## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 1/25

# SALMONELLA TRONG THỰC PHẨM

	Biên soạn	Xem xét	Phê duyệt
Ký tên			
Họ và tên	Super Admin	Super Admin	Super Admin

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung cũ	Nội dung mới	Ngày sửa đổi
01	IV.			10-11-2018
02	IV.		SALMONEL LA TRONG THỰC PHẨM THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU MỤC ĐÍCH Tiêu chuẩn này qui định phương pháp phát hiệnSalmonell atrên đĩa thạch, trong đó	10-11-2018

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 2/25

		cóSalmonella	
		TyphivàSalmo	
		nella	
		Paratyphi.	
		PHAM VI ÁP	
		DŲNG Tiêu	
		chuẩn này có	
		thể áp dụng	
		cho: Các sản	
		phẩm dùng	
		cho người	
		hoặc thức ăn	
		chăn nuôi.	
		Các mẫu môi	
		trường trong	
		khu vục sản	
		xuất và xử lý	
		thực phẩm.	
		THUẬT NGỮ	
		VÀ ĐỊNH	
		NGHĨA TÀI	
		LIỆU THAM	
		KHẢO Tiêu	
		chuẩn này	
		được tham	
		chiếu	
		theo:TCVN	
		4829:2005	
		(ISO	
		6579:2002)	
		ABCD NỘI	
		DUNG Thiết	
		bị và dụng cụ	
		Cân kỹ thuật	
		Tủ ấm, có khả	
		năng ủ ở	
		37oC± 1oC và	
		41.5 oC± 1oC	
		Nồi hấp	
		autoclave Nõi	
		cách thủy: có	
		thể hoạt động	
		từ 44oC đến	
		47oC Máy	
		dập mẫu	
		Stomacher	
1	······	 ······	l

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 3/25

Thiết bị đếm khuẩn lac Máy đo pH Đĩa petri Pipet 1ml. Que cấy vòng. Ông nghiệm, bình hoăc chai có dung tích thích hợp và không lớn hơn 500ml Hóa chất và dung dịch hóa chất a.Môi trường tăng sinh sơ bộ không chọn lọc: Dung dịch đệm pepton Pepton từ casein 10.0g Natri Clorua 5.0g Na2HPO4.12 H2O 9.0g KH2PO4 1.5g Nước 1000ml Hòa tan các thành phần trong nước, đun nóng nếu cần. Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng, pH là 7.0 ± 0.2 ở 25oC, nếu cần. Phân phối 225ml hỗn hợp trên vào bình tam giác 250ml. Đậy nắp các bình. Khử trùng 15 phút trong nồi hấp

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 4/25

áp lực ở
121oC. b.Môi
trường tăng
sinh chọn lọc
thứ nhất: Môi
trường
_
Rappaport- Vassiliadis
v dssilladis với đậu tương
_
(môi trường
RVS): =>
Dung dịch A:
Pepton từ đậu
tương 5.0g
Natri Clorua
8.0g Kali
dihydro
phosphat
(KH2PO4)
1.4g Dikali
hydro
phosphat
(K2HPO4)
0.2g Nước
1000ml Hòa
tan các thành
phần trong
nước, đun
nóng đến
khoảng 70oC,
nếu cần. Dung
dịch này phải
được chuẩn bị
trong ngày
cùng với việc
chuẩn bị môi
trường hoàn
chỉnh RVS.
=> Dung dịch
B:
MgCl2.6H2O
400.0g Nước
1000ml Hòa
tan
MgCl2.6H2O
trong nước.

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 5/25

	Dung dịch này	
	có thể được	
	giữ trong lọ	
	thủy tinh tối	
	màu có nắp	
	đậy kín ở	
	nhiệt độ	
	phòng ít nhất	
	2 năm. Dung	
	dịch C: Oxalat	
	xanh malachit	
	0.4g Nước	
	100ml Hòa	
	tan oxalat	
	xanh malachit	
	trong nước.	
	Dung dịch này có thể được	
	The state of the s	
	giữ trong lọ	
	thủy tinh màu	
	nâu ở nhiệt độ	
	phòng trong ít	
	nhất 8 tháng.	
	Môi trường	
	hoàn chỉnh:	
	Dung dịch A	
	1000ml Dung	
	dịch B 100ml	
	Dung dịch C	
	10ml Cho	
	100ml dung	
	dịch B và	
	10ml dung	
	dịch C vào	
	1000ml dung	
	dịch A. Chỉnh	
	pH sao cho	
	khử trùng là	
	$5.2 \pm 0.2$ , nếu	
	cần. Phân phối	
	các lượng	
	10ml vào các	
	ống nghiệm	
	trước khi sử	
	dụng. Khử	
[	trùng 115oC	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 6/25

trong 15 phút. Bảo quản môi trường đã chuẩn bi ở  $3oC \pm 2oC$ . Sử dụng môi trường chuẩn bị trong ngày. c.Môi trường tăng sinh chọn loc thứ hai: Môi trường Novobioxin Tetrathionat Mullerkauffmann (môi trường MKTTn) Cân 89.5g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC Loc khử trùng 20ml **Iodine-**Potassium iodide solution vào 100ml môi

