

PHÁT HIỆN VÀ PHÂN TÍCH ĐỊNH LƯỢNG TRỰC KHUẨN GRAM ÂM KHÁNG COLISTIN TRONG MẪU THỊT GÀ, THỊT LỢN BÁN LẺ TẠI THÁI BÌNH

Nguyễn Nam Thăng¹, Lê Việt Hà¹,
Trần Thị Hòa¹, Phan Ngọc Quang¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phát hiện và định lượng vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong thịt gà và thịt lợn bán lẻ tại Nguyễn Xá, Vũ Thư, Thái Bình. Sau khi thuần nhất, các mẫu thịt gà và thịt lợn được pha loãng trong dung dịch đệm peptone (BPW) và nuôi cấy trên môi trường Chromagar ECC (ECC) và Chromagar COL-APSE (COL-APSE) trong điều kiện 37°C trong 18 – 24 giờ. Căn cứ vào màu sắc khuẩn lạc để phân loại vi khuẩn và xác định mật độ các loại vi khuẩn nhiễm trong các mẫu thịt. Đối với mỗi mẫu thịt lựa chọn từ 1 – 3 khuẩn lạc đại diện cho các vi khuẩn phát triển trên môi trường COL-APSE để phân lập, xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với colistin theo hướng dẫn của CLSI. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong các mẫu thịt rất cao, ở thịt gà là 86,7% và ở thịt lợn là 73,3%. Mật độ vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong các mẫu thịt trung bình từ 10³ đến 10⁶ CFU/g. *E. coli*, *Acinetobacter* và coliform là các vi khuẩn gây ô nhiễm trong mẫu thịt bán lẻ thường gặp. Trong số các chủng Gram âm có 77,4% số chủng là vi khuẩn kháng colistin (MIC ≥ 4 mg/L). Kết quả nghiên cứu cho thấy vi khuẩn *E. coli* và coliform kháng colistin chỉ chiếm một tỷ lệ nhỏ (dưới 10%) trong số các vi khuẩn *E. coli* và coliform nhiễm trong các mẫu thịt. Tình trạng nhiễm vi khuẩn Gram âm kháng colistin ở thịt gà, thịt lợn bán lẻ xảy ra khá phổ biến tại Thái Bình, do đó cần thực hiện các biện pháp vệ sinh an toàn thực phẩm phù hợp để ngăn chặn sự lây lan của vi khuẩn kháng colistin trong cộng đồng.

Từ khóa: kháng colistin, phân tích định lượng, thịt bán lẻ, vi khuẩn Gram âm

SUMMARY

DETECTION AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF COLISTIN-RESISTANT GRAM NEGATIVE BACTERIA CONTAMINATED IN RETAIL CHICKEN AND PORK SAMPLES IN THAI BINH

The study was conducted to detect and quantify colistin-resistant Gram-negative bacteria in retail chicken and pork at Nguyễn Xá, Vũ Thư, Thái Bình. After homogenization, chicken and pork samples were diluted in peptone buffer water (BPW) and cultured on Chromagar ECC (ECC) and Chromagar COL-APSE (COL-APSE) medium at 37°C for 18-24 hours. Bacteria grown on the agar were classified based on colony's

color according to instruction of the manufactory and the density of bacteria in each sample was determined. For each meat sample, 1 - 3 representative colonies grown on COL-APSE medium were isolated for determining the minimum inhibitory concentration (MIC) to colistin according to CLSI guidelines. The prevalence of colistin-resistant Gram-negative bacteria contaminated in retail meat samples was relatively high, with 86.7% in chicken and 73.3% in pork. The concentration of colistin-resistant Gram-negative bacteria in meat samples averaged 10³ to 10⁶ CFU/g. *E. coli*, *Acinetobacter* and coliform were common bacteria contaminated in retail meat samples. Among the Gram-negative strains, 77.4% of the strains were colistin-resistant (MIC ≥ 4mg/L). The results showed that among the *E. coli* and coliform bacteria contaminated in meat samples, colistin-resistant bacteria accounted for only a low percentage of less than 10%. The contamination of colistin-resistant Gram-negative bacteria in retail chicken and pork was quite common in Thai Binh, so it is necessary that appropriate food hygiene and safety measures be taken to prevent the spread of colistin resistant bacteria in the community.

