm:	01 đôi
+ Găng tay y tế nitrile không bột talc:	01 đôi

- + Khẩu trang y tế: 01 cái
- + Kính bảo hộ lao động: 01 cái.

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo, túi lưu mẫu.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, bi thủy tinh, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục

2.4 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, độ chính xác $\pm 0,1$ mg 01 cái
- Cân kỹ thuật, tải trọng tối đa 1100 g, độ chính xác $\pm 0,01$ g 01 cái
- Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C 01 cái
- Tủ hút khí độc 01 cái

2.5 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm: Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

+ Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.6 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.7 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3,45 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	1	Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,25	0,25
		Cân, pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,0	1,0
		Cân mẫu	0,1	0,1
		Chiết xuất mẫu và chuẩn độ	1,0	1,0
		Xử lý kết quả	0,25	0,25
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,25	0,25
		Cộng		3,35
Người phê duyệt kết quả	1	Trưởng PTN: Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu thử nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,1	0,1
		Cộng		0,1
TỔNG				3,45

2.8 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Cán bộ kiểm nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình xét nghiệm mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 2 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị dung dịch chuẩn độ

- Dung dịch AgNO_3 nồng độ 0,1 N

Chuyển toàn bộ lượng AgNO_3 trong ống chuẩn vào bình định mức 1000 mL. Tráng ống chuẩn nhiều lần bằng nước cất. Định mức tới vạch và lắc đều.

- Dung dịch KSCN nồng độ 0,1 N

Chuyển toàn bộ lượng KSCN trong ống chuẩn vào bình định mức 1000 mL. Tráng ống chuẩn nhiều lần bằng nước cất. Định mức tới vạch và lắc đều.

- Dung dịch KSCN nồng độ 0,03 N

Hút 30 mL dung dịch KSCN 0,1 N vào bình định mức 100 mL. Định mức bằng nước cất tới vạch và lắc đều.

- Dung dịch chỉ thị: $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ bão hòa

Cân 62,0 g $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ vào bình định mức 50mL và thêm nước cất 2 lần đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch AgNO_3 nồng độ 0,03 N trong acid, chứa chất chỉ thị

Thêm vào một bình định mức 100 mL các dung dịch sau:

- + 30 mL dung dịch AgNO_3 0,1 N
- + 20 mL nitric acid
- + 30 mL dung dịch $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ bão hòa

Để nguội tới nhiệt độ phòng, định mức bằng nước cất tới vạch và lắc đều.

Dung dịch được pha mới cho từng ngày phân tích

4.1.3. Bước 3: Tiến hành chiết và chuẩn độ

- Mẫu xét nghiệm:

+ Mẫu bột: cân khoảng 5 g mẫu (chính xác đến 0,01 g) vào bình tam giác 250 mL. Thêm khoảng 10 mL nước cất vào bình. Lắc nhẹ tới tan hoàn toàn.

+ Mẫu lỏng: hút 5 mL mẫu vào bình tam giác 250 mL. Thêm khoảng 5 mL nước cất vào bình, lắc đều.

- Thêm chính xác 15 mL dung dịch AgNO_3 0,03 N (để kết tủa hoàn toàn chloride trong mẫu thử), lắc đều.

- Chuẩn độ lượng AgNO_3 thừa bằng dung dịch KSCN 0,03 N cho đến khi xuất hiện màu đỏ máu (bền ít nhất 1 phút). Ghi số mL dung dịch KSCN 0,03 N đã dùng.

Mẫu trắng: tiến hành tương tự mẫu thử, thay 5 g mẫu thử bằng 10 mL nước cất.

4.2. Nhận định kết quả

- Hàm lượng chloride trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = \frac{(V_0 - V_1) \times 100 \times 1,063}{m}$$

Trong đó:

X: hàm lượng chloride trong mẫu xét nghiệm (mg/100 g hoặc mg/100 mL);

V_0 : thể tích KSCN 0,03 N dùng để chuẩn độ mẫu trắng (mL);

V_1 : thể tích KSCN 0,03 N dùng để chuẩn độ mẫu xét nghiệm (mL);

1,063: là số mg chloride trong mẫu tương ứng với 1 mL dung dịch KSCN 0,03 N;

m: khối lượng hoặc thể tích của mẫu thử (g, mL).

- Xem xét kết quả mẫu kiểm tra chất lượng (QC): nếu kết quả mẫu kiểm soát, mẫu lặp lại đạt yêu cầu mới tiến hành trả kết quả mẫu thử. Nếu kết quả mẫu QC hoặc mẫu lặp lại không đạt yêu cầu, tiến hành làm lại mẫu.

- Hàm lượng chloride trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định hàm lượng chloride và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm hàm lượng chloride được báo cáo theo đơn vị mg/100 g hoặc mg/100 mL, chính xác đến 0,01 mg.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả xét nghiệm không phát hiện chloride thì báo cáo “KPH” đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả xét nghiệm có phát hiện chloride nhưng kết quả tính toán $< \text{LOQ}$ thì báo cáo kết quả là “ $< \text{LOQ}$ ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định độ ẩm: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2. Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
2	Khi chuẩn độ bằng 1-2 giọt KSCN 0,03 N đã xuất hiện điểm tương đương (do thiếu AgNO_3 0,03 N)	- Thêm 1 lượng thích hợp AgNO_3 0,03 N và tiếp tục chuẩn độ. - Hoặc giảm khối lượng cân mẫu, tiến hành lại quy trình xét nghiệm như trên.

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng và mẫu kiểm soát.

- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2\text{SD}$ so với giá trị tham chiếu.

- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.

7. Tài liệu tham khảo

- George P.Sanders (1939). The determination of chloride in milk.
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.

Handwritten signatures:
Two blue ink signatures are visible at the bottom right of the page.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 57:

**ĐỊNH LƯỢNG PHOSPHO TỔNG SỐ TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG
PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ (UV-VIS)**

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng phospho tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+ UV-VIS (Ultraviolet – Visible): hệ thống quang phổ hấp thụ phân tử

+ AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): hiệp hội các nhà phân tích chính thống

+ LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.

+ LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.

+ CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+ RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

+ KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

Mẫu được tro hóa khô để loại bỏ chất hữu cơ. Phần phosphat trong mẫu đã tro hóa được phản ứng với sodium molybdate (Na_2MoO_4) trong môi trường axit tạo thành phức chất màu xanh $[(\text{MoO}_2.4\text{MoO}_3)_2.\text{H}_3\text{PO}_4]$. Đo độ hấp thụ ánh sáng của sản phẩm tại bước sóng $823 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$ bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS) để xác định hàm lượng phospho.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng phospho tổng số trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Hydrochloric acid, độ tinh khiết $\geq 37\%$: 5 mL
- Chuẩn Phospho (KH_2PO_4), độ tinh khiết $\geq 99,5\%$: 0,4387 g
- Zinc Oxide (ZnO), độ tinh khiết $\geq 99,9\%$: 2 g
- Potassium hydroxide (KOH), độ tinh khiết $\geq 90 \%$: 25 g
- Sulfuric acid (H_2SO_4), độ tinh khiết $\geq 98 \%$: 7 mL
- Sodium molybdate dihydrate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4.2\text{H}_2\text{O}$), độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$: 0,625 g
- Ascorbic acid, độ tinh khiết $\geq 99 \%$: 0,5 g
- Nước cất 2 lần: 1 L

2.2.2 Vật tư khác

- Cuvet thạch anh 10 mm, kích thước 45 mm x 12,5 mm x 12,5 mm: 01 cái
- Chén nung (chén sứ chịu nhiệt), có nắp đậy, dung tích 30 mL: 04 cái

Handwritten signatures:

- Kẹp gấp chén nung bằng sắt, có cán dài, chịu nhiệt: 01 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm: 06 cái
- Bình định mức thủy tinh 25 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 11 ± 1 mm: 02 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm: 09 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 9 ± 1 mm: 01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia: 01 cái
- Đũa thủy tinh dài 30 cm, đường kính 7 mm: 01 cái
- Micropipet (bán tự động) dung tích 100-1000 μ l, độ chính xác ± 3 μ l (tại 100 μ l): 01 cái
- Micropipet (bán tự động) dung tích 500-5000 μ l, độ chính xác ± 12 μ l (tại 500 μ l): 01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100 - 1000 μ l: 04 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 1000 - 5000 μ l: 02 cái
- Bình hút âm thủy tinh, chứa silica gel: 01 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 mm: 04 cái
- Pipet pasteur thủy tinh, chiều dài 230 mm: 02 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 10 mL, cấp A: 01 cái
- Thìa lấy mẫu: 01 bộ
- Quả bóp cao su: 01 quả
- Phễu thủy tinh: 04 cái
- Trang phục bảo hộ
 - + Quần, áo, mũ bảo hộ lao động: 01 bộ
 - + Dép đi trong phòng xét nghiệm: 01 đôi
 - + Găng tay y tế nitrile không có bột talc: 01 đôi
 - + Khẩu trang phòng độc 3M 7502: 01 cái
 - + Khẩu trang y tế: 01 cái
 - + Kính bảo hộ lao động: 01 cái
 - + Găng tay chịu nhiệt: 01 đôi

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, bình thủy tinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note,...

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|---|-------------|
| - Máy quang phổ tử ngoại khả kiến | 01 hệ thống |
| - Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01 cái |
| - Bếp cách thủy | 01 bếp |
| - Bếp điện đôi, công suất 2000 W | 01 bếp |
| - Lò nung dải nhiệt độ 30 °C - 3000 °C | 01 cái |
| - Tủ sấy dải nhiệt độ 30 °C - 300 °C | 01 cái |
| - Máy lắc Vortex tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/ phút | 01 cái. |
| - Máy xay cầm tay, tốc độ vòng ≥ 13.000 vòng/ phút | 01 cái |
| - Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01 cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01 cái |
| - Tủ hút khí độc | 01 cái |

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:

+ Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 mL).

- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5,7 giờ

Nhân viên tham gia	Số lượng nhân viên	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,0	1,0
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,5	0,5
		Cân, chiết xuất mẫu	1,0	1,0
		Chuẩn bị máy và dụng cụ xét nghiệm	0,5	0,5
		Đo mẫu và xử lý kết quả	1,5	1,5
		Vệ sinh máy, dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng xét nghiệm	1,0	1,0
		Cộng		5,5
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả xét nghiệm	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				5,7

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.

- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.

- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.

- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất xét nghiệm
- Mẫu thêm chuẩn: thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất xét nghiệm có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch KOH nồng độ 50 %

Cân 25 g KOH vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, thêm 25 mL nước cất, dùng đũa thủy tinh khuấy đến tan hoàn toàn.

- Dung dịch $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ nồng độ 2,5 %

+ Dùng pipet hút 7 mL dung dịch H_2SO_4 vào bình định mức 25 mL có sẵn 15 mL nước cất.

+ Để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm 0,625 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Pha loãng bằng nước cất đến vạch, lắc đến tan hoàn toàn.

- Dung dịch ascorbic acid nồng độ 5%

Cân 0,5 g ascorbic acid vào bình định mức 10 mL, định mức bằng nước cất đến vạch, lắc cho đến tan hoàn toàn. Dung dịch này được pha và sử dụng trong ngày.

- Dung dịch ascorbic acid -molybdate

Cho 25 mL dung dịch Na_2MoO_4 và 10 mL dung dịch ascorbic acid vào bình định mức 100 mL định mức bằng nước cất đến vạch, lắc đều. Dung dịch này được pha và sử dụng trong ngày.

- Dung dịch chuẩn gốc phospho nồng độ 1,0 mg/mL

+ Sấy khô khoảng 1 g KH_2PO_4 trong 2 giờ ở nhiệt độ 101 °C.

+ Để nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm, cân 0,4387 g KH_2PO_4 (chính xác đến 0,1 mg) vào bình định mức 100 mL. Thêm nước cất đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch chuẩn trung gian phospho nồng độ 0,01 mg/mL

Mẫu kiểm soát	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Nước cất 2 lần	15								
Dung dịch ascorbic acid - molybdate	20								

+ Chuyển các bình định mức vào bếp cách thủy và đun ở nhiệt độ 100 °C trong 15 phút. Làm nguội các bình định mức dưới vòi nước đến khoảng từ 20 °C đến 30 °C. Định mức vừa đủ 50 mL bằng nước cất, lắc đều.

+ Chuyển các dung dịch trong từng bình 1 đến bình 9 như trong bảng 1 vào cuvet. Đo độ hấp thụ của từng dung dịch so với dung dịch mẫu trắng tại bước sóng 823 nm ± 1 nm. Phép đo phải thực hiện trong vòng 1 giờ sau khi phản ứng màu xảy ra.

4.2 Nhận định kết quả

Hàm lượng phospho tổng số, X, trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = \frac{V_2 \times P \times 100}{V_1 \times m}$$

Trong đó:

- X là hàm lượng phospho tổng số (mg/100g hoặc mg/100mL)
- V_1 là thể tích dung dịch thử được sử dụng trong phản ứng màu (mL)
- V_2 là thể tích cuối (mL) ($V_2 = 100$ mL)
- P là hàm lượng phospho tính theo đường chuẩn (mg/mL)
- m là khối lượng hoặc thể tích phần mẫu thử (g hoặc mL)
- + Hàm lượng phospho tổng số trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng phospho tổng số và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.
- + Kết quả xét nghiệm hàm lượng phospho tổng số được báo cáo theo đơn vị mg/100g hoặc mg/100 mL, chính xác đến 0,1 mg.
- + Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả xét nghiệm phospho nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” (Không phát hiện) đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả tính toán hàm lượng phospho < LOQ thì báo cáo kết quả là “Vết, <LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu định lượng phospho tổng số: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang xét nghiệm mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành xét nghiệm mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm

3	Kết quả mẫu nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên).	Tiến hành lặp lại phản ứng màu, sử dụng một lượng nhỏ hơn của dung dịch đã xử lý.
---	--	---

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu.
- Đối với mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016:

TT	Hàm lượng (%)	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100	1	100%	98 - 102
2	10	10^{-1}	10%	98 - 102
3	1	10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1	10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01	10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001	10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001	10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001	10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001	10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001	10^{-9}	1 ppb	40 - 120

- Kết quả xét nghiệm mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$.

Được

- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 9043:2012 Thực phẩm – Xác định hàm lượng Phospho tổng số bằng phương pháp đo màu.
- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích
- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu
- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP ngày 02/02/2018 của Chính phủ về việc quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 58:

**ĐỊNH LƯỢNG POLYSACCHARIDE TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG
PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ (UV-VIS)**

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng polysaccharide trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+ UV-VIS (Ultraviolet – Visible): hệ thống quang phổ hấp thụ phân tử

+ AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): hiệp hội các nhà phân tích chính thống.

+ LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.

+ LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.

+ CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+ RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

+ KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

Mẫu xét nghiệm được chiết với ethanol 80 % và thủy phân trong môi trường axit để xác định hàm lượng đường tổng số trước và sau thủy phân, sau đó dựa vào hệ số chuyển đổi để tính được hàm lượng polysaccharide có trong mẫu.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng polysaccharide trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Sulfuric acid (H ₂ SO ₄), độ tinh khiết $\geq 98\%$	56 mL
- Phenol, độ tinh khiết $\geq 99\%$	0,66 g
- Ethanol (CH ₅ OH), độ tinh khiết $\geq 99,7\%$	144 mL
- Nước cất 2 lần	1 lít

2.2.2 Vật tư khác

- Cuvet thạch anh 10 mm, kích thước 45 mm x 12,5 mm x 12,5 mm	02 cái
- Bình cầu cô quay thủy tinh 250 mL, cổ nhám, đế bằng	03 cái
- Bình tam giác thủy tinh 250 mL, có vạch chia	06 cái
- Ống ly tâm nhựa 50 mL	03 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 9 ± 1 mm	04 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm	03 cái

- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm 01 cái
- Bình định mức thủy tinh 200 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm 01 cái
- Bình định mức thủy tinh 1000 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 23 ± 2 mm 01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 100 - 1000 μ l, độ chính xác $\pm 6,0$ μ l (tại 1000 μ l) 01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100 - 1000 μ l 11 cái
- Ống đong thủy tinh 25 mL, có chia vạch 01 cái
- Ống đong thủy tinh 200 mL, có chia vạch 01 cái
- Pipet thẳng thủy tinh 5 mL, cấp A 01 cái
- Ống nghiệm thủy tinh, kích thước 15 x 180 mm, loại chịu nhiệt 11 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm 06 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 mm 06 cái
- Bông không thấm nước 05 g
- Thìa lấy mẫu 01 bộ
- Quả bóp cao su 01 quả
- Bình tia nước cất 500 mL 01 cái
- Giá đựng ống ly tâm bằng nhựa (để được 30 ống ly tâm 15 mL và 20 ống ly tâm 50 mL) 01 cái
- Giá đựng ống nghiệm thủy tinh bằng inox (để được 20 ống) 01 cái
- Chuẩn Glucose, độ tinh khiết $\geq 99,5$ % 0,01 g
- Trang phục bảo hộ:
 - + Quần, áo, mũ bảo hộ lao động: 01 bộ
 - + Dép đi trong phòng thí nghiệm: 01 đôi
 - + Găng tay y tế nitrile không bột: 01 đôi
 - + Mặt nạ phòng độc 3M 7502: 01 cái
 - + Khẩu trang y tế: 01 cái
 - + Kính bảo hộ lao động: 01 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.

