

**TCVN 4882:2007  
ISO 4831:2006**

Xuất bản lần 3

**VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ THỨC ĂN CHĂN  
NUÔI – PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN VÀ ĐỊNH LƯỢNG  
COLIFORM – KỸ THUẬT ĐẾM SỐ CÓ XÁC SUẤT LỚN NHẤT**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection  
and enumeration of coliforms – Most probable number technique*

HÀ NỘI – 2007

**Lời nói đầu**

TCVN 4882:2007 thay thế TCVN 4882:2001 và TCVN 6262-1:1997;

TCVN 4882:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 4831:2006;

TCVN 4882:2007 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.

## Lời giới thiệu

Do tính đa dạng của thực phẩm và thức ăn chăn nuôi nên phương pháp này có thể không thích hợp đến từng chi tiết cho từng sản phẩm cụ thể. Trong trường hợp này, có thể sử dụng các phương pháp khác đặc trưng cho từng sản phẩm, nếu hoàn toàn chỉ vì lý do kỹ thuật. Tuy nhiên, cần cố gắng áp dụng phương pháp này khi có thể.

Khi tiêu chuẩn này được soát xét thì cần phải tính đến mọi thông tin liên quan đến phạm vi mà phương pháp đếm đĩa này phải tuân theo và các nguyên nhân gây sai lệch so với phương pháp trong trường hợp các sản phẩm cụ thể.

Việc hài hoà các phương pháp thử có thể không thực hiện được ngay và đối với một vài nhóm sản phẩm có thể tồn tại các tiêu chuẩn quốc tế và/hoặc tiêu chuẩn quốc gia mà không phù hợp với tiêu chuẩn này. Trong trường hợp có sẵn tiêu chuẩn quốc tế cho sản phẩm cần thử nghiệm thì phải tuân theo tiêu chuẩn đó. Thông thường khi các tiêu chuẩn như thế được soát xét, thì chúng phải được sửa đổi để phù hợp với tiêu chuẩn này, sao cho cuối cùng chỉ còn các sai lệch với phương pháp đếm đĩa này là các lý do kỹ thuật được thừa nhận.

Kỹ thuật mô tả trong tiêu chuẩn này có độ chính xác thấp hơn so với kỹ thuật mô tả trong TCVN 6848:2007 (ISO 4832)[1], nhưng cho phép kiểm tra vi sinh vật khi thực hiện trên mẫu thử lớn, do đó, phương pháp này cho phép phát hiện lượng coliform trong một gam hoặc một mililit mẫu thử với số lượng thấp hơn. Ngoài ra, do định nghĩa "coliform" trong hai tiêu chuẩn này khác nhau, nên các vi sinh vật đếm được là không cần thiết phải giống nhau.

Đối với sản phẩm cụ thể bất kỳ thì phương pháp được chọn sẽ được qui định trong tiêu chuẩn đối với sản phẩm đó.

Đối với mục đích của phương pháp thử thực tế, thì định nghĩa "coliform" đưa ra trong điều 3 và được sử dụng làm cơ sở cho qui trình là không cần thiết phải giống hệt với các định nghĩa tương ứng đưa ra trong các ấn bản khác. Tỷ lệ các chủng vi sinh được mô tả trong các ấn bản khác là "coliform" (bao gồm cả *E.coli*) không có khả năng tạo đủ khí để có thể phát hiện được bằng ống Durham (nghĩa là "các chủng kỵ khí"). Do đó phương pháp mô tả trong tiêu chuẩn này sẽ không phát hiện được các chủng vi sinh nêu trong các ấn bản khác là "coliform (giả định)" (ví dụ: các chủng cụ thể của *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) (xem [2]).

# Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp phát hiện và định lượng coliform – Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất

*Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of coliforms – Most probable number technique*

## 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này đưa ra các hướng dẫn chung để phát hiện và định lượng coliform. Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho:

- các sản phẩm thực phẩm và thức ăn chăn nuôi, và
- các mẫu môi trường trong khu vực sản xuất và chế biến thực phẩm.

