

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10736-36:2023

ISO 16000-36:2018

Xuất bản lần 1

KHÔNG KHÍ TRONG NHÀ –

**PHẦN 36: PHƯƠNG PHÁP CHUẨN SỬ DỤNG
BUỒNG THỬ NGHIỆM ĐỂ ĐÁNH GIÁ TỐC ĐỘ GIẢM VI
KHUẨN TRONG KHÔNG KHÍ CÓ THỂ NUÔI CẤY BẰNG
MÁY LỌC KHÔNG KHÍ**

Indoor air –

*Part 36: Standard method for assessing the reduction rate of culturable airborne
bacteria by air purifiers using a test chamber*

HÀ NỘI – 2023

Lời nói đầu

TCVN 10736-36:2023 hoàn toàn tương đương ISO 16000-36:2018.

TCVN 10736-36:2023 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC 146 *Chất lượng không khí* biên soạn, Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam đề nghị, Tổng Cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN 10736 (ISO 16000) *Không khí trong nhà* gồm các phần sau:

- TCVN 10736-1: 2015 (ISO 16000-1:2004) *Phần 1: Các khía cạnh chung của kế hoạch lấy mẫu;*
- TCVN 10736-2:2015 (ISO 16000-2:2004) *Phần 2: Kế hoạch lấy mẫu formaldehyt;*
- TCVN 10736-3:2015 (ISO 16000-3:2011) *Phần 3: Xác định formaldehyt và hợp chất cacbonyl khác trong không khí trong nhà và không khí trong buồng thử – Phương pháp lấy mẫu chủ động;*
- TCVN 10736-4:2015 (ISO 16000-4:2011) *Phần 4: Xác định formaldehyt – Phương pháp lấy mẫu khuếch tán;*
- TCVN 10736-5:2015 (ISO 16000-5:2007) *Phần 5: Kế hoạch lấy mẫu đối với hợp chất hữu cơ bay hơi (VOC);*
- TCVN 10736-6:2023 (ISO 16000-6:2021) *Phần 6: Xác định hợp chất hữu cơ (VVOC, VOC, SVOC) trong không khí trong nhà và trong buồng thử bằng cách lấy mẫu chủ động trên ống hấp phụ, giải hấp nhiệt và sắc ký khí sử dụng MS hoặc MS-FID;*
- TCVN 10736-7:2016 (ISO 16000-7:2007) *Phần 7: Chiến lược lấy mẫu để xác định nồng độ sợi amiăng truyền trong không khí;*
- TCVN 10736-8:2016 (ISO 16000-8:2007) *Phần 8: Xác định thời gian lưu trung bình tại chỗ của không khí trong các tòa nhà để xác định đặc tính các điều kiện thông gió;*
- TCVN 10736-9:2023 (ISO/FDIS 16000-9:2023) *Phần 9: Xác định phát thải của các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi từ các sản phẩm xây dựng và đồ nội thất – Phương pháp buồng thử phát thải;*
- TCVN 10736-10:2016 (ISO 16000-10:2006) *Phần 10: Xác định phát thải của hợp chất hữu cơ bay hơi từ các sản phẩm xây dựng và đồ nội thất – Phương pháp ngăn thử phát thải;*
- TCVN 10736-11:2023 (ISO/FDIS 16000-11:2023) *Phần 11: Xác định phát thải của các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi từ các sản phẩm xây dựng và đồ nội thất – Lấy mẫu, bảo quản mẫu và chuẩn bị mẫu thử;*
- TCVN 10736-12:2016 (ISO 16000-12:2008) *Phần 12: Chiến lược lấy mẫu đối với polycloro biphenyl (PCB), polycloro dibenzo-p-dioxin (PCDD), polycloro dibenzofuran (PCDF) và hydrocacbon thơm đa vòng (PAH);*
- TCVN 10736-13:2016 (ISO 16000-13:2008) *Phần 13: Xác định tổng (pha khí và pha hạt) polycloro biphenyl giống dioxin (PCB) và polycloro dibenzo-p-dioxin/polycloro dibenzofuran (PCDD/PCDF) – Thu thập mẫu trên cái lọc được hỗ trợ bằng chất hấp phụ;*

TCVN 10736-36:2023

- TCVN 10736-14:2016 (ISO 16000-14:2009) *Phần 14: Xác định tổng (pha khí và pha hạt) polycloro biphenyl giống dioxin (PCB) và polycloro dibenzo-p-dioxin/polycloro dibenzofuran (PCDD/PCDF) – Chiết, làm sạch và phân tích bằng sắc ký khí phân giải cao và khối phổ.*
- TCVN 10736-15:2017 (ISO 16000-15:2008) *Phần 15: Cách thức lấy mẫu nitơ dioxit (NO₂).*
- TCVN 10736-16:2017 (ISO 16000-16:2008) *Phần 16: Phát hiện và đếm nấm mốc – Lấy mẫu bằng cách lọc.*
- TCVN 10736-17:2017 (ISO 16000-17:2008) *Phần 17: Phát hiện và đếm nấm mốc – Phương pháp nuôi cấy.*
- TCVN 10736-18:2017 (ISO 16000-18:2011) *Phần 18: Phát hiện và đếm nấm mốc – Lấy mẫu bằng phương pháp va đập.*
- TCVN 10736-19:2017 (ISO 16000-19:2012) *Phần 19: Cách thức lấy mẫu nấm mốc.*
- TCVN 10736-20:2017 (ISO 16000-20:2014) *Phần 20: Phát hiện và đếm nấm mốc – Xác định số đếm bào tử tổng số.*
- TCVN 10736-21:2017 (ISO 16000-21:2013) *Phần 21: Phát hiện và đếm nấm mốc – Lấy mẫu từ vật liệu.*
- TCVN 10736-23:2017 (ISO 16000-23:2009) *Phần 23: Thử tính năng để đánh giá sự giảm nồng độ formaldehyt do vật liệu xây dựng hấp thu.*
- TCVN 10736-24:2017 (ISO 16000-24:2009) *Phần 24: Thử tính năng để đánh giá sự giảm nồng độ hợp chất hữu cơ bay hơi (trừ fomaldehyt) do vật liệu xây dựng hấp thu.*
- TCVN 10736-25:2017 (ISO 16000-25:2011) *Phần 25: Xác định phát thải của hợp chất hữu cơ bán bay hơi từ các sản phẩm xây dựng – Phương pháp buồng thử nhỏ.*
- TCVN 10736-26:2017 (ISO 16000-26:2012) *Phần 26: Cách thức lấy mẫu cacbon dioxit (CO₂)*
- TCVN 10736-27:2017 (ISO 16000-27:2014) *Phần 27: Xác định bụi sợi lắng đọng trên bề mặt bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) (phương pháp trực tiếp)*
- TCVN 10736-28:2023 (ISO 16000-28:2020) *Phần 28: Xác định phát thải mùi từ các sản phẩm xây dựng sử dụng buồng thử.*
- TCVN 10736-29:2017 (ISO 16000-29:2014) *Phần 29: Phương pháp thử dùng cho các thiết bị đo hợp chất hữu cơ bay hơi (VOC).*
- TCVN 10736-30:2017 (ISO 16000-30:2014) *Phần 30: Thử nghiệm cảm quan của không khí trong nhà.*
- TCVN 10736-31:2017 (ISO 16000-31:2014) *Phần 31: Đo chất chống cháy và chất tạo dẻo trên nền hợp chất phospho hữu cơ-este axit phosphoric.*
- TCVN 10736-32:2017 (ISO 16000-32:2014) *Phần 32: Khảo sát tòa nhà để xác định sự xuất hiện của các chất ô nhiễm.*
- TCVN 10736-33:2017 (ISO 16000-33:2017) *Phần 33: Xác định phtalat bằng sắc ký khí/khối phổ (GC/MS).*
- TCVN 10736-34:2023 (ISO 16000-34:2018) *Phần 34: Các chiến lược đo bụi trong không khí*

