

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG VI SINH AN TOÀN THỰC PHẨM TRONG HÀU (*CRASSOSTREA LUGUBRIS*) NUÔI Ở ĐÀM NHA PHU

Lê Lan Hương, Lê Hoài Hương, Võ Hải Thi
Viện Hải Dương Học (Nha Trang)

TÓM TẮT Ngày nay an toàn thực phẩm ngày càng trở thành mối quan tâm lớn của xã hội. Tần suất ngộ độc thức ăn đã và đang là lời cảnh báo cho cộng đồng cần có thông tin cập nhật về an toàn thực phẩm. Qua 14 tháng theo dõi và kiểm tra chất lượng vi sinh an toàn thực phẩm cho thấy, con hàu (*Crassostrea lugubris*) nuôi ở đầm Nha Phu luôn bị đe dọa do vi khuẩn gây bệnh trong môi trường. Các vi khuẩn nhóm Coliform, *Vibrio* và *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* có trong cơ thể hàu với mật độ cao thường xuyên. Cần có biện pháp giám sát, kiểm nghiệm hợp lý thực phẩm hải sản này nhằm hạn chế nguy cơ dịch bệnh cho cộng đồng.

MICROBIAL SEAFOOD SAFETY ASSESSMENT ON OYSTER (*CRASSOSTREA LUGUBRIS*) CULTURED IN NHA PHU LAGOON

Le Lan Huong, Le Hoai Huong, Vo Hai Thi
Institute of Oceanography (Nha Trang)

ABSTRACT Food safety is becoming social serious problem day by day. Food poisoning has been caused with higher frequency and that request the warning of updating information about food safety. During 14 months of observing and checking the gut and tissue of oyster (*Crassostrea lugubris*) cultured in Nha Phu lagoon, it is shown that oyster was always threatened by pathogenic bacteria. Members of Coliform, *Vibrio* groups and *Escherichia coli* as well *Staphylococcus aureus* have frequently presented in oyster body with high density. It is necessary to have reasonable monitoring and checking in order to prevent danger of disease for human community.

I. MỞ ĐẦU

Vi sinh vật gây bệnh cho người đã và đang được quan tâm, kiểm soát trong môi trường biển với mục đích đánh giá những chỉ thị liên quan tới chất thải có xuất xứ từ phân của các loài sinh vật máu nóng (ví dụ: fecal coliform) trong nước và trong hải sản (chủ yếu là trong các loài hai mảnh vỏ). Tuy nhiên, đối với phần lớn các vi sinh vật gây bệnh thì nước biển không phải là môi trường thân thiện, phù hợp để sinh trưởng nên chúng bị chết khá nhanh sau khi tiếp xúc, nhất là khi đồng thời có ánh sáng mặt trời. Trong môi trường nước, các vi sinh vật này có thể bám vào vật lơ lửng và có

thể tích tụ trong trầm tích và sống sót trong vòng vài ngày hoặc vài tuần. Chúng cũng có thể được tích lũy trong các sinh vật ăn lọc và tăng sinh tới mật độ có thể gây hại cho người hoặc các sinh vật khác - các loài chim. Vi sinh vật gây bệnh có thể sống sót trong cơ thể các loài hai mảnh vỏ lâu hơn trong nước biển, hơn nữa lại còn tiếp tục sinh sản.

Về mặt lý thuyết, vi sinh vật gây bệnh luôn là nguy cơ cho các sinh vật khác nhau từ thực vật tới động vật. Mặc dù phần lớn các nghiên cứu về bệnh dịch đều hướng trọng tâm trên cá và bệnh tật của các loài động vật có vú khác, nhưng với việc kiểm soát và giám sát (monitoring) các quần thể

thân mềm đã giúp cho con người biết về dịch bệnh của các loài hai mảnh vỏ còn nhiều hơn dịch bệnh ở tất cả các loài sinh vật biển khác. Các nhóm loài vi sinh vật

gây bệnh trong nuôi trồng thủy sản được thống kê (Lucas and Southgate, 2003) qua bảng 1 dưới đây:

Bảng 1: Các nhóm và taxon vi sinh vật gây bệnh trong nuôi trồng thủy sản
Groups and taxon of pathogenic microbia in aquaculture

