

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 6404 : 1998

VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ TRONG THỨC ĂN GIA SÚC - NGUYÊN TẮC CHUNG VỀ KIỂM TRA VI SINH VẬT

Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations

Lời nói đầu

TCVN 6404 : 1998 hoàn toàn tương đương với ISO 7218 : 1997 (E)

TCVN 6404 : 1998 do ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F12 Sữa và sản phẩm sữa biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ TRONG THỨC ĂN GIA SÚC - NGUYÊN TẮC CHUNG VỀ KIỂM TRA VI SINH VẬT

Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này đưa ra các chỉ dẫn về cách tiến hành kiểm tra vi sinh vật phù hợp với các tiêu chuẩn riêng rẽ.

Mục đích của tiêu chuẩn này là giúp đảm bảo tính hợp thức của công việc kiểm tra nhằm xác định tính đồng nhất của các kỹ thuật chung sử dụng trong kiểm tra ở tất cả các phòng thí nghiệm, giúp đạt được các kết quả đồng nhất nhất tại các phòng thí nghiệm khác nhau và bảo vệ sức khỏe của nhân viên phòng thí nghiệm bằng cách ngăn ngừa các nguy cơ truyền nhiễm.

Tiêu chuẩn này có thể được sử dụng toàn bộ hoặc từng phần trong việc công nhận phòng thí nghiệm của các cơ quan quốc gia.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

ISO 6887 : 1983, Vi sinh vật học - Hướng dẫn chung về việc chuẩn bị các dung dịch pha loãng để kiểm tra vi sinh vật.

3 Cơ sở thử nghiệm

3.1 Khu vực thử nghiệm

Các khu vực cần có cho hoạt động đặc thù của phòng thí nghiệm vi sinh vật như sau:

- nơi nhận, nơi bảo quản, nơi chuẩn bị và xử lý mẫu;
- chuẩn bị và khử trùng môi trường nuôi cấy và dụng cụ;
- tiến hành phân tích: cân, pha loãng, cấy, cấy truyền, nuôi ươm, bảo quản các chủng v.v...
- khử nhiễm và làm sạch thiết bị, và xử lý các chất thải sau phân tích.

3.2 Khu vực phụ trợ

Các khu vực thuộc phạm trù này bao gồm:

- lối vào, hành lang, cầu thang, thang máy chở hàng hoặc thang máy;
- khu vực hành chính (thí dụ như: phòng thư ký, văn phòng, phòng tài liệu ..);
- phòng thay áo và nhà vệ sinh;
- phòng văn thư lưu trữ;

- nhà kho.

3.3 Vị trí cơ sở thử nghiệm

Môi trường trong đó tiến hành phân tích vi sinh vật phải không ảnh hưởng đến độ tin cậy của phép phân tích.

Phải chú ý tới vị trí của cơ sở thử nghiệm sao cho tránh nguy cơ tạp nhiễm chéo. Để đạt được điều đó có thể áp dụng nguyên tắc "đường một chiều".

Phải chú ý đảm bảo việc bảo vệ khỏi các điều kiện vượt quá sự cho phép như nhiệt độ, bụi, độ ẩm, hơi nước, tiếng ồn, độ rung, ánh sáng mặt trời chiếu thẳng...

Mặt bằng khu vực phải đủ rộng để giữ được vệ sinh và ngăn nắp. Đối với tất cả các cơ sở thử nghiệm, nên có khoảng 20 m² diện tích làm việc cho mỗi phân tích viên.

Trong khi tiến hành thử nghiệm, cần chú ý hạn chế việc qua lại khu vực thử nghiệm, chỉ dành cho những người cần thiết để thực hiện thử nghiệm.

Cần có các phòng riêng biệt và/hoặc các khu vực riêng biệt và/hoặc các khu được khoanh vùng riêng dành cho việc:

- nhận mẫu và bảo quản mẫu;
- chuẩn bị mẫu, đặc biệt trong trường hợp nguyên liệu thô (thí dụ như sản phẩm dạng bột có chứa số lượng lớn vi sinh vật);
- thao tác với vi sinh vật gây bệnh (thí dụ *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*);
- chuẩn bị và khử trùng môi trường nuôi cấy, dụng cụ;
- rửa dụng cụ thủy tinh và các dụng cụ khác, cũng như khử nhiễm dụng cụ và môi trường nuôi cấy;
- kiểm tra độ vô trùng của thực phẩm.

