

TCVN

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 4884 : 2005

ISO 4833 : 2003

Xuất bản lần 3

**VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ
THỨC ĂN CHĂN NUÔI – PHƯƠNG PHÁP
ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT TRÊN ĐĨA THẠCH –
KỸ THUẬT ĐẾM KHUẨN LẠC Ở 30 °C**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for
the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30 °C*

0 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 tiếp 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. Hy vọng rằng 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.

Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch – Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30 °C

Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony count technique at 30 °C

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp định lượng vi sinh vật trên đĩa thạch bằng cách đếm khuẩn lạc phát triển trong môi trường đặc sau khi ủ trong điều kiện hiếu khí ở 30 °C. Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho các sản phẩm dùng cho người hoặc thức ăn chăn nuôi.

Khả năng áp dụng của tiêu chuẩn này bị hạn chế khi kiểm tra các thực phẩm và thức ăn chăn nuôi đã lên men. Để kiểm tra các thực phẩm và thức ăn chăn nuôi đã lên men thì các môi trường và/hoặc các điều kiện ủ khác có thể thích hợp hơn.

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 6507 (tất cả các phần) (ISO 6887), Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử, dung dịch huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật.

TCVN 6404 : 1998 (ISO 7218 : 1996), Vi sinh vật trong thực phẩm và trong thức ăn chăn nuôi – Nguyên tắc chung về kiểm tra vi sinh vật.

TCVN 4884 : 2005

TCVN 6263 (ISO 8261), Sữa và các sản phẩm sữa. Chuẩn bị mẫu thử và các dung dịch pha loãng để kiểm tra vi sinh.

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 cấy – Phần 1: Các hướng dẫn chung về đảm bảo chất lượng cho việc chuẩn bị môi trường cấy trong phòng thử nghiệm).

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

vi sinh vật (micro-organisms)

vi khuẩn, nấm men và nấm mốc hình thành khuẩn lạc có thể đếm được, được sinh ra trong các điều kiện qui định trong tiêu chuẩn này.

4 Nguyên tắc

4.1 Chuẩn bị hai đĩa rót sử dụng môi trường cấy qui định và một lượng mẫu thử qui định, nếu sản phẩm ban đầu ở dạng lỏng, hoặc dùng một lượng huyền phù ban đầu qui định nếu các sản phẩm ở dạng khác.

Chuẩn bị các cặp đĩa rót khác, trong cùng một điều kiện, sử dụng các dung dịch pha loãng thập phân của mẫu thử hoặc của huyền phù ban đầu.

4.2 Ủ trong điều kiện hiếu khí các đĩa ở 30 °C trong 72 h .

4.3 Tính số lượng vi sinh vật trong một mililit hoặc trong một gam mẫu từ số lượng khuẩn lạc thu được trên các đĩa đã chọn (xem điều 10).

5 Môi trường cấy và dịch pha loãng

Đối với thực hành trong phòng thử nghiệm, xem TCVN 6404 (ISO 7218) và ISO/TS 11133-1.

5.1 Dịch pha loãng

Xem các phần tương ứng của TCVN 6507 (ISO 6887).

5.2 Môi trường thạch để đếm đĩa (PCA)

5.2.1 Thành phần

Pepton từ casein	5,0 g
Cao nấm men	2,5 g
Glucosa, dạng khan ($C_6H_{12}O_6$)	1,0 g
Thạch ¹⁾	9 g đến 18 g
Nước	1 000 ml

¹⁾ Tùy thuộc vào sức đông của thạch.

Khi kiểm tra các sản phẩm sữa, cho 1,0 g bột sữa gầy vào một lít môi trường cấy. Bột sữa gầy không được chứa các chất gây ức chế.

5.2.2 Chuẩn bị

5.2.2.1 Chuẩn bị từ môi trường hoàn chỉnh khô loại thương mại

Theo chỉ dẫn của nhà sản xuất và thêm bột sữa gầy (xem 5.2.1), nếu cần.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là $7,0 \pm 0,2$ ở $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, nếu cần.

