

TCVN 10782:2015

ISO 13307:2013

Xuất bản lần 1

**VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI –
GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT BAN ĐẦU – KỸ THUẬT LẤY MẪU**

*Microbiology of food and animal feed –
Primary production stage – Sampling techniques*

HÀ NỘI – 2015

Lời nói đầu

TCVN 10782:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 13307:2013;

TCVN 10782:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Giai đoạn sản xuất ban đầu – Kỹ thuật lấy mẫu

*Microbiology of food and animal feed – Primary production stage –
Sampling techniques*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định kỹ thuật lấy mẫu trong giai đoạn sản xuất thực phẩm-thức ăn chăn nuôi ban đầu để phát hiện hoặc định lượng các vi sinh vật sống có khả năng gây bệnh truyền qua thực phẩm.

Tiêu chuẩn này không được dùng để chuẩn đoán bệnh động vật.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 6404 (ISO 7218), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.*

TCVN 6507-1 (ISO 6887-1), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật – Phần 1: Các nguyên tắc chung để chuẩn bị huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

Giai đoạn sản xuất ban đầu (primary production stage)

Bao gồm tất cả các giai đoạn sản xuất thực phẩm từ trại chăn nuôi đến khi thu hoạch hoặc đến cơ sở giết mổ.

3.2

Mẫu phòng thử nghiệm (laboratory sample)

Mẫu được chuẩn bị để gửi đến phòng thí nghiệm và để kiểm tra hoặc thử nghiệm.

4 Bố trí chung

4.1 Yêu cầu chung

Các bên có liên quan hoặc những người đại diện của các bên có liên quan cần có mặt khi tiến hành lấy mẫu.

Trường hợp đặc biệt, ví dụ: các quy định, các yêu cầu lấy mẫu và/hoặc phát sinh từ phép phân tích cụ thể cần thực hiện thì cần tuân thủ các yêu cầu này.

4.2 Nhân viên lấy mẫu

Việc lấy mẫu để kiểm tra vi sinh vật phải do người được đào tạo và có kinh nghiệm về kỹ thuật lấy mẫu phân tích vi sinh thực hiện.

4.3 Bao gói và dán nhãn mẫu

Các mẫu phải được bao gói để tránh lây nhiễm chéo và tránh rò rỉ hoặc thất thoát độ ẩm. Các mẫu phải được ghi nhãn rõ ràng.

Các chi tiết tối thiểu phải đi kèm mẫu thử là: bản chất của nền mẫu, nhận biết mẫu, tên hoặc họ tên viết tắt của người được ủy quyền lấy mẫu, cũng như ngày, giờ (nếu thích hợp) và địa điểm lấy mẫu.

Các thông tin này phải được ghi lại trên một biểu mẫu. Có thể sử dụng một biểu mẫu cho vài mẫu thử với điều kiện mỗi mẫu thử có đặc điểm nhận dạng riêng và các mẫu thử có kèm theo biểu mẫu trong đó liệt kê các chi tiết về mẫu với các mã nhận dạng thống nhất.

4.4 Chuẩn bị biểu mẫu lấy mẫu

Các mẫu phải kèm theo một bản báo cáo, tốt nhất là ghi đầy đủ trên một biểu mẫu chuẩn do phòng thử nghiệm cung cấp, được người lấy mẫu ký hoặc ghi họ tên. Báo cáo phải bao gồm các thông tin cụ thể sau đây:

- Địa điểm, ngày và thời gian lấy mẫu (nếu thích hợp);
- Tên người lấy mẫu;
- Bản chất, số lượng và nhận biết các mẫu tạo thành chuyển hàng;
- Mục đích lấy mẫu và vi sinh vật cần nghiên cứu.

Khi cần, báo cáo cũng phải bao gồm mọi điều kiện hoặc mọi chi tiết và mọi thông tin cụ thể có liên quan đến sản phẩm cần lấy mẫu, ví dụ: khó khăn trong việc lấy mẫu đại diện.

Nếu sử dụng các chất bổ sung bất kỳ ví dụ như dịch pha loãng, môi trường vận chuyển hoặc các thuốc thử kiểm hóa thì cần phải báo cáo lại.

5 Dịch pha loãng và chất khử trùng

5.1 Dịch pha loãng

5.1.1 Yêu cầu chung

- Dịch pha loãng dùng để làm ẩm tất cả các loại gạc (bao gạc bọc ủng, tấm bông v.v...):
- Dung dịch muối pepton được chuẩn bị theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1);
- Nước đệm pepton được chuẩn bị theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1);
- Nước vô trùng;
- Nước uống được dùng cho các mẫu vì nước không làm ảnh hưởng đến quá trình phân tích, ví dụ: bao gạc bọc ủng.

5.1.2 Môi trường vận chuyển gạc dùng cho các mục đích cụ thể

Mục đích chung của các môi trường này là để bảo toàn sự sống sót của quần thể đích, ví dụ *Campylobacter* đặc biệt nhạy với môi trường khô.

Ví dụ về các môi trường vận chuyển:

- Nước đệm pepton dùng cho *Salmonella* được chuẩn bị theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1);
- Môi trường vận chuyển Cary-blair hoặc tương đương;
- Môi trường vận chuyển than chì Amies hoặc tương đương.

Trong trường hợp mẫu có tính axit hoặc tính kiềm hoặc có thể thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển thì có thể dùng dịch pha loãng đệm.

Nếu cần định lượng thì phải tính đến khả năng nhân lên của các sinh vật đích hoặc sinh vật cạnh tranh trước khi kiểm tra trong phòng thử nghiệm.

5.2 Chất khử trùng để khử nhiễm bề mặt bao gói, thiết bị và bề mặt một số mẫu nhất định.

5.2.1 Etanol, 70 % thể tích.

5.2.2 Khăn lau chứa cồn.

5.3 Chất trung hòa, dùng cho chất khử trùng còn sót lại.

5.3.1 Yêu cầu chung

Chất trung hòa thích hợp dùng cho tất cả các trường hợp, có thể không được quy định vì mỗi chất khử trùng cần được kiểm hóa tối ưu bằng hóa chất đặc hiệu (xem Bảng 1). Tuy nhiên, nếu sử dụng chất khử trùng chưa biết chính xác thành phần thì có thể sử dụng chất trung hòa dùng cho nhiều mục đích (5.3.2).

Bảng 1 – Thành phần chất trung hòa và thành phần được trung hòa

Thành phần chất trung hòa	Các thành phần được trung hòa
Lexithin đậu tương	Amoni bậc bốn
Sorbitan monooleat (polysobat 80)	Etanol
L-Histidin	Aldehyd
Natri thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	Halogen
	Phenol
Dinatri phosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	Axit hoặc kiềm

5.3.2 Chất trung hòa dùng cho nhiều mục đích

5.3.2.1 Thành phần

Lexithin đậu tương	3,0 g
Sorbitan monooleat (polysorbat 80)	30,0 g
L-Histidin	1,0 g
Natri thiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	7,8 g
Dinatri phosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	100,8 g
Nước	1 000 ml

5.3.2.2 Chuẩn bị

Hòa tan các thành phần trong nước bằng cách đun nóng. Khử trùng 15 min trong nồi hấp áp lực duy trì ở 121 °C. Có thể bảo quản môi trường đã chuẩn bị ở nhiệt độ (5 ± 3) °C trong ba tháng trong bình chứa đậy kín tránh ánh sáng.

