https://nhathuocngocanh.com/

Bảng 13.6.6 - Yêu cầu giới hạn nhiễm vi sinh vật

Loại chế phẩm	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/g hoặc CFU/ml)	Tổng số nấm (CFU/g hoặc CFU/ml)	Vi sinh vật gây bệnh
Thuốc dùng điều trị bỏng và các vết loét sâu	Không có vi sinh vật trong 1 g (ml)		
Nguyên liệu hóa dược	10^3	10^2	-
Thành phẩm hóa dược dùng để uống (dạng khô: viên nén, nang... hoặc dạng dung dịch dầu)	10^3	10^2	Không có *Escherichia coli* trong 1 g (ml)
Thành phẩm hóa dược dùng để uống (dạng nước: siro, dung dịch...)	10^2	10^1	Không có *Escherichia coli* trong 1 g (ml)
Thuốc dùng theo đường trực tràng	10^3	10^2	-
Thuốc dùng theo đường niêm mạc miệng, lợi, răng, da, mũi, tai	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* trong 1 g (ml)
Thuốc dùng theo đường âm đạo	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* trong 1 g (ml)
Thuốc dán (áp dụng cho 1 miếng dán)	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* trong 1 miếng dán
Thuốc hít (bao gồm cả dạng khí dung)	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g (ml)
Thuốc uống có nguồn gốc tự nhiên (động, thực vật, khoáng chất); Cao dược liệu dùng để sản xuất thuốc uống	10^4 *	10^2 *	Không quá 10^2 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g (ml) Không có *Salmonella* trong 10 g (ml) Không có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* trong 1 g (ml)
Thuốc thang, thuốc bột,... để ngâm rượu hoặc xử lý bằng nước nóng (không sôi) trước khi dùng. Cao dược liệu dùng để sản xuất thuốc uống mà quá trình chiết (Ví dụ ngâm hoặc ngâm nhỏ giọt trong nước...) không làm giảm số lượng vi sinh vật đạt được mức * ở trên	10^5 Số lượng tối đa được chấp nhận: 5×10^5	10^4 Số lượng tối đa được chấp nhận: 5×10^4	Không quá 10^4 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g (ml) Không có *Salmonella* trong 25 g (ml) Không có *Escherichia coli* trong 1 g (ml)
Thuốc thang, trà... được xử lý bằng nước sôi trước khi dùng.	10^7 Số lượng tối đa được chấp nhận: 5×10^7	10^5 Số lượng tối đa được chấp nhận: 5×10^5	Không quá 10^3 CFU *Escherichia coli* trong 1 g (ml) Không có *Salmonella* trong 25 g (ml)

13.7 THỬ VÔ KHUẨN

Quy định chung

Phép thử này được áp dụng nhằm phát hiện sự có mặt của vi khuẩn, nấm trong các nguyên liệu, chế phẩm và dụng cụ mà theo Dược điển cần phải vô khuẩn. Tuy nhiên, kết quả âm tính chỉ có nghĩa là không phát hiện được vi sinh vật tạp nhiễm trong chế phẩm đã thử trong điều kiện của thử nghiệm.

Những biện pháp phòng tạp nhiễm vi sinh vật

Thử vô khuẩn phải được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn. Để đạt được điều kiện này, khu vực thử nghiệm phải phù hợp với quy trình thử vô khuẩn được tiến hành. Các biện pháp phòng tránh tạp nhiễm phải đảm bảo không ảnh hưởng đến vi sinh vật có thể có trong mẫu thử. Khu vực thử vô khuẩn phải được đánh giá thường xuyên bằng phương pháp lấy mẫu tại khu vực làm việc hoặc bằng cách tiến hành mẫu đối chứng thích hợp.

Môi trường và nhiệt độ ủ

Có thể sử dụng môi trường được pha chế theo chỉ dẫn dưới đây hoặc sử dụng các môi trường thương mại có sẵn nếu chúng đáp ứng yêu cầu về khả năng dinh dưỡng theo mục

https://nhathuocngocanh.com/

Kiểm tra chất lượng môi trường. Môi trường thioglycolat lỏng được dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí. Môi trường casein đậu tương lỏng được dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm.

