

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN VIỆT NAM**

**TCVN 4833 - 2 : 2002**

**ISO 3100 - 2 : 1988**

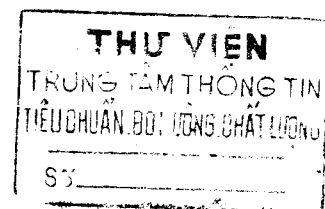
Soát xét lần 2

**THỊT VÀ SẢN PHẨM THỊT – LẤY MẪU  
VÀ CHUẨN BỊ MẪU THỬ – PHẦN 2 : CHUẨN BỊ  
MẪU THỬ ĐỂ KIỂM TRA VI SINH VẬT**

*Meat and meat products – Sampling and preparation of test samples*

*Part 2: Preparation of test samples for microbiological examination*

**HÀ NỘI – 2002**



## **Lời nói đầu**

TCVN 4833 - 1 ÷ 2 : 2002 thay thế TCVN 4833 : 1993;

TCVN 4833 - 2 : 2002 hoàn toàn tương đương với ISO 3100 - 2 : 1988;

TCVN 4833 - 2 : 2002 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F8 Thịt và sản phẩm thịt biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.

## Thịt và sản phẩm thịt – Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử

### Phần 2 : Chuẩn bị mẫu thử để kiểm tra vi sinh vật

*Meat and meat products – Sampling and preparation of test samples*

*Part 2 : Preparation of test samples for microbiological examination*

#### 1 Phạm vi áp dụng

1.1 Tiêu chuẩn này đưa ra các hướng dẫn chung và qui định qui trình dưới đây để kiểm tra vi sinh vật của thịt và sản phẩm thịt, sau khi lấy mẫu phòng thử nghiệm.

1.2 Điểm khác nhau giữa qui trình lấy mẫu đối với các sản phẩm được phân thành các loại sau:

- a) Chuyển hàng hoặc các lô thịt, hoặc các sản phẩm thịt được chế biến, hoặc được đóng thành các đơn vị riêng lẻ với các loại cỡ (thí dụ xúc xích, thịt xay được đóng bao bằng chân không, xúc xích thái mỏng, dăm bông đóng hộp) hoặc thịt ở dạng miếng có khối lượng không quá 2 kg.
- b) Thân thịt, thịt miếng, hoặc thịt muối có khối lượng trên 2 kg, và thịt đã được tách bằng phương pháp cơ học hoặc làm thịt khô.

#### 2 Tiêu chuẩn viện dẫn

TCVN 6404 :1998 (ISO 7218 :1996), Vi sinh vật trong thực phẩm và trong thức ăn gia súc – Nguyên tắc chung).

TCVN 6507 :1999 (ISO 6887 :1993), Vi sinh vật học – Hướng dẫn chung về chuẩn bị các dung dịch pha loãng để kiểm tra vi sinh vật.

## TCVN 4833 - 2 : 2002

TCVN 4833 - 1 : 2002 (ISO 3100 - 1). Thịt và sản phẩm thịt – Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử – Phần 1 : Lấy mẫu.

### 3 Nguyên tắc

Chuẩn bị các mẫu thử để kiểm tra vi sinh vật. Điều này yêu cầu cần phải làm rõ đông và / hoặc nghiền nhỏ các mẫu thịt “không bao gói” hoặc ủ trước, khử trùng mặt ngoài và sản phẩm đã chế biến hoặc sản phẩm được đóng trong các đơn vị bao gói kín được mở trong các điều kiện vô trùng.

### 4 Thủ tục

Kiểm tra báo cáo lấy mẫu và nhãn của các mẫu phòng thử nghiệm nhận được [(xem TCVN 4833 - 1 : 2002 (ISO 3001 - 1)]. Ngày nhận và trạng thái của mẫu, kể cả nhiệt độ cũng phải ghi lại. Phải nêu rõ mục đích là mẫu để kiểm tra vi sinh vật và các yêu cầu cụ thể.

### 5 Dịch pha loãng và thuốc thử

#### 5.1 Các thành phần cơ bản

Để tăng độ tái lập của các kết quả, nên sử dụng các thành phần cơ bản khô để chuẩn bị các dịch pha loãng. Tương tự, cũng có thể sử dụng các thuốc thử có bán sẵn. Phải tuân thủ nghiêm ngặt các chỉ dẫn của nhà sản xuất.

