



TRUNG TÂM KIỂM ĐỊNH HÀNG HOÁ VNIQ  
VNIQ 貨品檢定中心  
VIETNAM INSPECTION & QUARANTINE

## QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG TỔNG SỐ VI SINH VẬT HIẾU KHÍ

MÃ SỐ : VNIQ.B.SOP03

LẦN BAN HÀNH : 01

NGÀY BAN HÀNH : 21/07/2025

SỐ TRANG : 06

ĐÃ KIỂM SOÁT  
CONTROL  
Ngày 21 Tháng 7 Năm 2025

	Người biên soạn	Người thẩm xét	Người phê duyệt
Chữ ký			
Họ và tên	Phạm Việt Hoàng	Nguyễn Đức Hiếu	Nguyễn Quang Khởi
Chức danh	Thử nghiệm viên phòng Vi sinh	Trưởng phòng Vi sinh	Giám đốc Trung tâm
Ngày	20/07/2025	20/07/2025	21/07/2025



## **1. MỤC ĐÍCH**

Quy trình này quy định phương pháp định lượng tổng số vi sinh vật có thể phát triển và hình thành khuẩn lạc trong môi trường đặc sau khi ủ hiếu khí ở 30°C.

## **2. PHẠM VI ÁP DỤNG**

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

1) Các sản phẩm yêu cầu số lượng khuẩn lạc phát hiện được dưới mức quy định (dưới  $10^2$  CFU/g hoặc  $10^2$  CFU/ml đối với mẫu dạng lỏng hoặc dưới  $10^3$  CFU/g đối với mẫu dạng rắn).

2) Các sản phẩm dự kiến có chứa các khuẩn lạc mọc lan che khuất các khuẩn lạc của vi sinh vật khác, ví dụ: sữa và các sản phẩm sữa có thể chứa *Bacillus* spp. mọc lan.

Khả năng áp dụng bị hạn chế khi kiểm tra thực phẩm và thức ăn chăn nuôi đã lên men các môi trường hoặc điều kiện ủ khác có thể sẽ thích hợp hơn. Tuy nhiên, phương pháp này có thể áp dụng cho các sản phẩm nêu trên mặc dù không hiệu quả khi phát hiện các vi sinh vật chiếm ưu thế trong các sản phẩm đó.

## **3. TÀI LIỆU THAM KHẢO**

- TCVN 4884-1:2015: Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật - Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30°C bằng kỹ thuật đổ đĩa.
- ISO 4833-1:2013: Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique.

## **4. ĐỊNH NGHĨA, THUẬT NGỮ, CHỮ VIẾT TẮT**

### **4.1. Định nghĩa, thuật ngữ**

#### ***Vi sinh vật***

Cơ thể sống có kích thước rất nhỏ quan sát được bằng kính hiển vi, bao gồm vi khuẩn, nấm, động vật nguyên sinh và virus.

### **4.2. Chữ viết tắt**

- Không áp dụng

## **5. NỘI DUNG**

### **5.1. Nguyên tắc**

Lượng quy định của mẫu thử dạng lỏng hoặc lượng quy định của huyền phù ban đầu trong trường hợp các sản phẩm ở dạng khác, được rót vào đĩa Petri và trộn với môi trường nuôi cấy thạch tan chảy quy định.

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

Các đĩa được ủ trong điều kiện hiếu khí ở 30 °C trong 72 h.

Tính số lượng vi sinh vật trong một gam hoặc một mililit mẫu thử theo số lượng khuẩn lạc thu được trong các đĩa có chứa ít hơn 300 khuẩn lạc.

### 5.2. Thiết bị, dụng cụ

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

- Thiết bị khử trùng khô (tủ) hoặc khử trùng ướt (nồi hấp áp lực)
- Tủ ẩm, có thể duy trì nhiệt độ ở  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .
- Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C.
- Máy đo pH, có độ chính xác trong khoảng  $\pm 0,1$  đơn vị pH ở 25 °C.
- Đĩa Petri, bằng thủy tinh hoặc chất dẻo có đường kính từ 90 mm đến 100 mm.
- Pipet hoặc micropipet, xả hết (đầu thổi), miệng rộng và có dung tích danh định từ 1 ml đến 10 ml, được chia vạch 0,1 ml đến 0,5 ml tương ứng
- Thiết bị đếm khuẩn lạc (tùy chọn), cơ học hoặc điện tử có nền được rọi sáng thích hợp.
- Ống nghiệm, bình hoặc chai, có dung tích thích hợp và không quá 500 ml.

### 5.3. Môi trường nuôi cấy và dịch pha loãng

Thành phần và việc chuẩn bị thuốc thử và môi trường nuôi cấy được thực hiện theo hướng dẫn VNIQ.B.HD12 và/hoặc theo hướng dẫn của nhà sản xuất bao gồm các môi trường thuốc thử:

- Môi trường nuôi cấy: Thạch đếm đĩa (PCA).
- Dung dịch pha loãng: Nước peptone/ đệm peptone và nước muối peptone.

Việc thử nghiệm hiệu năng môi trường thuốc thử được thực hiện theo quy định của tiêu chuẩn tham chiếu và TCVN 8128 (ISO 11133). Chi tiết tại hướng dẫn VNIQ.B.HD12.