Môi trường thioglycolat lỏng

L - Cystin	0,5 g
Thạch	0,75 g
Natri clorid	2,5 g
Glucose monohydrat/khan	5,5 g/5,0 g
Cao nấm men (tan được trong nước)	5,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	15,0 g
Natri thioglycolat	0,5 g
hoặc acid thioglycolic	0,3 ml
Dung dịch natri resazurin 1 g/L mới pha)	1,0 ml
Nước	1000 ml
pH sau khi tiệt khuẩn:	7,1 ± 0,2

Trộn L - Cystin, thạch, natri clorid, glucose, cao nấm men, casein thủy phân bởi pancreatin với *nước* và đun nóng đến tan hoàn toàn. Hòa tan natri thioglycolat hoặc acid thioglycolic vào dung dịch trên, thêm *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (nếu cần) để điều chỉnh pH sao cho môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH 7,1 ± 0,2. Nếu cần phải lọc thì đun nóng lại dung dịch (tránh đun sôi) và lọc nóng qua giấy lọc đã thấm ướt. Thêm dung dịch resazurin, trộn đều và đóng môi trường vào ống (hoặc bình) thích hợp sao cho sau khi kết thúc quá trình ủ, không quá một nửa thể tích phía trên của môi trường trong ống (hoặc bình) bị chuyển màu chỉ thị do hấp thụ oxy. Hấp tiệt khuẩn theo quy trình đã được thẩm định. Bảo quản môi trường ở nhiệt độ 2 °C đến 25 °C trong bao bì vô khuẩn, kín khí. Nếu 1/3 thể tích phía trên của ống (hoặc bình) môi trường có màu hồng, môi trường không thích hợp để thử nghiệm. Có thể phục hồi lại môi trường bằng cách đun cách thuỷ cho mất màu rồi làm lạnh nhanh, chú ý tránh tạp nhiễm không khí không vô khuẩn vào môi trường và chỉ sử dụng môi trường đã phục hồi này một lần. Không sử dụng môi trường quá thời hạn sử dụng đã thẩm định.

Ủ môi trường thioglycolat lỏng ở 30 °C đến 35 °C.

Với các chế phẩm có chứa chất bảo quản nhóm thủy phân mà không áp dụng phương pháp màng lọc được, có thể ủ môi trường thioglycolat lỏng ở 20 °C đến 25 °C thay vì sử dụng môi trường lỏng casein đậu tương và trường hợp này môi trường thioglycolat lỏng phải đạt yêu cầu về khả năng dinh dưỡng theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường*.

Khi được quy định hoặc chứng minh rõ ràng, có thể sử dụng môi trường thioglycolat lỏng thay thế. Chuẩn bị hỗn hợp môi trường có thành phần giống như môi trường thioglycolat lỏng ở trên nhưng không có thành phần thạch và dung dịch natri resazurin, tiệt khuẩn giống như ở trên. Môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH 7,1 ± 0,2. Đun nóng trong nồi cách thủy trước khi sử dụng và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong điều kiện kỵ khí.

Môi trường casein đậu tương lỏng

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Glucose monohydrat/khan	2,5 g/2,3 g
Nước	1000 ml
pH sau khi tiệt khuẩn:	7,3 ± 0,2

Hòa tan tất cả các chất rắn trong nước, đun nóng nhẹ để cho tan hoàn toàn. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (nếu cần) để điều chỉnh pH sao cho môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH 7,3 ± 0,2. Lọc (nếu cần) để cho môi trường trong. Phân chia môi trường vào ống (hoặc bình) thích hợp và hấp tiệt khuẩn theo quy trình đã được thẩm định. Bảo quản môi trường ở nhiệt độ 2 °C đến 25 °C trong bao bì vô khuẩn, kín khí, trừ khi môi trường được sử dụng ngay. Không sử dụng môi trường quá thời hạn sử dụng đã thẩm định.

