

BỘ Y TẾ**QUYẾT ĐỊNH số 4871/2004/QĐ-BYT
ngày 31/12/2004 của Bộ trưởng
Bộ Y tế về việc ban hành Tiêu
chuẩn ngành Y tế.****BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ**

*Căn cứ Nghị định số 49/2003/NĐ-CP
ngày 15/5/2003 của Chính phủ về quy
định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và
cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;*

*Căn cứ Pháp lệnh Chất lượng hàng
hóa ngày 24/12/1999;*

*Căn cứ Nghị định số 179/2004/NĐ-CP
ngày 21/10/2004 của Chính phủ về quy
định quản lý nhà nước về chất lượng sản
phẩm, hàng hóa;*

*Theo đề nghị của Cục trưởng Cục An
toàn vệ sinh thực phẩm, Vụ trưởng Vụ
Pháp chế, Vụ trưởng Vụ Khoa học và Đào
tạo - Bộ Y tế,*

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành kèm theo Quyết
định này 02 Tiêu chuẩn ngành y tế sau:

1. 52 TCN-TQTP 0008 : 2004 - Thường
quy kỹ thuật xác định E.coli 0157 trong
thực phẩm;

2. 52 TCN-TQTP 0009 : 2004 - Thường
quy kỹ thuật định danh nấm mốc As-
pergillus parasiticus, Aspergillus versi-
color trong thực phẩm.

Điều 2. Quyết định này có hiệu lực sau 15
ngày, kể từ ngày đăng Công báo.

Điều 3. Các Ông, Bà: Chánh Văn
phòng, Chánh Thanh tra, Vụ trưởng các
Vụ: Khoa học và Đào tạo, Pháp chế - Bộ
Y tế; Cục trưởng Cục An toàn vệ sinh
thực phẩm - Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế
các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung
ương và Thủ trưởng các đơn vị trực
thuộc Bộ Y tế chịu trách nhiệm thi hành
Quyết định này./.

KT. BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Thứ trưởng

Trần Chí Liêm

TIÊU CHUẨN NGÀNH Y TẾ

52 TCN-TQTP 0008:2004

THƯỜNG QUY KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH

E.COLI 0157

TRONG THỰC PHẨM

Lời nói đầu

52 TCN - TQTP 0008 : 2004 do Viện Dinh dưỡng biên soạn, Cục An toàn vệ sinh thực phẩm đề nghị, Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành theo Quyết định số 4871/2004/QĐ-BYT ngày 31 tháng 12 năm 2004.

BỘ Y TẾ	TIÊU CHUẨN NGÀNH Y TẾ	NHÓM TQTP
	THƯỜNG QUY KỸ THUẬT XÁC ĐỊNH E.COLI 0157 TRONG THỰC PHẨM	52 TCN-TQTP 0008:2004 Có hiệu lực sau 15 ngày, kể từ ngày đăng Công báo

1. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này để xác định *E.coli* O157 trong thực phẩm.

2. Nguyên lý

Sử dụng kỹ thuật làm giàu, xác định khuẩn lạc nghi ngờ *E.coli* O157 trên thạch SMAC sau khi ủ ấm ở 37°C trong 24 giờ. Từ những khuẩn lạc nghi ngờ, tiến hành kiểm tra các tính chất sinh vật hóa học và ngưng kết đặc hiệu để khẳng định là *E.coli* O157.

3. Thiết bị, Dụng cụ, Môi trường**3.1. Thiết bị, dụng cụ**

Dụng cụ và thiết bị chuyên dụng trong phòng kiểm nghiệm vi sinh vật.

3.2. Môi trường

- Canh thang m-EC
- Nước muối sinh lý 8,5‰
- Kháng huyết thanh *E.coli* O157
- Thạch SMAC

- Thạch CLIG
- Thạch thường

4. Chuẩn bị môi trường và mẫu thử

4.1. Chuẩn bị môi trường

Môi trường tăng sinh, nuôi cấy và dung dịch cần thiết được điều chế theo công thức. Các môi trường được đóng sẵn vào bình cầu, bình nón, ống nghiệm và được hấp tiệt trùng (110°C/30 phút hoặc 121°C/15 phút).

4.2. Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử được cắt nhỏ hoặc xay nhuyễn bằng máy trong điều kiện vô trùng cho tới khi được thể đồng nhất.

5. Phương pháp tiến hành

5.1. Bước 1: Tăng sinh

- Ghi ký hiệu mẫu lên bình nón có chứa 225 ml canh thang m-EC.
- Cân chính xác 25 g thực phẩm đã chuẩn bị (hoặc dùng pipét vô trùng hút 25 ml thực phẩm lỏng) cho vào bình nón đã ghi ký hiệu mẫu, lắc đều rồi ủ ấm ở 42°C/24 giờ.

5.2. Bước 2: Phân lập

- Từ bình nón canh thang m-EC đã ủ ấm, dùng que cấy vô trùng lấy canh khuẩn cấy phân vùng trên thạch SMAC để tạo các khuẩn lạc riêng rẽ.
- Ủ ấm 37°C/24 giờ. Sau ủ ấm, đánh dấu những khuẩn lạc nghi ngờ *E.coli* O157 trên thạch SMAC có đặc điểm: tròn đều, mặt nhẵn, không mầu, sáng đục (vì *E.coli* O157 không lên men đường sorbitol có trong thạch SMAC). Những khuẩn lạc *E.coli* khác có mầu đỏ, vì lên men đường sorbitol.

