

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 6505-1:2007

ISO 11866-1:2005

Xuất bản lần 2

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA –
ĐỊNH LƯỢNG *ESCHERICHIA COLI* GIẢ ĐỊNH –
PHẦN 1: KỸ THUẬT ĐẾM SỐ CÓ XÁC SUẤT LỚN NHẤT SỬ
DỤNG 4-METYLBELLIFERYL- β -D-GLUCURONIT (MUG)**

*Milk and milk products - Enumeration of presumptive Escherichia coli -
Part 1: Most probable number technique using 4 methylumbelliferyl
D-glucuronide (MUG)*

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 6505-1:2007 thay thế TCVN 6505-2:1999;

TCVN 6505-1:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 11866-1:2005/ IDF 170-1:2005;

TCVN 6505-1:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F12 Sữa và sản phẩm sữa biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

TCVN 6505:2007 (ISO 11866:2005) Sữa và sản phẩm sữa – Định lượng *Escherichia coli* giả định, bao gồm các phần sau:

- Phần 1: Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất sử dụng 4-metyumbelliferyl- β -D-glucuronit (MUG)
- Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 44 °C sử dụng màng lọc.

Sữa và sản phẩm sữa – Định lượng *Escherichia Coli* giả định

Phần 1: Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất sử dụng 4-metylumbelliferyl- β -D-glucuronit (MUG)

Milk and milk products – Enumeration of presumptive Escherichia coli – Part 1 : Most probable number technique using 4-methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG)

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp kết hợp để định lượng *E.coli* giả định và *coliform* giả định bằng kỹ thuật nuôi cấy trong môi trường lỏng với MUG, và tính số lượng *E.coli* và/hoặc *coliform* có trong 1 gam hoặc có trong 1 mililit bằng kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất (MPN) sau khi nuôi ấm ở 30 °C.

Phương pháp này nhanh hơn phương pháp qui định trong TCVN 6846 (ISO 7251) vì giảm bớt thời gian nuôi ấm (bỏ qua một số giai đoạn tăng sinh).

Phương pháp này có thể áp dụng cho:

- sữa và các sản phẩm sữa dạng lỏng;
- sữa bột, whey bột, buttermilk bột và lactoza;
- casein axit, casein lactic và casein rennet;
- caseinat, whey bột axit;
- phomat và phomat chế biến;
- bơ;
- sản phẩm sữa đông lạnh (bao gồm cả kem lạnh thực phẩm);
- custard, món tráng miệng và cream.

Phương pháp này thích hợp đối với các mẫu có số lượng *E.coli* và/hoặc *coliform* giả định khác dự đoán tương đối thấp (ít hơn 100 *E.coli* và/hoặc *Coliform* trong một gam, hoặc ít hơn 10 *E.coli* và/hoặc *Coliform* trong một mililit).

CHÚ Ý – Khả năng áp dụng của phương pháp này bị hạn chế bởi độ nhạy của nó đối với độ biến thiên lớn. Do đó, phương pháp này nên sử dụng và giải thích kết quả theo thông tin nêu trong điều 12.

CHÚ THÍCH Các phương pháp được mô tả trong TCVN 4882 (ISO 4831) áp dụng để định lượng coliform với các mục đích đối chứng.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 6404 (ISO 7218), Vi sinh vật trong thực phẩm và trong thức ăn gia súc – Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật.

TCVN 6263 (ISO 8261), Sữa và các sản phẩm sữa – Hướng dẫn chung về chuẩn bị mẫu thử huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

***E.coli* giả định** (presumptive *Escherichia coli*)

vi khuẩn ở nhiệt độ 30 °C tách 4-metylumbelliferyl- β -D-glucuronit (MUG), tạo huỳnh quang và sinh indol từ tryptophan trong các điều kiện qui định trong tiêu chuẩn này.

3.2

coliform (coliforms)

vi khuẩn ở nhiệt độ 30 °C lên men lactoza kèm theo sự sinh khí trong các điều kiện qui định trong tiêu chuẩn này.

