

**TCVN**

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 8128-2 : 2009**  
**ISO/TS 11133-2 : 2003**

Xuất bản lần 1

**VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ THỨC ĂN  
CHĂN NUÔI – HƯỚNG DẪN CHUẨN BỊ VÀ  
SẢN XUẤT MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY –  
PHẦN 2: CÁC HƯỚNG DẪN THỰC HÀNH VỀ  
THỬ HIỆU NĂNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs –  
Guidelines on preparation and production of culture media –  
Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media*

HÀ NỘI – 2009

## Lời nói đầu

TCVN 8128-2 : 2009 hoàn toàn tương đương với ISO/TS 11133-2:2003;

TCVN 8128-2 : 2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 Phương pháp phân tích và lấy mẫu biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 8128 (ISO/TS 11133), gồm các tiêu chuẩn sau:

- TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1:2009), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Hướng dẫn chuẩn bị và sản xuất môi trường nuôi cấy – Phần 1: Hướng dẫn chung về đảm bảo chất lượng đối với việc chuẩn bị môi trường nuôi cấy trong phòng thử nghiệm;*
- TCVN 8128-2 : 2009 (ISO/TS 11133-2:2003), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Hướng dẫn chuẩn bị và sản xuất môi trường nuôi cấy – Hướng dẫn chuẩn bị và sản xuất môi trường nuôi cấy – Phần 2: Các hướng dẫn thực hành về thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy.*

## Lời giới thiệu

Điều cơ bản là sử dụng môi trường nuôi cấy có chất lượng xác định để tiến hành các phép phân tích vi sinh trong thực phẩm xác thực. Đối với tất cả các môi trường nêu trong các phương pháp chuẩn hoá thì để xác định các nguyên tắc chấp nhận tối thiểu cần đảm bảo độ tin cậy của môi trường. Khuyến cáo rằng trong việc xác định các đặc tính hiệu năng của môi trường nuôi cấy, các phép thử được thực hiện phù hợp với qui định của tiêu chuẩn này. Áp dụng cho:

- a) môi trường khô hoặc môi trường đã chuẩn bị để dùng ngay, có bán sẵn;
- b) môi trường được chuẩn bị từ các thành phần cơ bản trong phòng thử nghiệm.

Việc xây dựng các chuẩn mực hiệu năng tối thiểu được chấp nhận rộng rãi đối với môi trường cần dẫn đến các sản phẩm bán sẵn có chất lượng ổn định hơn và đó đó giảm qui mô thử nghiệm cần thiết trong phòng thử nghiệm.

Ngoài ra nguyên tắc chấp nhận tối thiểu đo được bằng các phương pháp xác định trong tiêu chuẩn này có thể được tất cả các phòng thử nghiệm sử dụng để đánh giá khả năng sản xuất, tinh chọn lọc và/hoặc các đặc tính lựa chọn của môi trường nuôi cấy.

Trong phép phân tích vi sinh trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi thì các yêu cầu của tiêu chuẩn này có ưu tiên về đánh giá chất lượng môi trường.

**Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi –  
Hướng dẫn chuẩn bị và sản xuất môi trường nuôi cấy –  
Phần 2: Các hướng dẫn thực hành về thử hiệu năng  
của môi trường nuôi cấy**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs –  
Guidelines on preparation and production of culture media –  
Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media*

## **1 Phạm vi áp dụng**

Tiêu chuẩn này đưa ra các chuẩn mực và các phương pháp kiểm tra hiệu năng của môi trường nuôi cấy. Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho:

- các tổ chức thương mại sản xuất và/hoặc phân phối môi trường sử dụng ngay hoặc môi trường hoàn nguyên bán hoàn chỉnh hoặc môi trường kho cho các phòng thử nghiệm vi sinh,
- các tổ chức phi thương mại cung cấp môi trường cho bên thứ ba;
- các phòng thử nghiệm chuẩn bị môi trường nuôi cấy để họ sử dụng và đánh giá hiệu năng của các môi trường nuôi cấy này.

## **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 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1:2009), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Hướng dẫn chuẩn bị và tạo môi trường nuôi cấy – Phần 1: Các hướng dẫn chung về đảm bảo chất lượng cho việc chuẩn bị môi trường nuôi cấy trong phòng thử nghiệm.*

### **3 Thuật ngữ và định nghĩa**

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa nêu trong TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1:2009).

## **4 Chuẩn mực về kiểm soát chất lượng thường xuyên**

### **4.1 Chuẩn mực chất lượng chung**

#### **4.1.1 Chất lượng môi trường nuôi cấy**

Chất lượng của môi trường nuôi cấy phụ thuộc vào chất lượng của các thành phần cơ bản, công thức pha chế đúng, chất lượng của qui trình chuẩn bị, việc loại trừ nhiễm bẩn vi khuẩn và các điều kiện đóng gói và bảo quản thích hợp [xem TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1:2009)].

Nhà sản xuất hoặc người sản xuất trong phòng thử nghiệm phải tuân thủ các đặc tính lý-hoá của môi trường được qui định trong tiêu chuẩn tương ứng. Ngoài ra, việc đánh giá chất lượng phải đảm bảo rằng môi trường nuôi cấy phù hợp với các khuyến cáo đã nêu, gồm:

- lượng phân phối và/hoặc độ dày;
- bề ngoài, màu sắc và tính đồng nhất;
- độ đông đặc;
- độ ẩm;
- độ pH;
- khả năng đệm;
- nhiễm bẩn vi khuẩn.

Các thành phần riêng rẽ và mọi thành phần bổ sung chọn lọc hoặc thành phần dinh dưỡng phải được thực hiện các qui trình đánh giá chất lượng thích hợp.

#### **4.1.2 Chất lượng của các thành phần môi trường cơ bản**

Môi trường nuôi cấy được mô tả trong các tiêu chuẩn đã được đánh giá thoả mãn, tuy nhiên vì tính biến động chất lượng của chúng mà có thể chấp nhận cho nhà sản xuất môi trường thay đổi nồng độ của một số thành phần sinh học cơ bản, như:

- các loại pepton và chất chiết thịt hoặc chất chiết nấm men có khác nhau về đặc tính dinh dưỡng của chúng;

- thạch khác nhau về cường độ đông đặc;
- chất đệm;
- các muối mật, chất chiết mật và desoxycholat, thuốc nhuộm kháng khuẩn, tùy thuộc vào đặc tính chọn lọc của chúng;
- kháng sinh phụ thuộc vào hoạt tính của chúng.

## 4.2 Chuẩn mực chất lượng vi sinh

### 4.2.1 Yêu cầu chung

Các phép thử hiệu năng vi sinh phải được thực hiện trên mẫu đại diện của mẻ sản phẩm cuối cùng.

### 4.2.2 Nhiễm bẩn vi khuẩn

Phải kiểm tra một lượng sản phẩm thích hợp tùy thuộc vào cỡ của mẻ môi trường, về sự nhiễm bẩn vi sinh bằng cách ủ trong các điều kiện thích hợp. Các giới hạn đích về phần trăm các đĩa nhiễm bẩn hoặc hộp đựng môi trường lỏng cần được xây dựng cho từng môi trường hoặc được nhà sản xuất qui định. Nhà sản xuất cần đưa ra các yêu cầu dựa trên các thành phần môi trường, các giới hạn xử lý và kiểu loại bao gói.

**CHÚ THÍCH 1** Các mẫu thử nghiệm cần ít nhất 1 đĩa hoặc 1 ống, hoặc 1 % số lượng đĩa hoặc ống từ giai đoạn đầu tiên và 1 đĩa hoặc 1 ống hoặc 1 % số lượng đĩa hoặc ống từ giai đoạn kết thúc rút hoặc phân phối môi trường. Các đĩa hoặc ống cần được ủ ít nhất 18 h ở 37 °C hoặc dưới các điều kiện ủ được sử dụng hàng ngày đối với môi trường này theo tiêu chuẩn cụ thể.

**CHÚ THÍCH 2** Các phương án lấy mẫu thống kê, xem TCVN 7790-1 (ISO 2859-1).

### 4.2.3 Phát triển

#### 4.2.3.1 Yêu cầu chung

Để đánh giá mỗi mẻ môi trường nuôi cấy hoàn chỉnh, các thành phần dinh dưỡng hoặc thành phần bổ sung, việc phát triển phải được đánh giá phù hợp bởi:

- a) định lượng, hoặc
- b) bán định lượng, hoặc
- c) các phương pháp định tính.