5.3. Bước 3: Kiểm tra tính chất sinh vật hóa học

- Dùng que cấy nhọn đầu vô trùng lấy 1 khuẩn lạc nghi ngờ trên thạch SMAC cấy vào ống thạch thường và ống thạch CLIG như sau:
 - + Ống thạch thường: cấy ria lên mặt thạch.
 - + Ống thạch CLIG:
 - * Phần thạch nghiêng: cấy ria lên mặt thạch.
 - * Phần thạch đứng: cấy đâm sâu ở chính giữa.
- Ủ ấm 37°C/24 giờ. Sau ủ ấm đọc kết quả kiểm tra các tính chất sinh hóa trên ống thạch CLIG:
 - + Phần thạch nghiêng: giữ nguyên mầu đỏ (cellobiose âm tính)
 - + Phần thạch đứng: chuyển sang mầu vàng (lactose dương tính)
 - + Ngay sau đó chiếu đèn UV có bước sóng 365 nm vào ống thạch CLIG, ống thạch CLIG không phát quang (β - glucuronidase âm tính).

Thạch CLIG có pH trung tính nên có màu đỏ của chỉ thị màu đỏ phenol. Trong thạch có 2 loại đường: cellobiose (10g/lít) và lactose (1g/lít). *E.coli* O157 không lên men đường cellobiose, nhưng lên men đường lactose tạo axit không bền vững đối với oxy. Phần nghiêng của thạch vì tiếp xúc nhiều với oxy có trong không khí nên pH vẫn trung tính, nên thạch giữ nguyên màu đỏ. Còn phần đứng của thạch vì ít tiếp xúc với không khí nên pH thạch trở thành axit, do đó thạch chuyển sang màu vàng.

Lưu ý: Mỗi mẫu thử nên bắt 3 khuẩn lạc nghi ngờ để kiểm tra tính chất sinh hóa.

Khuẩn lạc nghi ngờ *E.coli* O157, có tính chất sinh vật hóa học của *E.coli* O157: cellobiose (-), lactose (+), β - glucuronidase (-), thì tiếp tục kiểm tra ngưng kết trên lam kính.

5.4. Bước 4: Kiểm tra ngưng kết trên lam kính

5.4.1. Kiểm tra hiện tượng tự ngưng kết

- Tiến hành: Lấy 1 lam kính trong, vô trùng, nhỏ 1 giọt nước muối sinh lý 8,5‰ vào bên trái lam kính. Dùng que cấy vô trùng lấy vi khuẩn ở ống thạch thường hòa vào giọt nước muối. Nghiêng đi nghiêng lại nhẹ nhàng lam kính vài lần sao cho vi khuẩn hòa đều vào giọt nước muối sinh lý.

- Đọc kết quả: Dùng kính lúp để quan sát. Nếu giọt nước muối sinh lý đục đều (tức không xảy ra hiện tượng ngưng kết), thì tiếp tục kiểm tra ngưng kết đặc hiệu.

5.4.2. Kiểm tra ngưng kết đặc hiệu

- Tiến hành: tiếp tục nhỏ 1 giọt kháng huyết thanh *E.coli* O157 lên lam kính. Dùng que cấy vô trùng lấy vi khuẩn ở ống thạch thường hòa vào giọt kháng huyết thanh *E.coli* O157. Nghiêng đi nghiêng lại nhẹ nhàng lam kính vài lần sao cho vi khuẩn hòa đều vào giọt kháng huyết thanh *E.coli* O157.

- Đọc kết quả: Dùng kính lúp để quan sát. Nếu giọt kháng huyết thanh *E.coli* O157 xuất hiện những hạt nhỏ (tức đã xảy ra hiện tượng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể). Có thể đối chiếu sự khác biệt với giọt nước muối ở bên cạnh.

Lưu ý:

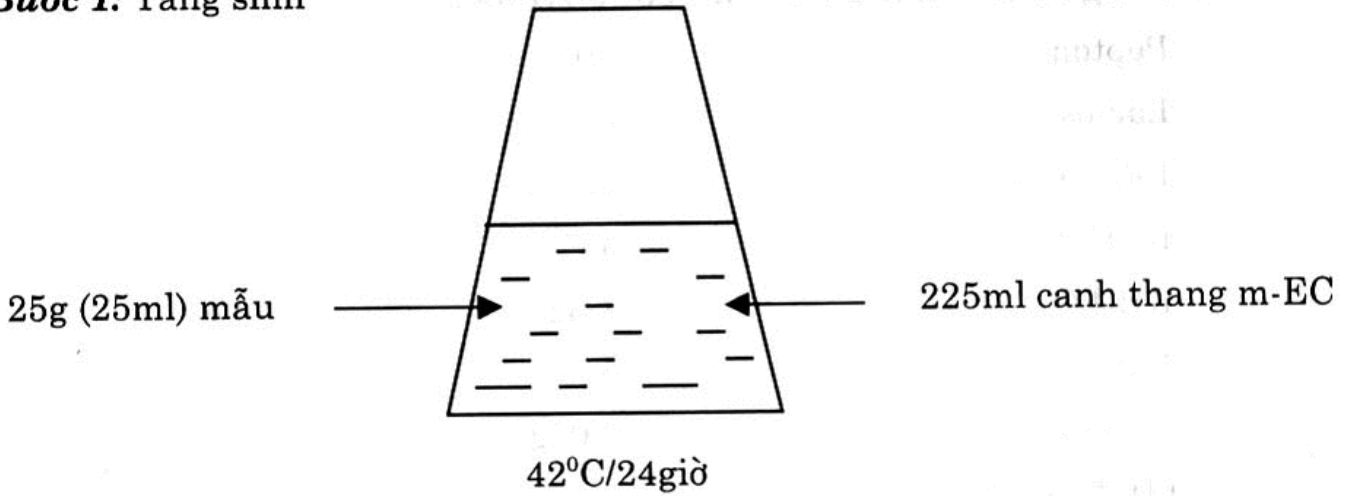
- Chỉ được đọc kết quả ngưng kết trong vòng từ 30 giây đến 2 phút.
- Nếu xảy ra hiện tượng ngưng kết với nước muối sinh lý, thì không cần tiếp tục kiểm tra ngưng kết đặc hiệu (vì có thể nước muối sinh lý đã hỏng hoặc vi khuẩn phân lập không chính xác).