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 7/25

trường cơ bản dã dược hấp khử trùng và làm nguội. Iodine- Potassium Iodide Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ dĩa đặc chọn Iọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chứng cất ( theo nhà sán xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong mước bằng cách dun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nổi cách thủy ở 440C đến 470C, khuấy				
dā dược hấp khử trùng và làm nguội. Iodine- Potassium Iodide Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đã đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong urớc bằng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nôi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy			trường cơ hản	
khử trùng và làm nguội. Iodine- Potassium Iodide Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đã đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quả nhiệt. Chuyển ngay vào nổi cách thủy ở 440C đến 47oC, khuẩy			_	
làm nguội. Iodine- Potassium Iodide Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đã đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy				
Iodine- Potassium Iodide Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nôi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy				
Potassium lodide Solution: Potassium iodide 5.0g lodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đã đặc chọn lọc: Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy			_	
Iodide Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đã đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bảng cách dun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyến ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy			I I	
Solution: Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đã đặc chọn lọc: Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sán xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bảng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy				
Potassium iodide 5.0g Iodine 4.0g Nuớc 20ml Môi trường đổ đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hỏa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			Iodide	
iodide 5.0g Iodine 4.0g Nước 20ml Mối trường đố đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong mước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			Solution:	
Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy			Potassium	
Iodine 4.0g Nước 20ml Môi trường đổ đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy			iodide 5.0g	
Nước 20ml Môi trường đổ đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuẩy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 470C, khuẩy				
Môi trường đổ đĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			_	
dĩa đặc chọn lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nõi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
lọc : Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g mối trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp ấp lực. Hòa tan mối trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi mối trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyến ngay vào nối cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			_	
Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sối và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuẩy				
Lyzin Xyloza (thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
(thạch XLD) Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 440C đến 47oC, khuấy			_	
chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			I I	
xuất). Không hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
hấp áp lực. Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			( theo nhà sản	
Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan.  Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			xuất). Không	
Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan.  Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			hấp áp lực.	
nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			trường trong	
cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
thạch hòa tan. Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy			I I	
Không để quá nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
nhiệt. Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
ngay vào nồi cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
cách thủy ở 44oC đến 47oC, khuấy				
44oC đến 47oC, khuấy				
47oC, khuấy				
			và rót vào các	
đĩa. Để cho			đĩa. Để cho	
đông đặc.			đông đặc.	
Ngay trước				
khi sử dụng,				
làm khô các				
	ıI	L		

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 8/25

dĩa	thạch một
	h cẩn thận.
	o quản các
	đã rót đến
	ngày ở 3oC
	2oC Thạch
	Hektoen
	iteric Agar
	hạch HE)
	în 75g môi
	rờng trong
	00ml nước
	chưng cất
	neo nhà sản
	ất). Không
	ấp áp lực.
	àa tan môi
	rờng trong
	ước bằng
	h đun nóng
	khuấy liên
tų	c cho đến
	khi môi
tru	ờng sôi và
thạ	ch hòa tan.
Kh	ông để quá
nhi	ệt. Chuyển
	ay vào nồi
	ich thủy ở
	l4oC đến
47	oC, khuấy
	rót vào các
	a. Để cho
	tông đặc.
	gay trước
	ii sử dụng,
	m khô các
	thạch một
	th cần thận.
	o quản các
	đã rót đến
	ngày ở 3oC
	2oC Quy
	h thực hiện
	/QC Trong
	ối đợt phân
m	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 9/25

	tích nhân viên	
	phân tích phải	
	thực hiện	
	những mẫu	
	sau để đảm	
	bảo kết quả	
	phân tích:	
	Mẫu blank	
	Mẫu QC: Sử	
	dụng chứng	
	dương	
	Salmonella	
	typhi ATCC	
	14028 Quy	
	trình phân tích	
	Tăng sinh sơ	
	bộ không	
	chọn lọc: Cân	
	25g (hoặc	
	25ml) mẫu	
	cần kiểm tra	
	cho vào bình	
	tam giác có	
	chứa 225ml	
	dung dịch	
	đệm pepton đã	
	được khử	
	trùng. Đối với	
	mẫu Cacao và	
	các sản phẩm	
	có chứa cacao	
	(ví dụ nhiều	
	hơn 20%):	
	Thêm dung	
	dịch đệm	
	pepton tốt	
	nhất là 50g/l	
	casein (tránh	
	sử dụng casein	
	axit), hoặc	
	100g/l sữa bột	
	gầy vô trùng,	
	và sau khi ủ	
	khoảng 2h,	
	thêm 0,018g/l	
	Brilliant	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 10/25