4 Nguyên tắc

4.1 Cấy một lượng mẫu thử xác định nếu sản phẩm ban đầu dạng lỏng, hoặc với một lượng xác định huyền phù ban đầu trong trường hợp sản phẩm dạng khác vào ba ống nghiệm chứa môi trường lỏng tăng sinh chọn lọc nồng độ kép.

4.2 Cấy một lượng mẫu thử xác định nếu sản phẩm ban đầu dạng lỏng, hoặc với một lượng xác định huyền phù ban đầu trong trường hợp sản phẩm dạng khác vào ba ống nghiệm chứa môi trường tăng sinh lỏng chọn lọc nồng độ đơn.

Sau đó, cấy các lượng xác định của các dung dịch mẫu thử pha loãng thập phân hoặc huyền phù ban đầu vào môi trường nồng độ đơn trong cùng điều kiện trên.

- 4.3 Nuôi ấm các ống nghiệm chứa môi trường nồng độ kép và nồng độ đơn ở 30 °C từ 24 giờ đến 48 giờ.
- 4.4 Các ống cho thấy huỳnh quang và sinh indol được coi là các ống dương tính về *E.coli* giả định.
- 4.5 Các ống nghiệm cho sinh khí được coi là các ống dương tính về *coliform* giả định.
- 4.6 Chỉ số MPN được xác định từ số ống dương tính (4.4) của các dung dịch pha loãng chọn lọc bằng cách sử dụng bảng MPN (phụ lục A) và tính được số có xác suất lớn nhất (MPN) của *E.coli* giả định trong một gam hoặc một mililit mẫu ban đầu.
- 4.7 Chỉ số MPN được xác định từ số ống dương tính (4.5) của các dung dịch pha loãng chọn lọc bằng cách sử dụng bảng MPN (phụ lục A) và tính được số có xác suất lớn nhất (MPN) của *coliform* trong một gam hoặc một mililit mẫu ban đầu.

5 Dịch pha loãng, môi trường cấy và thuốc thử

5.1 Khái quát

Đối với các phòng thử nghiệm hiện hành, xem TCVN 6404 (ISO 7218) và TCVN 6263 (ISO 8261).

Đối với môi trường và thuốc thử đã chuẩn bị nhưng không sử dụng ngay, nếu không có qui định khác, phải bảo quản nơi tối ở nhiệt độ từ 0 °C đến + 5 °C không quá 1 tháng, trong các điều kiện không làm thay đổi thành phần của chúng.

5.2 Dịch pha loãng

Xem TCVN 6263 (ISO 8261).

5.3 Môi trường cấy

5.3.1 Canh thang tryptoza lauryl sunfat cải biến (môi trường tăng sinh chọn lọc)

5.3.1.1 Thành phần

| | a) Môi trường nồng độ kép | b) Môi trường nồng độ đơn |
|--|---------------------------|---------------------------|
| Tryptoza | 40,0 g | 20,0 g |
| Lactoza | 10,0 g | 5,0 g |
| Dikali hydro phosphat (K_2HPO_4) | 5,5 g | 2,75 g |
| Kali dihydro phosphat (KH_2PO_4) | 5,5 g | 2,75 g |
| Natri clorua | 10,0 g | 5,0 g |
| Natri lauryl sunfat [$CH_3(CH_2)_{11}OSO_3Na$] | 0,2 g | 0,1 g |
| 4-Metylumbelliferyl- β -D-glucuronit (MUG) | 0,2 g | 0,1 g |
| Tryptophan | 2,0 g | 1,0 g |
| Nước | 1 000 ml | 1 000 ml |

5.3.1.2 Chuẩn bị

Hoà tan trong nước các thành phần hoặc môi trường hoàn chỉnh khô, đun sôi khi cần.

Nếu cần, chỉnh pH để sau khi khử trùng pH phải là 6,8, ở nhiệt độ 25 °C.