Tiêu chuẩn xác định là *E.coli* O157:

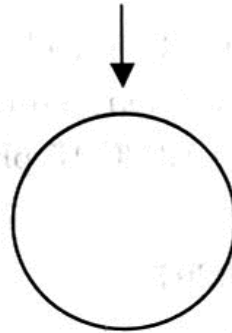
- Khuẩn lạc tròn đều, mặt nhẵn, không màu, sáng đục.
- Không lên men đường cellobiose.
- Lên men đường lactose.
- Không có men β -glucuronidase.
- Ngưng kết với kháng huyết thanh *E.coli* O157.

SƠ ĐỒ XÁC ĐỊNH *E. COLI* O157 TRONG THỰC PHẨM

Bước 1: Tăng sinh

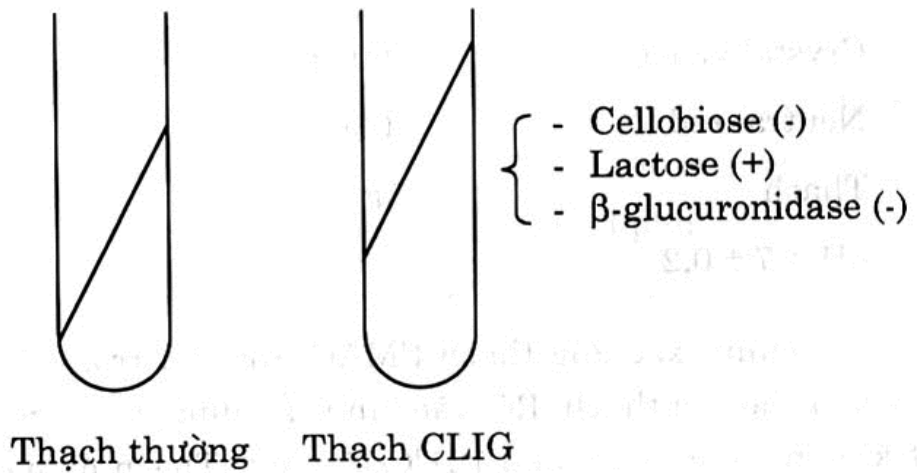


Bước 2: Phân lập



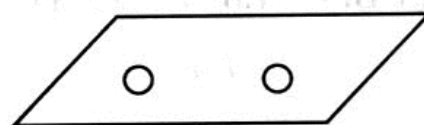
Thạch SMAC 37°C/24giờ

Bước 3: kiểm tra tính chất sinh hóa



37°C/24giờ

Bước 4: kiểm tra ngưng kết



PHA CHẾ MÔI TRƯỜNG

1. Canh thang m-EC (hãng Merck - code 1.14582)

Peptone	20g
Lactose	5g
Bile salts	1,12g
K ₂ HPO ₄	4g
KH ₂ PO ₄	1,5g
NaCl	5g
Novobiocin	0,02g
pH =	6,9 ± 0,2

Pha chế: Cân chính xác 36,7g bột m-EC, rồi pha trong 1000 ml nước cất. Đun nóng, khuấy đều cho tan bột. Rót vào bình nón có dung tích 500 ml, mỗi bình 225 ml canh thang. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở 121°C/15 phút, rồi bảo quản trong tủ lạnh không quá 7 ngày.

2. Thạch SMAC (Merck - code 1.09207)

Bile salts	1g
Peptone	19g
D-Sorbitol	10g
NaCl	5g
Crystal violet	0,001g
Neutral red	0,03g
Thạch	15g
pH =	7 ± 0,2

Pha chế: Cân chính xác 25g thạch SMAC, rồi pha trong 500 ml nước cất. Đun nóng, khuấy đều cho tan thạch. Rót vào bình cầu dung tích 250 ml, mỗi bình 150 ml thạch. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở 121°C/15 phút. Thạch để nguội đến 45°C, rồi rót vào các hộp lồng vô trùng, mỗi hộp 15 - 18 ml thạch. Để đĩa thạch đông tự nhiên, bảo quản trong tủ lạnh không quá 15 ngày.

3. Thạch CLIG(Kyokuto - Nhật Bản - Lot BL.2231)

Casein peptone	7,5g
Meat peptone	2,5g

Lactose	1g
Cellobiose	10g
Tryptophan	0,1g
MUG	0,02g
NaCl	5g
Phenol red	0,02g
Thạch	15g
pH = 7 ± 0,2	

Pha chế: Cân chính xác 4,1g thạch CLIG, rồi pha trong 100 ml nước cất. Đun nóng, khuấy đều cho tan thạch. Rót vào ống nghiệm $\phi = 12$ mm, mỗi ống 3 ml thạch. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở nhiệt độ 110°C/30 phút, đợi thạch nguội, rồi để ống thạch nằm nghiêng (sao cho mặt nghiêng dài khoảng 2 cm) cho đến khi thạch đông, rồi bảo quản trong tủ lạnh không quá 15 ngày.

4. Thạch thường

Cao thịt	1g
Peptone	2g
NaCl	1g
Thạch	3,6g
Nước cất	200ml

Pha chế: Cân chính xác các thành phần môi trường. Đun nhỏ lửa, khuấy đều đến khi sôi để hòa tan các chất. Điều chỉnh pH = 7,4 - 7,6. Rót vào ống nghiệm $\phi = 16$ mm, mỗi ống 5 ml thạch. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở 110°C/30 phút, đợi thạch nguội, rồi để ống thạch nằm nghiêng cho đến khi thạch đông, rồi bảo quản trong tủ lạnh không quá 30 ngày./.

TIÊU CHUẨN NGÀNH Y TẾ

52 TCN-TQTP 0009: 2004

THƯỜNG QUY KỸ THUẬT ĐỊNH DANH NẤM MỐC ASPERGILLUS PARASITICUS, ASPERGILLUS VERSICOLOR TRONG THỰC PHẨM

Lời nói đầu

52 TCN - TQTP 0009 : 2004 do Viện Dinh dưỡng biên soạn, Cục An toàn vệ sinh thực phẩm đề nghị, Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành theo Quyết định số 4871/2004/QĐ-BYT ngày 31 tháng 12 năm 2004.

