

XÁC ĐỊNH TỶ LỆ NHIỄM VÀ ĐỘC LỰC CỦA VI KHUẨN *Escherichia coli* PHÂN LẬP ĐƯỢC TỪ THỊT (LỢN, BÒ, GÀ) Ở MỘT SỐ HUYỆN NGOẠI THÀNH HÀ NỘI

Prevalence and Virulence of *Escherichia coli* Isolated from Pork, Beef and Chicken in Some Districts of Hanoi

Trần Thị Hương Giang, Huỳnh Thị Mỹ Lệ

Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Địa chỉ email tác giả liên hệ: tthgiang@hua.edu.vn

Ngày gửi bài: 22.02.2012

Ngày chấp nhận: 22.04.2012

TÓM TẮT

Kiểm tra 90 mẫu thịt (lợn, bò, gà) lấy tại 11 chợ ở một số huyện ngoại thành Hà Nội (huyện Gia Lâm, Đông Anh và Sóc Sơn) cho thấy tỷ lệ các mẫu thịt đạt tiêu chuẩn vệ sinh (TCVS) khi kiểm tra là khác nhau giữa các loại thịt và giữa các chợ. Cụ thể, tỷ lệ mẫu thịt bò và thịt lợn không đạt TCVS ở chỉ tiêu *E. coli* là 53,33%, cao nhất là thịt gà (60,0%). Toàn bộ 100% chủng phân lập được có độc lực cao, đều gây chết chuột bạch trong phòng thí nghiệm trong vòng 24 - 72 giờ. Trong số các chủng *E. coli* phân lập được, có 3 chủng thuộc về serotype O26, O55, O157 có thể gây nguy hiểm cho sức khỏe người tiêu dùng. Kết quả này góp phần cảnh báo cho người tiêu dùng cần trọng trong sử dụng thịt trên thị trường.

Từ khóa: *E. coli*, tỷ lệ nhiễm, độc lực, thịt

SUMMARY

A study was undertaken to determine the prevalence and virulence of *E. coli* isolated from meat of domestic animals in some districts of Hanoi. A total of 90 samples of meat (pork, beef, and chicken) were taken from 11 market places in Gia Lam, Dong Anh, and Soc Son. Results showed that the percentage of meat samples meeting the hygienic standard was different among the threotypes of meat and the studied places. In detail, the percentage of pork and beef samples unsatisfying in terms of *E. coli* contamination was 53.33% with the highest found for chicken meat (60.0%). All (100%) of the isolates of *E.coli* from meat samples had high toxicity, killing guinea pigs within 24 to 72 hours. There were three strains belonging to O26, O55, and O157 antigen groups that could be hazardous to consumers. The results should warn consumers of the quality of meat available in the local market places.

Keywords: *E. coli*, prevalence, virulence, meat

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới, ước tính hàng năm có khoảng 2 tỷ người bị ngộ độc thực phẩm (Đậu Ngọc Hào, 2011). Tại Việt Nam, theo ước tính và thống kê của Tổ chức y tế thế giới (WHO) có khoảng 8 triệu người bị ngộ độc thực phẩm mỗi năm, trong đó phần lớn

xảy ra tại các bếp ăn tập thể, khu công nghiệp, bếp ăn học sinh. Năm 2010, cả nước xảy ra 175 vụ ngộ độc thực phẩm, làm hơn 5000 người mắc và 42 trường hợp tử vong. Thiệt hại kinh tế cho chi phí điều trị bệnh và nghỉ làm việc khoảng 8 triệu USD/năm (Phương Thuận, 2011). Một trong những nguyên nhân gây ngộ độc

thực phẩm là do vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*). Vi khuẩn *E. coli* có mặt ở nhiều loại thực phẩm như thịt, cá, giò, nem chua, lòng lợn, chả quế, ... trong đó, *E. coli* nhiễm trên thịt được quan tâm nhiều vì thịt là nguồn thức ăn có giá trị dinh dưỡng cao và được sử dụng phổ biến.

