



LẤY MẪU KIỂM TRA VI SINH VẬT THỰC PHẨM



NỘI DUNG



1. Giới thiệu chung và Các yêu cầu chung
2. Các vi sinh gây bệnh thường gặp trong thực phẩm
3. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm
4. Dụng cụ và thiết bị
5. Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển

I. Lấy mẫu - Giới thiệu chung

- Là một quá trình được sử dụng để rút ra kết luận về một lô hàng hoặc một số lớn mẫu thử từ một loạt các kết quả phân tích
- Lấy mẫu kiểm tra vi sinh vật là việc thu thập mẫu đại diện để có được thông tin về tình trạng vi sinh vật trong mẫu thử
- Khi lấy mẫu kiểm tra vi sinh vật cần lưu ý:
 - Một mẫu có thể bao gồm nhiều loại vi sinh vật khác nhau
 - Một số vi sinh vật được coi là vi sinh vật chỉ thị để kiểm soát trong quá trình sản xuất, chế biến
 - Vi sinh vật phân bố không đều trong cùng một mẫu và vi sinh vật gây bệnh thường có số lượng thấp



I. Lấy mẫu - Giới thiệu chung

Mục đích lấy mẫu kiểm tra vi sinh vật thực phẩm:

- Phục vụ thanh tra, kiểm tra.
- Đánh giá nguy cơ. (ô nhiễm VSV, ô nhiễm hóa học, các bệnh truyền qua thực phẩm..)
- Điều tra nguyên nhân ngộ độc thực phẩm, (TT 39/2007).
- Giám sát định kỳ.
- Công bố chất lượng...



II. Hướng dẫn lấy mẫu thanh tra, kiểm tra chất lượng ATTP

1. Áp dụng cho quá trình lấy mẫu thực phẩm phục vụ cho kiểm tra thanh tra

2. Tài liệu tham chiếu:

- QCVN 8-3: 2012/BYT ***quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với ô nhiễm vi sinh trong thực phẩm.***

Và những tiêu chuẩn khác.



SƠ ĐỒ LẤY MẪU CHUNG



QUY ĐỊNH CHUNG

- Người tiến hành lấy mẫu phải có chuyên môn, thẩm quyền và phải chịu trách nhiệm về sự đúng đắn của việc lấy mẫu.
- Trước khi lấy mẫu cần kiểm tra sự phù hợp của lô hàng kiểm tra với tài liệu kèm theo và xác định các khuyết tật theo các chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm đem kiểm tra.
- Đánh giá ngoại quan:



QUY ĐỊNH CHUNG

- **Đánh giá ngoại quan**
 - Sản phẩm đạt yêu cầu về dạng bên ngoài khi quan sát không phát hiện ra sự khác biệt về texture trạng vi sinh của sản phẩm với các chỉ tiêu quy định trong văn bản kỹ thuật
 - Sản phẩm bị nghi ngờ về dạng bên ngoài là sản phẩm khi quan sát phát hiện ra một hay một số khác biệt so với các chỉ tiêu quy định trong văn bản kỹ thuật



QUY ĐỊNH CHUNG

- Khác biệt đó có thể do vi sinh, cũng có thể do các phản ứng hóa học hay sinh hóa ở trong sản phẩm.
- Sản phẩm hư hỏng là sản phẩm khi quan sát phát hiện ra được các hiện tượng hư hỏng do vi sinh vật như : lên men, thối mốc, dính kết, chua,...
- Cần lấy mẫu riêng rẽ theo mục đích phân tích một, hai hay cả ba loại trên.