### 5.4. Các bước tiến hành

#### 5.4.1. Phần mẫu thử và huyền phù ban đầu

- Việc chuẩn bị mẫu thử theo các phần thích hợp của TCVN 6507 (ISO 6887), hoặc TCVN 8129 (ISO 18593) hoặc tiêu chuẩn riêng cho sản phẩm tương ứng. Chi tiết tại hướng dẫn VNIQ.B.HD04. Nếu chưa có tiêu chuẩn riêng hoặc yêu cầu đồng nhất khác so với các tiêu chuẩn ở trên thì các bên liên quan tự thỏa thuận với nhau về vấn đề này.
- Dung dịch đệm peptone hay bất kỳ dung dịch pha loãng thích hợp nào khác được đề cập trong TCVN 6507 (ISO 6887) hay trong bất kỳ tiêu chuẩn cụ thể nào phù hợp với mẫu thử liên quan đều có thể được sử dụng làm dung dịch pha loãng để tạo huyền phù ban đầu.

- Nhìn chung, để chuẩn bị huyền phù ban đầu, cho x g hoặc x mL phần mẫu thử vào 9x mL hoặc 9x g dịch pha loãng thích hợp, để thu được tỷ lệ của phần mẫu thử và môi trường pha loãng là 1/10 (khối lượng/thể tích hoặc thể tích/thể tích).

### 5.4.2. Cấy và ủ

**5.4.2.1.** Lấy hai đĩa Petri vô trùng. Dùng pipet vô trùng cho vào mỗi đĩa 1 ml mẫu thử nếu sản phẩm dạng lỏng hoặc 1 ml huyền phù ban đầu (độ pha loãng  $10^{-1}$ ) trong trường hợp các sản phẩm ở dạng khác. Nếu chuẩn bị các đĩa từ nhiều hơn một độ pha loãng thì có thể giảm xuống thành một đĩa [TCVN 6404 (ISO 7218)].

**5.4.2.2.** Lấy một đĩa Petri vô trùng khác. Dùng một pipet vô trùng khác phân phối 1 ml dịch pha loãng  $10^{-1}$  (sản phẩm dạng lỏng) hoặc 1 ml dịch pha loãng  $10^{-2}$  (các sản phẩm dạng khác).

**5.4.2.3.** Nếu cần, lặp lại quy trình với các dịch pha loãng tiếp theo, dùng pipet mới vô trùng với mỗi dịch pha loãng thập phân.

**5.4.2.4.** Nếu thích hợp chỉ chọn các độ pha loãng tới hạn (ít nhất hai dịch pha loãng thập phân liên tiếp) để cấy các đĩa Petri sao cho thu được từ 10 Khuẩn lạc đến 300 khuẩn lạc trên một đĩa.

**5.4.2.5.** Rót vào mỗi đĩa Petri khoảng từ 12 ml đến 15 ml môi trường thạch đếm đĩa ở nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C. Thời gian từ khi chuẩn bị xong huyền phù ban đầu (hoặc dịch pha loãng  $10^{-1}$  nếu sản phẩm dạng lỏng) đến khi rót môi trường thạch đếm đĩa vào các đĩa không được quá 45 min.

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

**5.4.2.7.** Sau khi hỗn hợp đông đặc hoàn toàn và nếu nghi ngờ cần kiểm tra sản phẩm có chứa các vi sinh vật có khuẩn lạc mọc lan trên bề mặt của môi trường, thì rót khoảng 4 ml môi trường thạch phủ hoặc môi trường thạch đếm đĩa ở nhiệt độ 44 °C đến 47 °C lên bề mặt môi trường đã cấy mẫu. Để cho đông đặc.

**5.4.2.8.** Lật ngược các đĩa đã chuẩn bị và đặt vào tủ ấm (6.2) ở  $(30 \pm 1)$  °C theo TCVN 6404 (ISO 7218). Ủ trong  $(72 \pm 3)$  h.

### 5.5. Đếm khuẩn lạc

Sau giai đoạn ủ quy định, giữ lại các đĩa có ít hơn 300 khuẩn lạc, nếu có thể. Đếm các khuẩn lạc trên các đĩa, sử dụng thiết bị đếm khuẩn lạc nếu cần. Kiểm tra các đĩa dưới ánh sáng dịu. Điều quan trọng là các khuẩn lạc chính phải được đếm. Tuy nhiên, điều cần thiết là phải tránh đếm nhầm các hạt không hòa tan hoặc chất kết tủa trên đĩa với các khuẩn lạc chính. Kiểm tra cẩn thận các khuẩn lạc nghi ngờ, sử dụng kính lúp có độ khuếch đại lớn hơn khi cần để phân biệt các khuẩn lạc với tạp chất.

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

### 5.6. Tính toán và biểu thị kết quả

- Việc tính toán và biểu thị kết quả được thực hiện theo TCVN 6404 (ISO 7218). Chi tiết thể hiện theo hướng dẫn yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật mục 5.8.3.2 (VNIQ.B.HD01).
- Tính toán và báo cáo số lượng vi sinh vật hiếu khí trong phần mẫu thử, theo khối lượng quy định bằng gam hay mililit mẫu thử, trên  $\text{cm}^2$  hoặc trên dụng cụ lấy mẫu.
- Quá trình thực hiện thử nghiệm được thể hiện trên biểu mẫu B.SOP03.BM01.

