

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT**

**VŨ THỊ HIỀN**

**ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ, TỶ LỆ NHIỄM  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* VÀ *ESCHERICHIA COLI*  
TRONG MỘT SỐ NHÓM THỰC PHẨM TƯƠI SỐNG  
TẠI CHỢ ĐÀU MỐI LONG BIÊN, HÀ NỘI**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC  
MÃ SỐ CHUYÊN NGÀNH: 60.42.01.03**

**HÀ NỘI, 2016**

## MỞ ĐẦU

Vấn đề an toàn vệ sinh thực phẩm (ATVSTP) hiện đang thu hút được rất nhiều sự quan tâm của cộng đồng và người tiêu dùng trên phạm vi quốc gia và quốc tế, bởi sự liên quan trực tiếp của nó đến sức khỏe và tính mạng con người, ảnh hưởng đến hội nhập và kinh tế quốc tế. Cùng với xu hướng phát triển của xã hội và toàn cầu hóa, bệnh truyền qua thực phẩm và ngộ độc thực phẩm đang đứng trước nhiều thách thức mới, diễn biến mới về cả tính chất, mức độ và phạm vi ảnh hưởng. Khi lương thực, thực phẩm không an toàn, nó sẽ vi phạm an ninh sức khỏe, an ninh thân thể và an ninh môi trường.

Nguyên nhân của vấn đề thực phẩm không an toàn là do vi phạm tiêu chuẩn sản xuất an toàn, cung cách bảo quản thực phẩm, quá trình vận chuyển, ý thức về cộng đồng, sự tiêu thụ và phân phối thực phẩm một cách tùy tiện. Sự vi phạm này diễn ra trong cả quá trình sản xuất, chế biến, tiêu thụ và quá trình xử lý các chất thải; thải bỏ bừa bãi thực phẩm gây ô nhiễm môi trường sống của con người.

Hiện nay ở Việt Nam đã xây dựng hệ thống quản lý nhà nước về ATVSTP nhưng vẫn còn yếu, phân tán và chưa có sự phối hợp đồng bộ. Đội ngũ cán bộ quản lý và kiểm nghiệm ATVSTP còn thiếu và yếu, nhất là thiếu cán bộ kỹ thuật và các chuyên gia giỏi chuyên về công tác kiểm nghiệm, đánh giá tồn dư chất độc, hóa chất độc hại trong thực phẩm và các chất bảo quản thực phẩm. Hệ thống cơ sở hạ tầng kiểm nghiệm ATVSTP tại các chợ đầu mối cũng đã được thiết lập nhưng trang thiết bị phục vụ kiểm nghiệm chất tồn dư còn thiếu và lạc hậu. Một số trang thiết bị hiện đại phục vụ kiểm nghiệm lại bố trí rải rác, phân tán ở các cơ sở thuộc các bộ, ngành khác nhau nên việc sử dụng không hiệu quả.

Đứng trước tình trạng ngộ độc thực phẩm (NĐTP) ngày càng gia tăng, trong đó căn nguyên do vi sinh vật và độc tố tự nhiên chiếm khoảng 60 – 65%, yêu cầu tăng cường năng lực của các cơ quan quản lý nhà nước và các tổ chức xã hội nhằm đảm bảo thực hiện hiệu quả chức năng quản lý ATVSTP nói chung và ATVSTP tại các chợ đầu mối nói riêng ngày càng trở nên cấp bách.

Trong số những vi khuẩn có khả năng gây ngộ độc thực phẩm phổ biến hiện nay, phải kể đến là *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli*. *S. aureus*

có khả năng sản sinh endotoxin – một loại độc tố đường ruột bền với nhiệt độ và không bị phân hủy ở 100<sup>0</sup>C trong 30 phút. Chính độc tố này gây ngộ độc thực phẩm cấp tính và hàng loạt. Trong thời gian gần đây, các vụ ngộ độc thực phẩm hàng loạt do *S. aureus* được ghi nhận ngày càng nhiều. Một vi khuẩn khác cũng có vai trò hết sức quan trọng trong an toàn thực phẩm là *E. coli*. *E. coli* hiện diện rộng rãi trong môi trường bị ô nhiễm phân hay chất thải chất hữu cơ, chúng có khả năng phát triển rộng và tồn tại lâu trong môi trường tự nhiên. Các dòng *E. coli* gây bệnh gây ra các triệu chứng rối loạn đường tiêu hóa. Biểu hiện lâm sàng thay đổi từ nhẹ đến nặng, có thể gây chết người phụ thuộc vào mức độ nhiễm, dòng gây nhiễm và khả năng đáp ứng miễn dịch của từng người.