	1
Green nếu	
thực phẩm có	
_	
nguy cơ bị	
nhiễm vi	
khuẩn Gram	
dương cao.	
Đối với thực	
phẩm có tính	
axit và axit	
hóa: Đảm bảo	
rằng pH	
không thấp	
hơn 4,5 trong	
suốt quá trình	
tăng sinh sơ	
bộ. Có thể	
điều chỉnh	
được pH mà	
không cần sử	
dụng que thử	
pH vô trùng	
bằng các thêm	
0,1ml	
Bromocresol	
tía (dung dịch	
cồn 0,04%)	
vào 1000ml	
dung dịch	
đệm pepton.	
Bromocresol	
tía có màu	
thay đổi từ	
vàng thành	
tím với vùng	
chuyển màu là	
pH 5,2 – 6,8	
Ů ở 37oC ±	
1oC trong 18h	
± 2h Tăng	
sinh chọn lọc:	
Chuyển 0,1ml	
dịch tăng sinh	
sơ bộ thu	
được vào ống	
chứa 10ml	
môi trường	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 11/25

RVS; chuyển
1ml dịch tăng
sinh sơ bộ thu
được vào ống
chứa 10ml
môi trường
MKTTn. Ú
môi trường
RVS đã cấy
dịch tăng sinh
ở 41,5oC ±
1oC trong 24h
_
± 3h, và môi
trường
MKTTn đã
cấy dịch tăng
sinh ở 37oC ±
1oC trong 24h
± 3h. Cấy lên
đĩa chọn lọc:
Dùng que cấy
vòng cấy
= -
chuyển từ dịch
cấy thu được
trong môi
trường RVS
và môi trường
MKTTn lên
bề mặt đĩa
XLD sao để
thu được các
khuẩn lạc tách
biệt rõ. Làm
tương tự với
môi trường
HE. Ủ các đĩa
XLD và các
đĩa HE lật úp
ở 37oC ± 1oC
trong 24h ±
3h. Đọc kết
quả: => Trên
môi trường
XLD : Khuẩn
lạcSalmonella
điển hình mọc

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 12/25

trên đĩa thạch	
XLD có tâm	
đen, quầng	
trong hoặc đỏ	
nhạt do sự đổi	
màu của chỉ	
thi.	
Salmonellatha	
y đổi âm tính	
5	
H2S mọc trên	
thạch XLD có	
màu hồng với	
tâm màu hồng	
đậm.	
Salmonelladu	
ơng tính	
lactose mọc	
trên thạch	
XLD là màu	
vàng có hoặc	
không có màu	
đen. => Trên	
môi trường	
HE: Khuẩn	
lạc có màu	
thay đổi từ	
xanh dương	
đến màu xanh	
lục, có hay	
không có tâm	
đen. Một số	
dòngSalmonel	
lacó tâm đen	
bóng rất lớn	
có thể chiếm	
gần hết khuẩn	
lạc. Khẳng	
định: Chọn	
khuẩn lạc để	
khẳng định:	
Để khẳng	
định, lấy từ	
mỗi đĩa ít nhất	
một khuẩn lạc	
điển hình và	
bốn khuẩn lạc	
 טטוו גוועמוו ומָכ	<u> </u>