- TCVN 10736-36:2023 (ISO 16000-36:2018) *Phần 36: Phương pháp chuẩn sử dụng buồng thử nghiệm để đánh giá tốc độ giảm vi khuẩn trong không khí có thể nuôi cấy bằng máy lọc không khí*
- TCVN 10736-37:2023 (ISO 16000-37:2019) *Phần 37: Đo nồng độ khối lượng bụi PM_{2.5}*
- TCVN 10736-38:2023 (ISO 16000-38:2019) *Phần 38: Xác định các amin trong không khí trong nhà và trong buồng thử nghiệm – Lấy mẫu chủ động trên các bộ lấy mẫu có chứa phin lọc tẩm axit phosphoric*
- TCVN 10736-39:2023 (ISO 16000-39:2019) *Phần 39: Xác định các amin – Phân tích các amin bằng sắc ký lỏng (siêu) hiệu năng cao kết hợp với phép đo khối phổ độ phân giải cao hoặc hai lần khối phổ*
- TCVN 10736-40:2023 (ISO 16000-40:2019) *Phần 40: Hệ thống quản lý chất lượng không khí trong nhà.*

Bộ ISO 16000 *Indoor air* còn có các phần sau:

- ISO 16000-41:2023 *Indoor air – Part 41: Assessment and classification*
- ISO 16000-42:2023 *Indoor air – Part 42: Measurement of the particle number concentration by condensation particle counters*
- ISO 16000-44:2023 *Indoor air – Part 44: Test method for measuring perceived indoor air quality for use in testing the performance of gas phase air cleaners.*

Lời giới thiệu

Môi trường vi sinh vật trong nhà rất quan trọng đối với sức khỏe của người cư ngụ, đặc biệt ảnh hưởng lớn đến việc gia tăng thời gian ở trong nhà.

Máy lọc không khí được sử dụng để giảm nồng độ của các vi sinh vật trong không khí trong nhà.

Hiệu suất của máy lọc không khí để giảm vi sinh vật trong không khí có thể được nghiên cứu trong buồng thử với nhiệt độ và độ ẩm tương đối không khí không đổi.

Trong tiêu chuẩn này, để phù hợp với điều kiện thực tế của Việt Nam, nhiệt độ và độ ẩm không khí thử nghiệm được đổi thành 25 °C và 65 %. Việc sửa đổi này không ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.

Không khí trong nhà –

Phần 36: Phương pháp chuẩn sử dụng buồng thử nghiệm để đánh giá tốc độ giảm vi khuẩn trong không khí có thể nuôi cấy bằng máy lọc không khí

Indoor air –

Part 36: Standard method for assessing the reduction rate of culturable airborne bacteria by air purifiers using a test chamber

CẢNH BÁO – Phép thử nghiệm nêu trong tiêu chuẩn này phải do chuyên gia đã được đào tạo và chứng nhận để xử lý các kỹ thuật liên quan đến vi sinh vật thực hiện. Vi khuẩn thử nghiệm *Staphylococcus aureus* là vi khuẩn gây bệnh đối với người và động vật. Phải tuân thủ các quy trình an toàn khi làm việc với các vật liệu sinh học lây nhiễm để ngăn chặn mọi ô nhiễm đối với thiết bị, nơi làm việc hoặc môi trường. Việc kiểm tra và chuẩn bị các chủng cấy cần được thực hiện trong tủ an toàn sinh học cấp II.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp đánh giá khả năng của máy lọc không khí làm giảm nồng độ vi khuẩn có thể nuôi cấy.

Phép thử này có thể áp dụng cho máy lọc không khí thường được sử dụng trong không gian của một phòng.

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 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*,

TCVN 10736-9 (ISO/FDIS 16000-9:2006), *Không khí trong nhà – Phần 9: Xác định phát thải của các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi từ sản phẩm xây dựng và đồ nội thất – Phương pháp buồng thử phát thải*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Máy lọc không khí (air purifier)

Thiết bị chạy bằng điện về cơ bản được chế tạo gồm quạt và một bộ gồm các bộ phận có khả năng bắt giữ và/hoặc phá hủy (một phần hoặc toàn bộ) các chất gây ô nhiễm không khí.

3.2

Đơn vị hình thành khuẩn lạc (colony forming unit)
cfu

Đơn vị biểu thị số lượng vi khuẩn (3.3) có thể nuôi cấy.

[EN 13098:2000, sửa đổi]

3.3

Vi khuẩn (bacteria)

Sinh vật có kích thước siêu nhỏ, có thể tồn tại ở dạng đơn bào có thành tế bào.

3.4

Nồng độ nền (background concentration)

Nồng độ vi khuẩn (3.3) trong không khí có thể nuôi cấy có trong buồng thử trước khi thực hiện thử nghiệm.

3.5

Tốc độ phân rã tự nhiên (natural decay rate)

Tốc độ giảm của vi khuẩn (3.3) có thể nuôi cấy, được đo bằng cách so sánh nồng độ vi khuẩn ngay sau khi phun huyền phù vi khuẩn bên trong buồng thử với nồng độ đếm được sau một khoảng thời gian xác định (thời gian thử nghiệm) mà không vận hành máy lọc không khí (3.1).

CHÚ THÍCH 1: Tốc độ phân rã tự nhiên được biểu thị bằng phần trăm.

3.6

Tốc độ giảm vi khuẩn (bacterial reduction rate)

Tốc độ giảm của vi khuẩn (3.3) có thể nuôi cấy, được đo bằng cách so sánh nồng độ vi khuẩn ngay sau khi phun huyền phù vi khuẩn bên trong buồng với nồng độ được tính sau một thời gian vận hành xác định (thời gian thử nghiệm) của máy lọc không khí (3.1)

CHÚ THÍCH 1: Tốc độ giảm vi khuẩn được biểu thị bằng phần trăm.