Để tiến tới hoàn thiện bộ hồ sơ và đăng ký “Đơn vị kiểm nghiệm an toàn thực phẩm phục vụ quản lý nhà nước”, chúng tôi thực hiện đề tài “**Đánh giá mức độ, tỷ lệ nhiễm *Staphylococcus aureus* và *Escherichia coli* trong một số nhóm thực phẩm tươi sống tại chợ đầu mối Long Biên, Hà Nội**”. Trong đó, các quy trình thực hiện bắt đầu từ khâu lấy mẫu, bảo quản mẫu, phân tích mẫu, trả kết quả hay hủy mẫu... đều được thực hiện theo các quy trình SOP chuẩn. Các chỉ tiêu xét nghiệm này tại labo đều được công nhận chuẩn ISO 17025: 2005 với mã số Villas 924.

## MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

1. Đánh giá mức độ và tỷ lệ nhiễm *S. aureus* và *E. coli* trong một số nhóm thực phẩm tươi sống tại chợ đầu mối Long Biên, Hà Nội.
2. Xác định các tính chất sinh hóa đặc trưng của các chủng *S.aureus* và *E. coli* phân lập được trong thực phẩm tươi sống.
3. Đảm bảo chất lượng xét nghiệm thông qua đánh giá thành thạo tay nghề và kiểm tra độ tin cậy của kết quả xét nghiệm.

## Chương 1

### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

#### 1.1. THỰC TRẠNG VỀ AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM

##### 1.1.1. Thực trạng an toàn thực phẩm trên thế giới

ATVSTP là một trong những vấn đề được quan tâm ngày càng sâu sắc trên phạm vi mỗi quốc gia và quốc tế bởi sự liên quan trực tiếp của nó đến sức khỏe và tính mạng con người, ảnh hưởng đến sự duy trì và phát triển nòi giống, cũng như quá trình phát triển và hội nhập kinh tế quốc tế. Cùng với xu hướng phát triển của xã hội và toàn cầu hóa, bệnh truyền qua thực phẩm và ngộ độc thực phẩm đang đứng trước nhiều thách thức mới, diễn biến mới về cả tính chất, mức độ và phạm vi ảnh hưởng [2].

Theo báo cáo của Tổ chức Y tế thế giới, hơn 1/3 dân số các nước phát triển bị ảnh hưởng của các bệnh do thực phẩm gây ra mỗi năm. Các vụ NĐTP có xu hướng ngày càng tăng. Ở các nước phát triển khác như EU, Hà Lan, Nga, Trung Quốc, Hàn Quốc... có hàng nghìn trường hợp người bị NĐTP mỗi năm và phải chi phí hàng tỉ USD cho việc ngăn chặn nhiễm độc thực phẩm. Tại các nước đang phát triển, tình trạng NĐTP lại càng trầm trọng hơn nhiều. Năm 1998, khoảng 1,8 triệu trẻ em bị tử vong do NĐTP (tiêu chảy), và đến bây giờ con số đó là hơn 2,2 triệu người tử vong hàng năm, trong đó cũng hầu hết là trẻ em. Tỷ lệ tử vong do NĐTP chiếm 1/3 đến 1/2 tổng số trường hợp tử vong. Ở khu vực châu Phi mỗi năm có khoảng 800.000 trẻ em tử vong do tiêu chảy. Ở các nước Đông Nam Á như Thái Lan, trung bình mỗi năm có 1 triệu trường hợp bị tiêu chảy. Riêng trong năm 2003, có 956.313 trường hợp tiêu chảy cấp, 23.113 ca bị bệnh lý, 126.185 ca NĐTP. Trong 9 tháng đầu năm 2007, ở Malaysia, đã có 11.226 ca NĐTP, trong đó có 67% là học sinh, tăng 100% so với cùng kỳ năm trước. Tại Ấn Độ, 400 ngàn trẻ em bị tử vong do tiêu chảy mỗi năm [10]. Trung tâm CDC của Mỹ ước tính, hàng năm tại Mỹ có tới 76 triệu trường hợp bị bệnh và ngộ độc do thực phẩm. Khoảng trên 325 nghìn người phải nhập viện, trong đó có khoảng 5.000 trường hợp ngộ độc rất nặng.

