

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**SỬA ĐỔI 1:2008 TCVN 4829:2005
ISO 6579:2002/Amd.1:2007**

Xuất bản lần 1

**VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI-
PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN SALMONELLA SPP. TRÊN ĐĨA THẠCH
SỬA ĐỔI 1: PHỤ LỤC D: PHÁT HIỆN SALMONELLA SPP.
TRONG PHÂN ĐỘNG VẬT VÀ TRONG MẪU MÔI TRƯỜNG TỪ
GIAI ĐOẠN SẢN XUẤT BAN ĐẦU**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method
for the detection of Salmonella spp.*

*Amendment 1: Annex D: Detection of Salmonella spp. in animal faeces and
in environmental samples from the primary production stage*

HÀ NỘI - 2008

Lời nói đầu

Sửa đổi 1:2008 TCVN 4829:2005, hoàn toàn tương đương với ISO 6579:2002/Amd 1:2007;

Sửa đổi 1:2008 TCVN 4829:2005, do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn 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.

Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi -**Phương pháp phát hiện *Salmonella* spp. trên đĩa thạch****Sửa đổi 1: Phụ lục D: Phát hiện *Salmonella* spp. trong phân****động vật và trong mẫu môi trường từ giai đoạn sản xuất ban đầu**

Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp.

Amendment 1: Annex D: Detection of Salmonella spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage

Trang 1, điều 2:

Thay lời dẫn và bổ sung 2 tài liệu viện dẫn như sau:

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là 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.

ISO/TS 11133-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory (Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Hướng dẫn chuẩn bị và tạo môi trường nuôi cấy – Phần 1: Hướng dẫn chung về đảm bảo chất lượng cho việc chuẩn bị môi trường nuôi cấy trong phòng thử nghiệm).

ISO/TS 11133-2:2003, 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 (Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Hướng dẫn chuẩn bị và tạo môi trường nuôi cấy – Phần 2: Hướng dẫn thực hành về kiểm tra hiệu quả của môi trường nuôi cấy).

Sau phụ lục C:

Bổ sung phụ lục D như sau:

Phụ lục D

(quy định)

Phát hiện *Salmonella* spp. trong phân động vật và trong mẫu môi trường từ giai đoạn sản xuất ban đầu

D.1 Giới thiệu

Phương pháp được nêu trong phần chính của tiêu chuẩn này ban đầu chủ định dùng để phân lập *Salmonella* spp. từ thực phẩm và thức ăn chăn nuôi và không phải luôn thích hợp để phát hiện *Salmonella* spp. từ các chất nền khác.

Phụ lục này có thể áp dụng để phát hiện *Salmonella* spp. trong:

- phân động vật (như từ gia cầm, lợn, trâu bò) và
- các mẫu môi trường trong khu vực ở giai đoạn sản xuất sơ bộ (như bụi).

Phương pháp này được dựa vào điều 9, sử dụng môi trường tăng sinh chọn lọc khác. Do đó, có thể cần tham khảo điều 9 khi cần.

Môi trường tăng sinh chọn lọc được mô tả trong phụ lục này (môi trường Rappaport-Vassiliadis nửa đặc cải biến: MSRV) được dùng để phát hiện *Salmonellae* di động và không thích hợp để phát hiện *Salmonellae* không di động.

CHÚ THÍCH *Salmonella* biovar không di động của *Salmonella* Gallinarum (*Salmonella* Gallinarum biovar gallinarum và *Salmonella* Gallinarum biovar pullorum dường như không sống được lâu trong các mẫu môi trường, do đó hiếm khi phát hiện thấy trong các mẫu phân hoặc mẫu môi trường (như bụi) (không liên quan đến phương pháp). Số lượng các *salmonella* serovar không di động khác trong các mẫu phân nhìn chung là thấp. Ví dụ, trong tài liệu tham khảo [7] khoảng 1000 mẫu phân gia cầm và khoảng 900 mẫu phân gà giò đã được phân tích, thì dưới 1 % tổng số mẫu là dương tính trong canh thang chọn lọc và đồng thời âm tính trên môi trường MSRV (và dường như không di động). Các kết quả tương tự được đưa ra trong nghiên cứu của Hà Lan với khoảng 3200 mẫu phân lợn (số liệu không công bố). Mặt khác, trong nghiên cứu ở tài liệu tham khảo [7] có đến 40 % mẫu dương tính đã không thể phát hiện được (nghĩa là âm tính giả) nếu chỉ sử dụng canh thang chọn lọc (trong trường hợp này là canh thang Rappaport Vassiliadis) thay cho môi trường nửa đặc.