Keywords: colistin-resistant, Gram negative bacteria, quantitative analysis, retail meat

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, colistin được coi là loại thuốc cuối cùng được sử dụng trong điều trị đối với những trường hợp nhiễm trùng do vi khuẩn Gram âm kháng đa thuốc gây ra [2]. Tuy nhiên tình trạng kháng colistin xuất hiện trong thời gian gần đây đã trở thành mối đe dọa đối với sức khỏe cộng đồng. Sau khi gen kháng colistin đầu tiên mcr-1 được phát hiện vào năm 2015 [4], các biến thể khác của gen kháng colistin mcr (từ mcr-2 đến mcr-10) lần lượt được phát hiện [6]. Người ta cho rằng việc lạm dụng kháng sinh trong chăn nuôi có thể là nguyên nhân làm xuất hiện vi khuẩn kháng colistin. Nghiên cứu của Kawahara và cộng sự [3] đã ủng hộ giả thuyết này khi kết quả nghiên cứu ở một vùng nông thôn Thái Bình cho thấy gần như 100% mẫu phân gà và phân lợn đều có chứa vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. coli*) kháng colistin mang gen kháng là mcr-1 hoặc mcr-3. Một nghiên cứu khác trên cùng địa bàn được thực hiện năm 2017 - 2018 cũng cho thấy khoảng 70% người khỏe mạnh sinh sống ở khu vực này nhiễm vi khuẩn *E. coli* mang gen kháng colistin mcr-1 hoặc/và mcr-3 và 92,8% các chủng vi

¹Trường Đại học Y Dược Thái Bình

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nam Thăng

Email: thangnn@tbmc.edu.vn

Ngày nhận bài: 12.10.2022

Ngày phản biện khoa học: 2.12.2022

Ngày duyệt bài: 16.12.2022

khuẩn này là các chủng đa kháng thuốc [7]. Với tỷ lệ nhiễm E. coli kháng colistin rất cao trên người khỏe mạnh như vậy, có lẽ đã có sự lây lan vi khuẩn E. coli kháng colistin từ vật nuôi sang con người thông qua thức ăn, nước uống. Vì vậy cần phải tăng cường hơn nữa các biện pháp nhằm giám sát sự lây lan của vi khuẩn kháng colistin ở các loại thực phẩm có nguồn gốc động vật.

Sự hiện diện của E. coli là chỉ thị đối với ô nhiễm thực phẩm, do đó nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm phát hiện sự có mặt của E. coli kháng colistin trong các thực phẩm có nguồn gốc động vật. Tuy nhiên, các nghiên cứu đó chỉ xác định tình trạng nhiễm E. coli kháng colistin mà không đánh giá mật độ vi khuẩn E. coli kháng colistin trong các mẫu thịt, trong khi mật độ vi khuẩn có vai trò quan trọng trong việc đánh giá mức độ an toàn của thực phẩm. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm phát hiện và định lượng vi khuẩn kháng colistin trong thịt gà, thịt lợn bán lẻ tại Thái Bình.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu. Bao gồm 30 mẫu thịt (15 mẫu thịt gà và 15 mẫu thịt lợn) được thu thập tại hai chợ là chợ Cầu và chợ Lửa thuộc xã Nguyên Xá, huyện Vũ Thư, tỉnh Thái Bình trong thời gian từ tháng 9/2018 đến tháng 7/2019. Các mẫu thịt được xử lý và phân tích tại phòng thí nghiệm của Trung tâm Dịch vụ KHKT Y Dược, Trường Đại học Y Dược Thái Bình.

2.2. Thiết kế nghiên cứu. Nghiên cứu được thiết kế theo phương pháp dịch tễ học mô tả dựa trên cuộc điều tra cắt ngang và phân tích mẫu trong phòng thí nghiệm.

2.3. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.3.1. Thu thập mẫu: Các mẫu thịt gà, thịt lợn tươi sống được mua tại hai chợ thuộc Nguyên Xá, Vũ Thư, Thái Bình. Tại mỗi cửa hàng

thịt chúng tôi chỉ thu thập một mẫu đại diện, mỗi mẫu khoảng 100 g. Mẫu được đựng vào túi chuyên dụng, bảo quản lạnh, vận chuyển về phòng thí nghiệm và tiến hành nuôi cấy ngay trong ngày.