3.7

Va đập (impaction)

Lấy mẫu vi khuẩn (3.3) trong không khí có thể nuôi cấy bằng tách quán tính trên bề mặt thạch rắn

4 Nguyên tắc

Hiệu quả của máy lọc không khí được kiểm tra bằng cách sử dụng huyền phù vi khuẩn phun vào trong buồng thử nghiệm ở nhiệt độ và độ ẩm không khí tương đối không đổi. Hiệu quả được tính bằng tốc độ giảm vi khuẩn trong không khí có thể nuôi cấy trong một khoảng thời gian xác định, có tính đến tính đồng đều và tốc độ phân rã tự nhiên của vi khuẩn.

5 Thiết bị và vật liệu

5.1 Thiết bị

5.1.1 Buồng thử nghiệm

Buồng phải được làm từ vật liệu phù hợp, nghĩa là vật liệu phát ra ít nhất chất ô nhiễm, chống ăn mòn, như thép không gỉ. Buồng thử phải duy trì đủ khả năng kín khí.

Dung tích của buồng cần thích hợp với ứng dụng của máy lọc không khí sau này. Dung tích tối thiểu không được nhỏ hơn 8 m³ và thường từ 15 m³ đến 30 m³.

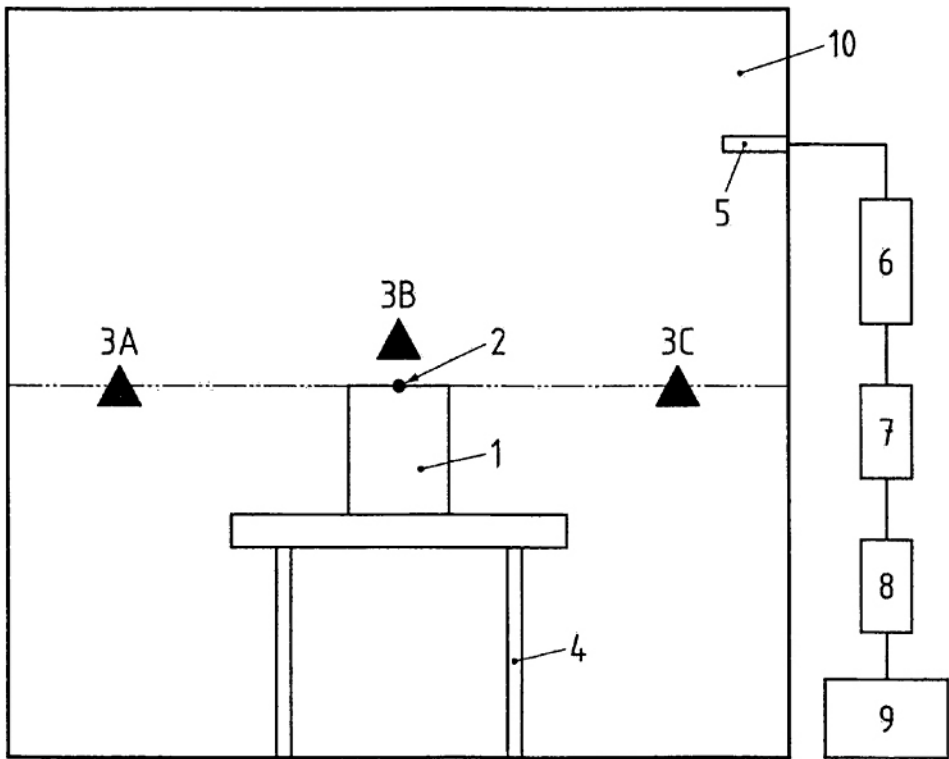
Lắp bộ lọc HEPA để làm sạch không khí bằng cách loại bỏ các hạt, bộ phận điều hòa không khí để kiểm soát nhiệt độ và độ ẩm, hệ thống khử nhiễm không khí bên trong buồng thử nghiệm. Riêng đối với các buồng thử nghiệm lớn hơn, cần có quạt để phân bố đồng đều vi khuẩn.

Môi trường thử nghiệm phải được giữ sạch và không bị ô nhiễm vi khuẩn. Cần phải có hệ thống kiểm soát môi trường phù hợp để duy trì nhiệt độ và độ ẩm không đổi. Để đạt được điều này, buồng thử nghiệm cần phải bao gồm:

- Hệ thống có khả năng loại bỏ ô nhiễm và duy trì tình trạng vô trùng bên trong buồng thử, như đèn UV;
- Bộ phận chuyển các hộp mẫu vào và ra khỏi buồng thử mà không làm ô nhiễm chéo (điều này có thể bao gồm hệ thống đặc biệt, như hộp kín);
- Bộ phận kiểm soát từ bên ngoài về nguồn (công suất) phía trong buồng thử;

- Bộ phận tạo ra sol khí của vi khuẩn thử nghiệm trong buồng thử và để đảm bảo tính đồng đều của sol khí (việc này có thể đạt được bằng cách sử dụng đầu phun qua đó vi khuẩn được phun được kết nối với đầu phun trong buồng, có quạt để đảm bảo sự phân bố đồng đều vi khuẩn bên trong buồng);
- Hệ thống điều hòa không khí bên trong buồng có khả năng kiểm soát chính xác sự ổn định nhiệt độ và độ ẩm tương đối; hệ thống điều hòa không khí phải tắt trong quá trình thử nghiệm;
- Bộ phận sử dụng dòng không khí áp suất âm để thổi sạch buồng sau thử nghiệm;
- Bộ phận chỉ báo hiển thị các yếu tố môi trường chính của thử nghiệm, bao gồm tốc độ dòng, nhiệt độ và độ ẩm tương đối;
- Bộ lọc để ngăn ô nhiễm từ bên ngoài trong quá trình thông gió.

Hệ thống thử nghiệm sử dụng buồng thử nghiệm được thể hiện trong Hình 1.



CHÚ DẪN

- | | | | |
|---|-------------------------------|----|---------------------------------------|
| 1 | Máy lọc không khí | 6 | Máy hút ẩm |
| 2 | Đầu vào không khí của máy lọc | 7 | Máy phun sương |
| 3 | Vị trí bộ va đập 3A, 3B, 3C | 8 | Phin lọc (để cung cấp không khí sạch) |
| 4 | Giá đỡ máy lọc không khí | 9 | Bơm áp suất |
| 5 | Đầu phun | 10 | Buồng thử |

Hình 1 – Sơ đồ hệ thống thử nghiệm sử dụng buồng thử nghiệm

Ví dụ các hình ảnh của buồng thử nghiệm được đưa ra trong Phụ lục A.

Theo 8.1 trong TCVN 10736-9 (ISO/FDIS 16000-9) thì:

- Nhiệt độ thử nghiệm và dải biến thiên chấp nhận được phải là $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$;
- Độ ẩm thử nghiệm và dải biến thiên chấp nhận được phải là $(65 \pm 5) \%$.