Các đánh giá, định lượng, bán định lượng hoặc định tính cần được thực hiện bằng các phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này hoặc bằng kỹ thuật khác được chấp nhận. Để diễn giải các kết quả của

## TCVN 8128-2 : 2009

phép thử nghiệm, cần so sánh lượng phát triển trên môi trường thử nghiệm với lượng trên môi trường kiểm chứng. Việc sử dụng môi trường kiểm chứng là bắt buộc đối với các phép thử định lượng (xem tiêu chuẩn cụ thể hoặc Phụ lục B).

Đối với các phép thử bán định lượng hoặc định tính, thì việc sử dụng môi trường kiểm chứng (xem tiêu chuẩn cụ thể hoặc Phụ lục B) hoặc môi trường nuôi cấy cho phản ứng "dương tính" giúp cho việc diễn giải kết quả. Môi trường đối chứng này phải có chất lượng tốt đã biết, được chọn từ mẻ mới được sản xuất, hoặc, nếu so sánh tính ổn định lâu dài, mẻ mới được sản xuất, mẻ của nhà cung cấp khác hoặc môi trường sẵn để sử dụng v.v...

Ngoài ra, sự phát triển của các chủng đích phải điển hình về bề ngoài, kích thước và hình thái học của các khuẩn lạc và sự phát triển của các chủng không phải là đích phải bị ức chế toàn phần hoặc một phần.

### 4.2.3.2 Năng suất

Cấy chất cấy thích hợp (5.2.1.1) của dịch cấy làm việc của các vi sinh vật thử nghiệm xác định vào môi trường nuôi cấy lỏng, bán đặc hoặc đặc, sử dụng dụng cụ thích hợp.

Năng suất phải đạt được giới hạn tối thiểu xác định (xem tiêu chuẩn cụ thể hoặc Phụ lục B).

Đối với các phương pháp định lượng, hệ số năng suất  $P_R$  được xác định như sau:

$$P_R = \frac{N_s}{N_0} \quad (1)$$

trong đó

$N_s$  là số đếm khuẩn lạc tổng số thu được trên môi trường nuôi cấy của phép thử (thu được từ một hoặc nhiều đĩa);

$N_0$  là số đếm khuẩn lạc tổng số thu được trên môi trường nuôi cấy đối chứng thu được từ một hoặc nhiều đĩa và phải  $\geq 100$  cfu.

**CHÚ THÍCH** Hệ số năng suất của môi trường không chọn lọc ít nhất là 0,7 đối với vi sinh vật có thể phát triển dễ dàng trên môi trường đó.  $P_R$  của các vi sinh vật đích trên môi trường chọn lọc phải ít nhất bằng 0,1. Các giá trị này thông thường có thể đạt được, tuy nhiên các chuẩn mực ít khắt khe hơn có thể được chấp nhận đối với các hỗn hợp cụ thể của môi trường và các vi sinh vật thử nghiệm (xem tiêu chuẩn cụ thể hoặc Phụ lục B).

Đối với các phương pháp bán định lượng, ghi lại kết quả trên các vùng liên tiếp của đĩa bằng kỹ thuật đo đặc điểm sinh thái để thu được chỉ số phát triển  $G_n$ , chỉ số này thay đổi theo môi trường nuôi cấy. Do đó, cần so sánh chúng với các chỉ số trước đó và/hoặc  $G_c$  của môi trường kiểm chứng để chắc chắn

rằng các dao động là không bị vượt quá. Dải dao động dự kiến đối với mỗi môi trường nuôi cấy có thể được thiết lập khi đã có đủ kinh nghiệm về phương pháp.

Các đánh giá định tính phải được thực hiện bằng mắt bằng cách chia phân các tỷ lệ sinh trưởng.

#### 4.2.3.3 Tính chọn lọc

Để đánh giá tính chọn lọc, cấy dịch cấy thích hợp (5.2.1.2) của các vi sinh vật thử nghiệm xác định vào cấy môi trường nuôi cấy chọn lọc và môi trường kiểm chứng, dùng dụng cụ thích hợp. Tính chọn lọc phải đạt được các giá trị xác định (xem tiêu chuẩn cụ thể hoặc Phụ lục B).

Hệ số chọn lọc  $S_F$  (2) được tính như sau:

$$S_F = D_0 - D_s \quad (2)$$

trong đó

$D_0$  là độ pha loãng cao nhất cho thấy phát triển ít nhất là 10 khuẩn lạc trên môi trường kiểm chứng;

$N_0$  là độ pha loãng cao nhất cho thấy phát triển tương tự trên môi trường thử nghiệm;

$S_F$ ,  $D_0$  và  $D_s$  được biểu thị bằng đơn vị  $\log_{10}$

**CHÚ THÍCH**  $S_F$  của các vi sinh vật không phải đích trên một môi trường chọn lọc ít nhất bằng 2. Các giá trị này thông thường có thể đạt được. Tuy nhiên các chuẩn mực ít khắt khe hơn có thể được chấp nhận đối với các hỗn hợp cụ thể của môi trường và các vi sinh vật thử nghiệm (xem tiêu chuẩn cụ thể hoặc Phụ lục B).

Đối với các phương pháp định lượng và bán định lượng, sự phát triển của các chủng không phải là đích phải bị ức chế toàn phần hoặc một phần.

#### 4.2.4 Đặc trưng vật lý và sinh hóa (tính chọn lọc và tính đặc thù)

Các đặc điểm hình thái và chẩn đoán của khuẩn lạc cùng với mức độ tính chọn lọc cần được thiết lập để thu được bức tranh toàn diện về hiệu năng của môi trường.

Các đặc trưng cơ bản của tính đặc thù phải được xác định và phải đạt được. Đối với các môi trường phân biệt thì chất lượng đặc trưng vật lý/sinh hóa của các vi sinh vật đích và mức độ ức chế của các sinh vật không phải là đích cần được xác định bằng các bộ chủng thử nghiệm thích hợp.

#### 4.2.5 Đặc trưng thử nghiệm kháng khuẩn

Tác dụng kháng khuẩn của các kháng sinh phụ thuộc vào các đặc trưng khuếch tán của chúng trong thạch và mọi ảnh hưởng đối kháng của các thành phần có mặt. Môi trường phải được kiểm tra về sự có mặt của các chất kháng khuẩn trong các mẫu thực phẩm theo các phương pháp chuẩn.



### 4.3 Đánh giá hiệu năng và diễn giải kết quả

Mề môi trường nuôi cấy cho thấy thoả mãn yêu cầu nếu tất cả các vi sinh vật thử nghiệm được sử dụng thể hiện các yêu cầu đã nêu. Mề môi trường được chấp nhận nếu đáp ứng được cả hai chuẩn mực chung và chất lượng vi sinh vật.

## 5 Phương pháp sử dụng trong thử nghiệm hiệu năng môi trường nuôi cấy

### 5.1 Yêu cầu chung

Các ví dụ về các phép thử định tính, bán định lượng và định lượng đối với các môi trường nuôi cấy đặc và môi trường lỏng đã được mô tả. Trong phần lớn các trường hợp, các kỹ thuật định tính và bán định lượng trong phòng thử nghiệm sử dụng sẽ đáp ứng các yêu cầu thử nghiệm hiệu năng của mề môi trường nuôi cấy.

Đối với các trường hợp đặc biệt, ví dụ: đánh giá môi trường mới hoặc nhà sản xuất mới .v.v..., thì các phương pháp thử định lượng phải được phòng thử nghiệm sử dụng thực hiện.

Sự hiểu biết về các kỹ thuật vi sinh là giả định và do đó, các phương pháp không đưa ra được mọi chi tiết.

Các vi sinh vật thử nghiệm thích hợp được liệt kê trong Phụ lục B [xem TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1:2009)].

**CHÚ THÍCH** Chú ý về sau rằng các tiêu chuẩn riêng lẻ được soát xét và tiêu chuẩn mới về phát hiện hoặc định lượng các vi sinh vật cụ thể hoặc các nhóm vi sinh vật sẽ mô tả các vi sinh vật có liên quan cần sử dụng, cùng với các nguyên tắc chấp nhận đối với mỗi loại môi trường nuôi cấy trong tiêu chuẩn.

