

**GS.TS. NGUYỄN THỊ HIỀN (CHỦ BIÊN), GS.TS. PHAN THỊ KIM,
TS TRƯƠNG THỊ HÒA, Th.S. LÊ THỊ LAN CHI,**

**VI SINH VẬT NHIỄM TẠP
TRONG LƯƠNG THỰC - THỰC PHẨM**

Đại Học Bách Khoa Hà Nội

Hà Nội 2009

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi chân thành cảm ơn:

- Ban giám hiệu Trường Đại học Bách khoa Hà nội .
- Bộ môn Công nghệ Sinh học Thực phẩm, Viện Công nghệ Sinh học Thực phẩm đã tạo điều kiện cho chúng tôi hoàn thành cuốn sách này để phục vụ sinh viên và các đối tượng chuyên ngành liên quan.
- Hội Khoa học Kỹ thuật An toàn Thực phẩm Việt nam, đặc biệt là GS. TS. Phan Thị Kim, cục trưởng Cục Quản lý Chất lượng Vệ sinh An toàn Thực phẩm Việt nam đã tham gia biên soạn và hiệu đính cuốn sách này.PGS.TS. Trương Thị Hòa. Viện Công nghiệp Thực phẩm là hững nguwoif tham gia tích cực cho cuốn sách này hoàn chỉnh dần.
- PGS. Lê Ngọc Tú, Đại học Bách khoa Hà nội đã tham gia đóng góp ý kiến và hiệu đính cho cuốn sách.
- Các cán bộ Bộ môn Dinh dưỡng Thực phẩm, Viện Công nghệ Thực phẩm.
- Các bạn đồng nghiệp và các em sinh viên năm thứ 4, thứ 5 Ngành Công nghiệp Thực phẩm đã tham gia đóng góp ý kiến cho cuốn sách hoàn chỉnh hơn.
- Nhà xuất bản Nông Nghiệp đã cho in cuốn sách này từ 2003 phục vụ Sinh viên và Học viên cao học
- Cùng nhiều độc giả quan tâm cuốn sách này mấy năm nay.

**Thay mặt Các tác giả.
GS. TS. Nguyễn Thị Hiền**

LỜI TỰA

Vi sinh vật nhiễm tạp trong lương thực thực phẩm là một vấn đề nghiêm trọng và cấp bách ở khắp mọi nơi trên thế giới, đặc biệt đối với Việt Nam. Ngộ độc thực phẩm và các bệnh truyền qua thực phẩm đang là vấn đề bức xúc hiện nay. Để bảo vệ sức khoẻ cộng đồng, giảm bệnh tật và bảo đảm vệ sinh an toàn thực phẩm thì mọi người dân, đầu tiên phải là những doanh nghiệp sản xuất, chế biến, dịch vụ thực phẩm; các cán bộ làm trong ngành phải nắm vững những kiến thức cơ bản thuộc lĩnh vực này.

Qua quá trình công tác và giảng dạy lâu năm trong ngành CNTP, chúng tôi thấy rõ rằng trong chuyên ngành này, kiến thức về vi sinh vật nhiễm tạp, nguồn gốc gây mất an toàn vệ sinh thực phẩm, gây ngộ độc thực phẩm còn bị hạn chế. Vì vậy chúng tôi mong muốn cung cấp một số phân tư liệu phục vụ cho công tác chuyên môn, nâng cao kiến thức cho cán bộ hoạt động trong lĩnh vực này nhằm tạo điều kiện tốt hơn cho sản xuất thực phẩm.

Cuốn sách này cũng có thể xem như tài liệu tra cứu cho bạn đọc khi cần tra cứu để hiểu biết những kiến thức đại cương nhất về vi sinh vật, đặc biệt là từng chủng vi sinh vật có hại khi nhiễm vào các sản phẩm thực phẩm. Bởi vì mỗi chủng vi sinh vật chúng tôi đều cố gắng nêu đầy đủ về đặc tính chung của chúng, các bệnh chính do chính nó gây nên, các loại thực phẩm hay bị nhiễm tạp và biện pháp phòng ngừa, ngăn chặn.

Đây là một vấn đề rất phức tạp và phong phú, nên trong khuôn khổ cuốn sách này chúng tôi chỉ chọn lọc một số phần cơ bản nhất. Các bạn đọc có thể tra cứu thêm các tài liệu tham khảo ở phần cuối cuốn sách. Chúng tôi mong rằng tài liệu này có ích cho các bạn đọc trên mọi miền đất nước.

Chúng tôi đã sửa chữa và điều chỉnh thêm một số kiến thức cập nhật cho Sinh viên học và cán bộ liên quan tham khảo tốt nhất trong lĩnh vực Vi sinh vật và bảo đảm Vệ sinh an toàn Thực phẩm hiện nay.

Đại Học Bách Khoa Hà Nội

Hà nội, năm 2009

Thay mặt các tác giả

GS.TS. Nguyễn Thị Hiền

CHƯƠNG 1: HÌNH THÁI CẤU TẠO , SINH SẢN CỦA VI SINH VẬT

1.1. Vi khuẩn

1.1.1. Hình thái và kích thước

Theo hình dáng bên ngoài vi khuẩn được chia làm các loại: cầu khuẩn, trực khuẩn, phẩy khuẩn và xoắn khuẩn.

1.1.1.1. Cầu khuẩn

Cầu khuẩn là loại vi khuẩn có dạng hình cầu nhưng cũng có nhiều loại không hẳn hình cầu, thí dụ như hình ngọn nến như phẩy cầu khuẩn. Kích thước của cầu khuẩn thường thay đổi trong khoảng (0,5 - 1) μm (1 micromet = 10^{-6}m). Tùy theo từng loài mà chúng có những dạng khác nhau. Đặc tính chung của cầu khuẩn :

- Tế bào hình cầu có thể đứng riêng rẽ hay liên kết với nhau.
- Có nhiều loài có khả năng gây bệnh cho người và gia súc.
- Không có cơ quan di động.
- Không tạo thành bào tử.
- Cầu khuẩn thường không có tiên mao và không có khả năng di động.

Một số Chi (Giống) cầu khuẩn đặc trưng: Hình vẽ ở phụ lục 1

* *Monococcus* - đơn cầu khuẩn: Thường đứng riêng rẽ từng tế bào một, đa số thuộc loại hoại sinh. Chúng thường có ở trong đất, nước và không khí.

* *Diplococcus* - song cầu khuẩn: Phân cách theo mặt phẳng xác định và dính với nhau thành từng đôi một. Một số có khả năng gây bệnh như giống *Neisseria* - gây bệnh lậu; *Meningitidis gonorrhoeae* - gây bệnh về não

* *Tetracoccus* - tứ cầu khuẩn: Thường liên kết với nhau thành từng nhóm 4 tế bào một. Chúng thường gây bệnh cho người và một số gây bệnh cho động vật.

* *Streptococcus* - liên cầu khuẩn: Chúng phân cắt nhau theo một mặt phẳng xác định và dính với nhau thành từng chuỗi dài.

* *Sarcina* phân cách theo 3 mặt phẳng trục giao nhau, tạo thành những khối từ 8 - 16 tế bào hoặc nhiều hơn. Trong không khí chúng ta thường gặp một số loài như *Sarcinalutea*, *Sarcina auratiaca*. Chúng thường nhiễm vào các môi trường tạo màu vàng.

* *Staphylococcus* - tụ cầu khuẩn: Thường liên kết với nhau thành những đám trông như chùm nho. Chúng phân cách theo một mặt phẳng bất kỳ sau đó dính vào nhau thành từng đám như chùm nho.

1.1.1.2. Trực khuẩn

Trực khuẩn là tên chung chỉ tất cả các vi khuẩn có hình que. Kích thước thường từ (0,5-1,0) x (1- 4) μm . Thường gặp các loài trực khuẩn sau:

* *Bacillus*: Trực khuẩn Gram +, sinh bào tử. Chiều ngang của bào tử không vượt quá chiều ngang của tế bào vì thế khi tạo thành bào tử tế bào không thay đổi hình dạng, chúng thường thuộc loài hiếu khí hoặc kỵ khí không bắt buộc.

* *Bacterium*: Trực khuẩn Gram -, không sinh bào tử. Thường có tiên mao mọc xung quanh tế bào người ta gọi là chu mao. Các giống *Samonella*, *Shigella*, *Erwina*, *Serratia* đều có hình thái giống Bacterium.

* *Pseudomonas*: Trục khuẩn Gram -, không sinh bào tử, có một tiên mao (hoặc một chùm) ở một đầu. Chúng thường sinh ra sắc tố.

* *Corynebacterium*: Không sinh bào tử, hình dạng và kích thước thay đổi khá nhiều. Khi nhuộm màu tế bào thường tạo thành các đoạn nhỏ bắt màu khác nhau. Trục khuẩn bạch cầu bắt màu ở hai đầu làm tế bào có hình dạng giống quả tạ.

* *Clostridium*: Thường là trục khuẩn Gram +, sinh bào tử. Kích thước vào khoảng (0,4 - 1) x (3 - 8) μm , chiều ngang của bào tử thường lớn hơn chiều ngang của tế bào, do đó làm tế bào có hình thoi hay dùi trống. Chúng thường thuộc loại kỵ khí bắt buộc. Có nhiều loài có ích, thí dụ như loài cố định nitơ, một số loài khác gây bệnh như vi khuẩn uốn ván...

1.1.1.3. *Phẩy khuẩn*

Phẩy khuẩn là tên chung chỉ các vi khuẩn hình que uốn cong giống như dấu phẩy. Giống điển hình là giống *Vibrio*. Một số giống phẩy khuẩn có khả năng phân giải xenlulo hoặc có khả năng khử sunfat.

1.1.1.4. *Xoắn khuẩn*

Xoắn khuẩn có hình cong, xoắn, gồm tất cả các vi khuẩn có hai vòng xoắn trở lên. Là loại Gram +, di động được nhờ có một hay nhiều tiên mao. Đa số chúng thuộc loại hoại sinh, một số rất ít có khả năng gây bệnh (*Sp. minus*). Kích thước thay đổi (0,5 - 3,0) x (5 - 40) μm .

1.1.2. **Cấu tạo tế bào**

1.1.2.1. *Vỏ nhày và lớp dịch nhày (Giáp mạc)*

Nhiều loài vi khuẩn được bao bọc phía ngoài một lớp vỏ nhày hoặc một lớp dịch nhày. Vỏ nhày gồm có hai loại:

- Vỏ nhày lớn: Có chiều dày khoảng 0,2 μm . Vì thế có thể thấy được qua kính hiển vi thường.
- Vỏ nhày nhỏ: Có kích thước nhỏ hơn 0,1 μm . Muốn thấy rõ phải dùng kính hiển vi có độ phóng đại hàng ngàn lần.

Thành phần hóa học của vỏ nhày thay đổi tùy loài vi khuẩn. Trong phần lớn các trường hợp chúng được cấu tạo chủ yếu bằng các hợp chất hydratcacbon phức tạp. Cũng có khi chúng còn chứa cả nitơ. Vỏ nhày chứa đến 98% nước.

1.1.2.2. *Thành tế bào*

Phía trong lớp vỏ nhày là lớp thành tế bào. Thành tế bào có kích thước khác nhau tùy loài. Nói chung vi khuẩn Gram + có thành tế bào dày hơn, thường khoảng (14 - 18) nm (1 nanomet = 10^{-9} m). Trọng lượng có thể chiếm tới 10 - 20% trọng lượng chất khô của tế bào. Vi khuẩn Gram - có thành tế bào mỏng hơn khoảng 10 nm.

1.1.2.3. *Màng nguyên sinh chất*

Dưới thành tế bào là màng nguyên sinh chất. Màng nguyên sinh chất thường dày 50 - 100 A^0 (1 ăngxtron = 10^{-10} m) và chiếm khoảng 10 - 15% trọng lượng chất khô của tế bào.

1.1.2.4. *Tế bào chất*

Đây là thành phần chính của tế bào vi khuẩn. Nó là khối keo bán lỏng chứa 80 - 90% nước. Thành phần chủ yếu là phức chất lipoprotein. Thể keo của tế bào chất khác với thể keo khác là chúng có tính chất dị thể (các keo có bản chất và kích thước khác nhau phân tán trong tế bào chất). Thường tế bào còn non thì tế bào chất đồng nhất chúng bắt màu giống nhau khi nhuộm màu. Khi tế bào già do xuất hiện không bào và các thể vùi làm tế bào chất có dạng lổn nhổn.

1.1.2.5. *Nhân tế bào vi khuẩn*

Thường thuộc dạng nhân phân tán. Nhân không có thành nhân và không có nhân con. Nhân tế bào vi khuẩn chỉ bao gồm thể axit nucleic và protein dạng kiềng bao bọc xung quanh. Đây là nơi tham gia nhiều phản ứng hóa sinh quan trọng và là nơi điều khiển mọi hoạt động sống của tế bào.

1.1.2.6. Riboxom

Đây là cơ quan bao gồm 2 tiểu thể được dính kết tạo thành chuỗi nhỏ axit nucleic (ARN) và chúng là nơi sản xuất cho tế bào protein và các chất hoạt động sinh học. Trong riboxom có 40 - 60% là ARN và 60 - 40% là protein.

1.1.2.7. Tiên mao và khả năng di động của vi khuẩn

Ở một số vi khuẩn có khả năng phát triển một hoặc nhiều sợi nhỏ phía ngoài tế bào, người ta gọi chúng là tiên mao. Tiên mao làm nhiệm vụ giúp tế bào vi khuẩn chuyển động. Đây là những sợi nguyên sinh chất rất mảnh có chiều rộng vào khoảng 0,01 - 0,15 μm , chiều dài khoảng 80 - 90 μm . Tùy số lượng và vị trí tiên mao mà người ta chia ra những dạng sau:

- * Đơn mao: có một tiên mao thường nằm ở một đầu của vi khuẩn.
- * Hai tiên mao: mỗi tiên mao nằm ở một đầu của vi khuẩn.
- * Chùm tiên mao: có thể có nhiều tiên mao phát triển ở một đầu tế bào. Cũng có thể có nhiều tiên mao phát triển xung quanh tế bào vi khuẩn.

1.1.2.8. Bào tử và sự hình thành bào tử

Trong giai đoạn phát triển một số loài vi khuẩn có khả năng sinh bào tử. Bào tử thường gặp ở 2 giống trực khuẩn Gram + là *Bacillus* và *Clostridium*.

Quá trình tạo bào tử:

Lúc đầu lớp nguyên sinh chất trong tế bào được sử dụng. Tế bào chất và nhân tập trung lại tại một vị trí nhất định trong tế bào. Tế bào chất tiếp tục được cô đặc lại và tạo thành tiền bào tử. Tiền bào tử bắt đầu được bao bọc dần bởi các lớp màng. Tiền bào tử phát triển và trở thành bào tử.

Cấu tạo bào tử:

Ngoài cùng của bào tử là một lớp màng. Dưới lớp màng là vỏ. Các lớp vỏ bào tử có cấu tạo không giống lớp màng tế bào. Vỏ bào tử có nhiều lớp, có tác dụng ngăn chặn sự thẩm thấu của nước và các chất hòa tan trong nước. Dưới lớp vỏ là lớp màng trong bào tử và trong cùng là một khối tế bào chất đồng nhất.

Thường thường mỗi tế bào có một bào tử. Tuy nhiên một số trường hợp có thể có hai hoặc nhiều bào tử. Bào tử của tế bào có thể sắp xếp ở những vị trí khác nhau, có thể ở giữa tế bào, hoặc ở 2 đầu tế bào hoặc ở 1 đầu tế bào.

Nhiệm vụ của bào tử:

- Chúng có khả năng chịu đựng được các điều kiện bất lợi bên ngoài vì thế chúng có khả năng bảo vệ tế bào khỏi tác động của điều kiện bên ngoài.

- Khi gặp điều kiện thuận lợi chúng lại phát triển thành một tế bào mới. Do đó chúng tham gia quá trình duy trì sự sống. Khi bào tử nở thì bào tử sẽ hút nước và bị trương lên, sau đó vỏ của chúng bị phá hủy và bào tử nảy mầm phát triển thành tế bào mới. Quá trình này mất khoảng 5 phút.

1.1.3. Sinh sản của vi khuẩn

Vi khuẩn thường sinh sản theo một số cách sau:

1.1.3.1. Sinh sản vô tính

Sinh sản vô tính là quá trình tự phân đôi tế bào. Lúc đầu phần giữa tế bào dần dần thắt lại, nhân phân ra làm đôi và kết quả là tế bào bị tách thành hai tế bào riêng biệt. Đây là cách sinh sản hết sức nhanh, chỉ trong vài chục phút đã có một thế hệ mới ra đời.

1.1.3.2. Sinh sản hữu tính

Sinh sản hữu tính là quá trình tiếp hợp. Hai tế bào tiếp xúc với nhau, giữa nơi tiếp xúc này xảy ra hiện tượng trao đổi nhân tố di truyền và sau đó tế bào mới lại bắt đầu giai đoạn vô tính.

1.2. Nấm men

1.2.1 Hình thái và kích thước tế bào

Nấm men thuộc thể đơn bào. Chúng phân bố rộng rãi khắp mọi nơi. Đặc biệt chúng có mặt nhiều ở vùng đất trồng nho và những nơi trồng hoa quả. Chúng còn có trong các trái cây chín, nhụy hoa, không khí và cả nơi sản xuất rượu vang.

1.2.1.1. Hình dạng nấm men

Nấm men thường có hình dạng khác nhau. Thường chúng có hình cầu, elip, bầu dục và cả hình dài. Một số loài nấm men có tế bào hình dài nối với nhau thành dạng sợi gọi là khuẩn ty hay khuẩn ty giả. Hình dạng của chúng hầu như không ổn định. Nó phụ thuộc tuổi nấm men và điều kiện nuôi cấy. Ví dụ *Sacch.ceriviseae* có hình bầu dục nếu nó ở môi trường dày và giàu dinh dưỡng. Trong điều kiện yếm khí thì thấy có hình tròn ngược lại trong điều kiện hiếu khí tế bào dài hơn.

1.2.1.2. Kích thước tế bào nấm men

Tế bào nấm men thường có kích thước rất lớn, gấp 5 -10 lần tế bào vi khuẩn. Trung bình có chiều dài 9 -10 μm , chiều rộng 2 - 7 μm , kích thước này cũng thay đổi. Sự không đồng đều thấy ở các loài khác nhau, ở các lứa tuổi khác nhau và trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau.

1.2.2. Cấu tạo tế bào

Tế bào nấm men cũng như nhiều loại tế bào khác được cấu tạo chủ yếu từ các phần cơ bản sau: Thành tế bào, màng nguyên sinh chất, nhân, các cơ quan con khác

1.2.3. Sinh sản của nấm men

1.2.3.1. Sinh sản bằng cách nảy chồi

Đầu tiên hạch dài ra và hạch bắt đầu thắt lại ở chính giữa. Tế bào mẹ bắt đầu phát triển một chồi con. Hạch một phần chuyển vào chồi và một phần ở tế bào mẹ. Đồng thời một phần nguyên sinh chất cũng chuyển sang chồi con. Chồi con lớn dần, khi gần bằng chồi mẹ nó được tách ra sống độc lập. Một tế bào mẹ tạo một lần được một chồi con, cũng có thể một lần tạo được hai hay nhiều chồi con. Sự sắp xếp chồi con trên tế bào cũng không nhất thiết ở một nơi nhất định. Thời gian cần thiết kể từ lúc chồi mới hình thành tới lúc tế bào này phát triển và bắt đầu tạo tế bào mới gọi là chu kỳ phát triển của nấm men.

1.2.3.2. Sinh sản bằng cách phân đôi

Thường gặp ở giống *Shizosaccharomyces*. Lúc đầu tế bào dài ra và từ từ thắt lại ở chính giữa. Nơi thắt này nhỏ dần, nhỏ dần và tới khi đứt hẳn tạo thành 2 tế bào con.

1.2.3.3. Sinh sản bằng bào tử và sự hình thành bào tử

Nhiều loài nấm men có khả năng sinh bào tử. Nấm men thường tạo bào tử sau 5-10 ngày nuôi cấy trong môi trường thạch mạch nha.

Bào tử thường nằm trong những bào tử túi. Bào tử túi thường có hình dạng khác nhau. Túi có thể sinh ra theo một trong ba cách sau:

- a) Tiếp hợp đẳng giao: hai tế bào nấm men giống nhau tiếp hợp với nhau tạo thành.
- b) Tiếp hợp dị giao: do hai tế bào nấm men có hình thái kích thước không giống nhau tiếp hợp với nhau mà tạo thành.
- c) Sinh sản đơn tính: tạo thành bào tử trực tiếp từ tế bào riêng lẻ không thông qua tiếp hợp, bào tử này sau khi gặp điều kiện thuận lợi sẽ phát triển thành tế bào mới. Tế bào này tiếp tục nảy chồi.

1.3. Nấm mốc

1.3.1. Hình thái

Nấm mốc là tên chung chỉ tất cả những vi sinh vật không phải là nấm men cũng không phải là các nấm mũ lớn. Chúng phân bố rộng rãi trong thiên nhiên.

Nấm mốc không phải là loại động vật cũng không phải thực vật. Nó không có diệp lục tố, không có khả năng tự tổng hợp các chất dinh dưỡng cho chính bản thân. Chúng chỉ phát triển được trên những thức ăn có sẵn. Nó là loại sinh vật phát triển thành hình sợi phân nhánh. Những sợi này phát triển thành từng đám chằng chịt người ta gọi là khuẩn ty hay hệ sợi nấm khi phát triển trên môi trường đặc, thường phân ra 2 loại rõ rệt khuẩn ty khí sinh và khuẩn ty dinh dưỡng. Hai loại khuẩn ty này đóng vai trò và nhiệm vụ khác nhau. Khuẩn ty dinh dưỡng làm nhiệm vụ như chiếc rễ của cây xanh, còn khuẩn ty khí sinh lại đóng vai trò sinh sản là chủ yếu.

Nấm mốc không di chuyển được. Nấm mốc hoàn toàn hiếu khí, chúng chỉ phát triển trong điều kiện thoáng khí. So với vi khuẩn, nấm mốc chịu được nhiệt độ và độ axit thấp hơn. Đây là đặc điểm cơ bản cần thiết trong quá trình phân lập nấm mốc. Nấm mốc có nhiều màu sắc khác nhau. Có nấm mốc màu đỏ như loài *Neospora Crassa*, có loài màu đen như *Aspergillus niger*, màu xám như *A.usamii*, màu trắng xám như *Mucor* hay *Rhizopus* và lại có những loài có màu xanh như *Penicillium*.

Về hình thái của khối bào tử cũng có nhiều kiểu khác nhau. Có loài bào tử mọc xung quanh như thể hình chai, tạo thành một khối cân đối, có loại phân nhánh như chiếc chổi, có loài như trái bưởi bị đốt cháy đen vỏ (*Mucor*, *Rhizopus*).

1.3.2. Cấu tạo

Nấm mốc có cấu tạo đặc biệt hoàn toàn khác với vi khuẩn và nấm men. Có loại nấm mốc có vách ngăn, loại không có vách ngăn.

1.3.3. Sinh sản của nấm mốc

1.3.3.1. Sinh sản sinh dưỡng

Theo kiểu này cũng có nhiều kiểu khác nhau:

a) Phát triển bằng khuẩn ty

Từ những đoạn khuẩn sợi nấm riêng rẽ có thể phát triển thành khuẩn ty. Trong lòng khuẩn ty này xuất hiện một hay nhiều tế bào hình cầu có màng dày bao bọc, bên trong có nhiều chất dự trữ. Khi gặp điều kiện thuận lợi khối tròn này tiếp tục phát triển thành những sợi nấm mới.

b) Sinh sản bằng hạch nấm

Hạch nấm là một khối có hình tròn không đều, màu tối. Bên trong là một tổ chức sợi xốp và thường có màu trắng. Hạch nấm có thể giúp cơ thể nấm sống trong những điều kiện khó khăn, khi gặp điều kiện thuận lợi chúng lại phát triển.

1.3.3.2. Sinh sản vô tính

Sinh sản vô tính là hình thức sinh sản chủ yếu bằng bào tử. Các bào tử có thể được tạo thành do sự cắt đoạn của các sợi nấm hoặc bằng cách nảy chồi và đồng thời từ bản thân. Các bào tử này có khả năng nảy chồi sinh ra bào tử tiếp theo. Bào tử có thể tạo thành bằng cách ngăn vách với tế bào ngay khi tế bào mới hình thành thì không có khả năng sinh ra được những bào tử tiếp theo.

Bào tử của nấm mốc có thể là bào tử kín như những loài *Mucor* hay *Rhizopus* cũng có thể là bào tử trần. Phần lớn không có đuôi mà chỉ là một khối hình tròn. Hiện nay người ta phát hiện một số loài nấm mốc sinh bào tử trần (trên bề mặt cá) có 1 hoặc 2 đuôi. Những nấm mốc này bơi lội trong nước và bám vào xác cá, tôm chết, sau đó phát triển thành nấm mốc.

1.3.3.4. Sinh sản hữu tính

a) Đối với nấm mốc trắng sinh bào tử kín (*Mucor, Rhizopus*)

Hai sợi nấm gần nhau đều phình to ra một đoạn ngắn, phát triển dần dần chạm nhau. Mỗi nhánh của sợi nấm kéo dài ra và tiếp tục châu đầu vào nhau, vẫn cách nhau một đoạn ngắn. Rồi hai nhánh này tạo thành một khối xù xì màu nâu nhạt, sau đó biến thành màu đen và trên đó phát triển thành một sợi mới.

b) Đối với các nấm thuộc lớp nấm túi (*Ascomycetes*)

Cơ quan sinh bào tử là những túi bào tử và bào tử được bọc trong đó gọi là bào tử túi. Thường mỗi túi có 8 bào tử.

1.4. Virut

1.4.1. Hình thái và kích thước

Virut có kích thước vô cùng nhỏ bé không thể trông thấy được qua kính hiển vi thường. Chúng không có cấu tạo tế bào, thành phần hóa học chỉ bao gồm protein và axit nucleic. Virut chỉ chứa ADN hoặc ARN. Chúng không có khả năng sinh sản trong môi trường dinh dưỡng tổng hợp. Virut là loài ký sinh nội bào, một số có khả năng tạo thành tinh thể.

Virut có nhiều hình dạng khác nhau, virut của động vật và của vi khuẩn có hình cầu, hình trứng (virut đậu gà), hình hộp vuông hay hình chữ nhật (đậu bò) hay hình tinh trùng (Phazo), hình quả trám hay hình gậy. Virut của thực vật có hình cầu hay hình que (virut đốm lá thuốc lá).

1.4.2. Cấu tạo

Hầu như toàn bộ virut có cấu tạo hết sức đơn giản. Tế bào của chúng chỉ được tạo thành từ vỏ protein và lõi là axit nucleic. Vỏ protein của virut có cấu tạo đặc biệt, các phân tử protein có phân tử lượng 18 000 - 38 000 tập hợp thành một đơn vị mà trong một số trường hợp gọi là capsome. Các đơn vị hình thái ấy lại liên kết với nhau tạo thành vỏ capsit. Có 3 kiểu vỏ là xoắn, khối và hỗn hợp.

1.5. Xạ khuẩn

Xạ khuẩn là loài vi sinh vật đơn bào, phân bố rộng rãi trong thiên nhiên. Có đặc điểm chung như sau:

- Xạ khuẩn có kích thước tương đối nhỏ bé tương đương với kích thước vi khuẩn.
- Nhân của xạ khuẩn cùng loại với nhân của vi khuẩn nghĩa là chưa có nhân phân hóa rõ rệt.
- Màng của xạ khuẩn không chứa xenluloza hay kitin.
- Sự phân chia tế bào của xạ khuẩn theo kiểu amitoz (phân bào vô ty)
- Xạ khuẩn không có giới tính.

Khuẩn ty của xạ khuẩn trông giống khuẩn ty của nấm mốc, phân nhánh và không có vách ngăn. Khuẩn ty của xạ khuẩn mỏng hơn của nấm mốc, đường kính khoảng 0,5 - 1,5 μm (của nấm mốc 5 μm). Khuẩn ty của xạ khuẩn bao gồm nhiều khuẩn ty và tạo thành búi.

Khi xạ khuẩn già chúng thay đổi hình dạng rõ rệt, các sợi ròn hơn và có thể gãy thành từng đoạn có kích thước khác nhau. Ở môi trường rắn, khuẩn lạc của xạ khuẩn có thể bao trùm môi trường. Ở môi trường lỏng chúng tạo thành hình bông và khi già thì tạo kết tủa lắng xuống. Trong môi trường thạch chúng phân hóa thành khuẩn ty cơ chất và khuẩn ty khí sinh. Ở nhiều loài xạ khuẩn, khuẩn ty khí sinh phát triển thành hình phồng xạ tạo thành nhiều vòng tròn đồng tâm. Còn khuẩn ty cơ chất đâm sâu vào môi trường tùy theo từng loài với mức độ khác nhau.

Thành phần hóa học của khuẩn ty cơ chất và khuẩn ty khí sinh không giống nhau. Chỉ có khuẩn ty khí sinh mới nhuộm màu còn khuẩn ty cơ chất không nhuộm màu (phụ thuộc thành phần lipit). Khuẩn ty cơ chất không chứa lipit. Ngược lại khuẩn ty khí sinh lại chứa lipit. So với khuẩn ty cơ chất, khuẩn ty khí sinh chứa nhiều axit nucleic và enzym hơn đồng thời hoạt tính các enzym cũng mạnh hơn.

Xạ khuẩn có tính phân nhánh. Đầu tiên trên bề mặt sợi xuất hiện một mấu lồi, sau đó mấu lồi lớn lên thành chồi. Chồi được kéo dài ra hình thành sợi rồi từ đó phát triển thành nhánh mới.

Khuẩn lạc của xạ khuẩn thường chắc, xù xì và có dạng dĩa, dạng vôi, dạng nhung tơ hay dạng màng dẻo. Kích thước khuẩn lạc thay đổi theo từng loài và từng điều kiện cụ thể. Xạ khuẩn có thể tạo thành khuẩn lạc với những màu sắc khác nhau như màu đỏ, màu da cam, màu vàng lam, hồng, nâu, tím. Khuẩn lạc có 3 lớp, lớp ngoài gồm các sợi bện chặt nhau, lớp trong tương đối xốp hơn, còn lớp giữa có cấu trúc tổ ong.

1.6. Vi tảo

Vi tảo là tảo hiển vi có sắc tố quang hợp. Vi tảo đơn giản nhất là cơ thể đơn bào. Có thể có tiên mao như *Chlamydomonas*, *Peridinium* và *Euglena* (tảo mắt), hoặc không có tiên mao như *Chlorella* (tảo lục), *Diatomat* (tảo cát). Các vi tảo thường gặp hơn là những cơ thể đa bào hoặc tập hợp đơn bào, như các tập đoàn *Volvox*, *Pediastrum*, *Scenedesmus* thuộc nhóm *Archethalle*. Phức tạp hơn có bộ phận bám dính và bộ phận dựng đứng như các sợi mảnh phân nhánh hoặc không (có thể có vách ngăn tạo thành các tế bào tương đối độc lập hoặc không có vách ngăn như một ống cộng bào). Những tảo này sinh sản bằng cách chia tế bào ở giữa hoặc bằng cách rụng tế bào ở đầu cùng (*Sphacelaria*, *Ectocarpus*...). Sự sinh sản hữu tính của chúng bằng tiếp hợp đẳng giao (hai giao tử bằng nhau) hoặc dị giao (hai giao tử khác nhau).

1.7. Động vật đơn bào

Toàn bộ động vật được chia thành hai mức độ tổ chức: Động vật đơn bào (*Protozoa*) và động vật đa bào (*Metazoa*), theo phân giới truyền thống thì đó là hai giới phụ: *Subkingdom*. Động vật đơn bào (đôi khi người ta gộp vào nhóm này cả những động vật hiển vi dạng sợi nhiều nhân) là những cơ thể đơn bào nhân chuẩn, thường dinh dưỡng hữu cơ, một số nhỏ quang dưỡng. Những động vật đơn bào đầu tiên đã được *Leeuwenhoek A.V.* phát hiện từ thế kỷ 17, nhưng được *Joblot L.* và nhiều tác giả khác nghiên cứu vào thế kỷ 18.

Theo hệ thống phân loại hiện nay thì động vật đơn bào gồm các nhóm trình bày trong bảng 1.1.

Bảng 1.1: Một số nhóm động vật đơn bào và tính chất của chúng

Nhóm	Tính chất đặc trưng	Nơi sống	Ví dụ
<i>Mastigophora</i>	Một hoặc nhiều tiên mao, tế bào có thể chia dọc.	Nước ngọt, kí sinh trên động vật	<i>Trypanosoma, Giardia, Leishmania</i>
<i>Sarcodina</i>	Dạng <i>Amip</i> , giả túc, không có tiên mao, chia đôi	Nước ngọt và mặn, kí sinh trên động vật	<i>Amoeba, Entamoeba</i>
<i>Sporozoa</i>	Thường bất động, một số có thể trườn bò, chia đôi, kí sinh động vật, sâu bọ	Kí sinh sơ cấp trên động vật chân đốt, tác nhân truyền bệnh kí sinh	<i>plasmodium</i> (gây bệnh sốt rét con <i>Malaria</i>) <i>Toxoplasma</i>
<i>Cnidospora</i>	Hình thành chuỗi bào tử nhờ sợi phình to ra và cắt khúc	Kí sinh trên động vật có xương và không xương	<i>Nosema</i> gây bệnh tâm gai (<i>Pöbrina</i>)

Bảng 1.2: So sánh một số tính chất của nhóm vi sinh vật

Tính chất	Vi khuẩn	Nấm	Tảo	Động vật đơn bào	Ghi chú
Loại tế bào	nhân sơ	nhân chuẩn	nhân chuẩn	nhân chuẩn	
Kiểu dinh dưỡng	hóa dị dưỡng (một số quang dưỡng)	hóa dị dưỡng hữu cơ	quang tự dưỡng	hóa dị dưỡng hữu cơ	tính chất của số đông
Đa bào, đơn bào	đơn bào	đa bào (trừ nấm men)	một số đơn bào và một số đa bào	đơn bào	
Cách sắp xếp tế bào	riêng lẻ, một số hình thành tập hợp	đơn bào, sợi không vách ngăn (cộng bào - <i>Coenocystic</i>) và sợi có vách ngăn	đơn bào tập hợp sợi và bắt đầu hình thành mô	riêng lẻ, tập hợp	
Phương pháp thu nhận thức ăn	hấp thụ	hấp thụ	quang hợp, hấp thụ	hấp thụ, thực bào	tính chất số đông
Tính chất đặc trưng	phân bào vô tơ (trực phân)	bào tử hữu tính và vô tính	sắc tố quang hợp và sắc tố hỗ trợ	chuyển động	
Thành tế bào	Murein	hemixelluloza và kitin	xelluloza	không có hoặc lipoproteit	
pH tối ưu	6,5 - 7,5	3,8 - 5,6	gần trung tính	trung tính	tính chất số đông
Nhu cầu O₂	kị khí đến hiếu khí	hiếu khí	hiếu khí	hiếu khí	tính chất số đông

Chất dự trữ chính	các loại polysacarit	glucogen	tinh bột	glucogen và nhiều loại polysacarit	
Số loài hiện biết	4 000	80 000 (tất cả giới nấm)	15 000 (chỉ tính tảo đơn bào)	30 000 (chỉ tính động vật đơn bào)	

CHƯƠNG 2: CÁC QUÁ TRÌNH SINH LÝ CỦA VI SINH VẬT

2.1. Quá trình dinh dưỡng của vi sinh vật

2.1.1. Thành phần hóa học của vi sinh vật

- Các loài vi sinh vật khác nhau có thành phần hóa học khác nhau. Ngay cả trong cùng một loài vi sinh vật, các cá thể khác nhau thành phần hóa học của chúng cũng khác nhau.
- Biểu hiện sự khác nhau ở lứa tuổi nuôi cấy hay chu kỳ sống khác nhau, ở tế bào non khác tế bào già.
- Điều kiện nuôi cấy khác nhau, trạng thái hô hấp, nhiệt độ, pH, thành phần môi trường nuôi cấy khác nhau dẫn tới thành phần chất khác đi.

Thành phần hóa học chung của vi sinh vật được biểu hiện như sau:

Thành phần cơ bản trong tế bào vi sinh vật là nước. Nước chiếm 75 - 85% so với trọng lượng chung, còn lại chất khô không quá 15 - 25%. Các chất khoáng chiếm từ 2 - 14% trọng lượng khô, còn lại là chất hữu cơ.

Các chất hữu cơ cũng khác nhau rõ rệt: trung bình cacbon chiếm 46 - 50%, ôxy 30%, nitơ 7 - 14%, hydro 6 - 8% trọng lượng chất khô. Các nguyên tố tro đáng kể nhất là photpho, đôi khi chúng chiếm 1/2 toàn bộ chất tro trong tế bào. Sau đó đến kali, magiê, natri, lưu huỳnh, canxi, clo, sắt.

2.1.2. Yêu cầu về thành phần dinh dưỡng của vi sinh vật

Môi trường dinh dưỡng của vi sinh vật bao gồm nhiều thành phần dinh dưỡng cần thiết khác nhau. Thành phần các chất tùy thuộc nhu cầu của từng loài, từng yêu cầu nghiên cứu. Thí dụ có loài cần nhiều glucit nhưng lại cần ít protit. Có loài cần ít glucit mà lại cần nhiều protit. Có loài trong quá trình phát triển của chúng không thể thiếu chất kích thích sinh trưởng.

Nhìn chung các nguyên tố không thể thiếu trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật là C, H, O, N. Ngoài ra chúng còn cần thêm nguyên tố S và P, một số nguyên tố vi lượng như Fe, Cu, Mg, Mn, Zn, K, Ca, Cl, Bo, I. Vì thế trong thành phần dinh dưỡng không thể cung cấp đơn thuần một số chất nào đó hoặc một nhóm nguyên tố nào đó mà phải đảm bảo đầy đủ thành phần tối thiểu các chất. Thông thường cần cung cấp các chất cơ bản sau:

2.1.2.1. Nitơ

Vi sinh vật cần nitơ ở nhiều dạng khác nhau. Một số loài có khả năng nhận nitơ từ không khí nên không cần cung cấp nitơ trong quá trình nuôi cấy, còn đa số vi sinh vật trong thiên nhiên không có khả năng này. Nguồn nitơ có 2 dạng:

* Nguồn nitơ hữu cơ: Có thể cung cấp protit hoặc axit amin. Protit khi cho vào môi trường, vi sinh vật không đồng hóa được ngay mà cần phải thủy phân thành các peptit ngắn và axit amin. Vi sinh vật chỉ có thể đồng hóa được polypeptit không quá 5 axit amin.

Phần lớn các loài vi sinh vật không có khả năng đồng hóa D axit amin. Các axit amin dạng D thường gây độc hại cho tế bào. Trong các nhóm vi sinh vật chỉ có nấm mốc là chứa enzym Raxemaza, enzym này có khả năng chuyển hóa axit amin dạng D sang dạng L để đồng hóa.

* Nguồn nitơ vô cơ: Bao gồm các loại muối amôn, urê, muối nitrat. Các loại này thích hợp với các loại tảo, nấm mốc, xạ khuẩn, không thích hợp với nấm men và vi khuẩn. Loài vi sinh vật nào có khả năng hấp thụ nitơ không khí thì người ta chỉ cần cung cấp không khí vào môi trường nuôi cấy.

2.1.2.2. Cacbon

Vi sinh vật cần cacbon để làm bộ xương tổng hợp các chất khác nhau trong cơ thể. Nguồn cacbon được tổng hợp từ các nhóm chất cơ bản sau:

* Từ các chất hữu cơ có nguồn gốc gluxit. Thí dụ như các loại đường và các loại bột. Vi sinh vật đồng hóa được cả dạng D của đường. Điều lưu ý là các loại đường khi thanh trùng ở nhiệt độ cao thường dễ bị caramen hóa và làm chua môi trường.

* Từ các axit hữu cơ như axit lactic, xitric, tactric.

Các hợp chất chứa nhiều nhóm metyl ($-CH_3$), metylen ($-CH_2$) vi sinh vật đồng hóa kém hơn.

Vi sinh vật có khả năng sử dụng cả CO_2 để làm khung cacbon cho nó. Đối với các hợp chất có phân tử lớn như tinh bột, xenluloza,... muốn đồng hóa được, vi sinh vật phải chuyển chúng thành đường nhờ các enzym tương ứng.

Nồng độ thích hợp để nuôi vi khuẩn và xạ khuẩn là 0,05 - 0,2%, với nấm mốc và nấm men là 3 - 15%.

2.1.2.3. Chất khoáng và các chất sinh trưởng

Các chất khoáng cần với số lượng rất nhỏ. Tuy số lượng cần ít nhưng các chất khoáng lại rất quan trọng vì chúng giữ pH môi trường ổn định, tham gia vào các coenzim (như sắt, đồng, kẽm, mangan, magie...).

Bảng 2.1: Nhu cầu muối khoáng đối với một số vi sinh vật

Loại muối khoáng	Nồng độ cần thiết	
	Đối với vi khuẩn	Đối với nấm và xạ khuẩn
K_2HPO_4	0,2 - 0,5	1 - 2
KH_2PO_4	0,2 - 0,5	1 - 2
$MgSO_4.7H_2O$	0,1 - 0,2	0,2 - 0,5
$MnSO_4.7H_2O$	0,005 - 0,01	0,02 - 0,1
$FeSO_4.7H_2O$	0,005 - 0,01	0,05 - 0,2
Na_2SO_4	0,001 - 0,005	0,01 - 0,02
$ZnSO_4.7H_2O$		0,02 - 0,03
$CoCl_2$	0,03	0,06
$CaCl_2$	0,01 - 0,03	0,02 - 0,1
$CaSO_4.5H_2O$	0,001 - 0,005	0,001 - 0,05

Riêng các chất kích thích sinh trưởng, người ta quan tâm nhiều đến biotin khi nuôi cấy nấm men và nuôi cấy các chủng tạo axit amin.

2.2. Quá trình hô hấp của vi sinh vật

Quá trình hô hấp là một biểu hiện cơ bản của sự sống. Nhờ có hô hấp mà sinh vật mới phát triển và sinh sản được.

Hô hấp là một quá trình hết sức phức tạp, nó xảy ra theo hai chiều hướng. Xảy ra trong điều kiện có ôxy và không có ôxy, vì vậy người ta phân ra làm 2 loại: hô hấp yếm khí và hô hấp hiếu khí

2.3. Phân loại vi sinh vật theo kiểu hô hấp

Tùy theo kiểu hô hấp các loài vi sinh vật có những đặc tính khác nhau. Dựa vào mối quan hệ với ôxy người ta chia ra những nhóm vi sinh vật sau:

2.3.1. Nhóm vi sinh vật hiếu khí

Bao gồm nấm mốc, tảo và một số vi khuẩn. Các loài vi sinh vật này trong quá trình phát triển chúng cần phải được cung cấp oxy. Lượng oxy cần thiết tùy loài vi sinh vật hoặc ở những thời kỳ sinh trưởng khác nhau. Có loài cần nhiều oxy, có loài trong khi phát triển cần oxy ở thời kỳ còn non bằng nhu cầu oxy ở giai đoạn già, lại có loài cần nhiều ở giai đoạn trưởng thành. Tất cả đều phụ thuộc vào hệ enzym oxy hóa khử của chúng.

2.3.2. Nhóm vi sinh vật yếm khí

Bao gồm những vi sinh vật phát triển không cần sự có mặt của oxy không khí như *Clostridium*. Quá trình chuyển hóa các chất trong điều kiện yếm khí gọi là quá trình lên men. Qua quá trình lên men hydro tách ra cơ chất được chuyển tới chất nhận cuối cùng là chất hữu cơ.

Lên men là một quá trình oxy hóa khử sinh học nghĩa là oxy hóa khử có enzym xúc tác, vì thế mà quá trình lên men là quá trình có thể điều hòa được. Mặt khác lên men là một quá trình trao đổi chất, qua đó cung cấp năng lượng và nguyên liệu để tạo nên các cấu tử của tế bào. Trong trao đổi chất, một số chu trình phản ứng có vai trò hết sức quan trọng, đặc biệt là chu trình Embden-Meyerhof-Pasnas và chu trình Krebs.

Mặt khác chúng ta thấy các chất khí chuyển hóa theo chu trình Krebs thì năng lượng được chuyển hóa hoàn toàn. Ngoài năng lượng được chuyển hóa ra qua chu trình Krebs bộ xương cacbon cũng được giải phóng để làm nguyên liệu cho quá trình tổng hợp sau này.

2.3.3. Nhóm vi sinh vật Hiếu khí tùy tiện

Ngoài 2 nhóm trên còn có một nhóm vi sinh vật trong điều kiện có hoặc không có không khí cũng phát triển được. Thuộc nhóm này điển hình là nấm men. Trong điều kiện có không khí chúng sẽ chuyển hóa để cung cấp năng lượng và bộ xương cacbon để xây dựng cơ thể và phát triển nhanh hơn. Trong điều kiện không có oxy thì xảy ra hiện tượng lên men để chuyển đường thành rượu và các sản phẩm khác và bvaanx phát triển được nhưng tốc độ chậm hơn nhiều trong điều kiện có dù oxi không khí.