Ngoài ra, phép thử có thể được thực hiện trong các điều kiện khác. Các điều kiện này phải được lập thành văn bản.

Sau mỗi phép thử, không gian bên trong của buồng thử được khử nhiễm bằng đèn UV, etanol 70 % (5.1.12) hoặc sử dụng các phương pháp khử nhiễm khác để ngăn ô nhiễm sau phép thử.

5.1.2 Máy phun sương

Máy phun sương phải có khả năng phun môi trường nuôi cấy thành các hạt ($0,05 \mu\text{m}$ đến $5 \mu\text{m}$) để tạo ra càng nhiều hạt vi khuẩn tách biệt càng tốt. Thường bao gồm máy bơm để tạo ra áp suất không khí xác định để phun, bộ cấp không khí sạch và máy hút ẩm để loại bỏ nước dư ra khỏi môi trường nuôi cấy được tạo ra.

5.1.3 Bộ va đập để lấy mẫu vi khuẩn

Phương pháp lấy mẫu trong tiêu chuẩn này chỉ áp dụng cho nồng độ vi khuẩn nuôi cấy tương đối thấp và các buồng nhỏ, ví dụ: 8 m^3 .

Nồng độ ban đầu phải thấp hơn giới hạn phát hiện trên của phương pháp lấy mẫu. Đối với bộ va đập của bộ lấy mẫu 300 lỗ và thể tích lấy mẫu là 100 L hoặc 50 L, thì giới hạn phát hiện trên lần lượt là khoảng $1,6 \times 10^4 \text{ cfu/m}^3$ hoặc xấp xỉ $3,2 \times 10^4 \text{ cfu/m}^3$ có thể 299 của 300 khuẩn lạc)

5.1.4 Giá đỡ, để định vị bộ va đập ở độ cao lấy mẫu cần thiết.

5.1.5 Nồi hấp áp suất, được kiểm soát nhiệt độ ở $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$ và áp suất $(103 \pm 5) \text{ kPa}$.

5.1.6 Tủ ẩm, kiểm soát được nhiệt độ ở $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

5.1.7 Tủ đông sâu, được kiểm soát nhiệt độ ở $(-70 \pm 10) ^\circ\text{C}$.

5.1.8 Tủ an toàn vi sinh cấp II.

5.1.9 Cân, có khả năng cân chính xác đến $\pm 0,01 \text{ g}$.

5.1.10 Vòng cấy, đường kính 4 mm, vô trùng.

5.1.11 Đĩa Petri, vô trùng, được thông khí, đường kính từ 90 mm đến 100 mm.

5.1.12 Chất khử trùng, isopropanol hoặc etanol (70 % thể tích).

5.1.13 Máy đo pH, có khả năng đo đến $\pm 0,2$ đơn vị.

5.1.14 Đồng hồ hẹn giờ.

5.2 Vật liệu

5.2.1 Vi khuẩn thử nghiệm**5.2.1.1** *Staphylococcus aureus* ATCC 6538**5.2.1.2** *Micrococcus luteus* ATCC 10240

Đối với các vấn đề nghiên cứu cụ thể, có thể sử dụng các vi khuẩn khác. Tất cả các chủng được sử dụng phải được liệt kê trong báo cáo thử nghiệm.

5.2.2 Môi trường nuôi cấy và thuốc thử**5.2.2.1 Yêu cầu chung**

Để chuẩn bị môi trường nuôi cấy và thuốc thử, sử dụng các thành phần có chất lượng đồng đều và hóa chất cấp phân tích thuốc thử. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy bằng nước cất hoặc nước đã khử ion có chất lượng tương đương với loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696) và không chứa các chất ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Cách khác, nên sử dụng môi trường hoàn chỉnh và tuân thủ nghiêm ngặt hướng dẫn của nhà sản xuất.

5.2.2.2 Canh thang dinh dưỡng

Chất chiết thịt bò:	3,0 g
Pepton:	10,0 g
Natri clorua:	5,0 g
Nước:	1 000 mL

Hòa tan các thành phần trên trong 1 000 mL nước cất hoặc nước đã khử ion. Chỉnh pH bằng natri hydroxit hoặc axit clohydric, pH cuối cùng phải từ 7,0 đến 7,2 ở 25 °C. Khử trùng bằng nồi hấp áp suất 15 min ở (121 ± 3) °C. Bảo quản ở (5 ± 3) °C trong thời gian không quá một tháng.

5.2.2.3 Thạch dinh dưỡng

Chất chiết thịt bò:	3,0 g
Pepton :	10,0 g
Natri clorua:	5,0 g
Nước:	1 000 mL
Thạch:	15,0 g

Hòa tan các thành phần trên trong 1 000 mL nước cất hoặc nước đã khử ion bằng cách gia nhiệt. Chỉnh pH bằng natri hydroxit hoặc axit clohydric, pH cuối cùng phải từ 7,0 đến 7,2 ở 25 °C. Khử trùng bằng nồi hấp áp lực trong 15 min ở (121 ± 3) °C. Bảo quản ở (5 ± 3) °C trong thời gian không quá một tháng.

5.2.2.4 Dung dịch nước muối sinh lý

Natri clorua:	8,5 g
Nước:	1 000 mL

Chuẩn bị dung dịch nước muối sinh lý bằng cách hòa tan 8,5 g natri clorua trong 1 000 mL nước cất hoặc nước đã khử ion. Khử trùng bằng nồi hấp áp lực 20 min ở $(121 \pm 3) ^\circ\text{C}$. Bảo quản dung dịch này không quá 12 tháng.

6 Chuẩn bị chủng cấy gốc và chủng làm việc của vi khuẩn thử nghiệm

6.1 Chuẩn bị và duy trì chủng gốc

Hoàn nước cho chủng chuẩn đông khô của vi khuẩn thử nghiệm theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chuyển chủng chuẩn đã hoàn nước vào bình nón có chứa một thể tích xác định môi trường canh thang dinh dưỡng (5.2.2.2). Ủ trong (18 ± 2) h ở $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ trong tủ ấm (5.1.6) trong khi lắc nhẹ. Thêm cùng một thể tích glyxerol 20 % (thể tích) vô trùng hoặc dimethylsulphur oxit (DMSO) 10 % (thể tích) vào huyền phù vi khuẩn để thu được huyền phù glyxerol 10 % (thể tích) hoặc DMSO 5 % (thể tích) và trộn đều. Phân phối các phần mẫu thử vào các ống nhựa có dung tích khoảng 0,5 mL và bảo quản ở $(-70 \pm 10) ^\circ\text{C}$ trong tủ đông sâu (5.1.7) trong thời gian tối đa là hai năm.