### 5.7. Báo cáo kết quả

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- Mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử
- Phương pháp lấy mẫu nếu biết
- Phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn quy trình này
- Tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong quy trình này, cùng với các chi tiết bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả
- Kết quả thử nghiệm thu được, nêu rõ phương pháp biểu thị kết quả. Kết quả được thể hiện trên biểu mẫu B.SOP03.BM01.

## 6. LƯU TRỮ HỒ SƠ

Thực hiện hướng dẫn này cần lưu giữ hồ sơ, nơi lưu, thời gian lưu theo Quy trình kiểm soát hồ sơ VNIQ.QM.QT07.

## 7. PHỤ LỤC

- VNIQ.B.SOP03 : Quy trình định lượng tổng số vi sinh vật  
B.SOP03.BM01 : Biên bản kiểm nghiệm định lượng tổng số vi sinh vật hiếu khí

INTERNATIONAL  
STANDARD



ISO  
Add: 8 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi  
Tel: 0243 756 5467  
Website: www.ismq.vn  
Email: tieuchuan@tcvn.gov.vn  
**4833-1**

This copy has been made by information  
Center for Standards, Metrology and Quality  
2013/09-01

AMENDMENT 1  
2022-01

**ĐÃ KIỂM SOÁT  
CONTROL**

Ngày 02 Tháng 07 Năm 2025

## Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms —

### Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique

#### AMENDMENT 1: Clarification of scope

*Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour  
le dénombrement des micro-organismes —*

*Partie 1: Comptage des colonies à 30 °C par la technique  
d'ensemencement en profondeur*

*AMENDEMENT 1: Clarification du domaine d'application*



Reference number  
ISO 4833-1:2013/Amd.1:2022(E)

© ISO 2022



Add: 8 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, HN

Tel: 0243 756 5467

Website: [www.ismq.vn](http://www.ismq.vn)

Email: [tieuchuan@tcvn.gov.vn](mailto:tieuchuan@tcvn.gov.vn)

ISO 4833-1:2013/Amd.1:2022(E)

## Foreword

This copy has been made by information  
Center for Standards, Metrology and Quality

ISO (the International Organization for Standardization) is a worldwide federation of national standards bodies (ISO member bodies). The work of preparing International Standards is normally carried out through ISO technical committees. Each member body interested in a subject for which a technical committee has been established has the right to be represented on that committee. International organizations, governmental and non-governmental, in liaison with ISO, also take part in the work. ISO collaborates closely with the International Electrotechnical Commission (IEC) on all matters of electrotechnical standardization.

The procedures used to develop this document and those intended for its further maintenance are described in the ISO/IEC Directives, Part 1. In particular, the different approval criteria needed for the different types of ISO documents should be noted. This document was drafted in accordance with the editorial rules of the ISO/IEC Directives, Part 2 (see [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Attention is drawn to the possibility that some of the elements of this document may be the subject of patent rights. ISO shall not be held responsible for identifying any or all such patent rights. Details of any patent rights identified during the development of the document will be in the Introduction and/or on the ISO list of patent declarations received (see [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Any trade name used in this document is information given for the convenience of users and does not constitute an endorsement.

For an explanation of the voluntary nature of standards, the meaning of ISO specific terms and expressions related to conformity assessment, as well as information about ISO's adherence to the World Trade Organization (WTO) principles in the Technical Barriers to Trade (TBT), see [www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

This document was prepared by Technical Committee TC 34, *Food products*, Subcommittee SC 9, *Microbiology*, in collaboration with the European Committee for Standardization (CEN) Technical Committee CEN/TC 463, *Microbiology of the food chain*, in accordance with the Agreement on technical cooperation between ISO and CEN (Vienna Agreement).

A list of all parts in the ISO 4833 series can be found on the ISO website.

Any feedback or questions on this document should be directed to the user's national standards body. A complete listing of these bodies can be found at [www.iso.org/members.html](http://www.iso.org/members.html).



# Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms —

## Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique

### AMENDMENT 1: Clarification of scope

#### *Clause 1, Scope*

Replace the text with the following:

This document specifies a horizontal method for enumeration of microorganisms that are able to grow and form colonies in a solid medium after aerobic incubation at 30 °C.

The method described in this document is applicable to:

- products intended for human consumption;
- products intended for feeding animals (including pets);
- environmental samples in the area of food and feed production and handling;
- all samples from the primary production stage.

This technique is suitable for, but not limited to, the enumeration of microorganisms in test samples with a minimum of 10 colonies counted on a plate. This corresponds to a level of contamination that is expected to be higher than 10 cfu/ml for liquid samples or higher than 100 cfu/g for solid samples.

This technique is especially suitable for:

- products that require a reliable count when a low limit of quantification is specified,
- products expected to contain spreading colonies that can obscure colonies of other organisms, e.g. milk and milk products likely to contain spreading *Bacillus* species;
- products expected to contain bacteria that are sensitive to oxygen, e.g. some lactic acid bacteria that develop during shelf life or modified atmosphere storage.