BỘ Y TẾ	TIÊU CHUẨN NGÀNH Y TẾ	NHÓM TQTP
	THƯỜNG QUY KỸ THUẬT ĐỊNH DANH NẤM MỐC ASPERGILLUS PARASITICUS, ASPERGILLUS VERSICOLOR TRONG THỰC PHẨM	52 TCN-TQTP 0009:2004 Có hiệu lực sau 15 ngày kể từ ngày đăng Công báo

1. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này để định danh nấm mốc *A.parasiticus*, *A.versicolor* trong các sản phẩm lương thực thực phẩm.

2. Nguyên lý

Sử dụng kỹ thuật đổ đĩa, đếm khóm nấm trên môi trường thạch Sabouraud sau khi ủ hiếu khí ở nhiệt độ $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 5 ngày. Số lượng bào tử nấm mốc có trong 1g (1ml) mẫu kiểm tra được tính từ số khóm nấm đếm được từ các đĩa nuôi cấy theo các đậm độ pha loãng.

Sau đó, để xác định tên (định danh) nấm mốc (đến nhóm) phải tiến hành qua nhận xét đại thể về đặc điểm khóm nấm mốc (colony characters) và nhận xét vi thể về hình thái học của khóm nấm mốc (morphology).

3. Thiết bị, dụng cụ, môi trường

3.1. Thiết bị, dụng cụ

Dụng cụ và thiết bị chuyên dụng trong phòng kiểm nghiệm vi sinh vật.

3.2. Môi trường

- Thạch Sabouraud
- Thạch Czapeck
- Nước thạch 1⁰/₀₀
- Dung dịch Lactofenol Amann

4. Chuẩn bị môi trường và mẫu thử

4.1. Chuẩn bị môi trường

Môi trường nuôi cấy, nước pha loãng và dung dịch cần thiết được điều chế theo công thức. Các môi trường được đóng sẵn vào bình cầu, bình nón, ống nghiệm và được hấp tiệt trùng (110⁰C/30 phút hoặc 121⁰C/15 phút).

4.2. Chuẩn bị mẫu và dung dịch mẫu thử

4.2.1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu thực phẩm được cắt nhỏ hoặc xay nhuyễn bằng máy trong điều kiện vô trùng cho tới khi được thể đồng nhất.

4.2.2. Chuẩn bị dung dịch mẫu thử 10⁻¹

Cân chính xác 25g thực phẩm đã được chuẩn bị (hoặc hút 25ml thực phẩm lỏng), cho vào bình nón chứa sẵn 225ml nước thạch 1⁰/₀₀. Lắc đều 2 - 3 phút, thu được dung dịch mẫu thử 10⁻¹.

4.2.3. Chuẩn bị dung dịch mẫu thử 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴...

- Hút chính xác 1 ml dung dịch mẫu thử 10⁻¹ cho sang ống nghiệm chứa sẵn 9 ml nước thạch 1⁰/₀₀. Lắc đều trong 2 - 3 phút, thu được dung dịch 10⁻².

- Tiếp tục làm tương tự như vậy, ta thu được các dung dịch mẫu thử tương ứng 10⁻³, 10⁻⁴...

5. Phương pháp tiến hành

Bước 1: Nuôi cấy mẫu

- Ghi ký hiệu mẫu và nồng độ dung dịch mẫu thử lên hộp lồng.
- Dùng pipet 1 ml vô trùng, hút chính xác 1 ml từ dung dịch mẫu thử ở từng đậm độ cho vào giữa mỗi hộp lồng. Mỗi mẫu thực phẩm phải được nuôi cấy ít nhất 3 đậm độ pha loãng. Mỗi đậm độ pha loãng phải được nuôi cấy trong 2 hộp lồng vô trùng và dùng 1 pipet 1 ml vô trùng riêng.
- Đun nóng chảy thạch sabouraud, để nguội đến 45 ± 1⁰C. Trong điều kiện vô trùng chỉnh pH của thạch đến 4,5 ÷ 5,5 bằng dung dịch axit lactic 20%, hoặc 40%, hay bằng dung dịch axit citric 20%.
- Rót vào từng hộp lồng 12 ÷ 15 ml thạch sabouraud, trộn đều dung dịch mẫu thử với thạch bằng cách xoay tròn sang phải và sang trái 3 lần.

- Để các đĩa thạch đông tự nhiên trên mặt phẳng ngang. Sau đó để các đĩa thạch vào tủ ấm $28 \pm 1^\circ\text{C}$ hoặc nhiệt độ phòng thí nghiệm tương ứng trong 5 ngày. Không lật ngược các đĩa.

Lưu ý: Thời gian từ khi bắt đầu pha loãng mẫu thử đến khi rót thạch vào hộp lồng không được quá 30 phút.

Bước 2: Sơ bộ nhận định kết quả trên thạch Sabouraud

- Chọn các đĩa có không quá 50 khóm nấm để sơ bộ đọc kết quả.
- Đếm và ghi lại số khóm nấm nghi ngờ là *A.parasiticus* (có màu xanh lá cây, hơi vàng) ở từng đậm độ. Sau đó dùng que cấy nhọn đầu lấy một ít bào tử cấy ba điểm cách đều nhau trên đĩa thạch Czapek, ủ ấm $28 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 5 ngày. Không lật ngược các đĩa.

- Đếm và ghi lại số khóm nấm nghi ngờ là *A.versicolor* (Có nhiều màu, viền ngoài màu trắng rồi đến màu xanh lục, ở giữa màu nâu hồng. Đôi khi có mảng màu vàng hoặc màu hồng). Ở từng đậm độ. Sau đó dùng que cấy nhọn đầu lấy một ít bào tử cấy ba điểm cách đều nhau trên đĩa thạch Czapek, ủ ấm $28 \pm 1^\circ\text{C}$ trong 5 ngày. Không lật ngược các đĩa.