2.3.4. Nhóm vi sinh vật yếm khí tùy tiện

Ngoài 3 nhóm trên còn có một nhóm vi sinh vật trong điều kiện có hoặc không có không khí cũng phát triển được. Trong điều kiện không có oxi không khí chúng phát triển nhanh hơn. Trong điều kiện có oxy thì vẫn phát triển được nhưng tốc độ chậm hơn nhiều và có khi oxi không khí còn là chất độc đối với nó .

2.3.5 .Nhóm Vi hiếu khí.

Đây là nhóm Vi sinh vật chỉ cần một lượng oxi không khí rất nhỏ cũng đủ cho nó phát triển tốt

Chương 3: ẢNH HƯỞNG CÁC ĐIỀU KIỆN KHÁC NHAU ĐẾN HOẠT ĐỘNG CỦA VI SINH VẬT

Trong quá trình phát triển và sinh sản vi sinh vật chịu tác động của nhiều yếu tố bên ngoài, các yếu tố đó là: các yếu tố lý học, hóa học và sinh học.

3.1. Ảnh hưởng của các yếu tố lý học

3.1.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Mỗi vi sinh vật phát triển trong một khoảng nhiệt độ nhất định. Ngoài khoảng nhiệt độ đó vi sinh vật sẽ bị hạn chế sự phát triển. Trong nhiều tài liệu cho thấy rằng nhiều vi sinh vật có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ dài 18 - 140⁰C. Tùy theo mức độ chịu nhiệt của chúng mà người ta có một số khái niệm như sau:

- Nhiệt độ tối ưu: tại đó vi sinh vật phát triển thuận lợi nhất.
- Nhiệt độ cao nhất: là mức độ giới hạn tối đa. Ở đó vi sinh vật vẫn phát triển nhưng hết sức chậm và yếu. Nếu quá giới hạn đó thì vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt.
- Nhiệt độ thấp nhất: là mức độ nhiệt độ thấp nhất mà vi sinh vật vẫn tồn tại, phát triển rất yếu. Nếu thấp hơn mức độ đó vi sinh vật sẽ bị tiêu diệt.

Phần lớn vi sinh vật gây bệnh phát triển tốt ở nhiệt độ 35 - 37⁰C. Một số nấm men và nấm mốc nuôi cấy trong phòng thí nghiệm phát triển tốt ở 26 - 32⁰C.

Nhiệt độ thường gây cho vi sinh vật những chiều hướng sau:

- Nhiệt độ thấp, thường không gây chết vi sinh vật ngay mà tác động lên khả năng chuyển hóa các hợp chất, làm ức chế hoạt động các enzym, thay đổi khả năng trao đổi chất của chúng. Vì thế ở nhiệt độ thấp vi sinh vật mất khả năng phát triển và sinh sản, thậm chí có thể bị chết. Khả năng gây chết của chúng hết sức từ từ chứ không xảy ra đột ngột như ở nhiệt độ cao. Dựa vào đặc tính này người ta cất giữ thực phẩm, bảo quản giống vi sinh vật ở nhiệt độ thấp.
- Nhiệt độ cao, thường gây chết vi sinh vật một cách nhanh chóng. Đa số vi sinh vật bị chết ở 60 - 80⁰C. Một số khác chết ở nhiệt độ cao hơn. Đặc biệt bào tử có khả năng tồn tại ở nhiệt độ lớn hơn 100⁰C. Nhiệt độ cao thường gây biến tính protit, làm hệ enzym lập tức không hoạt động được, vi sinh vật dễ bị tiêu diệt. Lợi dụng đặc điểm này người ta sử dụng nhiệt độ cao để sấy khô thực phẩm, thanh trùng, khử trùng dụng cụ, môi trường nuôi cấy.

3.1.2. Ảnh hưởng của độ ẩm

Độ ẩm không khí, độ ẩm vật liệu hay độ ẩm môi trường cũng ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển và sinh sản của vi sinh vật. Đa số vi sinh vật phát triển tốt ở độ ẩm môi trường lớn hơn 20%. Nếu hạ thấp độ ẩm sẽ làm rối loạn quá trình sinh lý bình thường của vi sinh vật. Độ ẩm là một trong những yếu tố làm cho vi sinh vật tiếp nhận thức ăn dễ dàng. Nhờ có độ ẩm tốt mà các chất dinh dưỡng dễ thâm nhập vào cơ thể, các hệ enzym thủy phân mới hoạt động được. Nếu độ ẩm quá thấp xảy ra hiện tượng thay đổi trạng thái dẫn tới vi sinh vật không phát triển được. Lợi dụng đặc điểm này người ta tiến hành các phương pháp sấy khô, phơi khô để làm giảm độ ẩm nguyên liệu, làm khô không khí để hạn chế sự phát triển của vi sinh vật hay để những vật liệu cần bảo quản ở nơi khô ráo.

3.1.3. Ảnh hưởng của ánh sáng

Ảnh hưởng của ánh sáng mặt trời chiếu rọi xuống đất, những vi sinh vật phát triển trên bề mặt đất đều bị tiêu diệt trừ những vi khuẩn tự dưỡng quang năng. Thông thường chúng bị tiêu diệt rất nhanh trong vài phút đến vài giờ. Các vi sinh vật gây bệnh thường nhạy cảm với ánh sáng hơn những vi sinh vật gây thối.

Tác dụng chiếu sáng phụ thuộc bước sóng của tia sáng. Bước sóng càng ngắn, khả năng tác dụng quang hóa càng mạnh, càng làm vi sinh vật dễ bị tiêu diệt.

Lợi dụng đặc tính này, người ta thường phơi nắng các dụng cụ cần bảo quản, một mặt làm giảm độ ẩm, một mặt tiêu diệt những vi sinh vật trên bề mặt. Một điều cần chú ý là nhiều người tắm nắng quá lượng, đã làm hệ vi sinh vật trên da bị tiêu diệt lại có tác dụng hại cho sức khỏe.

3.1.4. Ảnh hưởng của tia tử ngoại

Tia tử ngoại có khả năng tiêu diệt vi sinh vật rất nhanh. Chính vì thế mà ngày nay người ta sử dụng tia tử ngoại như một trong những phương thức tiệt trùng trong nghiên cứu hay sản xuất.

3.1.5. Ảnh hưởng của tia phóng xạ, tia Ronghen

Tia phóng xạ và tia Ronghen trong khi chiếu xạ mặc dù trong thời gian rất ngắn cũng đủ làm ức chế và tiêu diệt vi sinh vật. Mặt khác cũng có nhiều vi sinh vật có khả năng bền vững với điều kiện chiếu xạ này.

3.1.6. Ảnh hưởng của chất hòa tan (áp suất)

Nồng độ hòa tan thường gây áp suất thẩm thấu lên màng tế bào vi sinh vật. Ở đây thường xảy ra 2 trường hợp:

- Trường hợp thứ nhất: chất hòa tan trong môi trường quá cao, trong tế bào vi sinh vật xảy ra hiện tượng tách nước ra ngoài môi trường. Vì thế tế bào bị mất nước hay teo (co) nguyên sinh chất. Vì thế làm thay đổi khả năng trao đổi chất của tế bào, làm tế bào dễ bị chết.

- Trường hợp thứ hai: tế bào vi sinh vật có khả năng thích ứng với điều kiện áp suất thẩm thấu ở môi trường thay đổi. Trong điều kiện đó xuất hiện sự tích lũy trong dịch bào những muối khoáng hoặc là những chất hòa tan làm điều hòa áp suất ở trong và ở ngoài tế bào. Đây là hiện tượng tự điều chỉnh áp suất của vi sinh vật. Ứng dụng hiện tượng này người ta muối dưa, cà, rau quả và muối thịt hoặc ngâm đường.

Đa số vi sinh vật gây thối bị ức chế ở nồng độ muối 5 -10%. Vì thế ở nồng độ muối này có khả năng bảo quản một số thực phẩm, trong thực tế người ta dùng nhiều hơn. Thịt thường với nồng độ 30%, dưa chuột 12 - 15%, cá 20%, còn đối với nồng độ đường cao hơn có thể tới 40%. Một số vi sinh vật khác có khả năng tồn tại ở nồng độ 80%.

3.2. Ảnh hưởng của các yếu tố hóa học

Các chất hóa học tác dụng lên vi sinh vật khác nhau hoàn toàn khác nhau.

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ ion hydro (pH)

Phản ứng pH môi trường tác động trực tiếp lên vi sinh vật. Ion hydro nằm trong thành phần môi trường làm thay đổi trạng thái điện tích của thành tế bào. Tùy theo nồng độ của chúng mà làm tăng hay giảm khả năng thẩm thấu của tế bào đối với những ion nhất định. Mặt khác chúng cũng làm ức chế phần nào các enzym có mặt trên thành tế bào.

Sự phát triển của vi sinh vật chịu ảnh hưởng rất nghiêm ngặt đối với pH của môi trường. Đối với vi khuẩn thuận lợi nhất là chúng phát triển trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu. Đối với nấm men và nấm mốc thì phát triển ở môi trường axit yếu. Nếu nồng độ ion hydro trong dung dịch vượt quá mức độ bình thường đối với vi sinh vật nào đó thì sự sống bị ức chế. Sự thay đổi pH môi trường có thể gây ra thay đổi kiểu lên men hay đặc tính lên men. Trong điều kiện phòng thí nghiệm phần lớn chúng ta sử dụng những môi trường có pH đối với vi khuẩn 7 - 7,6; đối với nấm men và nấm mốc 3,0 - 6,0.

Bảng 3.1: Ảnh hưởng pH đối với một số vi sinh vật

Loài vi sinh vật	pH môi trường		
	Độ axit tối thiểu	Tối ưu	Kiềm tối đa
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4	5,8	6,8
<i>Streptococcus lactis</i>	4,0 - 5,1		7,9
<i>Lactobacterinus casei</i>	3,0 - 3,9	–	7,1
<i>E. coli</i>	4,4	6,5 - 7,8	7,8
<i>Clostr.amylobacter</i>	5,7	6,9 - 7,3	
Vi khuẩn gây thối			
<i>Bac.mesentericeus</i>	5,8	6,8	8,5
<i>Clostr.putrifilum</i>	4,2	7,5 - 8,5	9,4
Vi khuẩn cố định đạm			
<i>Aztobacter chrococcum</i>	5,6	6,5 - 7,8	8,8 - 9,2
Vi khuẩn nitrat			
<i>Nitrosomonas</i>	3,9	7,7 - 7,9	9,7
<i>Nitrosobacter</i>	3,9	6,8 - 7,3	13,0
Nấm mốc	1,2	1,7 - 7,7	9,2 - 11,1

Ứng dụng ảnh hưởng của pH, người ta sử dụng trong sản xuất cũng như trong phân lập chọn giống vi sinh vật chủ yếu là tạo điều kiện cho vi sinh vật có lợi phát triển và ức chế hoạt động của các vi sinh vật có hại. Ví dụ: ngâm dấm, dầm dấm đó là một cách bảo quản.

3.2.2. Ảnh hưởng của chất độc, các chất diệt khuẩn

Nhiều chất độc hóa học có khả năng tiêu diệt vi sinh vật. Khả năng tác dụng này có một ý nghĩa rất lớn trong kỹ thuật vi sinh vật học. Cơ chế tác dụng của chúng rất khác nhau, nói chung không đồng nhất, nó phụ thuộc bản chất hóa học của chất diệt vi sinh vật, phụ thuộc từng loài vi khuẩn.

Ví dụ: este, cồn, dung dịch kiềm yếu tác dụng làm tan chất lipoit có trong thành phần tế bào. Muối kim loại nặng, kẽm, axit, foocmalin làm đông tụ protein, làm thay đổi thành phần bào tương của vi sinh vật. Axit nitric, clo, bột clo, permaganat kali, các chất hữu cơ ôxy hóa mạnh có khả năng phá hủy hẳn tế bào vi sinh vật, còn các chất khác như glyxerin, nồng độ đường và nồng độ muối cao gây áp suất thẩm thấu.

Các chất được ứng dụng trong kỹ thuật để tiêu diệt vi sinh vật gọi là chất diệt khuẩn. Hoạt tính diệt khuẩn của các chất hóa học phụ thuộc trước tiên vào cấu tạo, nồng độ chất, thời gian tác dụng của nó đối với vi sinh vật, loại vi sinh vật, thành phần hóa lý của môi trường và nhiệt độ của môi trường đó.

Các chất diệt khuẩn được ứng dụng trong công nghiệp thực phẩm phải đảm bảo các yêu cầu sau:

- Có tác dụng diệt khuẩn mạnh ở nồng độ nhỏ;
- Có khả năng tan trong nước;
- Chất diệt khuẩn không được có mùi, vị và không gây độc hại cho người;
- Bền vững trong bất kỳ điều kiện bảo quản nào;
- Không gây tác dụng phá hủy dụng cụ chứa cũng như thiết bị kỹ thuật.

Đối với vật dụng diệt khuẩn ẩm thì dùng chất hóa học ở dạng dung dịch, huyền phù hay bột, còn chất khí thì dùng dạng khí hoặc hơi. Một số chất hóa học thường dùng để diệt khuẩn được trình bày dưới đây.

a) *Kiểm và muối*

- NaOH 0,1% với pH =10, trong nồng độ này vi sinh vật bị tiêu diệt trong 1 - 2 phút ở nhiệt độ 40°C. Không dùng cho thiết bị bằng nhôm.
- Na₂CO₃ 1% hay 0,5% với nhiệt độ 55°C.

b) *Halogen và các dẫn xuất*

- Clo là chất diệt khuẩn mạnh. Nó có thể sử dụng ở dạng nước hay dạng khí. Tác dụng của chúng lên tế bào dinh dưỡng, lên bào tử không đồng đều. Nồng độ rất nhỏ cũng đủ tiêu diệt vi sinh vật. Khả năng tác dụng của clo lên trực khuẩn đường ruột được trình bày trong bảng 3.2.
- Bột CaOCl₂ là dạng hypoclorit, thường sử dụng với nồng độ 2%.
- Antifocmin: thường sử dụng nhiều trong sản xuất bia. Antifocmin được điều chế từ 3 thành phần bột Cl, Ca(OH)₂, NaOH.

Bảng 3.2: Khả năng tác dụng của clo lên vi sinh vật

Thời gian tương tác (phút)	Lượng vi sinh vật trong 1ml nước phụ thuộc nồng độ Cl (mg/l)			
	0,5	1,0	2,0	4,0
0	1 800 000	1 800 000	180 000	1 800 000
1	13 900	1 940	350	185
2	6 000	970	24	8
5	4 500	640	15	5

c) *Hợp chất kim loại nặng*

Thường sử dụng nhiều là thủy ngân, đồng và bạc. Chúng ở dạng các hợp chất hữu cơ hay vô cơ. Các chất này chủ yếu là làm đông tụ protein của vi sinh vật.

- HgCl₂ thường được sử dụng ở trạng thái dung dịch 1‰. Ở nồng độ này sẽ tiêu diệt hết tế bào dinh dưỡng trong vòng 1 - 30 phút, nồng độ 2‰ tiêu diệt bào tử vi sinh vật.
- Các hợp chất bạc: thường sử dụng nhiều dạng khác nhau. Trong y học người ta sử dụng AgNO₃. Trong công nghiệp thực phẩm người ta sử dụng một số hợp chất khác của bạc với nồng độ 1/10⁹.
- Phenol và những dẫn xuất của chúng: thường sử dụng rất nhiều dẫn xuất khác nhau của phenol như axit cacbolinic (C₆H₅OH) 1%. Ở nồng độ này phần lớn những tế bào dinh dưỡng bị tiêu diệt sau 5 -10 phút. Trong dung dịch 2-5% tiêu diệt nhiều tế bào gây bệnh.

d) *Các chất khí*: rất nhiều chất khí có khả năng tiêu diệt vi sinh vật

- Foocmalin: tác dụng lên các nhóm amin và làm biến tính protit vi sinh vật. Nồng độ 5% tiêu diệt bào tử sau 30 phút; 2% sau 60 phút; 1% sau 2h. Để diệt khuẩn thường sử dụng dung dịch 2% điều chế từ dung dịch 40% foocmalin.
- Ngoài ra người ta còn hay sử dụng SO₂ và một số khí khác trong công nghiệp đồ uống.

3.2.3. Ảnh hưởng của các sản phẩm trao đổi chất

Đồng hóa và dị hóa là 2 quá trình không thể thiếu trong quá trình sinh trưởng và phát triển của mọi loài vi sinh vật. Do quá trình dị hóa mà nhiều sản phẩm trao đổi chất của chúng có tác dụng ngược lại quá trình đồng hóa. Các sản phẩm trao đổi chất thường có tác dụng rất độc hại đối với vi sinh vật. Bình thường các vi sinh vật lấy các chất dinh dưỡng trong môi trường đồng thời thải các chất cặn bã ra xung quanh. Các chất thải này một mặt gây ức chế các quá trình hấp thụ thức ăn của vi sinh vật. Các sản phẩm trao đổi chất bao bọc xung quanh tế bào tạo một lớp làm cho các chất dinh dưỡng không chui được vào trong tế bào. Mặt khác chính các sản phẩm trao đổi chất này gây tác động ức chế sinh tổng hợp các hệ enzym và làm ức chế hoạt động của enzym. Hiểu được tác dụng này cần phải cải tiến các phương pháp nuôi

vi sinh vật để thu sinh khối mà các sản phẩm trao đổi chất ít gây độc đối với vi sinh vật. Các biện pháp đó có thể là:

- Khuấy trộn: làm cho các thành phần trao đổi chất không bám xung quanh tế bào, không ức chế hoạt động của vi sinh vật.
- Thổi khí cũng có tác dụng tương tự, đồng thời đẩy nhanh các chất khí độc hại ra khỏi môi trường.
- Tiến hành nuôi cấy liên tục làm thay đổi thành phần môi trường nuôi cấy, làm giảm nồng độ các chất thải của vi sinh vật trong môi trường.

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố sinh học

Ngoài tác dụng của các yếu tố bên ngoài, bản thân giữa các vi sinh vật cũng có tác dụng qua lại. Sự tác dụng này xảy ra muôn hình muôn vẻ, từ đó tạo ra các mối liên hệ.

3.3.1. Quan hệ cộng sinh

Quan hệ cộng sinh là hiện tượng trong cùng một môi trường có 2 hay nhiều cá thể của 2 hay nhiều loài cùng sinh trưởng, cùng phát triển, cùng sinh sản mà không gây ảnh hưởng xấu lẫn nhau. Ví dụ: Vi khuẩn họ đậu, nấm men và vi khuẩn lactic. Vi khuẩn lactic làm axit hóa môi trường tạo điều kiện thuận lợi cho nấm men phát triển. Nấm men phát triển làm giàu các chất trong môi trường cho vi khuẩn phát triển, trong các chất đó đáng lưu ý nhất là vitamin và các hợp chất chứa nitơ.

3.3.2. Quan hệ đối kháng

Quan hệ đối kháng là hiện tượng mà trong cùng một điều kiện môi trường có một loài vi sinh vật này trong quá trình sinh trưởng và phát triển lấn át loài khác, tiêu diệt loài khác. Ví dụ một số vi sinh vật tạo thành chất kháng sinh tiêu diệt loài khác.

3.3.3. Quan hệ kí sinh

Quan hệ kí sinh là mối quan hệ giữa 2 cơ thể sống, một loài này sống bám vào loài khác. Loài này phát triển lên sẽ làm loài kia bị tiêu diệt. Ví dụ như virus đối với các sinh vật khác, thực khuẩn thể, virus của động vật và thực vật.

Chương 4 : SỰ PHÂN BỐ VI SINH VẬT TRONG THIÊN NHIÊN

4.1. Hệ vi sinh vật không khí

Bản thân không khí không phải là môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển. Sở dĩ như vậy vì:

- Thứ nhất: Không khí rất nghèo chất dinh dưỡng, các chất có trong không khí không thích hợp cho vi sinh vật phát triển. Một mặt do thành phần các chất đó không đầy đủ cho sự phát triển của vi sinh vật, mặt khác các chất này có khi còn là chất độc đối với vi sinh vật nữa.
- Thứ hai: Không khí luôn bị ánh sáng mặt trời chiếu sáng. Trong ánh sáng có nhiều tia sáng có khả năng tiêu diệt vi sinh vật, vì thế lượng vi sinh vật bị tiêu diệt cũng nhiều.
- Thứ ba: Độ ẩm trong không khí thay đổi luôn luôn. Phần lớn độ ẩm này không đủ đảm bảo cho vi sinh vật phát triển.

Trong không khí ở đâu ta cũng thấy nhiều vi sinh vật, cả tế bào vi sinh vật, cả bào tử vi sinh vật. Sở dĩ trong không khí có nhiều vi sinh vật khác nhau vì vi sinh vật không khí có nhiều nguồn gốc khác nhau. Trong đó vi sinh vật được đưa vào chủ yếu từ đất do cát bụi tung lên; do hoạt động sống của con người và động vật; do hoạt động chiến tranh vi trùng... Ngoài ra còn phụ thuộc nhiều nguyên nhân khác nữa như núi lửa, thác lũ tung bọt nước vào không khí, hoạt động động đất, sản xuất công nghiệp, nông nghiệp...

Trong không khí người ta thấy có bào tử nấm mốc, tế bào nấm men, bào tử và tế bào vi khuẩn. Số lượng chủng loại hoàn toàn không giống nhau trong những địa phương và mùa khác nhau. Tất cả những điều này phụ thuộc các yếu tố sau:

4.1.1. Khí hậu trong năm

Thường vào mùa đông, lượng vi sinh vật hầu như ít nhất so với các mùa khác trong năm. Ngược lại lượng vi sinh vật nhiều nhất vào mùa hè. Có lẽ do độ ẩm không khí, nhiệt độ cao, gió mưa, do các hoạt động khác của thiên nhiên. Theo kết quả nghiên cứu của Omelansku lượng vi sinh vật trong các mùa thay đổi như sau (số lượng trung bình trong 10 năm)

Bảng 4.1. Lượng vi sinh vật trong 1m³ không khí

Mùa	Vi khuẩn	Nấm mốc
Mùa đông	4305	1345
Mùa xuân	8080	2275
Mùa hè	9845	2500
Mùa thu	5665	2185

Ngoài sự phụ thuộc khí hậu các mùa, số lượng vi sinh vật còn phụ thuộc mưa và các yếu tố khác. Trong mùa hè gió nhiều thì vi sinh vật trong không khí càng lắm. Ngược lại nếu gió càng ít thì lượng vi sinh vật thấy càng ít. Lượng vi sinh vật khi có mưa bao giờ cũng nhiều hơn sau khi trời tạnh. Vì trong thời gian mưa hạt mưa cuốn theo vi sinh vật rơi xuống đất làm không khí trở nên hoàn toàn trong sạch cả về bụi và về lượng vi sinh vật.

4.1.2. Vùng địa lý

- Lượng vi sinh vật gần khu quốc lộ có nhiều xe qua lại bao giờ cũng nhiều vi sinh vật trong không khí hơn vùng nơi khác.

- Không khí vùng núi và vùng biển bao giờ cũng ít vi sinh vật hơn vùng khác. Đặc biệt trong không khí ngoài biển lượng vi sinh vật rất ít.

- Ngoài ra nó còn phụ thuộc chiều cao lớp không khí. Không khí càng cao so với mặt đất, lượng vi sinh vật càng ít. Kết quả nghiên cứu được chỉ rõ trong bảng 4.2.

Bảng 4.2. Lượng vi sinh vật trong một lít không khí

Độ cao (m)	Lượng tế bào
500	2,3
1000	1,5
2000	0,5
5000 - 7000	Lượng vi sinh vật ít hơn 3 - 4 lần

4.1.3. Hoạt động sống của con người

Con người và động vật là một trong những nguyên nhân gây nạn ô nhiễm không khí. Ví dụ như trong giao thông, vận tải, trong chăn nuôi, trong sản xuất công nông nghiệp, do bệnh tật hoặc do các hoạt động khác của con người và động vật mà lượng vi sinh vật tăng hay giảm.

Bảng 4.3 là kết quả thí nghiệm tại một nhà máy bánh mì thấy rằng lượng vi sinh vật trong 1 m³ không khí

Bảng 4.3. Lượng VSV trong các phân xưởng SX khác nhau

Phân xưởng	Nấm mốc	Vi khuẩn
Bột	4250	2450
Nhào bột	700	360
Lên men	650	810
Nuôi nấm men	410	720
Tạo hình	830	1160
Nướng bánh	750	950
Bảo quản	2370	1410

Kết quả chung cho thấy khu vực sản xuất khác nhau cho thấy lượng vi sinh vật trong không khí cũng khác nhau.

Bảng 4.4. Lượng vi sinh vật có trong 1 m³ không khí ở các vùng khác nhau

Nơi lấy mẫu	Lượng vi sinh vật
Nơi chăn nuôi	1 000 000 - 2 000 000
Khu cư xá	20 000
Đường phố	5 000
Công viên trong thành phố	200
Ngoài biển	1 - 2

4.1.4. Vấn đề chống nhiễm vi sinh vật

- Các sản phẩm thực phẩm hoặc các vật liệu dễ nhiễm phải hạn chế hoặc tuyệt đối (nếu có thể) cách li với không khí. Các dây chuyền sản xuất thực phẩm càng được cơ giới hóa kín càng tốt.

- Trong phòng chế biến và bảo quản phải làm cho không khí thoáng bằng cách thông gió, hút bụi.

- Trong nuôi cấy hiếu khí phải thổi khí vô trùng bằng cách cho không khí qua bộ lọc khí, qua bông hoặc permanganat kali, hoặc qua đèn tử ngoại

- Tránh tiếp xúc với người bệnh vì vi sinh vật có thể qua hô hấp.

4.2. Hệ vi sinh vật đất

Khác với không khí, đất là môi trường thuận lợi cho hầu hết các vi sinh vật phát triển.

- a) Đất chứa đủ các chất dinh dưỡng như nguồn nitơ, cacbon, vi lượng, độ ẩm và pH thích hợp. Ngoài ra hàm lượng các chất dinh dưỡng lại được làm giàu thêm khi xác động thực vật rơi xuống. Vì thế mà vi sinh vật sinh sản và phát triển nhanh chóng trong đất.
- b) Các tia phóng xạ qua lớp không khí xuống, đất sẽ hấp thụ trên bề mặt chúng. Các tia phóng xạ không còn tác dụng hủy diệt tế bào vi sinh vật, vì thế vi sinh vật phát triển không bị tác nhân vật lý này gây cản trở.
- c) Độ ẩm trong đất đủ đảm bảo cho vi sinh vật phát triển. Nước trong đất hòa tan nhiều chất dinh dưỡng có lợi cho vi sinh vật phát triển.

Nói chung lượng vi sinh vật trong đất không đồng đều ở những khu vực khác nhau, chiều dày đất khác nhau. Có nơi thấy nhiều vi sinh vật, có nơi thấy ít vi sinh vật. Mặt khác số lượng loài hay thành phần vi sinh vật cũng không đồng đều, có nơi chỉ thấy phát triển nhiều nấm men, có nơi thấy phát triển nhiều vi khuẩn và ngay trong nhóm vi khuẩn có nơi phát triển nhiều loài hoại sinh, loài gây bệnh, nơi khác lại thấy ít.

Trong đất thường gặp các loài như *B.mycoides*, *B.subtilis*, *B.mensentricus*, *Cl.sporogenes*, *Cl.putrin*, *Cl.perfringenes*, *Micrococcus albus*. Có nhiều loài vi khuẩn tham gia chuyển hóa nitơ trong thiên nhiên, nhiều loài gây bệnh. Ngoài ra ở các vùng trồng nho, trồng cây ăn quả thấy nhiều nấm mốc, nấm men.

Số lượng và thành phần vi sinh vật trong đất thay đổi khá nhiều. Trước hết số lượng và thành phần vi sinh vật trên bề mặt đất rất ít do ngay trên bề mặt đất độ ẩm không phải là thích hợp cho vi sinh vật phát triển, hơn nữa bề mặt đất lại bị mặt trời chiếu rọi nên vi sinh vật dễ bị tiêu diệt.

Số lượng và thành phần vi sinh vật thấy nhiều hơn khi chiều sâu đất 10 - 20 cm so với bề mặt. Ở tầng lớp này độ ẩm vừa thích hợp, các chất dinh dưỡng tích lũy nhiều, không bị tác dụng của ánh sáng mặt trời nên vi sinh vật phát triển nhanh. Các quá trình chuyển hóa quan trọng trong đất chủ yếu xảy ra trong tầng đất này. Số lượng và thành phần vi sinh vật sẽ giảm đi khi độ sâu của đất hơn 30 cm và sâu 4 - 5m hầu như rất ít (trừ trường hợp đất đó có mạch nước ngầm). Rõ ràng là vi sinh vật ở tầng đất này phải là loài yếm khí đồng thời phải chịu được áp suất lớn mới phát triển được. Mặt khác do ở lớp đất này hầu như các chất hữu cơ rất hiếm.

Bảng 4.5. Lượng vi khuẩn trong đất xác định theo chiều sâu đất

Chiều sâu đất (cm)	Vi khuẩn	Xạ khuẩn	Nấm mốc	Rong tảo
3 - 8	9 750 000	2 080 000	119 000	25 000
20 - 25	2 179 000	245 000	50 000	5 000
35 - 40	570 000	49 000	14 000	500
65 - 75	11 000	5 000	6 000	100
135 - 145	1 400	—	3 000	—

Số lượng và thành phần vi sinh vật trong đất còn thay đổi tùy theo chất đất. Ở nơi đất nhiều chất hữu cơ, giàu chất mùn có độ ẩm thích hợp vi sinh vật phát triển mạnh. Ví dụ ở đầm lầy, đồng nước trũng, ao hồ, khúc sông chết, cống rãnh,... Còn ở những nơi đất có đá, đất có cát số lượng và thành phần vi sinh vật ít hơn. Lợi dụng sự có mặt của vi sinh vật trong đất mà người ta phân lập, tuyển chọn, đồng thời duy trì những chuyển hóa có lợi phục vụ cho cuộc sống.

4.3. Hệ vi sinh vật nước

Nước nguyên chất không phải là nguồn môi trường thuận lợi cho vi sinh vật phát triển. Vì nước nguyên chất không phải là môi trường giàu dinh dưỡng. Trong nước có nhiều chất hữu cơ và muối khoáng khác nhau hòa tan. Những chất hòa tan này rất thuận lợi cho vi sinh vật sinh trưởng và phát triển.

Vi sinh vật trong nước được đưa từ nhiều nguồn khác nhau:

- Từ đất do bụi bay lên, nguồn nước này chủ yếu bị nhiễm vi sinh vật trên bề mặt.
- Từ nước mưa sau khi chảy qua những vùng đất khác nhau cuốn theo nhiều vi sinh vật nơi nước chảy qua.
- Từ nước ngầm hoặc nguồn nước khác qua những nơi nhiễm bẩn nghiêm trọng.

Số lượng và thành phần vi sinh vật thấy trong nước mang đặc trưng vùng đất bị nhiễm mà nước chảy qua.

4.3.1. Hệ vi sinh vật các nguồn nước

a) Nước phun hay nước máy

Loại nước này hầu như được giải phóng hoàn toàn vi sinh vật do quá trình xử lý sơ bộ trước khi sử dụng. Lượng vi sinh vật chỉ tăng khi đường ống hỏng hay đường ống lâu ngày không tu sửa, rong rêu phát triển.

b) Nước mạch

Loại nước này chứa rất ít vi sinh vật, vì khi chúng chảy qua nhiều lớp đất cát đóng vai trò như một màng lọc, lọc các chất bẩn và vi sinh vật.

c) Nước khí quyển (nước mưa)

Thường chứa rất ít vi sinh vật. Lượng vi sinh vật nhiều ở lớp nước mưa và tuyết đầu tiên, càng về sau lượng vi sinh vật càng ít dần.

d) Bểng: Là loại nước chứa ít vi sinh vật, hầu như vô trùng.

e) Nước bề mặt (hồ, sông, biển)

Vi sinh vật nhiễm vào các loại nước ao, hồ, sông, biển có thể do bụi đưa vào, do nước chảy từ những nơi khác đến, cũng có thể do bản thân nước chứa nhiều chất hữu cơ mà vi sinh vật tham gia phân hủy và phát triển làm ô nhiễm nước.

f) Nước ao hồ (nước không lưu thông)

Nước ao hồ thường chứa nhiều vi sinh vật nhất. Ở đây gặp hầu hết các thành phần vi sinh vật. Chúng tham gia mọi quá trình chuyển hóa trong nước vì thế nước có mùi khó chịu, có màu xấu.

g) Nước sông, biển

Loại nước này có ít hơn đặc biệt nước biển, hàm lượng vi sinh vật không nhiều, vì bản thân nước biển có chứa hàm lượng muối đáng kể đủ ức chế một số vi sinh vật khác phát triển. Mặt khác không khí trên biển cũng rất ít vi sinh vật nên ít khả năng nhiễm vi sinh vật từ không khí.

4.3.2 Yêu cầu nước dùng

Nước không thể thiếu được trong hoạt động sống của tất cả mọi loài. Nước được sử dụng với nhiều mục đích khác nhau, đáng kể nhất là dùng trong công nghiệp chế biến và nước dùng trong sinh hoạt. Vì thế nước phải đảm bảo một số yêu cầu sau:

- Không chứa vi sinh vật gây bệnh
- Lượng vi sinh vật chung không quá 100 khuẩn lạc/ml

- Phải có chỉ số coli và chuẩn độ coli xác định. Nếu có coli tức là nguồn nước này bị nhiễm phải có biện pháp khắc phục.

Người ta xét chất lượng nước theo chỉ số coli (là số trực khuẩn coli có trong 1 lít nước)

Bảng 4.6. Chất lượng nước

Loại nước	Tổng số vi sinh vật hiếu khí/1ml		Chỉ số coli		Kết luận
	VN	Nga	VN	Nga	
Đã sát trùng	100	= 100	< 20		Dùng được
	>100		> 20		Tạm dùng
Nước chưa sát trùng	1000	= 1000	100	= 10	Không dùng
	100 -1000		20 -1000		Dùng được
	1000		1000		Tạm dùng

4.3.3. Những phương pháp làm sạch nước

a) Phương pháp hóa học và cơ học, kết tủa

- Xây các bể dài khác nhau, cho nước chảy với tốc độ vừa phải. Nước chảy chậm, trọng lượng hạt lớn lắng xuống đáy, các hạt này có theo vi sinh vật. Phương pháp này cũng làm giảm 75% vi sinh vật.

- Làm keo tụ: dùng một số chất làm keo tụ các thành phần trong nước lại tạo huyền phù kết tủa xuống đáy sau 6 giờ. Phương pháp này làm giảm 90% vi sinh vật.

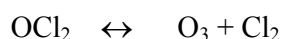
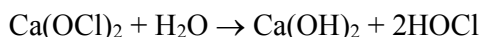
- Lọc: qua các màng cát, đường kính cát khoảng 0,35 - 0,55 mm, độ dày lớp cát 0,7m. Qua 10 tới 12 phút thì vi sinh vật sẽ được giữ lại tạo thành váng.

- Dùng các hợp chất Clo: CaOCl₂, Ca(OCl)₂, Pitchclo, Percloron, NaOCl, Clo lỏng. Thường xảy ra 2 trường hợp:

1. Nếu gặp môi trường nước có pH axit chúng sẽ bị phân tích thành oxy tự do.

2. Khi nước có pH kiềm hoặc trung tính chúng sẽ phân tích thành oxy tự do và HOCl

HOCl là chất không bền vững, chúng lại bị phân tích thành các sản phẩm sau:



Ozon và Clo sẽ tác dụng trực tiếp lên bào tương vi sinh vật và sẽ tiêu diệt chúng. Sự tác dụng đó có hạn chế ở chỗ là chúng chỉ tác dụng lên cơ quan hữu tính mà không tác dụng lên cơ quan bào tử vi sinh vật, vì thế nước khi xử lý bằng Clo không được hoàn toàn vô trùng mà còn bào tử vi sinh vật.

Tùy loại nước mà người ta cho hàm lượng clo nhiều hay ít, trung bình khoảng 0,2 - 0,3 mg/l, thời gian tiếp xúc khoảng 2giờ.

Đặc điểm nữa là tác dụng clo lên vi sinh vật phụ thuộc nhiều vào pH nước. Nếu là kiềm thì sẽ giảm tác dụng rõ rệt vì thế nếu pH = 8 - 10 thì cho 0,4mg/l; pH >10 cho trên 0,8mg/l.

Clo có thể bị mất tác dụng nếu có khả năng tương tác với thành phần vô cơ và hữu cơ có trong nước, vì thế cần làm sạch cơ học trước.

b) Xử lý bằng tia tử ngoại

Phương pháp này có ưu điểm là không làm mất tính chất của nước, không tạo mùi vị lạ, tiêu diệt hoàn toàn vi sinh vật kể cả tế bào hữu tính và bào tử của chúng.

Tia tử ngoại thường có bước sóng 3300 - 4000 Å^o và tác động sinh học là 2000 - 2900 Å^o. Đặc biệt chúng có khả năng tiêu diệt mạnh nhất ở bước sóng 2537 Å^o. Thường người ta cho nước chảy từ trên xuống theo hình xoắn xung quanh đèn tử ngoại. Ngoài ra người ta còn dùng sóng siêu âm để làm sạch nước.

Chương 5: VI SINH VẬT TRONG ĐỜI SỐNG CON NGƯỜI VÀ CÁC LOẠI NHIỄM ĐỘC THỰC PHẨM DO VI SINH VẬT

5.1. Vi sinh vật trong đời sống con người

Phần lớn vi sinh vật đóng góp đáng kể trong cộng đồng thế giới nhằm đảm bảo cân bằng sinh thái cho cơ thể sống và các hóa chất cho môi trường. Các loại vi sinh vật trong sông, biển, ao, hồ... giúp phân hủy các hợp chất hữu cơ thải ra từ các hoạt động sống, từ các hoạt động công nghiệp cũng như từ các dây chuyền sản xuất thực phẩm. Các vi sinh vật của đất giúp phân hủy rác thải và tham gia quá trình cố định nitơ từ không khí tạo nên các hợp chất hữu cơ để hoàn trả lại các chất hóa học cho đất, nước và không khí. Một số loại vi sinh vật và tảo đóng vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp và quá trình tái tạo lại thức ăn và oxy, điều này rất quan trọng cho cuộc sống trên trái đất. Loài người và động vật sống phụ thuộc vào lượng vi khuẩn trong đường ruột, bởi chúng giúp cho quá trình tiêu hóa thức ăn và tổng hợp nên một số vitamin cần thiết cho quá trình trao đổi chất và tạo nên vitamin K cho quá trình đông máu.

Người ta áp dụng vi sinh vật rất nhiều trong lĩnh vực công nghiệp. Vi sinh vật được sử dụng tổng hợp nên các sản phẩm hóa học công nghiệp như axeton, các axit hữu cơ, các enzym, các loại rượu và nhiều loại thuốc. Trong công nghiệp thực phẩm thường sử dụng vi sinh vật trong các quá trình sản xuất dấm, rau quả muối chua, dưa góp, nước uống có rượu, nước mắm, nước chấm, bánh mì, bơ sữa chua, phomat, mì chính, rượu vang v.v...

Ngày nay, người ta còn ứng dụng vi sinh vật trong công nghệ di truyền tạo ra các giống vi sinh vật có khả năng tổng hợp nên các chất có khả năng điều trị bệnh quan trọng như: insulin, hocmôn sinh trưởng và các chất kích thích.

5.2. Tác hại của vi sinh vật

Mặc dù số loài vi sinh vật gây bệnh không nhiều bằng số loài vi sinh vật có lợi, nhưng trên hiệu biết thực tế thì sự gây hại của chúng cũng rất to lớn.

Chúng ta biết rằng vi sinh vật có ở hầu hết mọi nơi. Từ xa xưa khi chưa có kính hiển vi, các nhà khoa học chưa hiểu biết nhiều về vi sinh vật, đã có hàng triệu người chết do mắc bệnh dịch lây truyền mà không biết nguyên nhân, sự hư hỏng thực phẩm không được kiểm tra thường xuyên, không có vacxin hay thuốc kháng sinh chống nhiễm bệnh.

Ngày nay các nhà khoa học đã nghiên cứu và điều chế được các loại vacxin phòng chống nhiễm nhiều bệnh bảo vệ có hiệu quả cho con người, vật nuôi và bảo quản thực phẩm.

5.3. Nhiễm độc từ thực phẩm và nhiễm độc tố từ vi sinh vật

Quá trình nhiễm độc từ thực phẩm là do các loại vi sinh vật nhiễm tạp vào thực phẩm gây độc cho người sử dụng thực phẩm đó. Khi một loại vi sinh vật gây bệnh phát triển trên cơ thể chủ nó tạo ra các độc tố tương ứng. Các loại bệnh tật gây ra do cơ chế này thường gây ngộ độc đường ruột, sốt cao, tiêu chảy, kiết lị ... Cơ chế khác gây nhiễm độc do vi sinh vật tạo độc tố lên thực phẩm trong quá trình phát triển bao gồm một số loại bệnh: độc thịt, than, thương hàn, phó thương hàn, ung thư, độc tố vi nấm..

Các loại nhiễm độc thực phẩm chính trình bày ở bảng 5.1 và 5.2

Bảng 5.1. Các loại nhiễm độc thực phẩm do vi khuẩn và độc tố hay gặp

Tác nhân gây độc hại độc tố vi nấm và vi khuẩn	Một số loại thực phẩm nhiễm	Triệu chứng lâm sàng	Thời gian bắt đầu ủ bệnh	Biện pháp ngăn chặn
Aflatoxin	Các loại hạt ngũ cốc bị mốc, đặc biệt là lạc, đậu	Lượng nhỏ gây ung thư gan; lượng lớn gây tổn thương gan nặng	Tác động gây ung thư ngay khi bị nhiễm một lượng ban đầu xác định và tác động lên cả động vật	Loại bỏ không sử dụng
-Nhiễm khuẩn <i>Bacillus cereus</i>	- Sữa, kem trứng; -Các loại thực phẩm từ bột ngũ cốc như bánh mì, bánh bao...	Co thắt, bị chuột rút, nôn mửa, tiêu chảy	Mắc bệnh: sau 8-16 giờ Kéo dài: hơn 1 ngày	Bảo quản lạnh
-Bệnh Botulism bại liệt, độc thịt	Các loại thực phẩm đóng hộp	Cứng họng, khó nuốt, nhìn mờ ảo, tê liệt bộ máy hô hấp	Mắc bệnh: sau 2 giờ ăn Kéo dài: hàng tuần	Quy trình đóng chai phải vô trùng, đun sôi kỹ trước khi ăn uống
Ciguatera	Khi có loại độc tố chất tích tụ	Ngứa ngứa, phát ban; người khó chịu, sốt cao, khó thở	Mắc bệnh: sau 2 giờ Kéo dài: tới 2 tuần	Không ăn và chế biến loại cá vùng nhiệt đới bị nhiễm
Ergotism	Các loại hạt bị mốc	Đau thắt vùng bụng; gây ảo giác	Mắc bệnh: sau 1 - 2 giờ Kéo dài: hàng tháng	Loại bỏ
Ngộ độc methyl, thủy ngân	Các loại cá nước ngọt và nước mặn	Kéo màng ở mắt, nhìn mờ ảo, tê liệt, ngớ ngẩn, hôn mê	Mắc bệnh: sau 1 tuần Kéo dài: có thể bị bệnh kinh niên	Không thải chất chảy vào nguồn nước
Ngộ độc nấm ăn	Loài Amanita	Nôn mửa, hoại thư gan, ngộ độc thần kinh	Mắc bệnh: sau 1 ngày Kéo dài: tới 10 ngày	Không ăn loại nấm độc
Ngộ độc các loài nhuyễn thể	Các loài nhuyễn thể vùng thủy triều lên màu đỏ	Khó chịu, ngứa ngứa, sốt phát ban, khó thở	Mắc bệnh: sau 1 giờ Kéo dài: tới 12 giờ	Không ăn các loại nhuyễn thể vùng thủy triều đỏ
Ngộ độc Scombroid ở cá biển	Hợp chất giống histamine do loại vi khuẩn Proteus phát triển trong một số loại cá như cá thu,	Đau đầu, co gân, viêm thanh quản, viêm ruột	Sau vài phút đến 1 giờ	Bảo quản lạnh cá ăn

Ngộ độc do vi khuẩn <i>Staphylococcus</i>	cá ngừ Thực phẩm có áp suất thẩm thấu cao, không nấu kỹ trước khi ăn	Buồn nôn, nôn mửa, tiêu chảy	Mắc bệnh: khoảng 1 ngày Kéo dài: 1-3 ngày	Bảo quản lạnh thực phẩm
----------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------	------------------------------	----------------------------------------------	-------------------------

Bảng 5.2. Nhiễm độc do nấm mốc

Hội chứng chủ yếu	Nấm gây bệnh	Cơ chất	Độc tố	Động vật cảm thụ
Bệnh độc tố gan	<i>Aspergillus flavus</i>	Hạt có dầu và khô dầu, hạt, bột,...	Các aflatoxin	Lợn, trâu bò, ngựa, cừu, vịt con, gà tây, ngỗng, trĩ, gà giò, chó, khỉ, người.
Bệnh độc tố thận	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>Penicillium viridicatum</i>	Lạc, gạo, hạt, ngô, đại mạch, lúa mì, cỏ lùng	Xitrinin	Lợn, người
Xuất huyết	<i>Fusarium sporotri chioides</i>	Nước quả, rơm rạ, ngũ cốc, nhất là kê (sau mùa đông)	Fusariogenin	Người
Bệnh độc tố thần kinh	<i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>	Hạt đang ủ mầm, mạch nha, ngũ cốc	Clavaxin	Trâu bò, người, vật nuôi trong nhà

5.4. Kiểm tra chất lượng thực phẩm

5.4.1. Tính chất của vi sinh vật

Hàng ngày chúng ta ăn một lượng lớn vi sinh vật có trong thực phẩm. Thường thì các vi sinh vật là những cơ thể sống không nhìn thấy được bằng mắt thường, kích thước bé hơn 5,0 μm . Một số các vi sinh vật này là vi sinh vật gây bệnh - nguyên nhân gây ra các căn bệnh. Để ngăn chặn các hoạt động của vi sinh vật gây bệnh, trước hết cần phải biết rõ tính chất của chúng ở trong thực phẩm. Các vi sinh vật này có mặt ở khắp mọi nơi và sinh sản rất nhanh, số lượng tăng gấp đôi trong thời gian chưa đến 30 phút trong những điều kiện lý tưởng. Đặc biệt là các vi khuẩn sinh sản rất nhanh trong khoảng 1 giờ số lượng tăng gấp đôi. Một vài nấm mốc số lượng cũng tăng nhanh trong nhiều giờ.