This horizontal method was originally developed for the examination of samples belonging to the food chain. Because of the large variety of products in the food chain, it is possible that this horizontal method is not appropriate in every detail for all products. Nevertheless, it is expected that the required modifications are minimized so that they do not result in a significant deviation from this horizontal method.

Based on the information available at the time of publication of this document, the suitability of this method for the examination of certain fermented food and animal feeds is considered to be limited and other media or incubation conditions can be more appropriate. However, this method can still be applied to such products even though it is possible that the predominant microorganisms in those products are not detected effectively.

INTERNATIONAL  
STANDARD

Add: 8 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, HN  
Tel: 0243 756 5467  
Website: www.ismq.vn  
Email: tieuchuan@tcvn.vn

ISO  
4833-2

This copy has been made by information  
Center for Standards, Metrology and Quality

First edition  
2013-09-01

AMENDMENT 1  
2022-01

---

## Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms —

Part 2:

### Colony count at 30 °C by the surface plating technique

#### AMENDMENT 1: Clarification of scope

*Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour  
le dénombrement des micro-organismes —*

*Partie 2: Comptage des colonies à 30 °C par la technique  
d'ensemencement en surface*

*AMENDEMENT 1: Clarification du domaine d'application*



Reference number  
ISO 4833-2:2013/Amd.1:2022(E)

© ISO 2022



Add: 8 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, HN

Tel: 0243 756 5467

Website: [www.iso.org](http://www.iso.org) **ISO 4833-2:2013/Amd.1:2022(E)**

Email: [tieuchuan@tcvn.gov.vn](mailto:tieuchuan@tcvn.gov.vn)

This copy has been made by information  
Center for Standards, Metrology and Quality

## Foreword

ISO (the International Organization for Standardization) is a worldwide federation of national standards bodies (ISO member bodies). The work of preparing International Standards is normally carried out through ISO technical committees. Each member body interested in a subject for which a technical committee has been established has the right to be represented on that committee. International organizations, governmental and non-governmental, in liaison with ISO, also take part in the work. ISO collaborates closely with the International Electrotechnical Commission (IEC) on all matters of electrotechnical standardization.

The procedures used to develop this document and those intended for its further maintenance are described in the ISO/IEC Directives, Part 1. In particular, the different approval criteria needed for the different types of ISO documents should be noted. This document was drafted in accordance with the editorial rules of the ISO/IEC Directives, Part 2 (see [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Attention is drawn to the possibility that some of the elements of this document may be the subject of patent rights. ISO shall not be held responsible for identifying any or all such patent rights. Details of any patent rights identified during the development of the document will be in the Introduction and/or on the ISO list of patent declarations received (see [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Any trade name used in this document is information given for the convenience of users and does not constitute an endorsement.

For an explanation of the voluntary nature of standards, the meaning of ISO specific terms and expressions related to conformity assessment, as well as information about ISO's adherence to the World Trade Organization (WTO) principles in the Technical Barriers to Trade (TBT), see [www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

This document was prepared by Technical Committee TC 34, *Food products*, Subcommittee SC 9, *Microbiology*, in collaboration with the European Committee for Standardization (CEN) Technical Committee CEN/TC 463, *Microbiology of the food chain*, in accordance with the Agreement on technical cooperation between ISO and CEN (Vienna Agreement).

A list of all parts in the ISO 4833 series can be found on the ISO website.

Any feedback or questions on this document should be directed to the user's national standards body. A complete listing of these bodies can be found at [www.iso.org/members.html](http://www.iso.org/members.html).



Add: 8 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, HN

Tel: 0243 756 5467

Website: [www.iso4833-2:2013/Amd.1:2022\(E\)](http://www.iso4833-2:2013/Amd.1:2022(E))

Email: [tieuchuan@tcvn.gov.vn](mailto:tieuchuan@tcvn.gov.vn)

This copy has been made by information  
Center for Standards, Metrology and Quality

# Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms —

## Part 2:

## Colony count at 30 °C by the surface plating technique

### AMENDMENT 1: Clarification of scope

#### Clause 1, Scope

Replace the text with the following:

This document specifies a horizontal method for enumeration of microorganisms that are able to grow and form colonies on the surface of a solid medium after aerobic incubation at 30 °C.

The method described in this document is applicable to:

- products intended for human consumption;
- products intended for feeding animals (including pets);
- environmental samples in the area of food and feed production and handling;
- all samples from the primary production stage.

This technique is suitable for, but not limited to, the enumeration of microorganisms in test samples with a minimum of 10 colonies counted on a plate. This corresponds to a level of contamination that is expected to be higher than 100 cfu/ml for liquid samples or higher than 1 000 cfu/g for solid samples.

This technique is especially suitable for:

- products containing heat-sensitive organisms that are likely to form a significant proportion of the total flora (e.g. psychrotrophic organisms in chilled and frozen foods, dried foods, other foods that can contain heat-sensitive organisms);
- products containing obligately aerobic bacteria that are likely to form a significant proportion of the total flora (e.g. *Pseudomonas* species.);
- products that contain small particles that can prove difficult to distinguish from colonies in a pour plate;
- products whose intense colour prevents the recognition of colonies in a pour plate;
- products for which a distinction between different types of colony is desired as part of the assessment of food quality.