Handwritten signatures:

- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, bình thủy tinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay,...
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note,...

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|--|-------------|
| - Máy quang phổ tử ngoại khả kiến | 01 hệ thống |
| - Máy cô quay chân không, có thể cài đặt nhiệt độ và tốc độ vòng cô quay | 01 cái |
| - Bếp cách thủy | 01 cái |
| - Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01 cái |
| - Bể rửa siêu âm có chức năng cài đặt thời gian và nhiệt độ | 01 cái |
| - Máy ly tâm, có thể cài đặt tốc độ vòng quay 5000 vòng/phút. | 01 cái |
| - Máy lắc Vortex tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/ phút | 01 cái |
| - Tủ hút khí độc | 01 cái |
| - Máy xay mẫu công suất 600 W | 01 cái |
| - Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01 cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01 cái |

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:

+ Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 mL).

- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6,95 giờ

Nhân viên tham gia	Số lượng nhân viên	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Xử lý mẫu xét nghiệm	0,5	0,5
		Chuẩn bị thiết bị và dụng cụ, pha chế dãy chuẩn, hóa chất.	1	1
		Chiết mẫu, thực hiện phản ứng đo màu	3	3
		Chuẩn bị máy, đo độ hấp thụ quang	0,75	0,75
		Xử lý kết quả, lập phiếu xét nghiệm	0,75	0,75
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, bát sứ, phòng xét nghiệm	0,75	0,75
		Cộng		6,75
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				6,95

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.

- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hốt khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.

- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất xét nghiệm
- Mẫu thêm chuẩn: Thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất xét nghiệm có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch phenol nồng độ 6 %
- Cân 6 g (chính xác đến 0,1 mg) phenol chuyển vào bình định mức 100 mL, thêm nước cất đến vạch, lắc đều.
- Dung dịch ethanol nồng độ 80 %
- Dùng ống đong thêm 160 mL ethanol vào bình định mức 200 mL thêm nước cất đến vạch, lắc đều.
- Dung dịch H₂SO₄ nồng độ 0,005 N
- Dùng pipet bán tự động hút 0,4 mL dung dịch H₂SO₄ vào bình định mức 1000 mL có sẵn khoảng 500 mL nước cất, thêm nước cất đến vạch, lắc đều.
- Dung dịch chuẩn gốc glucose nồng độ 1000 µg/mL
- Cân 0,01 g (chính xác đến 0,1 mg) chuẩn glucose vào bình định mức 10 mL, thêm nước cất đến vạch, lắc đều.
- Dung dịch chuẩn làm việc
- + Sử dụng pipet bán tự động hút dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 10 mL theo thể tích như sau:

Bảng 1: Cách pha dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút (mL)	Nồng độ chuẩn (µg/mL)			
	10	25	10	100
Chuẩn 1000 µg/mL	0,1	0,25	0,5	1

Nước cất 2 lần	Định mức 10 mL
----------------	----------------

+ Các dung dịch chuẩn được pha và sử dụng trong ngày.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành xét nghiệm

- Đường tổng số trước thủy phân

+ Cân khoảng 0,5 g – 2 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu thử vào ống ly tâm nhựa 50 mL.

+ Dùng ống đong thêm 20 mL dung dịch ethanol 80 % vào ống ly tâm trên, lắc đều. Siêu âm trong 20 phút, ly tâm 4000 vòng/phút trong 10 phút, chuyển dịch chiết vào bình cầu 250 mL.

+ Tiến hành chiết lặp lại 2 lần, mỗi lần 20 mL dung dịch ethanol 80 %, gộp dịch chiết vào bình cầu trên.

+ Dịch chiết được cô quay ở 60 °C đến khi còn khoảng 10 mL, chuyển dịch chiết vào bình định mức 50 mL, thêm nước cất đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc để thu được dịch trong.

- Đường tổng số sau thủy phân

+ Cân khoảng 0,1 – 0,5 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu thử vào bình tam giác 250 mL.

+ Dùng pipet hút 5 mL dung dịch H₂SO₄ vào bình tam giác trên, lắc nhẹ.

+ Đun hồi lưu trên bếp cách thủy ở nhiệt độ 100 °C trong 1 giờ, để nguội và chuyển dung dịch vào bình định mức 50 mL, thêm nước cất đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc để thu được dịch trong.

- Thực hiện phản ứng lên màu

+ Dùng pipet bán tự động hút các dung dịch chuẩn, mẫu xét nghiệm, nước cất, thuốc thử lên màu vào các ống nghiệm theo thể tích như sau:

Bảng 2: Thực hiện phản ứng lên màu

Thể tích hút (mL)	Ống 1	Ống 2	Ống 3	Ống 4	Ống 5	Ống 6	Ống 7	Ống 8	Ống 9	Ống 10	Ống 11
Nước cất	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Chuẩn 10 µg/mL	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chuẩn 25 µg/mL	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Chuẩn 50 µg/mL	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-

Handwritten signatures and marks at the bottom right of the page.

Chuẩn 100 μg/mL	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Mẫu xét nghiệm xác định đường tổng số trước thủy phân	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
Mẫu xét nghiệm xác định đường tổng số sau thủy phân	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
Mẫu kiểm soát	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
Phenol 6 %	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Dung dịch H ₂ SO ₄	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

+ Sau khi thực hiện phản ứng màu xong, lắc đều ống nghiệm, để yên trong 20 phút tại nhiệt độ phòng.

+ Chuyển các dung dịch trong từng ống 1 đến ống 11 như trong bảng 2 vào cuvet.

+ Đo độ hấp thụ của từng dung dịch so với dung dịch mẫu trắng tại bước sóng 490 nm.

4.2 Nhận định kết quả

Hàm lượng đường tổng số trước và sau khi thủy phân trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$(B) = \frac{A \cdot \frac{C_x \times V_x \times f_x}{100}}{m \times 1000}$$

Hàm lượng polysaccharide trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = (B - A) \times 0,9$$

Trong đó:

+ A: hàm lượng đường tổng số trước thủy phân (g/100 g hoặc g/100 mL)

- + B: hàm lượng đường tổng số sau thủy phân (g/100 g hoặc g/100 mL)
- + X: hàm lượng polysaccharide trong mẫu xét nghiệm (g/100 g hoặc g/100 mL)
- + C_x : nồng độ của mẫu thử đo được, tính theo đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)
- + V: thể tích định mức cuối (mL)
- + f: hệ số pha loãng (nếu có)
- + m: khối lượng/thể tích mẫu thử (g hoặc mL)
- + 0,9: hệ số chuyển đổi.
- Hàm lượng polysaccharide trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định hàm lượng polysaccharide và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.
- Kết quả hàm lượng polysaccharide trong thực phẩm được báo cáo theo đơn vị g/100 g hoặc g/100 mL, chính xác đến 0,01 g.
- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả xét nghiệm hàm lượng polysaccharide nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” (Không phát hiện) đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.
- Kết quả xét nghiệm hàm lượng polysaccharide $< \text{LOQ}$ thì báo cáo kết quả là “<LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

- + Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính
- + Biểu mẫu định lượng polysaccharide: 01 bản chính
- + Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo

		thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
3	Độ hấp thụ của dung dịch mẫu xét nghiệm nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên)	Tiến hành pha loãng dung dịch chiết mẫu bằng nước cất để thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn và làm lại phản ứng lên màu.

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.
- Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm lượng (%)	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
----	------------------	------------	--------	----------------

1	100	1	100%	98 - 102
2	10	10^{-1}	10%	98 - 102
3	1	10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1	10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01	10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001	10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001	10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001	10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001	10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001	10^{-9}	1 ppb	41 - 120

- Kết quả xét nghiệm mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- Paks.Chow and Simon M.Landhaussera (2004), "Method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues", Tree Physiology 24, P.1129–1136
- Mengmeng Lei, Mengying Xu, Zesheng Zhang, Min Zhang and Yunfeng Gao (2014), "The Analysis of Saccharide in Black Garlic and its Antioxidant Activity", Advance Journal of Food Science and Technology 6(6), P.755-760.
- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích.
- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.
- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử.
- AOAC 2016, appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP ngày 02/02/2018 của Chính phủ về việc quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 59:

ĐỊNH LƯỢNG IODATE TRONG GIA VỊ BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ (UV-VIS)

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng iodate trong gia vị bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

1.2. Định nghĩa

Thuật ngữ và chữ viết tắt

- UV-VIS (Ultra violet – Visible): tử ngoại, khả kiến
- LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện
- LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng
- RM (Reference Material): mẫu chuẩn
- CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận

1.3. Nguyên lý

Mẫu xét nghiệm được hòa tan trong nước, iodate được oxy hóa thành dạng I_3^- trong môi trường có KI và H_3PO_4 . Sản phẩm tạo ra được đo độ hấp thụ tại bước sóng 288 nm.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật định lượng iodate trong gia vị bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|---|--------|
| - Chuẩn Potassium iodate (KIO_3) độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$ | 100 mg |
| - Sodium hydroxide (NaOH) độ tinh khiết $\geq 97,0 \%$ | 0,2 g |
| - Potassium iodide (KI) độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$ | 3,32 g |
| - Phosphoric acid (H_3PO_4) độ tinh khiết $\geq 85 \%$ | 11,5 g |
| - Sodium chloride (NaCl) độ tinh khiết $\geq 99 \%$ | 5 g |
| - Nước cất 2 lần | 1 lít |

2.2.2 Vật tư khác

- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm	03 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 9 ± 1 mm	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 9 ± 1 mm	03 cái
- Ống ly tâm nhựa, dung tích 15 mL	10 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Micropipet (bán tự động) dung tích 100-1000 μ L, độ chính xác ± 3 μ L (tại 100 μ L)	01 cái
- Micropipet (bán tự động) dung tích 500-5000 μ L, độ chính xác ± 12 μ L (tại 500 μ L)	01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100-1000 μ L	20 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 500-5000 μ L	05 cái
- Cuvet thạch anh 10 mm, kích thước 45 mm x 12,5 mm x 12,5 mm	01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 250 mL, có vạch chia	01 cái
- Pipet bầu thủy tinh 1 mL, cấp A	01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	01 cái
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Quả bóp	01 quả
- Trang phục bảo hộ	
+ Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	01 bộ
+ Dép đi trong phòng xét nghiệm	01 đôi
+ Găng tay y tế nitrile không có bột talc	01 đôi
+ Khẩu trang phòng độc 3M 7502	01 cái
+ Khẩu trang y tế	01 cái
+ Kính bảo hộ lao động	01 cái
+ Găng tay chịu nhiệt	01 đôi

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng kiểm nghiệm, cụ thể như sau:

- Hệ thống quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS) dải bước sóng 200-800 nm 01 hệ thống
- Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g có độ chính xác $\pm 0,1$ mg 01 cái
- Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 610 g có độ chính xác $\pm 0,01$ g 01 cái
- Máy lắc vortex tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/phút 01 cái
- Tủ hút khí độc kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm 01 cái

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

2.4.1 Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...).

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 3,8 giờ

Nhân viên tham gia	Số lượng nhân viên	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,5	1,5
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,1	0,1
	1	Cân, chiết xuất mẫu	1,0	1,0
		Đo mẫu trên UV và xử lý kết quả	0,5	0,5
		Vệ sinh máy, dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng thí nghiệm	0,5	0,5
				3,6
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
				0,2
TỔNG				3,8

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu thử sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất thí nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.
- Mẫu thêm chuẩn: thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất phân tích có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị dung dịch chiết mẫu, dung dịch chuẩn

4.1.2.1. Dung dịch NaOH nồng độ 0,1 M

Cân 0,2 g NaOH, vào bình định mức 50 mL, thêm khoảng 30 mL nước cất (mục 4.6.6) lắc đều đến tan hoàn toàn, định mức đến vạch, lắc đều.

4.1.2.2. Dung dịch KI nồng độ 3,32 %

Cân 3,32 g KI vào cốc có mỏ 250 mL, thêm nước cất, đến vạch 100 mL, dùng đũa thủy tinh khuấy đều đến tan hoàn toàn.

4.1.2.3. Dung dịch H_3PO_4 nồng độ 1 M

Cân 11,5 g H_3PO_4 vào bình định mức 100 mL, thêm khoảng nước cất đến vạch, lắc đều.

4.1.2.4. Dung dịch NaCl nồng độ 10 %

Cân 5 g NaCl vào cốc có mỏ 100 mL, thêm cất (mục 4.6.6) đến vạch 100 mL, dùng đũa thủy tinh khuấy đều đến tan hoàn toàn.

4.1.2.5. Dung dịch chuẩn gốc KIO_3 nồng độ 1 mg/mL

- Cân 100 mg (chính xác đến 0,1 mg) KIO_3 vào bình định mức 100 mL thêm nước cất 2 lần tới vạch, lắc đều.

- Dung dịch được pha mới cho từng ngày phân tích.

4.1.2.6. Dung dịch chuẩn trung gian KIO_3 nồng độ 10 μ g/mL

Dùng pipet hút 1 mL dung dịch chuẩn gốc KIO_3 vào bình định mức 100 mL thêm nước cất tới vạch, lắc đều.

4.1.2.7. Dung dịch chuẩn làm việc KIO_3

Sử dụng các pipet tự động hút dung dịch chuẩn trung gian vào các bình định mức 10 mL theo bảng sau:

Bảng 1: Cách pha dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút (mL)	Nồng độ chuẩn (μ g/mL)			
	1	2	5	10
Chuẩn trung gian 10 μ g/mL	1	2	5	10

Nước cất 2 lần	Định mức vừa đủ 10 mL
----------------	-----------------------

- Dây dung dịch chuẩn làm việc được pha mới sử dụng trong ngày.

4.1.3. Bước 3: Tiến hành phân tích

- Cân khoảng 1 g mẫu xét nghiệm (chính xác đến 0,01 g) vào ống ly tâm dung tích 15 mL hòa tan vừa đủ với 10 mL nước cất, lắc đến tan hoàn toàn.

- Hút lần lượt mẫu trắng, dung dịch chuẩn, mẫu thử, mẫu kiểm soát và thêm các thuốc thử vào các ống ly tâm dung tích 15 mL như bảng 2 dưới đây:

Bảng 2: Tiến hành phân tích dây chuẩn và mẫu xét nghiệm

Thể tích hút (mL)	Ống 1 (blank 1)	Ống 2	Ống 3	Ống 4	Ống 5	Ống 6 (blank 2)	Ống 7	Ống 8	ống 9
Nước cất 2 lần	5	4	4	4	4	4	4	4	4
Chuẩn 1 $\mu\text{g/mL}$ (mục)	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Chuẩn 2 $\mu\text{g/mL}$ (mục)	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Chuẩn 5 $\mu\text{g/mL}$ (mục)	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Chuẩn 10 $\mu\text{g/mL}$ (mục)	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Mẫu xét nghiệm	0	0	0	0	0	1	1	1	0
Mẫu kiểm soát	0	0	0	0	0	0	0	0	1
KI 3,32 %	0	1	1	1	1	0	1	1	1
NaCl 10%	2	2	2	2	2	0	0	0	0
H ₃ PO ₄ 1 M	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Nước cất 2 lần	Thêm vừa đủ đến vạch 10 mL								

Handwritten signature

- Tiến hành đo độ hấp thụ của các dung dịch trên máy UV-VIS tại bước sóng 288 nm, trong đó sử dụng blank 1 (ống 1) làm mẫu trắng cho dãy chuẩn và blank 2 làm mẫu trắng cho các mẫu xét nghiệm, mẫu kiểm soát.

