

ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ Ô NHIỄM VI KHUẨN CHỈ ĐIỂM VỆ SINH THỰC PHẨM, ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA VI KHUẨN *E. COLI* TRONG THỊT LỢN TẠI TỈNH ĐIỆN BIÊN

Nguyễn Văn Tuyên

Trường Cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Điện Biên

TÓM TẮT

Chúng tôi đã phân tích 90 mẫu thịt lợn thu tại các chợ bán lẻ của tỉnh Điện Biên từ tháng 6/2016 - 4/2017 để khảo sát mức độ ô nhiễm về chỉ tiêu tổng số vi khuẩn hiếu khí (TSVKHK) và *E. coli* ở thịt lợn. Kết quả phân tích cho thấy có 98,89% mẫu thịt dương tính với TSVKHK, trong đó tỷ lệ mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh là 48,89%. Có 75,56% mẫu thịt nhiễm *E. coli* với tỷ lệ mẫu không đạt tiêu chuẩn an toàn thực phẩm về mức nhiễm *E. coli* dao động từ 30% - 53,33% và số lượng vi khuẩn *E. coli* nhiễm trong các mẫu thịt này dao động trong khoảng $1,03 \times 10^2$ CFU/g đến $5,23 \times 10^2$ CFU/g. Trong đó, thịt lợn bán ở chợ trung tâm có tỷ lệ và cường độ nhiễm khuẩn vượt quá giới hạn cho phép là cao nhất. Tỷ lệ nhiễm khuẩn *E. coli* tăng dần và tỷ lệ thuận với thời gian sau giết mổ và tăng trong mùa Hè - Thu so với mùa Đông - Xuân. Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được mang đầy đủ các đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng của giống và được xác định là có khả năng gây độc cho con người. Kết quả kiểm tra mức độ mẫn cảm với kháng sinh của 68 chủng vi khuẩn phân lập cho thấy có 67,65% - 91,18% số lượng chủng mẫn cảm với enrofloxacin, norfloxacin và gentamycin, spectinomycin. Các chủng *E. coli* phân lập đã kháng lại tetramycine (80,88%), streptomycin (77,94%), oxacillin (66,18%) và erythromycin (42,65%). Các chủng vi khuẩn đều có độc lực rất cao, gây chết 100% động vật thí nghiệm trong vòng 8 - 48 giờ sau khi tiêm.

Từ khóa: *Escherichia coli*, ngộ độc thực phẩm, ô nhiễm vi sinh vật, thịt lợn, Điện Biên.

Survey on microbial contamination, characteristics of *E. coli* bacteria in pork samples collected in Dien Bien province

Nguyen Van Tuyen

SUMMARY

This study was carried out to determine the prevalence of aerobic bacteria total and *E. coli* in pork selling in some markets of Dien Bien province. A total of 90 pork samples collected randomly at 3 local markets in Dien Bien province from June, 2016 to April, 2017 were analysed to determine the bacterial contamination in pork. The studied result showed that 98.89% of samples were positive with aerobic bacteria total. Of which, 48.89% of samples were contaminated with aerobic bacteria total over the limited level; 75.56% of samples were contaminated with *E. coli*. Of which, 30 - 53.33% of samples were contaminated with *E. coli* over the permitted level of food safety, with the bacterial numbers ranging from 1.03×10^2 CFU/g to 5.23×10^2 CFU/g. The highest infection rate and intensity of *E. coli* in pork were in the central market. The prevalence of *E. coli* in pork was gradually increased and proportional to the time after slaughter and also increased in summer - autumn rather than in winter - spring. The isolated *E. coli* strains carried all the bio-chemistry characteristics of the *E. coli* bacteria and caused poison for human. The antibiotic susceptibility test of 68 *E. coli* strains showed that 67.65% - 91.18% of the isolated strains were susceptible to enrofloxacin, norfloxacin, gentamycin and spectinomycin. The isolated *E. coli* strains were strongly resistant to tetramycine (80.88%), streptomycin (77.94%),

oxacillin (66.18%) and erythromycin (42.65%). All (100%) of the isolated *E. coli* strains were virulent, killing the experimental guinea pigs within 8 to 48 hours.

Keywords: *Escherichia coli*, food poisoning, microbial contamination, pork, Dien Bien province.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, ngộ độc thực phẩm xảy ra thường xuyên và với số lượng vụ ngộ độc thực phẩm rất lớn làm ảnh hưởng không nhỏ đến sức khỏe con người và kinh tế của người dân. Nguyên nhân là do thức ăn không đảm bảo vệ sinh, nhiều tạp chất, chất hoá học... đặc biệt do thức ăn nhiễm một số loại vi khuẩn như: *E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* và *Listeria monocytogenes*...

Những năm gần đây, tình trạng ngộ độc thực phẩm ở nước ta đang có xu hướng tăng và ảnh hưởng không nhỏ tới sức khỏe con người. Việt Nam là nước đang phát triển thuộc vùng nhiệt đới, trình độ sản xuất còn thấp cộng với khí hậu nóng ẩm đã tạo điều kiện cho nhiều loài vi sinh vật gây hại thực phẩm phát triển. Theo Tổng cục thống kê (2018), trong 6 tháng đầu năm 2018, cả nước xảy ra 44 vụ ngộ độc thực phẩm làm 1.207 người bị ngộ độc, trong đó có 7 trường hợp tử vong. Riêng tại tỉnh Điện Biên, chưa có kết quả nghiên cứu chính thức nào được báo cáo về tình hình ngộ độc thực phẩm có liên quan đến vi sinh vật.

