



VIỆN KIỂM NGHIỆM AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM QUỐC GIA
NATIONAL INSTITUTE FOR FOOD CONTROL

NÂNG CAO CHẤT LƯỢNG KẾT QUẢ KIỂM NGHIỆM MẪU TNTT VI SINH

TS. Nguyễn Thành Trung
Khoa Vi sinh và Biến đổi gen

Hà Nội, Tháng 3 năm 2025

I

- Thực trạng TNTT 2023-2024

II

- Đảm bảo chất lượng kiểm nghiệm TNTT

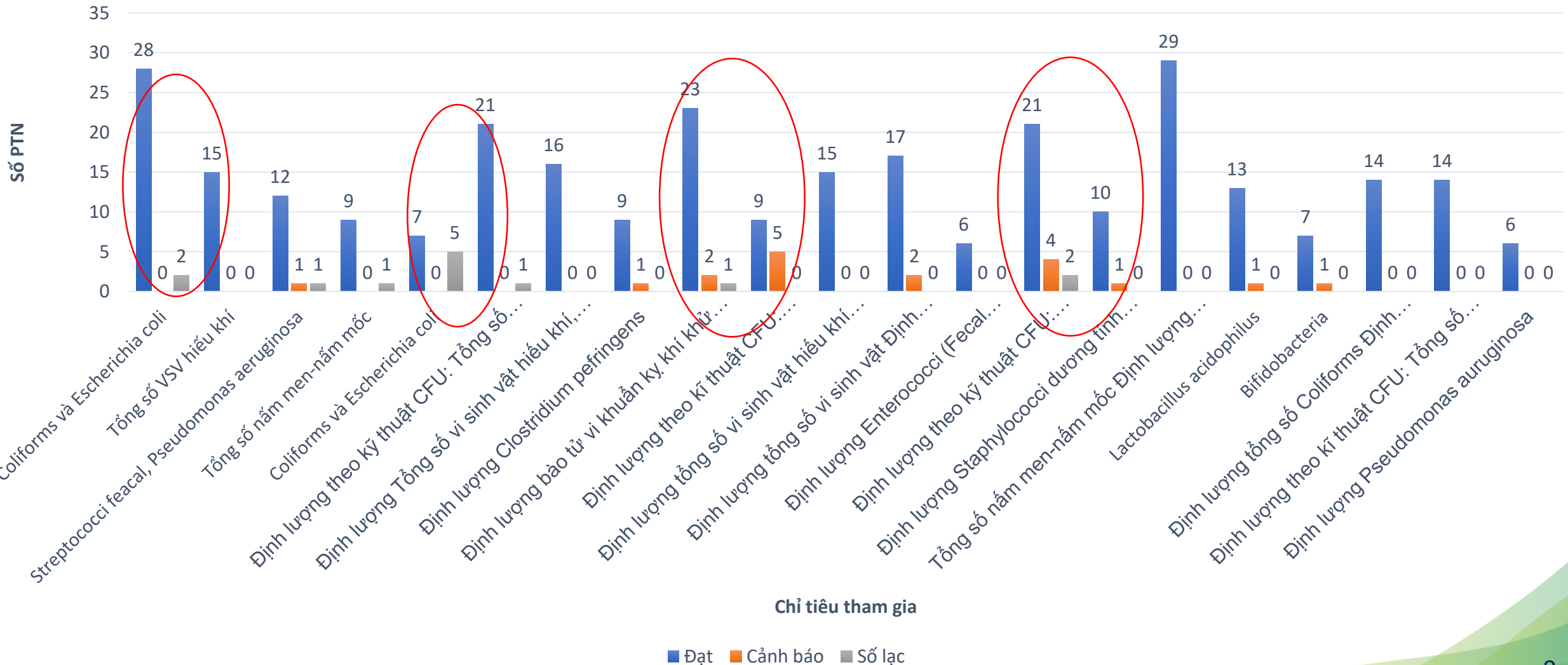
III

- Xây dựng biểu đồ xu hướng: Control chart

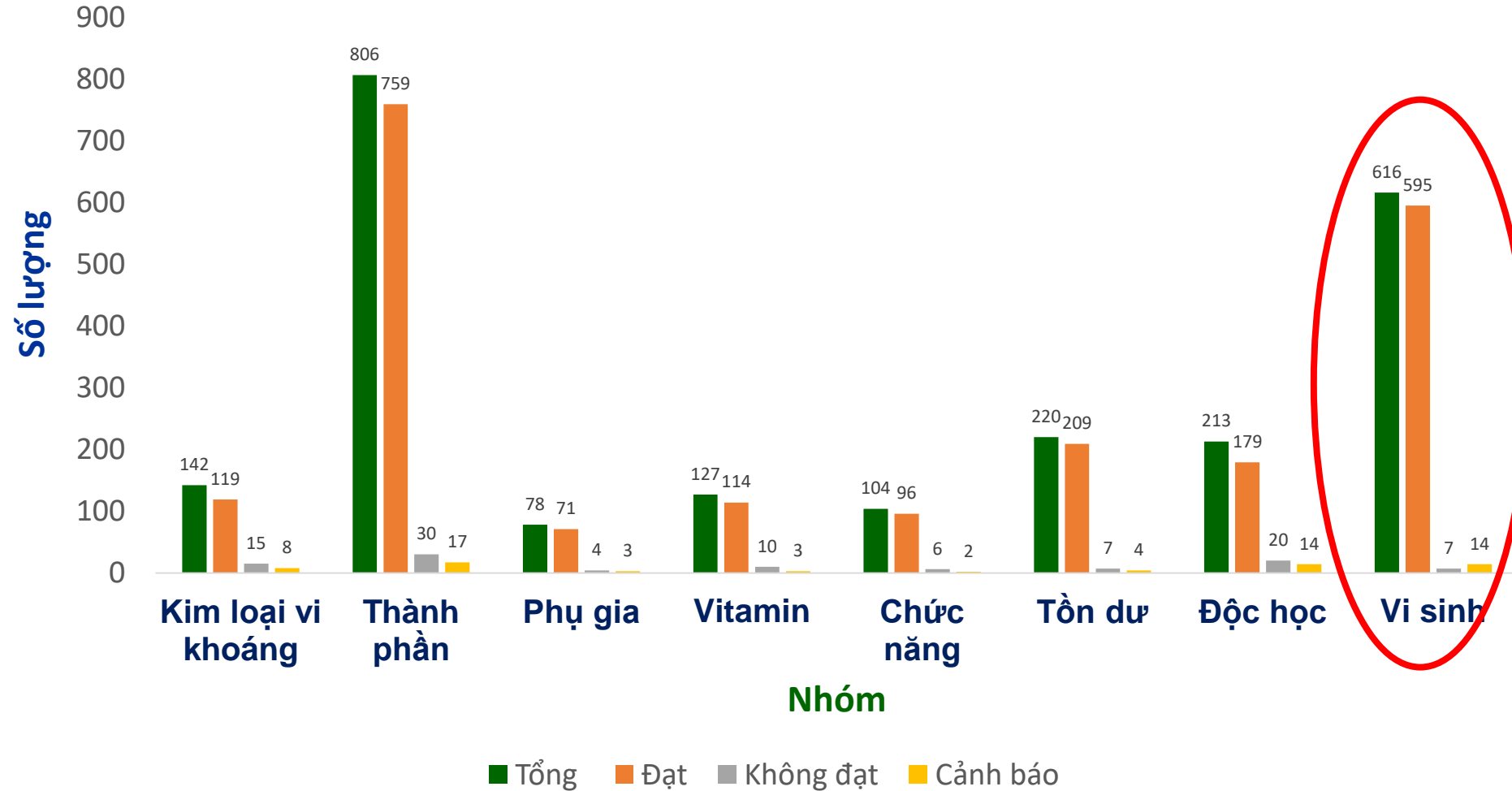
Tổng hợp TNTT 2023



Năm 2023



SỐ ĐẠT/KHÔNG ĐẠT/CẢNH BÁO THEO NHÓM NĂM 2024



Lỗi thường gặp



STT	Chỉ tiêu	Lỗi thường gặp
1	<i>Salmonella</i> spp.	Âm tính giả/Dương tính giả
2	Hiếu khí	Số lượng thấp/cao, thời gian đọc kết quả
3	<i>S. aureus; Enterobactereace</i>	Âm tính giả Số lượng quá cao/quá thấp;
4	Nấm men – nấm mốc	Số lượng thấp/cao Dương tính giả
5	<i>Listeria</i>	Âm tính giả
6	<i>E. coli</i> /Coliform trong nước	Dương tính giả