Thường sử dụng dung dịch trung hòa này ở nồng độ 10 % thể tích trong các dịch pha loãng (5.1).

6 Thiết bị, dụng cụ và vật liệu

6.1 Dụng cụ lấy mẫu và mô tả

6.1.1 Yêu cầu chung

Cần khử trùng thiết bị lấy mẫu loại không dùng một lần trước khi sử dụng, ví dụ: bằng nhiệt nóng (nồi hấp áp lực) hoặc nhiệt khô theo TCVN 6404 (ISO 7218). Trong các trường hợp cụ thể, có thể khử nhiễm bằng hóa chất thích hợp. Sau khi xử lý, thiết bị phải sạch, vô trùng và không chứa các chất gây ức chế. Nếu thiết bị cần được sử dụng lại trong khi lấy mẫu thì tốt nhất là khử trùng bằng ngọn lửa (xem 6.1.10) hoặc bằng etanol 70 % thể tích hoặc bằng chất khử trùng thích hợp bất kỳ khác [xem TCVN 6404 (ISO 7218)]. Dụng cụ dùng một lần bằng chất dẻo đựng trong bao gói kín (ví dụ: găng tay cao su, túi bọc ủng, các loại túi bằng chất dẻo) là thích hợp để sử dụng trong suốt quá trình lấy mẫu các sản phẩm trong giai đoạn sản xuất ban đầu. Mỗi lần lấy mẫu (ví dụ: lấy mẫu ở từng trại chăn nuôi khác nhau), nên sử dụng bao gói mới. Trong suốt quá trình lấy mẫu, cần thực hiện mọi biện pháp phòng ngừa để tránh nhiễm bẩn các vật liệu/thiết bị dùng một lần mà chưa được sử dụng.

6.1.2 Găng tay cao su, dùng một lần, không thấm nước, được sử dụng trong suốt quá trình lấy mẫu để bảo vệ người lấy mẫu và để tránh nhiễm bẩn chéo. Cách khác, sử dụng túi bằng chất dẻo.

6.1.3 Túi bọc ủng, bằng chất dẻo sạch và dai, có kích cỡ thích hợp hoặc bằng túi hình ủng để bọc bên ngoài ủng hoặc giày, dùng cho hai mục đích: đảm bảo an toàn sinh học khi đến trại chăn nuôi để tránh bị nhiễm bẩn và để bọc bên ngoài ủng trước khi lấy mẫu bằng bao gạc bọc ủng (6.1.6).

6.1.4 Gạc vải, thường là các miếng vải vô trùng lớn, bọt biển từ xenlulose, vải dệt hoặc không dệt dùng để lau các diện tích bề mặt lớn.

6.1.5 Tấm bông, miếng gạc bông và tất cả các loại gạc gồm nhiều phần bông sợi nhỏ hoặc vật liệu tổng hợp được gắn vào một đầu que bằng gỗ, kim loại hoặc bằng chất dẻo. Các que lấy mẫu thường được đựng trong các ống vô trùng có thể chứa môi trường như môi trường vận chuyển than chì Amies. Vật liệu sử dụng không được có các hợp chất ức chế vi sinh vật trừ khi các hợp chất này được quy định để lấy vi sinh vật đích.

6.1.6 Bao gạc bọc ủng, các loại gạc vải được thiết kế phù hợp để bọc bên ngoài chân, sao cho người lấy mẫu có thể lấy mẫu gạc khi đi bộ xung quanh. Bao gạc được sử dụng phải có khả năng thấm hút thích hợp để hút ẩm. Chúng có thể được làm từ vật liệu băng đàn hồi dạng ống được cắt thành các đoạn dài thích hợp và được kéo qua giày hoặc ủng. Ngoài ra, có thể sử dụng bao gạc bọc ủng thương mại (tránh các loại giày đế bằng chất dẻo) hoặc vật liệu vô trùng thích hợp khác để bọc cả bàn chân hoặc mũ trùm đầu bằng vải vô trùng (bao trùm tóc). Để tránh có thể bị nhiễm bẩn từ giày dép của người lấy mẫu, cần mang bao gạc bên ngoài túi bọc ủng bằng chất dẻo (6.1.3) mới, khi đi vào khu vực lấy mẫu.

6.1.7 Gạc tấm, chủ yếu được sử dụng trong ngành chăn nuôi gia cầm, bao gồm một bộ bốn tấm vải lớn đã được làm ẩm (ví dụ miếng hút ẩm không có các chất kháng khuẩn) gắn vào một thanh được kéo dài qua lớp rơm lót chuồng hoặc các khu vực được dát gỗ hoặc các hố có chứa chất thải rắn. Gạc tấm bằng bọt biển loại nhỏ cũng bán sẵn nhưng có diện tích bề mặt hạn chế so với thiết kế nêu trên.

6.1.8 Gạc Moore hoặc gạc lót bông, thường là các miếng gạc vải rộng có nhiều lớp gạc hoặc bông sợi được bọc trong gạc. Thường sử dụng khăn vệ sinh hoặc gạc lót bông (không chứa các chất kháng khuẩn) loại này. Các miếng bọt biển xenulose rộng cũng thích hợp.

6.1.9 Gạc dây. Các đoạn dây bện thừng mềm, vô trùng có đường kính từ 1 cm đến 2 cm (ví dụ bảy dây trên một chuồng nuôi lớn) được đặt ngang qua các máng thức ăn và nước sao cho gia súc có thể nhai và chạm nhẹ vào dây.

6.1.10 Đèn khí đốt hoặc đèn nung nhỏ cầm tay.

6.1.11 Kẹp, dao, kéo vô trùng.

6.1.12 Thìa hoặc dao trộn vô trùng.

6.1.13 Bàn chải cứng vô trùng.

6.1.14 Hộp lạnh, được cách ly, có hệ thống làm lạnh hoặc các túi lạnh để duy trì mẫu ở nhiệt độ thấp (khoảng 0 °C) trong quá trình vận chuyển đến phòng thí nghiệm.

6.2 Hộp đựng mẫu

Hộp và túi đựng mẫu phải được làm bằng vật liệu thích hợp và có kết cấu sao cho bảo vệ được toàn bộ mẫu, không gây ra sự biến đổi bên trong mẫu và không làm ảnh hưởng đến kết quả phép phân tích tiếp theo. Thường là các túi chất dẻo hoặc vật chứa cứng (bình hoặc chai có nắp vặn bằng thủy tinh hoặc nhựa). Vật chứa và các bao bì kín phải khô, sạch, kín và vô trùng.

Hình dạng và thể tích của vật chứa phải thích hợp với các yêu cầu cụ thể của sản phẩm được lấy mẫu. Các vật chứa khác với các túi chất dẻo phải được đóng kín bằng các nút thích hợp hoặc các nắp chắc chắn.

7 Kỹ thuật lấy mẫu – Yêu cầu chung

Mẫu có thể được lấy từ động vật và môi trường xung quanh của chúng, kể cả trong suốt quá trình vận chuyển và tại các cơ sở giết mổ, để giám sát sự lây truyền các yếu tố gây bệnh từ động vật sang người.

