

XÁC ĐỊNH TỶ LỆ NHIỄM VÀ ĐẶC TÍNH SINH VẬT HÓA HỌC CỦA MỘT SỐ VI KHUẨN GÂY NGỘ ĐỘC THỰC PHẨM TRÊN THỊT LỢN TƯƠI BÁN TẠI CHỢ TRÊN ĐỊA BÀN CÁC TỈNH MIỀN BẮC VIỆT NAM

Đặng Thị Mai Lan, Đặng Xuân Bình

Khoa Chăn nuôi Thú y - Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

TÓM TẮT

358 mẫu thịt lợn bán tại chợ ở Thái Nguyên, Bắc Giang, Hà Đông và Vĩnh Phúc được thu thập từ 2012-2015 để xác định tỷ lệ nhiễm và độc lực của vi khuẩn *Listeria* spp, *Salmonella* spp và *Staphylococcus aureus* phân lập được. Kết quả kiểm tra cho thấy: Vi khuẩn *Listeria* spp nhiễm trên thịt lợn chiếm 13,13%; trong đó có 65,96% mẫu nhiễm không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thú y. Vi khuẩn *Salmonella* spp nhiễm trên thịt lợn chiếm 11,45%, không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thú y. Có từ 34,21% đến 47,19% mẫu thịt bị nhiễm *S. aureus*, không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thú y.

Đã phân lập được 47 chủng vi khuẩn *Listeria* spp, 41 chủng *Salmonella* spp, và 275 chủng *Staphylococcus aureus* nhiễm trên thịt lợn. Các chủng vi khuẩn phân lập được đều có độc lực cao khi thử thách trên chuột thí nghiệm.

Từ khóa: Thịt lợn, Vi khuẩn, Tỷ lệ nhiễm, Đặc tính sinh vật hóa học, Các tỉnh phía Bắc Việt Nam

Determination of infection rate and chemical, biological characteristics of some bacteria cause poisoning in fresh pork at markets in the Northern provinces, Viet Nam

Dang Thi Mai Lan, Dang Xuan Binh

SUMMARY

358 pork samples were collected from the markets in Thai Nguyen, Bac Giang, Ha Dong and Vinh Phuc, Viet Nam, from 2012 to 2015 for determining the infection rate and virulence of the isolated *Listeria* spp., *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. The tested result showed that the infection rate of the pork samples with *Listeria* spp. accounted for 13.13%, of which 65.96% of the infected samples did not meet the veterinary hygiene standard. The infection rate of the pork samples with *Salmonella* spp. accounted for 11.45% (did not meet the veterinary hygiene standard). There were 34.21% to 47.19% of the pork samples infected with *S. aureus* (did not meet the veterinary hygiene standard).

There were 47 strains of *Listeria* spp., 41 strains of *Salmonella* spp., and 275 strains of *Staphylococcus aureus* isolated from the pork samples, they presented high virulence when testing on the experimental mice.

Keywords: Fresh pork, Bacteria, Prevalence, Characteristics, Northern provinces, Viet Nam

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, ngộ độc thực phẩm (NĐTP) xảy ra thường xuyên làm ảnh hưởng

ng nghiêm trọng đến sức khoẻ con người. Nguyên nhân chủ yếu là do thực phẩm có nguồn gốc động vật không đảm bảo vệ sinh thú y, bị nhiễm một

số loại vi khuẩn như: *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* và *Listeria monocytogenes*... (Li Y. C. et al, 2014).

Ono H. K et al (2008) cho biết: Trên thế giới, các vụ NĐTP do vi sinh vật chiếm 70%. Tại các nước châu Á, vi khuẩn *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* và *S. aureus* là nguyên nhân hàng đầu gây ra các vụ ngộ độc. Vally H. et al (2014) thông báo có 98% số ca nhiễm *Clostridium perfringenes* qua thực phẩm, nhiễm *L. monocytogenes* chiếm 98%, *Salmonella* spp. chiếm 72% và *Campylobacter* spp. chiếm 77%, Ngô Văn Bắc và Trương Quang (2008) cho thấy có 1,33% mẫu thịt lợn tại lò mổ được kiểm tra không đạt yêu cầu về chỉ tiêu *S. aureus*.

Xuất phát từ thực tế như nêu trên, chúng tôi đã tiến hành đề tài xác định tỷ lệ nhiễm một số vi khuẩn gây NĐTP trên thịt lợn bán tại chợ và độc lực của các chủng *Listeria* spp, *Salmonella* spp., *S. aureus* phân lập được.

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Khảo sát chỉ tiêu vi khuẩn *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus* nhiễm trên thịt lợn bán tại chợ.

- Giám định một số đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus* phân lập được.

