TCVN **TIÊU CHUẨN VIỆT NAM**

TCVN 11039-7:2015

Xuất bản lần 1

PHỤ GIA THỰC PHẨM - PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH VI SINH VẬT - PHẦN 7: PHÁT HIỆN VÀ ĐỊNH LƯỢNG STAPHYLOCOCCUS AUREUS BẰNG KỸ THUẬT ĐẾM CÓ XÁC SUẤT LỚN NHẤT (MPN)

Food aditive - Microbiological analyses -
Part 7:Detection and enumeration of staphylococcus aureus
by most probable number (MPN) technique

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 11039-7:2015 được xây dựng trên cơ sở tham khảo JECFA 2006, *Combined compendium of food additive specifications, Volume 4: Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the food additive specifications*;

TCVN 11039-7:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F4 *Gia vị và phụ gia thực phẩm* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố;

Bộ tiêu chuẩn TCVN 11039 *Phụ gia thực phẩm – Phương pháp phân tích vi sinh vật* gồm các phần sau:

- TCVN 11039-1:2015, *Phần 1: Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí bằng kỹ thuật đếm đĩa;*
- TCVN 11039-2:2015, *Phần 2: Xác định tổng số vi sinh vật hiếu khí bằng kỹ thuật đếm đĩa xoắn;*
- TCVN 11039-3:2015, *Phần 3: Phát hiện và định lượng coliform và E. coli bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (Phương pháp chuẩn);*
- TCVN 11039-4:2015, *Phần 4: Phát hiện và định lượng coliform và E. coli bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (Phương pháp thông dụng);*
- TCVN 11039-5:2015, *Phần 5: Phát hiện Salmonella;*
- TCVN 11039-6:2015, *Phần 6: Phát hiện và định lượng Staphylococcus aureus bằng kỹ thuật đếm khuẩn lạc;*
- TCVN 11039-7:2015, *Phần 7: Phát hiện và định lượng Staphylococcus aureus bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN);*
- TCVN 11039-8:2015, *Phần 8: Định lượng nấm men và nấm mốc.*

Phụ gia thực phẩm - Phương pháp phân tích vi sinh vật - Phần 7: Phát hiện và định lượng *Staphylococcus aureus* bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN)

Food additives - Microbiological analyses -
Part 7: Detection and enumeration of Staphylococcus aureus by most probable number (MPN) technique

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp phát hiện và định lượng *Staphylococcus aureus* trong phụ gia thực phẩm bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN).

Phương pháp MPN thường được sử dụng cho các sản phẩm có số *S. aureus* dự kiến nhỏ và trong mẫu thử dự kiến có chứa quần thể lớn các loài vi sinh vật cạnh tranh.

2 Thuật ngữ và định nghĩa

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

2.1
Staphylococcus aureus (*Staphylococcus aureus*)
Vi khuẩn hình thành khuẩn lạc điển hình và/hoặc không điển hình trên bề mặt của môi trường cấy chọn lọc và cho phản ứng coagulase dương tính khi tiến hành thử nghiệm theo phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này.

3 Nguyên tắc

3.1 Cấy lên bề mặt của môi trường cấy chọn lọc một lượng huyền phù ban đầu quy định.

3.2 Cấy lên bề mặt môi trường Baird-Parker và ủ 48 h ở 35 °C.

3.3 Các khuẩn lạc điển hình và/hoặc không điển hình được khẳng định bằng phép thử nhận biết.

3.4 Số có xác suất lớn nhất của các *Staphylococcus* có phản ứng coagulase dương tính trong một gam sản phẩm tính được bằng cách đối chiếu với các bảng số có xác suất lớn nhất cho các độ pha loãng khẳng định.