Thành phố Hà Nội là trung tâm văn hóa, chính trị của cả nước với mật độ dân số đông và đời sống nhân dân ở mức cao, do đó nhu cầu tiêu thụ các sản phẩm từ động vật như thịt, trứng, sữa với số lượng ngày càng tăng. Ba loại thịt được sử dụng nhiều trong bữa cơm của mỗi gia đình là thịt lợn, thịt gà, thịt bò. Tuy nhiên việc đảm bảo vệ sinh trong khâu giết mổ cũng như vệ sinh vận chuyển từ lò mổ đến các quầy thịt chưa được đảm bảo, ảnh hưởng đến chất lượng thịt. Kết quả kiểm tra chỉ tiêu vi khuẩn tổng số, *E. coli* và độc lực của những chủng *E. coli* phân lập được sẽ giúp đánh giá về thực trạng vệ sinh thực phẩm tại các chợ trong phạm vi nghiên cứu này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

90 mẫu của cả ba loại thịt (bò, gà, lợn) được lấy ngẫu nhiên ở các quầy hàng tại 11 chợ vùng ngoại thành Hà Nội (Gia Lâm, Đông Anh và Sóc Sơn).

Động vật thí nghiệm là chuột bạch 18 -20g

Môi trường sử dụng trong nghiên cứu là các loại môi trường tổng hợp sẵn như Nutrient broth, Nutrient agar, MacConkey agar, blood agar base có bán trên thị trường của các hãng như Oxoid, Merck, ...

Kháng huyết thanh chuẩn dùng để xác định serotype O (đa giá và đơn giá) do hãng

Denka (Seiken Co., Ltd, Niigata, Nhật Bản) sản xuất.

Ngoài ra, nghiên cứu còn sử dụng các dụng cụ và trang thiết bị của Bộ môn Vi sinh vật - Truyền nhiễm, Khoa Thú y, trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu được lấy theo TCVN 4833 - 2002, lấy vào buổi sáng (6 - 7h), thời gian từ tháng 3/2011 - 6/2011. 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 về phòng thí nghiệm để xử lý mẫu trong cùng ngày.

Phát hiện và tính số lượng *E. coli* có trong 1g thịt theo TCVN- 2:2008 (ISO 16649-2:2001).

Xác định serotype kháng nguyên O của các chủng *E. coli* phân lập được theo phương pháp ngưng kết nhanh trên phiến kính như Sojka và cs. (1965) mô tả (trích theo Hinton, 1985). Các chủng vi khuẩn được tiến hành xác định nhóm kháng nguyên O bằng loại huyết thanh đa giá trước, sau đó đến các huyết thanh đơn giá trong nhóm. Các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập cần định type được cấy trên thạch máu thỏ, ủ trong tủ ấm 37°C/24 giờ.

Kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn 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 nước thịt peptone, 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 0,2ml 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.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt

3.1.1. Kết quả kiểm tra mức độ ô nhiễm vi khuẩn *E. coli*

Đối với thực phẩm tươi sống, đặc biệt là thực phẩm có nguồn gốc động vật, việc xác định *E. coli* tổng số là yêu cầu bắt buộc, nó là

một trong những tiêu chuẩn cần thiết để đánh giá tình trạng vệ sinh thực phẩm. TCVN 7046: 2002 cho phép giới hạn tối đa *E. coli* trong thịt là 10^2 CFU/g thịt.

Kết quả kiểm tra mức độ ô nhiễm vi khuẩn *E. coli* trong các mẫu thịt kiểm tra được trình bày ở bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy trong 90 mẫu kiểm tra của cả 3 huyện trên 3 loại thịt thì có 40 mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh (TCVS), chiếm tỉ lệ 44,44%. Tuy tỉ lệ này không có sự sai khác rõ rệt giữa ba loại thịt nhưng thịt gà có đến 60,00% mẫu không đạt TCVS ($P > 0,05$).

