TCVN **T I Ê U C H U Ẩ N Q U Ố C G I A**

TCVN 9581:2013

Xuất bản lần 1

THỊT VÀ SẢN PHẨM THỊT – PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN ẤU TRÙNG GIUN XOẮN *(TRICHINELLA)* TRONG THỊT LỢN

Meat and meatproduct – Method for detection of trichinella larvae in pork

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 9581:2013 được xây dựng dựa theo *CFAP- M-0013.02:2009 The Double Separatory Funnel Digestion procedure for the Detection of Trichinella Larvae in Pork (Tiêu chuẩn quốc* gia *CANADA)*;

TCVN 9581:2013 do Trung tâm Kiểm tra vệ sinh thú y Trung ương I – Cục Thú y biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thịt và sản phẩm thịt – Phương pháp phát hiện ấu trùng giun xoắn *(trichinella)* trong thịt lợn

Meat and meatproducts – Method for detection of trichinella larvae in pork

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các bước của phương pháp tiêu cơ và sử dụng hai bước lắng kết hợp khuấy từ để phát hiện ấu trùng giun xoắn *(Trichinella)* trong thịt lợn tươi sống.

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.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Giun xoắn *(Trichinella)*

Thuộc lớp giun tròn, ký sinh trong nội bào động vật.

3.2

Ấu trùng giun xoắn *(Trichinella larvae)*

Một dạng chưa trưởng thành của giun xoắn có nang kén bao bọc.

CHÚ THÍCH 1: Hầu hết các loài động vật có vú và các loài động vật có xương sống khác như các loài bò sát đều có thể lây nhiễm giun xoắn. Sau khi bị nhiễm 1 h đến 2 h, ấu trùng di chuyển tới ruột non. Sau 24 h, ấu trùng phát triển thành giun trưởng thành và xâm nhập vào niêm mạc ruột. Từ ngày thứ 4 hoặc 5 và kéo dài tiếp 10 đến 30 ngày, giun cái đẻ ấu trùng vào

trong mạch bạch huyết. Ấu trùng theo hệ mạch bạch huyết tới tim phải, phổi, rồi tới tim trái và tới cơ vân, cơ hoành, lưỡi... phát triển thành kén và có khả năng gây nhiễm.

4 Nguyên tắc

Các mẫu mô cơ được phân giải hoàn toàn trong dung dịch pepsin/HCl để giải phóng ấu trùng giun xoắn khỏi mẫu cơ ban đầu. Các ấu trùng giun xoắn này được làm lắng xuống. Phần lắng gồm ấu trùng giun xoắn và một phần nhỏ của dung dịch thủy phân được thu vào đĩa Petri để kiểm tra sự có mặt của ấu trùng giun xoắn điển hình trong mẫu thử bằng kính hiển vi soi nổi.

5 Thuốc thử

5.1 Yêu cầu chung

Đối với thực hành trong phòng thử nghiệm, xem TCVN 6404 (ISO 7218).

Chỉ sử dụng các thuốc thử đạt chất lượng tinh khiết phân tích.

5.2 Pepsin, từ 700 FIP-U/g đến 2 000 FIP-U/g;

Dạng hạt hoặc lỏng, được bảo quản ở nơi khô ráo và lạnh trong hộp nhựa kín.

5.3 Axit clohydric đậm đặc (HCl), 37 % ± 1 % khối lượng.

5.4 Nước nóng, nhiệt độ ít nhất 85 ^{o}C.

5.5 Nước Javen (natri hypochlorit), 5 % đến 6 % thể tích.

5.6 Cồn ethyl, 70 % thể tích.

CHÚ THÍCH 2: Nên tham khảo Bảng dữ liệu cảnh báo an toàn đối với tất cả các loại hóa chất và sinh vật.