Việc định lượng được thực hiện bằng cách tính số có xác suất lớn nhất (MPN) sau khi ủ trong môi trường lỏng ở 30 °C hoặc 37 °C.

**CHÚ THÍCH** Nhiệt độ này cần được thoả thuận giữa các bên có liên quan. Trong trường hợp đối với sữa và sản phẩm sữa, thì nhiệt độ ủ là 30 °C.

Phương pháp định lượng này có thể sử dụng khi số lượng khuẩn lạc cần tìm dự kiến từ 1 đến 100 trên mililit hoặc trên gam mẫu thử.

Điểm hạn chế khi áp dụng của tiêu chuẩn này là kết quả có độ dao động lớn. Thông tin trong điều 11 đưa ra hướng dẫn về khả năng áp dụng của phương pháp và về việc diễn giải kết quả.

## 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 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 4882:2007

TCVN 6507 (ISO 6887) (tất cả các phần), 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.

TCVN 6404 (ISO 7218), Vi sinh vật trong thực phẩm và trong thức ăn gia súc – Nguyên tắc chung về kiểm tra vi sinh vật.

TCVN 6263 (ISO 8261), 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.

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 môi trường nuôi cấy – Phần 1: Các hướng dẫn chung để 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 môi trường nuôi cấy – Phần 2: Các hướng dẫn thực hành các phép thử trên môi trường nuôi cấy).

### 3 Định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này áp dụng các định nghĩa sau:

#### 3.1

##### **Coliform** (coliform)

Vi khuẩn ở nhiệt độ qui định (nghĩa là ở 30 °C hoặc 37°C như thoả thuận) lên men lactoza có sinh khí dưới các điều kiện thử quy định trong tiêu chuẩn này.

#### 3.2

##### **Phát hiện coliform** (detection of coliforms)

Xác định sự có mặt hay không có mặt các vi khuẩn này trong một lượng xác định của sản phẩm, khi các phép thử được thực hiện theo quy định của tiêu chuẩn này.

#### 3.3

##### **Định lượng coliform** (enumeration of coliforms)

Số có xác suất lớn nhất của coliform tìm thấy trong một gam hoặc một mililit mẫu thử, khi các phép thử được thực hiện theo quy định của tiêu chuẩn này.

## 4 Nguyên tắc

### 4.1 Phát hiện coliform

4.1.1 Cấy phần mẫu thử vào ống nghiệm chứa môi trường tăng sinh chọn lọc và ủ 24 h hoặc 48 h ở 30 °C hoặc 37 °C (theo thoả thuận).

4.1.2 Khi ống thu được trong 4.1.1 cho thấy có màu đục và/hoặc sinh khí thì cấy tiếp vào ống đựng môi trường khẳng định và ủ ở 30 °C hoặc 37 °C trong 24 h hoặc 48 h (theo thoả thuận).

4.1.3 Sau khi kiểm tra ống thu được trong 4.1.2 mà cho thấy đục và hình thành khí thì khẳng định sự có mặt của coliform.

### 4.2 Đếm bằng kỹ thuật MPN

4.2.1 Cấy vào bộ ba ống nghiệm chứa môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ kép một lượng mẫu thử xác định nếu sản phẩm ban đầu là chất lỏng hoặc với một lượng huyền phù ban đầu xác định nếu các sản phẩm ở dạng khác.

4.2.2 Cấy vào bộ ba ống nghiệm chứa môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ đơn một lượng mẫu thử xác định nếu sản phẩm ban đầu là chất lỏng hoặc với một lượng huyền phù ban đầu xác định nếu các sản phẩm ở dạng khác. Sau đó, trong cùng điều kiện, cấy các ống tiếp theo chứa môi trường với các dịch pha loãng thập phân của phần mẫu thử hoặc của huyền phù ban đầu.

