

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 7925:2018**

**ISO 17604:2015**

Xuất bản lần 2

**VI SINH VẬT TRONG CHUỖI THỰC PHẨM –  
LẤY MẪU THÂN THỊT ĐỂ PHÂN TÍCH VI SINH VẬT**

*Microbiology of the food chain –  
Carcass sampling for microbiological analysis*

**HÀ NỘI - 2018**

**Lời nói đầu**

TCVN 7925:2018 thay thế TCVN 7925:2008;

TCVN 7925:2018 hoàn toàn tương đương với ISO 17604:2015;

TCVN 7925:2018 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F8  
*Thịt và sản phẩm thịt* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường  
Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

**Lời giới thiệu**

Việc định lượng vi khuẩn và tỷ lệ nhiễm và/hoặc số lượng vi sinh vật gây bệnh trên thân thịt là thiết yếu để xác nhận hiệu lực và thẩm tra trong các hệ thống đảm bảo vệ sinh giết mổ dựa trên nguy cơ [ví dụ các hệ thống áp dụng các nguyên tắc của hệ thống phân tích mối nguy và các điểm kiểm soát tới hạn (HACCP) và các hệ thống đảm bảo chất lượng].

Ngoài ra, có nhiều phòng thử nghiệm tham gia vào các chương trình theo dõi hoặc giám sát (khu vực, quốc gia và quốc tế) về tỷ lệ nhiễm và/hoặc số lượng vi sinh vật gây bệnh để thu thập thông tin cho việc đánh giá nguy cơ. Việc thiết kế các chương trình theo dõi và giám sát sẽ đem lại lợi ích từ việc sử dụng quy trình lấy mẫu được tiêu chuẩn hóa và được chấp nhận trên thế giới.

Phương pháp lấy mẫu được hài hòa, như mô tả trong tiêu chuẩn này, cũng có thể được quan tâm trong thương mại thịt và các sản phẩm thịt.

## **Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm – Phương pháp lấy mẫu thân thịt để phân tích vi sinh vật**

*Microbiology of the food chain –*

*Carcass sampling for microbiological analysis*

### **1 Phạm vi áp dụng**

Tiêu chuẩn này quy định các phương pháp lấy mẫu để phát hiện và định lượng vi sinh vật trên bề mặt thân thịt hoặc một phần thân thịt động vật sau giết mổ. Việc lấy mẫu vi sinh vật có thể tiến hành như một phần của:

- kiểm soát vệ sinh quá trình (để xác nhận hiệu lực và/hoặc thẩm tra kiểm soát quá trình, ví dụ: tổng số vi sinh vật và *Enterobacteriaceae*) trong các cơ sở giết mổ gia súc lớn, gia cầm và thú săn;
- các hệ thống bảo đảm an toàn sản phẩm dựa trên phân tích nguy cơ;
- các chương trình theo dõi hoặc giám sát về tỷ lệ và/hoặc số lượng vi sinh vật gây bệnh.

Tiêu chuẩn này bao gồm việc sử dụng các kỹ thuật cắt và lau bề mặt tùy thuộc vào lý do lấy mẫu. Tiêu chuẩn này cũng bao gồm việc sử dụng nước rửa thân thịt để kiểm tra thịt gia cầm và một số gia súc nhỏ. Phụ lục A cho thấy các vị trí lấy mẫu trên thân thịt của các loài động vật khác nhau.

### **2 Tài liệu viện dẫn**

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. 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: Nguyên tắc chung để chuẩn bị huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân*

## **TCVN 7925:2018**

TCVN 6507-2 (ISO 6887-2) *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 2: Các nguyên tắc cụ thể để chuẩn bị các mẫu thịt và sản phẩm thịt*

### **3 Thuật ngữ và định nghĩa**

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

#### **3.1**

##### **Thân thịt (carcass)**

Phần cơ thể của động vật sau khi giết mổ và loại bỏ nội tạng

#### **3.2**

##### **Kỹ thuật cắt (excision technique)**

Việc lấy ra phần diện tích xác định của mô bề mặt hoặc da bằng cách cắt

#### **3.3**

##### **Thú săn (game)**

Động vật có vú hoặc chim hoang dã săn bắt được và động vật có vú hoặc chim nuôi, bao gồm cả loài chim không bay (ví dụ: đà điểu), trừ loài động vật móng guốc và chim cảnh, dùng để làm thực phẩm cho người

#### **3.4**

##### **Gia súc lớn (large mammal)**

Trâu, bò, cừu, lợn, ngựa và các loài hươu nai

#### **3.5**

##### **Gia cầm (poultry)**

Các loài chim có kích thước nhỏ hoặc trung bình

VÍ DỤ: Gà, vịt, ngỗng, gà tây, chim bồ câu, gà lôi, chim cú, gà gô.

#### **3.6**

##### **Phương án lấy mẫu (sampling plan)**

Bản mô tả việc kiểm tra một số lượng đơn vị mẫu yêu cầu bởi phương pháp phân tích xác định, bao gồm các tiêu chí chấp nhận

#### **3.7**

##### **Điểm lấy mẫu (sampling point)**

Giai đoạn trên dây chuyền sản xuất nơi mẫu được lấy

### 3.8

#### Vị trí lấy mẫu (sampling site)

Vị trí trên thân thịt mà mẫu được lấy

### 3.9

#### Gia súc nhỏ và động vật nhỏ khác (small mammal and other small animal)

Các loài thỏ, các loài gặm nhấm, rùa, ếch

### 3.10

#### Phương pháp lau bề mặt (swabbing method)

Kỹ thuật sử dụng vật liệu thấm hút gắn vào đầu cuối của que hoặc dây, hoặc miếng bọt biển hoặc miếng vật liệu thấm hút, để lấy vi sinh vật trên bề mặt.