4 Môi trường cấy, dịch pha loãng và thuốc thử

4.1 Môi trường Baird-Parker (xem A.1).

4.2 Canh thang trypticase (tryptic) đậu tương (TSB), chứa natri clorua 10 % và natri pyruvat 1 % (xem A.2).

4.3 Thạch trypticase (trypton) đậu tương (TSA) (xem A.3).

4.4 Thạch toluidine xanh-axit deoxyribonucleic (ADN) (xem A.4).

4.5 Canh thang phenol đỏ cacbohydrat (xem A.5).

4.6 Coagulase plasma (từ thỏ) chứa EDTA, vô trùng (có bán sẵn).

4.7 Dung dịch lysostaphin (xem A.6).

4.8 Dung dịch hydro peroxit, 3 % thể tích (xem A.7).

4.9 Dung dịch đệm muối phosphat, 0,02 M, chứa natri clorua 1 %.

4.10 Dầu parafin, vô trùng.

5 Thiết bị và dụng cụ thuỷ tinh

Có thể dùng dụng cụ thuỷ tinh sử dụng một lần thay thế cho các dụng cụ thuỷ tinh sử dụng nhiều lần nếu chúng có các đặc tính thích hợp.

Sử dụng các thiết bị của phòng thử nghiệm vi sinh và cụ thể là:

5.1 Buồng sấy, có dòng khí mỏng hoặc phòng được thông khí tốt, không có bụi và dự kiến mật độ vi sinh vật trong không khí ở khu vực làm việc không lớn hơn 15 khuẩn lạc trên mỗi đĩa sau 15 min phơi nhiễm.

5.2 Đĩa Petri, bằng chất dẻo (15 mm x 90 mm) hoặc thủy tinh (15 mm x 100 mm).

5.3 Pipet, có thể phân phối 1, 5 và 10 ml, chia vạch đến 0,1 ml.

5.4 Tủ ấm, có thể duy trì nhiệt độ 35 °C ± 1 °C.

5.5 Que cấy vòng.

5.6 Que cấy gạt, bằng thủy tinh, đường kính từ 3 mm đến 4 mm, dài từ 15 cm đến 20 cm, có một đầu được uốn cong một đoạn dài từ 45 mm đến 55 mm.

5.7 Ống nghiệm vô trùng, kích thước 13 mm x 100 mm.

5.8 Nồi cách thủy, có thể đun đến sôi.

5.9 Máy trộn Vortex.

6 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện. Mẫu không bị hư hỏng hoặc biến đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Xem tiêu chuẩn cụ thể có liên quan đến sản phẩm. Nếu chưa có tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm thì các bên có liên quan nên thoả thuận với nhau về vấn đề này.

7 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu được trộn đều để thu được các phần mẫu thử đồng nhất.

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị dung dịch pha loãng

Trong các điều kiện vô trùng, chuẩn bị dãy dung dịch pha loãng thập phân bằng cách chuyển 10 ml dung dịch mẫu thử đã pha loãng trước đó vào 90 ml dung dịch pha loãng (4.9), sử dụng các pipet (5.3) riêng cho từng nồng độ. Không làm mẫu nổi bọt. Lắc tất cả các dung dịch pha loãng 25 lần với biên độ 30 cm trong vòng 7 s.

8.2 Xác định bằng MPN

Cấy vào 3 ống TSB chứa natri clorua 10 % và natri pyruvat 1 % (4.2) mỗi ống 1 ml dung dịch pha loãng (8.1). Lựa chọn các độ pha loãng sao cho độ pha loãng cao nhất cho kết quả âm tính. Ủ các ống 48 h ± 2 h ở 35 °C trong tủ ấm (5.4). Dùng que cấy đường kính 3 mm (5.5) để chuyển một vòng đầy từ mỗi ống có vi sinh vật phát triển (bị đục) vào đĩa môi trường Baird-Parker (4.1) đã được làm khô thích hợp. Trộn Vortex các ống trước khi cấy nếu vi sinh vật phát triển chỉ quan sát được ở đáy hoặc rìa ống. Ria chất cấy để có được các khuẩn lạc riêng rẽ. Ủ 48 h ở 35 °C trong tủ ấm (5.4).

Từ mỗi đĩa có vi sinh vật phát triển, chuyển ít nhất 1 khuẩn lạc nghi ngờ là *S. aureus* vào canh thang TSB và thực hiện theo 8.3.