Nhóm	Taxon, etc.
Virut	bacilliform virus, herpesvirus, iridovirus, nodavirus, rhabdovirus, coronavirus, binavirus
Vi khuẩn	Rickettsiales, <i>Aeromonas</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Flavobacterium</i> , <i>Flexibacter</i> , <i>Pseudoalteromonas</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Vibrio</i>
Nấm	<i>Aphanomyces</i> , <i>Brachiomyces</i> , <i>Lagenidium</i> , <i>Saprolegnia</i> , <i>Sirolopidium</i>

+ Những vấn đề về vi sinh vật gây bệnh, ký sinh ở các loài hai mảnh vỏ và hào:

Sử dụng các loài thân mềm làm thực phẩm ngày càng phổ biến trên thế giới, hơn nữa lại đóng vai trò quan trọng về lợi ích kinh tế. Cũng vì lẽ đó những thông tin về dịch bệnh đối với các loài thân mềm cũng ngày càng được bổ sung rất phong phú. Các nhóm chính gây dịch bệnh cho các loài hai mảnh vỏ là virut, vi khuẩn, nấm, protozoa, giun sán và các loài giáp xác ký sinh (Gosling, 2003). Dịch bệnh do virut gây ra lần đầu tiên được Farley *et al.*, 1972 (trong Gosling, 2003) phát hiện và đến nay đã ghi nhận được hơn 20 lần.

Với cơ chế *ăn lọc* và sự phong phú của vi khuẩn trong môi trường biển nên các loài hai mảnh vỏ thường tiêu thụ một lượng rất lớn vi khuẩn. Phần đông các vi khuẩn là vô hại với chúng, nhưng một khi đạt tới mật độ quá mức, thì vi khuẩn lại có thể gây bệnh cho vật chủ - hai mảnh vỏ. Hơn nữa các loài hai mảnh vỏ lại có thể lưu giữ trong cơ thể chúng một số tác nhân gây bệnh cho con người nhưng lại vô hại với chúng và khi tham gia vào chuỗi thức ăn chúng lại là vật trung gian thụ động cung cấp nguồn gây bệnh này. Những loài vi khuẩn gây bệnh phổ biến nhất và có thể gây thành dịch bệnh là *Vibrio* và *Pseudomonas*. Có ít loài nấm được ghi nhận là đã gây bệnh cho các loài hai mảnh vỏ. Phần lớn chúng chỉ tồn tại ở vùng ngoài: vỏ hay vùng tơ chân (byssus).

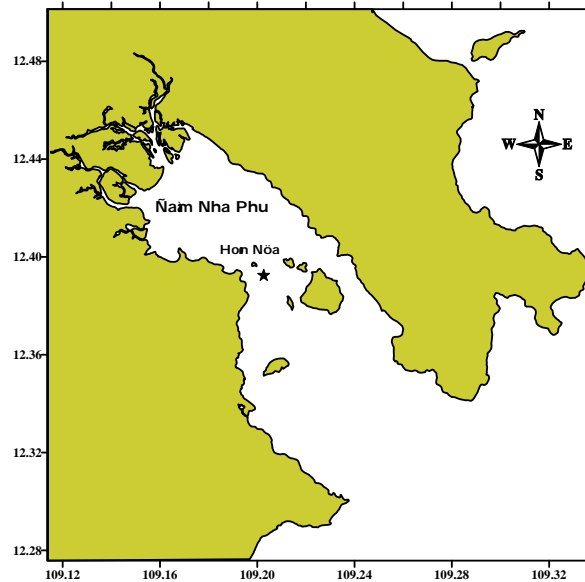
Đầm Nha Phu thuộc tỉnh Khánh Hòa từ lâu đã được biết đến bởi nguồn lợi hải sản phong phú, đáng kể là các loài hai mảnh vỏ. Trong những năm gần đây, ngoài đối tượng Vẹm Xanh (*Perna viridis*) đã được nuôi phục hồi và cho sản lượng cao, nuôi hào (*Crassostrea lugubris*) cũng được phát triển. Hào là một trong những loại thực phẩm ngon, cao cấp ở biển, vì hương vị đặc biệt, giá trị dinh dưỡng cao. Hào còn được coi là vị “thực phẩm - thuốc”: thịt hào rất bổ dưỡng, có tính chữa bệnh và phòng trừ các chứng truyền nhiễm đối với những bệnh nhân bị bệnh phổi, còm xương, người có thai, sản phụ, người già yếu, thiếu sinh lực... Vỏ hào không những dùng làm nguyên liệu nung vôi, mà còn làm thuốc chữa bệnh cho con người và gia súc như bệnh ợ chua, bệnh phù thũng, bệnh cúm. Hào là một trong những loài hai mảnh vỏ được nhiều người thích ăn tươi sống, nướng, chế biến thành các mặt hàng đông lạnh, đóng hộp phơi khô, làm mắm xuất khẩu. Tuy nhiên, để có được thông tin đầy đủ hơn, đảm bảo an toàn thực phẩm khi tiêu thụ các loài hai mảnh vỏ nói chung và hào nói riêng, bài báo này sẽ đề cập tới vấn đề vi sinh an toàn thực phẩm, góp tiếng nói chung bảo vệ sức khỏe cho cộng đồng.