Việc lấy mẫu phải được tiến hành sao cho thu được các mẫu đại diện của vật liệu cần thử nghiệm.

Các mẫu phải được lấy bằng các kỹ thuật vô trùng, thiết bị, vật liệu và vật chứa được quy định trong Điều 6.

Phương pháp lấy mẫu, khối lượng hoặc thể tích của chất nền mẫu cần được lấy thay đổi theo bản chất của sản phẩm và mục đích dùng của các mẫu được lấy. Để biết chi tiết về các yêu cầu, xem Điều 8 đến Điều 11. Vật chứa mẫu phải được đóng kín ngay sau khi mẫu được lấy.

8 Kỹ thuật lấy mẫu tại môi trường trại chăn nuôi

8.1 Việc lấy mẫu được thực hiện sau khi làm sạch và khử trùng

Lấy mẫu từ các bề mặt đã khử trùng là khó khăn vì có thể có chất khử trùng còn sót lại và thường không biết trước chất khử trùng được sử dụng. Có thể sử dụng các chất trung hòa chất khử trùng cụ thể hoặc “thông dụng”, nhưng một số chất trung hòa này có ảnh hưởng không mong muốn đến sự phát triển của các vi sinh vật bị ức chế và sinh vật cạnh tranh dẫn đến phép thử cho âm tính giả.

Khi lấy mẫu tại chuồng nuôi gia súc đã được khử trùng thì tốt nhất lấy mẫu sau khi tất cả các bề mặt đã khô để giảm thiểu ảnh hưởng ức chế của chất khử trùng còn sót lại trên các mẫu. Ví dụ các vị trí lấy mẫu là tường và bề mặt sàn, dụng cụ uống nước, máng cho ăn, chuồng nuôi, các vách ngăn, thiết bị có thể di chuyển được như máy cân, hệ thống ống dẫn, dầm và gờ, bảng điều khiển, sàn phòng chờ hoặc khu vực dịch vụ. Hệ thống băng tải đi qua các chuồng nuôi tầng cũng có thể được lấy mẫu.

Khi thích hợp, chuyển ngay các mẫu gạc đã lấy cho vào một lượng dư (ít nhất 1 phần khối lượng trên 100 phần thể tích) môi trường tăng sinh hoặc môi trường tăng sinh sơ bộ đặc hiệu (ví dụ cho miếng gạc vải vào 225 ml BPW đối với *Salmonella* hoặc môi trường đặc hiệu khác hòa tan và/hoặc bất hoạt chất khử trùng. Trong trường hợp này, mẫu phòng thử nghiệm phải được cấy ngay trong ngày lấy mẫu.

Nếu không thể kiểm tra trong cùng một ngày lấy mẫu thì phải sử dụng dịch pha loãng có chứa chất trung hòa để làm ẩm miếng gạc trước khi lấy mẫu.

Nếu sử dụng chất khử trùng đã biết thì thêm chất trung hòa thích hợp (xem Bảng 1) vào dịch pha loãng có liên quan (5.1).

Nếu sử dụng chất khử trùng chưa biết chính xác thì thêm chất trung hòa “thông dụng” (5.3.2).

8.2 Lấy mẫu bề mặt

8.2.1 Lấy mẫu bằng gạc vải

Khi sử dụng loại gạc này (6.1.4) cần đeo găng tay cao su mới (6.1.2) đối với mỗi mẫu hoặc sử dụng “kỹ thuật lộn ngược túi”, trong đó túi polyetylen (6.1.2) giữ miếng gạc đã được lộn ngược để lộ miếng gạc, sử dụng miếng gạc để lấy mẫu bề mặt. Chà mạnh mỗi miếng gạc trên bề mặt đã chọn sao cho mỗi mặt miếng gạc được phủ hết và có thể nhìn thấy miếng gạc bị bẩn, lấy mẫu trên một diện tích tối thiểu là 1 m². Túi sau đó được lộn ngược trở lại, niêm phong và để vận chuyển mẫu gạc. Khi lấy mẫu bề mặt khô, miếng gạc cần được làm ẩm bằng dịch pha loãng thích hợp (5.1). Nếu có thể nên sử dụng cả hai mặt miếng gạc để tối đa diện tích bề mặt được lau và thu được vật liệu trên miếng gạc. Cũng có thể dùng miếng gạc lấy mẫu từ các phần riêng biệt của bề mặt.

Khi lấy mẫu các khu vực như các vết nứt và các khe tường thì các miếng gạc có thể được gắn vào một que gỗ vô trùng hoặc dụng cụ tương tự và được ấn nhẹ xuống các vết nứt.

8.2.2 Lấy mẫu bằng tấm bông

Để thu được tối đa vi sinh vật thì sử dụng tấm bông(6.1.5) lớn nhất có thể.

Khi lấy mẫu từ các khu vực quá ướt thì tấm bông phải khô nhưng nếu khu vực lấy mẫu khô (ví dụ mẫu môi trường) thì tấm bông cần được làm ẩm bằng dịch pha loãng thích hợp (xem 5.1).

Lấy tấm bông ra khỏi vỏ bọc vô trùng và làm ẩm đầu tấm bằng cách ngâm trong ống chứa dịch pha loãng. Ấn đầu tấm bông vào thành ống để loại bỏ chất lỏng còn dư.

Khi lấy mẫu bề mặt, diện tích lớn vừa đủ cần được lau để đảm bảo tất cả các bề mặt của tấm bông được phủ đều vật liệu. Một vài vị trí đặc biệt khác nhau cần được lau hoặc lấy nhiều tấm bông để thu được vi sinh vật đích tối đa. Khi lấy mẫu các khu vực có các vết nứt hay khe tường, mục đích để thăm dò độ sâu của vật liệu hữu cơ có mặt và thu được nhiều vật liệu nhất có thể trên tấm bông. Sau khi lấy mẫu, bề hoặc cất tấm bằng kỹ thuật vô trùng. Cho vào môi trường vận chuyển (xem Điều 12), nếu cần.

8.3 Lấy mẫu sàn nhà

8.3.1 Lấy mẫu bằng bao gạc bọc ủng

Đảm bảo rằng diện tích bề mặt bao gạc bọc ủng (6.1.6) là tối đa và các bao gạc này phải ướt hoàn toàn trước khi sử dụng. Bao gạc phải được đi bên ngoài “túi bọc ủng” (6.1.3) sạch và không để túi bọc ủng và bao gạc tiếp xúc trực tiếp với chất khử trùng. Do đó, để vào khu vực lấy mẫu cần phải đi qua máng chứa chất khử trùng trước khi đi túi bọc ủng hoặc bao gạc bọc ủng. Bao gạc bọc ủng có thể được sử dụng để lấy mẫu mọi loại bề mặt sàn. Bao gạc bọc ủng được sử dụng để lấy mẫu các nhóm động vật trước khi có bất kỳ thay đổi hoặc có lớp lót nền bổ sung.