Cũng cần cách ly các khu vực sau:

- khu vực dùng để chuẩn bị môi trường nuôi cấy và phòng dùng để khử trùng môi trường nuôi cấy và dụng cụ; và
- khu vực khử nhiễm sau thử nghiệm và khu vực rửa.

Tủ ấm, tủ lạnh và tủ đá có thể đặt được đặt trong các phòng đặt biệt, chuyên dụng.

3.4 Trang bị cho cơ sở thử nghiệm

3.4.1 Cơ sở thử nghiệm phải được trang bị như sau để giảm bớt nguy cơ nhiễm bẩn do bụi kếp theo vi sinh vật:

- tường, trần và sàn nhà phải nhẵn trơn, dễ rửa và chịu được các chất tẩy rửa và các chất khử trùng dùng trong phòng thí nghiệm;
- các đường ống dẫn nước quá nóng ngang qua cơ sở thử nghiệm trừ khi chúng được bọc kín;
- cần lắp hệ thống bảo vệ chống bức xạ mặt trời ở phía ngoài các cửa sổ, trừ một số trường hợp đặc biệt;
- các cửa ra vào và cửa sổ cần được đóng kín khi đang tiến hành thử để ngăn gió lùa; ngoài ra chúng phải được thiết kế sao cho chống được bụi bám và dễ lau rửa.

3.4.2 Nhiệt độ môi trường và chất lượng không khí (mật độ vi sinh vật, độ ẩm, mức bụi tỏa lan, v.v.) phải tương hợp với tiến trình thử. Để đạt mục đích này nên dùng hệ thống lọc không khí tại đầu vào của luồng khí.

Khi phép thử được tiến hành trong 1 môi trường hơi nhiễm bẩn, thì phòng thử nghiệm phải được trang bị đặc biệt, với một tủ cấy thổi không khí sạch và/hoặc 1 tủ an toàn.

Thiết bị này phải phù hợp với các qui định có liên quan.

3.4.3 Mặt bàn và các trang bị của phòng thí nghiệm phải được chế tạo bằng vật liệu nhẵn trơn, không thấm, dễ làm sạch và khử trùng. Để tránh tích bụi, các tủ tường phải được bố trí cao chạm trần, nếu có thể đạt được.

Các trang bị của phòng thí nghiệm phải được thiết kế sao để thuận tiện cho việc lau rửa sàn nhà (thí dụ, các trang bị thử nghiệm có thể di động được).

Các phương tiện bảo quản kín phải thích hợp để bảo quản tài liệu sử dụng khi tiếp xúc với mẫu, môi trường nuôi cấy, hóa chất v.v.

Chú thích - Các tài liệu hoặc sách không dùng thường xuyên nên để bên ngoài khu vực thử nghiệm.

3.4.4 Cơ sở thử nghiệm cần được chiếu sáng tốt và tránh được nhiễu phản xạ. Đặc biệt để tránh ánh sáng mặt trời chiếu thẳng vào các vị trí làm việc và các thiết bị nhạy cảm (đặc biệt là tủ ấm).

3.5 Bảo quản và kiểm tra

Mặt sàn, tường, trần, mặt bàn và các trang bị của phòng thí nghiệm phải được bảo dưỡng thường xuyên và sửa chữa để tránh nứt rạn dẫn đến bụi bẩn có thể tích tụ và gây ra nhiễm bẩn.

Cần thường xuyên phải thực hiện lau rửa và sát trùng để giữ cho các phòng luôn trong trạng thái thích hợp để tiến hành thử nghiệm.

Hệ thống thông gió và các bộ lọc của chúng cần được bảo dưỡng thường xuyên và thay các bộ lọc khi cần.

Phải kiểm tra định kỳ độ sạch về vi sinh vật trên mặt bàn làm việc và cửa không khí.

Độ nhiễm bẩn bề mặt có thể được đánh giá bằng cách áp trực tiếp tẩm lấy mẫu đã tẩm chất trung hòa thích hợp nên bề mặt. Chất lượng không khí có thể được kiểm tra bằng cách đặt một đĩa Petri mở nắp đã chứa môi trường thạch không chọn lọc (thí dụ: thạch đếm tổng số PAC) trong 15 phút.

Chú thích - Có thể dùng các phương pháp khác để xác định độ nhiễm bẩn của bề mặt và không khí.

4 Lắp đặt và trang bị

Nhìn chung, tất cả máy móc và thiết bị phải được giữ sạch sẽ và trong điều kiện làm việc tương thích. Các hoạt động bảo dưỡng cần được kiểm tra. Các trang thiết bị để kiểm tra phải luôn sẵn sàng.