7	<i>P. aeruginosa, S. feacalis</i> trong nước	Số lượng quá cao Số lượng quá thấp

I

- Thực trạng TNTT 2023-2024

II

Đảm bảo chất lượng kiểm nghiệm TNTT

III

- Xây dựng biểu đồ xu hướng: Control chart

Tổng hợp nguyên nhân



Nhân lực

Đào tạo

Thành thạo

Ổn định

NHÂN MẪU

- Kiểm tra
- Lưu mẫu

ĐỒNG NHẤT

- Theo hướng dẫn: tan hoàn toàn,
- Dung dịch

PHÂN TÍCH

- Phương pháp: thẩm định; phù hợp nền mẫu
- Xử lý và báo cáo kết quả

Phù hợp

Hiệu năng môi trường

Nhiễm chéo

Vật lực

Quá trình kiểm nghiệm



- Thực hiện đúng quy trình đã được thẩm định
- **Môi trường, hóa chất kiểm soát theo ISO 11133: P_R, độ chọn lọc, độ đặc hiệu**
- Các thể tích pha loãng chính xác: **$\leq 2\%$**
- Tiến hành các thao tác tuân thủ theo TCVN 6404 hoặc ISO 8199: thao tác đồ trải, đồ trộn, ria, đọc kết quả hóa sinh
- Tuân thủ thời gian phân tích giữa các giai đoạn: **đồng nhất, cấy**
- Đối chứng âm, dương, mẫu chứng trong quá trình phân tích, thử nghiệm hóa sinh