8.3 Nhận biết *S. aureus*

8.3.1 Phép thử coagulase

Chuyển các khuẩn lạc *S. aureus* nghi ngờ vào các ống nhỏ chứa từ 0,2 ml đến 0,3 ml canh thang TSB chứa natri clorua 10 % và natri pyruvat 1 % (4.2), nghiền cho đến khi đục đều. Cấy một vòng đầy huyền phù TSB lên ống môi trường thạch nghiêng thích hợp, ví dụ TSA (4.3). Ủ ống huyền phù nuôi cấy trong TSB và ống thạch nghiêng đã cấy trong thời gian từ 18 h đến 24 h ở 35 °C. Giữ các chủng cấy trên bề mặt nghiêng ở nhiệt độ phòng, thực hiện các phép thử lặp lại trong trường hợp nghi ngờ kết quả của phép thử coagulase. Thêm 0,5 ml plasma coagulase hoàn nguyên với EDTA (4.6) vào ống huyền phù nuôi cấy trong TSB và trộn đều. Ủ ở 35 °C và kiểm tra định kì sự đông tụ sau mỗi 6 h.

Phản ứng coagulase chỉ được coi là dương tính khi đông tụ hoàn toàn và khối đông tụ không di chuyển khi nghiêng hoặc úp ngược ống. Trong trường hợp đông tụ một phần, trước đây đánh giá là phản ứng coagulase dương tính 2+ và 3+, cần được phân tích tiếp (xem Tài liệu tham khảo [7]). Thử nghiệm đồng thời các chủng cấy đã biết là dương tính và âm tính với các chủng cấy nghi ngờ, chưa rõ về hoạt tính coagulase. Nhuộm Gram tất cả chủng cấy nghi ngờ và quan sát hình thể. Phép thử ngưng kết latex có thể thay thế cho phép thử coagulase nếu cần thử nhanh.

8.3.2 Các phản ứng sinh hóa nhận biết bổ sung

8.3.2.1 Phép thử catalase

Nhỏ một giọt hydro peroxit 3 % (4.8) lên phiến kính sạch. Lấy một ít sinh khối nuôi cấy trong ống thạch nghiêng TSA nghiền đều vào giọt hydro peroxit 3 %. Nếu sinh bọt khí thì phản ứng catalase dương tính. Phản ứng tiến hành đồng thời với chủng cấy âm tính và dương tính.

8.3.2.2 Sử dụng glucose trong điều kiện kị khí

Cho vòng cấy đầy vào đáy ống canh thang phenol đỏ cacbohydrat chứa glucose (0,5 %) (4.5). Để cho chất cấy chạm đến đáy ống. Phủ bề mặt canh thang bằng lớp dầu parafin vô trùng (4.10) với chiều dày ít nhất 25 mm. Ủ 5 ngày ở 35 °C trong tủ ấm (5.4). Nếu chất chỉ thị đổi sang màu vàng trên toàn bộ ống thì có axit sinh ra trong điều kiện kị khí, nghĩa là có mặt *S. aureus*. Thực hiện phép thử kiểm chứng đồng thời (kiểm chứng chủng cấy dương tính, âm tính và môi trường).

8.3.2.3 Sử dụng ofmannitol trong điều kiện kị khí

Tiến hành theo 8.3.2.2, sử dụng mannitol làm cacbohydrat trong môi trường. *S. aureus* thường dương tính nhưng một số chủng âm tính. Thực hiện phép thử kiểm soát đồng thời.

8.3.2.4 Nhạy cảm với lysostaphin

Dùng que cấy lấy khuẩn lạc được phân lập từ đĩa thạch vào 0,2 ml dung dịch đệm muối phosphat (4.9) và nghiền đều. Chuyển một nửa huyền phù vào ống thứ hai (13 mm x 100 mm) và trộn với 0,1 ml dung dịch đệm muối phosphat (4.9) làm đối chứng. Thêm vào ống ban đầu 0,1 ml dung dịch lysostaphin (4.7) (đã hòa tan trong 100 ml dung dịch đệm muối phosphat 0,02 M chứa natri clorua 1 % để có nồng độ lysostaphin cuối cùng là 25 µg/ml). Ủ cả hai ống ở 35 °C không quá 2 h. Nếu ống thử nghiệm trong thì phép thử được coi là dương tính. Phép thử âm tính nếu ống thử nghiệm đục. *S. aureus* thường cho kết quả dương tính.