2.3.2. Nuôi cấy, định lượng và phân lập vi khuẩn. Sau khi thuần nhất, các mẫu thịt được pha loãng thành các nồng độ từ 10^{-1} , đến 10^{-4} trong dung dịch đệm BPW. Tiến hành nuôi cấy 100 μ l mẫu ở các nồng độ từ 10^0 đến 10^{-4} trên hai loại môi trường COL-APSE và ECC (mỗi nồng độ cấy 2 đĩa). Ủ mẫu ở điều kiện $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}/24 \pm 3\text{h}$. Căn cứ vào đặc điểm màu sắc khuẩn lạc trên từng loại môi trường để phân loại vi khuẩn theo hướng dẫn của nhà sản xuất và tính toán mật độ từng loại vi khuẩn trong các mẫu thịt. Đối với mỗi mẫu thịt, chọn 1 - 3 khuẩn lạc đại diện trên môi trường COL-APSE để phân lập và xác định MIC với colistin theo hướng dẫn của CLSI.

2.3.3. Xác định nồng độ ức chế tối thiểu.

Các chủng vi khuẩn Gram âm đã phân lập trên môi trường chọn lọc COL-APSE sau đó được sử dụng để xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) theo phương pháp nuôi cấy trên thạch Muller Hinton có bổ sung colistin ở các nồng độ 0, 1, 2 và 4mg/L. Các chủng vi khuẩn có MIC $\geq 4\text{mg/L}$ được xác định là kháng colistin (CLSI 2020).

2.4. Xử lý số liệu. Số liệu được nhập vào máy tính và quản lý bằng phần mềm Excel.

Phân tích và xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 22.0

2.5. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu.

Đề cương nghiên cứu của đề tài đã được chấp thuận bởi được Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y Dược Thái Bình (chứng nhận số 773.1/HĐĐĐ ngày 19/9/2017).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Kết quả nuôi cấy trên môi trường ECC

Loại thực phẩm	E. coli		Coliform	
	n	%	n	%
Thịt gà (n=15)	14	93,3	13	86,7
Thịt lợn (n=15)	10	66,7	13	86,7
Chung (n=30)	24	80,0	26	86,7

Kết quả trong bảng 1 cho thấy trong số 15 mẫu thịt gà thì có tới 93,3% số mẫu nhiễm E. coli và 86,7% số mẫu nhiễm coliform. Ở các mẫu thịt lợn, tỷ lệ mẫu nhiễm E. coli là 66,7% và tỷ lệ nhiễm coliform là 86,7%.

Bảng 2. Mật độ vi khuẩn trong mẫu thịt khi nuôi cấy trên môi trường ECC

Loại thực phẩm	E. coli (CFU/g)			Coliform (CFU/g)		
	Min	Max	Trung bình	Min	Max	Trung bình
Thịt gà	$5,0 \times 10^1$	$3,2 \times 10^7$	$2,3 \times 10^6$	$5,0 \times 10^1$	$3,2 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$
Thịt lợn	$1,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^7$	$3,2 \times 10^6$	$5,0 \times 10^1$	$3,2 \times 10^7$	$2,5 \times 10^6$

Kết quả trong bảng 2 cho thấy mật độ vi khuẩn E. coli trung bình trong mẫu thịt gà là $2,3 \times 10^6$ CFU/g, trong các mẫu thịt lợn là $3,2 \times 10^6$ CFU/g. Mật độ trung bình của vi khuẩn coliform nhiễm trong thịt gà và thịt lợn tương đương với nhau, đều là $2,5 \times 10^6$ CFU/g. Kết quả kiểm định bằng t – test cho thấy sự khác biệt về mật độ vi khuẩn E. coli và coliform trong thịt gà và thịt lợn không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3. Kết quả nuôi cấy trên môi trường COL-APSE

Loại thực phẩm	Loại vi khuẩn				
	E. coli	Coliform	Pseudomonas	Acinetobacter	Khác
Thịt gà (n=15)	14(93,3%)	12(80,0%)	3(20,0%)	14(93,3%)	5(33,3%)
Thịt lợn (n=15)	8(46,7%)	12(80,0%)	5(33,3%)	13(86,7%)	7(46,7%)
Chung (n=30)	22(73,3%)	24(80,0%)	8(26,7%)	27(90,0%)	12(40,0%)

Kết quả trong bảng 3 cho thấy các vi khuẩn thường gặp ở thịt gà là E. coli (93,3%), Acinetobacter (93,3%) và coliform (80%). Ở các mẫu thịt lợn, hai loại vi khuẩn chiếm tỷ lệ cao là Acinetobacter (86,7%) và coliform (80,0%).