- Xác định độc lực của chủng vi khuẩn *Listeria* spp., *Salmonella* spp., *S. aureus* phân lập được từ mẫu thịt lợn bán tại chợ.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu thịt lợn được thu thập từ các quầy bán thịt tại chợ trung tâm của Thái Nguyên, Bắc Giang, Hà Đông và Vĩnh Phúc.

- Các loại môi trường thông thường và đặc hiệu để nuôi cấy, phân lập và giám định đối với các vi

khuẩn *Listeria* spp., *Salmonella* spp. và *S. aureus*.

- Máy móc, dụng cụ Phòng thí nghiệm chuyên dụng.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Lấy mẫu thịt lợn tươi bán tại chợ trung tâm tỉnh Thái Nguyên, Hà Đông - Hà Nội, Bắc Giang, Vĩnh Phúc theo TCVN 7925:2008.

- Xác định chỉ tiêu vi khuẩn *Salmonella* spp. theo TCVN 5153:1990.

- Xác định chỉ tiêu vi khuẩn *Listeria* spp. theo TCVN 7700-1:2007.

- Xác định chỉ tiêu vi khuẩn *S. aureus* theo TCVN 5156:1990.

2.4 Xử lý số liệu

Theo phương pháp thống kê sinh học của Chu Văn Mẫn, Đào Hữu Hồ (1999), phần mềm SaS (Sas 9.3.1 statistical software).

Địa điểm nghiên cứu: Bộ môn Vi sinh - Viện Khoa học sự sống - Đại học Thái Nguyên. Bộ môn Vệ sinh thú y - Viện Thú y.

Thời gian nghiên cứu: Từ năm 2012 đến năm 2015.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát tình hình tiêu thụ thịt lợn trên địa bàn một số tỉnh phía Bắc

Tiến hành khảo sát tình hình giết mổ và tiêu thụ thịt lợn tại các chợ trung tâm trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên, Bắc Giang, Hà Đông và Vĩnh Phúc, kết quả được trình bày ở bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy: Chợ trung tâm ở Thái Nguyên có 29 quầy bán thịt lợn; tại Bắc Giang có 27 quầy; Hà Đông có 14 quầy; và chợ trung tâm Vĩnh Phúc có 18 quầy bán thịt lợn. Các quầy bán thịt nói trên đều được chứng nhận đã có kiểm tra vệ sinh thú y (thân thịt lợn được đóng dấu, lăn sơn xác nhận đã kiểm dịch theo quy định của cơ quan thú y địa phương).

Bảng 1. Kết quả khảo sát tình hình tiêu thụ thịt lợn tại các chợ

Địa điểm (chợ)	Thời gian hoạt động (giờ)	Số lượng quầy bán thịt lợn	Tỷ lệ quầy được kiểm tra vệ sinh thú y (%)	Số lượng lợn giết thịt trung bình (con/ngày)	Khối lượng thịt tiêu thụ trung bình (tấn/ngày)
				$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$
Thái Nguyên	4 - 20	29	100	54,56 ± 2,12	2,39 ± 0,58
Bắc Giang	4 - 20	27	100	55,05 ± 1,86	2,81 ± 0,19
Hà Đông	5 - 19	14	100	17,36 ± 1,25	0,75 ± 0,11
Vĩnh Phúc	5 - 19	18	100	22,42 ± 1,51	0,96 ± 0,16

3.2. Khảo sát chỉ tiêu vi khuẩn nhiễm trên thịt lợn bán tại chợ

3.2.1 Xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn trên các mẫu thịt lợn bán tại chợ

Tiến hành xét nghiệm xác định các chỉ tiêu nhiễm vi khuẩn các mẫu thịt lợn (358 mẫu) bán tại chợ của 4 tỉnh, kết quả trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát chỉ tiêu *Listeria spp.*, *Salmonella spp.* và *S. aureus* nhiễm trên thịt lợn

Địa điểm	Số mẫu phân lập	<i>Listeria spp.</i>		<i>Salmonella spp.</i>		<i>S. aureus</i>	
		Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	105	9	8,57	12	11,43	79	75,24
Bắc Giang	89	16	17,98	11	12,36	74	83,15
Hà Đông	88	12	13,64	9	10,23	67	76,14
Vĩnh Phúc	76	10	13,16	9	11,84	55	72,37
Tính chung	358	47	13,13	41	11,45	275	76,82

Từ bảng 2 cho thấy: Các mẫu thịt lợn bị nhiễm *Listeria spp.* chiếm 13,13% (dao động từ 8,57% đến 17,98%); nhiễm *Salmonella spp.* chiếm 11,45% (tỷ lệ nhiễm dao động từ 11,43% đến 12,36%) và nhiễm *S. aureus* chiếm 76,82% (72,37% đến 83,15%). Kết quả này của chúng tôi phù hợp với công bố của Althaus D et al. (2014); Phạm Thị Ngọc và cs (2013); Nguyễn Quang Tuyên và Lê Xuân Thăng (2009) trong các nghiên cứu về vi khuẩn *Listeria spp.*, *Salmonella spp.*, và *S. aureus* gây ngộ độc thực phẩm nhiễm trên thịt lợn.