Thực phẩm con người ăn là môi trường đặc biệt cho các vi sinh vật nói chung. Cũng như con người các vi sinh vật cũng có sự ưu tiên đối với thực phẩm không nhiễm tạp một dạng duy nhất. Vấn đề đặt ra là hạn chế sự sinh trưởng của vi sinh vật trong thực phẩm như thế nào? Nói thì đơn giản nhưng để thực hiện được điều đó thì rất khó: đó là thực hiện bằng cách ngăn chặn sự có mặt của chúng và phá hủy chúng trước khi tiêu thụ thực phẩm. Có 5 phương pháp hạn chế sự có mặt của vi sinh vật ở trong thực phẩm đó là dựa vào nhiệt độ, độ ẩm, pH, chất ức chế hóa học và áp suất. Kiểm tra nhiệt độ là phương pháp được sử dụng nhiều nhất. Chính vì lý do đó mà các thực phẩm dễ hư hỏng được bảo quản ở nhiệt độ thấp, thường là 4⁰C. Xung quanh nhiệt độ 4⁰C, nhiều vi khuẩn gây bệnh vẫn sinh sản phát triển được nhưng với tốc độ chậm hơn. Một cách chắc chắn để ngăn chặn sự sinh sản của vi sinh vật là giảm nhiệt độ của thực phẩm đến dưới điểm lạnh đông (-18⁰C). Trong điều kiện này vi sinh vật ngừng phát triển nhưng vẫn sống sót. Các vi khuẩn Gram + khả năng chống chịu tốt hơn so

với vi khuẩn Gram –. Ngược lại, các loại giun và các động vật nguyên sinh bị phá hủy khi tiến hành lạnh đông hoàn toàn thực phẩm.

Các vi sinh vật thường bị phá hủy bởi nhiệt nhất là nhiệt độ cao trên 60°C. Chính điều này thường được sử dụng để loại bỏ các vi sinh vật nhiễm tạp (ví dụ như thanh trùng sữa bằng phương pháp Pasteur). Cũng có những vi sinh vật sinh sản bào tử chống lại nhiệt độ đó là các giống: *Clostridium botulinum*, *Cl.Perfingens* và *Bacillus cereus*. Một vài vi khuẩn như *Staphylococcus aureus* và *Listeria monocytogens* cơ thể chỉ bị thương nhẹ mà không bị phá hủy bởi nhiệt hay quá trình lạnh đông. Các vi sinh vật này rất khó phát hiện thấy. Các vi khuẩn này hình thành bào tử nên cũng khó biến đổi với các phương pháp trên.

Độ ẩm của thực phẩm được biểu hiện bởi hoạt độ của nước (A_w). Các vi sinh vật ưa nước và thực phẩm chứa nhiều nước $0 < A_w < 1$ ($A_w = 1$ khi nước nguyên chất, tinh khiết) phần lớn các vi sinh vật đòi hỏi $A_w = 0,95$ cao cho sự sinh sản phát triển. Một vài vi khuẩn chịu đựng được $A_w = 0,9$ và cũng có những trường hợp ngoại lệ (ví dụ như $A_w = 0,83$ đối với *S. aureus*). Các loại nấm mốc cũng rất thích hợp với độ ẩm nhưng phần lớn chịu đựng được độ ẩm khá thấp ví dụ như một vài loài có thể sinh sản ở $A_w = 0,60$.

Xác định pH cũng là một cách để kiểm tra. Phần lớn các vi sinh vật không sinh sản trong các thực phẩm có môi trường axit mà $pH = 4 - 4,5$.

Nhiều vi sinh vật không sống sót được trong các thực phẩm chứa nhiều muối hay đường saccharoza. Ngược lại việc ức chế này cũng đưa ra những lợi thế cho các vi sinh vật tận dụng thời cơ chịu đựng được các điều kiện khắc nghiệt này. Ví dụ như *Salmonella* sống tốt trong những thực phẩm khô như sôcôla và sữa bột, *Staphylococcus aureus* có thể sinh sản tốt trong các thực phẩm ướp muối như phomát và jambon, nấm mốc sinh sản được trong các thực phẩm có môi trường axit như các loại hoa quả...

Việc sử dụng chất ức chế hóa học là có lợi nhưng chỉ có thể áp dụng trong một loại thực phẩm. Nhiều trường hợp sử dụng để ngăn chặn một cách chọn lọc sự sinh sản của vi sinh vật gây bệnh như *Clostridium botulinum* (sử dụng $NaNO_2$) hay chống lại nấm mốc. Sự có mặt hay không của không khí cũng gây thuận lợi hay khó khăn cho một vài vi sinh vật. Phần lớn chúng được kiểm tra ở công nghệ bao gói bằng cách giảm lượng O_2 trong bao bì và thêm các khí khác vào. Sử dụng vi sinh vật cũng có thể loại bỏ được vi sinh vật gây bệnh, ví dụ như vi khuẩn Gram – đặc biệt là *Salmonella choleraesuis* rất nhạy cảm với tia phóng xạ.

Tuy nhiên còn có nhiều phương pháp gây ức chế và phá hủy các vi sinh vật mà với phạm vi cuốn sách này chúng tôi không giới thiệu ở đây.

5.4.2. Tầm nghiêm trọng của nhiễm độc vi sinh vật

Sự nhiễm độc gây ra bởi vi sinh vật được coi là quan trọng nhất, kể đến là ô nhiễm cá hóa chất độc hại có trong thực phẩm hay ô nhiễm từ ngoài vào thực phẩm

Theo thông báo của Cục Quản lý chất lượng vệ sinh an toàn Thực phẩm - Bộ Y tế về tình hình ngộ độc thực phẩm cho biết trong năm 1999 có 327 vụ, năm 2000 có 213 vụ, trong 6 tháng đầu năm 2001 đã có 167 vụ. Số người mắc tương ứng là 7576, 4233 và 2482, trong đó số người chết là 71, 59 và 47. Nguyên nhân do vi sinh vật là 32,8 - 48,3%, do thực phẩm ô nhiễm hóa học 11 - 17,4%, do chất độc tự nhiên trong thực phẩm 6,4 - 34,1%, chủ yếu do ăn cá nóc, nấm độc. Ngoài ra có 12 - 34% vụ ngộ độc không xác định được nguyên nhân.

Từ năm 1997 - 2000 tình hình 5 bệnh chủ yếu do thực phẩm ô nhiễm gây ra như sau:

Bảng 5.3 Bệnh chủ yếu do ô nhiễm VSV vào Thực phẩm

	Bệnh					Tổng cộng
	Tả	Thương hàn	Lỵ trực	Lỵ Amip	Tiêu chảy	
Số mắc	605	66 776	193 750	142 833	3 833 216	4 287 180
Số chết	4	59	28	3	116	213

5.4.3. Nguồn gốc nhiễm bệnh

Phần lớn nơi xảy ra ngộ độc là các nhà ăn tập thể, tiệc cưới, liên hoan bữa ăn tại gia đình, trong đó có 5% gây bởi sản phẩm thực phẩm sản xuất công nghiệp.

Các nguyên nhân gây bệnh chủ yếu sau:

1. Việc làm lạnh không tốt các sản phẩm thực phẩm
2. Việc tiêu thụ sản phẩm tươi sống
3. Thực phẩm quá thời hạn bảo quản
4. Nhiễm từ tay người bệnh
5. Thực phẩm chưa chín hoàn toàn
6. Sử dụng các nguyên liệu đã bị nhiễm bẩn
7. Thiết bị làm việc không đảm bảo vệ sinh
8. Sử dụng các thiết bị đã bị nhiễm bẩn.

Những vấn đề này rất nghiêm trọng đối với các nước đang phát triển vì ở đây thiếu điều kiện vệ sinh với trang thiết bị cũ kỹ, thiếu nước sạch

Các vi sinh vật gây bệnh trước hết do nhiễm từ môi trường, sau đó từ con người và các loài động vật. Chủ yếu do các nguyên nhân sau đây:

1. Từ phân người và động vật
2. Từ nước mũi và nước miếng của người mang mầm bệnh
3. Từ tay người đã mắc bệnh
4. Từ đất, bùn, nước bề mặt
5. Từ nước biển . . .

5.4.4. Căn bệnh

Con đường xâm nhập dễ nhất của vi sinh vật gây bệnh là qua ăn uống. Chúng có thể lây truyền từ chính thực phẩm, từ tay người bệnh hoặc từ phân người.

Chúng ta phân biệt 2 kiểu bệnh: nhiễm trùng và nhiễm độc. Khi nhiễm trùng, những vi sinh vật sống (ví dụ Virut viêm gan A) theo đường máu và chiếm cứ một số cơ quan. Khi với một sự nhiễm độc, độc tố được tạo thành từ trước trong thực phẩm và được tiêu thụ trực tiếp mà không đủ số vi sinh vật cần thiết (ví dụ *Staphylococcus aureus*) hoặc là vi sinh vật tạo các độc tố trong ruột không chiếm giữ các mô (ví dụ *Clotridium perfringens*).

Mỗi hiểm nguy đối với sức khỏe từ các vi sinh vật (có khả năng chống chọi, dính bám, kháng thể và sinh độc tố) là rất cao. Đặc biệt đối với trẻ em và người già thì bệnh càng nặng hơn bởi vì trong dạ dày ít axit hơn. Những chất lỏng như nước, sữa chảy qua ruột non tương đối nhanh nên chúng ít bị ảnh hưởng bởi độ axit trong dạ dày. Vi sinh vật cũng có thể được bảo vệ bởi chính thực phẩm đó (ví dụ các chất béo) để chống lại axit của dạ dày, ví dụ *Salmonella* bị nhiễm từ sôcôla hay *Listeria monocitogenes* từ phomat, bột mịn vẫn có thể sống sót. Với những người bị suy yếu hệ thống miễn dịch, vi sinh vật càng dễ xâm nhiễm và sinh sản nhanh chóng, do vấn đề vệ sinh sức khỏe. Hơn nữa bệnh tiêu chảy của những người du lịch là rất nghiêm trọng những người ở các nước công nghiệp khi họ đến các nước nhiệt đới, ở đó vi khuẩn luôn luôn có nhiều (bảng V.4).

Liều lượng vi khuẩn trung bình có thể gây bệnh cho người tùy thuộc vào loài vi khuẩn. Có sự liên hệ giữa vi sinh vật, độ axit của dạ dày và liều lượng gây bệnh. Với lượng vi khuẩn

lớn, liều lượng nguy hiểm là rất cao khoảng 10^6 tế bào, có nghĩa là nhiễm trùng, nhiễm độc tố giả định bỏ qua nhiều trong thao tác sản xuất thực phẩm.

Sự kéo dài của căn bệnh cũng khác nhau (bảng 5.1) xuất phát từ thời điểm xuất hiện triệu chứng chính ví dụ những nguyên nhân do ký sinh trùng (virus, nguyên sinh động vật, bọ) thường kéo dài hơn các loài vi sinh vật khác. Nguyên nhân chủ yếu gây bệnh viêm màng ruột thường do nhiễm vi sinh vật từ thực phẩm. Nó không nghiêm trọng và chỉ kéo dài vài ngày. Người ta ước tính có khoảng 1/2 số người bị tiêu chảy là do nhiễm vi sinh vật có trong thực phẩm. Trái lại, một số bệnh rất nghiêm trọng trên hết là những bệnh do độc tố tạo ra rất cao (ví dụ *Clostridium botulinum* và *Alexandrium spp*) hay khi vi sinh vật lây lan sang các cơ quan khác ngoài ruột (ví dụ *Listeria monocytogenes* và *E.coli O157:H7*). Một số vi sinh vật (ví dụ *Giardia lamblia* và *Trichinella spp*) gây bệnh rất khó chữa mà không hề có triệu chứng. Đối với phần lớn vi sinh vật gây bệnh trong thực phẩm, triệu chứng bệnh biến đổi nhanh sau vài ngày hay vài giờ, điều đó có nghĩa là nhiều trường hợp không cần sử dụng thuốc.

Bảng 5.4. Vi sinh vật gây bệnh trong thực phẩm được biết đến như là kẻ lợi dụng và tấn công trẻ em, người trưởng thành đang bị ốm, người già

<u>Vi khuẩn</u> <i>Aeromonas hydrophyla</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Clostridium botulinum</i> <i>E. coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Salmonella spp</i> <i>Shigella spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus spp</i>
<u>Nguyên sinh động vật</u> <i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>

Bảng 5.5. Vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy ở người du lịch

<u>Vi khuẩn</u> <i>Aeromonas hydrophyla</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>E. coli</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Salmonella spp</i> <i>Shigella spp</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<u>Virus</u> <i>Roravirut</i>	<i>Virut Norwalk</i>
<u>Nguyên sinh động vật</u> <i>Cryptosporidium parvum</i> <i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Giardian lamblia</i>

5.4.5. Số vi sinh vật gây nguy hiểm đối với cuộc sống

Số lượng các vi sinh vật gây bệnh là số trường hợp nhiễm độc từ thực phẩm do vi sinh vật rất khó đánh giá. Như là một số vi khuẩn gây bệnh hiếm thường khó nhận dạng qua các phương pháp phân tích, rất khó phân lập hay điều kiện nuôi cấy đặc biệt. Một số vi sinh vật gây bệnh rất nguy hiểm đối với sức khỏe nhưng hiếm khi lây lan bởi thực phẩm hay nước, ví dụ như virus viêm gan A.

Trong phần này, chúng tôi giới thiệu một bảng thống kê hàng năm (bảng 5.6) của Canada về những vi sinh vật gây bệnh thường gặp nhất ở Bắc Mỹ và Canada. Người ta ước

tính tần suất gây nhiễm độc thực phẩm và mức độ nguy hiểm của nó trong cuộc sống. Các vi sinh vật chính đã được ký hiệu bằng những mã (code).

Bảng 5.6. Danh mục vi sinh vật gây bệnh có trong thực phẩm, mức độ nguy hiểm đối với sự sống (% tử vong tùy theo số trường hợp)

Vi sinh vật	Canada	Mỹ	Mức độ nguy hiểm đối với cuộc sống
<i>Vibrio vulnificus</i>		60	⊗⊗⊗
<i>Clostridium botulinum</i>	17	7,5	⊗⊗⊗
<i>Listeria monocytogenes</i>	12,5	21,3	⊗⊗⊗
<i>Toxoplasma gondii</i>		15	⊗⊗⊗
<i>E. coli 0157:H7</i>	7	2	⊗⊗⊗
<i>Salmonella typhi</i>	6	6	⊗⊗⊗
<i>Vibrio spp</i>		1	⊗⊗
<i>Alexandrium spp</i>	1,5	0,7	⊗⊗
<i>Trichinella spp</i>	1	0,9	⊗⊗
<i>Teania spp</i>	1	0,01	⊗⊗
<i>Gambierdiscus toxicus</i>	0,5	0,6	⊗⊗
<i>Brucella spp</i>		0,5	⊗⊗
<i>Virut viêm gan A</i>		0,3	⊗⊗
<i>Shigella spp</i>	0,2	0,125	⊗⊗
<i>Salmonella choeraesuis</i>	0,1	0,1	⊗⊗
<i>E. coli</i>		0,1	⊗⊗
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,1	0,05	⊗⊗
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,08	0,045	⊗
<i>Bacteries diverses</i>	0,05	1	⊗
<i>Clostridium perfringens</i>	0,03	1	⊗
<i>Streptococcus spp</i>		0,03	⊗
<i>Yerinia enterocolitea</i>		0,025	⊗
<i>Bacillus cereus</i>	0,01	0,02	⊗
<i>Nấm mốc và nấm men</i>	0,01	0,02	⊗
<i>Histanines</i>	0,01	0,001	⊗
<i>Giardian lamblia</i>	0,0001	0,001	⊗
<i>Virut Norwalk</i>		0,0001	⊗

1. Tuân theo ký hiệu của Todd (1989) ⊗⊗⊗ rất nguy hiểm, trên 2% tử vong; ⊗⊗ nguy hiểm (0,1 - 2% tử vong); ⊗ nguy hiểm (dưới 0,1% tử vong).
2. Phần trăm dựa trên 50 trường hợp xảy ra so với những trường hợp bệnh có tỷ lệ chết rất ít, 0,001% tử vong.
3. Phần trăm dựa trên 2063 trường hợp xảy ra so với những trường hợp bệnh khác ít xảy ra và chỉ với 0,0001% tử vong.
4. *Vibrio cholerae* và *Vibrio parahaemolyticus*.
5. Họ vi khuẩn *Enterocolitica*.

5.5. Kiểm tra vi sinh vật trong sản phẩm thực phẩm

5.5.1. Lựa chọn các thông số đo lường và các tiêu chuẩn

Trong công nghiệp tự động hóa, người ta chỉ tính đến hiệu quả do đó cần phải tuyển chọn các số liệu phân tích mang đầy đủ các thông tin đóng vai trò chính là các chỉ số chất lượng.

5.5.1.1. Các chỉ số chất lượng vệ sinh

- Tổng số vi sinh vật hiếu khí: lấy 10g thực phẩm, đồng nhất mẫu, pha loãng mỗi mẫu nuôi cấy 3 đậm độ, mỗi đậm độ trên 2 đĩa thạch. Đọc khuẩn lạc sau 48 giờ ở 30°C (chỉ tính kết quả ở những đĩa có dưới 300 khuẩn lạc). Chỉ tiêu này phản ánh độ sạch của thực phẩm cho thấy quá trình sản xuất, xử lý nhiệt đã đủ chưa. Người ta thường phát hiện vi sinh vật gây bệnh trong những trường hợp có tổng số vi sinh vật hiếu khí cao thường là 10^6 - 10^7 tb/g. Trong các thực phẩm nhiễm độc, số lượng vi sinh vật sinh độc tố thường lớn, ít nhất là 10^5 tb/g trừ trường hợp *Salmonella* thì ngưỡng gây độc có thể giảm xuống một vài đơn vị.

- Vi khuẩn đường ruột: người ta có thể dùng chỉ số tổng số vi khuẩn đường ruột, chỉ số vi khuẩn coli hoặc số lượng vi khuẩn coli có trong phân, chính xác hơn là số *E. coli*. Xác định số lượng *Salmonella* cũng cần thiết đối với một vài sản phẩm thực phẩm.

- *Staphylococcus*: vì thực phẩm là môi trường thuận lợi cho sự phát triển của chúng, người ta có thể đếm được số lượng *Staphylococcus* khá dễ dàng.

Bất cứ chỉ số nào trong 3 chỉ số trên đều có thể được sử dụng để đánh giá chính xác mức độ vệ sinh sức khỏe, hay ít ra là để kiểm tra thực tế sản xuất trong điều kiện này thì sự đánh giá số lượng tổng số vi sinh vật hiếu khí là thích hợp nhất cho kiểm tra công nghiệp.

5.5.1.2. Các chỉ số chất lượng cảm quan và khả năng bảo quản

Trong những yếu tố liên quan về thời gian bảo quản thực phẩm, số lượng vi sinh vật tổng số cũng mang lại nhiều thông tin: sự hư hỏng chỉ xuất hiện khi vi sinh vật tổng số lớn từ 10^6 - 10^8 tb/g. Nói chung hệ vi sinh vật tổng số được cấu thành từ tập hợp các vi sinh vật có khả năng gây hư hỏng.

Tuy nhiên sự đánh giá tổng thể hệ vi sinh vật phải được thực hiện trong những điều kiện cho phép đánh giá có hiệu quả số vi sinh vật gây hư hỏng, nghĩa là trong các điều kiện thực tế của thực phẩm. Ví dụ như các thực phẩm được bảo quản lạnh thì sự đánh giá số vi sinh vật psychrotrophe (vi sinh vật ưa lạnh) rất quan trọng, cũng vậy đối với các thực phẩm đã qua xử lý nhiệt và bị hư hỏng do *Clostridium*, hệ vi sinh vật có ý nghĩa là các vi sinh vật mà người ta đếm được trong điều kiện hiếu khí sau khi gia nhiệt ở 80°C trong 10 phút.

5.5.1.3. Các tiêu chuẩn .

Các tiêu chuẩn về vi sinh vật bao gồm các chỉ tiêu, các tiêu chuẩn kỹ thuật, các chỉ định

- Một chỉ tiêu vi sinh vật là qui định có tính quy chế chỉ số vi sinh vật tối đa cho phép của một số loài vi sinh vật với một phương pháp đếm nhất định trong một thực phẩm xác định.

- Một tiêu chuẩn kỹ thuật là một qui định có tính bản chất nhưng được xác định bởi hợp đồng giữa người mua và người bán.

- Một chỉ định là một chỉ dẫn cũng có tính bản chất nhưng không có tính qui chế hợp pháp, không theo hợp đồng và cũng không có tính cưỡng bức như các điều kiện trước. Thường nó là một bước chuẩn bị để xác định một tiêu chuẩn.

- Một giới hạn là một chỉ dẫn cũng có tính bản chất nhưng được xác định để phục vụ sự kinh doanh của xí nghiệp.

5.5.2. Những phương pháp phân tích

Các kỹ thuật cổ điển thường dài dòng và nhàm chán nhưng kết quả không đáp ứng được yêu cầu, chậm tiến vì nguyên tắc cơ bản dựa vào sự đánh giá số vi sinh vật không theo kịp sự thay đổi theo chiều tiến bộ và cơ khí hóa.

Người ta có thể tự hỏi liệu có phương pháp khác nhưng có ý nghĩa hơn không. Thật vậy khả năng một thực phẩm ban đầu rất bổ dưỡng trở nên nguy hiểm hoặc hư hỏng không phụ thuộc vào số lượng vi sinh vật mà là các tính chất khác của vi sinh vật như: tỷ lệ tăng trưởng, tốc độ sinh độc tố, sự phân giải protein cũng như môi trường của chúng.

Vì vậy sự đánh giá về chất lượng thực phẩm có thể dựa vào khả năng tạo sản phẩm của hệ vi sinh vật hoặc thời gian cần thiết để chúng tạo ra sự thay đổi sinh hóa đặc biệt là những thay đổi không có lợi cho việc tiêu thụ sản phẩm.

Phương pháp cổ điển dùng metylen xanh, nhưng sự lựa chọn các thông số đặc trưng cho sự chuyển hóa bất lợi còn quan trọng hơn sự tạo ra nội độc tố ở các vi sinh vật gây bệnh, như tạo ra NH_3 , axeton, hoặc pyruvat, sự thay đổi màu sắc hoặc độ nhớt thể hiện có mầm mống vi sinh vật gây hỏng sản phẩm.

5.5.3. Khai thác các kết quả kiểm tra

Các kết quả phân tích phải được giải thích một cách khách quan nghĩa là đưa ra các chỉ số có thể sử dụng cho những sự so sánh khách quan. Các chỉ số này phải thống nhất với các qui luật về xác xuất, có thể chứa đựng một giả thiết. Hiệu quả trong phân tích định lượng và đo lường có thể được sử dụng để đánh giá khách quan các nguy cơ trong các quyết định cuối cùng, các bước kiểm tra tiếp theo.

Sự đánh giá các nguy cơ này đã được thực hiện, nó còn sử dụng các thông tin phụ để làm tăng độ nhạy và chính xác của phép kiểm tra. Các kết quả kiểm tra phải được so sánh với các giá trị tham chiếu, đó là các yếu tố chủ yếu của kế hoạch kiểm tra.

5.5.3.1. Lựa chọn các giá trị tham chiếu

Vấn đề là thiết lập một quy chế hay kiểm tra chính các điểm tham chiếu phải thoả mãn các điều kiện sau:

* Tính chính xác rõ ràng của các điểm tham chiếu:

- Xác định và mô tả các điều kiện sản xuất và thao tác bằng tay của sản phẩm thực phẩm.
- Việc sử dụng hiệu quả một thao tác chế tạo được xác định bởi các chuyên gia.

* Tính đặc trưng của điểm tham chiếu:

- Lấy mẫu theo một sơ đồ thích hợp và hoàn toàn xác định.

* Tính tin cậy của các điểm tham chiếu:

- Phân tích các mẫu chuẩn bằng các phương pháp chuẩn mà được sử dụng cho các phân tích sau này.

* Tính hiệu lực của các điểm tham chiếu:

Xác định các thông số công hiệu của sự phân bố các phép đo được thực hiện trong các điều kiện trước.

Ở giai đoạn này, sự thiết lập các điều kiện tham chiếu được thể hiện bằng số, tính bằng CFU (Colonie Forming Unit.- Số khuẩn lạc) trên thạch agar được xác định bằng thống kê và thể hiện chỉ số chỉ vượt quá 5 lần trên 10 trong điều kiện thực tế sản xuất tốt.

Trong tình trạng sản xuất và nguy cơ xác định, phụ thuộc vào phương pháp vi sinh vật được sử dụng, đặc biệt chú ý là độ chính xác của nó (các số liệu thu được), tính chính xác (xác định theo kinh nghiệm bằng sự nhiễm tạp nhân tạo) và độ nhạy của nó (có thể phát hiện một số lượng nhỏ trong điều kiện bình thường).

5.5.3.2. Lựa chọn các mức kiểm tra

Tính thực tế của các mục đích kiểm tra đòi hỏi phải so sánh các mục tiêu mang tính thống kê của các điểm tham chiếu trên với các mục tiêu kinh tế, thương mại, vệ sinh, sức khỏe. Tập hợp các mục tiêu này cho phép tối ưu các giới hạn lựa chọn trong phạm vi của kế hoạch lấy mẫu đối với kiểm tra thông thường.

Hệ thống thông thường nhất được xây dựng dựa trên sự đánh giá vi sinh vật tổng số phân loại thành 3 vùng trong đó có 2 giới hạn được xác định. Mô hình dùng cho trường hợp giá trị hệ số $\phi < M$, mức vô hại được xác định theo các quy định về vệ sinh sức khỏe (nồng độ nhiễm khuẩn tối thiểu) hoặc làm theo các quy định thương mại (mức độ tối đa gây hư hỏng hóa lý có thể chấp nhận). Rõ ràng là nếu $\phi > M$ thì không có giá trị nào có thể chấp nhận, sản phẩm không được chấp nhận. Các giới hạn n và N chia đồ thị thành 3 vùng.

- Vùng xanh: sản phẩm chấp nhận được
- Vùng vàng: sản phẩm có thể chấp nhận. Giới hạn có thể chấp nhận được xác định bởi tỷ lệ tối đa có thể chấp nhận các mẫu có chỉ số $> n$.
- Vùng đỏ: sản phẩm có mức độ nguy hiểm cao, chỉ để loại bỏ sự lựa chọn n và N được thiết lập khi xem xét các mục tiêu khác nhau
- Kỹ thuật và thương mại (tính chất của thực phẩm, điều kiện bảo quản, bao gói sản phẩm, phân phối sản phẩm, thời hạn sử dụng).
- Thống kê (các tính chất của sự phân bố các chỉ số nhiễm tạp, hệ số thay đổi của phương pháp phân tích, phương pháp lấy mẫu)
- Vệ sinh sức khỏe và kỹ thuật (khoảng giữa ϕ và M, yếu tố làm tăng mức độ nguy hiểm)

5.5.3.3. Phân tích các dữ liệu

Xem xét các sai số của phép đo và lấy mẫu, so sánh các dữ liệu kiểm tra cho phép quyết định sáng suốt, khách quan: chấp nhận hay loại bỏ một lô sản phẩm.

Với mục đích này người ta xây dựng các chỉ số xuất phát từ sự phân bố các kết quả đo. Ví dụ trong phương pháp DYETT (1970) sắp xếp các mẫu thành 4 vùng dựa vào tính toán một trong các chỉ số này. Các giới hạn n_1, n_2, n_3 được thiết lập theo kinh nghiệm xuất phát từ các điểm tham chiếu đối với các mẫu chuẩn như sau: 75% số mẫu nhỏ hơn n_1 , 95% số mẫu $< n_2$ và 100% số mẫu nhỏ hơn n_3 . Mỗi mẫu được cho điểm theo thang điểm dùng cho phân loại ở bảng 5.6.

Bảng 5.6. Thang điểm dùng cho phân loại nhiễm tạp

	Loại	Điểm 3	Điểm 2	Điểm 1	Điểm 0	Tổng số
Mẫu chuẩn	Số mẫu	75	20	5	0	100
	điểm trọng	225	40	5	0	270
Mẫu kiểm tra	lượng	78	18	3	1	100
		234	36	3	0	273

Tổng số điểm của một mẫu hay trong một loạt mẫu là chỉ số nhiễm tạp.

Tất cả các nguyên tắc của các sơ đồ kiểm tra dựa trên các test không tham số cũng được sử dụng (6 giá trị liên tục của chỉ số nhỏ hơn giá trị chuẩn, 6 sự giảm hay tăng hiệu lực là có ý nghĩa, 7 rất có ý nghĩa). Các test phân tích thường xuyên cho phép xác định chỉ số mức báo động và hành động cùng đóng vai trò với các mức tương đương dựa trên các test tham số

Xác định một chỉ số xuất phát từ những dữ liệu kinh nghiệm đã tạo sự dễ dàng thích ứng với mọi hoàn cảnh. Các giới hạn của các loại phải được kiểm tra lại theo định kỳ để bảo đảm tính hiệu quả cho các chỉ số. Điều này được thực hiện bằng cách gộp các kết quả kiểm tra với mẫu chuẩn hoặc làm lại mẫu chuẩn mới. Việc kiểm tra các mẫu chuẩn rất cần thiết khi chất lượng sản phẩm chỉ rõ số lượng vi sinh vật tăng gần đến giá trị tối đa của nó.

Một chỉ số như vậy làm gia tăng giá trị cho toàn bộ quá trình kiểm tra. Sự không lệ thuộc của quyết định về chất lượng với các mục tiêu kiểm tra làm cho các thông tin được dùng để phát hiện ra các khuynh hướng có ý nghĩa vì vậy còn dùng để kiểm soát sản phẩm.

5.5.4. Phân tích toàn diện

Những hệ thống như vậy có thể áp dụng được cho nhiều điểm sản xuất khác nhau, đáng chú ý là đối với các nguyên liệu đầu, các điểm sản xuất quyết định sản phẩm cuối cùng ở đầu ra dây chuyền hoặc sau một thời gian bảo quản nào đó.

Thông thường cùng một kiểu chỉ số ở nhiều điểm khác nhau cho phép đối chiếu nó theo thời gian, vì vậy dễ dàng phát hiện ra các nguyên nhân của sự bất thường ngẫu nhiên. Điều đó là do nguyên tắc khử với cùng vùng tần suất. Không cần thiết phải lấy mẫu ở các điểm kiểm tra khác nhau.

Các hệ thống này cho phép phát hiện những sự khác biệt khá lớn vẫn còn phải tập hợp các thông tin khác cho phép đưa ra các nguyên nhân của các sai biệt đã ghi nhận được.

5.5.5. Hệ thống HACCP (ICMSF, 1988)

Khái niệm HACCP gần như một hệ thống nhận dạng đánh giá và kiểm soát các nguy cơ, được đề xuất lần đầu tiên vào năm 1971 tại một hội nghị về an toàn và chất lượng thực phẩm ở Mỹ. Hệ thống này mang lại ưu điểm thuận lợi hơn so với hệ thống truyền thống.

Dưới đây trình bày về những nét chính của hệ thống và những ứng dụng của nó đã được giới thiệu trong cuốn sách của ICMSF (1988)

Hệ thống HACCP bao gồm các bước sau:

1. Nhận dạng các nguy hiểm, đánh giá tầm quan trọng của nó và khả năng xảy ra đối với từng giai đoạn sản xuất, chuyển đổi, phân phối và chuẩn bị thực phẩm.

Người ta biết rằng do nguy cơ toàn bộ sự nhiễm tạp không chấp nhận được hay là toàn bộ sự phát triển hoặc sống sót không thể chấp nhận được của vi sinh vật ảnh hưởng đến sự an toàn hay tình trạng hư hỏng cũng như toàn bộ quá trình tạo sản phẩm hoặc kéo dài không thể chấp nhận được của sự chuyển hóa không mong muốn ở vi sinh vật (độc tố, enzym, amin v.v...)

2. Xác định các điểm (vị trí, thao tác, quy trình hay phương pháp thực hiện) ở cấp độ mà từ đó có thể kiểm soát các nguy cơ (Critical control points, CCPs) bởi một tác động thích đáng với một hay nhiều yếu tố nguy hiểm có thể phân biệt 2 kiểu CCPs những điểm mà có thể kiểm soát toàn bộ nguy hiểm và những điểm chỉ có thể giảm đến tối thiểu.

3. Các tính chất kỹ thuật cho biết nếu cấp độ CCPs được xác định thì mỗi nguy hiểm liên quan đến một quá trình xác định sẽ kiểm soát được. Các tính chất này là giới hạn về chuyên môn của các đặc tính có bản chất vật lý (nhiệt độ), hóa học (nồng độ muối) hay sinh học (nồng độ một loài vi sinh vật xác định)

4. Thiết lập và sử dụng các thủ tục cho phép bảo đảm quá trình diễn ra với cấp độ của CCPs đã được kiểm soát.

Các thủ tục này phải được lựa chọn để có các tác động đúng lúc cần thiết, trước hoặc trong quá trình có liên quan

5. Sử dụng toàn bộ tác động thực sự cần thiết khi các kết quả kiểm tra chỉ ra một lỗi cần thiết kiểm soát ở mức độ của một CCPs xác định.

6. Kiểm tra việc sử dụng các thông tin bổ sung thu được để đảm bảo rằng hệ thống HACCP hoạt động hiệu quả.

5.5.6. Kết luận

Thông thường trong các xí nghiệp, hệ thống kiểm tra phải được giảm bớt các khâu kiểm tra theo quy định và tiến đến một hệ thống mà các công tác theo quy định sẽ hạn chế việc kiểm tra bản thân sản phẩm để chuyển toàn bộ vào việc giám sát hệ thống đang dùng để đảm bảo chất lượng và tính không gây độc của sản phẩm.

CHƯƠNG 6: CÁC LOẠI VI SINH VẬT CHỈ THỊ HAY GẶP TRONG THỰC PHẨM NHIỄM TẠP

Đặc tính chung

Vi khuẩn, tiếng Hy Lạp là bacteria, có nghĩa là hình que. Kích thước của sinh vật từ 0,1-10 μm (1 μm = 10^{-6} m). Hơn 90% các vụ nhiễm độc, nhiễm khuẩn từ thực phẩm có nguồn gốc vi sinh vật đều gây ra bởi vi khuẩn. Chính vì vậy mà nhóm vi sinh vật này được nghiên cứu nhiều nhất.

Bệnh thương hàn quan trọng hơn tất cả các bệnh nhiễm độc nhiễm khuẩn khác hợp lại. 3/4 trường hợp được báo cáo là do *Salmonella choleraesuis*, *Cl.perfringens* và *Staphylococcus aureus*. Điều đó nói lên rằng những vi sinh vật này thường có mặt trong thức ăn. Tồn tại khoảng 16 loài vi khuẩn hay gặp trong thực phẩm.

Một cách đáng ngạc nhiên, một vài loài vi khuẩn có dạng chịu được điều kiện nhiệt độ và môi trường không thuận lợi. Dạng này được gọi là bào tử, loại này rất khó loại bỏ khỏi thực phẩm. Những loài tạo bào tử chủ yếu là *Cl.perfringens*, *Bacillus cereus* và *Cl.botulinum*. Một vài loài vi khuẩn được biết đến bởi độc tố của chúng. Ví dụ *Staphylococcus aureus* (độc tố bền nhiệt) và *Clostridium botulinum* (độc tố kém bền nhiệt).

Phần lớn các vi khuẩn gây bệnh được truyền qua bởi thực phẩm gây ra rối loạn tiêu hóa khi chúng qua dạ dày và ruột. Viêm thành ruột gây ra tiêu chảy lỏng hay đặc, có khi có máu. Một vài loài còn đi qua thành ruột và làm nhiễm trùng các cơ quan khác. Chính vì vậy nó gây ra những tổn thất nghiêm trọng thậm chí gây chết người. Nó có thể làm tổn thương tới hệ thần kinh ví dụ như khi bị nhiễm khuẩn *Listeria monocytogenes*.

Một vài loài vi khuẩn thường gặp lây truyền qua đường hô hấp, nhưng cũng có thể có trong thực phẩm một cách ngẫu nhiên, có thể do quá trình sản xuất. Có loài gây bệnh cho động vật, nhưng cũng có thể gây mệt nhọc cho người gọi là bệnh động vật và bệnh cho người. Vì vậy, những vi sinh vật này có thể ở trong cơ thể hoặc trong phân động vật mắc bệnh rồi lây truyền tới công nhân các nhà máy sản xuất thịt, từ đó lây truyền sang người tiêu thụ thịt sống hoặc thịt chưa đủ chín.

Sữa các con vật bị mắc bệnh cũng có thể là nguyên nhân gây bệnh cho con người ngay cả khi lượng vi khuẩn nhiễm đã giảm đi rất nhiều, từ khi có qui chế về thanh trùng Pasteur sữa. Nhiều bệnh lây lan bởi vi khuẩn trong sữa chưa thanh trùng phần lớn trước năm 1940 thì ngày nay đã biến mất như bệnh thương hàn (do *Salmonella typhi*), bệnh nhiễm khuẩn do liên cầu khuẩn như sốt phát ban (*Streptococcus pyogenes*), bệnh bạch hầu (*Coryne-bacterium diphtherie*), bệnh lao (*Mycobacterium bovis*), sốt Haverhill (*Streptobacillus moniliformis*) và sốt Q (*Coxiella burnetii*). Sau đây là những loài thường gặp nhất.

6.1. Vi khuẩn

6.1.1. *Salmonella choleraesuis*

6.1.1.1. *Khái quát chung*

Salmonella là vi sinh vật gây bệnh thường gặp trong thực phẩm. Nó gây ra nhiễm độc thực phẩm từ phân động vật, đôi khi từ phân người. Người ta gặp chủ yếu trong sản phẩm thực phẩm động vật như thịt, trứng và sản phẩm sữa. Nhiều vấn đề nảy sinh ra từ sự nhiễm tạp chéo chéo giữa thực phẩm tươi sống và thực phẩm chín, nhất là loài vi khuẩn mạnh hơn các vi khuẩn khác. Vi khuẩn này chịu được sự mất nước và sinh sản ở nhiệt độ của tủ lạnh (5 - 12^oC), chỉ với một lượng nhỏ vi khuẩn trong cơ thể đã có thể nhiễm bệnh.

Việc vệ sinh cá nhân, cũng như nấu chín kỹ thực phẩm và bảo quản ở nhiệt độ thích hợp sẽ loại bỏ phần lớn các vấn đề nhiễm tạp.

- *Salmonella* là loại vi sinh vật thường gặp nhất trong thực phẩm. Người ta đánh giá rằng *Salmonella* gây ra hơn 25% các vụ nhiễm độc, nhiễm khuẩn thực phẩm và 66% trường hợp tử vong.

Về mặt lịch sử, vi khuẩn này thường được phân loại theo địa danh, con người hoặc động vật hoặc tên bệnh. Nó tạo nhiều kháng thể nên người ta dùng làm tiêu chuẩn phân loại chính xác (theo Kauffmann-White). Hiện nay tồn tại hơn 2000 loại vi khuẩn, phần lớn các nhiễm độc thực phẩm gây nên từ 100 trong số đó. *Salmonella choleraesuis* được chia làm 7 nhóm nhỏ theo tính kháng nguyên của nó. Mới đây người ta đề nghị lấy tên là *Salmonella euterica*. Nhóm phụ thứ nhất (*Salmonella choleraesuis Subsp choleraesuis*) tập hợp hầu hết những loài liên quan tới người và động vật có xương sống máu nóng (99,5% các chủng). Toàn bộ loài *Salmonella* đều có khả năng gây bệnh.

Vào đầu thế kỷ, người ta đã quan sát thấy bệnh do nhiễm loài *sérovas typhi*, nhưng ngày nay hầu như biến mất nhất là từ khi phát minh ra phương pháp thanh trùng Pasteur. Ngày nay, “*sérovas*” *enteritidis* hay gặp nhất và số lượng rất nhiều.

6.1.1.2. Đặc tính

- Thuộc họ *Enterobacteriaceae*, vi khuẩn này có dạng hình que thẳng, nhỏ, kích thước (0,7-1,5) μm x (2 - 5) μm , Gram -, yếm khí tùy tiện. Nó mang tên nhà vi khuẩn học người Mỹ Daniel Elmer, người đã đặc trưng hóa nhóm vi khuẩn liên quan tới bệnh dịch tả lợn hoặc dịch hạch lợn (*S.choleraesuis*).

- Nhạy cảm với quá trình thanh trùng Pasteur và tia bức xạ.

- Bị ức chế ở nồng độ muối 3,5%, môi trường pH < 4 - 4,5 và bởi hệ vi khuẩn lactic.

- Sinh sản ở nhiệt độ 5 - 12⁰C, nhưng một vài chủng ở nhiệt độ dưới 5⁰C. Nuôi cấy dễ dàng và tăng trưởng nhanh trong môi trường đơn giản, nhưng môi trường này phải đủ chất dinh dưỡng, với hoạt độ nước $A_w = 0,93$. Vi khuẩn này không gây mùi vị khó chịu cho thực phẩm.

- Sống tốt ở môi trường bên ngoài, có thể sống được cả với điều kiện bảo quản, ướp muối, ít nước. Nó có khả năng chịu được kháng sinh.

6.1.1.3. Các bệnh do vi khuẩn gây ra

Đó là bệnh thương hàn, nhiễm độc do thực phẩm nhiễm khuẩn gây ra. Ở nhiều nước bệnh này bắt buộc phải khai báo. Có 3 dạng chính của bệnh:

* Do vi khuẩn vào dạ dày, triệu chứng xuất hiện sau 8 - 24 giờ, bị tiêu chảy kéo theo co thắt bụng, sốt, buồn nôn, nhức đầu, bệnh kéo dài từ 2 tới 3 ngày. Bên trong ruột non, vi khuẩn thâm nhập dần dần vào tế bào và sinh sản ở đó. Nhiều vi khuẩn chết tạo độc tố nội bào. Các hiện tượng này gây ra sự tách chiết dịch ruột non gây tiêu chảy. Nếu bị thương xuyên thì không nên dùng kháng sinh bởi *Salmonella* có thể phát sinh khả năng chịu kháng sinh đồng thời lại loại bỏ các vi sinh vật cạnh tranh nó. Như vậy, ta đã tạo ra loại vi khuẩn không mang bệnh và làm kéo dài bệnh cho người. Bệnh kéo dài trong nhiều tuần nên bị mất nước rất nhiều, cần tiếp nước để hồi phục.

** Vi khuẩn có thể phá hủy ruột rất mạnh, nó có thể tấn công vào các cơ quan khác (tim, não, lá lách, tụy tạng...), nó có thể đi theo máu và giải phóng độc tố nội bào nhưng rất hiếm. Loại bệnh này rất nghiêm trọng có thể gây chết người, kéo dài 1 - 4 tuần. Cần đưa bệnh nhân đi bệnh viện và uống thuốc kháng sinh đặc hiệu.