II. MẪU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Mẫu vật: thu mẫu nước, mẫu trầm tích tại 2 trạm trong khu vực nuôi hào của Viện Hải dương học tại Nha Phu (ký hiệu

hình sao trên hình 1), ở tọa độ 109°11.923, 12°23.804. Các mẫu nước và trầm tích được thu vào các ống nghiệm đã vô trùng, thu đồng thời cá thể hầu tại chỗ, xử lý sơ bộ rồi giữ lạnh ở nhiệt độ 10-15°C, mang

về phòng thí nghiệm phân tích ngay trong ngày. Thời gian thu mẫu nghiên cứu được tiến hành vào các tháng 10 và tháng 11-2003 và các tháng 3, 5, 7, 8, 9, 10, và 11 – 2004.



Hình 1: Bản đồ trạm thu mẫu - đầm Nha Phu
Sampling site in Nha Phu lagoon

Các chỉ tiêu phân tích: dựa theo tiêu chuẩn an toàn thực phẩm đối với hải sản, phân tích 7 chỉ tiêu (Nguyễn Quang Hào, Vương Trọng Hào, 1989): Tổng Coliform, Tổng Vibrio, Tổng Shigella-Salmonella, Escherichia coli, Vibrio cholerae, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringer.

Phương pháp phân tích: Việc nuôi cấy để xác định tổng số các nhóm và loài vi khuẩn gây bệnh đã nêu ở trên thực hiện bằng phương pháp Đổ Đĩa (Pour Plate) và phương pháp Nhiều ống (multi-tube) theo quy trình nuôi cấy vi sinh vật (Brian Austin, 1988; Michael, 1958; Cropp and Garland, 1988; Bộ Y Tế, 1997).

Các chỉ tiêu vi sinh an toàn thực phẩm, môi trường nuôi cấy và tính tổng số:

+ Coliform: trên môi trường Endo-agar.

+ Vibrio Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS agar).

+ Shigella - Salmonella: trên môi trường SS agar.

+ E. coli trên môi trường nước thịt-pepton-lactoza.

+ Vibrio cholerae phân loại bằng dây sinh lý sinh hóa (Bộ Y tế, 1997).

+ Staphylococcus aureus trên môi trường Chapman agar.

+ Clostridium perfringer trên môi trường Wilson Blair agar.

Kết quả được thống kê, xử lý trên Excel.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hầu nuôi ở vùng đầm Nha Phu được gửi định danh tại phòng Bảo tàng – Viện Hải dương học. Tên khoa học được xác định là *Crassostrea lugubris* (Sowerby, 1871).