Phân phối môi trường này theo từng lượng 10 ml vào các ống nghiệm có kích thước 16 mm x 160 mm (6.2) có chứa ống Durham lộn ngược (6.3) trong trường hợp môi trường nồng độ đơn và phân phối vào các ống nghiệm có kích thước 20 mm x 200 mm (6.2) có chứa ống Durham lộn ngược (6.3) trong trường hợp môi trường nồng độ kép.

Khử trùng 15 phút ở nhiệt độ 121 °C trong nồi hấp áp lực (6.1).

Ống Durham lộn ngược không được chứa bọt khí sau khi khử trùng.

5.4 Thuốc thử indol (thuốc thử Kovacs)

5.4.1 Thành phần

| | |
|--|---------|
| 4-Dimethylaminobenzaldehyt | 5,0 g |
| 2-Metylbutan-1-ol hoặc pentan-1-ol | 75,0 ml |
| Axit clohydric (ρ_{20} từ 1,18 g/ml đến 1,19 g/ml) | 25,0 ml |

5.4.2 Chuẩn bị

Hoà tan 4-Dimethylaminobenzaldehyt trong cồn bằng cách đun nhẹ đến khoảng từ 50 °C đến 55 °C trong nồi cách thuỷ (6.5).

Để nguội và thêm axit clohydric.

Bảo quản tránh ánh sáng ở nhiệt độ khoảng 4 °C. Màu sắc của thuốc thử phải có màu vàng sáng đến màu nâu sáng.

5.5 Dung dịch natri hydroxit, $c(\text{NaOH}) \approx 0,5 \text{ mol/l}$.

5.5.1 Thành phần

| | |
|----------------|--------|
| Natri hydroxit | 2 g |
| Nước | 100 ml |

5.5.2 Chuẩn bị

Hoà tan natri hydroxit trong nước.

6 Thiết bị và dụng cụ thủy tinh

Đối với các yêu cầu chung, xem TCVN 6404 (ISO 7218) và TCVN 6263 (ISO 8261). Dụng cụ thủy tinh phải bền khi khử trùng lại.

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

6.1 Nồi hấp áp lực, có thể duy trì nhiệt độ ở $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Về chi tiết xem TCVN 6404 (ISO 7218).

6.2 Ống nghiệm, có kích thước 16 mm x 160 mm và 20 mm x 200 mm, hoặc bình cầu hoặc chai có dung tích thích hợp.

Trước khi sử dụng cần kiểm tra các ống nghiệm để biết chắc các ống không tự phát huỳnh quang.

6.3 Ống Durham, có kích thước thích hợp cho việc sử dụng trong ống nghiệm (6.2).

6.4 Tủ ấm, có thể duy trì nhiệt độ $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ở bất kỳ điểm nào trong tủ.

6.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ từ $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $55\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.6 Đèn cực tím (UV) sóng dài, có bước sóng từ 360 nm đến 366 nm, tốt nhất là để trong tủ UV hoặc trong phòng tối, hoặc được bọc trong hộp cactông đảm bảo điều kiện tối.

CHÚ THÍCH Đèn tia cực tím UV sóng ngắn không thích hợp cho việc sử dụng.

6.7 pH-met, có độ chính xác đến $\pm 0,1$ đơn vị pH ở $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.8 Pipet xả hết, có dung tích danh định là 1 ml và 10 ml.

6.9 Máy trộn Vortex.

7 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện. Mẫu không bị thay đổi hoặc suy giảm chất lượng trong quá trình bảo quản và vận chuyển.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6263 (ISO 8261).

9 Cách tiến hành

9.1 Phần mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng

Chuẩn bị phần mẫu thử, huyền phù ban đầu (dung dịch pha loãng đầu tiên) và các dung dịch pha loãng thập phân tiếp theo, theo TCVN 6263 (ISO 8261).

Pha đủ số lượng các dung dịch pha loãng để đảm bảo rằng tất cả các ống nghiệm ứng với độ pha loãng cuối cùng cho kết quả âm tính.