Thực tế hiện nay, thực phẩm có nguồn gốc từ động vật, đặc biệt là thịt lợn bán ở một số chợ, cửa hàng lại không đảm bảo chất lượng. Điều đó cũng lý giải tại sao hàng năm có rất nhiều vụ ngộ độc thực phẩm xảy ra. Nguyên nhân gây ngộ độc thực phẩm là do ăn, uống một lượng lớn các vi sinh vật và các độc tố của chúng. Điều đáng chú ý ở đây là một số độc tố của chúng bền với nhiệt và khó bị phân hủy ở nhiệt độ cao như độc tố ruột enterotoxin của nhóm vi khuẩn enterotoxigenic *E. coli*. Hơn nữa vi khuẩn này còn có khả năng kháng kháng sinh streptomycin, spectinomycin..., khi gặp điều kiện thuận lợi có thể gây những bệnh nguy hiểm.

Xuất phát từ thực tế trên, chúng tôi đã tiến hành xác định mức độ ô nhiễm vi khuẩn chỉ điểm vệ sinh thực phẩm và đặc điểm sinh học của vi khuẩn *E. coli* trong thịt lợn bán tại một số chợ của tỉnh Điện Biên.

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

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu thịt lợn thu thập ngẫu nhiên tại 3 chợ bán lẻ khác nhau tại tỉnh Điện Biên.

- Các loại môi trường dùng trong nghiên cứu là các loại môi trường tổng hợp sẵn như Nutrient broth, BHI broth, Plate Count Agar, MacConkey agar, blood agar dùng cho nuôi cấy, giám định một số đặc tính sinh học của các vi khuẩn phân lập được.

- Các khoanh giấy tẩm kháng sinh của hãng Oxoid (Anh)

- Chuột bạch khỏe khối lượng từ 18 - 20 g/con.

- Hóa chất, dụng cụ, máy móc thuộc phòng thí nghiệm vi sinh vật.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập, xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm TSVKHK, vi khuẩn *E. coli* từ các mẫu thịt lợn thu thập từ các chợ bán lẻ của thành phố Điện Biên Phủ vào các thời điểm khác nhau trong ngày và các mùa khác nhau trong năm.

- Xác định một số đặc tính sinh vật, hóa học của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được.

- Xác định khả năng gây độc trên động vật thí nghiệm của 1 số chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được.

- Xác định tính miễn cảm với một số kháng sinh của một số chủng *E. coli*.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

- Lấy mẫu thịt tươi theo TCVN 4833-1:2002, TCVN 4833-2:2002, ISO 3100-2:1988.

- Thu thập ngẫu nhiên 90 mẫu thịt lợn tại 3 chợ bán lẻ trên địa bàn thành phố Điện Biên Phủ. Mẫu được lấy vào 2 thời điểm là sau giết mổ 2 - 3 giờ và sau giết mổ 6 - 8 giờ. Thời gian từ tháng 6/2016 đến 4/2017. Mỗi mẫu được đựng riêng rẽ vào một túi nilong sạch, có ghi rõ ký hiệu. Các mẫu được bảo quản trong nhiệt độ lạnh (4 - 8°C) và chuyển ngay về phòng thí nghiệm Vi sinh, Viện Khoa học sự sống (Đại học Thái Nguyên) để xử lý mẫu trong ngày.

2.3.2. Phương pháp phân lập, giám định vi khuẩn

- Phương pháp phân lập vi khuẩn chỉ điểm an toàn thực phẩm trên thịt

Phân lập vi khuẩn theo TCVN 5667:1992 để xác định chỉ tiêu TSVKHK và TCVN 5155:1990 để xác định chỉ tiêu *E. coli* trên thịt lợn.

- Phương pháp phát hiện, giám định vi khuẩn *E. coli* trên mẫu thịt

Sau khi pha loãng mẫu và nuôi cấy mẫu theo quy trình trên môi trường MacConkey, bồi dưỡng ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ, chọn những khuẩn lạc điển hình để giám định các đặc tính

sinh hóa, làm cơ sở xác định chính xác loài *E. coli*.

- Kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được bằng phương pháp gây bệnh cho động vật thí nghiệm (Theo Carter và cộng sự, 1994). Canh trùng được tạo ra bằng cách lấy khuẩn lạc nuôi cấy vào môi trường BHI, bồi dưỡng tủ ấm 37°C trong 24 giờ, nồng độ vi khuẩn đạt 10^6 - 10^7 vi khuẩn/ml. Tiến hành tiêm canh trùng vào xoang phúc mạc của chuột bạch, liều tiêm 0,5ml canh trùng/con. Theo dõi trong vòng 7 ngày. Sau khi chuột chết, mổ khám kiểm tra bệnh tích rồi lấy máu tim cấy vào môi trường nước thịt, thạch máu và thạch MacConkey, bồi dưỡng tủ ấm 37°C trong 24 giờ, kiểm tra tính chất mọc, phết kính kiểm tra hình thái vi khuẩn và kết luận.