4.2. Nhận định kết quả

- Hàm lượng iodate, X, có trong mẫu xét nghiệm được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{C_x \times V}{f \times m}$$

Trong đó:

X: là hàm lượng iodate có trong mẫu xét nghiệm (mg/kg)

C_x : là nồng độ dung dịch mẫu thử tính theo đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)

V: là thể tích hòa tan cuối (mL)

f: là hệ số pha loãng

m: là khối lượng cân của mẫu thử (g)

- Hàm lượng iodate trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng iodate và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả phân tích hàm lượng iodate của mẫu xét nghiệm được báo cáo theo đơn vị mg/kg, chính xác đến 0,1 mg.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

4.3. Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu định lượng iodate: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT		Tình huống	Xử lý
----	--	------------	-------

1		Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2		Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của Quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng thí nghiệm, mã số: NIN.G.01.LS.01.

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

Rosa Lina G.L P. Silva, A. Fernando de Oliveira và Eduardo Almeida Neves. Spectrophotometric determination of Iodate in table salt 1998, J.Braz. Chem. Soc, Vol. 9, No. 2, 171-174, 1998, Printed in Brazil.

Handwritten signatures and initials in blue ink.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 60:

ĐỊNH LƯỢNG TINH BỘT TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ (UV-VIS)

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng tinh bột trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+ UV-VIS (Ultraviolet – Visible): hệ thống quang phổ hấp thụ phân tử

+ AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): hiệp hội các tổ chức quốc tế xét nghiệm hóa học chính thống.

+ LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.

+ LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.

+ CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+ RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

+ KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

Mẫu xét nghiệm được chiết với ethanol 80 % và thủy phân trong môi trường axit để xác định hàm lượng đường tổng số trước và sau thủy phân, sau đó dựa vào hệ số chuyển đổi để tính được hàm lượng tinh bột có trong mẫu.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng tinh bột trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-VIS).

- 01 người phê duyệt kết quả: trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Chuẩn Glucose, độ tinh khiết $\geq 99,5$ %	0,01 g
- Sulfuric acid (H ₂ SO ₄), độ tinh khiết ≥ 98 %	45 mL
- Hydrochloric acid (HCl), độ tinh khiết ≥ 37 %	10 mL
- Phenol, độ tinh khiết ≥ 97 %	0,6 g
- Ethanol (CH ₅ OH), độ tinh khiết $\geq 99,7$ %	100 mL
- Nước cất 2 lần	2 L

2.2.2 Vật tư khác

- Cuvet thạch anh 10 mm, kích thước 45 mm x 12,5 mm x 12,5 mm	02 cái
- Bình cầu cô quay thủy tinh 250 ml, cổ nhám, đế bằng	02 cái
- Bình tam giác thủy tinh 250 ml, có vạch chia	02 cái

Handwritten signatures:

- Ống ly tâm nhựa 50 ml	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 9 ± 1 mm	06 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm	03 cái
- Bình định mức thủy tinh 200 ml, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 100 - 1000 μ l, độ chính xác $\pm 6,0$ μ L (tại 1000 μ L)	01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 100 - 1000 μ L	10 cái
- Ống đong thủy tinh 25 ml, có chia vạch	01 cái
- Ống đong thủy tinh 200 ml, có chia vạch	01 cái
- Pipet thẳng thủy tinh 5 ml, cấp A	01 cái
- Ống nghiệm thủy tinh, kích thước 18 x 180 mm, loại chịu nhiệt	09 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm	04 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 cm	04 cái
- Bông không thấm nước	05 g
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Quả bóp cao su	01 quả
- Bình tia nước cắt 500 ml	01 cái
- Giá đựng ống ly tâm bằng nhựa (để được 30 ống ly tâm 15 mL và 20 ống ly tâm 50 ml)	01 cái
- Giá đựng ống nghiệm thủy tinh bằng inox (để được 20 ống)	01 cái
- Trang phục bảo hộ:	
+ Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	01 bộ

+ Dép đi trong phòng xét nghiệm	01 đôi
+ Găng tay y tế nitrile không bột	01 đôi
+ Mặt nạ phòng độc 3M 7502	01 cái
+ Khẩu trang y tế	01 cái
+ Kính bảo hộ lao động	01 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo, túi lưu mẫu.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, bi thủy tinh, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Máy quang phổ tử ngoại khả kiến	01 cái
- Máy cô quay chân không, có thể cài đặt nhiệt độ và tốc độ vòng cô quay	01 cái
- Bếp cách thủy	01 cái
- Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg	01 cái
- Máy siêu âm, có chức năng cài đặt thời gian và nhiệt độ	01 cái
- Máy ly tâm, có thể cài đặt nhiệt độ và tốc độ vòng quay 5000 vòng/phút	01 cái
- Máy lắc Vortex, tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/ phút	01 cái
- Tủ hút khí độc	01 cái
- Máy xay mẫu, công suất 600 W	01 cái
- Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C	01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C	01 cái

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:

+ Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 ml).

+ Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 ml).

- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6,95 giờ

Nhân viên tham gia	Số lượng nhân viên	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Xử lý mẫu xét nghiệm	0,5	0,5
		Chuẩn bị thiết bị và dụng cụ, pha chế dãy chuẩn, hóa chất.	1	1
		Chiết mẫu, thực hiện phản ứng đo màu	3	3
		Chuẩn bị máy, đo độ hấp thụ quang	0,75	0,75
		Xử lý kết quả, lập phiếu xét nghiệm	0,75	0,75
		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, bát sứ, phòng xét nghiệm	0,75	0,75
		Cộng		6,75
	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu	0,2	0,2

Người phê duyệt kết quả		xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ		
		Cộng		0,2
TỔNG				6,95

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất xét nghiệm
- Mẫu thêm chuẩn: Thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất xét nghiệm có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị dung dịch chuẩn và thuốc thử

- Dung dịch phenol nồng độ 6 %

Cân 6 g (chính xác đến 0,1 mg) phenol chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm nước cất đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch ethanol nồng độ 80 %

Dùng ống đong thêm 160 mL ethanol vào bình định mức 200 mL thêm nước cất đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch chuẩn gốc glucose nồng độ 1000 µg/mL

Cân 0,01 g (chính xác đến 0,1 mg) chuẩn glucose vào bình định mức 10 ml, thêm nước cất đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch chuẩn trung gian glucose nồng độ 100 µg/ml

Handwritten signatures and initials in blue ink.

Dùng pipet hút 1 mL chuẩn gốc glucose vào bình định mức 10 ml, thêm nước cất đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch chuẩn làm việc

+ Sử dụng pipet bán tự động hút dung dịch chuẩn trung gian vào bình định mức 10 mL theo thể tích như sau:

Bảng 1: Cách pha dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút (ml)	Nồng độ chuẩn ($\mu\text{g/ml}$)			
	10	25	50	100
Chuẩn 100 $\mu\text{g/mL}$	0,1	0,25	0,5	0
Nước cất 2 lần	Định mức 10 ml			

+ Các dung dịch chuẩn được pha và sử dụng trong ngày.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành xét nghiệm

- Đường tổng số trước thủy phân

+ Cân khoảng 0,5 g – 2 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu thử vào ống ly tâm nhựa 50 ml.

+ Dùng ống đong thêm 20 mL ethanol 80 % vào ống ly tâm trên, lắc đều. Siêu âm trong 20 phút, ly tâm 4000 vòng/phút trong 10 phút, chuyển dịch chiết vào bình cầu 250 ml.

+ Tiến hành chiết lặp lại 2 lần, mỗi lần 20 mL ethanol 80 %, gộp dịch chiết vào bình cầu trên.

+ Dịch chiết được cô quay ở 60 °C đến khi còn 10 ml, chuyển dịch chiết vào bình định mức 50 ml, thêm nước cất đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc để thu được dịch trong.

- Đường tổng số sau thủy phân

+ Cân khoảng 0,5 – 1 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu thử vào bình tam giác 250 ml.

+ Thêm 45 mL nước cất và 5 mL dung dịch HCl vào bình tam giác trên, lắc nhẹ.

+ Thủy phân mẫu trong 3 giờ ở 100 °C, để nguội và chuyển dung dịch vào bình định mức 100 ml, thêm nước cất đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc để thu được dịch trong.

- Thực hiện phản ứng lên màu

+ Dùng pipet bán tự động hút các dung dịch chuẩn, mẫu xét nghiệm, nước cất, thuốc thử lên màu vào các ống nghiệm theo thể tích như sau:

Bảng 2: Thực hiện phản ứng lên màu

Thể tích hút (ml)	Ống 1	Ống 2	Ống 3	Ống 4	Ống 5	Ống 6	Ống 7	Ống 8	Ống 9	Ống 10
Nước cất 2 lần	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Chuẩn 10 $\mu\text{g/mL}$	-	1	-	-	-	-	-	-	-	
Chuẩn 25 $\mu\text{g/mL}$	-	-	1	-	-	-	-	-	-	
Chuẩn 50 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	1	-	-	-	-	-	
Chuẩn 100 $\mu\text{g/mL}$	-	-	-	-	1	-	-	-	-	
Mẫu xét nghiệm xác định đường tổng số trước thủy phân	-	-	-	-	-	1	1	-	-	
Mẫu xét nghiệm xác định đường tổng số sau thủy phân	-	-	-	-	-	-	-	1	1	
Phenol 6 %	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Dung dịch H_2SO_4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	

+ Sau khi thực hiện phản ứng màu xong, lắc đều ống nghiệm, để yên trong 20 phút tại nhiệt độ phòng.

+ Chuyển các dung dịch trong từng ống 1 đến ống 10 như trong bảng 2 vào cuvet.

+ Đo độ hấp thụ của từng dung dịch so với dung dịch mẫu trắng tại bước sóng 490 nm.

4.2 Nhận định kết quả

Hàm lượng đường tổng số trước và sau khi thủy phân trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

Được *mm*

$$(B) = \frac{A \cdot \frac{C_x \times V_x \cdot f \cdot x}{100}}{m \times 1000}$$

Hàm lượng polysaccharide trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = (B - A) \times 0,9$$

Trong đó:

A: hàm lượng đường tổng số trước thủy phân (g/100 g hoặc g/100 ml)

B: hàm lượng đường tổng số sau thủy phân (g/100 g hoặc g/100 ml)

X: hàm lượng tinh bột trong mẫu xét nghiệm (g/100 g hoặc g/100 ml)

C_x: nồng độ của mẫu thử đo được, tính theo đường chuẩn (µg/ml)

V: thể tích định mức cuối (ml)

f: hệ số pha loãng (nếu có)

m: khối lượng/thể tích mẫu thử (g hoặc ml)

0,9: hệ số chuyển đổi.

- Hàm lượng tinh bột trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định hàm lượng tinh bột và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả hàm lượng tinh bột trong thực phẩm được báo cáo theo đơn vị g/100 g hoặc g/100 ml, chính xác đến 0,01 g.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị HorRat(r) ≤ 1,3) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả xét nghiệm tinh bột nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” (Không phát hiện) đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả xét nghiệm hàm lượng tinh bột < LOQ thì báo cáo kết quả là “<LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+Biểu mẫu định lượng tinh bột: 01 bản chính

+Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
3	Độ hấp thụ của dung dịch mẫu xét nghiệm nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên)	Tiến hành pha loãng dung dịch chiết mẫu bằng nước cất để thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn và làm lại phản ứng lên màu.

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

Được *Được*

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.
- Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm lượng (%)	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100	1	100%	98 - 102
2	10	10^{-1}	10%	98 - 102
3	1	10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1	10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01	10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001	10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001	10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001	10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001	10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001	10^{-9}	1 ppb	42 - 120

- Kết quả xét nghiệm mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $HorRat(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- Paks.Chow and Simon M.Landhaussera (2004), "Method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues", *Tree Physiology* 24, P.1129–1136
- Mengmeng Lei, Mengying Xu, Zesheng Zhang, Min Zhang and Yunfeng Gao (2014), "The Analysis of Saccharide in Black Garlic and its Antioxidant Activity", *Advance Journal of Food Science and Technology* 6(6), P.755-760.
- AOAC 2016 Guidelines for Standard Method Performance.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP ngày 02/02/2018 của Chính phủ về việc quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 61:**ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN B₁ TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)****1. Đại cương****1.1 Mục đích**

Quy trình kỹ thuật này để định lượng vitamin B₁ trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

1.2 Định nghĩa và chữ viết tắt

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm

Thuật ngữ và chữ viết tắt:

- HPLC (High Performance Liquid Chromatography): Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- FLD (Fluorescence detector): Detector huỳnh quang.

- AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống.

- LOD (Limit of Detection): Giới hạn phát hiện.

- LOQ (Limit of Quantification): Giới hạn định lượng.

- CRM (Certified Reference Material): Mẫu chuẩn được chứng nhận.

- RM (Reference Material): Mẫu chuẩn.

- KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

- Vitamin B₁ (thiamin) trong mẫu xét nghiệm được chiết bằng cách thủy phân acid, sau đó được khử nhóm phosphat bằng enzym và dẫn xuất hóa trước cột bằng dung dịch potassium hexacyanoferrate (III) trong môi trường kiềm (oxy hóa thiamin thành thiocrom).

- Hàm lượng vitamin B₁ được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector huỳnh quang ở bước sóng kích thích 360 nm và bước sóng phát xạ 435 nm.

2. Chuẩn bị**2.1 Người thực hiện**

- 02 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật định lượng vitamin B₁ trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- Chuẩn vitamin B1 (Thiamine hydrochloride) độ tinh khiết $\geq 99,0\%$	10 mg
- Methanol dùng cho HPLC, độ tinh khiết $\geq 99,8\%$	200 mL
- Hydrochloric acid, độ tinh khiết $\geq 37,0\%$	4,25 mL
- Sodium acetate trihydrate, độ tinh khiết $\geq 99,5\%$	34,0 g
- Potassium chloride, độ tinh khiết $\geq 99,0\%$	20 g
- Potassium ferricyanide, độ tinh khiết $\geq 99,0\%$	0,1 g
- Sodium hydroxide, độ tinh khiết $\geq 97,0\%$	7,5 g
- Enzym clara-diaxase, hoạt độ $\geq 54,6$ U/mg	1 g
- Isobutanol, độ tinh khiết $\geq 99,0\%$	70 mL
- Nước cất 2 lần	1 lít

2.2.2. Vật tư khác

- Bình định mức thủy tinh 500 mL, độ chính xác $\pm 0,250$ mL	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 200 mL, độ chính xác $\pm 0,150$ mL	05 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, độ chính xác $\pm 0,100$ mL	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, độ chính xác $\pm 0,060$ mL	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, độ chính xác $\pm 0,025$ mL	02 cái
- Bình thủy tinh có nắp vặn 1000 mL	02 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 500-5000 μ L, độ chính xác ± 12 μ L (tại 500 μ L)	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 100-1000 μ L, độ chính xác ± 3 μ L (tại 100 μ L)	01 cái

- Micropipet (bán tự động), dung tích 20-200 μL , độ chính xác $\pm 0,5$ μL (tại 20 μL) 01 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 25 mL, chia vạch, độ chính xác $\pm 0,1$ mL 01 cái
- Đầu tip trắng có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 1000 - 5000 μL 09 cái
- Đầu tip xanh có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100 - 1000 μL 15 cái
- Đầu tip vàng có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 20 - 200 μL 04 cái
- Lọ đựng mẫu thủy tinh thể tích 1,8 mL, có vạch chia thể tích, đường kính cổ 9 mm, nắp xoáy, septa xẻ rãnh 09 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia 02 cái
- Ống đong 100 mL, độ chính xác $\pm 0,5$ mL 01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm 01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 250 mL, có vạch chia 05 cái
- Ống nghiệm thủy tinh có nút mài, dung tích 50 mL 09 cái
- Ống ly tâm nhựa, dung tích 50 mL 05 cái
- Giá đựng ống ly tâm bằng nhựa (để được 30 ống ly tâm 15 mL và 20 ống ly tâm 50 mL) 01 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 cm 05 tờ
- Phễu thủy tinh, đường kính miệng phễu 7 cm 05 cái
- Thìa cân các loại 01 bộ
- Quả bóp cao su 01 quả
- Trang phục bảo hộ:
 - + Quần, áo, mũ bảo hộ lao động: 02 bộ
 - + Dép đi trong phòng xét nghiệm: 02 đôi
 - + Găng tay y tế nitrile không bột talc: 02 đôi
 - + Khẩu trang phòng độc 3M 7502: 02 cái

Handwritten signatures:

- + Khẩu trang y tế: 02 cái
- + Kính bảo hộ lao động: 02 cái.

