

**ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ ĐẢM BẢO AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM
QUA MỘT SỐ CHỈ TIÊU VI SINH TRÊN TÔM SÚ (*Penaeus monodon*)
NUÔI THÂM CANH THEO HÌNH THỨC ĐA CẤP TẠI HẢI PHÒNG**

*ASSESSING THE SAFETY OF FOOD HYGIENE ITEMS THROUGH SOME
MICROORGANISMS IN BLACK TIGER SHRIMP (*Penaeus monodon*) INTENSIVE
FARMING SYSTEMS BY MULTI-LEVEL IN HAI PHONG*

Trương Thị Thành Vinh

Khoa Nông Lâm Ngư - Đại học Vinh

Email: thanhvinhtruong@gmail.com

ABSTRACT

The study was carried out on commercial shrimp collected from three farming systems by multi-level system testing (cycle - multi pond) in Hai Phong from April to August 2009. The results showed that the target density of *Vibrio* spp and total aerobic bacteria in farming level 2 and level 3 were lower than those in the first model. Although, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* and *Staphylococcus* in shrimps of all three models at the time of the study were within food safety and hygiene level reported by the international organization and Vietnamese criteria, *E. coli* in commercial shrimp of farming level 1 was above food safety level.

ĐẶT VẤN ĐỀ

An toàn vệ sinh thực phẩm (ATVSTP) đang là vấn đề nóng của tất cả các quốc gia trên thế giới, là tấm vé thông hành để thâm nhập vào các thị trường xuất khẩu khó tính như Mỹ, EU, Nhật Bản, tham gia tiến trình hội nhập kinh tế khu vực và thế giới. Tôm sú (*Penaeus monodon*) là một trong những thực phẩm được người tiêu dùng đặc biệt ưa chuộng; nó đã và đang là đối tượng nuôi chủ lực của nhiều quốc gia trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, trong quá trình nuôi, tôm sú có thể bị nhiễm một số loài vi khuẩn gây mất ATVSTP, có thể gây ra ngộ độc và dẫn đến tử vong (Nguyễn Hữu Toán, 2009). Do đó, việc nghiên cứu xây dựng các mô hình nuôi vừa đảm bảo ATVSTP, vừa cho năng suất cao đang là mục tiêu của người nuôi tôm. Mô hình nuôi tôm sú thâm canh đa cấp được đề xuất bởi Bùi Quang Tề và cộng sự năm 2008 đã được minh chứng có hiệu quả về năng suất, tuy nhiên còn thiếu những nghiên cứu liên quan đến vấn đề ATVSTP trên tôm thương phẩm từ mô hình nuôi này. Chính vì thế, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: “**Đánh giá mức độ đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm qua một số chỉ tiêu vi sinh vật trên tôm sú (*Penaeus monodon*) nuôi thâm canh theo hình thức đa cấp tại Hải Phòng**”

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Địa điểm, thời gian, vật liệu nghiên cứu

Thu mẫu tại khu thí nghiệm nuôi tôm sú thâm canh theo mô hình đa cấp - Trạm Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản nước lợ Tân Thành, Dương Kinh, Hải Phòng

Mô hình nuôi một cấp (mô hình truyền thống) được lấy làm mô hình đối chứng so với mô hình nuôi 2 cấp và 3 cấp. Mỗi chu kỳ nuôi kéo dài 120 ngày, ở mô hình nuôi 2 cấp, tính từ thời gian sau khi tôm thả 40 ngày thì chuyển sang ao nuôi cấp 2, sau 80 ngày nuôi thì thu hoạch. Còn đối với mô hình nuôi 3 cấp, tôm sẽ được luân chuyển 3 lần trong một chu kỳ nuôi, nghĩa là cứ sau 40 ngày chuyển tôm sang ao tiếp theo. Đồng thời, mỗi cấp ao sau khi luân chuyển lại được cải tạo và vì thế có thể được nuôi lặp lại nhiều lần trong một năm. Vì vậy, vụ thu hoạch tăng lên và có thể rải ra các tháng trong năm cho nên giải quyết được sức ép của nhu cầu thị trường và tổ chức lao động. Đồng thời giải quyết cho tất cả các ao trong hệ thống đều được hoạt động nuôi tôm phù hợp với các yếu tố sinh học và kinh tế.

