# TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 5518-2:2007

ISO 21528-2:2004

VI SINH VẬT TRONG THỰC PHẨM VÀ THỨC ĂN CHĂN NUÔI - PHƯƠNG PHÁP PHÁT HIỆN VÀ ĐỊNH LƯỢNG ENTEROBACTERIACEAE - PHẦN 2: KỸ THUẬT ĐẾM KHUẨN LẠC

Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count method

#### Lời nói đầu

TCVN 5518-2:2007 cùng với TCVN 5518-1:2007 thay thế TCVN 5518-91, TCVN 6847:2001 (ISO 7402:1993) và TCVN 7136:2002 (ISO 5552:1997);

TCVN 5518-2:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 21528-2:2004;

TCVN 5518-2:2007 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.

TCVN 5518:2007 Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng Enterobacteriaceae, bao gồm các phần sau:

- Phần 1: Phát hiện và định lượng bằng kỹ thuật MPN có tiền tăng sinh;
- Phần 2: Kỹ thuật đếm khuẩn lạc.

#### Lời giới thiệu

Tiêu chuẩn này đưa ra hướng dẫn chung để kiểm tra các sản phẩm không được đề cập đến trong các tiêu chuẩn hiện hành và được xem xét bởi các tổ chức chuẩn bị các phương pháp thử vi sinh vật để áp dụng cho thực phẩm hoặc thức ăn chăn nuôi. Do tính đa đạng của thực phẩm và thức ăn chăn nuôi trong lĩnh vực áp dụng 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 các hướng dẫn 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 hòa 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 vậy 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 PHÁT HIỆN VÀ ĐỊNH LƯỢNG ENTEROBACTERIACEAE - PHẦN 2: KỸ THUẬT ĐẾM KHUẨN LẠC

Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony-count method

#### 1. Pham vi áp dung

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp định lượng Enterobacteriaceae mà không cần phải qua giai đoạn tiền tăng sinh. Phương pháp 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 phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường đặc sau khi ủ ấm ở 37°C (hoặc 30°C) 1).

Khi số lượng khuẩn lạc dự kiến có mặt nhiều hơn 100 trong một mililít hoặc một gam mẫu thử, thì nên dùng kỹ thuật này.

# 2. Tài liệu viện dẫn

¹) Nhiệt độ 37°C thường được sử dụng khi định lượng Enterobacteriaceae về chỉ thị vệ sinh. Cách khác nhiệt độ 30 °C có thể được chọn khi định lượng Enterobacteriaceae được kiểm soát vì mục đích công nghệ và bao gồm Enterobacteriaceae ưa lạnh.

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

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

TCVN 6507-1 (ISO 6887-1), 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.

TCVN 6507-2 (ISO 6887-2), 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 thịt và sản phẩm thịt.

TCVN 6507-3 (ISO 6887-3), 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.

TCVN 6507-4 (ISO 6887-4), 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.

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).

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 cấy - Phần 2: Các hướng dẫn thực hành về thử tính năng của môi trường cấy).

#### 3. Thuật ngữ và định nghĩa

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

#### **3.1. Enterobacteriaceae** (Enterobacteriaceae)

Vi sinh vật hình thành các khuẩn lạc đặc trưng trên thạch glucoza mật đổ tím và lên men glucoza và cho phản ứng oxidaza âm tính khi tiến hành phép thử theo phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

#### 3.2. Số đếm Enterobacteriaceae (count of Enterobacteriaceae)

Số lượng Enterobacteriaceae tìm thấy trong một mililit hoặc một gam mẫu thử, khi tiến hành thử theo phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

#### 4. Nguyên tắc

# 4.1. Chuẩn bi huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân tiếp theo

Từ mẫu thử chuẩn bị huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân tiếp theo.