4.1 Tủ cấy vi sinh vật

4.1.1 Mô tả

Tủ là 1 chỗ làm việc loại trừ được bụi, được trang bị luồng khí thổi, thổi theo chiều ngang hoặc chiều dọc. Về mặt vi sinh vật, tủ an toàn được dùng để giữ lại các vi sinh vật trên các tấm lọc.

Theo qui ước, số lượng tối đa các hạt với kích thước lớn hơn 0,5 μ m có trong một mét khối là thể hiện cấp loại hút bụi của tủ an toàn. Đối với loại tủ dùng trong vi sinh thực phẩm, số lượng hạt không được vượt quá 4000 trong một mét khối.

Có hai loại tủ:

a) tủ không khí sạch dùng để bảo vệ sản phẩm khỏi sự nhiễm bẩn từ bên ngoài, và để giảm sự thiếu tạp nhiễm do kỹ thuật viên gây ra.

b) tủ an toàn, dùng để bảo vệ sản phẩm khỏi sự nhiễm bẩn từ bên ngoài, cũng như bảo vệ kỹ thuật viên và bảo vệ môi trường.

Tủ an toàn phải được sử dụng cho mọi công việc có liên quan với vi sinh vật gây bệnh.

4.1.2 Bảo dưỡng và kiểm tra

Tính hiệu quả của tủ an toàn phải được 1 nhân viên có chuyên môn kiểm tra khi tiếp cận và kiểm tra thường xuyên sau đó (nên kiểm tra hàng năm). Nếu tủ có lưới lọc sơ bộ thì cần thường xuyên thay lưới lọc này.

Tủ phải được làm vệ sinh và sát trùng sau khi sử dụng. Cần tiến hành kiểm tra thường xuyên về độ nhiễm vi sinh bằng 1 xét nghiệm bề mặt làm việc và thành tủ.

Việc kiểm tra thường xuyên tỷ lệ vi sinh vật có mặt được tiến hành với trang bị thông thường. Thí dụ, trong mỗi tủ đặt vài đĩa Petri mở nắp đã chứa 1 môi trường nuôi cấy thạch không chọn lọc (thí dụ PCA) trong 30 phút. Cũng có thể dùng các phương pháp khác.

4.2 Cân

4.2.1 Tính năng sử dụng

Phòng thí nghiệm vi sinh vật thực phẩm phải được trang bị các cân với phạm vi cân và độ chính xác cần thiết để cân các loại sản phẩm khác nhau. Nhìn chung, cần có hai độ chính xác là: 0,01g và 0,0001g.

Những cân này chủ yếu dùng để cân phần mẫu thử cần phân tích và các thành phần của môi trường nuôi cấy và thuốc thử. Chúng cũng có thể được dùng để đo các thể tích dung dịch pha loãng bằng cách cân.

4.2.2 Bảo dưỡng và kiểm tra

Cân phải được đặt trên giá nằm ngang vững chắc và chống rung.

Cần kiểm tra thường xuyên bằng cách hiệu chuẩn theo các chuẩn công tác (tốt nhất là mỗi ngày làm việc một lần). Tối thiểu mỗi năm một lần, nhân viên có chuyên môn kiểm tra toàn bộ giải làm việc của cân.

Làm sạch đĩa cân sau mỗi lần dùng, nếu cần, và tối thiểu mỗi ngày một lần. Các kết cấu cơ khí phải được làm sạch và được nhân viên có chuyên môn kiểm tra tối thiểu mỗi năm một lần.

4.3 Thiết bị đồng hóa mẫu

4.3.1 Mô tả

Thiết bị này dùng để chuẩn bị huyền phù ban đầu từ mẫu thử của sản phẩm không ở dạng lỏng.

Có thể dùng các thiết bị sau:

- thiết bị đồng hóa kiểu nhu động với các túi chất dẻo vô trùng, có thể kèm độ điều chỉnh tốc độ và thời gian; hoặc
- thiết bị đồng hóa kiểu quay, có tốc độ quay từ 8000 vòng/phút đến 45000 vòng/phút, kèm theo bình chứa có nắp bằng kim loại hoặc thủy tinh và có thể khử trùng được.

Trong một vài trường hợp đặc biệt, việc đồng hóa có thể được tiến hành với các viên bi thủy tinh khử trùng được và có đường kính thích hợp (khoảng 6 mm; xem các tiêu chuẩn riêng).