*** Rất hiếm khi bệnh xuất hiện dưới dạng sốt viêm ruột cấp tính, bệnh thương hàn gây bởi *Sérovat typhi*. Tên của bệnh này xuất xứ từ việc nhầm tên với bệnh đậu lào gây ra do *Rickettsia prowazekii*. Điều quan trọng là bệnh thương hàn hủy hoại con người sau một thời gian ủ bệnh dài (khoảng 2 tuần). Khi phát bệnh kéo dài tới 2 - 4 tuần gây sốt cao, yếu toàn thân, đau đầu, đôi khi bị tiêu chảy có máu. Bệnh có thể gây chết người nếu không điều trị kịp thời. Vi khuẩn này chịu được các điều kiện môi trường bất lợi, dễ lây lan, nhất là do nước

không qua xử lý Clo, hoặc bởi động vật thân mềm và những thực phẩm nhiễm từ người mang vi khuẩn (có thể là người bệnh hoặc người có vi khuẩn nhưng vẫn khỏe - khoảng 3% người mắc bệnh). Bệnh cận thương hàn gây ra bởi *Sérovar paratyphi* cũng giống bệnh thương hàn nhưng triệu chứng bắt đầu từ tiêu chảy nhẹ và xuất hiện sau 2 - 14 ngày. Tùy chủng và tùy người bệnh, số vi khuẩn gây bệnh có từ 10^1 đến 10^7 . Đặc biệt lượng tế bào gầy bệnh có thể ít hơn đối với trẻ nhỏ và người già.

6.1.1.4. Thực phẩm hay lây nhiễm

- Các sản phẩm thịt nói chung, nhất là thịt gia cầm và thịt lợn. Bệnh thương hàn coi như bệnh động vật bởi *Salmonella* gây bệnh cho động vật. Tất cả các thức ăn tươi sống có nguồn gốc động vật đều có thể là nguồn vi khuẩn *Salmonella*. Vi khuẩn này sống tự do trong ruột động vật và có trên lông. Gia cầm có nhiều *Salmonella* nhất, tiếp theo là các động vật nuôi trong nhà và động vật hoang (vẹt, rùa, chó, ếch, chim mông biển, loài gặm nhấm, rắn). Vi khuẩn này có thể có trong thành phần dẫn xuất các chất từ động vật như gelatin hoặc nước bọt. Nước bọt động vật bị nhiễm bởi côn trùng, loài gặm nhấm, chim hoặc các sản phẩm thịt nhiễm khuẩn gây nhiễm vào thực phẩm dành cho người. Ngoài ra có thể bị nhiễm từ người khỏe mạnh có mang vi khuẩn này. Vì lí do bị ức chế bởi pH < 4 và có mặt vi khuẩn lactic nên các sản phẩm lên men ít bị nhiễm.

- Trứng và các sản phẩm trứng ví dụ như bột nhào, nước sốt mayonnaise, protit đông tụ tách từ sữa. Như chúng ta đánh giá, gia cầm là nguồn mang nhiều *Salmonella*, nên trứng của nó cũng bị nhiễm vì vi khuẩn này có thể xuyên qua vỏ trứng và sinh sản trong lòng đỏ trứng. Trường hợp này không áp dụng được kiểu thanh trùng Pasteur, những món trộn với mayonnaise phải kiểm tra kỹ.

- Các sản phẩm sữa như sữa không thanh trùng, phomat từ sữa tươi, kem chất béo sữa, và các sản phẩm từ sữa nói chung được chế biến từ các nông trại mà bò cái, các thiết bị đều có thể gây nhiễm vào nguyên liệu, tạo môi trường thuận lợi cho *Salmonella*, và từ đó gây nhiễm độc cho sản phẩm sữa. Nếu tiến hành axit hóa chậm thì vi khuẩn dễ dàng sinh sản trong phomat nhưng nó bị phá hủy với pH < 4,5 (độ pH Anh). Những sản phẩm có sữa phải được giám sát chặt chẽ bởi chúng không được thanh trùng nữa, vì vậy nếu có *Salmonella* trong sữa bột thì chúng vẫn có thể sinh sản được bởi chúng có khả năng tồn tại ở điều kiện khô hạn và lây nhiễm sang các sản phẩm khác. Đối với cacao và socola: Cacao được rang còn socola được thanh trùng Pasteur đủ để tiêu diệt *Salmonella*, cũng có thể sau khi đã thanh trùng còn sót *Salmonella* trong socola. Có trường hợp nhiễm từ chất béo của sữa nhưng phần lớn là từ trứng tươi bổ sung vào các đồ ăn.

- Nước bị nhiễm bởi do rải phân súc vật và các đồ biển tươi sống hoặc chưa đủ chín, đặc biệt là động vật thân mềm, 2 mảnh vỏ ở các nước đang phát triển, nước nông nghiệp. Trước kia, loài *Sérovar typhi* nhiễm nhiều nhất vào động vật thân mềm, nước không qua xử lý Clo, hay phân người bị thương hàn.

- Gia vị: do rải phân súc vật đã bị nhiễm *Salmonella* tạo nguồn nhiễm nguy hiểm.

- Hoa quả và rau xanh: có thể bị nhiễm khi rửa bằng nước đã bị nhiễm khuẩn hoặc bởi người rửa mang vi khuẩn. *Salmonella* sinh sản tốt trong quả dưa và có thể chịu được nhiệt độ khi thanh trùng pasteur không đầy đủ hoặc bị nhiễm sau khi thanh trùng. Hoặc có thể bị nhiễm từ nước táo không thanh trùng.

- Sản phẩm ngũ cốc: từ đậu tương, cỏ linh lăng, ngũ cốc chế biến và các món khai vị, bánh mì, bột đậu tương có thể là nguồn *Salmonella* do bị nhiễm từ khi trồng do bón phân và khi sản xuất mà ngâm trong thời gian dài ở nhiệt độ thường. Nếu dùng những sản phẩm này ngay mà không xử lý nhiệt thì có nguy cơ bị nhiễm *Salmonella*. Trường hợp ngũ cốc được chế biến và các món khai vị, có thể sẽ bị nhiễm bởi trứng, sữa, vitamin, chất ngọt và chất tạo màu.

- Các thực phẩm ăn nhanh như loại bánh có thịt, sữa hoặc trứng, có thể bị nhiễm khuẩn, nhất là ở nhiệt độ bình thường.

6.1.1.5. Biện pháp phòng ngừa

- Nấu chín kỹ thực phẩm: vi khuẩn này không chịu được thanh trùng pasteur (66° trong 12 phút). Thực phẩm tươi sống hoặc chưa đủ chín là nguồn nhiễm tạp. Đối với gia cầm, thịt băm nhỏ nhân là nguồn cách nhiệt, nấu chín chậm, kết quả có thể gây ra thịt gia cầm không đủ chín và làm lạnh quá chậm, vì thế *Salmonella choleraesuis* dễ tồn tại và sinh sản.

Năm 1985, ở Chicago, người ta quan sát thấy trong 150 000 người có 16 000 trường hợp được khẳng định bị mắc bệnh sau khi dùng sữa thanh trùng, bởi sữa đã bị nhiễm từ thiết bị bảo quản sữa của nhà máy.

- Làm lạnh thực phẩm: vi khuẩn này sinh sản chậm trong khoảng nhiệt độ $5 - 12^{\circ}\text{C}$ và nhanh ở nhiệt độ thường. Chính vì lí do đó mà không nên để lâu trong tủ lạnh, nhất là ở nhiệt độ thường.

- Vệ sinh sạch để giảm độ nhiễm tạp vào thức ăn động vật: mặc dù khó tránh khỏi sự có mặt vi khuẩn, nhưng cần giảm độ nhiễm tạp *Salmonella* vào thức ăn động vật, đồng thời cần xử lý nước thải.

- Kịp thời phát hiện ra người mang bệnh hoặc những người mang mầm bệnh tham gia chế biến thực phẩm, vệ sinh sạch sẽ nhà máy. Bệnh thương hàn ngày nay hiếm, dễ bị lây lan bởi nước nhiễm hoặc từ phân. Trong trường hợp *Salmonella*, những người khỏe mang vi khuẩn ít lây ra xung quanh, nguồn chủ yếu là các côn trùng.

- Bức xạ tần số cao và axit hóa: chiếu tia bức xạ vào thịt gia cầm là phương pháp hiệu quả nhằm phá hủy, tiêu diệt *Salmonella*. Hơn nữa, vi khuẩn này không sinh sản ở $\text{pH} < 4$.

6.1.2. Clostridium perfringens

6.1.2.1. Khái quát chung

- Loại vi khuẩn này là nguyên nhân gây ngộ độc do thực phẩm nấu chưa chín hay do nhiệt độ bảo quản lạnh kém, chúng thường tồn tại trong sản phẩm thịt được chế biến với số lượng lớn. Có nhiều thực phẩm bị nhiễm độc phát sinh đột ngột do loại vi khuẩn này vì chúng luôn có trong tự nhiên lại ít bị cạnh tranh bởi các vi sinh vật khác.

- Tên *Clostridium* xuất phát từ tên Latinh nghĩa là “hình thoi” do sự biểu hiện nhanh chóng của bệnh.

- Nếu đun chín kỹ và làm lạnh đầy đủ thực phẩm sẽ gần như không còn nguy cơ mắc bệnh do loại vi khuẩn này. Thường bệnh này xuất hiện phổ biến tại gia đình, nhà hàng hơn là trong sản xuất công nghiệp nơi có điều kiện vệ sinh an toàn thực phẩm tốt hơn.

6.1.2.2. Đặc tính

- Là thành viên của họ *Bacillaceae*, vi khuẩn này có hình que thẳng. Kích thước khoảng $1,5 \times 5 \mu\text{m}$, Gram +, yếm khí (nhưng có thể chịu được nồng độ oxy tới 5%), chúng có khả năng tạo bào tử.

- Độc tố mà vi khuẩn này sinh ra rất nguy hiểm bởi được tạo ra trong ruột do bị nhiễm vi khuẩn khi ăn uống. Có thể chia thành 5 chủng *Clostridium perfringens* theo các loại độc tố sản sinh ra từ A đến E. Trong đó A là nguyên nhân chủ yếu gây nhiễm độc.

- Tùy theo chủng, bào tử có thể chống chịu được với nhiệt độ hay không (từ 1 đến 30 phút ở 100°C). Phần lớn các chủng nhạy cảm với nhiệt độ nhưng những chủng gây bệnh (gây nhiễm độc) lại chịu được nhiệt độ cao.

- Các bào tử sống sót rất lâu trong môi trường và chịu được điều kiện lạnh đông. Loại vi khuẩn này sinh sản chậm ở 14°C , sinh sản cực nhanh ở 41°C .

- Các tế bào sinh sản nhạy cảm với nhiệt độ lạnh (dưới 10⁰C) và với nhiệt độ lạnh đông. Một vài chủng bị ức chế bởi nitrit natri và muối ăn (2,5÷6,5%), nhưng phần lớn có khả năng chịu được nồng độ muối cao.

- Ngược lại với bào tử, các tế bào sinh sản và độc tố của chúng rất nhạy cảm với thanh trùng Pasteur.

6.1.2.3. Các bệnh chính hay gặp

Nói chung, nguồn gốc các bệnh do loại vi khuẩn này đều xuất phát từ thực phẩm bị nhiễm vi khuẩn.

Những triệu chứng: tiêu chảy, đau nhẹ vùng bụng, không sốt, không nôn mửa, bắt đầu đau dữ dội khoảng 8 ÷ 24 h sau khi ăn xong và kéo dài tới 2 ngày. Bệnh không gây nguy hiểm nên không cần tới bệnh viện. Hiếm có trường hợp tử vong, nếu có thì do kết hợp của các căn bệnh khác nữa. Độc tố được tiết ra trong tế bào khi tạo bào tử và được giải phóng cùng lúc với bào tử tại thời điểm phân cắt tế bào sinh sản. Sự hình thành độc tố làm chiết ra một lượng lớn chất lỏng và chất khoáng và đó là nguyên nhân của bệnh tiêu chảy.

Những vi khuẩn chủng *Clostridium* cũng có thể gây nên một bệnh trầm trọng hơn như bệnh viêm sưng thành ruột làm đầy hơi trên vùng bụng. Bệnh này đã từng hoành hành ở Đức trong thời gian chiến tranh thế giới thứ 2.

Thường bị nhiễm một lượng lớn vi khuẩn (10⁵ ÷ 10⁶ tế bào) mới bị mắc bệnh. Đối với trẻ em và người già con số này ít hơn.

6.1.2.4. Các thực phẩm hay nhiễm vi khuẩn

* Thịt có nguy cơ gây nhiễm độc cho người từ loại vi khuẩn này cao nhất, nhất là với lượng thịt được chế biến với số lượng lớn phục vụ cho nhiều người như tại nhà hàng, bệnh viện, trường học... Nguy cơ mắc bệnh cao khi thực phẩm bảo quản ở chế độ làm lạnh không tốt hay hâm nóng không kỹ, những bào tử đã sống sót sau khi đun nóng sẽ nảy mầm trong khối thực phẩm có môi trường yếm khí tạo nên những tế bào mới có khả năng phát triển nhanh. Trong những điều lý tưởng, các tế bào có thể nhân đôi trong 8,5 phút nên nguy cơ gây bệnh cao. Những thực phẩm để lâu trong tủ lạnh có nguy cơ gây bệnh vì vi khuẩn vẫn tiếp tục sinh sản ở 14⁰C, thực phẩm không được hâm nóng kỹ (trên 60⁰C) để phá hủy độc tố cũng gây nguy cơ mắc bệnh cao. Tuy nhiên điều đó không phổ biến vì nó ít xảy ra trong các nhà máy chế biến thực phẩm.

Loại vi khuẩn này có mặt khắp nơi, trong thịt tươi (nguồn gốc chủ yếu), trong bụi và ruột động vật máu nóng (do tiêu hóa hay ăn phải thịt, rau nhiễm khuẩn).

Thực phẩm không được nấu chín là nguồn gây bệnh quan trọng hơn cả đối với người, phân chỉ đóng vai trò thứ yếu trong sự truyền bệnh.

Những chủng không gây bệnh đối với người thường nhiễm ở cá, do đó người ta có thể ăn gỏi cá sống mà không sợ bị mắc các chứng bệnh có nguồn gốc từ loại vi khuẩn này.

** Gia vị và những thực phẩm khô: loại vi khuẩn này có mặt ở khắp nơi do đó có thể nhiễm vào gia vị và các thực phẩm khô. Những bữa ăn có thịt sử dụng nhiều gia vị sẽ gián tiếp tác động tới con người do vi khuẩn từ gia vị nhiễm vào thịt.

*** Những thực phẩm từ đậu tương: loại thực phẩm này thường được dùng thay thế thịt và tạo ra môi trường rất tốt cho vi khuẩn.

6.1.2.5. Biện pháp phòng ngừa

- Nấu chín và hâm nóng lại hoàn toàn đồ ăn nhất là với đồ ăn được chế biến số lượng lớn. Loại vi khuẩn này và độc tố của nó không chịu được nhiệt độ cao, tốt nhất là nên ăn ngay sau khi nấu chín. Bản thân các bào tử không độc nhưng những tế bào được sinh ra thì có thể thay đổi và là nguy cơ gây bệnh.

- Làm lạnh nhanh thực phẩm: các loại vi khuẩn này sinh sản cực nhanh ở 41⁰C. Do đó, với một khối lượng lớn thực phẩm điều cần thiết phải phân ra thành những phần nhỏ để dễ dàng làm lạnh tới trung tâm thực phẩm. Vì nếu kéo dài, nhiệt độ ở tâm sản phẩm vẫn đủ lớn tạo điều kiện cho sự sinh sản và tạo bào tử của lượng lớn vi khuẩn.

6.1.3. *Staphylococcus aureus*

6.1.3.1. *Khái quát chung*

- Sự nhiễm độc do loại vi khuẩn này rất hay gặp, phát bệnh ngay sau khi ăn phải thực phẩm bị nhiễm độc, nhất là khi có vết thương nhiễm trùng, nhưng không kéo dài. Loại vi khuẩn này ít bị cạnh tranh bởi các vi sinh vật khác và nhiễm vào người khi ăn phải thực phẩm không được bảo quản lạnh, không được ướp muối, hay có tính axit yếu.

- Tên *Staphylococcus* do chữ Hy Lạp có nghĩa “Những hình cầu tụ lại thành dạng chùm nho”. Vào năm 1882, người ta nhận thấy rằng loại vi khuẩn này là nguyên nhân gây bệnh. Tên *aureus* có nghĩa là “màu vàng” dựa trên màu của khuẩn lạc loại vi khuẩn này khi phát triển trên canh trường.

- Giữ vệ sinh cá nhân, nấu chín kỹ và làm lạnh đầy đủ thực phẩm tại gia đình, nhà hàng, phục vụ công cộng sẽ loại trừ phần lớn nguyên nhân gây bệnh. Trong sản xuất công nghiệp ít xảy ra vì thường có tiêu chuẩn vệ sinh chặt chẽ.

6.1.3.2. *Đặc tính*

- Thuộc họ *Micrococceae* (đơn cầu khuẩn), vi khuẩn này có dạng hình cầu, đường kính khoảng 0,5 ÷ 1 μm, vi khuẩn Gram + và yếm khí tùy tiện.

- Người ta phân biệt các chủng theo sự xuất hiện của các enzym đặc hiệu. Hầu hết các chủng đều tạo ra độc tố “coagulaza” và “thermonucleaza”.

Cùng lúc, nhiều loại độc tố có thể được sinh ra. Những độc tố B, C1, C2 được sinh ra với số lượng lớn và tùy theo điều kiện nuôi cấy chứ không theo sự sinh trưởng của tế bào. Ngược lại, các độc tố nhóm A, D, E sinh ra với số lượng nhỏ và tùy thuộc vào sự sinh trưởng của tế bào, chúng chính là các độc tố gây ra sự nhiễm độc. Độc tố được thải ra ngoài và có nguồn gốc protein, khối lượng phân tử nhỏ, dễ tan trong nước khác với các nội độc tố của nhiều vi khuẩn gây bệnh khác. Các độc tố chống chịu được điều kiện thanh trùng nhiệt Pasteur (100⁰C trong hơn 30 phút) và với phóng xạ.

- Độc tố không gây mùi khó chịu.

- Là loại vi khuẩn nhạy cảm với nhiệt độ, sinh sản ở 5 ÷ 12⁰C. Là một trong số ít vi khuẩn có khả năng sinh trưởng ở hoạt độ nước dưới 0,9 có thể chịu được hoạt độ nước xuống tới 0,83. Nói chung sinh độc tố ở Aw > 0,86; sinh sản được ở nồng độ tới 15 ÷ 20% muối ăn hay 50 ÷ 60% đường, chịu được lạnh đông (dưới 4⁰C).

- Ít có tính cạnh tranh với các vi khuẩn khác như vi khuẩn lactic và bị ức chế tại pH < 4,8.

6.1.3.3. *Các bệnh chính hay gặp*

Bệnh do ăn uống, triệu chứng của nó xuất hiện sau 2 ÷ 4 giờ và không kéo dài quá một ngày tùy theo lượng độc tố nhiễm vào và sự nhạy cảm của từng người, gây nôn mửa nhiều và đau co thắt vùng bụng dữ dội, có thể tiêu chảy hay đau đầu. Bệnh ra mồ hôi nhiều nhưng không sốt, bệnh sẽ hết trong thời gian ngắn. Hiếm có trường hợp tử vong, nhưng có thể xảy ra với trẻ em và người già yếu khi dạ dày có tính axit yếu. Bệnh thuyên giảm rất nhanh sau một hay hai ngày ngay khi mà các độc tố trong dạ dày bị vô hoạt hay bị cơ thể thải ra. Chỉ khi có số lượng lớn tế bào, hơn 10⁶, thì nồng độ độc tố trong dạ dày mới đủ để gây nhiễm độc.

6.1.3.4. *Các loại thực phẩm chính hay nhiễm vi khuẩn này*

* Những thực phẩm có tính axit yếu hay đã nấu chín, nhất là đã ướp muối hay sau khi qua thanh trùng Pasteur (loại bỏ những vi khuẩn cạnh tranh), hay các thực phẩm được chế biến thủ công như bánh kem socola, khoai tây, thịt cua bể... có nguy cơ nhiễm bệnh cao. Nhiều chủng *Staphylococcus* có nguồn gốc từ động vật là vô hại, chúng không sinh độc tố. Người ta tìm thấy trong mũi, trên bàn tay, trên da, trong họng người những chủng nguy hiểm và những chủng vô hại. Vì vậy, sự lan truyền bệnh dễ dàng khi người ta chế biến thức ăn bằng tay không có găng bảo vệ và nhất là khi người ta ho, hắt hơi, khạc nhổ...

** Những sản phẩm từ sữa: sữa tươi, kem, phomat, sữa bột, sữa đặc có đường... *Staphylococcus* là nguyên nhân gây bệnh quan trọng chỉ đứng sau *Salmonella* trong sự nhiễm độc từ sữa. Loại vi khuẩn này nhiễm vào sữa qua da động vật có vú như bò sữa, dê sữa... Nếu sữa để lâu ngoài nhiệt độ thường rồi mới đưa vào thanh trùng thì nó vẫn có thể bị nhiễm độc do đã hình thành độc tố mà độc tố này đối kháng với điều kiện thanh trùng. Các loại bánh ngọt sản xuất bằng tay như kem sôcôla để lâu ngoài không khí ở nhiệt độ thường hoàn toàn có thể bị nhiễm khuẩn mặc dù đã qua thanh trùng từ trước hay trong quá trình sản xuất phomat khi mà sự tạo môi trường axit lactic quá chậm để có thể kìm hãm sự phát triển của loại vi khuẩn này. Hơn nữa, do đã có thanh trùng Pasteur nên đã loại trừ phần lớn những vi khuẩn đối kháng càng tạo điều kiện cho sự sinh sôi của *Staphylococcus*, chúng có thời gian tạo ra độc tố trước khi pH môi trường axit lactic hạ đến mức ức chế chúng. *S.aureus* cũng có thể có trong sữa bột do sự nhiễm tạp trong quá trình bao gói hay do sự sống sót của vi khuẩn này từ sữa tươi bị nhiễm tạp nhiều.

*** Các sản phẩm thịt đã được nấu chín hay chưa sau đó cho lên men: ở giai đoạn đầu của quá trình lên men thịt, vi khuẩn ít bị ức chế bởi nó có khả năng chịu muối và một lượng nhỏ axit, hơn nữa, lên men thường tiến hành ở nhiệt độ thường. Nói chung, những quy trình sản xuất làm chậm sự axit hóa của thịt đều tạo điều kiện cho sự phát triển của *Staphylococcus*.

**** Các sản phẩm từ đậu tương: bột đậu có thể nhiễm *Salmonella* hoặc cả *Staphylococcus* trong các công đoạn của quá trình sản xuất. Nếu những sản phẩm này lại có tính axit thấp và không được xử lý nhiệt thì sẽ có khả năng nhiễm độc cao.

6.1.3.5. Các biện pháp phòng ngừa

- Làm lạnh đầy đủ thực phẩm: vi khuẩn này sinh trưởng chậm ở $5 \div 12^{\circ}\text{C}$ và phát triển nhanh ở nhiệt độ thường. Phần lớn sự nhiễm độc có liên quan đến điều kiện bảo quản lạnh không tốt, nhất là trong nhà hàng (chiếm 2/3 trường hợp) và tại gia đình (1/2 số trường hợp).

- Nấu chín kỹ: vi khuẩn này không thể sống sót khi thanh trùng Pasteur (12 phút tại 66°C) nhưng độc tố của nó có thể chịu được hơn 30 phút ở 100°C . Ăn những thức ăn sống hay chưa chín kỹ là một nguyên nhân gây ra bệnh.

- Loại bỏ mầm mống mang bệnh và làm sạch nơi sản xuất thực phẩm.

- Axit hóa: do vi khuẩn này không sinh sôi được tại $\text{pH} < 4,1$ nên trong sản xuất thịt lên men có những tiêu chuẩn xác định để kiểm tra độ pH. Việc sử dụng đại trà với quy mô thương mại môi trường lactic để làm giảm pH đang được khuyến khích.

6.1.4. *Bacillus cereus*

6.1.4.1. Khái quát chung

- Loại vi khuẩn này nhiễm tạp vào các loại thực phẩm nấu không kỹ hoặc bảo quản không đủ lạnh. Thường hay gặp trong thực phẩm chế biến từ gạo.

- Từ “*Bacillus*” có nguồn gốc Latinh “*bacillum*” là cái que nhỏ và “*cereus*” nghĩa là màu sáp vàng để mô tả bề ngoài khuẩn lạc mọc trên môi trường rắn.

- Nếu nấu chín kỹ và làm lạnh đủ cho từng loại thực phẩm có thể loại trừ nhiễm tạp trong hầu hết các thực phẩm ở nhà, ở khách sạn, cũng như ở nơi sản xuất công nghiệp.

6.1.4.2. **Đặc tính chung**

- Thuộc họ *Bacillaceae*, là loại hình que thẳng, thường tạo thành xích dính liền các tế bào. Là vi khuẩn Gram +, kích thước (0,5 - 2,5) x (1,2 - 10) μm . Thuộc loại yếm khí tùy tiện và có khả năng tạo bào tử.

- Vi khuẩn này thường được chia làm 2 loại A và B theo độc tố nó tạo ra và các triệu chứng bệnh nó gây ra. Lần đầu tiên năm 1906, loại độc tố A thường gây bệnh tiêu chảy đặc biệt khi ăn thực phẩm chế biến từ gạo và sữa. Một số vi khuẩn khác tạo ra độc tố này hay loại khác tùy loại thực phẩm nhiễm. Độc tố B gây nôn nao, khó chịu, buồn nôn khi ăn thực phẩm chế biến từ gạo bị nhiễm. Độc tố B bền vững với thanh trùng Pasteur, còn loại độc tố A thường gây bệnh tiêu chảy.

- Là loại yếm khí tùy tiện và sinh sản nhanh trong các loại thực phẩm nên rất khó loại trừ. Có khả năng tạo bào tử và là loại vi khuẩn nhiễm tạp nhiều trong tự nhiên từ các vật liệu lẫn phân người và phân động vật.

- Các bào tử sống sót rất lâu trong môi trường và bền vững trong điều kiện lạnh đông. Các bào tử có tính bền nhiệt, đại bộ phận chịu được 100°C trong 0,3 - 8 phút, khả năng chịu đựng yếu hơn bào tử của *Cl.perfringens* 1 - 30 phút, *Cl.botulinum* 25 - 30 phút. Vi khuẩn này sinh sản tốt ở $5 - 12^{\circ}\text{C}$.

- Các tế bào sinh sản nhạy cảm với ánh sáng, nhiệt độ, bị ức chế bởi nizin và axit sorbic (0,02%)

6.1.4.3. **Các bệnh chính hay gặp**

Thực phẩm nhiễm là nguồn độc tố A tương tự bệnh lành tính gây bởi *Clostridium perfringens*. Bệnh nhân bị tiêu chảy và đau co thắt vùng bụng, xuất hiện sau khi ăn khoảng 8 - 12 giờ và kết thúc sau 12 - 24 giờ. Để gây bệnh lượng tế bào cần $10^5 - 10^9$. Người bệnh ăn trực tiếp loại độc tố trong thực phẩm hoặc nó hình thành trong ruột như trường hợp nhiễm *Cl.perfringens*.

6.1.4.4. **Các loại thực phẩm hay bị nhiễm**

* Các loại ngũ cốc: chủ yếu các sản phẩm từ gạo. Nguồn độc tố B có tự nhiên ngay tại nơi trồng gạo bị nhiễm vi khuẩn *B.cereus*. Nếu cơm để lâu trong tủ lạnh, nó phát triển rất nhanh, cả các bào tử. Trường hợp này xảy ra cả trong các nhà hàng nếu nấu nhiều cơm cùng một lúc, rồi để khoảng nửa ngày ở nhiệt độ thường. Cơm bằng gạo dính, dẻo, nếu nấu nhiều, khả năng truyền nhiệt chậm tạo điều kiện dễ dàng cho vi khuẩn này phát triển. Nếu sau đó cơm không được đun nóng lại kỹ sẽ không tiêu diệt hết được bào tử và độc tố, mặc dù chúng không làm thay đổi mùi vị cơm. Các loại bột ngô thường dễ bị nhiễm độc tố loại A, và thường thấy ở các loại thực phẩm nấu không kỹ hay làm lạnh không đủ như các loại nước xốt, bột hạt cải, các loại cá rán, bột bánh mì...

** Các sản phẩm sữa: nhiễm từ các nông trang nhiễm vi khuẩn từ đất, nhiễm từ vú bò sữa vì thế hay có trong sữa. Sữa là nguồn gốc truyền bệnh cho người, loại độc tố có nguồn gốc protein và cho thực phẩm giàu protein, làm thay đổi màu sắc bên ngoài và có vị đắng khó chịu. Ngoài ra bào tử *B.cereus* và loài vi khuẩn *B.cereus* có khả năng sống sót sau khi thanh trùng Pasteur cho sữa. Các loại bào tử (không kể đến độc tố loại A) dễ dàng nhiễm vào sữa từ đó vào các sản phẩm chế biến như sữa bột, kem, phomat, sữa tươi,...

*** Các loại gia vị: độc tố A hay gặp ở loại sản phẩm bột hỗn hợp gia vị. Hậu quả là trong các loại thịt ướp hoặc súp cho gia vị có thể chứa các bào tử vi khuẩn và nó bền nhiệt độ cao. Nếu để các thực phẩm này bên ngoài lâu ở nhiệt độ thường, các bào tử sẽ phát triển, nảy chồi và phát triển vi khuẩn.

6.1.4.5. **Biện pháp phòng ngừa**

- Nấu kỹ và đun nóng kỹ lại các loại thức ăn từ sữa: do loại vi khuẩn này không chịu nhiệt, nên ăn ngay sau khi nấu chín. Nếu để bên ngoài lâu thì phải đun kỹ lại đủ thời gian để tiêu diệt vi khuẩn.

- Làm lạnh nhanh thực phẩm: vi khuẩn này phát triển rất nhanh ở nhiệt độ bình thường, nếu bảo quản lượng lớn phải bảo đảm bề mặt truyền nhiệt và phân bố nhiệt lạnh nhanh vào trung tâm để hạn chế sự phát triển của nó.

6.1.5. *Escherichia coli*

6.1.5.1. *Khái quát chung*

- Có nhiều nguồn khác nhau như entérohémorragique (EHEC), dễ thấy và rất hay gặp, nhất là bị ngộ độc nhiễm khuẩn do ăn thịt bò băm tươi sống, ăn tái hoặc sữa không thanh trùng. Có thể bị nhiễm khuẩn bất cứ lúc nào do lây nhiễm từ phân người vào thực phẩm, chính xác là do sự vệ sinh kém của con người.

- Lấy tên của Theodor Escherich, bác sĩ nhi khoa người Đức, ông đã phân lập được nhiều loài của giống vào năm 1885. Tên coli có nguồn gốc tiếng Hilạp “kôlon” nghĩa là “ruột” - thường có trong ruột người và động vật.

- Phần lớn các nguồn vi khuẩn này không gây nguy hiểm cho sức khỏe. Vi khuẩn này được dùng để đánh giá độ lây nhiễm phân bởi vì nó thường tạo khuẩn lạc trên thành ruột.

- Con người nếu vệ sinh tốt, đun nấu kỹ, bảo quản đảm bảo nhiệt độ lạnh thì sẽ ngăn ngừa được phần lớn sự lây nhiễm, nhất là ở nhà, quán ăn, trong các nhà máy sản xuất.

6.1.5.2. *Đặc tính chung*

- Thuộc họ *Enterobacteriaceae*, là loại trực khuẩn hình que, kích thước (1,1-1,5) x (2 - 6) μ m, Gram – và yếm khí tùy tiện.

- Loài vi khuẩn này có bộ gen di truyền giống như *Shigella spp.* Chúng được xếp loại theo tính kháng nguyên của chúng, chủ yếu là kháng nguyên loại O và H.

- Đại đa số các nguồn vi khuẩn loại này sinh sản trong khoảng 5 - 12⁰C, nhưng có nhiều entérohémorragique (EHEC) sinh sản mạnh ở 5⁰C. Loại vi khuẩn này chịu được môi trường axit và nhiệt độ lạnh tốt hơn hẳn các vi khuẩn khác.

- Vi khuẩn này tồn tại rất lâu trong môi trường và nhạy cảm với việc thanh trùng.

6.1.5.3. *Các bệnh hay gặp do vi khuẩn E.coli*

- Do truyền nhiễm vào trong hoặc ngoài ruột, chủ yếu từ thực phẩm. Tại những vùng không đủ điều kiện vệ sinh tốt, vi khuẩn này là một nguyên nhân quan trọng gây bệnh viêm ruột, có các triệu chứng như tiêu chảy. Bệnh này khách du lịch đến từ những nước công nghiệp phát triển rất hay mắc phải. Nó tồn tại trong các cơ thể mang bệnh.

- Liều lượng gây bệnh của vi khuẩn *E.coli* là 10⁶ - 10¹⁰ tế bào, trừ nguồn entérohémorragiques ít hơn 1000 tế bào thì sẽ bị mắc bệnh.

- Người ta phân thành 4 loại theo các triệu chứng bệnh:

* *Entérotoxigènes* hoặc *entérotxinogènes* (ETEC, nghĩa là “entérotoxigènic *E.coli*). Vi khuẩn tấn công chủ yếu vào trẻ dưới 5 tuổi và người lớn từ các nước công nghiệp phát triển khi đi tham quan tại các nước mà điều kiện vệ sinh chưa đủ, mạng lưới cung cấp nước sạch không đảm bảo vệ sinh, trẻ em dưới 5 tuổi dễ bị nhiễm bệnh hơn người lớn. Triệu chứng chủ yếu là tiêu chảy. Thuộc loại bệnh lây nhiễm.

Mầm bệnh gây ra do sinh độc tố, hoặc không được thanh trùng. Các độc tố cũng giống như của *V.cholerae* và sản sinh ra trong ruột. Trong các trường hợp đặc biệt nhất, bệnh cũng giống như bệnh do *choléra* gây ra, kéo dài từ 3 ngày tới 3 tuần, có khi bị 3 lần tiêu chảy trong

một ngày, không ra máu, các chứng đau co thắt nhẹ, nôn óe, hơi sốt. Có những nguồn tương tự như *entérotoxigènes* có khả năng giống *entéro-adhérentes*, do có tính dính chặt vào bề mặt của các tế bào ruột non. Các nguồn lây nhiễm từ phân người do thiếu vệ sinh, tại các nước đang phát triển, người già thường nhiễm bệnh dễ hơn so với người trẻ.

** Các nguồn entérohémorragiques (EHEC, nghĩa là “*entérohémorragiques E.coli*”) hoặc vérotoxigènes (VTEC, nghĩa là “*verotoxin-producing E.coli*”, các nguồn sản sinh ra vérocytoxines), rất nguy hiểm, chủ yếu là *E.coli* 0157:H7. Cụm từ VTEC chỉ ra rằng các nguồn này sản sinh ra vérocytotoxines (*entérohémorragiques*) và các nguồn EPEC (*entéropathogènes*); “vérocytotoxines” gần như đồng nghĩa với “chất độc kiểu *Shiga*” (Shiga-like toxin); các nguồn EHEC sản sinh ra các chất độc giống như *Shigella spp.* nhưng không xâm chiếm ruột (ngược lại với loại EHEC).

Bệnh rất cần được phát hiện sớm để điều trị đúng. Thường gây ra các triệu chứng như nôn mửa, và đau thắt vùng bụng và luôn luôn có chứng tiêu chảy lỏng, có khi ra cả máu, không gây sốt. Sau đó các vi khuẩn này có thể lan truyền và tấn công lên các bộ phận cơ thể khác như thận, tim và lên cả hệ thần kinh trung ương, tại đó nó có thể tạo cục máu đông, đó là một trong các nguyên nhân gây đột tử, nhất là cho trẻ em. Vì vậy khi truyền máu cần thiết phải lọc máu. Các triệu chứng thường xuất hiện sau 24 giờ, căn bệnh kéo dài 3 - 4 ngày, có khi tới 2 tuần. Chỉ cần với 1000 tế bào là bị mắc bệnh. Rất nhiều kiểu vérocytotoxines liên quan đến triệu chứng đó. Vi khuẩn tấn công rất mạnh tới những người có hệ miễn dịch yếu, đặc biệt là trẻ em và người già. Căn bệnh đôi khi để lại di chứng quan trọng, ví dụ như suy giảm chức năng của thận.

Các nguồn lây nhiễm là phân động vật và thực phẩm tươi sống, đặc biệt là thịt bò tươi, gia nhiệt ít và sữa không thanh trùng.

*** Các nguồn entéro-invasives (EIEC, nghĩa là “*entéroinvasive E.coli*”). Các nguồn này có tính di truyền gần với *Shigella spp.* và xâm chiếm các tế bào biểu mô trong ruột, nguyên nhân của các hiệu ứng giống như ở loại vi khuẩn này: sốt, nôn mửa, co rút cơ bắp và tiêu chảy, đôi khi có máu. Ngược lại các nguồn này không sinh ra độc tố kiểu *Shiga* (EHEC). Nguồn gốc sự lây nhiễm là phân người, thiếu vệ sinh, lây từ người mang bệnh. Thời gian thường từ 2-3 ngày. Kiểu nhiễm bệnh này khác với các kiểu đã mô tả trước, nó tấn công chủ yếu trẻ em dưới 5 tuổi.

**** Các nguồn entéropathogènes (EPEC, nghĩa là “*entéropathogenic E.coli*”). Năm 1948, các nguồn lây bệnh này được biến sang dạng coli

6.1.5.4. Các thực phẩm dễ nhiễm

* Thịt băm tươi hoặc gia nhiệt không đủ (chủ yếu là thịt bò và gia cầm). Phần lớn các loại thịt không nấu đều bị nhiễm một chút vi khuẩn này. Việc băm nhỏ dễ bị nhiễm khuẩn và sự phân bố của vi khuẩn trong thịt (trái với các kiểu bít tết hoặc loại khác), chỉ cần nấu chín kỹ một lần đã thực sự phá hủy cấu trúc của vi khuẩn tới tận tâm của thực phẩm (trên toàn thực phẩm). Vi khuẩn này thường sống trong ruột người và động vật (nguồn *entérohémorragique*). Sự lây truyền từ người sang người có thể là trong trường hợp *entéropathogènes*, *entérotoxigènes* và *entéro-invasives*.

** Các thực phẩm có nhiều thao tác, ví dụ như các loại salat... Rất nhiều kiểu lây bệnh bởi tay đã bị nhiễm phân người. Các loại thực phẩm này rất phong phú, chủ yếu là ở các nước đang phát triển do có nhiều sự truyền nhiễm từ căn bệnh tiêu chảy của khách tham quan.

*** Các sản phẩm từ sữa không được thanh trùng hoặc lây nhiễm sau khi thanh trùng. Có thể là do nhiễm phân ở các trang trại, chủ yếu là nguồn EHEC. Vi khuẩn này có thể có ở vú bò sữa.

**** Nước nhiễm phân và các động vật nhuyễn thể. Các thực phẩm này là những điểm đóng vai trò chủ đạo về lây bệnh ở các nước đang phát triển. Trong nhiều vùng, người ta thường rải phân người trên các cánh đồng và nó không tồn tại các hệ thống xử lý nước ăn.

6.1.5.5. Cách phòng chống

- Nấu nướng kỹ và làm lạnh nhanh thực phẩm, cũng như giữ vệ sinh của con người. Không nên quên rằng vi khuẩn này sinh sản ở nhiệt độ lạnh, bởi vậy cần tránh để thực phẩm lâu kể cả trong tủ lạnh và luôn cần phải nấu kỹ lại trước khi ăn. Chú ý tới sự lây nhiễm tăng dần giữa thực phẩm tươi sống và đã nấu chín.

- Vệ sinh của con người: ba trong bốn kiểu của *E.coli* gây bệnh được truyền tới người do sự lây nhiễm vào thực phẩm phân của một người mang bệnh hoặc ốm. Cần tránh việc tiêu thụ các thực phẩm có thể có nhiều sự tiếp xúc với người khi mà họ đã đi tham quan các nước đang phát triển

6.1.6. *Vibrio vulnificus*

6.1.6.1. Khái quát chung

- Vi khuẩn này là nguyên nhân chính gây bệnh nghiêm trọng, rất nhiều trường hợp tử vong có liên quan đến nhiễm độc từ các đồ ăn hải sản. Nó tấn công chủ yếu vào những người ăn sò hoặc hải sản tươi sống hoặc tái. Đó là một sự truyền nhiễm tự nhiên từ nước muối và hải sản. Rất dễ nhiễm vào các vết thương.

- Tên *Vibrio* là do vi khuẩn này có hình dấu phẩy và tên loài được lấy từ tiếng Latinh (*Vulnifica*).

- Nấu nướng kỹ và làm lạnh đầy đủ các thực phẩm loại bỏ được phần lớn các vấn đề liên quan, nhất là ở các gia đình, quán ăn và trong các bữa ăn tập thể tại các công xưởng.

6.1.6.2. Đặc tính chung

- Thành viên của họ *Vibrionaceae*, vi khuẩn này có dạng trực khuẩn thẳng hoặc cong lại, kích thước từ $(0,5 \div 0,8) \times (1,4 \div 2,6) \mu\text{m}$; là loại Gram - và yếm khí tùy tiện.

- Đó là loại nguy hiểm nhất của họ *Vibrio spp*, dấu hiệu “nguy hiểm ☹☹☹” dựa vào 50 trường hợp đã phát hiện. Với các trường hợp khác, tỷ lệ chết là rất ít (0,001%).

- Vi khuẩn này sinh sản ở $5 \div 12^{\circ}\text{C}$.

- Là loại ưa mặn.

- Vi khuẩn này nhạy cảm với sự thanh trùng, nó không thể sống khi nhiệt độ bên trong của dụng cụ nấu đạt tới 60°C trong vòng $5 \div 6$ phút.

6.1.6.3. Các bệnh chính hay gặp

- Vi khuẩn này thường bị nhiễm vào từ các thực phẩm hoặc lây nhiễm qua các vết xước. Nó chịu trách nhiệm gần như toàn bộ các trường hợp ngộ độc từ hải sản. Trong các thực phẩm bị nhiễm, các tế bào xâm nhập lên hệ thống máu huyết và gây sốt sau $18 \div 36$ giờ, giảm mạnh huyết áp và làm suy gan. Trái với phần lớn các thực phẩm ngộ độc - nhiễm trùng khác, người nhiễm bệnh chỉ bị tiêu chảy và đau bụng nhẹ. Cần thiết phải nhập viện và theo dõi nhiều tuần lễ. Thường gây tử vong, chủ yếu là đối với những người đã có bệnh. Trong trường hợp đứt tay, trầy xước hoặc vết thương tiếp xúc với hải sản (ngao, sò, tôm, ốc) thì vi khuẩn tấn công rất nhanh, trong $4 \div 12$ giờ, gây các chứng đau dữ dội. Thường phải chữa bệnh bằng cách cắt bỏ đi phần nhiễm nặng.

- Người ta xác nhận rằng cần phải nhiễm một lượng lớn vi khuẩn này từ $10^4 \div 10^6$ thì mới mắc bệnh.

6.1.6.4. Thực phẩm chính hay nhiễm

Hải sản tươi sống hoặc gia nhiệt không đủ, nhất là sò, vẹm, sò đốm và con điệp. Vi khuẩn này lây lan tự nhiên từ nước muối vào hải sản. Nó không liên quan tới sự có mặt của phân trong nước. Người ta thường hay gặp chúng ở trong nước, khi mà nhiệt độ của nước vào khoảng 20 °C và nồng độ muối từ 5 ÷ 20%.

6.1.6.5. Biện pháp phòng ngừa

Nấu nướng kỹ và làm lạnh sâu hải sản. Tránh việc ăn các hải sản tươi sống hoặc gia nhiệt ít, chủ yếu là các động vật nhuyễn thể.

6.1.7. *Streptococcus spp.*

6.1.7.1. Khái quát chung

- Vi khuẩn loại này là nguyên nhân của các trường hợp truyền nhiễm mà mức độ rất khó đánh giá. Các tai nạn rủi ro có thể đến bất cứ lúc nào do sự lây nhiễm qua thực phẩm bởi các chất bài tiết từ mũi hoặc từ cổ họng của người và do cả sự kém vệ sinh của con người. Cảnh giác trong từng thao tác chế biến các thực phẩm.

- Tên của nó có nghĩa là “tròn vo, uốn được” (từ tiếng Hy Lạp Streptos).

- Vệ sinh tốt cơ thể cũng như việc nấu kỹ và làm lạnh đầy đủ các thực phẩm sẽ loại bỏ phần lớn sự lây bệnh, nhất là các bữa ăn trong gia đình, bữa ăn tập thể trong các quán ăn và các cơ quan, trong công nghiệp.

6.1.7.2. Đặc điểm của vi khuẩn

- Thành viên của họ *Streptococcaceae*, vi khuẩn này có hình cầu hoặc hình trứng. Thường phân bố thành từng chuỗi hoặc thành cặp, đường kính < 2 µm, Gram + và dạng vi sinh vật hiếu khí, nó sinh sản rất dễ dàng khi thiếu oxy (không có oxy). Các loại này được phân nhóm dựa theo tính kháng gen của chúng.