2.2.3. Công cụ, dụng cụ

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo, túi lưu mẫu.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, bình thủy tinh, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|--|-------------|
| - Hệ thống sắc ký lỏng HPLC - FLD | 01 hệ thống |
| - Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01 cái |
| - Tủ sấy, dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C | 01 cái |
| - Bếp cách thủy, có chức năng cài đặt thời gian và nhiệt độ | 01 cái |
| - Máy xay cầm tay, tốc độ vòng ≥ 13.000 vòng/phút | 01 cái |
| - Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01 cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01 cái |
| - Tủ hút khí độc | 01 cái |

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm: Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.
- Đối với QTKT về thực hiện xét nghiệm (chuẩn bị mẫu hoặc mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm)
- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị.

+Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8,1 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,9	1,9
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Cân	0,10	0,10
		Chiết xuất mẫu	3,00	3,00
		Chuẩn bị máy và dụng cụ xét nghiệm	0,50	0,50
	1	Chạy máy	0,75	0,75
		Xử lý kết quả	0,75	0,75
		Vệ sinh máy, phòng xét nghiệm	0,25	0,25
		Dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,50	0,50
		Cộng		8,0
Người phê duyệt kết quả	1	Trưởng PTN: Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,1	0,1
		Cộng		0,1
Tổng				8,1

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Cán bộ kiểm nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình xét nghiệm.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.
- Mẫu thêm chuẩn: thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất phân tích có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2. Bước 2: Chuẩn bị dung dịch pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch dẫn xuất

- Dung dịch hydrochloric acid (HCl) nồng độ 0,1 N

Hút 4,25 mL HCl vào bình định mức 500 mL có sẵn 400 mL nước cất 2 lần. Thêm nước cất 2 lần tới vạch. Lắc đều.

- Dung dịch sodium acetate trihydrate ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), nồng độ 2,5 M

+ Cân 34 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.

+ Thêm khoảng 60 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.

+ Chuyển dung dịch sang bình định mức 100 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần. Lắc đều.

- Dung dịch potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), nồng độ 1 %

+ Cân 0,1 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ vào bình định mức 10 mL.

+ Thêm khoảng 8 mL nước cất 2 lần, đập nắp. Lắc tan hoàn toàn.

+ Thêm nước cất 2 lần tới vạch. Lắc đều.

- Dung dịch sodium hydroxide (NaOH), nồng độ 15 %

+ Cân 7,5 g NaOH vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.

+ Thêm khoảng 40 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.

+ Chuyển dung dịch sang bình định mức 50 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần. Lắc đều.

- Dung dịch potassium hexacyanoferrate (III) trong môi trường kiềm

+ Hút 2 mL dung dịch $K_3Fe(CN)_6$ 1% vào bình định mức 50 mL.

+ Thêm dung dịch NaOH 15 % tới vạch. Lắc đều. Dung dịch được sử dụng trong vòng 4 giờ sau khi pha.

- Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₁, nồng độ 1000 µg/mL

+ Cân 10 mg (chính xác đến 0,1 mg) chất chuẩn vitamin B₁ vào bình định mức thủy tinh 10 mL.

+ Thêm khoảng 7 mL nước cất 2 lần vào bình định mức, lắc đến khi tan hoàn toàn và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần. Dung dịch được bảo quản ở -20 °C, sử dụng trong vòng 1 tháng.

- Dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₁, nồng độ 100 µg/mL

+ Dùng pipet hút 1 mL chuẩn gốc vitamin B₁ vào bình định mức 10 mL.

+ Định mức bằng nước cất 2 lần đến vạch, lắc đều. Dung dịch sử dụng trong ngày.

4.1.3. Bước 3: Tiến hành chiết mẫu

- Mẫu xét nghiệm: Cân 5 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu vào cốc có mỏ 250 mL.

Mẫu trắng thuốc thử: Hút 10 mL nước cất 2 lần vào cốc có mỏ 250 mL.

Chuẩn: Hút 0,5 mL dung dịch chuẩn trung gian vào cốc có mỏ 250 mL.

- Thêm 90 mL HCl 0,1 N. Dùngũa thủy tinh khuấy đều.

- Thủy phân trong bếp cách thủy ở 120 °C trong 1 giờ.

- Để nguội. Chính pH đến khoảng 3,75 – 4,75 bằng dung dịch $NaCH_3COO \cdot 3H_2O$ 2,5 M.

- Thêm 0,2 g enzym clara-diastrase, trộn đều.

- Để từ 16-17 giờ trong tủ sấy ở 37 °C.

- Để nguội. Chuyển toàn bộ dịch chiết vào bình định mức 200 mL và định mức vừa đủ tới vạch bằng nước cất 2 lần. Lắc đều.

- Lọc dịch qua giấy lọc vào ống ly tâm nhựa.

- Dịch lọc thu được của mẫu xét nghiệm, mẫu trắng thuốc thử, dung dịch chuẩn được hút vào các ống nghiệm để tiến hành dẫn xuất theo bảng sau:

	Ống 1	Ống 2	Ống 3	Ống 4	Ống 5	Ống 6	Ống 7	Ống 8	Ống 9
KCl (g)	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Handwritten signature and initials in blue ink.

Mẫu trắng thuốc thử (mL)	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Dung dịch chuẩn (mL)	0	0,2	0,5	1	1,5	2	0	0	0
Mẫu xét nghiệm (mL)	0	0	0	0	0	0	5	5	0
Mẫu kiểm soát (mL)	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Dung dịch oxy hóa	3 mL mỗi ống, lắc đều 1 phút								
Isobutanol	7 mL mỗi ống, lắc đều 30 giây								
Đề yên trong bóng tối 20 phút đợi tách lớp									

- Hút lớp dịch trong bên trên vào lọ đựng mẫu HPLC.
- Đặt lọ đựng mẫu vào máy HPLC và phân tích theo chương trình đã cài đặt.

4.1.4. Bước 4: Phân tích trên hệ thống HPLC

- Detector FLD đặt bước sóng kích thích 360 nm và bước sóng phát xạ 435 nm.
- Thể tích bơm mẫu: 10 μ L.
- Pha động: MeOH.
- Tốc độ dòng: 0,2 mL/phút.

Trình tự bơm mẫu như sau:

Mẫu trắng thuốc thử $\rightarrow$ dãy chuẩn $\rightarrow$ mẫu trắng thuốc thử $\rightarrow$ mẫu xét nghiệm $\rightarrow$ mẫu kiểm soát.

Chú ý:

- Nếu số mẫu ≥ 10 , sau mỗi 10 mẫu phải chạy lại đường chuẩn một lần để hiệu chỉnh.

4.2 Nhận định kết quả

- Hàm lượng vitamin B₁ trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$= X \frac{C_x \times V \times 100 \times f}{m \times 1000}$$

Trong đó:

X: Hàm lượng vitamin B₁ trong mẫu xét nghiệm (mg/100 g hoặc mg/100 mL).

C_x : Hàm lượng vitamin B₁ có trong dịch đo máy của mẫu xét nghiệm, tính theo đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$).

V: Thể tích chiết mẫu (mL).

f: Hệ số pha loãng (nếu có).

m: Khối lượng hoặc thể tích mẫu xét nghiệm (g, mL).

- Xem xét kết quả mẫu kiểm tra chất lượng (QC): nếu kết quả mẫu kiểm soát, mẫu lặp lại đạt yêu cầu mới tiến hành trả kết quả mẫu thử. Nếu kết quả mẫu QC hoặc mẫu lặp lại không đạt yêu cầu, tiến hành làm lại mẫu.

- Hàm lượng vitamin B₁ trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xét nghiệm vitamin B₁ trong thực phẩm và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm vitamin B₁ được báo cáo theo đơn vị mg/100 g hoặc mg/100 mL, chính xác đến 0,01 mg.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả xét nghiệm vitamin B₁ nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo "KPH" đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả xét nghiệm có phát hiện peak vitamin B₁ nhưng kết quả tính toán < LOQ thì báo cáo kết quả là "<LOQ" đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định độ ẩm: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo

		thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
3	Kết quả mẫu nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên).	Tiến hành pha loãng mẫu xét nghiệm bằng dung dịch MeOH để thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn.

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu trắng thuốc thử: phải không có peak vitamin B₁.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu.
- Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm lượng (%)	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100	1	100%	98 - 102
2	10	10^{-1}	10%	98 - 102
3	1	10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1	10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01	10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001	10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001	10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001	10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001	10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001	10^{-9}	1 ppb	40 - 120

- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành phân tích lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 5164:2018 (EN 14122:2014) về Thực phẩm - Xác định vitamin B1 bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao.
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

Handwritten signatures:

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 62:**ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN B₂ TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LÔNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)****1. Đại cương****1.1 Mục đích**

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng vitamin B₂ trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+HPLC (High Performance Liquid Chromatography): Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao.

+FLD (Fluorescence detector): Detector huỳnh quang.

+AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống.

+LOD (Limit of Detection): Giới hạn phát hiện.

+LOQ (Limit of Quantification): Giới hạn định lượng.

+CRM (Certified Reference Material): Mẫu chuẩn được chứng nhận.

+RM (Reference Material): Mẫu chuẩn.

+KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

Vitamin B₂ (riboflavin) trong mẫu xét nghiệm được chiết bằng cách thủy phân axit, sau đó khử nhóm phosphat bằng enzym; được tách và định lượng bằng HPLC với detector FLD ở bước sóng kích thích 450 nm và bước sóng phát xạ 510 nm.

2. Chuẩn bị**2.1. Người thực hiện**

- 02 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng vitamin B₂ trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Chuẩn vitamin B2 (Riboflavin) độ tinh khiết $\geq 98,0 \%$	10 mg
- Methanol dùng cho HPLC độ tinh khiết $\geq 99,8 \%$	200 mL
- Hydrochloric acid (HCl) độ tinh khiết $\geq 37,0 \%$	3,4 mL
- Sodium acetate trihydrate ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$	20,4 g
- Acetonitrile dùng cho HPLC độ tinh khiết $\geq 99,8 \%$	100 mL
- Enzym clara-diestase hoạt độ $\geq 54,6 \text{ U/mg}$	0,8 g
- Acetic acid (CH_3COOH) độ tinh khiết $\geq 99,8 \%$	0,24 mL
- Nước cất 2 lần	1 lít
- Nước siêu tinh khiết	60 mL

2.2.2 Vật tư khác

- Bộ cột sắc ký C18 gồm cột (150 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 μm), gá cột và cột bảo vệ	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 1000 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $23 \pm 2 \text{ mm}$	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 200 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5 \text{ mm}$	04 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5 \text{ mm}$	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $9 \pm 1 \text{ mm}$	07 cái
- Bình thủy tinh có nắp vặn 1000 mL	02 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 500 – 5000 μL , độ chính xác $\pm 12 \mu\text{L}$ (tại 500 μL)	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 100 – 1000 μL , độ chính xác $\pm 3 \mu\text{L}$ (tại 100 μL)	01 cái

- Micropipet (bán tự động), dung tích 20 – 200 μL , độ chính xác $\pm 0,5 \mu\text{L}$ (tại 20 μL) 01 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 25 mL, cấp A 01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 500 - 5000 μL 02 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100 - 1000 μL 03 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 20 - 200 μL 03 cái
- Đầu lọc mẫu PTFE 0,45 μm , đường kính 15 mm 04 cái
- Lọ đựng mẫu thủy tinh thể tích 1,8 mL, có vạch chia thể tích, đường kính cổ 9 mm, nắp xoáy xẻ rãnh 09 cái
- Màng lọc dung môi pha động cellulose acetate 0,45 μm , đường kính 47 mm 01 cái
- Bộ lọc dung môi pha động (bình hứng, phễu lọc, đầu lọc, kẹp kim loại) 01 bộ
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia 01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 250 mL, có vạch chia 04 cái
- Ống đong thủy tinh 100 mL, có vạch chia 01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm 01 cái
- Ống ly tâm nhựa, dung tích 50 mL 04 cái
- Giá đựng ống ly tâm bằng nhựa (để được 30 ống ly tâm 15 mL và 20 ống ly tâm 50 mL) 01 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 cm 04 tờ
- Xi lanh nhựa 5 mL 04 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm 04 cái
- Thìa lấy mẫu 01 bộ
- Quả bóp cao su 01 quả
- Trang phục bảo hộ: 02 bộ

+ Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	
+ Dép đi trong phòng thí nghiệm	02 đôi
+ Găng tay y tế nitrile không bột	02 đôi
+ Mặt nạ phòng độc 3M 7502	02 cái
+ Khẩu trang y tế	02 cái
+ Kính bảo hộ lao động	02 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ xét nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng xét nghiệm, cụ thể như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng HPLC - FLD	01 hệ thống
- Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg	01 cái
- Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 1100 g, có độ chính xác $\pm 0,01$ g	01 cái
- Máy lắc Vortex, tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/phút	01 cái
- Tủ sấy, dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C	01 cái
- Bếp cách thủy, có chức năng cài đặt nhiệt độ	01 cái
- Máy xay mẫu, công suất 600 W	01 cái
- Bơm chân không	01 cái
- Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C	01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C	01 cái
- Tủ hút khí độc, kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm	01 cái

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu xét nghiệm

- Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

- Lượng mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị.

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị.

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 6,8 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,5	1,5
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Cân	0,10	0,10
		Chiết xuất mẫu	2,00	2,00
		Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,50	0,50
	1	Chạy máy	0,75	0,75
		Xử lý kết quả	0,75	0,75
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25

		Dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,50	0,50
		Cộng		6,6
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				6,8

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3 . An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4 . Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.
- Mẫu thêm chuẩn: Thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất phân tích có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- Dung dịch HCl, nồng độ 0,1 N

+Hút 8,5 mL HCl vào bình định mức 1000 mL có sẵn 800 mL nước cất 2 lần.

+Thêm nước cất 2 lần tới vạch, lắc đều.

- Dung dịch NaCH₃COO.3H₂O, nồng độ 2,5 M

Handwritten signatures and initials in blue ink.

- +Cân 34 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.
- +Thêm khoảng 60 mL nước cất 2 lần dùng đũa thủy tinh khuấy đến tan hoàn toàn.
- +Chuyển dung dịch sang bình định mức 100 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.

- Dung dịch CH_3COOH , nồng độ 2,4 %

- +Sử dụng micropipet (bán tự động) hút 2,4 mL CH_3COOH vào bình định mức 100 mL đã có sẵn 70 mL nước cất 2 lần.

+Định mức bằng nước cất 2 lần đến vạch, lắc đều.

- Dung dịch chuẩn gốc vitamin B_2 , nồng độ 1000 $\mu\text{g/mL}$

- +Cân khoảng 10 mg (chính xác đến 0,1 mg) chất chuẩn vitamin B_2 vào bình định mức thủy tinh 10 mL.

+Thêm khoảng 7 mL CH_3COOH 2,4 % vào bình định mức.

+Siêm âm ở nhiệt độ 35 °C - 40 °C đến khi chuẩn vitamin B_2 tan hoàn toàn.

+ Định mức tới vạch bằng CH_3COOH 2,4 %. Dung dịch được bảo quản ở -20 °C, sử dụng trong vòng 1 tháng.

- Dung dịch chuẩn trung gian vitamin B_2 , nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$

- +Dùng micropipet (bán tự động) hút 100 μL chuẩn gốc vitamin B_2 vào bình định mức 10 mL.

+Định mức bằng nước siêu tinh khiết đến vạch, lắc đều. Dung dịch sử dụng trong ngày.

- Dãy dung dịch chuẩn làm việc

+Sử dụng các micropipet (bán tự động) hút dung dịch chuẩn trung gian vào các bình định mức 10 mL theo bảng sau:

Bảng 1: Cách pha dãy dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút (mL)	Nồng độ chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)				
	0,02	0,1	0,5	0,8	1
Chuẩn trung gian 10 $\mu\text{g/mL}$	0,02	0,1	0,5	0,8	1
Nước siêu tinh khiết	Định mức vừa đủ 10 mL				

+Dãy dung dịch chuẩn làm việc được pha mới sử dụng trong ngày.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành chiết và dẫn xuất

- Mẫu xét nghiệm: Cân khoảng 2 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu vào cốc có mỏ 250 mL.