D.2 Nguyên tắc

D.2.1 Khái quát

Việc phát hiện *Salmonella* trong mẫu phân động vật và mẫu môi trường tại giai đoạn sản xuất ban đầu cần qua bốn giai đoạn kế tiếp nhau, như trong điều 4.

D.2.2 Tiềm tăng sinh trong môi trường lỏng không chọn lọc

Phần mẫu thử được cấy vào dung dịch nước đệm pepton (BPW) ở nhiệt độ môi trường, rồi được ủ ở $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

D.2.3 Tăng sinh trên môi trường nửa đặc chọn lọc

Cấy dịch cấy thu được trong D.2.2 vào các đĩa thạch Rappaport-Vassiliadis nửa đặc cải biến (MSRV).

Ủ các đĩa MSRV này ở $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Nếu đĩa này âm tính trong 24 h thì ủ thêm $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

D.2.4 Cấy lên đĩa thạch chọn lọc và nhận dạng

Cấy dịch cấy thu được trong D.2.3 vào hai môi trường đặc chọn lọc sau đây:

- thạch xyloza lysin deoxycholat (XLD);
- môi trường đặc chọn lọc khác bổ sung cho thạch XLD (xem 4.4).

Thạch XLD được ủ ở $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ và kiểm tra sau $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

Ủ môi trường chọn lọc thứ hai theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

D.2.5 Khẳng định việc nhận dạng

Cấy truyền các khuẩn lạc *Salmonella* giả định rồi cấy lên đĩa theo mô tả trong D.2.4 và khẳng định việc nhận dạng bằng các phép thử sinh hoá và huyết thanh thích hợp.

D.3 Môi trường nuôi cấy, thuốc thử và huyết thanh

D.3.1 Khái quát

Về thực hành phòng thử nghiệm hiện hành, xem TCVN 6404 (ISO 7218).

Tất cả các thuốc thử và môi trường được sử dụng trong phụ lục này được mô tả trong phụ lục B, trừ môi trường Rappaport-Vassiliadis nửa đặc cải biến (MSRV) được mô tả trong D.3.2. Cách khác, môi trường

SỬA ĐỔI 1:2008 TCVN 4829:2005

hoàn chỉnh khô hoặc dịch pha loãng có thể được sử dụng. Khi đó, cần tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

CHÙ THÍCH Thành phần của môi trường MSRV như mô tả trong [8], chứa 20 mg/l novobioxin. Tuy nhiên, theo quan điểm của nhà khoa học thì 10 mg/l novobioxin là thích hợp. Trong các nghiên cứu ở phòng thí nghiệm chuẩn đã được công nhận về *Salmonella* thì nhiều kết quả *Salmonella* dương tính được tìm thấy trong các mẫu phân lợn khi được thử với MSRV chứa 10 mg/l lớn hơn nhiều so với MSRV chứa 20 mg/l novobioxin (xem [9]). Ngoài ra, khi thử nghiệm các mẫu phân động vật khác nhau (lợn, gà, trâu bò) và trong bụi bị nhiễm bẩn tự nhiên, thì các vùng di chuyển trên MSRV có chứa 10 mg/l novobioxin là rộng hơn so với trên MSRV có chứa 20 mg/l novobioxin [9]. Ảnh hưởng của novobioxin lên tính di động của vi khuẩn được mô tả trong [10].

Để chuẩn bị môi trường thạch đổ đĩa chọn lọc (xem B.4, thạch XLD), thì có thể sử dụng các đĩa Petri cỡ chuẩn (90 mm hoặc 100 mm) thay cho các đĩa Petri cỡ lớn (140 mm).

D.3.2 Môi trường Rappaport-Vassiliadis nửa đặc cải biến (MSRV)

D.3.2.1 Môi trường cơ bản

D.3.2.1.1 Thành phần

Dịch thuỷ phân từ mô động vật và thực vật bằng enzym	4,6 g
Thuỷ phân casein bằng axit	4,6 g
Natri clorua (NaCl)	7,3 g
Kali dihydro phosphat (KH_2PO_4)	1,5 g
Magie clorua ($MgCl_2$) dạng khan	10,9 g
Xanh malachit oxalat	0,04 g
Thạch	2,7 g
Nước	1000 ml

D.3.2.1.2 Chuẩn bị

Hoà tan các thành phần trên trong nước.

Đun đến sôi, có khuấy trộn. **Không hấp áp lực.**

Không để môi trường ở nhiệt độ cao dài hơn thời gian cần thiết.

Làm nguội môi trường đến khoảng từ 47 °C đến 50 °C.

