

Dư lượng kháng sinh trong thủy sản - Phương pháp phát hiện nhanh



✦ ANH THY - CẨM NHUNG (ĐHTG)

Dư lượng kháng sinh và tác hại

Dư lượng kháng sinh (DLKS) là tình trạng kháng sinh vẫn còn trong thực phẩm như thịt, cá, trứng, sữa, v.v... ở dạng nguyên chất hay đã chuyển hóa, vì thế có thể gây tác hại đối với người sử dụng.

Sở dĩ có hiện tượng DLKS là do việc không tuân thủ quy định về sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng, chế biến nông thủy sản, thực phẩm, chăn nuôi, thuốc bảo vệ thực vật; sử dụng các chất kích thích sinh trưởng, thuốc thú y trong chăn nuôi và thuốc bảo vệ thực vật ngoài danh mục cho phép; sử dụng kháng sinh để bảo quản thực phẩm.

DLKS là một trong những nguyên nhân của tình trạng mất an toàn vệ sinh thực phẩm, gây tác hại đối với sức khỏe con người như dị ứng (penicillin là kháng sinh thường gây dị ứng nhất), nhất là trường hợp những người có cơ địa dị ứng với một loại thuốc nào đó; nổi mề đay, ban đỏ cũng thường gặp với DLKS sulfonamid. DLKS cũng gây ngộ độc, ví dụ chloramphenicol là loại kháng sinh cấm sử dụng trên thế giới do gây các dạng thiếu máu và ở một số trường hợp đặc biệt có thể dẫn đến tử vong; một số thuốc như nitrofurans, quinolones, nitroimidazoles nếu tích lũy do dùng lâu ngày có thể gây suy gan, suy thận thậm chí gây ung thư, đột biến gen.

Tạo dòng vi khuẩn để kháng kháng sinh do sử dụng các sản phẩm động

Tình hình nhiễm kháng sinh trong thủy sản xuất khẩu của Việt Nam trong những năm gần đây đáng được quan tâm và cần có biện pháp phát hiện, định lượng nhanh, chính xác, đảm bảo thủy hải sản đạt tiêu chuẩn xuất khẩu và cho cả thị trường nội địa.

vật có DLKS. Một số thuốc thú y bị cấm hẳn không được có trong thực phẩm như thủy sản, thịt gia súc, gia cầm (chloramphenicol, malachite green và leuco malachite green, crystal violet và leuco crystal violet, nitrofurans, nitroimidazoles...) vì chúng đi vào cơ thể con người qua thực phẩm, tích lũy theo thời gian và gây hiện tượng lờn thuốc; không hiệu quả khi trị bệnh bằng kháng sinh.

Tình hình nhiễm kháng sinh trong thủy sản xuất khẩu

Việt Nam có diện tích nuôi trồng thủy sản tăng đều qua từng năm, từ năm 1990, gần 500.000 ha đến nay đã hơn 1 triệu ha và sản lượng tăng lên hơn 54%, với hai sản phẩm chủ lực tôm và cá tra. Chúng ta hiện có 567 nhà máy chế biến thủy sản quy mô công nghiệp đáp ứng các tiêu chuẩn an toàn thực phẩm như HACCP, GMP, SSOP; hàng trăm nhà máy đông lạnh đủ tiêu chuẩn xuất khẩu sang EU, nhiều nhà máy, vùng nuôi đạt chứng nhận tự nguyện như GlobalGAP, ASC, BAP, BRC, v.v... Kim ngạch xuất khẩu năm 2013 đạt hơn 6,7 tỷ USD, hơn 32 lần so năm 1990, trở thành một trong những nước xuất khẩu thủy sản lớn trên thế giới.

Tuy nhiên, tình hình nhiễm DLKS vẫn chưa được xử lý triệt để. Theo kết quả báo cáo của Tổ chức Phát triển Công nghiệp của Liên Hợp Quốc (UNIDO) ở 4 thị trường lớn là EU, Hoa Kỳ, Nhật Bản, Úc thì Việt Nam là một trong ba nước đứng đầu về số vụ bị từ chối

nhập khẩu sản phẩm thủy sản giai đoạn 2006-2010. Tính trung bình trong giai đoạn này, mỗi năm Việt Nam thiệt hại hơn 14 triệu USD do hàng xuất khẩu thủy sản bị trả lại.