Các bao gạc bọc ủng có thể được làm ấm bằng nước sạch hoặc dịch pha loãng thích hợp khác (xem 5.1) hoặc có thể sử dụng các bao gạc đã làm ấm trước đó. Điều quan trọng là phải đi trên một diện tích lớn đại diện cho khu vực lấy mẫu, ví dụ trong các chuồng nuôi gia cầm cần đi ít nhất 100 bước một chuồng, bao gồm cả toàn bộ chiều dài, chiều rộng của chuồng, các khu vực rác thải và khu vực được lát gỗ mỏng và đảm bảo rằng bao gồm cả các khu vực chứa phân và rác thải ướt bên dưới nguồn nước uống.

Thay các bao gạc bọc ủng sau mỗi đơn vị được lấy mẫu.

8.3.2 Lấy mẫu bằng tấm gạc

Có thể sử dụng tấm gạc (6.1.7) giống như bao gạc bọc ủng và áp dụng cùng các nguyên tắc lấy mẫu, nghĩa là cần lấy đại diện các bề mặt lấy mẫu, tốt nhất sử dụng nhiều tấm gạc trên một diện tích. Để tăng hiệu quả của các tấm gạc, thỉnh thoảng dẫm lên tấm gạc vài lần trong khi vẫn mang túi bọc ủng (6.1.3).

8.3.3 Lấy mẫu phân chuồng

8.3.3.1 Mô tả

Phân chuồng là lớp đất trộn lẫn với phân động vật.

8.3.3.2 Quy trình lấy mẫu

Việc lấy mẫu phân chuồng từ rơm lót ổ gia cầm là rất dễ dàng nhưng thường không đại diện, khi đó có thể thiếu độ nhạy. Tốt hơn là thu lấy một lượng mẫu lớn và sau đó lấy các phần mẫu thử tại trại chăn nuôi. Cách tốt nhất để lấy các mẫu phân chuồng là di chuyển qua toàn bộ chuồng nuôi, lấy các lượng nhỏ phân chuồng từ ít nhất 60 khu vực riêng rẽ trong chuồng nuôi để thu được một lượng mẫu khoảng 2 kg. Lượng mẫu này có thể được gửi đến phòng thử nghiệm hoặc có thể được trộn kỹ và lấy một phần mẫu thử ít nhất 25 g gửi đến phòng thử nghiệm. Các mẫu phân chuồng nên được lấy trước khi cho ăn.

8.3.4 Các mẫu phân sà hỗn hợp không tự nhiên

8.3.4.1 Mô tả

Phân sà là các loại phân do động vật bài tiết ra, thu được từ sà chuồng nuôi.

8.3.4.2 Quy trình lấy mẫu

Mẫu chung thường được lấy từ 5 đến 20 mẫu phân riêng rẽ thì không làm giảm mạnh độ nhạy của việc xác định *Salmonella*, cũng như kết quả cạnh tranh của hệ sinh vật cạnh tranh và ảnh hưởng của các chất ức chế như axit hữu cơ, chất kháng khuẩn hoặc thể thực khuẩn, nhưng các mẫu chung lớn

thường thu được từ gia cầm, hỗn hợp và phần mẫu thử lấy được. Điều này có thể tăng nguy cơ làm loãng mẫu và không phát hiện được vật liệu dương tính trong mẫu chung khi tỷ lệ đàn thấp, nhưng cũng có thể làm tăng khả năng lấy được phân tươi rải rác. Các loại phân hỗn hợp tự nhiên cũng như các loại phân bám trên bộ phận cào phân của băng tải hoặc tấm lót trong chuồng gia cầm hoặc trên cầu dẫn phân chuồng lỏng, máy cào phân hoặc máy rải phân tại trại chăn nuôi lợn và gia súc thường là mẫu rất tốt vì phân từ lượng lớn các động vật riêng rẽ thường được gộp thành một mẫu và gom lại trong một thời gian dài. Cần đảm bảo sự phân bố của các mẫu lấy được là đại diện cho bầy hoặc đàn vật nuôi. Trong các mẫu phân lớn, ví dụ mẫu phân từ gia súc, tác nhân gây bệnh đích có thể phân bố không đồng đều trong mẫu phân riêng rẽ. Vì vậy, nên lấy nhiều phần mẫu thử để tối ưu hóa việc phát hiện các sinh vật đích.

Đối với các vi sinh vật trong phép thử phát hiện dựa trên phương pháp nuôi cấy có độ nhạy thấp thì không nên gộp các mẫu phân riêng rẽ vì ảnh hưởng cạnh tranh của các sinh vật khác là rất lớn dẫn đến giới hạn phát hiện đối với vi sinh vật đích tương đối cao.

8.3.5 Các mẫu phân hỗn hợp tự nhiên

8.3.5.1 Mô tả

Đây là các mẫu phân kết hợp tự nhiên từ các động vật nuôi giữ trong đàn. Sự tích trữ phân có thể xảy ra trong một khoảng thời gian hoặc được gộp lại khi dọn vệ sinh hoặc bằng hệ thống làm sạch phân.

8.3.5.2 Quy trình lấy mẫu

Các mẫu phân hỗn hợp tự nhiên từ các chuồng nuôi riêng rẽ hoặc nuôi theo đàn, ví dụ lợn hoặc gia súc, có thể thu được thủ công bằng thìa, dao trộn (6.1.12) – đôi khi được lấy bằng xẻng lấy mẫu. Cách khác, phân có thể được thu gom từ mặt đất, dùng tay lồng bên trong một túi chất dẻo lộn ngược (túi chất dẻo được lộn ngược mặt sạch ra phía ngoài). Sau khi lấy phân, túi được tháo khỏi tay và lộn ngược mặt phải ra ngoài để giữ kín mẫu phân. Túi sau đó có thể được niêm phong kín. Ngoài ra, có thể sử dụng miếng gạc vải (6.1.4) để lau qua các khu vực vật liệu dính phân tươi đã được gom lại.

Ví dụ phân tươi hỗn hợp tự nhiên được trộn lẫn với phân đồ đông trên các tấm lót phân hoặc máy cào phân sau khi chạy máy cào phân hoặc băng tải phân trong trại chăn nuôi nhiều tầng; phân được đồ đông trên các bãi thả gia súc hoặc các băng tải tự động hoặc các cầu nâng phân bón và máy rải phân bón trong quá trình chăn nuôi lợn; hoặc phân bón trong các khu vực cho ăn hoặc khu vực nước uống trong khu ăn nghỉ của động vật cho sữa. Không lấy được các mẫu loại này trong các hệ thống bãi rác thải sâu, nhưng trong trường hợp này có thể thu được các chất lỏng bị rò rỉ từ rác thải bằng miếng gạc vải. Ngoài ra cũng có thể sử dụng các bao gạc bọc ủng để lấy mẫu lớp lót nền.

8.4 Mẫu bụi

8.4.1 Mô tả

Bụi là do sự lắng đọng của các hạt trong không khí có nguồn gốc chủ yếu từ phân khô của động vật nhưng cũng có thể bao gồm cả vật liệu từ da, lông hoặc da của động vật và các vật liệu môi trường đã khô, ví dụ vật liệu lót nền bị vỡ và khô thành bụi, các hạt thức ăn dạng bột mịn.

Các mẫu bụi không thích hợp để khảo sát các vi sinh vật nhạy với môi trường khô như *Campylobacter*.