4.3.2 Tính năng sử dụng

Thời gian hoạt động thông thường của trang thiết bị đồng hóa kiểu nhu động khoảng 1 phút đến 2 phút. Loại thiết bị này không dùng được cho một số thực phẩm như:

- các sản phẩm có thể làm thủng túi (có các hạt nhọn sắc, cứng, khô), hoặc
- các sản phẩm khó đồng hóa do cấu trúc của chúng (thí dụ xúc xích).

Thiết bị đồng hóa kiểu quay có thể vận hành trong một khoảng thời gian có số vòng quay từ 15000 đến 20000. Nhưng với thiết bị đồng hóa chậm nhất thì thời gian vận hành cũng không được vượt quá 2,5 phút.

Các bi thủy tinh có thể được dùng để chuẩn bị các huyền phù ban đầu cho một vài sản phẩm có độ nhớt hoặc sản phẩm đặc nhất định, đặc biệt là đối với sản phẩm sữa thì sử dụng bằng cách lắc (xem các tiêu chuẩn cụ thể).

4.3.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Các dụng cụ và thiết bị khác nhau cần được kiểm tra và bảo dưỡng theo chỉ dẫn của các nhà sản xuất.

4.4 pH mét

4.4.1 Mô tả

pH mét dùng để đo hiệu thế ở nhiệt độ xác định giữa điện cực đo và điện cực so sánh, cả hai điện cực đều được đưa vào sản phẩm. pH mét này có thể đo chính xác đến 0,1 đơn vị pH và có những ngưỡng đo tối thiểu là 0,01 pH. pH mét phải gắn với bộ cân bằng nhiệt bằng tay hoặc tự động.

Chú thích - Điện cực đo và điện cực so sánh thường được gắn với nhau thành hệ thống điện cực hợp.

4.4.2 Tính năng sử dụng

pH mét được dùng để đo pH của mỗi mẻ môi trường nuôi cấy và thuốc thử (7.2) để kiểm tra xem có cần điều chỉnh không. Nó cũng có thể được sử dụng để đo và / hoặc điều chỉnh pH của mẫu thử hoặc pH của huyền phù ban đầu. Việc sử dụng pH mét sẽ được thảo luận trong tiêu chuẩn cụ thể của sản phẩm cần phân tích, trong đó các điều kiện để xác định pH, để điều chỉnh pH cũng như phương pháp làm sạch và khử nhiễm các điện cực sẽ được qui định cụ thể.

4.4.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Hàng ngày phải hiệu chuẩn pH mét theo hướng dẫn của nhà sản xuất, dùng ít nhất là hai dung dịch đệm chuẩn. Các dung dịch chuẩn có các giá trị pH biết trước chính xác tới hai số sau dấu phẩy ở nhiệt độ đo (nói chung pH 4,00 và pH 7,00 ở nhiệt độ 20°C) phải bao trùm các giá trị pH cần đo.

Cần vào dưỡng và kiểm tra các điện cực theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Điều cần kiểm tra thường xuyên:

- tình trạng các điện cực về mức độ bẩn và lão hóa;
- thời gian cho kết quả và độ ổn định.

Trước mỗi lần sử dụng, hãy kiểm tra đầu đo của các điện cực đã ngập hoàn toàn trong nước cất hoặc chất lỏng khác chưa, theo như chỉ dẫn của nhà sản xuất; hoặc là ngâm 24h trước khi đo.

Rửa sạch các điện cực sau mỗi lần sử dụng. Để đánh giá mức bẩn và mức độ lão hóa của các điện cực đo, phải thường xuyên rửa các điện cực thật sạch theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Bảo quản các điện cực theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

4.5 Nồi hấp áp lực

4.5.1 Mô tả

Nồi hấp áp lực là một thiết bị cho phép nhiệt độ của hơi nước bão hòa đến ít nhất là 121°C để giết chết các vi sinh vật.

4.5.2 Tính năng sử dụng

Trong cùng một chu kỳ khử trùng, nồi hấp áp lực không được sử dụng để khử trùng các dụng cụ sạch (và/hoặc môi trường nuôi cấy) cùng lúc với khử bẩn các dụng cụ đã sử dụng (và/hoặc môi trường nuôi cấy đã sử dụng). Tốt hơn là sử dụng các nồi hấp áp lực riêng biệt cho hai quá trình này.

Nồi hấp áp lực phải có:

- ít nhất một van an toàn;
- một áp kế;

- một van xả;
- một bộ điều chỉnh nhiệt độ để duy trì nhiệt độ trong khoảng 1°C nhiệt độ qui định;
- một nhiệt kế hoặc cặp nhiệt điện tự ghi.