4.2.3 Ủ ấm ở 30 °C hoặc 37 °C (theo thoả thuận) các ống chứa môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ kép trong 24 h và các ống chứa môi trường nồng độ đơn 24 h hoặc 48 h và sau đó kiểm tra sự sinh khí hoặc sự mờ đục làm cản trở việc phát hiện sinh khí trong các ống này.

4.2.4 Từ các ống chứa môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ kép và các ống chứa môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ đơn có sinh khí hoặc mờ đục làm cản trở việc sinh khí, các dịch cấy để cấy vào một loạt các ống chứa môi trường khẳng định.

4.2.5 Ủ ấm các ống trong 4.2.4 ở 30 °C hoặc 37 °C (theo thoả thuận) trong 24 h hoặc 48 h, và sau đó kiểm tra các loạt ống này về sự sinh khí.

4.2.6 Tính số có xác suất lớn nhất của coliform có trong 1 mililit hoặc trong 1 gam mẫu (tức là số MPN) từ số ống có sinh khí trong loạt ống thử mới (4.2.5). Dùng bảng để xác định số có xác suất lớn nhất.

## 5 Môi trường nuôi cấy và dung dịch pha loãng

### 5.1 Khái quát

Xem TCVN 6404 (ISO 7218), ISO/TS 11133-1 và ISO/TS 11133-2 về cách chuẩn bị, pha chế và tính năng thử nghiệm của môi trường.

### 5.2 Dịch pha loãng

Xem TCVN 6507 (ISO 6887) (phần có liên quan), TCVN 6263 (ISO 8261) hoặc tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm cần kiểm nghiệm.

### 5.3 Môi trường tăng sinh chọn lọc: Canh thang tryptozin lauryl sulfat

#### 5.3.1 Thành phần

	a) Môi trường nồng độ kép	b) Môi trường nồng độ đơn
Dịch thủy phân protein sữa và protein động vật bằng enzym	40 g	20 g
Lactoza ( $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ )	10 g	5 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 g	5 g
Natri lauryl sulfat	0,2 g	0,1 g
Nước	1 000ml	1 000 ml

#### 5.3.2 Chuẩn bị

Hòa tan các thành phần khác nhau hoặc môi trường hoàn chỉnh khô trong nước bằng cách đun nóng, nếu cần.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng pH là  $6,8 \pm 0,2$  ở  $25^\circ C$ , nếu cần.

Phân phối từng lượng môi trường 10 ml vào các ống có kích thước 16 mm x 160 mm (6.4) chứa ống Durham (6.5) đối với môi trường nồng độ đơn, và vào các ống nghiệm có kích thước 20 mm x 200 mm (6.4) [không chứa các ống Durham (6.5)] đối với môi trường nồng độ kép.

Khử trùng 15 min trong nồi hấp áp lực ở nhiệt độ 121 °C. Các ống Durham không được chứa các bọt khí sau khi khử trùng.

### 5.3.3 Kiểm tra tính năng về đảm bảo chất lượng môi trường cấy

Đối với việc xác định tính chọn lọc và hiệu quả, xem ISO/TS 11133-1. Kiểm tra tính năng đối với canh thang tryptosa lauryl sulfat theo ISO/TS 11133-2:2003, Bảng B.1.

## 5.4 Môi trường khẳng định: Canh thang mật lactoza lục sáng (lactose bile brilliant green broth)

### 5.4.1 Thành phần

Dịch thủy phân casein bằng emzym	10 g
Lactoza ( $C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O$ )	10 g
Mật bò khô	20 g
Lục sáng	0,0133 g
Nước	1 000 ml

### 5.4.2 Chuẩn bị

Hoà tan các thành phần hoặc môi trường hoàn chỉnh khô trong nước bằng cách đun nóng nhẹ, nếu cần.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng pH là  $7,2 \pm 0,2$  ở 25 °C, nếu cần.

Phân phối từng lượng môi trường 10 ml vào các ống có kích thước 16 mm x 160 mm (6.4) có ống Durham (6.5).