D.3.2.2 Dung dịch Novobioxin**D.3.2.2.1 Thành phần**

Muối natri novobioxin	0,05 g
Nước	10 ml

D.3.2.2.2 Chuẩn bị

Hoà tan muối natri novobioxin trong nước.

Lọc qua màng lọc cỡ lỗ 0,22 μm để khử trùng.

Dung dịch này có thể bảo quản được đến bốn tuần ở $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ hoặc bảo quản với các lượng nhỏ (ví dụ: 2 ml) đến một năm ở $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

D.3.2.3 Môi trường hoàn chỉnh**D.3.2.3.1 Thành phần**

Môi trường cơ bản (D.3.2.1)	1 000 ml
Dung dịch novobioxin (D.3.2.2)	2 ml

D.3.2.3.2 Chuẩn bị

Bằng kỹ thuật vô trùng, cho 2 ml dung dịch novobioxin (D.3.2.2) vào 1 000 ml môi trường cơ bản (D.3.2.1) ở $47\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Trộn kỹ.

pH cuối cùng phải là 5,2 (từ 5,1 đến 5,4) ở $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Rót môi trường vào các đĩa Petri đường kính 90 mm, đến thể tích khoảng từ 15 ml đến 20 ml.

Để cho môi trường đông đặc lại trước khi di chuyển và cẩn thận khi xử lý.

Bảo quản các đĩa này với **mặt đĩa hướng lên trên** đến hai tuần ở nơi tối và ở nhiệt độ $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Không lật úp đĩa, vì thạch nửa đặc rất loãng.

Không sử dụng bất kỳ đĩa đựng môi trường nửa đặc chọn lọc nào đã bị hoá lỏng hoặc phân mảnh.

Ngay trước khi sử dụng, làm khô mặt đĩa thạch cẩn thận bằng cách đặt đĩa với bề mặt thạch **hướng lên trên**, nắp mở, vào tủ thổi khí, nếu cần. Chú ý không để môi trường quá khô.

D.4 Thiết bị, dụng cụ thủy tinh

Sử dụng các dụng cụ được liệt kê trong điều 6, và cụ thể như sau:

D.4.1 Que cấy vòng vô trùng, 1 μ l.

D.5 Lấy mẫu

Xem điều 7.

D.6 Chuẩn bị mẫu thử

Xem điều 8.

Nhìn chung, cần cho một lượng mẫu thử vào BPW để có được độ pha loãng 1/10 (ví dụ: 25 g mẫu được cho vào 225 ml BPW). Tuy nhiên, đối với một vài loại mẫu có thể cần thiết phải dùng tỷ lệ khác.

D.7 Cách tiến hành

D.7.1 Tiềm tăng sinh không chọn lọc

Làm ấm sơ bộ BPW đến nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

Trộn kỹ các mẫu bằng cách thích hợp nhất đối với từng loại mẫu.

Cân mẫu và bổ sung một lượng thích hợp BPW (xem D.6). Ủ các bình ở $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

D.7.2 Tăng sinh chọn lọc

Để các đĩa MSR/V cân bằng đến nhiệt độ phòng nếu chúng được bảo quản ở nhiệt độ thấp hơn.

Cấy vào các đĩa MSR/W 3 giọt dịch cấy trong môi trường BPW. Tổng thể tích 3 giọt này phải là 0,1 ml và phải được cho vào một cách riêng rẽ và cách đều nhau trên bề mặt môi trường.

Khi lấy mẫu từ BPW để cấy truyền, thì điều cơ bản là không làm xáo trộn các mẫu dạng hạt. Do đó, các hộp đựng cần được di chuyển cẩn thận, không xáo trộn, lắc hoặc xoay. Chiết một chủng cấy từ thể tích lớn nhất của phần dịch lỏng tự do gần nhất với mặt tiếp giáp giữa hộp đựng và bề mặt dịch cấy, nhưng nên lấy sâu hơn nếu có các hạt nổi phía trên bề mặt.

Ủ các đĩa MSR/V đã cấy ở $41,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $24\text{ h} \pm 3\text{ h}$.

Không lật úp các đĩa.

Các đĩa dương tính cho thấy có vùng xám-trắng, đục lan toả quanh giọt được cấy. Vùng đục được đặc trưng bởi quang trắng có mép viền rõ rệt.

Nếu các đĩa âm tính sau 24 h, thì ủ tiếp 24 h \pm 3 h.

D.7.3 Cấy lên đĩa chọn lọc

Để cho các đĩa thạch xyloza lysin deoxycholat (XLD) và môi trường đổ đĩa chọn lọc thứ hai (xem 5.2.4.2) cân bằng đến nhiệt độ phòng nếu chúng được bảo quản ở nhiệt độ thấp hơn. Làm khô bề mặt đĩa trước khi sử dụng, nếu cần.