Bước 3: Định danh

Để xác định tên nấm mốc, từ những khóm nấm trên thạch Czapek tiến hành nhận xét đại thể, vi thể.

Đại thể: Bằng mắt thường, hay dùng kính lúp cầm tay ta nhận xét về kích thước, màu sắc ... của khóm nấm.

Vi thể: Để nhận xét nấm mốc về vi thể phải làm tiêu bản nấm mốc, rồi quan sát hình thái học dưới kính hiển vi ở vật kính 10, 40. Có thể chọn 1 trong 2 cách sau để làm tiêu bản nấm mốc:

Cách 1: Lấy một lam kính sạch, trong, đã sấy khô. Nhỏ 1 giọt Lactophenol Amann lên giữa lam kính. Dùng que cấy nhọn đầu lấy một phần khóm nấm mốc trên đĩa thạch Czapek (cả phần mốc trên và dưới mặt thạch) để vào giọt dung dịch Lactophenol Amann. Dùng kim có cán hay que cấy nhọn đâm nấm vào giọt dung dịch Lactophenol Amann để thấm ướt. Khi nấm bị thấm ướt hoàn toàn thì ta đẩy lá kính lên trên và ép nhẹ.

Lưu ý:

- Khi đẩy lá kính dùng để có bọt khí, nếu có sẽ gặp khó khăn trong khi soi kính.
- Khi ép nhẹ lá kính, nên dùng giấy thấm bớt dung dịch Lactophenol Amann thừa để dung dịch không tràn lên trên mặt lá kính.

Cách 2: Lấy một lam kính sạch, trong, đã sấy khô. Lấy một đoạn băng dính trong có kích thước rộng khoảng 1cm, dài khoảng 2 - 3cm, rồi chạm vào khóm nấm mốc trên đĩa thạch Czapek sao cho lấy được toàn bộ hình thái của nấm (từ tế bào chân đế đến hạt đỉnh). Sau đó trải dài băng dính trong lên lam kính.

XÁC ĐỊNH TÊN NẤM MỐC

Tên nấm mốc	Đại thể	Vi thể				
		Hình dạng bông	Vách cuống conidi	Hình dạng bông	Thế bình	Hạt đính (conidi)
<i>A. parasiticus</i> (Hình 2)	Khóm nấm mốc có đường kính d = 2-3 cm trên thạch Czapek sau 5 ngày nuôi cấy. Khóm nấm mốc có màu xanh lá cây, hơi vàng. Không bao giờ hóa nâu khi già.	Bông nhỏ Hình cầu Tỏa tia	Xù xì	Hình gần cầu	1 tầng	Hình cầu Vách có gai
<i>A. versicolor</i> (Hình 3)	Khóm nấm mốc có đường kính 1-1,5 cm trên thạch Czapek sau 5 ngày nuôi cấy. Khóm nấm mốc có nhiều màu khác nhau. Ngoài cùng màu trắng, rồi đến màu xanh lục, ở giữa màu nâu hồng. Tùy theo các chủng khác nhau, đôi khi có mảng màu vàng, màu hồng.	Bông nhỏ Hình cầu Tỏa tia	Trơn	Hình gần cầu đến elíp	2 tầng	Hình cầu Vách có gai

Tính kết quả

Để xác định tổng số bào tử nấm mốc có trong 1g (1ml) mẫu kiểm nghiệm, chọn những đĩa có không quá 50 khóm nấm của 2 đậm độ pha loãng liên tiếp. Sự phân bố các khóm nấm phải hợp lý: Độ pha loãng càng cao thì số khóm nấm càng ít. Kết quả được tính theo công thức sau:

$$N = \frac{C}{(n_1 + 0,1 \times n_2) \times d}$$

C: Số khóm nấm mốc đếm được trên các đĩa đã chọn.

n_1, n_2 : Số đĩa ở 2 đậm độ pha loãng liên tiếp.

d: Hệ số pha loãng của đậm độ pha loãng thấp hơn.

N: Tổng số bào tử nấm mốc có trong 1g (1ml) mẫu thực phẩm.

1. Nếu chênh lệch các giá trị ở 2 đậm độ lớn hơn 2 lần thì lấy giá trị ở đậm độ pha loãng thấp hơn để tính kết quả bằng cách tính trung bình cộng.

2. Nếu 2 đĩa của đậm độ pha loãng ban đầu có ít hơn 5 khóm nấm thì tính kết quả theo trung bình cộng.

Hình ảnh 1: Hình thái học nấm mốc APERGILLUS

Foot cell:	Tế bào chân đế
Conidiophore stipe:	Cuốn conidi
Vesicle:	Bọng
Metulac, Phialides:	Thế bình
Conidia:	Hạt dính hoặc bào tử
Columnar:	Hình cột
Radiate:	Hình tia
Hulle cells:	Tế bào vỏ dày