In addition to the manual spread plating technique, this document also describes the use of a spiral plater, an automated method of performing surface colony counts (see Annex A).

This horizontal method was originally developed for the examination of samples belonging to the food chain. Because of the large variety of products in the food chain, it is possible that this horizontal method is not appropriate in every detail for all products. Nevertheless, it is expected that the required modifications are minimized so that they do not result in a significant deviation from this horizontal method.



# TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 4884-1:2015

ISO 4833-1:2013

**ĐÃ KIỂM SOÁT  
CONTROL**

Ngày 02 Tháng 07 Năm 2025

## VI SINH VẬT TRONG CHUỖI THỰC PHẨM - PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT - PHẦN 1: ĐẾM KHUẨN LẠC Ở 30 °C BẰNG KỸ THUẬT ĐỔ ĐĨA

*Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique*

### Lời nói đầu

TCVN 4884-1:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 4833-1:2013;

TCVN 4884-1:2015 cùng với TCVN 4884-2:2015 thay thế TCVN 4884:2005;

TCVN 4884-1:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố;

Bộ tiêu chuẩn TCVN 4884 (ISO 4833) *Vi sinh vật trong chuỗi thực phẩm - Phương pháp định lượng vi sinh vật*, gồm các phần sau đây:

- TCVN 4884-1:2015 (ISO 4833-1:2013), *Phần 1: Đếm khuẩn lạc ở 30 °C bằng kỹ thuật đổ đĩa*;
- TCVN 4884-2:2015 (ISO 4833-2:2013), *Phần 2: Đếm khuẩn lạc ở 30 °C bằng kỹ thuật cấy bề mặt*.

## VI SINH VẬT TRONG CHUỖI THỰC PHẨM - PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG VI SINH VẬT - PHẦN 1: ĐẾM KHUẨN LẠC Ở 30 °C BẰNG KỸ THUẬT ĐỔ ĐĨA

*Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp định lượng vi sinh vật có thể phát triển và hình thành khuẩn lạc trong môi trường đặc sau khi ủ hiếu khí ở 30 °C. Phương pháp này áp dụng cho:

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

Tiêu chuẩn này áp dụng cho:

- 1) các sản phẩm yêu cầu số lượng khuẩn lạc phát hiện được dưới mức quy định (dưới  $10^2$  cfu/g hoặc  $10^2$  cfu/ml đối với mẫu dạng lỏng hoặc dưới  $10^3$  cfu/g đối với mẫu dạng rắn).
- 2) các sản phẩm dự kiến có chứa các khuẩn lạc mọc lan che khuất các khuẩn lạc của vi sinh vật khác, ví dụ: sữa và các sản phẩm sữa có thể chứa *Bacillus* spp. mọc lan.

Khả năng áp dụng của tiêu chuẩn này bị hạn chế khi kiểm tra thực phẩm và thức ăn chăn nuôi đã lên men; các môi trường hoặc điều kiện ủ khác có thể sẽ thích hợp hơn. Tuy nhiên, phương pháp này có thể áp dụng cho các sản phẩm nêu trên mặc dù không hiệu quả khi phát hiện các vi sinh vật chiếm ưu thế trong các sản phẩm đó.

Đối với một vài nền mẫu, phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này có thể cho các kết quả khác với các kết quả thu được khi sử dụng phương pháp quy định trong TCVN 4884-2 (ISO 4833-2).

### 2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 6404 (ISO 7218), *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Yêu cầu chung và hướng dẫn kiểm tra vi sinh vật*.

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 8128 (ISO 11133), *Vi sinh vật trong thực phẩm, thức ăn chăn nuôi và nước - Chuẩn bị, sản xuất, bảo quản và thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy*.

### 3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

### 3.1

#### **Vi sinh vật (microorganism)**

Cơ thể sống có kích thước rất nhỏ quan sát được bằng kính hiển vi, bao gồm vi khuẩn, nấm, động vật nguyên sinh và virus.

[nguồn: ISO/TS 11139:2006<sup>[3]</sup>, 2.26].

**CHÚ THÍCH 1** Đối với mục đích của tiêu chuẩn này thì vi sinh vật gồm vi khuẩn, nấm men, nấm mốc có thể hình thành khuẩn lạc dưới các điều kiện quy định trong tiêu chuẩn này.

### **4 Nguyên tắc**

Lượng quy định của mẫu thử dạng lỏng hoặc lượng quy định của huyền phù ban đầu trong trường hợp các sản phẩm ở dạng khác, được rót vào đĩa Petri và trộn với môi trường nuôi cấy thạch tan chảy quy định.

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

Các đĩa được ủ trong điều kiện hiếu khí ở 30 °C trong 72 h.

Tính số lượng vi sinh vật trong một gam hoặc một mililit mẫu thử theo số lượng khuẩn lạc thu được trong các đĩa có chứa ít hơn 300 khuẩn lạc.

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

#### **5.1 Yêu cầu chung**

Chuẩn bị, sản xuất và thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy theo TCVN 8128 (ISO 11133).