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

6.1 Dao hoặc kéo.

6.2 Kẹp.

6.3 Cối xay phòng thử nghiệm.

6.4 Bình, được trang bị kèm cối xay**,** dung tích 1,2 lít, có nắp đậy.

6.5 Buồng ủ mẫu, với yêu cầu sau:

– Có thể duy trì nhiệt độ 45 ^{o}C ± 1 ^{o}C;

– Nên dùng buồng đối lưu, có quạt thông gió tuần hoàn không khí nhằm đạt được nhiệt độ của buồng ủ sau khi mở cửa;

– Có thể tích phù hợp;

– Cửa bằng thủy tinh hoặc vật liệu trong suốt để quan sát quá trình tiêu cơ và theo dõi nhiệt độ của từng cốc;

6.6 Cốc thủy tinh, dung tích 4 l.

6.7 Cân, chính xác đến 0,1 g.

6.8 Miếng xốp để cân, dùng một lần.

6.9 Phễu chiết[1)], bằng thủy tinh, dung tích 4 l (ví dụ : Pyrex, Squibb, hình quả lê, Corning #6402 dung tích 4 l, VWR#26307-518 hoặc tương đương).

6.10 Phễu chiết[1)], bằng thủy tinh, dung tích 500 ml (ví dụ : Kimax, Squibb, hình quả lê có đầu nhỏ giọt và đầu nối 24/40 trên hệ thống phân phối. Kimble #29055F-500, VWR#30357-146 hoặc tương đương).

6.11 Phễu bằng chất dẻo hoặc inox, đường kính từ 20 cm đến 30 cm.

6.12 Giá đỡ, dùng cho các phễu chiết thủy tinh và phễu bằng chất dẻo hoặc inox.

6.13 Rây, cỡ lỗ 180 µm.

6.14 Kính hiển vi soi nổi, được trang bị nguồn ánh sáng, có độ phóng đại từ 10 lần đến 40 lần hoặc cao hơn.

CHÚ THÍCH 3: Kính hiển vi sử dụng cho việc kiểm tra mẫu phải sạch bụi và có nguồn ánh sáng phù hợp, phải có độ phóng đại ít nhất 10 lần đến 40 lần để quan sát được ô vuông của đĩa petri. Ví dụ, với độ phóng đại 10 lần, diện tích ô vuông tối đa khoảng 1 cm^{2}.

6.15 Găng tay dùng một lần.

6.16 Đĩa petri nhựa, kích cỡ 100 mm x 15 mm. Bề mặt đáy phía ngoài của mỗi đĩa petri phải được chia ô sao cho có thể nhìn thấy ít nhất một ô vuông trong vi trường kính hiển vi với độ phóng đại 10 lần đến 16 lần.

6.17 Thanh khuấy từ, kích cỡ khoảng 77 mm x 13 mm.

6.18 Thiết bị khuấy từ.

[1)] Thông tin này đưa ra nhằm tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng sản phẩm này.

6.19 Thùng nhựa có nắp đậy.

6.20 Pipet, dung tích 10 ml.

6.21 Ống falcon, dung tích 50 ml.

6.22 Giá để ống nghiệm.

6.23 Đồng hồ bấm giờ.

6.24 Nhiệt kế, có thể đo được nhiệt độ từ 18 ^{o}C đến 100 ^{o}C và chia vạch 1,0 ^{o}C

6.25 Giấy bạc hoặc **lá nhôm** hoặc **màng bằng chất dẻo.**

6.26 Bình tia, dung tích 0,5 lít.

7 Lấy mẫu

Điều quan trọng là phòng thử nghiệm nhận được đúng mẫu đại diện và không bị hư hỏng trong suốt quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

Tốt nhất, mẫu thử được cắt từ cơ chân hoành cách mô. Nếu không, mẫu được cắt từ cơ thịt đùi hoặc từ thịt xương sườn, xương ức, hoặc từ các cơ quai hàm, lưỡi hoặc cơ bụng. Mỗi mẫu cắt từ 30 g đến 100 g. Việc đánh giá mẫu thử ban đầu theo một trong hai tiêu chí sau đây:

– Mẫu thử có màu tự nhiên của thịt tươi (đỏ) và không có dấu vết của sự thối rữa. Thời gian vận chuyển phải ít hơn 48 h và khi đến phòng thử nghiệm nhiệt độ mẫu phải nhỏ hơn nhiệt độ phòng.