1. Nhiễm bẩn vi khuẩn gây bệnh trong khu vực nuôi hàu:

Các kết quả trung bình của các nhóm loài vi khuẩn gây bệnh (VKGB) trong nước, trầm tích tại vùng nuôi được tập hợp trên bảng 2. Nhìn chung, tầng trầm tích chứa đựng nhiều nhóm, loài VKGB. Đáng kể như nhóm Coliform, các loài *E. coli*, và

S. aureus. Có thể thấy, chất lượng trầm tích đầm Nha Phu có những tác động vệ sinh do hoạt động dân cư sinh sống quanh đầm, làm cho đáy đầm bị tích lũy, tiềm ẩn nguy cơ gây bệnh cho người và hải sản. Xem xét chi tiết có thể thấy trạm 2 phần nào xa bờ hơn nên mật độ VKGB đều thấp hơn ở trạm 1.

Bảng 2: Mật độ trung bình vi sinh vật gây bệnh trong môi trường và trong hàu (2003-2004)
The mean density of pathogenic microbes in the environment and the oyster (2003 -2004)

Tên mẫu	Đơn vị tính	Coliform	Vibrio	Shigella-Salmonella	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>C. perfringer</i>
1N	Tế bào/ml	10,1	4,8	1,3	2,1	3,1	0	0
2N		23,0	3,8	0	1,5	3,9	0	0
1TT	Tế bào/g	171,4	0	0	24,3	68,0	0	0
2TT		88,2	0	0	6,3	54,3	0	0
Ruột		832,6	61,1	19,2	117,0	74,9	0	0
Cơ		240,7	22,4	5,5	16,9	17,3	0	0

Ghi chú: 1, 2: mẫu thu tại trạm 1 hoặc 2; N: mẫu nước; TT: mẫu trầm tích.

Một cách chi tiết, có thể đánh giá chất lượng môi trường khu vực nuôi hàu về VKGB với các điểm sau:

- Trong số 7 chỉ tiêu vi sinh an toàn thực phẩm hải sản (ATTP) được quy định, có 3 chỉ tiêu: *Vibrio cholerae*, *Clostridium perfringer* và nhóm Salmonella-Shigella - đại diện cho các loài vi khuẩn gây bệnh đường ruột nguy hiểm (tả, lỵ, thương hàn, hoại thư) hầu như không bắt gặp trong các tháng nghiên cứu.

- *E. coli*, *S. aureus* và nhóm *Vibrio* trong các tháng nghiên cứu có xu thế chung là trong nước có mật độ thấp, phần lớn dao động trong khoảng 0 đến dưới 50 tế bào/ml, trong đó chỉ có 5 số liệu vượt ngưỡng vệ sinh 10 tb/ml ($>10^3$ tb/100ml) – chiếm xấp xỉ 10%, và mật độ *S. aureus* không có giá trị nào vượt quá ngưỡng – cao nhất đạt 8tb/ml (Hình 2a, 3a và 4a). Trong trầm tích các loài *E. coli*, *S. aureus* và nhóm *Vibrio* có mật độ cao, dao động lớn – mật độ cao nhất có thể đạt đến 499,2 tb/g (trạm 1, tháng 11/03). Trên hình 2b, 3b và 4b có thể thấy mật độ các nhóm loài này cao nhất trong khoảng tháng 7 và 8. Nhóm

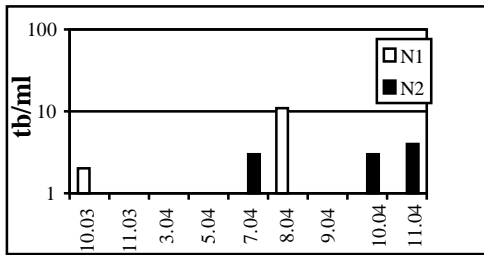
Coliform có mật độ cao trong suốt thời gian nghiên cứu ở cả 2 trạm, đặc biệt là vào cuối mùa khô - tháng 7, 8, và 9 (Hình 5a và b).