- Các liên cầu khuẩn nhóm D; hoặc liên cầu khuẩn của phân, ngày nay được xếp vào trong giống *Enterococcus* (xem trong bộ phận của loài vi khuẩn ít gặp). Nhiều loại được dùng nhiều trong lên men thực phẩm ngày nay được xếp trong giống *Lactococcus*.

- Một khối lượng lớn của vi khuẩn sẽ gây tử vong nếu bệnh kéo dài trong nhiều tuần lễ cũng như khi chúng được khai thác để làm kháng sinh.

- Với *Staphylococcus aureus*, các liên cầu khuẩn là các nguồn lây nhiễm quan trọng nhất qua không khí và da, một phần của chúng có thể truyền qua thực phẩm.

- Vi khuẩn này không chịu được sự thanh trùng, môi trường axit (pH từ 6,3), với kháng sinh và chất sát trùng.

6.1.7.3. Các bệnh chính do vi khuẩn

Một vài nhóm liên cầu khuẩn có thể được truyền qua thực phẩm, gây nên các chứng đau dạ dày và mùi hôi trong cổ họng. Khó mà đánh giá được mức độ hư hỏng thực phẩm gây ra do vi khuẩn này. Thường truyền bệnh do tiếp xúc với người bệnh, nhưng rất khó phân biệt. Ngày nay, nhiều tác giả cho rằng vi khuẩn này là một nguyên nhân gây ra sự hôi thối của thực phẩm.

- Nhóm A chỉ có duy nhất loài *Streptococcus Pyogenes* (từ tiếng Hy Lạp “Pyum” là mủ). Các β-hemolytiques của loài này nguy hiểm nhất của giống đó và tấn công chủ yếu lên trẻ em từ 5 ÷ 15 tuổi, nguyên nhân của bệnh tinh hồng nhiệt (từ tiếng Latinh Scarlaturs, màu hồng điều). Các triệu chứng chính của bệnh là đau họng, sốt, mẩn đỏ da, tiêu chảy và nôn mửa. Thông thường thì không có triệu chứng gì hoặc chỉ bị ốm nhẹ. Nó thường xuất hiện sau khoảng 12 ÷ 14 giờ và kéo dài từ 2 ÷ 3 ngày. Bệnh tinh hồng nhiệt chủ yếu được lây truyền qua cơ quan hô hấp và nó tồn tại trong cơ thể mang bệnh khoảng vài tuần, với triệu chứng duy nhất là đau họng. Sự lan truyền qua thực phẩm là rất ít, ngược lại nó chủ yếu lây truyền qua tiếp xúc giữa

mọi người. Trong những năm 1900 ÷ 1930, vi khuẩn này là nguyên nhân của nhiều cái chết và là nguyên nhân thứ hai của các ca ngộ độc - nhiễm khuẩn có nguồn gốc từ sữa, sau loại vi khuẩn *Salmonella Typhi*, trước *Corynebacterium diphtheriae*. Cơ thể người chính là nơi lưu trữ đầu tiên loại vi khuẩn này và có thể lây nhiễm từ bò sữa khi vắt sữa. Ngày nay, các thực phẩm được chế biến bằng tay, ví dụ như, các loại salad, có thể được lây nhiễm từ da hoặc họng của cơ thể mang bệnh.

- Nhóm C gồm loài *S.equisimilis*. Có nguồn gốc từ động vật và chủ yếu gây bệnh cho động vật, đôi khi là nguyên nhân gây bệnh viêm họng từ sản phẩm sữa không thanh trùng.

- Nhóm G gồm các liên cầu khuẩn rất hay gặp và có nguồn gốc từ người và nó đôi khi cũng là nguyên nhân của các chứng bệnh về yết hầu giống như ở liên cầu khuẩn nhóm A. Các loại salad có trứng hoặc gà đã bị nhiễm khuẩn trong khi vận chuyển hoặc khi nấu nướng hoặc từ người mang bệnh.

- Cần phải nhiễm một lượng lớn vi khuẩn ($\geq 10^6$) thì mới phát bệnh.

6.1.7.4. Thực phẩm lây nhiễm chủ yếu

* Các thực phẩm chế biến qua nhiều thao tác thủ công, ví dụ như, các loại salad có thịt hoặc có các sản phẩm sữa... Nhiều nguồn thường có trong cỗ họng người. Nếu các cơ thể mang bệnh hoặc các bệnh nhân tham gia chế biến thực phẩm thì nguy cơ truyền nhiễm tăng lên.

** Các sản phẩm từ sữa: các vi khuẩn này có thể tìm thấy trong các sản phẩm từ sữa do sự lây nhiễm từ con người.

6.1.7.5. Phương pháp phòng ngừa

- Vệ sinh của con người: Cách phòng chống tốt nhất là không cho người mang mầm bệnh hoặc ốm bằng một khẩu trang, ngăn không cho tiếp xúc với các thực phẩm. Vệ sinh con người cần phải áp dụng với tất cả các công nhân.

- Nấu nướng kỹ và làm lạnh sâu: các liên cầu khuẩn rất nhạy cảm với nhiệt và không sinh sản ở nhiệt độ thấp.

6.1.8. *Corynebacterium diphtheriae*

Vi khuẩn có dạng hình que thẳng, hoặc 2 đầu cong, 2 đầu tròn, kích thước (0,3 - 0,8) x (1 - 8) μm , Gram -, yếm khí tùy tiện. Tên xuất phát từ hình dạng, (theo tiếng Hy Lạp “coryne” là cái chùy) và các triệu chứng bệnh lý mà nó gây ra. Theo tiếng Hy Lạp “diphthera” có nghĩa là màng, thường thường các màng này sinh ra trong cổ họng người bệnh. Xét về yếu tố lịch sử, bệnh bạch hầu lây truyền từ người này sang người khác, điều kiện hiếm khi không phải do thức ăn như sữa, và tiếp theo là chính con người gây nhiễm. Vi khuẩn này chủ yếu tạo ra các loại ngoại độc tố. Chúng có khả năng chống chịu môi trường, có thể gây viêm vú ở bò sữa và nhiễm trùng bò sữa. Chúng tấn công trẻ em và rất nguy hiểm đến tính mạng.

Đây là loại vi khuẩn ký sinh bắt buộc trên cơ thể người và nhất là nằm trong họng. Chúng có thể trú ngụ lại trên cơ thể người sau khi ốm. Các triệu chứng sốt và đau bụng. Trước năm 1940, bạch hầu là căn bệnh rất nghiêm trọng, đến nay bệnh này hầu như không còn, nhất là từ khi thanh trùng sữa, và có những vacxin hiệu quả.

6.1.9. *Campylobacter jejuni*

6.1.9.1. Khái quát chung

- Được nghiên cứu từ năm 1980 và được biết đến như một vi khuẩn cơ hội. Gây bệnh truyền nhiễm động vật. Tồn tại trong phân của hầu hết các động vật và trong các sản phẩm tươi sống từ động vật (hoặc không đủ chín) như thịt gia cầm và các sản phẩm sữa. Cần lưu ý tới sự nhiễm tạp chéo giữa thực phẩm sống và chín đặc biệt khi vi khuẩn này gặp ít vi sinh vật cạnh tranh.

- Trong tiếng Hylạp, "Campylo" nghĩa là uốn khúc; " jejuni" nghĩa là " ruột non" trong tiếng Latin ; ruột chảy (đoạn ruột non sát dạ dày), đoạn thứ 2 của ruột non nối tiếp tá tràng là nơi rất dễ nhiễm vi khuẩn này.

- Để loại trừ tối đa các mối nguy hiểm cần chín hoàn toàn và làm nguội vừa đủ thức ăn, cách này phổ biến ở gia đình, trường học, nhà hàng hơn trong công nghiệp.

6.1.9.2. Đặc điểm của vi khuẩn

- Thuộc họ *Spirillaceae*, có hình que mỏng và uốn khúc thành hình xoắn, kích thước (0,2 - 0,5) x (0,5 - 5) μm , Gram – , hô hấp hiếu khí.

- Có 2 loại cùng thuộc tính là *Cam.jejunum* và *Cam.coli*, *Cam.fetus subsp.jetus* là loài vi khuẩn gây bệnh khác trong họ, nó gây nhiễm trùng máu nhưng ít khi nhiễm vào thực phẩm.

- Một vài loài *Campylobacter* có liên quan tới một vài trường hợp viêm dạ dày, ruột non từ thực phẩm, như sau khi dùng phải nước nhiễm tạp.

- Sống được khá lâu ở 4⁰C và ngừng sinh sản ở nhiệt độ dưới 25⁰C, nhưng chúng sinh sản vô cùng nhanh ở 42⁰C. Theo nhiều tác giả khả năng gây nhiễm trùng thực phẩm của chúng ngang với *Salmonella choleraesuis*. Bảo quản thực phẩm bằng phương pháp thay đổi áp suất ít có tác dụng kìm hãm vi khuẩn này.

- Hoạt động sống đòi hỏi môi trường giàu dinh dưỡng và đặc hiệu. Điều kiện tối ưu cho sinh trưởng rất đặc trưng đối với một vi khuẩn: pH = 5 - 8, t⁰ = 42⁰C, CO₂ = 10%, O₂ = 5%. Ngược lại rất khó phân lập chúng trong thí nghiệm và khó xác nhận chúng là nguyên nhân gây nhiễm trùng thực phẩm hay không.

- Rất nhạy với thanh trùng Pasteur (48⁰C), lạnh đông, sấy, muối (1 - 2%), không khí, phóng xạ, axit (pH <4,9). Kém cạnh tranh đối với các vi khuẩn khác như vi khuẩn lactic.

6.1.9.3. Bệnh thường mắc

- Rất dễ lây nhiễm từ thực phẩm, ngày càng gặp nhiều do lây nhiễm từ động vật, triệu chứng xuất hiện sau 2 - 5 giờ giống như gây bởi *Vibrio choleraesuis* và các chủng tiết nội độc tố như *Vibrio cholerae*. Bệnh kéo dài kể từ khi xuất hiện triệu chứng đầu tiên khoảng 2 - 5 ngày, đôi khi 10 ngày, bệnh viêm dạ dày-ruột non gây bởi *Cam.jejuni* dẫn đến 5 - 8 lần tiêu chảy (đôi khi 20 lần) trong ngày kèm theo sốt, đau bụng, nhức đầu. Chúng có thể xâm chiếm một phần ruột, gây mất máu. Hiếm khi xảy ra biến chứng khi đó vi khuẩn tấn công nhiều cơ quan nội quan và gây những bệnh nguy hiểm nghiêm trọng như viêm màng não. Đôi khi có triệu chứng viêm ruột thừa, gây tử vong (rất hiếm) trẻ em và người vốn đang bị bệnh. Ở các nước đang phát triển bệnh nhằm chủ yếu vào trẻ em và lây truyền chủ yếu do tiếp xúc với người hay động vật mang vi khuẩn, ở các nước công nghiệp hóa, sự lây truyền thường xuyên xảy ra do tiêu thụ thực phẩm có nguồn gốc động vật. Nhờ cải tiến kỹ thuật phân lập bệnh đã được chuẩn đoán chính xác.

Nhiễm một lượng nhỏ khoảng 500 tế bào cũng đủ để bị bệnh và những cơ thể bị bệnh không cần điều trị cũng có khả năng tự loại trừ vi khuẩn này trong khoảng 6 tuần.

6.1.9.4. Thực phẩm hay nhiễm

* Thịt tươi hoặc nấu không đủ chín đặc biệt thịt gia cầm, thịt bò thái lát. Vi khuẩn này thường có mặt trong phân động vật máu nóng, một tỷ lệ lớn trong số chúng mang bệnh. Sống nhiều nhất ở ruột gia cầm, lợn, bò, chim hoang dã, động vật nuôi trong nhà, chúng sinh sản nhanh trong ruột.

6.1.10. Các loài giống *Shigella*

6.1.10.1. Khái quát chung

- Đây là những vi khuẩn cơ hội, chúng lây bệnh khi nhiễm vào thực phẩm từ phân người bệnh, đó là do sự mất vệ sinh cá nhân trầm trọng. Nguyên nhân chủ yếu do thực phẩm chế biến bằng tay hoặc do nước nhiễm tạp và thực phẩm chế biến bằng nước này.

- Được gọi theo tên của nhà vi khuẩn học Nhật Bản: Shiga Kiyoshi, người đã phát hiện ra chúng vào năm 1898.

- Vệ sinh cá nhân cũng như nấu chín kỹ và bảo quản lạnh vừa đủ hạn chế được phần lớn các mối nguy hiểm. Cách này phổ biến cho gia đình, trường học hơn là trong công nghiệp.

6.1.10.2. Đặc tính của vi khuẩn

- Thuộc họ *Enterobacteriaceae*, hình que thẳng, kích thước (0,3 - 1) x (1 - 6) μm , Gram -, hô hấp yếm khí tùy tiện.

- Vật chất di truyền của vi khuẩn này giống với *E.coli*. Gồm 4 loài trong đó 3 loài đầu tiên gây triệu chứng nhẹ. *Shigella sonnei* gây hơn 60 % số trường hợp nhiễm trùng ở các nước khí hậu ôn hòa. *Shi.flexneri* gây 30% số trường hợp ở các nước đó và phần lớn các trường hợp của các nước đang phát triển. *Shi.boydii* hiếm và xuất hiện trước hết ở các nước nhiệt đới và các nước đang phát triển. *Shi.dysenteruae* gây bệnh nghiêm trọng nhất đặc biệt là chủng có loại vi khuẩn tiết độc tố protein, trước đây chúng thường có mặt ở các nước khí hậu ôn đới, hiện nay chúng lại xuất hiện chủ yếu ở các nước nhiệt đới đang phát triển.

- Nhiệt độ sinh sản 5 - 12⁰C

- Rất khó phân lập, chịu được 5 - 6 % muối, sống rất lâu trong môi trường và có khả năng chống chịu tốt với nhiều chất kháng sinh.

- Nhạy cảm với thanh trùng Pasteur, kém cạnh tranh với các vi khuẩn khác.

6.1.10.3. Bệnh thường gặp

- Shigellore là một bệnh nhiễm trùng thường từ nước, thực phẩm hoặc do tiếp xúc với tay người chế biến hoặc đồ vật. Bệnh hay gặp ở các nước đang công nghiệp hóa, xuất hiện nhiều nhất ở Châu Á và Trung Đông. Trẻ em hay mắc bệnh này, triệu chứng lâm sàng giống như bị gây bởi *Salmonella*. Các vi khuẩn xâm chiếm ruột già, sinh sôi và tạo độc tố ở đó. Với người trưởng thành bình thường triệu chứng xuất hiện khoảng 12 - 96 giờ và thường nhẹ, kèm đau bụng, tiêu chảy (3 - 5 lần trong ngày) nhưng không sốt. Bệnh hết sau 3 - 5 ngày.

Dạng bệnh nặng nhất là bệnh lỵ. Người ta còn gọi là bệnh bản vì nó luôn liên quan đến những điều kiện vệ sinh cá nhân kém, thường gặp ở các nước đang phát triển. Vi khuẩn xâm chiếm và tấn công rất mạnh vào ruột, đôi khi vào thận và phổi. Gây sốt cao, đau bụng liên tục và liên tục tiêu chảy nhiều máu. Triệu chứng này làm kiệt sức người bệnh, bắt đầu sau 2 - 3 ngày, kéo dài trung bình 2 - 3 tuần với những trường hợp nặng gây ra do chúng có loại kiểu *Shigella dysenteriae*. Các triệu chứng này giống như do *E.coli* xâm nhập vào ruột. Mất nước là nguyên nhân chính gây tử vong rất cao đối với trẻ em dưới 4 tuổi cũng như đối với những người bệnh bị suy giảm miễn dịch (người mắc bệnh SIDA và người cao tuổi). Người bệnh phải được chăm sóc và điều trị kịp thời, tuy nhiên cần chú ý giảm thiểu việc sử dụng kháng sinh nếu không sẽ gây tình trạng kháng thuốc. Người bị bệnh có thể còn mang vi khuẩn nhiều năm sau.

Rất hiếm khi xảy ra biến chứng trầm trọng (tổn thương thận) và để lại di chứng (viêm khớp). Chỉ cần nhiễm vào thực phẩm rất ít vi khuẩn 10 - 100 tế bào có thể bị bệnh.

6.1.10.4. Thực phẩm dễ nhiễm

Các thực phẩm chế biến thủ công, đặc biệt các thực phẩm phải tiếp xúc với tay nhiều như món salad từ khoai tây, cá ngừ, mỳ ống, gà hoặc các sản phẩm sữa. Nguy cơ lây truyền sẽ xảy ra đến khi mang hoặc người mang mầm bệnh hiặc đang bị bệnh tham gia chế biến thức ăn,

nhất là những thực phẩm này đã qua thanh trùng Pasteur và sau đó không xử lý nhiệt nữa. Nguy cơ gây nhiễm trùng thực phẩm cũng xảy ra sau khi để thực phẩm lâu ở nhiệt độ thường.

Sự lây nhiễm vi khuẩn vào thực phẩm luôn xảy ra hầu như do tay người nhiễm phân. Vi khuẩn thường có mặt trong ruột người, vì thế sự lây truyền thường xảy ra do các thực phẩm mà thường do từ tay người hơn bằng con đường truyền từ phân tới miệng. Do vậy sự nhiễm tạp thực phẩm bởi vi khuẩn này cho thấy sự thiếu vệ sinh cá nhân và thiếu không gian thông thoáng. Ví dụ: khi có đám đông tập trung (trại hè, trường học, cộng đồng chung cư nghèo và nhà giữ trẻ). Vấn đề càng trầm trọng hơn ở các nước đang phát triển. Chỉ cần nhiễm một ít vi khuẩn cũng đủ mắc bệnh.

6.1.10.5. Biện pháp phòng ngừa

- Vệ sinh cá nhân cẩn thận: ví dụ rửa tay sạch bằng xà phòng sau khi đi cầu. Không cho phép người bệnh tiếp xúc hoặc chế biến thức ăn, ngay cả khi chỉ bị tiêu chảy nhẹ.

- Nấu chín kỹ và làm lạnh đủ các thức ăn. Vi khuẩn này nhạy với thanh trùng nhưng nguy cơ nhiễm trùng thực phẩm tăng lên khi thực phẩm nhiễm tạp bị bỏ lâu ở nhiệt độ thường cũng như trong điều kiện lạnh.

- Khử trùng nước bằng Clo, thường dùng ở các nước đang phát triển. Biện pháp này hạn chế được một phần các mối nguy hiểm nhưng không nên quên rằng vi khuẩn sống sót nhiều tuần trong nước và trong môi trường.

6.1.11. Vi khuẩn *Cl. botulinum*

6.1.11.1. Đặc tính chung

- Thuộc loài trực khuẩn có khả năng sinh bào tử, vi khuẩn này có hình que thẳng có kích thước $(0,5 - 1,5) \times 5 \mu\text{m}$, nhuộm màu Gram + và yếm khí. *C.botulinum* có khả năng hình thành bào tử. Tên "Clostridium" xuất phát từ tiếng Latin "Closter" có nghĩa là "con thoi" có liên quan tới hình dạng tế bào. Tên chủng cũng xuất phát từ tiếng Latin "botulus" có nghĩa là "xúc xích dòi" vì những trường hợp bệnh do *C.botulinum* gây ra đầu tiên có liên quan mật thiết tới loại thức ăn này ở trung tâm châu Âu vào khoảng năm 1000.

- Người ta đã biết 7 dạng *C.botulinum* được sắp xếp theo độc tố thần kinh chiếm ưu thế của chúng (từ A → G). Vi khuẩn nói chung có thể sản xuất đồng thời nhiều loại độc tố. Con người có thể bị tác động bởi các độc tố A, B, E và F. Các độc tố E và F cũng được sinh ra bởi các loài vi khuẩn khác như là *C.butyricum* và *C.barati*.

- Các chủng vi khuẩn này cũng được sắp xếp theo hoạt tính thủy phân protein:

1. Các chủng thủy phân protein bao gồm tất cả các vi khuẩn tạo ra các độc tố A và một số chủng B và F. Đó là những chất độc nhất trừ vi khuẩn kiểu F. Các vi khuẩn thủy phân protein chịu được nồng độ muối tới 10% và hoạt độ của nước A_w là 0,94. Các vi khuẩn này trước hết có mặt trong đất và được gắn vào các loại rau quả và thịt.

2. Các vi khuẩn không thủy phân protein bao gồm tất cả các vi khuẩn sản xuất các độc tố E và một số vi khuẩn kiểu B và F. Chúng chịu được nồng độ muối tới 5% và hoạt độ của nước là 0,97. Các vi khuẩn này trước hết có ở các vùng Bắc Âu, trong đá trầm tích ở biển, các nơi ẩm ướt và có trong các sản phẩm biển.

- Vi khuẩn này sinh sản ở $5 - 12^{\circ}\text{C}$, sống sót lâu trong nước, môi trường và chống chịu được với nhiều chất kháng sinh. Tiêu hóa lượng nhỏ vi khuẩn có thể bị bệnh.

6.1.11.2. Những điểm cần chú ý

- Các chất độc: vi khuẩn này sản xuất các độc tố cực kỳ nguy hiểm chịu được điều kiện lạnh đông. Các chất độc này được sản xuất trong khi phân chia tế bào nhưng trước hết được giải phóng trong quá trình tiết ra của tế bào. Để đánh giá sự có mặt của độc tố của *C.botulinum* cần phải nghiên cứu mùi khó chịu và sự sinh khí. Điều đó dễ dàng hơn với các vi khuẩn thủy

phân protein trong các thực phẩm ít chua, các thực phẩm giàu protein. Tuy nhiên trong trường hợp các thực phẩm chứa ít protein, các vi khuẩn thủy phân hoặc không thủy phân protein vẫn sinh mùi, nhưng không phải lúc nào cũng sinh khí.

- Nhiệt độ làm lạnh: các vi khuẩn không thủy phân protein có thể sản xuất các chất độc ở 5 - 12⁰C và có thể ở 3⁰C nhưng thường xảy ra ở 10⁰C và nhiều nhất ở 26⁰C.

- Chịu nhiệt chống bức xạ và tách nước: các bào tử sống sót rất lâu trong môi trường và chống chịu tốt trong điều kiện lạnh đông và sấy. Trong số những vi sinh vật gây bệnh có thể sinh bào tử, bào tử của các vi khuẩn thủy phân protein chịu nhiệt tốt nhất (20 - 25 phút ở 100⁰C hay 2,4 phút ở 121⁰C) chịu bức xạ tốt nhất (2 - 5 giây).

- Sự loại không khí: việc loại không khí khỏi bao gói thực phẩm thúc đẩy sự sinh sản của vi khuẩn. Dầu rằng *C.botulinum* yếm khí nhưng nếu có một lượng nhỏ không khí vẫn cho phép nó tăng trưởng.

- Nồng độ muối: Các vi khuẩn không thủy phân protein chịu được nồng độ muối 5%, còn các vi khuẩn thủy phân protein chịu được 10%.

- Nhiệt độ: Các chất độc bị vô hoạt bởi nhiệt (20 phút ở 79⁰C hoặc 5 phút ở 85⁰C) nhưng đảm bảo hơn nếu đun nóng thực phẩm ở 100⁰C trong 5 - 15 phút. Các bào tử của các vi khuẩn không thủy phân protein nhạy cảm với thanh trùng Pasteur (không quá 6 giây ở 100⁰C).

- Các chất kìm hãm: sự sinh sản và sản xuất độc tố của vi khuẩn bị kìm hãm bởi nhiều yếu tố, trước hết đó là tại pH < 4,6 (đối với các vi khuẩn thủy phân protein) hoặc pH < 5 (các vi khuẩn không thủy phân protein) NaNO₂, các muối ascorbat, polysorbat, các vi khuẩn lactic.

6.1.11.3. Các loại bệnh chính

- Bệnh bại liệt là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm. Ở Canada người ta thấy có khoảng 10 trường hợp mỗi năm mà trong đó một hoặc hai trường hợp chết. Ngoài khả năng truyền nhiễm bệnh do các vết thương, người ta biết được vài thể bại liệt:

+ Bại liệt cổ điển: thường gặp ở người trưởng thành. Chất độc có trong thức ăn, qua đường ruột rồi nhanh chóng đi vào máu để xâm nhập vào tất cả các cơ quan mà trước hết là hệ thần kinh. Khó chữa trị, bệnh có thể không trầm trọng hoặc có thể gây chết, các triệu chứng xảy ra bởi sự ngăn chặn truyền các xung thần kinh và gây tê liệt. Các triệu chứng này có thể xuất hiện sau 12 - 36 giờ, thường kéo dài 1 - 2 ngày thậm chí một tuần với các triệu chứng loạn thị giác, nôn mửa, đau vùng thắt lưng, khó thở rồi thành bại liệt. Thường gây tử vong do tê liệt hệ thống hô hấp và tim. Cần tìm liệu pháp kháng độc kịp thời, những trường hợp ngộ độc nhẹ cần phải được chuyển đến bệnh viện trong khoảng 2 - 3 tuần. Những người sống sót (bị ngộ độc nặng) có thể bị bại liệt một phần trong 6 - 8 tháng.

+ Bại liệt trẻ em: thường gặp ở trẻ em dưới 1 tuổi và chỉ được biết vào cuối những năm của thập kỷ 70. Do ăn phải thức ăn chứa các bào tử có sự tăng trưởng tế bào và sản sinh các chất độc trong ruột, trước tiên là các vi khuẩn thủy phân protein kiểu A và B. Các triệu chứng là táo bón, ăn mất ngon, suy yếu cơ và những trường hợp nghiêm trọng sẽ gây bại liệt cơ kèm theo những vấn đề hô hấp. Bệnh nhân có thể mắc bệnh thể vừa hoặc có thể gây tử vong.

- Người ta thấy rằng sự có mặt một lượng nhỏ vi khuẩn cũng có thể gây bệnh trước hết lưu ý đến bại liệt trẻ em bị gây ra bởi một lượng nhỏ bào tử. Ngược lại sự hình thành những nồng độ độc tố gây tử vong nói chung được thực hiện sau một quá trình sinh sản quan trọng các tế bào.

6.1.11.4. Các bệnh chính

- Sự bảo quản rau quả: phần lớn các trường hợp gây bại liệt là từ các loại rau quả nhất là các loại có độ axit thấp (nấm, ngô, đậu, táo không chua và các loại khác) được bảo quản tại nhà, không đun nóng lại sau khi mở gói. Một số trường hợp ngộ độc thực phẩm cũng xảy ra do một vài chế phẩm rau quả như tỏi bảo quản trong dầu hoặc hành bảo quản trong margarine.

Ngâm quả trong các chất béo lâu không phải là một phương thức an toàn để bảo quản chúng. Vi khuẩn có mặt trong đất thường xuyên tiếp xúc với rau quả, nếu các thực phẩm không được đun đủ nóng hoặc không được chế biến theo kiểu đặc biệt thì vẫn có thể gây ra độc. Chẳng hạn như người ta quan sát sự hình thành chất độc của khoai tây được đóng gói bằng giấy nhôm và để trong vài ngày ở nhiệt độ thường, các thực phẩm này sau đó được sử dụng để làm salad đã gây ra ngộ độc. Trong trường hợp này điều kiện yếm khí có thể đủ để thúc đẩy sự sinh sản tế bào và sản xuất độc tố.

2. Các sản phẩm biển: ở Canada phần lớn các trường hợp bại liệt xảy ra với các sản phẩm bị nhiễm các vi khuẩn kiểu E. Nhưng trường hợp đáng kể nhất là đối với người bản địa, ở đây nguy cơ bại liệt cao hơn 1000 lần so với dân ở nơi khác.

Những lượng nhỏ vi khuẩn sinh độc tố kiểu E. thường có trong nước và đá trầm tích ở biển, mưa ở vùng khí hậu ôn hòa, nhưng hiếm ở trong vùng nhiệt đới. Các vi khuẩn kiểu E. sống sót rất lâu trong nước và thường có ở những sản phẩm biển. Các vi khuẩn kiểu R. rất cần chú ý, trước hết là ở Nhật Bản nơi thường tiêu thụ những sản phẩm biển thô sống. Các chủng vi khuẩn này sinh sản và hình thành các chất độc ở nhiệt độ thấp hơn 3,3⁰C ngay cả khi có nồng độ muối từ 5 - 7%. Chúng không thủy phân protein do đó khó phát hiện những hợp chất gây mùi khó chịu trong thực phẩm.

Về mặt lý thuyết, việc dùng các phương pháp bao gói dưới áp suất thay đổi để loại bỏ O₂ cũng có thể không thể áp dụng với vi khuẩn thuộc loại yếm khí. Bởi vậy, kỹ thuật này ít được áp dụng hay bảo đảm với việc bảo quản các sản phẩm biển. Chế độ thanh trùng Pasteur thích hợp những sản phẩm biển có thể loại bỏ những nguy cơ ngộ độc và phá hủy các bào tử của các vi khuẩn kiểu E.

Người ta quan sát những trường hợp ngộ độc do các thực phẩm đặc biệt như trứng cá lên men, thịt sống hay bán chín của các động vật biển có vú, thịt hải sản lên men bởi các vi khuẩn lactic làm cho pH của chúng có thể được giảm xuống.

3. Bảo quản thịt: các bào tử của *C.botulinum* có trong đất và đá trầm tích biển nhưng cũng có trong ruột của động vật có vú và các loài chim là những nguồn cuối cùng lây sang những cơ thể khỏe mạnh sau khi ăn những thức ăn bị nhiễm một lượng nhỏ vi khuẩn hay bào tử của *C.botulinum*. Đối với việc bảo quản các sản phẩm như jambon, xúc xích... xử lý nhiệt ít sử dụng hơn việc sử dụng các chất bảo quản. Bổ sung NaNO₂ và muối tham gia vào việc kìm hãm sự sinh sản tế bào. Các loại xúc xích lên men, hạ nhanh pH để kìm hãm các vi khuẩn và sự sinh độc tố, kết hợp với sự hạ thấp hoạt độ của nước trong thực phẩm rất có hiệu quả.

4. Một số loại thực phẩm khác cũng liên quan đến ngộ độc thực phẩm. Do có các ấu trùng hoặc các bào tử của vi khuẩn. Một vài trường hợp trẻ em dưới 1 tuổi tử vong do bại liệt đã được ghi nhận có liên quan đến loại thực phẩm này, dạ dày của trẻ em chưa đủ độ axit để phá hủy các bào tử *C.botulinum*.

5. Các thực phẩm được bảo quản lạnh: nếu các thực phẩm này không được đun kỹ hay bảo quản không tốt thì chúng là nguồn gốc của các trường hợp ngộ độc. Ví dụ: Các loại trứng dùng trong lễ phục sinh luộc lòng đào và các loại thịt bao gói chân không có thể thúc đẩy sự xuất hiện những trường hợp bại liệt mới.

Đặc biệt nếu những người sản xuất hay những người sử dụng dường như lãng quên việc làm lạnh hay đun nóng các thực phẩm này. Nếu thực phẩm không được nấu chín đóng bao hay nếu chúng được nấu chín nhưng không được bao gói lập tức thì nguy cơ lây nhiễm giữa thời điểm nấu chín và thời điểm bao gói càng tăng lên.

6. Các sản phẩm sữa: các chế phẩm pho mát nấu chảy mà pH < 5 nhất là những thực phẩm có hàm lượng ẩm cao. Các thực phẩm này được thanh trùng Pasteur có thể là những môi trường nuôi cấy lý tưởng cho vi khuẩn.

6.1.11.5. Các biện pháp phòng ngừa

- Đun nóng và làm lạnh đầy đủ các thực phẩm: để vô hoạt các chất độc và các bào tử *C.botulinum* cần phải làm lạnh nhanh chóng và nấu chín hoàn toàn thực phẩm. Đun sôi thức ăn trong 5 - 15 phút ngay trước khi sử dụng đủ để phá hủy các độc tố. Các thức ăn hay thức ăn thừa quá cũ cần phải vất bỏ. Các ca bại liệt cổ điển trước kia thường gây nên do sự cấu thả của con người khi dùng một loại thực phẩm đã để quá lâu và không được nấu lại.

Trong phần lớn các thực phẩm, vi khuẩn chỉ bị kim hãm chứ không bị tiêu diệt, nhất là đối với các sản phẩm đóng hộp có độ axit thấp hay các loại thịt ngâm nước mắm, sự tiệt trùng thương mại các đồ hộp (với pH > 4,6) được định nghĩa bởi sự vắng mặt của các tế bào hay bào tử botulinique, pH này được xem như một yếu tố kim hãm sinh sản của tế bào. Cần phải giám sát sự kim hãm sinh sản của tế bào, sự hình thành mùi vị khó chịu, sự trương phồng hay phá hủy hộp trong quá trình bảo quản. Những chỉ số sinh sản của vi khuẩn sinh khí trong điều kiện yếm khí chứng tỏ sự tiệt trùng hoàn toàn hay sự lây nhiễm sau thanh trùng Pasteur chẳng hạn như trong quá trình làm lạnh các loại đồ hộp sau khi xử lí. Cần phải nhớ rằng một số vi khuẩn không thủy phân protein không gây mùi khó chịu trong đồ hộp.

6.1.12. Những loài khác của *Pseudomonadaceae* và *Nasseriaceae*

Tồn tại những vi khuẩn gây bệnh trong cơ thể làm suy giảm hệ miễn dịch, nó giống như chủng *Pseudomonas*, hình que hoặc hình cầu, tất cả là Gram – và hiếu khí.

Ví dụ: *Pseudomonas aeruginosa* và một vài loài *Alcaligenosa* đôi khi là nguyên nhân gây bệnh viêm màng ruột. *Pseudomonas cocovenenans* sản xuất ra những độc tố gây chết người, các độc tố này rất bền vững khi thanh trùng Pasteur. Ngộ độc này đặc biệt với bongkrek (bò đào lên men) một món ăn phổ biến ở một số nước châu Á. Vi khuẩn sản xuất ra bongkrek có thể gây co giật. Hơn nữa, *Flavobacterium farinofementant*, một loài mà danh pháp của nó không được thừa nhận nhưng nó có những tính chất gần với loài *Pseudomonadaceae* cũng sản xuất ra axit này trong bột ngô lên men, một thực phẩm được tiêu thụ mạnh ở Trung Quốc.

Một vài vi khuẩn thuộc họ *Neisseriaceae*, *Acinetobacte spp* và *Moraxella spp* cũng có thể gây rối loạn tiêu hóa. Hơn nữa có thể có một vài chủng thuộc họ *Moraxella spp*, những tảo kiểu *Alexandrium spp* sản xuất ra các độc tố phân hủy sản phẩm tổng hợp, *Alexandrium spp* cũng có trong hải sản.

6.1.13. Những loài khác của *Vibrionaceae*

Các loài này có dạng hình que thẳng hoặc cong, Gram –, yếm khí tùy tiện, những vi khuẩn này là một phần của họ thuộc các giống *Vibrio*, *Cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* và *Vibrio vulnificus*, giống *Vibrio* ít gặp. Chúng có ở trong nước và đôi khi ở những sản phẩm biển bị nhiễm phân. Loài không ưa muối *V. mimicus* gây ra tiêu chảy nhẹ sau khi dùng hải sản.

Đây là danh sách những loài ưa muối nghi ngờ: *V. alginolyticus* nhiễm trùng hầu hết các bộ phận cơ thể và gây tiêu chảy; *V. damsela* một vi sinh vật gây bệnh cho cá, nhiễm trùng vào người từ những vết trầy xước; *V. fluvialis*, *V. hollisae*, *V. furnissii* và *V. metschnikovii* có thể gây tiêu chảy và dịch tả; có thể gây tiêu chảy.

6.1.14. Những loài khác gây bệnh cho súc vật

Những zoonoses là những bệnh của động vật có thể truyền cho người, nó đã tồn tại hơn 150 năm qua, phần lớn những bệnh này ít gặp ở những nước công nghiệp phát triển. Tuy nhiên không thể quên rằng có rất nhiều vi khuẩn gây bệnh nguy hiểm cho súc vật. Ví dụ: *Salmonella choleraescus*, *Campylobacter Jejuni* và *Yersinia enterocolitica*.

6.1.14.1. *Bacillus anthracis*

Tên Latinh của nó là anthrax hoặc than, gây nhiễm trùng da, làm cho da bị đen và phù. Vi khuẩn này tạo bào tử gây bệnh than, người bệnh rất đau đầu và gây bệnh cho động vật ăn cỏ. Bệnh hiếm khi truyền qua thực phẩm mà thường qua các vết xước ngoài da, xâm nhập vào

các tế bào hoặc bào tử. Các bác sĩ thú y, người chọn len và những người vận chuyển da hay thực hiện những công đoạn bằng tay từ các con thú mắc bệnh rất dễ bị nhiễm bệnh. Hậu quả lan truyền rất rộng, nó gieo rắc một số rất lớn bào tử trong đất và nước. Bào tử tồn tại được khi thanh trùng và chất khử trùng, sống được thời gian dài trong môi trường.

Phát bệnh ngay sau khi dùng thịt sống hoặc chưa nấu chín của động vật mắc bệnh. Những triệu chứng như đau đầu, tiêu chảy ra máu và nôn mửa ra máu. Bệnh lộ rõ từ 2 đến 3 ngày sau khi nhiễm khuẩn và sẽ kết thúc sau vài ngày. Nó thường gây chết người, nếu vi khuẩn xâm nhập vào máu với tỷ lệ chết từ 25 đến 75%, đã có vaccin công hiệu.

6.1.14.2. *Brucella spp*

Loài vi khuẩn này có hình cầu, Gram -, kích thước (0,5 - 1,5) x (0,5 - 0,7) μm , hầu hết có thể gây nên bệnh truyền nhiễm giữa súc vật và người. Nó là bệnh dịch địa phương (lebasin) của vùng biển Địa Trung Hải, và bán đảo Arabe, tên của vi khuẩn này được đặt bởi ông David Bruce, một bác sĩ người Mỹ, đã phát hiện ra nó vào năm 1887 trên đảo Malte. Bệnh này cũng được gọi là "Fièvre de Malte" (bệnh đau đầu Địa Trung Hải), do gây sốt cao. Đối với động vật, *Brucella spp* gây sảy thai và không sinh sản được, những chủng *Brucella* khác nhau thường nhiễm bệnh cho những động vật khác như: *B. abortus* (bò sữa), *B. suis* (lợn) và *B. melitensis* (cừu cái và dê cái), và người. Ngày nay người ta tính được mỗi năm trên thế giới có khoảng 50 000 trường hợp, hầu hết ở những nước đang phát triển và những nước vùng nhiệt đới. Những công nhân của nhà máy chế biến thịt, nhất là làm những công việc có tính chất thủ công và cũng có thể bị nhiễm từ không khí. Những vi khuẩn này cũng được tìm thấy trong sữa nếu nó bị nhiễm từ tử cung của bò sữa mang thai và vú của những động vật gây bệnh có thể nhiễm vào sữa của nó từ nhiều năm. Fomat không thanh trùng hay thịt sống là những môi trường phù hợp cho nhiều loại vi khuẩn, nó ít có khả năng tồn tại trong fomat lên men kéo dài trong 3 tháng. Nó có trong salad và fomat thịt.

Đối với con người, sau thời gian ủ bệnh từ 1 đến 3 tuần, người bệnh có thể mắc bệnh nhẹ hoặc chuyển thành nặng, triệu chứng biểu hiện như đau đầu, ngất xỉu, hay nổi cầu, trầm uất và đôi khi bị viêm não hoặc viêm màng não, kéo dài nhiều tuần hoặc nhiều tháng và có thể tái diễn, nhưng cũng đã có vaccin công hiệu cho bệnh này. Trái với động vật, bệnh này không lây.

Brucella spp nhạy cảm với quá trình thanh trùng nhưng có thể sống tốt trong môi trường đông lạnh hoặc mất nước.

6.1.14.3. *Chlamydia psittaci*

Là loài ký sinh trùng bắt buộc trên tế bào sống, vi khuẩn này có tên là *Chlamydia* (màng cứng) và *Psittakos*. Nó nhiễm vào hầu hết các loài chim và từ đó truyền nhiễm cho người. Thường gây những bệnh về phổi. Bệnh thường gặp ở những nhân viên nhà máy nuôi gia cầm. Vì tính chất sinh sống của loài chim nên nó trở thành nguồn truyền bệnh.

Vi khuẩn có thể nhiễm vào thực phẩm bị bắn bởi phân. Những triệu chứng của bệnh thay đổi từ nhẹ đến nặng, sau một thời kỳ ủ bệnh từ 1 đến 2 tuần, bệnh đột nhiên xuất hiện với triệu chứng đau đầu, đau mỏi cơ thể và ho. Những triệu chứng này kéo dài từ 7 đến 10 ngày, trong trường hợp nghiêm trọng có thể gây tử vong, làm suy phổi và có những triệu chứng thay đổi như tiêu chảy, mất ngủ, ngất và mất cân bằng.

6.1.14.4. *Coxiella burnetii*

Vi khuẩn này gây bệnh đau đầu hoặc sốt Q tức là "Query", bởi vì người ta không biết được nguyên nhân của căn bệnh này. Tên là "Rickettsie de burnet", *Coxiella burnetii* là một loài trong họ *Rickettsiaceae* và là một loài ký sinh trùng bắt buộc trên tế bào sống. Tên "rickettsie" xuất phát từ Howard Taylor Ricketts, người phát hiện bệnh sốt do chảy rận. Tên *Coxiella burnetii* do hai nhà virus học Herold R. Cox (người Mỹ) và ông Frank Mac Farlane Burnet (người Úc) nghiên cứu ra. Loài duy nhất thuộc giống này là vi khuẩn rất nhỏ (0,2 -

0,4) x (0,4 - 1) μ m, ít nhạy cảm hơn với thanh trùng Pasteur so với các vi sinh vật khác không tạo bào tử và rất bền vững với các tác động hóa lý của môi trường, nó thường nhiễm vào động vật. Khi dùng thực phẩm thịt, sữa bị nhiễm tạp là nguyên nhân chính gây bệnh cho người. Trong thực tế, vi khuẩn tấn công phần lớn vào những người tiếp xúc với loài thú, người mang bệnh thường không trầm trọng và không có triệu chứng nhưng có lúc gây ra đau đầu trầm trọng, nó xuất hiện đột ngột sau 2 đến 4 tuần, kéo dài từ 1 đến 2 tuần. Những triệu chứng giống với sự nhiễm trùng bởi vi khuẩn, sự truyền bệnh giữa người với người là rất hiếm.

6.1.14.5. *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Đây là loại vi khuẩn gây nên bệnh viêm ở các loài cá ăn được. Triệu chứng của bệnh như lồng ngực bị tấy đỏ và đau. Bệnh này hay gặp ở lợn và cũng có thể gặp ở những loài động vật khác như gà tây. Tên của vi khuẩn xuất phát từ *Crysipelas* (trở thành đỏ) đó là một bệnh hay thấy ở những người làm trong nhà máy thịt (chủ yếu là thịt lợn) và những sản phẩm biển. Nói chung nó thường truyền qua các vết thương ở cánh tay và những ngón tay.

Đôi khi nhiễm từ thực phẩm bị nhiễm phân lợn, hiếm khi vi khuẩn này gây bệnh viêm màng tim, một số ít trường hợp là do dùng cá hun khói.

Nó nhạy cảm với thanh trùng Pasteur, nhưng sống được rất lâu trong môi trường và có thể tồn tại khi muối thực phẩm.

6.1.14.6. *Franasella tularensis*

Vi khuẩn này được phát hiện vào năm 1911 trong vùng đất của Bá tước Tulare ở California và đã được gọi theo tên ông Edward Francis người có công phát hiện ra loài vi khuẩn này. Nó gây ra bệnh truyền nhiễm của thỏ sang người, một bệnh của những động vật hoang (la lière) như thỏ, hải ly, chuột nhà, cây hương, chuột đồng, chuột rừng và cừu.

Đối với con người, vi khuẩn truyền theo nước bắn vào mắt, hoặc khi tiếp xúc với động vật mắc bệnh. Bình thường không có triệu chứng, ruột thì bị nặng bắt đầu khoảng sau 3 đến 5 ngày (1 đến 10 ngày) và giống như bệnh thương hàn với đau đầu nhiều, rồi vi khuẩn nhiễm vào vùng yết hầu, tỉ lệ chết khoảng 7% nhưng có thể lên tới 40 - 60% nếu bệnh không giảm theo thời gian.

Đối với con người, nguồn thực phẩm của vi khuẩn này là nước bị nhiễm phân hoặc xác động vật chết và còn có thịt sống hoặc chưa nấu chín của những động vật hoang bị nhiễm khuẩn. Những người săn bắt đánh bẫy thỏ rừng và những làm công việc trong nhà máy chế biến thịt càng nguy hiểm hơn, cần uống thuốc có vi khuẩn bị yếu với nồng độ khoảng 10^8 tế bào cho một người bệnh. Có thể bắt gặp bệnh này trên hầu khắp vùng bán cầu bắc. Vi khuẩn này tồn tại tốt trong điều kiện mất nước trong cơ thể và có thể sống tốt trong môi trường.

6.1.14.7. *Leptospiro interrogans*

Tên *Leptospiro* có nghĩa từ "serpentis mince". Nguồn gốc *interrogans* đã là thành viên của nhóm vi khuẩn nó đặt ra một điểm nghi vấn cuối của chúng có móc, sau này tên này đã được khẳng định và làm sáng tỏ những khó khăn của lớp vi khuẩn này.