8.3.2.5 Sinh nuclease bền nhiệt

Khi phản ứng coagulase không cho kết quả rõ ràng thì cần thực hiện phép thử sinh nuclease bền nhiệt để quan sát sự đổi màu từ xanh lam sang hồng tươi. Đây không phải là phép thử thay thế cho phản ứng coagulase mà là phép thử bổ trợ, đặc biệt đối với các phản ứng dương tính 2+. Chuẩn bị các lam kính bằng cách dàn 3 ml thạch toluidin xanh-axit deoxyribonucleic (4.4) trên bề mặt lam kính. Khi thạch đông đặc thì khoan các giếng đường kính 2 mm (từ 10 đến 12 giếng trên mỗi lam kính) trên bề mặt và loại bỏ các nút thạch. Nhỏ khoảng 0,01 ml huyền phù vi khuẩn đã gia nhiệt (đun sôi cách thủy 15 min) sử dụng cho phản ứng coagulase vào giếng trên mặt thạch. Ủ các lam kính trong tủ ấm 4 h ở 35 °C. Nếu xuất hiện quầng màu hồng tươi rộng ít nhất 1 mm bao quanh giếng thì phản ứng dương tính.

8.3.3 Các đặc tính

Một số đặc tính điển hình của hai loài *Staphylococcus* và các loài *Micrococcus* được nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Các đặc tính điển hình của *S. aureus*, *S. epidermidis* và *Micrococcus*

Đặc tính	*S. aureus*	*S. epidermidis*	*Micrococcus*
Hoạt tính catalase	+	+	+
Sinh coagulase	+	–	–
Sinh thermonuclease	+	+	–
Nhạy cảm với lysostaphin	+	+	–
Sử dụng glucose trong điều kiện kị khí	+	+	–
Sử dụng mannitol trong điều kiện kị khí	+	–	–
(+) Hầu hết (≥ 90%) các chủng dương tính; (–) Hầu hết (≥ 90%) các chủng âm tính.			

9 Biểu thị kết quả

Số có xác suất lớn nhất của các *Staphylococcus* có phản ứng coagulase dương tính trong một gam sản phẩm tính được bằng cách đối chiếu với các bảng số có xác suất lớn nhất cho các độ pha loãng khẳng định. Tham khảo TCVN 6404 (ISO 7218) [4].

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ 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 nghiệm đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;

d) mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tuỳ chọn cũng như các sự cố bất kỳ có thể ảnh hưởng đến kết quả;

e) kết quả thử nghiệm thu được.

Phụ lục A

(Quy định)

Thành phần và chuẩn bị môi trường và thuốc thử

A.1 Môi trường Baird-Parker

A.1.1 Môi trường cơ bản

A.1.1.1 Thành phần

Trypton	10 g
Chất chiết thịt bò	5 g
Chất chiết nấm men	1 g
Natri pyruvat	10 g
Glycin	12 g
Liti clorua ngậm sáu phân tử nước ($LiCl \cdot 6H_2O$)	5 g
Thạch	20 g
Nước cất	1 lít

A.1.1.2 Chuẩn bị

Hấp áp lực 15 min ở 121 °C. pH cuối cùng đạt 7,0 ± 0,2. Nếu cần sử dụng ngay thì duy trì môi trường đã tan chảy ở nhiệt độ từ 48 °C đến 50 °C trước khi bổ sung tăng sinh. Nếu không cần sử dụng ngay thì bảo quản môi trường đông đặc ở 4 °C ± 1 °C đến 1 tháng. Làm tan chảy môi trường trước khi sử dụng.