8.4.2 Quy trình lấy mẫu

Bụi có thể được lấy thủ công bằng cách sử dụng găng tay cao su hoặc lấy từ sàn nhà bằng cách sử dụng bàn chải cứng thích hợp vô trùng (6.1.13). Ở nơi khó lấy, có thể sử dụng các dụng cụ cạo. Ở nơi rất ít bụi thì có thể sử dụng các miếng gạc vải (6.1.4) ẩm để lấy các lớp bụi mỏng trên bề mặt. Đối với hầu hết các mẫu, càng nhiều bụi bắn thì càng có thể thu được phép thử có độ nhạy cao. Tốt nhất, tránh lấy mẫu bụi bắn từ các khu vực gần các hệ thống phân phối thức ăn vì các hạt bụi thức ăn xuất hiện khắp khu vực bụi tích tụ. Nơi thích hợp để lấy mẫu bụi là vách chắn cửa quạt thông gió, gờ tường, nền và dầm của kết cấu chuồng trại hoặc thiết bị/khớp nối di động và lối đi giữa các chuồng nuôi. Có thể đặt các giá tạm thời ở những nơi cần thiết để gom bụi nếu kết cấu có sẵn của chuồng trại không phù hợp. Cũng có thể sử dụng các thiết bị điện. Không thu lấy bụi từ các máy sưởi hoặc đèn chiếu sáng mới được sử dụng vì nhiệt và ánh sáng làm giảm lượng vi khuẩn có trong mẫu.

8.5 Mẫu nước

8.5.1 Mô tả

Mẫu nước phải bao gồm cặn nếu có và mẫu lấy từ hệ thống cấp nước uống cho động vật.

8.5.2 Quy trình lấy mẫu

Có thể lấy mẫu nước một cách dễ dàng bằng cách sử dụng miếng gạc vải khô (6.1.4) vớt cặn từ dụng cụ uống nước kiểu chuồng hoặc kiểu máng và làm sạch xung quanh bề mặt chung giữa các máng và vật chứa nước, ngăn ngừa mọi sự phát triển của tảo đơn bào hoặc động vật nguyên sinh nếu có thể. Miếng gạc cũng hấp thu từ 20 ml đến 30 ml nước trong quá trình thao tác.

Thông thường không làm sạch được dụng cụ uống nước có khớp nối hoặc kể cả các vết nứt rò rỉ của dụng cụ uống nước trong chuồng nuôi đang được sử dụng, vì điều này chỉ đưa ra sự nhiễm bẩn môi trường nói chung. Đối với động vật uống nước từ nguồn nước tự nhiên tại bãi chăn thả thì mẫu tốt nhất là cặn được lấy từ dòng nước chảy chậm tại các khúc cong trên sông hoặc suối hoặc các hố sâu ở suối nơi mà cặn lắng đọng lại. Các cặn này có thể được vớt lên cho vào một lọ hoặc thu được bằng miếng gạc vải.

Lấy mẫu đường ống hệ thống cấp nước chính trước khi xả cho động vật là cách tốt nhất để thu được các thể tích nước lớn (ví dụ: từ 5 lít đến 10 lít).

Phương pháp khác là lắp một bộ lọc trong hệ thống cấp nước để có thể kiểm tra định kỳ hoặc treo một miếng bọt biển cellulose hoặc miếng gạc lót bông vô trùng trong thùng chứa nước để giữ lại các sinh vật. Miếng gạc này có thể được gỡ bỏ và cấy tại chỗ sau 1 ngày đến 2 ngày lấy mẫu.

8.6 Mẫu gạc Moore hoặc gạc lót bông

Sử dụng gạc Moore (6.1.8) để tập trung vi khuẩn trong các dòng chất lỏng chảy qua hệ thống làm sạch như cống rãnh hoặc các dòng nước.

Đây là những mẫu sàng lọc hữu ích để phát hiện các vi khuẩn như *Salmonella* tại chỗ. Các dụng cụ lấy mẫu này thường được thả neo trong cống rãnh hoặc cho nước thải chảy qua từ 5 đến 7 ngày, sau đó lấy ra và đưa vào nuôi cấy.

8.7 Gạc dây

Phương pháp này đã được sử dụng thành công để phát hiện *Escherichia coli* (VTEC) O157 sinh độc tố verotoxin trong các nhóm gia súc, nhưng cùng một nguyên tắc có thể áp dụng cho hầu hết các vi sinh vật trong môi trường.

Da của gia súc thường xuyên bị nhiễm bẩn phân và gia súc thường xuyên liếm da của chúng trong quá trình chải lông gây nhiễm bẩn lưỡi và khoang miệng. Nếu dây gạc vô trùng (6.1.9) được treo ngay phía trên máng đựng thức ăn và nước thì gia súc trong chuồng nuôi có thể cọ xát và nhai dây, do đó vi khuẩn sẽ bám vào sợi dây gạc này. Sau khoảng 24 h để tại chỗ, các dây gạc có thể được tháo bỏ và các vi sinh vật đích được cấy bằng cách ngâm trong canh thang làm giàu.

8.8 Bộ lọc sữa dùng một lần

Bộ lọc sữa thường được bố trí giữa các thiết bị vắt sữa và các bể chứa sữa để loại bỏ các hạt vật liệu ngoại lai lớn ra khỏi sữa, bao gồm cả phân. Các bộ lọc được dùng một lần và thường được làm bằng giấy. Vật liệu thu được từ các bộ lọc này cung cấp một đánh giá tổng thể đầy đủ về tình trạng của vi sinh vật và tiêu chuẩn vệ sinh của trại chăn nuôi, vì chúng được tập trung từ nhiều nguồn khác nhau tạo thành một mẫu đơn lẻ.

Nếu không có bộ lọc dùng một lần, có thể rửa các bộ lọc cố định bằng cách tráng rửa các bộ lọc trong dịch pha loãng có thể được sử dụng trong các phép thử vi sinh vật khác nhau.

9 Kỹ thuật lấy mẫu từ động vật

9.1 Lấy mẫu từ động vật tại trại chăn nuôi

9.1.1 Lấy mẫu bằng tăm bông

Việc nhốt giữ động vật thường là cần thiết. Khi lấy mẫu trực tràng, ổ nhóp hoặc khoang mũi bằng que gạt (6.1.5), cần cẩn thận để không làm bị thương các con vật trong khi thu lấy các vật liệu lấy được trên tăm bông. Điều này được thực hiện bằng cách nhẹ nhàng ngoáy một vòng tăm bông và đồng thời kiểm tra cẩn thận các khoang mũi được lấy mẫu. Không nên sử dụng tăm bông bằng gỗ để làm sạch trực tràng. Tăm bông cần được thấm ướt trước khi sử dụng bằng dung dịch muối đẳng trương, nước vô trùng hoặc bất kỳ môi trường có ích cho vi khuẩn và an toàn đối với động vật.

9.1.2 Phân

9.1.2.1 Mô tả

Phân tươi phải được lấy trên sàn nhà hoặc lấy trực tiếp từ trực tràng của động vật. Thông thường dễ dàng thu được mẫu phân tươi ngay sau khi vật nuôi đã ăn no vì sẽ kích thích quá trình bài tiết.