Trong môi trường lỏng, các tương tác dẫn đến phát triển thành công các vi sinh vật là phức tạp hơn, do đó việc xác định các phương pháp thử hiệu năng ít chính xác hơn so với môi trường đặc.

Để phân lập thành công các vi sinh vật đích trong phương pháp nhiều giai đoạn, ví dụ: phát hiện *Salmonella*, tại mỗi giai đoạn phát triển xảy ra vài tương tác phức tạp. Do đó, phép thử kiểm chứng sử dụng các mẫu thích hợp, dịch cấy và chất chuẩn cần được thiết lập, sao cho thể hiện được năng suất hoặc độ nhạy tương ứng của toàn bộ phương pháp. Điều này bổ sung cho việc chứng tỏ rằng mỗi môi trường thành phần phù hợp với mục đích sử dụng.

### 5.2 Vi sinh vật thử nghiệm

Các chủng đối chứng thích hợp của vi sinh vật đích (năng suất) và không phải đích (tính chọn lọc) đối với từng môi trường nuôi cấy được nêu trong Phụ lục B. Các vi sinh vật thử nghiệm cần đáp ứng các yêu cầu trong 5.2.2 của TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1:2009), ví dụ: phát triển khoẻ, phát triển yếu, các chủng bị tổn thương hoặc bất hoạt sinh hóa.

Hướng dẫn về bảo quản và duy trì các chủng kiểm chứng được nêu trong Phụ lục B của TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1 : 2009).

### **5.2.1 Chuẩn bị dịch cấy làm việc**

Các dịch cấy làm việc phải được chuẩn bị như dịch cấy pha tinh thuần khiết trong canh thang không chọn lọc từ dịch cấy gốc đối chứng.

Có thể sử dụng các kỹ thuật khác nhau, nhưng phải đảm bảo độ thuần khiết của chất cấy, cũng như việc chuẩn hoá chúng để chúng có thể được sử dụng cho giai đoạn tiếp theo.

CHÚ THÍCH Chất cấy đông khô có thể được sử dụng nếu cho thấy vi sinh vật còn sống trong khoảng thời gian được chọn.

#### **5.2.1.1 Chất cấy làm việc để thử nghiệm năng suất**

Đối với các phép thử định lượng môi trường đổ đĩa về các vi sinh vật yêu cầu, thì sử dụng chất cấy chứa khoảng  $10^2$  cfu.

Đối với các phép thử bán định lượng hoặc định lượng môi trường đổ đĩa về các vi sinh vật yêu cầu, thì sử dụng chất cấy chứa khoảng  $10^3$  cfu đến  $10^4$  cfu.

Đối với các phép thử năng suất môi trường lỏng, thì sử dụng chất cấy chứa khoảng 10 cfu đến 100 cfu.

#### **5.2.1.2 Dịch cấy làm việc để thử nghiệm tính chọn lọc**

Đối với phép thử tính chọn lọc của môi trường nuôi cấy, thì cấy huyền phù của vi sinh vật không phải đích chứa  $10^4$  cfu đến  $10^6$  cfu lên đĩa hoặc vào ống môi trường.

#### **5.2.1.3 Điều kiện ủ**

Ủ các môi trường đã cấy theo các điều kiện mô tả trong tiêu chuẩn tương ứng và trong các bảng thích hợp của Phụ lục B.

### **5.3 Phương pháp đối với môi trường nuôi cấy đặc**

#### **5.3.1 Phương pháp đổ đĩa định lượng**

##### **5.3.1.1 Yêu cầu chung**

Đây là phương pháp chung thích hợp cho nhiều môi trường nuôi cấy đặc. Phương pháp này có thể không thích hợp để thử nghiệm một số loại nấm mốc.

##### **5.3.1.2 Cách tiến hành**

- Sử dụng các dịch cấy làm việc trong 5.2.1.

## TCVN 8128-2 : 2009

– Chọn một số lượng đĩa thích hợp đại diện cho từng mẻ cần thử nghiệm và đảm bảo bề mặt của mỗi đĩa đủ khô. Các đĩa đựng môi trường kiểm chứng cần được chuẩn bị theo cách tương tự [xem 4.4.4 của TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1 : 2009)]

– Dàn đều trên bề mặt các đĩa thử và đĩa kiểm chứng một chất cấy của dịch cấy làm việc đã pha loãng để cho các số đếm nằm trong các giới hạn khuyến cáo trong 5.2.1.

CHÚ THÍCH 1 Có thể sử dụng phương pháp nhỏ giọt bề mặt Miles-Misra cải biến và các hệ thống nhỏ giọt khác hoặc đĩa xoắn ốc.

CHÚ THÍCH 2 Cũng có thể sử dụng phương pháp rót đĩa cho môi trường nuôi cấy thường được sử dụng để định lượng theo cách này.

– Ủ các đĩa trong các điều kiện thích hợp được nêu trong các tiêu chuẩn riêng.

– Đếm các khuẩn lạc có mặt trên từng đĩa hoặc từ từng giọt thích hợp. Đánh giá kích thước và hình thái của các khuẩn lạc.

### 5.3.1.3 Tính toán

Dựa vào thể tích dàn trên các đĩa và hệ số pha loãng, có thể tính được số đếm trung bình trên môi trường. Đối với các trường hợp dùng phương pháp nhỏ giọt thì số giọt và thể tích của chúng phải được xem xét.

### 5.3.1.4 Diễn giải các kết quả

Để diễn giải các kết quả, thì hệ số năng suất  $P_R$  (4.2.3.2) và khi thích hợp thì hệ số chọn lọc  $S_F$  (4.2.3.3) cần được tính.

## 5.3.2 Phương pháp cấy vạch bán định lượng dựa trên đo đặc điểm sinh thái

### 5.3.2.1 Yêu cầu chung

Phương pháp cấy vạch là thích hợp cho phép thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy lỏng và đặc nhưng phương pháp này chỉ là bán định lượng. Do đó các chỉ số phát triển chỉ cho thấy và chỉ liên quan đến các phép thử bổ sung đối với môi trường nuôi cấy đặc.

Khi sử dụng phương pháp này thì môi trường nuôi cấy được thử nghiệm phải được làm khô và toàn bộ qui trình cần được chuẩn hoá sao cho các kết quả thu được của các mẻ khác nhau có thể so sánh được.

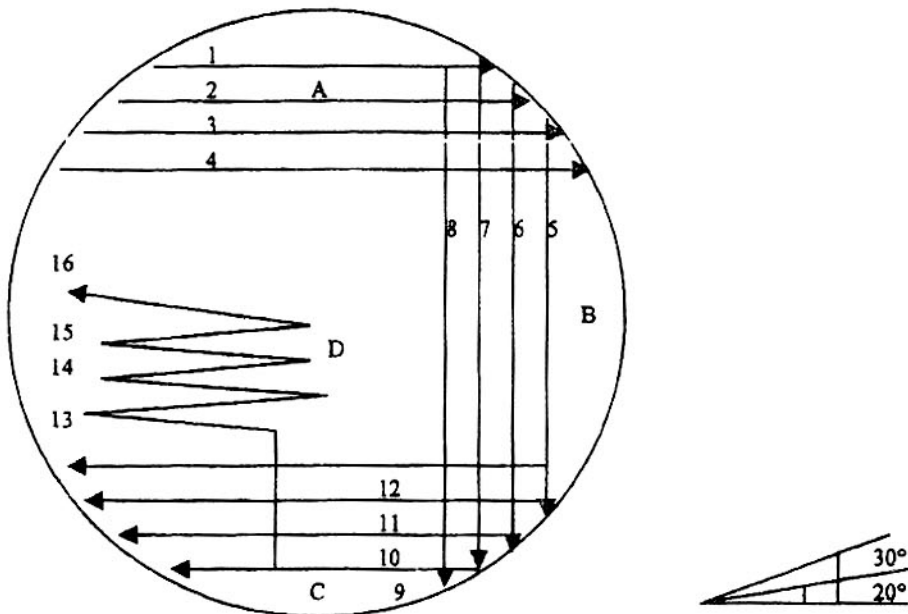
### 5.3.2.2 Cách tiến hành

– Các đĩa thạch được chuẩn bị theo cách thông thường với khoảng 15 ml thạch. Các môi trường sử dụng cho kỹ thuật rót đĩa, ví dụ Thạch Đếm Đĩa (PCA) có thể được thử nghiệm bằng phủ bề mặt lên môi trường đông đặc.