Đối với động vật, nó gây nên những bệnh rất phổ biến trên thế giới ít động chạm đến con người. Nhiều loài vật hoang là vật mang bệnh, đặc biệt là những loài gặm nhấm nhưng cũng có những động vật nuôi trong nhà như lợn và những loại động vật nhai lại. Nhìn chung, sự truyền bệnh xảy ra bởi nước tiểu của động vật mang bệnh, nước có chứa nước tiểu hoặc có những vết xước chạm đến nước tiểu và phân chuồng bị nhiễm tạp. Những bác sĩ thú y, người chủ nông trại, người thu hoạch lúa, mía đường, đến những nhân viên chế biến thịt càng có khả năng mắc phải những loại vi khuẩn. Nó có thể sống được trong thời gian dài ở nước, ví dụ trong hồ ao, ruộng lúa. Những động vật này thường mang bệnh.

Ít trường hợp thực phẩm bị nhiễm tạp khi dùng vi khuẩn không chịu được axit của dạ dày, cho nên nó thường gây tổn hại cho ruột và xâm nhập vào các cơ cấu của miệng hoặc

cuồng hống, nó cũng xâm nhập vào máu và gây ngất xỉu, ho hoặc đau đầu. Thường thì không có triệu chứng, bệnh có thể gây nguy hiểm khi tiêu thụ thịt sống hoặc chưa nấu kỹ những động vật hoang dã nhiễm khuẩn. Vi khuẩn này nhạy cảm với thanh trùng Pasteur.

6.1.14.8. *Mycrobacterium bovis*

Vi khuẩn này có một lịch sử quan trọng và nó giống như bệnh lao của loài bò, bệnh bắt buộc phải thông báo ở Canada. Tên của vi khuẩn này đều theo hình dáng của vi khuẩn "petites bourses" trong những cơ cấu nhiễm khuẩn. Tên mycro được đưa ra nguyên nhân là sự phát triển nhanh của vi khuẩn có tế bào của những khuẩn lạc trong môi trường nuôi cấy trong phòng thí nghiệm, khuẩn lạc của nó giống như khuẩn lạc của nấm mốc.

6.1.15. *Aeromonas hydrophila*

6.1.15.1. *Khái quát chung*

– Loại vi khuẩn cơ hội này gây ra sự nhiễm trùng và thường tấn công vào những người ăn hải sản sống hoặc những thực phẩm không được nấu chín kỹ. Vi khuẩn này thường có mặt trong nước muối và một phần của hệ vi sinh vật ruột cá. Nó có thể được lan truyền qua phân người. Tên "Aeromonas" có nghĩa là tạo khí ; "hydrophila" có nghĩa là thích nước.

– Sự nấu chín hoàn toàn và làm lạnh đầy đủ các loại thực phẩm đã làm hạn chế phần lớn nguy cơ này, đặc biệt cần chú ý những bữa ăn tập thể trong gia đình, khách sạn, cơ quan và ngay cả trong sản xuất công nghiệp.

6.1.15.2. *Đặc tính chung*

- Là thành viên của họ *Vibrionaceae*, vi khuẩn này có dạng que thẳng với phần đầu hình tròn hoặc hình cầu, kích thước (0,3 -1) x (1- 3,5) μm , là loại Gram – và yếm khí tùy tiện.

- Đó là một loại vi khuẩn cơ hội, khó có thể xác nhận nó là tác nhân duy nhất gây nhiễm độc thực phẩm, bởi vì những loại vi sinh vật gây bệnh khác cũng thường được phát hiện cùng một lúc.

- Vi khuẩn này phát triển ở nhiệt độ thấp, khoảng 5°C. Nó chịu được nồng độ muối 2 - 4% và khoảng pH = 4 -10

- Chúng bị tiêu diệt bởi các quá trình chuyển hóa thực phẩm và nhạy cảm với thanh trùng Pasteur. Chất độc của chúng đôi khi có thể tồn tại đến quá trình xử lý cuối cùng nhưng người ta chưa xác định được mức độ nguy hiểm của độc tố ở giai đoạn này.

6.1.15.3. *Các bệnh chính gây ra*

Chúng là nguyên nhân của sự nhiễm trùng và bệnh ia chảy, nó nhằm vào những nhóm người sau: trẻ em dưới 7 tuổi, người già trên 60 tuổi, người miễn dịch kém và khách du lịch. Phần lớn những triệu chứng xuất hiện sau 1 ngày, kéo dài một vài tuần. Bệnh nhẹ giống như bệnh dịch tả, kèm theo tiêu chảy, có khi gây sốt và nôn mửa. Có khoảng 25% trường hợp bệnh giống như bệnh lỵ, nhưng triệu chứng nặng hơn, đi ngoài ra máu, đó là do vi khuẩn xâm nhập vào ruột. Hiếm khi thấy có những biến chứng trầm trọng (như bệnh viêm phế quản, phổi).

Số lượng vi khuẩn vào cơ thể để gây bệnh chưa được biết chính xác và nó biến đổi tùy người. Người ta cho rằng vi khuẩn này là loài cơ hội và không phải là nguyên nhân duy nhất gây nhiễm độc thực phẩm, cần phải ăn uống một số lượng lớn khoảng 10^6 tế bào thì mới gây bệnh.

6.1.15.4. *Các thực phẩm hay gặp*

* Các loại trai sò tươi sống hoặc nấu chín không đủ và nước. Vi khuẩn này thường có mặt trong nước và một phần trong hệ vi sinh vật ruột cá. Nó cũng có thể được lan truyền bởi nước bị nhiễm phân hoặc là qua vết xây xước, nhất là đối với những người trực tiếp chế biến thực

phẩm bằng tay. Các loại thực phẩm rửa bằng nước bị nhiễm tạp ví dụ như các loại salad cũng có thể bị nhiễm tạp. Loại vi khuẩn này cũng được phân lập từ nhiều loại thực phẩm có nguồn gốc động vật, như thịt lợn.

6.1.15.5. Biện pháp phòng ngừa kiểm tra

Nấu chín hoàn toàn và làm lạnh đầy đủ các loại thực phẩm nhất là các loại hải sản. Vi khuẩn này nhạy cảm đối với thanh trùng nhưng lại phát triển nhanh nhất ở nhiệt độ làm lạnh.

6.1.16. *Plesiomonas shigelloides*

6.1.16.1. Khái quát chung

- Loại vi khuẩn cơ hội này gây ra sự nhiễm trùng và thường tấn công vào những người hay ăn hải sản sống hoặc nấu không chín kỹ, nhiễm tạp qua phân người hoặc động vật, chúng thường có mặt trong nước muối.

- Danh từ *Plesiomonas* có nghĩa là "dạng đồng nhất", bởi vì từ lâu vi khuẩn này đã được kết hợp với chi *Aeromonas*. *Shigelloides* có nghĩa là "nó giống với *Shigella*", bởi vì hai loài này có kháng thể không giống nhau.

- Nấu chín kỹ và làm lạnh các loại thực phẩm giải quyết được phần lớn vấn đề nhiễm tạp.

6.1.16.2. Đặc tính chung

- Thành viên của họ *Vibrionaceae*, là loại trực khuẩn hình que với hai đầu cuộn tròn, kích thước (0,8 - 1) x 3 μm , là loại Gram – và yếm khí tùy tiện.

- Là loài duy nhất thuộc vào chi này, loại vi khuẩn cơ hội gây ngộ độc với những biểu hiện tương tự như của *Aeromonas spp* và nó đã thường xuyên được phân lập cùng với những vi sinh vật gây bệnh khác.

- Vi khuẩn này bền với nồng độ muối cao (5%) và khoảng biến đổi pH từ 4 đến 9. Phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 5 - 12°C. Dễ bị tiêu diệt bằng thanh trùng và làm lạnh đông.

6.1.16.3. Các bệnh chính do vi khuẩn gây ra

Vi khuẩn này gây nhiễm trùng kèm theo đi tiêu chảy, co giật, buồn nôn và nôn mửa. Được biết đến như là "bệnh tiêu chảy của người đi du lịch", bệnh thường nhẹ và không có triệu chứng tử trẻ em mới sinh và người suy giảm miễn dịch. Đối với những người này vi khuẩn có thể gây viêm màng não đôi khi gây chết người. Những triệu chứng ban đầu xuất hiện sau một ngày và biến mất sau một vài ngày.

Số lượng vi khuẩn vào cơ thể để gây bệnh chưa được biết chính xác có thể biến đổi tùy người. Người ta cho rằng cần phải ăn vào một số lượng lớn khoảng 10^6 tế bào mới gây bệnh.

6.1.16.4. Thực phẩm lây nhiễm hay gặp

Chủ yếu các loại hải sản sống hoặc không đủ chín, nhất là các loại trai sò và các loại cá biển. Nước muối có thể bị nhiễm tạp phân người hay phân động vật. Những loại cá và nhiều loại động vật cũng thường bị nhiễm một số lượng nhỏ loại vi khuẩn này.

6.1.16.5. Biện pháp phòng ngừa

Nấu chín đầy đủ và làm lạnh các loại thực phẩm nhất là sản phẩm biển. Những người đi du lịch ở những nước đang phát triển và đặc biệt với những người ăn sản phẩm biển thô hoặc nấu chưa chín kỹ.

6.1.17. Những loài ít gặp

Phần này giới thiệu những loài vi khuẩn hiếm hơn hay số lượng ít hơn.

6.1.17.1. *Enterococcus spp*

Vi khuẩn này là thành viên của họ *Streptococcaceae*. Có dạng hình cầu hoặc hình trứng. Thường ở dạng chuỗi hoặc cặp đôi. Đường kính tế bào nhỏ hơn 2 μm , Gram + và là loại hơi ưa khí, nó phát triển dễ dàng hơn trong môi trường thiếu ôxy. Những loài thuộc *Enterococcus* (tiếng Hy Lạp enteron, ruột) từ đời xưa đã được xếp vào nhóm D của *Streptococcus* và cũng được gọi là "liên cầu khuẩn phân". Sự phân loại chúng còn có biến đổi nhưng kết luận chung *Enterococcus faecalis* (tiếng Latinh "faeces" là ghép với chất thải của cơ thể), *E. faecium* (tiếng Latinh "faeces" là chất thải), *E. avium* (tiếng Latinh "avis" là chim) và *E. gallinarum* (tiếng Latinh "gallina" là gà mái). Chúng được sử dụng như những dấu hiệu chỉ thị nhiễm tạp phân (người hoặc động vật) của nước. Trái lại, đó không phải là những dấu chỉ thị tốt đối với sự nhiễm tạp phân của thực phẩm (trừ nước) bởi vì người ta tìm thấy chúng dưới nhiều dạng trong môi trường xung quanh và chúng rất bền với các ứng suất vật lí. Điều này đã loại bỏ những loại vi khuẩn khác và làm sai lệch sự xác định nhiễm tạp phân.

Bệnh lí học của loại vi khuẩn này không rõ ràng, nó gây buồn nôn và tiêu chảy, những triệu chứng này giống như những triệu chứng gây ra bởi *Clostridium perfringens* và xuất hiện nhanh, sau 4 - 12 giờ và kéo dài khoảng một ngày. Bệnh bị nhiễm khi ăn vào với hàm lượng lớn 10^8 - 10^{10} tế bào.

Nguy cơ lây truyền của vi khuẩn này rất lớn trong các loại thực phẩm chế biến bằng tay, ví dụ như các loại salad thịt hoặc các sản phẩm sữa. Một số chủng có trong phân người và phân động vật. Nếu những người mang mầm bệnh hoặc người bệnh tham gia chế biến các loại thực phẩm thì nguy cơ lan truyền sẽ tăng.

Một số khuẩn cầu ruột phát sinh, nhất là trong các loại formát histamin cũng như các dẫn xuất monoamin từ tyrozin, từ phenylalanin hoặc từ tryptophan và gây ra những vấn đề cho hệ tuần hoàn như đau nửa đầu và tăng huyết áp. Vi khuẩn này rất bền với nồng độ muối 6,5%, thanh trùng Pasteur (ở 60°C trong 30 phút) và điều kiện lạnh đông. Một số chủng phát triển chậm ở 10°C. Vi khuẩn này bền với thanh trùng sữa nên nó có thể nhiễm tạp vào sữa bột và các sản phẩm sữa. Trái lại, loài này sinh trưởng rất chậm ở điều kiện lạnh, do đó hạn chế một số lượng lớn vi khuẩn loại này trong các sản phẩm sữa tươi và các loại thực phẩm lạnh khác.

6.1.17.2. Loài khác của *Bacillaceae*

Là loài Gram + và yếm khí tùy tiện, có khả năng tạo bào tử, là những loại trực khuẩn hình que tương đối thẳng, thường tồn tại ở dạng chuỗi, kích thước (0,5 - 2,5) x (1,2 - 10) μm . Ngoài *Bacillus cereus* đã giới thiệu trước, còn tồn tại các loài *Bacillus* gây bệnh khác nhiễm qua thực phẩm.

B. anthracis được Bkrep giới thiệu sâu hơn các loài vi khuẩn khác nhiễm từ động vật truyền cho người; *B. brevis* gây ra nôn mửa, như *S.aureus*; *B.licheniformis* gây bệnh tiêu chảy, như *C. perfringens*; *B. pumilus* ít khi là nguyên nhân gây tiêu chảy và nôn mửa; *B.subtilis* thường gây nôn mửa; *S.aureus* đó là loài xuất hiện thường xuyên nhất sau loài *B. cereus*.

6.1.17.3. Loài khác của *Enterobacteriaceae*

Là loài Gram - yếm khí tùy tiện, những vi khuẩn này thuộc loài trực khuẩn, kích thước (0,3 - 1) x (1 - 6) μm . Ngoài *Salmonella choleraesuis*, *Shigella spp*, *Escherichia coli* và *Yersinia enterocolitica* một thành viên khác của *Enterobacteriaceae* đó là những vi khuẩn gây bệnh đường ruột. Những loài này là: *Citrobacter spp*, *Edwardsiella spp*, *Proteus spp*, *Providencia spp* và *Serratia spp*. Một số trong loài vi khuẩn này cũng có thể là nguyên nhân gây ra ngộ độc histamin, thường bị gọi sai là "sự trúng độc bởi họ cá bạc má". Sự sản sinh chất độc của amin, chủ yếu là histamin là nguyên nhân ngộ độc từ họ cá bạc má như cá ngừ, cá thu, món ăn đặc trưng của vùng biển ôn đới và nhiệt đới. Nhiều vi khuẩn có hoạt tính lớn loại cacboxyl của axit amin; thông thường thì chúng thuộc *Enterobacteriaceae* nhưng người ta

cũng tìm thấy một số cầu khuẩn đường ruột. Ngay cả những loài cá thuộc loài cá bạc má là những thực phẩm thường bị kết án vì chúng chứa nhiều histidin tự do, vấn đề này cũng liên quan đến sự tiêu thụ các loài cá khác (cá xacdin, cá trích, cá tròng, cá hồi), các loại formát (gruyere, gouda, cheddar) và các loại thịt (xúc xích khô, jăm bông, thịt gà). Những chủng *Proteus morgani*, *Enterobacte cloacae*, *Hafinaalvei*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* và *Citrobacter freundii* thường xuyên bị kết tội nhất. Trong cá, chất độc tạo ra nhiều nhất khi để thực phẩm quá lâu ở nhiệt độ phòng, chất độc ổn định với thanh trùng. Sau khi ăn thực phẩm bị nhiễm sẽ có phản ứng trong vài phút và gây giãn nở mạch máu dẫn đến choáng váng, buồn nôn, nghẹt thở, đỏ mặt, tim hồi hộp. Những triệu chứng đó biến mất trong vài phút.

Sự làm lạnh đầy đủ các loại thực phẩm và dùng thực phẩm tươi là phương cách thông thường nhất để ngăn ngừa sự nhiễm độc này.

6.1.17.4. *Listeria monocytogenes*

Loài vi khuẩn này gây ngộ độc thần kinh, nó rất nguy hiểm đối với những bào thai và những người có hệ miễn dịch yếu. Loại này rất phổ biến trong tự nhiên và nó thường nhiễm vào người hay dùng thực phẩm ăn sẵn (sống, chưa chín hẳn hoặc không được đun lại). Nó rất cơ hội và có thể nhiễm tạp khi trộn lẫn những thực phẩm sống (có chứa phân súc vật hoặc phân người) với những thực phẩm chín, nhất là khi vi khuẩn gây bệnh ít cạnh tranh với các vi sinh vật khác.

Là loại vi khuẩn hình que thẳng, cân đối, đầu tròn, kích thước (0,4 - 0,5) x (0,5 - 2) μm , Gram + và yếm khí tùy tiện. Tên *Listeria* được lấy từ tên nhà bác học Lord Joseph Lister - một nhà phẫu thuật người Anh. *Monocytogenes* có nghĩa là "nó sinh ra những bạch cầu đơn nhân", làm tăng bạch cầu đơn nhân .

Loại vi khuẩn này rất cơ hội và nguy hiểm, nó sinh sản chậm ở nhiệt độ thấp, từ 3°C. Vi khuẩn này chịu đựng tốt với quá trình lạnh đông và mất nước. Nó sinh sản ở những hoạt độ nước thấp (0,90) và chịu được nồng độ muối 10%. Nó sống trong những điều kiện môi trường pH rất khác nhau (4,1 - 9,5). Rất nhạy với thanh trùng Pasteur.

Thường gây các bệnh:

* Bệnh thương hàn. Có thể gây bệnh cho tất cả mọi người. Triệu chứng bệnh nhẹ, giống như bệnh cúm hoặc bệnh tăng bạch cầu dẫn tới mệt mỏi, sốt nhẹ và tiêu chảy. Bệnh bắt đầu sau thời gian một ngày hoặc sau vài tuần và kéo dài hơn một tuần. Bệnh này thường tấn công vào những người trưởng thành sử dụng những chất chống axit (điều đó làm giảm sự bảo vệ bản năng bởi tính axit của dạ dày chống vi khuẩn).

Đôi khi bệnh này cũng rất trầm trọng, với tỷ lệ chết cao nhất là đối với những người miễn dịch kém như người mang thai, người mắc bệnh sida, ung thư. Do vậy việc đưa bệnh nhân vào bệnh viện là cần thiết. Khi vi khuẩn xâm nhập vào hệ thống máu, nó sẽ phát tán khắp nơi trong cơ thể và bào thai nếu có. Phụ nữ mang thai dưới 3 tháng mà mắc bệnh này thường bị sảy thai. Nếu mang thai được trên 3 tháng, thường sẽ đẻ sớm, đứa bé sẽ bệnh tật và xác suất chết khoảng 30%. Vả lại, nếu hệ thần kinh bị tấn công (viêm màng não hoặc viêm não ở trẻ sơ sinh và người có tuổi), tỉ lệ chết lên tới 70% nếu bệnh không được điều trị kịp thời.

Số vi khuẩn ăn vào có khả năng gây bệnh chưa biết chính xác nhưng khả năng chỉ cần một lượng nhỏ, nó thay đổi nhiều tùy thuộc vào từng cơ thể. Có lẽ có khoảng 5% người mắc bệnh này.

Quá trình cải tiến kỹ thuật nhận dạng vi khuẩn kéo theo cải tiến sự chẩn đoán bệnh. Ví dụ như: hiện nay người ta đã tách được loài *L. monocytogenes*, điều đó rõ ràng chính xác hơn sự nhận dạng giống chứa nhiều loài hoặc nhiều chủng không gây bệnh.

Các thực phẩm hay nhiễm vi khuẩn này

- Những thực phẩm chế biến sẵn đã qua thanh trùng Pasteur nhất là những loại formát bột

nhão, patê gan, rau sống bảo quản trên 10 ngày và lưỡi lợn bảo quản lạnh. Quá trình nhiễm tạp xảy ra nói chung là sau khi nấu chín hoặc thanh trùng sản phẩm thực phẩm. Nhiễm tạp khi trộn lẫn thực phẩm chín và thực phẩm sống là nguyên nhân dễ lây lan nhất. Vi khuẩn hầu như có mặt khắp mọi nơi, nguồn lây bệnh có thể từ loài chim, gia cầm bị ngộ độc thương hàn, bò, cừu và dê cái.

– Quá trình nhiễm truyền bệnh có thể qua tiếp xúc trực tiếp với nước nhiễm tạp hoặc nước phân. Động vật không truyền bệnh cho người nhưng nó góp phần lan truyền vi khuẩn trong tự nhiên. Loài vi khuẩn này cũng là một nguyên nhân gây viêm vú ở thú; điều đó cho thấy loài vi khuẩn này có thể tồn tại trong sữa không thanh trùng. Nền và đường ống ngầm của nhà máy chế biến thịt là những ổ vi khuẩn.

- Các loại thực phẩm chế biến sẵn được bảo quản lạnh trên 10 ngày rất có khả năng bị nhiễm tạp bởi vi khuẩn này sinh sản ở nhiệt độ thấp. Trong một số thực phẩm không nấu chín trước khi ăn, chú ý loại fomat bột nhão (nhất là loại được làm từ sữa không thanh trùng) và thịt chưa nấu chín hoàn toàn.

Nhìn chung, trong những thực phẩm bảo quản lạnh đông có pH < 5 hoặc có Aw < 0,92 vi khuẩn không sinh sản được. Đối với những nhóm thực phẩm này, sự có mặt một lượng vi khuẩn nhỏ hơn 100 tế bào /gam thực phẩm được coi như có khả năng gây bệnh.

Trong năm 1981 ở Nouvelle - Ecosse có 41 trường hợp bệnh ngộ độc thương hàn trong đó 34 trường hợp là phụ nữ mang thai và 5/34 bị sảy thai, 4 trường hợp chết, 23 đứa trẻ sơ sinh mắc bệnh sung màng não và chỉ 2 có em bình phục. Hậu quả này xảy ra đột ngột sau khi ăn rau bắp cải sống được trồng trong một cánh đồng bón phân cừu nhiễm bệnh phó thương hàn; bắp cải trước đó đã được bảo quản lâu ở nhiệt độ thấp trước khi tiêu thụ.

Trong năm 1983, ở Massachusetts đã có 49 trường hợp mà 42 ca trong đó là những người trưởng thành có hệ miễn dịch kém, khoảng 30% bị chết sau khi tiêu thụ sữa thanh trùng trên thị trường mà bao bì bị nhiễm tạp phân động vật.

Cách phòng ngừa

- Nấu chín hoàn toàn và bảo quản lạnh hợp lý thực phẩm. Loại vi khuẩn này nhạy với quá trình thanh trùng Pasteur nhưng sinh sản chậm ở nhiệt độ thấp.

- Vệ sinh trang trại trong thời gian chế biến thực phẩm. Quá trình nhiễm tạp ngẫu nhiên bởi phân người và động vật phải được quan tâm nghiêm túc.

6.1.17.5. *Yersinia enterocolitica*

- Vi khuẩn này tấn công trước hết vào những người hay dùng các sản phẩm thịt lợn sống hoặc nấu chín chưa đầy đủ. Thực phẩm bị nhiễm tạp phân lợn và đôi khi cả phân người.

- Là thành viên của họ *Enterobacteriaceae*, loại vi khuẩn này có dạng hình que thẳng, kích thước (0,5 - 1) x (1 - 3) μm, vi khuẩn Gram -, yếm khí tùy tiện, nó được mang tên nhà bác học Alexandre Yersin - nhà vi khuẩn học người Pháp, người đã khám phá ra tác nhân gây bệnh dịch hạch xoài là *Yersinia Pestis*. Tên *enterocolitica* xuất phát từ tiếng Hy Lạp "ênteron" (ruột), "kôlon" (ruột già) và "iticos" (có quan hệ với), có nghĩa là: nó quan hệ với ruột và kết tràng.

- Vi khuẩn này sinh sản ở 1°C.

- Nó sinh ra một loại độc tố bền với quá trình thanh trùng Pasteur nhưng bản thân nó lại không chịu được. Nó bền với ứng suất của môi trường, ví dụ pH rất kiềm, sự khô cạn và lắng đọng, nó chịu đựng nồng độ muối 6%.

Các bệnh chính do vi khuẩn này gây ra

- Được coi như một bệnh động vật truyền cho người, bệnh viêm ruột non kết với *Yersinia* là một quá trình nhiễm trùng ruột và bên ngoài ruột, nó thường tấn công vào trẻ em và những

người có tuổi. Bệnh này, bình thường nó nhiễm từ thực phẩm, nhưng có thể lây từ người mang bệnh. Thường có những triệu chứng nhẹ như: sốt, đau quặn bụng dưới và tiêu chảy nhẹ, xuất hiện sau một ngày và kéo dài vài ngày. Đôi khi để chữa khỏi bệnh phải mất nhiều tháng. Khi đã xâm nhập vào ruột, vi khuẩn này gây ra những triệu chứng tương tự như bệnh viêm ruột thừa với những cơn đau quặn ở phần dưới bên phải của cơ thể, sốt nhiều và tiêu chảy nhiều trong 3 - 4 ngày hoặc lâu hơn. Bệnh này dẫn đến chán ăn, buồn nôn và nôn mửa.

- Đôi khi vi khuẩn xâm nhập vào đường máu và gây ra nhiều vấn đề cho các bộ phận khác (tim, gan, mắt, tuyến giáp,...). Viêm khớp là một trong những di chứng của bệnh này. Độc tố có những tác dụng tương tự như một vài chủng *E. coli*.

- Ít thấy *Yersinia pseudotuberculosis* gây ra sự ngộ độc cho người. Loài này thường thấy trong phân động vật như chim và các loài gặm nhấm. Nó gây nên chứng giả đau ruột thừa, sốt và nôn mửa, không đi tiêu chảy (ngược với loại *Y. enterocolitica*). Những triệu chứng xuất hiện sau 1 đến 3 tuần và kéo dài từ 1 tuần đến 6 tháng.

- Nếu trong cơ thể có khoảng 10^6 tế bào thì nó sẽ gây bệnh.

Các thực phẩm hay nhiễm vi khuẩn này

- Thịt, nhất là thịt lợn sống hoặc nấu chín không kỹ. Vi khuẩn này thường xuyên có mặt trong cổ họng và phân lợn. Có thể những loài gặm nhấm và những động vật nuôi trong nhà như chó cũng có thể bị nhiễm vi khuẩn này, nhưng duy nhất họ lợn là gây bệnh tật cho người. Đôi khi con người cũng có thể gây bệnh và nhiễm tạp vào thực phẩm bởi đường miệng và bài tiết.

- Đối với sản phẩm sữa chưa thanh trùng: Vi khuẩn này là một nguyên nhân gây viêm vú cho lợn cái và có thể tìm thấy trong sữa. Một yếu tố cũng quan trọng nữa là nhiễm tạp sữa sau thanh trùng. Loại vi khuẩn này đã từng được phát hiện trong những thiết bị lạnh của nhà máy sữa, do vi khuẩn này sinh sản ở nhiệt độ thấp.

- Vi khuẩn này thường có trong nước và những động vật thân mềm nhiễm bởi phân động vật và phân người.

Cách phòng ngừa và kiểm tra

- Nấu chín kỹ và bảo quản lạnh hợp lý thực phẩm. Ăn thực phẩm chưa chín hẳn, nhất là thịt lợn, có nguy cơ ngộ độc cao. Quá trình nhiễm sau thanh trùng Pasteur của các thực phẩm là nguyên nhân của nhiều trường hợp nhiễm trùng, bởi vì vi khuẩn sống sót rất lâu trong môi trường.

- Vệ sinh cá nhân, không để những người mang mầm bệnh hoặc những người bệnh tham gia chế biến thực phẩm.

6.1.17.6. *Vibrio cholerae*

- Vi khuẩn gây ra ngộ độc do thực phẩm nhiễm phân người hoặc do vệ sinh cá nhân kém. Loại này tấn công trước hết vào người hay ăn hải sản sống hoặc chưa nấu chín đầy đủ hoặc thực phẩm nhiễm bởi nước bẩn.

- Là thành viên của họ *Vibrionaceae*, có hình que, thẳng hoặc hơi uốn cong, kích thước (0,5 - 0,8) x (1,4 - 2,6) μm , Gram – và yếm khí tùy tiện. Tên *Vibrio* là do vi khuẩn này không bao giờ đứng yên (luôn chuyển động) "cholerae" được lấy từ tiếng Latinh, có nghĩa là mặt hay gan tiết ra, bởi bệnh do vi khuẩn này gây ra tạo ra nhiều mặt.

- Tồn tại hai nhóm *V. cholerae* (0:1 và không phải 0:1), tùy theo sự có mặt hay không phân lớn những chất kháng nguyên loại O tập trung ở thành tế bào. Những chủng của nhóm vi khuẩn 0:1 hiếm thấy ở bắc châu Mỹ và cấu tạo nên 1 - 10% của tất cả các chủng *Vibrio cholerae*. Những chủng không là thành viên của nhóm vi khuẩn 0:1 gây bệnh nghiêm trọng hơn. Bệnh dịch tả được chia ra làm hai loại dịch sinh học (biovars), *V. cholerae* gây dịch sinh học cholerae, dịch sinh học cổ điển và *V. cholerae* gây dịch sinh học eltor, dịch sinh học hiện

đại. Sự phân biệt này dựa vào những kết quả nghiên cứu sự ngưng kết hồng cầu. Dịch sinh học cổ điển đã tạo nên những làn sóng bệnh tật trước năm 1950 và dịch sinh học eltor gây nạn dịch thứ bảy hiện nay. Tên Eltor đã được đưa ra theo Tor, le lazaret hay station de quarantaine, nằm trong bán đảo của Sinai ở Ai Cập, nơi này dịch sinh học đã được cách ly trong năm 1905.

- Vi khuẩn này bền với bảo quản lạnh đông và sống sót lâu trong môi trường. Nó sinh sản ở 5-12°C. Vi khuẩn này không ưa mặn nhưng sống sót tốt trong nước muối.

- Vi khuẩn này nhạy với thanh trùng Pasteur, sự khô cạn, nhạy với độ nhót.

Các căn bệnh do vi khuẩn này gây ra

- Bệnh tả: bệnh này do bị nhiễm độc tố mà độc tố này lan truyền rất nhanh và chỉ tấn công vào con người. Tay nhiễm bản phân và dịch nôn mửa là con đường gây bệnh. Các triệu chứng xuất hiện trong 2 - 18 giờ, liên tục sau 2 - 3 ngày và biến mất sau 5 - 7 ngày. Trong ruột, vi khuẩn sinh sản và sinh ra một ngoại độc tố làm rối loạn các chức năng của ruột làm tăng lượng tiết ra ngoài. Có những cơn tiêu chảy mạnh, những cơn đau quặn và nôn mửa, làm mất đi 1 - 24 lít dịch lỏng 1 ngày dẫn đến sự mất nước và có khi dẫn đến tử vong sau vài ngày. Thường người bệnh không bị sốt, trừ những trường hợp nghiêm trọng. Cần phải đưa người bệnh đến bệnh viện điều trị ngay. Ngoại lệ, nhiều người có thể mang bệnh nhiều năm sau khi mắc bệnh.

- Với vi khuẩn không mang nhóm vi khuẩn 0:1 thì gây bệnh nhẹ hơn với những cơn đi tiêu chảy vừa phải, đôi khi có kèm theo chút máu.

- Khi nhiễm vào khoảng 10^6 - 10^{10} tế bào có thể mắc bệnh.

Các thực phẩm chính

Nước nhiễm tạp bởi phân người bệnh (nó có thể chứa 10^6 - 10^9 tế bào/ml) bởi vi khuẩn tồn tại rất lâu trong môi trường. Những hải sản sống hoặc chưa chín hẳn ví dụ như con hàu, cua bể, tôm là rất nguy hiểm nếu nó sống trong nước bị nhiễm tạp. Những thực phẩm khác như gạo, hoa, quả, rau... cũng có thể bị nhiễm khuẩn bởi nước, nhất là nước không được xử lý bằng Clo. Vi khuẩn này thường có mặt với nồng độ nhỏ trong nước và hải sản. Ngoài ra nước tắm hoặc nước rửa bát cũng có thể truyền bệnh.

Phương pháp phòng ngừa

- Theo dõi chặt chẽ chất lượng nước và cách xử lý nước sử dụng có được xử lý bằng clo hay không. Bệnh dịch tả thường tấn công vào những vùng nghèo thiếu nước sạch, không có hệ thống xử lý nước và không đủ trang thiết bị để đun nấu thực phẩm. Từ tháng 1/1991 đến tháng 1/1993, đã có 730.000 trường hợp, trong đó 6.300 trường hợp chết ở Péru nhất là trong những nước ở phía Nam Châu Mỹ như ở Equateur và Colombia.

- Việc nấu chín kỹ và bảo quản lạnh hợp lý thực phẩm, không ăn hải sản sống hoặc chưa đủ chín và những sản phẩm có khả năng đã tiếp xúc với nước nhiễm bẩn.

- Và cần phải phát hiện người có bệnh.

6.1.17.7. *Vibrio parahaemolyticus*

- Vi khuẩn gây ra ngộ độc sau khi dùng hải sản sống hoặc nấu chưa đủ chín, nhiễm bản bởi phân người, sự mất vệ sinh cá nhân hoặc nước bẩn.

- Vi khuẩn này là thành viên của họ *Vibrionaceae*, có hình que thẳng hoặc hơi cong, kích thước (0,5 - 0,8) x (1,4 - 2,6) μm ; thuộc loại Gram -, yếm khí tùy tiện. Tên của giống *Vibrio* là do loại vi khuẩn này lúc nào cũng di chuyển (vibrier) và tên loài *parahaemolyticus* có nghĩa là làm nhiễu loạn, rối loạn máu, phần lớn những chủng này phá hủy hồng cầu và tạo ra một vùng trong suốt xung quanh khuẩn lạc trên một đám gélose ở máu (tiêu máu). Hầu như tất cả các chủng gây bệnh tự phân biệt với những chủng gây bệnh khác bởi việc tiết ra độc tố bền

nhiệt, chất tiêu máu (hémolysine) kanagawa, nó làm tiêu hồng cầu.

- Vi khuẩn này sinh sản chậm ở 5 - 12°C, nhưng rất nhanh ở nhiệt độ cao hơn. Ví dụ sau 6 giờ ở 30°C một tế bào ban đầu có thể sinh sản được 100 000 tế bào mới, chỉ cần chừng này tế bào là đủ để gây bệnh.

- Là loài ưa muối, chỉ cần 1% muối để tồn tại và có thể chịu đựng được ở môi trường 8 - 10% muối.

- Vi khuẩn này nhạy với thanh trùng Pasteur và sự mất nước, nhạy với bảo quản lạnh hơn là lạnh đông.

Các bệnh chính do vi khuẩn này gây ra

- Vi khuẩn này gây ra ngộ độc với các triệu chứng tương tự như triệu chứng của bệnh thương hàn, tiêu chảy và đau quặn phần bụng dưới dẫn đến buồn nôn và nôn mửa. Những triệu chứng này xuất hiện sau 2 - 18 giờ và kéo dài 2 - 5 ngày, có những người mang bệnh từ 1 - 2 tuần. Độc tố này tạo ra trong ruột sau khi vi khuẩn xâm nhập vào ruột, đôi khi vi khuẩn này cũng xâm nhập vào máu.

- Lượng tế bào gây bệnh trong cơ thể là 10^5 - 10^9 tế bào.

Các thực phẩm chính hay nhiễm

- Hải sản sống hoặc chưa đủ chín cũng như nước, thực phẩm rửa bằng nước nhiễm phân. Luôn luôn có một lượng nhỏ vi khuẩn trong nước mặn và hải sản, nhưng sự nhiễm tạp trong những thực phẩm chín là vấn đề quan trọng nhất, đặc biệt do ngày nay thú ăn hải sản ngày càng tăng (nhất là hải sản sống) nên nguy cơ mắc bệnh càng cao, bệnh này rất phổ biến ở Nhật bởi ở đó người ta dùng nhiều hải sản sống. Bệnh gia tăng trong mùa hè khi nhiệt độ nước khoảng 20°C. Có khi phát hiện thấy trong đồ hải sản và nước nhiễm tạp tới 10^5 tế bào / g và 10^2 tế bào / g.

Cách phòng ngừa

- Nấu chín kỹ và bảo quản lạnh hợp lý hải sản. Phải ăn vào một lượng lớn vi khuẩn này mới gây bệnh. Vấn đề thường xuất phát từ sự coi thường nguyên tắc vệ sinh khi chế biến hải sản; như quá trình nhiễm tạp khi trộn lẫn sản phẩm thực phẩm sống và chín, rất nhiều động vật thân mềm được ăn sống.

6.2. Nấm mốc

Cho đến nay người ta đã loại bỏ được một số độc tố vi nấm do một lượng lớn nấm mốc nhiễm vào thực phẩm, cũng có loại còn đang trong tình trạng giám sát chặt chẽ do chúng thuộc loại độc tố nguy hiểm nhất. Chúng có trong các loại ngũ cốc, lạc, nhưng cũng có trong thực phẩm có nguồn gốc động vật như các sản phẩm sữa, thịt, mà các nguyên liệu này có thể bị nhiễm tạp từ nguồn thức ăn, ví dụ bột thức ăn động vật. Nấm mốc có thể tạo ra nhiều độc tố trên nhiều loại thực phẩm nhưng không gây mùi vị lạ.

Trong 300 loại độc tố vi nấm đã biết, chỉ có 20 loài ảnh hưởng đến sức khỏe con người, khoảng 15 loài gây ung thư. Trong một thời gian dài, người ta ít chú ý đến khả năng gây bệnh trong thực phẩm bị mốc. Nhưng vào năm 1960, hơn 100 000 con gà tây ở Anh đã bị chết một cách rất khó hiểu. Sau đó, người ta đã phát hiện ra nguyên nhân là những con gà này đã ăn bột lạc bị nhiễm mốc *Aspergillus flavus*, chính nấm mốc này đã tạo ra những độc tố nguy hiểm. Nhờ phát hiện này người ta đã khẳng định rằng con người cũng có thể bị bệnh nếu ăn phải những hạt mốc, kể cả với lượng rất nhỏ.

Thực tế cho thấy ngô là nguồn nhiễm lớn nhất, tiếp đó là lạc và lúa mì.

Các độc tố này thường bền với thanh trùng Pasteur. Trước tiên xem xét sự hình thành độc tố trong thực phẩm và hậu quả của chúng. Phần lớn các trường hợp ung thư gan hay thận đều liên quan tới độc tố vi nấm.

Những độc tố vi nấm chính tạo bởi *Aspergillus spp*, *Fusarium spp* và *Penicillium spp*. Những nấm này sinh sản chậm ở nhiệt độ thấp (<5⁰C), chịu pH và hoạt độ nước nhỏ hơn so với vi sinh vật khác (pH ≈ 1,5 và Aw ≈ 0,65). Độc tố tạo ra từ mức Aw=0,80. Như vậy những yếu tố quyết định cho việc kiểm tra vi nấm là:

- 1/ Độ ẩm là yếu tố quan trọng nhất, cần có hoạt độ nước dưới 0,93, đôi khi dưới 0,80.
- 2/ Nhiệt độ dưới 25⁰C, thường là nhiệt độ tối thích cho hình thành độc tố.
- 3/ Sự thông thoáng: nấm mốc là loại hô hấp hiếu khí nên cấp càng ít không khí càng tốt.
- 4/ pH = 3,4 - 5,5 là tối thích.
- 5/ Cơ chất môi trường lý tưởng cho nấm mốc là môi trường giàu glucoza.

6.2.1. Những loài thường gặp nhất

6.2.1.1. *Aspergillus spp*. Hình ảnh phụ lục 1.

a. Đặc tính chung

- Loại mốc này sinh ra các độc tố rất nguy hiểm, bệnh phát sinh do dùng những thực phẩm mốc như lạc, ngô, những độc tố vi nấm gây ngộ độc thực phẩm. Chỉ cần một lượng nhỏ độc tố cũng gây nên bệnh.

- Khuẩn lạc của nó thường có màu xanh, vàng hoặc đen, nó thuộc họ *Deutéromycètes*. Loại nấm mốc này tạo ra những độc tố cực kỳ nguy hiểm như aflatoxines và ochratoxines. Tên của nó có nghĩa là “aspersois” do hình dáng của nó.

- *Aspergillus flavus*, *A.parasitueus* và *A.nomius* là những loài hay gặp nhất, chúng tạo ra aflatoxines, loại độc tố vi nấm được nghiên cứu nhiều nhất và phổ biến nhất trong tự nhiên. Tên “flavus” nghĩa là vàng, “parasitos” là vật hội sinh. Người ta phân loại theo aflatoxines nguy hiểm nhất: B₁, M₁, G₁, B₂, M₂ và G₂.

- Sinh sản tốt trên bề mặt thực phẩm có pH axit (2 - 3); hoạt độ nước thấp (0,65 - 0,70), nhiệt độ thấp (0 - 8⁰C) hoặc cao (45 - 50⁰C) và có không khí (1 - 20% ôxy). Có độc tố chịu được nhiệt độ cao 100⁰C trong 2 phút. Có loại bền vững với thanh trùng Pasteur.

- Theo quy tắc chung, các sản phẩm aflatoxines được tạo ra ở nước có hoạt độ cao (0,93 - 0,98). Như vậy độ ẩm quá mức của hạt tạo điều kiện cho vi nấm phát triển, nhất là khi nhiệt độ tới 13⁰C.

- Nấm mốc bị ức chế bởi tác nhân chống khuẩn như axit propionic và sorbic. Mẫn cảm với lạnh đông, bức xạ cao tần. Phần lớn các bào tử mốc không chịu được thanh trùng Pasteur. Nói chung, nó không tạo độc tố ở nhiệt độ dưới 10⁰C.

b. Các bệnh chính

Aflatoxines B₁ là một trong những độc tố gây ung thư mạnh. Nó gây ung thư gan cho động vật và người. Liều lượng độc tố gây tử vong cho người chưa được xác định chính xác nhưng người ta cho rằng chỉ với một lượng rất nhỏ cũng đủ gây bệnh.

c. Các thực phẩm hay nhiễm

Trước tiên là những loại hạt có dầu (lạc, dừa) và ngô, cả gạo, lúa mì, đại mạch. Nấm mốc và những độc tố của nó nhiễm tạp tự nhiên trên hạt, và sau đó vào các thực phẩm chế biến (bột, bột nhào, bánh mì,...).

Nấm mốc phát triển rất mạnh mẽ, ở điều kiện độ ẩm thấp (0,65 - 0,80) các loại mốc khác như *Fusarium spp* và *Penicillium spp* bị ức chế, nhưng những loài này lại sinh sản rất mạnh ở Aw= 0,8 hoặc lớn hơn.

d. Phương pháp phòng ngừa

- Không dùng các loại hạt và thực phẩm đã bị mốc.
- Kịp thời phát hiện các độc tố vi nấm trong hạt và thực phẩm.
- Phá hủy độc tố: bởi chúng rất mẫn cảm với nhiệt độ nếu thực phẩm ẩm. Người ta dùng muối amôniac để phá hủy độc tố trong bột chăn nuôi, hay dùng tia bức xạ cao tần và tia cực tím.

6.2.1.2. *Fusarium spp.*

a. *Đặc tính chung*

- Đó là nấm mốc sinh độc tố rất nguy hiểm, có nguy cơ ngộ độc chủ yếu do ăn các loại thực phẩm bị mốc như các hạt ngũ cốc. Các mầm độc mang nguy cơ tạo độc tố rất mạnh trong thực phẩm.
- Khuẩn lạc có màu vàng, trắng hoặc đỏ thẫm. Thuộc họ *Deutéromycete*. Tên bắt đầu là *fus* (hình thoi), theo hình dạng của nó. Những loài quan trọng nhất là *Fusarium sporotrichioides*, *F.graminearum* và *F.moniliforme*, chúng sản sinh ra độc tố rất nguy hiểm như trichothecenes (deoxynivalenol hoặc vomitoxine T-2), zearalenone và fumonisin. Có nhiều giống nấm mốc khác cũng tạo ra độc tố đó.
- Phần lớn các loài sinh sản tốt trên bề mặt thực phẩm, pH axit = 2 - 3, hoạt độ nước thấp $A_w = 0,80$, nhiệt độ thấp (khoảng 0 - 4⁰C), hoặc ở nhiệt độ cao (45 - 50⁰C) và có không khí.
- Nhiều độc tố bền vững với nhiều công đoạn chế biến hạt ngũ cốc như xay hoặc nướng, bởi chúng bền nhiệt (120 - 180⁰C) nên có khi phải gia nhiệt tới 200 - 210⁰C trong 30 - 40 phút để phá hủy chúng.
- Nấm mốc bị ức chế bởi kháng sinh, ví dụ axit propionic và axit sorbic. Nấm mốc kể cả các bào tử nhạy cảm với thanh trùng pasteur, lạnh đông, tia bức xạ. Nhiều độc tố không bền trong môi trường kiềm.

b. *Các bệnh chính*

- Nhiễm độc tố này có thể là cảm giác mỏi mệt, choáng. Có những triệu chứng rất trầm trọng kéo dài đến nhiều tháng. Ví dụ, sleucie bệnh du báo, tỷ lệ tử vong có thể tới 50%, bệnh này được khảo sát ở Nga từ những năm 1910-1945 do dùng bánh mỳ chế biến từ bột mốc. Các triệu chứng bệnh lý kéo dài nhiều tháng, có cảm giác nóng rục ở miệng và dạ dày, xuất huyết ở nhiều bộ phận cơ thể (não, phổi, ruột...), tiêu chảy ra máu, đau bụng, sốt. Sau 1 - 2 tuần, người bệnh sẽ bị thiếu máu và tổn thương da, miệng và các bộ phận tiêu hóa.
- Một vài độc tố gây ung thư, ví dụ ung thư thực quản. Người ta chưa thống kê chính xác mức độ gây tử vong, nhưng người ta khẳng định là chỉ cần một lượng rất nhỏ cũng đủ gây bệnh nặng.

c. *Các thực phẩm hay bị nhiễm*

Các loại ngũ cốc hay nhiễm mốc nhất là ngô, lúa mì, bo bo, hạt kê, đại mạch, yến mạch và lúa mạch đen. Độc tố không bị phá hủy kể cả bánh mỳ đã nướng. Thịt và sữa lại ít bị nhiễm mốc hơn.

d. *Cách kiểm tra và hạn chế nhiễm độc*

- Không dùng các hạt mốc và các sản phẩm chế biến từ các hạt mốc nhất là ngô và lúa mì mốc.
- Tìm ra nguyên nhân gây mốc hạt và thực phẩm để loại bỏ.