5.2.2.2 Chuẩn bị từ các thành phần cơ bản khô

Hoà tan các thành phần trong nước, theo thứ tự sau: cao nấm men, pepton từ casein, glucosa và bột sữa gầy, nếu cần. Đun nóng nước để hoà tan nhanh hơn.

Thêm thạch và đun đến sôi, thỉnh thoảng khuấy cho đến khi tan hết thạch.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là $7,0 \pm 0,2$ ở $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, nếu cần.

5.2.2.3 Phân phối, khử trùng và bảo quản

Phân phối môi trường vào các ống nghiệm (6.8), với các lượng từ 12 ml đến 15 ml vào mỗi ống hoặc bình hoặc chai (6.8) có dung tích không quá 500 ml.

Khử trùng 15 phút trong nồi hấp áp lực ở 121°C .

Nếu môi trường được sử dụng ngay thì làm nguội trong nồi cách thuỷ (6.5) đến nhiệt độ từ $44\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $47\text{ }^{\circ}\text{C}$ trước khi sử dụng. Nếu không dùng ngay thì bảo quản nơi tối ở nhiệt độ $3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ không quá

6 tháng. Trước khi sử dụng, kiểm tra không làm thay đổi thành phần và đặc tính của nó.

Ngay trước khi kiểm tra vi sinh vật, để tránh chậm trễ khi rót môi trường, nên làm tan chảy hoàn toàn môi trường rồi để nguội trong nồi cách thủy (6.5) đến nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng.

Để kiểm tra nhiệt độ của thạch, nên đặt một nhiệt kế vào một dung dịch kiểm soát thạch 15 g / l đựng trong vại chứa riêng biệt giống hệt như được sử dụng cho môi trường. Nhiệt độ dung dịch kiểm soát cũng cần qua các bước đun nóng và làm nguội giống như đối với môi trường.

5.2.3 Kiểm tra tính năng của môi trường cấy về sự đảm bảo chất lượng

Để kiểm tra tính năng của môi trường, xem ISO/TS 11133-1.

5.3 Môi trường phủ (xem 9.2.7, nếu cần)

5.3.1 Thành phần

Thạch ¹⁾	12 g đến 18 g
Nước	1 000 ml
¹⁾ Tùy thuộc vào sức đông của thạch.	

5.3.2 Chuẩn bị

Cho thạch vào nước và đun đến sôi, thường xuyên khuấy cho đến khi tan hết thạch, hoặc dùng hơi nước trong khoảng 30 phút.

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

5.3.3 Phân phối, khử trùng và bảo quản

Phân phối vào các ống nghiệm (6.8) hoặc bình hoặc chai (6.8) có dung tích thích hợp, mỗi ống 4 ml.

Khử trùng 15 phút trong nồi hấp áp lực ở 121°C.

Nếu môi trường được sử dụng ngay thì làm nguội trong nồi cách thủy (6.5) đến nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Nếu không dùng ngay, thì bảo quản nơi tối ở nhiệt độ $3 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ không quá 3 tháng dưới các điều kiện không làm thay đổi thành phần và đặc tính của nó.

Ngay trước khi kiểm tra vi sinh vật, để tránh chậm trễ khi rót môi trường, nên làm tan chảy hoàn toàn môi trường rồi để nguội trong nồi cách thủy (6.5) đến nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng.

6 Thiết bị và dụng cụ thủy tinh

Mọi thí nghiệm dùng bộ thí nghiệm sử dụng một lần thay thế cho các dụng cụ thủy tinh (nếu có) dùng nhiều lần nếu có hệ thống đặc tính thích hợp.

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

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 $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.3 Đĩa Petri, bằng thủy tinh hoặc chất dẻo có đường kính từ 90 mm đến 100 mm.