Phương pháp thử tính miễn cảm kháng sinh: Xác định tính miễn cảm của kháng sinh theo phương pháp của Kirby- Bauer.

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học của Nguyễn Văn Thiện (2000), Minitab 14, Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định mức độ ô nhiễm vi khuẩn chỉ điểm vệ sinh thực phẩm trên thịt lợn

3.1.1. Kết quả kiểm tra TSVKHK trong thịt lợn

Bảng 1. Kết quả kiểm tra chỉ tiêu tổng số VKHK trong thịt lợn tươi

| TT | Địa điểm | Chỉ tiêu khảo sát | | | | | Cường độ nhiễm ở các mẫu không đạt TCVN | | |
|-------------------|-------------|-------------------|-------------------|--------------|-------------------------|--------------|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | | Số mẫu kiểm tra | Số mẫu dương tính | Tỷ lệ (%) | Số mẫu không đạt TCVN * | Tỷ lệ (%) | Mức thấp nhất (CFU/g) | Mức cao nhất (CFU/g) | Mức trung bình (CFU/g) |
| 1 | Mường Thanh | 30 | 29 | 96,67 | 15 | 50,00 | $1,01 \times 10^6$ | $5,37 \times 10^6$ | $3,49 \times 10^6$ |
| 2 | Him Lam | 30 | 30 | 100 | 13 | 43,33 | $1,16 \times 10^6$ | $4,25 \times 10^6$ | $2,55 \times 10^6$ |
| 3 | Trung Tâm | 30 | 30 | 100 | 16 | 53,33 | $1,02 \times 10^6$ | $6,27 \times 10^6$ | $3,68 \times 10^6$ |
| Tính chung | | 90 | 89 | 98,89 | 44 | 48,89 | $1,01 \times 10^6$ | $6,27 \times 10^6$ | $3,49 \times 10^6$ |

* Quy định kỹ thuật theo TCVN 7046:2002, số khuẩn lạc (tổng số VK hiếu khí) $\leq 10^6$ CFU/g
CFU: Colony Forming Unit

Từ bảng 1, các kết quả thu được cho thấy: Tỷ lệ các mẫu dương tính với TSVKHK rất cao (98,89%), số mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh dao động từ 43,33% đến 53,33%. Mức nhiễm cao nhất từ $4,25 \times 10^6$ – $6,27 \times 10^6$ CFU/g; thấp nhất từ $1,01 \times 10^6$ - $1,16 \times 10^6$ CFU/g. Tại 3 địa điểm lấy mẫu, không có sự khác biệt rõ rệt ($P=0,128$). Kết quả nghiên cứu này thấp hơn kết quả của Khiếu Thị Kim Anh (2009), Nguyễn Thị Thu Trang (2008); các tác giả cho biết tỷ lệ mẫu thịt lợn nhiễm TSVKHK dao động từ 46,6% - 60,9%. Sở dĩ mức độ nhiễm khuẩn cao, vượt quá mức cho phép là do: địa điểm giết mổ mang tính chất tạm bợ, không đảm bảo vệ sinh, dụng cụ thủ công... Nguồn nước sử dụng cho các khâu giết mổ không đạt tiêu chuẩn vệ sinh. Sau khi giết mổ, thịt được vận chuyển thẳng tới các khu chợ bằng các phương tiện không đảm bảo tiêu chuẩn vệ sinh thú y, không được bao gói bảo quản. Việc bày bán thịt ở chợ tự do suốt cả ngày. Công tác kiểm tra vệ sinh thú y chỉ được diễn ra 1 lần, thường vào buổi sáng. Mức độ đánh giá sơ bộ chủ yếu ở

cảm quan. Do đó, không thể đảm bảo thịt luôn tươi ngon, không bị nhiễm khuẩn. Nhận xét này phù hợp với kết quả nghiên cứu của một số tác giả Lê Minh Sơn (2003) và Tô Liên Thu (2006) cho rằng thịt bị nhiễm khuẩn chủ yếu là do đất, nước, dụng cụ và quá trình vận chuyển từ điểm giết mổ đến nơi tiêu thụ.

3.1.2. Kết quả kiểm tra vi khuẩn E. coli trong thịt lợn

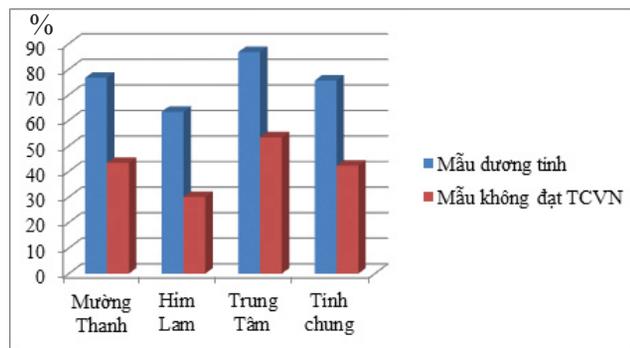
Đối với thực phẩm tươi sống, đặc biệt là thực phẩm có nguồn gốc động vật, việc kiểm tra chỉ tiêu E. coli là yêu cầu bắt buộc, nó là một trong những tiêu chuẩn cần thiết để đánh giá tình trạng vệ sinh thực phẩm.