Hoá chất sử dụng phải là loại đạt chất lượng phân tích.

Nước sử dụng phải được cất hoặc loại ion, và không chứa các chất có thể gây ức chế sự phát triển của vi sinh vật dưới các điều kiện thử nghiệm.

Sử dụng pH met (6.10) đã được chỉnh đến nhiệt độ 25 °C để đo độ pH.

Nếu các dịch pha loãng và thuốc thử chưa sử dụng ngay, thì giữ nơi tối ở nhiệt độ từ 0°C đến + 5 °C, và trong các điều kiện không làm thay đổi thành phần, trừ khi có qui định khác. Dịch pha loãng và thuốc thử không giữ quá 1 tháng.

#### 5.2 Dịch pha loãng dùng cho các tấm bông

Thành phần

pepton	1,0 g
natri clorua	8,5 g
nước	1 000 ml

Chuẩn bị và phân phối dịch pha loãng.

Hoà tan các thành phần trên trong nước bằng cách đun nóng, nếu cần. Chính pH sao cho sau khi khử trùng pH là 7,0, ở 25°C. Phân phối vào ống hoặc bình các lượng thích hợp, sao cho sau khi khử trùng mỗi ống hoặc bình chứa 9,0 ml dịch pha loãng.

Đậy ống hoặc bình lại.

Khử trùng trong nồi hấp áp lực (6.1) ở  $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  trong 20 min.

### 5.3 Dịch pha loãng dùng cho tằm alginat

#### Thành phần

natri clorua	2,25 g
kali clorua	0,105 g
canxi clorua	0,12 g
natri hydrocacbonat ( $\text{NaHCO}_3$ )	0,05 g
natri hexametaphosphat [chủ yếu là $(\text{NaPO}_3)_6$ ]	10 g
nước	1 000 ml

#### Chuẩn bị và phân phối dịch pha loãng

Hoà tan các thành phần trên trong nước, hoặc hoà tan các viên có bán sẵn của môi trường hoàn chỉnh khô trong 10 ml nước đựng trong ống hoặc bình. Chính pH sao cho sau khi khử trùng pH là 7,0 ở 25 °C, nếu cần.

Nếu không sử dụng các viên bán sẵn, thì phân phối các lượng vào các ống hoặc các bình đậy kín, sao cho sau khi khử trùng mỗi bình chứa 10 ml.

Khử trùng trong nồi hấp (6.1) ở  $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  trong 20 min.

### 5.4 Etanol, 95% đến 96% (V/V).

### 5.5 Hỗn hợp chất khử trùng

#### Thành phần

etanol (5.4)	60 ml
axit hydrocloric ( $\rho = 1,19\text{ g/ml}$ ).	10 ml
nước	30 ml

## 6 Thiết bị và dụng cụ thủy tinh

Chú thích – Có thể dùng dụng cụ sử dụng một lần để thay cho dụng cụ thủy tinh nếu có các qui định phù hợp.

Sử dụng thiết bị phòng thử nghiệm vi sinh vật và đặc biệt sau:

### 6.1 Thiết bị để khử trùng khô (tủ sấy) hoặc khử trùng ướt (nồi hấp áp lực)

Các dụng cụ tiếp xúc với dịch pha loãng hoặc mẫu phải được khử trùng, trừ khi các dụng cụ này được cung cấp dưới dạng vô trùng (đặc biệt dụng cụ làm bằng chất dẻo):

- giữ trong tủ sấy (6.1) ở nhiệt độ từ 170 °C đến 175 °C, không ít hơn 1 h, hoặc
- giữ trong nồi hấp áp lực (6.1) ở nhiệt độ 121 °C  $\pm$  1 °C, không ít hơn 20 min.

### 6.2 Thiết bị trộn

Sử dụng một trong số các thiết bị sau:

- máy xay thịt, kích cỡ phòng thử nghiệm, có thể khử trùng, được gắn với đĩa có các lỗ với đường kính lỗ không quá 4 mm;
- bộ trộn kiểu nhu động (túi trộn), có các túi làm bằng chất dẻo vô trùng.