6.4 Pipet, có dung tích danh định 1 ml.

6.5 Nồi cách thủy, có thể hoạt động ở $44\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $47\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.6 Thiết bị đếm khuẩn lạc, ví dụ: có thể sử dụng bộ chiếu sáng với phông tối, được gắn với kính lúp có độ phóng đại thích hợp khoảng 1,5 x và bộ đếm cơ học hoặc điện tử số.

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

6.8 Ống nghiệm, bình hoặc chai có dung tích thích hợp và không lớn hơn 500 ml .

7 Lấy mẫu

Điều quan trọng là phòng thử nghiệm nhận được đúng mẫu đại diện và không bị hư hỏng hoặc biến đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Xem tiêu chuẩn riêng về lấy mẫu cho sản phẩm tương ứng. Nếu chưa có tiêu chuẩn riêng thì các bên liên quan tự thoả thuận với nhau về vấn đề này.

8. Chuẩn bị mẫu thử

Việc chuẩn bị mẫu thử theo các phần tương ứng của TCVN 6507 (ISO 6887) hoặc TCVN 6263 (ISO 8261) và tiêu chuẩn riêng tương ứng với sản phẩm. Nếu chưa có tiêu chuẩn riêng thì các bên liên quan tự thoả thuận với nhau về vấn đề này.

9 Cách tiến hành

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

Xem các phần tương ứng của TCVN 6507 (ISO 6887) và tiêu chuẩn riêng liên quan đến sản phẩm.

9.2 Cấy và ủ

9.2.1 Lấy hai đĩa Petri vô trùng (6.3). Dùng pipet vô trùng (6.4) cho vào mỗi đĩa 1 ml mẫu thử nếu sản phẩm là chất lỏng hoặc 1 ml huyền phù ban đầu nếu các sản phẩm ở dạng khác (độ pha loãng 10^{-1}).

9.2.2 Lấy hai đĩa Petri vô trùng (6.3) khác. Dùng pipet vô trùng (6.4) cho vào mỗi đĩa 1 ml dịch pha loãng 10^{-1} (nếu sản phẩm là chất lỏng) hoặc 1 ml dung dịch pha loãng 10^{-2} (nếu các sản phẩm ở dạng khác).

9.2.3 Lập lại trình tự này với các dịch pha loãng tiếp theo, sử dụng pipet mới vô trùng đối với mỗi dung dịch pha loãng thập phân, nếu cần.

9.2.4 Nếu thích hợp và nếu có thể, chỉ chọn các bước pha loãng tới hạn (ít nhất hai dung dịch pha loãng thập phân liên tiếp) để cấy các đĩa Petri sao cho thu được số đếm từ 15 khuẩn lạc đến 300 khuẩn lạc trên mỗi đĩa petri.

9.2.5 Rót vào mỗi đĩa Petri khoảng từ 12 ml đến 15 ml môi trường thạch đếm đĩa (5.2) ở 44 °C đến 47 °C. Thời gian từ khi chuẩn bị xong huyền phù ban đầu (hoặc dung dịch pha loãng 10^{-1} nếu sản phẩm là chất lỏng) đến khi rót môi trường (5.2) vào các đĩa không được vượt quá 45 phút.

9.2.6 Trộn cẩn thận dịch cấy với môi trường bằng cách xoay đĩa Petri và để cho hỗn hợp đông đặc lại bằng cách đặt các đĩa Petri trên bề mặt nằm ngang, mát.

9.2.7 Sau khi đông đặc hoàn toàn và chỉ khi nào nghi ngờ sản phẩm cần kiểm tra có chứa các vi sinh vật mà khuẩn lạc của chúng có thể mọc lan trên khắp bề mặt của môi trường, thì rót khoảng 4 ml môi trường phủ (5.3) ở 44 °C đến 47 °C lên bề mặt môi trường đã cấy mẫu. Để cho đông đặc như mô tả ở trên.