Khử trùng 15 min trong nồi hấp áp lực ở 121 °C. Các ống Durham không được chứa bọt khí sau khi khử trùng.

### 5.4.3 Kiểm tra tính năng về đảm bảo chất lượng môi trường cấy

Đối với việc xác định tính chọn lọc và hiệu quả, xem ISO/TS 11133-1. Kiểm tra tính năng đối với canh thang mật lactoza lục sáng theo Bảng B.1 của ISO/TS 11133-2:2003.

## 6 Thiết bị và dụng cụ thủy tinh

Sử dụng thiết bị, dụng cụ thông thường của phòng thử nghiệm vi sinh [TCVN 6263 (ISO 8261)] và cụ thể như sau:



## TCVN 4882:2007

### 6.1 Thiết bị để khử trùng khô (tủ sấy) hoặc để khử trùng ướt (nồi hấp áp lực)

Xem TCVN 6404 (ISO 7218).

### 6.2 Tủ ấm, có khả năng hoạt động ở $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ hoặc $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 6.3 Vòng que cấy, bằng platin/iridi hoặc niken/crom cỡ đường kính khoảng 3 mm hoặc vòng que cấy sử dụng một lần.

### 6.4 Các ống nghiệm, có kích thước khoảng 16 mm x 160 mm và 20 mm x 200 mm.

### 6.5 Ống Durham, phù hợp để dùng với các ống nghiệm có kích thước 16 mm x 160 mm (6.4).

### 6.6 Pipet xả hết, có dung tích danh định 1 ml và 10 ml.

### 6.7 Máy đo pH, chính xác đến $\pm 0,1$ đơn vị pH ở $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## 7 Lấy mẫu

Lấy mẫu theo tiêu chuẩn cụ thể thích hợp đối với sản phẩm liên quan. Nếu không có tiêu chuẩn cụ thể thì các bên có liên quan nên thỏa thuận với nhau vấn đề này.

## 8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6507 (ISO 6887) (phần có liên quan), TCVN 6263 (ISO 8261) hoặc tiêu chuẩn cụ thể thích hợp đối với sản phẩm. Nếu không có tiêu chuẩn cụ thể thì các bên có liên quan nên thỏa thuận với nhau vấn đề này.

## 9 Cách tiến hành (phụ lục A)

### 9.1 Phương pháp phát hiện (xem hình A.1)

#### 9.1.1 Phần mẫu thử và huyền phù ban đầu

Xem TCVN 6507 (ISO 6887) (phần có liên quan), TCVN 6263 (ISO 8261) hoặc tiêu chuẩn cụ thể thích hợp đối với sản phẩm liên quan.

#### 9.1.2 Cấy và ủ

9.1.2.1 Tùy thuộc vào giới hạn phát hiện yêu cầu, mà lấy x ml mẫu thử dạng lỏng hoặc x ml huyền phù ban đầu nếu mẫu thử ở dạng khác, chuyển vào ống nghiệm chứa 10 ml môi trường tăng sinh chọn

lọc nồng độ kép [5.3.1 a)] khi  $1 \text{ ml} < x < 10 \text{ ml}$ , hoặc vào ống nghiệm chứa 10 ml môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ đơn [5.3.1b)] khi  $x \leq 1 \text{ ml}$ .

**9.1.2.2** Để ống môi trường nồng độ kép (9.1.2.1) trong tủ ấm (6.2) ở  $30^\circ\text{C}$  hoặc  $37^\circ\text{C}$  (theo thỏa thuận) trong  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ .

**9.1.2.3** Để ống môi trường nồng độ đơn (9.1.2.1) trong tủ ấm (6.2) để ở  $30^\circ\text{C}$  hoặc  $37^\circ\text{C}$  (theo thỏa thuận) trong  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  hoặc nếu ở giai đoạn này mà không thấy có sinh khí hoặc mờ đục làm cản trở việc phát hiện sinh khí thì ủ tiếp  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ .