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2

Lần ban hành: 1
Ngày ban hành: 10-11-2018
Trang: 13/25

tiếp theo nếu khuẩn lạc đầu tiến là âm tính. Cấy ria các khuẩn lạc đầu tiến là âm tính. Cấy ria các khuẩn lạc đầ chọn trên bề mặt các đĩa thạch dinh dưỡng đã được làm khổ, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cáy đẩm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đầm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dầm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dầm sâu Mâu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc khổng đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí tử glucose. => Bề mặt nghiêng của	
khuẩn lạc đầu tiên là âm tính. Cấy ria các khuẩn lạc dã chọn trên bề mặt các đĩa thạch dinh dưỡng đã được làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển dược. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đầm sâu xuống đáy. Ủ ờ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đầm sâu xuống dáy. Ủ ờ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cẩy đầm sâu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Mâu đó hoặc không đổi màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose> Bề mặt	tiếp theo nếu
tiến là âm tính. Cây ria các khuấn lạc đã chọn trên bề mặt các đĩa thạch đinh dưỡng đã dược làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẩng dịnh sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy glucose dương tính (sử dụng glucose) Mâu dó hoặc không đối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Mâu dó hoặc không dối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Mâu do hoặc vét rạn -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vét rạn -> sinh khí từ glucose> Bề mặt	
các khuẩn lạc dã chọn trên bề mặt các đĩa thạch đinh dưỡng dã được làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đẩm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu hàu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đô hoặc không đối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
các khuẩn lạc dã chọn trên bề mặt các đĩa thạch đinh dưỡng dã được làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đẩm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu hàu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đô hoặc không đối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	tính. Cấy ria
dã chọn trên bề mặt các dĩa thạch dinh dưỡng dã được làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển dược. Ư ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cẩy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. Shiện lợi của thạch và cấy đâm sâu xuống đẩy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống dáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng giucose) Màu dỏ hoặc không dối màu -> glucose âm tính (không sử dụng giucose) Màu den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
bè mặt các đĩa thạch dinh dưỡng dã được làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẩng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bè mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bè mặt	
thạch dinh dướng dã dược làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển dược. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đầm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dầm sâu xuống dáy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đầm sâu Mầu vầng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Mầu dố hoặc không đối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Mầu den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí tử glucose. => Bề mặt	
dước làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển dược. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đẩm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Mâu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose> Bề mặt	
dược làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển dược. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cây đầm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±toC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu dổ hoặc không dối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
sao cho các khuấn lạc phân lập tốt phát triển dược. Ư ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ờ 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống dáy. Ủ ở dâm sâu vuống dáy. Ủ ở dâm sâu dâm sâu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đó hoặc không đổi màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose đương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hhợtro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
phân lập tốt phát triển được. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose đương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hhợtro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	khuẩn lạc
phát triển dược. Ủ ở 37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khẳng dịnh sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đẩm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dẩm sâu wàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu dố hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
37oC ± 1oC trong 24h ± 3h. Khång dịnh sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu dỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
trong 24h ± 3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu dỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	được. Ủ ở
3h. Khẳng định sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 370C ±10C trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	$37$ oC $\pm$ 1oC
dịnh sinh hóa: -Thạch TSI: Cấy ria trên bê mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	trong 24h ±
-Thạch TSI:  Cấy ria trên bề  mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 370C ±10C trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose đương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	3h. Khẳng
Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy dâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu dỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Mau den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	định sinh hóa:
mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu den -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	-Thạch TSI:
của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	Cấy ria trên bề
cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	mặt nghiêng
xuống đáy. Ủ ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	của thạch và
ở 37oC ±1oC trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
trong 24h ± 3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
3h. => Cấy đâm sâu Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
dâm sâu Mau vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	_
vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
glucose dương tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính (không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
tính (sử dụng glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
glucose) Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
đổi hoặc không  đổi màu ->  glucose âm  tính ( không  sử dụng  glucose) Màu  đen -> sinh  hydro sunfua  Bọt hoặc vết  rạn -> sinh khí  từ glucose. =>  Bề mặt	
đối màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
glucose âm tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
tính ( không sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
sử dụng glucose) Màu đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
glucose) Màu đen —> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
đen -> sinh hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
hydro sunfua Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
rạn -> sinh khí từ glucose. => Bề mặt	
từ glucose. => Bề mặt	
Bề mặt	
IIgnieng Cua	
	   lighterig cua

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 14/25

thạch: Màu	
vàng ->	
lactose	
và/hoặc	
sucrose dương	
tính (sử dụng	
lactose	
và/hoặc	
sucrose) Màu	
đỏ hoặc không	
đổi màu ->	
lactose và	
sucrose âm	
tính (không sử	
dụng lactose	
cũng như	
không sử	
dụng sucrose)	
-Thạch	
Urê:Cấy ria	
trên bề mặt	
nghiêng của	
thạch. Ủ ở	
37oC ±1oC	
trong 24h ± 3h	
Phản ứng (+):	
sự phân giải	
urê thành	
ammoniac,	
làm phenol	
màu đỏ	
chuyển thành	
màu hồng và	
sau đó chuyển	
thành màu đỏ	
hồng. Phản	
ứng thường	
xuất hiện sau	
2h đến 4h.	
-Môi trường	
L-Lyzin đã	
khử nhóm	
cacboxyl: Cấy	
ngay phía	
dưới bề mặt	
 của môi	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 15/25