3.2.2. Xác định chỉ tiêu *Listeria spp.* nhiễm trên thịt lợn

Từ 358 mẫu thịt lợn trên xác định mức độ ô nhiễm về chỉ tiêu *Listeria spp.*; (số mẫu nhiễm vượt tiêu chuẩn vệ sinh; cường độ nhiễm khuẩn của mẫu), kết quả thu được trình bày ở bảng 3.

Kết quả bảng 3 cho thấy: Tại 4 địa phương, tính chung đã có tới 13,13% (dao động từ 8,57% đến 17,98%) mẫu nhiễm vi khuẩn *Listeria spp.*, trong đó có 65,96% mẫu nhiễm không đạt tiêu chuẩn vệ sinh (Theo TCVN 7700-1:2007). Mức độ nhiễm cao nhất từ $1,36 \times 10^5$ CFU/g đến $4,91 \times 10^5$ CFU/g; mức thấp nhất từ $2,73 \times 10^4$ CFU/g đến $7,27 \times 10^4$ CFU/g; trung bình từ $1,60 \times 10^4$ CFU/g đến $6,89 \times 10^4$ CFU/g.

Bảng 3. Kết quả xác định chỉ tiêu *Listeria* spp. nhiễm trên thịt lợn bán tại chợ

Địa điểm	Chỉ tiêu khảo sát					Mức độ nhiễm ở các mẫu không đạt TCVN (CFU/g)		
	Số mẫu thu thập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu không đạt TCVN	Tỷ lệ (%)	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình
Thái Nguyên	105	9	8,57	5	4,76	2,73x10 ⁴	1,36x10 ⁵	6,89x10 ⁴
Bắc Giang	89	16	17,98	11	12,36	5,45x10 ⁴	4,55x10 ⁵	1,82x10 ⁵
Hà Đông	88	12	13,64	9	10,23	7,27x10 ⁴	4,91x10 ⁵	1,60x10 ⁵
Vĩnh Phúc	76	10	13,16	6	7,89	5,45x10 ⁴	3,45x10 ⁵	1,70x10 ⁵
Tính chung	358	47	13,13	31	65,96	5,23x10⁴	3,57x10⁵	1,45x10⁵

*Quy định kỹ thuật theo TCVN 7700-1:2007, số vi khuẩn Listeria ≤ 10² CFU/g.
CFU: Colony Forming Unit*

3.2.3. Xác định chỉ tiêu *Salmonella* spp. nhiễm trên thịt lợn

Tiếp tục xét nghiệm xác định mức độ ô nhiễm đối với chỉ tiêu vi khuẩn *Salmonella* spp, kết quả trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định chỉ tiêu *Salmonella* spp. nhiễm trên thịt lợn bán tại chợ

Địa điểm	Chỉ tiêu khảo sát				
	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu không đạt TCVN	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	105	12	11,43	12	11,43
Bắc Giang	89	11	12,36	11	12,36
Hà Đông	88	9	10,23	9	10,23
Vĩnh Phúc	76	9	11,84	9	11,84
Tính chung	358	41	11,45	41	11,45

*Quy định kỹ thuật theo TCVN 7046:2002, số vi khuẩn Salmonella = 0 CFU/25g
CFU: Colony Forming Unit*

Từ bảng 4 kết quả cho thấy: Trong tổng số 358 mẫu thu thập, có 41 mẫu nhiễm *Salmonella* spp. (tính trong 25g thịt lợn) chiếm 11,45%; mức dao động từ 10,23% đến 12,36%. Tại Thái Nguyên, mẫu thịt nhiễm *Salmonella* spp. (tức đồng thời không đạt tiêu chuẩn vệ sinh) chiếm 11,43%. Tại Vĩnh Phúc, mẫu thịt nhiễm *Salmonella* spp. chiếm 11,84%. Tại Bắc Giang, mẫu thịt lợn có nhiễm *Salmonella* spp. chiếm 12,36% (Đây là địa phương có tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *Salmonella* spp. trên thịt lợn cao nhất). Tại Hà Đông, mẫu thịt nhiễm *Salmonella* spp.

chiếm 10,23%. Các kết quả như trên hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Tô Liên Thu (2006), Lê Minh Sơn (2003).