Bảng 4. Mật độ vi khuẩn E. coli và coliform trong mẫu thịt khi nuôi cấy trên môi trường COL-APSE

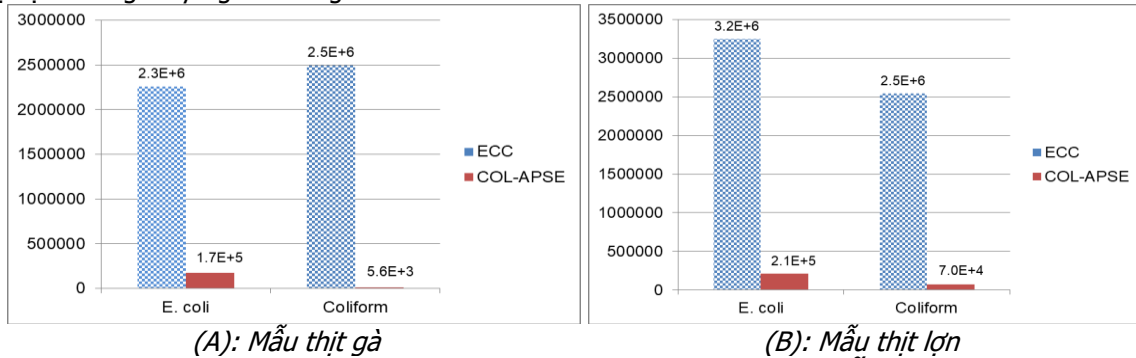
Loại thực phẩm	E. coli (CFU/g)			Coliform (CFU/g)		
	Min	Max	Trung bình	Min	Max	Trung bình
Thịt gà	$5,0 \times 10^1$	$2,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$	$5,0 \times 10^1$	$3,3 \times 10^4$	$5,6 \times 10^3$
Thịt lợn	$5,0 \times 10^1$	$1,6 \times 10^6$	$2,1 \times 10^5$	$5,0 \times 10^1$	$8,0 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4$

Bảng 4 cho thấy: khi nuôi cấy trên môi trường COL-APSE mật độ vi khuẩn E. coli trung bình ở các mẫu thịt gà là $1,7 \times 10^5$ CFU/g, ở các mẫu thịt lợn là $2,1 \times 10^5$ CFU/g. Mật độ vi khuẩn coliform trung bình ở mẫu thịt gà là $5,6 \times 10^3$, trong khi ở thịt lợn mật độ coliform trung bình là $7,0 \times 10^4$. Tuy nhiên, sự khác biệt về mật độ vi khuẩn E. coli và coliform trong mẫu thịt gà và thịt lợn đều không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 5. Mật độ vi khuẩn Pseudomonas và Acinetobacter trong mẫu thực phẩm khi nuôi cấy trên môi trường COL-APSE

Loại thực phẩm	Pseudomonas (CFU/g)			Acinetobacter (CFU/g)		
	Min	Max	Trung bình	Min	Max	Trung bình
Thịt gà	$2,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$5,0 \times 10^1$	$5,7 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$
Thịt lợn	$5,0 \times 10^1$	$3,0 \times 10^4$	$6,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	$1,4 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$

Kết quả trong bảng 5 cho thấy mật độ vi khuẩn Pseudomonas trung bình là $1,0 \times 10^4$ CFU/g ở thịt gà và $6,5 \times 10^3$ CFU/g ở thịt lợn. Mật độ vi khuẩn Acinetobacter trung bình ở thịt gà là $5,5 \times 10^3$ và ở thịt lợn là $1,0 \times 10^6$. Sự khác biệt về mật độ vi khuẩn Pseudomonas và Acinetobacter trong thịt gà và thịt lợn không có ý nghĩa thống kê.