Kết quả kiểm tra mức độ nhiễm khuẩn E. coli trên thịt lợn lấy từ 3 chợ bán lẻ đại diện cho phương thức buôn bán thịt lợn tại Điện Biên. Kết quả được tổng hợp trong bảng 2 và biểu đồ 1.

Bảng 2. Kết quả xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm khuẩn E. coli trên thịt lợn

| TT | Địa điểm (chợ) | Chỉ tiêu khảo sát | | | | Cường độ nhiễm ở các mẫu không đạt TCVN | | | |
|-------------------|----------------|-------------------|-------------------|--------------|-------------------------|---|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | | Số mẫu kiểm tra | Số mẫu dương tính | Tỷ lệ (%) | Số mẫu không đạt TCVN * | Tỷ lệ (%) | Mức thấp nhất (CFU/g) | Mức cao nhất (CFU/g) | Mức trung bình (CFU/g) |
| 1 | Mường Thanh | 30 | 23 | 76,67 | 13 | 43,33 | $1,05 \times 10^2$ | $4,29 \times 10^2$ | $2,01 \times 10^2$ |
| 2 | Him Lam | 30 | 19 | 63,33 | 9 | 30,00 | $1,03 \times 10^2$ | $3,68 \times 10^2$ | $1,89 \times 10^2$ |
| 3 | Trung Tâm | 30 | 26 | 86,67 | 16 | 53,33 | $1,19 \times 10^2$ | $5,23 \times 10^2$ | $2,28 \times 10^2$ |
| Tính chung | | 90 | 68 | 75,56 | 38 | 42,22 | $1,03 \times 10^2$ | $5,23 \times 10^2$ | $2,01 \times 10^2$ |

Quy định kỹ thuật theo TCVN 7046:2002, số vi khuẩn E. coli $\leq 10^2$ CFU/g; CFU: Colony Forming Unit



Biểu đồ 1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn E. coli trên thịt lợn

Kết quả thu được ở bảng 2 và biểu đồ 1 cho thấy: trong 90 mẫu thịt lợn được kiểm tra, có 75,56% mẫu dương tính với *E. coli*, với 38 mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh thực phẩm, chiếm 42,22%. Mức nhiễm khuẩn tại các điểm lấy mẫu cao nhất từ $3,68 \times 10^2$ CFU/g – $5,23 \times 10^2$ CFU/g; mức nhiễm thấp nhất từ $1,03 \times 10^2$ CFU/g – $1,19 \times 10^2$ CFU/g; trung bình từ $1,89 \times 10^2$ CFU/g – $2,28 \times 10^2$ CFU/g. Tuy nhiên tỷ lệ này không có sự sai khác rõ rệt về địa điểm lấy mẫu ($P = 0,299$). Điều này phản ánh thực tế về tình trạng vệ sinh tại các chợ cũng như tại các địa điểm giết mổ.

Kết quả này phù hợp với công bố của Đỗ Bích Huệ và cs (2012), Trần Thị Ngọc Ánh (2015) cho biết tỷ lệ nhiễm *E. coli* không đạt TCVN là dao động từ 38,40% - 48,33%.

Trên thực tế, thịt lưu hành tại các chợ bị ô nhiễm là do: Việc giết mổ trên địa bàn phần lớn do tư nhân đảm nhiệm, địa điểm tạm bợ, dụng cụ giết mổ thô sơ, nguồn nước sử dụng bị ô nhiễm. Thịt lợn được bày bán xen kẽ với các mặt hàng khác (nội tạng), thực phẩm sống và chín bày trên cùng một bàn mà không có phân cách. Việc bày bán thịt tự do ở chợ diễn ra suốt cả ngày, thịt trên bàn không được che đậy, bảo quản. Nền chợ tuy đã được láng xi măng nhưng rãnh nước thải được thiết kế nổi, vệ sinh môi trường chợ kém, sau khi trời mưa rất bẩn. Đây là điều kiện thuận lợi để vi khuẩn có hại gây ô nhiễm vi khuẩn vào thịt.

E. coli là một chỉ tiêu quan trọng để xác định mức độ ô nhiễm vi khuẩn đối với thịt lợn, khi tiến hành xét nghiệm, nếu cường độ vượt quá 10^2 CFU/g chứng tỏ thịt đã bị ô nhiễm, vi phạm tiêu chuẩn an toàn vệ sinh thực phẩm. Mặt khác, tỷ lệ ô nhiễm của chỉ tiêu vi khuẩn nói lên tình trạng vệ sinh và quản lý thú y của các chợ, các địa điểm lấy mẫu. Địa điểm nào có tỷ lệ ô nhiễm cao chứng tỏ khu chợ đó chưa đạt tiêu chuẩn vệ sinh. Nhận xét này phù hợp với Lê Minh Sơn (2003) và Tô Liên Thu (2005).