#### **5.2 Dịch pha loãng**

Sử dụng dịch pha loãng quy định trong TCVN 6507 (ISO 6887) đối với sản phẩm liên quan hoặc tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm cần kiểm tra.

#### **5.3 Môi trường thạch: thạch đếm đĩa (PCA)**

##### **5.3.1 Thành phần**

Sản phẩm thủy phân casein bằng enzym	5,0 g
Chất chiết nấm men	2,5 g
Glucose (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> ), khan	1,0 g
Thạch <sup>a</sup>	từ 9 g đến 18 g
Nước	1 000 ml

<sup>a</sup> Tùy thuộc vào sức đông của thạch.

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

##### **5.3.2 Chuẩn bị**

Hòa tan các thành phần trên hoặc môi trường hoàn chỉnh khô vào nước, đun nóng nếu cần. Trộn kỹ và để yên trong vài phút.

Chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là 7,0 ± 0,2 ở 25 °C, sử dụng máy đo pH (6.4), nếu cần.

Phân phối môi trường vào các ống nghiệm, bình hoặc chai (6.8) có dung tích thích hợp. Khử trùng trong nồi hấp áp lực (6.1) ở 121 °C trong 15 min.

Nếu sử dụng ngay thì làm nguội môi trường trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Nếu không, bảo quản nơi tối ở nhiệt độ (5 ± 3) °C không quá 3 tháng, dưới các điều kiện không làm thay đổi thành phần và đặc tính của môi trường.

Trước khi kiểm tra vi sinh vật, làm tan chảy hoàn toàn môi trường rồi để nguội trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Xem TCVN 8128 (ISO 11133).

Sử dụng môi trường thạch tan chảy càng sớm càng tốt, không nên để quá 4 h.

##### **5.3.3 Phép thử hiệu năng của môi trường nuôi cấy**

###### **5.3.3.1 Yêu cầu chung**

Trong tiêu chuẩn này sử dụng thạch đếm đĩa là môi trường không chọn lọc. Kiểm tra hiệu suất theo TCVN 8128 (ISO 11133).

###### **5.3.3.2 Hiệu suất**

Ủ

Nhiệt độ (30 ± 1) °C trong (72 ± 3) h

Chủng kiểm chứng	<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 hoặc <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012 <sup>a</sup> [Trung tâm Dữ liệu Thế giới về Vi sinh vật (WDCM)]. <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> WDCM 00003 <sup>a</sup> <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032 hoặc <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00034
Môi trường đối chứng	Thạch đậu tương trypton
Phương pháp kiểm chứng	Định lượng
Tiêu chí	Tỷ số hiệu suất (PR) $\geq 0,7$

<sup>a</sup> Các chủng được sử dụng trong phòng thử nghiệm là tối thiểu. Xem Tài liệu tham khảo [2] thông tin về số lượng các chủng nuôi cấy chọn lọc và các chi tiết liên quan.

#### 5.4 Môi trường thạch phủ (xem 9.2.7, nếu cần)

##### 5.4.1 Thành phần

Thạch <sup>a</sup>	từ 12 g đến 18 g
Nước	1 000 ml

<sup>a</sup> Tùy thuộc vào sức đông của thạch.

##### 5.4.2 Chuẩn bị

Cho thạch vào nước và đun đến sôi, khuấy liên tục cho đến khi thạch hòa tan hoàn toàn hoặc khuấy bằng nước nóng trong khoảng 30 min.

Cỉnh chỉnh pH sao cho sau khi khử trùng là  $7,0 \pm 0,2$  ở 25 °C dùng máy đo pH (6.4), nếu cần.

Phân phối môi trường vào các ống nghiệm, bình hoặc chai (6.8) có dung tích thích hợp.

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

Nếu sử dụng môi trường ngay thì làm nguội trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng. Nếu không, bảo quản môi trường nơi tối ở nhiệt độ  $(5 \pm 3)$  °C không quá 3 tháng dưới các điều kiện không làm thay đổi thành phần và đặc tính của môi trường.

Trước khi bắt đầu kiểm tra vi sinh vật, làm tan chảy hoàn toàn môi trường rồi để nguội trong nồi cách thủy (6.3) duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C trước khi sử dụng, xem TCVN 8128 (ISO 11133).

## 6 Thiết bị, dụng cụ

Có thể sử dụng dụng cụ dùng một lần thay thế cho các dụng cụ thủy tinh và chất dẻo dùng nhiều lần nếu chúng có các đặc tính thích hợp.

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

**6.1 Tủ sấy** để khử trùng khô hoặc **nồi hấp áp lực** để khử trùng ướt, theo TCVN 6404 (ISO 7218).

**6.2 Tủ ẩm**, có thể duy trì nhiệt độ ở  $(30 \pm 1)$  °C.

**6.3 Nồi cách thủy**, có thể duy trì nhiệt độ từ 44 °C đến 47 °C.

**6.4 Máy đo pH**, có độ chính xác trong khoảng  $\pm 0,1$  đơn vị pH ở 25 °C.

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

**6.6 Pipet chia vạch xả hết**, dung tích danh định 1 ml, được chia vạch 0,1 ml, phù hợp với loại A trong TCVN 7150 (ISO 835)<sup>[1]</sup> hoặc pipet tự động phù hợp với TCVN 10505-2 (ISO 8655-2)<sup>[2]</sup>, sử dụng đầu tip vô trùng.