**6.3 Tủ ấm**, để duy trì các hộp ở nhiệt độ qui định để phát hiện những hộp khuyết tật và để rã đông nhanh các mẫu đông lạnh.

**6.4 Tủ lạnh**, có khả năng duy trì ở nhiệt độ 2 °C và **tủ đá** có thể duy trì ở nhiệt độ – 24 °C hoặc thấp hơn, để bảo quản mẫu.

**6.5 Dụng cụ** (có thể vô trùng), để mở các túi thịt và thái mẫu, thí dụ vật mở hộp, kéo, dao và bộ kẹp.

**6.6 Tăm bông**, bằng sợi bông hoặc alginat

**6.7 Ống hoặc bình**, có các viên thủy tinh, các tăm bông có thể lắc trong đó.

**6.8 Bình**, để chứa mẫu nước tiết dịch của thịt.

**6.9 Pipet hoặc xi lanh**, để loại bỏ nước tiết dịch của thịt đã rã đông hoặc từ các mẫu thịt bao gói sẵn.

**6.10 pH-met**, chính xác đến 0,1 đơn vị pH ở 25 °C.

## 7 Nhận mẫu và bảo quản

### 7.1 Khái quát

Các mẫu phải được bảo quản ở nhiệt độ qui định, tránh ánh nắng trực tiếp hoặc các nguồn nóng khác.

Tránh nhiễm bẩn [xem thêm TCVN 4833 – 1 : 2002 (ISO 3100-1)].

Kiểm tra càng nhanh càng tốt ngay sau khi nhận mẫu và trong mọi trường hợp, phải nằm trong giới hạn của 7.2 và 7.3.

**7.2 Thịt và sản phẩm thịt được chế biến hoặc đóng thành các đơn vị riêng lẻ với một số cỡ, và thịt miếng không quá 2 kg.**

#### 7.2.1 Thịt tươi

Bảo quản mẫu trong tủ lạnh (6.4) sau khi nhận mẫu và kiểm tra mẫu trong vòng 24 h.

Nếu phải bảo quản lâu hơn, thì làm đông lạnh mẫu trong tủ đá (6.4) càng nhanh càng tốt.

Đối với mẫu đông lạnh, thì nêu rõ tình trạng nhiệt độ và thời gian bảo quản lạnh trong báo cáo kết quả.

#### 7.2.2 Thịt đông lạnh

Các mẫu đưa về phòng thử nghiệm trong điều kiện đông lạnh và ở nhiệt độ qui định, hoặc trong mọi trường hợp ở nhiệt độ – 24°C hoặc thấp hơn. Bảo quản mẫu ở trong tủ đá (6.4).

#### 7.2.3 Các sản phẩm bảo quản tạm thời

Các mẫu phải được bảo quản trong tủ lạnh (6.4).

Các mẫu khuyết tật phải để trong vật chứa kín (thí dụ các túi bằng chất dẻo), để tránh nhiễm bẩn môi trường.

#### 7.2.4 Các sản phẩm ở trạng thái ổn định được bao gói hoặc không được bao gói

Các mẫu có dạng ngoài bình thường phải được bảo quản, tránh ánh nắng trực tiếp hoặc các nguồn nóng khác, ở nhiệt độ không quá 25°C. Các mẫu khuyết tật nhìn thấy được phải để trong vật chứa kín (thí dụ các túi bằng chất dẻo), để tránh nhiễm bẩn từ môi trường và phải bảo quản trong tủ lạnh (6.4).

Thịt khô phải bảo quản trong vật chứa kín khí.

Kiểm tra trong vòng 3 ngày.

## **TCVN 4833 - 2 : 2002**

Trường hợp nghi ngờ, thì xử lý theo 7.2.1.

**7.3 Thân thịt, một phần thân thịt hoặc thịt miếng có khối lượng không quá 2 kg và thịt được tách bằng phương pháp cơ học hoặc thịt khô**

### **7.3.1 Thịt tươi**

Xem 7.2.1.

### **7.3.2 Thịt đông lạnh**

Xem 7.2.2.

### **7.3.3 Thịt khô**

Xem 7.2.4.