Chương trình ĐBCL



- Trang thiết bị phải được kiểm soát hoạt động theo đúng yêu cầu của phương pháp
- Nên có phân tích độ chệch của phương pháp áp dụng tại PTN, nếu có thể: tiến hành phân tích mẫu chuẩn **RM**, **CRM** hoặc tham gia **nhieu** các chương trình thử nghiệm thành thạo
- Có các chương trình đảm bảo chất lượng của PTN cho từng chỉ tiêu
- Đánh giá tay nghề - độ thành thạo của nhân viên thường xuyên/định kỳ

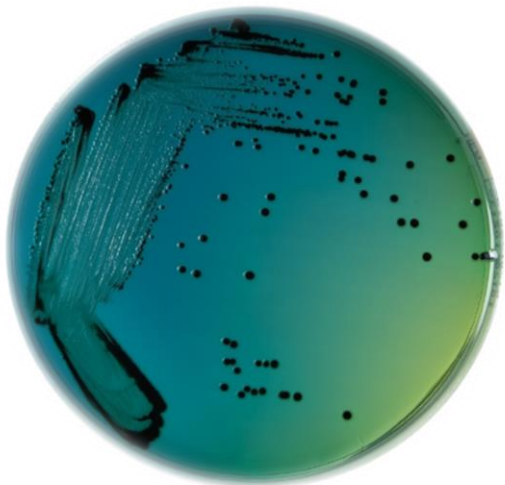


Nguyên nhân và hướng khắc phục chỉ tiêu định tính

Chỉ tiêu định tính	Nguyên nhân	Khắc phục
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Âm tính giả ➤ Dương tính giả 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nhầm khuẩn lạc: <i>Proteus, Listeria</i> ➤ Thiếu kháng huyết thanh/không phù hợp ➤ Sai hóa sinh: màu đen phủ kín, phản ứng nhầm, nhiễm chéo ➤ Thiếu vật tư/hóa chất: hóa sinh, kháng sinh ➤ Không tuân thủ SOP: thời gian 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Mùi/đủ phản ứng sinh hóa ➤ Kháng huyết thanh : BD, SSI; ... ➤ KT kháng huyết thanh: đặc hiệu, chọn lọc ➤ Đọc kết quả hóa sinh: đủ thời gian, đủ phản ứng hóa sinh ➤ Kiểm soát mt theo ISO 11133; ➤ Tuân thủ thời gian.



Môi trường thạch XLD

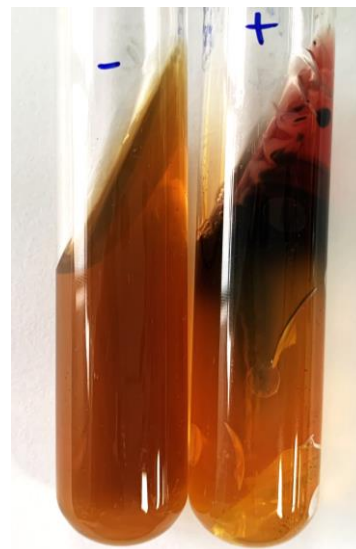


Môi trường thạch HE

Khuẩn lạc *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Enteritidis ATCC 13076 trên đĩa thạch chọn lọc XLD và HE