QUY ĐỊNH CHUNG

- Khi tiến hành lấy mẫu đồng thời cho cả phân tích vi sinh và các phép thử khác, cần lấy mẫu để phân tích vi sinh vật trước
- Mẫu thử cần lấy số lượng đúng theo quy định trong các tiêu chuẩn
- Mẫu thử cần lấy dưới dạng các đơn vị sản phẩm riêng biệt
- Không được pha trộn các sản phẩm đã được lấy riêng



CÁC VI SINH VẬT GÂY BỆNH TRONG THỰC PHẨM

- Khi tiến hành lấy mẫu đồng thời cho cả phân tích vi sinh và các phép thử khác, cần lấy mẫu để phân tích vi sinh vật trước
- Mẫu thử cần lấy số lượng đúng theo quy định trong các tiêu chuẩn
- Mẫu thử cần lấy dưới dạng các đơn vị sản phẩm riêng biệt
- Không được pha trộn các sản phẩm đã được lấy riêng



Giới hạn ô nhiễm vi sinh vật thực phẩm



QCVN 8-3/2012

TT	Sản phẩm	Chỉ tiêu	Kế hoạch lấy mẫu		Giới hạn cho phép (CFU/g)		Phân loại chỉ tiêu
			n	c	m	M	
3.1	Thịt và sản phẩm chế biến từ thịt sử dụng trực tiếp không cần xử lý nhiệt	TSVSVHK	5	2	5×10^5	5×10^6	B
		<i>E. coli</i>	5	2	5×10^1	5×10^2	B
		<i>Salmonella</i>	5	0	KPH ⁽²⁾		A
3.2	Thịt và sản phẩm chế biến từ thịt phải qua xử lý nhiệt trước khi sử dụng	TSVSVHK	5	2	5×10^5	5×10^6	B
		<i>E. coli</i>	5	2	5×10^2	5×10^3	B
		<i>Salmonella</i>	5	0	KPH ⁽²⁾		A

III. Các bước chuẩn bị lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



1. Mục đích lấy mẫu, cơ sở lấy mẫu, loại mẫu và các thông tin có liên quan khác.
2. Phương án lấy mẫu.
3. Các chỉ tiêu kiểm tra
4. Dụng cụ lấy và chứa đựng mẫu, các phương tiện phụ trợ (bảo hộ, bảo quản, chuyên chở).
5. Lấy mẫu: Số mẫu, lượng mẫu lấy

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



1. Phương án 2 mức:

- Có hai mức chấp nhận hoặc không chấp nhận
- Áp dụng cho phương pháp định tính
- Nghiêm ngặt hơn phương án 3 mức, thường áp dụng cho kiểm tra các vi sinh vật gây bệnh

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



1. Phương án 2 mức: Gồm 3 thông số

- n : số mẫu phân tích/lô
- c : số mẫu khuyết tật được phép tối đa (P/A này $c = 0$)
- m : số VSV tối đa không được vượt qua và bằng giới hạn chấp nhận thấp nhất, (P/A này $m = 0$) .
- m và c là 2 thông số quyết định mẫu được chấp nhận hay không

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



2. Phương án 3 mức:

- Có 3 mức: chấp nhận, chấp nhận có điều kiện và không chấp nhận
- Áp dụng cho phương pháp định lượng
- Ít nghiêm ngặt hơn phương án 2 mức

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



2. Phương án 3 mức: Gồm 4 thông số

- n : số mẫu phân tích/lô
- c : số mẫu được chấp nhận/lô nằm trong khoảng giữa m và M
- m : giới hạn số VSV có thể vượt qua nhưng nhỏ hơn hoặc bằng M .
- M : giá trị giới hạn không thể vượt qua
- M , m và c là 3 thông số quyết định mẫu được chấp nhận hay không.

(đạt khi kết quả kiểm tra n mẫu nằm trong giới hạn $>m <M$ và $<c$ hoặc tất cả các kết quả $< m$; không đạt khi kết quả kiểm tra n mẫu nằm trong giới hạn $> m < M$ và $>c$ hoặc có kết quả $> M$)

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



VD minh họa: QCVN 8-3/2012

TT	Sản phẩm	Chỉ tiêu	Kế hoạch lấy mẫu		Giới hạn cho phép (CFU/g)		Phân loại chỉ tiêu
			n	c	m	M	
3.1	Thịt và sản phẩm chế biến từ thịt sử dụng trực tiếp không cần xử lý nhiệt	TSVSVHK	5	2	5×10^5	5×10^6	B
		<i>E. coli</i>	5	2	5×10^1	5×10^2	B
		<i>Salmonella</i>	5	0	KPH ⁽²⁾		A
3.2	Thịt và sản phẩm chế biến từ thịt phải qua xử lý nhiệt trước khi sử dụng	TSVSVHK	5	2	5×10^5	5×10^6	B
		<i>E. coli</i>	5	2	5×10^2	5×10^3	B
		<i>Salmonella</i>	5	0	KPH ⁽²⁾		A