Mẫu trắng thuốc thử: Hút 5 mL nước cất 2 lần vào cốc có mỏ 250 mL.

- Thêm 100 mL HCl 0,1 N, dùng thìa thủy tinh khuấy đều.
- Thủy phân trong bếp cách thủy ở 100 °C trong 1 giờ.
- Để nguội. Chỉnh pH đến khoảng 4,0 – 4,7 bằng dung dịch $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2,5M.
- Thêm 0,2 g enzym clara-diestase, trộn đều.
- Để từ 16 - 17 giờ trong tủ sấy ở 37 °C.
- Để nguội. Chuyển toàn bộ dịch chiết vào bình định mức 200 mL và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.
- Lọc dịch qua giấy lọc vào ống ly tâm nhựa.
- Lọc dung dịch qua đầu lọc mẫu 0,45 μm vào lọ đựng mẫu HPLC.
- Đặt lọ đựng mẫu vào máy HPLC và phân tích theo chương trình đã cài đặt.

4.1.4 Bước 4: Phân tích trên hệ thống HPLC

- Bộ cột sắc ký C18, gồm cột (150 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 μm), giá cột và cột bảo vệ
- Nhiệt độ buồng cột: 35 °C.
- Detector FLD đặt bước sóng kích thích 450 nm và bước sóng phát xạ 510 nm.
- Thể tích bơm mẫu: 10 μL .
- Tốc độ dòng: 0,7 mL/phút.
- Pha động: MeOH – Nước siêu tinh khiết (50 – 50).

Trình tự bơm mẫu như sau:

Mẫu trắng thuốc thử → dãy chuẩn → mẫu trắng thuốc thử → mẫu xét nghiệm → mẫu kiểm soát.

Chú ý: Nếu số mẫu ≥ 10 , sau mỗi 10 mẫu phải chạy lại đường chuẩn một lần để hiệu chỉnh.

4.2 Nhận định kết quả

- Hàm lượng vitamin B₂ trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = \frac{C_x \times V \times 100 \times f}{m \times 1000}$$

Trong đó:

X: Hàm lượng vitamin B₂ trong mẫu xét nghiệm (mg/100 g hoặc mg/100 mL)

C_x: Nồng độ của mẫu xét nghiệm, tính theo đường chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)

V: Thể tích chiết mẫu (mL)

f: Hệ số pha loãng nếu có

m: Khối lượng/ thể tích mẫu xét nghiệm (g, mL).

- Hàm lượng vitamin B₂ trong mẫu được tính toán theo biểu mẫu định lượng vitamin B₂ và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm vitamin B₂ được báo cáo theo đơn vị mg/100 g hoặc mg/100 mL, chính xác đến 0,1 mg.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả phân tích vitamin B₂ nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả phân tích có phát hiện peak vitamin B₂ nhưng kết quả tính toán < LOQ thì báo cáo kết quả là “Vết, <LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+Biểu mẫu định lượng vitamin B₂: 01 bản chính

+Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5 . Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
----	------------	-------

1	Thiết bị trực trắc kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xây ra tràn đổ hóa chất trong quá trình xét nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm
3	Kết quả mẫu nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên).	Tiến hành pha loãng mẫu xét nghiệm bằng Nước siêu tinh khiết để thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn.

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6 Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình xét nghiệm mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.

- Mẫu trắng thuốc thử: phải không có peak vitamin B₂.

- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.

- Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm lượng (%)	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100	1	100%	98 - 102
2	10	10 ⁻¹	10%	98 - 102
3	1	10 ⁻²	1%	97 - 103
4	0,1	10 ⁻³	0,1%	95 - 105
5	0,01	10 ⁻⁴	100 ppm	90 - 107

Handwritten signatures:  

6	0,001	10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001	10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001	10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001	10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001	10^{-9}	1 ppb	41 - 120

- Kết quả xét nghiệm mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành xét nghiệm lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7 Tài liệu tham khảo

- TCVN 8975:2018 (EN 14152:2014) về Thực phẩm - Xác định vitamin B2 bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao.
- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích.
- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.
- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử.
- AOAC 2016, appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 63:

ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN C TRONG THỰC PHẨM VÀ THỰC PHẨM CHỨC NĂNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LÔNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)

1. Đại cương

1.1. Mục đích

Quy trình này quy định kỹ thuật xét nghiệm hàm lượng vitamin C trong thực phẩm và thực phẩm chức năng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

1.2. Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thực phẩm chức năng là thực phẩm dùng để hỗ trợ chức năng của cơ thể con người, tạo cho cơ thể tình trạng thoải mái, tăng sức đề kháng, giảm bớt nguy cơ mắc bệnh, bao gồm thực phẩm bổ sung, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, thực phẩm dinh dưỡng y học.

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;

b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;

c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm bổ sung (Supplemented Food) là thực phẩm thông thường được bổ sung vi chất và các yếu tố có lợi cho sức khỏe như vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzym, probiotic, prebiotic và chất có hoạt tính sinh học khác.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc

theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có

Thuật ngữ và chữ viết tắt

+ Vitamin C đề cập trong phương pháp thử này là acid ascorbic với công thức phân tử là $C_6H_8O_6$.

+ HPLC (High Performance Liquid Chromatography): Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao.

+ PDA (Photodiode Array): mảng điốt.

+ AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội hợp tác phân tích chính thức quốc tế.

+ LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.

+ LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.

+ CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.

+ RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

1.3. Nguyên lý

- Vitamin C được chiết ra khỏi mẫu xét nghiệm bằng dung dịch acid metaphosphoric. Dùng dung dịch khử để chuyển acid ascorbic L (+) đã khử hydro thành acid ascorbic L (+).

- Hàm lượng acid ascorbic L (+) tổng số được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector PDA ở bước sóng 265 nm.

2. Chuẩn bị

2.1. Người thực hiện:

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm xác định vitamin C trong thực phẩm và thực phẩm chức năng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2. Vật tư trực tiếp

2.2.1. Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|---|--------|
| - Chất chuẩn vitamin C (acid ascorbic), độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$ | 10 mg |
| - Acid metaphosphoric (MPA), độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$ | 7 g |
| - Trisodium phosphate dodecahydrate ($Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$), độ tinh khiết $\geq 98 \%$ | 10 g |
| - Monopotassium phosphate (KH_2PO_4), độ tinh khiết $\geq 99 \%$ | 2,72 g |

- L-cystein ($C_3H_7NO_2S$), độ tinh khiết $\geq 99\%$	12 g
- N-cetyl-N,N,N-trimethylamoni bromua ($C_{19}H_{42}BrN$), độ tinh khiết $\geq 99\%$	0,364 g
- Methanol, HPLC (MeOH), độ tinh khiết $\geq 99,8\%$	20 mL
- Nước siêu tinh khiết	250 mL
- Nước cất 2 lần	1 lít

2.2.2. Vật tư khác

- Bộ cột sắc ký C18 gồm cột (150 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 μm), giá cột và cột bảo vệ	01 bộ
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 9 ± 1 mm	01 cái
- Micropipet, dung tích 100-1000 μL , độ chính xác $\pm 3 \mu L$ (tại 100 μL)	01 cái
- Micropipet, dung tích 20-200 μL , độ chính xác $\pm 0,5 \mu L$ (tại 20 μL)	01 cái
- Lọ đựng mẫu thủy tinh thể tích 2 mL, có vạch chia thể tích, đường kính cổ 9 mm, nắp xoáy xẻ rãnh	09 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 500 mL, có vạch chia	01 cái
- Chai thủy tinh có nắp vặn 1000 mL	01 cái
- Ống đong thủy tinh 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Ống đong thủy tinh 500 mL, có vạch chia	01 cái
- Cốc thủy tinh có mỏ 1000 mL, có vạch chia	01 cái
- Bộ lọc dung môi pha động (bình hứng, phễu lọc, đầu lọc, kẹp kim loại)	01 bộ
- Màng lọc dung môi pha động cellulose acetate 0,45 μm , đường kính 47 mm	01 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm	01 cái
- Giấy lọc tròn, đường kính 11 cm	03 cái
- Cốc xay mẫu inox	01 cái

- Cốc thủy tinh có mỏ 50 mL, có vạch chia	03 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ 13 ± 1 mm	03 cái
- Bơm tiêm y tế nhựa 5 mL	03 cái
- Đầu lọc mẫu PTFE 0,45 μ m, đường kính 15 mm	03 cái
- Ống ly tâm nhựa, dung tích 15 mL	03 cái
- Giá đựng ống ly tâm bằng nhựa (để được 30 ống ly tâm 15 mL và 20 ống ly tâm 50 mL)	01 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	01 cái
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 100 – 1000 μ L	06 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 20 - 200 μ L	06 cái
- Quả bóp cao su	01 quả
- Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	01 bộ
- Dép đi trong phòng thí nghiệm	01 đôi
- Găng tay y tế nitrile không có bột	02 đôi
- Khẩu trang phòng độc 3M 7502	01 cái
- Khẩu trang y tế	02 cái
- Kính bảo hộ lao động	01 á

2.2.3. Công cụ, dụng cụ

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo
- Vật tư lưu mẫu: túi zip kích thước 15 x 20 cm
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay, bình thủy tinh.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ A4, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3. Thiết bị:

- Hệ thống sắc ký lỏng HPLC với detector PDA	01 hệ thống
- Cân phân tích, tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg.	01 cái
- Cân kỹ thuật, tải trọng tối đa 2000 g, có độ chính xác $\pm 0,01$ g	01 cái
- Máy lắc, tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/phút	01 cái
- Bể rửa siêu âm, có chức năng cài đặt nhiệt độ và thời gian	01 cái
- Máy pH	01 cái
- Máy khuấy từ, tốc độ quay 100 – 1500 vòng/phút	01 cái
- Máy ly tâm lạnh, có thể cài đặt tốc độ vòng quay 3000 vòng/phút	01 cái
- Máy xay cầm tay, công suất 600 W	01 cái
- Bơm chân không	01 cái
- Tủ bảo quản mẫu, dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C	01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu, dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C	01 cái
- Tủ hút khí độc, kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm	01 cái

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

2.4.1. Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm:

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:

+ Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

+ Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30g hoặc 30mL).

- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị.

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị.

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác....

- Phân tích mẫu xét nghiệm ngay sau khi đồng nhất.

2.5. Phiếu chỉ định xét nghiệm:

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6. Thời gian thực hiện kỹ thuật: 5,2 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian (giờ)
Nhân viên xét nghiệm	1	Chuẩn bị hóa chất	1,0	1,0
		Xử lý, cân, chiết xuất mẫu, chạy máy.	2,5	2,5
		Tổng hợp tính toán kết quả	0,5	0,5
		Nhập kết quả, lập phiếu trình ký kết quả	0,25	0,25
		Vệ sinh máy, dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh, phòng xét nghiệm	0,75	0,75
		Cộng		5,0
Người phê duyệt kết quả	1	Trưởng phòng xét nghiệm đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
Tổng				5,2

2.7. Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Cán bộ xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1. Các bước thực hiện

4.1.1. Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu thử nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu thử nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.
- Mẫu thêm chuẩn: Thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất phân tích có trong mẫu thử nghiệm.

4.1.2. Bước 2: Pha chế hóa chất, chất chuẩn

➤ Dung dịch chuẩn vitamin C nồng độ 1 mg/mL

- Cân chính xác 10 mg chất chuẩn vitamin C cho vào bình định mức thủy tinh 10 mL.
- Thêm khoảng 7 mL nước 18 mΩ vào bình định mức, lắc đến khi tan hoàn toàn và định mức tới vạch. Dung dịch pha trước khi sử dụng.

➤ Dung dịch chuẩn vitamin C nồng độ 100 µg/mL

Sử dụng pipet Eppendorf hút 100 µL chuẩn vitamin C nồng độ 1 mg/mL vào lọ đựng mẫu, thêm 900 µL nước 18 mΩ, lắc đều.

➤ Dãy dung dịch chuẩn làm việc

Sử dụng pipet Eppendorf hút thể tích chuẩn và nước 18 mΩ vào lọ đựng mẫu theo tỷ lệ như bảng 1 sau:

Bảng 1: Cách pha dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút	Nồng độ chuẩn (µg/mL)				
	2	5	10	20	50
Chuẩn 100 µg/mL	-	-	100	200	500
Chuẩn 20 (µg/mL)	100	250	-	-	-
Nước 18 mΩ (mL)	900	750	900	800	500

Ghi chú: Các dung dịch được pha ngay trước khi sử dụng.

➤ Dung dịch acid metaphosphoric (MPA) 20 %

Cân 200 g acid metaphosphoric vào cốc thủy tinh có mỏ 500 mL, thêm 300 mL nước cất và dùng thìa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 1 lít, thêm nước cất tới vạch, lắc đều. Dung dịch này khi được bảo quản ở 4 °C bền trong một tháng.

Đuân *ant*

➤ Dung dịch acid metaphosphoric (MPA) 2 %

Dùng ống đong 100 mL lấy 50 mL dung dịch MPA 20 % cho vào bình định mức 500 mL. Thêm nước cất tới vạch, lắc đều. Chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

➤ Dung dịch Trisodium phosphate dodecahydrate ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 200 g/l

Cân 200 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 500 mL, thêm 300 mL nước cất và dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 1 lít, thêm nước cất tới vạch, lắc đều.

➤ Dung dịch L-cystein ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$) 40 g/l

Cân 20 g $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 500 mL, thêm 300 mL nước cất và dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 500 mL, thêm nước cất tới vạch, lắc đều. Chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

➤ Dung dịch pha động

- Cân 13,6 g KH_2PO_4 vào cốc thủy tinh có mỏ 1000 mL, thêm 900 mL nước cất và dùng đũa khuấy tan hoàn toàn. Lọc qua bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μm (dung dịch A).

- Cân 1,82 g $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$ vào cốc có mỏ 500 mL. Dùng ống đong lấy 100 mL methanol vào cốc có mỏ, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn. Lọc qua bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μm (dung dịch B).

- Trộn 900 mL dung dịch A và 100 mL dung dịch B vào chai thủy tinh có nắp vặn, lắc đều, siêu âm đuổi khí 15 phút.

4.1.3. Bước 3: Tiến hành phân tích

Các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu cần được phân tích càng sớm càng tốt, giữ ở nhiệt độ dưới 25 °C trong suốt quá trình phân tích và loại bỏ sau 8 giờ.

➤ Chuẩn bị mẫu thử

Đồng hóa mẫu thử. Nghiền thô nguyên liệu trong máy nghiền thích hợp và trộn lại. Tiến hành phân tích ngay sau khi đồng hóa. Để chuẩn bị mẫu thử đối với rau và trái cây nguyên liệu, cần phải qua quá trình chiết

➤ Đối với mẫu thực phẩm

Chiết mẫu

- Cân 3-5 g (chính xác đến 0,01g) mẫu thử đã đồng nhất vào bình định mức 100 mL.

- Thêm 80 mL acid metaphosphoric 2 % vào bình định mức chứa mẫu thử, lắc bình. Thêm acid metaphosphoric 2 % tới vạch, lắc và lọc qua giấy lọc để thu được dịch chiết mẫu.

- Đối với rau và trái cây nguyên liệu, dùng dao thái nhỏ, trộn và cân một lượng mẫu thích hợp, khoảng từ 2–10 g mẫu thử cho trực tiếp vào cốc inox có chứa sẵn 80 mL acid metaphosphoric 2 %. Đồng hóa rồi chuyển vào bình định mức 100 mL. Thêm acid metaphosphoric 2 % tới vạch, lắc và lọc qua giấy lọc để thu được dịch chiết mẫu.

Bước khử

- Dùng ống đồng lấy 20 mL dịch chiết mẫu vào cốc có mỏ 50 mL. Thêm 10 mL dung dịch L-cystein 4 %. Khuấy dung dịch bằng que khuấy từ và chỉnh pH đến khoảng từ 7,0 đến 7,2 bằng cách thêm dung dịch $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 20 % và khuấy đúng 5 phút. Sau đó giảm pH đến khoảng từ 2,5 đến 2,8 bằng cách thêm dung dịch acid metaphosphoric 20 %. Chuyển toàn bộ dung dịch sang bình định mức 50 mL, tráng rửa điện cực, que khuấy từ và cốc có mỏ bằng nước cất. Thêm nước cất tới vạch, lắc đều.

- Hút 2 mL dịch trong vào bơm tiêm 5 mL và lọc qua đầu lọc mẫu 0,45 μm vào lọ đựng mẫu.