Âm
tính

Dương
tính



Môi trường
TSI

Âm
tính

Dương
tính



Môi trường
Ure

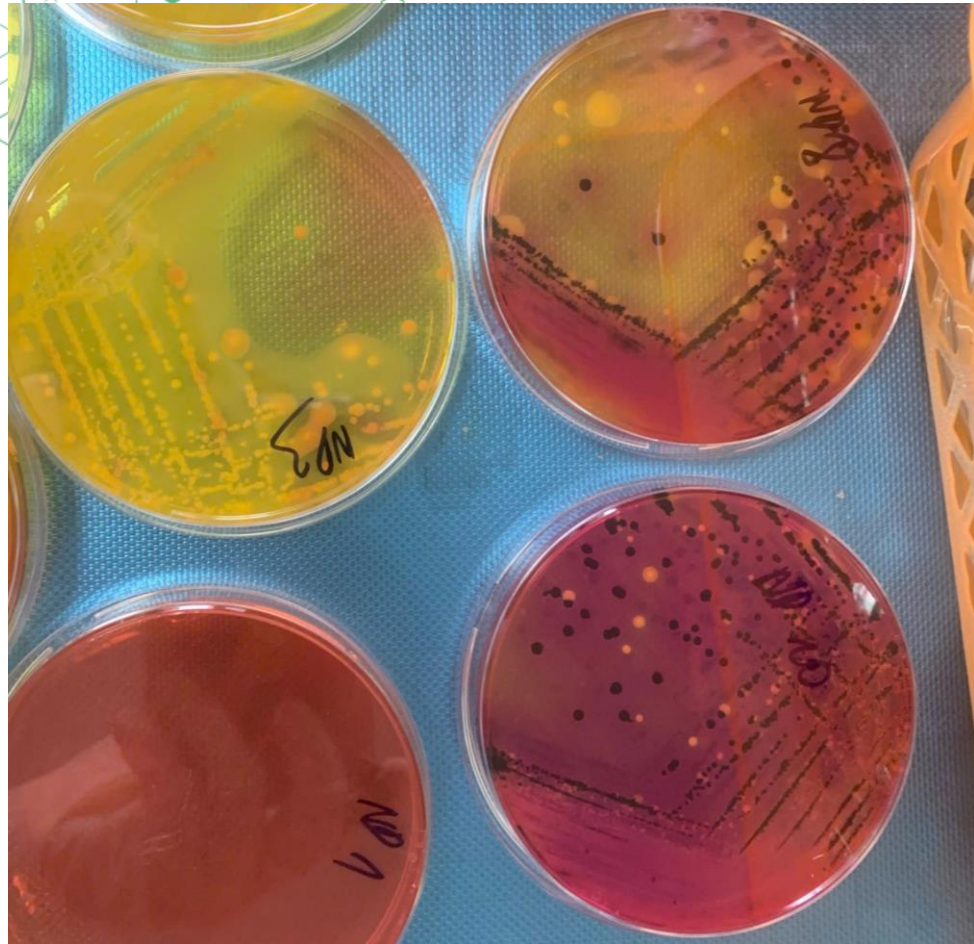
Âm
tính

Dương
tính



Môi trường
LDC

Thử nghiệm các đặc tính sinh hoá của vi khuẩn *Salmonella*



Khuẩn lạc *Salmonella enterica* subsp.
Enterica serovar Enteritidis ATCC 13076
trên đĩa thạch chọn lọc XLD và HE

Nguyên nhân và hướng khắc phục chỉ tiêu định lượng



Chỉ tiêu định lượng

- Âm tính giả
- Dương tính giả
- Số lượng cao
- Số lượng thấp

Nguyên nhân

- - Thể tích pha loãng chưa chính xác: 9,0 mL; 1,0 mL
- - Đọc kết quả: đếm thiếu khuẩn lạc, bỏ qua kl rất bé
- - Kl dính, tụ một chỗ
- - Thạch định lượng: chưa được kiểm soát hiệu năng
- - Thời gian đọc kết quả: không đủ/quá thời gian

Khắc phục

- - Thể tích: 9,0 mL; 1,0 mL
- - Đếm 100% kl đối với hk
- - Soi kính lúp: kl nhỏ hoặc rất nhỏ (vi khuẩn lạc)...
- - Thực hiện ISO 11133
- - Đọc kết quả đúng giờ: 72h; 24h; 48h
- - Thử 100 % khuẩn lạc đen
- - Hiệu chỉnh thể tích phễu



Hình ảnh nấm mốc trên môi trường DG18



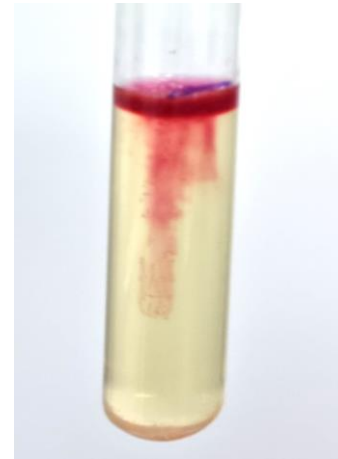
Hình ảnh nấm men trên môi trường DG18



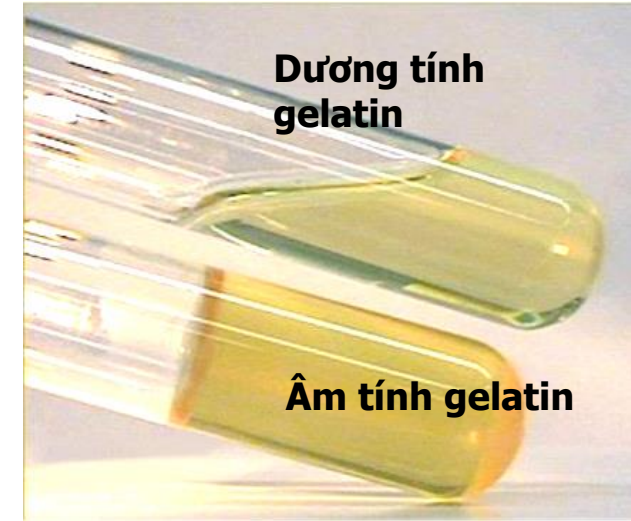
Khuẩn lạc *Clostridium perfringens* bị dính hoặc lên thành đĩa