Ủ môi trường casein đậu tương lỏng ở 20 °C đến 25 °C.

Môi trường nuôi cấy phải đạt chất lượng theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường*. Có thể kiểm tra chất lượng môi trường trước hoặc song song với thử vô khuẩn mẫu thử.

Kiểm tra chất lượng môi trường

a) Độ vô khuẩn

Lấy ngẫu nhiên một vài ống (hoặc bình) môi trường mới sản xuất, đem ủ ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C trong 14 ngày đối với môi trường thioglycolat lỏng; ủ ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C trong 14 ngày đối với môi trường casein đậu tương lỏng. Các loại môi trường phải không được có vi khuẩn, nấm mọc.

b) Khả năng dinh dưỡng

Tiến hành kiểm tra khả năng dinh dưỡng đối với mỗi lô môi trường được pha chế sẵn hoặc mỗi lô môi trường được pha chế từ môi trường khô nhiều thành phần hoặc được pha chế từ các thành phần riêng lẻ. Sử dụng các chủng vi sinh vật phù hợp theo quy định trong Bảng 13.7.1.

Bảng 13.7.1 - Chủng vi sinh vật phù hợp để kiểm tra khả năng dinh dưỡng và sự phù hợp của phương pháp

Vi khuẩn hiếu khí	
Staphyloccocus aureus	ATCC 6358, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276
Bacillus subtilis	ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275
Vi khuẩn kị khí	
Clostridium sporogenes	ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, ATCC 11437, NBRC 14293
Nấm	
Candida albicans	ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594
Aspergillus brasiliensis	ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455

https://nhathuocngocanh.com/

Cấy vào môi trường thioglycolat lỏng một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật sau, chú ý cấy riêng rẽ vi sinh vật vào các ống (hoặc bình môi trường): *Clostridium sporogenes, Pseudomonas aeruginosa, Staphyloccocus aureus*. Cấy vào môi trường casein đậu tương lỏng một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật sau, chú ý cấy riêng rẽ vi sinh vật vào các ống (hoặc bình môi trường): *Aspergillus brasiliensis, Bacillus subtilis, Candida albicans*. Ủ trong không quá 3 ngày đối với vi khuẩn và không quá 5 ngày đối với nấm.

Cần đảm bảo chủng vi sinh vật đem cấy vào môi trường không được cấy truyền quá 5 lần từ chủng gốc ban đầu.

Môi trường đạt chất lượng nếu sau thời gian ủ, vi sinh vật đều mọc tốt.

Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp

Tiến hành quy trình tương tự hệt với thử vô khuẩn mẫu thử, chỉ khác:

Phương pháp màng lọc: Sau khi chuyển mẫu thử lên màng lọc, thêm vào phần dung dịch pha loãng cuối cùng một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật tương ứng.

Phương pháp cấy trực tiếp: Sau khi chuyển mẫu thử vào ống (hoặc bình) môi trường, thêm vào một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật tương ứng.

Trong cả hai trường hợp trên, sử dụng vi sinh vật theo Bảng 13.7.1. Đồng thời tiến hành kiểm tra khả năng dinh dưỡng của môi trường và các ống này được coi như mẫu đối chứng dương. Ủ tất cả các ống (hoặc bình) môi trường trong không quá 5 ngày.

Nếu sau thời gian ủ, sự phát triển của vi sinh vật trong ống môi trường chứa mẫu thử tốt, rõ ràng giống với sự phát triển của vi sinh vật trong ống đối chứng dương không chứa mẫu thử, điều đó có nghĩa mẫu thử không chứa chất ức chế vi sinh vật hoặc khả năng ức chế vi sinh vật của mẫu thử đã bị loại bỏ bởi điều kiện thí nghiệm. Lúc này có thể áp dụng quy trình thử vô khuẩn trên mẫu thử mà không cần bất cứ sự điều chỉnh nào.