Nồi hấp nên gắn với một đồng hồ hoặc một bộ phận đặt chương trình/thời gian.

Để khử trùng nồi hấp phải đuổi hết không khí trước khi tạo áp lực. Nếu như nồi hấp áp lực không được gắn với một thiết bị chân không tự động, thì cần phải đuổi không khí cho đến khi ống phun luồng hơi nước liên tục phát ra.

4.5.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Phải giữ nồi hấp áp lực ở điều kiện làm việc tốt và phải kiểm tra thường xuyên bởi các bộ phận có năng lực và theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Tất cả các dụng cụ kiểm tra phải giữ trong trạng thái làm việc tốt và do bộ phận có thẩm quyền kiểm tra định kỳ theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Nếu cần, làm sạch gỉ và tháo nước thường xuyên.

4.6 Tủ ẩm

4.6.1 Mô tả

Tủ ẩm bao gồm một luồng giữ được nhiệt độ ổn định và phân phối đều đến 1°C nếu không có qui định nào khác.

4.6.2 Tính năng sử dụng

Các tủ ẩm cần được trang bị các hệ thống điều chỉnh để giữ được nhiệt độ đều và độ ổn định trong khi sử dụng.

Nếu nhiệt độ môi trường gần bằng hoặc cao hơn nhiệt độ của tủ ẩm, thì cần phải bố trí một hệ thống làm mát.

Bảo vệ các thành của tủ ẩm tránh ánh sáng mặt trời chiếu thẳng.

Nếu có thể, khi sử dụng bất kỳ loại tủ ẩm nào (đối lưu không khí bắt buộc hoặc không), các tủ ẩm không nên để đầy quá bởi vì môi trường nuôi cấy sẽ cần nhiều thời gian hơn để cân bằng nhiệt độ.

Khi xếp mẫu vào tủ ẩm phải chú ý tới sự lưu thông không khí; trong mọi tình huống các đĩa Petri hoặc các ống nghiệm để cách các thành trong tủ ẩm trong vòng 25 mm. Không chống cao quá sáu đĩa Petri và các đĩa phải cách nhau ít nhất 25 mm.

4.6.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Nhiệt độ đồng nhất trong khi làm việc phải được kiểm tra bằng nhiệt kế hoặc bằng cặp nhiệt điện.

Độ chính xác của phép đo nên cao gấp bốn lần độ chính xác yêu cầu (thí dụ: độ chính xác yêu cầu là 2°C , thì độ chính xác của phép đo là $0,5^{\circ}\text{C}$).

Phải kiểm tra tính ổn định của nhiệt độ, thí dụ, bằng một hoặc nhiều giá trị lớn nhất và nhỏ nhất.

Kiểm tra nhiệt độ của tủ ẩm hàng ngày làm việc. Đối với mục đích này, mỗi tủ ẩm được gắn với ít nhất là một nhiệt kế, với bầu chất đo được ngâm trong glyxerol đựng trong chai gắn xi kín. Các hệ thống kiểm tra khác có tính năng tương tự có thể được sử dụng. Các vách trong và vách ngoài của tủ ẩm phải được làm sạch thường xuyên và sát trùng, nếu cần thì loại bỏ bụi bẩn ở hệ thống quạt gió.

4.7 Tủ lạnh và phòng bảo quản lạnh

4.7.1 Mô tả

Đó là các tủ cho phép duy trì chế độ bảo quản lạnh. Khi không có qui định khác, nhiệt độ này phải là $+3^{\circ}\text{C}$ -2°C , trừ khi bảo quản mẫu phân tích nhiệt độ phải là $+2^{\circ}\text{C}$ -2°C .

4.7.2 Tính năng sử dụng

Phải có các tủ khác nhau để bảo quản:

- môi trường dinh dưỡng chưa cấy và thuốc thử;
- mẫu để phân tích;
- các chủng vi sinh vật và các môi trường đã cấy.

Các vật được bảo quản trong tủ lạnh và các ngăn lạnh sao cho duy trì được tuần hoàn không khí thích ứng.

4.7.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Mỗi ngày làm việc phải kiểm tra nhiệt độ của từng buồng bằng 1 nhiệt kế hoặc bằng 1 đầu dò được đặt cố định. (Xem 4.6.3 về độ chính xác của thiết bị này).