9.1.2.2 Quy trình lấy mẫu

Một mẫu phân gồm hỗn hợp phân tươi được lấy từ ít nhất năm địa điểm khác nhau trên sàn của chuồng nuôi, mẫu phân hỗn hợp đại diện cho các mẫu phân phân bố trong chuồng.

Để lấy mẫu phân riêng rẽ, thì việc nhốt giữ vật nuôi thường là cần thiết. Cẩn thận lấy mẫu phân khỏi trực tràng bằng cách sử dụng các ngón tay đeo găng tay mới hoặc vô trùng (6.1.2) và thay găng tay giữa mỗi lần lấy mẫu từng con vật.

9.1.3 Lấy mẫu trên da hoặc lông

9.1.3.1 Mô tả

Da và lông thường bị nhiễm bẩn phân và do đó là một vị trí thuận lợi để lấy mẫu, việc lấy mẫu trên da và lông có thể chỉ ra sự có mặt của các mầm bệnh trong đàn.

Các miếng gạt lớn được làm ẩm bao gồm các miếng gạt vải được sử dụng (xem 6.1.4)

9.1.3.2 Quy trình lấy mẫu

Việc nhốt giữ vật nuôi có thể là cần thiết, nhưng lấy mẫu có thể thường được thực hiện trong suốt quá trình cho ăn. Lựa chọn số lượng vật nuôi đại diện trong một chuồng nuôi.

Tiếp tục lau lưng hoặc các khu vực bị nhiễm bẩn khác của vật nuôi (tối đa là năm con một miếng gạc). Đối với lợn, lau lưng từ vai đến đuôi bằng cùng một miếng gạc cho thấy là có hiệu quả. Đối với các loại động vật khác, các khu vực đáy chậu và bụng có thể thích hợp hơn.

9.1.4 Lấy mẫu tại đoạn nối trực tràng-hậu môn

9.1.4.1 Mô tả

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh sự hình thành khuẩn lạc của VTEC O157 tại đoạn nối trực tràng – hậu môn ở gia súc. Lấy mẫu thủ công bằng cách lau có thể cho độ nhạy cao hơn so với lấy mẫu phân từ các vật nuôi riêng rẽ.

Sử dụng miếng gạc vải (6.1.4).

9.1.4.2 Quy trình lấy mẫu

Các vật nuôi riêng rẽ được lấy mẫu thủ công bằng cách dùng ngón tay di chuyển miếng gạc vải trực tiếp lên niêm mạc bên trong hậu môn. Đối với gia súc trưởng thành, miếng gạc có thể được quấn quanh tay và xoay bàn tay trong quá trình kiểm tra trực tràng.

9.2 Lấy mẫu vật nuôi tại cơ sở giết mổ

9.2.1 Lượng chứa trong trực tràng

9.2.1.1 Mô tả

Thu lấy lượng chứa trong trực tràng tại các cơ sở giết mổ sau khi vật nuôi chết bằng cách lấy trực tràng hoặc lượng chứa trong trực tràng sau khi moi ruột hoặc trong một số trường hợp có thể lấy mẫu trực tràng trước khi moi ruột.

9.2.1.2 Quy trình lấy mẫu

Sử dụng đèn khí đốt cầm tay, đốt bề mặt bên ngoài của trực tràng hoặc khử trùng bằng etanol hoặc khăn lau (5.2) có tấm cotton, để chất khử trùng bay hết.

Thu lấy tối thiểu 25 g lượng chứa trong trực tràng vào các túi kín vô trùng hoặc vào các vật chứa có nắp vặn vô trùng.

9.2.2 Lượng chứa trong manh tràng hoặc toàn bộ manh tràng

9.2.2.1 Mô tả

Lấy lượng chứa trong manh tràng ra khỏi ruột sau khi moi ruột.

Đối với gia cầm, các mẫu tốt nhất là manh tràng còn nguyên vẹn. Đối với lợn và các vật nuôi khác, đoạn cuối của manh tràng có thể được buộc lại và gửi đến phòng thử nghiệm, hoặc có thể khử trùng cẩn thận bên ngoài manh tràng và các lượng chứa được lấy tại một chỗ.

9.2.2.2 Quy trình lấy mẫu

9.2.2.2.1 Đối với gia cầm

Cắt ngang một đầu gần ruột và một đầu ở ngoài manh tràng bằng cách kéo hoặc cắt, cả hai túi manh tràng được cho vào một vật chứa vô trùng. Cách khác, cắt cẩn thận một túi manh tràng còn nguyên vẹn mà không làm rơi các lượng chứa ra ngoài.

9.2.2.2.2 Lợn và các vật nuôi khác

Lấy ruột và buộc đầu vào của manh tràng bằng một tay. Vuốt lượng chứa trong manh tràng về phía cuối của nó. Sử dụng đèn khí đốt cầm tay, đốt bề mặt hoặc khử trùng bằng etanol (5.2), để etanol bay hết.

Rạch một vết hình khuy áo dài khoảng 0,5 cm trên thành manh tràng bằng dao mổ vô trùng. Xoay ngược manh tràng để vết hình khuy áo quay xuống. Thường không cần thiết gây áp lực lên manh tràng để đưa lượng chứa trong manh tràng qua các vết rạch, nhưng điều này có thể được thực hiện nếu cần. Lấy cẩn thận sao cho các lượng chứa không chạm đến phần chưa được khử trùng của thành manh tràng và không để giọt chất lỏng nào từ bên ngoài ruột lẫn vào mẫu.

Thu lấy các mẫu vào các túi hoặc các vật chứa lớn vô trùng có nắp đậy kín.

9.2.3 Hạch bạch huyết màng treo ruột

9.2.3.1 Mô tả

Phân lập ruột. Xác định đoạn nối ruột tịt-manh tràng.

Gỡ phần màng treo ruột tịt-manh tràng bằng tay để tiếp cận đến các hạch bạch huyết ruột tịt-manh tràng.

9.2.3.2 Quy trình lấy mẫu

Sử dụng găng tay sạch mới (6.1.2) (găng tay bằng chất dẻo bó sát thích hợp) và gỡ các hạch bạch huyết ra khỏi màng treo và xung quanh các mô mỡ bằng tay. Để thu được 25 g mẫu chung, thông thường các mẫu cần bao gồm cả các hạch bạch huyết ở đầu gần hồng tràng.

Cho mẫu vào trong túi kín hoặc vật chứa có nắp vặn vô trùng.

9.2.4 Amidan

9.2.4.1 Mô tả

Trong một số trường hợp, cần loại bỏ hàm dưới ra khỏi đầu động vật để tiếp cận đến họng. Các hạch nhân lưỡi được ghép thành từng cặp ở gốc lưỡi, amidan vòm miệng nằm trong khu vực vòm miệng (gốc miệng) dưới niêm mạc vòm miệng. Các hạch nhân lưỡi thường được loại bỏ cùng với bộ lông hoặc có thể gắn lại vào đầu.

9.2.4.2 Quy trình lấy mẫu

Sử dụng các công cụ vô trùng (dao và kẹp) (6.1.11), cẩn thận cắt ra hai hạch nhân lưỡi tránh cắt amidan ở các hạch nhân lưỡi. Nếu không có hạch nhân lưỡi thì cắt amidan vòm miệng. Cho mẫu vào một túi vô trùng buộc kín hoặc vật chứa có nắp vặn vô trùng.