## 4 Nguyên tắc chung

Việc chọn phương pháp lấy mẫu phụ thuộc chủ yếu vào mục đích kiểm tra vi sinh, độ nhạy cần thiết và các xem xét thực tế. Có thể sử dụng các phương pháp cắt, phương pháp lau bề mặt và phương pháp tráng rửa được quy định trong tiêu chuẩn này.

Việc cắt mô bề mặt thường thu được số lượng vi sinh vật trên bề mặt cao hơn so với các phương pháp khác. Không phải tất cả các vi sinh vật thu được sẽ phát triển trên môi trường và trong điều kiện ủ được sử dụng. Độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp cắt và phương pháp tráng rửa ít dao động hơn so với phương pháp lau bề mặt, bởi vì các phương pháp lau bề mặt khó chuẩn hóa hơn.

Tuy nhiên, chỉ có một tỷ lệ nhỏ thân thịt được lấy mẫu bằng phương pháp cắt vì phương pháp này có thể rất thiếu chính xác khi tổng ô nhiễm thấp và phân bố không đồng đều hoặc khi chỉ có thừa thớt các vi sinh vật đích. Phương pháp cắt là phương pháp phá hủy và đôi khi có thể ảnh hưởng đến giá trị của thịt, nhưng được ưu tiên khi lấy mẫu bề mặt sản phẩm đông lạnh.

Các kỹ thuật lau bề mặt hoặc tráng rửa cho phép kiểm tra các diện tích lớn hơn. Các bề mặt nhỏ hơn nhằm vào các vùng đã được xác minh là có mức độ ô nhiễm lớn nhất có thể được kiểm tra bằng cách sử dụng phương pháp cắt hoặc lau bề mặt. Tráng rửa toàn bộ thân thịt là phương pháp hiệu quả và khả thi để kiểm tra gia cầm (ngoại trừ thân thịt của các loài gia cầm lớn) và thân thịt của một số gia súc nhỏ và động vật nhỏ khác.

## 5 Phương án lấy mẫu

Các phương án lấy mẫu phải tương ứng với mục đích thử nghiệm và được áp dụng theo từng tình huống. Các phương án lấy mẫu không được xem xét chi tiết.

## **TCVN 7925:2018**

Giai đoạn xử lý, thời gian kể từ khi bắt đầu quá trình giết mổ, tần suất lấy mẫu và cần tính đến các vấn đề sau đây, nếu có liên quan:

- thực hành giết mổ cho từng loài động vật;
- thiết kế bảo đảm kiểm soát quá trình dựa trên phân tích nguy cơ hoặc các chương trình giám sát hài hòa;
- khối lượng giết mổ;
- kết quả giám sát trước đây (phân tích xu hướng);
- tỷ lệ nhiễm vi sinh vật gây bệnh có liên quan ở vùng xuất xứ của động vật;
- các quy định có liên quan.

Trong trường hợp kiểm soát quá trình, thời gian và tần suất lấy mẫu cần tương ứng với mức độ vệ sinh giết mổ.

Trong trường hợp theo dõi và giám sát vi sinh vật gây bệnh, cần tối đa hóa cơ hội phát hiện và/hoặc đếm các sinh vật gây bệnh, thông qua thời gian lấy mẫu, các vị trí lấy mẫu trên thân thịt và tần suất lấy mẫu.

### **6 Điểm lấy mẫu trên dây chuyền sản xuất**

Các điểm lấy mẫu cần được chọn theo nguyên tắc dựa trên phân tích nguy cơ và tương ứng với xác suất phát hiện ô nhiễm cao hơn trong quá trình hoặc tại các điểm trong quá trình giết mổ, thích hợp để xác định mức độ vệ sinh các bước sản xuất cụ thể hoặc toàn bộ quá trình giết mổ. Ví dụ về các điểm lấy mẫu như sau:

- sau máy đánh lông thân thịt (lợn);
- sau máy rửa thân thịt (lợn và gia cầm);
- sau khi lột da (gia súc lớn, thú săn giết mổ trong lò mổ và các loài khác);
- sau khi bỏ nội tạng (tất cả động vật);
- ngay trước khi làm mát hoặc đông lạnh (tất cả động vật);
- ngay sau khi làm mát (gia cầm, gia súc nhỏ và động vật nhỏ khác);
- sau khi làm mát hoặc đông lạnh (tất cả động vật);
- trong phòng làm mát (tất cả động vật).

Trong thời gian làm mát, tùy thuộc vào điều kiện của phòng làm mát, vi sinh vật có thể bị hư hỏng hoặc chết, các vi sinh vật chịu lạnh có thể phát triển quá mức hoặc có thể gắn chặt hơn vào thịt, dẫn đến kết quả đánh giá bị thấp. Ảnh hưởng này sẽ giảm nếu thực hiện lấy mẫu ngay sau khi giết mổ.