– Mẫu có màu đỏ sẫm đến xám và có thể có màu xanh, có thể có dấu vết của sự phân hủy nhẹ. Thời gian vận chuyển trong khoảng 3 ngày đến 4 ngày và khi đến phòng thử nghiệm nhiệt độ mẫu bằng nhiệt độ phòng.

8 Chuẩn bị mẫu thử

8.1 Mẫu gộp: Mẫu được loại bỏ mỡ và gân. Trường hợp gộp 100 mẫu đơn lẻ, mỗi mẫu cắt 1 g thịt để có 100 g cho một quá trình tiêu cơ. Giữ lại phần mẫu thừa cho đến khi có kết quả phân tích. Nếu số lượng mẫu đơn lẻ gộp lại nhỏ hơn 100 thì khối lượng mẫu từ mỗi mẫu đơn lẻ phải được cắt với một lượng bằng nhau sao cho tổng khối lượng mẫu gộp không được vượt quá 110 g cho một quá trình tiêu cơ.

CHÚ THÍCH 4: Phải lấy tối thiểu 1 g thịt để kiểm tra từ mỗi thân thịt lợn. Để thuận lợi cho việc cắt và cân nhanh các mẫu ưu tiên xét nghiệm, kích cỡ mẫu có thể lớn hơn 1 g (ví dụ 1,1 g). Lượng cân tối đa cho một quá trình tiêu cơ không được vượt quá 110 g cho 100 thân thịt lợn (hoặc mẫu đơn lẻ).

8.2 Mẫu đơn: Loại bỏ mỡ và gân, cắt 100 g thịt từ mẫu đã lấy.

9 Cách tiến hành

9.1 Quy định về xử lý dụng cụ đã sử dụng và chất thải (xem Phụ lục A)

9.2 Cách tiến hành

9.2.1 Tính lượng dung dịch thủy phân cần thiết cho một lần tiến hành phép thử (tương đương 3000 ml dung dịch cho 100 g thịt đã đồng nhất).

9.2.2 Chuẩn bị dung dịch HCl/nước (1 % thể tích) thích hợp bằng cách pha HCl (ví dụ: 30 ml HCl đậm đặc 5.3) với nước nóng ở 47 ^{o}C (ví dụ: 2970 ml). Vào thời điểm này không bổ sung pepsin (5.2) vào dung dịch.

9.2.3 Làm ấm nước để chuẩn bị dung dịch HCl/nước, nhưng phải đảm bảo rằng nhiệt độ của dung dịch tại thời điểm sử dụng không được vượt quá 47 ^{0}C.

9.2.4 Cho phần mẫu thịt đã gộp được chuẩn bị theo 8.1, vào bình cối xay (6.4). Thêm 50 ml đến 100 ml dung dịch HCl/nước cho 100 g mẫu. Đậy kín bình cối máy xay bằng nắp bình hoặc giấy bạc (6.25).

9.2.5 Xay nhuyễn thịt đến khi đồng nhất (không được còn miếng thịt; mẫu thử phải đồng nhất như thức ăn bột của trẻ nhỏ). Có thể xay vài lần, mỗi lần 1 s đến 3 s. Thêm khoảng 100 ml dung dịch HCl/nước và xay trong khoảng 5 s đến 10 s để được hỗn dịch đồng nhất.

9.2.6 Cho thêm một lượng pepsin (5.2) vào hỗn dịch đồng nhất, thêm khoảng 200 ml dung dịch HCl/nước và xay trong khoảng 5 s.

CHÚ THÍCH 5: Phòng kiểm nghiệm cần đánh giá hiệu lực của phương pháp trước khi áp dụng

a) Lượng pepsin (5.2) sử dụng được tính sao cho đạt khoảng 6 FIP-U/ml đến 10 FIP-U/ml dịch thủy phân (Ví dụ: 3000 ml dung dịch thủy phân cần 18.000 FIP-U đến 30.000 FIP-U, nếu dùng pepsin hàm lượng 2000 FIP-U/g thì cần khoảng 9 g đến 15 g; pepsin hàm lượng 1000 FIP-U/g thì cần khoảng 18 g đến 30 g; pepsin hàm lượng 700 FIP-U/g thì cần khoảng 26 g đến 43 g).

b) HCl (5.3) phải được pha trong nước trước khi cho vào hỗn hợp pepsin/mẫu. Điều này là cần thiết vì HCl nồng độ đậm đặc sẽ làm bất hoạt enzym như pepsin (5.2). pH tối ưu của dung dịch phải dao động trong khoảng 1,5 đến 1,8.