6.2 Chuẩn bị và duy trì các chủng làm việc của vi khuẩn thử nghiệm trên các đĩa thạch

Chuẩn bị các chủng làm việc của vi khuẩn thử nghiệm từ chủng gốc (6.1). Cân bằng chủng gốc đông lạnh đến nhiệt độ phòng (15 đến $30) ^\circ\text{C}$ và nuôi cấy huyền phù vi khuẩn vào đĩa thạch dinh dưỡng (5.2.2.3) sao cho thu được các khuẩn lạc đơn lẻ. Sau khi nuôi cấy, bảo quản các đĩa ở $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ không quá một tháng.

6.3 Chuẩn bị huyền phù chủng cấy làm việc

Nuôi cấy 1 đến 5 khuẩn lạc từ các đĩa thạch nuôi cấy chủng làm việc (6.2) trong (50 ± 5) mL môi trường canh thang dinh dưỡng (5.2.2.2) trong bình nón 300 mL và ủ trong (18 ± 2) h ở $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ trong khi lắc nhẹ.

Thu lấy huyền phù có nồng độ trong khoảng $1,0 \times 10^9$ đến $9,0 \times 10^9$ cfu/mL (tương đương với 300 "lỗ đầy" trong nắp của bộ và đập 300 lỗ, nếu dùng dung tích 100 L) để thử nghiệm. Nếu nồng độ của huyền phù vi khuẩn thử nghiệm lớn hơn $1,0 \times 10^9$ đến $9,0 \times 10^9$ cfu/mL, thì pha loãng huyền phù này bằng dung dịch muối sinh lý (5.2.2.4) qua các độ pha loãng 10 lần. Bảo quản huyền phù chủng cấy làm việc này ở $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ và sử dụng trong vòng 4 h.

Để kiểm tra nồng độ vi khuẩn trong huyền phù, cấy huyền phù đã chuẩn bị trên môi trường thạch dinh dưỡng qua các độ pha loãng 10 lần và sau khi ủ ở $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ trong (18 đến 24) h, đếm số khuẩn lạc trên đĩa.

7 Cách tiến hành

7.1 Yêu cầu chung

Tránh mọi ô nhiễm vi khuẩn bằng cách chuẩn bị và xử lý vi khuẩn thử nghiệm sử dụng tủ an toàn vi sinh học (5.1.8).

Thử nghiệm được thực hiện theo hai bước. Ở bước 1 (xem 7.2), nồng độ của vi khuẩn thử nghiệm được đo khi không vận hành máy lọc không khí, sau đó ở bước 2 (xem 7.3) với vận hành máy lọc không khí.

Phép thử chỉ hợp lệ nếu các điều kiện trong 8.2 được đáp ứng và phép thử (bước 2) được thực hiện trong khoảng thời gian khi tốc độ phân hủy ở bước 1 duy trì dưới 50 % (xem Phụ lục B). Nếu các điều kiện này không được đáp ứng thì phải lặp lại thử nghiệm (bước 1 và bước 2).

Sau đó thử nghiệm được thực hiện với cả hai vi khuẩn thử nghiệm. Huyền phù của vi khuẩn thử nghiệm tương ứng được sử dụng ở bước 2 giống như huyền phù được sử dụng ở bước 1.

7.2 Bước 1: Đo nồng độ vi khuẩn thử nghiệm nuôi cấy, Ci, khi không vận hành máy lọc không khí

7.2.1 Yêu cầu chung

Ở bước 1, nồng độ của vi khuẩn thử nghiệm được đo mà không cần vận hành máy lọc không khí.

7.2.2 Chuẩn bị máy lọc không khí và buồng thử nghiệm

Đặt máy lọc không khí vào giữa buồng thử. Làm sạch nhẹ bề mặt trước của máy lọc không khí hai hoặc ba lần bằng miếng gạc hoặc bông vải thấm etanol 70 % (5.1.12) và làm khô hoàn toàn. Nếu etanol không phù hợp với vật liệu bề mặt của máy điều hòa không khí hoặc gây ra sự phá hủy khác có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm, thì sử dụng phương pháp khử nhiễm khác.

Nhiệt độ và độ ẩm tương đối bên trong buồng thử nghiệm phải được duy trì ở:

- Nhiệt độ: $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$;
- Độ ẩm tương đối: $(65 \pm 5) \%$.

Trước khi thử, khử nhiễm không gian bên trong buồng, ví dụ: sử dụng đèn UV.

Chèn ba hoặc nhiều bộ va đập có chứa các đĩa thạch dinh dưỡng vào buồng thử nghiệm. Khử nhiễm các bộ va đập bằng etanol 70 % (5.1.12) hoặc sử dụng phương pháp thích hợp khác.

CHÚ THÍCH: Việc sử dụng nhiều hơn ba điểm đo có thể hữu ích để chứng minh sự phân bố đồng đều của vi khuẩn trong các buồng thử có dung tích lớn hơn.

7.2.3 Đo nồng độ nền vi khuẩn trong buồng thử nghiệm

Đo nồng độ nền sau khi đặt máy lọc không khí và trước khi phun vi khuẩn thử nghiệm vào buồng. Đo nồng độ vi khuẩn có thể nuôi cấy ở giữa buồng bằng cách sử dụng bộ va đập đã đặt đĩa thạch vào. Sử dụng thể tích lấy mẫu là 1 000 L. Lấy đĩa thạch ra khỏi bộ va đập và đếm các khuẩn lạc sau khi ủ các đĩa ở $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$ trong (18 đến 24) h.

Nồng độ nền vi khuẩn phải được duy trì ở mức $< 1 \text{ cfu/m}^3$. Nếu nồng độ cao hơn được phát hiện, thì thông khí và khử nhiễm buồng thử, ví dụ: sử dụng đèn UV và lặp lại phép đo.

7.2.4 Phun huyền phù vi khuẩn thử nghiệm

Cho một lượng xác định huyền phù vi khuẩn (6.2) vào bộ phun. Lượng huyền phù vi khuẩn có thể khác nhau tùy thuộc vào máy phun được sử dụng. Phun huyền phù vi khuẩn bằng máy phun ở áp suất 3 bar (là khoảng 50 L/min). Sử dụng cỡ đầu phun 0,3 mm. Thời gian phun khác nhau tùy thuộc vào thể tích của buồng thử. Sử dụng quạt để đảm bảo sự phân bố đồng đều của vi khuẩn bên trong buồng thử.

CHÚ THÍCH 1: Nếu thể tích huyền phù vi khuẩn nhỏ hơn 100 mL, thì việc phun sẽ khó khăn (tùy thuộc vào cỡ máy phun).

CHÚ THÍCH 2: Thông tin thêm về tính đồng đều của vi khuẩn có thể nuôi cấy trong trong buồng thử nghiệm được nêu trong Phụ lục C.