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



Ví dụ kiểm tra *salmonella* spp trong giò

- Lấy mẫu theo phương án 2 mức, mục 3.1, $n = 5$, $c = 0$
- Kết quả kiểm tra *Salmonella* trong mẫu như sau:

Mẫu x1: Phát hiện *Salmonella* (dương tính).

Mẫu x2; x3; x4; x5: Không phát hiện (âm tính).

III. Các phương án lấy mẫu vi sinh vật thực phẩm



Ví dụ kiểm tra E.coli trong giò ăn sẵn:

- Lấy mẫu theo phương án 3 mức, mục 3.2, $n = 5$, $c = 2$,
 $m = 5 \times 10^1$ $M = 5 \times 10^2$

Kết quả kiểm tra TSVKHK trong mẫu như sau:

$x_1 = 9 \times 10^1$;

$x_2 = 8 \times 10^1$;

$x_3 = 6 \times 10^1$;

$x_4 = 4 \times 10^2$;

$x_5 = 3 \times 10^2$

Theo kết quả này, 5 mẫu có TSVKHK nằm giữa m và M
($>c$) nên lô bị loại bỏ

IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



- A. Dụng cụ lấy mẫu, chứa mẫu, phương tiện phụ trợ
(bảo hộ, bảo quản, chuyên chở)
- B. Phương pháp khử trùng: hấp, sấy, đốt dưới đèn cồn
- C. Tài liệu

IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



A.1 Dụng cụ lấy mẫu: Dao, kéo kẹp, môi, đục.

Huge Range of Accessories...



Cần chuẩn bị dụng cụ phù hợp với loại mẫu và lượng mẫu lấy

IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



A.2 Dụng cụ chứa đựng mẫu: Bình, chai, lọ vô trùng, túi vô trùng,



IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



A.3 Dụng cụ phụ trợ: Đèn cồn, cồn, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ, quần áo blu, nhiệt kế.



IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



A.3 Dụng cụ phụ trợ: Đèn cồn, cồn, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ, quần áo blu, nhiệt kế.



IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



A.4 Dụng cụ, thiết bị bảo quản, chuyên chở: Xe lạnh di động hoặc thùng cách nhiệt, đá khô, đá



IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



B. Các phương pháp vô trùng

B.1. Khử trùng ướt: Tất cả các dụng cụ lấy và chứa mẫu phải vô trùng: Dụng cụ lấy mẫu cần bao bằng giấy thiếc và khử trùng, dụng cụ đựng (bình, chai, lọ) cần hấp ở điều kiện 121°C 20 phút.

IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



B. Các phương pháp vô trùng

B.2. Sấy: các dụng cụ như Inox, kim loại, bao lại bằng giấy thiếc hoặc giấy bản, sấy ở 180°C trong 1 tiếng

B.3 Đốt bằng cồn: Với một số dụng cụ như kéo, thìa có thể đốt bằng cồn 96° (nhúng cồn rồi đốt 03 lần) chú ý không để bị cháy bùng gây nguy hiểm và làm nguội dụng cụ để đảm bảo không ảnh hưởng tới mẫu.

IV. Dụng cụ, thiết bị và biểu mẫu



C. Các tài liệu

- Biên bản lấy mẫu
- Biên bản bàn giao mẫu
- Tem niêm phong

V. Lấy mẫu – Lựa chọn chỉ tiêu KN

Căn cứ lựa chọn chỉ tiêu kiểm nghiệm:

1. QCVN về giới hạn ô nhiễm VSV trong thực phẩm
2. Tiêu chuẩn công bố sản phẩm.
3. Xác định mối nguy theo đặc điểm của sản phẩm/ nhóm sản phẩm hoặc mối nguy mới nổi.
4. Thực tế sản xuất, chế biến thực phẩm.
5. Các vấn đề phát sinh khi thực phẩm lưu thông trên thị trường.