	trường lỏng.
	Ů ở 37oC ±
	1oC trong 24h
	± 3h. Phản
	ứng (+): Màu
	đục và đỏ tía
	sau khi ủ Phản
	ứng (-): Màu
	vàng Phát
	hiện β-
	galactosidaza:
	Cho một vòng
	đầy các khuẩn
	lạc nghi ngờ
	vào ống có
	chứa 0,25ml
	dung dịch
	muối. Thêm 1
	giọt toluene
	và lắc ống.
	Đặt ống này
	vào trong nồi
	cách thủy đặt
	ở 37oC trong
	5 phút. Thêm
	0.25ml thuốc
	thử β-
	galactosidaza và lắc đều.
	Đặt lại ống vào nồi cách
	thủy để ở
	37oC trong
	24h ± 3h,
	kiểm tra
	thường xuyên.
	Phản ứng (+):
	xuất hiện màu
	vàng sau 20
	phútMôi
	trường phản
	ứng VP
	(Voges-
	Proskauer):Ch
	o một vống
	đầy các khuẩn
hannan an a	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018 Trang: 16/25

lạc nghi ngờ
cho vào ống
chứa 3ml môi
trường VP. Ủ
ở 37oC ± 1oC
trong 24h ±
3h. Sau khi ủ,
thêm 2 giọt
dung dịch
creatin, 3 giọt
dung dịch
etylic 1-
naphtol và sau
đó thêm 2 giọt
dung dịch kali
hydroxit, lắc
đều sau mỗi
lần thêm từng
loại thuốc thử.
Phản ứng (+):
xuất hiện màu
hồng đến màu
đỏ sáng trong
15 phút. Môi
trường phản
ứng indol:
Cấy khuẩn lạc
nghi ngờ cho
vào ống chứa
5ml môi
trường
trypton/trypto
phan. Ů ở
37oC ± 1oC
trong 24h ±
3h. Sau khi ủ,
thêm 1ml
thuốc thử
Kovacs. Phản
ứng (+): xuất
hiện một vòng
màu đỏ Phản
ứng (-): xuất
hiện một vòng
màu nâu vàng. TÍNH KẾT
IINT KEI

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2

Lần ban hành: 1
Ngày ban hành: 10-11-2018
Trang: 17/25

QUẢ Giải thích phản ứng sinh hóa và huyết thanh: Phản ứng sinh hóa Tự ngưng kết Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng được coi	
thích phản ứng sinh hóa và huyết thanh: Phản ứng sinh hóa Tự ngưng kết Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
ứng sinh hóa và huyết thanh: Phản ứng sinh hóa Tự ngưng kết Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
và huyết thanh: Phản ứng sinh hóa Tự ngưng kết Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
ứng sinh hóa Tự ngưng kết Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
Tự ngưng kết Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
Phản ứng huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
huyết thanh Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
Giải thích Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
Điển hình Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
Không Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
O, Vi hoặc H dương tính Các chủng	
dương tính Các chủng	
Các chủng	
l dirac coi	
làSalmonella	
Điển hình	
Không Tất	
cả các phản	
ứng âm tính	
Có thể	
làSalmonella Điển hình Có	
Không thử	
nghiệm	
Phản ứng	
không điển	
hình Không/	
có Kháng	
nguyên O, Vi	
hoặc H dương	
tính Phản	
ứng không	
điển hình	
Không/có	
Tất cả các	
phản ứng âm	
tính Không	
được coi	
làSalmonella	
Xác nhận định	
danh: Các	
chủng được	
xem là	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 18/25

			1
	Salmonella, hoặc có thể làSalmonella, phải được gửi đến Trung tâm chuẩnSalmone llađã được công nhận để xác định typ. Khi gửi đi để định dạng phải kèm theo tất cả thông tin liên quan đến các chủng đó và cho dù được tách ra từ thực phẩm hay từ vụ ngộ độc thực phẩm.		

## I. MỤC ĐÍCH

 Tiêu chuẩn này qui định phương pháp phát hiện Salmonella trên đĩa thạch, trong đó có Salmonella Typhi và Salmonella Paratyphi.

## II. PHẠM VI ÁP DỤNG

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: QT.2 Lần ban hành: 1

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 19/25

- Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho:
- Các sản phẩm dùng cho người hoặc thức ăn chặn nuôi.
- Các mẫu môi trường trong khu vục sản xuất và xử lý thực phẩm.