Phải thường xuyên thực hiện các công việc bảo dưỡng sau đây:

- lau bụi ở các cánh quạt hoặc ở các tấm trao đổi nhiệt phía ngoài;
- làm tan băng;
- làm sạch và khử trùng mặt trong của tủ.

4.8 Tủ đá

4.8.1 Mô tả

Tủ đá có các buồng lạnh cho phép duy trì chế độ bảo quản lạnh sâu. Khi không có qui định khác, nhiệt độ này phải nhỏ hơn -18°C , tốt hơn là ở -24°C -2°C .

4.8.2 Tính năng sử dụng

Phải có các tủ khác nhau để bảo quản:

- một vài môi trường dinh dưỡng chưa cấy và thuốc thử;
- các mẫu phân tích;
- các chủng sinh vật.

Xếp đặt trong tủ lạnh và các phòng bảo quản lạnh sao cho duy trì được nhiệt độ đủ thấp, đặc biệt là khi đưa các sản phẩm chưa đông lạnh vào.

4.8.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Mỗi ngày làm việc phải kiểm tra nhiệt độ của từng buồng bằng 1 nhiệt kế hoặc bằng 1 đầu dò lắp cố định. (Xem 4.6.3 về độ chính xác của thiết bị này).

Phải thường xuyên thực hiện các công việc bảo quản dưỡng sau đây:

- lau bụi ở cánh quạt hoặc ở tấm trao đổi nhiệt phía ngoài;
- làm tan băng;
- làm sạch và sát trùng mặt trong của tủ.

4.9 Bể điều nhiệt

4.9.1 Mô tả

Bể nhiều nhiệt là bể cho phép duy trì 1 nhiệt độ xác định. Khi không có qui định khác, độ chính xác cần đạt đến $0,5^{\circ}\text{C}$. Nhiệt độ làm việc sẽ được qui định trong từng phương pháp sử dụng.

4.9.2 Tính năng sử dụng

Các tính năng sử dụng chính như sau:

- duy trì môi trường thạch tan chảy vô trùng ở 47°C ± 2°C;
- nuôi ấm môi trường đã cấy ở 1 nhiệt độ không đổi;
- chuẩn bị các dung dịch ban đầu ở 1 nhiệt độ được khống chế (thí dụ, chuẩn bị các huyền phù caseinat đòi hỏi phải duy trì 15 phút trong bể ở nhiệt độ 37°C);
- xử lý các huyền phù ban đầu ở một nhiệt độ khống chế (thí dụ, việc đếm các bào tử có thể cần phải loại bỏ hết các tế bào dinh dưỡng).

Để kiểm tra nhiệt độ chính xác, bể điều nhiệt cần được trang bị 1 bơm nước tuần hoàn và 1 hệ thống điều nhiệt tự động. Việc khuấy trộn chất lỏng này không được gây ra các giọt nhỏ phân tán.

4.9.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Mỗi bể được gắn với một nhiệt kế hoặc một cặp nhiệt điện độc lập của hệ thống điều nhiệt tự động.

Kiểm tra nhiệt độ của bể mỗi lần sử dụng, tốt nhất là kiểm tra hàng ngày.

Kiểm tra thường xuyên mức chất lỏng trong bể (nước, etylen glycol...).

Để tránh sự bội nhiễm vi khuẩn phải thường xuyên thay chất lỏng này.

4.10 Tủ sấy khử trùng

4.10.1 Mô tả

Tủ sấy khử trùng là một buồng duy trì được nhiệt độ từ 170°C đến 180°C để giết các vi sinh vật bằng nhiệt khô.

4.10.2 Tính năng sử dụng

Chỉ khử trùng thiết bị bằng kim loại hoặc bằng thủy tinh trong tủ sấy khử trùng. Thời gian khử trùng ít nhất là 1h, kể từ khi đạt được nhiệt độ cần thiết.

Cảnh báo - Dụng cụ thủy tinh đo thể tích không được khử trùng trong tủ sấy này.

Nhiệt độ cần phân bố đều trong buồng sấy.

Tủ sấy phải được trang bị:

- bộ ổn nhiệt
- 1 nhiệt kế hoặc cặp nhiệt điện tự ghi.

Tốt nhất là được gắn với đồng hồ hoặc bộ phận đặt chương trình/thời gian.

4.10.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Kiểm tra tính đồng nhất của nhiệt độ trong từng buồng làm việc.

Giữ tủ ở trạng thái làm việc tốt và các dụng cụ kiểm tra phải được kiểm định thường xuyên.

Nên thường xuyên làm vệ sinh tủ.