- Sử dụng các dịch cây làm việc như trong 5.2.1.
- Các đĩa đã được cấy vạch như trong Hình 1 sử dụng que cấy vòng 1 μl. Bốn đường song song được vạch bằng que cấy vòng cách nhau khoảng 0,5 cm trên toàn bộ vùng A. Cấy vạch lặp lại cho vùng B và vùng C và kết thúc tại vùng D với một đường đơn. Khuôn mẫu có thể được sử dụng dưới đĩa để thuận tiện cho cấy vạch được chính xác.
- Thời gian ủ và nhiệt độ ủ được nêu trong các phương pháp chuẩn được sử dụng.

**CHÚ THÍCH** Chỉ sử dụng que cấy vòng, không dùng que cấy thẳng để nhúng vào dịch cấy. Vòng cấy phải được làm đầy dịch cấy. Lượng chất lỏng dư thừa được loại bằng cách ấn phần rộng của vòng ba lần vào mép hộp chứa. Khi cấy vạch vào các đĩa thì góc tạo thành giữa vòng cấy và bề mặt thạch phải từ  $20^{\circ}$  đến  $30^{\circ}$ . Tạo sức ép của vòng cấy vào bề mặt thạch và cấy vạch nhanh ổn định trên khắp bề mặt thạch. Những vòng que cấy vào dịch cấy mà không làm sủi bọt và/hoặc bọt khí trên bề mặt của canh thang.

Thông thường sử dụng cùng một vòng que cấy để cấy cho tất cả các phần A đến D mà không cần phải hơ trên ngọn lửa sau mỗi phần cấy vạch. Trong một số trường hợp, khi chỉ số phát triển  $G_1$  thấp hơn được dự đoán cho thấy có sự chênh lệch rõ, thì có thể thay hoặc khử trùng que cấy giữa các lần cấy vạch trên phần A và B.



Hình 1 – Mẫu cấy được bằng phương pháp cấy vạch cải biến và góc tạo ra của vòng que cấy

### 5.3.2.3 Tính toán

Sau khi ủ, đánh giá về bề ngoài và kích thước khuẩn lạc và cường độ phát triển rồi tính chỉ số phát triển  $G_i$ . Mỗi đường vạch cấy cho thấy sự phát triển được ghi điểm 1. Điểm tối đa trên một đĩa bằng 16. Nếu sự phát triển chỉ dọc theo một nửa chiều dài vạch thì ghi là 0,5. Vạch không có khuẩn lạc phát triển hoặc phát triển rất ít (ít hơn một nửa chiều dài của vạch cấy) thì ghi bằng 0. Tổng cộng các điểm thu được chỉ số phát triển  $G_i$ . Ví dụ: nếu sự phát triển thu được trong phần A và B trong một nửa của phần C thì  $G_i$  cần phải bằng 10.

### 5.3.2.4 Diễn giải kết quả

Chỉ số phát triển  $G_i$  của chủng đích ít nhất phải bằng 6 để kết luận được rằng môi trường này có thể chấp nhận được. Trường hợp của môi trường không chọn lọc thì  $G_i$  thường cao hơn.

Ngoài ra, sự phát triển của chủng đích phải điển hình và sự phát triển của chủng không phải đích phải bị ức chế toàn phần hoặc một phần.

## 5.3.3 Phương pháp cấy vạch định tính

### 5.3.3.1 Yêu cầu chung

Phương pháp này thích hợp để thử nghiệm hiệu năng bổ sung đối với môi trường nuôi cấy đặc.

Phương pháp này chỉ là định tính và do đó các điểm ghi được chỉ là biểu thị.

### 5.3.3.2 Cách tiến hành

- Các đĩa thạch được chuẩn bị theo cách thông thường với khoảng 15 ml thạch. Môi trường thường được sử dụng cho kỹ thuật rót đĩa, ví dụ Thạch Đếm Đĩa (PCA), cũng có thể được thử nghiệm bằng phủ bề mặt lên môi trường đã đông đặc.
- Sử dụng các dịch cấy làm việc như trong 5.2.1.
- Các vi sinh vật thử nghiệm được cấy vạch với các đường thẳng song song bằng que cấy vòng 1  $\mu$ l lên bề mặt của môi trường thử nghiệm. Một số vi sinh vật thử nghiệm có thể được cấy vạch trên cùng một đĩa mà không giao nhau.

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng các kỹ thuật cấy vạch đã chuẩn hoá khác.

- Thời gian ủ và nhiệt độ ủ được nêu trong các phương pháp chuẩn được sử dụng.

### 5.3.3.3 Diễn giải các kết quả

Đánh giá sự phát triển trên các đĩa thạch sau khi ủ như sau:

- 0 tương ứng với không phát triển;
- 1 tương ứng với phát triển yếu;
- 2 tương ứng với phát triển tốt;

Các vi sinh vật đích phải bằng 2 và có vẻ bề ngoài, kích thước và hình thái của khuẩn lạc điển hình. Sự phát triển của chúng không phải đích phải bị ức chế toàn phần hoặc một phần (0 hoặc 1).

#### **5.4 Phương pháp đối với môi trường nuôi cấy lỏng**

##### **5.4.1 Yêu cầu chung**

Để xác định năng suất của môi trường lỏng thì phải sử dụng một chất cấy thích hợp. Các phương pháp định tính, bán định lượng và định lượng được mô tả dưới đây sẽ đánh giá năng suất và tính chọn lọc. Các phương pháp này phải ghi lại lượng vi sinh vật phát triển sau thời gian ủ thích hợp bằng đổ đĩa hoặc cấy vạch từ môi trường lỏng sang môi trường thạch và định lượng đơn vị hình thành khuẩn lạc (cfu) hoặc tinh đếm từ môi trường lỏng. Đối với các phương pháp định tính trong môi trường lỏng thì cần đánh giá bằng mắt các phản ứng đặc trưng.

##### **5.4.2 Phương pháp pha loãng định lượng đối với các vi sinh vật đích và các vi sinh vật không phải đích**

Phương pháp này thích hợp để đánh giá môi trường nuôi cấy mới hoặc các dịch pha loãng.

###### **5.4.2.1 Cách tiến hành**

- Chọn một lượng ống thích hợp hoặc các phần 10 ml của mỗi mẻ môi trường lỏng cần thử nghiệm.
- Cấy các vi sinh vật đích: Cấy một lượng nhỏ canh thang thử nghiệm và canh thang kiểm chứng đối với từng vi sinh vật thử nghiệm (ví dụ: 10 cfu đến 100 cfu vào mỗi ống; để chuẩn bị chất cấy, xem 5.2.1) và trộn đều.
- Cấy các vi sinh vật không phải đích: Cấy một số lượng lớn hơn vào canh thang thử nghiệm và canh thang kiểm chứng đối với từng sinh vật thử nghiệm (> 1000 cfu vào mỗi ống; để chuẩn bị chất cấy, xem 5.2.1) và trộn đều.
- Cấy hỗn hợp của các vi sinh vật đích và các vi sinh vật không phải đích: Để thử nghiệm dịch cấy hỗn hợp trong môi trường chọn lọc, cấy một lượng nhỏ các vi sinh vật đích vào canh thang thử nghiệm và canh thang kiểm chứng (ví dụ: 10 cfu đến 100 cfu vào mỗi ống; để chuẩn bị chất cấy, xem 5.2.1) và cấy vào cùng ống nghiệm này một lượng lớn hơn các vi sinh vật không phải đích (> 1000 cfu vào mỗi ống; để chuẩn bị chất cấy, xem 5.2.1) và trộn đều.

## TCVN 8128-2 : 2009

– Cấy các vi sinh vật đích và các vi sinh vật không phải đích vào các dịch pha loãng và môi trường vận chuyển: Cấy các vi sinh vật thử nghiệm vào dịch pha loãng (ví dụ: 100 cfu đến 1000 cfu vào mỗi ống; để chuẩn bị chất cấy, xem 5.2.1) và trộn đều.

– Thời gian ủ và nhiệt độ ủ được nêu trong các phương pháp chuẩn được sử dụng.

Cần ủ các dịch pha loãng 45 min ở nhiệt độ phòng rồi đổ ra đĩa. Môi trường vận chuyển cần được ủ ở nhiệt độ thích hợp và trong khoảng thời gian theo sử dụng thông thường rồi đổ đĩa.