a. Xác định chỉ tiêu vi khuẩn *E. coli* trên thịt lợn theo thời gian lấy mẫu

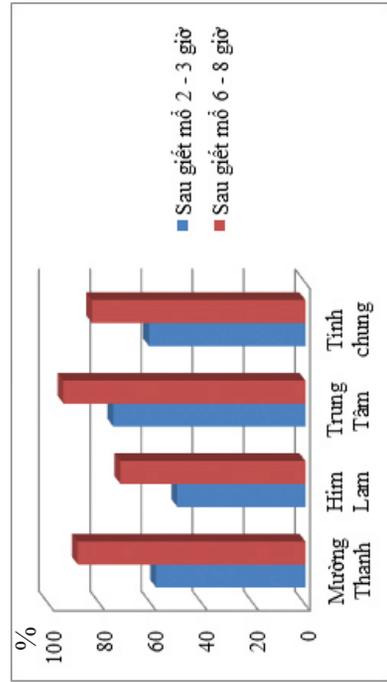
Để kiểm tra mức độ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt lợn theo thời gian lấy mẫu trong ngày, chúng tôi đã tiến hành thu thập mẫu thịt lợn bán tại chợ ở các thời điểm sau giết mổ 2 - 3 giờ và sau 6 - 8 giờ để xác định tỷ lệ nhiễm *E. coli*. Kết quả trình bày ở bảng 3 và biểu đồ 2.

Tiến hành kiểm tra 36 mẫu thịt lợn sau thời gian giết mổ 2 - 3 giờ, có 22 mẫu dương tính với *E. coli*, 9 mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh, chiếm 25%. Số lượng vi khuẩn *E. coli* từ mẫu không đạt TCVS cao nhất là $3,76 \times 10^2$ CFU/g và thấp nhất là $1,03 \times 10^2$ CFU/g. Kiểm tra 54 mẫu thịt sau giết mổ 6 - 8 giờ, có 46 mẫu dương tính với *E. coli*, 53,7% mẫu không đạt TCVS, ở các mẫu không đạt TCVS cao nhất là $5,23 \times 10^2$ CFU/g và thấp nhất là $1,19 \times 10^2$ CFU/g. Mức độ nhiễm vi khuẩn *E. coli* theo thời gian thu thập mẫu có sự sai khác rõ rệt ($P=0,00$). Sở dĩ có sự chênh lệch về tỷ lệ nhiễm này là do: tại các chợ chúng tôi tiến hành điều tra thường giết mổ lợn vào thời điểm 4 - 5h sáng nên tại thời điểm chúng tôi lấy mẫu đều cách lúc giết mổ khoảng 2 - 3 tiếng, thịt chưa bị ôi thiu, ruồi nhặng bám vào ít, do vậy mức độ nhiễm sẽ chênh lệch không đáng kể. Tuy nhiên, mức độ nhiễm khuẩn chênh lệch như trên chủ yếu là do số lượng thịt bán vào buổi sáng còn tồn dư lại được tiếp tục bán vào buổi chiều, thêm vào đó thịt để lâu mà không được che đậy, bảo quản, nhiều ruồi nhặng bám vào nên rất dễ ôi thiu, tạo điều kiện thuận lợi cho vi khuẩn sinh trưởng và phát triển. Những thức ăn được chế biến nếu sử dụng các sản phẩm từ thịt ôi thiu thì bản thân nó đã mang một nguồn vi khuẩn rất lớn. Ngoài ra, mức độ nhiễm khuẩn còn tùy thuộc vào từng thời điểm trong ngày, từng khu vực, vào những ngày thời tiết, khí hậu thay đổi, sự hoạt động của vi khuẩn càng có điều kiện phát triển mạnh hơn.

Bảng 3. Kết quả xác định vi khuẩn E. coli nhiễm trên thịt lợn tươi theo thời gian

| Địa điểm | Tổng số mẫu kiểm tra | Mẫu kiểm tra sau giết mổ 2 - 3 giờ | | | | | | Mẫu kiểm tra sau giết mổ 6 - 8 giờ | | | | | |
|-------------|----------------------|------------------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | Chỉ tiêu khảo sát | | | Cường độ nhiễm của mẫu không đạt TCVN | | | Chỉ tiêu khảo sát | | | Cường độ nhiễm của mẫu không đạt TCVN | | |
| | | Số mẫu dương tính | Tỷ lệ (%) | Số mẫu không đạt TCVN | Tỷ lệ (%) | Mức thấp nhất (CFU/g) | Mức cao nhất (CFU/g) | Số mẫu dương tính | Tỷ lệ (%) | Số mẫu không đạt TCVN | Tỷ lệ (%) | Mức thấp nhất (CFU/g) | Mức cao nhất (CFU/g) |
| Mường Thanh | 30 | 7 | 58,33 | 3 | 25,00 | 1,05x10 ² | 3,26x10 ² | 16 | 88,89 | 10 | 55,56 | 1,19x10 ² | 4,29x10 ² |
| Him Lam | 30 | 6 | 50,00 | 2 | 16,67 | 1,03x10 ² | 2,55x10 ² | 13 | 72,22 | 7 | 38,89 | 1,28x10 ² | 3,68x10 ² |
| Trung Tâm | 30 | 9 | 75,00 | 4 | 33,33 | 1,19x10 ² | 3,76x10 ² | 17 | 94,44 | 12 | 66,67 | 1,86x10 ² | 5,23x10 ² |
| Tổng | 90 | 22 | 61,11 | 9 | 25,00 | 1,03x10² | 3,76x10² | 46 | 83,33 | 29 | 53,70 | 1,19x10² | 5,23x10² |