9.2.7 Chuyển mẫu đã đồng nhất vào cốc thuỷ tinh 4 l (6.6) có chứa thanh khuấy từ (6.17). Thêm toàn bộ phần còn lại của 3 lít dung dịch HCl/nước bằng cách rót dung dịch HCl/nước vào bình (6.4) và rửa tất cả hỗn dịch đồng nhất còn lại vào cốc thuỷ tinh 4 l (6.6). Dùng bình tia (6.26) chứa nước để rửa hết chất bám dính ở nắp bình vào trong cốc (6.6).

9.2.8 Đặt cốc thuỷ tinh (6.6) lên thiết bị khuấy từ (6.18) để trong buồng ủ 45 ^{o}C ± 1 ^{o}C. Ghi lại nhiệt độ của buồng ủ (6.5) và nhiệt độ của dịch thuỷ phân. Đậy cốc (6.6) bằng giấy bạc hoặc tấm màng bằng

chất dẻo (6.25). Vặn thiết bị khuấy từ (6.18) tới vận tốc thích hợp để tạo thành vòng xoáy sâu mà không bị bắn toé ra. Nhiệt độ của dịch thuỷ phân khi bắt đầu quá trình tiêu cơ phải là 44 °C ± 3 °C.

9.2.9 Để quá trình thuỷ phân cơ trong 30 min. Cho mỗi lần thuỷ phân, ghi lại nhiệt độ của buồng ủ (6.5) và của dịch thuỷ phân sau 30 min vào «Bản nhật ký thử nghiệm». Nếu nhiệt độ dịch thuỷ phân giảm xuống dưới 44 °C ± 3 °C, có thể yêu cầu kéo dài thêm thời gian thuỷ phân. Điều này có thể được xác định khi quan sát huyễn dịch thuỷ phân. Nếu thấy các miếng mô cơ chưa được phân giải, thì quá trình thuỷ phân phải tiếp tục cộng thêm 30 min hoặc cho đến khi bị phân giải hoàn toàn.

CHÚ THÍCH 6: Dịch thuỷ phân phải có nhiệt độ đạt ở 44 °C ± 3 °C để cho quá trình tiêu cơ hoàn tất trong 30 min. Nếu nhiệt độ dịch thuỷ phân ban đầu và kết thúc của quá trình nằm trong khoảng nhiệt độ này thì chứng tỏ nhiệt độ được duy trì thích hợp.

9.2.10 Để phễu bằng chất dẻo (6.11) có rây 180 μm (6.13) vào miệng của phễu chiết 4 l (6.9). Đặt phễu chiết thuỷ tinh 500 ml (6.10) có vòi khoá ngay dưới phễu chiết thuỷ tinh 4 l (6.9). Để một đĩa petri có vạch ô (6.16) phía dưới phễu chiết thuỷ tinh 500 ml (6.10).

9.2.11 Trong vòng 5 min sau khi lấy ra khỏi buồng ủ, rót dung dịch thuỷ phân qua rây (6.13) và vào phễu chiết 4 l (6.9). Rửa cốc thuỷ tinh (6.6) bằng nước ở nhiệt độ phòng đựng trong bình tia (6.26) và rót qua rây (6.13) vào phễu chiết 4 l (6.9).

9.2.12 Rửa kỹ rây (6.13) bằng cách phun từ 500 ml đến 1000 ml nước ở nhiệt độ phòng qua mặt rây (6.13) vào phễu chiết 4 l (6.9). Quá trình thủy phân phải đảm bảo không được có một mảnh cơ nào còn sót lại trên rây. Để yên dịch lỏng 30 min trong phễu chiết (6.9) cho lắng.