### 9.1.3 Phép thử khẳng định (xem hình A.3)

**9.1.3.1** Dùng vòng que cấy (6.3) lấy cấy dịch thu được trong 9.1.2.2 cấy vào ống môi trường thử khẳng định (5.4). Đặt vào tủ ấm (6.2) ở nhiệt độ  $30^\circ\text{C}$  hoặc  $37^\circ\text{C}$  (theo thỏa thuận) trong  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ , nếu không sinh khí ở giai đoạn này thì ủ trong  $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ .

**9.1.3.2** Tiến hành theo cùng một trình tự như trong 9.1.3.1 đối với các ống đã được ủ ấm trong 9.1.2.3 có biểu hiện sinh khí hoặc mờ đục làm cản trở việc phát hiện sinh khí, khi quan sát thấy một trong các biểu hiện đó (tức là sau  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  hoặc sau  $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ ).

### 9.1.4 Diễn giải kết quả (xem hình A.1)

Ống nghiệm thu được trong 9.1.3.1 hoặc 9.1.3.2 cho thấy sinh khí sau  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  và  $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  được coi là dương tính.

## 9.2 Phương pháp định lượng (MPN) (xem hình A.2)

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

Xem TCVN 6507 (ISO 6887) (phần có liên quan), TCVN 6263 (ISO 8261) hoặc tiêu chuẩn cụ thể thích hợp đối với sản phẩm liên quan.

Chuẩn bị một số độ pha loãng đủ để đảm bảo rằng các ống tương ứng với độ pha loãng cuối cùng sẽ cho kết quả âm tính.

### 9.2.2 Cấy và ủ

**9.2.2.1** Thông thường lấy một tổ hợp ba ống đối với mỗi độ pha loãng. Tuy nhiên, đối với một số sản phẩm và/hoặc các kết quả yêu cầu có độ chính xác lớn hơn, mà có thể cần thiết phải cấy một loạt nhiều hơn ba ống (ví dụ: năm ống). Đối với các trường hợp này, để tính MPN xem các bảng liên quan trong TCVN 6404 (ISO 7218).

## TCVN 4882:2007

**9.2.2.2** Lấy ba ống môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ kép [5.3.1a)]. Dùng pipet vô trùng (6.6) chuyển 10 ml mẫu thử nếu là chất lỏng hoặc 10 ml huyền phù ban đầu, nếu các sản phẩm ở dạng khác vào từng ống trên.

**9.2.2.3** Lấy ba ống môi trường tăng sinh chọn lọc nồng độ đơn [5.3.1b)]. Dùng pipet vô trùng (6.6) chuyển 1 ml mẫu thử nếu là chất lỏng hoặc 1 ml huyền phù ban đầu, nếu các sản phẩm ở dạng khác vào từng ống nghiệm nói trên.

**9.2.2.4** Đối với mỗi độ pha loãng tiếp theo, tiếp tục như mô tả trong 9.2.2.3. Sử dụng mỗi pipet vô trùng cho mỗi độ pha loãng. Trộn kỹ dịch cấy với môi trường.

**9.2.2.5** Để ống môi trường nồng độ kép (9.2.2.2) trong tủ ấm (6.2) để ở 30 °C hoặc 37 °C (theo thỏa thuận) trong 24 h ± 2 h.

**9.2.2.6** Để ống môi trường nồng độ đơn (9.2.2.3 và 9.2.2.4) trong tủ ấm (6.2) để ở 30 °C hoặc 37 °C (theo thỏa thuận) trong 24 h ± 2 h, hoặc nếu ở giai đoạn này mà không thấy sinh khí hoặc mờ đục làm cản trở việc phát hiện sinh khí thì ủ tiếp 24 h ± 2 h.

### 9.2.3 Phép thử khẳng định (xem hình A.3)

**9.2.3.1** Dùng que cấy vòng (6.3) cấy dịch cấy thu được trong 9.2.2.5 vào ống môi trường thử khẳng định (5.4). Đặt vào tủ ấm (6.2) ở nhiệt độ 30 °C hoặc 37 °C (theo thỏa thuận) trong 24 h ± 2 h, nếu không sinh khí ở giai đoạn này thì ủ tiếp 24 h ± 2 h.