## 7 Các vị trí lấy mẫu trên thân thịt

### 7.1 Gia súc lớn

Các vị trí lấy mẫu được chọn phụ thuộc vào thực hành giết mổ, các biện pháp thực hành này khác nhau tùy theo động vật và lò giết mổ. Mục đích là để kiểm tra các vị trí có tỷ lệ nhiễm cao nhất và/hoặc mức độ ô nhiễm cao nhất (xem Bảng A.1). Hình A.1, Hình A.2 và Hình A.3 minh họa các vị trí thường được xác định là ô nhiễm cao hơn. Các vị trí lấy mẫu khác có thể được nêu cụ thể trong các quy định, các hướng dẫn thực hành hoặc trong các tiêu chuẩn cơ sở. Sự nhất quán lâu dài về các vị trí lấy mẫu là quan trọng để phát hiện những thay đổi trong cách quan sát trong một khoảng thời gian (phân tích xu hướng). Ưu tiên lấy mẫu thân thịt nhiều hơn tại các vị trí có nhiều khả năng bị ô nhiễm, hơn là ở nhiều vị trí trên mỗi thân thịt. Xác định tỷ lệ nhiễm trong các chương trình giám sát thường sẽ có lợi hơn so với từ các diện tích lấy mẫu lớn hơn.

### 7.2 Gia cầm, gia súc nhỏ và các động vật nhỏ khác

Phương pháp phổ biến là tráng rửa toàn bộ những thân thịt nhỏ này. Nếu lấy mẫu bề mặt, các vị trí được chọn phụ thuộc vào thực hành giết mổ của lò giết mổ và thiết bị được sử dụng. Đối với gia cầm, thường lấy mẫu da cổ hoặc da ức.

### 7.3 Thịt thú săn

Đối với thú săn lớn, các vị trí lấy mẫu có thể tương tự như các gia súc lớn (7.1). Nói chung, đối với từng loài thì các mẫu được lấy từ các vị trí có nhiều khả năng bị ô nhiễm nhất.

## 8 Kỹ thuật lấy mẫu

### 8.1 Yêu cầu chung

Đối với một tình huống lấy mẫu nhất định, mỗi lần phải sử dụng cùng một kỹ thuật lấy mẫu, để đảm bảo rằng các kết quả có thể so sánh được. Nói chung, có thể sử dụng ba phương pháp khác nhau: phương pháp cắt (phá hủy), phương pháp lau bề mặt (không phá hủy) hoặc phương pháp tráng rửa. Khi lấy mẫu lau bề mặt của thân thịt, kết quả được biểu thị bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (cfu) trên  $\text{cm}^2$ . Khi sử dụng kỹ thuật tráng rửa, kết quả thường được biểu thị bằng cfu trên thân thịt. Khi lấy mẫu da từ thân thịt gia cầm, kết quả được biểu thị bằng cfu/g.

Có thể gộp một số mẫu từ một thân thịt hoặc từ vài thân thịt tại cùng một vị trí lấy mẫu để tạo thành một mẫu chung để phân tích trong phòng thí nghiệm. Cách khác, một số mẫu từ một thân thịt có thể được gộp thành một mẫu hỗn hợp, từ đó lấy một phần mẫu thử để phân tích [xem TCVN 6507-1 (ISO 6887-1)].



## **8.2 Phương pháp cắt**

Thông thường sử dụng hai phương pháp khác nhau là dùng dụng cụ khoan và dùng khuôn mẫu. Cả hai phương pháp này đều lấy mẫu bề mặt của thịt (phần bên trong của thịt thường vô trùng). Phương pháp dùng dụng cụ khoan thường lấy mẫu các diện tích nhỏ hơn so với phương pháp khuôn mẫu, nhưng dễ sử dụng hơn khi kiểm tra thịt đông lạnh.

### **8.2.1 Phương pháp khoan**

#### **8.2.1.1 Thuốc thử**

**8.2.1.1.1 Etanol, 70 % thể tích.**

#### **8.2.1.2 Dụng cụ**

**8.2.1.2.1 Dao mổ vô trùng.**

**8.2.1.2.2 Kẹp vô trùng.**

**8.2.1.2.3 Dụng cụ khoan vô trùng, có diện tích cắt ít nhất là 5 cm<sup>2</sup> (đường kính khoảng 2,5 cm).**

**8.2.1.2.4 Kéo vô trùng.**

**8.2.1.2.5 Đèn thổi khí cầm tay hoặc đầu đốt Bunsen cầm tay (tùy chọn).**

**8.2.1.2.6 Khăn giấy hoặc vải bông.**

**8.2.1.2.7 Túi chất dẻo vô trùng, dùng cho bộ đồng hóa kiểu nhu động hoặc máy siêu âm có kích thước thích hợp cho bề mặt được lấy mẫu và thể tích dung dịch pha loãng cần dùng.**

#### **8.2.1.3 Thu thập mẫu**

Tại các vị trí tương ứng trên thân thịt, dùng dụng cụ khoan (8.2.1.2.3) vô trùng để tạo các mẫu khoan trên bề mặt thân thịt. Dùng dao (8.2.1.2.1) hoặc kéo (8.2.1.2.4) và kẹp (8.2.1.2.2) vô trùng, cắt nhỏ các mảnh da hoặc các mô (dày khoảng 2 mm) cho vào túi bằng chất dẻo vô trùng đã dán nhãn (8.2.1.2.7).

#### **8.2.1.4 Vệ sinh và khử trùng thiết bị**

Mỗi mẫu phải được lấy bằng dụng cụ sạch và vô trùng (8.2.1.2). Việc khử trùng có thể đạt được, ví dụ bằng cách hấp áp lực. Dụng cụ có thể được sử dụng lại trong quá trình lấy mẫu, với điều kiện đã được làm sạch và khử trùng cẩn thận giữa các lần lấy mẫu. Điều này có thể được thực hiện như sau:

a) làm sạch bằng khăn giấy hoặc vải bông (8.2.1.2.6) nhúng vào etanol 70 % (8.2.1.1.1):

b) ngâm trong chai đựng etanol 70 %;

c) đốt cháy hết etanol (8.2.1.2.5) (nếu sử dụng ngọn lửa trần là nguy hiểm thì chỉ cho phép etanol bốc hơi);

d) để nguội.