2. Vi sinh an toàn thực phẩm trong hàu:

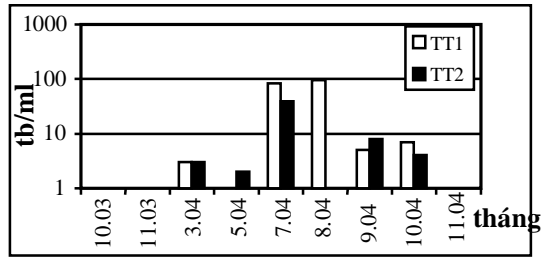
Phân tích định lượng các chỉ số vi sinh ATTP trong thịt và ruột hàu cho thấy một bức tranh chung là khi ngoài môi trường nuôi – đặc biệt là trong trầm tích - có nhóm loài vi sinh nào thì hầu đều có thể tích lũy và tỏ ra là môi trường thích hợp cho vi sinh phát triển. Khi ngoài môi trường không bắt gặp *V. cholerae* và *C. perfringer* thì trong hàu cũng không phát hiện thấy. Ở nhóm Coliform, trong trầm tích có mật độ trung bình của 8 lần thu mẫu dao động trong khoảng 88,2 đến 171,4 tế bào/g, nhưng trong cơ và ruột thì đạt tới 240,7 và 832,6 tb/g (Bảng 2, hình 6c). Tương tự, với *Vibrio* và *E. coli* trong cơ thể hàu cũng cao hơn nhiều lần so với tầng trầm tích (Bảng 2, hình 6a và d). Loài *S. aureus* có mặt trong ruột hàu gần tương đương mật độ ngoài trầm tích. Chỉ có nhóm Shigella-Salmonella có mật độ thấp

hơn trong cơ thể hầu so với mẫu trầm tích. Điều hiển nhiên là mật độ VKGB trong

phần ruột hầu cũng cao hơn khoảng từ 4 đến 8 lần so với phần cơ (Bảng 2).

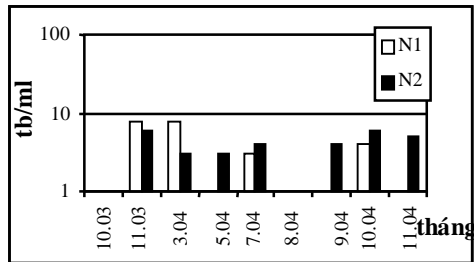


2a

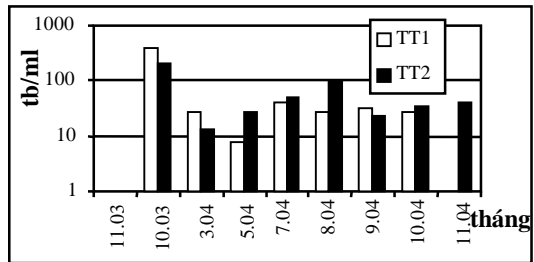


2b

Hình 2a và b: Biến động *Escherichia coli* trong nước và trầm tích theo thời gian
Temporal variation of *Escherichia coli* in the water and sediment

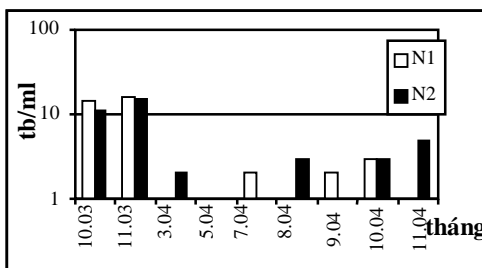


3a

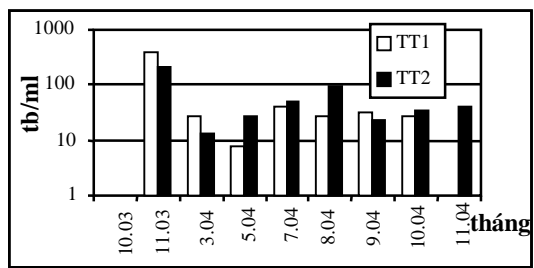


3b

Hình 3a và b: Biến động *Staphylococcus aureus* trong nước và trầm tích theo thời gian
Temporal variation of *Staphylococcus aureus* in the water and sediment