Phân tích mẫu tại Phòng Sinh học Thực nghiệm - Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I - Đình Bảng - Từ Sơn - Bắc Ninh.

- Thời gian nghiên cứu từ tháng 4 đến tháng 11/2009.
- Vật liệu nghiên cứu:
 - + Một số vi khuẩn ảnh hưởng đến an toàn vệ sinh thực phẩm gồm: *Vibrio* spp., *Fecal coliform*, *E. coli*, *Salmonella* spp. và *Staphylococcus* spp.
 - + Tôm sú *Penaeus monodon* thương phẩm được nuôi trong hệ thống đa cấp.

Phương pháp nghiên cứu

Lấy mẫu, bảo quản và phân tích theo TCVN 6507: 2005 và TCVN 6404: 2007, TCVN 5287: 2008.

Số lượng mẫu thu: Tôm sú *Penaeus monodon* thương phẩm được thu từ các ao nuôi của hệ thống nuôi đa cấp. Gồm 3 mô hình nuôi: Mô hình nuôi 1 cấp, 2 cấp và 3 cấp. Mỗi mô hình thu mẫu 1 vụ (45 con/1lần), thời gian thu trước khi tôm thu hoạch 10 - 15 ngày.

Phân tích mẫu: Phân tích mẫu theo phương pháp định lượng vi khuẩn của Frerichs & Millar, 1993.

Ngoài ra, có tham khảo bổ sung một số tài liệu:

- + TCVN 4884: 2005 (ISO 4833: 2003), Xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí (TSVKHK).
- + TCVN 6846: 2007 (ISO 7251: 2005), Xác định *E.coli*.
- + TCVN 4830-1: 2005 (ISO 6888-1:1999, Amd 1:2003), Xác định *Staphylococcus aureus*.
- + TCVN 4829: 2005 (ISO 6579: 2002), Xác định *Salmonella*.
- + TCVN 7905: 2008 (ISO/TS 21872 - 2: 2007), Phương pháp phát hiện *Vibrio* spp. có khả năng gây bệnh đường ruột.

khả năng gây bệnh đường ruột.

Phương pháp xử lý, phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp, phân tích đánh giá theo phương pháp thống kê sinh học với sự hỗ trợ của phần mềm Excel. Phân tích phương sai một nhân tố được dùng để so sánh mật độ các vi sinh vật trên tôm sú thương phẩm giữa 3 mô hình nuôi.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả định lượng mật độ TSVKHK

Bảng 1. Kết quả định lượng TSVKHK (cfu.g⁻¹) trên tôm thương phẩm

Mô hình nuôi	Giới hạn cho phép	Số mẫu có số liệu	Max	Trung bình	SD	Kết luận
1 Cấp		45	2,85x10 ⁴	1,2x10 ⁴	0,73x10 ⁴	Đạt
2 Cấp	<10 ⁵	45	1,3x10 ⁴	0,47x10 ⁴	0,31x10 ⁴	Đạt
3 Cấp		45	0,65x10 ⁴	0,34x10 ⁴	0,22x10 ⁴	Đạt

Ghi chú: Max: tối đa, SD: độ lệch chuẩn.