# 4.2. Phân lập

Cấy một lượng xác định của mẫu thử nếu sản phẩm ở dạng lỏng hoặc huyền phù ban đầu nếu sản phẩm ở dạng khác, vào hai đĩa Petri (dùng kỹ thuật đổ đĩa) chứa thạch glucoza mật đỏ tím. Phủ lên trên bằng một lớp môi trường thạch này.

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

 $\dot{U}$  các đĩa thạch này ở 37°C (hoặc 30°C) trong 24 h ± 2 h.

# 4.3. Khẳng định

Các khuẩn lạc Enterobacteriaceae giả định được cấy truyền lên môi trường không chọn lọc và khẳng định bằng các phép thử lên men glucoza và kiểm tra sự có mặt của oxidaza.

#### 4.4. Tính toán

Tính số lượng Enterobacteriaceae có trong một mililit hoặc trong một gam mẫu thử từ số lượng khuẩn lạc điển hình đã khẳng định trên mỗi đĩa.

# 5. Dịch pha loãng, môi trường nuôi cấy và thuốc thử

Về thực hành trong phòng thử nghiệm hiện hành, xem TCVN 6404 (ISO 7218), ISO/TS 11133-1 và ISO/TS 11133-2.

#### 5.1. Dịch pha loãng

Xem TCVN 6507-1 (ISO 6887-1).

### 5.2. Môi trường nuôi cấy

## 5.2.1. Thạch glucoza mật đỏ tím (VRBG)

#### 5.2.1.1. Thành phần

5.2.1.1. Thaili phan		
Dịch thủy phân mô động vật bằng enzym	7,0 g	
Cao nấm men	3,0 g	
Muối mật No.3	1,5 g	
Glucoza	10,0 g	
Natri clorua	5,0 g	
Đỏ trung tính	0,03 g	
Tím tinh thể (crystal violet)	0,002 g	
Thạch	9 g đến 18 g <sup>a)</sup>	
Nước	1 000 ml	
a) Phụ thuộc sức đông của thạch		

#### 5.2.1.2. Chuẩn bị

Hòa tan các thành phần hoặc môi trường hoàn chỉnh khô trong nước bằng cách đun sôi.

Chỉnh pH sao cho sau khi đun sôi là 7,4 ± 0,2 ở 25°C, nếu cần.

Phân phối môi trường nuôi cấy này vào các ống nghiệm hoặc bình vô trùng (6.5) có dung tích không lớn hơn 500 ml.

Không khử trùng môi trường.

Chuẩn bị môi trường này ngay trước khi sử dụng. Môi trường nấu chảy được dùng trong vòng 4 h.

#### 5.2.1.3. Kiểm tra chất lượng môi trường nuôi cấy

Đối với việc xác định tính chọn lọc và hiệu quả, xem ISO/TS 11133-1. Đối với các tiêu chí thực hiện, xem ISO/TS 11133-2:2003, Bảng B.1.

#### 5.2.2. Thạch dinh dưỡng

#### 5.2.2.1. Thành phần

Cao thịt	3,0 g	
Dịch thủy phân mô động vật bằng enzym	5,0 g	
Natri clorua	5,0 g	
Thạch	9 g đến 18 g <sup>a)</sup>	
Nước	1 000 ml	
a) Phụ thuộc sức đông của thạch		

#### 5.2.2.2. Chuẩn bị

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

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là 7,3 ± 0,2 ở 25°C, nếu cần.

Phân phối môi trường nuôi cấy vào các ống nghiệm hoặc bình vô trùng (6.5) có dung tích không lớn hơn 500 ml.

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

# 5.2.2.3. Chuẩn bị các đĩa thạch

Chuyển vào mỗi đĩa Petri (6.6) khoảng 15 ml môi trường đã được làm tan chảy và làm nguội đến khoảng 47 °C và để cho đông đặc.

Ngay trước khi sử dụng, làm khô mặt thạch, và tốt nhất là mở nắp và để bề mặt thạch hướng xuống dưới ở trong tủ ấm (6.3) cho đến khi bề mặt thạch khô.