3.2.4. Xác định chỉ tiêu *S. aureus* nhiễm trên thịt lợn

Đã tiến hành xác định chỉ tiêu *S. aureus* nhiễm trên các mẫu thịt lợn bán tại chợ. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Từ bảng 5 kết quả cho thấy: Tỷ lệ mẫu nhiễm *S. aureus* chiếm từ 72,37% đến 83,15%, có từ 34,21% đến 47,19% mẫu không đạt

Bảng 5. Kết quả xác định chỉ tiêu *S. aureus* nhiễm trên thịt lợn bán tại chợ

Địa điểm	Chỉ tiêu khảo sát					Mức độ nhiễm ở các mẫu không đạt TCVN (CFU/g)		
	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số mẫu không đạt TCVN	Tỷ lệ (%)	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình
Thái Nguyên	105	79	75,24	48	45,71	1,05x10 ⁶	4,69x10 ⁶	2,14x10 ⁶
Bắc Giang	89	74	83,15	42	47,19	1,18x10 ⁶	5,31x10 ⁶	2,44x10 ⁶
Hà Tây	88	67	76,14	33	37,50	1,18x10 ⁶	4,53x10 ⁶	2,33x10 ⁶
Vĩnh Phúc	76	55	72,37	26	34,21	1,10x10 ⁶	3,76x10 ⁶	1,84x10 ⁶
Tính chung	358	275	76,82	149	41,62	1,13x10⁶	4,57x10⁶	2,19x10⁶

Quy định kỹ thuật theo TCVN 7046:2002, số vi khuẩn S. aureus ≤ 10² CFU/g
CFU: Colony Forming Unit

tiêu chuẩn vệ sinh (theo TCVN 7046:2002). Mức nhiễm cao nhất từ 3,76x10⁶CFU/g đến 5,31x10⁶CFU/g; thấp nhất từ 1,05x10⁶CFU/g đến 1,18x10⁶CFU/g; trung bình từ 1,84x10⁶CFU/g đến 2,44x10⁶CFU/g. Kết quả này phù hợp với công bố của Cẩm Ngọc Hoàng và cs. (2014) về tỷ lệ vi khuẩn *S. aureus* tại Nam Định không đạt TCVN là 31,71%. Nghiên cứu của Nguyễn Quang Tuyên và Lê Xuân Thăng (2009) tại Thái Nguyên cho biết thịt lợn sau khi giết mổ 1 đến 2 giờ tỷ lệ nhiễm *S. aureus* là 83,30%.

3.3. Phân lập vi khuẩn trên các mẫu thịt lợn bán tại chợ

3.3.1. Phân lập vi khuẩn *Listeria spp.* từ mẫu thịt lợn

Sau khi xác định tình hình ô nhiễm thịt lợn, để nghiên cứu sâu hơn về các vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm, chúng tôi đã tiến hành phân lập vi khuẩn *Listeria spp.* từ các mẫu thịt lợn cho kết quả dương tính với chỉ tiêu này. Kết quả trình bày tại bảng 6.

Bảng 6. Kết quả phân lập *Listeria* từ thịt lợn bán tại chợ

Nơi lấy mẫu	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Ký hiệu chủng	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	105	9	L1 đến L9	8,57
Bắc Giang	89	16	L10 đến L25	17,98
Hà Đông	88	12	L26 đến L37	13,64
Vĩnh Phúc	76	10	L38 đến L47	13,16
Tính chung	358	47	L1 đến L47	13,13

Từ bảng 6, các kết quả thu được cho thấy trong số 358 mẫu thịt lợn thu thập, đã phân lập được 47 chủng vi khuẩn *Listeria spp.* (13,13%) ký hiệu từ L1, L2, L3, L4... đến L47. Tại Thái Nguyên, tỷ lệ phân lập đạt 8,57%; ở Bắc Giang đạt 17,98%; tại Hà Đông đạt 13,64% và tại Vĩnh

Phúc đạt 13,16%. Kết quả này của chúng tôi phù hợp với thông báo khoa học của Althaus D et al. (2014) trong nghiên cứu về vi khuẩn *Listeria spp.* gây ngộ độc thực phẩm.

3.3.2. Phân lập vi khuẩn *Salmonella spp.* từ mẫu thịt lợn

Đã tiến hành phân lập vi khuẩn *Salmonella* spp từ mẫu thịt lợn bán tại chợ. Kết quả trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân lập vi khuẩn *Salmonella* từ thịt lợn

Nơi lấy mẫu	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Ký hiệu chủng	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	105	12	Sal 1 đến Sal 12	11,43
Bắc Giang	89	11	Sal 13 đến Sal 23	12,36
Hà Đông	88	9	Sal 24 đến Sal 32	10,23
Vĩnh Phúc	76	9	Sal 33 đến Sal 41	11,84
Tính chung	358	41	Sal 1 đến Sal 41	11,45