### **7.3.4 Nước tiết dịch của thịt**

Bảo quản các mẫu trong tủ lạnh (6.4).

Kiểm tra mẫu càng sớm càng tốt, nhưng trong mọi trường hợp phải kiểm tra trong ngày nhận mẫu.

### **7.3.5 Tăm bông**

Bảo quản tăm sợi bông hoặc tăm alginat trong tủ lạnh (6.4) ngay sau khi nhận.

Kiểm tra mẫu càng sớm càng tốt, nhưng trong mọi trường hợp phải kiểm tra trong ngày nhận mẫu.

## **8 Xử lý mẫu phòng thử nghiệm**

### **8.1 Khái quát**

Xử lý các mẫu sao cho tránh được nguy cơ nhiễm bẩn, cần theo các chú ý sau đây:

- a) đảm bảo khu vực làm việc sạch và không có phế thải; không để mẫu trực tiếp dưới ánh nắng;
- b) làm sạch bề mặt làm việc bằng chất khử trùng thích hợp (5.5) kể cả trước và sau khi kiểm tra;
- c) khử trùng trước các vật chứa, khay, các thiết bị v.v.. và các dụng cụ để xử lý và mở túi hoặc hộp.

Nếu thời gian ủ được qui định (thí dụ, đối với hộp), thì tiến hành theo 8.2.

Các mẫu bị khuyết tật nhìn thấy được thì không ủ.



Trong trường hợp các sản phẩm đông lạnh vẫn ở trạng thái đông lạnh (xem 7.2.2), hoặc các mẫu làm lạnh sau khi lấy mẫu, thì tiến hành theo 8.3. Ở tất cả các trường hợp khác thì tiến hành trực tiếp theo điều 9.

## 8.2 Ủ

Ủ ở nhiệt độ qui định trong thời gian yêu cầu.

Kiểm tra hàng ngày để phát hiện các mẫu bị khuyết tật (thí dụ bị trương phồng, nở do ẩm). Nếu trường hợp này xảy ra, thì ngừng ủ. Ghi lại thời gian ủ và tiến hành theo điều 9.

Cứ hai ngày thì lật hoặc lật ngược vật chứa dung dịch.

Sau khi ủ thì tiến hành theo điều 9.

## 8.3 Rã đông trong tủ lạnh

Rã đông các mẫu chưa mở trong tủ lạnh (6.4) cho đến khi rã đông hoàn toàn, nhưng không quá 24 h. Khi các mẫu cần phải rã đông quá 24 h, thì nên sử dụng các phương pháp lấy mẫu khác.

# 9 Mở bao gói

## 9.1 Khái quát

Làm sạch bên ngoài các bao gói cứng hoặc nửa cứng, bằng xà phòng hoặc chất tẩy và nước, lau khô bằng khăn sạch. Sau đó làm khô bằng giấy thấm, sạch dùng một lần.

Khử trùng phía bên ngoài các bao gói để tránh nhiễm bẩn khi mở. Tuy nhiên, khi bao gói hoặc vật liệu bọc ngoài rất mỏng và có thể quá trình làm sạch làm hư hỏng (phần thịt được bọc trên khay) thì phải bỏ qua quá trình khử trùng. Việc khử trùng phải được tiến hành hết sức cẩn thận.

Không cần thiết phải làm sạch và khử trùng khi bao gói có thể được tháo bỏ mà không có nguy cơ bị nhiễm bẩn.

Tất cả các thao tác trong suốt quá trình mở và sau khi mở phải tiến hành trong điều kiện vô trùng, tốt nhất là liên tục; nếu phải gián đoạn, thì phải tiến hành càng nhanh càng tốt.

Trong suốt quá trình nếu phải gián đoạn, thì sản phẩm phải được bảo quản trong tủ lạnh (6.4).

Các mẫu có dạng ngoài bình thường và các mẫu khuyết tật phải được xử lý khác nhau. Tiến hành theo 9.2 và 9.3.

## **9.2 Mẫu có dạng ngoài bình thường**

Tiến hành khử trùng bằng ngọn lửa (có hoặc không có etanol và tránh quá nhiệt), hoặc dùng hỗn hợp khử trùng (5.5) và để khô nhưng không dùng nhiệt.