Tuy NAFIQAD đã áp dụng các biện pháp kiểm soát tăng cường nhưng vẫn chưa cải thiện tình trạng lây nhiễm kháng sinh cấm có nguồn gốc từ khâu nuôi trồng, nhất là tôm (trong đó có những loại cấm sử dụng trong nuôi trồng từ trước như chloramphenicol, trifluralin).

CFIA của Canada thống kê tình hình vi phạm dư lượng fluoroquinolones trong các lô hàng thủy sản nuôi của Việt Nam từ năm 2009 đến nay chưa có sự cải thiện. Nhóm kháng sinh này gồm flumequin, norfloxacin, enrofloxacin, ciprofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, ofloxacin...

DAFF của NAFIQAD đã phát hiện nhiều lô hàng thủy sản Việt Nam nhiễm dư lượng fluoroquinolones chủ yếu là enrofloxacin, ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin trong cá fillet.

Một số lô hàng tôm xuất khẩu qua Nhật Bản cũng nhiễm enrofloxacin.

Những tháng đầu năm 2014, EU và Nhật Bản liên tiếp phát hiện dư lượng oxytetracycline vượt mức giới hạn cho phép trong các lô hàng tôm nuôi của Việt Nam nên đã áp dụng chế độ kiểm tra 100% các lô hàng và sẽ có những biện pháp trừng phạt nặng hơn nếu tình trạng nhiễm oxytetracycline không suy giảm.

Tuy trước khi xuất khẩu, mỗi lô hàng tôm được các doanh nghiệp và đại diện nhà nhập khẩu kiểm kháng sinh/vi sinh ít nhất 6 lần nhưng tình trạng nhiễm DLKS vượt mức cho phép đối với thủy sản xuất khẩu vẫn chưa có dấu hiệu suy giảm. Đó là do quá lạm dụng kháng sinh trong khâu nuôi trồng, phòng chống dịch bệnh và không tuân thủ thời gian sử dụng kháng sinh, thời gian ngưng kháng sinh trước khi thu hoạch.

Xu hướng công nghệ trên cơ sở tư liệu sáng chế

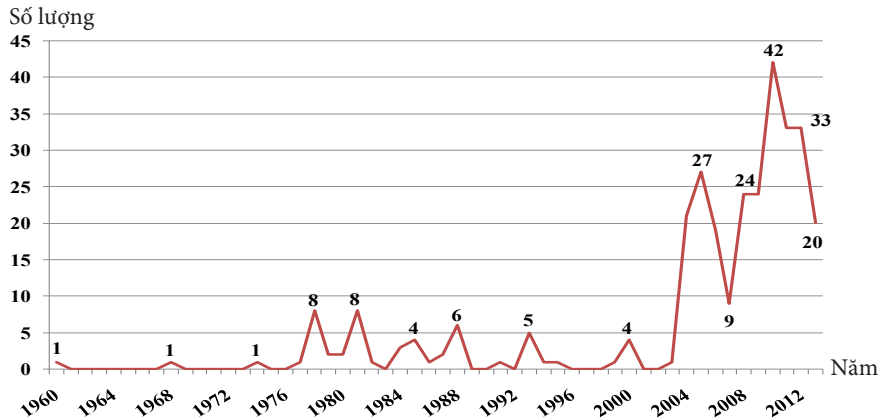
Theo nguồn cơ sở dữ liệu sáng chế (SC) tiếp cận được, đầu thập niên 60 đã có SC về phân tích DLKS trong thủy sản, thực phẩm được đăng ký bảo hộ ở Mỹ, đến năm 2013 có 308 SC đăng ký liên quan đến phân tích DLKS trong thủy sản, thực phẩm. Trong gần 40 năm từ 1960 đến 1999 có khoảng 50 SC đăng ký bảo hộ ở 12 nước, đa số ở Mỹ; trong khi đó từ 2000 đến 2013 có 258 SC đăng ký bảo hộ với sự nổi lên rõ rệt ở Trung Quốc.