Làm sạch và khử nhiễm/khử trùng máy phun theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

7.2.5 Đo nồng độ ban đầu của vi khuẩn có thể nuôi cấy bên trong buồng thử nghiệm sau khi phun

Đo nồng độ ban đầu của vi khuẩn có thể nuôi cấy bên trong buồng sau khi phun huyền phù vi khuẩn thử nghiệm (6.3) bằng cách sử dụng bộ va đập có lắp các đĩa thạch dinh dưỡng. Khử nhiễm bộ va đập bằng etanol 70 % hoặc phương pháp thích hợp khác trước khi sử dụng. Thời gian và thể tích đo khác nhau tùy thuộc vào nồng độ vi khuẩn dự kiến. Nồng độ ban đầu phải nằm trong khoảng từ $1,0 \times 10^4$ cfu/m³ đến $3,2 \times 10^4$ cfu/m³.

CHÚ THÍCH: Các đĩa thạch dinh dưỡng được lấy ra khỏi bộ va đập sử dụng hộp kín. Để đo nồng độ vi khuẩn sau một khoảng thời gian xác định, đưa các đĩa thạch dinh dưỡng mới vào các bộ va đập sử dụng hộp kín. Các đĩa thạch tích điện (có nắp đậy kín) được giữ trong buồng thử cho đến khi kết thúc thực nghiệm.

7.2.6 Đo nồng độ vi khuẩn nuôi cấy bên trong buồng thử nghiệm sau một khoảng thời gian xác định

Để xác định tốc độ phân hủy tự nhiên của vi khuẩn, thực hiện đo nồng độ vi khuẩn có thể nuôi cấy bên trong buồng thử nghiệm sau một khoảng thời gian xác định mà không cho chạy máy lọc không khí. Chọn khoảng thời gian dựa trên thời gian hoạt động dự kiến của máy lọc không khí. Đo tốc độ phân hủy tự nhiên nhiều hơn ba lần.

Ủ các đĩa thạch dinh dưỡng ở $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ trong (18 đến 24) h và tính số lượng vi khuẩn nuôi cấy theo 8.1.

7.2.7 Hành động sau thử nghiệm

Khử nhiễm không gian bên trong buồng thử bằng đèn UV, phun etanol 70 % (5.1.12) hoặc sử dụng phương pháp khử nhiễm khác để loại bỏ mọi ô nhiễm sau khi thử nghiệm.

7.3 Bước 2 - Đo nồng độ vi khuẩn thử nghiệm nuôi cấy, c_1 , sau khi cho chạy máy lọc không khí

Chuẩn bị buồng thử và đo nồng độ nền vi khuẩn như trong 7.2.2 và 7.2.3.

Phun huyền phù vi khuẩn thử nghiệm (xem 7.2.4) và đo nồng độ vi khuẩn ban đầu bên trong buồng bằng bộ va đập (xem 7.2.5).

Vận hành máy lọc không khí sau khi đo nồng độ ban đầu. Thời gian hoạt động có thể thay đổi tùy theo đặc tính của máy lọc không khí. Thời gian hoạt động của máy lọc không khí nên ít hơn 30 min.

Đo tại chiều cao của cửa hút không khí của máy lọc không khí bằng các bộ va đập ít nhất tại ba vị trí khác nhau (xem 7.2.6).

Ủ tất cả các đĩa thạch dinh dưỡng này ở $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ trong (18 đến 24) h và tính số lượng vi khuẩn nuôi cấy theo 8.1.

8 Tính và biểu thị kết quả

8.1 Tính toán nồng độ vi khuẩn nuôi cấy trong không khí

Tính nồng độ vi khuẩn trong không khí có thể nuôi cấy bằng cách đếm các khuẩn lạc vi khuẩn trên các đĩa thạch đã ủ và bằng cách áp dụng hệ số bù đối với bộ va đập tương ứng và thể tích không khí thu được theo Công thức (1):

$$C = N \cdot \frac{1}{V} \quad (1)$$

Trong đó:

C là nồng độ vi khuẩn nuôi cấy thu hồi được trên m^3 (cfu/ m^3);

N là số khuẩn lạc trung bình của ba đĩa có tính hệ số bù, nếu áp dụng, tính bằng cfu;

V là thể tích mẫu, tính bằng m^3 .

Nếu không có khuẩn lạc nào xuất hiện trên các đĩa thạch, thì kết quả được biểu thị là "< 1 cfu" trong thể tích không khí được lấy mẫu. Ví dụ: "< 10 cfu/ m^3 " cho thấy không có khuẩn lạc nào trong các đĩa thạch đã ủ sau khi lấy mẫu 100 L không khí.

8.2 Điều kiện để phép thử hợp lệ

Nồng độ ban đầu bên trong buồng ngay sau khi phun và trước khi vận hành thiết bị thử nghiệm phải từ $1,0 \times 10^4$ cfu/ m^3 đến $3,2 \times 10^4$ cfu/ m^3 . Ngoài ra, Công thức (2) phải được áp dụng cho số đếm vi khuẩn ban đầu và số đếm vi khuẩn sau khi vận hành máy lọc không khí:

$$\frac{(L_{\max} - L_{\min})}{L_{\text{mean}}} \leq 0,2 \quad (2)$$

Trong đó

L_{max} là số đếm vi khuẩn tối đa;

L_{min} là số đếm vi khuẩn tối thiểu;

L_{mean} là giá trị trung bình của số đếm vi khuẩn đo được.

8.3 Tốc độ giảm vi khuẩn

Tốc độ giảm vi khuẩn, R , được tính theo Công thức (3):

$$R = \frac{C_i^* - C_t^*}{C_i^*} = 1 - \frac{C_t^*}{C_i^*} \quad (3)$$

Trong đó

$C_i^* \dots C_i^* = C_i / C_{i,t=0}$ là nồng độ chuẩn hóa của vi khuẩn nuôi cấy sau i giờ mà không vận hành máy lọc không khí;

$C_t^* \dots C_t^* = C_t / C_{t,t=0}$ là nồng độ chuẩn hóa của vi khuẩn nuôi cấy sau i giờ có vận hành máy lọc không khí.