Do cần thời gian để làm sạch, nên phải có sẵn một vài bộ dụng cụ đã tiệt trùng trước (ví dụ như dụng cụ khoan, dao mổ và kẹp). Điều quan trọng là những dụng cụ này không bị tái nhiễm trước khi sử dụng. Có thể sử dụng dụng cụ vô trùng dùng một lần.

CHÚ THÍCH: Nếu các mẫu được kết hợp thành mẫu gộp hoặc mẫu hỗn hợp thì không cần phải làm sạch và khử trùng giữa các lần lấy mẫu.

## 8.2.2 Phương pháp cắt khuôn mẫu

Phương pháp này giống như phương pháp dùng dụng cụ khoan (8.2.1), ngoại trừ việc sử dụng các khuôn mẫu và dao mổ hoặc dao thay cho dụng cụ khoan. Các khuôn mẫu thường được làm từ kim loại hoặc chất dẻo và được sử dụng để xác định diện tích lấy mẫu, ví dụ: 10 cm<sup>2</sup>, 50 cm<sup>2</sup> hoặc 100 cm<sup>2</sup>.

## 8.2.3 Lấy mẫu da

### 8.2.3.1 Da cổ

Da cổ thường được lấy ra khỏi thân thịt gia cầm khi chúng đi qua dây chuyền sản xuất, vì vậy chúng phải được cắt bỏ nhanh chóng, nhưng có thể được cắt sau đó và cân (mẫu riêng lẻ hoặc mẫu hỗn hợp). Lấy hai kéo vô trùng (8.2.1.2.4). Mở túi chất dẻo vô trùng (8.2.1.2.7) mà không chạm vào bên trong túi. Giữ chặt túi ở đường nối ở đáy và gấp lại trên tay để lộn trong ra ngoài. Tránh các thân thịt có da cổ rất ngắn, nắm chặt cổ da thịt cẩn thận qua túi và cắt càng nhanh càng tốt. Điều này thường được thực hiện bằng cách sử dụng kéo. Cân mẫu (khoảng 10 g). Nếu cần, lấy vài mẫu để có được cỡ mẫu mong muốn, ví dụ: 25 g hoặc 50 g.

### 8.2.3.2 Da ức

Lấy nhanh phần da ức của gia cầm. Lấy thân thịt cần lấy mẫu và đặt trên một bề mặt phẳng, tránh bất kỳ tiếp xúc với các bộ phận của da được lấy mẫu. Dùng dao mổ (8.2.1.2.1) và kẹp (8.2.1.2.2) lấy ra càng nhiều da ức càng tốt và cân. Các kết quả sau đó được biểu thị theo khối lượng (như cfu trên gam hoặc có mặt/không có mặt vi sinh vật trong 25 g).

## 8.3 Phương pháp lau bề mặt

Lau bề mặt là phương pháp lấy mẫu không phá hủy đặc biệt được sử dụng để lấy mẫu các vùng lớn hơn. Kỹ thuật này bao gồm việc sử dụng que có vật liệu thấm hút, gạc, tampon, bọt biển và vải, chủ yếu tùy thuộc vào điều kiện và diện tích cần kiểm tra.

## **TCVN 7925:2018**

### **8.3.1 Phương pháp gạc bông ướt và khô**

#### **8.3.1.1 Thuốc thử**

**8.3.1.1.1 Dịch pha loãng vô trùng**, để dùng cho mục đích chung [xem TCVN 6507-1 (ISO 6887-1)], được phân phối vào ống hoặc chai với các lượng 10,0 ml.

#### **8.3.1.2 Dụng cụ**

##### **8.3.1.2.1 Gạc bông vô trùng có tay cầm bằng gỗ.**

Kích thước phụ thuộc vào diện tích cần lau (ví dụ: miếng gạc nhỏ cho diện tích 10 cm<sup>2</sup> trên thân thịt thú săn nhỏ, miếng gạc lớn cho 50 cm<sup>2</sup> trên thân thịt bò).

##### **8.3.1.2.2 Tấm khuôn mẫu vuông vô trùng (xem 8.2.2).**

#### **8.3.1.3 Thu thập mẫu**

Làm ướt gạc bông (8.3.1.2.1) trong 10 ml dung dịch pha loãng (8.3.1.1.1). Tại mỗi điểm lấy mẫu trên thân thịt đã chọn, ấn mạnh tấm khuôn mẫu (8.3.1.2.2) lên bề mặt. Dùng lực ấn để xoa miếng gạc trên toàn bộ bề mặt, di chuyển ít nhất hai hướng, ví dụ: đầu tiên theo chiều ngang và sau đó theo chiều dọc, ít nhất 10 lần theo mỗi hướng. Đặt miếng gạc vào dung dịch pha loãng được sử dụng để làm ướt gạc bông, bề gầy trực tiếp vào phía trong chai. Sau đó, dùng một miếng gạc khô, lấy mẫu lại cùng một bề mặt, sử dụng kỹ thuật tương tự để thấm hút hết chất lỏng còn lại từ miếng gạc ướt như trên và đặt miếng gạc này vào cùng bình chứa dịch pha loãng.

Có thể sử dụng lại các dụng cụ đã dùng theo quy định trong 8.2.1.4.