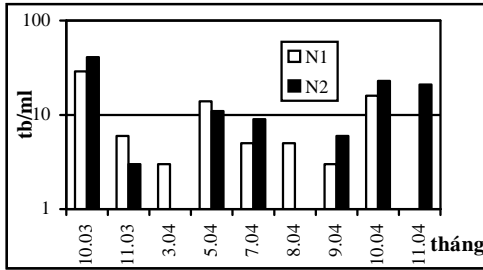


4a

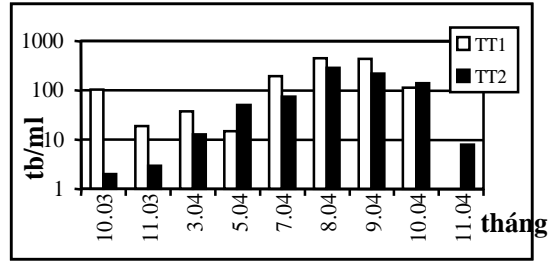


4b

Hình 4a và b: Biến động *Vibrio* trong nước và trầm tích theo thời gian
Temporal variation of *Vibrio* in the water and sediment

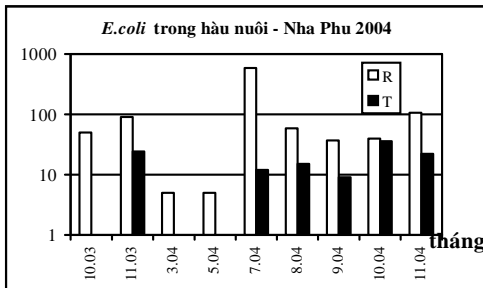


5a

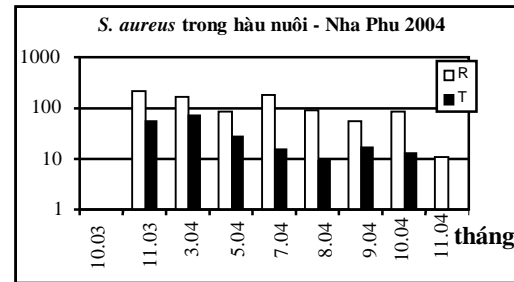


5b

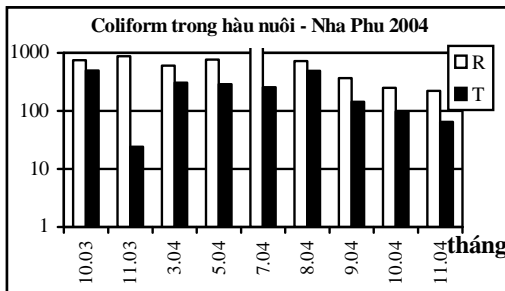
Hình 5a và b: **Biến động Coliform trong nước và trầm tích theo thời gian**
Temporal variation of Coliform in the water and sediment



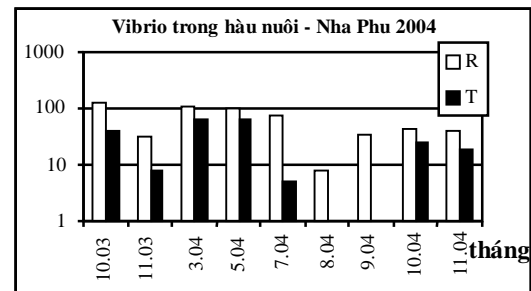
6a: *E. coli*



6b: *S. aureus*



6c: *Coliform*



6d: *Vibrio*

(Ghi chú: R: ruột, T: cơ)

Hình 6 (a-d): **Biến động mật độ vi khuẩn gây bệnh (tế bào/g) trong phần cơ và ruột hầu theo thời gian**
Temporal variation of density of pathogenic bacteria (cell/g) in the muscle and gut of the oyster

Tóm lại, nhiễm bẩn VKGB trong hầu ở khu vực nuôi tại Nha Phu là vấn đề rất cần chú ý vì liên quan đến vệ sinh thực phẩm, các loài nêu trên này đều có khả năng gây bệnh đáng lo ngại. Đồng thời, cũng cho thấy, việc lựa chọn vùng nuôi các loài ăn lọc cần có trầm tích không bị ô nhiễm mới hạn chế được việc tích lũy tiềm ẩn mầm bệnh cho con người khi tiêu thụ chúng.

