

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

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**

TÓM TẮT

E.coli là vi sinh vật chỉ thị bắt buộc phải kiểm tra trong thực phẩm. Chúng tôi đã khảo sát tỉ lệ nhiễm khuẩn, tỉ lệ kháng kháng sinh và sàng lọc nhanh các chủng sinh men beta-lactamase từ 60 chủng *E.coli* phân lập được trên 270 mẫu thực phẩm và 1716 mẫu nước uống tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh từ tháng 1 – 6/2014. Kết quả: Tỉ lệ nhiễm khuẩn *E.coli* trong thực phẩm là 14,1%, tỉ lệ kháng với ít nhất 1 kháng sinh là 76,7%, tỉ lệ kháng từ 2 kháng sinh trở lên là 65% và 63,3% số chủng sản xuất men beta-lactamase.

Từ khóa: kháng kháng sinh, *E.coli*, beta-lactamase.

ABSTRACT

Research on the infectiousness and antibiotic resistance of *E.coli* isolated from foods in Pasteur Institute - Ho Chi Minh City

It is compulsory to check for E.coli in food. We investigated the rate of infectiousness, antibiotic resistance and screened strains that can produce beta-lactamase from 60 strains E.coli isolated on 270 foods samples and 1716 drinking water at Pasteur Institute Ho Chi Minh city from Jan – 2014 to June – 2014. Result: The rate of infectiousness in food is 14.1%, the proportion of resistance to at least one antibiotic is 76.7%, the rate of resistance to two or more antibiotics is 65% and 63.3% strains produced beta-lactamase.

Keywords: antibiotics resistance, *E.coli*, beta-lactamase.

1. Đặt vấn đề

Sự kháng thuốc của vi khuẩn gây bệnh đã và đang là mối quan tâm của thế giới. Hiện nay, do việc sử dụng kháng sinh tràn lan cho động vật (điều trị và phòng ngừa), dùng liều thấp để kích thích tăng trưởng đã tạo một sức ép chọn lọc làm vi khuẩn kháng kháng sinh. Mặt khác, do toàn cầu hóa về cung cấp thực phẩm đã làm lan truyền các vi sinh vật kháng kháng sinh và chúng được lây truyền vào người thông qua chuỗi thực phẩm. [5]

* HVCH, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

** BS, Viện Pasteur TPHCM

Escherichia coli là một trong những tác nhân gây ngộ độc thực phẩm thường gặp và điều đáng chú ý nhất là sự gia tăng khả năng kháng thuốc của vi khuẩn này. Trong những năm gần đây, tốc độ gia tăng tính kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* đã được báo cáo nhiều ở các nước phát triển và cả những nước đang phát triển [14]. Tại Việt Nam, theo số liệu giám sát trong năm 2012 tại bệnh viện nhiệt đới trung ương tỉ lệ kháng ampicilin của *E.coli* lên tới 81,4%; kháng amoxicillin/clavunanic và ampicillin/sulbactam khoảng 40%. Các kháng sinh nhóm cephalosporin thế hệ ba cũng bị kháng đến gần một nửa và nhóm fluoro-quinolon cũng bị kháng khoảng 45%.

Ở nước ta, sự kháng kháng sinh của vi khuẩn trong bệnh phẩm được nghiên cứu khá nhiều nhưng trong thực phẩm vấn đề này vẫn còn hạn chế. Do đó, phân lập vi khuẩn gây bệnh từ các mẫu thực phẩm, đánh giá tình trạng nhiễm khuẩn và xác định khả năng kháng thuốc của chúng là điều cần thiết, nhằm cung cấp thêm thông tin về sự kháng thuốc của vi khuẩn gây bệnh có trong thực phẩm và góp phần vào chiến lược định hướng sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu: “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” nhằm mục tiêu:

- Xác định tình trạng nhiễm khuẩn *E.coli* trong thực phẩm,
- Đánh giá mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* trong thực phẩm.
- Xác định tỉ lệ các chủng *E.coli* có khả năng sản xuất men beta-lactamase.

2. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, địa điểm và thời gian

Vi khuẩn *E.coli* phân lập được từ thực phẩm do khách hàng gửi tới kiểm nghiệm tại Phòng Vi sinh Thực phẩm, Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh từ tháng 1 – 6/2014.

2.2. Thiết kế nghiên cứu: Cắt ngang

2.3. Cỡ mẫu nghiên cứu

Chúng tôi đã phân tích với số lượng là 270 mẫu thực phẩm các loại (thịt và các sản phẩm từ thịt, thủy sản, trứng, sữa và các sản phẩm trứng, rau, gia vị...) và 1716 mẫu nước uống (nước đóng chai và nước xử lí dùng để uống).

2.4. Các phương pháp kiểm nghiệm vi sinh vật

- Phân lập vi khuẩn theo phương pháp nuôi cấy truyền thống: *E.coli* (ISO 7251:2005). [9]
- Xác định mức độ kháng kháng sinh của các chủng *E.coli* phân lập được bằng phương pháp Kirby - Bauer, sử dụng môi trường Mueller Hinton (MH) và đĩa giấy kháng sinh của hãng Bio – Rad. [10]
- Phương pháp sàng lọc các chủng *E.coli* sinh men beta-lactamase : sử dụng đĩa Cefinase của hãng Biomerieux. [1]
- Ghi nhận và xử lí kết quả bằng phần mềm Excel 2010.

2.5. Đánh giá kết quả

- Dựa vào nuôi cấy vi sinh và quy định số 46/2007/BYT và QCVN 8-3: 2012/BYT của Bộ Y tế để đánh giá kết quả đạt hay không đạt tiêu chuẩn vi sinh.
- Dựa theo tiêu chuẩn CLSI (2014) để xác định mức độ kháng kháng sinh của các chủng *E.coli* phân lập được.
- Dựa vào sự đổi màu của đĩa Cefinase để xác định chủng *E.coli* sinh men beta-lactamase.

3. Kết quả

Chúng tôi phân tích trên 270 mẫu thực phẩm và 1716 mẫu nước uống thu được với kết quả như sau:

3.1. Tỷ lệ nhiễm khuẩn *E.coli* trong thực phẩm

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn E.coli trong thực phẩm

Mẫu	Tổng số mẫu kiểm nghiệm	Số mẫu nhiễm <i>E.coli</i>	Tỷ lệ % không đạt
Thực phẩm	270	38	14,1
Nước uống	1716	22	1,28
Tổng số mẫu	1986	60	

Kết quả bảng 1 cho thấy từ tháng 1 – 6/2014 có 14,1% mẫu thực phẩm (38/270) và 1,3% mẫu nước uống (22/1716) bị nhiễm vi khuẩn *E.coli* vượt quá giới hạn cho phép theo tiêu chuẩn vi sinh (TCVS) theo quy định của Bộ Y Tế (một trong những chỉ tiêu không đạt theo tiêu chuẩn quy định của bộ y tế được xem là mẫu không đạt tiêu chuẩn vi sinh).

Mẫu thử bị nhiễm *E.coli* được phân lập theo nhóm thực phẩm như sau:

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn *E.coli* theo nhóm thực phẩm (TP)