4.11 Lò vi sóng

4.11.1 Mô tả

Lò vi sóng là máy dùng sóng cực ngắn để làm nóng sản phẩm.

4.11.2 Tính năng sử dụng

Hiện tại, chỉ có một khả năng sử dụng: làm tan chảy môi trường thạch nuôi cấy.

Thiết bị được sử dụng để hoạt động ở chế độ áp suất khí quyển. Nó có thể đun nóng các môi trường nuôi cấy bằng 1 chu trình phát sóng cực ngắn kiểm soát được. Việc phân bố sóng cực

ngắn phải đồng đều trong sản phẩm để tránh có những vùng bị quá nhiệt. Để phân bố nhiệt được tốt hơn nên sử dụng thiết bị có gắn bộ xoay.

Cảnh báo - Việc gia nhiệt môi trường thạch nuôi cấy trong lò vi sóng có thể làm sôi chậm.

Chú thích - Khi còn thiếu sự đánh giá đầy đủ về hiệu quả khử trùng các môi trường nuôi cấy của lò vi sóng, thì khả năng sử dụng này chưa được qui định ở đây.

4.12 Kính hiển vi quang học

4.12.1 Tính năng sử dụng

Kính hiển vi quang học gồm có các vật kính với độ khuếch đại khác nhau. Dùng vật kính có độ khuếch đại cao nhúng chìm trong dầu cho phép quan sát hình thái của vi sinh ở dạng huyền phù trong nước hoặc sau khi nhuộm màu. Tốt hơn là kính hiển vi nên có 1 vật tương phản pha và bộ phận tụ quang chia tầng để tạo thuận lợi cho việc kiểm tra các vi sinh vật còn sống.

Chú thích - Các thiết bị (các kính lúp) có độ khuếch đại thấp và kính hiển vi lập thể điều chỉnh được tiêu điểm có thể sử dụng để kiểm tra các khuẩn lạc ở trên, hoặc trong môi trường thạch nuôi cấy.

4.12.2 Bảo dưỡng và kiểm tra

Sau khi sử dụng vật kính soi dầu, rửa sạch thấu kính sao cho không làm ảnh hưởng đến chất lượng quang học, để loại bỏ hết dầu còn dính.

Ít nhất là hàng năm, 1 nhân viên có thẩm quyền tiến hành việc làm sạch, kiểm tra các phần cơ và quang học.

4.13 Đèn đốt bằng ga hoặc lò đốt nóng bằng điện trở

Đèn đốt bằng ga được dùng để tạo ra và duy trì 1 vùng bảo vệ quanh điểm nóng. Được dùng để khử trùng các que hàn và các vòng cấy kim loại bằng cách đốt đến nóng đỏ.

Lò đốt nóng bằng điện trở là thích hợp để khử trùng các kim loại hoặc các vòng cấy bằng kim loại sau khi thao tác với vi khuẩn gây bệnh.

4.14 Dụng cụ phân phối môi trường nuôi cấy và thuốc thử

4.14.1 Mô tả

Dụng cụ phân phối môi trường nuôi cấy và thuốc thử là một dụng cụ hay thiết bị dùng để phân phối môi trường nuôi cấy và thuốc thử và các ống nghiệm, các lọ hoặc vào các đĩa Petri (thí dụ, ống đồng, xilanh thao tác bằng tay, xilanh tự động, bơm nhu động hoặc bơm cơ học cung cấp tự động).

4.14.2 Tính năng sử dụng

Trong trường hợp phân phối vô trùng các môi trường nuôi cấy 1 cách vô trùng và thuốc thử, tất cả các bộ phận của dụng cụ hay của thiết bị tiếp xúc với sản phẩm phân phối phải vô trùng (xem 6.2).

Độ chính xác của dụng cụ hay thiết bị phải phù hợp với độ chính xác của thể tích cần phân phối. Đặc biệt, độ chính xác yêu cầu đối với các thể tích chất pha loãng dùng để pha loãng thập phân là 2%.

4.14.3 Bảo dưỡng và kiểm tra.

Bảo quản các dụng cụ này trong điều kiện thật tốt phù hợp với hướng dẫn của nhà sản xuất.

Kiểm tra thường xuyên các lượng thể tích được phân phối.

4.15 Máy khuấy cơ học

Máy khuấy này cho phép trộn đồng nhất các môi trường lỏng khác nhau (thí dụ, dịch pha loãng thập phân và mẫu thử dạng lỏng) hoặc huyền phù của các tế bào vi sinh vật trong chất lỏng, dựa trên nguyên lý làm cho chất đựng trong ống nghiệm chuyển động xoay tròn lệch tâm (Vortex).