### **8.3.2 Phương pháp bọt biển, gạc bông tampon và vải nhỏ**

Bọt biển và gạc bông tampon được sử dụng để lấy mẫu các bề mặt lớn hơn. Lấy mẫu các bề mặt không có khuôn mẫu lớn hơn có thể làm tăng khả năng phát hiện vi sinh vật gây bệnh có mặt ở mức thấp trên thân thịt. Có thể lấy mẫu tại nhiều vị trí với cùng một miếng gạc.

#### **8.3.2.1 Thuốc thử**

**8.3.2.1.1 Dịch pha loãng vô trùng**, dùng cho mục đích chung [xem TCVN 6507-1 (ISO 6887-1)].

#### **8.3.2.2 Dụng cụ**

**8.3.2.2.1 Miếng bọt biển vô trùng** (không chứa chất ức chế), 25 cm<sup>3</sup> đến 50 cm<sup>3</sup> trong túi chất dẻo vô trùng. Bọt biển cellulose lớn cũng thích hợp để sử dụng.

**8.3.2.2.2 Gạc bông tampon vô trùng**

Những gạc này thường bao gồm các miếng vải có nhiều lớp gạc hoặc bông được bọc trong gạc. Khăn vệ sinh hoặc gạc bông (không chứa chất ức chế) thường được sử dụng.

**8.3.2.2.3 Vải nhỏ vô trùng (không chứa các chất ức chế).****8.3.2.2.4 Túi bằng chất dẻo, dùng cho bộ trộn kiểu nhu động hoặc máy trộn siêu âm.****8.3.2.2.5 Khuôn mẫu vô trùng, có diện tích rỗng bên trong không nhỏ hơn 100 cm<sup>2</sup>.****8.3.2.2.6 Găng tay vô trùng.****8.3.2.3 Thu thập mẫu**

Tại vị trí lấy mẫu, mở túi bằng chất dẻo (8.3.2.2.4) có chứa miếng bọt biển vô trùng (8.3.2.2.1), gạc bông vô trùng (8.3.2.2.2) hoặc miếng vải nhỏ (8.3.2.2.3) và cho thêm dung dịch pha loãng (8.3.2.1.1) từ thể tích dịch pha loãng nhất định (ví dụ 25 ml hoặc 100 ml) đủ để làm ướt miếng bọt biển hoặc gạc bông mà không bị thấm quá nhiều nước. Xoa phía ngoài túi để làm ướt hết miếng bọt biển hoặc gạc bông. Đặt khuôn mẫu (8.3.2.2.5) lên diện tích cần lấy mẫu. Sử dụng túi như một chiếc găng tay bằng cách lộn ngược mặt túi và cầm lấy miếng bọt biển hoặc gạc bông tampon qua túi, lấy da cổ (8.2.3.1) hoặc sử dụng găng tay vô trùng (8.3.2.2.6) mới để lau miếng bọt biển hoặc gạc bông tampon trên bề mặt thử nghiệm. Lấy mẫu bằng cách chà xát ít nhất hai hướng, ví dụ đầu tiên theo chiều ngang và sau đó theo chiều dọc, ít nhất 10 lần theo mỗi hướng. Sau khi lau bề mặt, đặt lại miếng bọt biển hoặc gạc bông tampon vào trong túi chất dẻo và thêm phần còn lại của dịch pha loãng.

Khuôn mẫu có thể được tái sử dụng như mô tả trong 8.2.1.4.

**8.4 Phương pháp tráng rửa thân thịt****8.4.1 Thuốc thử****8.4.1.1 Dịch pha loãng vô trùng, ví dụ: trong thể tích 300 ml, 400 ml hoặc 600 ml.****8.4.2 Dụng cụ****8.4.2.1 Túi bằng chất dẻo kiểu nhu động loại lớn.****8.4.3 Thu thập mẫu****8.4.3.1 Gia cầm**

Thân thịt thường được lấy ra khỏi dây chuyền sản xuất đang hoạt động. Mở một túi kiểu nhu động loại lớn (8.4.2.1) mà không chạm vào bên trong túi vô trùng. Đóng túi chứa thân thịt trong khi vẫn còn trên

## **TCVN 7925:2018**

dây chuyền và dùng hai tay trong khi giữ phía ngoài túi phần chân, nhấc thân thịt ra khỏi dây chuyền (tức là tách chân ra khỏi móc). Cố gắng tránh lấy thân thịt đang còn nhiều nước. Nếu đã lấy các thân thịt đó, trong điều kiện vô trùng, đặt vào móc khác đã khử trùng và để nước chảy ra hết trước khi được bọc trong túi.

Đặt túi chứa thân thịt trên bề mặt phẳng. Giữ phần trên của túi hơi mở, thêm dịch pha loãng vô trùng (8.4.1.1), thường là 400 ml (đối với gà) hoặc 600 ml (gà tây) vào túi, rót dung dịch vào thân thịt và bên ngoài thân thịt. Đuổi hết không khí ra khỏi túi và đóng túi lại, ví dụ: khóa zip. Giữ túi chắc chắn, rửa sạch thân thịt trong và ngoài với chuyển động lắc, trong khoảng 1 min. Dùng một tay để giữ thân thịt ở đáy túi và dùng tay kia đóng túi. Giữ thân thịt theo cách này, di chuyển qua một vòng cung, chuyển thân thịt từ tay này sang tay kia để đảm bảo rằng tất cả các bề mặt (bên trong và bên ngoài) của thân thịt đều được rửa sạch. Đặt túi đựng thân thịt trên bề mặt phẳng và trong khi đỡ thân thịt, mở túi. Lấy thân thịt ra khỏi túi, trước tiên để chất lỏng dư thừa chảy vào túi. Cẩn thận để không chạm vào bên trong túi. Đóng nắp túi sao cho chất lỏng đã rửa thân thịt không tràn ra ngoài hoặc bị nhiễm bẩn. Ngoài ra, chuyển phần nước rửa trong các điều kiện vô trùng từ túi vào hộp chứa vô trùng (ví dụ: chai chứa dịch pha loãng vô trùng). Điều này có thể được thực hiện mà không cần lấy thân thịt ra khỏi túi.