Biểu đồ 1. So sánh mật độ vi khuẩn E. coli và coliform nhiễm trong thịt gà và thịt lợn khi nuôi cấy trên hai loại môi trường là ECC và COL-APSE

Kết quả trong biểu đồ 1 cho thấy mật độ vi khuẩn E. coli và coliform khi nuôi cấy trên môi trường chọn lọc COL-APSE đều thấp hơn rất nhiều so với khi nuôi cấy trên môi trường ECC. Kết quả này cho thấy các vi khuẩn E. coli và coliform kháng colistin chỉ chiếm một phần nhỏ trong số các vi khuẩn E. coli và coliform nhiễm trong các mẫu thịt.

Bảng 6. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) với colistin của các chủng vi khuẩn đã phân lập

Loại vi khuẩn	Nồng độ ức chế tối thiểu (mg/L)			
	1	2	4	>4
E. coli (n=17)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	17 (100%)
Coliform (n=20)	4 (20%)	4 (20%)	0 (0%)	12 (60%)
Pseudomonas (n=3)	1 (33,3%)	0 (0%)	1 (33,3%)	1 (33,3%)
Acinetobacter (n=22)	1 (4,5%)	4 (18,2%)	10 (45,4%)	7 (31,8%)
Chung (n=62)	6 (9,7%)	8 (12,9%)	11 (17,7%)	37 (59,7%)

Kết quả trong bảng 6 cho thấy trong số 62 chủng vi khuẩn Gram âm đã phân lập có 48 chủng kháng colistin, bao gồm 11 chủng có MIC = 4 mg/L và 37 chủng có MIC > 4 mg/L. Tỷ lệ kháng colistin ở các chủng vi khuẩn phân lập trên môi trường COL-APSE ở E. coli là 100,0%, Acinetobacter là 77,3%, Pseudomonas là 66,7% và coliform là 60,0%.

Bảng 7. Tỷ lệ nhiễm các vi khuẩn Gram âm kháng colistin ở mẫu thịt

Loại thực phẩm	Loại vi khuẩn				
	E. coli	Coliform	Pseudomonas	Acinetobacter	Chung
Thịt gà (n=15)	12 (80,0%)	5 (33,3%)	2 (13,3%)	7 (46,7%)	13 (86,7%)
Thịt lợn (n=15)	5 (33,3%)	7 (46,7%)	0 (0,0%)	10 (66,7%)	11 (73,3%)
Chung (n=30)	17 (56,7%)	12 (40,0%)	2 (6,7%)	17 (56,7%)	24 (80%)

Kết quả trong bảng 7 cho thấy có 86,7% mẫu thịt gà và 73,3% mẫu thịt lợn nhiễm vi khuẩn Gram âm kháng colistin. E. coli và Acinetobacter là hai loại vi khuẩn có tỷ lệ nhiễm cao ở các mẫu thịt, đều có tỷ lệ nhiễm là 56,7%, tiếp đó là coliform với tỷ lệ 40% và Pseudomonas có tỷ lệ thấp nhất là 6,7%.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Phát hiện vi khuẩn Gram âm kháng colistin. Để phát hiện các vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong các mẫu thịt lợn và thịt gà, chúng tôi đã tiến hành nuôi cấy mẫu trên môi trường chọn lọc COL-APSE, phân lập vi khuẩn và xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) để xác định khả năng kháng colistin của từng chủng vi khuẩn. Kết quả (bảng 7) cho thấy tỷ lệ nhiễm vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong các mẫu thịt rất cao, ở thịt gà là 86,7% và ở thịt lợn là 73,3%. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hai loại vi khuẩn là E. coli và Acinetobacter kháng colistin là các tác nhân lây nhiễm phổ biến nhất, đều có tỷ lệ phát hiện trong các mẫu thịt là 56,7%. Tỷ lệ mẫu thịt nhiễm coliform cũng lên tới 40%, tuy nhiên tỷ lệ nhiễm Pseudomonas rất thấp, chỉ chiếm 6,7%. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả các nghiên cứu trước đây của chúng tôi ở trên cùng địa bàn nhưng thực hiện trên đối tượng là mẫu phân người và vật nuôi khỏe mạnh. Các nghiên cứu đó đều cho thấy tỷ lệ phát hiện E. coli kháng colistin trong mẫu phân người khỏe mạnh và vật nuôi đều rất cao, ở người là 69,4%, ở gà là 97,2% và ở lợn là 94,4% [3],[7]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các mẫu thịt gà và thịt lợn bán lẻ tại Thái Bình đã bị nhiễm vi khuẩn kháng colistin trong quá trình giết mổ, quá trình bảo quản, vận chuyển hoặc trong lúc bày bán ở chợ.