Từ bảng 7, kết quả thu được cho thấy với 358 mẫu thịt lợn thu thập, đã phân lập được 41 chủng *Salmonella* spp. (chiếm 11,45%) ký hiệu từ Sal 1, Sal 2, Sal 3,... đến Sal 41. Tại Thái Nguyên, tỷ lệ phân lập đạt 11,43%; tại Bắc Giang đạt 12,36%; tại Hà Đông đạt 10,23%; và tại Vĩnh Phúc đạt 11,84%. Kết quả thu được phù hợp với Cẩm Ngọc Hoàng và cs. (2014) và Võ

Thị Trà An và cs. (2006), Phạm Thị Ngọc và cs. (2013) trong một số báo cáo về *Salmonella* spp. gây ngộ độc thực phẩm nhiễm trên thịt lợn.

3.3.3. Phân lập vi khuẩn *S. aureus* từ mẫu thịt lợn

Đã tiến hành phân lập vi khuẩn *S. aureus* từ mẫu thịt lợn bán tại chợ, kết quả trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Kết quả phân lập vi khuẩn *S. aureus* từ thịt lợn

Địa điểm	Số mẫu phân lập	Số mẫu dương tính	Ký hiệu chủng	Tỷ lệ (%)
Thái Nguyên	105	79	S1 đến S79	75,24
Bắc Giang	89	74	S80 đến S153	83,15
Hà Đông	88	67	S154 đến S220	76,14
Vĩnh Phúc	76	55	S221 đến S275	72,37
Tính chung	358	275	S1 đến S275	76,82

Từ bảng 8, các kết quả cho thấy trong tổng số 358 mẫu thịt lợn thu thập, đã phân lập được 275 chủng vi khuẩn *S. aureus* (chiếm 76,82%), ký hiệu từ S1, S2, S3, S4... đến S275. Tại Thái Nguyên, tỷ lệ phân lập đạt 75,24%; tại Bắc Giang đạt 83,15%; tại Hà Đông đạt 76,14%; và tại Vĩnh Phúc đạt 72,37%. Kết quả này phù hợp với thông báo của Nguyễn Quang Tuyên, Lê Xuân Thăng (2009) trong một nghiên cứu tại Yên Bái và của Lê Hữu Nghị, Tăng Mạnh Nhật (2005) với nghiên cứu tại Huế.

3.4. Giám định đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng vi khuẩn phân lập được

3.4.1. Giám định đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng *Listeria* spp. phân lập được

Đã tiến hành giám định đặc tính sinh vật, hóa học của 47 chủng vi khuẩn *Listeria* spp. phân lập được. Kết quả được trình bày ở bảng 9.

Từ bảng 9, các kết quả thu được cho thấy: vi khuẩn *Listeria* spp. phân lập được bắt màu Gram (+) và có tính di động, có khả năng gây dung huyết, dương tính với phản ứng rhamnose, xylose và catalase; âm tính với phản ứng oxidase và không có khả năng lên men manitol (chiếm tỷ lệ 100 %). 89,36 % số chủng *Listeria* spp. gây dung huyết (kiểu dung huyết β – hemolysis). Kết quả của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với những dẫn liệu khoa học của Quinn P.J et al., (2002); Althaus D et al., (2014).

Bảng 9. Kết quả giám định một số đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng vi khuẩn *Listeria* spp. phân lập được

Các thử nghiệm xác định đặc tính sinh vật, hóa học	Số chủng thử (n)	Kết quả giám định			
		Số chủng dương tính		Số chủng âm tính	
		n	%	n	%
Tính chất bắt màu Gram (+)	47	47	100,0	0	0
Tính di động	47	47	100,0	0	0
Lên men manitol	47	0	0,0	47	100,0
Xylose	47	47	100,0	0	0
Rhamnose	47	47	100,0	0	0
Phản ứng catalase	47	47	100,0	0	0
β - Hemolysis	47	42	89,36	5	10,64
Phản ứng oxidase	47	0	0,0	47	100,0
Khả năng dung huyết	47	47	100,0	0	0

3.4.2. Giám định đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng *Salmonella* phân lập được

Đã tiến hành kiểm tra một số đặc tính sinh vật, hóa học của 41 chủng vi khuẩn *Salmonella* phân lập được, kết quả được trình bày ở bảng 10.