Nếu chuẩn bị trước, có thể bảo quản các đĩa thạch chưa khô này đến 2 tuần ở 5 °C  $\pm$  3 °C mà không làm thay đổi các thành phần của chúng.

#### 5.2.2.4. Kiểm tra chất lương môi trường nuôi cấy

Đối với việc xác định tính chọn lọc và hiệu quả, xem ISO/TS 11133-1. Đối với các tiêu chí thực hiện, xem ISO/TS 11133-2:2003, Bảng B.6.

#### 5.2.3. Thạch glucoza

#### 5.2.3.1. Thành phần

Dịch thủy phân casein bằng enzym	10,0 g
Cao nấm men	1,5 g
Glucoza	10,0 g
Natri clorua	5,0 g
Bromcresol tía	0,015 g
Thạch	9 g đến 18 g <sup>a)</sup>
Nước	1 000 ml
a) Phụ thuộc sức đông của thạch	

#### 5.2.3.2. Chuẩn bị

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

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

Phân phối môi trường nuôi cấy vào các ống nghiệm hoặc bình cầu vô trùng (6.5) có dung tích thích hợp.

Khử trùng 15 min trong nồi hấp áp lực (6.1) ở 121°C. Để các ống theo phương thẳng đứng.

Môi trường này có thể bảo quản đến 1 tuần ở 5 °C ± 3 °C.

Ngay trước khi sử dụng, làm nóng môi trường trong nước sôi hoặc luồng hơi nước trong 15 min, sau đó nhanh chóng làm nguội đến nhiệt độ ủ ấm.

#### 5.3. Thuốc thử oxidaza

#### 5.3.1. Thành phần

N,N,N'N' - Tetrametyl- $ ho$ -phenylendiamin dihydroclorua	1,0 g
Nước	100 ml

#### 5.3.2. Chuẩn bị

Hòa tan thành phần trên trong nước lanh.

Chuẩn bị thuốc thử ngay trước khi sử dụng.

Có thể sử dụng các đĩa hoặc que thử có bán sẵn. Trong trường hợp này, cần theo chỉ dẫn của nhà sản xuất.

# 6. Thiết bị và dụng cụ thủy tinh

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ phòng thử nghiệm vi sinh thông thường và cụ thể như sau [xem TCVN 6404 (ISO 7218)]

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 37°C ± 1°C.
- **6.3. Tủ sấy** (được đối lưu không khí) hoặc **tủ ấm**, có khả năng hoạt động ở nhiệt độ từ 37°C đến 55°C.
- **6.4. Nồi cách thủy**, hoặc thiết bị tương tự, có khả năng duy trì nhiệt độ từ 44°C đến 47°C.
- **6.5. Dụng cụ chứa**, (ví dụ: ống nghiệm) có kích thước khoảng 16 mm x 160 mm và 20 mm x 200 mm hoặc **bình cầu** hoặc **chai** có dung tích từ 150 ml đến 500 ml, thích hợp cho việc khử trùng và bảo quản môi trường cấy.
- 6.6. Đĩa Petri, bằng thủy tinh hoặc chất dẻo có đường kính từ 90 mm đến 100 mm.
- **6.7. Que cấy vòng** (đường kính khoảng 3 mm) và **que cấy,** bằng platin/iridi hoặc niken/crom, hoặc **đũa thủy tinh,** hoặc que cấy vòng hoặc kim cấy vô trùng tương đương sử dụng một lần.

- **6.8. Pipet chia độ xả hết**, dung tích danh định 1 ml được chia độ đến 0,1 ml, có lỗ xả với đường kính lỗ từ 2 mm đến 3 mm.
- 6.9. Máy đo pH, có độ chính xác đến ± 0,1 đơn vị pH ở 25°C.

#### 6.10. Dụng cụ đồng hóa.

Xem TCVN 6404 (ISO 7218).