6.2.2. Những loài ít gặp hoặc ít gây nguy hiểm

6.2.2.1. *Claviceps purpura* (nguy hiểm ☹)

Thuộc họ Ascomycete. Theo hình dạng người ta đặt tên bắt đầu là clava (hình chùy) và purpurae (đỏ tím). Loài này sản sinh ra alcaloit gây bệnh nấm, hay gặp ở lúa mạch đen. Từ năm 1950, các độc tố của loại nấm mốc này không còn là một vấn đề. Có 2 loài cơ bản:

+ “le feu de Saint-Antoine” có triệu chứng nóng ran ở chân và tay, nó làm biến đổi sự tuần hoàn máu ở các cơ quan, có thể gây hoại thư.

+ Nấm gây co giật, kéo theo ảo giác và co rút dữ dội ở các bộ phận cơ thể.

6.2.2.2. *Penicillium spp.*

Thuộc họ *Deutéromycète*. Theo hình dạng của chúng, tên bắt đầu bằng tiếng Latinh, *penicillium* có nghĩa bút lông. Khuẩn lạc thường có màu xanh lá mạ, vàng hay xám. Nấm mốc sản sinh nhiều độc tố như citrine và citreoviridin (độc tố của gạo vàng); patulin (có nhiều trong táo); ochratoxin A, các độc tố đó không gây ung thư nhưng chỉ cần một lượng nhỏ trong môi trường cũng có thể lây nhiễm rộng. Ví dụ *citroviridi* gây bệnh thận nếu ăn gạo mốc.

6.2.3. Các độc tố chính của nấm mốc

Cần chú ý *A.flavus* thường hay lẫn với nhiều loại khác, nhất là với *Penicillium rubrum* Soll, và khi đó thì rất khó xác định được phần tham gia của mỗi loài trong sự nhiễm độc.

Trong cơ thể sống, người ta đã có thể lấy ra được các aflatoxin từ các giống nuôi cấy loài *Aspergillus ochraceus* Wilh., thậm trí từ một loài *Rhizopus sp.*

6.2.3.1. *Aspergillus flavus*

Hình thái. Phụ lục 1

Loài *Aspergillus flavus* Link (*Monilia flavus* Pers.) rất dễ nhận bởi màu vàng hơi lục và dạng ít nhiều vón cục. Ở đỉnh các cuống bào tử đỉnh mọc thẳng đứng có vách sần sùi, hình thành những đầu mang bào tử đỉnh có dạng gần hình cầu đến thuôn dài. Các thể hình chai hoặc đính trực tiếp vào đầu nang bào tử đỉnh (thể bình một lớp) (Hình 1b, c) hoặc qua một lớp thể bình trung gian nữa (thể bình “hai lớp”) (hình 1a, d); đôi khi cả hai kiểu cùng đồng thời tồn tại. (hình 1)

Các bào tử có kích thước khá lớn (đường kính 5 - 7µm) hình cầu, vàng nâu đến hơi lục, hơi sần sùi

Đôi khi người ta chỉ coi là thuộc loài *A.flavus* những loài nấm có cuống bào tử đính xù xì và hai lớp thể bình còn ở loài *A.parasiticus* thì cuống bào tử đính nhẵn và thể bình một lớp. Đây là đặc điểm của từng chủng, cũng như các *globocus* do Murakami hoặc *columnaris* do Van Walbeek.

Sinh Thái

* *A. flavus* được thấy ở khắp nơi trên trái đất: dưới đất, trên các chất hữu cơ và các loại hạt nhất là các hạt có dầu.

- Từ lâu người ta phát hiện sự có mặt của nó ở dưới đất, dù là trong rừng, ở vùng than bùn, vùng đất hoang sa mạc Sahara, hoặc trong các đất cày cấy: đất bùn, vùng hệ rễ cà chua, hoặc hệ rễ lúa mì v.v. Người ta còn phát hiện thấy nó có thể nhanh chóng xâm nhập lại đất đã khử trùng bằng hơi nước. Đất đai vùng nhiệt đới chứa nhiều loại này hơn so với đất đai vùng ôn đới.

- Nó thường có trên lúa mì và các chế phẩm bột, bột sống và cả trong bánh mì, ngô và gạo cũng như các sản phẩm từ ngô, gạo. Nó có rất nhiều trên sợi bông, nhất là trên hạt bông và khô hạt bông; nó xâm nhập vào hạt qua điểm hợp hoặc qua những vết bị côn trùng hủy hoại. Ngoài ra người ta còn thấy ở hạt khô dầu tương, củi dừa, sắn, nhân hạt cacao, quả cà phê, quả hồ đào Braxin, quả hồ đào Pecan, thuốc lá, hạt lúa miến, hạt hướng dương, hạt đậu, hạt đậu quả, hạt thông, hạt cây minh quyết, quả đậu niêbê, quả hồ trăn, kê, ớt hạt tiêu đỏ, củ cải

đường, quả lê, Jấm bông, dồi thịt và nhiều thức ăn khác v.v... Nó có trong thức ăn gia súc tổng hợp, ngay cả khi thành phần không có khô lạc, và trong cỏ khô nuôi gia súc. Trong fomát hầu như không có do bị các loại mốc khác ức chế tuy rằng pho mát vẫn có thể bị lây nhiễm bằng phương pháp nhân tạo.

- Nếu có điều kiện thuận lợi, nó sinh sôi nảy nở rất nhiều; Olafson nghiên cứu được rằng trên hạt lúa mì đóng gói kín có độ ẩm 15,2 đến 17% thì bào tử của nó chiếm từ 50 đến 100% tổng số bào tử có mặt, nhiều đến nỗi trên bề mặt nó đóng vón lại thành một lớp vỏ cứng sâu có chỗ tới 0,60m. Nó cũng thường gặp trên ngô bẹ khi độ ẩm vượt quá 15,5%.

**** *Aspergillus flavus* và lạc**

- Lạc và các sản phẩm từ lạc là môi trường phát triển ưa thích nhất của *A.flavus*. Không phải chỉ có mình loại này; nhiều loại nấm khác thường đi kèm với nó (xem chương I): trong số này một số lượng lớn gây độc với súc vật như: một số *Fusarium* trong đó có *F.monoliforme*; các loài *Rhizopus*; các loài *Penicillium citrinum*, *P.purpurogenum*, *P.rubrum*, *Aspergillus amstelodami*, *A.chevalieri*, *A.clavatus*, *A.fumigatus*, *A.glaucus*, *A.nidulans*, *A.oryzae*, *A.restrictus*, *A.carneus*, *A.ochraceus*, *A.ruber*; *Trichothecium roseum* và *Paecilomyces varioti*.

Giữa các loài vi sinh vật đó có sự cạnh tranh và đôi khi sự phát triển của *A.flavus* bị các loài nấm như *A.niger*, *Rhizoclonia solani* hoặc *Penicillium* ức chế. Ngược lại, *A.flavus* làm cho những loài như *Sclerotium bottaticola* sinh trưởng chậm lại.

Sự nhiễm vào lạc chưa thu hoạch

Phần lớn các nấm mốc xâm hại lạc, đặc biệt là *A.flavus*, có thể tồn tại và thậm chí phát triển dưới đất. Các nấm này rất dễ dàng lây nhiễm vào củ lạc tiếp xúc với đất.

Tuy nhiên, ở cây lạc tươi *A.flavus* khó mà lọt qua vỏ lạc để xâm nhập vào hạt; hệ nấm ở quả vùi trong đất thông thường là một tấm chắn bảo vệ. Việc xâm nhập vào hạt dễ dàng hơn khi củ đã già và nhất là sau khi thu hoạch.

Fackson khi nghiên cứu nhân lạc lấy từ những củ bẹ ngoài còn nguyên vẹn, đã nhận thấy trên vỏ lụa của chúng có một hệ nấm phong phú. Loại *A.flavus* hầu như bao giờ cũng có mặt. Hệ sợi nấm rải rác thường thấy rõ giữa lớp vỏ ngoài và bề mặt của lá mầm, và phát triển trên mặt trong của vỏ ngoài. Người ta biết rằng khoảng tuần lễ thứ bảy sau khi quả phát triển thì vỏ ngoài bắt đầu khô đi, có thể đó là một mô chết khi củ lạc già, nó trở thành lớp màng bảo vệ cho các lá mầm và ngăn cản sự nhiễm khuẩn vào hạt ở trạng thái sinh lý tốt. Nhưng cũng là một nơi chứa vi khuẩn, chỉ cần một bất thường xảy ra tức thì các lá mầm hoặc phôi bị nhiễm khuẩn. Sự xâm nhập của *A.flavus* vào lạc đã được quan sát qua kính hiển vi điện tử.

Tuy rằng Norton và các cộng tác viên (ở Texas) đã thấy có sự nhiễm khuẩn từ đất vào các hạt nhưng hạt vẫn phát triển tốt, khả năng nảy mầm tốt, nhưng khá hiếm hoi; ngược lại, những củ dập nát dễ bị nhiễm *Macrophomina phaseoli* hoặc *Sclerotium rolfsii* nhất. Các vết hư hại trên vỏ củ do cơ học hay do côn trùng cắn tạo điều kiện dễ dàng hơn cho sự nhiễm khuẩn. Nhưng củ lạc cũng có thể bị hư hỏng do khô hạn làm nứt vỡ vỏ ngoài, do sinh trưởng quá nhanh hoặc chín quá sớm cũng dẫn đến nứt vỡ vỏ. Chính các phương pháp canh tác đôi khi cũng gây nứt vỡ củ lạc. Như vậy ngay ở ngoài đồng ruộng đã có nhiều nhân tố làm cho lạc dễ dàng bị nhiễm nấm *A.flavus*.

Đôi khi người ta thấy có *A.flavus* trên những cây non, nó làm cho cây phát triển kém, vì gây hoại tử ở trụ dưới, mầm và các lá mầm. Thông thường đó là các cây non phát triển từ những hạt đã bị nhiễm, khả năng nảy mầm của các hạt này kém hơn so với các hạt lành. Các lá mầm có thể bị thối ngay trước khi nảy mầm, loài nấm có thể tồn tại trong các lá mầm hỏng một tháng sau khi trồng.

Nhiễm khuẩn vào củ và nhân: sự phát triển của *A.flavus* trong quá trình thu hoạch, làm khô và bảo quản.

Điều kiện thời tiết lúc thu hoạch có tầm quan trọng lớn đối với sự phát triển của *A.flavus*. Ở miền Bắc Nigeria, tiến hành thu hoạch lúc khô hoặc lúc mưa người ta thấy có sự khác biệt rõ rệt: củ lạc trong trường hợp đầu ít bị nhiễm, còn trường hợp sau thì bị nhiễm nhiều hơn.

Thường thì các gốc lạc khô tại chỗ cho đến khi nhỏ gốc, nhưng củ lạc thì tách rời khỏi thân cây và nằm ở dưới đất; củ lạc tách rời khỏi cây mẹ và khô dần đi trong đất; ở một số vùng trồng lạc, dân địa phương chủ yếu ăn loại lạc này, điều kiện này rất thuận lợi cho sự phát triển và sinh trưởng của *A.flavus*. Bởi vậy tránh thu hoạch quá muộn.

Các thương tổn củ lạc do thu hoạch cơ giới hóa càng làm cho *A.flavus* xâm nhập dễ dàng, tuy nhiên, nhân tố này không quan trọng.

Người ta nhận xét rằng khi nhân còn ở trong củ thì khó bị nhiễm hơn là sau khi đã tách vỏ. Hàm lượng nước của lạc có ảnh hưởng lớn đến sự lây nhiễm và phát triển của *A.flavus*. Lúc thu hoạch, lạc chứa từ 30 đến 60% nước; khi phơi sấy hàm lượng giảm xuống còn 10% hoặc ít hơn nữa.

Trong quá trình phơi khô tự nhiên, cần tránh sự bị ẩm lại, bởi vậy cần phải che cho lạc về ban đêm hoặc những khi mưa để tránh bị ẩm lại. Việc làm khô từ từ tạo thuận lợi cho sự phát triển của *A.flavus*.

Người ta cho rằng *A.flavus* chủ yếu xâm nhập vào lạc chứa 15 đến 20% nước, tức là thời gian đầu của quá trình làm khô nhưng nó có thể phát triển khi có từ 9 đến 35% nước. Ở một tỷ suất ẩm cao hơn, có lẽ các mô bị trương phồng, hoặc việc hoạt hóa sự trao đổi chất làm cho nhân lạc chịu đựng tốt hơn, dưới 9% nước thì nấm không thể phát triển được; bào tử nấm bắt đầu nảy mầm với lượng nước tối thiểu là 15,8%.

Ảnh hưởng của hàm lượng nước trong nhân lạc tới sự phát triển của *A.flavus* đôi khi mâu thuẫn nhau, do một số tác giả nghiên cứu sự phát triển của *A.flavus* trên lạc khô một cách tự nhiên sau khi thu hoạch, và một số khác thì lại nghiên cứu trên lạc được cho ngâm ẩm trở lại sau khi đã làm khô. Chỉ trong trường hợp thứ hai thì sự nhiễm khuẩn mới có thể xảy ra ở độ ẩm trên 30%, vì nhân lạc đã bị mất nước từ trước thì mầm cảm hơn. người ta cũng có những kết quả tương tự khi nghiên cứu nấm mốc trên lúa mì.

Làm khô ở nhiệt độ thấp không tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của *A.flavus* và sự sản sinh aflatoxin; điều này đã được Dickens và Pattee nghiên cứu ở Virginia và Carolina, mặc dù phải sấy lâu hơn. Với một khoảng nhiệt độ nào đó có thể có sự kết hợp giữa nhiều loài nấm.

Dicken và Pattee đã tiến hành nhiều thí nghiệm sấy nhân tạo:

- 32°C, độ ẩm 85%: có *A.flavus* mọc và sản sinh aflatoxin;
- 32°C, độ ẩm 85% và 21°C, độ ẩm 5%: hạt lạc phát triển bình thường.

Như vậy, để sấy lạc tránh sinh aflatoxin thì cần chú trọng hạ thấp độ ẩm quan trọng hơn là nâng cao nhiệt độ. Trong khi bảo quản cần đề phòng các loài ve bét có thể mang bào tử *A.flavus*.

Độ mặn cảm của các giống lạc

Những hiểu biết chính xác về độ mặn cảm so sánh giữa các giống lạc còn ít, nói chung không có giống nào hoàn toàn miễn dịch. *A.flavus* hầu như bao giờ cũng có mặt trên bề mặt củ lạc. Một số giống lạc chỉ chứa những chủng *A.flavus* không sinh độc tố. So sánh mức độ độc ở các giống lạc và các chế phẩm, Hiscocks đã tiến hành nghiên cứu một nghìn mẫu thí nghiệm:

- Trên củ lạc: 3,3% số củ rất độc (chứa trên 0,25 mg/kg aflatoxin B₁) và 21,7% số củ độc vừa, 75% số củ không độc.

- Còn ở lạc khô thì người ta phát hiện ra 42,0% số mẫu là rất độc, 49,3% độc vừa, và chỉ có 8,7% là không độc.

Như vậy, chất độc tích lũy lại trong lạc khô do quá trình chế biến hoặc do *A.flavus* phát triển. Ở trong lạc chiên bơ sự tích lũy này còn nhiều hơn, ngược lại trong dầu lạc không có.

Tính chất gây bệnh của *A.flavus*

A.flavus nguy hiểm chủ yếu là do sản sinh các chất độc trong quá trình trao đổi chất, đôi khi trực tiếp gây bệnh. Đặc biệt là bệnh phổi do hít phải bào tử *A.flavus*, người ta đã thấy chim bồ câu, gà tây, gà giò, nhiều loài chim rừng, ngựa và chuột có thể bị mắc bệnh, nhất là sau khi điều trị bằng cortizon. Ở người, *A.flavus* gây ra một số bệnh như nhiễm trùng cuống phổi và phổi, tổn thương nội khoang và viêm nội tâm mạc, nhiễm trùng bàng quang và tổn thương ngoài da ở tai và xoang mũi. Người ta còn thấy cả rau thai bò cái cũng bị lây nhiễm.

Ngoài ra, *A.flavus* được biết là nội ký sinh ở côn trùng. Người ta đã thấy nó ở lớp vỏ trong của loài bướm ngô (*Pyrausta nubilalis*) và loài *Platysamia cecropia*, ruồi nhà (*Musca domestica*), nhưng hình như nó không có khả năng nhiễm vào ong mật và châu chấu qua lớp vỏ da, cũng giống như *A. parasiticus* là loài rất gần với nó. Các đính bào tử của nó có khả năng xâm nhập khí quản một số loài cánh thẳng, qua lớp kitin ở màng của ấu trùng *Platysamia cecropia*.

Người ta cũng thấy nó ở *Proceras indicus*, một loài côn trùng hại mía ở Ấn Độ và nó có thể kết hợp với loài ong đất *Xyloterinus politus*.

Ngoài ra người ta đã tiến hành những thí nghiệm nhằm xác định tác hại của các sản phẩm trao đổi chất có tính độc của *A.flavus* ở những côn trùng như ấu trùng cánh cam, tăng, đê .v.v...

Điều kiện sinh trưởng và sinh bào tử

- *A.flavus* có khả năng phát triển trong khoảng nhiệt độ 6 - 54°C. Tốc độ sinh trưởng cao nhất trên lạc, cỏ linh lăng khô và môi trường nuôi cấy trong phòng thí nghiệm ở nhiệt độ 30 - 35°C. Tuy nhiên sự tăng trưởng mạnh nhất đạt được ở 20°C. Đặc biệt thuận lợi khi môi trường có hàm lượng đường sacaroza cao (30 - 200 g/l) và hàm lượng nitrat cao (3 - 6 g/l).

Bảng 6.1. Tăng trưởng chiều dài (tính bằng mm/ngày) của *A.flavus* (chủng phân lập từ lúa mì) ở các nhiệt độ khác nhau

Môi trường nuôi cấy	22°C	32°C	37°C
Mạch nha 2%	5,23	7,78	6,24
Mạch nha 2% + NaCl 10%	6,44	12	5,95

Độ ẩm cao (80 - 85%) rất thích hợp cho *A.flavus* phát triển; điều này giải thích tại sao trên lạc ta ít thấy loài này mọc tranh với các loài *Aspergillus* nhóm *glaucus* là những loài có nhu cầu nước

Sự sản sinh đính bào tử thay đổi tùy theo nhiệt độ và môi trường nuôi cấy: ở 32°C tốt hơn ở 22°C; thêm đường sacaroza vào môi trường mạch nha thì số bào tử tăng nhanh trong 8 ngày đầu nuôi cấy, rồi sau đó chậm hẳn

Bào tử *A.flavus* duy trì khả năng nảy mầm rất lâu ở khí hậu ôn đới, có thể qua nhiều năm. Nếu đặt các bào tử đó ở -70°C, rồi làm ấm từ từ (0,9°C mỗi phút) chúng sẽ nảy mầm với tỷ lệ 7%; nếu nâng nhiệt độ nhanh, tỷ lệ nảy mầm sẽ là 75%.

Tuy chịu được nhiệt độ rất thấp nhưng bào tử cũng không bị chết ở nhiệt độ cao tới 53°C. Ngược lại, chúng rất mẫn cảm với các biến đổi độ ẩm. Chúng nảy mầm nhanh khi độ

âm đạt 79 - 81%; chúng bị chết sau một tháng ở độ ẩm 75%, trong khi đó thì 40% số bào tử vẫn sống được 6 tháng ở độ ẩm 85%.

Giảm bớt hàm lượng oxi trong khí quyển sẽ làm giảm tốc độ tăng trưởng của hệ sợi nấm; nếu tăng hàm lượng khí cacbonic lên từ 20 đến 100% thì cũng vậy. Trong nuôi cấy chìm, thông khí 9 l/ph sẽ tăng sinh khối cao nhất.

Nếu sự tăng trưởng của *A.flavus* thấp nhất ở môi trường có pH = 3,9 thì nó lại tối ưu ở pH = 5,5; rồi giảm dần ở pH = 9,1. *A.flavus* có khả năng sử dụng chất cacboxil-metylxenluloza làm nguồn cacbon.

Người ta biết rằng chuỗi cacbon có đỉnh gốc nitơ sẽ ảnh hưởng đến sự đồng hóa các hợp chất nitơ. Đối với *A.flavus*, khi nghiên cứu về sự tổng hợp protein theo hàm lượng nitơ trong môi trường nuôi cấy thu được những kết quả sau.

Bảng 6.2. Lượng protein do *A.flavus* tổng hợp

(Kết quả tính ra phần trăm, tỷ suất 100% chỉ nguồn đạm tối ưu cho sự sinh trưởng của nấm, tức là loại chất đạm thích hợp nhất để tổng hợp protein)

NaNO ₃	85	Prolin	100	Valin	70
(NH ₄) ₂ SO ₄	95	Histidin	75	Loxin	50
Urê	85	Xistein	55	Izoloxin	55
Glicocon	75	Metionin	50	Các purin	100
Alanin	100	Phenylalanin	0	Các pirimidin	80
Serin	80	Tirozin	45	P.A.B.O.A.B	0
Treonin	80	Tryptophan	0	Axit nicotinic	15
Axit aspactic	100	Arginin	80	Guanidin	60
Axit glutamic	100	Lizin	70		

- Những công trình nghiên cứu về thành phần đạm của *A.flavus* ảnh hưởng đến việc chuyển hóa các muối nitrit và nitrat từ đạm hữu cơ. Người ta đã theo dõi được cơ chế nitrat hóa trên các giống nuôi cấy *A.flavus*.

- Việc thêm botran (2,6-dicloro-4-nitro-anilin) vào môi trường nuôi cấy làm cho việc phân lập *A.flavus* được dễ dàng hơn. Người ta đã phân lập được những thể biến dị không có bào tử nhưng lại phân hủy protein.

- Nước ép cà chua dùng cho việc nuôi cấy *A.flavus* rất tốt.

Những chất do *A.flavus* sinh ra

- Tên **Aflatoxin** đã được dùng để gọi một hỗn hợp độc tố do *Aspergillus flavus* sản ra, trước khi bản chất phức tạp của mỗi hợp chất đó được biết rõ. Thực ra, *A.flavus* chủ yếu sinh ra aflatoxin B₁ và nhiều chất aflatoxin khác có công thức hóa học tương tự được gọi là aflatoxin G₁, aflatoxin B₂, aflatoxin G₂. Các aflatoxin B₂ và G₂ là những dẫn xuất của B₁ và G₁. Các aflatoxin M₁, M₂ và P₁ thường thấy trên các sản phẩm gốc động vật và tạo thành từ sự biến đổi của các aflatoxin trên. Người ta cũng nói đến các aflatoxin GM₁, B₃, và G₃, thậm chí cả đến aflatoxin 3B hoặc độc tố B₃. Người ta đã đề nghị gọi tên hợp chất đó là aflatoxin 3B hoặc độc tố B₃, flavatoxin hoặc flavacumarin.

- Ngoài ra nó còn tạo ra nhiều chất khác trong đó có một số có tính kháng sinh; các chất này nhiều ít tùy từng chủng; một số chất cũng độc.

- Nhiều sản phẩm chuyển hóa của *A.flavus* thuộc về họ các *Sterimatoxistin*.

Sterimatoxistin

Metoxi-6-sterimatoxistin

O-metylsterimatoxistin

aspertoxin

$R = R' = R'' = H$

$R = R' = HR'' = OCH_3$

$R = R'' = HR' = CH_3$

$R = OHR' = CH_3R'' = H$

Chất sterimatoxistin $C_{18}H_{12}O$ và chất metoxi-6-sterimatoxistin $C_{19}H_{14}O_7$ là những độc tố của *A. versicolor*. Chất O-metylsterimatoxistin được phân lập từ một chủng *A. flavus* sản sinh các aflatoxin. Aspectoxin $C_{19}H_{14}O_7$ (hoặc 3-hydroxin-6,7-dimetoxin-difuroxanton), một hợp chất có tính huỳnh quang như aflatoxin, thu được từ hai chủng *A. flavus* khác nhau và cấu trúc hóa học của hợp chất đó đã được xác định bởi Wais, Rodricks và các cộng sự; aspertoxin độc đối với phôi gà và ấu trùng cá vằn “Zebra fish”. *A. flavus* cũng còn sinh ra axit aspergic và các hợp chất tương tự :

- **Axit aspergic**, $C_{12}H_{20}N_2O_2$ có hoạt tính đối với cả vi khuẩn Gram + và Gram -; chất kháng sinh này chịu được axit, kiềm, cùng nhiệt độ ẩm, nó rất độc với động vật (liều gây chết DL 100, đối với chuột theo đường màng bụng là 150 mg/kg). Các tiền chất của nó là loxin và izoloxin (xem Chương II)

- **Axit neoxiaspergic**, tách từ những loài thuộc *Aspergillus* gần về mặt phân loại với *A. flavus*, có cùng công thức nguyên; nó có hoạt tính kháng vi khuẩn và kháng thực khuẩn.

- **Axit hidroxiaspergic** $C_{12}H_{20}N_2O_3$ không có tính kháng sinh đối với các vi khuẩn mẫn cảm với axit aspergic,

- Chất graneggilin, gần giống với axit aspergic, có tính kháng sinh đối với nhiều loại vi khuẩn, nhưng không độc đối với chuột khi tiêm vào màng bụng với liều lượng 400 mg/kg.

-**Axit kojic**: $C_6H_6O_4$, một chất dị vòng oxi hóa, có nhân piron như chất clavaxin do *A. flavus* sinh ra

Chất kháng sinh này được sinh bởi 9 loài thuộc *Aspergillus* (*A. tamarii*, *A. flavus*, *A. oryzae*, và *effusus* của loài này, *A. parasiticus*, *A. candidus*, các *Aspergillus* nhóm wentii), 4 loài thuộc *Penicillium* và loài *Verticillium dahliae*.

Chất này, ngược với một số ý kiến cho rằng có độc đối với động vật. Liều lượng 250 mg/kg độc đối với chuột qua đường dưới da vào mạch máu hoặc vào màng bụng con vật là đi, chân và đuôi duỗi dài ra, hô hấp chậm dần và chết. Thí nghiệm trên cơ thể sống, axit kojic pha loãng 1/100 độc với bạch cầu.

Nên chú ý rằng axit kojic, phân lập từ chủng *A. flavus* var *A. columnaris* làm cho côn trùng chậm phát triển, và ở nồng độ cao có thể dùng làm thuốc trừ sâu.

Trong số các chất do *A. flavus* sinh ra cần chú ý: chất flavixin và chất flavaxidin có hoạt tính giống penicillin, đến nỗi người ta tưởng là cùng một chất; axit flavixidic được coi là độc nhất cho thực vật; chất gây run, gần với chất tremori (dipiroliđin-1,4, butin-2), chất này bị ức chế bởi những chất chống bệnh Parkinson; chất kháng sinh đối với *Bacillus subtilis* nhưng độc đối với phôi gà;

Các sản phẩm chuyển hóa có C₁₈ là kết quả ngưng tụ của hai đơn vị có C₉, mỗi chất này lại được sinh ra do một sự kết tụ đầu tiên giữa một dẫn xuất của axit hexanoic với axit oxaloaxetic, tiếp đó là mất nhóm cacboxyl. Đó là một quá trình gần giống với quá trình sinh các rubratoxin có C₂₆.

Ở gà có thể hạn chế chứng xuất huyết gây bởi *Penicillium* bằng cách thêm vitamin K vào thức ăn. Đôi khi người ta cũng khuyến nên thêm những chất chống nấm như là chất 8-hydroxinquinolein vào thức ăn.

6.2.3.2. Các *Penicillium* khác thuộc nhóm *Biverticillata symetrica*

Scott đã làm thí nghiệm gây nhiễm độc cho vịt bằng canh trường nuôi cấy *P.variabile* Sopp (loài này có thể sinh ra aflatoxin). Loài này có thể ức chế sự sinh trưởng của chuột và gây tổn thương nhẹ ở thận.

Người ta nhận thấy rằng chất axit β-nitropropanoic (BNPA), mà người ta thấy có ở một số loài cây như *Indigofera endecaphyla* Jacq., và *Viola odorata* L., khiến cho các cây đó có tính độc, do có mặt loài *Penicillium atrovenetum* G. Smith trên các cây đó.

Cần chú ý rằng loài *P.novae-zelandiae* v. Beyma sinh ra chất **clavaxin**.

6.2.3.3. Bệnh độc tố nấm do *Fusarium*

Đó là những nhiễm độc liên quan đến các loài nấm mốc thuộc chi *Fusarium*. Các nấm này khá phổ biến, đặc biệt là trong đất và trên các loại hạt ngũ cốc. Việc xác định tên thường khó khăn vì thường hay sử dụng danh pháp kép, hệ thống của Wollenweber công nhận khoảng 150 loài, thứ và dạng chia thành 16 nhóm, còn hệ thống của Snyder và Hansen dựa trên tính dễ biến đổi về mặt di truyền ở các loài của Wollenweber đã thu gọn lại thành 10 loài. Bản tổng kết mới đây của Booth, Mesiaaen và Cassini đã làm cho hệ thống phân loại đó được sáng tỏ hơn.

Phần lớn các *Fusarium* có thể gắn liền với các dạng nấm túi (*Ascomycetes*), hoặc thuộc các chi *Hypomyces* hay *Nectria* (có bào tử túi hai tế bào) hoặc thuộc các chi *Gibberella*, *Calonectria* hay *griphosphaeria* (có bào tử túi ba vách ngăn).

Bảng 6.3. Bệnh dạng *Fusarium*

Dạng có bào tử túi	Các loài của Snyder và Hansen	Các nhóm của Wollenweber	Các loài độc	Bào tử đỉnh nhỏ	Bào tử màng dày	
NETRIA	<i>F.spisphaeria</i>	<i>Zupiohnotes</i>				
		<i>Macroconia</i>				
CHANECTRIA	<i>F.rigidinccua</i>	<i>Spicarioides</i>		+		
		<i>F.cifiafua</i>				<i>Submicrocera</i>
						<i>Pseudomicrocera</i>
GRINCHERIAA	<i>F.nirole</i>	<i>Arachnites</i>	<i>F.nivale (Fr)Ces</i>			
	<i>F.tricisetue</i>	<i>Sporotrichiella</i>	<i>F.pode (Peck)Wr</i> <i>F.sporotrichioide</i> <i>s Sherb</i>	+	+	
		<i>Roseum</i>	<i>F.graminum</i> <i>Corda</i> <i>F.ovenaccum</i> <i>(Fr)Socc</i>		+	
		<i>Arthrosporiella</i>	<i>F.semitectum</i> <i>Berk et RGV</i> <i>F.diversisporum</i>		+	

GHBBER-LLA			Sherb		
		Gibbosum	<i>F. equiseti</i> (Cda)So <i>F. scirpi</i> Lamb.et Fautr		+
		Discolor	<i>F. sambocinum</i> <i>F. culmorum</i> (W.G.Sm)Socc <i>F. gacminearum</i> Schwabe		+
		<i>F. lateritiom</i>	<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	
		<i>F. moniliforme</i>	<i>Liseda</i>	<i>F. moniliforme</i> Sheld.	+
HYPOMYCES	<i>F. oxyspofum</i>	<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i> Schl <i>F. redolens</i> Wr	+	+
	<i>F. salani</i>	<i>Martiella</i>		+	+
		<i>Ventricdsum</i>		+	+

Những dạng có bào tử túi của các *Fusarium* sắp xếp tương ứng giữa cách phân loại của Snyder và Hansen với cách của Wollenweber; các loại coi là độc (theo Wollenweber) có hoặc không có bào tử đính nhỏ và bào tử màng dây.

6.2.3.3.1. Nhiễm độc do *Fusarium Nivale*

Bệnh độc tố ở cỏ đuôi trâu và lúa

Loài *Fusarium nivale* (Fr.) Cess. (*Griphosphaeria nivalis* (Schaffnit) Müll.etv.Ar.) phát triển trên họ Hòa thảo.

Người ta đã nêu một số vụ nhiễm độc ở gia súc ăn cỏ trong đó có loài cỏ đuôi trâu (*Festuca arundinacea* Schreb.), đặc điểm của bệnh độc tố cỏ đuôi trâu là mùa lạnh thì phần sau thân con vật bị yếu đi, chỏm đuôi và móng bị hoại thư, còn về mùa nóng thì bị sốt. Bệnh độc tố này xảy ra theo mùa và hàm lượng các ancaloit trong cỏ đuôi trâu biến đổi theo từng mùa, nên đầu tiên người ta nghiên cứu vai trò có thể có của các ancaloit trong việc làm xuất hiện các triệu chứng bệnh cho kết quả âm tính; chất ancaloit phân lập được là *festixin*, cũng chỉ rất ít độc tố đối với chuột nhắt. Khi đó người ta lại thử phân lập tất cả các loài nấm mốc có trong cỏ: ngoài loài *Epicoccum nigrum* và loài *Mucor fragilis* ra thì trong số nấm đó, loài *Cladosporium cladosporioides* và nhất là loài *Fusarium nivale* có thể gây cho thỏ những phản ứng ngoài da, gây phù thũng đến hoại tử.

Và lại người ta cũng đã biết rằng loài *Fusarium nivale* nhiễm từ vỏ kiều mạch gây độc, đã có nhiều vụ ngựa bị ngộ độc. Loài nấm này khá phổ biến trên lúa mì, và cũng có thể gây nôn mửa, nhưng thường không làm chết người.

Ở Nhật Bản, người ta đã nhận thấy rằng gạo bị nhiễm *Fusarium nivale* rất độc đối với động vật, đã có nhiều vụ gia súc bị nhiễm độc.

Các độc tố của *Fusarium nivale*

Một khi đã xác lập mối liên quan giữa các vụ nhiễm độc và loài *Fusarium nivale* thì cần xác định các độc tố mà loài nấm đó sản sinh ra (*).

Chất thấy nhiều nhất là lacton butenolit:
chất lacton của axit 4-acettamido-4-hidroxi-
2-butenic C₆H₇NO₃.

DL₅₀ với chuột nhắt là 43,6 ± 1,24 mg/kg

(*) Chủng *Fusarium* NRRL 3249 do Keyl và các cộng sự phân lập đã bị nhầm là loài *Fusarium nivale*. Mới đây Snyder đã nghiên cứu lại và cho rằng thực ra đó là một *Fusarium tricinctum*. Một số các tính chất nêu ở đây là của *Fusarium nivale* phải chuyển sang loài *Fusarium tricinctum*.

Trong những giống *Fusarium niale* phân lập được trên gạo, người ta thấy có nhiều chất sesqui terpenoit rất độc như chất nivalenol, $C_{15}H_{20}O_8$ (3α , 4β , 7α 15-tetrahydroxixiecp-9-en-8-on), một monoaxetat là chất fusarenon (3α , 7α , 15-trihidroxi-4 β -axetoxi-xiecp-9-en-8-on), một diaxetat $C_{19}H_{24}O_9$ (3α , 7α , dihidroxi-4 β , 15-diaxetoxixiecp-9-en-8-on), và một hợp chất gọi là toxin T₂ (có nhiều trong số các dẫn xuất chuyển hóa của loài *Fusarium tricinctum*). Một độc tố nữa cũng đã được thấy rõ chất fusarenon X, $C_{17}H_{22}O_8$, nó có cùng một Rf với chất fusarenon, nhưng điểm nóng chảy của nó và khi phân tích sơ bộ thì một số người cho là khác nhau, một số người khác lại cho là giống nhau.

Đã có nhiều công trình nghiên cứu về tính chất của các độc tố này, nhất là ở Nhật Bản. Các hằng số của chúng như sau:

F: 222 - 223⁰C với nivalenol, 78 - 80⁰C với fusarenon, và 91 - 92⁰C với fusarenon X (87 - 90⁰C theo Morooka và các tác giả khác); $[\alpha]_D^{24}$ (etanol): + 21,5⁰C với nivalenol, + 29,6⁰C với fusarenon.

Các chất đó tiêm vào màng bụng có độc tính cấp như nhau: đối với chuột nhắt: DL₅₀= 4,0 mg/kg với nivalenol; 3,5 mg/kg với fusarenon; 3,56 mg/kg với fusarenon X. Tiêm dưới da: 4,5 và 4 mg/kg, và uống: 4,5 mg/kg với fusarenon X.

Cả hai chất nivalenol và fusarenon ức chế sự tổng hợp các protein trong các hồng cầu ở thỏ, hoạt tính của nivalenol gấp 10 lần fusarenon; sự ức chế này xảy ra ở các ribozom.

Việc nhiễm độc thể hiện bằng sự biến đổi các tế bào đang phát triển trong mô tạo huyết ở xương, trong lách, làm hạch bạch huyết cũng như trong biểu mô ruột; sự sinh sản tinh trùng cũng bị rối loạn.

Với chất fusarenon X, ở chuột nhắt, người ta thấy ruột bị giãn ra kèm chảy máu, tuyến ức bị teo và bầm máu, ngoại vi các thùy gan bị xung huyết, tất cả các triệu chứng đó đều kèm theo tiêu chảy.

6.2.3.3.2. Nhiễm độc do *Fusarium tricinctum*

Bệnh bạch hầu do nhiễm độc thực phẩm

Bệnh bạch hầu do nhiễm độc thực phẩm (thường gọi tắt là bệnh A.T.A(*)) phát hiện ở những người đã ăn phải hạt ngũ cốc mốc hoặc các chế phẩm từ các hạt ngũ cốc tích trữ qua mùa đông ở ngoài đồng; người ta cũng mô tả nó ở loài ngựa. Bệnh cũng không phải do nhiễm khuẩn, cũng không lây. Các triệu chứng rất nhiều kiểu như giảm bạch cầu, mất bạch cầu hạt, viêm họng hoại tử tạng chảy máu, suy tủy xương. Bệnh độc tố này thường đưa đến tử vong được gọi bằng nhiều tên khác nhau: bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh bạch cầu chảy máu, bệnh mất bạch hạt, viêm họng nhiễm trùng, bệnh độc tố thực phẩm, bệnh độc tố gây suy tủy, v.v..

Bệnh A.T.A. lần đầu tiên xuất hiện ở vùng cực đông Xibia vào năm 1913, nhưng mãi đến năm 1932 mới lại thấy ở phía tây Xibia. Nhiều gia đình chết cả nhà, và ở một số làng, dân số hoàn toàn bị xóa sạch. Thời kì đó, bệnh thường hoành hành vào mùa xuân ở các vùng nông nghiệp xứ Uran, Ukrain, vùng Trung Á và Đông Xibia. Trong những năm chiến tranh từ 1941 đến 1945, bệnh A.T.A. đặc biệt gia tăng, có khi có đến 10% dân số bị mắc bệnh này.

Trước khi biết nguyên nhân thật sự của bệnh đó, người ta đã cho là do nhiễm trùng, do thiếu vitamin (vitamin B₁, C và riboflavin), do một sự tự oxi hóa các protein thực vật trong ngũ cốc tạo thành những amin độc, do các ancaloit hoặc các glucozit, do sự ôxi hóa các axit béo chưa no, v.v... Năm 1934, Muraskinski đã xác minh nguyên nhân gây bệnh A.T.A. là một

loài *Fusarium* làm mốc các hạt ngũ cốc, đặc biệt là hạt kê, cả lúa mì và đại mạch. Trong những năm sau đó, người ta đã nhiều lần phân lập được loài *Fusarium sporotrichioides*. Tuy loài này phân bố rộng rãi trên thế giới, nhưng bệnh A.T.A. chỉ thấy có ở Liên Xô, vùng giữa 40⁰ và 140⁰ kinh tuyến Đông, 50 và 60⁰ vĩ tuyến Bắc, vùng đất sét lầy lội, ở đó nhiệt độ mùa đông vào khoảng -10 đến -15⁰C, nhiệt độ mùa hè khoảng 15 đến 25⁰C.

(*) A.T.A.: aleucémie toxique alimentaire, bệnh bạch cầu do nhiễm độc thực phẩm (Bt)

Nguyên nhân gây bệnh A.T.A.

Mùa đông lạnh, tuyết nhiều tiếp đó là mùa xuân với những thời kỳ tan băng xen kẽ nhau tạo nên những điều kiện thuận lợi cho sự phát triển bệnh A.T.A. Ngược lại, mùa đông lạnh nhiều không có xen kẽ đóng băng và tan băng, tiếp đó là thời tiết khô ráo thì không thuận lợi cho bệnh đó. Hạt ngũ cốc ăn trong mùa đông thì không độc. Mùa xuân lúc tan băng là lúc độc tố xuất hiện liên quan đến sự phát triển của một số loài nấm gây bệnh.

Các loài nấm gây bệnh: loài *Fusarium sporotrichioides* thường được coi là loài chính gây bệnh A.T.A., những loài nấm khác thường được phân lập cùng với nó cũng có vai trò đáng kể. Chẳng hạn như các loài *Fusarium poae* (Peck) Wr., *F.lateritium* Nees, *F.graminum* Cda, *F.oxysporum* Schl., *F.redoleus* Wr., *F.quiseti* (Cda) Sacc., có thể làm chết chuột cobai trong 5 đến 21 ngày, thỏ chết trong 8 đến 24 ngày, nhiễm độc trong các thực phẩm.

Có những loài thuộc chi khác ngoài chi *Fusarium* cũng thường hay gặp trên hạt ngũ cốc để qua mùa đông; một số trong các loài đó được coi là độc là *Cladosporium epiphyllum* (Pers) Mart., *C.gracile* Cda., *C.fagi* Oud., *C.fuligineum* Bon., *C.penicillioides* Preuss, *Alternaria humicola* Oud., *A.tenuis* Nees, *Penicillium steckii* Zaleski, *P.brevicompactum* Dier., *P.notatum* Westl., *P.jéni* Zal., *P.crustosum* Thom, *Trichothecium roseum* Link, *Verticillium lateritium* Rabenh, cũng như nhiều loài thuộc bộ *Murcorales* như *Pipttocephalis fréniana* de Bary, *Rhizopus nigricans* Ehrh., *Mucor albo-ater* Naoumov, *M.corticulus* Hag., *M.racemosus* Fres, và *Thamnidium elegans* Link. Trong tất cả các trường hợp, canh trường nuôi cấy các loài nấm đó đem cho chuột cobai, thỏ hoặc mèo uống đều gây những rối loạn nghiêm trọng, và đều đưa đến tử vong.

Loài "*Fusarium sporotrichioides*" - Người ta thường dùng từ "*Fusarium sporotrichioides*" để gọi tên loài nấm gây bệnh A.T.A., tương ứng với loài *Fusarium sporotrichioides* Sherb. Người ta đôi khi cũng nói đến loài *Fusarium sporotrichiella* (gọi sai, vì *sporotrichioides* không phải là tên loài mà là tên một nhóm loài do Wollenweber đặt), đến loài *F. sporotrichioides* Sherb. Var. *tricintum* (Cda) Raillo. Theo hệ thống phân loại của Snyder và Hansen, đó là loài *F. tricintum* (Cda) Sn., và mới đây H. Seemuller đã sắp xếp lại hệ thống sinh sản của nhóm đó.

Đặc điểm nổi bật của loài *F. tricintum* là có tiểu bào tử hình quả lê đôi khi hình quả chanh, mang trên cuống bào tử dính hình chai. Các đại bào tử tập hợp thành đài cuống (khác với loài *F. roseum*) và thành cục nhày. Người ta rất thường gặp bào tử màng dày. Thịt đậm màu son, đỏ tía hoặc màu vàng đất. Không có bào tử túi.

Fusarium sporotrichioides Sherb. - hiểu theo nghĩa hẹp theo Wollenweber và Reinking - phổ biến trên các hạt ngũ cốc và các chế phẩm từ hạt ngũ cốc, trên các quả có hạt cứng (làm thối rữa các quả đó) ở châu Âu, châu Á (Nhật Bản, Xibia) và Bắc Mỹ. Nó có thể sống trong đất và trên các cơ chất thực vật đang thối rữa.