## **9 Bảo quản và vận chuyển mẫu**

Vận chuyển mẫu trong hộp làm lạnh được cách ly với các khối đá đông lạnh, trong hộp làm lạnh dùng đá xay nhỏ hoặc trong tủ lạnh (loại xách tay). Không để các mẫu đông lạnh hoặc tiếp xúc với các khối đá đông lạnh, nếu được sử dụng. Giữ nhiệt độ từ 1 °C đến 8 °C.

Kiểm tra mẫu ngay sau khi nhận hoặc bảo quản mẫu ở 3 °C ± 2 °C trong tối đa 24 h [xem TCVN 6404 (ISO 7218)].

## **10 Kiểm tra vi sinh vật của mẫu**

### **10.1 Yêu cầu chung**

Đối với các quy tắc chung cho kiểm tra vi sinh, xem TCVN 6404 (ISO 7218)].

### **10.2 Chuẩn bị mẫu ban đầu**

Khi lấy mẫu sử dụng một trong các kiểu lau bề mặt, các vi khuẩn phải được phóng thích khỏi miếng gạc lau bằng cách bổ sung một lượng chất lỏng thích hợp (dung dịch pha loãng, canh thang hoặc môi trường tăng sinh) và khuấy trộn và/hoặc xoa túi đựng mẫu.

#### **10.2.1 Phương pháp lau bề mặt**

Để biết chi tiết các hướng dẫn chuẩn bị và cách tính đối với phương pháp lau bề mặt, xem TCVN 8129 (ISO 18593).

#### 10.2.1.1 Kỹ thuật lau khô/lau ướt

Lượng chứa trong hai miếng gạc lau được chiết vào dịch pha loãng bằng cách khuấy trộn trên máy trộn vortex trước khi pha loãng và đổ đĩa theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1). Có thể sử dụng viên bi thủy tinh vô trùng để hỗ trợ cho quá trình này.

#### 10.2.1.2 Phương pháp dùng bột biển, gạc bông và miếng vải nhỏ

Túi có chứa miếng bột biển, miếng gạc hoặc miếng vải nhỏ và dịch pha loãng được đặt trong bộ đồng hóa nhu động trong 1 min hoặc trên bộ đồng hóa lắc ngang trong 30 s trước khi pha loãng và đổ đĩa theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1).

#### 10.2.2 Mẫu đã cắt

Chuẩn bị các mẫu đã cắt theo TCVN 6507-2 (ISO 6887-2). Để xác định số lượng thấp, nên chuẩn bị huyền phù ban đầu ở tỷ lệ thấp hơn [ví dụ: 1:1 (1 trong 2) hoặc 1:4 (1 trong 5)] thay vì như thường lệ là 1:9 (1 trong 10).

#### 10.2.3 Mẫu nước rửa thân thịt

Trộn kỹ bằng cách lắc trước khi pha loãng và đổ đĩa theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1).

### 10.3 Phát hiện và định lượng vi sinh vật

Việc phát hiện và định lượng vi sinh vật phải được thực hiện theo các phương pháp liên quan. Các kết quả định lượng từ các mẫu thu được bằng cách cắt hoặc lau bề mặt được biểu thị bằng đơn vị hình thành khuẩn lạc (cfu) trên centimet vuông và không phải bằng cfu/g hoặc cfu/ml, trừ kết quả từ da của gia cầm, có thể được biểu thị bằng cfu/g. Đối với các mẫu nước rửa thân thịt, kết quả đếm đĩa phải được biểu thị bằng cfu/ml nước rửa thân thịt hoặc cfu trên thân thịt. Trong trường hợp có các quy trình tăng sinh, báo cáo các vi sinh vật đích phát hiện được hoặc không phát hiện được trong diện tích/phần mẫu thử được phân tích hoặc trên thân thịt được kiểm tra.

**Phụ lục A**

(Tham khảo)