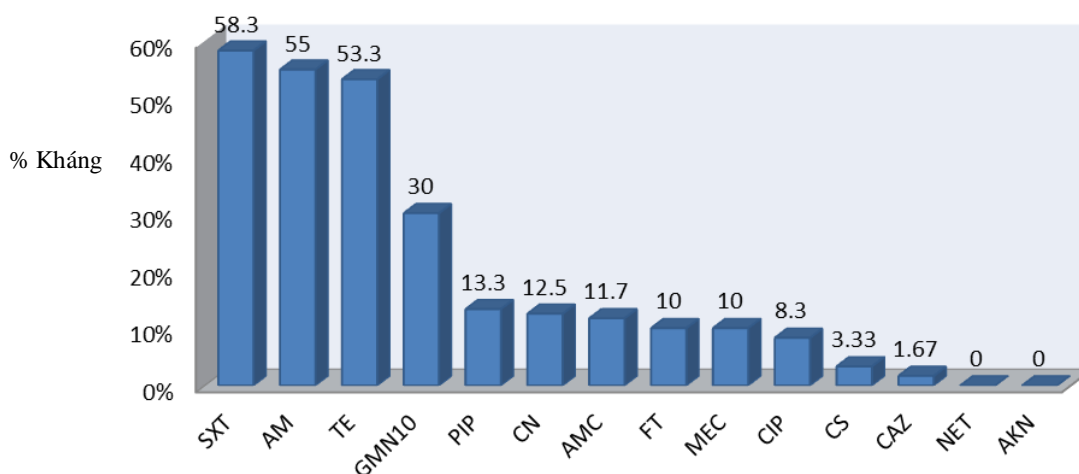
TT	Đánh giá Nhóm TP	Số mẫu	Số CFU/g hay CFU/ml / mẫu nhiều nhất	Giới hạn VSV (Trong 1g hoặc 1ml SP)	Đạt TCVS		Không đạt TCVS	
					Tổng số	%	Tổng số	%
1	Trứng và các sản phẩm trứng:	2			1	50	1	50
	- Trứng tươi	1	24	3	0	0	1	100
	- Sản phẩm (SP) từ trứng	1	0	0	1	100	0	0
2	Thịt và các SP từ thịt:	54			37	68,5	17	31,5
	- Thịt tươi, đông lạnh	33	240	10 ²	21	63,6	12	36,4
	- Thịt và SP thịt chế biến không xử lý nhiệt	10	20	10	7	25	3	75
	- Thịt và SP thịt đã qua xử lý nhiệt	11	11.000	0	9	75	2	25
3	Rau và các SP rau	23	240	10	19	82,6	4	17,4
4	Sữa và SP sữa:	6			5	83,3	1	16,7
	- Sữa dạng lỏng	5	9,2	0	4	80	1	20
	- Sữa lên men	1	0	0	1	100	0	0
5	Cá và thủy sản:	138			118	85,5	20	14,5
	- Cá và thủy sản tươi	123	11.000	10 ²	105	85,4	18	14,6
	- SP chế biến từ cá và thủy sản	9	0	3	9	100	0	0
	- Thủy sản khô sơ chế	6	11.000	10	4	66,7	2	33,3
6	Ngũ cốc và SP ngũ cốc	43			41		2	
	-Bột, miến, mì, bún	10	0	10 ²	10	100	0	0
	-Bánh, bột	33	15	3	31	93,9	2	6,1
7	Gia vị	4	0	0	4	100	0	0

Trong các nhóm thực phẩm được kiểm nghiệm, nhóm trứng và các sản phẩm từ trứng có tỉ lệ không đạt là 50%, thịt và các sản phẩm từ thịt không đạt là 31,5%; nhóm rau và các sản phẩm từ rau không đạt là 17,4%; nhóm sữa và các sản phẩm từ sữa không đạt là 16,7%; các nhóm thủy sản, ngũ cốc có tỉ lệ mẫu không đạt là 14,5% và 2,3%.

3.2. Khảo sát mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli*

Khảo sát mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* (Biểu đồ 1)

Biểu đồ 1. Mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli*



SXT: Cotrimoxazole; **AM:** Ampicillin; **TE:** Tetracycline; **GMN10:** Gentamicin; **PIP:** Piperacillin; **CN:** Cephalexine; **AMC:** Amoxicillin/clavulanic acid; **FT:** Nitrofurantoin; **MEC:** Mecillinam; **CIP:** Ciprofloxacin; **CS:** Colistin; **CAZ:** Ceftazidime; **NET:** Netilmicin; **AKN:** Amikacin.

Tỉ lệ (%) kháng kháng sinh của 60 chủng *E.coli* phân lập từ thực phẩm như sau: Cotrimoxazol (58,3%); Ampicillin (55%); Tetracycline (53,3%); Gentamicin (30%); Piperacillin (13,3%); Cephalexine (12,5%); Amoxicillin/clavulanic acid (11,7%); Nitrofurantoin (10%); Mecillinam (10%); Ciprofloxacin (8,3%); Colistin (3,3%); Ceftazidime (1,7%) và 100% các chủng *E.coli* nhạy cảm với Amikacin và Netilmicin.