10 Kỹ thuật lấy mẫu tại các trại sản xuất giống

10.1 Yêu cầu chung

Kiểu lấy mẫu này được chủ yếu được dùng để phát hiện *Salmonella*.

10.2 Các mẫu lớp lót lồng ấp

10.2.1 Mô tả

Lớp lót lồng ấp là các tấm giấy được sử dụng để lót các khay ấp trứng bằng chất dẻo hoặc kim loại.

10.2.2 Quy trình lấy mẫu

Mẫu có diện tích bề mặt của tấm lót càng lớn càng tốt, tổng cộng khoảng 1 m², nghĩa là các mẫu rất lớn thu được phải được nuôi cấy trong túi hoặc vật chứa lớn. Nếu có thể, còn bao gồm cả vỏ trứng vỡ, mẫu có thể bao gồm cả vỏ trứng vỡ và bị nghiền nát trong lớp lót. Thu cẩn thận các mẫu lớp lót vào một túi vô trùng để giữ nguyên chất nhớt càng nhiều càng tốt.

10.3 Vỏ trứng vỡ

10.3.1 Mô tả

Các loại mẫu này là các vỏ trứng rỗng còn lại sau khi gà nở và gà con đã được mang đi.

10.3.2 Quy trình lấy mẫu

Vỏ trứng vỡ có thể được thu từ hệ thống không sử dụng lớp lót lồng ấp. Cần thu các mảnh trứng vỡ từ càng nhiều ổ trong một lồng ấp càng tốt vào một túi lớn.

10.4 Lông tơ trong lồng ấp

10.4.1 Mô tả

Mẫu này là vật liệu lớn, nhẹ, khô như bụi bắt nguồn từ lớp da của gà con, cùng với vật liệu từ phân su khô và một số bụi trên bề mặt của lồng ấp.

10.4.2 Quy trình lấy mẫu

Mặc dù thường có một lượng lớn lông tơ sinh ra trong quá trình trứng nở, nhưng có một số vật liệu thích hợp hơn để thử nghiệm so với các vật liệu khác. Lông tơ lấy từ sàn của các lồng ấp là tốt nhất, nhưng chúng rất ẩm do độ ẩm trong lồng ấp cao và phải được gửi đến phòng thử nghiệm, đôi khi tập hợp các mẫu lông tơ khô hơn từ các ống nổi trên cao là tốt hơn, đặc biệt là mẫu lông tơ trong ống thông khí của lồng ấp. Có thể thu được mẫu này bằng tay đeo găng hoặc bằng miếng gạc vải.

Để tránh việc xử lý lông trong phòng thử nghiệm và hạn chế nguy cơ lây nhiễm chéo, nên thu lấy một lượng lông cần phân tích vào các túi hoặc các bình đủ lớn để có thể bổ sung trực tiếp môi trường nuôi cấy vào bình thu được. Lượng lông tơ hoặc bụi cần thiết cũng có thể được cho vào một túi gạc rộng để giảm thiểu sự phân tán của các lông nhỏ trong các thao tác phòng thí nghiệm.

10.5 Phân su

10.5.1 Mô tả

Đây là các mẫu đầu tiên thải ra từ đường ruột của gà con mới nở, thu được bằng cách dùng tay bóp các lỗ huyết của gà con.

10.5.2 Quy trình lấy mẫu

Thao tác này thường được tiến hành trong quá trình phân loại giới tính khi lỗ huyết được kiểm tra bằng tay là một phần của thao tác phân loại gà thông thường. Phân su được dồn vào một vật chứa cho đến khi thu được một mẫu chung từ ít nhất 250 con gà con. Tốt nhất phải thu được mẫu này từ ít nhất 300 con gà sao cho có thể phát hiện được tỷ lệ nhiễm bản phân su của 1 % đàn.

10.6 Lấy mẫu tại các lồng ấp

10.6.1 Mô tả

Các mẫu này được lấy bằng các miếng gạc vải (6.1.4)

10.6.2 Quy trình lấy mẫu

Xem 8.2.1.

10.7 Chất thải ướt tại nơi ấp trứng

10.7.1 Mô tả

Mẫu này bao gồm tất cả các vật liệu có nguồn gốc từ quá trình ấp trứng: vỏ trứng, phôi chết trong vỏ, gà con chết và những vật thừa được xử lý qua một máy ngâm trước khi xả vào thùng chất thải.

10.7.2 Quy trình lấy mẫu

Gạc vải được lau ở phía trong máy ngâm, các vật liệu bị đổ và văng ra khỏi máy ngâm có thể được sử dụng để đánh giá sự nhiễm bẩn của các vật liệu đã ngâm trước đó.

10.8 Phôi chết trong vỏ

10.8.1 Mô tả

Các phôi gà con đã chết được lấy mẫu để kiểm tra sau khi chết để phát hiện *Salmonella* lây nhiễm.

Khi trứng vẫn còn nguyên vẹn thì phôi là một chỉ thị đặc trưng có khả năng nhiễm *Salmonella* trong đàn giống. Vấn đề là tần suất lây truyền bên trong trứng chưa nở thường rất thấp, do đó trừ khi lượng lớn các mẫu được kiểm tra độ nhạy phát hiện sự lây nhiễm là thấp. Mẫu này cũng không được tính đến việc truyền nhiễm *Salmonella* qua các bề mặt vỏ, vết nứt, và màng vỏ.

10.8.2 Quy trình lấy mẫu

Thông thường, lấy tối thiểu 60 quả trứng đưa đến phòng thử nghiệm. Dùng kỹ thuật vô trùng lấy các bộ phận nội tạng và túi noãn hoàng ra khỏi các phôi và gộp lại.

10.9 Gà loại

10.9.1 Mô tả

Gà con mới nở tại trại nuôi chọn giống (những con trống của dòng gà đẻ) hoặc gà con bị khuyết tật được phát hiện là không thích hợp để nuôi dưỡng và thường được chọn lọc tại các trại giống.

10.9.2 Quy trình lấy mẫu

Việc kiểm tra được thực hiện theo nguyên tắc tương tự như các mẫu phôi chết trong vỏ. Thông thường, lấy tối thiểu 60 con gà đưa đến các phòng thử nghiệm.

10.10 Lấy mẫu từ gà con vận chuyển đến các trại chăn nuôi

10.10.1 Mô tả

Mẫu này là một tấm bìa cứng được đặt trên đáy hộp chứa gà con trong khi vận chuyển gà đến trại chăn nuôi. Phân su của gà sẽ dính lên các tấm bìa. Khi sử dụng mùn cưa làm lớp lót thì mẫu này không thích hợp lắm vì bị lẫn lộn và có thể lấy các miếng vụn từ đáy của nhiều hộp có sử dụng các miếng gạc vải.

10.10.2 Quy trình lấy mẫu

Tốt nhất là nên lấy mẫu trước khi thả gà vào chuồng nhưng điều này không phải lúc nào cũng thực hiện được. Mẫu cần được lấy cẩn thận để giảm thiểu sự nhiễm bẩn từ chuồng hoặc tay người lấy mẫu.