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



Biểu đồ 2. Mức độ nhiễm khuẩn E. coli trên thịt lợn tươi theo thời gian lấy mẫu

b. Xác định chỉ tiêu vi khuẩn *E. coli* trên thịt lợn theo mùaBảng 4. Tỷ lệ nhiễm khuẩn *E. coli* trên thịt lợn theo mùa

| Địa điểm | Mùa | Chỉ tiêu khảo sát | | | | |
|-------------|-------------|-------------------|-------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| | | Số mẫu kiểm tra | Số mẫu dương tính | Tỷ lệ (%) | Số mẫu không đạt TCVN | Tỷ lệ (%) |
| Mường Thanh | Hè - Thu | 18 | 16 | 88,89 | 10 | 55,56 |
| | Đông - Xuân | 12 | 7 | 58,33 | 3 | 25,00 |
| Him Lam | Hè - Thu | 14 | 11 | 78,57 | 7 | 50,00 |
| | Đông - Xuân | 16 | 8 | 50,00 | 2 | 12,50 |
| Trung Tâm | Hè - Thu | 17 | 16 | 94,12 | 11 | 64,71 |
| | Đông - Xuân | 13 | 10 | 76,92 | 5 | 38,46 |
| Tính chung | Hè - Thu | 49 | 43 | 87,76 | 28 | 57,14 |
| | Đông - Xuân | 41 | 25 | 60,98 | 10 | 24,39 |

Qua kết quả ở bảng 4 cho thấy: Tỷ lệ thịt lợn nhiễm khuẩn *E. coli* ở mùa Hè - Thu (87,76%) cao hơn mùa Đông - Xuân (60,98%). Mức độ nhiễm khuẩn *E. coli* theo mùa có sự khác biệt khi $P = 0,001$ ($P < 0,05$). Sở dĩ có sự chênh lệch về tỷ lệ nhiễm khuẩn như trên là do: vào mùa Hè - Thu, thời tiết nóng ẩm, khí hậu thay đổi thất thường, thời gian nóng bức kéo dài kèm theo nhiều cơn mưa lớn, nhiệt độ môi trường cao, ẩm độ cao, tạo điều kiện cho vi khuẩn sinh trưởng phát triển. Trong khi mùa Đông nhiệt độ môi trường giảm mạnh, thời tiết khô hanh và lạnh nên số mẫu nhiễm khuẩn *E. coli* cũng giảm đi đáng kể. Nhận định này phù hợp với thông báo của các chuyên gia ATTP: nguy cơ bị bệnh tả, lỵ ngộ độc thực phẩm thường gặp trong mùa Hè và chiếm tỷ lệ cao hơn so với các mùa khác trong năm.

3.2. Giám định đặc tính sinh vật hóa học của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được

Đã tiến hành kiểm tra một số đặc tính sinh vật, hóa học của 68 chủng vi khuẩn *E. coli* phân

lập được. Kết quả thu được trình bày ở bảng 5.

Từ bảng 5, các kết quả thu được cho thấy: các chủng *E. coli* phân lập được đều bắt màu đỏ, thuộc nhóm vi khuẩn Gram (-), đều có khả năng sinh Indol, lên men các loại đường Lactose, Maltose, Glucose, Fructose (100%); 100% dương tính với phản ứng MR và Sorbitol nhưng âm tính với phản ứng Citrat và VP. Các chủng vi khuẩn này đều không sinh H_2S . Có 67/68 chủng có khả năng di động (98,53%), còn 1/68 chủng không có khả năng di động (1,47%); Đặc biệt, khi nuôi cấy trên môi trường thạch máu, có 1/68 chủng có khả năng dung huyết mạnh. Điều này chứng tỏ các chủng *E. coli* này có khả năng gây bệnh cho người.

Như vậy, các chủng *E. coli* chúng tôi phân lập được đều thể hiện các đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng của giống *E. coli* và phù hợp với những đặc điểm về hình thái, tính chất nuôi cấy vi khuẩn và đặc tính sinh hóa mà Nguyễn Như Thanh và cs (2001), Lê Minh Sơn (2003), Tô Liên Thu (2006) đã công bố khi nghiên cứu về *E. coli*.

Bảng 5. Kết quả giám định đặc tính sinh vật hóa học của các chủng vi khuẩn *E. coli*

| TT | Các thử nghiệm xác định đặc tính sinh vật hóa học | Kết quả giám định | | | | |
|----|---|-------------------|---------------------|---------|------------------|---------|
| | | Số chủng kiểm tra | Số chủng dương tính | Tỷ lệ % | Số chủng âm tính | Tỷ lệ % |
| 1 | Tính chất bắt màu gram âm | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 2 | Sản sinh Indol | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 3 | VP | 68 | 0 | 0 | 68 | 100 |
| 4 | MR | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 5 | Phản ứng Citrat | 68 | 0 | 0 | 68 | 100 |
| 6 | Lên men Lactose | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 7 | Lên men Maltose | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 8 | Lên men Glucose | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 9 | Lên men Fructose | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 10 | Sorbitol | 68 | 68 | 100 | 0 | 0 |
| 11 | Sản sinh H ₂ S | 68 | 0 | 0 | 68 | 100 |
| 12 | Khả năng di động | 68 | 67 | 98,53 | 1 | 1,47 |
| 13 | Khả năng dung huyết | 68 | 1 | 1,47 | 67 | 98,53 |

3.3. Thử độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trên chuột thí nghiệm

Sử dụng chuột bạch để tiêm truyền canh

khuẩn nuôi cấy sau 24 giờ nhằm xác định độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được. Kết quả được tổng hợp trong bảng 6.