### 7. Lấy mẫu

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

Phương pháp lấy mẫu phải tiến hành theo tiêu chuẩn riêng thích hợp với sản phẩm liên quan. Nếu không có tiêu chuẩn riêng thì các bên liên quan nên thỏa thuận với nhau về vấn đề này.

#### 8. Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6507-1 (ISO 6887-1), TCVN 6507-2 (ISO 6887-2), TCVN 6507-3 (ISO 6887-3), TCVN 6507-4 (ISO 6887-4) hoặc TCVN 6263 (ISO 8261) và/hoặc các tiêu chuẩn cụ thể thích hợp với sản phẩm có liên quan. Nếu không có các tiêu chuẩn cụ thể thì các bên có liên quan nên thỏa thuận với nhau về vấn đề này.

#### 9. Cách tiến hành

#### 9.1. Khái quát

Về cách tiến hành, xem TCVN 6404 (ISO 7218).

# 9.2. Phần mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng tiếp theo

Xem TCVN 6507-1 (ISO 6887-1), TCVN 6507-2 (ISO 6887-2), TCVN 6507-3 (ISO 6887-3), TCVN 6507-4 (ISO 6887-4) và/hoặc TCVN 6263 (ISO 8261).

Chuẩn bị một dãy các dung dịch pha loãng từ mẫu thử nếu sản phẩm ở dạng lỏng hoặc từ huyền phù ban đầu nếu sản phẩm ở dạng khác.

# 9.3. Cấy và ủ

**9.3.1.** Lấy hai đĩa Petri vô trùng (6.6). Dùng một pipet vô trùng (6.8) chuyển vào mỗi đĩa 1 ml mẫu thử nếu sản phẩm ở dạng lỏng hoặc 1 ml huyền phù ban đầu nếu sản phẩm ở dạng khác.

Lấy hai đĩa Petri vô trùng khác. Sử dụng một pipet vô trùng mới chuyển vào mỗi đĩa 1 ml dung dịch pha loãng thập phân thứ nhất (10<sup>-1</sup>) của mẫu thử nếu sản phẩm ở dạng lỏng hoặc 1 ml dung dịch pha loãng thập phân thứ nhất huyền phù ban đầu (10<sup>-2</sup>) nếu sản phẩm ở dạng khác.

Lặp lại qui trình này với các dung dịch pha loãng thập phân tiếp theo, sử dụng một pipet vô trùng mới cho mỗi độ pha loãng.

**9.3.2.** Rót vào mỗi đĩa Petri khoảng 10 ml môi trường glucoza mật đỏ tím (5.2.1) đã được chuẩn bị rồi làm nguội đến nhiệt độ từ 44°C đến 47°C trên nồi cách thủy (6.4). Thời gian tính từ khi rót môi trường vào đĩa Petri và cấy không được quá 15 min.

Trộn cẩn thận dịch cấy với môi trường bằng chuyển động ngang và để môi trường đông đặc, để các đĩa Petri trên mặt phẳng, mát.

- **9.3.3.** Sau khi hỗn hợp đông đặc, phủ lên trên một lớp dày khoảng 15 ml môi trường glucoza mật đỏ tím (5.2.1), đã được chuẩn bị và làm nguội theo 9.3.2, để ngăn ngừa vi khuẩn mọc lan rộng và để đảm bảo điều kiện nửa kỵ khí. Để đông đặc lại như mô tả ở trên.
- 9.3.4. Lật ngược các đĩa Petri đã chuẩn bị và ủ trong tủ ấm (6.2) để ở 37°C trong 24 h ± 2 h.

#### 9.4. Đếm và chon các khuẩn lạc để khẳng định

Các khuẩn lạc đặc trưng có màu hồng đến màu đỏ hoặc đỏ tía (có hoặc không có quầng tủa).