9 Báo cáo thử nghiệm

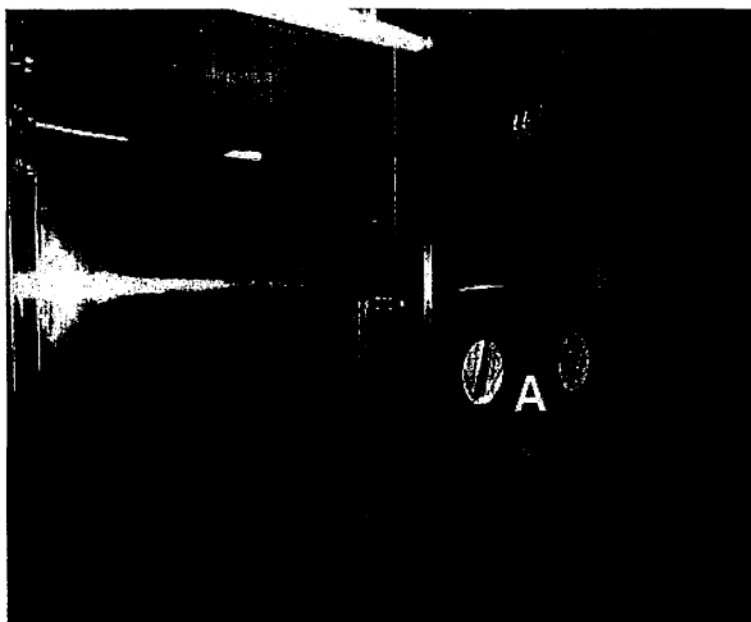
Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- Tên tiêu chuẩn của phép thử;
- Vi khuẩn được sử dụng;
- Dung tích buồng thử nghiệm, tên và lưu lượng dòng của bộ va đập đã sử dụng;
- Điều kiện thử nghiệm, kể cả chế độ hoạt động của máy lọc không khí và thời gian thử nghiệm;
- Tốc độ giảm vi khuẩn trong không khí;
- Kết quả kiểm tra; mức giảm vi khuẩn phải được công bố đến 0,1 % (làm tròn đến một chữ số thập phân);
- Tất cả các chi tiết cần thiết để xác định phòng thí nghiệm;
- Tên và chữ ký của người thử nghiệm;
- Thông tin liên quan đến sản phẩm (khách hàng, kiểu máy, v.v...).

10 Đảm bảo chất lượng

Phòng thí nghiệm phải áp dụng các biện pháp đảm bảo chất lượng, được lập thành văn bản và có sẵn để sử dụng.

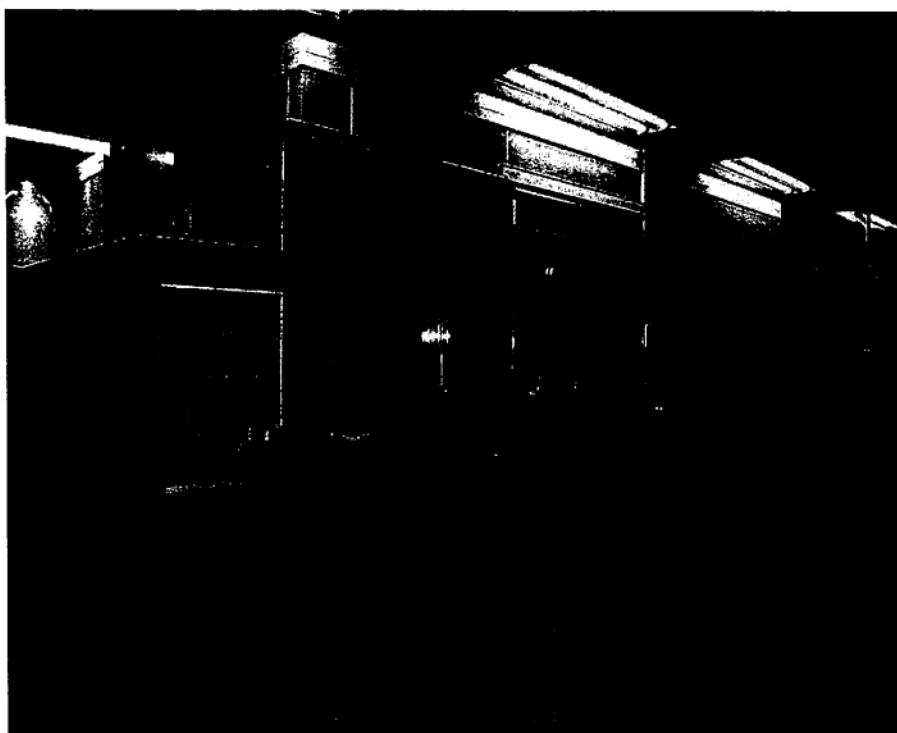
Phụ lục A
(Tham khảo)
Buồng thử nghiệm



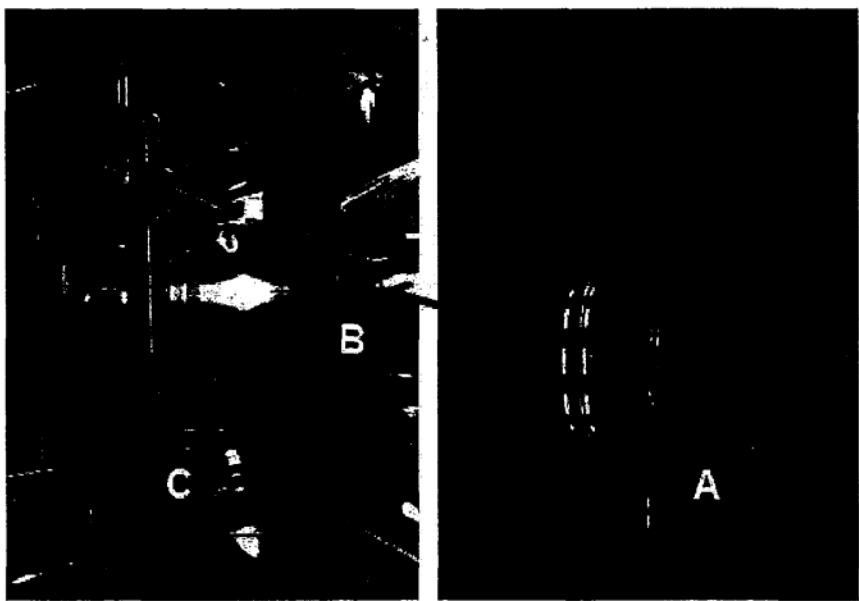
CHÚ DẪN

A tủ găng tay

Hình A.1 – Buồng thử chính có tủ găng tay (tủ đồ) dùng cho thao tác bên ngoài



Hình A.2 – Bên ngoài buồng thử



CHÚ DẪN

- A Máy phun sương
- B Đầu phun
- C Đèn UV

Hình A.3 – Ví dụ về hệ thống bù trừ

Phụ lục B

(tham khảo)

Tốc độ phân rã tự nhiên theo chế độ vận hành của máy lọc không khí

Tốc độ phân rã tự nhiên theo chế độ vận hành của máy lọc không khí đã được đo để tìm ra các điều kiện thử nghiệm hợp lệ cho máy lọc không khí trong buồng thử nghiệm 8 m³. Các thông số thử nghiệm khác là: nhiệt độ (25 ± 2) °C, độ ẩm không khí RH (65 ± 5) %, thời gian phun 3 min, bộ va đập MAS 100 NS (Merck), đầu lấy mẫu có 300 lỗ với kích thước 0,6 mm và thu không khí 50 L/min bằng bộ va đập. Các bào tử của vi khuẩn thử nghiệm *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 đã được sử dụng làm sol khí sinh học. Sau đó, các đĩa thạch được ủ ở (36 ± 2) °C. Máy lọc không khí đã được chạy mà không có bộ lọc. Ví dụ về lưu lượng dòng theo chế độ hoạt động được nêu trong Bảng B.1.