3.3. Tỉ lệ vi khuẩn *E.coli* có khả năng tạo men beta-lactamase

Từ 270 mẫu thực phẩm và 1716 mẫu nước uống, chúng tôi phân lập được 60 chủng *E.coli*, trong đó có 38 chủng (63,3%) có khả năng sản xuất men beta-lactamase.

4. Bàn luận

4.1. Tỷ lệ nhiễm khuẩn *E.coli* trong thực phẩm

Đối với thực phẩm, đặc biệt là thực phẩm tươi sống 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. Theo quy định số 46/2007/QĐ-BYT và QCVN 8-3:2012/BYT về giới hạn cho phép vi khuẩn *E.coli* trong các nhóm thực phẩm cho thấy: nhóm thực phẩm có số lượng mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh cao nhất là nhóm thịt và các sản phẩm từ thịt (31,5%). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu năm 2012 của nhóm Trần Thị Hương Giang (44,4%) và nhóm Phạm Thị Ngọc Lan (42,2%) [2], [3]. Điều này cho thấy thực trạng của việc sản xuất thực phẩm tươi sống của nước ta trong thời gian khảo sát chưa đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm. Nguyên nhân có thể do nguồn nước bị ô nhiễm; sự vấy nhiễm vi sinh vật lên sản phẩm trong các công đoạn cắt tiết, nhò lông... hay từ dụng cụ, công nhân; quy trình giết mổ không tuân thủ nguyên tắc một chiều từ khâu giết mổ sang khâu rửa sạch sản phẩm. Theo FAO và WHO trong số các bệnh nhân bị ngộ độc thịt thì có đến 90% do thịt bị vấy nhiễm trong quá trình giết mổ và chỉ có 10% là do thịt gia súc bị bệnh. Đây cũng là cảnh báo cho các nhà quản lý an toàn vệ sinh thực phẩm trong việc tăng cường giám sát chặt chẽ ô nhiễm *E.coli* trong thịt gia súc, gia cầm để phòng ngừa các bệnh truyền qua thực phẩm bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

4.2. Khảo sát mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli*

Tỷ lệ (%) kháng kháng sinh của 60 chủng *E.coli* phân lập từ thực phẩm như sau: Ampicillin (55%); Amoxicillin/clavulanic acid (11,7%); Nitrofurantoin (10%); CS: Colistin (3,3%); Cephalexine (12,5%); Mecillinam (10%); Cefprozidime (1,7%); Cotrimoxazole (58,63%); Gentamicin (30%); Piperacillin (13,3%); Ciprofloxacin (8,3%); Tetracycline (53,3%) và 100% các chủng *E.coli* nhạy cảm với Amikacin và Netilmicin. Như vậy 60 chủng *E.coli* phân lập từ thực phẩm có tỷ lệ kháng cao với Ampicillin, Cotrimoxazole và Tetracycline, 3 loại kháng sinh này thường được sử dụng nhiều trong chăn nuôi, đây cũng có thể là nguyên nhân đưa đến tỷ lệ kháng kháng sinh cao. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu của các tác giả khác trong nước và trên thế giới về khả năng kháng sinh của các chủng *E.coli* phân lập từ thực phẩm theo bảng dưới đây:

Bảng 3. Nghiên cứu của một số tác giả về khả năng kháng kháng sinh của *E.coli*

Tác giả	% Kháng kháng sinh	
	AM	TE
Marwa E.A. Aly, Tamer M. Essam and Magdy A. Amin (80 chủng)	95	37,5
Muhammad Idrees, Muhammad Ali Shah, Shazia Michael, Raheel Qamar and Habib Bokhari (121 chủng)	44	Không có số liệu
Muhammad Ali Akond, Saidul Alam, S.M.R. Hassan, Momena Shirin (50 chủng)	58	52
Gabriela Gregova, Marta Kmetova, Vladimír Kmet, Jan Venglovsky, Alexander Feher (48 chủng)	89	33
Chúng tôi (60 chủng)	55	53,3

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* hầu như phù hợp với kết quả khảo sát năm 2011, 2012 của các tác giả trên thế giới [11], [12], [13]. Sự phù hợp này có thể khẳng định kết quả nghiên cứu của chúng tôi là xác thực.