Tại Việt Nam, colistin là loại kháng sinh được sử dụng khá phổ biến trong chăn nuôi gà và lợn [1],[7]. Nghiên cứu của Nakayama [1] cho thấy trên 50% nông dân tại Nguyên Xá, Vũ Thư, Thái Bình lựa chọn các thuốc kháng sinh có chứa colistin (colistin based drug) để sử dụng trong chăn nuôi gà. Theo nghiên cứu của Van Cuong và cộng sự [7], 7,4% lượng thức ăn cho gà và 12,1% lượng thức ăn cho lợn tại Việt Nam có chứa kháng sinh colistin. Hàm lượng colistin sử dụng trong thức ăn cho gà trung bình là 71,6 mg/kg và trong thức ăn cho lợn là 122,4 mg/kg [6]. Nghiên cứu của Nakayama đã chứng minh, việc tiếp xúc với colistin ở các nồng độ khác nhau sẽ gây ra hiện tượng vi khuẩn kháng colistin do áp lực chọn lọc [1]. Như vậy, việc lạm dụng colistin trong chăn nuôi gà và lợn ở Việt Nam có thể là nguyên nhân làm cho tỷ lệ vi khuẩn kháng colistin trong mẫu phân của người khỏe mạnh và vật nuôi có tỷ lệ cao và có thể gây ô nhiễm vào thực phẩm nếu không áp dụng các biện pháp vệ sinh an toàn thực phẩm phù hợp. Nghiên cứu của chúng tôi đã cho thấy hiện tượng vi khuẩn Gram âm kháng colistin lây nhiễm trong thịt gà và thịt lợn bán lẻ xảy ra rất phổ biến tại Thái Bình. Do đó, cần phải thực hiện các biện pháp can thiệp kịp thời để ngăn chặn sự lây lan của vi khuẩn kháng colistin trong cộng đồng.

4.2. Định lượng vi khuẩn Gram âm kháng colistin. Cả hai môi trường ECC và COL-APSE đều có thể sử dụng để phân tích định lượng vi khuẩn E. coli và coliform, tuy nhiên nhược điểm của môi trường ECC là không có tác dụng chọn lọc đối với các vi khuẩn kháng colistin như môi trường COL-APSE. Hơn nữa, môi trường COL-APSE còn cho phép phát hiện một số vi khuẩn Gram âm kháng colistin quan trọng khác

như *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, đồng thời giúp phân biệt các vi khuẩn Gram âm kháng colistin dựa vào màu sắc khuẩn lạc trên đĩa thạch.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: khi nuôi cấy trên môi trường ECC, mật độ vi khuẩn *E. coli* trong mẫu thịt gà và thịt lợn đều rất cao, lần lượt là $2,3 \times 10^6$ và $3,2 \times 10^6$ CFU/g. Tương tự như vậy, mật độ vi khuẩn coliform trong mẫu thịt gà và thịt lợn cũng rất cao, đều là $2,5 \times 10^6$ CFU/g (bảng 2). Tuy nhiên khi nuôi cấy trên môi trường COL-APSE mật độ vi khuẩn *E. coli* và coliform trong thịt gà và thịt lợn đều thấp hơn rất nhiều (biểu đồ 1) do môi trường COL-APSE là môi trường chọn lọc với các vi khuẩn kháng colistin. Kết quả so sánh mật độ vi khuẩn *E. coli* và coliform trong các mẫu thịt khi nuôi cấy trên hai loại môi trường ECC và COL-APSE (biểu đồ 1) cho thấy: vi khuẩn *E. coli* và coliform kháng colistin chỉ chiếm một phần nhỏ (<10%) trong số các vi khuẩn *E. coli* và coliform nhiễm trong các mẫu thịt. Nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được mật độ vi khuẩn *E. coli* trung bình ở thịt gà là $1,7 \times 10^5$ CFU/g và ở thịt lợn là $2,1 \times 10^5$ CFU/g. Mật độ vi khuẩn coliform, *Pseudomonas* và *Acinetobacter* trong các mẫu thịt cũng ở mức $10^3 - 10^6$ CFU/g. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam thực hiện phân tích định lượng vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong các mẫu thịt bán lẻ.