Ước tính hàng năm Mỹ tiêu tốn khoảng 35 tỷ USD cho việc chữa trị các bệnh do thực phẩm và tiêu hủy thực phẩm đã bị ô nhiễm [37], [38]. Theo ước tính của WHO, cứ mỗi trường hợp ngộ độc thực phẩm được phát hiện thì có tới 350 trường hợp khác không được phát hiện và thống kê.

Thực tế cho thấy, các bệnh do ăn phải thức ăn bị ô nhiễm chất độc hoặc tác nhân gây bệnh đang là một vấn đề sức khoẻ cộng đồng ở các nước đã phát triển cũng như các nước đang phát triển và đây là vấn đề sức khỏe của toàn cầu. Cần phải thiết lập một hệ thống quản lý NĐTP và các bệnh truyền qua thực phẩm.

## **1.1.2. Thực trạng an toàn thực phẩm ở Việt Nam**

### ***1.1.2.1. Tình hình ngộ độc thực phẩm***

NĐTP và các bệnh do thực phẩm gây ra không chỉ gây ảnh hưởng trực tiếp tới sức khoẻ và cuộc sống của con người mà còn gây thiệt hại lớn về kinh tế, là gánh nặng lớn cho chi phí chăm sóc sức khoẻ và giảm đáng kể năng suất lao động. Hàng năm, nhà nước phải chi hàng tỷ đồng cho việc điều trị, xét nghiệm, điều tra tìm nguyên nhân gây NĐTP.

NĐTP do 02 nguyên nhân chủ yếu:

- Do nhiễm hóa chất, đặc biệt là hóa chất sử dụng trong nông nghiệp như hóa chất bảo vệ thực vật, một số hóa chất bảo quản thực phẩm.
- Do nhiễm vi sinh vật và các độc tố của vi sinh vật, thủ phạm thường gặp là *E.coli*, *S. aureus*, *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio*, *Clostridium*...

Về căn nguyên gây NĐTP: 30% số vụ do vi sinh vật, 35% số vụ do độc tố tự nhiên (của vi sinh vật và các động, thực vật khác), 8% do hoá chất, và 27% số vụ còn lại không xác định được nguyên nhân [3], [10].

Ở nước ta, tỷ lệ NĐTP hiện còn ở mức cao, theo thống kê của Cục An toàn Thực phẩm, mỗi năm Việt Nam có chừng 250 – 500 vụ ngộ độc thực phẩm với 7.000 – 10.000 nạn nhân và 100 – 200 ca tử vong. Nhà nước cũng phải chi trên 3 tỷ đồng cho việc điều trị, xét nghiệm và điều tra tìm nguyên nhân. Tiền thuốc men và viện phí của mỗi nạn nhân tốn chừng 300.000 –

500.000 đồng, các ngộ độc do hóa chất (thuốc trừ sâu, phẩm màu...) từ 3 – 5 triệu đồng, nhưng các chi phí khác do bệnh viện chịu còn lớn hơn nhiều.

Giai đoạn 2006 - 2010, bình quân hàng năm có 189 vụ NĐTP với 6.633 người mắc và 52 người tử vong [6], [12].

Theo thống kê của Cục An toàn vệ sinh thực phẩm, kể từ tháng 1/2010 đến tháng 8/2010, toàn quốc đã xảy ra 123 vụ ngộ độc (trong đó có 34 vụ ngộ độc trên 30 người) làm 4.387 người mắc, 3.078 người nhập viện và 37 trường hợp tử vong. So sánh với cùng kỳ năm 2009, số vụ ngộ độc tăng 23 vụ (23,0%), số người mắc tăng 658 người (17,6%), số người đi viện tăng 99 người (3,3%) và số người tử vong tăng 19 người (27,6%) [6].