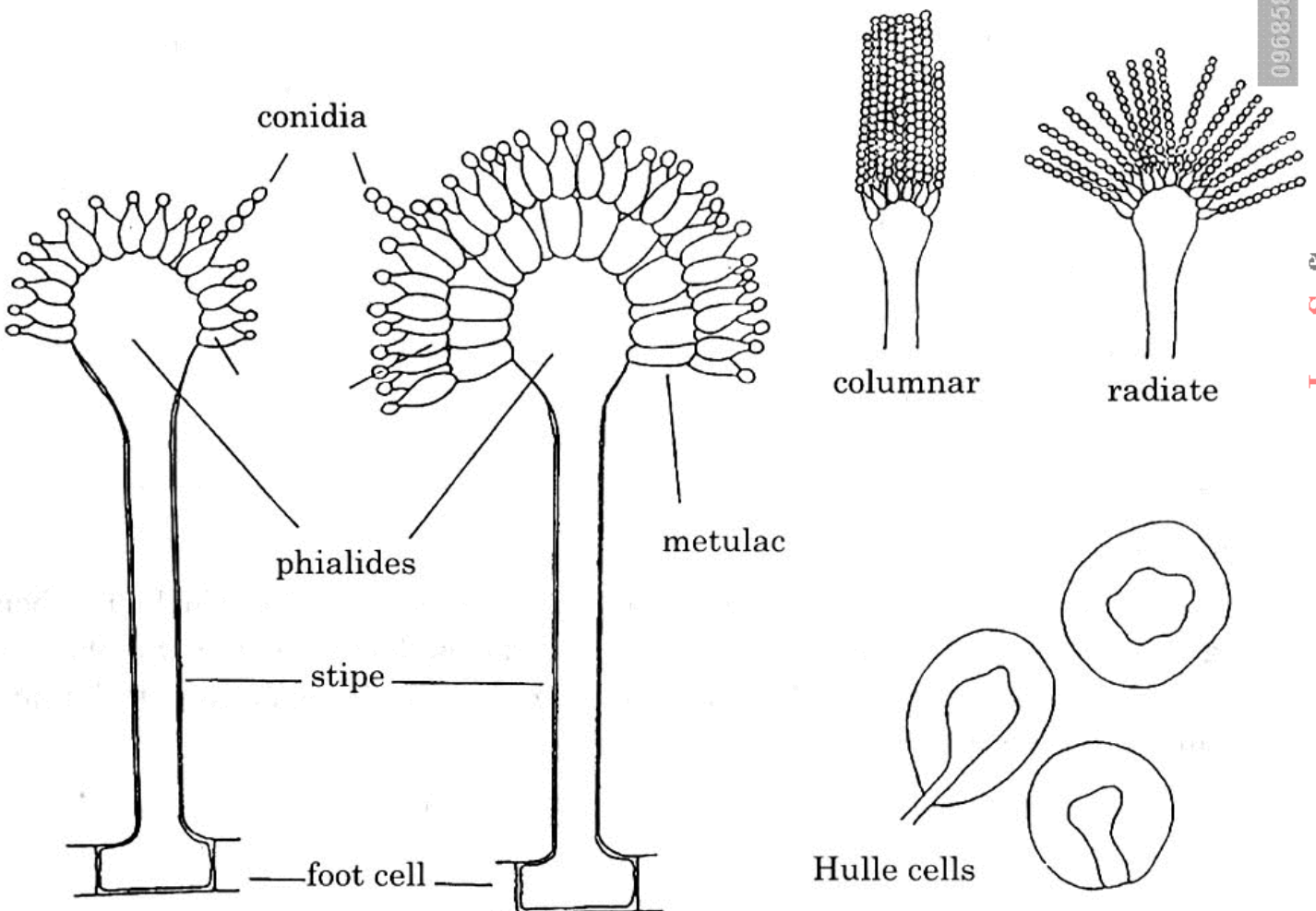
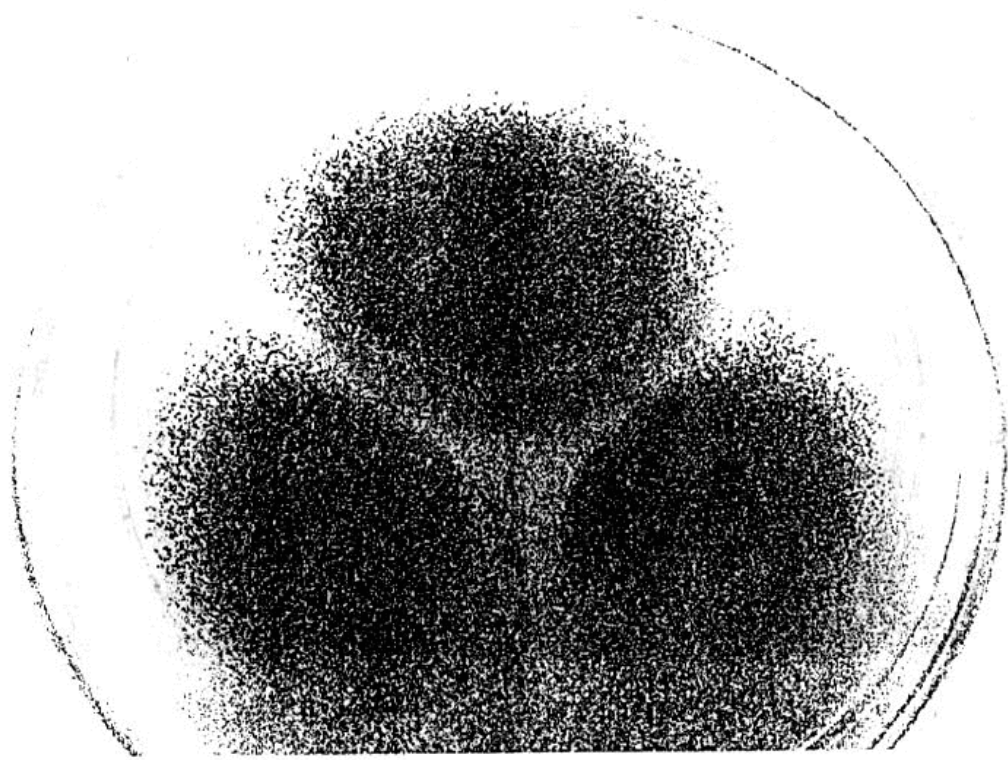