V. Lấy mẫu - Nguyên tắc

1. Mẫu kiểm tra vi sinh vật lấy trước
2. Lấy mẫu trong điều kiện vô trùng, không gây ô nhiễm chéo.
3. Lấy mẫu đại diện: chú ý vị trí lấy và lượng mẫu lấy (lượng mẫu đủ lớn để mang tính đại diện và đủ nhỏ để mang tính kinh tế).
4. Lấy nguyên đơn vị bao gói, trừ trường hợp vật chứa có dung tích lớn
4. Mẫu nhiều thành phần phải lấy vào cùng một thời điểm, mỗi thành phần để riêng trong một vật chứa.
5. Thông tin về mẫu phải dán hoặc viết phía dưới phần mẫu trong vật chứa,
6. Không lấy mẫu cận đất
7. Mẫu lưu phải hoàn toàn đồng nhất với mẫu kiểm tra.



V. Lấy mẫu - Nguyên tắc

8. Phải đảm bảo sự toàn vẹn và trạng thái ban đầu của mẫu lấy trong suốt quá trình vận chuyển.
 - Vật chứa đựng có dung tích phù hợp
 - Sắp xếp mẫu đúng cách
 - Duy trì đúng điều kiện bảo quản
9. Điều kiện bảo quản phải phù hợp với loại mẫu hoặc khuyến cáo của nhà sản xuất.
10. Mẫu cần được bảo quản lạnh theo đúng yêu cầu từ ngay sau khi lấy và trong suốt quá trình vận chuyển (trừ thực phẩm khô và đóng hộp). Bảo quản lạnh không đúng cách có thể là nguyên nhân làm tăng hoặc giảm số lượng vi sinh vật trong mẫu thử



V. Lấy mẫu - Nguyên tắc

11. Phải chuẩn bị thùng bảo quản lạnh trước 15 phút để đạt đến nhiệt độ yêu cầu trước khi cho mẫu vào..
12. Mẫu lấy xong phải cho ngay vào thùng bảo quản lạnh (với mẫu yêu cầu bảo quản lạnh)



V. Lấy mẫu – Lượng mẫu lấy

Theo quyết định của trưởng đoàn căn cứ vào:

1. Thực tế hiện trường.
2. Điều kiện kinh tế hiện có.
3. Yêu cầu của phương pháp thử.



LƯỢNG MẪU LẤY PHỤC VỤ KIỂM NGHIỆM

TT	Sản phẩm	Lượng mẫu tối thiểu	Lượng mẫu tối đa
1	Sữa và sản phẩm sữa	100 g (ml)	1,5 kg (lít)
2	Thịt và sản phẩm thịt	150 g	1,0 kg
3	Thủy sản và sản phẩm thủy sản	150 g	1,5 kg
4	Trứng và sản phẩm trứng	150 g	1,5 kg
5	Rau quả và sản phẩm rau quả	150 g	2,5 kg
6	Thức ăn cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ	150 g (ml)	1,5 kg (lít)

Ghi chú:

Lượng mẫu tối thiểu là lượng mẫu đủ để kiểm nghiệm một chỉ tiêu của sản phẩm. Tùy thuộc vào mục đích của quá trình thanh tra, kiểm tra lượng mẫu lấy có thể được tăng hay giảm và loại sản phẩm không có trong mục trên có thể được lấy theo quyết định của trường đoàn thanh tra, kiểm tra phù hợp với yêu cầu thanh tra, kiểm tra.

Trong trường hợp không đủ để lưu mẫu, mọi thay đổi cần ghi rõ trong Biên bản lấy mẫu và Biên bản bàn giao mẫu.