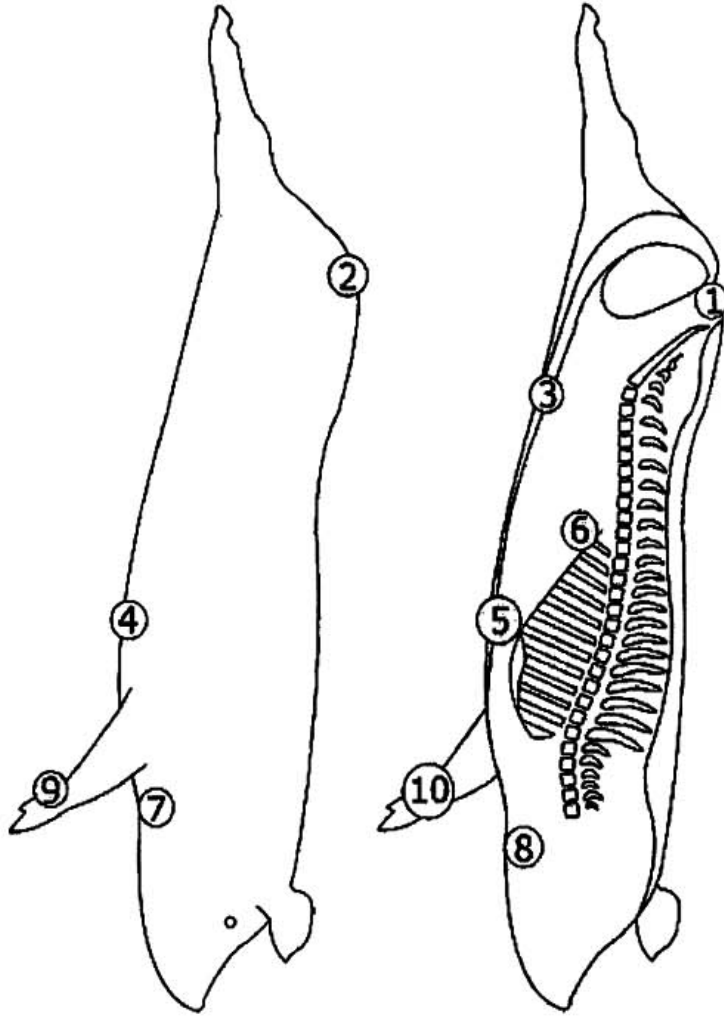
**Vị trí lấy mẫu**

Các vị trí lấy mẫu được chọn phụ thuộc vào thực hành giết mổ đối với các loài động vật khác nhau. Mục đích là để kiểm tra các vị trí có tỷ lệ nhiễm cao nhất (xem Bảng A.1). Hình A.1, Hình A.2 và Hình A.3 đưa ra các ví dụ về các vị trí lấy mẫu trên bề mặt thân thịt lợn, trâu bò và cừu. Đối với các động vật lớn khác, ví dụ như ngựa, hươu, nai và các loài động vật tương tự, các vị trí lấy mẫu sẽ tương tự như đối với trâu bò, tuy nhiên, điều này cần phải được thẩm tra. Các kỹ thuật giết mổ được sử dụng ảnh hưởng đến các vị trí bị nhiễm cao nhất.

**Bảng A.1 – Các vị trí thường được xác định là bị nhiễm cao**

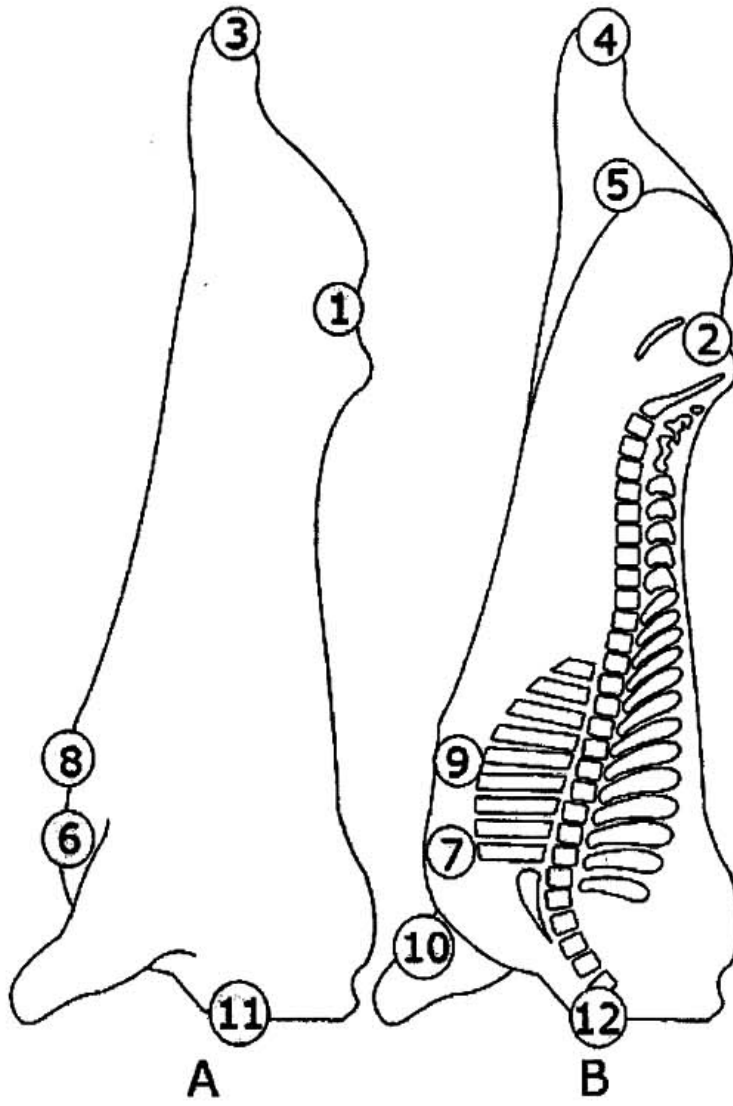
Lợn <sup>a</sup>	Trâu, bò <sup>a</sup>	Cừu <sup>a</sup>
1 Mặt trong của xương chậu	1 Mặt trong của xương chậu	1 Mặt ngoài đầu gối
2 Mặt ngoài của xương chậu	2 Mặt ngoài của xương chậu	2 Mặt trong của xương chậu
3 Bụng	3 Mặt ngoài của khuỷu chân sau	3 Mặt ngoài của bụng
4 Mặt ngoài của ức	4 Mặt trong của khuỷu chân sau	4 Mặt ngoài của ức trước xương
5 Mặt trong của ức	5 Đùi trong	5 Mặt ngoài của chân trước, khuỷu tay
6 Cột trụ cơ hoành	6 Mặt ngoài của xương ức	6 Mặt ngoài của cổ, xương bả vai
7 Mặt ngoài của hàm dưới	7 Mặt trong của xương ức	
8 Mặt trong của hàm dưới	8 Mặt ngoài của ức	
9 Mặt ngoài của chân trước	9 Mặt trong của ức	
10 Mặt trong của chân trước	10 Mặt trong của chân trước	
	11 Mặt trong đội cằm	
	12 Mặt ngoài đội cằm	

<sup>a</sup> Các số từ 1 đến 12 cho biết các vị trí lấy mẫu trong Hình A.1 đến Hình A.3.