Hiện những SC về phân tích DLKS trong thủy sản và thực phẩm được đăng ký bảo hộ ở gần 20 nước, nhiều nhất là Trung Quốc (177 SC). Ba nước châu Á là Trung Quốc, Hàn Quốc và Nhật Bản chiếm 61% tổng lượng SC.

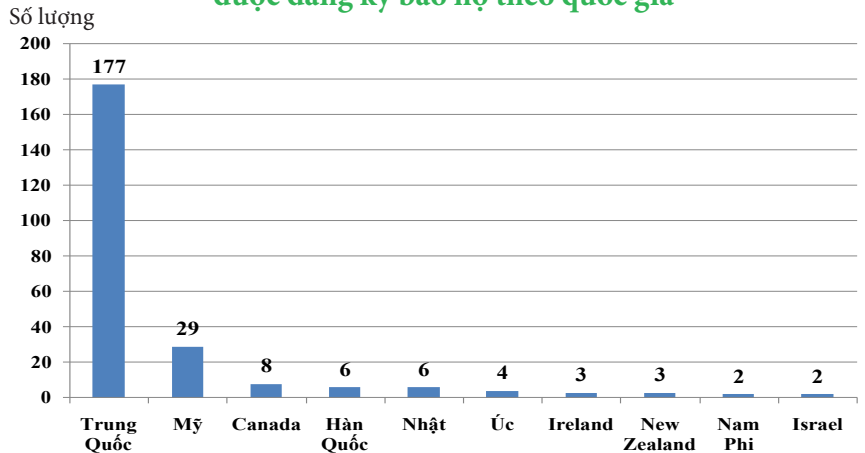
Xu hướng nghiên cứu phân tích DLKS dựa trên phân loại SC quốc tế IPC (International Patent Classification) của các SC được đăng ký cho thấy hai xu hướng nghiên cứu chính là dựa trên hóa tính, lý tính (chỉ số phân loại G01N) và phân tích bằng các quá trình có sử dụng enzyme hoặc vi sinh vật (chỉ số phân loại C12Q) chiếm đến 85% tổng số SC đăng ký, các phương pháp khác chiếm 15%. Cụ thể:

- ♦ Phân tích DLKS trong thủy sản và thực phẩm bằng phương pháp miễn dịch, đặc tính sinh học (chỉ số phân loại G01N-033) chiếm 45% số lượng đăng ký SC, tập trung vào việc sử dụng kháng thể đơn dòng, sự khuếch tán – di chuyển của kháng nguyên hoặc kháng thể. SC đầu tiên thuộc hướng nghiên cứu này được đăng ký vào năm 1974 và tập trung nhiều nhất vào các năm 2008, 2010 và 2011;

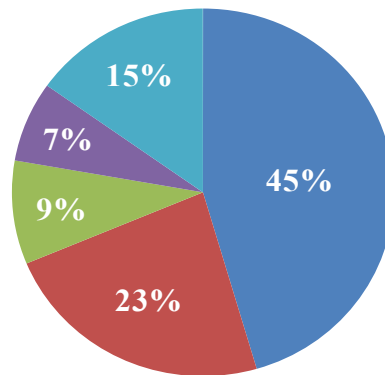
Phát triển đăng ký SC về phân tích DLKS trong thủy sản, thực phẩm



SC về phân tích DLKS trong thủy sản và thực phẩm được đăng ký bảo hộ theo quốc gia



Các phương pháp nghiên cứu phân tích DLKS phổ biến nhất theo IPC



- Phương pháp miễn dịch, đặc tính sinh học
- Phương pháp sử dụng enzyme, vi sinh vật
- Phương pháp hấp thụ, trao đổi ion
- Phương pháp quang học
- Phương pháp khác

- ♦ Phương pháp sử dụng enzyme hoặc vi sinh vật (chỉ số phân loại C12Q-001) chiếm 23%, hướng tới các điều kiện phản ứng tối ưu trong các quá trình sử dụng enzyme, vi sinh vật để phát hiện sự hiện diện của kháng sinh. SC đăng ký đầu tiên vào năm 1960 và nhiều nhất vào năm 2005;

- ♦ Phương pháp hấp thụ, trao đổi ion

như phương pháp sắc ký bản mỏng, HPLC (chỉ số phân loại G01N-030) chiếm 9%, SC đầu tiên được đăng ký vào năm 1984 và những năm có nhiều SC đăng ký là 2010 và 2012;

- ♦ Phương pháp quang học (chỉ số phân loại G01N-021) chiếm tỷ lệ 7% SC đầu tiên được đăng ký vào năm 1968.