– Lấy ra một lượng chất lỏng hoặc pha loãng từ mỗi canh thang sau khi ủ và dàn vào đĩa thạch không ức chế như trong 5.3.1, nếu cần.

CHÚ THÍCH 1 Có thể sử dụng phương pháp nhỏ bẻ mặt Miles-Misra cải biến và các hệ thống nhỏ giọt khác hoặc đĩa xoắn ốc.

CHÚ THÍCH 2 Để thử nghiệm các dịch cấy đã trộn, thì nên dàn càng đều càng tốt trên các đĩa thạch không chọn lọc để phân biệt các vi sinh vật trong dịch cấy đã trộn (ví dụ: Thạch Đếm Đĩa có MUG để đếm *Escherichia coli* và *Salmonella* spp.). Khi không thể phân biệt được các dịch cấy đã trộn trên môi trường thạch không chọn lọc, thì cần sử dụng môi trường thạch chọn lọc với điều kiện là hiệu năng của môi trường này đã được kiểm tra.

### 5.4.2.2 Đọc, tính và diễn giải kết quả

Sau khi ủ, đếm các khuẩn lạc của vi sinh vật đích và vi sinh vật không phải đích, trong trường hợp dịch cấy đã trộn thì phân biệt các loại khác nhau. Tính và diễn giải kết quả theo mục đích của việc kiểm tra:

a) diễn giải so sánh giữa canh thang kiểm chứng và canh thang thử nghiệm sử dụng các giá trị  $P_R$  và  $S_F$  trong 4.2.3.2 và 4.2.3.3.

– đối với các vi sinh vật đích  $P_R$  không được nhỏ hơn 0,1 (sự khác nhau trong việc phát triển không được vượt quá một mức khuếch đại);

– đối với các vi sinh vật không phải đích  $S_F$  phải ít nhất bằng 2;

– đối với hỗn hợp các chủng cấy từ các vi sinh vật đích không bị ức chế bởi các vi sinh vật không phải đích, nghĩa là các vi sinh vật đích luôn luôn trội hơn;

b) đối với các trường hợp khác, việc đạt được các số đếm tối thiểu cố định các vi sinh vật đích và số đếm tối đa các vi sinh vật không phải đích là thích hợp hơn:

– các vi sinh vật đích phải đạt được  $10^6$  cfu/ml đến  $10^8$  cfu/ml;

– các vi sinh vật không phải đích không được vượt quá  $10^4$  cfu/ml trong canh thang chọn lọc;

c) đối với các dịch pha loãng và môi trường vận chuyển yêu cầu số lượng vi sinh vật đích và/hoặc vi sinh vật không phải đích không giảm đi và cũng không cao hơn. Số lượng vi sinh vật sau khi ủ trong các môi trường này phải trong khoảng  $\pm 50$  % số đếm ban đầu.

**CHU THÍCH** Chất lượng của môi trường lỏng với hy vọng có các đặc tính phát triển tối ưu cho thấy thích hợp nhất trong phần đầu của pha sinh trưởng. Quan sát độ dài của pha lag và sự phát triển trong phần đầu của pha log cho thấy hầu hết thông tin về độ nhạy của năng suất và tính chọn lọc của vi sinh vật đích và vi sinh vật không phải đích trong canh thang thử nghiệm và canh thang kiểm chứng.

### 5.4.3 Phương pháp ống đơn bán định lượng dùng cho vi sinh vật đích, không phải đích và hỗn hợp

#### 5.4.3.1 Cách tiến hành

- Chọn một số các ống hoặc các phần 10 ml của mỗi mẻ thử nghiệm (xem 4.2.2).
- Cấy các vi sinh vật đích và không phải đích làm dịch cấy hỗn hợp: Cấy vào một ống canh thang thử nghiệm khoảng 10 cfu đến 100 cfu các vi sinh vật đích và cấy vào trong cùng một ống đó một lượng vi sinh vật không phải đích cao hơn (> 1000 cfu) và trộn đều.
- Cấy các vi sinh vật không phải đích: Cấy vào một ống nghiệm canh thang thử nghiệm một lượng vi sinh vật có số đếm cao (> 1000 cfu) và trộn đều.
- Thời gian ủ và nhiệt độ ủ được nêu trong các phương pháp chuẩn được sử dụng.
- Lấy 10  $\mu$ l từ dịch cấy hỗn hợp và cấy vạch lên đĩa đựng môi trường chọn lọc cụ thể đối với vi sinh vật đích.
- Lấy một que cấy vòng (10  $\mu$ l) từ dịch cấy vi sinh vật không phải đích và cấy vạch lên đĩa đựng môi trường không chọn lọc (ví dụ: TSA).
- Ủ cả hai đĩa theo các điều kiện về thời gian và nhiệt độ thích hợp như trong các tiêu chuẩn riêng lẻ.

#### 5.4.3.2 Tính và diễn giải các kết quả

Năng suất của canh thang thử nghiệm lỏng được thoả mãn nếu không có khuẩn lạc nào hoặc ít hơn 10 khuẩn lạc của các vi sinh vật đích có phát triển trên đĩa thạch chọn lọc.

Tính chọn lọc của canh thang thử nghiệm lỏng được thoả mãn nếu không có khuẩn lạc nào của các vi sinh vật không phải đích xuất hiện trên đĩa thạch không chọn lọc.

### 5.4.4 Phương pháp ống đơn định tính

#### 5.4.4.1 Yêu cầu chung

Phương pháp này thích hợp để thử nghiệm hiệu năng của môi trường nuôi cấy lỏng. Phương pháp này chỉ là định tính và do đó các điểm ghi được chỉ để biểu thị. Môi trường đục, ví dụ: canh thang tetrathionat, không được thử nghiệm bằng phương pháp này.



## **TCVN 8128-2 : 2009**

### **5.4.4.2 Cách tiến hành**

- để thử nghiệm hiệu năng môi trường nuôi cấy lỏng thì dùng vòng cấy 1  $\mu$ l cấy các dịch cấy làm việc trực tiếp vào môi trường này.
- thời gian ủ và nhiệt độ ủ được nêu trong các phương pháp chuẩn được sử dụng.

### **5.4.4.3 Diễn giải các kết quả**

Việc đánh giá định tính phải được thực hiện bằng trực quan dùng các điểm ghi sự phát triển, ví dụ: 0 đến 2:

- 0 tương ứng với không đục;
- 1 tương ứng với hơi đục;
- 2 tương ứng với khá đục;

Các vi sinh vật đích phải bằng 2.

CHÚ THÍCH 1 Đôi khi sự phát triển của các vi sinh vật chỉ có thể quan sát được khi sự tập trung tế bào/lãng đọng trên đáy ống hoặc chai. Trong trường hợp này, khi lắc cẩn thận sẽ giúp cho việc đánh giá và diễn giải kết quả tốt hơn.

CHÚ THÍCH 2 Các đặc trưng khác như sinh khí, đổi màu... cũng có thể được đánh giá bằng phương pháp này.

## **6 Hệ thống tài liệu về các kết quả thử nghiệm**

### **6.1 Thông tin từ nhà sản xuất**

Nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp môi trường nuôi cấy phải cung cấp, khi có yêu cầu, về các đặc trưng phát triển vi sinh vật cụ thể và các thông tin chung liên quan đến môi trường nuôi cấy cụ thể, xem 4.1.1 của TCVN 8128-1 : 2009 (ISO/TS 11133-1 : 2009).

### **6.2 Truy nguyên nguồn gốc**

Tất cả các số liệu từ thử nghiệm hiệu năng thông thường cần được lập văn bản theo cách thích hợp và được giữ trong khoảng thời gian đủ theo hệ thống chất lượng được sử dụng. Khuyến cáo sử dụng các biểu mẫu kiểm soát tài liệu và đánh giá các kết quả thử nghiệm (xem Phụ lục A).