CHÚ THÍCH 7: Phải đảm bảo không được có một mảnh cơ nào sót lại trên rây (6.13). Nếu còn mô cơ chưa phân giải, dùng 800 ml dung dịch HCl/nước mới rửa sạch rây (6.13) vào cốc (6.6). Thêm vào 8 g pepsin (5.2, loại 1000 FIP-U/g) (nghĩa là 1 %) và tiếp tục quá trình tiêu cơ đến khi tất cả mô cơ bị phân giải, hoặc chu kỳ kéo dài đến 60 min. Tiếp tục từ 9.2.10.

CHÚ THÍCH 8: Phễu chiết 4 l (6.9) phải được để yên không xáo trộn trong suốt 30 min.

9.2.13 Cho chảy 125 ml dịch lắng từ phễu chiết 4 l (6.9) vào phễu chiết 500 ml (6.10) bằng cách vặn nhanh và mở hết cỡ vòi khoá của phễu chiết 4 l (6.9) và đóng chặt vòi khi thể tích yêu cầu đã đạt được.

CHÚ THÍCH 9: Mở nhanh hết cỡ vòi khoá của phễu chiết 4 l (6.9) để đảm bảo dịch lỏng chảy nhanh và để tránh ấu trùng bị mắc kẹt lại bên gờ của vòi mở.

CHÚ THÍCH 10: Cho chảy nhiều hơn 125 ml từ phễu chiết 4 l (6.9) vào phễu chiết 500 ml (6.10) có thể tạo vẩn đục trong bước 9.2.15 và phải yêu cầu làm trong dung dịch (bước 9.2.19).

CHÚ THÍCH 11: Đánh dấu tại 125 ml trên phễu chiết 500 ml (6.10).

9.2.14 Thêm 375 ml nước ở nhiệt độ phòng vào phễu chiết 500 ml (6.10). Để yên dịch lỏng ít nhất 10 min trong phễu chiết (6.10) cho lắng.

CHÚ THÍCH 12: Đánh dấu tại 500 ml trên phễu chiết 500 ml (6.10).

9.2.15 Cho chảy nhanh 22 ml đến 27 ml dịch lắng từ phễu chiết 500 ml (6.10) trực tiếp vào đĩa petri đã khía vạch (6.16) bằng cách vặn nhanh và mở hết cỡ vòi khoá của phễu chiết 500 ml (6.10) và đóng chặt vòi khi thể tích yêu cầu đã đạt được.

CHÚ THÍCH 13: Mở nhanh vòi hết cỡ khoá của phễu chiết 500 ml (6.10) để đảm bảo dịch lỏng chảy nhanh và để tránh ấu trùng bị mắc kẹt lại bên gờ của vòi mở.

CHÚ THÍCH 14: Đĩa petri (6.16) có thể được đánh dấu ở mức thích hợp để lượng dich lắng cần thiết từ phễu chiết 500 ml (6.10) chảy nhanh hơn.

9.2.16 Chờ ít nhất 1 min để ấu trùng lắng xuống đáy, sau đó quan sát ấu trùng trong đĩa petri bằng kính hiển vi soi nổi (6.14). Soi kiểm tra sự có mặt của ấu trùng giun xoắn tuần tự trên tất cả các ô của đĩa (6.16) ở độ phóng đại 10x đến 16x. Nếu dịch lắng vẫn đục phải xử lý tiếp như trong 9.2.19.

CHÚ THÍCH 15: Để chảy ít hơn 22 ml đến 27 ml dịch lắng từ phễu chiết 500 ml (6.10) có thể gây mất ấu trùng. Nếu không đủ lượng dịch lắng được thu vào đĩa petri thứ nhất, sau khi chờ 5 min, cho chảy thêm 22 ml đến 27 ml vào đĩa petri thứ 2 và đọc kết quả trên cả 2 đĩa.

CHÚ THÍCH 16: Để chảy nhiều hơn 27 ml dịch lắng từ bình tách 500 ml (6.10) vào một đĩa đơn có thể có nhiều mảnh vụn làm vẩn đục gây khó khăn trong việc đọc kết quả. Nếu dung dịch để kiểm tra bị vẩn đục phải xử lý như trong 9.2.19.