A.1.2 Dung dịch kali telurit

A.1.2.1 Thành phần

Kali telurit [1] (K_2TeO_3)	1,0 g
Nước	100 ml

[1] Chỉ sử dụng kali telurit sẵn có phù hợp đối với phép thử này (xem A.1.2.2).

A.1.2.2 Chuẩn bị

Hoà tan hoàn toàn kali telurit trong nước bằng cách đun nóng rất nhẹ. Bột kali telurit phải dễ tan. Nếu có mặt chất không hoà tan màu trắng trong nước thì loại bỏ bột đó. Lọc qua màng lọc cỡ lỗ 0,22 µm để khử trùng. Dung dịch có thể được bảo quản tối đa một tháng ở nhiệt độ + 3 °C ± 2 °C. Loại bỏ dung dịch nếu có kết tủa màu trắng.

A.1.3 Dung dịch nhũ tương lòng đỏ trứng (nồng độ khoảng 20 % hoặc theo chỉ dẫn của nhà sản xuất).

A.1.4 Môi trường hoàn chỉnh

A.1.4.1 Thành phần

Môi trường cơ bản (A.1.1)	100 ml
Dung dịch kali telurit (A.1.2)	1,0 ml
Nhũ tương lòng đỏ trứng (A.1.3)	5,0 ml

A.1.4.2 Chuẩn bị

Làm tan chảy môi trường cơ bản, sau đó làm nguội trong nồi cách thuỷ đến khoảng 47 °C.

Dưới các điều kiện vô trùng, thêm dung dịch kali telurit và nhũ tương lòng đỏ trứng, cả hai đã được làm ấm trước trong nồi cách thuỷ ở 47 °C, lắc kỹ sau khi thêm từng dung dịch.

A.1.5 Chuẩn bị các đĩa thạch

Đổ một lượng thích hợp môi trường hoàn chỉnh (A.1.4) vào đĩa Petri vô trùng để thu được môi trường thạch dày khoảng 4 mm và để cho đặc lại.

Trước khi làm khô, các đĩa có thể được bảo quản đến 24 h ở nhiệt độ + 3 °C ± 2 °C.

CHÚ THÍCH: Đối với các đĩa sản xuất công nghiệp, cần tuân thủ các chỉ dẫn của nhà sản xuất về thời gian bảo quản.

Trước khi sử dụng, làm khô các đĩa, tốt nhất là mở nắp ra và úp bề mặt thạch xuống dưới, đặt vào tủ ấm ở nhiệt độ từ 25 °C đến 50 °C, cho đến khi các giọt nước biến mất trên bề mặt của môi trường.

A.2 Canh thang trypticase (tryptic) đậu tương chứa natri clorua 10 % và natri pyruvat 1 %

A.2.1 Thành phần

Trypticase hoặc tryptose	17 g
Phyton pepton	3 g
Natri clorua	100 g
Kali hydro phosphat (K_2HPO_4)	2,5 g
Dextrose	2,5 g
Natri pyruvat	10 g
Nước cất	1 lít

A.2.2 Chuẩn bị

Chỉnh đến pH 7,3. Đun nhẹ nếu cần. Phân phối 10 ml vào các ống nghiệm 16 mm x 150 mm. Hấp áp lực 15 min ở 121 °C. pH cuối cùng đạt 7,3 ± 0,2. Bảo quản trong một tháng ở 4 °C ± 1 °C.

A.3 Thạch trypticase (tryptic) đậu tương

A.3.1 Thành phần

Trypticase pepton	15 g
Phyton pepton	5 g
Natri clorua	5 g
Thạch	15 g
Nước cất	1 lít

A.3.2 Chuẩn bị

Gia nhiệt có khuấy để hòa tan thạch. Đun sôi 1 min. Phân phối vào các ống hoặc bình thích hợp. Hấp áp lực 15 min ở 121 °C. pH cuối cùng đạt 7,3 ± 0,2.

A.4 Thạch toluidine xanh-ADN.

