

Nghiên cứu sản xuất và chứng nhận chất lượng bộ mẫu chuẩn vi sinh vật định lượng từ các chủng gốc NCTC theo tiêu chuẩn ISO 17034.

Phạm Như Trọng^{1*}, Lê Thanh Huyền¹, Nguyễn Hoàng Anh¹, Đinh Thị Phương Anh²
¹ Khoa Đảm bảo chất lượng, Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (NIFC)
² Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Bảo đảm chất lượng trong thử nghiệm vi sinh thực phẩm đóng vai trò then chốt đối với an toàn sức khỏe cộng đồng. Việc sử dụng mẫu chuẩn chứng nhận (Certified Reference Material - CRM) là yêu cầu bắt buộc để hiệu chuẩn và đánh giá năng lực phòng thử nghiệm theo ISO/IEC 17025. Tuy nhiên, thị trường Việt Nam hiện vẫn phụ thuộc lớn vào nguồn CRM nhập khẩu giá thành cao.

Mục tiêu: Nghiên cứu này nhằm xây dựng quy trình sản xuất và chứng nhận chất lượng bộ 10 mẫu chuẩn vi sinh vật dạng định lượng từ các chủng gốc NCTC đời 1 trên nền mẫu sữa bột đáp ứng nghiêm ngặt các tiêu chuẩn quốc tế ISO 17034.

Phương pháp: Bộ 10 chủng vi sinh vật NCTC chuẩn quốc tế (bao gồm *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*,...) được tiến hành hoạt hóa, tăng sinh và phối trộn đồng đều trong dung dịch bảo vệ gồm myo-inositol, glucose và lactose kết hợp với giá thể sữa bột. Huyền phù vi sinh sau phân phối vô trùng được làm lạnh sâu tại -80°C và làm khô bằng phương pháp đông khô ở -45°C trong 24 giờ trong điều kiện chân không. Đánh giá chất lượng mẫu chuẩn đông khô được thực hiện thông qua kiểm tra độ thuần (nhuộm Gram), định lượng mật độ sống trước/sau đông khô, phân tích ANOVA một chiều kiểm tra độ đồng nhất (ISO 33405:2024) và kiểm định T-test/F-test đối với độ ổn định ngắn hạn.

Kết quả: Quá trình đông khô duy trì cấu trúc bánh mẫu xốp mịn, tan nhanh khi hoàn nguyên và bảo toàn mật độ vi sinh ở mức tối ưu (10^2 ~ 10^6 CFU/lọ). Kết quả đánh giá trên lô mẫu thử nghiệm chứng minh sản phẩm đạt độ thuần chủng 100%, có sự đồng nhất cao giữa các đơn vị lọ mẫu (p-value > 0,05) và duy trì độ ổn định ngắn hạn tốt trong điều kiện bảo quản 2–8°C.

Kết luận: Nghiên cứu đã làm chủ thành công quy trình sản xuất bộ CRM vi sinh vật định lượng đạt chuẩn ISO 17034. Đây là cơ sở khoa học và thực tiễn vững chắc phục vụ trực tiếp cho hoạt động nội kiểm, ngoại kiểm (PT) và nâng cao năng lực kiểm nghiệm an toàn thực phẩm tại Việt Nam.

Từ khóa: Mẫu chuẩn chứng nhận (CRM), ISO 17034, Đông khô, NCTC, Định lượng vi sinh.

Research on the Production and Quality Certification of Quantitative Microbial Certified Reference Materials from NCTC Reference Strains Complying with ISO 17034 Standard

* Tác giả liên hệ: Phạm Như Trọng (E-mail: ptp.rm@nifc.gov.vn SĐT: 0356492768)/

* Corresponding author: Phạm Nhu Trong (E-mail: ptp.rm@nifc.gov.vn /Tel: 0356492768)

Pham Nhu Trong^{1*}, Le Thanh Huyen¹, Nguyen Hoang Anh¹, Dinh Thi Phuong Anh²,

¹*Quality Assurance Department / Department, National Institute for Food Control (NIFC)*

²*Country Faculty of Food Science and Technology, Vietnam National University of Agriculture*

Abstract

Objective: This study aims to establish a standardized procedure for the production and quality certification of a set of 10 quantitative microbial reference materials derived from first-generation NCTC reference strains on a milk powder matrix, strictly adhering to international ISO 17034 standards.

Methods: Ten internationally recognized NCTC microbial strains (including *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Clostridium perfringens*) were activated, propagated, and homogenized in a protective medium composed of myo-inositol, glucose, and lactose combined with a formula milk powder matrix. The cell suspensions were aseptically dispensed into vials, deep-frozen at -80°C, and subjected to lyophilization at -45°C for 24 hours under vacuum conditions. Quality controls of the freeze-dried materials included purity assessment (Gram staining), pre- and post-lyophilization viability quantification, one-way ANOVA for homogeneity evaluation (per ISO 33405:2024), and T-test/F-test statistical analysis for short-term stability verification.

Results: The lyophilization process successfully maintained a uniform, porous cake structure that dissolved rapidly upon reconstitution, preserving optimal microbial density (10^2 ~ 10^6 CFU/vial). Analytical evaluations verified 100% strain purity, high intra-batch homogeneity across units (p-value > 0.05), and excellent short-term stability when stored under recommended conditions at 2–8°C.

Conclusion: The study successfully mastered the production pipeline for quantitative microbial CRMs in compliance with ISO 17034. These findings provide a robust scientific and practical foundation for internal quality control, proficiency testing (PT) schemes, and the enhancement of national food safety testing capabilities in Vietnam.

Keywords: Certified Reference Materials (CRM), ISO 17034, Lyophilization, NCTC, Quantitative microbiology.