Nếu sau thời gian ủ, sự phát triển của vi sinh vật trong ống môi trường chứa mẫu thử không rõ ràng như sự phát triển của vi sinh vật trong ống đối chứng dương không chứa mẫu thử, điều đó có nghĩa mẫu thử chứa chất ức chế vi sinh vật và khả năng ức chế vi sinh vật của mẫu thử không bị loại bỏ bởi điều kiện thí nghiệm. Lúc này cần thay đổi điều kiện thử nghiệm để loại bỏ tác dụng của chất ức chế và tiến hành kiểm tra lại sự phù hợp của phương pháp.

Tiến hành kiểm tra sự phù hợp của phương pháp khi:

– Tiến hành thử vô khuẩn trên một sản phẩm mới.

– Có sự thay đổi về điều kiện thử vô khuẩn.

Sự phù hợp của phương pháp có thể được tiến hành đồng thời với thử vô khuẩn mẫu thử.

Tiến hành thử vô khuẩn

Có thể tiến hành thử vô khuẩn mẫu thử bằng phương pháp màng lọc hoặc phương pháp cấy trực tiếp. Cần tiến hành các ống đối chứng âm tính. Phương pháp màng lọc ưu tiên được sử dụng, được lựa chọn khi bản chất mẫu thử cho phép có thể áp dụng phương pháp màng lọc được, ví dụ mẫu thử là dung dịch nước, dầu hay cồn, hoặc mẫu thử có thể hòa trộn hoặc hòa tan trong nước hoặc dung môi hữu cơ miễn là dung môi hữu cơ đó không ức chế vi sinh vật trong điều kiện của thử nghiệm.

Phương pháp màng lọc

Sử dụng màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 0,45 µm, kích thước lỗ lọc này đã được chứng minh là phù hợp trong việc lưu giữ vi sinh vật. Màng lọc celulose nitrat được dùng cho các chế phẩm dạng nước, dạng dầu và các dung dịch cồn thấp độ. Màng lọc celulose acetat được dùng cho các chế phẩm cồn cao độ. Có thể sử dụng loại màng lọc phù hợp cho các chế phẩm riêng biệt, ví dụ kháng sinh.

Kỹ thuật thử vô khuẩn mô tả dưới đây được áp dụng cho màng lọc có đường kính 50 mm. Nếu sử dụng màng lọc có đường kính lớn hơn, cần thay đổi thể tích dung dịch pha loãng và quy trình rửa cho phù hợp. Bộ dụng cụ lọc và màng lọc phải được tiệt khuẩn theo cách phù hợp. Bộ dụng cụ lọc phải được thiết kế sao cho có thể đưa mẫu thử và lọc mẫu thử trong điều kiện vô khuẩn, cho phép lấy màng lọc ra khỏi bộ lọc và cấy vào môi trường trong điều kiện vô khuẩn, hoặc cho phép có thể mang bộ dụng cụ đem ủ sau khi đã thêm môi trường vào bộ dụng cụ đó.

Mẫu thử là dung dịch nước:

Chuyển một lượng nhỏ dung dịch pha loãng vô khuẩn thích hợp như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L có pH 7,1 ± 0,2 lên màng lọc của bộ lọc vô khuẩn và lọc. Dung dịch pha loãng có thể chứa các các chất trung hòa và/hoặc các chất bất hoạt phù hợp trong trường hợp mẫu thử có chứa kháng sinh.

Chuyển mẫu thử lên màng lọc, nếu cần có thể pha loãng mẫu giống như đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp* bằng dung dịch pha loãng phù hợp, chú ý lượng mẫu phải tuân thủ theo quy định trong Bảng 13.7.2. Lọc ngay. Nếu mẫu thử có khả năng kháng khuẩn, rửa màng lọc không dưới 3 lần, thể tích dung dịch pha loãng của mỗi lần rửa phải giống như thể tích dung dịch pha loãng đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*. Chú ý không rửa quá 5 lần, mỗi lần 100 ml dung dịch pha loãng, ngay cả trong trường hợp kết quả kiểm tra sự phù hợp của phương pháp khi áp dụng quy trình rửa này không loại trừ được hoạt tính kháng khuẩn của mẫu thử. Chuyển toàn bộ màng lọc vào môi trường nuôi cấy hoặc cắt màng lọc trong điều kiện vô khuẩn thành 2 phần tương đương và cấy mỗi nửa màng lọc vào một loại môi trường nuôi cấy. Thể tích môi trường nuôi cấy phải giống như thể tích môi trường đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*. Ngoài ra, có thể thay thế bằng cách cho môi trường nuôi cấy vào bộ dụng cụ chứa màng lọc. Ủ môi trường trong không dưới 14 ngày.