4.16 Thiết bị đếm khuẩn lạc

Thiết bị này tốt nhất là nên gắn với 1 hệ thống chiếu sáng trên nền màu tối, 1 kính núp với độ khuếch đại tối thiểu là 1,5 lần, và dụng cụ đếm cơ học hoặc điện tử. Có thể dùng bất kỳ hệ thống đếm tự động nào có tính năng tương đương (thí dụ máy đếm lade).

4.17 Thiết bị nuôi trong điều kiện không khí biến đổi

4.17.1 Mô tả

Đó là bình có thể gắn kín hoặc bất kỳ thiết bị nào khác có thể tạo ra các điều kiện không cải biến (thí dụ, dạng sinh trưởng hiếu khí) được duy trì trong suốt thời gian nuôi cấy của môi trường cấy. Có thể dùng các hệ thống khác với tính năng tương đương, thí dụ buồng hiếu khí. Tuân thủ các hướng dẫn của nhà sản xuất trong việc lắp đặt và bảo dưỡng.

4.17.2 Tính năng sử dụng

Thành phần của môi trường khí thu được bằng 1 hỗn hợp khí (thí dụ từ bom khí) hoặc bằng bất kỳ cách khác phù hợp (chẳng hạn, gói tạo khí bán sẵn) sẽ được qui định trong tiêu chuẩn riêng.

4.17.3 Bảo dưỡng và kiểm tra

Cần phải đặt dụng cụ chỉ báo bản chất của môi trường khí trong từng buồng mỗi khi sử dụng.

Nếu có chất xúc tác, cần phải thường xuyên phụ hồi theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Thiết bị này phải thường xuyên được làm sạch và sát trùng.

4.18 Các trang thiết bị khác

Các trang thiết bị và dụng cụ khác để dùng hàng ngày, bao gồm các loại sau: thiết bị lọc, đồ chứa bằng thủy tinh hoặc chất dẻo (các ống nghiệm, bình cầu, chai lọ), đĩa Petri bằng thủy tinh hoặc chất dẻo, (thường hay dùng loại có đường kính từ 90 mm đến 100 mm), các pipet bằng thủy tinh hay bằng nhựa (loại 10 ml, 2 ml, 1 ml), dụng cụ lấy mẫu, vòng và kim cấy (bằng hợp kim niken/crom, platin/iridi, hoặc bằng nhựa sử dụng một lần).

5 Nhân sự

5.4 Năng lực

Tất cả các nhân viên làm việc trong phòng thí nghiệm vi sinh phải được đào tạo đủ kiến thức để họ có thể thực hiện đúng các thao tác được giao.

Người thực hiện thử nghiệm cần phải có kiến thức tốt và có đủ kinh nghiệm thực tế về các kỹ thuật vi sinh và vi sinh vật. Người đó có thể thực hiện chính xác và đảm bảo các yêu cầu để thu được các kết quả có thể chấp nhận. Đối với mục đích này, họ có thể, thí dụ như tham gia vào các thử nghiệm, thành thạo sử dụng vật chuẩn, hoặc các phép thử tự đánh giá về định lượng vi sinh vật (đặc biệt cần xem các ấn phẩm có liên quan của Hiệp hội Sữa Quốc tế).

Tất cả các nhân viên phải được nhận các thông tin liên quan mới nhất về các vấn đề vệ sinh và an toàn phòng thí nghiệm.

5.2 Vệ sinh

Về lĩnh vực vệ sinh cho người, phải tuân thủ các lưu ý sau đây để tránh làm nhiễm bẩn mẫu thử và môi trường nuôi cấy, đồng thời cũng để tránh nguy cơ lây nhiễm sang con người:

- mặc áo thí nghiệm sáng màu, sạch và trong trạng thái tốt, được sản xuất từ loại sợi hạn chế được nguy cơ bắt cháy; không mặc áo choàng ra khỏi khu vực làm việc và phòng gửi áo quần;
- mang trang bị bảo vệ tóc và râu, nếu cần;
- giữ móng tay thật sạch và ăn mặc chỉnh tề, và tốt nhất nên ăn mặc gọn gàng;
- rửa tay sạch tay bằng nước ấm, tốt hơn nên rửa dưới vòi không điều khiển bằng tay, sử dụng xà phòng nước hoặc xà phòng bột, hoặc nếu có thể bằng nước rửa sát trùng cấp từ dụng cụ