Nhìn chung kết quả tổng số vi khuẩn hiếu khí trên tôm sú thương phẩm ở tất cả các mô hình thuộc đề tài đều đảm bảo ATVSTP. Theo quy định hiện hành ở Việt Nam (Quyết định 867/1998/QĐ-BYT của Bộ Y tế) (Bộ Y tế 1998) yêu cầu ở mức dưới 10⁶ cfu.g⁻¹. Kết quả này cũng đảm bảo ở thị trường tiêu thụ lớn như Nhật Bản, quy định dưới 3,0x10⁶ cfu.g⁻¹, hay thị trường EU mức chấp nhận được phải dưới 10⁵ cfu.g⁻¹ (Bộ Nông Nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2008)

Mật độ tổng số vi khuẩn có xu hướng giảm theo các cấp nuôi (Bảng 1); ao cấp 1 có mật độ cao nhất, các ao nuôi cấp 2, 3 mật độ vi khuẩn giảm đáng kể so với ao cấp 1 ($p < 0,05$). Mặc dù, mật độ vi khuẩn ao cấp 3 có giảm so với ao cấp 2 nhưng sự khác nhau này không có nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả định lượng mật độ *E. coli*

E. coli là vi khuẩn có mặt rất nhiều trong phân người và động vật, nó là sinh vật chỉ điểm nhiễm bẩn phân đã xảy ra được ít lâu. Vì vậy sự có mặt của *E. coli* ở tôm nuôi chứng tỏ môi

trường ao nuôi có khả năng bị ô nhiễm từ phân hoặc xử lý không hiệu quả dẫn đến việc lây nhiễm sang đối tượng nuôi. Sự hiện diện của *E. coli* trong thực phẩm là điều không mong muốn, tuy nhiên rõ ràng không thể loại bỏ chúng hoàn toàn khỏi nhiều thực phẩm đông lạnh hoặc tươi sống. Vấn đề ở chỗ số lượng chúng đến mức nào có thể coi là không an toàn cho thực phẩm.

Bảng 2. Kết quả định lượng *E. coli* (cfu.g⁻¹) trên tôm thương phẩm

Mô hình nuôi	Chỉ tiêu, giới hạn cho phép	Số mẫu có số liệu	Max	Trung bình	SD	Kết luận
1 Cấp	<i>E.coli</i>	39	4x10 ²	1,48x10 ²	1,3x10 ²	Không đạt
2 Cấp	n=5, c=2, m=10	33	2x10 ²	0,78x10 ²	0,7x10 ²	Đạt
3 Cấp	(cfu.g ⁻¹), M=100 (cfu.g ⁻¹)	45	2,02x10 ²	0,88x10 ²	0,46x10 ²	Đạt

Ghi chú: Max: tối đa, SD: độ lệch chuẩn.

(Trong đó: n: số mẫu kiểm tra, m: mức giới hạn mà tất cả các kết quả thấp hơn được coi là đạt yêu cầu. M: Giới hạn có tính chất chấp nhận, chỉ cần một kết quả vượt quá là không đạt yêu cầu, c: Số mẫu kiểm tra có số lượng vi khuẩn nằm giữa m và M)

Ở một số thị trường lớn trên thế giới như Pháp, Italia. Khi kiểm tra các lô hàng tôm đông lạnh nhập khẩu vào các thị trường này thì giới hạn có tính chất chấp nhận là 10² fu.g⁻¹, chỉ cần 1 mẫu vượt qua là không đạt yêu cầu. Thậm chí thị trường Hàn Quốc, EU, Australia còn quy định ở mức < 10 cfu.g⁻¹ (Bộ Nông Nghiệp và Phát triển Nông thôn 2008). Ở Việt Nam, theo quyết định 867/1998/QĐ-BYT của Bộ Y tế (Bộ Y tế 1998) thì chỉ số *E. coli* trong thực phẩm được xem là chấp nhận được ở mức < 10² cfu.g⁻¹. Như vậy, đối chiếu theo mức quy định trên thế giới cũng như Việt Nam thì tôm nuôi ở cả 3 mô hình nuôi đều không đạt yêu cầu về ATVSTP đối với chỉ tiêu *E. coli*. Phân tích ANOVA cho thấy không có sự khác biệt về mật độ vi khuẩn trong tôm thu từ các mô hình này ($p > 0,05$).