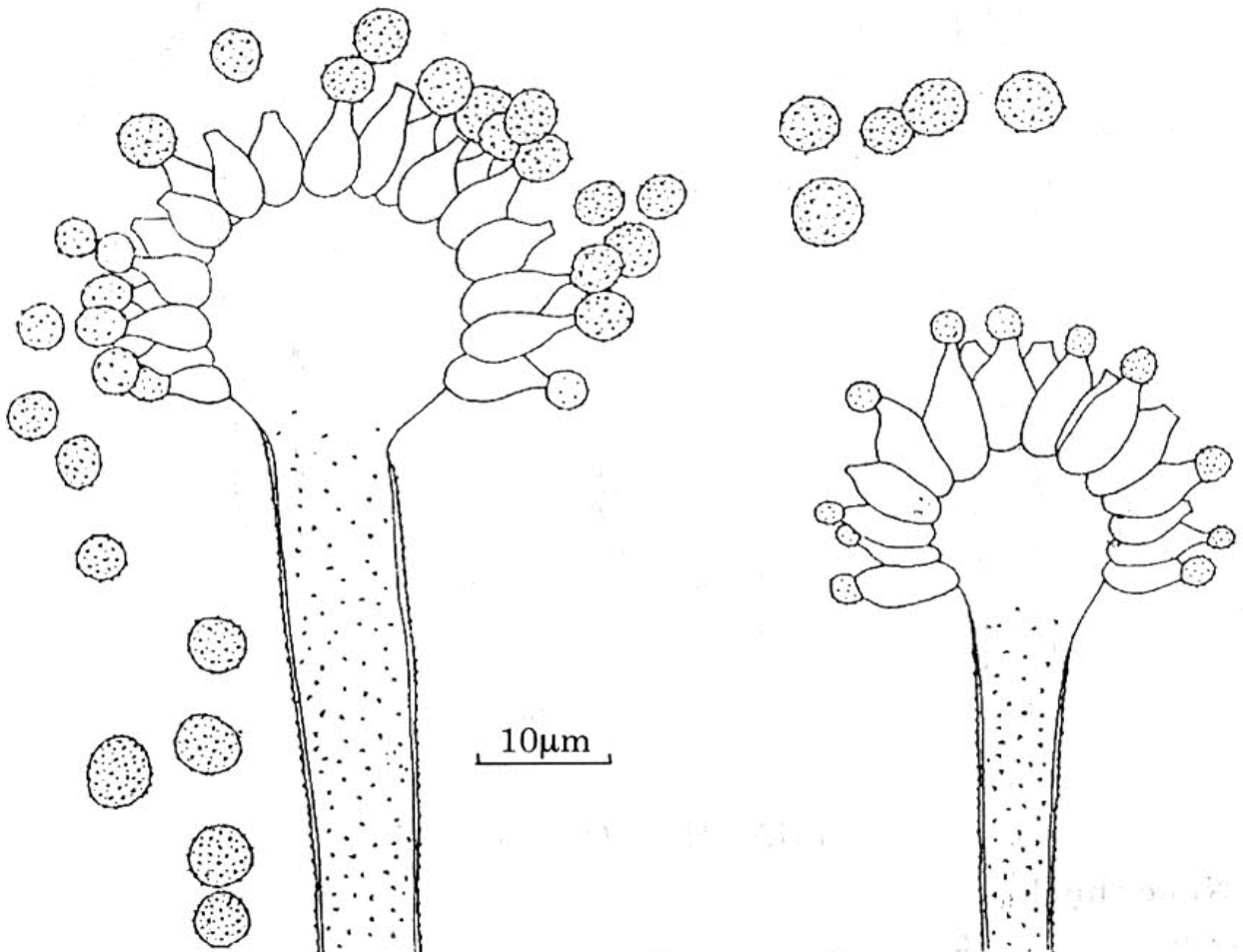