Mẫu thử là chất rắn có thể hòa tan được:

Chú ý lượng mẫu cho vào mỗi loại môi trường phải tuân thủ theo quy định trong Bảng 13.7.2. Hòa tan mẫu thử

https://nhathuocngocanh.com/

trong dung môi pha loãng được cung cấp kèm theo mẫu thử, nước cất pha tiêm, nước muối sinh lý hay dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L và tiếp tục tiến hành như mô tả đối với mẫu thử là dung dịch nước ở trên.

Mẫu thử dạng dầu/dung dịch dầu: Chú ý lượng mẫu cho vào mỗi loại môi trường phải tuân thủ theo quy định trong Bảng 13.7.2. Chuyển trực tiếp mẫu thử (không cần pha loãng) lên màng lọc khô nếu mẫu thử là dung dịch dầu có độ nhớt thấp. Nếu mẫu thử là dung dịch dầu rất nhớt, nên pha loãng mẫu thử trong dung dịch pha loãng vô khuẩn thích hợp như isopropyl myristat, dung môi này đã được chứng minh là không có hoạt tính kháng khuẩn. Để cho dung dịch dầu tự chảy qua màng lọc rồi sau đó tiến hành lọc với áp lực lọc đều đặn. Rửa màng lọc không dưới 3 lần, mỗi lần 100 ml dung dịch pha loãng phù hợp như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L có chứa chất diện hoạt phù hợp với nồng độ giống như nồng độ đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*, ví dụ có thể sử dụng polysorbat 80 ở nồng độ 10 g/L. Chuyển màng lọc vào trong môi trường hoặc ngược lại giống như đã mô tả đối với mẫu thử là dung dịch nước, ủ ở nhiệt độ và thời gian giống như trên.

Mẫu thử dạng mỡ, kem:

Chú ý lượng mẫu cho vào mỗi loại môi trường phải tuân thủ theo quy định trong Bảng 13.7.2. Nên pha loãng thuốc mỡ hoặc thuốc nhũ dịch kiểu N/D trong isopropyl myristat với tỷ lệ 1%, gia nhiệt dưới 40 °C nếu cần. Trong một số trường hợp hạn chế có thể gia nhiệt lên tới 44 °C. Tiến hành lọc nhanh và tiếp tục xử lí giống như mẫu thử dạng dầu/dung dịch dầu.

Phương pháp cấy trực tiếp

Chuyển trực tiếp lượng mẫu thử cho vào mỗi loại môi trường theo quy định trong Bảng 13.7.2. Chú ý thể tích mẫu thử không được vượt quá 10 % thể tích của môi trường, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Nếu mẫu thử có hoạt tính kháng khuẩn, cần trung hòa hoạt tính này bằng chất trung hòa trước khi tiến hành thử vô khuẩn hoặc pha loãng mẫu thử trong một thể tích môi trường nuôi cấy đủ lớn. Khi thể tích mẫu thử lớn có thể cần phải sử dụng môi trường đặc hơn (cần phải tính đến mức độ pha loãng của mẫu thử khi xác định độ đặc của môi trường nuôi cấy). Nếu có thể, nên chuyển trực tiếp môi trường đặc vào mẫu thử.

Mẫu thử dạng dung dịch dầu: Sử dụng môi trường có bổ sung chất diện hoạt phù hợp với nồng độ giống như nồng độ đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*, ví dụ có thể sử dụng polysorbat 80 ở nồng độ 10 g/L.