9.2.8 Lật ngược các đĩa đã cấy mẫu và đặt vào tủ ẩm (6.2) ở $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong $72\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Không xếp chồng cao quá sáu đĩa. Các chồng đĩa cần được tách khỏi nhau và cách xa thành và nóc tủ.

9.3 Đếm khuẩn lạc

9.3.1 Sau giai đoạn ủ qui định (9.2.8), đếm các khuẩn lạc trên các đĩa (10.1) sử dụng dụng cụ đếm khuẩn lạc (6.6), nếu cần. Kiểm tra các đĩa dưới ánh sáng dịu. Điều quan trọng là các khuẩn lạc chính phải được đếm và tránh đếm nhầm với các hạt không hoà tan hoặc chất kết tủa trên đĩa. Kiểm tra cẩn thận các khuẩn lạc nghi ngờ, khi cần nên dùng kính lúp có độ khuếch đại lớn hơn để phân biệt các khuẩn lạc với tạp chất lạ.

9.3.2 Các khuẩn lạc mọc lan rộng được coi là các khuẩn lạc đơn lẻ. Nếu ít hơn một phần tư đĩa mọc dày lan rộng, thì đếm các khuẩn lạc trên phần đĩa còn lại và tính số tương ứng cho cả đĩa. Nếu qua một phần tư đĩa bị mọc dày lan rộng thì loại bỏ đĩa và không đếm.

10 Biểu thị kết quả

10.1 Phương pháp tính

-Xem phần sửa đổi 1 của ISO 7218 : 1996.

10.2 Độ chụm

10.2.1 Yêu cầu chung

Các dữ liệu về độ chụm đã được đánh giá đối với các đĩa chứa nhiều hơn 15 khuẩn lạc và ít hơn 300 khuẩn lạc. Dữ liệu về độ chụm phụ thuộc vào sự liên kết hệ vi sinh vật và các chất nền của mẫu. Các dữ liệu này thu được từ các nghiên cứu cộng tác (xem [1], [2] và [3]) và có giá trị đối với sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng. Chúng có thể được dùng làm các số ước tính khi cần xác định số khuẩn lạc có trong sản phẩm khác.

10.2.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử độc lập đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn, tính theo \log_{10} của các vi sinh vật có trong một lít (tương ứng với 1,8 trên thang danh định số vi sinh vật trong một lít) không được lớn hơn giới hạn lặp lại $r = 0,25$.

CHÚ THÍCH: Giới hạn lặp lại này thu được từ các nghiên cứu cộng tác trên sữa nguyên liệu và sữa tiệt trùng (xem [1], [2] và [3]) và có thể được sử dụng cho các sản phẩm như thế.

10.2.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp trên vật liệu thử giống hệt nhau trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do các người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, tính theo \log_{10} của các vi sinh vật có trong một lít (tương ứng với 2,8 trên thang danh định số vi sinh vật trong một lít) không được lớn hơn giới hạn tái lập $R = 0,45$.

CHÚ THÍCH: Giới hạn tái lập này thu được từ các nghiên cứu cộng tác trên sữa nguyên liệu và sữa tiệt trùng (xem [1], [2] và [3]) và có thể được sử dụng cho các sản phẩm như thế.

10.3 Giải thích các kết quả thử nghiệm

Trong các ví dụ dưới đây, đã xem xét đến số liệu về độ chụm trung bình, mức xác suất là 95 % và phân tích một mẫu. Trong thực tế thì thường sử dụng trung bình của vài mẫu. Các con số được tính bằng số vi

a) Các điều kiện lặp lại

Kết quả thứ nhất: $10^5 = 100\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả thứ nhất và kết quả thứ hai không được lớn hơn $0,25 \log_{10}$ các đơn vị.