Một số kỹ thuật phân tích DLKS

Có nhiều phương pháp định lượng nhưng đáng tin cậy là sắc ký lỏng ghép khối phổ nhờ khả năng định danh tốt, định lượng tương đối chính xác, đảm bảo độ đúng, độ lặp lại và độ nhạy. Yêu cầu quan trọng của phương pháp này là phải thực hiện tốt khâu chuẩn bị mẫu. Đây là giai đoạn quyết định khả năng tách, xác nhận và nhất là định lượng được chất phân tích có hàm lượng rất nhỏ so với tạp trong nền mẫu.

Hiện có nhiều kỹ thuật tách chiết như kỹ thuật chiết nhanh với dung môi (ASE - Accelerated Solvent Extraction), chiết dưới tác dụng

vi sóng, siêu âm; kỹ thuật chiết lỏng - lỏng trên pha rắn (SLE- Solid Supported liquid-liquid extraction) đơn giản, ít tổn dung môi, không bị nhũ; kỹ thuật ly trích trên pha rắn có cải tiến (SPE - Solid Phase Extraction), v.v... Trong đó đặc biệt bộ kit QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) áp dụng cho phân tích thuốc bảo vệ thực vật, đã được mở rộng cho một số đối tượng kháng sinh, thuốc thú y với những ưu điểm như ít dung môi độc hại, ít gây ô nhiễm môi trường; nhanh và đơn giản.

Thiết bị phân tích cũng rất hiện đại và hiệu quả hơn. Thiết bị sắc ký lỏng siêu nhanh UPLC giảm đáng kể thời gian phân tích tăng độ nhạy và độ

phân giải; những loại cột sắc ký lỏng đặc biệt như cột rỗng Poroshell, cột đa cơ chế Mixed Mode, cột Hilic góp phần nâng cao độ nhạy và độ phân giải của thiết bị phân tích.

Nhìn chung, các phòng kiểm nghiệm trong nước có thể định lượng tốt dư lượng thuốc thú y trong nhiều nền mẫu thực phẩm khá đa dạng. Vấn đề là cần xây dựng một phương pháp có thể phân tích được nhiều loại thuốc thú y cùng lúc để có thể thực hiện phân tích đa dư lượng (Multi-residue Analysis).

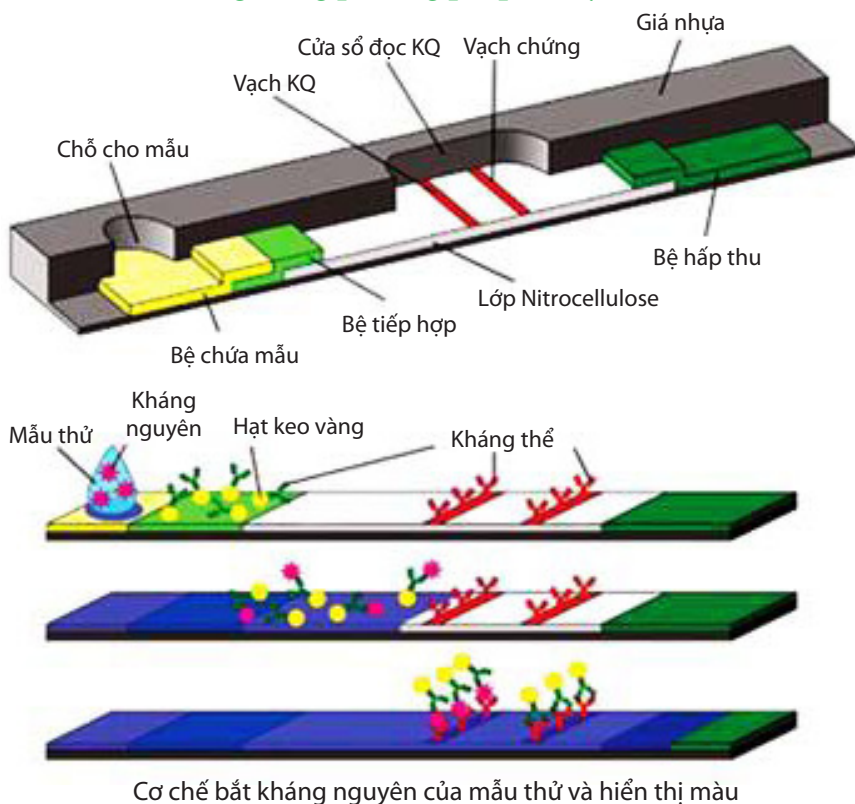
Áp dụng công nghệ sinh học trong sản xuất sinh phẩm chẩn đoán