**9.2.3.2** Tiến hành theo cùng một trình tự trong 9.2.3.1 đối với các ống đã được ủ ấm từ 9.2.2.6 có biểu hiện sinh khí hoặc mờ đục làm cản trở phát hiện sinh khí, khi quan sát lần thứ nhất (tức là sau 24 h ± 2 h hoặc sau 48 h ± 2 h).

### 9.2.4 Diễn giải kết quả (xem hình A.2)

Đối với mỗi độ pha loãng, đếm tổng số các ống quan sát thấy có sinh khí trong 9.2.3 (các ống dương tính) sau 24 h ± 2 h và sau 48 h ± 2 h (nếu có).

## 10 Tính và biểu thị kết quả

Theo các kết quả diễn giải (xem 9.1.4), chỉ rõ sự có mặt hay không có mặt coliform trong phần mẫu thử x g hoặc x ml của sản phẩm [xem TCVN 6404 (ISO 7218)].

Tính số có xác suất lớn nhất từ số ống dương tính đối với mỗi độ pha loãng. Xem [TCVN 6404 (ISO 7218)].

## 11 Độ chụm

Với kỹ thuật MPN có thể cho kết quả với dao động lớn, do đó hết sức thận trọng khi sử dụng kết quả thu được bằng phương pháp này.

Giới hạn tin cậy được nêu trong TCVN 6404 (ISO 7218).

## 12 Báo cáo thử nghiệm

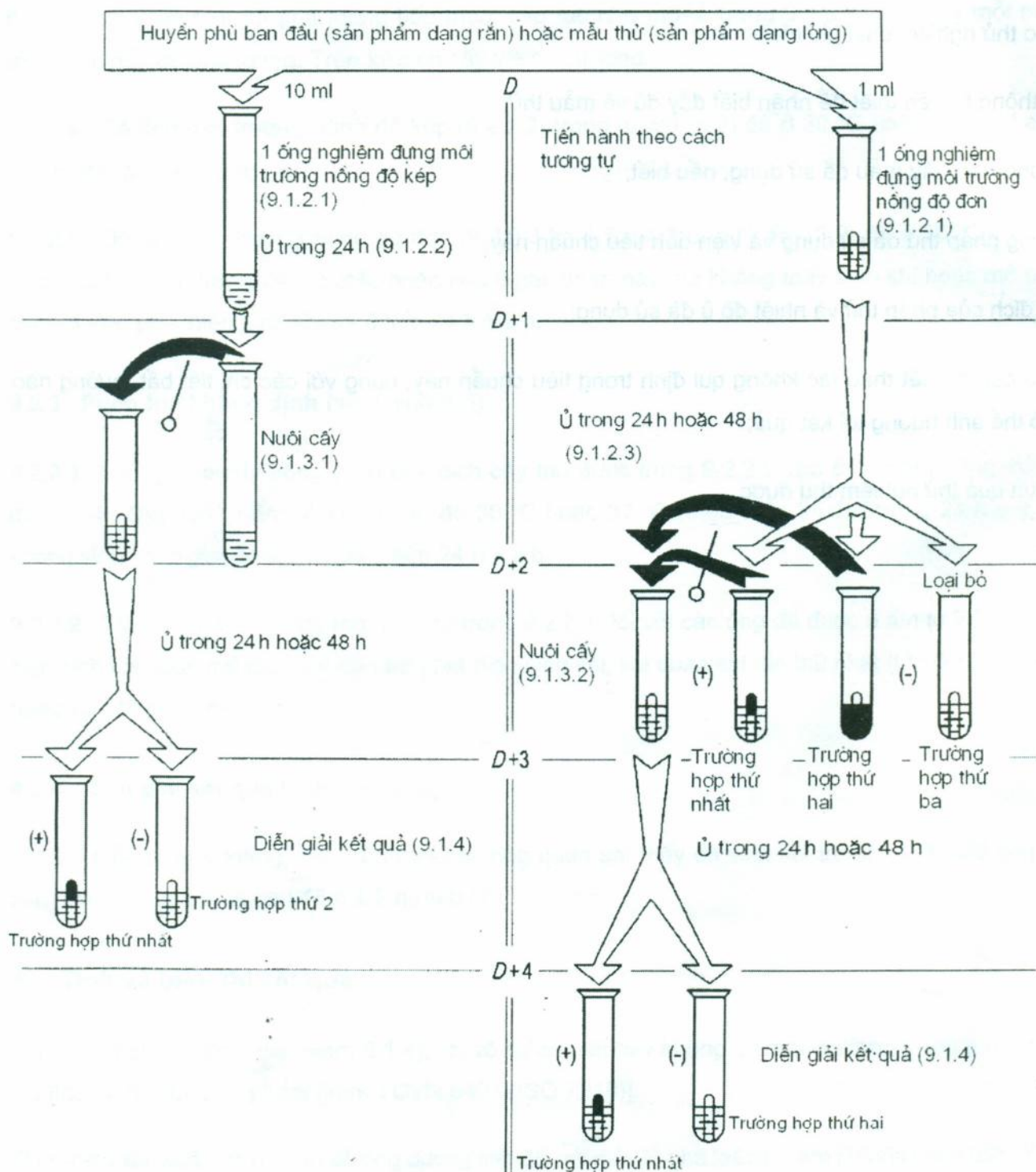
Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mục đích của phép thử và nhiệt độ ủ đã sử dụng;
- tất cả các chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- các kết quả thử nghiệm thu được.