Đặt vào ít nhất năm lớp lót cho một đàn, tổng diện tích bề mặt ít nhất là 1 m² vào túi bằng chất dẻo vô trùng và đặt túi mẫu này vào một túi thứ hai trước khi gửi đến phòng thử nghiệm.

11 Kỹ thuật lấy mẫu động vật được vận chuyển bằng xe, thùng và sọt

11.1 Yêu cầu chung

Lấy mẫu gạc từ động vật được vận chuyển phải thực hiện càng sớm càng tốt sau khi đưa động vật đi.

11.2 Xe chở gia súc lớn (trâu, cừu, lợn, ngựa)

Sử dụng miếng gạc vải loại lớn (6.1.4) hoặc các dụng cụ lấy mẫu thích hợp khác (trong các xe tải chở gia súc), có thể dùng bao gạc bọc ủng (6.1.6) để lấy mẫu phân còn sót lại trên mặt sàn. Lấy mẫu đại diện tất cả khu vực trên sàn. Khi lấy mẫu bề mặt, thì bề mặt lấy mẫu càng rộng, số lượng mẫu riêng rẽ được lấy và thử nghiệm càng lớn thì khả năng phát hiện các sinh vật đích càng cao.

11.3 Thùng và sọt dùng để vận chuyển gia cầm

Rất khó làm sạch và khử trùng hiệu quả các sọt được sử dụng để vận chuyển gia cầm giết mổ, do sự nhiễm bẩn được phát hiện bằng cách lấy mẫu gạc có thể liên quan đến các vấn đề trước đó hơn là gia cầm hiện có. Mặc dù vậy, lấy mẫu gạc phân phân còn lại trong sọt và trên sàn xe vận chuyển có thể có ích để đánh giá khả năng nhiễm bẩn của lô hàng giết mổ. Khi lấy mẫu bề mặt, lấy mẫu gạc của một lượng đại diện các sọt trong cùng một lô càng lớn thì cơ hội phát hiện vi sinh vật càng lớn. Chỉ nên dùng gạc lau sàn của các sọt và nên lấy nhanh một lượng lớn các sọt hơn là lấy mẫu toàn bộ một số lượng nhỏ các sọt.

Trong trường hợp các thùng và các sọt được dùng để vận chuyển gia cầm đang trong quá trình nuôi vỗ béo hoặc nuôi đẻ trứng (làm giống hoặc sản xuất trứng thương phẩm), các trang thiết bị phải được

khử trùng hiệu quả giữa các lô sao cho việc lấy mẫu bằng gạc đại diện hơn về tình trạng của các lô hàng này.

11.4 Lấy mẫu xe vận chuyển sau khi làm sạch và khử trùng

Sử dụng gạc vải cầm tay (6.1.4) để lấy mẫu càng nhiều càng tốt bề mặt đã tiếp xúc với động vật, cũng như các bề mặt khác trong xe bao gồm cả quạt thông gió.

Để đánh giá khả năng xe vận chuyển vẫn có khả năng nhiễm bẩn (sau khi làm sạch và khử trùng), thì có thể lấy mẫu chỗ để chân, bánh xe hoặc vật liệu bề mặt cần lấy mẫu.

12 Bảo quản và vận chuyển mẫu

12.1 Khuyến cáo chung

Đối với các yêu cầu chung, xem TCVN 6404 (ISO 7218).

Việc vận chuyển mẫu phải tuân theo các quy định an toàn sinh học.

Sự chậm trễ giữa thời điểm lấy mẫu và kiểm tra nên càng ngắn càng tốt. Các mẫu tốt nhất nên được làm lạnh trước khi cho vào vật chứa vận chuyển đã được cách ly và phương tiện vận chuyển cần được làm lạnh. Mẫu nếu được vận chuyển ở nhiệt độ thường, thì tốt nhất cần được kiểm tra trong vòng 24 h sau khi lấy mẫu. Mẫu được giữ lạnh khi vận chuyển cần thực hiện kiểm tra trong vòng 72 h.

Đối với các mẫu phân và mẫu môi trường để phát hiện *Salmonella* thì tránh vận chuyển ở nhiệt độ môi trường nóng quá mức (trên 25 °C) và tránh tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời và tiến hành kiểm tra mẫu trong vòng 72 h.

12.2 Khuyến cáo đối với các vi sinh vật nhạy cảm

Đối với các vi khuẩn nhạy cảm, như: *Campylobacter*, tất cả các mẫu nên được làm ẩm, vận chuyển và kiểm tra trong vòng 24 h ở nhiệt độ thường và trong vòng 48 h hoặc 72 h tùy thuộc loại mẫu nếu được giữ lạnh (xem Bảng 2). Tiến hành cẩn thận để tránh làm đông các mẫu đã làm lạnh. Trong một số trường hợp, môi trường vận chuyển là rất có ích, ví dụ môi trường vận chuyển Amies dùng cho tấm bông hoặc môi trường Cary-Blair dùng cho bao gạc bọc ủng (6.1.6). Mẫu phòng thử nghiệm chưa được kiểm tra phải được bảo quản lạnh trước khi phân tích.

Khuyến cáo lấy các loại mẫu khác nhau cho các sinh vật nhạy cảm khác nhau được liệt kê trong Bảng 2.

**Bảng 2 – Khuyến cáo bảo quản, vận chuyển, nhiệt độ và thời gian
đối với các vi sinh vật nhạy cảm**

Loại mẫu	Môi trường vận chuyển	Nhiệt độ	Thời gian tối đa trước khi kiểm tra mẫu
Phân (chọn các mẫu tươi và ẩm)	Không cần thiết (mẫu ẩm tự nhiên)	Từ 2 °C đến 10 °C	72 h
		Nhiệt độ môi trường từ 2 °C đến 25 °C	24 h
Bao gạc bọc ủng Các mẫu môi trường (được làm ẩm trước khi sử dụng)	Giữ ẩm bằng cách bổ sung môi trường vận chuyển thích hợp hoặc thu lấy môi trường được sử dụng để nuôi cấy vào vật chứa	Từ 2 °C đến 10 °C	48 h Hoặc ngày thu mẫu nếu thu được mẫu trong toàn bộ thể tích được sử dụng để tăng sinh
		Nhiệt độ môi trường từ 2 °C đến 25 °C	24 h
Lượng chứa trong manh tràng (chỉ dùng để phát hiện)	Không cần thiết nếu manh tràng còn nguyên vẹn (mẫu ẩm tự nhiên)	Từ 2 °C đến 10 °C	72 h
		Nhiệt độ môi trường từ 2 °C đến 25 °C	48 h
Lượng chứa trong manh tràng dùng để định lượng	Không cần thiết nếu manh tràng còn nguyên vẹn (mẫu ẩm tự nhiên)	Từ 2 °C đến 10 °C	48 h
		Nhiệt độ môi trường từ 2 °C đến 25 °C	24 h
Que gạc có các lượng chứa trong trực tràng, lỗ huyết, manh tràng hoặc phân tươi	Môi trường Amies	Từ 2 °C đến 10 °C	72 h
		Nhiệt độ môi trường từ 2 °C đến 25 °C	48 h

Cũng có thể tham khảo các tiêu chuẩn cụ thể về vi sinh vật trong nghiên cứu đối với tất cả các yêu cầu bổ sung trong bảo quản và vận chuyển.