Fig. 23. Morphological structures in *Aspergillus*

Hình 2: Nấm mốc: A. PARASITICUS

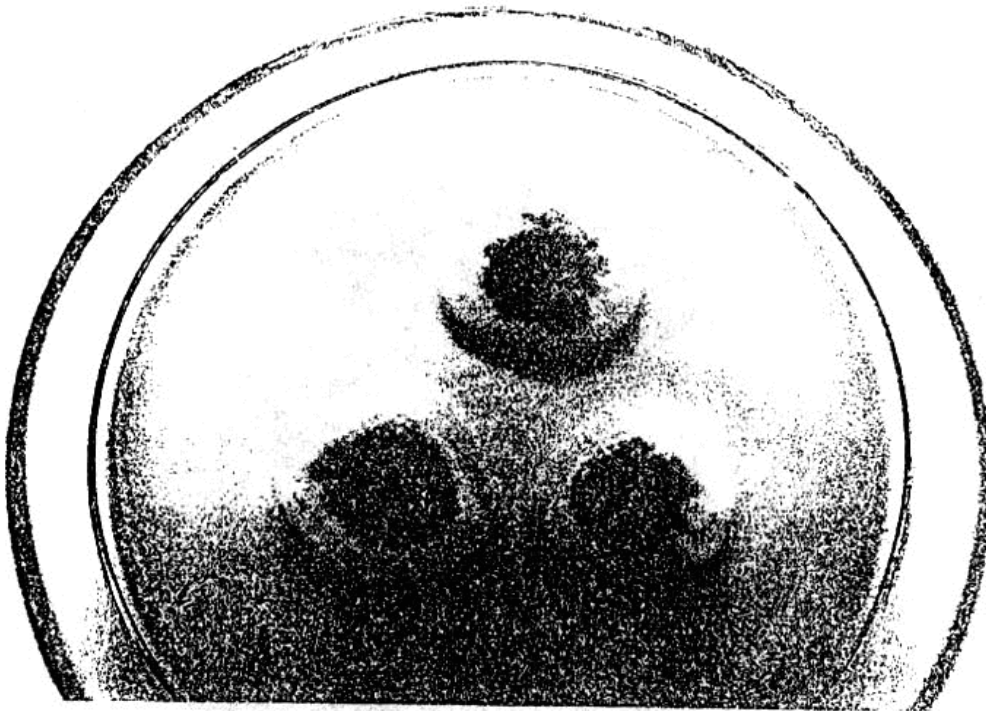
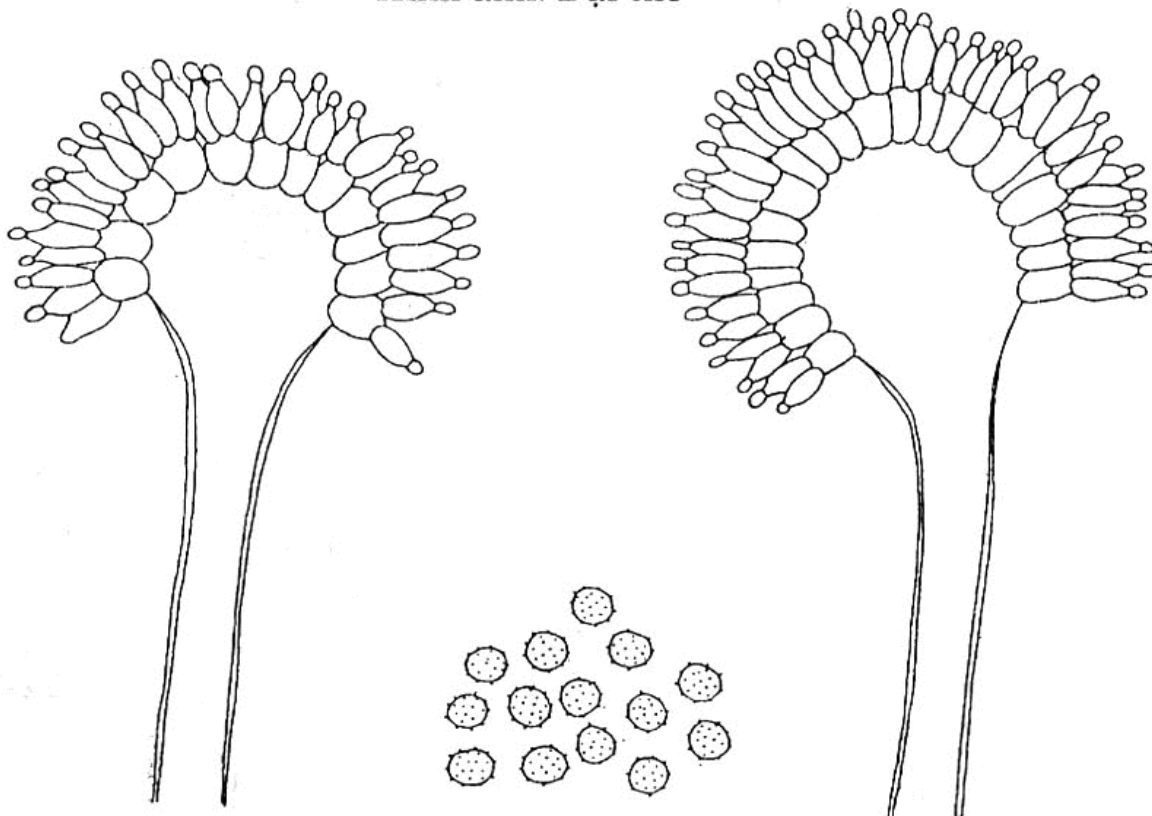


Hình ảnh: Đại thể



Hình ảnh: Vi thể

09685825

Hình 3: Nấm mốc: AVERCICOLOR**Hình ảnh: Đại thể****Hình ảnh: Vi thể****PHA CHẾ MÔI TRƯỜNG****1. Nước thạch**

Thạch	1g
Nước cất	1000 ml

Pha chế: Đun nhỏ lửa, khuấy đều đến khi sôi để hòa tan thạch. Rót vào các bình nón có dung tích 500 ml mỗi bình 225 ml môi trường, vào các ống nghiệm 18 mỗi ống 9 ml môi trường. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở nhiệt độ 120°C/15 phút.

Môi trường được bảo quản trong tủ lạnh với nhiệt độ từ 0 đến 5°C không quá 30 ngày.

2. Thạch Sabouraud

Pepton	10g
Glucose	20g
Thạch	15-20g
Nước cất	1000 ml

Pha chế: Đun nhỏ lửa, khuấy đều đến khi sôi để hòa tan các chất. Rót vào bình cầu có dung tích 250 ml mỗi bình 150 ml môi trường. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở nhiệt độ 110°C/30 phút.

Nếu môi trường sử dụng ngay, để nguội đến $45 \pm 1^\circ\text{C}$ ở nồi cách thủy, nếu chưa sử dụng thì bảo quản trong tủ lạnh với nhiệt độ từ 0 đến 5°C không quá 30 ngày.

3. Thạch Czapek

NaNO_3	3,5g
K_2HPO_4	1,5g
MgSO_4	0,5g
KCl	0,5g
FeSO_4	0,1g
Đường kính	30g
Thạch	20g
Nước cất	1000ml

pH = 4,5 ÷ 5,5

Pha chế: Đun nhỏ lửa, khuấy đều đến khi sôi để hòa tan các chất. Để thạch nguội đến $45 \pm 1^\circ\text{C}$ rồi chỉnh pH đến 4,5 ÷ 5,5. Rót vào bình cầu có dung tích 250 ml mỗi bình 150 ml môi trường. Tiệt khuẩn trong nồi hấp ở nhiệt độ 110°C/30 phút. Thạch để nguội đến $45 \pm 1^\circ\text{C}$ rồi đổ vào các hộp lồng, mỗi hộp 15 ÷ 18 ml thạch. Để đĩa thạch đông tự nhiên, bảo quản trong tủ lạnh với nhiệt độ từ 0 đến 5°C không quá 15 ngày.

4. Dung dịch Lactofenol Amann

A xít fenic tinh khiết	10g
A xít lactic	10g
Glyxerin	20g
Nước cất	10g

Pha chế: Các thành phần trên đều cân chú không đong. Ta cho axít fenic vào sau khi 3 chất trên đã trộn đều, lắc kỹ. Sau đó chứa đựng trong lọ thủy tinh có nút mài tối màu, bảo quản nơi khô ráo, trong bóng tối ở nhiệt độ phòng. Dung dịch Lactofenol Amann khi mới pha thì không màu, nhưng để lâu dung dịch chuyển sang màu nâu nhưng vẫn dùng được./.