9.2.17 Dịch thuỷ phân cơ phải được kiểm tra ngay sau khi chuẩn bị.

9.2.18 Nếu dịch thuỷ phân không được kiểm tra trong vòng 30 min sau khi chuẩn bị, yêu cầu dung dịch phải được xử lý như trong 9.2.19.

CHÚ THÍCH 17: Dung dịch phải để yên cho lắng ít nhất 1 min trước khi kiểm tra để tránh làm mất ấu trùng mà chưa lắng được xuống đáy của đĩa. Dung dịch kiểm tra phải trong để không làm mất những ấu trùng bị che mờ và những ấu trùng không ở đáy đĩa petri (6.16).

CHÚ THÍCH 18: Dịch lắng phải được phải được kiểm tra trong ngày sau khi thuỷ phân cơ để tránh làm hỏng mẫu.

9.2.19 Làm trong mẫu

9.2.19.1 Dùng pipet (6.20) chuyển toàn bộ lượng dịch chứa trong đĩa petri vào ống falcon dung tích 50 ml (6.21). Rửa kỹ đĩa petri (6.16) kỹ bằng nước và cho vào ống falcon (6.21). Sau đó thêm nước vừa đủ 45 ml. Để yên ống falcon (6.21) trong 10 min cho lắng.

9.2.19.2 Sau 10 min, dùng pipet (6.20) hút bớt phần dịch nổi chỉ để lại khoảng 7,5 ml trong ống (không được xả hết những chất nổi, nếu không sẽ làm xáo trộn dung dịch lắng). Phần dịch rút ra phải được khử nhiễm sau khi đọc kết quả.

9.2.19.3 Trộn kỹ 7,5 ml dịch còn lại và chuyển ngay bằng pipet (6.20) vào đĩa petri (6.16). Tráng ống falcon (6.21) và pipet (6.20) hai lần, mỗi lần dùng 5 ml nước và đổ vào đĩa petri (6.16). Lớp dịch lỏng

phải phủ hết toàn bộ đáy của đĩa petri và không nhiều hơn vài milimet. Sau đó tiếp tục bước 9.2.16. Nếu mẫu vẫn khó đọc, lặp lại quá trình làm trong mẫu.

CHÚ THÍCH 19: Bước làm trong: hút từ từ dịch nổi phía trên của dung dịch trong ống falcon (6.21) sao cho không làm xáo trộn dung dịch lắng. Nếu dung dịch lắng bị xáo trộn, hút trả lại phần dịch nổi phía trên vào ống falcon (6.21) và để cho lắng thêm 10 min trước khi tiếp tục.

CHÚ THÍCH 20: Bước làm trong: để chuyển hoàn toàn dung dịch lắng từ ống falcon (6.21), dịch lắng phải được trộn đều trước khi chuyển vào đĩa petri (6.16). Phần còn lại của dịch lắng ở đáy ống phải được rửa sạch bằng nước theo 9.2.19.3.

9.2.20 Sau khi kiểm tra, cho lượng chứa trong đĩa petri vào thùng (6.19) để tiêu huỷ hoặc khử nhiễm theo quy định trong phụ lục A.

10 Diễn giải kết quả

Sự có mặt của *Trichinella* sp. trong mẫu cơ được xác định bằng kính hiển vi soi nổi độ phóng đại 10 lần đến 16 lần hoặc cao hơn.

Sau khi thủy phân các tế bào cơ, ấu trùng giai đoạn đầu tiên có kích thước khoảng 1 mm × 0,03 mm. Trong điều kiện môi trường lạnh, ấu trùng sống có hình dạng điển hình cuốn hoặc xoắn ốc, trong môi trường nóng chúng rất linh hoạt và di động.

Ấu trùng chết có hình dạng chữ C điển hình và có thể hơi trong suốt. Nếu số lượng ấu trùng quá cao thì cần pha loãng dung dịch tới nồng độ thích hợp trước khi kiểm tra.

– Trường hợp không phát hiện: Báo cáo thử nghiệm ghi rõ không phát hiện ấu trùng giun xoắn trong mẫu thử. Nếu là mẫu gộp, ghi rõ không phát hiện/số mẫu gộp.