Công nghệ sắc ký miễn dịch (Lateral flow rapid test): sắc ký miễn dịch hay miễn dịch nhanh có ưu điểm là không đòi hỏi thiết bị; cho kết quả nhanh và giá thành vừa phải, vì thế nên thị trường lớn, có nhiều hãng sản xuất tham gia với nhiều sản phẩm chất lượng khác nhau, cạnh tranh cao. Tuy nhiên điểm cần lưu ý là phương pháp này cần phải kiểm soát chặt chẽ về độ nhạy cũng như độ đặc hiệu.

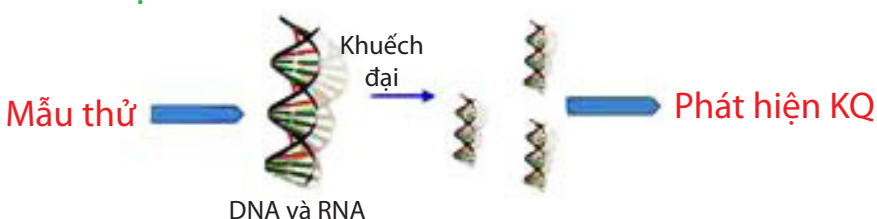
Khuếch đại nucleic acid (nucleic acid amplification): có thể áp dụng trong nhiều lĩnh vực với ưu điểm là độ nhạy và tính đặc hiệu cao nên có tiềm năng thị trường lớn. Tuy nhiên, phương pháp này đòi hỏi thiết bị, quy trình kiểm soát chất lượng và tay nghề cao vì thế phần nào hạn chế phạm vi ứng dụng thực tế.

Xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme (ELISA- Enzyme linked Immuno Sorbent Assay): dùng kỹ thuật sinh hóa để phát hiện kháng thể hay kháng nguyên trong mẫu cần phân tích, hiện được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như y học, nông nghiệp và đặc biệt trong các quy trình kiểm tra an toàn chất lượng các sản phẩm thực phẩm. Thị trường tiềm năng hiện nay của phương pháp này là lĩnh vực kiểm soát dư lượng trong thủy sản, thực phẩm; bệnh nhiệt

Kit dùng trong phương pháp sắc ký miễn dịch



Khuếch đại nucleic acid



đời... ELISA có rất nhiều dạng, đặc điểm chung là đều dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với một enzyme. Phương pháp ELISA có ưu điểm nhanh; thao tác đơn giản, dễ thực hiện; không đòi hỏi thiết bị đắt tiền; không cần nhân viên chuyên môn cao; chi phí kiểm mẫu thấp do có thể kiểm đồng thời số lượng mẫu lớn; một bộ kit có thể phân tích được 50-80 mẫu. Tuy nhiên, nhược điểm do đây là sinh phẩm nên một số hóa chất phải bảo quản lạnh và có hạn sử dụng nhất định; độ chính xác không cao bằng các phương pháp hóa lý như phương pháp sắc ký vì thế chỉ thích hợp với các phân tích sàng lọc hơn là các phân tích định lượng.

Nhóm nghiên cứu công nghệ sinh học thuộc Trung tâm Nghiên cứu Triển khai – Khu Công nghệ cao TP. HCM đã và đang phát triển bộ kit ELISA cho enrofloxacin và chloramphenicol nhằm xác định dư lượng chất kháng sinh enrofloxacin, độc tố melamine trong thủy sản và sữa phù hợp với qui định về lượng tồn dư tối đa của enrofloxacin hoặc melamine trong thực phẩm và đạt những kết quả rất khả quan. □

Thuật ngữ

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point): tạm dịch là "hệ thống phân tích mối nguy và kiểm soát điểm tới hạn". Đây là hệ thống quản lý chất lượng dựa trên cơ sở phân tích các mối nguy và các điểm kiểm soát trọng yếu nhằm bảo đảm an toàn vệ sinh và chất lượng thực phẩm.