A.4.1 Thành phần

Axit deoxyribonucleic (ADN)	0,3 g
Thạch	10 g
Canxi clorua (dạng khan)	1,1 mg
Natri clorua	10 g
Toluidine xanh O	83 mg
Tris(hydroxymethyl)aminometan	6.1 g
Nước cất	1 lít

A.4.2 Chuẩn bị

Hòa tan tris(hydroxymethyl)aminometan trong 1 lít nước cất. Chỉnh pH đến 9.0. Bổ sung các thành phần còn lại, trừ toluidine xanh O và đun đến sôi để hòa tan.

Hòa tan toluidine xanh O vào môi trường. Phân phối vào các bình nón có nút cao su. Nếu sử dụng ngay thì không cần khử trùng. Môi trường vô trùng bền ở nhiệt độ phòng trong 4 tháng.

A.5 Canh thang phenol đỏ cacbohydrat

A.5.1 Thành phần

Trypticase hoặc proteose pepton No. 3	10 g
Natri clorua	5 g
Chất chiết bò (tùy chọn)	1 g

Phenol đỏ (7,2 ml dung dịch 0,25 % phenol đỏ)	0,018 g
Glucose	5 g
Nước cất	1 lít

A.5.2 Chuẩn bị

Hòa tan glucose vào canh thang cơ bản này. Phân phối các phần 2,5 ml vào các ống nghiệm 13 mm x 100 mm chứa các ống lên men 6 mm x 50 mm đã lật ngược. Hấp áp lực 10 min ở 118 °C. pH cuối cùng đạt 7,4 ± 0,2. Cách khác, hòa tan các thành phần trên, trừ glucose, trong 800 ml nước cất có đun và thỉnh thoảng khuấy. Phân phối các phần 2,0 ml vào các ống nghiệm 13 mm x 100 mm chứa các ống lên men đã lật ngược. Hấp áp lực 15 min ở 118 °C và để nguội. Hòa tan glucose trong 200 ml nước cất và khử trùng bằng cách cho dung dịch qua bộ lọc giữ vi khuẩn. Thêm vô trùng 0,5 ml dịch lọc vào mỗi ống canh thang đã khử trùng sau khi làm nguội đến 45 °C. Lắc nhẹ để trộn. pH cuối cùng đạt 7,4 ±0,2.

A.6 Dung dịch lysostaphin

Hòa tan 2,5 mg lysostaphin trong dung dịch muối đệm phosphat 0,02 M chứa natri clorua 1 %.

A.7 Thuốc thử hydro peroxit

Dung dịch chứa khoảng 2,5 g đến 3,5 g hydro peroxit (H_2O_2) trong mỗi 100 ml. Dung dịch này có thể chứa các chất bảo quản thích hợp nhưng tổng nồng độ không quá 0,05 %.

Thư mục tài liệu tham khảo

[1] TCVN 4830-1:2005 (ISO 6888-1:1999, With Amd. 1:2003) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng Staphylococci có phản ứng dương tính coagulase (Staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa thạch – Phần 1: Kỹ thuật sử dụng môi trường thạch Baird-Parker*

[2] TCVN 4830-2:2005 (ISO 6888-2:1999, With Amd. 1:2003) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng Staphylococci có phản ứng dương tính coagulase (Staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa thạch – Phần 2: Kỹ thuật sử dụng môi trường thạch fibrinogen huyết tương thỏ*

[3] TCVN 4830-3:2005 (ISO 6888-3:2003) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng Staphylococci có phản ứng dương tính với coagulase (Staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa thạch – Phần 3: Phát hiện và dùng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN) để đếm số lượng nhỏ*

[4] 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*

[5] TCVN 7927:2008 *Thực phẩm – Phát hiện và định lượng Staphylococcus aureus bằng phương pháp tính số có xác suất lớn nhất*

[6] FDA, *Bacteriological Analytical Manual*, Chapter 5, *Salmonella*

[7] Sperber, W.H. and Tatini, S.R. 1975. *Interpretation of the tube coagulase test for identification of Staphylococcus aureus.* Appl. Microbiol. 29:502-505