9.2 Cây môi trường tăng sinh chọn lọc

9.2.1 Lấy ba ống nghiệm đựng môi trường tăng sinh nồng độ kép [5.3.1.1 a)]. Dùng pipet vô trùng (6.8) cho vào mỗi ống 10 ml mẫu thử dạng lỏng, hoặc 10 ml huyền phù ban đầu (dung dịch pha loãng đầu tiên) mẫu thử dạng khác.

9.2.2 Lấy ba ống nghiệm đựng môi trường tăng sinh nồng độ đơn [5.3.1.1 b)]. Dùng một pipet vô trùng (6.8) cho vào mỗi ống 1 ml mẫu thử dạng lỏng, hoặc 1 ml huyền phù ban đầu (dung dịch pha loãng đầu tiên) khi mẫu thử dạng khác.

9.2.3 Đối với mỗi một dung dịch pha loãng tiếp theo, tiến hành theo qui định trong 9.2.2. Sử dụng một pipet vô trùng mới cho mỗi độ pha loãng.

9.2.4 Trộn cẩn thận chất cấy với môi trường bằng cách dùng bộ trộn (6.9). Tránh tạo bọt khí vào trong ống Durham (6.3).

9.3 Nuôi ấm

Nuôi ấm các ống nghiệm đã cấy (từ 9.2.1 đến 9.2.3) trong tủ ấm (6.4) ở 30 °C trong 24 giờ ± 2 giờ. Nếu ở giai đoạn này không quan sát thấy sinh khí thì nuôi ấm tiếp đến 48 giờ ± 2 giờ.

9.4 Thử kháng định về *E.coli* giả định

Tiến hành thử kháng định đối với *E.coli* giả định trên tất cả các ống nghiệm đã nuôi ấm như trong 9.3.

Cho vào mỗi ống nghiệm 0,5 ml dung dịch natri hydroxit (5.5). Kiểm tra các ống nghiệm về việc phát huỳnh quang dưới đèn UV (6.6). Thêm 0,5 ml thuốc thử indol (5.4) vào các ống có phát huỳnh quang. Trộn kỹ và kiểm tra sau 1 phút.

Màu đỏ trong pha cồn cho thấy sự có mặt của indol (ống dương tính).

9.5 Giải thích

9.5.1 Thử nghiệm về *E.coli* giả định

Nhận biết các ống nghiệm đã được cấy ban đầu theo 9.2.1 đến 9.2.3, cho thấy có phát huỳnh quang và sinh indol trong 9.4 là các ống dương tính có *E.coli* giả định.

Đếm số ống dương tính đối với mỗi độ pha loãng.

9.5.2 Thử nghiệm về coliform

Nhận biết các ống nghiệm đã được cấy theo 9.2.1 đến 9.2.3, cho thấy sinh khí trong 9.3 là các ống dương tính có *coliform* giả định.

Đếm số ống dương tính đối với mỗi độ pha loãng.

10 Chọn độ pha loãng

CHÚ THÍCH Huyền phù ban đầu (dung dịch pha loãng đầu tiên) và mẫu thử được coi là các dung dịch pha loãng.

10.1 Đối với mỗi mẫu cần kiểm tra, chọn ba độ pha loãng liên tiếp theo 10.2, 10.3 hoặc 10.4 để thu được chỉ số MPN.

10.2 Trong trường hợp khi chỉ có ba độ pha loãng, thì sử dụng cả ba độ pha loãng này để thu được chỉ số MPN.

10.3 Trong trường hợp có nhiều hơn ba độ pha loãng, việc chọn ba độ pha loãng như thế sẽ cho các tổ hợp có các xác suất khác nhau. Điều này có thể biểu thị trong các cấp hạng trong bảng A.1 (phụ lục A). Giải thích các cấp hạng này được đưa ra trong bảng A.2 (phụ lục A).