V. Lấy mẫu – Bảo quản và vận chuyển

Nếu không được quy định trong tiêu chuẩn cụ thể thì nhiệt độ khuyến cáo như sau:

- Sản phẩm không dễ phân hủy (sản phẩm khô): nhiệt độ phòng ($<40^{\circ}\text{C}$)
- Sản phẩm đông lạnh và đông lạnh sâu: $< -15^{\circ}\text{C}$, tốt nhất là $< -18^{\circ}\text{C}$
- Sản phẩm bảo quản lạnh: $0 - 8^{\circ}\text{C}$

Khi không quy định các điều kiện cụ thể thì các bên nên thỏa thuận về thời gian và nhiệt độ vận chuyển



V. Lấy mẫu – Một số yêu cầu riêng

Mẫu thân thịt (tươi sống): Lấy 5 mẫu /lô

Hướng dẫn lấy mẫu:

- Đì găng
- Lau sạch thân thịt
- Vô trùng dụng cụ bằng cồn
- Cầm lấy phần đáy túi, không chạm vào mặt trong túi hoặc bề mặt dụng cụ và túm lấy phần định lấy, dùng dao/kéo để cắt khoảng 10g. Lặp lại 3 lần/vị trí
- Kéo túi phủ hết phần mẫu
- Sát trùng dụng cụ nếu lấy mẫu tiếp



V. Lấy mẫu – Một số yêu cầu riêng

Điều kiện bảo quản thịt tươi sống:

- Mẫu thịt tươi được duy trì ở nhiệt độ bảo quản sản phẩm từ
0 – 5°C, không làm đông lạnh trừ khi có yêu cầu đặc biệt
- Phải phân tích mẫu trong ngày lấy mẫu, nếu không, lưu không quá 24 giờ
- Nếu mẫu đã làm lạnh:
 - Bảo quản ở 0 - 2°C nếu kiểm tra trong 24 h
 - Nếu không, đông lạnh ở nhiệt độ không quá - 24°C



V. Lấy mẫu – Một số yêu cầu riêng

Mẫu nước:

- Bình chứa không được có hóa chất gây ức chế hoạt tính sinh học, làm chết hoặc kích thích tăng trưởng
- Nếu mẫu chứa Clo, cần thêm Natri thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) trước khi khử trùng để loại trừ khả năng ức chế vi khuẩn do Clo (0.1 ml dung dịch 1,8 %/100ml)
- Chỉ lấy đầy 2/3 dung tích bình
- Bảo quản lạnh (không làm đông lạnh).
- Khi phân tích độc tính nước, cần tránh sự hòa tan của một số thành phần, đặc biệt là các kim loại nặng ở dạng ion, do đó cần phân tích mẫu sớm.



V. Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển

A.4 Các bước tiến hành lấy mẫu:

1. Mang các dụng cụ bảo trợ(áo, găng tay, khẩu trang, kính...).
2. Xịt cồn tay, đốt đèn cồn gần khu vực lấy mẫu (thao tác nên trong phạm vi đèn cồn 20 cm).
3. Dùng cồn 70 ° lau bề mặt túi phần bao gói (túi nilon, đầu vòi, phần mở nắp).
4. Dùng dụng cụ vô trùng (thìa, dao, kéo, cưa, đục dụng cụ mở nắp...) mở bao gói. (*Theo phần hướng dẫn vô trùng dụng cụ*)
5. Lấy vô trùng phần mẫu (500-1000 g/ml) vào dụng cụ chứa mẫu.
6. Bao gói và niêm phong và chuyển mẫu đến phòng kiểm nghiệm.

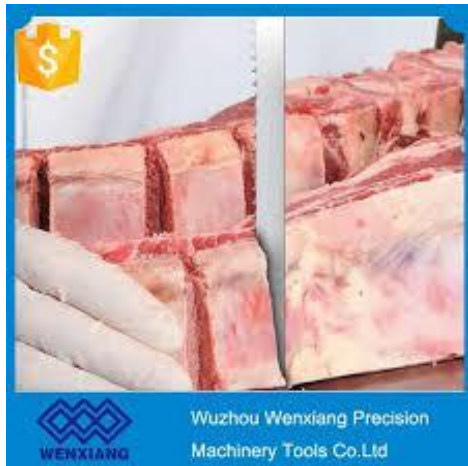


V. Lấy mẫu, bảo quản và vận chuyển



A.4 Các bước tiến hành lấy cần phân, cắt:

Một số hình ảnh minh họa





Xin chân thành cảm ơn