Lý giải về mật độ *E. coli* tương đối cao trong các mô hình nuôi, theo chúng tôi do đây là nhóm sinh vật có nguồn gốc từ phân của các loài động vật máu nóng. Do đó rất có thể việc nuôi giữ các đối tượng như chó, mèo trong khu vực hay các loài chim ở tự nhiên là nguyên nhân dẫn đến việc tăng chỉ số *E. coli* trong môi trường ao nuôi, từ đó dẫn đến việc lây nhiễm sang tôm. Đặc biệt trong thời gian tháng 7, 8 tại Hải Phòng mưa lớn xảy ra nhiều, cho nên việc kiểm soát nguồn nước rất khó khăn. Do đó, cần kiểm tra thông số này ở mẫu nước trước khi cấp vào ao, đồng thời hạn chế cho các loại súc vật vào khu vực nuôi.

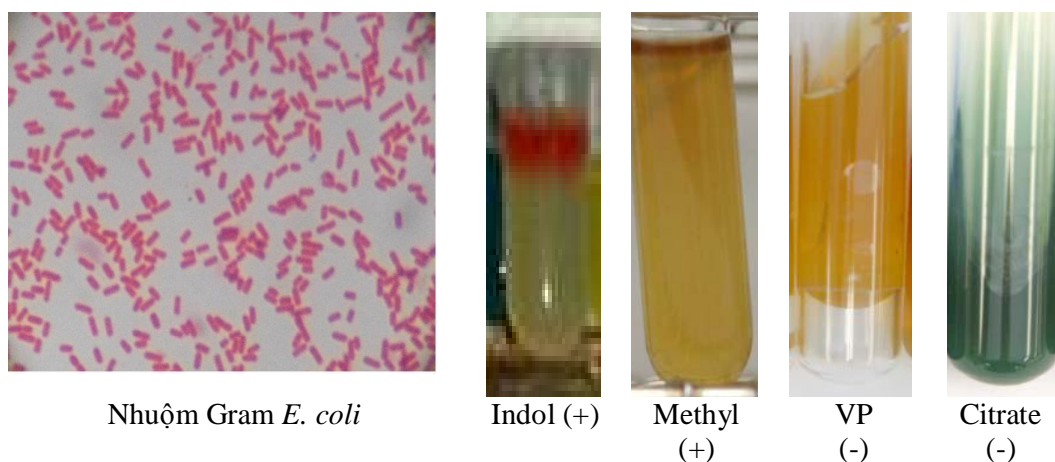
Giám định các đặc tính sinh hóa của chủng *E. coli* phân lập được

Qua thử các phản ứng sinh hóa chúng tôi thấy: Chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được có các đặc điểm sinh hóa giống như các tài liệu đã được công bố của các tác giả trong nước và nước ngoài.

E. coli phát triển trên môi trường Macconkey có đặc điểm, khuẩn lạc màu hồng, xung quanh có vùng mờ sương. Tiến hành ria cấy 3 pha các khuẩn lạc có đặc điểm trên lên các môi trường tương ứng, nuôi cấy thuần và nhuộm Gram. Quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính dầu (x100) kết quả cho thấy *E. coli* bắt màu gram dạng trực khuẩn. *E. coli* có khả năng sinh Indol, lên men đường Lactose, Glucose, sinh hơi, phản ứng Catalase dương tính, phân giải Citrat âm tính, phản ứng sản sinh Indole dương tính. Tất cả các đặc tính này đều phù hợp với những công bố của Fairbrother (1992).

Kết quả định lượng *Vibrio*

Vibrio được xem là nhóm vi sinh vật bản địa của môi trường nước mặn. Sự xuất hiện của *Vibrio* với mật độ nhiều trên tôm sú không những ảnh hưởng đến khả năng gây bệnh của tôm, mà còn là nguyên nhân gây ngộ độc cho người khi sử dụng mà không qua chế biến an toàn như ăn tái, ăn gỏi.