- Đặt lọ đựng mẫu vào máy HPLC và phân tích theo chương trình đã cài đặt.

➤ Đối với mẫu thực phẩm chức năng

- Cân 0,1 - 0,5 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu dạng rắn hoặc hút 0,5 - 1 mL mẫu dạng lỏng đã đồng nhất vào bình định mức 10 mL.

- Thêm 8 mL dung dịch acid metaphosphoric 2 %.

- Lắc 15 giây bằng máy lắc vortex, siêu âm lạnh 15 phút, và định mức tới vạch bằng acid metaphosphoric 2%.

- Chuyển toàn bộ dịch chiết sang ống ly tâm 15 mL, ly tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ 4 °C.

- Hút 2 mL dịch trong vào bơm tiêm 5 mL và lọc qua đầu lọc mẫu 0,45 μm vào lọ đựng mẫu.

- Đặt lọ đựng mẫu vào máy HPLC và phân tích theo chương trình đã cài đặt.

4.1.4. Bước 4: Điều kiện chạy máy

- Bộ cột C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 μm), kèm gá và cột bảo vệ.

- Nhiệt độ buồng cột: 30 °C

- Detector UV đặt ở bước sóng 265 nm hoặc detector PDA đặt bước sóng trong khoảng từ 210 nm đến 400 nm

- Thể tích bơm mẫu: 10 μL

- Pha động: Mục 5.1.8

- Tốc độ dòng: 0,7 mL/phút.

Trình tự bơm mẫu như sau:

Mẫu trắng thuốc thử → dãy chuẩn → mẫu trắng thuốc thử → mẫu thử → mẫu kiểm soát.

4.2. Nhận định kết quả

Hàm lượng vitamin C trong 100 g hoặc 100 mL mẫu xét nghiệm được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{C_x \times V \times 100 \times f}{\dots}$$

Handwritten signatures and marks in blue ink.

$$m \times 1000$$

Trong đó:

X: hàm lượng vitamin C trong mẫu xét nghiệm (mg/100g hoặc mg/100mL)

C_x: là nồng độ vitamin C trong dịch đo của mẫu thử tính theo đường chuẩn (µg/mL).

V : là thể tích cuối của dịch chiết (mL).

m : là lượng mẫu cân (g) hoặc hút (mL).

f: là độ pha loãng (nếu có).

- Hàm lượng vitamin C trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu xác định vitamin C và được ghi chép vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả xét nghiệm vitamin C của mẫu được báo cáo theo đơn vị mg/100g, chính xác đến 0,1 mg.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị HorRat(r) ≤ 1,3) lấy kết quả trung bình.

4.3. Trả kết quả và lưu trữ hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định vitamin C: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

+ Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

Chú ý:

- Kết quả phân tích vitamin C nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” (Không phát hiện) đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả phân tích có phát hiện peak vitamin C nhưng kết quả tính toán < LOQ thì báo cáo kết quả là “<LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

5. Những sai sót và xử trí

5.1. Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa đầy đủ hóa chất, vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm cho đến khi chuẩn bị đầy đủ hóa chất, vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo

		thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể

5.2. Trong quá trình thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả mẫu nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên).	Tiến hành pha loãng mẫu thử nghiệm bằng dung dịch acid metaphosphoric (MPA) 2% thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn.
2	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được trong 4 giờ	Thông báo cho hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường, tiến hành phân tích mẫu theo quy trình ở trên
3	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm

5.3. Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/ mẫu kiểm soát/ mẫu lặp không đạt...)	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu thử

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu trắng thuốc thử: phải không có peak vitamin C.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.
- Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm (%)	lượng	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100		1	100%	98 - 102
2	10		10^{-1}	10%	98 - 102
3	1		10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1		10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01		10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001		10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001		10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001		10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001		10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001		10^{-9}	1 ppb	42 - 120

- Kết quả phân tích mẫu lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.
- Tiến hành phân tích lặp lại đối với ít nhất 20% tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 8977:2011. Thực phẩm – Xác định vitamin C bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
- AOAC 2016, appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn thực phẩm số 55/2010/QH12 ngày 17/06/2010.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP của Chính phủ về việc Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư số 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng



Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 64:

ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN B₆ TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình kỹ thuật này hướng dẫn xét nghiệm định lượng vitamin B₆ (tổng của pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine) trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, được tính theo pyridoxine.

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thuật ngữ và chữ viết tắt:

+HPLC (High Performance Liquid Chromatography): Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao.

+FLD (Fluorescence detector): Detector huỳnh quang.

+AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống.

+LOD (Limit of Detection): Giới hạn phát hiện.

+LOQ (Limit of Quantification): Giới hạn định lượng.

+CRM (Certified Reference Material): Mẫu chuẩn được chứng nhận.

+RM (Reference Material): Mẫu chuẩn.

+KPH: Không phát hiện

1.3 Nguyên lý

- Pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine trong mẫu xét nghiệm được chiết bằng cách thủy phân acid, sau đó được khử nhóm phosphat bằng enzym.

- Pyridoxamine phản ứng với glyoxylic acid có mặt chất xúc tác Fe²⁺ được chuyển thành pyridoxal, chất này sau đó được khử thành pyridoxine do tác dụng của sodium borohydroxide trong môi trường kiềm.

- Pyridoxine sau đó được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector huỳnh quang ở bước sóng kích thích 290 nm và bước sóng phát xạ 395 nm.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 02 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng vitamin B₆ trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- Chuẩn B6 (Pyridoxine hydrochloride) độ tinh khiết $\geq 99,0 \%$	10 mg
- Sodium acetate trihydrate độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$	34,17 g
- Glyoxylic acid, dung dịch 50 % trong nước, độ tinh khiết $\geq 47,0 \%$	3,7 mL
- Ferrous sulfate heptahydrate độ tinh khiết $\geq 99,5 \%$	0,1 g
- Sodium borohydroxide độ tinh khiết $\geq 96,0 \%$	0,1892 g
- Acetonitrile dùng cho HPLC độ tinh khiết $\geq 99,8 \%$	100 mL
- Methanol dùng cho HPLC độ tinh khiết $\geq 99,8 \%$	300 mL
- Phosphoric acid độ tinh khiết $\geq 85 \%$	0,228 g
- 1-Heptane sulfonic acid, sodium salt độ tinh khiết $\geq 99 \%$	0,1 g
- Sodium hydroxide độ tinh khiết $\geq 97,0 \%$	0,8 g
- Acetic glacial acid độ tinh khiết $\geq 99,8 \%$	4,5 mL
- Phosphatase acid từ khoai tây, hoạt độ 2 U/mg	20 mg
- Hydrochloric acid độ tinh khiết $\geq 37,0 \%$	1,7 mL
- Nước siêu tinh khiết	200 mL
- Nước cất 2 lần	1 lít

2.2.2 Vật tư khác

- Bình định mức thủy tinh 200 mL, độ chính xác $\pm 0,150$ mL	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, độ chính xác $\pm 0,100$ mL	05 cái
- Bình định mức thủy tinh 50 mL, độ chính xác $\pm 0,060$ mL	01 cái

- Bình định mức thủy tinh 25 mL, độ chính xác $\pm 0,040$ mL	02 cái
- Bình định mức thủy tinh 10 mL, độ chính xác $\pm 0,025$ mL	10 cái
- Bình thủy tinh có nắp vặn 1000 mL	04 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 500-5000 μ L, độ chính xác ± 12 μ L (tại 500 μ L)	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 100-1000 μ L, độ chính xác ± 3 μ L (tại 100 μ L)	01 cái
- Micropipet (bán tự động), dung tích 20-200 μ L, độ chính xác $\pm 0,5$ μ L (tại 20 μ L)	01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 1000 - 5000 μ L	15 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 100 - 1000 μ L	05 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet (bán tự động) dung tích 20 - 200 μ L	02 cái
- Pipet thủy tinh thẳng 1 mL, chia vạch, độ chính xác $\pm 0,007$ mL	01 cái
- Đầu lọc mẫu PTFE 0,45 μ m, đường kính 15mm	09 cái
- Lọ đựng mẫu thủy tinh thể tích 1,8 mL, có vạch chia thể tích, đường kính cổ 9 mm, nắp xoáy xẻ rãnh	09 cái
- Màng lọc dung môi pha động cellulose acetate 0,45 μ m, đường kính 47 mm	01 cái
- Bộ lọc dung môi pha động (bình hứng, phễu lọc, đầu lọc, kẹp kim loại)	01 bộ
- Cốc thủy tinh có mỏ 100 mL, có vạch chia, độ chính xác $\pm 0,1$ mL	05 cái
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	01 cái
- Bình tam giác, có nắp đậy, dung tích 50 mL	09 cái
- Bình tam giác, có nắp đậy, dung tích 250 mL	04 cái
- Xi lanh nhựa 10 mL	09 cái

- Giấy lọc tròn	04 tờ
- Phễu thủy tinh	04 cái
- Ống ly tâm PE, dung tích 50 mL	04 cái
- Giá đựng ống ly tâm bằng nhựa (để được 30 ống ly tâm 15 mL và 20 ống ly tâm 50 mL)	01 cái
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Quả bóp cao su	01 quả
- Trang phục bảo hộ:	
+ Quần, áo, mũ bảo hộ lao động	02 bộ
+ Dép đi trong phòng thí nghiệm	02 đôi
+ Găng tay y tế nitrile không bột	02 đôi
+ Mặt nạ phòng độc 3M 7502	02 cái
+ Khẩu trang y tế	02 cái
+ Kính bảo hộ lao động	02 cái

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo.
- Vật tư lưu mẫu: túi zip 15 x 20 cm.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: mực in, giấy in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng kiểm nghiệm, cụ thể như sau:

- Hệ thống sắc ký lỏng HPLC - FLD	01 hệ thống
- Bộ cột sắc ký với cột C18 (150 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 μ m), gá cột và cột bảo vệ	01 cái
- Cân phân tích tải trọng tối đa 210 g, có độ chính xác $\pm 0,1$ mg	01 cái

- Máy lắc Vortex tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/phút 01 cái
- Tủ sấy dài nhiệt độ 30 °C – 300 °C 01 cái
- Máy xay mẫu, công suất 600 W 01 cái
- Bơm chân không 01 cái
- Tủ bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C 01 cái
- Tủ đông bảo quản mẫu hãng Sanaky dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C hoặc tương đương 01 cái
- Tủ hút khí độc kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm 01 cái

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu xét nghiệm (nếu có)

2.4.1 Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình xét nghiệm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).

- Lượng mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị.

- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/xét nghiệm của đơn vị.

- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm (nếu có)

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 8,2 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	1	Pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	1,9	1,9
		Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25

		Cân	0,10	0,10
		Chiết xuất mẫu	3,00	3,00
		Chuẩn bị máy và dụng cụ thí nghiệm	0,50	0,50
	1	Chạy máy	0,75	0,75
		Xử lý kết quả	0,75	0,75
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25
		Dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,50	0,50
		Cộng		8,0
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả xét nghiệm mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				8,2

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Nhân viên xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.
- Mẫu thêm chuẩn: Thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất phân tích có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị hóa chất và thuốc thử

- **Dung dịch sodium acetate trihydrate ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), nồng độ 2,5 M**
 - + Cân 34 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.
 - + Thêm khoảng 60 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.
 - + Chuyển dung dịch sang bình định mức 100 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.
- **Dung dịch glyoxylic acid, nồng độ 1 M**
 - + Hút 3,7 mL glyoxylic acid vào bình định mức 25 mL.
 - + Thêm nước cất 2 lần tới vạch, lắc đều.
- **Dung dịch ferrous sulfate heptahydrate ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), nồng độ 1 %**
 - + Cân 0,1 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ vào bình định mức 10 mL.
 - + Thêm khoảng 8 mL nước cất 2 lần, lắc tới tan hoàn toàn.
 - + Thêm nước cất 2 lần tới vạch, lắc đều.
- **Dung dịch sodium hydroxide (NaOH), nồng độ 0,2 M**
 - + Cân 0,8 g NaOH vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.
 - + Thêm khoảng 40 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.
 - + Chuyển dung dịch sang bình định mức 100 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.
- **Dung dịch sodium borohydroxide (NaBH_4), nồng độ 0,1 M**
 - + Cân 0,1892 g NaBH_4 vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.
 - + Thêm khoảng 40 mL dung dịch NaOH 0,2 M, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.
 - + Chuyển dung dịch sang bình định mức 50 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng NaOH 0,2 M, lắc đều.
- **Dung dịch sodium acetate trihydrate ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), nồng độ 0,05 M (pH = 4,5)**
 - + Cân 0,17 g $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL.
 - + Thêm khoảng 15 mL nước cất 2 lần, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.
 - + Chính pH = 4,5 bằng acid acetic glacial.

+ Chuyển dung dịch sang bình định mức 25 mL, tráng cốc pha và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.

- **Dung dịch phosphatase acid, nồng độ 20 mg/mL.**

+ Cân 0,02 g phosphatase acid vào bình định mức 10 mL.

+ Thêm khoảng 8 mL dung dịch $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,05 M, lắc tới tan hoàn toàn.

+ Thêm dung dịch $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,05 M tới vạch, lắc đều.

- **Dung dịch hydrochloric acid (HCl), nồng độ 0,1 N**

+ Hút 1,7 mL HCl vào bình định mức 200 mL có sẵn 150 mL nước cất 2 lần.

+ Thêm nước cất 2 lần tới vạch, lắc đều.

- **Pha động**

+ Pha động A:

• Cân 0,1 g 1-heptane sulfonic acid, sodium salt vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL. Thêm khoảng 50 mL nước siêu tinh khiết, dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.

• Cân 0,228 g phosphoric acid vào cốc thủy tinh có mỏ 100 mL. Thêm khoảng 50 mL nước siêu tinh khiết, dùng đũa thủy tinh khuấy đồng nhất.

• Chuyển 2 dung dịch vừa pha vào bình định mức 200 mL, tráng cốc pha bằng khoảng 50 mL nước siêu tinh khiết. Định mức tới vạch bằng nước siêu tinh khiết. Lắc đều.

• Lọc pha động qua màng lọc dung môi pha động 0,45 μm , siêu âm đuổi khí trong 30 phút.

+ Pha động B: MeOH.

- **Dung dịch chuẩn gốc B₆, nồng độ 1000 $\mu\text{g/mL}$**

+ Cân 10 mg (chính xác đến 0,1 mg) chất chuẩn vitamin B₆ vào bình định mức thủy tinh 10 mL.

+ Thêm khoảng 7 mL nước cất 2 lần vào bình định mức, lắc đến khi tan hoàn toàn và định mức tới vạch bằng nước cất 2 lần. Dung dịch được bảo quản ở -20 °C, sử dụng trong vòng 1 tháng.

- **Dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₆, nồng độ 10 $\mu\text{g/mL}$**

+ Dùng pipet tự động hút 100 μL chuẩn gốc vitamin B₆ vào bình định mức 10 mL.

+ Định mức bằng dung dịch HCl 0,1 N đến vạch, lắc đều. Dung dịch sử dụng trong ngày.

+ Để kiểm tra nồng độ dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₆, tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch này tại bước sóng 290 nm; dùng dung dịch HCl 0,1 N làm mẫu trắng. Nồng độ dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₆ tính theo công thức:

$$C = \frac{A_{290} \times M \times 1000}{\epsilon}$$

Trong đó:

C: Nồng độ dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₆ (µg/mL).

A₂₉₀: Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 290 nm.

M: Khối lượng phân tử của pyridoxine hydrochloride (g/mol) (M=205,64).

ε: Hệ số hấp thụ phân tử của pyridoxine hydrochloride trong HCl 0,1 N ở 291 nm (L mol⁻¹ cm⁻¹) (ε = 8600).