#### III. THUẬT NGỮ VÀ ĐỊNH NGHĨA

#### IV. TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiêu chuẩn này được tham chiếu theo: TCVN 4829:2005 (ISO 6579:2002) ABCD

#### **NÔI DUNG** V.

## 1. Thiết bị và dụng cụ

- a. Cân kỹ thuật
- b. Tủ ấm, có khả năng ủ ở  $37^{\circ}$ C±  $1^{\circ}$ C và  $41.5^{\circ}$ C±  $1^{\circ}$ C
- c. Nồi hấp autoclave
- d. Nồi cách thủy: có thể hoat đông từ 44°C đến 47°C
- e. Máy dập mẫu Stomacher
- f. Thiết bị đếm khuẩn lạc
- g. Máy đo pH
- h. Đĩa petri
- Pipet 1ml.
- Que cấy vòng.
- k. Őng nghiệm, bình hoặc chai có dung tích thích hợp và không lớn hơn 500ml

### 2. Hóa chất và dung dịch hóa chất

a. <u>Môi trường tăng sinh sơ bộ không chon loc: Dung dịch đêm pepton</u>

Pepton từ casein	10.0g
Natri Clorua	5.0g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	9.0g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.5g
Nước	1000ml

Nước

Hòa tan các thành phần trong nước, đun nóng nếu cần.

### HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 20/25

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng, pH là 7.0 ± 0.2 ở 25°C, nếu cần.

Phân phối 225ml hỗn hợp trên vào bình tam giác 250ml. Đậy nắp các bình. Khử trùng 15 phút trong nồi hấp áp lực ở 121°C.

b. <u>Môi trường tăng sinh chọn lọc thứ nhất: Môi trường Rappaport-Vassiliadis với đậu tương (môi trường RVS):</u>

### => Dung dịch A:

Pepton từ đậu tương 5.0g

Natri Clorua 8.0g

Kali dihydro phosphat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 1.4g

Dikali hydro phosphat (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) 0.2g

Nước 1000ml

Hòa tan các thành phần trong nước, đun nóng đến khoảng 70°C, nếu cần. Dung dịch này phải được chuẩn bị trong ngày cùng với việc chuẩn bị môi trường hoàn chỉnh RVS.

### => Dung dịch B:

MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 400.0g

Nước 1000ml

Hòa tan MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O trong nước. Dung dịch này có thể được giữ trong lọ thủy tinh tối màu có nắp đậy kín ở nhiệt độ phòng ít nhất 2 năm.

### • Dung dich C:

Oxalat xanh malachit 0.4g

Nước 100ml

Hòa tan oxalat xanh malachit trong nước. Dung dịch này có thể được giữ trong lọ thủy tinh màu nâu ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 8 tháng.

### • Môi trường hoàn chỉnh:

Dung dịch A 1000ml

Dung dich B 100ml

Dung dịch C 10ml

Cho 100ml dung dịch B và 10ml dung dịch C vào 1000ml dung dịch A. Chỉnh pH sao cho khử trùng là  $5.2 \pm 0.2$ , nếu cần. Phân phối các lượng 10ml vào các ống nghiệm trước khi sử

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 21/25

dụng. Khử trùng 115°C trong 15 phút. Bảo quản môi trường đã chuẩn bị ở 3°C  $\pm$  2°C. Sử dụng môi trường chuẩn bị trong ngày.

c. <u>Môi trường tăng sinh chọn lọc thứ hai: Môi trường Novobioxin Tetrathionat Muller-</u>kauffmann (môi trường MKTTn)

Cân 89.5g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực

Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt.

Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44°C đến 47 °C

Lọc khử trùng 20ml Iodine-Potassium iodide solution vào 100ml môi trường cơ bản đã được hấp khử trùng và làm nguội.

### • Iodine-Potassium Iodide Solution:

Potassium iodide	5.0g
Iodine	4.0g
Nước	20ml

### d. Môi trường đổ đĩa đặc chon loc:

### Thạch Deoxycolat Lyzin Xyloza (thạch XLD)

Cân 55g môi trường trong 1000ml nước chưng cất ( theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực.

Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt.

Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44°C đến 47°C, khuấy và rót vào các đĩa. Để cho đông đặc.

Ngay trước khi sử dụng, làm khô các đĩa thạch một cách cẩn thận.

Bảo quản các đĩa đã rót đến 5 ngày ở 3°C ± 2°C

## Thạch Hektoen Enteric Agar (thạch HE)

Cân 75g môi trường trong 1000ml nước chưng cất (theo nhà sản xuất). Không hấp áp lực.