Số liệu năm 2014, toàn quốc ghi nhận 189 vụ ngộ độc thực phẩm với 5.100 người mắc, 4.100 người nhập viện và 43 trường hợp tử vong. So với năm 2013, số người mắc giảm nhưng số vụ tăng hơn 13% và số trường hợp tử vong tăng gần 54%.

Trong năm 2015, toàn quốc ghi nhận 171 vụ ngộ độc thực phẩm với 4.965 người mắc và 23 trường hợp tử vong. So với năm 2014, số vụ, số mắc và số tử vong đều giảm.

Thời gian gần đây, các vụ ngộ độc thực phẩm với căn nguyên do vi khuẩn ngày càng được phát hiện nhiều hơn và số người mắc lớn hơn. Tháng 3/2015, tại Trà Vinh có gần 230 công nhân công nhân Công ty TNHH CY Vina bị ngộ độc thực phẩm do nguyên nhân nhiễm độc tố tụ cầu vàng *S. aureus*. Vụ ngộ độc thực phẩm tháng 4/2015 tại Chương Mỹ, Hà Nội khiến hơn 100 công nhân công ty TNHH Star Fashion phải nhập viện là do nhiễm vi khuẩn và độc tố của *E. coli*.

#### **1.1.2.2. Thực trạng ATVSTP trong thức ăn đường phố và bếp ăn tập thể**

Tình trạng an toàn vệ sinh thức ăn đường phố đã được cải thiện nhờ việc triển khai xây dựng phòng điểm về ATVSTP thức ăn đường phố theo quy định của Bộ Y tế. Điều kiện ATVSTP tại các bếp ăn tập thể của cơ quan, trường học đã được cải thiện đáng kể. Tuy nhiên, đa số các cơ sở kinh doanh dịch vụ thức ăn đường phố được đầu tư ít vốn, triển khai trong điều kiện môi

trường chưa đảm bảo vệ sinh, thiếu hạ tầng cơ sở, các dịch vụ nước sạch, kiến thức ATVSTP của người trực tiếp chế biến, kinh doanh còn nhiều hạn chế [11]. Nghiên cứu của Lê Văn Giang, 2006 ở huyện Gia Lâm cho thấy có 20% số cơ sở không đạt về điều kiện ATVSTP [8]. Nghiên cứu của Lý Thành Minh ở thị xã Bến Tre cho thấy, tỉ lệ nhiễm *S. aureus* là 49,6% và *E. coli* là 23,6%. Năm 2007, nghiên cứu của Trần Việt Nga cho thấy còn 18,2% bếp ăn tập thể không đạt tiêu chuẩn về vệ sinh cơ sở, 9% mẫu thức ăn chín không đạt tiêu chuẩn về chỉ tiêu Coliform [15]. Tại Thanh Hóa, tỷ lệ ô nhiễm chung của các mẫu thức ăn đường phố và dụng cụ chế biến là 57,74% [19]. Năm 2008, kết quả nghiên cứu tại Tuyên Quang cho thấy có 39,5% món ăn hải sản sống không đạt tiêu chuẩn vệ sinh về vi sinh vật. Có tới 31,8% bàn tay của nhân viên tiếp xúc trực tiếp với thực phẩm bị nhiễm *S. aureus* [14].

#### **1.1.2.3. Thực trạng ATVSTP trong chế biến thực phẩm**

Đa số các cơ sở chế biến thực phẩm ở nước ta có quy mô vừa và nhỏ với đặc điểm thiếu vốn đầu tư, mặt bằng sản xuất hẹp, chế biến thủ công, thiết bị cũ và lạc hậu... nên việc tuân thủ các quy trình kỹ thuật chế biến thực phẩm, kiểm soát nguồn nguyên liệu đầu vào theo quy định còn nhiều hạn chế và chưa đảm bảo tiêu chuẩn chất lượng ATVSTP [10], [12]. Trong 2 năm gần đây, thực phẩm chế biến thủ công có nhiều tiến bộ nhưng độ an toàn của thực phẩm chế biến thủ công thấp hơn thực phẩm chế biến công nghiệp. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Hùng Long trên địa bàn Hà Nội cho thấy, nhận thức, thái độ, hành vi ATVSTP của người quản lý cơ sở đúng chỉ đạt 57,6 - 97%, của thực phẩm chế biến thủ công, thấp hơn thực phẩm chế biến công nghiệp [13]. Nghiên cứu của Hoàng Cao Sạ (2009) cho thấy các nhóm ô nhiễm vi sinh vật nhiều nhất là thịt lợn qua chế biến, nước đá và các loại rau sống [21]. Điều này cho thấy thực trạng ATVSTP tại các cơ sở chế biến thực phẩm còn nhiều vấn đề bức xúc cần được quan tâm giải quyết trong thời gian tới.