- **Dung dịch chuẩn làm việc vitamin B₆**

+ Sử dụng pipet tự động hút chuẩn vào bình định mức 10 mL với thể tích theo bảng 1 sau:

Bảng 1: Cách pha dãy dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút (µL)	Nồng độ chuẩn (ng/mL)				
	25	50	250	500	1000
Chuẩn 10 µg/mL	25	50	250	500	1000
Nước cất 2 lần	Định mức vừa đủ 10 mL				

+ Các dung dịch chuẩn được pha và sử dụng trong ngày.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành chiết và dẫn xuất

- Cân 5 g (chính xác đến 0,1 mg) mẫu xét nghiệm vào bình tam giác 250 mL.
- Thêm 50 mL dung dịch HCl 0,1 N.
- Thủy phân trong bếp cách thủy đang sôi trong 30 phút.
- Để nguội. Chỉnh pH đến 4,5 bằng dung dịch NaCH₃COO.3H₂O 2,5 M.
- Thêm 2,5 mL acid glyoxylic 1 M; 0,8 mL dung dịch FeSO₄.7H₂O 1 % và 1 mL dung dịch enzym, lắc đều.
- Để qua đêm (ít nhất 12 giờ) trong tủ sấy ở 37 °C.
- Để nguội. Chuyển toàn bộ dịch chiết vào bình định mức 100 mL và định mức vừa đủ tới vạch bằng nước cất 2 lần, lắc đều.
- Lọc dịch qua giấy lọc vào ống ly tâm nhựa.
- Dịch lọc được hút vào các bình tam giác 50 mL và tiến hành phản ứng theo bảng sau:

	<i>Bình 1</i>	<i>Bình 2</i>	<i>Bình 3</i>	<i>Bình 4</i>	<i>Bình 5</i>	<i>Bình 6</i>	<i>Bình 7</i>	<i>Bình 8</i>	<i>Bình 9</i>
Mẫu trắng thuốc thử (mL)	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Dãy dung dịch chuẩn làm việc vitamin B ₆ (mL)	0	5	5	5	5	5	0	0	0
Mẫu xét nghiệm (mL)	0	0	0	0	0	0	5	5	0
Mẫu kiểm soát (mL)	0	0	0	0	0	0	0	0	5
NaBH ₄ 0,1 M	4,5 mL mỗi bình, lắc đều 3 phút								
Acid acetic glacial	0,5 mL mỗi bình, lắc đều 1 phút								

- Sau khi sủi hết bọt, lọc dung dịch qua đầu lọc mẫu 0,45 µm vào lọ đựng mẫu HPLC.

- Đặt lọ đựng mẫu vào máy HPLC và phân tích theo chương trình đã cài đặt.

4.1.4 Bước 4: Phân tích trên hệ thống HPLC

- Bộ cột HC-C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 µm), kèm gá và cột bảo vệ, hãng Agilent hoặc tương đương.

- Nhiệt độ buồng cột: 35 °C.

- Detector FLD đặt bước sóng kích thích 290 nm và bước sóng phát xạ 395 nm.

- Thể tích bơm mẫu: 10 µL.

- Tốc độ dòng: 1 mL/phút.

- Chương trình pha động: Hằng dòng 74 % A – 26 % B.

Trình tự bơm mẫu như sau:

Mẫu trắng thuốc thử → dãy chuẩn → mẫu trắng thuốc thử → mẫu xét nghiệm → mẫu kiểm soát.

Chú ý: Nếu số mẫu ≥ 10, sau mỗi 10 mẫu phải chạy lại đường chuẩn một lần để hiệu chỉnh.

4.2 Nhận định kết quả

Được *mt*

- Hàm lượng vitamin B₆ là mg pyridoxine hydrochloride trong 100 g mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X = \frac{C_x \times V \times 100 \times f}{m \times 1000}$$

Trong đó:

X: Hàm lượng vitamin B₆ trong mẫu xét nghiệm (mg/100 g hoặc mg/100 mL)

C_x: Nồng độ của mẫu xét nghiệm, tính theo đường chuẩn (µg/mL)

V: Thể tích chiết mẫu (mL)

f: Hệ số pha loãng nếu có

m: Khối lượng/ thể tích mẫu xét nghiệm (g, mL).

- Hàm lượng vitamin B₆ trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng vitamin B₆ trong thực phẩm và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả phân tích vitamin B₆ được báo cáo theo đơn vị mg/100 g hoặc mg/100 mL, chính xác đến 0,1 mg.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị HorRat(r) ≤ 1,3) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả phân tích vitamin B₆ nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả phân tích có phát hiện peak vitamin B₆ nhưng kết quả tính toán < LOQ thì báo cáo kết quả là “Vết, < LOQ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+Biểu mẫu định lượng vitamin B₆: 01 bản chính

+Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu xét nghiệm có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trực trực kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng xét nghiệm.
3	Kết quả mẫu nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên).	Tiến hành pha loãng mẫu xét nghiệm bằng pha động A để thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn.

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/ kết quả mẫu lặp lại không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.
- Mẫu trắng thuốc thử: phải không có peak vitamin B₆.
- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng giá trị trung bình $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu của mẫu kiểm soát.

Handwritten signatures:

- Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm (%)	lượng	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100		1	100%	98 - 102
2	10		10^{-1}	10%	98 - 102
3	1		10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1		10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01		10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001		10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001		10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001		10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001		10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001		10^{-9}	1 ppb	43 - 120

- Kết quả phân tích mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị HorRat(r) $\leq 1,3$.

- Tiến hành phân tích lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- TCVN 12349:2018. Thực phẩm – Xác định vitamin B6 bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- TCVN 5140:2008 Bộ phận hàng hóa áp dụng giới hạn dư lượng tối đa và được dùng để phân tích.

- TCVN 5276:1990 Thủy sản - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu.

- TCVN 4833 - 1 : 2002 Thịt và sản phẩm thịt - Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử.

- AOAC 2016, appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements.

- Luật An toàn Thực phẩm, số 55/2010/QH12 ngày 17 tháng 06 năm 2010.

Quy trình kỹ thuật dịch vụ số 65:

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ACID AMIN BẰNG KỸ THUẬT SẮC KÝ LÔNG
HIỆU NĂNG CAO (HPLC)**

1. Đại cương

1.1 Mục đích

Quy trình này hướng dẫn kỹ thuật xét nghiệm xác định hàm lượng một số acid amin trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, sử dụng thuốc thử tạo dẫn xuất AccQ-Fluor.

1.2 Định nghĩa

- Thực phẩm là sản phẩm mà con người ăn, uống ở dạng tươi sống hoặc đã qua sơ chế, chế biến, bảo quản. Thực phẩm không bao gồm mỹ phẩm, thuốc lá và các chất sử dụng như dược phẩm.

- Thực phẩm chức năng là thực phẩm dùng để hỗ trợ chức năng của cơ thể con người, tạo cho cơ thể tình trạng thoải mái, tăng sức đề kháng, giảm bớt nguy cơ mắc bệnh, bao gồm thực phẩm bổ sung, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, thực phẩm dinh dưỡng y học.

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (Health Supplement, Dietary Supplement) là những sản phẩm được dùng để bổ sung thêm vào chế độ ăn uống hàng ngày nhằm duy trì, tăng cường, cải thiện các chức năng của cơ thể con người, giảm nguy cơ mắc bệnh. Thực phẩm bảo vệ sức khỏe chứa một hoặc nhiều chất hoặc hỗn hợp các chất sau:

- a) Vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzyme, probiotic và chất có hoạt tính sinh học khác;
- b) Chất có nguồn gốc tự nhiên, bao gồm động vật, khoáng vật và thực vật dưới dạng chiết xuất, phân lập, cô đặc và chuyển hóa;
- c) Các nguồn tổng hợp của những thành phần đề cập tại điểm a và điểm b trên đây.

- Thực phẩm bảo vệ sức khỏe được trình bày ở dạng chế biến như viên nang, viên hoàn, viên nén, chế phẩm dạng cốm, bột, lỏng và các dạng bào chế khác và được phân liều (để sử dụng) thành các đơn vị liều nhỏ.

- Thực phẩm bổ sung (Supplemented Food) là thực phẩm thông thường được bổ sung vi chất và các yếu tố có lợi cho sức khỏe như vitamin, khoáng chất, axit amin, axit béo, enzym, probiotic, prebiotic và chất có hoạt tính sinh học khác.

- Thực phẩm dinh dưỡng y học còn gọi là thực phẩm dinh dưỡng dùng cho mục đích y tế đặc biệt (Food for Special Medical Purposes, Medical Food) là loại thực phẩm có thể ăn bằng đường miệng hoặc bằng ống xông, được chỉ định để điều chỉnh chế độ ăn của người bệnh và chỉ được sử dụng dưới sự giám sát của nhân viên y tế.

- Thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt (Food for Special Dietary Uses) dùng cho người ăn kiêng, người già và các đối tượng đặc biệt khác theo quy định của Ủy ban tiêu chuẩn thực phẩm quốc tế (CODEX) là những thực phẩm được chế biến hoặc được phối trộn

theo công thức đặc biệt nhằm đáp ứng các yêu cầu về chế độ ăn đặc thù theo thể trạng hoặc theo tình trạng bệnh lý và các rối loạn cụ thể của người sử dụng. Thành phần của thực phẩm này phải khác biệt rõ rệt với thành phần của những thực phẩm thông thường cùng bản chất, nếu có

Thuật ngữ và chữ viết tắt:

- HPLC (High Performance Liquid Chromatography): hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao.
- FLD (Fluorescent Detector): detector huỳnh quang.
- AOAC (Association of Official Analytical Collaboration): Hiệp hội các nhà phân tích chính thống.
- LOD (Limit of Detection): giới hạn phát hiện.
- LOQ (Limit of Quantification): giới hạn định lượng.
- CRM (Certified Reference Material): mẫu chuẩn được chứng nhận.
- RM (Reference Material): mẫu chuẩn.

1.3 Nguyên lý

Mẫu xét nghiệm được thủy phân với hydrochloric acid. Một phần dịch chiết được tạo ra dẫn xuất với thuốc thử AccQ.Fluor, sau đó được tách và định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector huỳnh quang.

2. Chuẩn bị

2.1 Người thực hiện

- 01 nhân viên xét nghiệm: trình độ từ trung cấp trở lên, đã được đào tạo, đánh giá tay nghề thành thạo về kỹ thuật xét nghiệm định lượng acid amin trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

- 01 người phê duyệt kết quả: Trình độ từ đại học trở lên, đã được đào tạo về quản lý phòng xét nghiệm, có ít nhất 3 năm kinh nghiệm.

2.2 Vật tư trực tiếp

2.2.1 Sinh phẩm, hóa chất

- | | |
|---|--------|
| - Chuẩn dung dịch hỗn hợp amino acid trong HCl 0,1 N nồng độ 2,5 $\mu\text{mol/mL}$ gồm Ammonia, L-Aspartic, L-Serine, L-Glutamic, Glycine, L-Histidine, L-Arginine, L-Threonine, L-Alanine, L-Proline, L-Tyrosine, L-Valine, L-Methionine, L-Lysine, L-Isoleucine, L-Leucine, L-Phenylalanine; L-Cystine (nồng độ 1,25 $\mu\text{mol/mL}$), độ tinh khiết $\geq 99,0\%$ | 0,2 mL |
| - Acetonitrile (ACN), HPLC, độ tinh khiết $\geq 99,8\%$ | 150 mL |
| - Methanol (MeOH), HPLC, độ tinh khiết $\geq 99,8\%$ | 10 mL |

- Bộ kit tạo dẫn xuất AccQ-Fluor Reagent Kit hãng Waters (pha vừa đủ 1 mL x 5 lọ)	0,14mL
- AccQ – Tag Eluent A concentrate hãng Waters	50 mL
- Dung dịch hydrochloric acid (HCl), độ tinh khiết $\geq 37\%$	40 mL
- Khí Nitơ, độ tinh khiết $\geq 99,9\%$	120 mL
- Nước siêu tinh khiết	650 mL
- Nước cất 2 lần	1 lít

2.2.2 Vật tư khác

- Bộ cột sắc ký AccQ•Tag, gồm cột (150 mm x 3,9 mm, 4 μ m), gá cột và cột bảo vệ	01 bộ
- Bình định mức thủy tinh 100 mL, cấp A, cổ mài, đường kính trong của cổ $15,5 \pm 1,5$ mm	05 cái
- Chai thủy tinh có nắp vặn 100 mL, có vạch chia	01 cái
- Chai thủy tinh có nắp vặn 1000 mL, có vạch chia	02 cái
- Bình tia nước cất nhựa 500 mL	01 cái
- Micropipet, dung tích 500 - 5000 μ L, độ chính xác ± 30 μ L (tại 5000 μ L)	01 cái
- Micropipet, dung tích 100 - 1000 μ L, độ chính xác $\pm 6,0$ μ L (tại 1000 μ L)	01 cái
- Micropipet, dung tích 20 - 200 μ L, độ chính xác $\pm 1,2$ μ L (tại 200 μ L)	01 cái
- Micropipet, dung tích 10 - 100 μ L, độ chính xác $\pm 0,8$ μ L (tại 100 μ L)	01 cái
- Micropipet, dung tích 2 - 20 μ L, độ chính xác $\pm 0,2$ μ L (tại 20 μ L)	01 cái
- Micropipet, dung tích 0,5 - 10 μ L, độ chính xác $\pm 0,1$ μ L (tại 10 μ L)	01 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 500 - 5000 μ L	01 cái

Handwritten signatures:

- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 100 - 1000 μL	02 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 2 - 20 μL ; 10 - 100 μL ; 20 - 200 μL	04 cái
- Đầu tip có chia vạch, sử dụng cho micropipet dung tích 0,5 - 10 μL	07 cái
- Pipet thẳng thủy tinh 10 mL, cấp A	01 cái
- Đầu lọc mẫu PTFE 0,45 μm , đường kính 15 mm	04 cái
- Lọ đựng mẫu thủy tinh thể tích 1,0 mL, kích thước 12 mm x 32 mm, nắp xoáy xẻ rãnh	07 cái
- Lọ đựng mẫu thủy tinh thể tích 2 mL, có vạch chia thể tích, đường kính cổ 9 mm, nắp xoáy xẻ rãnh	03 cái
- Màng lọc dung môi pha động cellulose acetate 0,45 μm , đường kính 47 mm	01 cái
- Bộ lọc dung môi pha động (bình hứng, phễu lọc, đầu lọc, kẹp kim loại)	01 bộ
- Đũa thủy tinh, dài 30 cm, đường kính 7 mm	01 cái
- Ống đong thủy tinh 100 mL, độ chia 1 mL, độ chính xác $\pm 0,5$ mL	01 cái
- Ống đong thủy tinh 1000 mL, độ chia 10 mL, độ chính xác ± 5 mL	01 cái
- Ống nghiệm thủy tinh có nắp đen xoáy kín hãng Schott - Đức, kích thước 15 x 180 mm hoặc tương đương	04 cái
- Ống ly tâm nhựa 15 mL	04 cái
- Giấy lọc tròn	04 cái
- Bơm tiêm y tế sử dụng 1 lần 5 mL	04 cái
- Phễu thủy tinh, đường kính 7 cm	04 cái
- Giá đựng ống nghiệm thủy tinh bằng inox, để được 20 ống	01 cái
- Thìa lấy mẫu	01 bộ
- Quả bóp	01 uả
- Trang phục bảo hộ	

- + Quần, áo, mũ bảo hộ lao động: 02 bộ
- + Dép đi trong phòng xét nghiệm: 02 đôi
- + Găng tay y tế nitrile không có bột talc: 02 đôi
- + Khẩu trang phòng độc 3M 7502: 02 cái
- + Khẩu trang y tế: 02 cái
- + Kính bảo hộ lao động: 02 cái
- + Găng tay chịu nhiệt: 02 đôi

2.2.3 Công cụ, dụng cụ:

- Dụng cụ xử lý mẫu: dao, thớt, kéo, túi lưu mẫu.
- Dụng cụ vệ sinh: giấy vệ sinh, túi đựng rác thải, chổi, hót rác, cây lau sàn, xô chậu, nước rửa dụng cụ, găng tay rửa dụng cụ, chổi rửa, bi thủy tinh, xà phòng rửa tay.
- Văn phòng phẩm: giấy in, mực in, sổ kiểm nghiệm, bút bi, bút ghi nhãn, giấy dán nhãn, túi nilong đục lỗ, file lưu tài liệu, dập ghim, giấy note.