Mở phân bọc ngoài của thịt trên khay bằng cách tháo bỏ lớp bao gói bắt đầu từ bên dưới khay.

Dùng dao, kéo, kẹp vô trùng để mở các bao gói thịt đóng gói bình thường sau khi khử trùng vỏ bọc kín bằng hỗn hợp khử trùng. Mở sản phẩm thịt thái mỏng được đóng gói bằng chân không theo cùng một qui trình.

Khử trùng xúc xích chưa chín hoặc đã chín trong vỏ bọc tổng hợp thấm nước hoặc không thấm nước tại vết rạch, tháo bỏ vỏ bọc.

Đối với xúc xích đã chín thì để nguyên lớp vỏ bọc.

Dùng cái mở hộp vô trùng mở các hộp sau khi đã làm sạch và khử trùng bằng ngọn lửa; khi cần các mẫu thứ cấp (thí dụ ở giữa và bề mặt), thì mở cả hai đáy hộp và đẩy thịt ra ngoài lên khay vô trùng. Không làm hư hỏng các lớp cần kiểm tra.

Dùng dụng cụ thích hợp mà cắt được lỗ tròn trên nắp để mở lọ thủy tinh.

## **9.3 Đơn vị mẫu khuyết tật**

Mở các đơn vị mẫu khuyết tật trong phòng đặc biệt nơi không dùng để kiểm tra vô trùng.

Khử trùng bằng cách lau sạch với hỗn hợp khử trùng (5.5) và để đến khô nhưng không dùng nhiệt.

Cẩn thận đục thủng hộp và mở bằng dụng cụ mở hộp vô trùng (6.5).

Trong khi mở, tránh nhiễm bẩn người thao tác và môi trường xung quanh.

Tiến hành theo điều 10 hoặc điều 11.

## **10 Lấy mẫu thứ cấp**

Nếu cần có thể lấy mẫu thứ cấp, thí dụ nước tiết dịch của thịt, tằm bông, hoặc phần mẫu tách từ các phần khác nhau của mỗi mẫu (ở giữa, trên bề mặt).

Đối với các mẫu (ban đầu hoặc thứ cấp) cần nghiền nhỏ, và đối với tằm bông, tiến hành theo điều 11.

## 11 Sự chuẩn bị cuối cùng trước khi kiểm tra, nếu cần

### 11.1 Nghiền nhỏ

#### 11.1.1 Khái quát

Khi bản chất của vật liệu cần kiểm tra có thể gặp phải khó khăn nếu việc đồng hoá thực hiện trực tiếp thì thái nhỏ thành hạt lựu trước. Tiến hành theo 11.1.2 và/ hoặc 11.1.3.

#### 11.1.2 Thái hạt lựu

Đặt thịt lên trên bề mặt thái thịt vô trùng và cắt nhỏ thành hạt lựu khoảng 1 cm<sup>3</sup> ở điều kiện vô trùng. Tiến hành theo 11.1.3.

#### 11.1.3 Đồng nhất bằng cách thái nhỏ

Đặt thịt (thái hoặc không thái hạt lựu) vào trong thiết bị trộn (6.2) trong điều kiện vô trùng.

Trộn và đồng hoá hai lần trong thiết bị trộn, trước khi trộn lần hai thì cho nước tiết dịch của thịt trở lại thiết bị trộn, và tiến hành theo chỉ dẫn trong TCVN 6507 : 1999 (ISO 6887).

### 11.2 Xử lý các tấm bông

Lắc các tấm bông trong dịch pha loãng (tấm sợi bông 5.2, tấm alginat 5.3) để phân tán các vi sinh vật bám dính trên tấm bông vào trong chất lỏng.

Để làm được việc đó, cần bẻ gãy phần cán gỗ của tấm bông sao cho có thể lắc được trong các bình nhỏ chứa lượng chất lỏng qui định chứa các viên thuỷ tinh.

Sự phân tán thu được có thể được pha loãng tiếp theo hệ thập phân.

## 12 Xử lý tiếp theo

Tham khảo các tiêu chuẩn hiện hành đối với việc xử lý tiếp theo các sản phẩm cần kiểm tra.