**6.7 Thiết bị đếm khuẩn lạc** (tùy chọn), cơ học hoặc điện tử có nền được rọi sáng thích hợp.

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

## 7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Xem tiêu chuẩn cụ thể về lấy mẫu sản phẩm có liên quan. Nếu không có tiêu chuẩn cụ thể thì các bên liên quan tự thỏa thuận về vấn đề này.

Phòng thử nghiệm phải nhận được đúng mẫu đại diện và không bị hư hỏng thay đổi trong quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

## 8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo tiêu chuẩn cụ thể thích hợp với sản phẩm liên quan.

## 9 Cách tiến hành



## 9.1 Phân mẫu thử, huyền phù ban đầu và các dịch pha loãng

Theo quy định trong TCVN 6507 (ISO 6887) hoặc tiêu chuẩn cụ thể thích hợp với sản phẩm liên quan.

## 9.2 Cấy và ủ

**9.2.1** Lấy hai đĩa Petri vô trùng (6.5). Dùng pipet vô trùng (6.6) cho vào mỗi đĩa 1 ml mẫu thử nếu sản phẩm dạng lỏng hoặc 1 ml huyền phù ban đầu (độ pha loãng  $10^{-1}$ ) trong trường hợp các sản phẩm ở dạng khác. Nếu chuẩn bị các đĩa từ nhiều hơn một độ pha loãng thì có thể giảm xuống thành một đĩa [TCVN 6404 (ISO 7218)].

**9.2.2** Lấy một đĩa Petri vô trùng (6.5) khác. Dùng một pipet vô trùng khác (6.6) phân phối 1 ml dịch pha loãng  $10^{-1}$  (sản phẩm dạng lỏng) hoặc 1 ml dịch pha loãng  $10^{-2}$  (các sản phẩm dạng khác).

**9.2.3** Nếu cần, lặp lại quy trình với các dịch pha loãng tiếp theo, dùng pipet mới vô trùng với mỗi dịch pha loãng thập phân.

**9.2.4** Nếu thích hợp chỉ chọn các độ pha loãng tới hạn (ít nhất hai dịch pha loãng thập phân liên tiếp) để cấy các đĩa Petri sao cho thu được từ 10 Khuẩn lạc đến 300 khuẩn lạc trên một đĩa.

**9.2.5** Rót vào mỗi đĩa Petri khoảng từ 12 ml đến 15 ml môi trường thạch đếm đĩa (5.3) ở nhiệt độ từ  $44^{\circ}\text{C}$  đến  $47^{\circ}\text{C}$ . Thời gian từ khi chuẩn bị xong huyền phù ban đầu (hoặc dịch pha loãng  $10^{-1}$  nếu sản phẩm dạng lỏng) đến khi rót môi trường thạch đếm đĩa (5.3) vào các đĩa không được quá 45 min.

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

**9.2.7** Sau khi hỗn hợp đông đặc hoàn toàn và nếu nghi ngờ cần kiểm tra sản phẩm có chứa các vi sinh vật có khuẩn lạc mọc lan trên bề mặt của môi trường, thì rót khoảng 4 ml môi trường thạch phủ (5.4) hoặc môi trường thạch đếm đĩa (5.3) ở nhiệt độ  $44^{\circ}\text{C}$  đến  $47^{\circ}\text{C}$  lên bề mặt môi trường đã cấy mẫu. Để cho đông đặc như trong 9.2.6.

**9.2.8** Lật ngược các đĩa đã chuẩn bị và đặt vào tủ ấm (6.2) ở  $(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  theo TCVN 6404 (ISO 7218). Ủ trong  $(72 \pm 3)$  h.

## 9.3 Đếm khuẩn lạc

**9.3.1** Sau giai đoạn ủ quy định (9.2.8), giữ lại các đĩa có ít hơn 300 khuẩn lạc, nếu có thể. Đếm các khuẩn lạc trên các đĩa, sử dụng thiết bị đếm khuẩn lạc (6.7), nếu cần. Kiểm tra các đĩa dưới ánh sáng dịu. Điều quan trọng là các khuẩn lạc chính phải được đếm; tuy nhiên, điều cần thiết là phải tránh đếm nhầm các hạt không hòa tan hoặc chất kết tủa trên đĩa với các khuẩn lạc chính. Kiểm tra cẩn thận các khuẩn lạc nghi ngờ, sử dụng kính lúp có độ khuếch đại lớn hơn khi cần để phân biệt các khuẩn lạc với tạp chất.

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

## 10 Biểu thị kết quả

### 10.1 Phương pháp tính

Xem quy trình quy định trong TCVN 6404 (ISO 7218).