Tính không di động nitrat

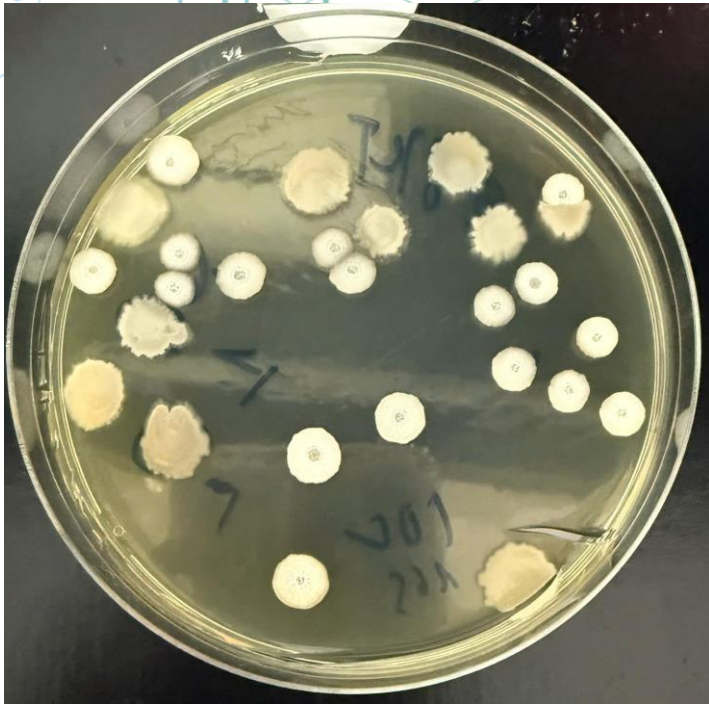


Khả năng khử nitrat thành nitrit



Thử nghiệm khả năng hoá lỏng gelatin

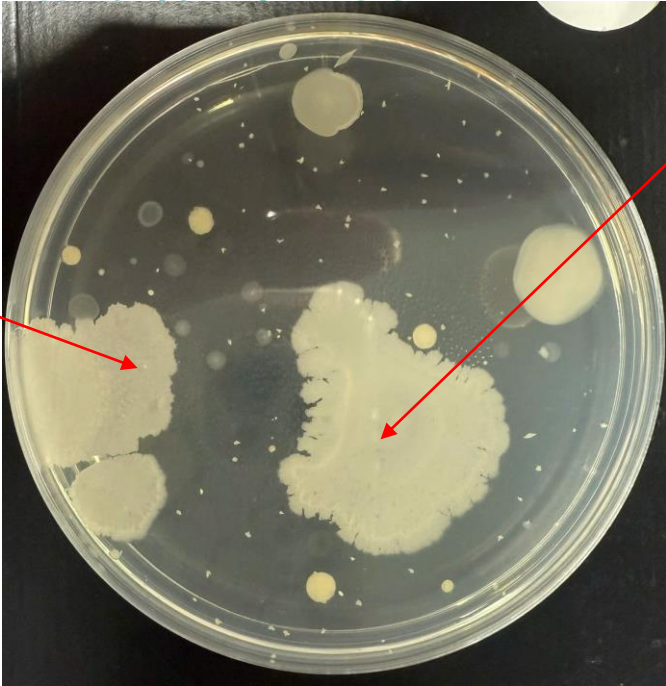
Thử nghiệm các đặc tính sinh hoá của vi khuẩn *C. perfringens*



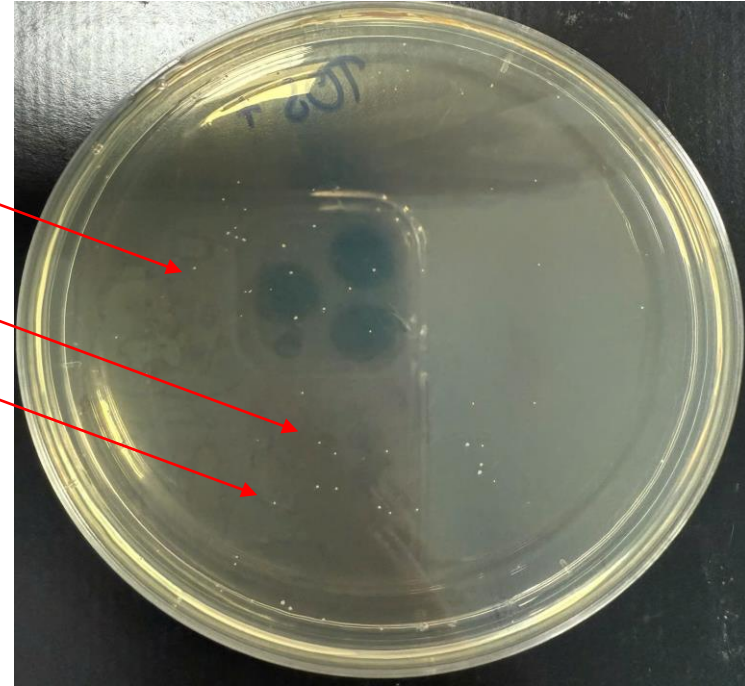
Khuẩn lạc *L. sporogenes*????