Điều này phản ánh thực tế tình trạng vệ sinh tại các chợ cũng như tại các địa điểm giết mổ.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra vi khuẩn *E. coli* trong mẫu thịt

Loại thịt	Địa điểm	Số mẫu kiểm tra (n)	Mẫu nhiều nhất ($\times 10^2$ VK/g)	Mẫu ít nhất ($\times 10^2$ VK/g)	Số mẫu dương tính	Số mẫu không đạt ($> 10^2$ VK/g)	
						Số mẫu	Tỉ lệ (%)
Thịt lợn	Gia Lâm	10	2,56	0,03	8	4	40,00
	Đông Anh	10	3,48	0,05	9	6	60,00
	Sóc Sơn	10	2,74	0,04	9	6	60,00
	Tổng hợp	30			26	16	53,33
Thịt bò	Gia Lâm	10	2,67	0,14	7	5	50,00
	Đông Anh	10	3,47	0,23	6	6	60,00
	Sóc Sơn	10	2,87	0,29	10	5	50,00
	Tổng hợp	30			23	16	53,33
Thịt gà	Gia Lâm	10	5,63	0,31	8	5	50,00
	Đông Anh	10	7,48	0,18	9	7	70,00
	Sóc Sơn	10	4,58	0,37	9	6	60,00
	Tổng hợp	30			26	18	60,00
Tính chung		90			75	40	44,44

Như vậy, kết quả kiểm tra mức độ ô nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt phần nào cảnh báo cho các nhà quản lý và người tiêu dùng về nguy cơ ngộ độc thực phẩm ở 3 huyện ngoại thành Hà Nội.

3.1.2. Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trên chuột bạch

Tất cả các chủng *E. coli* phân lập được đều mang đầy đủ các đặc tính sinh học như tài liệu kinh điển đã mô tả (Carter và cộng sự, 1994). Việc kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *E.coli* phân lập được tiến hành trên chuột bạch. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được trên chuột bạch

TT	Ký hiệu chủng vi khuẩn	Kết quả	
		Số chuột chết/số tiêm (con)	Thời gian chuột chết (Giờ)
1	E-L5	1/2	48 - 72
2	E-L8	2/2	48 - 72
3	E-L21	2/2	48 - 72
4	E-B15	2/2	24
5	E-B25	2/2	24
6	E-B26	2/2	36 - 72
7	E-G7	2/2	36 - 48
8	E-G18	1/2	48 - 72
9	E-G23	2/2	24

Bảng 3. Kết quả xác định serotype kháng nguyên O của các chủng vi khuẩn *E. coli* phân lập được

Serotype kháng nguyên O	Kết quả	
	Số chủng dương tính	Tỷ lệ %
O15	3	6,0
O18	4	8,0
O19	3	6,0
O26	3	6,0
O28	4	8,0
O55	4	8,0
O91	2	4,0
O163	3	6,0
O157	6	12,0
Không xác định	18	36,0
Tổng hợp	50	100

Như vậy, 100% các chủng vi khuẩn *E.coli* phân lập được đều gây chết chuột trong khoảng thời gian từ 24 - 72 giờ. Tất cả những chuột chết được mổ khám để kiểm tra bệnh tích và đều phân lập lại được vi khuẩn *E. coli* thuần khiết từ máu tim.

3.1.3. Kết quả xác định serotype kháng nguyên O của các chủng vi khuẩn *E.coli* phân lập được

Kháng nguyên O là một trong những yếu tố gây bệnh của vi khuẩn *E. coli*.

Kết quả nghiên cứu đã xác định được 9 serotype kháng nguyên O, trong đó có serotype O26 (6,0%); O55 (8,0%) và O157 (12%) gây tiêu chảy, đặc biệt O55 gây tiêu chảy cho trẻ em dưới 2 tuổi, O157 gây bệnh viêm ruột (Bảng 3). Một số tác giả trong nước như Nguyễn Thị Thanh Thủy và cs. (2011), Lưu Thị Hải Yến (2011) cũng đều phát hiện được tỷ lệ vi khuẩn *E. coli* trong mẫu thịt trên địa bàn Hà Nội dương tính với một số serotype như đã trình bày ở trên.