Mẫu thử dạng mỡ, kem: Pha loãng mẫu thử theo tỷ lệ 1:10 bằng cách nhũ hóa mẫu thử trong dung dịch pha loãng như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L có chứa chất diện hoạt. Chuyển mẫu thử đã pha loãng vào môi trường nuôi cấy không chứa chất diện hoạt.

Ủ môi trường đã cấy mẫu thử trong không dưới 14 ngày. Định kỳ quan sát sự phát triển của vi sinh vật trong quá trình ủ. Hàng ngày, lắc nhẹ nhàng môi trường nuôi cấy có chứa mẫu thử dạng dầu. Tuy nhiên, nếu sử dụng môi trường thioglycolat lỏng thì hạn chế lắc tối thiểu để duy trì điều kiện kỵ khí của môi trường này.

Mẫu thử là chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y: Sử dụng lượng mẫu thử cho vào mỗi loại môi trường nuôi cấy theo quy định trong Bảng 13.7.2. Mở bao bì đóng gói trong điều kiện vô khuẩn, cắt 3 đoạn của mỗi sợi chỉ khâu cho mỗi loại môi trường nuôi cấy. Tiến hành thử nghiệm trên 3 đoạn, mỗi đoạn 30 cm, cắt từ đoạn đầu, đoạn giữa và đoạn cuối của sợi chỉ khâu. Sử dụng các đoạn được cắt từ các bao gói mới mở. Chuyển từng đoạn vào môi trường nuôi cấy. Chú ý thể tích môi trường nuôi cấy phải đủ ngập mẫu thử (20 ml đến 150 ml).

Quan sát và đánh giá kết quả

Định kì trong suốt quá trình ủ và khi kết luận, kiểm tra môi trường bằng mắt thường xem có sự phát triển của vi sinh vật hay không. Nếu bản chất của mẫu thử làm đục môi trường khiến khó quan sát bằng mắt thường sự phát triển của vi sinh vật thì sau 14 ngày ủ, cấy truyền một lượng nhỏ từ môi trường đó (mỗi ống không quá 1 ml) sang loạt môi trường mới cùng loại và tiếp tục ủ cả môi trường cũ và môi trường mới cấy truyền trong không dưới 4 ngày.

Nếu không quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường, mẫu thử đạt chỉ tiêu vô khuẩn. Nếu quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường, mẫu thử không đạt chỉ tiêu vô khuẩn, trừ trường hợp chỉ ra rõ ràng rằng thử nghiệm không có giá trị do các nguyên nhân không liên quan gì đến mẫu thử.

Thử nghiệm được coi là không có giá trị khi:

– Các số liệu về kiểm soát vi sinh vật của khu vực thử vô khuẩn không đạt.

– Khi rà soát lại quá trình thử vô khuẩn phát hiện thấy có sai sót.

– Có sự phát triển của vi sinh vật trong ống đối chứng âm tính.

– Sau khi phân lập và định danh vi sinh vật thu được trong ống môi trường, sự phát triển của vi sinh vật này rõ ràng là do sai sót liên quan đến vật liệu hoặc kỹ thuật được áp dụng cho mẫu thử.

Nếu thử nghiệm không có giá trị, tiến hành thử vô khuẩn lại với số lượng mẫu giống như lần đầu.

Nếu không quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường ở lần thử lặp lại, mẫu thử đạt chỉ tiêu vô khuẩn. Nếu quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường ở lần thử lặp lại, mẫu thử không đạt chỉ tiêu vô khuẩn.

Áp dụng phép thử vô khuẩn vào thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt và các chế phẩm không tiêm có yêu cầu vô khuẩn

Khi sử dụng phương pháp màng lọc, lượng mẫu trong một đơn vị đóng gói ít nhất phải tuân thủ theo quy định trong

https://nhathuocngocanh.com/

Bảng 13.7.2, nếu có thể thì sử dụng toàn bộ lượng mẫu trong một đơn vị đóng gói, pha loãng nếu cần với khoảng 100 ml dung dịch pha loãng phù hợp như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L.