Tạp nhiễm vi khuẩn *B. subtilis* và *B. clausii*,
Lactobacillus sporogenes



Khuẩn lỵ hiếu khí



Khuẩn lỵ rất nhỏ, vi khuẩn lỵ

Nguyên nhân và hướng khắc phục



Chỉ tiêu định lượng ký khí

- Âm tính giả
- Số lượng thấp

Nguyên nhân

- - Điều kiện ký khí chưa đạt
- - Nhầm khuẩn lạc: thiếu kl đen

Khắc phục

- - Hình thái KL theo thời gian, ria hai đường, thử thêm tính chất hóa sinh, nếu nghi ngờ
- - Kiểm tra đk ký khí

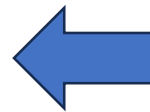
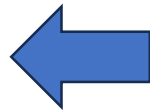
I
• Thực trạng TNTT 2023-2024

II
• Đảm bảo chất lượng kiểm nghiệm TNTT

III
Xây dựng biểu đồ xu hướng: Control chart

Biểu đồ xu hướng

- Theo hướng dẫn của tiêu chuẩn NMKL Procedure No. 18
- Nguyên tắc:
 - ❖ Xây dựng biểu đồ xu hướng bao gồm các giá trị giới hạn trên và giới hạn dưới của phép đo, các giá trị giới hạn được tính toán dựa trên giá trị trung bình và độ lệch chuẩn theo kết quả logarit của từng phép phân tích



- Quy định tại các PTN:

- ❖ Cách theo dõi các xu hướng
- ❖ Cách xử lý kết quả sai lệch/số lạc
- ❖ Điều tra nguyên nhân
- ❖ Cải tiến/phòng ngừa

- Hồ sơ:

- ❖ Chứng chuẩn/chất chuẩn/mẫu chuẩn
- ❖ Nhật ký thiết bị, nhiệt độ
- ❖ Hiệu năng môi trường
- ❖ Kết quả và xu hướng của các thử nghiệm liên phòng, TNTT, tay nghề

Vẽ biểu đồ xu hướng



1. Phân tích mẫu tham chiếu: **RM, CRM**

- Số lượng từ 10-20 mẫu

2. Vẽ biểu đồ

- Trục x – ngày thực hiện
- Trục y – giá trị phép đo

3. Tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (logarit)

- Vẽ đường giá trị trung bình

4. Tính giới hạn cảnh báo và giới hạn kiểm soát

- Vẽ đường giá trị giới hạn **cảnh báo** trên/dưới
- Vẽ đường giá trị giới hạn kiểm soát trên/dưới

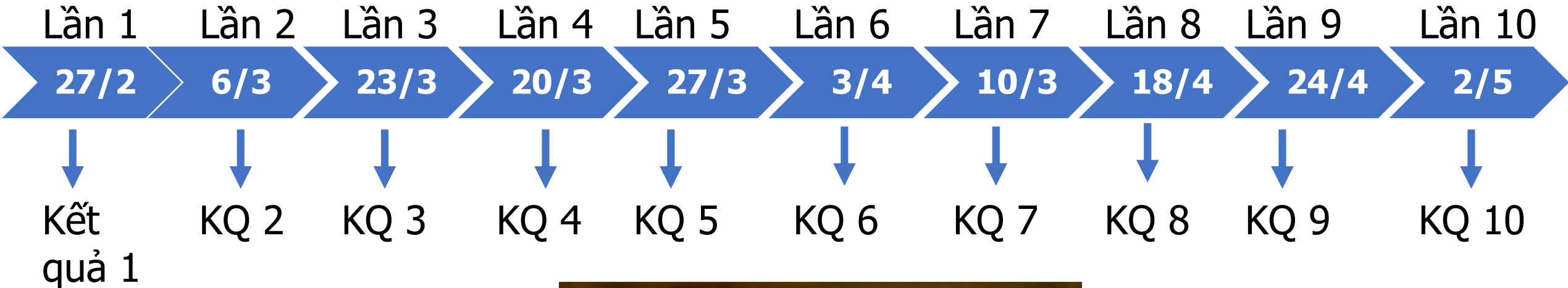
5. Tiếp tục theo dõi mẫu theo thời gian

- Điền giá trị phép đo vào biểu đồ xu hướng

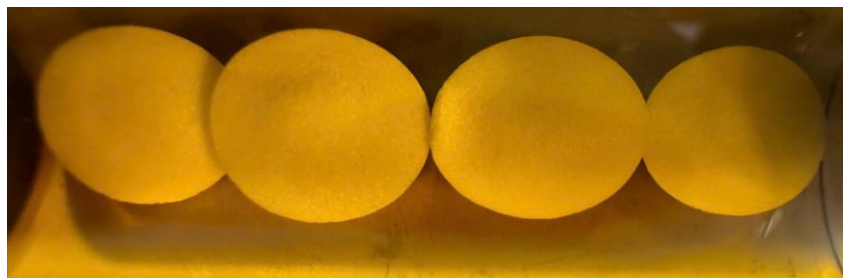
Quá trình tiến hành

- >10 mẫu RM hoặc CRM
- Phân tích mỗi lần ít nhất 1 mẫu/thời điểm (theo sơ đồ)