**Phụ lục A**  
(Tham khảo)

**Ví dụ về biểu mẫu ghi các kết quả thử nghiệm môi trường nuôi cấy  
do phòng thử nghiệm chuẩn bị**

**Bảng A.1 – Ví dụ về biểu mẫu**

<b>Biểu mẫu kiểm soát đối với thử nghiệm chất lượng nội bộ về môi trường nuôi cấy</b>					
Môi trường nuôi cấy:			Thể tích được chuẩn bị:	Ngày rót:	Số mẻ nội bộ:
Môi trường khô (và mã số):	Người cung cấp:		Mẻ	Lượng:	Ngày/ký tên:
Bổ sung:	Người cung cấp:		Mẻ	Lượng:	Ngày/ký tên:
Chi tiết quá trình					
<b>Kiểm soát chất lượng về chi tiêu vật lý</b>					
Giá trị pH được chấp nhận:	pH đo được:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Kiểm khuyết:	Ngày/ký tên:	
Lượng rót và/hoặc bề dày dự kiến	Quan sát được:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Kiểm khuyết:	Ngày/ký tên:	
Màu sắc dự kiến:	Quan sát được:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Kiểm khuyết:	Ngày/ký tên:	
Độ trong/có mặt giả quang dự kiến:	Quan sát được:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Kiểm khuyết:	Ngày/ký tên:	
Độ ổn định gel/ ổn định/đổ ẩm dự kiến:	Quan sát được:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Kiểm khuyết:	Ngày/ký tên:	
<b>Nhiễm bẩn vi khuẩn</b>					
Số lượng đĩa hoặc ống được thử nghiệm: Ủ:	Kết quả:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Số lượng đĩa/ống bị nhiễm bẩn:	Ngày/ký tên:	
<b>Phát triển vi sinh vật – Năng suất</b>		Phương pháp kiểm soát: Định lượng <input type="checkbox"/>		Định tính <input type="checkbox"/>	
Chủng: Ủ: Môi trường kiểm chứng:	Chuẩn mực:	Kết quả:	Chất lượng được xác nhận:	Ngày/ký tên:	
<b>Phát triển vi sinh vật – Tính chọn lọc</b>		Phương pháp kiểm soát: Định lượng <input type="checkbox"/>		Định tính <input type="checkbox"/>	
Chủng: Ủ: Môi trường kiểm chứng:	Chuẩn mực:	Kết quả:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Ngày/ký tên:	
<b>Phát triển vi sinh vật – Tính chọn lọc</b>		Phương pháp kiểm soát: Định lượng <input type="checkbox"/>		Định tính <input type="checkbox"/>	
Chủng: Ủ: Môi trường kiểm chứng:	Chuẩn mực:	Kết quả:	Chất lượng được xác nhận: Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>	Ngày/ký tên:	
<b>Biên lai của mẻ hàng</b>					
Chi tiết bảo quản		Biên lai của mẻ hàng Có <input type="checkbox"/> Không <input type="checkbox"/>		Ngày/ký tên:	

## Phụ lục B

(Quy định)

Các vi sinh vật thử nghiệm khuyến cáo dùng cho môi trường nuôi cấy thông dụng (đưa ra thông tin về môi trường nuôi cấy, các điều kiện cấy, vi sinh vật thử nghiệm, số lượng các bộ sưu tập chủng cấy của các sinh vật thử nghiệm và các phản ứng dự kiến)

Bảng B.1 đến B.6 đã được thiết lập có tính đến các chủng kiểm chứng được sử dụng trong Dược điển Châu Âu (European Pharmacopoeia) và được Dược điển Châu Âu khuyến cáo về môi trường nuôi cấy cho vi sinh vật trong thực phẩm (Nhóm công tác của ICFMH). Các chuẩn cứ này sẽ được đưa vào các tiêu chuẩn cụ thể khi được chuẩn bị và soát xét trong tương lai (tiêu chuẩn mới hoặc soát xét tiêu chuẩn). Mề môi trường được đánh giá hiệu lực là mề môi trường cho thấy hiệu năng phù hợp. Cho phép sử dụng các chủng giống nhau từ các bộ sưu tập kiểm chứng khác (ví dụ: NCTC, CIP ...). Tất cả các môi trường trích dẫn nằm trong các tiêu chuẩn ISO và EN.

**Bảng B.1 – Môi trường chọn lọc để định lượng các vi sinh vật**

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
Baird - Parker	S <sup>a</sup>	Staphylococci dương tính coagulaza	TCVN 4830-1 (ISO 6888-1)	Năng suất	24-48 h/37 °C	S. aureus ATCC 6538 S. aureus ATCC 25923 <sup>b</sup>	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc đen/xám có quang trong (phản ứng làm trong lòng đỏ trứng)
				Tính chọn lọc	48 h/37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ức chế toàn phần	-
				Tính đặc thù	24-48 h/37 °C	S. epidermidis ATCC 12228 <sup>b</sup>	-	Định tính		Khuẩn lạc đen/xám không có phản ứng làm trong lòng đỏ trứng
RPFA	S	Staphylococci dương tính coagulaza	TCVN 4830-2 (ISO 6888-2)	Năng suất	24-48 h/37 °C	S. aureus ATCC 6538 or 6538 P S. aureus ATCC 25923 <sup>o</sup>	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc đen/xám có quang mờ đục
				Tính chọn lọc	48 h/37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ức chế toàn phần	-

Bảng B.1 - (tiếp theo)										
Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ủ	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
				Tính đặc thù	24-48 h/ 37 °C	S. epidermidis ATCC: 12228 <sup>b</sup>	-	Định tính	-	Khuẩn lạc đen/xám không có quang mờ đục
Chloramphenicol hoặc OGA (OGY)	S	Nấm men/Nấm mốc	TCVN 4993 (ISO 7954)	Năng suất	3-5 ngày/25 °C	C. albicans ATCC 10231 A. niger ATCC: 16404 <sup>b</sup> P. cyclopium ATCC 16025 S. cerevisiae ATCC 9763 <sup>b</sup>	Mề môi trường SDA (Thạch Dextroza Sabouraud) hoặc OGA hoặc Thạch chloramphenicol	Định lượng	PR > 0,5	Các khuẩn lạc đặc trưng cho từng loài
				Tính chọn lọc	3-5 ngày/25 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739" B. subtilis ATCC 6633	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
MRS	S	Vi khuẩn sinh axit lactic	TCVN 7906 (ISO 15214)	Năng suất	72 h/30 °C	L sake ATCC 15521 <sup>d</sup> Ped. damnosus ATCC 29358 Lc. lactis ATCC 19435 <sup>b</sup>	Mề môi trường MRS đã được đánh giá hiệu lực	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc đặc trưng theo từng loài
				Tính chọn lọc	72 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739"	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
						B. cereus ATCC 11778				
MYP	S	Bacillus cereus	TCVN 4992 (ISO 7932)	Năng suất	24-48 h/30 °C	B. cereus ATCC 11778"	TSA	Định lượng	PR > 0,7	Khuẩn lạc màu hồng có quang kết tủa
				Tính chọn lọc	48 h/37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
				Tính đặc thù	48 h/37 °C	B. subtilis ATCC 6633 <sup>b</sup>	-	-	-	Khuẩn lạc màu vàng không có quang kết tủa
Oxford	S	Listeria monocytogenes	TCVN 7700 (ISO 11290)	Năng suất	48 h/37 °C	L mono 1/2a ATCC 19111	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc màu xám đến đen có quang đen

Bảng B.1 – (tiếp theo)

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
						L mono 4b ATCC 13932 <sup>b</sup>				
				Tính chọn lọc	48 h/37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
						E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433				
						C.albicans ATCC 10231				
PALCAM	S	Listeria monocytogenes	TCVN 7700 (ISO 11290)	Năng suất	48 h/37 °C	L mono 1/2a ATCC 19111	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc màu xanh-xám đến đen có quang đen
						L. mono 4b ATCC 13932 <sup>b</sup>				
				Tính chọn lọc	72 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
						E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433				
TS(C)	S	Clostridium perfringens	TCVN 4991 (EN ISO 7937)	Năng suất	20 h / 37 °C môi trường kỵ khí.	Cl. perfringens ATCC 13124	Mề môi trường TS(C) đã được đánh giá hiệu lực	Định lượng	PR > 0,7	Khuẩn lạc màu đen
						Cl.perfringens ATCC 12916				
				Tính chọn lọc TSC	20 h / 37 °C môi trường kỵ khí.	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
				Tính đặc thù TS			-	Định tính		Khuẩn lạc màu trắng