Bảng 6. Kết quả xác định độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được

| Số chủng thử | Số chủng giết chết chuột | | | | Số chủng không giết chết chuột | | Thời gian chuột chết (giờ) | Phân lập lại vi khuẩn (-/+) |
|--------------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|--------------------------------|-----------|----------------------------|-----------------------------|
| | Giết 2/2 chuột thí nghiệm | | Giết 1/2 chuột thí nghiệm | | | | | |
| | Số chủng | Tỷ lệ (%) | Số chủng | Tỷ lệ (%) | Số chủng | Tỷ lệ (%) | | |
| 5 | 1 | 20,00 | 1 | 20,00 | 0 | 0,00 | 8 - 24 giờ | + |
| | 0 | 0,00 | 3 | 60,00 | | | 24 - 48 giờ | + |

Kết quả thu được cho thấy: 100% số chủng đem thử đều gây chết chuột. Trong đó có 1 chủng gây chết 100% chuột và 1 chủng gây chết 50% số chuột thí nghiệm trong vòng 8 - 24 giờ, 3 chủng gây chết 50% chuột trong 24 - 48 giờ. Điều này chứng tỏ độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được là rất mạnh.

Chuột chết mổ khám thấy bệnh tích đặc trưng: Chỗ tiêm thủy thũng; ruột, dạ dày đầy

hơi; gan sưng nhão có nhiều điểm xuất huyết; lách, thận sưng, tím bầm. Từ gan, máu tim, phân lập được *E. coli*. Phân lập vi khuẩn từ bệnh tích (máu tim, gan, lách, ruột non...) của chuột chết đều tìm thấy *E. coli*.

3.4. Kết quả thử tính miễn cảm với kháng sinh của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được

Để cung cấp thêm cơ sở khoa học và thực tiễn trong việc hỗ trợ điều trị ngộ độc thực phẩm

ở người, 68 chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được đã được tiến hành thử tính mẫn cảm với

một số loại kháng sinh. Kết quả thu được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Kết quả xác định tính mẫn cảm với một số loại kháng sinh hóa dược của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được

| TT | Tên kháng sinh & hóa dược | Số chủng thử | Đánh giá mức độ mẫn cảm <i>E. coli</i> | | | |
|----|---------------------------|--------------|--|-------|-------------|-------|
| | | | Mẫn cảm | | Kháng thuốc | |
| | | | + | % | + | % |
| 1 | Cephalexin | 68 | 29 | 42,65 | 39 | 57,35 |
| 2 | Streptomycin | 68 | 15 | 22,06 | 53 | 77,94 |
| 3 | Gentamycin | 68 | 59 | 86,76 | 9 | 13,24 |
| 4 | Norfloxacin | 68 | 62 | 91,18 | 6 | 8,82 |
| 5 | Oxacillin | 68 | 23 | 33,82 | 45 | 66,18 |
| 6 | Erythromycin | 68 | 39 | 57,35 | 29 | 42,65 |
| 7 | Spectinomycin | 68 | 46 | 67,65 | 22 | 32,35 |
| 8 | Enrofloxacin | 68 | 57 | 83,82 | 11 | 16,18 |
| 9 | Tetracyclin | 68 | 13 | 19,12 | 55 | 80,88 |

Các kết quả thu được từ bảng 7 cho thấy: Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được có tỷ lệ mẫn cảm với một số kháng sinh với tỷ lệ cao. Trong đó, Norfloxacin có tỷ lệ mẫn cảm với *E. coli* cao nhất (91,18%), thấp hơn là Enrofloxacin và Gentamycin với tỷ lệ lần lượt là 83,82%, 86,76%. Các kháng sinh Norfloxacin, Enrofloxacin có tỷ lệ mẫn cảm cao do đây là kháng sinh thế hệ mới, có hoạt phổ rộng. Mặt khác, các loại thuốc kháng sinh thuộc nhóm Quinolon đang bị cấm hoặc hạn chế sử dụng nên tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* còn mẫn cảm với nhóm kháng sinh này còn cao. Điều này chứng tỏ, tuy là một vi khuẩn gây bệnh nguy hiểm, song bệnh do vi khuẩn này gây ra có thể điều trị hiệu quả nếu sử dụng đúng thuốc, đúng liều và đủ liệu trình.

Một số loại kháng sinh đem kiểm tra đã bị vi khuẩn *E. coli* kháng lại với tỷ lệ cao. Tetracyclin có tỷ lệ kháng cao nhất (80,88%), thấp hơn có Streptomycin và Oxacillin với tỷ lệ kháng lần lượt là 77,94% và 66,18%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Trần Thị Thùy Giang và cs (2014) [5] cho biết tại TP Hồ

Chí Minh và các tỉnh lân cận, vi khuẩn *E. coli* có tỷ lệ kháng cao với các loại kháng sinh thông thường như Streptomycin, Tetracyclin... Theo chúng tôi, các chủng vi khuẩn *E. coli* có tỷ lệ kháng cao đối với các kháng sinh này do đây là kháng sinh cũ, thường được sử dụng phổ biến trong điều trị và được bổ sung vào thức ăn chăn nuôi để phòng bệnh và kích thích sinh trưởng trong thời gian dài. Các loại kháng sinh khác có tỷ lệ bị kháng dao động từ 32,35% đến 57,35%.