Hình 1. Một số đặc tính sinh hóa điển hình của *E. coli*

Bảng 3. Kết quả định lượng *Vibrio* ở tôm thương phẩm

Mô hình nuôi	Chỉ tiêu, giới hạn cho phép	Số mẫu có số liệu	Max	Trung bình	SD	Kết luận
1 Cấp	<i>Vibrio</i> spp	36	$5,46 \times 10^2$	$2,52 \times 10^2$	$2,07 \times 10^2$	Đạt
2 Cấp	(Chưa có quy định cụ thể)	30	$1,82 \times 10^2$	$0,69 \times 10^2$	$0,63 \times 10^2$	
3 Cấp		30	$9,8 \times 10^2$	$0,37 \times 10^2$	$0,33 \times 10^2$	

Ghi chú: Max: tối đa, SD: độ lệch chuẩn.

Hiện nay, trên thế giới và Việt Nam chưa có quy định cụ thể đối với giới hạn cho phép của *Vibrio* spp nói chung. Tuy nhiên, đây là chỉ tiêu vi sinh rất quan trọng không chỉ chỉ điểm mức độ tồn tại loài vi sinh vật gây bệnh cho thủy sản nuôi, mà còn là chỉ tiêu gián tiếp liên quan đến khả năng xuất hiện cao của hai loài *Vibrio cholera* và *Vibrio parahaemoliticus* là hai loài vi khuẩn có khả năng gây bệnh cho người.

Kết quả thử phản ứng sinh hóa bằng kit API 20E chúng tôi nhận thấy có 85,71% các phản ứng sinh hóa của chủng 1 giống với *V. mimicus*, 85,71% các phản ứng sinh hóa của chủng 2 giống với *V. vulnificus* và 90,47% các phản ứng của chủng 3 giống với *V. alginolyticus* mà N. Buller 2004 đã phân lập. Như vậy, dựa vào hình thái của khuẩn lạc, hình thái vi khuẩn khi nhuộm Gram cùng với kết quả thử phản ứng sinh hoá bằng kit API 20E có thể kết luận chủng vi khuẩn 1 là vi khuẩn có tên *V. mimicus*, chủng 2 là *V. vulnificus*, chủng 3 là *V. alginolyticus*. Như vậy, tôm nuôi của chúng tôi không phát hiện thấy 2 loài gây ngộ độc thực phẩm cho người là *Vibrio cholera* và *Vibrio parahaemoliticus*, do đó vẫn đảm bảo điều kiện an toàn vệ sinh thực phẩm.

Theo phân tích ANOVA và kiểm định LSD của 3 mô hình thì thấy rằng mô hình 1 cấp khác so với mô hình 2 cấp, 3 cấp với $p < 0,05$. Nhưng giữa mô hình 2 cấp và 3 cấp lại không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả định lượng *Salmonella* spp và *Staphylococcus* spp.

Bảng 3. Kết quả định lượng *Salmonella* và *Staphylococcus* (cfu.g⁻¹) trên tôm

Mô hình nuôi	Chỉ tiêu, giới hạn cho phép	Số mẫu có số liệu	Max	Trung bình	SD	Kết luận
1 Cấp		0				Đạt
2 Cấp	<i>Salmonella</i>	0				
3 Cấp	0	0				
1 Cấp	<i>St. aureus</i>	5	98	$0,54 \times 10^2$	$0,4 \times 10^2$	Đạt
2 Cấp	n=5, c=2, m=10 ²	3	70	$0,37 \times 10^2$	$0,29 \times 10^2$	
3 Cấp	cfu.g ⁻¹ , M=10 ³ cfu.g ⁻¹	2	90	$0,32 \times 10^2$	$0,19 \times 10^2$	

Ghi chú: Max: tối đa, SD: độ lệch chuẩn.

Kết quả nghiên cứu cho thấy 100% các mẫu tôm thu được ở cả 3 mô hình nuôi đều không có mặt của vi khuẩn *Salmonella*. Theo nghiên cứu của FDA năm 2003 và Nguyễn Như Tiếp cùng các cộng sự năm 2006 thì tỷ lệ mẫu bùn, nước ao nuôi phát hiện *Salmonella* tương ứng với tỷ lệ mẫu tôm, cá nuôi nhiễm *Salmonella*. Vì vậy, quản lý chất lượng môi trường ao nuôi tốt, tránh ô nhiễm sinh học thì hoàn toàn có thể có nguyên liệu thủy sản nuôi không nhiễm *Salmonella*.