### 10.2 Độ chụm

#### 10.2.1 Yêu cầu chung

Các dữ liệu về độ chụm đã được đánh giá đối với các đĩa có chứa nhiều hơn 15 khuẩn lạc và ít hơn 300 khuẩn lạc. Các dữ liệu về độ chụm tùy thuộc vào sự liên kết hệ vi sinh vật và các chất nền mẫu. Các dữ liệu này thu được từ các nghiên cứu cộng tác (xem Tài liệu tham khảo [4], [5] và [6]) và có giá trị đối với sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng. Các dữ liệu này được sử dụng làm các số ước tính khi xác định được 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 cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, thực hiện trong khoảng thời gian ngắn, tính theo  $\log_{10}N$ , trong đó  $N$  là số vi sinh vật có trong một mililit (tương ứng với 1,8 trên thang chuẩn tính bằng số vi sinh vật có trong một mililit) không được vượt quá giới hạn lặp lại,  $r = 0,25$ .

**CHÚ THÍCH** Giới hạn lặp lại này thu được từ các nghiên cứu cộng tác về sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng (xem Tài liệu tham khảo [4], [5] và [6]) và có thể được sử dụng cho các sản phẩm này.

#### 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 những người khác

nhau thực hiện, tính theo  $\log_{10}N$ , trong đó  $N$  là số vi sinh vật có trong một mililit (tương ứng với 2,8 trên thang danh định tính bằng số vi sinh vật có trong một mililit) không được vượt quá giới hạn tái lập,  $R = 0,45$ .

**CHÚ THÍCH** Giới hạn tái lập này thu được từ các nghiên cứu cộng tác về sữa nguyên liệu và sữa thanh trùng (xem Tài liệu tham khảo [4], [5] và [6]) và có thể được sử dụng cho các sản phẩm này.

### 10.3 Giải thích các kết quả thử nghiệm

#### 10.3.1 Yêu cầu chung

Trong các ví dụ (10.3.2 và 10.3.3), các dữ liệu về độ chum trung bình, mức xác suất là 95 % và phân tích một mẫu đã được xem xét. Cần lưu ý rằng, trong các điều kiện thực tế thường sử dụng trung bình của một vài mẫu. Các số được tính bằng số vi sinh vật có trong một mililit.

#### 10.3.2 Các điều kiện lặp lại

Kết quả thử nhất:  $10^5 = 100\ 000$

Chênh lệch giữa kết quả thử nhất và thử hai không được quá  $0,25 \log_{10}N$ .

Kết quả thử hai: Giới hạn dưới:  $10^{4,75} = 56\ 000$ .

Giới hạn trên:  $10^{5,25} = 178\ 000$

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

#### 10.3.3 Các điều kiện tái lập

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

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

Kết quả thử hai: Giới hạn dưới:  $10^{4,55} = 36\ 000$  hoặc

Giới hạn trên:  $10^{5,45} = 280\ 000$

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

Phụ lục A đưa ra công thức tính và cách sử dụng chênh lệch tới hạn (CD) để giải thích các kết quả.

## 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, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được;
- nếu kiểm tra lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

### Phụ lục A

(Tham khảo)

#### Cách sử dụng chênh lệch tới hạn để giải thích kết quả

##### A.1 Yêu cầu chung

Trong các ví dụ (A.2 và A.3), dữ liệu về độ chum trung bình, mức xác suất là 95 % và phân tích một mẫu đã được xem xét. Cần lưu ý rằng, trong các điều kiện thực tế thì thường sử dụng trung bình của vài mẫu. Các số được tính bằng số vi sinh vật trong một mililit.

##### A.2 Các điều kiện tái lập

Các kết quả thu được trong phòng thử nghiệm thử 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 thử hai (trung bình của  $n$  phép xác định; trong ví dụ này  $n = 2$ ) có thể được chấp nhận nếu nó không vượt quá chênh lệch tới

hạn  $d_c$ , theo các đơn vị  $\log_{10}N$ :

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

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 được chấp nhận nếu phòng thử nghiệm thứ hai thu được kết quả không thấp hơn  $10^{4,59} = 39\ 000$  và không cao hơn  $10^{5,41} = 257\ 000$ .

### A.3 So sánh với giới hạn (thử một phía)

Giới hạn:  $10^5 = 100\ 000$

Nếu cần so sánh chênh lệch giữa giới hạn và kết quả phòng thử nghiệm (trung bình của  $n$  phép xác định; trong ví dụ này  $n = 2$ ) với giới hạn CD,  $d_{CL}$ :

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

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] TCVN 7150 (ISO 835), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh - Pipet chia độ*.
- [2] TCVN 10505-2 (ISO 8655-2), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông - Phần 2: Pipet pittông*.
- [3] ISO/TS 11139:2006, *Sterilization of health care products - Vocabulary*.
- [4] PITONC., & GRAPPIN. 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. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1991, **74** pp. 9 2-10 3.
- [5] 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. Public Anal.* 1993, **29** pp. 1-32
- [6] DAHMS S., & WEISS H. Estimation of precision values for microbiological reference methods: Standardized pour plate technique. *Milchwissenschaft.* 1988, **53** pp. 555-559.
- [7] World Data Centre for Microorganisms. Reference strain catalogue pertaining to organisms for performance testing culture media. Available (viewed 2013-03-06) at: [http://www.wfcc.info/pdf/WDCM\\_Reference\\_Strain\\_Catalogue.pdf](http://www.wfcc.info/pdf/WDCM_Reference_Strain_Catalogue.pdf).