#### **1.1.2.4. Kiến thức, thái độ, hành vi ATVSTP của cộng đồng**

Kiến thức, thái độ và hành vi của người kinh doanh, chế biến thực phẩm, người tiêu dùng là yếu tố rất quan trọng để đảm bảo thực hiện ATVSTP. Hầu

hết các nghiên cứu về kiến thức, thực hành ATVSTP của các nhóm đối tượng còn rất thấp (chung cho các nhóm đối tượng chỉ đạt khoảng 50%). Còn nhiều phong tục canh tác, sinh hoạt, ăn uống lạc hậu là mối nguy cơ gây ngộ độc thực phẩm và bệnh truyền qua thực phẩm [14], [21].

Nghiên cứu của Nguyễn Văn Thê ở tỉnh Bắc Giang cho thấy, có 60% thực hành đúng về ATVSTP [23]. Một nghiên cứu khác của Hoàng Thị Điền cho thấy tỷ lệ biết chọn thực phẩm chín ăn ngay ở địa bàn vùng cao tối đa chỉ chiếm 31,33%, vùng đồng bằng là 81,3%, chỉ có 7,67% người dân ở vùng cao quan tâm đến nhãn hàng hóa thực phẩm và 14,33% người ở vùng cao, 78,33% người ở vùng đồng bằng biết đến 9 loại thực phẩm thường gây ngộ độc [7].

## **1.2. CÁC TIÊU CHUẨN ATVSTP CỦA VIỆT NAM HIỆN NAY**

### **1.2.1. Tiêu chuẩn quốc gia**

Theo thống kê của Tổng cục Tiêu chuẩn đo lường chất lượng Việt Nam, hiện nay có khoảng 1.524 tiêu chuẩn quốc gia liên quan đến lĩnh vực quản lý vệ sinh an toàn thực phẩm, được chia ra như sau [3]: 1.006 tiêu chuẩn quốc gia về thực phẩm; 455 tiêu chuẩn quốc gia về lĩnh vực nông nghiệp và 63 tiêu chuẩn quốc gia về bao gói và phân phối hàng hoá.

Trong danh mục thực phẩm, một số tiêu chuẩn quốc gia đã được xây dựng như: 69 tiêu chuẩn về rau củ quả; 24 tiêu chuẩn về gia vị; 32 tiêu chuẩn về thịt và các sản phẩm từ thịt; 70 tiêu chuẩn về sữa và các sản phẩm từ sữa; 2.083 tiêu chuẩn về chất phụ gia thực phẩm và 30 tiêu chuẩn kỹ thuật về bảo vệ thực vật.

### **1.2.2. Tiêu chuẩn cơ sở**

Trong những năm qua, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn đã xây dựng được một hệ thống tiêu chuẩn, quy trình, quy phạm, hướng dẫn, tài liệu kỹ thuật về Nông – Lâm – Thủy lợi. Đối tượng tiêu chuẩn hoá cũng rất đa dạng.



Tuy nhiên, hệ thống tiêu chuẩn Việt Nam hiện nay vẫn rất hạn chế về cả số lượng và yếu kém về mặt chất lượng. Có không ít tiêu chuẩn được xây dựng từ trước những năm 1990 hoặc thậm chí cách đây trên 30 năm. Chính vì sự bất cập này mà hiện nay, nhiều doanh nghiệp thực phẩm ghi lên nhãn hàng hoá của mình các số liệu khác xa với thực tế sản xuất mà không có một chế tài kiểm soát nào [6].