Ngày/tháng



- Xử lý kết quả



Viên mẫu chuẩn RM/CRM

Ví dụ 1



Bảng 1. Dữ liệu cần để xây dựng biểu đồ kiểm soát theo SLV (ví dụ: chỉ tiêu hiệu khí- **Mẫu CRM, RM**)

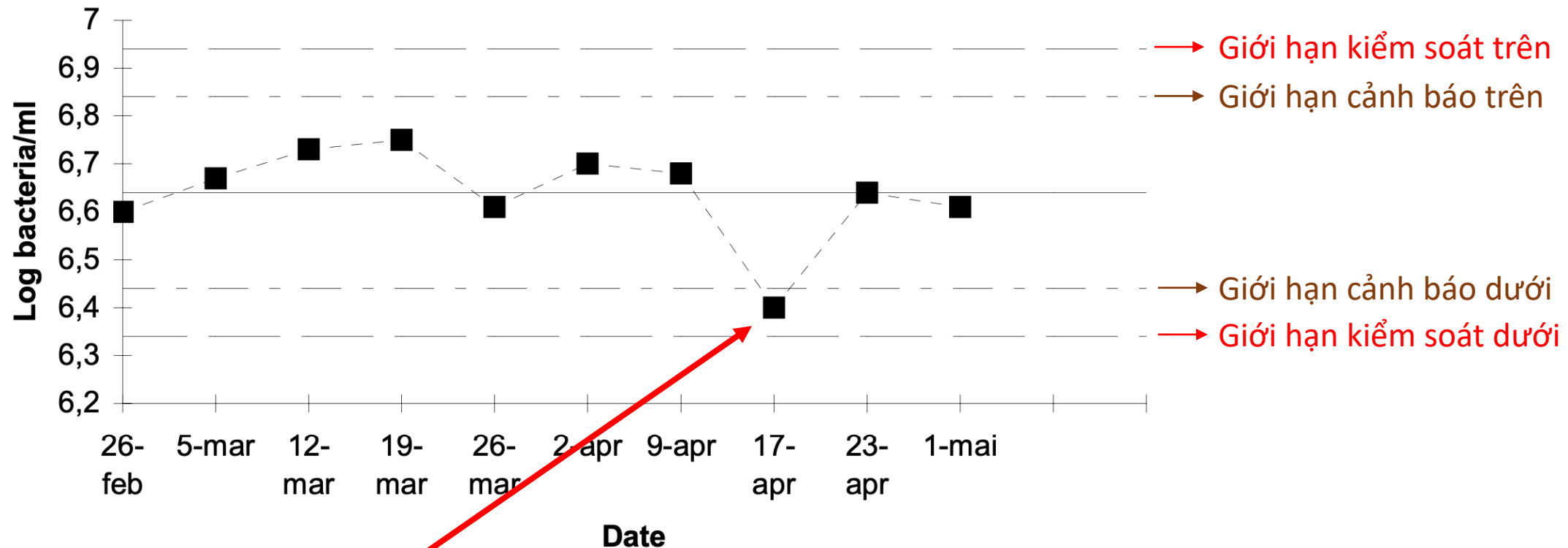
Mẫu	Ngày thực hiện	Log CFU/mL (x)	(x – mv)	(x – mv) ²
1	27/02	6,60	-0,04	0,0016
2	06/03	6,67	0,03	0,0009
3	13/03	6,73	0,09	0,0081
4	20/03	6,75	0,11	0,0121
5	27/03	6,61	-0,03	0,0009
6	03/04	6,70	0,06	0,0036
7	10/04	6,68	0,04	0,0016
8	18/04	6,40	-0,24	0,0576
9	24/04	6,64	0,00	0,0000
10	02/05	6,61	-0,03	0,0009
n = 10		$\Sigma x = 66,39$		$\Sigma(x - mv)^2 = 0,0873$

Ví dụ 1



- Giá trị trung bình: $mv = \frac{\sum x}{n} = \frac{66,39}{10} = 6,64$
- Độ lệch chuẩn: $s = \frac{\sqrt{\sum(x-mv)^2}}{n-1} = \frac{\sqrt{0,0873}}{10-1} = 0,10$
- Giới hạn cảnh báo: $mv \pm 2 \times s = 6,64 \pm 2 \times 0,1 = 6,64 \pm 0,2$
- Giới hạn kiểm soát: $mv \pm 3 \times s = 6,64 \pm 3 \times 0,1 = 6,64 \pm 0,3$