IV. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm TSVKHK và *E. coli* trong thịt lợn đang tiêu thụ tại 3 chợ Mường Thanh, Him Lam, Trung Tâm của tỉnh Điện Biên lần lượt là 98,89% và 75,56%, trong đó tỷ lệ mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh về TSVKHK là 48,89% và *E. coli* là 42,22%.

Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* tăng dần và tỷ lệ thuận với thời gian sau giết mổ và tăng cao trong mùa Hè - Thu so với thời điểm mùa Đông - Xuân.

Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được đều thể hiện các đặc tính sinh vật, hóa học đặc trưng của giống.

Cả 5 chủng đem thử đều có độc lực rất cao, gây chết 100% động vật thí nghiệm trong vòng 48 giờ sau khi tiêm.

Vi khuẩn *E. coli* mẫn cảm với Enrofloxacin, Norfloxacin Gentamycin và Spectinomycin với tỷ lệ 67,65% - 91,18%. Một số chủng *E. coli* đã kháng với kháng sinh Streptomycin, Oxacillin, Cephalixin (57,35% - 77,94%) và kháng rất cao với Tetracyclin (80,88 %).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alton G.G, G.R. Carter, A.C. Kibor và L.Pesti (1994). Chẩn đoán vi khuẩn học thú y: Sổ tay chẩn đoán phòng thí nghiệm một số bệnh chọn lọc ở vật nuôi (Lê Đình Chi và Trần Minh Châu dịch). NXB. Nông nghiệp. Sách xuất bản với sự thỏa thuận của Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hợp Quốc (FAO), tr. 104 - 141.
2. Khiếu Thị Kim Anh (2009), Đánh giá tình trạng ô nhiễm vi khuẩn chỉ điểm vệ sinh thực phẩm trong thịt lợn tại một số cơ sở giết mổ và kinh doanh trên địa bàn Hà Nội, Luận văn Thạc sĩ Nông nghiệp, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
3. Trần Thị Ngọc Ánh (2015), *Thực trạng vệ sinh giết mổ lợn và sự ô nhiễm một số vi khuẩn ở thịt lợn sau giết mổ tại 3 thành phố thuộc tỉnh Quảng Ninh, đề xuất giải pháp khắc phục*, Luận văn Thạc sĩ Thú y, Đại học Nông lâm Thái Nguyên.
4. Đỗ Bích Duệ (2012), “Nghiên cứu một số đặc điểm của vi khuẩn *E. coli* trên thịt lợn tại một số chợ khu vực thành phố Thái Nguyên”, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên*, tập 97, số 09, tr. 93 – 97.
5. Trần Thị Thùy Giang, Nguyễn Thị Nguyệt, Nguyễn Văn Trí, Nguyễn Thị Lệ Hồ, Vương Xuân Vân, Uông Nguyễn Đức Ninh, Phạm Minh Thu, Cao Hữu Nghĩa (2014), “Khảo sát độ nhiễm khuẩn và khả năng kháng kháng sinh của *E. coli* phân lập từ thực phẩm tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh”, *Tạp chí Khoa học, trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*. Số 61, tr. 164 - 172
6. Phương pháp lấy mẫu thịt lợn tươi theo TCVN 4833 - 1:2002 và TCVN 4833 -2:2002, Hà Nội.
7. Lê Minh Sơn (2003), *Nghiên cứu một số vi khuẩn gây ô nhiễm thịt lợn vùng hữu nghị sông Hồng*, Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp, trường Đại học Nông nghiệp I, Hà Nội.
8. Nguyễn Như Thanh, Nguyễn Bá Hiên, Trần Thị Lan Hương (2001), *Vi sinh vật thú y*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
9. Nguyễn Văn Thiện (2008), *Phương pháp nghiên cứu trong chăn nuôi*, Nxb Nông nghiệp, Hà Nội.
10. Tiêu chuẩn Việt Nam (1990), *Thịt và sản phẩm của thịt - Phương pháp xác định và đếm số Escherichia coli*, TCVN – 5155.
11. Tiêu chuẩn Việt Nam (1992), *Thịt và sản phẩm của thịt, Phương pháp xác định tổng số vi khuẩn hiếu khí trên thịt*, TCVN- 5667.
12. 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.
13. Tổng cục thống kê (2018), Thông cáo báo chí tình hình kinh tế - xã hội 6 tháng đầu năm 2018, <https://gso.gov.vn>, ngày 25/7/2018.
14. Nguyễn Thị Thu Trang (2008), *Khảo sát thực trạng hoạt động giết mổ, đánh giá tình trạng ô nhiễm vi khuẩn trong thịt lợn nơi giết mổ và bán tại chợ thuộc quận Kiến An, thành phố Hải Phòng, giải pháp khắc phục*, Luận văn Thạc sĩ Nông nghiệp, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.

Ngày nhận 27-7-2018

Ngày phản biện 27-9-2018

Ngày đăng 1-5-2019