Bảng 4. Tỷ lệ nhạy cảm và kháng với 14 kháng sinh của 60 chủng *E.coli* phân lập từ thực phẩm

	Tỷ lệ (%)	
	Kháng (n = 60)	Nhạy cảm (n = 60)
Kháng ít nhất 1 kháng sinh	76,7 (46)	23,3 (14)
Kháng 2 – 7 kháng sinh	65(39)	35 (21)
Kháng AM	55(33)	45(27)
Kháng TE	53,3 (32)	46,3(28)

Tỷ lệ nhạy cảm với 14 loại kháng sinh của 60 chủng *E.coli* phân lập từ thực phẩm là 23,3%, kháng ít nhất 1 kháng sinh là 76,7% và kháng đa kháng sinh (2 – 7 kháng sinh) là 65%. Ở nghiên cứu của chúng tôi thì tỷ lệ đa kháng sinh của *E.coli* cao hơn so với kết quả của nhóm Hoàng Hoài Phương (61,5%) năm 2008 [5]. Kiểu hình kháng kháng sinh AM và TE giống với kiểu hình kháng của *E.coli* phân lập từ thực phẩm nhóm nghiên cứu Tô Liên Thu [7] và nhóm Hoàng Hoài Phương. [5]

4.3. Tỷ lệ vi khuẩn *E.coli* có khả năng tạo men beta-lactamase

Trong 60 chủng phân lập được từ thực phẩm, chúng tôi phát hiện được 63,3% (38/60) số chủng có khả năng sản xuất men beta-lactamase. Nếu chủng *E.coli* gây ngộ độc thực phẩm có khả năng sản xuất men beta-lactamase (enzyme giúp vi khuẩn có khả năng kháng các kháng sinh nhóm beta – lactam) và nếu gen mã hóa cho emzym này nằm trên plasmid thì đây là vấn đề nghiêm trọng vì chúng có khả năng di truyền.

5. Kết luận và kiến nghị

5.1. Kết luận

Qua việc khảo sát 60 chủng *E.coli* chúng tôi rút ra kết luận:

1. Nhóm thực phẩm có số lượng mẫu không đạt tiêu chuẩn vệ sinh cao nhất là nhóm thịt và các sản phẩm từ thịt (31,5%). Rau, sữa và thủy sản là nhóm thực phẩm được sử dụng rất thường xuyên, tuy nhiên kết quả nghiên cứu cũng cho thấy các mẫu thức ăn của nhóm này có tỉ lệ không đạt đáng chú ý là 17,4%, 16,7% và 14,5%. Mức độ nhiễm khuẩn này cho thấy điều kiện sản xuất, chế biến và bảo quản chưa đảm bảo vệ sinh.

2. Tỉ lệ kháng ít nhất 1 kháng sinh là 76,7% và kháng đa kháng sinh (2 – 7 kháng sinh) là 65%.

3. Tỉ lệ các chủng có khả năng sản xuất men beta-lactamase là 63,3% (38/60).

5.2. Kiến nghị

Để đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm và giảm sự lây truyền các vi sinh vật kháng kháng sinh cần giám sát chất lượng vệ sinh an toàn thực phẩm nhất là giám sát vi sinh.

Tăng số mẫu của các thực phẩm thuộc nhóm trứng và các sản phẩm từ trứng, sữa và các sản phẩm từ sữa để kết quả có độ tin cậy cao hơn.

Cơ quan chức năng liên ngành phối hợp giám sát việc sử dụng kháng sinh trong chăn nuôi.