Bảng 10. Kết quả giám định một số đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập được

Các thử nghiệm xác định đặc tính sinh vật, hóa học	Số chủng thử (n)	Kết quả giám định			
		Số chủng dương tính		Số chủng âm tính	
		n	%	n	%
Tính chất bắt màu Gram (-)	41	41	100	0	0
Tính di động	41	34	82,93	7	17,07
Khả năng dung huyết	41	0	0	41	100
Lên men manitol	41	41	100	0	0
Lên men glucose	41	41	100	0	0
Lên men lactose	41	0	0	41	100
Phản ứng citrate	41	41	100	0	0
Phản ứng catalase	41	41	100	0	0
Đặc điểm sản sinh H ₂ S	41	41	100	0	0

Qua bảng 10 cho thấy: Vi khuẩn *Salmonella* spp. bắt màu Gram âm, có khả năng lên men đường glucose, manitol; phản ứng catalase dương tính; sản sinh H₂S (100%); không gây dung huyết, không lên men đường lactose. Có 34/41 chủng có khả năng di động (82,93%). Như

vậy, các chủng *Salmonella* spp. phân lập được đều thể hiện đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng như mô tả của Quinn và cs. (2002); Nguyễn Như Thanh và cs. (2001).

3.4.3. Đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng *S. aureus* phân lập được

Đã tiến hành kiểm tra một số đặc tính sinh vật, hóa học của 275 chủng vi khuẩn

S. aureus phân lập được. Kết quả được trình bày ở bảng 11.

Bảng 11. Kết quả giám định một số đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng vi khuẩn *S. aureus* phân lập được

Các thử nghiệm xác định đặc tính sinh vật, hóa học	Số chủng thử (n)	Kết quả giám định			
		Số chủng dương tính		Số chủng âm tính	
		n	%	n	%
Tính chất bắt màu Gram (+)	275	275	100	0	0
Tính di động	275	0	0	275	100
Phản ứng catalase	275	275	100	0	0
Khả năng dung huyết	275	255	92,73	20	7,27
Lên men sucrose	275	275	100	0	0
Phản ứng sản sinh coagulase	275	275	100	0	0
Lên men galactose	275	0	0	275	100
Phản ứng hoàn nguyên nitrate	275	275	100	0	0

Từ bảng 11, các kết quả thu được cho thấy: Vi khuẩn *S. aureus* phân lập được có đặc tính sinh học điển hình của giống như mô tả trong các tài liệu kinh điển: bắt màu tím của thuốc nhuộm Gram (Gram +), có phản ứng catalase dương tính, lên men đường sucrose, sản sinh coagulase làm đông tụ huyết tương (100%), hoàn nguyên nitrate thành nitrit, không lên men đường galactose và không có khả năng di động, khả năng dung huyết chiếm 92,73%. Kết quả của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với những dẫn liệu khoa học của Quinn P.J et al. (2002).

3.5. Xác định độc lực các chủng vi khuẩn phân lập được

3.5.1. Độc lực các chủng *Listeria* phân lập được

Các chủng vi khuẩn *Listeria* spp. phân lập tại 4 địa phương, được đánh số thứ tự và chia làm 3 đợt để thử độc lực bằng cách tiêm truyền canh khuẩn gây nhiễm cho chuột thí nghiệm. Theo dõi thời gian chuột chết, kết quả được trình bày ở bảng 12.

Bảng 12. Kết quả thử độc lực của vi khuẩn *Listeria* spp. phân lập được

Đợt thí nghiệm	Số chủng thử	Số chủng giết chết chuột				Số chủng không giết chết chuột		Thời gian chuột chết (giờ)
		Giết 2/2 chuột thí nghiệm		Giết 1/2 chuột thí nghiệm		Số chủng	Tỷ lệ (%)	
		Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)			
Đợt 1	15	4	26,67	3	20,00	1	6,67	8 - 24
		5	33,33	2	13,33			25 - 72
Đợt 2	17	5	29,41	1	5,88	2	11,76	8 - 24
		7	41,18	2	11,76			25 - 72
Đợt 3	15	3	20,00	2	13,33	2	13,33	8 - 24
		4	26,67	4	26,67			25 - 72
Tính chung	47	12	25,53	6	12,77	5	10,64	8 - 24
		16	34,04	8	17,02			25 - 72

Kết quả ở bảng 12 cho thấy: Sau thời gian gây nhiễm, số chuột được tiêm canh khuẩn vào phúc xoang đều chết trong khoảng thời gian từ 8 đến 72 giờ; trong đó 12 chủng gây chết chuột sau 8 đến 24 giờ, 16 chủng gây chết chuột sau 25 đến 72 giờ... Tính chung các chủng *Listeria* spp. phân lập được đã thể hiện có độc lực, gây chết 89,36% chuột thí nghiệm. Chuột bị chết đã được mổ khám để kiểm tra bệnh tích đồng thời tiến hành phân lập lại vi khuẩn từ các bệnh phẩm nội tạng, hầu hết số chuột có bệnh tích:

ruột đầy hơi, lách sưng, gan xuất huyết... Phân lập lại vi khuẩn *Listeria* spp. từ máu tim chuột thí nghiệm đạt tỷ lệ 100%.