Bảng B.1 – (tiếp theo)																
Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng						
VRBG	S	Enterobacteriaceae	ISO 7402 <sup>1</sup> ISO 8523	Năng suất	24 h / 37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc màu hồng đến đỏ có hoặc không có quang kết tủa						
						S. typhimurium ATCC 14028										
						Tính chọn lọc					24 h/37 °C	E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
VRBL	S	Coliforms	TCVN 6848 (ISO 4832)	Năng suất	24 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc hơi đỏ tía có hoặc không có quang kết tủa						
						Tính chọn lọc					24 h/30 °C	E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ước chế toàn phần	-
						Tính đặc thù					24 h/30 °C	Ps. aeruginosa ATCC 27853	-	Định tính		Các khuẩn lạc từ không màu đến màu be
CT-SMAC	S	Escherichia coli 0157	TCVN 7686 (ISO 16654)	Năng suất	24 h/37 °C	E. coli 0157:H7 ATCC 43894 hoặc 43895 <sup>b</sup> (không độc)	TSA	Định lượng	PR > 0,5	Khuẩn lạc trong suốt có màu nâu-vàng nhạt, đường kính khoảng 1 mm						

<sup>1</sup> TCVN 6847 (ISO 7402) cùng với TCVN 5518, TCVN 7136 (ISO 5552) đã được thay thế bằng TCVN 5518-1 (ISO 21528) và TCVN 5518-2 (ISO 21528)

**Bảng B.1 – (kết thúc)**

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
				Tính chọn lọc	24 h/37 °C	S. aureus ATCC 6538 hoặc 25923 <sup>b</sup>	-	Định tính	Ức chế toàn phần	-
				Tính đặc thù	24 h/ 37 °C	E.coli ATCC 11775 hoặc 25922	-	Định tính	-	Khuẩn lạc màu hồng
BGBLB	L <sup>c</sup>	Coliforms	TCVN 4882 (ISO 4831)	Năng suất	24-48 h / 30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>D</sup> C. freundii ATCC 43864	-	Bán định lượng	Đục 2 + sinh khí trong 1/3 ống Durham	Sinh khí và đục
				Tính chọn lọc	24-48 h / 30 °C	E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>	-	Định tính	Không phát triển	-
LST	L	Coliforms	TCVN 4882 (ISO 4831)	Năng suất	24-48 h / 30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 C. freundii ATCC 43864	-	Bán định lượng	Đục 2 + sinh khí trong 1/3 ống Durham	Sinh khí và đục
				Tính chọn lọc		E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>	-	Định tính	Không phát triển	-
EC	L	Escherichia coli	TCVN 6846 (ISO 7251)	Năng suất	24-48h/44 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Đục 2 + sinh khí trong 1/3 ống Durham	Sinh khí và đục
				Tính chọn lọc	24-48 h / 44 °C	Ps. aeruginosa ATCC 27853 <sup>b</sup>	-	Định tính	Không phát triển	-
<p><sup>a</sup> S = Môi trường đặc</p> <p><sup>D</sup> Các chủng được phùng thử nghiệm sử dụng (tối thiểu)</p> <p><sup>c</sup> L = Môi trường lỏng</p> <p>Chú ý: Đối với môi trường đặc thì có thể sử dụng phương pháp đổ đĩa bán định lượng.</p>										

Bảng B.2 – Môi trường không chọn lọc để định lượng vi sinh vật

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
PCA	S <sup>a</sup>	Tổng số hệ vi khuẩn	TCVN 4884 (ISO 4833)	Năng suất	72 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	TSA	Định lượng	PR > 0,7	
						S. aureus ATCC 6538 hoặc 6538P				
						B. subtilis ATCC 6633 <sup>b</sup>				

<sup>a</sup> S = Môi trường đặc

<sup>b</sup> Các chủng được phòng thử nghiệm sử dụng (tối thiểu).

Bảng B.3 – Môi trường tăng sinh chọn lọc

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
EE	L <sup>a</sup>	Enterobacteriaceae	ISO 7402/ ISO 8523	Năng suất	24 h/ °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup> hoặc S. typhimurium ATCC14028	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên VRBG	Các khuẩn lạc có màu hồng đến đỏ có hoặc không có quang kết tủa
				Tinh chọn lọc	24 h/37 °C	+ E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>		Bán định lượng	Ước chế toàn phần	
Half-Fraser	L	Listeria monocytogens	TCVN 7700-1 (ISO 11290-1)	Năng suất	24 h/30 °C	L.mono 1/2a ATCC 19111	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên Oxford hoặc PALCAM	Khuẩn lạc từ xám đến đen có quang đen
						hoặc L. mono 4b ATCC 13932 <sup>b</sup>				
						+ E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>				
				Tinh chọn lọc	24 h/30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ước chế toàn phần trên TSA	-
						E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433			<100 khuẩn lạc trên TSA	



Bảng B.3 – (tiếp theo)

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chứng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
Fraser	L	Listeria monocytogens	TCVN 7700-1 (ISO 11290-1)	Năng suất	48 h/37 °C	L. mono 1/2a ATCC 19111	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên Oxford hoặc PALCAM	Khuẩn lạc từ xám đến đen có quang đen
						hoặc L. mono 4b ATCC 13932 <sup>b</sup>				
						+ E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433 <sup>b</sup>				
				Tinh chọn lọc	24-48 h /37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ức chế toàn phần trên TSA	-
						E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433			<100 khuẩn lạc trên TSA	
ITC	L	Yersinia enterocolitica	ISO 10273	Năng suất	48 h / 25 °C	Y. enterocolitica ATCC 23715 hoặc 9610 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên CIN hoặc SSDC	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
						+ E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ Ps aeruginosa ATCC 27853 <sup>b</sup>				
				Tinh chọn lọc	48 h/25 °C	Ps. aeruginosa ATCC 27853 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ức chế toàn phần trên TSA	-
						P. mirabilis ATCC 29906				
Park & Sanders	L	Campylobacter	TCVN 7715 (ISO 10272)	Năng suất	Xem tiêu chuẩn	C. coli ATCC 43478 <sup>c</sup>	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên Môi trường Karmali hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)

Bảng B.3 – (tiếp theo)

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ủ	Chứng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
						hoặc <i>C. jejuni</i> ATCC 33291 hoặc 29428 <sup>a</sup>				
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922? hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ <i>P. mirabilis</i> ATCC 29906 <sup>b</sup>				
				Tinh chọn lọc	See standard	<i>E. coli</i> ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ước chế toàn phần trên TSA	-
						<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906				
Preston	L	<i>Campylobacter</i>	TCVN 7715 (ISO 10272)	Năng suất	18 h/42 °C	<i>C. coli</i> ATCC 43478 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên môi trường Karmali hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
						hoặc <i>C. jejuni</i> ATCC 33291 hoặc 29428 <sup>b</sup>				
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922? hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ <i>P. mirabilis</i> ATCC 29906 <sup>b</sup>				
				Tinh chọn lọc	18 h/42 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ước chế toàn phần trên TSA	-
						<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906				
PSB	L	<i>Yersinia enterocolitica</i>	ISO 10273	Năng suất	3-5 ngày / 25 °C	<i>Y. enterocolitica</i> ATCC: 23715 hoặc 9610 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên CIN hoặc SSDC	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922? hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853 <sup>b</sup>				
				Tinh chọn lọc	3-5 ngày / 25 °C	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ước chế toàn phần trên TSA	-
						<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906				

Bảng B.3 – (tiếp theo)

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng						
MKTTn	L	Salmonella	TCVN 4829 (ISO 6579)	Năng suất	24h/37 °C	S. typhimurium ATCC14028	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên XLD hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)						
						hoặc S. enteritidis ATCC 13076 <sup>b</sup>										
						+ E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>										
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853 <sup>b</sup>										
Rappaport Vassiliadis	L	Salmonella	EN 12824 <sup>2</sup>	Năng suất	24h/ 41,5 °C	S. typhimurium ATCC14028 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên BGA hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)						
						hoặc S. enteritidis ATCC 13076 <sup>b</sup>										
						+ E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>										
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853										
RVS	L	Salmonella	ISO 6579	Năng suất	24h/41,5 °C	S. typhimurium ATCC14028	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên XLD hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)						
						hoặc S. enteritidis ATCC 13076 <sup>b</sup>										
						+ E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>										
						+ Ps. aeruginosa ATCC 27853										
Môi trường khác	L	Salmonella	TCVN 4829 (ISO 6579)	Tính chọn lọc	24h/37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739	-	Bán định lượng	Ước chế toàn phần trên TSA	-						
												E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433				
																E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>
																E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433

Bảng B.3 – (tiếp theo)