Chọn các đĩa (xem 9.3.4) có chứa ít hơn 150 khuẩn lạc đặc trưng; đếm các khuẩn lạc này. Chọn ngẫu nhiên năm khuẩn lạc này cấy truyền (xem 9.5) để thử khẳng định sinh hóa (9.6).

Phép xác định được coi là không có giá trị nếu một nửa hoặc nhiều hơn một nửa bề mặt của đĩa bị mọc quá dày. Nếu ít hơn một nửa bề mặt đĩa mọc quá dày thì đếm các khuẩn lạc trên phần mọc rõ và ngoại suy cho số lượng tương ứng với tổng diện tích bề mặt đĩa.

Enterobacteriaceae đích thực có thể làm phai màu các khuẩn lạc của chúng hoặc của môi trường. Do đó, khi không có mặt các khuẩn lạc đặc trưng, thì chọn năm khuẩn lạc hơi trắng để khẳng định.

#### 9.5. Cấy truyền các khuẩn lạc đã chọn

Ria cấy lên các đĩa thạch dinh dưỡng (5.2.2) từng khuẩn lạc đã được chọn để thử khẳng định (xem 9.4).

U các đĩa này ở 37°C trong 24 h ± 2 h.

Chọn khuẩn lạc được tách biệt rõ từ các đĩa đã ủ ấm để thử khẳng định sinh hóa (xem 9.6).

#### 9.6. Phép thử khẳng định sinh hóa

#### 9.6.1. Phản ứng oxidaza

Dùng que cấy vòng hoặc que cấy hoặc đũa thủy tinh (6.7), lấy một phần của mỗi khuẩn lạc được tách biệt rõ (9.5) và ria cấy lên giấy lọc đã được làm ẩm bằng thuốc thử oxidaza (5.3) hoặc lên các đĩa bán sẵn. Không dùng que cấy vòng hoặc que cấy bằng niken/crom.

Phép thử được coi là âm tính khi màu của giấy lọc đó không chuyển sang màu sẫm trong vòng 10 s.

Cần theo hướng dẫn của nhà sản xuất đối với các đĩa có bán sẵn.

#### 9.6.2. Thử lên men

Dùng que cấy (6.7) lấy cùng một loại khuẩn lạc đã được chọn trong 9.5 mà cho phép thử oxidaza âm tính cấy đâm sâu vào các ống chứa thạch glucoza (5.2.3).

Ủ các ống này ở 37°C trong 24 h ± 2 h.

Nếu màu vàng lan rộng khắp ống thạch, thì phản ứng được coi là dương tính.

#### 9.6.3. Diễn giải các phép thử sinh hóa

Các khuẩn lạc cho âm tính oxidaza và dương tính glucoza được khẳng định là Enterobacteriaceae.

# 10. Biểu thị kết quả

Xem TCVN 6404 (ISO 7218).

# 11. 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;
- nhiệt độ ủ ấm 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.

#### Phu luc A

(Qui định)

# Giới hạn tin cậy để ước tính số lượng nhỏ các khuẩn lạc

Các giới hạn tin cậy được đưa ra ở mức xác suất 95% để ước tính số lượng nhỏ các khuẩn lạc, khi số lượng khuẩn lạc được giữ lại ít hơn 15, được đưa ra trong Bảng A.1.

Bảng A.1 - Giới hạn tin cậy để ước tính các khuẩn lạc với số lượng nhỏ

Oá la como de la la cât	Giới hạn tin cậy ỏ	<sup>,</sup> mức 95%
Số lượng vi sinh vật	Dưới	Trên
1	<1	2
2	<1	4
3	<1	5
4	1	6
5	2	9
6	2	10
7	2	12
8	3	13
9	4	14
10	4	16

11	5	18
12	6	19
13	7	20
14	7	21
15	8	23

# THƯ MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] COWELL. N.D and MORISETTI M.D.J. Sci. Fd. Agric., 20, 1969, p.573