Khi sử dụng phương pháp cấy trực tiếp, lượng mẫu thử cho vào mỗi loại môi trường tuân theo quy định trong Bảng 13.7.2, trừ khi có chỉ dẫn khác. Nếu thể tích hoặc lượng mẫu thử trong một đơn vị đóng gói không đủ để tiến hành thử nghiệm, cần lấy mẫu thử từ 2 hoặc nhiều đơn vị đóng gói để cấy vào các môi trường khác nhau.

Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói đem thử

Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói đem thử được dựa trên cỡ lô của mẫu thử và được quy định tại Bảng 13.7.3.

Bảng 13.7.2 - Số lượng tối thiểu mẫu thử của đơn vị đóng gói cho vào mỗi loại môi trường

Số lượng chế phẩm trong 1 đơn vị đóng gói	Số lượng tối thiểu mẫu thử của đơn vị đóng gói cho vào mỗi loại môi trường (trừ khi có quy định khác)
Chất lỏng: - dưới 1 ml - từ 1 ml đến 40 ml - hơn 40 ml đến không quá 100 ml - hơn 100 ml	 Toàn bộ đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói nhưng không dưới 1 ml 20 ml 10 % đơn vị đóng gói nhưng không dưới 20 ml
Chất lỏng kháng sinh	1 ml
Chế phẩm không tan, chế phẩm dạng kem, mỡ được phân tán hoặc nhũ hóa	Lấy lượng tương ứng với ít nhất 200 mg thuốc
Chất rắn: - dưới 50 mg - từ 50 mg đến dưới 300 mg - từ 300 mg đến 5 g - hơn 5 g	 Toàn bộ đơn vị đóng gói 1/2 đơn vị đóng gói nhưng không dưới 50 mg 150 mg 500 mg
- Chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y - Băng, bông, gạc phẫu thuật được đóng gói kín - Chỉ khâu phẫu thuật và các dụng cụ khác được đóng gói dùng một lần - Các dụng cụ y tế khác	3 đoạn (mỗi đoạn dài 30 cm) 100 mg mỗi gói Toàn bộ đơn vị đóng gói Toàn bộ dụng cụ, cắt nhỏ dụng cụ hoặc tháo rời dụng cụ ra

Bảng 13.7.3 - Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói của lô đem thử

Số lượng đơn vị đóng gói của lô*	Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói của lô đem thử cho mỗi loại môi trường trừ khi có quy định khác**
Thuốc tiêm: - Không quá 100 đơn vị đóng gói - Trên 100 đến không quá 500 đơn vị đóng gói - Trên 500 đơn vị đóng gói	 10 % hoặc 4 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn 10 đơn vị đóng gói 2 % hoặc 20 đơn vị đóng gói (đối với thuốc tiêm thể tích lớn: 10 đơn vị đóng gói), lấy số bé hơn
Thuốc nhỏ mắt và chế phẩm không tiêm: - Không quá 200 đơn vị đóng gói - Trên 200 đơn vị đóng gói - Nếu chế phẩm được đóng gói dùng một lần, áp dụng quy định giống với thuốc tiêm	 5 % hoặc 2 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn 10 đơn vị đóng gói
Chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y	2 % hoặc 5 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn, tối đa 20 đơn vị đóng gói
Chế phẩm rắn: - Không quá 4 đơn vị đóng gói - Trên 4 đến không quá 50 đơn vị đóng gói - Trên 50 đơn vị đóng gói	 Mỗi đơn vị đóng gói 20 % hoặc 4 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn. 2 % hoặc 10 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn.

* Nếu không rõ số lượng đơn vị đóng gói của lô, sử dụng số lượng tối đa theo quy định trong bảng.

** Nếu lượng mẫu trong một đơn vị đóng gói đủ cho 2 loại môi trường, số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói đem thử trong cột được hiểu là tính cho cả 2 loại môi trường.