Hòa tan môi trường trong nước bằng cách đun nóng và khuấy liên tục cho đến khi môi trường sôi và thạch hòa tan. Không để quá nhiệt.

Chuyển ngay vào nồi cách thủy ở 44°C đến 47°C, khuấy và rót vào các đĩa. Để cho đông đặc.

Ngay trước khi sử dung, làm khô các đĩa thach một cách cần thân.

Bảo quản các đĩa đã rót đến 5 ngày ở 3°C ± 2°C

### HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 22/25

## 3. Quy định thực hiện QA/QC

Trong mỗi đợt phân tích nhân viên phân tích phải thực hiện những mẫu sau để đảm bảo kết quả phân tích:

Mẫu blank

Mẫu QC: Sử dụng chứng dương Salmonella typhi ATCC 14028

## 4. Quy trình phân tích

### 1. Tăng sinh sơ bộ không chọn lọc:

Cân 25g (hoặc 25ml) mẫu cần kiểm tra cho vào bình tam giác có chứa 225ml dung dịch đệm pepton đã được khử trùng.

Đối với mẫu Cacao và các sản phẩm có chứa cacao (ví dụ nhiều hơn 20%): Thêm dung dịch đệm pepton tốt nhất là 50g/l casein (tránh sử dụng casein axit), hoặc 100g/l sữa bột gầy vô trùng, và sau khi ủ khoảng 2h, thêm 0,018g/l Brilliant Green nếu thực phẩm có nguy cơ bị nhiễm vi khuẩn Gram dương cao.

Đối với thực phẩm có tính axit và axit hóa: Đảm bảo rằng pH không thấp hơn 4,5 trong suốt quá trình tăng sinh sơ bộ. Có thể điều chỉnh được pH mà không cần sử dụng que thử pH vô trùng bằng các thêm 0,1ml Bromocresol tía (dung dịch cồn 0,04%) vào 1000ml dung dịch đệm pepton. Bromocresol tía có màu thay đổi từ vàng thành tím với vùng chuyển màu là pH 5,2 – 6,8

 $\dot{U}$   $\dot{\sigma}$  37°C  $\pm$  1°C trong 18h  $\pm$  2h

### 2. Tăng sinh chon loc:

Chuyển 0,1ml dịch tăng sinh sơ bộ thu được vào ống chứa 10ml môi trường RVS; chuyển 1ml dịch tăng sinh sơ bộ thu được vào ống chứa 10ml môi trường MKTTn.

Ủ môi trường RVS đã cấy dịch tăng sinh ở  $41,5^{\circ}$ C  $\pm$   $1^{\circ}$ C trong  $24h \pm 3h$ , và môi trường MKTTn đã cấy dịch tăng sinh ở  $37^{\circ}$ C  $\pm$   $1^{\circ}$ C trong  $24h \pm 3h$ .

### 3. <u>Cấy lên đĩa chọn lọc:</u>

Dùng que cấy vòng cấy chuyển từ dịch cấy thu được trong môi trường RVS và môi trường MKTTn lên bề mặt đĩa XLD sao để thu được các khuẩn lạc tách biệt rõ.

Làm tương tư với môi trường HE.

 $\dot{U}$  các đĩa XLD và các đĩa HE lật úp ở 37°C  $\pm$  1°C trong 24h  $\pm$  3h.

## Đọc kết quả:

=> Trên môi trường XLD:

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 23/25

- O Khuẩn lạc Salmonella điển hình mọc trên đĩa thạch XLD có tâm đen, quầng trong hoặc đỏ nhạt do sự đổi màu của chỉ thị.
- O Salmonella thay đổi âm tính H<sub>2</sub>S mọc trên thạch XLD có màu hồng với tâm màu hồng đâm.
- O Salmonella dương tính lactose mọc trên thạch XLD là màu vàng có hoặc không có màu đen.
- => Trên môi trường HE: Khuẩn lạc có màu thay đổi từ xanh dương đến màu xanh lục, có hay không có tâm đen. Một số dòng *Salmonella* có tâm đen bóng rất lớn có thể chiếm gần hết khuẩn lac.

## 4. Khẳng định:

### • Chọn khuẩn lạc để khẳng định:

Để khẳng định, lấy từ mỗi đĩa ít nhất một khuẩn lạc điển hình và bốn khuẩn lạc tiếp theo nếu khuẩn lạc đầu tiên là âm tính.

Cấy ria các khuẩn lạc đã chọn trên bề mặt các đĩa thạch dinh dưỡng đã được làm khô, sao cho các khuẩn lạc phân lập tốt phát triển được.  $\mathring{\text{U}}$  ở  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  trong  $24\text{h} \pm 3\text{h}$ .