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
						<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906				
MKTTn	L	Salmonella	TCVN 4829 (ISO 6579)	Năng suất	24h/37 °C	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên XLD hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
						hoặc <i>S. enteritidis</i> ATCC 13076 <sup>b</sup>				
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922 <sup>1</sup> hoặc 8739 <sup>b</sup>				
						+ <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853 <sup>b</sup>				
				Tính chọn lọc	24h/37 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 hoặc 8739	-	Bán định lượng	Ức chế toàn phần trên TSA	-
						<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 hoặc 19433			< 10 khuẩn lạc trên TSA	
Rappaport Vassiliadis	L	Salmonella	EN 12824 <sup>2</sup>	Năng suất	24h/ 41,5 °C	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên BGA hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
						hoặc <i>S. enteritidis</i> ATCC 13076 <sup>b</sup>				
						+ <i>E. coli</i> ATCC 25922 hoặc 8739				
						+ <i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853				
				Tính chọn lọc	24h/ 41,5 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	-	Bán định lượng	Ức chế toàn phần trên TSA	-
						<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 hoặc 19433			< 10 khuẩn lạc trên TSA	
RVS	L	Salmonella	ISO 6579	Năng suất	24h/41,5 °C	<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	-	Bán định lượng	>10 khuẩn lạc trên XLD hoặc môi trường được chọn khác	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)

<sup>2</sup> EN 12824:1998 đã được thay thế bởi TCVN 4829:2009 (ISO 6579:2002, Amd 1:2007) và sửa đổi 1:2008 TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002, Amd 1:2007)

Bảng B.4 – Môi trường tăng sinh không chọn lọc

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
BHI	L <sup>a</sup>	Staphylococcus	TCVN 4830 (ISO 6888)	Năng suất	24 h/37 °C	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 <sup>b</sup>		Định tính	Độ đục 1 đến 2	-
Brucella	L	Campylobacter	TCVN 7715 (ISO 10272)	Năng suất	2-5 ngày/25 °C	<i>C. coli</i> ATCC 43478	-	Định tính	Độ đục 1 đến 2	-
						<i>C. jejuni</i> ATCC 33291 hoặc 29428 <sup>b</sup>				
Peptone-salt	L	Dung dịch pha loãng	TCVN 6570 (ISO 6887)	Dịch pha loãng	45 min/20-25 °C	<i>E. coli</i> ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup>	TSA	Định tính	+/- 50% khuẩn lạc/đến (+/- 50% số đến ban đầu)	-
						<i>S. aureus</i> ATCC 25923				
Thioglycollate	L	<i>Clostridium perfringens</i>	TCVN 4991 (ISO 7937)	Năng suất	24 h / 37 °C	<i>Cl. perfringens</i> ATCC 13124 <sup>b</sup>	-	Định tính	Độ đục 1 đến 2	-
TSYEB	L	<i>Listeria monocytogens</i>	TCVN 7700 (ISO 11290)	Năng suất	24 h/25 °C	<i>L. mono 1/2a</i> ATCC 19111	-	Định tính	Độ đục 1 đến 2	-
						<i>L. mono 4b</i> ATCC 13932 <sup>b</sup>				

<sup>a</sup> L = Môi trường lỏng

<sup>b</sup> Chủng được phòng thử nghiệm sử dụng (tối thiểu)

Bảng B.5 – Môi trường phân lập chọn lọc

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	U	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
Butzler cải biến	S <sup>a</sup>	Campylobacter	TCVN 7715 (ISO 10272)	Năng suất	24-72 h / 42 °C	C. coli ATCC 43478	-	Định tính	Phát triển tốt (2)	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
CCDA										
Karmali						C. jejuni ATCC 33291 hoặc 29428 <sup>b</sup>				
Preston										
Skirrow				Tinh chọn lọc	24-72 h / 42 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup> S. aureus ATCC 25923	-	Định tính	Ước chế toàn phần hoặc một phần (0-1) Ước chế toàn phần (0)	Không có khuẩn lạc điển hình -
CIN	S	Yersinia enterocolitica	ISO 10273	Năng suất	24 h / 30 °C	Y. enterocolitica ATCC 23715 hoặc 9610 <sup>b</sup>	-	Định tính	Phát triển tốt (2)	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
SSDC				Tinh chọn lọc	24 h / 30 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup> S. aureus ATCC 25923	-	Định tính	Ước chế toàn phần hoặc một phần (0-1) Ước chế toàn phần (0)	Không có khuẩn lạc điển hình -
Thạch xanh brilliant (BGA)	S	Salmonella	TCVN 4829 (ISO 6579)	Năng suất	24-48 h / 37 °C	S. typhimurium ATCC14028 <sup>b</sup> S. enteritidis ATCC 13076	-	Định tính	Phát triển tốt (2)	Các khuẩn lạc đặc trưng theo từng môi trường (xem tiêu chuẩn)
XLD				Tinh chọn lọc	24 h-48 h / 37 °C	E. coli ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>b</sup> E. faecalis ATCC 29212 hoặc 19433	-	Định tính	Ước chế toàn phần hoặc phát triển yếu (0-1) Ước chế toàn phần (0)	Không có khuẩn lạc điển hình -

<sup>a</sup> S = Môi trường đặc<sup>b</sup> Chúng được phòng thử nghiệm sử dụng (tốt nhất)

**Bảng B.6 – Môi trường phân lập không chọn lọc**

Môi trường	Kiểu	Vi sinh vật	Tiêu chuẩn	Chức năng	Ù	Chủng đối chứng	Môi trường kiểm chứng	Phương pháp kiểm soát	Chuẩn cứ	Các phản ứng đặc trưng
Thạch dinh dưỡng	S <sup>a</sup>	Enterobacteriaceae	ISO 7402 <sup>1</sup> ISO 8523	Năng suất	24 h/37 °C	E. COLI ATCC 25922 hoặc 8739 <sup>c</sup>	-	Định tính	Phát triển tốt (2)	-
		Salmonella	TCVN 4829 (ISO 6579)		24 h / 37 °C	S. typhimurium ATCC14028 <sup>c</sup>				
		Yersinia enterocolitica	ISO 10273		24 h/30 °C	Y. enterocolitica ATCC 23715 or 9610 <sup>c</sup>				
Thạch TSYEA	S	Listeria monocytogenes	TCVN 7700 (ISO 11290)	Năng suất	24 h/37 °C	L. mono 1/2a ATCC 1911 hoặc L. mono 4b ATCC 13932 <sup>b</sup>	-	Định tính	Phát triển tốt(2)	-

<sup>a</sup> S = Môi trường đặc

<sup>b</sup> Chủng được phòng thử nghiệm sử dụng (tối thiểu)

<sup>c</sup> Chủng được tự do lựa chọn theo phương pháp sử dụng.

**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] TCVN 6507-1:2005 (ISO 6887-1:1999) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật – Phần 1: Các nguyên tắc chung để chuẩn bị huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân.*
- [2] TCVN 6263:2007 (ISO 8261:2001) *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn chung về chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật.*
- [3] TCVN 6507-2:2005 (ISO 6887-2:2003) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật – Phần 2: Các nguyên tắc cụ thể để chuẩn bị các mẫu thịt và sản phẩm thịt.*
- [4] TCVN 6507-3:2005 (ISO 6887-3:2003) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật – Phần 3: Các nguyên tắc cụ thể để chuẩn bị các mẫu thủy sản và sản phẩm thủy sản.*
- [5] TCVN 6507-4:2005 (ISO 6887-4:2003, With amendment 1:2004) *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật – Phần 4: Các nguyên tắc cụ thể để chuẩn bị các sản phẩm khác với sữa và sản phẩm sữa, thịt và sản phẩm thịt thủy sản và sản phẩm thủy sản.*
- [6] Thay thế TCVN 6404:2007 (ISO 7218:1996) *Vi sinh vật trong thực phẩm và trong thức ăn chăn nuôi – Nguyên tắc chung về kiểm tra vi sinh vật*
- [7] ISO 2859-1:1999, *Sampling procedures for inspection by attributes - Part 1: Sampling schemes indexed by acceptance quality limit (AQL) for lot-by-lot inspection.*
- [8] Corry JEL, Curtis GDW, Baird RM, 1995., *Culture Media for Food Microbiology. London: Elsevier Science, Volume 34.*
- [9] Anon. 1998., *Int. J. Food Microbiol.* 45, 65.