Biểu đồ kiểm soát sử dụng RM/CRM



Giới hạn cảnh báo dưới

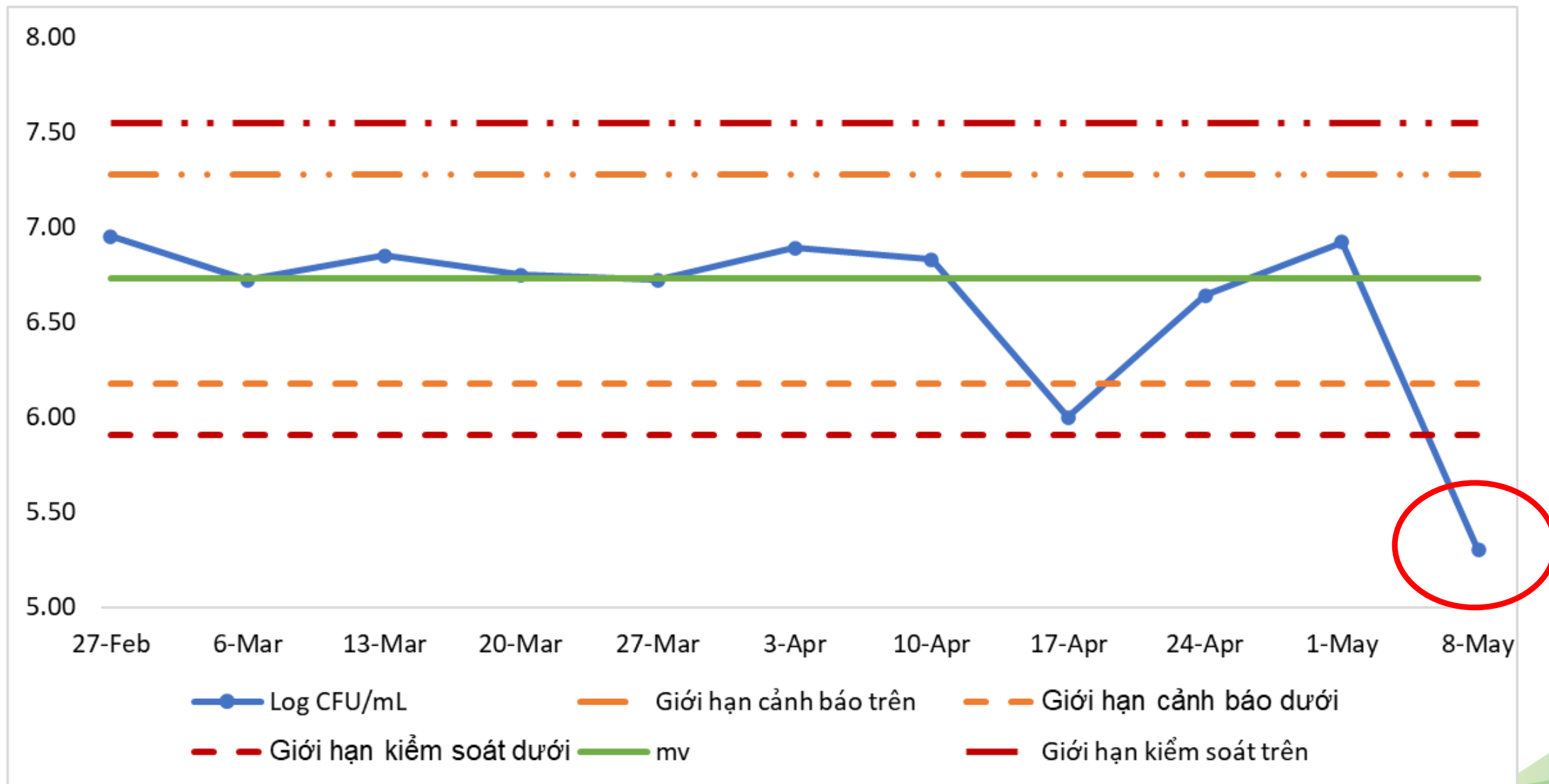
Ví dụ 2



Mẫu	Ngày thực hiện	Log CFU/mL	$(x - mv)$	$(x - mv)^2$
1	27-Feb	6.95	0.22	0.0497
2	6-Mar	6.72	-0.01	0.0000
3	13-Mar	6.85	0.12	0.0151
4	20-Mar	6.75	0.02	0.0005
5	27-Mar	6.72	-0.01	0.0000
6	3-Apr	6.89	0.16	0.0266
7	10-Apr	6.83	0.10	0.0106
8	17-Apr	6.00	-0.73	0.5285
9	24-Apr	6.64	-0.09	0.0076
10	1-May	6.92	0.19	0.0372
11	8-May	5.30	-1.43	2.0363

mv	6.73
s	0.3
Giới hạn cảnh báo trên	7.28
Giới hạn cảnh báo dưới	6.18
Giới hạn kiểm soát trên	7.55
Giới hạn kiểm soát dưới	5.90

Ví dụ 2: Chỉ tiêu TPC trong thịt- RM/CRM





XIN CHÂN THÀNH CẢM ƠN!