3.5.2. Độc lực của các chủng *Salmonella* spp. phân lập được

Tương tự thí nghiệm với *Listeria* spp., đã sử dụng chuột bạch để tiêm truyền canh khuẩn 24 giờ nhằm xác định độc lực của các chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập được. Kết quả được trình bày ở bảng 13.

Bảng 13. Kết quả thử độc lực của vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập được

Đợt thí nghiệm	Số chủng thử	Số chủng giết chết chuột				Số chủng không giết chết chuột		Thời gian chuột chết (giờ)
		Giết 2/2 chuột thí nghiệm		Giết 1/2 chuột thí nghiệm		Số chủng	Tỷ lệ (%)	
		Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)			
Đợt 1	15	5	33,33	3	20,00	2	13,33	8 - 24
		3	20,00	2	13,33			25 - 72
Đợt 2	15	6	40,00	2	13,33	0	0	8 - 24
		5	33,33	2	13,33			25 - 72
Đợt 3	11	4	36,36	1	9,09	1	9,09	8 - 24
		3	27,27	2	18,18			25 - 72
Tính chung	41	15	36,59	6	14,63	3	7,32	8 - 24
		11	26,83	6	14,63			25 - 72

Từ bảng 13 cho thấy: Vi khuẩn *Salmonella* spp. phân lập được đã thể hiện độc lực qua khả năng và thời gian gây chết chuột thí nghiệm. Có 26 chủng gây chết cả 100% chuột thí nghiệm. Trong đó, có 15 chủng gây chết 100% chuột trong vòng 8 đến 24 giờ; các chủng còn lại gây chết chuột từ 25 đến 72 giờ. Tính chung các chủng *Salmonella* spp. phân lập được đã gây chết 92,68% chuột thí nghiệm. Mổ khám quan sát bệnh tích chuột chết thấy nơi tiêm thùy thũng, gan, lách sưng, ruột viêm. Tiến hành phân lập vi khuẩn từ bệnh tích (máu tim, gan, lách, ruột non...) đều thấy có vi khuẩn *Salmonella* spp.,

3.5.3. Độc lực của các chủng *S. aureus* phân lập được

Tương tự thí nghiệm trên đã xác định độc lực của *S. aureus* phân lập được trên chuột thí nghiệm. Kết quả được trình bày ở bảng 14.

Bảng 14 cho thấy vi khuẩn *S. aureus* sau 48 giờ gây nhiễm đã gây chết chuột thí nghiệm (chiếm 100%); trong khoảng từ 8 đến 24 giờ đã có 53 chủng gây chết 100% chuột, đến 48 giờ có tổng số 117 chủng gây chết 100% chuột thí nghiệm. Kết quả này là cơ sở để tiến hành xác định độc tố đường ruột của *S. aureus* phân lập được bằng phương pháp giải trình tự gene mã hoá sản sinh độc tố đường ruột nhóm B.

Bảng 14. Kết quả thử độc lực của vi khuẩn *S. aureus* phân lập được

Đợt thí nghiệm	Số chủng thử	Số chủng giết chết chuột				Số chủng không giết chết chuột		Thời gian chuột chết (giờ)
		Giết 2/2 chuột thí nghiệm		Giết 1/2 chuột thí nghiệm		Số chủng	Tỷ lệ (%)	
		Số chủng	Tỷ lệ (%)	Số chủng	Tỷ lệ (%)			
Đợt 1	80	13	16,25	21	26,25	0	0	8 - 24
		17	21,25	29	36,25			25 - 48
Đợt 2	105	26	24,76	24	22,86	0	0	8 - 24
		29	27,62	26	24,76			25 - 48
Đợt 3	90	14	15,56	27	30,00	0	0	8 - 24
		18	20,00	31	34,44			25 - 48
Tính chung	275	53	19,27	72	26,18	0	0	8 - 24
		64	23,27	86	31,27			25 - 48

III. KẾT LUẬN

- Thịt lợn được bán phổ biến tại các địa phương từ 4h hoặc 5h đến 20h hàng ngày. Các quầy bán thịt lợn đều được chứng nhận đã kiểm tra vệ sinh thú y theo quy định của cơ quan thú y địa phương.

- Thịt lợn bán tại chợ ở tỉnh Thái Nguyên, Bắc Giang, Hà Đông - Hà Nội và Vĩnh Phúc có 13,13% mẫu nhiễm vi khuẩn *Listeria* spp.; trong đó có 65,96% mẫu nhiễm và không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thú y; nhiễm *Salmonella* spp. đồng thời không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thú y chiếm 11,45%; mức độ nhiễm dao động từ 10,23% đến 12,36%. Có từ 34,21% đến 47,19% mẫu thịt bị nhiễm *S. aureus* và không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thú y.