10.4 Chọn tổ hợp của ba độ pha loãng liên tiếp với cấp hạng 1 để thu được chỉ số MPN; nếu thu được nhiều hơn một tổ hợp với cấp hạng 1 thì sử dụng tổ hợp có số ống dương tính lớn nhất.

Nếu không có tổ hợp với cấp hạng 1 thích hợp, sử dụng một tổ hợp với cấp hạng 2; nếu thu được nhiều hơn một tổ hợp với cấp hạng 2 thì sử dụng tổ hợp có số ống dương tính lớn nhất (xem ví dụ ở Bảng 1).

Nếu không có tổ hợp với cấp hạng 2 thích hợp, sử dụng một tổ hợp với cấp hạng 3; nếu thu được nhiều hơn một tổ hợp với cấp hạng 3 thì sử dụng tổ hợp có số ống dương tính lớn nhất (xem ví dụ ở bảng 1).

Bảng 1 – Ví dụ về cách chọn các kết quả dương tính để tính giá trị MPN

| Ví dụ | Số ống nghiệm dương tính thu được từ ba ống nghiệm nuôi ấm đã cấy các lượng mẫu/ống sau đây * | | | | | | MPN ^b | |
|-------|--|-------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------------------------|-----------------------|
| | Sản phẩm dạng lỏng | 10 ml | 1 ml | 10 ⁻¹ ml | 10 ⁻² ml | 10 ⁻³ ml | Sản phẩm dạng lỏng | Sản phẩm dạng khác |
| | Các sản phẩm khác | 1 g | 10 ⁻¹ g | 10 ⁻² g | 10 ⁻³ g | 10 ⁻⁴ g | ml ⁻¹ | g ⁻¹ |
| 1 | | 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 1,1 x 10 ¹ | 1,1 x 10 ² |
| 2 | | 3 | 3 | 3 | 0 | | 2,4 x 10 ¹ | 2,4 x 10 ² |
| 3 | | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 7,4 | 7,4 x 10 ¹ |
| 4 | | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2,4 | 2,4 x 10 ¹ |
| 5 | | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 2,1 x 10 ⁻¹ | 2,1 |

a Chữ in đậm: tổ hợp được chọn.
b Giá trị tính được sử dụng chỉ số MPN đối với ba ống nghiệm (Bảng A.1).

11 Xác định, tính và biểu thị kết quả

11.1 Xác định chỉ số MPN [xem TCVN 6404 (ISO 7218)]

11.1.1 Xác định chỉ số MPN của *E.coli* giả định từ số ống nghiệm khẳng định dương tính (9.5.1) đối với mỗi độ pha loãng đã chọn (điều 10), sử dụng bảng A.1 (phụ lục A).

11.1.2 Xác định chỉ số MPN của coliform từ số ống nghiệm khẳng định dương tính (9.5.2) đối với mỗi độ pha loãng đã chọn (điều 10), sử dụng bảng A.1 (phụ lục A).

11.2 Tính số có xác suất lớn nhất (MPN) [xem TCVN 6404 (ISO 7218)]

Nhân chỉ số MPN (11.1) với tỷ lệ nghịch của độ pha loãng thấp nhất được chọn (nghĩa là có nồng độ mẫu thử cao nhất) cho ra số có xác suất lớn nhất (MPN) của *E.coli* và/hoặc coliform có trong 1 millilit hoặc trong 1 gam sản phẩm.

Khi độ pha loãng thấp nhất được chọn tương ứng với các ống đã cấy với môi trường nồng độ kép (cấy vào 10 ml) thì trước hết chia chỉ số MPN cho 10.

CHÚ THÍCH Việc chia chỉ số MPN cho 10 chỉ cần thiết đối với sản phẩm dạng lỏng, khi phân phối 10 ml mẫu thử sang ống nghiệm chứa môi trường nồng độ kép. Còn đối với sản phẩm dạng khác, thì chuyển 10 ml huyền phù ban đầu chứa 1 g mẫu thử vào ống nghiệm chứa môi trường nồng độ kép.