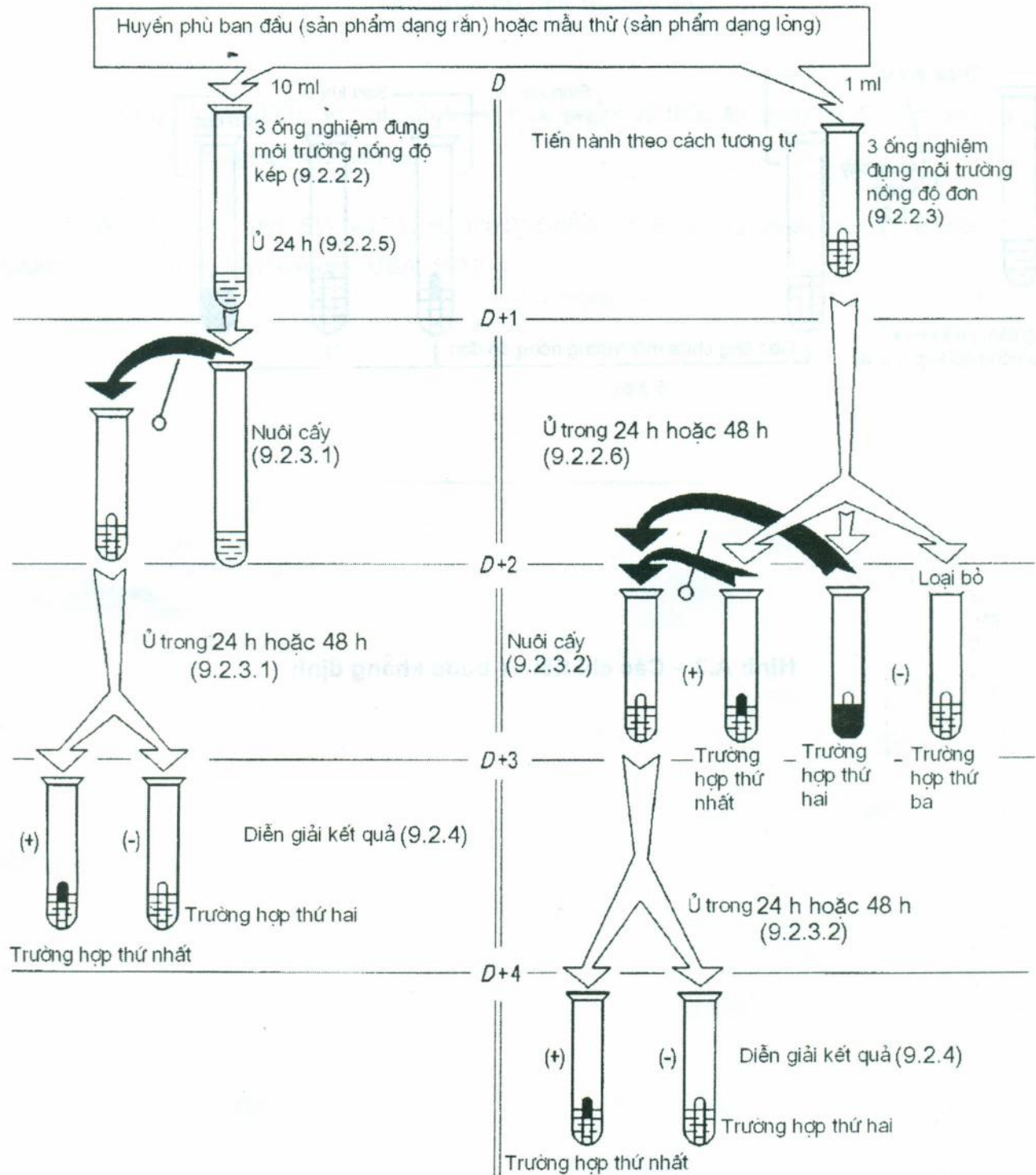
**Phụ lục A**

(Quy định)

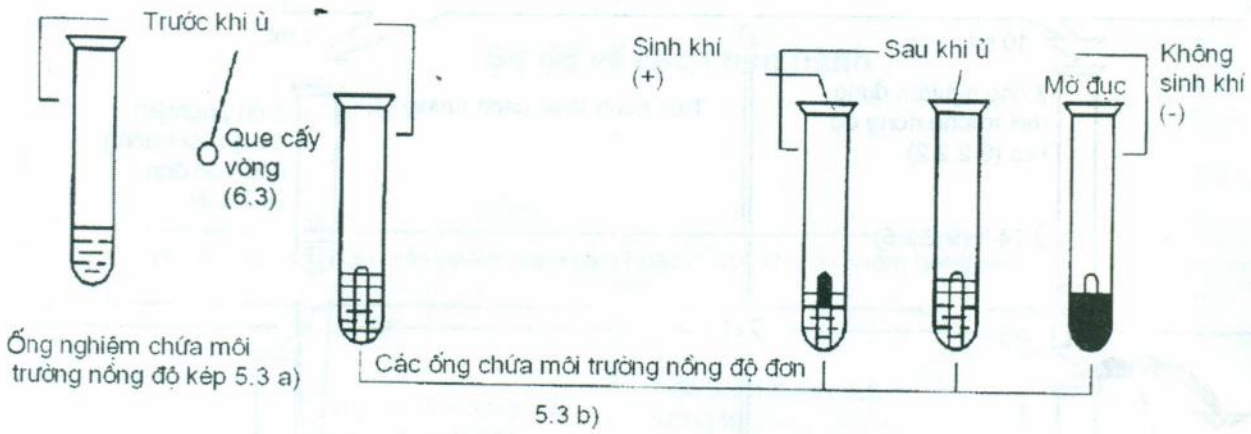
**Sơ đồ về cách tiến hành**



**Hình A.1 – Phương pháp phát hiện**



Hình A.2 – Phương pháp định lượng



Hình A.3 – Các chi tiết về bước khẳng định

### Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6848 (ISO 4832) Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng coliform – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc.
- [2] EDWARD, P.R. and EWING, W.H. Identification of Enterobacteriaceae 3<sup>rd</sup> edition, Burgess Publishing Company, Minneapolis, USA, 1972.
-