Trong một số trường hợp, *E. coli* O157:H7 gây một biến chứng làm hư thận gọi là hội chứng xuất huyết u-rê huyết. *E. coli* O157:H7 hiện nay là chủng VTEC (Verotoxigenic *Escherichia coli*) được báo cáo nhiều nhất gây ra các vụ dịch lớn ở nhiều nước gồm cả Mỹ (MacDonald và Osterholm, 1993), Canada (Waters và cs., 1994), Anh (Thomas và cs., 1996) và Nhật Bản (Bettelheim, 1997).

Như vậy, trong các chủng *E. coli* phân lập được có 3 chủng thuộc serotype O26, O55, O157 gây nguy hiểm cho sức khỏe người tiêu dùng, vì thế người tiêu dùng cần chọn lựa những cơ sở kinh doanh thịt đảm bảo và điều quan trọng hơn cả là xử lý thật chín thức ăn.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E. coli* trên thịt lợn, thịt bò, thịt gà của 3 huyện là tương đối cao: Thịt lợn và thịt bò đều là 53,33%, thịt gà là 60%.

Độc lực của các chủng *E. coli* phân lập được: có 2 chủng có độc lực cao, gây chết chuột trong vòng 24 giờ.

Đã xác định được sự hiện diện của vi khuẩn *E. coli* thuộc 3 serotype O26, O55, O157 gây nên triệu chứng đau bụng cho người sử dụng thực phẩm khi thực phẩm chưa được nấu chín kỹ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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.
- Betteheim K.A (1997). “*Escherichia coli* O157 outbreak in Japan: lesson for Australia”, Australia Veterinary Journal, p. 108.
- Đậu Ngọc Hào (2011). “An toàn sản phẩm chăn nuôi từ sản xuất tới tiêu dùng”, Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y, Tập XVIII, tr. 84 - 883.
- Đậu Ngọc Hào (2011), “An toàn sản phẩm chăn nuôi từ sản xuất tới tiêu dùng”, Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y, Tập XVIII, tr. 84 - 88.
- Hinton M. (1985). The sub-specific differentiation of *Escherichia coli* with particular reference to ecological studies in young animals including man J. Hyg., Camb. 95, p. 595 - 609.
- MacDonald K. L. and Osterholm M. T. (1993). “The emergence of *Escherichia coli* O 157: H7 infection in the United States”, Journal of American Medical Association, p.2264 - 2266.
- Thomas A., Cheasty T., Frost J.A, Chart H., Smith H.R. and Rowe B. (1996). “Verocytotoxin - producing *Escherichia coli*, particularly serogroup O157, associated with human infections in England and Wales: 1992 -4”, Epidemiology and Infection, p.1 -10.

- Đỗ Ngọc Thúy, Lê Thị Minh Hằng, Lưu Thị Hải Yến, Nguyễn Thị Thanh Thủy. Kết quả áp dụng thử nghiệm quy trình xác định vi khuẩn Verotoxigenic *E. coli* trong mẫu thịt tươi, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, số 4/2011.
- Phương Thuận (2011). Hơn 6000 người bị ngộ độc thực phẩm mỗi năm, <http://giadinh.net.vn/2011032509425334p1044c1045/hon-6000-nguoi-bi-ngo-doc-thuc-pham-moi-nam.htm>, ngày truy cập 30/8/2011.
- TCVN 4833 - 2002
- TCVN - 2: 2008 (ISO 16649 - 2:2001)
- Nguyễn Thị Thanh Thủy, Đỗ Ngọc Thúy, Lưu Thị Hải Yến, Nguyễn Bá Hiên. Xác định tỷ lệ vi khuẩn Verotoxigenic *E. coli* (VTEC) trong mẫu thịt tại chợ, lò mổ địa bàn Hà Nội, Tạp chí Khoa học và Phát triển, tập 9, số 6, tr. 972-977.
- Lưu Thị Hải Yến (2011). Xây dựng quy trình xác định vi khuẩn Verotoxigenic *Escherichia coli* trong thịt bằng kỹ thuật PCR, Luận văn thạc sỹ Nông nghiệp.
- Waters J.R., Sharp J.C.M. and Dev V.J. (1994), "Infection caused by *Escherichia coli* O157: H7 in Alberta, Canada and in Scotland: a five year review, 1987 - 1991", Clinical Infectious Disease, p. 834 - 843.