Kết quả thứ hai: $\log 10^{4,75} = 56\ 000$ hoặc

$\log 10^{5,25} = 178\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả thứ nhất và thứ hai có thể được chấp nhận nếu kết quả thứ hai không thấp hơn 56 000 hoặc không cao hơn 178 000.

b) Các điều kiện tái lập

Các kết quả thu được trong phòng thử nghiệm thứ nhất (trung bình của phép xác định kép): $10^5 = 100\ 000$.

Chênh lệch giữa kết quả thứ nhất và thứ hai thu được trong phòng thử nghiệm thứ hai không được lớn hơn $0,45 \log_{10}$ của các đơn vị:

Các kết quả thứ hai: $\log 10^{4,55} = 36\ 000$ hoặc

$\log 10^{5,45} = 280\ 000$

Chênh lệch giữa các kết quả thu được bởi phòng thử nghiệm thứ nhất và thứ hai có thể chấp nhận được nếu phòng thử nghiệm thứ hai thu được kết quả không thấp hơn 36 000 và không cao hơn 280 000.

Phụ lục A cho thấy cách tính và cách sử dụng sai lệch tới hạn (CD) để giải thích các kết quả.

10.4 Giới hạn tin cậy

Xem TCVN 6404 (ISO 7218).

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử nghiệm đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có thể ảnh hưởng đến kết quả;

Phụ lục A

(tham khảo).

Cách sử dụng sai lệch tới hạn (CD) để giải thích kết quả

Trong các ví dụ dưới đây đã xem xét đến dữ liệu về độ chụm trung bình, mức xác suất là 95 % và phân tích một mẫu. Trong thực tế thì thường sử dụng trung bình của vài mẫu. Các con số được tính bằng số vi sinh vật trong một lít.

a) Các điều kiện tái lập

Các kết quả thu được trong phòng thử nghiệm thứ nhất (trung bình của phép xác định kép): $10^5 = 100\ 000$.

Chênh lệch giữa kết quả này và kết quả thu được bởi phòng thử nghiệm thứ hai (trung bình của n phép xác định; trong ví dụ này $n = 2$) có thể được chấp nhận nếu nó không vượt quá sai lệch tới hạn (CD), theo \log_{10} các đơn vị:

$$CD = \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} = \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} = \sqrt{0,45^2 - \frac{0,25^2}{2}} = 0,41$$

trong đó

r là giới hạn lặp lại;

R là giới hạn tái lập.

Chênh lệch giữa các kết quả thu được bởi phòng thử nghiệm thứ nhất và thứ hai có thể chấp nhận được nếu phòng thử nghiệm thứ hai thu được kết quả không thấp hơn $10^{4,59} = 39\ 000$ hoặc không cao hơn $10^{5,41} = 257\ 000$.

b) So sánh với giới hạn (thử một phía)

Giới hạn: $10^5 = 100\ 000$

Chênh lệch giữa giới hạn và kết quả của phòng thử nghiệm (trung bình của n phép xác định, trong ví dụ này $n = 2$) được so sánh với giới hạn sai lệch tới hạn (CDL):

$$CDL = 0,84\sqrt{2} \times \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{n}\right)} = 0,84\sqrt{2} \times \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}} = 0,24$$

Các kết quả thử nghiệm đến $10^{5,24} = 174\ 000$ không chỉ ra được sự không phù hợp với giới hạn.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] PITON, C. , GRAPPIN, R. A Model for statistical evaluation of precision parameters of microbiological methods: Application to dry rehydratable film methods and IDG reference methods for enumeration of total aerobic mesophilic flora and coliforms in raw milk. J. AOAC, 74, 1991, pp. 92-103
- [2] SCOTTER, S. , ALDRIDGE, M, BACK, J., WOOD, R. Validation of European Community methods for microbiological and chemical analysis of raw and heat-treated milk. J. Assoc Publ. Analyst. , 29, 1993, pp. 1 – 32
- [3] DAHMS, S., WEISS H. Estimation of precision values for microbiological reference methods: Standardized pour plate technique. Milchwiss ., 53, 1988, pp. 555-559
-