Mặc dù môi trường COL-APSE là môi trường chọn lọc với các vi khuẩn Gram âm kháng colistin nhưng không phải tất cả các chủng phát triển trên môi trường này đều có kiểu hình kháng colistin. Tiêu chuẩn để xác định một chủng kháng colistin là xác định MIC của chủng vi khuẩn đó với colistin. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi (bảng 6) cho thấy trong số 62 chủng vi khuẩn phân lập trên môi trường COL-APSE chỉ có 48 chủng thực sự kháng colistin (MIC ≥ 4 mg/L), chiếm 77,4% số chủng Gram âm phân lập trên môi trường COL-APSE. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu (bảng 6) cũng cho thấy: 100% các chủng *E. coli* phân lập trên môi trường COL-APSE đều được xác định là kháng colistin (MIC > 4 mg/L). Như vậy, kết quả xác định mật độ vi khuẩn *E. coli* trên môi trường COL-APSE (bảng 4) cũng phản ánh chính xác mức độ ô nhiễm của vi khuẩn *E. coli* kháng colistin trong các mẫu thịt. Kết quả nghiên cứu (bảng 6) cũng cho thấy: các vi khuẩn coliform, *Pseudomonas* và *Acinetobacter* phân lập trên môi trường COL-APSE có tỷ lệ kháng colistin từ 60 đến 77%, do đó mật độ các vi khuẩn này trong mẫu thịt (bảng 4, bảng 5) cũng phản ánh tương đối chính xác tình trạng

nhễm vi khuẩn kháng colistin trong mẫu thịt đó. Như vậy, việc sử dụng môi trường COL-APSE để nghiên cứu giám sát, sàng lọc vi khuẩn Gram âm kháng colistin trong thực phẩm là hoàn toàn đáng tin cậy, đặc biệt là đối với vi khuẩn *E. coli*.

V. KẾT LUẬN

Tình trạng nhiễm vi khuẩn Gram âm kháng colistin ở thịt gà, thịt lợn bán lẻ xảy ra khá phổ biến tại Thái Bình. Tỷ lệ nhiễm vi khuẩn Gram âm kháng colistin ở thịt gà là 86,7% và ở thịt lợn là 73,3%. Mật độ vi khuẩn Gram âm kháng colistin ô nhiễm trong các mẫu thịt tương đối cao, thay đổi trong khoảng từ 10^3 đến 10^6 CFU/g, trong đó *E. coli*, *Acinetobacter* và coliform là các vi khuẩn gây ô nhiễm các mẫu thịt thường gặp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Catry, B., Cavaleri, M., Baptiste, K., et al.** (2015). Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. *International journal of antimicrobial agents*, 46(3), 297–306.
2. **Kasiakou, S. K., Michalopoulos, A., Soteriades, E. S., et al.** (2005). Combination therapy with intravenous colistin for management of infections due to multidrug-resistant Gram-negative bacteria in patients without cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 49: 3136–46.
3. **Kawahara, R., Fujiya, Y., Yamaguchi, T., et al.** (2019). Most Domestic Livestock Possess Colistin-Resistant Commensal *Escherichia coli* Harboring *mcr* in a Rural Community in Vietnam. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(6), e00594-19.
4. **Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., et al.** (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet. Infectious diseases*, 16(2), 161–168.
5. **Nakayama, T., Jinnai, M., Kawahara, R., et al.** (2017). Frequent use of colistin-based drug treatment to eliminate extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in backyard chicken farms in Thai Binh Province, Vietnam. *Tropical animal health and production*, 49(1), 31–37.
6. **Shen, Y., Zhang, R., Schwarz, S., et al.** (2020). Farm animals and aquaculture: significant reservoirs of mobile colistin resistance genes. *Environmental microbiology*, 22(7), 2469–2484.
7. **Van Cuong, N., Nhung, N. T., Nghia, N. H., et al.** (2016). Antimicrobial Consumption in Medicated Feeds in Vietnamese Pig and Poultry Production. *EcoHealth*, 13(3), 490–498.
8. **Yamamoto, Y., Kawahara, R., Fujiya, Y., et al.** (2019). Wide dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* with the mobile resistance gene *mcr* in healthy residents in Vietnam. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 74(2), 523–524.