Cấy truyền các đĩa MSRV dương tính:

Quan sát đĩa MSRV (trên bề mặt trắng sáng hoặc hộp sáng). Xác định các điểm lan toả phát triển mờ đục xa nhất tính từ điểm cấy và nhúng que cấy vòng 1 μ l vào ngay phía trong vùng tiếp giáp vùng mờ đục. Lấy que cấy vòng ra sao cho không lấy phải các mảng lớn của MSRV. Cấy lên bề mặt đĩa XLD sao để thu được các khuẩn lạc tách biệt rõ. Thực hiện tương tự với môi trường đổ đĩa chọn lọc thứ hai, sử dụng que cấy vòng vô trùng mới.

CHÚ THÍCH Có thể thu được các khuẩn lạc tách biệt rõ khi sử dụng một lượng nhỏ môi trường MSRV đổ đĩa (dùng que cấy vòng 1 μ l), sử dụng một đĩa Petri cỡ chuẩn (90 mm đến 100 mm) với thạch đổ đĩa chọn lọc. Do đó không cần thiết sử dụng đĩa Petri cỡ lớn.

Ủ các đĩa XLD lật úp ở 37 °C \pm 1 °C trong 24 h \pm 3 h.

Ủ các đĩa đựng môi trường đổ đĩa chọn lọc thứ hai theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

Đặt lại các đĩa MSRV âm tính vào tủ ấm ở 41,5 °C và ủ tiếp trong 24 h \pm 3 h. Nếu sau khi ủ 48 h các đĩa MSRV trở thành dương tính thì tiến hành quy trình đổ đĩa chọn lọc.

Khuẩn lạc *Salmonella* điển hình mọc trên đĩa thạch XLD có tâm đen, quang trong hoặc đỏ nhạt do sự đổi màu của chất chỉ thị.

Salmonella thay đổi âm tính H₂S (ví dụ: *Salmonella* Paratyphi) mọc trên thạch XLD có màu hồng với tâm màu hồng đậm. *Salmonella* dương tính lactoza mọc trên thạch XLD là màu vàng có hoặc không có màu đen (xem thêm 9.4.4).

Kiểm tra môi trường đổ đĩa chọn lọc thứ hai sau thời gian ủ thích hợp về sự có mặt các khuẩn lạc có các đặc trưng được coi là *Salmonella* giả định.

D.7.4 Kháng định

Để kháng định các khuẩn lạc điển hình được phân lập trên môi trường đổ đĩa chọn lọc, tiến hành theo các chỉ dẫn nêu trong 9.5. Trong 9.5.2 buộc phải cấy vạch các khuẩn lạc phân lập từ môi trường đổ đĩa chọn lọc lên thạch dinh dưỡng trước khi tiến hành kháng định bằng sinh hoá. Tuy nhiên, bước cấy thêm này là không cần thiết nếu các khuẩn lạc tách biệt rõ (dịch cấy thuần chủng) sẵn có trên môi trường đổ đĩa chọn lọc. Trong trường hợp này tiến hành kháng định sinh hoá trực tiếp trên một khuẩn lạc tách biệt rõ, điển hình (nghi ngờ) của từng môi trường đổ đĩa chọn lọc.

D.8 Biểu thị kết quả

Xem điều 10.

D.9 Báo cáo thử nghiệm

Xem điều 11.

D.10 Đảm bảo chất lượng

Xem điều 12.

Để kiểm tra hiệu quả của môi trường, tiến hành theo ISO/TS 11133-1 và ISO/TS 11133-2. Tuy nhiên, trong các tài liệu này, các quy trình đưa ra đối với canh thang chọn lọc cũng như môi trường thạch chọn lọc để phát hiện *Salmonella*, nhưng không dùng cho môi trường nửa đặc như MSR/V. Quy trình nêu dưới đây có thể sử dụng để kiểm tra hiệu quả của MSR/V và được dựa trên quy trình và các chủng thử nghiệm đã mô tả cho môi trường chọn lọc (tăng sinh) để phát hiện *Salmonella* (ví dụ như R/V/S và MKTTn, xem bảng B.2 và B.3) trong ISO/TS 11133-2.

Quy trình mô tả dưới đây được trích từ 5.4.2.1 của ISO/TS 11133-2:2003 nhưng đã điều chỉnh nồng độ chủng thử nghiệm cho thích hợp. Quy trình, các chủng thử nghiệm và các chuẩn cứ được nêu trong bảng D.1.