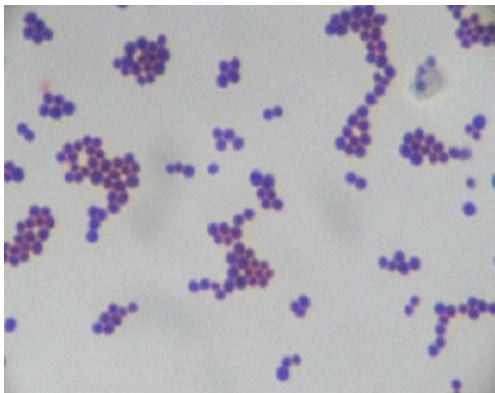
Do mức độ ảnh hưởng nghiêm trọng của *Salmonella* đối với sức khỏe con người nên hiện nay, trong tất cả các danh mục tiêu chuẩn chất lượng của các thị trường lớn thế giới như EU, Pháp, Hàn Quốc,... và ở Việt Nam thì chỉ số này phải bằng 0 trong thực phẩm phân tích. Như vậy, đối với tôm nuôi theo cả 3 mô hình của chúng tôi đều đảm bảo tiêu chí này.

Staphylococcus là loại vi khuẩn có thể bị lây nhiễm trong thao tác thu hoạch khi tiếp xúc trực tiếp với người nhiễm bệnh, nó cũng là loại vi khuẩn có sức cạnh tranh yếu khi trong môi trường có nhiều loại vi khuẩn khác.

Kết quả tại thời điểm nghiên cứu cho thấy, mật độ trung bình của *Staphylococcus* spp ở mô hình 1 cấp là $0,54 \times 10^2$ cfu.g⁻¹), ở mô hình 2 cấp là $0,37 \times 10^2$ cfu.g⁻¹ và mô hình 3 cấp là $0,32 \times 10^2$ cfu.g⁻¹. Phân tích ANOVA và kiểm định LSD thì mật độ *Staphylococcus* spp ở các mô hình này không có sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê với $p < 0,05$. Như vậy, tôm nuôi theo cả 3 mô hình của hệ thống đa cấp đều đạt tiêu chuẩn về chỉ tiêu *Staphylococcus*.

Giám định đặc tính sinh hóa của chủng *Staphylococcus* phân lập được

Vi khuẩn *Staphylococcus* spp thu được trên môi trường Chapmen với đường kính khuẩn lạc 1 - 2 mm. Khi nhuộm gram chúng bắt màu xanh tím, soi dưới kính hiển vi ở vật kính x 100 (có soi dầu) các tế bào vi khuẩn có dạng hình cầu ghép nối với nhau thành chuỗi dài. Thử phản ứng với Catalase cho kết quả dương tính. Kết quả trên phù hợp với mô tả của tác giả Austin 1987.



Ảnh nhuộm Gram *Staphylococcus* spp.



Phản ứng Catalase (+) của *Staphylococcus* spp.

Hình 2. Một số đặc tính sinh hóa của *Staphylococcus* spp

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Mô hình nuôi 2 cấp và 3 cấp thể hiện sự tối ưu hơn mô hình 1 cấp, với mật độ về chỉ tiêu *Vibrio* spp và tổng số vi khuẩn hiếu khí thấp hơn đáng kể và có ý nghĩa thống kê.

Tôm thương phẩm thu từ mô hình nuôi đa cấp tại thời điểm nghiên cứu đều đạt yêu cầu về ATVSTP theo tiêu chuẩn thế giới và Việt Nam về các chỉ tiêu: tổng số vi khuẩn hiếu khí, *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae* và *Staphylococcus*. Riêng chỉ tiêu *E. coli* trong tôm thương phẩm ở cả 3 mô hình đều không đạt.