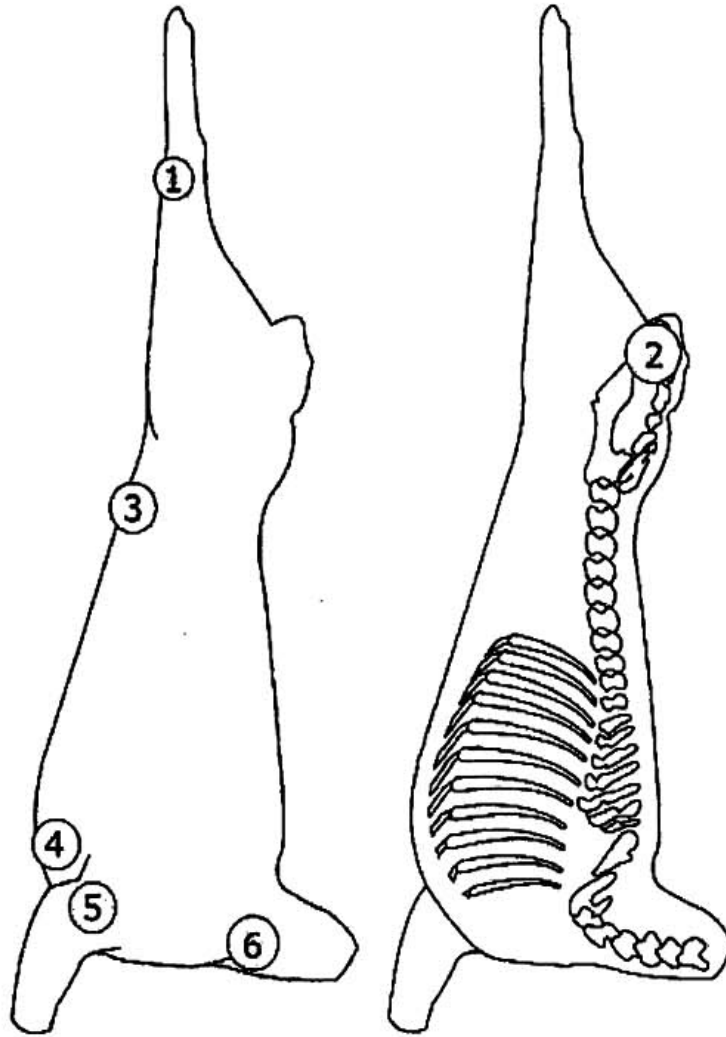


Hình A.1 – Lợn: Ví dụ về các vị trí lấy mẫu (trái: mặt ngoài, phải: mặt trong)





Hình A.2 – Trâu, bò: Ví dụ về các vị trí lấy mẫu (trái: mặt ngoài, phải: mặt trong)



Hình A.3 – Cừu: Ví dụ về các vị trí lấy mẫu (trái: mặt ngoài, phải: mặt trong)

**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] TCVN 8129:2009 (ISO 18593:2004), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp lấy mẫu bề mặt sử dụng đĩa tiếp xúc và lau bề mặt*
  - [2] DORSA W.J., SIRAGUSA G.R., CUTTER C.N., BERRY E.D., KOOHMAIRAIE M. Efficacy of using a sponge sampling method to recover low levels of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and aerobic bacteria from beef carcass surface tissue. *Food Microbiology*, 1997, **14** pp. 63–69
  - [3] GILL C.O., JONES T. Microbiological sampling of carcasses by excision or swabbing. *Journal of Food Protection*, 2000, **63**pp. 167–173
  - [4] HUTCHISON M.L., WALTERS L.D., AVERY S.M., REID C.A., WILSON D., HOWELL M. et al. A comparison of wet-dry swabbing and excision sampling methods for microbiological testing of bovine, porcine, and ovine carcasses at red meat slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, 2005, **68** pp. 2155–2162
  - [5] INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF) *Microorganisms in Foods 8. Use of data for assessing process control and product acceptance.* 2011, 400 pp. Springer.
  - [6] PEARCE R.A., BOLTON D.J. Excision versus sponge swabbing – A comparison of methods for the microbiological sampling of beef, pork and lamb carcasses. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, **98** pp. 896–900
  - [7] QIU QIN ZHANG, KE PING Y.E., XING LIAN XU, GUANG HONG ZHOU, JIN XUAN CAO. Comparison of excision, swabbing and rinsing sampling methods to determine the microbiological quality of broiler carcasses. *Journal of Food Safety*, 2012, **32** pp. 134–139
  - [8] SEAGER T., TAMPLIN M.L., LORIMER M. JENSON, I., SUMNER, J.L. How effective is sponge sampling for removing bacteria from beef carcasses? *Food Protection Trends*, 2010, **30** pp. 336–339
-