- Cấy vi sinh vật mục tiêu: Cấy vào môi trường MSR/V đối với từng vi sinh vật thử nghiệm với khoảng 10^4 cfu/0,1 ml (để chuẩn bị chủng cấy, xem 5.2.1 của ISO/TS 11133-2:2003).
- Cấy vi sinh vật không mục tiêu: Cấy vào môi trường MSR/V đối với từng vi sinh vật thử nghiệm với khoảng từ 10^3 cfu đến 10^6 cfu/0,1 ml (để chuẩn bị chủng cấy, xem 5.2.1 của ISO/TS 11133-2:2003).

– Cấy vi sinh vật mục tiêu và không mục tiêu làm dịch cấy hỗn hợp: Cấy vào môi trường MSR/V đối với dịch cấy hỗn hợp chứa khoảng 10^4 cfu/0,1 ml vi sinh vật mục tiêu và khoảng từ 10^5 cfu đến 10^6 cfu/0,1 ml vi sinh vật không mục tiêu (để chuẩn bị các chủng cấy, xem 5.2.1 của ISO/TS 11133-2:2003).

Ủ các đĩa MSR/V ở $41,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ và đánh giá các đĩa sau $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ và sau $48 \text{ h} \pm 6 \text{ h}$.

Bảng D.1 – Kiểm tra hiệu quả của môi trường MSR/V

Chức năng	Chủng kiểm chứng	Nồng độ cuối cùng trong chủng cấy 0,1 ml	Ủ môi trường MSR/V	Chuẩn cứ
Tính đặc thù	<i>S.Typhimurium</i> ATCC 14028 hoặc <i>S.Enteritidis</i> ATCC 13076	10^4 cfu	$41,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, $2 \times 24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$	Xám trắng, quang mờ đục bao quanh giọt cấy. Sau 48 h, các quang đục quanh 3 giọt lan toả (gần) khắp đĩa.
Tính chọn lọc	<i>E.coli</i> ATCC 25922 hoặc ATCC 8739 <i>E.faecalis</i> ATCC 29212 hoặc ATCC 19433	10^5 cfu đến 10^6 cfu	$41,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, $2 \times 24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$	Có thể phát triển tại giọt cấy mà không có quang đục.
Năng suất	<i>S.Typhimurium</i> ATCC 14028 hoặc <i>S.Enteritidis</i> ATCC 13076 + <i>E.coli</i> ATCC 25922 hoặc ATCC 8739 + <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	10^4 cfu 10^5 cfu đến 10^6 cfu 10^5 cfu đến 10^6 cfu	$41,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, $2 \times 24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$	Xám trắng, quang mờ đục bao quanh giọt cấy. Sau 48 h, các quang đục quanh 3 giọt lan toả (gần) khắp đĩa. Có khả năng: cấy truyền 1 μl ngay trong biên giới vùng phát triển mờ đục và lan toả trên XLD. Ủ ở $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ trong $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$. Chuẩn cứ: phát triển các khuẩn lạc đặc trưng trong phần chính

Nhận xét: Nhìn chung, *S.Typhimurium* sẽ phát triển nhanh hơn và lan toả rộng hơn so với *S.Enteritidis*.

Thư mục tài liệu tham khảo

Xoá tài liệu tham khảo [4] và đánh số lại các thứ tự khác.

Bổ sung các tài liệu tham khảo dưới đây vào Thư mục tài liệu tham khảo.

[7] VOOGT, N., RAES, M., WANNET, W.J.B., HENKEN.A.M. and VAN DE GIESSEN, A.W. Comparison of selective enrichment media for the detection of *Salmonella* in poultry faeces. *Letter in Applied Microbiology*, 32, 2001, pp. 89-92

[8] DE SMEDT, J.M., BOLDERDIJK, R.F., RAPPOLD, H. and LAUTENSCHLAEGER, D. Rapid *Salmonella* detection in foods by motility enrichment on a modified semi-solid Rappaport-Vassiliadis medium. *Journal of Food Protection*, 49(7), 1986, pp. 510-514

[9] VEENMAN, C, KORVER, H. and MOOIJMAN, K.A. Improvements in the method for detection of *Salmonella* spp. in animal faeces. National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven the Netherlands. RIVM report 330300 010, 2007

[10] SOUTOURINA, O.A., SEMENOVA, E.A., PARFENOVA, V.V., DANCHIN, A. and BERTIN, P. Control of bacterial motility by environmental factors in polarly flagellated and peritrichous bacteria isolated from lake Baikal. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 2001, pp. 3852-3859