Kiến nghị

Cần tiến hành thu mẫu định kỳ ở các vụ nuôi tiếp theo trong năm, phân tích xem tôm nuôi ở các vụ sau các yếu tố vi sinh vật có được duy trì ổn định và nằm trong giới hạn cho phép hay không, góp phần đánh giá tính hiệu quả lâu dài của hình thức luân chuyển ao.

Tiến hành song song thu mẫu tôm và mẫu nước, mẫu bùn đáy ao để phân tích sự tương quan của các yếu tố vi sinh vật giữa các yếu tố đầu vào với tỷ lệ mẫu nhiễm trên tôm thương phẩm, từ đó có các giải pháp kiểm soát.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Thủy sản (FDA và NAFIQACEN), 2003, Kết quả phối hợp nghiên cứu nguồn lây nhiễm vi sinh vật trong đầm nuôi.

Bộ Nông Nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2008. *Quyết định 2670/BNN-QLCL. Công bố danh mục các chỉ tiêu chỉ định kiểm tra đối với lô hàng thủy sản.*

Bộ Y Tế, 1998. *Quyết định 867/1998/QĐ-BYT - Danh mục tiêu chuẩn vệ sinh đối với lương thực, thực phẩm.*

Bùi Quang Tê và CTV, 2008. *Nghiên cứu công nghệ và hệ thống thiết bị nuôi tôm sú thâm canh theo hệ thống nuôi đa chu kỳ - đa ao.* Thuyết minh đề tài khoa học công nghệ cấp Nhà Nước, Mã số KC- 07.11/06-10

Nguyễn Hữu Toàn, 2009. *Mặt trái của hải sản*, www.tintuonline.com.vn.

Nguyễn Như Tiếp, 2006. *Xây dựng và đánh giá các tiêu chuẩn chất lượng và dư lượng các chất độc đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm trong nuôi trồng thủy sản.* Báo cáo kết quả nghiên cứu đề tài cấp Nhà nước, năm 2003-2005, mã số KC-06-20.NN21.

TCVN 4829: 2005 (ISO 6579: 2002). *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện Salmonella spp trên đĩa thạch*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 4830: 2005 (ISO 6888 - 1: 1999, Amd 1: 2003). *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi, Phương pháp định lượng Staphylococci có phản ứng dương tính coagulase (Staphylococcus aureus và các loài khác) trên đĩa thạch*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 4884: 2005. *Sản phẩm thực phẩm - Phương pháp xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 6507: 2005 (tất cả các phần). *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Chuẩn bị mẫu thử, dung dịch huyền phù ban đầu và các dung dịch pha loãng thập phân để kiểm tra vi sinh vật*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 6404: 2007. *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Nguyên tắc chung về kiểm tra vi sinh vật*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 6846: 2007 (ISO 7251: 2005). *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện và định lượng Escherichia coli giả định - Kỹ thuật đếm số có xác suất lớn nhất*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 5287: 2008. *Thủy sản đông lạnh - Phương pháp xác định vi sinh vật*, Tổng cục đo lường chất lượng.

TCVN 7905: 2008 (ISO/TS 21872 - 2: 2007). *Vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện Vibrio spp có khả năng gây bệnh đường ruột*, Tổng cục đo lường chất lượng.

Austin, B and Austin, D, 1987. “Gram-positive cocci”, Bacterial fish pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish, Ellis horwood limited, New York, pp. 99-107.

Nichky.B.Buller, 2004. *Bacteria from fish and other aquatic animals*, Senior Microbiologist Department of Agriculture South Perth Western Australia 394p.

Fairbrother J.M, 1982. *Escherichia coli infection*, Disease of swine seventh edition Wolfe Publishing Ltd - Australian. pp.489 – 497.

Frerichs, G.N and Millar, S.D, 1993. *Manual for the isolation and identification of fish bacterial pathogens*, Pisces Press. Stirling, pp. 58