– Trường hợp phát hiện: Báo cáo thử nghiệm ghi rõ phát hiện ấu trùng giun xoắn trong mẫu thử với số lượng bao nhiêu ấu trùng/1 g thịt.

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;

b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;

c) phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;

d) tất cả các chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả thử.

e) các kết quả thử nghiệm thu được.

Phụ lục A

(Quy định)

Quy định về xử lý dụng cụ đã sử dụng và chất thải

A.1 Cho các chất thải lỏng vào một thùng (6.19). Chất thải được tiêu hủy hoặc khử nhiễm sau khi biết được kết quả thử nghiệm theo A.3.

A.2 Trường hợp không tìm thấy ấu trùng**:** Đổ bỏ hỗn dịch thủy phân một cách thích hợp và rửa tất cả thiết bị, dụng cụ và đồ thủy tinh bằng nước và xà phòng. Mỗi ngày vệ sinh mặt bàn một hoặc nhiều lần bằng nước và xà phòng hoặc chất tẩy rửa thông thường để loại bỏ tất cả chất bẩn bám trên bề mặt để dễ khử nhiễm trong trường hợp kết quả dương tính.

A.3 Trường hợp phát hiện ấu trùng: Nếu thấy có ấu trùng giun xoắn hoặc nghi ngờ trong thử nghiệm thông thường hoặc mẫu dùng cho thử nghiệm thành thạo, cần xử lý dụng cụ và chất thải như sau:

A.3.1 Dụng cụ: Cho tất cả thiết bị, dụng cụ đã sử dụng vào một cái thùng lớn (6.19) có đủ thể tích để ngâm ngập nước dụng cụ này và duy trì ở nhiệt độ cao (gần nhiệt độ sôi). Sau 1 min, loại bỏ nước nóng xuống đường ống dẫn nước. Những dụng cụ đã sử dụng mà không thể được xử lý như trên phải được lau chùi với cồn 70 % (5.6) để giết hết những ký sinh trùng bám chặt vào.

A.3.2 Mặt bàn: Mặt bàn và các bề mặt khác mà không thể được xử lý như trên phải được lau chùi với cồn 70 % (5.6) để giết hết những ký sinh trùng bám chặt vào.

A.3.3 Chất thải lỏng: Thêm chất khử trùng chứa 5 % đến 6 % natri hypochlorit với một thể tích tương đương khoảng 25 % thể tích vào thùng chứa chất thải lỏng, để yên trong 10 min trước khi đổ vào cống thoát nước.

A.3.4 Đồ dùng một lần: Găng tay, đĩa petri, ống nghiệm và vật liệu khác đã sử dụng được đem đốt, hấp tiệt trùng (121 ^{o}C, 15 psi, 45 min), hoặc ngâm vào nước sôi trong 45 min.

A.3.5 Mẫu mô cơ: Tất cả mảnh vụn của mô cơ nhiễm phải được đốt hoặc hấp tiệt trùng (121 ^{o}C, 15 psi, 45 min).

CHÚ THÍCH 21: Phép thử thông thường: Nếu ấu trùng được tìm thấy khi thực hiện phép thử thông thường, tất cả các mô cơ được gộp trong phép thử (các mẫu từ 100 động vật) và tất cả các mẫu được thử nghiệm đồng thời, bất chấp kết quả của phép thử, được loại bỏ như theo như là trường hợp phát hiện mẫu nhiễm. Việc phân tích các mẫu khác sẽ không được tiếp tục cho đến khi tất cả các phép thử tiếp theo liên quan đến phép thử dương tính đã được hoàn thành và vệ sinh, khử trùng được tiến hành như A3.

Thử nghiệm thành thạo: Các mẫu thử nghiệm thành thạo không được thử nghiệm đồng thời với các mẫu thử nghiệm thông thường. Tốt nhất phép thử mẫu thử nghiệm thành thạo được thiết kế làm vào cuối ngày, hoặc vào ngày mà không tiến hành các phép thử thông thường, sau đó vệ sinh và khử trùng được tiến hành như A3.