11.3 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả theo số có xác suất lớn nhất (MPN) của *E.coli* giả định hoặc của *coliform* giả định có trong 1 mililit (sản phẩm dạng lỏng) hoặc trong 1 gam (sản phẩm dạng khác) theo một số trong khoảng từ 1,0 đến 9,9 nhân với lũy thừa tương ứng của 10.

Nếu MPN nhỏ hơn 0,3 *E.coli* giả định hoặc *coliform* giả định trong 1 mililit hoặc trong 1 gam và nếu sử dụng qui trình thích hợp đối với số *E.coli* giả định hoặc *coliform* giả định có số lượng thấp, thì kết quả được biểu thị như sau: "Không có *E.coli* hoặc *coliform* giả định trong 1 ml hoặc trong 1 g sản phẩm".

12 Độ chụm

Thực nghiệm cho thấy rằng khi sử dụng kỹ thuật MPN kết quả có thể xảy ra sai số lớn. Do đó, phải thận trọng khi sử dụng các kết quả thu được bằng phương pháp này. Các giới hạn tin cậy được đưa ra trong bảng A.1 (phụ lục A).

13 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các chi tiết về điều kiện thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy ý, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được, nêu rõ phương pháp biểu thị kết quả.

Phụ lục A

(qui định)

Xác định số có xác suất lớn nhất

Bảng A.1 – Chỉ số MPN và các giới hạn tin cậy

| Số lượng ống dương tính | | | Chỉ số MPN ^a | Cấp hạng ^b | Giới hạn tin cậy ở mức 95 % ^{a, c} | |
|-------------------------|---|---|-------------------------|-----------------------|---|------|
| | | | | | Dưới | Trên |
| 0 | 0 | 0 | < 0,30 | | 0,00 | 0,94 |
| 0 | 0 | 1 | 0,30 | 3 | 0,01 | 0,95 |
| 0 | 1 | 0 | 0,30 | 2 | 0,01 | 1,00 |
| 0 | 1 | 1 | 0,61 | 0 | 0,12 | 1,70 |
| 0 | 2 | 0 | 0,62 | 3 | 0,12 | 1,70 |
| 0 | 3 | 0 | 0,94 | 0 | 0,35 | 3,50 |
| 1 | 0 | 0 | 0,36 | 1 | 0,02 | 1,70 |
| 1 | 0 | 1 | 0,72 | 2 | 0,12 | 1,70 |
| 1 | 0 | 2 | 1,1 | 0 | 0,4 | 3,5 |
| 1 | 1 | 0 | 0,74 | 1 | 0,13 | 2,00 |
| 1 | 1 | 1 | 1,1 | 3 | 0,4 | 3,5 |
| 1 | 2 | 0 | 1,1 | 2 | 0,4 | 3,5 |
| 1 | 2 | 1 | 1,5 | 3 | 0,5 | 3,8 |
| 1 | 3 | 0 | 1,6 | 3 | 0,5 | 3,8 |
| 2 | 0 | 0 | 0,92 | 1 | 0,15 | 3,50 |
| 2 | 0 | 1 | 1,4 | 2 | 0,4 | 3,5 |
| 2 | 0 | 2 | 2,0 | 0 | 0,5 | 3,8 |
| 2 | 1 | 0 | 1,5 | 1 | 0,4 | 3,8 |
| 2 | 1 | 1 | 2,0 | 2 | 0,5 | 3,8 |
| 2 | 1 | 2 | 2,7 | 0 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 2 | 0 | 2,1 | 1 | 0,5 | 4,0 |
| 2 | 2 | 1 | 2,8 | 3 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 2 | 2 | 3,5 | 0 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 3 | 0 | 2,9 | 3 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 3 | 1 | 3,6 | 0 | 0,9 | 9,4 |
| 3 | 0 | 0 | 2,3 | 1 | 0,5 | 9,4 |
| 3 | 0 | 1 | 3,8 | 1 | 0,9 | 10,4 |
| 3 | 0 | 2 | 6,4 | 3 | 1,6 | 18,1 |
| 3 | 1 | 0 | 4,3 | 1 | 0,9 | 18,1 |
| 3 | 1 | 1 | 7,5 | 1 | 1,7 | 19,9 |
| 3 | 1 | 2 | 12 | 3 | 3 | 36 |
| 3 | 1 | 3 | 16 | 0 | 3 | 38 |
| 3 | 2 | 0 | 9,3 | 1 | 1,8 | 36,0 |
| 3 | 2 | 1 | 15 | 1 | 3 | 38 |
| 3 | 2 | 2 | 21 | 2 | 3 | 40 |
| 3 | 2 | 3 | 29 | 3 | 9 | 99 |
| 3 | 3 | 0 | 24 | 1 | 4 | 99 |
| 3 | 3 | 1 | 46 | 1 | 9 | 198 |
| 3 | 3 | 2 | 110 | 1 | 20 | 400 |
| 3 | 3 | 3 | > 110 | | | |