3. Thí nghiệm về khả năng tự làm sạch của hầu:

Trong quá trình theo dõi và giám sát kết quả mật độ VKGB trong hầu và thấy rằng chúng có mật độ đáng lo ngại trong hầu nuôi, đã tiến hành việc nuôi nhốt trong điều kiện nước biển lọc tại phòng thí nghiệm. Thí nghiệm lặp lại trong 3 tháng liền – tháng 9, 10 và 11-2004. Sau 3 và 5 ngày, các mẫu hầu nuôi nhốt đã được đem phân tích, kiểm tra lại mật độ VKGB. Kết quả cho thấy rất khả quan về việc tự làm sạch của hầu. Kết quả thể hiện trên bảng 3 dưới đây:

Bảng 3: Biến động mật độ VKGB theo thời gian nuôi nhốt
Density variation of pathogenic bacteria according to the culture time

Ngày thứ	Coliform		Vibrio		E. coli		S. aureus	
	ruột	cơ	ruột	cơ	ruột	cơ	ruột	cơ
	Tế bào/g							
0	279	102	39	14	61	22	51	10
3	125	44	17	3	29	8	18	2
5	32	10	2	0	4	0	1	0

Trên bảng 3 có thể thấy rõ ràng mật độ các nhóm VKGB trong cơ thể hầu – kể cả phần cơ và ruột đều giảm đi đáng kể, và hầu như đạt mức an toàn ở ngày nuôi nhốt thứ 5. Đây cũng nên được coi là một cách xử lý có hiệu quả và đơn giản, ít tốn kém để có chất lượng vi sinh an toàn thực phẩm.

IV. KẾT LUẬN

Tóm lại, hầu nuôi ở đầm Nha Phu đang gặp những vấn đề về vi sinh an toàn thực phẩm. Môi trường vùng nuôi bị nhiễm bẩn, sinh hoạt từ dân cư vùng ven đầm, đặc biệt là tầng trầm tích có sự tích lũy vi sinh vật gây bệnh như *E. coli* và *S. aureus*. Những vi sinh gây bệnh thuộc nhóm Coliform, Vibrio và *E. coli* và *S. aureus* đều có trong cơ thể hầu, tồn tại và phát triển với mật độ cao. Hơn nữa, hầu lại là hải sản được nhiều người ưa chuộng tiêu thụ ở dạng tươi sống. Những kết quả trình bày ở bài báo này hy vọng giúp cho mọi người hiểu biết hơn và có biện pháp phòng tránh hậu quả không mong muốn khi thưởng thức món hải sản hầu.

LỜI CẢM ƠN

Nhân đây, chúng tôi cũng xin bày tỏ lời cảm ơn chân thành tới PGS.TSKH. Nguyễn Tác An, chủ nhiệm đề tài “*Nghiên cứu xây dựng quy trình công nghệ phát triển nguồn lợi hầu (Crasostrea lugubris) phục vụ cho việc bảo vệ đa dạng sinh học, bảo vệ nguồn lợi môi trường và tạo nguồn*

xuất khẩu ổn định” đã cho phép chúng tôi được sử dụng những tư liệu quý giá này để công bố.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y Tế, 1997. Công tác xét nghiệm vi sinh phục vụ chống dịch. Tài liệu tập huấn, Viện Pasteur Nha Trang. 25 - 29/11/1997.
2. Brian Austin, 1988. Modern Microbiological Methods: Methods in Aquatic Bacteriology - A Wiley - Interscience Publication. P. 81; 84; 86; 269-271.
3. Committee on Evaluation of the Safety of Fishery Products, 1991. Seafood Safety. National Academy Press. Washington, D.C.
4. Cropp C. M. and C. D. Garland, 1988. A scheme for the identification of marine bacteria. – In: Aust. Microbiologist (1988). 9: 27-34.
3. Gosling E., 2003. Bivalve Molluscs. Biology, Ecology and Culture. Blackwell Science. p. 370-411.
4. Lucas J. S. and P. Southgate, 2003. Aquaculture. Farming Aquatic Animals and Plants. Blackwell Science.
5. Michael J., J. Pelezar, R. D. Reid, 1958. Microbial practice in laboratory. McGram-Hill Book Company, Inc., New York -Toronto - London. 173p.
6. Nguyễn Quang Hào, Vương Trọng Hào, 1989. Thực hành vi sinh vật học. NXB Giáo dục.

Người phản biện:

- TS. Nguyễn Ngọc Lâm
- TS. Nguyễn Hữu Đại