## • Khẳng định sinh hóa:

- Thạch TSI: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch và cấy đâm sâu xuống đáy. Ủ ở 37°C
   ±1 °C trong 24h ± 3h.
- => Cấy đâm sâu

Màu vàng -> glucose dương tính (sử dụng glucose)

Màu đỏ hoặc không đổi màu -> glucose âm tính ( không sử dụng glucose)

Màu đen -> sinh hydro sunfua

Bọt hoặc vết rạn -> sinh khí từ glucose.

=> Bề mặt nghiêng của thạch:

Màu vàng -> lactose và/hoặc sucrose dương tính (sử dụng lactose và/hoặc sucrose)

Màu đỏ hoặc không đổi màu -> lactose và sucrose âm tính (không sử dụng lactose cũng như không sử dụng sucrose)

- Thach Urê: Cấy ria trên bề mặt nghiêng của thạch. Ủ ở 37°C ±1 °C trong 24h ± 3h

Phản ứng (+): sự phân giải urê thành ammoniac, làm phenol màu đó chuyển thành màu hồng và sau đó chuyển thành màu đỏ hồng. Phản ứng thường xuất hiện sau 2h đến 4h.

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 24/25

- <u>Môi trường L-Lyzin đã khử nhóm cacboxyl</u>: Cấy ngay phía dưới bề mặt của môi trường lỏng. Ủ ở  $37^{\circ}$ C  $\pm$   $1^{\circ}$ C trong 24h  $\pm$  3h.

Phản ứng (+): Màu đục và đỏ tía sau khi ủ

Phản ứng (-): Màu vàng

• Phát hiện β-galactosidaza: Cho một vòng đầy các khuẩn lạc nghi ngờ vào ống có chứa 0,25ml dung dịch muối. Thêm 1 giọt toluene và lắc ống. Đặt ống này vào trong nồi cách thủy đặt ở 37°C trong 5 phút. Thêm 0.25ml thuốc thử β-galactosidaza và lắc đều. Đặt lại ống vào nồi cách thủy để ở 37°C trong 24h ± 3h, kiểm tra thường xuyên.

Phản ứng (+): xuất hiện màu vàng sau 20 phút.

- <u>Môi trường phản ứng VP (Voges-Proskauer):</u> Cho một vòng đầy các khuẩn lạc nghi ngờ cho vào ống chứa 3ml môi trường VP. Ủ ở 37°C ± 1°C trong 24h ± 3h. Sau khi ủ, thêm 2 giọt dung dịch creatin, 3 giọt dung dịch etylic 1-naphtol và sau đó thêm 2 giọt dung dịch kali hydroxit, lắc đều sau mỗi lần thêm từng loại thuốc thử.

Phản ứng (+): xuất hiện màu hồng đến màu đỏ sáng trong 15 phút.

Môi trường phản ứng indol: Cấy khuẩn lạc nghi ngờ cho vào ống chứa 5ml môi trường trypton/tryptophan. Ủ ở 37°C ± 1°C trong 24h ± 3h. Sau khi ủ, thêm 1ml thuốc thử Kovacs.

Phản ứng (+): xuất hiện một vòng màu đỏ

Phản ứng (-): xuất hiện một vòng màu nâu vàng.

## 5. TÍNH KẾT QUẢ

## Giải thích phản ứng sinh hóa và huyết thanh:

Phản ứng sinh hóa	Tự ngưng kết	Phản ứng huyết thanh	Giải thích
Điển hình		Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính	Các chủng được coi là Salmonella
Điển hình	Không	Tất cả các phản ứng âm tính	Có thể là Salmonella
Điển hình	Có	Không thử nghiệm	

## HƯỚNG DẪN VI SINH

Mã số: **QT.2** Lần ban hành: **1** 

Ngày ban hành: 10-11-2018

Trang: 25/25

Phản ứng không điển hình	IK nano/ca - I	Kháng nguyên O, Vi hoặc H dương tính	
Phản ứng không điển hình	Không/có	Tất cả các phản ứng âm tính	Không được coi là Salmonella

## Xác nhận định danh:

Các chủng được xem là Salmonella, hoặc có thể là *Salmonella*, phải được gửi đến Trung tâm chuẩn *Salmonella* đã được công nhận để xác định typ.

Khi gửi đi để định dạng phải kèm theo tất cả thông tin liên quan đến các chủng đó và cho dù được tách ra từ thực phẩm hay từ vụ ngộ độc thực phẩm.