2.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị của phòng kiểm nghiệm, cụ thể như sau:

- | | |
|--|-------------|
| - Hệ thống sắc ký lỏng HPLC với detector FLD | 01 hệ thống |
| - Cân phân tích tải trọng tối đa 210g, độ chính xác $\pm 0,1$ mg | 01 cái |
| - Cân kỹ thuật tải trọng tối đa 1100g, độ chính xác $\pm 0,01$ g | 01 cái |
| - Máy lắc Vortex, tốc độ lắc tối đa 3000 vòng/phút | 01 cái |
| - Máy siêu âm, có chức năng cài đặt thời gian | 01 cái |
| - Tủ sấy, dải nhiệt độ 30 °C – 300 °C | 01 cái |
| - Máy xay mẫu, công suất 600 W | 01 cái |
| - Bơm chân không | 01 cái |
| - Tủ lạnh bảo quản mẫu dung tích 600 L, nhiệt độ 2 °C đến 15 °C | 01 cái |
| - Tủ đông bảo quản mẫu dung tích 560 L, nhiệt độ ≤ -18 °C | 01 cái |
| - Tủ hút khí độc, kích thước 1540 mm x 800 mm x 2200 mm | 01 cái |

2.4 Chuẩn bị đối tượng thực hiện hoặc mẫu bệnh phẩm

2.4.1 Đối với QTKT lấy mẫu xét nghiệm

Handwritten signatures:



Việc lấy mẫu xét nghiệm không được hướng dẫn trong quy trình này.

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

- Lượng mẫu xét nghiệm tối thiểu cho quy trình phân tích:
- + Mẫu thực phẩm: 01 mẫu (200 g hoặc 200 mL).
- + Mẫu thực phẩm chức năng: 01 mẫu (01 đơn vị đóng gói hộp/chai/lọ, tối thiểu 30 g hoặc 30 mL).
- Mẫu lưu: thực hiện theo quy định lưu mẫu của đơn vị
- Mẫu kiểm soát: thực hiện theo quy định đảm bảo chất lượng xét nghiệm/thử nghiệm của đơn vị
- Mẫu xét nghiệm trước khi phân tích được xử lý sơ bộ theo TCVN 5140:2008, TCVN 5276:1990, TCVN 4833-1:2002 hoặc các tiêu chuẩn tương đương khác.
- Phân tích mẫu xét nghiệm ngay sau khi đồng nhất

2.5 Phiếu chỉ định xét nghiệm

Kiểm tra phiếu chỉ định xét nghiệm hoặc tương đương: ghi đầy đủ thông tin theo quy định (tên mẫu, chỉ tiêu xét nghiệm, điều kiện bảo quản, lượng mẫu, hạn trả kết quả,...)

2.6 Thời gian thực hiện kỹ thuật: 12,8 giờ

Cán bộ tham gia	Số lượng cán bộ	Nội dung công việc	Thời gian thực hiện (giờ)	Tổng thời gian
Nhân viên xét nghiệm	1	Xử lý thực phẩm thành dạng đồng nhất	0,25	0,25
		Chuẩn bị máy và dụng cụ xét nghiệm	0,5	0,5
		Cân, pha chế toàn bộ các dung dịch chuẩn, hóa chất	2,0	2,0
	1	Cân mẫu	0,1	0,1
		Chiết xuất mẫu	1,75	1,75
		Chạy máy	3,75	3,75
		Xử lý kết quả	3,25	3,25
		Vệ sinh máy, phòng thí nghiệm	0,25	0,25

		Vệ sinh dụng cụ xử lý mẫu, dụng cụ thủy tinh	0,75	0,75
		Cộng		12,6
Người phê duyệt kết quả	1	Đánh giá kết quả phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu xét nghiệm, kiểm soát và ký kết quả nội bộ	0,2	0,2
		Cộng		0,2
TỔNG				12,8

2.7 Địa điểm thực hiện kỹ thuật: Phòng xét nghiệm

3. An toàn

- Phải đảm bảo hệ thống xử lý khí thải hoạt động bình thường.
- Cán bộ xét nghiệm phải sử dụng các trang phục, dụng cụ bảo hộ trong quá trình phân tích mẫu.
- Các thao tác xét nghiệm phải thực hiện trong tủ hút khí độc và theo đúng quy trình đã được phê duyệt.
- Các hóa chất thải và mẫu xét nghiệm sau khi phân tích phải được thu gom và xử lý theo đúng quy định quản lý hóa chất xét nghiệm.

4. Các bước tiến hành

4.1 Các bước thực hiện

4.1.1 Bước 1: Chuẩn bị mẫu kiểm soát

Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như mẫu xét nghiệm.

Có thể sử dụng 1 trong 3 loại mẫu sau:

- Mẫu chuẩn (RM/CRM) có bản chất tương tự mẫu xét nghiệm.
- Mẫu lưu đã biết trước hàm lượng chất phân tích.
- Mẫu thêm chuẩn: thêm dung dịch chuẩn có nồng độ thích hợp để đạt được 80 – 120 % hàm lượng chất phân tích có trong mẫu xét nghiệm.

4.1.2 Bước 2: Chuẩn bị dung dịch thuốc thử, dung dịch chuẩn và dung dịch pha động

Dung dịch HCl 0,1 %

- Sử dụng pipet hút 0,24 mL HCl đậm đặc vào bình định mức 100 mL đã có sẵn khoảng 80 mL nước cất.
- Định mức bằng nước cất đến vạch, lắc đều.
- Chuyển dung dịch sang chai thủy tinh có nắp vặn 100 mL để sử dụng.

Handwritten signatures:

Dung dịch chuẩn 17 acid amin làm việc

- Sử dụng các pipet hút dung dịch hỗn hợp amino acid vào lọ đựng mẫu theo bảng sau:

Bảng 1: Cách pha dãy dung dịch chuẩn làm việc

Thể tích hút (μL)	Nồng độ chuẩn ($\mu\text{mol/mL}$)					
	L-Cystine	16 acid amin	L-Cystine	16 acid amin	L-Cystine	16 acid amin
	0,025	0,05	0,05	0,1	0,25*	0,5*
Chuẩn amino acid gốc	-		-		200	
Chuẩn amino acid (*)	100		200			
Dung dịch HCl 0,1 %	900		800		800	

Chuẩn amino acid (*) là chuẩn trung gian L-Cystine nồng độ $0,25 \mu\text{mol/mL}$ và 16 acid amin nồng độ $0,5 \mu\text{mol/mL}$, được pha từ dung dịch chuẩn amino acid

Chuẩn làm việc được pha mới cho từng ngày phân tích.

Pha động

- Pha động A:

+ Rót 500 mL nước siêu tinh khiết vào ống đựng 1000 mL.

+ Sử dụng ống đựng 100 mL thêm 50 mL dung dịch AccQ – Tag Eluent A concentrate vào ống đựng trên.

+ Dùng đũa thủy tinh khuấy tan hoàn toàn.

+ Lọc qua màng lọc dung môi, cho vào chai thủy tinh có nắp vặn và đem siêu âm đuổi khí 15 phút bằng máy siêu âm.

- Pha động B: acetonitrile.

4.1.3 Bước 3: Tiến hành thủy phân mẫu và dẫn xuất**Tiến hành thủy phân mẫu**

- Cho mẫu vào ống vào ống nghiệm thủy tinh có nắp xoáy :

+ Đối với mẫu dạng rắn, bột: cân khoảng 0,1 – 1 g mẫu rắn (chính xác đến 0,1 mg)

+ Đối với mẫu dạng lỏng: sử dụng pipet hút chính xác 0,5 - 5 mL mẫu

- Thêm 10 mL HCl, lắc đều bằng máy lắc vortex.

- Thổi khí Nitơ trong vòng 1 phút.
- Đậy chặt nắp và cho vào tủ sấy ở nhiệt độ 125 °C trong 16 giờ.
- Để nguội và chuyển dịch sau thủy phân sang bình định mức 100 mL, tráng rửa ống nghiệm nhiều lần và định mức tới vạch bằng nước cất, lắc đều.
- Lọc qua giấy lọc và đầu lọc mẫu 0,45 µm vào ống ly tâm nhựa rồi tiến hành tạo dẫn xuất.

Tạo dẫn xuất với thuốc thử AccQ.Fluor

- Hút 10 µL dịch đã ly tâm vào lọ đựng mẫu 1 mL. Thêm 70 µl dung dịch đệm B trong bộ kit tạo dẫn xuất Lắc vortex trong 10 giây. Thêm 20 µl dung dịch thuốc thử A trong bộ kit tạo dẫn xuất. Lắc vortex trong 10 giây. Để yên ở nhiệt độ phòng trong 1 phút.

- Dẫn xuất tương tự đối với chuẩn làm việc.
- Đặt lọ đựng mẫu vào máy HPLC và phân tích ngay theo chương trình đã cài đặt.

4.1.4 Bước 4: Phân tích mẫu trên hệ thống HPLC

- Bộ cột sắc ký AccQ•Tag gồm cột (150 mm x 3,9 mm, 4 µm), kèm gá và cột bảo vệ
- Nhiệt độ buồng cột: 35 °C.
- Detector FLD:
- + Bước sóng kích thích 250 nm.
- + Bước sóng phát xạ 395 nm.
- Thể tích bơm mẫu: 10 µL.
- Tốc độ dòng: 1 mL/phút.
- Pha động:
- + Dung dịch AccQ – Tag Eluent A concentrate
- + Acetonitrile
- Chế độ chạy: gradient như bảng 2.

Bảng 2: Điều kiện gradient cho hệ thống HPLC

Thời gian (phút)	Tốc độ dòng (mL/phút)	%A	%B
0,0	1	100	0
0,5	1	99	1
18,0	1	95	5
19,0	1	91	9
29,5	1	83	17

Handwritten signatures and initials in blue ink.

33,0	1	40	60
36,0	1	100	0
50,0	1	100	0

Trình tự bơm mẫu như sau:

Mẫu trắng thuốc thử → dãy chuẩn → mẫu trắng thuốc thử → mẫu xét nghiệm → mẫu kiểm soát.

Chú ý:

- Nếu số mẫu ≥ 10 , sau mỗi 10 mẫu phải chạy lại đường chuẩn một lần để hiệu chỉnh.
- Sử dụng hỗn hợp dung dịch methanol/ nước siêu tinh khiết (50/50) để rửa kim và seal mỗi lần bơm mẫu và chuẩn.
- Sau khi phân tích mẫu, cần rửa cột sắc ký bằng nước siêu tinh khiết không ít hơn 30 phút, sau đó rửa bằng ACN trong ít nhất 30 phút để bảo quản cột.

4.2 Nhận định kết quả

- Hàm lượng từng acid amin trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo công thức:

$$X \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \text{ hoặc } \frac{\text{mg}}{100\text{mL}} \right) = \frac{C_{ci} * V_c * f * 100}{m * 1000}$$

Trong đó:

X: là hàm lượng từng acid amin trong mẫu xét nghiệm

C_{ci} : nồng độ dung dịch acid amin thứ i trong dịch đo ($\mu\text{g/mL}$)

m: khối lượng của mẫu thử (g) hoặc thể tích hút (mL)

V_c : thể tích hòa tan cuối của dịch chiết (mL)

f: hệ số pha loãng (nếu có).

- Xem xét kết quả mẫu kiểm tra chất lượng (QC): nếu kết quả mẫu kiểm soát, mẫu lặp lại đạt yêu cầu mới tiến hành trả kết quả mẫu thử. Nếu kết quả mẫu QC hoặc mẫu lặp lại không đạt yêu cầu, tiến hành làm lại mẫu.
- Hàm lượng acid amin trong mẫu xét nghiệm được tính toán theo biểu mẫu định lượng acid amin và được ghi vào phiếu kết quả xét nghiệm.

- Kết quả phân tích acid amin được báo cáo theo đơn vị: mg/100 g, mg/100 mL, chính xác đến 0,01 mg ; hoặc g/100 g, g/100 mL chính xác đến 0,01 g.

- Đối với các mẫu làm lặp lại (đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$) lấy kết quả trung bình.

Chú ý:

- Kết quả phân tích từng acid amin nhỏ hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì báo cáo “KPH” (Không phát hiện) đồng thời ghi giá trị LOD vào phiếu kết quả.

- Kết quả phân tích có phát hiện peak mỗi acid amin nhưng kết quả tính toán $< \text{LOQ}$ thì báo cáo kết quả là “ $< \text{LOQ}$ ” đồng thời ghi giá trị LOQ vào phiếu kết quả.

4.3 Trả kết quả và lưu hồ sơ

- Trả kết quả theo phiếu xét nghiệm (bản chính) với đầy đủ thông tin liên quan đến mẫu, ghi vào biểu mẫu có liên quan đến quy trình và lưu hồ sơ xét nghiệm. Có thể trả kết quả trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có)

- Hồ sơ xét nghiệm cần lưu giữ bao gồm:

+ Phiếu chỉ định xét nghiệm: 01 bản chính

+ Biểu mẫu xác định độ ẩm: 01 bản chính

+ Phiếu kết quả xét nghiệm: 01 bản chính

Có thể lưu hồ sơ trên hệ thống quản lý điện tử (nếu có).

5. Những sai sót và xử lý

5.1 Trước khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Chưa có đầy đủ vật tư, thiết bị chưa được hiệu chuẩn	Không được thực hiện xét nghiệm đến khi chuẩn bị đầy đủ vật tư, hóa chất theo quy trình. Kiểm tra và đảm bảo thiết bị được hiệu chuẩn đảm bảo yêu cầu.
2	Phát hiện mẫu thử có dấu hiệu bất thường, hỏng	Kiểm tra nguyên nhân và yêu cầu lấy lại mẫu nếu có thể.

5.2 Trong khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Thiết bị trục trặc kỹ thuật hoặc mất điện khi đang phân tích mẫu nhưng chưa khắc phục được.	Thông báo cho Hãng cung cấp máy về tình hình thiết bị và xin ý kiến tư vấn. Sau khi thiết bị hoạt động bình thường tiến hành phân tích mẫu theo quy trình trên.
2	Xảy ra tràn đổ hóa chất trong quá trình kiểm nghiệm.	Thực hiện theo hướng dẫn của quy trình phòng cháy chữa cháy và chống tràn đổ hóa chất trong phòng thí nghiệm.

Handwritten signatures:

3	Kết quả mẫu nằm ngoài khoảng tuyến tính (cao hơn ngưỡng trên).	Tiến hành pha loãng mẫu xét nghiệm bằng nước cất và tạo dẫn xuất lại để thu được nồng độ nằm trong khoảng nồng độ của dãy chuẩn.
---	--	--

5.3 Sau khi thực hiện kỹ thuật

TT	Tình huống	Xử lý
1	Kết quả chạy mẫu không phù hợp với yêu cầu đảm bảo chất lượng (khoảng tuyến tính/mẫu kiểm soát/mẫu lặp không đạt...).	Phân tích nguyên nhân, làm lại mẫu xét nghiệm.

6. Tiêu chuẩn đánh giá và kiểm tra chất lượng

- Quá trình phân tích mẫu cần tiến hành song song với mẫu trắng thuốc thử và mẫu kiểm soát.

- Mẫu trắng thuốc thử: phải không có peak acid amin phân tích.

- Mẫu kiểm soát: kết quả phải nằm trong khoảng $\pm 2SD$ so với giá trị tham chiếu.

Mẫu thêm chuẩn: độ thu hồi phải đạt yêu cầu theo hướng dẫn của AOAC 2016.

TT	Hàm lượng (%)	Tỉ lệ chất	Đơn vị	Độ thu hồi (%)
1	100	1	100%	98 - 102
2	10	10^{-1}	10%	98 - 102
3	1	10^{-2}	1%	97 - 103
4	0,1	10^{-3}	0,1%	95 - 105
5	0,01	10^{-4}	100 ppm	90 - 107
6	0,001	10^{-5}	10 ppm	80 - 110
7	0,0001	10^{-6}	1 ppm	80 - 110
8	0,00001	10^{-7}	100 ppb	80 - 110
9	0,000001	10^{-8}	10 ppb	60 - 115
10	0,0000001	10^{-9}	1 ppb	44 - 120

- Kết quả phân tích mẫu xét nghiệm lặp lại phải đảm bảo giá trị $\text{HorRat}(r) \leq 1,3$.

- Tiến hành phân tích lặp lại đối với ít nhất 20 % tổng số mẫu.

7. Tài liệu tham khảo

- Derivitization of Amino Acids Using Waters AccQ•Tag Chemistry, Water The science of what's possible.
- AOAC 2016 Guidelines for Standard Method Performance Requirements.
- Luật An toàn thực phẩm của Quốc hội, số 55/2010/QH12.
- Nghị định số 15/2018/NĐ-CP ngày 02/02/2018 của Chính phủ về việc Quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật an toàn thực phẩm.
- Thông tư 43/2014/TT-BYT ngày 24 tháng 11 năm 2014 về việc quy định về quản lý thực phẩm chức năng.

Handwritten signatures in blue ink.