### **1.2.3. Các chương trình, chính sách liên quan đến ATVSTP**

Hiện tại cấp Trung ương có hơn 150 văn bản chính sách qui định, tiêu chuẩn, hướng dẫn hoạt động quản lý của các Bộ, Ngành có liên quan trong công tác quản lý vệ sinh an toàn thực phẩm. Bên cạnh đó còn có các văn bản chính sách của các địa phương,.

Các văn bản quy phạm pháp luật về vệ sinh, an toàn thực phẩm cơ bản đáp ứng được yêu cầu quản lý Nhà nước, tuy nhiên vẫn còn nhiều chông chéo mâu thuẫn, không phân định rõ ràng trách nhiệm quản lý giữa các Bộ, Ngành lại vừa thiếu sót, chưa phủ hết các lĩnh vực, có khoảng trống giữa các khâu trong quy định trách nhiệm quản lý liên tục một loại sản phẩm.

## **1.3. GIỚI THIỆU VỀ *STAPHYLOCOCCUS***

### **1.3.1. Lịch sử phát hiện**

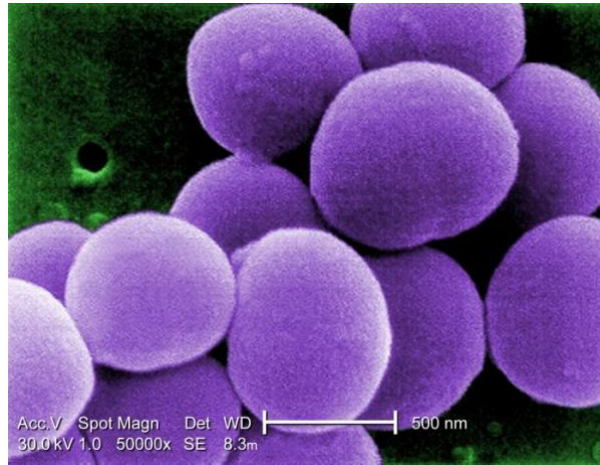
*Staphylococcus* (tụ cầu khuẩn) lần đầu tiên được Robert Koch phát hiện và mô tả vào năm 1878. Sau đó được Louis Pasteur (1880) và Alexander Ogston (1881) phân lập và đặt tên vi khuẩn này là tụ cầu, được xếp vào nhóm *Staphylococcus*. Đến năm 1884, Antony Rosenbach nghiên cứu chi tiết về khả năng gây bệnh và phân loại *Staphylococcus*.

*Staphylococcus* có mặt ở khắp nơi, đến nay *Staphylococcus* được biết gồm 48 loài. Trong đó có 9 loài hiện diện trên người, 4 loài có khả năng gây bệnh, đặc biệt lưu ý trong nhóm này là *S. aureus* (tụ cầu vàng) [16].

## 1.3.2. Đặc điểm sinh vật học

### 1.3.2.1. Hình thể - tính chất bắt màu

*Staphylococcus* là vi khuẩn Gram dương, hình cầu, đường kính 0,8 – 1 µm, đứng tụ thành từng đám như chùm nho, có thể đứng riêng lẻ, thành từng đôi hoặc thành từng chuỗi ngắn. Tụ cầu không có vỏ capsule, không sinh bào tử, không có tiên mao.



**Hình 1.1.** Hình thái *Staphylococcus* sp. dưới kính hiển vi điện tử  
(nguồn: Internet)

### 1.3.2.2. Tính chất nuôi cấy

- *Staphylococcus* là vi khuẩn hiếu khí tùy tiện, mọc dễ dàng trên các môi trường nuôi cấy thông thường. Nhiệt độ thích hợp 37°C, pH = 7,2 – 7,4.
- Trên môi trường canh thang: ở nhiệt độ 37°C/24 giờ, *Staphylococcus* phát triển làm đục đều môi trường, có thể có lắng cặn và có váng.
- Trên môi trường thạch thường: 37°C/24 giờ *Staphylococcus* phát triển tạo thành khuẩn lạc dạng S: tròn, lồi, bóng, có bờ rõ, sau 18 – 24 giờ xuất hiện sắc tố:
  - + Sắc tố vàng: *S. aureus*.
  - + Sắc tố trắng: *S. albus*.
  - + Sắc tố vàng chanh: *S. citreus*.