Cần thực hiện những nghiên cứu tiếp theo về các gen kháng kháng sinh của vi khuẩn *E.coli* lây truyền bằng đường thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bệnh viện nhiệt đới (2011), *Quy trình thao tác chuẩn về thử nghiệm tính nhạy cảm kháng sinh, tiêu chuẩn đọc kết quả và kháng sinh đồ, phiên bản cập lần 21 năm 2011*.
2. Trần Thị Hương Giang, Huỳnh Thị Lệ (2012), “Xác định tỉ 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”, *Tạp chí Khoa học phát triển*, 10(2), tr.295-300.
3. Phạm Thị Ngọc Lan, Ngô Thị Tuyết Mai (2012), “Khảo sát ô nhiễm vi sinh vật trong một số thực phẩm trên địa bàn thành phố Huế năm 2010 – 2011”, *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 73(4), tr.137-145.
4. Nguyễn Thị Nguyệt, Nguyễn Văn Trí, Vương Xuân Vân, Trần Thị Thúy Hằng, Nguyễn Thị Lệ Hồ, Phạm Minh Thu, Cao Hữu Nghĩa (2013), “Tình trạng ô nhiễm vi sinh vật trong thực phẩm tại các bếp ăn tập thể được kiểm nghiệm tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh từ năm 2012 – 2013”, *Tạp chí Y học dự phòng*, XXIII (5), tr.276-280.

5. Hoàng Hoài Phương, Nguyễn Thị Kê, Phạm Hùng Vân, Nguyễn Đỗ Phúc, Nguyễn Thị Anh Đào, Trần Thị Ngọc Phương (2008), “Khảo sát gen kháng kháng sinh của một số vi khuẩn gây bệnh phân lập từ thực phẩm”, *Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh*, 12(4).
6. Ngô Thị Hồng Phương, Nguyễn Quốc Hiệu, Cao Hữu Nghĩa, Vũ Lê Ngọc Lan, Trần Thái Thanh (2013), “Tình hình kháng kháng sinh của *Acinetobacter baumannii* phát hiện được tại Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh”, *Tạp chí Khoa học Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh*, 47(81), tr.112-118.
7. Tô Liên Thu (2004), “Tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Salmonella* và *E.coli* phân lập được từ thịt lợn và thịt gà tại vùng đồng bằng bắc bộ”, *Tạp chí Thú y*, 10(4).
8. Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh (2014), *Báo cáo kết quả thử nghiệm vi sinh của Phòng Vi sinh Thực phẩm*.
9. Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh, *Tuyển tập các phương pháp phân tích vi sinh vật trong thực phẩm Phòng Vi sinh Thực phẩm*.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI M100 – S23 – Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing – Twenty – Fourth Informational Supplement, M100S24, STANDARD published 2013 by Clinical and Laboratory Standards Institute 1/2013.
11. Marwa E.A. Aly, Tamer M. Essam and Magdy A. Amin (2012), “Antibiotic Resistance Profile of *E. coli* Strains Isolated from Clinical Specimens and Food Samples in Egypt”, *International Journal of Microbiological Research*, 3(3), pp.176-182.
12. Muhammad Ali Akond, Saidul Alam, S.M.R. Hassan, Momena Shirin (2009), “Antibiotic Resistance of *Escherichia Coli* Isolated From Poultry and Poultry Environment of Bangladesh”, *Internet Journal of Food Safety*, Vol.11, pp.19-23.
13. Muhammad Idrees, Muhammad Ali Shah, Shazia Michael, Raheel Qamar and Habib Bokhar (2011), “Antimicrobial Resistant *Escherichia coli* Strains Isolated From Food Animals in Pakistan”, *Pakistan J. Zool*, Vol. 43(2), pp.303-310.
14. Thi Thu Hao Van, George Moutafis, Linh Thuoc Tran, and Peter J. Coloe (2007), “Antibiotic Resistance in Food – Borne Bacteria Contaminants in Vietnam”, *Applied And Environment Microbiology*, Vol. 73, No. 24, pp.7906-7911.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 14-7-2014; ngày phản biện đánh giá: 04-8-2014;
ngày chấp nhận đăng: 20-8-2014)