GMP (Good Manufacturing Practices): tiêu chuẩn thực hành sản xuất tốt nhằm đảm bảo điều kiện vệ sinh an toàn cho sản xuất; một phần cơ bản trong hệ thống quản lý an toàn thực phẩm, là điều kiện tiên quyết cho việc phát triển hệ thống HACCP và các tiêu chuẩn quản lý an toàn thực phẩm ISO22000.

SSOP (Sanitation Standard Operating Procedures): quy trình vệ sinh và thủ tục kiểm soát vệ sinh.

GlobalGAP (Global Good Agricultural Practice): tiêu chuẩn thực hành nông nghiệp tốt toàn cầu; trước đây là tiêu chuẩn EUREP GAP (cho đến ngày 02/07/2007). Đây là một bộ tiêu chuẩn được xây dựng để áp dụng tự nguyện cho sản xuất nông nghiệp (trồng trọt, chăn nuôi và thủy sản) trong quá trình sản xuất, thu hoạch và xử lý sau thu hoạch.

ASC (Aquaculture Stewaship Council): Hội đồng Quản lý Nuôi trồng Thủy sản, một tổ chức độc lập, phi lợi nhuận, do Quỹ Quốc tế Bảo vệ Thiên nhiên (WWF) và Tổ chức Sáng kiến Thương mại Bền vững Hà Lan (IDH) thành lập năm 2009 để quản lý các tiêu chuẩn toàn cầu đối với việc nuôi trồng thủy sản có trách nhiệm, dựa trên bốn nền tảng chính là môi trường, xã hội, an sinh động vật và an toàn thực phẩm.

BAP (Best Aquaculture Practices): tiêu chuẩn trách nhiệm, tiêu chuẩn môi trường và xã hội, tiêu chuẩn an toàn thực phẩm và truy xuất nguồn gốc cho các trang trại và trại sản xuất giống tôm, cá rô phi và cá da trơn cũng như các nhà máy chế biến thủy sản.

BRC (British Retail Consortium): tiêu chuẩn do Hội các tổ chức bán lẻ Anh quốc ban hành, đòi hỏi phải có sự phê duyệt có tài liệu minh chứng để đảm bảo chất lượng và an toàn thực phẩm.

VASEP (The Vietnam Association of Seafood Exporters and Producers): Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam.

NAFIQAD (National Agro-Forestry-Fisheries Quality Assurance Department): Cục Quản lý Chất lượng Nông Lâm sản và Thủy sản.

Bài viết được thực hiện trên cơ sở tài liệu của chương trình "Báo cáo phân tích xu hướng công nghệ" tháng 04/2014 tại Trung tâm Thông tin Khoa học và Công nghệ TP.HCM (CESTI) với chuyên đề "Xu hướng công nghệ phát hiện dư lượng kháng sinh trong thủy sản – Phương pháp phát hiện nhanh" với những báo cáo chuyên đề của GS.TS. Chu Phạm Ngọc Sơn (Công ty Sắc ký Hải Đăng), TS. Phan Văn Tiến, ThS. Bùi Quốc Anh (Trung tâm Nghiên cứu Triển khai, Khu Công nghệ cao TP. HCM) và chuyên viên CESTI.

Chương trình "Báo cáo phân tích xu hướng công nghệ" được tổ chức thường xuyên tại CESTI với sự tham gia của các chuyên gia hàng đầu trong từng lĩnh vực và tài liệu phân tích được chuẩn bị chu đáo bởi các chuyên gia trong ngành và các chuyên viên khai thác thông tin, đặc biệt là khai thác thông tin sáng chế tại CESTI. Bạn đọc quan tâm tham dự chương trình "Báo cáo phân tích xu hướng công nghệ" liên hệ đăng ký tại phòng Cung cấp Thông tin, điện thoại: (08) 3824 3826.