- Đã phân lập được 47 chủng vi khuẩn *Listeria* spp. (13,13%); 41 chủng vi khuẩn *Salmonella* spp. (11,45%); 275 chủng vi khuẩn *S. aureus* (76,82%). Các chủng vi khuẩn phân lập được có đặc tính sinh vật, hóa học điển hình của giống, loài như mô tả trong tài liệu kinh điển.

- Vi khuẩn *Listeria* spp. phân lập được có độc lực gây chết 89,36% chuột thí nghiệm; các chủng *Salmonella* spp. phân lập được đã

gây chết 92,68% chuột thí nghiệm; vi khuẩn *S. aureus* gây chết chuột thí nghiệm (chiếm 100%); trong khoảng từ 8 đến 24 giờ đã có 53 chủng gây chết 100% chuột thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Võ Thị Trà An, Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Hữu Ngọc (2006), “Tình hình nhiễm *Salmonella* trong phân và thân thịt (bò, lợn, gà) tại một số tỉnh phía Nam”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, Tập XIII - Số 2, tr. 37 - 42.
2. Ngô Văn Bắc, Trương Quang (2008), “Khảo sát tình trạng ô nhiễm vi khuẩn trong thịt lợn sữa, lợn choai xuất khẩu tại một số cơ sở giết mổ trên địa bàn Hải Phòng”, *Tạp chí Khoa học & Phát triển*, Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội, Tập VI - Số 1, tr. 21 - 25.
3. Cầm Ngọc Hoàng, Nguyễn Thị Thanh Thủy, Nguyễn Bá Tiếp (2014), “Đánh giá thực trạng giết mổ và ô nhiễm vi khuẩn trong thịt lợn tại các cơ sở giết mổ thuộc tỉnh Nam Định”, *Tạp chí Khoa học & Phát triển*, Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội 12 (4), tr. 549 - 557.
4. Chu Văn Mẫn, Đào Hữu Hồ (1999). Giáo trình thống kê sinh học: Dùng cho sinh

- viên ngành sinh học, y học, sư phạm, nông nghiệp, làm chuyên ngành, môi trường, thủy sản... các trường Đại học và Cao đẳng.
5. Phạm Thị Ngọc, Nguyễn Tiến Thành, Trần Thị Hạnh, Nguyễn Việt Hùng (2013), “Tỷ lệ nhiễm *Salmonella* trên lợn tại một số trang trại và lò mổ thuộc các tỉnh phía Bắc Việt Nam”, *Tạp chí Y học dự phòng, tập 23, số 4, tr. 59 - 66*.
 6. Lê Minh Sơn (2002), “Kết quả phân lập, xác định một số độc tố và độc lực vi khuẩn *Staphylococcus aureus* trong thịt lợn vùng hữu nghị Sông Hồng”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập IX - Số 3, tr. 24 - 28*.
 7. Tô Liên Thu (2006), Nghiên cứu hiện trạng ô nhiễm một số vi khuẩn ở thịt lợn, gà tại Hà Nội và áp dụng biện pháp hạn chế sự phát triển của chúng, Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Viện Thú y Quốc gia.
 8. Võ Thị Bích Thủy, Trần Thị Hạnh, Lưu Quỳnh Hương (2002), “Tình trạng ô nhiễm *Salmonella* trong thực phẩm nguồn gốc động vật trên địa bàn Hà Nội”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập IX - Số 1, tr. 18 - 23*.
 9. Nguyễn Quang Tuyên, Lê Xuân Thăng (2009), “Kết quả xác định ô nhiễm một số vi khuẩn trên thịt lợn tại khu vực thành phố Yên Bái”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, Tập XVI - Số 3, tr. 29 - 33*.
 10. Althaus D., Lehner A., Brisse S., Maury M., Tasara T., Stephan R. (2014), “Characterization of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated During 2011-2013 from Human Infections in Switzerland”, *Foodborne Pathogenes and Disease*.
 11. Li Y. C., Pan Z. M., Kang X. L., Geng S. Z., Liu Z. Y., Cai Y. Q., Jiao X. A. (2014), “Prevalence, characteristics, and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* in retail pork in Jiangsu province, Eastern China”, *Journal of Food Protection, 77 (2), pp. 236 - 245*.
 12. Ono H. K., Omoe K., Imanishi K., Iwakabe Y., Hu D. L., Kato H. (2008), “Identification and characterization of two novel staphylococcal enterotoxins, types S and T”, *Infection and Immunity, 76 (11), pp. 4999 - 5005*.
 13. Quinn P. J., Carter M. E., Makey B. K., Carter G. R. (2002), *Clinical veterinary microbiology*, Wolfe Publishing, London WC1 H9LB.

Nhận ngày 10-5-2016

Phản biện ngày 15-6-2016