Kết quả cho thấy phép thử không hợp lệ khi máy lọc không khí chạy ở chế độ mạnh, do tốc độ phân hủy tự nhiên vượt quá 50 % sau 30 min (phương pháp thử này quy định thời gian hoạt động của máy lọc không khí trong vòng 30 min, xem Bảng B.4). Khi chế độ hoạt động của máy lọc không khí chạy ở chế độ yếu và trung bình, thì kết quả thử nghiệm là hợp lệ vì tốc độ phân hủy tự nhiên nhỏ hơn 50 % trong vòng 30 min (xem Bảng B.2 và Bảng B.3).

Do đó, nên cho máy lọc không khí chạy ở chế độ yếu hoặc trung bình trong buồng thử nghiệm 8 m³.

Bảng B.1- Ví dụ về lưu lượng của máy lọc không khí theo chế độ vận hành

Chế độ vận hành	Lưu lượng (m/sec)
Thấp	1,1 to 1,6
Trung bình	2,8 to 3,7
Cao	3,8 to 7,3

Bảng B.2 – Nồng độ vi khuẩn và tỉ lệ phân rã tự nhiên

(chế độ vận hành máy lọc không khí: yếu)

Thời gian (min)	0	10	20	30	40
Nồng độ (cfu/m ³)	$(3,2 \pm 0,2) \times 10^4$	$(2,8 \pm 0,2) \times 10^4$	$(2,1 \pm 0,1) \times 10^4$	$(1,7 \pm 0,4) \times 10^4$	$(1,1 \pm 0,2) \times 10^4$
Tỉ lệ phân rã tự nhiên (%)	—	12,5	34,3	46,8	65,6

Bảng B.3 — Nồng độ vi khuẩn và tỉ lệ phân rã tự nhiên
(chế độ vận hành máy lọc không khí: trung bình)

Thời gian (min)	0	10	20	30	40
Nồng độ (cfu/m ³)	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^4$	$(2,2 \pm 0,1) \times 10^4$	$(1,8 \pm 0,2) \times 10^4$	$(9,1 \pm 0,1) \times 10^3$
Tỉ lệ phân rã tự nhiên (%)	—	14,2	37,1	48,5	71,7

Bảng B.4 — Nồng độ vi khuẩn và tỉ lệ phân rã tự nhiên
(chế độ vận hành máy lọc không khí: mạnh)

Thời gian (min)	0	10	20	30	40
Nồng độ (cfu/m ³)	$(3,6 \pm 0,1) \times 10^4$	$(2,6 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^4$	$(1,6 \pm 0,1) \times 10^4$	$(6,0 \pm 0,1) \times 10^3$
Tỉ lệ phân rã tự nhiên (%)	—	27,7	44,4	55,5	82,7

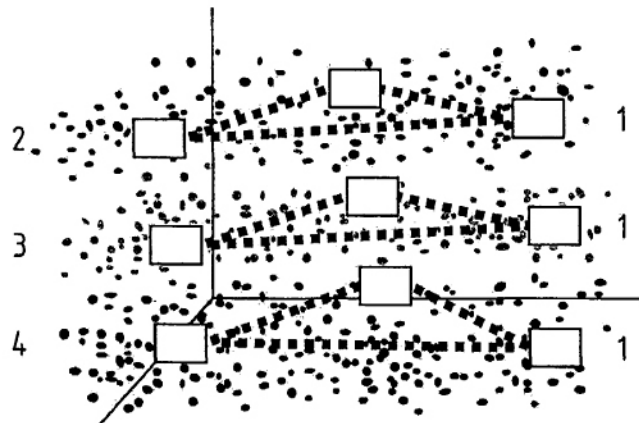
Phụ lục C

(tham khảo)

**Tính đồng đều của vi khuẩn trong không khí có thể nuôi cấy có trong
buồng thử nghiệm**

Phụ lục này đưa ra cách thiết lập và kết quả đo sự phân bố đồng đều của vi khuẩn trong không khí sau khi phun (xem Hình C.1). Nồng độ của vi khuẩn được đo ở các độ cao lấy mẫu khác nhau: trên cùng, giữa và dưới cùng. Các bộ va đập được đặt ở ba vị trí khác nhau liên quan đến máy lọc không khí được thử nghiệm. Một ví dụ được đưa ra trong Bảng C.1. Vi khuẩn thử nghiệm đã được sử dụng là: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 và *Micrococcus luteus* ATCC 10240. Các thông số thử nghiệm khác là: nhiệt độ $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$, độ ẩm tương đối của không khí $(65 \pm 5) \%$, thời gian phun 3 min, bộ va đập MAS 100 NS (Merck), đầu lấy mẫu có 300 lỗ với kích thước 0,6 mm và tốc độ thu khí 50 L/min. Sau đó, các đĩa thạch được ủ ở $(36 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

Nồng độ của vi khuẩn trong không khí có thể nuôi cấy là khoảng 3×10^4 cfu/m³ tại mỗi điểm lấy mẫu. Do đó, có thể khẳng định rằng vi khuẩn trong không khí được phân bố đồng đều trong buồng thử nghiệm.

**CHÚ DẪN:**

- 1 Bộ va đập
- 2 cao
- 3 giữa
- 4 thấp

Hình C.1 – Vị trí của bộ va đập tại các độ cao khác nhau (cao, giữa, thấp) trong buồng thử với phép thử có vi khuẩn trong không khí đồng nhất

Bảng C.1 – Ví dụ nồng độ vi khuẩn trong không khí theo điểm lấy mẫu

Phân chia	Nồng độ vi khuẩn trong không khí (cfu/m ³)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
Cao	$(3,3 \pm 0,2) \times 10^4$	$(3,0 \pm 0,1) \times 10^4$
Giữa	$(3,6 \pm 0,1) \times 10^4$	$(3,2 \pm 0,2) \times 10^4$
Thấp	$(3,5 \pm 0,2) \times 10^4$	$(2,9 \pm 0,2) \times 10^4$

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] ISO 846, *Plastics – Evaluation of the action of microorganisms*
 - [2] TCVN 5966:2009 (ISO 4225) *Chất lượng không khí - Những khái niệm chung - Thuật ngữ*
 - [3] ISO 22196, *Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces*
 - [4] ASTM E2149, *Standard test method for determining the antimicrobial activity of immobilized antimicrobial agents under dynamic contact conditions*
 - [5] EN 13098:2000, *Workplace atmosphere – Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin*
 - [6] JIS L 1902, *Testing for antibacterial activity and efficacy on textile products*
 - [7] XP B44 200 (2011-05-01), *Épurateurs d'air autonomes pour applications tertiaires et résidentielles – Méthode d'essais – Performances intrinsèques*
-