a Từ Tài liệu tham khảo [4]

b Xem Bảng A.2

c Các giới hạn tin cậy đưa ra trong bảng này là chỉ đưa ra một số ý kiến của ảnh hưởng sai số thống kê lên kết quả. Tuy nhiên vẫn có các nguồn gốc sai số khác đôi khi còn quan trọng hơn.

Bảng A.2 – Giải thích các cấp hạng về các kết quả

| Cấp hạng * | Định nghĩa |
|---|--|
| 1 | Khi số lượng vi khuẩn trong mẫu thử bằng số MPN tìm được, thì kết quả nằm trong số các khả năng cao nhất thu được. Hầu như chỉ có 5 % khả năng nhận được kết quả nhỏ hơn giá trị nhỏ nhất ở cấp hạng này. |
| 2 | Khi số lượng vi khuẩn trong mẫu thử bằng số MPN tìm được, thì kết quả là một trong số khả năng nhận được ít hơn cả số có khả năng xảy ra nhỏ nhất trong cấp hạng 1, nhưng tối đa chỉ có 1 % khả năng thu được một kết quả có thể thấp hơn kết quả nhỏ nhất có thể xảy ra ở cấp hạng này. |
| 3 | Khi số lượng vi khuẩn trong mẫu thử bằng số MPN tìm được, thì kết quả là một trong số có khả năng nhận được ít hơn cả giá trị nhỏ nhất trong cấp hạng 2, nhưng tối đa chỉ có 0,1 % khả năng thu được một kết quả có thể thấp hơn giá trị nhỏ nhất ở cấp hạng này. |
| 0 | Khi số lượng vi khuẩn trong mẫu thử bằng số MPN tìm được, thì kết quả là một trong số có khả năng nhận được ít hơn cả giá trị nhỏ nhất trong cấp hạng 3, chỉ có 0,1 % khả năng thu được một kết quả ở cấp hạng này, nếu như không có một sai sót nào. |
| <p>a Trước khi bắt đầu thử nghiệm, cần quyết định xem cấp hạng nào sẽ được chấp nhận, nghĩa là: chỉ cấp hạng 1, 1 và 2 hoặc thậm chí 1, 2 và 3. Nếu quyết định dựa trên các kết quả có tầm quan trọng, thì chỉ chấp nhận kết quả của cấp hạng 1 hoặc tối đa kết quả của cấp hạng 1 và cấp hạng 2. Kết quả của cấp hạng 0 cần được xem xét hết sức cẩn thận.</p> | |

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707) Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.
- [2] TCVN 4882 (ISO 4831) Vi sinh vật học. Hướng dẫn chung về định lượng coliform. Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.
- [3] TCVN 6846:2007 (ISO 7251:2005) Vi sinh vật học – Hướng dẫn chung về định lượng *E.coli* giả định. Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất.
- [4] De Man, J.C., Eur.J.Appl. Biotechnol., 17,1983, pp. 301-305.
-