Loại nấm này chịu lạnh rất khỏe, sinh trưởng tối ưu ở 24⁰C, nhưng nó vẫn phát triển được (chậm) ở nhiệt độ thấp -10⁰C. Sau 4 tháng ở -20⁰C nó vẫn sống. Ngược lại, ở nhiệt độ 100⁰C, nó không thể sống được sau 10 phút.

Các độc tố

Những hạt có mang loài nấm trên gây độc nhất vào mùa xuân. Nhiệt độ tối ưu để sinh sản các độc tố là 1,5 - 4⁰C.

Mức độ các triệu chứng nhiễm độc phụ thuộc vào tỷ lệ hạt bị nhiễm có trong thức ăn. Độc tố trên kê có nhiều hơn trên lúa mì và các hạt ngũ cốc khác. Phôi nhũ có nhiều dầu, là phần độc nhất trong hạt.

Đun nấu bình thường thì độc tính của hạt không bị phá hủy. Trên thực tế khi đun nấu đến 125°C ít nhất là 30 phút hoặc đến 110°C trong 18 giờ độc tố vẫn bền vững. Hạt bị mốc sau 6 năm tồn kho vẫn giữ độc tính.

Bản chất hóa học thật sự của chất mielotoxin của bệnh A.T.A. trong một thời gian dài không được xác định. Okunev cho rằng đây là một lipo-protein, bị thủy phân thành một protein và một chất khác giống với một dẫn xuất oxi của chất cumarin, chất này gây bệnh A.T.A. Tuy nhiên Gajdusek cho rằng độc tố chỉ hòa tan trong các lipit của hạt. Theo Gularev và Gulareva thì trong nước chiết ete, chất độc này tồn tại dưới hai phần: một phần có trong các axit béo bị ôxi gây phản ứng viêm da khu vực ở thỏ; phần có trong phần không bị hóa xà phòng và độc theo đường miệng, đồng thời cũng gây hoại tử da.

Người ta cũng đã cho rằng chất mielotoxin có lẽ chỉ là một độc tố thực vật có đạm và có thể phá hủy các protein miễn dịch và các kháng thể.

Olifson đã phân lập và xác định được một số độc tố từ *Fusarium sporotrichioides*, đó là một chất xà phòng *sporofusarin*, công thức phân tử $C_{65}H_{96}O_{25}$, có chứa một chất sapogenin $C_{24}H_{31}O_4$. Từ loài *F.poa*, ông đã phân lập được một đường đơn, *poaefusarin* có công thức phân tử $C_{35}H_{39}O_{12}$, có chứa một xiloza và một aglicon steroidic. Chất aglicon này gọi là *poaefusariogenin* $C_{24}H_{28}O_5$ và phân biệt với chất Sporofusariogenin thay vào gốc metyl là một gốc andehit.

Để phát hiện các hạt có độc dùng các phương pháp sau:

- Thả nổi trong dung dịch natri clorua (10 - 25%), cho phép nhận biết không những các hạt bị nhiễm *Fusarium sporotrichioides* mà tất cả các hạt bị mốc.
- Chất độc khi có mặt axit clohydric phản ứng với kẽm clorua sẽ cho màu đỏ, màu đỏ càng đậm khi lượng độc tố càng nhiều.
- Phương pháp sinh học: độc tố làm cho *Saccharomyces cerevisiae* không sinh trưởng được. Khi nhỏ một giọt dịch chiết trong nước hoặc trong rượu ngâm các hạt có nhiễm độc cũng khiến cho hoa cúc bị héo đi.
- Phương pháp phổ biến nhất dùng để phát hiện độc tố của *Fusarium* là lấy 50g hạt nghi có độc, dùng ete etylic khan làm hai dịch chiết, trong máy Soxhlet, một dịch chiết trong sáu giờ, một dịch nữa trong 3 ngày. Đem hai dịch chiết đó bôi lên da thỏ một vùng rộng 9 mm². Độc tố sẽ gây phản ứng viêm da, sau 2 giờ có xung huyết nặng, sau nhiều ngày gây hoại tử. Người ta cũng có thể dùng cách thử trên phôi gà.

Các triệu chứng của bệnh A.T.A.

Bệnh A.T.A. chủ yếu là bệnh của những người ăn nhiều kê. Bệnh thường xuất hiện từ cuối tháng 4 đến cuối tháng 6.

Nghiên cứu lâm sàng - Theo Forgacs và Carll ta có thể nhận thấy nhiều giai đoạn phát triển của bệnh:

Giai đoạn thứ nhất: trước tiên người ta thấy có những biến đổi trong khoang miệng và trong đường tiêu hóa. Ít lâu sau khi ăn phải thức ăn làm bằng hạt mốc người bệnh có cảm giác bị bỏng ở trong miệng, lưỡi, vòm miệng, cổ họng, thực quản và dạ dày, cảm giác này do tác động của độc tố lên các màng nhày gây ra. Lưỡi cũng có thể cứng và sưng phồng, còn các màng nhày trong khoang miệng thì ứ máu. Sau vài ngày gây viêm đường dạ dày-ruột, đặc trưng bởi các chứng tiêu chảy, buồn nôn, ói mửa, ra nhiều mồ hôi nhưng không sốt, chỉ những trường hợp nặng mới lên cơn sốt, khi đó có thể tới 39⁰ và chảy nước dãi nhiều, viêm thực quản cấp, viêm dạ dày-ruột, đau bụng, tim đập nhanh, da xanh tím nhẹ, chóng mặt, nhức đầu

và cảm giác lạnh ở các đầu ngón, có thể gây co giật. Nếu ở giai đoạn này mà ngừng không dùng thức ăn độc nữa, thì các triệu chứng chỉ kéo dài hai hoặc ba ngày. Ngược lại, nếu vẫn tiếp tục dùng thức ăn độc thì bệnh tiếp tục trong 5 đến 9 ngày, rồi đột nhiên biến mất ngay cả khi vẫn tiếp tục ăn thức ăn độc. Tiếp theo thời kỳ tạm ngừng phát triển về mặt lâm sàng là những triệu chứng của giai đoạn thứ hai.

Giai đoạn thứ hai (giai đoạn giảm bạch cầu): ở giai đoạn này người bệnh có vẻ bình thường về mặt lâm sàng, tuy nhiên, độc tố đã bắt đầu tác động hủy hoại lên các yếu tố sinh hồng cầu ở tủy xương. Xét nghiệm huyết học vùng ngoại vi, phát hiện thấy nhiều rối loạn nghiêm trọng. Dần dần sinh các chứng giảm bạch cầu, giảm bạch cầu hạt, và tế bào bạch huyết tăng tương đối nhanh. Vì vậy người ta thường gọi là "giai đoạn giảm bạch cầu". Hơn nữa, người ta còn thấy có sự giảm hồng cầu và huyết tố cầu. Số lượng bạch cầu giảm dần, các bạch cầu trung tính có sự kết hợp không bình thường.

Giai đoạn này thường kéo dài 3 đến 4 tuần, đôi khi kéo dài 2 đến 8 tuần. Giai đoạn này, thường không có triệu chứng đi ngoài, đôi khi có những rối loạn trong hệ thần kinh. Người ta thấy người bệnh bị suy nhược, mệt mỏi, chóng mặt, nhức đầu, tim hồi hộp và hen nhẹ. Da và các màng nhày có thể có triệu chứng của bệnh vàng da, con ngươi nở to, mạch yếu, huyết áp giảm. Nếu giai đoạn này mà ngừng ăn mọi thức ăn độc thì vẫn có hy vọng khỏi bệnh hoàn toàn. Nhưng nếu tiếp tục ăn thức ăn độc thì thấy xuất hiện giai đoạn thứ 3 của bệnh.

Giai đoạn thứ ba (giai đoạn viêm họng chảy máu): chuyển tiếp từ giai đoạn thứ hai sang giai đoạn thứ ba rất đột ngột, trước hết là do ảnh hưởng các triệu chứng thứ yếu, như cơ thể mệt mỏi rõ rệt hơn. Dấu hiệu đầu tiên thấy được ở giai đoạn thứ ba này là sự xuất hiện những đốm xuất huyết trên da ngực và bụng, ở bẹn và nách cũng như ở các mặt bên của cánh tay và đùi. Ở màng nhày trong miệng, lưỡi và amidan cũng có những vết đỏ như vậy. Vì các mao mạch rất dễ vỡ nên chỉ hơi chấn thương nhẹ cũng đã gây xuất huyết, kích thích rộng dần, và chuyển từ màu hồng sang màu đỏ đến màu tím.

Dần dần xuất hiện những vùng chảy nước, và trong miệng xuất hiện những vết hoại tử đường kính 5 đến 7 mm. Trong cổ họng hình thành một vết hoại tử ở yết hầu, hơi có dạng của bệnh bạch hầu. Các tổn thương hoại tử có thể lan ra vòm miệng, lưỡi gà, các màng nhày má, thanh quản và thanh đới. Những vết này thường bị nhiễm các vi khuẩn không độc, nhưng gây thối rữa, cho nên miệng người bệnh có mùi hôi.

Các vết loét hoại tử có hình tròn, dẹt, màu xám, xung quanh là vùng ứ máu; có xuất huyết trong các màng gần những chỗ hoại tử, nhưng ranh giới không rõ rệt. Các khu vực hoại tử có thể dính lại với nhau, trở thành những vùng lớn, thường tới 20 đến 30 mm, chúng có thể bao gồm không những các mô bì mà cả các mô dưới da và thậm chí cả mô cơ tiếp giáp ở dưới, chúng cũng có thể xuất hiện ở môi, và đôi khi trên da mũi, ở hàm và các ngón tay.

Rồi các tổn thương hoại tử tiếp tục phát triển trong khoang miệng; các đốm xuất huyết và các vết bầm máu quan sát thấy ở đầu giai đoạn thứ ba trở nên nhiều hơn, to hơn và nối liền lại. Mạch rất dễ vỡ, các niêm mạc của đường tiêu hóa rất dễ chảy máu.

Những mô gần các hạch bạch huyết nề ra. Thông thường các hạch dưới hàm và ở cổ to ra, mô xung quanh nề lên đến nỗi người bệnh khó há được miệng. Các tổn thương ở thực quản và các biến đổi ở thanh quản gây phù thũng thanh quản và làm mất tiếng. Có những trường hợp người bệnh chết vì nghẹt cổ: trong số những người đã mắc bệnh tới giai đoạn thứ ba, 20% số trường hợp tử vong là do hẹp thanh môn.

Những hiện tượng bất thường trong máu đã quan sát thấy ở giai đoạn thứ hai, đến giai đoạn thứ ba đều tăng lên. Số lượng bạch cầu giảm xuống còn 100 trong 1 mm², thậm chí còn ít hơn, và số bạch cầu trung tính còn lại thì đầy những hạt. Chứng tăng tế bào bạch huyết tương đối có thể lên 90%, và số hồng cầu giảm tới 1 triệu trong 1 mm³. Lượng huyết cầu tố giảm xuống tới 25000 trong 1 mm³ (có trường hợp còn không quá 3000). Tốc độ huyết trầm

tăng lên, đạt 70 đến 90 mm sau 1 giờ, và phần lớn lắng trong khoảng 30 phút đầu. Người ta cũng ghi nhận có sự giảm trong việc tạo fibrin sinh chất.

Bilirubin máu và đạm urê bình thường. Sự bài tiết vitamin C và B qua nước tiểu giảm nhiều. Việc tiết axit clohidric trong dạ dày có thể biến đổi từ chỗ thiếu dịch vị đến chỗ thừa axit. Trong dịch tủy sống không có hiện tượng gì bất thường.

Trong một số trường hợp, người bệnh bị viêm gan nhu mô cấp, kèm theo chứng vàng da. Sự chuyển hóa khoáng, chuyển hóa glucoza và các protein trong gan bị rối loạn và người ta thấy tăng lượng canxi trong máu.

Nhiệt độ biến động khá nhiều, thường lên tới 39 đến 40°C rồi lại hạ xuống bình thường.

Khi chứng tăng bạch cầu phát triển hoàn toàn, thì có hiện tượng nhược trương, huyết áp trung bình ở người lớn là 180/105. Mạch tăng lên đến 180 lần/phút, nhưng yếu và có thể phát hiện tiếng rì rào tâm thu chức năng, tuy rằng kích thước tim không tăng.

Thường hay thấy những biến chứng ở phổi, chủ yếu là sung phổi, chảy máu và áp xe phổi. Các chứng này có thể nặng thêm, do xuất hiện những loài vi sinh vật ít độc, gây nên những bệnh nhiễm trùng phụ. Mặc dù tình trạng bệnh nặng nề như vậy nhưng người bệnh vẫn hoàn toàn tỉnh táo.

Giai đoạn thứ ba này có thể kéo dài 5 đến 20 ngày. Trường hợp khỏi bệnh, thời kỳ phục hồi sức khỏe tùy theo mức độ trầm trọng của bệnh độc tố. Cần phải điều trị khoảng hai tuần lễ để giải độc hết hoàn toàn.

6.3. Nấm men

6.3.1. Các loại nấm men chủ yếu gây hư hỏng thực phẩm

6.3.1.1. Các sản phẩm thịt

a/ Thịt gia súc

Các loài nấm men chiếm tới 5% thành phần hệ vi sinh vật trong thịt bò, thịt lợn hay thịt cừu. Những loài gây nhiễm cho thực phẩm thuộc giống *Rhodotorula* và *Candida*. Trong thịt lợn tươi chủ yếu có các loài *Candida zeylanoide*, *Trichosporon cutaneum* và *Debaryomyces hansenii*.

Ở nhiệt độ -10°C đến -5°C, nấm men phát triển khá mạnh trong thịt cừu và thịt bò. Ở -5°C, lượng tế bào nấm men trong thịt cừu non phát triển từ 10 tế bào/cm² tới 10⁶ tế bào/cm² trong vòng 20 tuần. Thường hay gặp các loài sau: *Cryptococcus laurentii*, *C.infirmominiatus*, *Trichosporon pullulants* và *Candida zeylanoide*. Trong thịt bò thái nhỏ lượng nấm men có thể đạt 10⁶/g trong vòng 15 ngày ở 5°C. Một lượng tế bào như vậy cũng đạt được trong 7 ngày ở 4°C trong xác bò.

Trong thịt bò đông lạnh, nấm men chiếm một tỷ lệ lớn trong số các vi sinh vật gây hư hỏng. Khi pH trong thịt giảm tới 5,0 nấm men thay thế các vi khuẩn và kết hợp với các lactobacille gây ra những hư hỏng cùng loại với các hư hỏng trong xúc xích tươi.

Các loại nấm mốc và nấm men phát triển chậm hơn so với vi khuẩn nhưng lại chịu đựng tốt hơn khi hoạt độ nước giảm, chúng thường xuất hiện trên bề mặt thịt bò đông lạnh sau 4 - 6 tuần bảo quản. Quan trọng nhất là các giống: *Rhodotorula*, *Candida*, *Cryptococcus* và *Trichosporon* (bảng 6.3.)

Bảng 6.3: Những giống nấm men thường gặp trên thịt gia súc, gia cầm và hải sản

Giống	1	2	3	4
<i>Candida</i>	++	++	++	+
<i>Cryptococcus</i>	+		+	

<i>Debaryomyces</i>	+		+	++
<i>Hansenula</i>			+	
<i>Pichia</i>			+	
<i>Rhodotorula</i>	+	++	++	
<i>Saccharomyces</i>		+		
<i>Sporibolomyces</i>			+	
<i>Trichosporon</i>		+	+	+

Chú thích: 1. thịt tươi 2. gia cầm
3. cá, tôm 4. sản phẩm thịt lên men

b) Thịt gia cầm

10% lượng vi sinh vật có trong các loại thịt gia cầm tươi là nấm men. Có những loài sau: *Saccharomyces*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Torulopsis*. Ở điều kiện -2°C sau 35 ngày, lượng nấm men đạt tới 10^7 tb/ml, Những loài có số lượng nhiều nhất là *Cryptococcus laurentii* và *Candida zeylanoide*.

c) Hải sản

Trong nước biển không bị nhiễm tạp, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Candida* chiếm ưu thế với mật độ khoảng 10^2 tb/ml. Người ta đã phân lập được từ tôm các loài: *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Torulopsis*, *Candida*, *Pullularia* và *Hansenula*. 5% vi sinh vật là nấm men.

Đối với cá, *Debaryomyces kloeckeri* chiếm 48% lượng vi sinh vật, tiếp đến là *Torulopsis inconspicua* và *Candida parapsilopsis*. *Rhodotorula glutinis*, *Trichosporon pullulans* và *Candida humicola* chiếm ưu thế trong cua.

Đối với các loại sò, sự hư hỏng có thể gây ra bởi các loại nấm men có màu hồng như *Rhodotorula rubra*. Có thể có một số loài khác như: *Candida stellata*, *Candida sake*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula glutinis* và *Candida parapsilopsis*.

d) Các sản phẩm thịt chế biến sẵn

Lượng tế bào nấm men thay đổi từ 10^2 - 10^6 /g. Đối với thịt đóng gói hút chân không bảo quản ở 5°C , lượng tế bào tăng tới 10^3 - 10^7 /g trong 15 ngày. Khi hàm lượng NaCl đạt tới 6% thì các loài nấm men và nấm mốc chiếm ưu thế nhưng nếu thực phẩm được bảo quản trong N_2 hay CO_2 thì chúng bị ức chế.

Nấm men và nấm mốc có thể phát triển trên bề mặt các loại jambon, ruốc thịt khô khi bảo quản ở 20 - 30°C (10^5 - 10^6 tb/cm²). Trong các loại xúc xích có các loài sau: *Debaryomyces hansenii*, *Debaryomyces kloeckeri*, *D. nicotianae*, *Candida rugosa*, *C. lipolytica*, *Torulopsis famata* có mặt nhiều nhất trong thịt lợn ướp muối hun khói với hàm lượng NaCl > 4%, với hàm lượng NaCl < 4% thì *C. tropicalis* và *C. krusei* chiếm ưu thế.

6.3.1.2. Các sản phẩm từ sữa

Trong sữa tươi có ít nấm men (10^3 tb/ml). Chúng phát triển chậm trong thời gian bảo quản lạnh và phần lớn vi sinh vật trong đó là các vi khuẩn ưa lạnh kể cả khi có các chất kháng sinh tiêu diệt các vi khuẩn.

Sữa đặc có đường rất nhạy cảm với sự tấn công của nấm men, cùng với quá trình lên men sẽ sinh khí CO_2 .

Bơ và kem bị *Candida* và *Rhodotorula lipolytica* tấn công. Mật độ nấm men cao trong các loại fomat và góp phần làm chín các sản phẩm. Điều này đặc biệt đúng đối với loại fomat mềm, fomat ép, fomat bánh. Trên bề mặt các loại fomat mật độ nấm men có thể phát triển tới

$10^8 - 10^9$ tb/g, còn bên trong là $10^5 - 10^7$ tb/g. Những loài chủ yếu là *Debaryomyces hansenii*, *Candida famata*, *Kluyveromyces lactis*, *C. sphaerica* và *K. fragilis*, *candida pseudotropicalis*, cũng như các loài *Pichia*, *Saccharomyces* và *Trichosporon*. Các loài nấm men này lên men lactoza, thủy phân các protein và lipid. Chúng có thể sử dụng axit lactic làm tăng pH, do đó tạo điều kiện cho vi khuẩn phát triển. Ngược lại, *D. hansenii* cản trở sự phát triển của *Clostridium* bởi sự tổng hợp các chất kháng sinh. Các hư hỏng có thể do lên men lactoza và sinh khí. Sự thủy phân các lipid và protein có thể gây vị đắng hay chát. Sự hư hỏng của sữa chua là vấn đề rất quan trọng, việc cho thêm hoa quả và đường vào sữa chua càng làm tăng nguy cơ này. Có thể biết được sản phẩm đã hỏng hay chưa nhờ mùi vị của nấm men, vị đắng, cấu trúc chứa khí. Các loài chủ yếu gây hư hỏng cho sữa chua hoa quả là: *Candida famata*, *candida versatilis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* và *Candida spp.*

6.3.1.3. Rau, quả tươi hoặc đã chế biến

Nấm men là loài vi sinh vật có rất nhiều trong hoa quả tươi ($10^2 - 10^5$ tb/cm²) nhưng có thể làm hỏng hoa quả do làm mềm, làm chua và lên men.

Nấm men chiếm 1 số lượng lớn các vi sinh vật tự nhiên trong phần lớn các loại rau quả. Sự hư hỏng rau quả thường do hoạt động lên men của nấm men. Một số loài nấm men thậm chí còn có thể tấn công thành tế bào thực vật bằng cách tiết ra các enzym thủy phân các hợp chất pectin, xenlulo và xylano. Nấm men cũng có thể gây hư hỏng cho rau quả đã chế biến và bảo quản trong các dung dịch muối, sunfit hay axit axetic gây mùi vị khó chịu, tạo màng trên bề mặt, sinh khí, làm mềm các mô.

Zygosaccharomyces rouxii, *Cryptococcus albidus*, *Trichosporon pullulans* làm hỏng chà là; *Aureobasidium pullulans* tấn công dâu tây và anh đào.

Cải bắp tươi chứa $10^3 - 10^4$ tb/g và có thể đạt tới 10^8 tế bào sau quá trình bảo quản. Các loài có mặt nhiều nhất: *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus macerans* và *Sporobolomyces roseus*.

Kloeckera apiculata làm mềm và làm mất màu dâu tây. *Hanseniaspora uvarum* và *Pichia kluyveri* làm hỏng cà chua. *Hanseniaspora valbyensis*, *H. uvarum* và *Candida stella* lên men quả sung. *Trichosporon cutaneum* tấn công thành tế bào cuống lá cây đại hoàng. Quá trình lên men quả ôliu và các loại rau trong nước muối (dưa cải, dưa chuột muối) tạo điều kiện cho các nấm men phát triển, chúng làm mất màu, làm mềm, và lên men sinh khí. Mùi hồng tạo ra ở dưa cải muối là do *Rhodotorula*. Quá trình làm mềm các tổ chức trong thực vật do hoạt động của các enzym pectinolytic của *Debaryomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces* và *Rhodotorula*. Quá trình hư hỏng diễn ra nhanh hơn ở điều kiện nhiệt độ cao (20°C), nồng độ muối cao, nồng độ axit cao thường do *S. exiguus*, *C. krusei*, *T. holmii*, *Saccharomyces oleaginus*, *S. kluyveri* và *Hansenula anomala*.

Nhiều loại nấm men được phân lập từ dưa chuột hay dưa bao tử muối hỏng: *C. holmii*, *C. versatilis*, *Hansenula subpelliculosa*, *Torulasporea delbrueckii* và *Z. rouxii*. Khí CO₂ có thể được tích tụ trong rau. Sự tấn công của *Saccharomyces cerevisiae* var *oleaginosus*, và *S. kluyveri*, *Hansenula anomala* làm mềm và tạo khí trong quả ôliu, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. minuta* và *Rh. rubra* sinh ra các enzym polygalacturonaza. Các sản phẩm được bảo quản trong dấm bị hư hỏng do *P. membranaefaciens* và *Z. bailii* cho mùi lưu huỳnh và giải phóng khí.

Các sản phẩm được bảo quản trong dung dịch sunfit có thể bị mềm do hoạt động của các enzym polygalacturonaza của các nấm men: *Cryptococcus albidus* var *albidus*, *Aureobasidium pullulans*, *Z. bailii*, *Z. florentinus*, *H. subpelliculosa* và *P. membranaefaciens*.

Bảng 6.4. Những loài nấm men hay gặp

Lớp đảm khuẩn	Lớp nang khuẩn
<i>Bullera</i>	<i>Candida</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>Hansenula</i>
<i>Leucosporidium</i>	<i>Kloeckera / Hanseniaspora</i>
<i>Rhodospordium</i>	<i>Kluyveromyces</i>
<i>Sporidiobolus</i>	<i>Lipomyces</i>
<i>Sporobolomyces</i>	<i>Nadsonia</i>
<i>Sterigmatomyces</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Trichosporon</i>	<i>Schwanniomyces</i>
	<i>Torulaspora (Debaryomyces)</i>

Các loại nấm men này phát triển trong các loại sản phẩm có nguồn gốc từ rau quả (bia, vang, nước quả, thịt quả, dịch cô đặc), các thực phẩm đông lạnh (thịt, cá), các sản phẩm sữa (kem, fomat, sữa, sữa chua), các loại rau quả (đậu hà lan, đậu tây, phúc bồn tử).

6.3.1.4. Các loại bánh mì

Các sản phẩm bị hỏng có mùi vị rượu, trái cây hoặc axêton, *Hansenula anomala* và *Endomycopsis burtonii* làm mất màu bánh mì.

Nhiều nấm men thuộc loài *Saccharomyces* có thể gây mùi vị khó chịu: axit, rượu, axeton, hoa quả. Các vết đốm nâu vàng có thể do *Hansenula anomala* var. *anomala*, *Pichia burtonii* và *Trichosporon* tạo những vết màu trắng như phấn. *Pichia burtonii* chịu đựng rất tốt những muối của axit propionic và nó tạo ra những vết trắng mờ. Bột nhào làm bánh pizza cũng thường bị nấm men làm hỏng.

6.3.1.5. Các sản phẩm có áp suất thẩm thấu cao

Nhiều loại nấm men thuộc nhóm chịu áp suất thẩm thấu cao và chịu thẩm thấu (bảng 6.5): *H. anomala* var. *anomala*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Z. bailii* var. *osmophilus*, *Z. bisporus* var. *mellis*, *Z. bisporus* var. *bisporus*, *T. lactis-condensi*, *D. hansenii*, *T. candida*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Schizosaccharomyces octosporus*. Trong số này loài chịu được khô hạn tốt nhất là *Zygosaccharomyces rouxii*.

Bảng 6.5. Một số loài nấm men chịu áp suất thẩm thấu và ưa thẩm thấu

Loài	Mức độ chịu a_w	
	% glucoza	% NaCl
<i>C. guilliermondii</i>	57 ($a_w=0,865$)	13
<i>C. krusei</i>		10
<i>C. parapsilosis</i>	60	17
<i>C. tropicalis</i>		13
<i>C. valida</i>		9
<i>Citeromyces matritensis</i>	57	
<i>Debaryomyces hansenii</i>	50	
<i>Pichia burtonii</i>	50	

<i>H.anomala</i>	0 - 75	
<i>Kloeckera apiculata</i>	50	
<i>Pichia farinose</i>	50	
<i>Pichia guilliermondii</i>	50	
<i>Pichia membranaefaciens</i>	50	
<i>Z. bailii</i> var. <i>bailii</i>	50	
<i>Z. bailii</i> var. <i>osmophilus</i>	60	
<i>Z.bisporus</i> var. <i>bisporus</i>	50	
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	75	
<i>Z.rouxii</i>	60	
<i>Schizosaccharomyces octosporus</i>	50	
<i>S. pombe</i>	50	
<i>Candida lactis - condensii</i>	57	
<i>C.versatilis</i>	0 - 70	13

Một số loài gây hư hỏng:

- Đường mía: *Z. rouxii*, *Candida famata*, *Candida apicola*, *Tomlaspora globosa*, *C. leutis condensii*, *C. guilliermondii*, *Z. florentinus*.

- Rỉ đường: *S. cerevisiae* var. *heterogenicus*, *S. holmii*

- Dịch chiết malt: *Z. rouxii*, *Z. bisporus*, *Z. bailii*

- Xiro socola: *C. etchellsii*, *C. versatilis*, *H. anomala*.

- Mứt dâu tây và mơ: *Torulaspota delbrueckii*, *C. cantarellii*.

- Dâu tây cô đặc: *C. versatilis*, *C. utilis*

- Dịch quả cô đặc: *Z. bailii* var. *bailii*

Hư hỏng là do quá trình lên men sinh khí tạo các mùi như este, mùi hoa quả... Trong các loại đồ uống có đường, nếu nồng độ đường khoảng 15% hư hỏng có thể do các loài sau gây ra: *C. stellata*, *C. cantarellii*, *Pichia kluyveri*, *P. fermentans*, *S. cerevisiae* var. *bayanus*, *S. cerevisiae* var. *capensis*, *Candida*, *Brettanomyces*, *Torulaspota delbrueckii*.

Rượu vang có thể bị hỏng do *S. cerevisiae bayanus* (lên men lại rượu vang có đường, loại vang trắng hay vang ngọt), *Z. rouxii*, *S. cerevisiae* var. *capensis*, *Brettanomyces intermedins*, *Pichia membranaefaciens*.

6.3.1.6. Nước xốt mayonnaise

Nước xốt có thể bị hỏng do các loại nấm men bền vững ở môi trường axit đó là *Z. bailii*, đôi khi là *Debaryomyces*, *Pichia* và *turolopsiss*. *Saccharomyces dairensis* tấn công salat bắp cải sống. *Pichia membranaefaciens*, *Saccharomyces bailii*, *Candida krusei*, *Torulopsis stallata* và *S. acidifaciens* làm hỏng nước xốt cà chua.

6.3.1.7. Bia

Bia có thể bị ảnh hưởng bởi nhiều loài nấm men, chúng tạo lớp màng mỏng trên bề mặt, sinh axit, gây đục bia và sinh mùi vị khó chịu (bảng VI.6)

Bảng 6.6: Các loài nấm men thường gây nhiễm tạp cho bia

<i>Brettanomyces anomallus</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
<i>B. clausenii</i>	<i>Hsp. Valbyensis</i>
<i>B. custerii</i>	<i>Hsp. Vineae</i>
<i>B. lambicus</i>	<i>H. fabianii</i>
<i>Candida beecheii</i>	<i>H. subpelliculosa</i>
<i>C. emobii</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>C. humilis</i>	<i>Pichia farinosa</i>
<i>C. intermedia</i>	<i>C. norvegica</i>
<i>C. oleophila</i>	<i>P. fermentans</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>P. guilliermondii</i>
<i>C. sake</i>	<i>P. membranaefaciens</i>
<i>C. solani</i>	<i>P. ohmeri</i>
<i>C. stellata</i>	<i>S. cerevisiae</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>S. exiguus</i>
<i>C. vartiovaarai</i>	<i>S. unisporus</i>
<i>C. versatilis</i>	<i>S. unisporus</i>
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
<i>D. marama</i>	<i>Torulopsis delbrueckii</i>
<i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>
<i>Filobasidium capsuligenum</i>	<i>Z. rouxii</i>

6.3.1.8. Đồ hộp

Nấm men rất nhạy với nhiệt độ nên những trường hợp gây hỏng đồ hộp ít khi đáng ngại tới chúng, đôi khi có *Torulopsis lactis-condensi* có thể gây hư hỏng kèm sinh khí trong sữa đặc có đường.

6.3.2. Các loại hư hỏng do nhiễm tạp vi sinh vật

Trừ trường hợp *Candida albicans* và *Cryptococcus neoformans*, các nấm men không gây bệnh, chúng không gây nhiễm độc thực phẩm nhưng có thể làm giảm chất lượng thương mại khi phát triển trong sản phẩm cuối do:

- Tạo đục hoặc màng mỏng trên bề mặt. Đục do sự có mặt của các tế bào nấm men, đục gây ra những thay đổi độ thuần khiết về mặt thẩm mỹ.
- Tạo các mùi vị không bình thường: sinh etanol, tăng pH do phân hủy các axit hữu cơ (lactic, acetic, benzoic, propionic, sorbic...)

Các loài sau *Torulopsis delbrueckii*, *Brettanomyces intermedius* và nhiều loài *Rhodotulura* có thể phát triển trên môi trường chứa 0,25% muối propionic; 0,25% axit benzoic, hoặc 0,1% axit sorbic như nguồn cacbon.

- Sự biến dạng của sản phẩm và bao bì do sinh khí CO₂

Bản chất và nồng độ các chất hòa tan trong sản phẩm có tầm quan trọng lớn tới sự phát triển của nấm men do ảnh hưởng của a_w (hoạt độ nước). Trên thực tế nhiều loài nấm men có khả năng chịu áp suất thẩm thấu, phát triển trong môi trường có a_w < 0,85. Giới hạn này được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp sản xuất đường và sản xuất xiro nhằm ổn định các sản phẩm có hàm lượng đường đạt giá trị 67°Bx ở 25°C. a_w tối thiểu để nấm men có thể phát triển khoảng 0,65, đối với *Zygosaccharomyces rouxii*, *Candida famata* và *Zygosaccharomyces bailii*. Ở điều kiện hoạt độ nước thấp sự phát triển của nấm men giảm hẳn, với a_w = 0,980 thời gian cho 1 thế hệ là 1,3 giờ, với a_w = 0,935 là 2,15 giờ. Trong 1 sản phẩm, giai đoạn tiềm phát của nấm men đến đột ngột một cách cục bộ nên được giải phóng.

6.3.3. Các nhân tố ảnh hưởng tới sự phát triển của nấm men

Có rất nhiều yếu tố hóa lý ảnh hưởng tới sự phát triển của nấm men có khả năng chịu áp suất thẩm thấu cao như:

- Nhiệt độ: nhiệt độ tối ưu và tối đa tăng lên khi nồng độ đường tăng và a_w giảm.
- Điện thế oxi hóa khử: phần lớn các loại nấm men chịu áp suất thẩm thấu là các loài yếm khí tùy tiện có thể phát triển số lượng nhanh chóng trong điều kiện môi trường sinh học yếm khí nhưng lại lên men mạnh mẽ trong môi trường sinh học hiếu khí.
- Thành phần hóa học của cơ chất: nấm men chịu áp suất thẩm thấu thường sử dụng fructoza nhiều hơn khi chúng phát triển trong môi trường có đường đảo chứa lượng phân tử glucoza và fructoza cân bằng.
- Nhiều nấm men *Basidiomycète* có thể phát triển ở nhiệt độ 5°C hay thấp hơn. Đối với nấm men ưa lạnh, ở điều kiện nhiệt độ thấp chúng chỉ phát triển về mặt số lượng, nhiệt độ tối thiểu để phát triển là $0 - 5^{\circ}\text{C}$, các loài khác không thể sống sót. Tế bào có thể thay đổi hình dạng theo nhiệt độ.

6.3.4. Các nấm men gây bệnh cho người và động vật

6.3.4.1. Khái quát chung

Các nấm men có thể gây ra cho người và động vật các bệnh tật thường gọi là bệnh nấm men hay bệnh nấm mốc và được nói theo cách chuyên môn hơn bằng ngôn ngữ xuất phát từ tên của loài nấm gây bệnh: *Candidose*, *Cryptococcoses*... các nấm men này gọi là nguồn gây bệnh. Chúng tồn tại dưới dạng hoại sinh hoặc ký sinh, ở hình thái cổ điển là 1 tế bào hình cầu, có thể dài hoặc ngắn hơn, sinh sản vô tính bằng cách nảy chồi (phôi bào tử hoặc đám bào tử). Một số loài có thể phát triển thành các tế bào dài nối với nhau tạo sợi nấm giả có phân nhánh hoặc có thể là một sợi nấm thực sự với các phân sợi nấm hoặc có vách ngăn có lỗ xuyên qua. Một số loài gây bệnh có phân tính (đực, cái) và có thể xếp vào ascomycota hoặc các basidiomycota. Và nhiều loài vẫn còn chưa được biết tới, chúng vẫn bị xếp vào những loài nấm bất toàn (deuteromycota). Nấm men gây bệnh có mặt khắp mọi nơi. Nấm men có khả năng gây bệnh cho người và động vật máu nóng, chúng cần có khả năng phát triển trong cơ thể bị ký sinh và do vậy có khả năng phát triển ở 37°C . Các nấm men dạng lưỡng hình thái gây ra nhiều bệnh, chúng thường bị hạn chế về mặt địa lý như *histoplasmosis*, *blastomycosis*, *paracoccidioidomycosis* và *sporotrichosis* không thuộc loài nấm gây bệnh. Thực ra chúng là nấm sợi dạng hoại sinh, chỉ tồn tại dưới dạng nấm men trong canh trường đặc biệt. Các loài nấm men gây bệnh có số lượng hạn chế, khoảng trên 20 loài. Chúng thuộc các giống: *Candida*, *Cryptococcus*, *Torulopsis*, *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* và *Malassezia*. Chúng được gọi là những “kẻ cơ hội” nghĩa là chúng luôn có mặt trong môi trường nhưng chỉ phát triển trong 1 cơ quan của vật chủ và chỉ ký sinh khi ở đó các điều kiện nội tại hay ngoại lai thuận lợi cho sự xâm nhập và sự phát triển của chúng trong cơ thể sống. Các điều kiện này có thể liên quan tới chính các vật chủ mà với nhiều lý do khác nhau, có thể trạng thái phòng vệ bị yếu do đã có bệnh ở giai đoạn đầu (đái đường, ung thư) làm tác dụng của hệ miễn dịch giảm... Chúng cũng có thể phụ thuộc các yếu tố bên ngoài làm tăng cường sự phát triển của nấm men trong cơ thể sống (liệu pháp kháng sinh lựa chọn một quần thể vi sinh vật nội sinh hoạt động và làm mất cân bằng quần thể vi sinh vật bình thường) hoặc làm hỏng kháng thể của vật chủ (xử lý bằng hormon, các chất diệt khả năng miễn dịch, chất chống giảm phân, chất kháng sinh). Có thể áp dụng kỹ thuật phẫu thuật hiện đại đã phá bỏ rào chắn tự nhiên chống lại sự xâm nhập của nấm men có khả năng gây bệnh có ở khắp nơi trong các bộ phận như phẫu thuật trực tiếp, đặt ống thông dịch. Các bệnh gây ra do nấm men “cơ hội” được gọi là bệnh do điều trị sinh học gây ra bởi các liệu pháp hiện đại hoặc bệnh xuất hiện khi nằm viện do môi trường bệnh viện. Nấm men không phải loài duy nhất gây bệnh tức thời. Nhóm này cũng gồm nhiều tổ chức sợi, *Aspergillus* và nhất là nấm nhày, có nhiều loài hoại sinh phát triển được ở 37°C .

6.3.4.2. Các bệnh gây ra bởi nấm men

Bệnh lý học

Viêm nhiễm do nấm men gây ra nhiều nhất là các bệnh nấm. Chúng rất nghiêm trọng, có thể gây tử vong và rất nhiều loại bệnh. Triệu chứng và mức độ bệnh phụ thuộc đồng thời vào các điều kiện mắc bệnh và kháng thể của vật chủ cũng như khả năng phát triển và lan truyền của nó. Do vậy các biểu hiện bệnh học rất phức tạp, nó bao gồm nhiễm trùng da (viêm da, nhiễm trùng, viêm móng...), viêm màng nhày (dạ dày, thực quản, âm đạo, tổn thương màng nhày phổi và phế quản), các cơ quan bên trong (viêm màng trong tim, viêm màng não), các bệnh nhiễm trùng máu, cũng thường gặp các biểu hiện dị ứng. Người ta cũng thấy các bệnh do nấm men gây cho động vật với các biểu hiện đôi khi tương tự các biểu hiện ở người. *Cryptococcus* được thấy ở nhiều loài động vật, phổ biến là cơ quan thường bị tổn thương nhiều nhất. Các *Candida* thường thấy ở chim, chúng tác động tới hệ tiêu hóa và hô hấp.

Điều trị

May mắn là các nấm men thường nhạy với các chất chống nấm, do vậy có thể điều trị có hiệu quả, đôi khi vấn đề chỉ là xử lý đất, nguồn gốc nhiều bệnh. Các chất chống nấm men mà chúng ta hay dùng hiện nay là các chất kháng sinh thuộc nhóm polyen (nystatine, pimaricine, amphotericine B), các imidazole (clotrimazole, econazole, ketoconazole, itraconazole, fluconazole) và 5-fluorocytosine. Chúng có thể được phép sử dụng phạm vi địa phương hoặc rộng hơn. Trong mỗi trường hợp, cần tiên hành xác định tính nhạy cảm với chất chống nấm này hay chất chống nấm khác bằng các phương pháp thích hợp để xác định nồng độ ức chế tối thiểu).

Chẩn đoán bệnh

Chẩn đoán bệnh nấm trước tiên là kiểm tra lâm sàng để xác định triệu chứng và tình trạng chung của bệnh nhân. Xác định nấm men trong vật phẩm bệnh (đờm dãi, mủ, nước mô, vảy da, các mẫu da) hoặc trong các mẫu mô sống. Sự có mặt của nấm men trong đó được kiểm tra trực tiếp bằng kính hiển vi, có hoặc không chuẩn bị mẫu trước (làm các mẫu da, sử dụng chất chỉ thị màu). Trường hợp đặc biệt viêm màng não cryptococcus, người ta tiến hành kiểm tra trực tiếp dịch lỏng céphalorachidien với mực tàu cho phép quan sát được lớp màng đặc trưng. Phương pháp dùng mẫu tiêu bản nhuộm màu (nhuộm Gram, Hotchkiss-MacMannus, Gomori-Grocott) được sử dụng để kiểm tra đờm dãi, mủ. Trên kính hiển vi người ta quan sát thấy các nấm men dưới dạng đặc trưng hình cầu, sự nảy chồi, dưới dạng sợi nấm hoặc bầu dục. Nhiều dạng có thể cùng có mặt. Việc lấy mẫu có tính quyết định chẩn đoán bệnh khi nấm được nhận biết là thuộc quần thể nấm bình thường của vật chủ (ví dụ *Candida albicans*). Khi các nghiên cứu về nấm men tiến hành trong các mô lấy từ mẫu mô sống, người ta kiểm tra các lát cắt nhuộm màu đặc hiệu các nấm (Hotchkiss-MacMannus hoặc Gomori-Grocott)

6.3.4.3. Các nấm men gây bệnh thuộc giống *Candida*

Giống *Candida* do Berkhout đặt tên năm 1923, gồm khoảng 80 loài. Trong đó có khoảng chục loài có thể phát triển ở 37⁰C và thích nghi với cuộc sống ký sinh. Trong số này *C. albicans* là loài nấm men có liên quan nhiều nhất đến các bệnh về nấm. Các loài nấm men khác thuộc giống này là các loài hoại sinh có thể gặp trong nhiều loại sản phẩm hoặc trong màng nhày, trên da người và động vật.

Các dạng hình thái vĩ mô và vi mô của các loài gây bệnh khác nhau thuộc giống này có khác nhau đôi chút. Trên môi trường thạch Sabouraud, các khuẩn lạc có màu trắng đục, bề mặt nhẵn, đục hoặc bóng tùy trường hợp, các loài nấm men này có dạng hình cầu, hình trứng hay hình trụ có đường kính 2 - 5 μm, dài 2 - 10 μm, chồi mọc theo nhiều hướng. Ở một số điều kiện, giả nấm sợi có thể phát triển khi các nấm men dạng thôn dài nối với nhau ở 2 đầu của chúng. Nấm sợi được hình thành với các bộ phận dạng ống có vách ngăn và các lỗ nhỏ. Nhiều phần bào tử sinh ra từ các vách ngăn hay tại điểm nối các phần của giả nấm sợi. Sự

hình thành giả nấm sợi và mycelium đặc trưng cho giống *Candida*. Đó là các nấm men có khả năng lên men, không sinh ra enzym ureaza và có khả năng dùng inositol.

Các loài *Candida* là những loài “cơ hội” trong điều kiện vật chủ bị yếu nhất thời hay dưới ảnh hưởng của những yếu tố gây bệnh do quá trình điều trị sinh học hay khi nằm viện, chúng có thể gây nhiều bệnh. Sự lan ra các mô của vật chủ có thể diễn ra tuần tự, ảnh hưởng đến màng nhày của hệ tiêu hóa, hô hấp và sinh dục, loài *C. albicans* được chú ý đến nhiều nhất. Nguyên nhân có thể qua đường máu: *C. albicans* và các loài khác thuộc *Candida* có thể gây bệnh nhiễm trùng máu.

Chúng gây những bệnh như: viêm màng nhày, viêm đẹn (ở miệng, thực quản, phế quản, âm đạo...), sung miệng, đen lưỡi, ..., gây nhiễm trùng nếp da, tổn thương ở móng và viền (viêm móng, viêm viền móng), gây tổn thương các nang lông (phần da nhiều lông và râu mép), gây áp xe. Gây nhiễm trùng các cơ quan nội tạng như đường tiêu hóa, viêm màng bụng, nhiễm trùng phổi, phế quản, thận, đường tiểu, khớp xương, viêm màng não, mắt, nhiễm trùng máu. Trong các mẫu bệnh candidose không chỉ cho biết về các nấm men gây bệnh mà còn làm sáng tỏ việc hình thành nấm sợi và giả nấm sợi. Bệnh candidose có thể có ở động vật nhưng không nhiều, trừ các loài chim và gia cầm.

Các loài thuộc giống *Candida* có thể phát triển ở 37⁰C và có khả năng gây bệnh được đề cập phần sau:

Candida albicans là loài nấm gây bệnh hay gặp nhất, là loài hoại sinh trên màng nhày người và động vật, không bao giờ gặp trong tự nhiên hay ngoài vùng da nhiễm. Được phân biệt dễ dàng nhờ hình thái và sinh lý của chúng. Trong môi trường 25⁰C nó tạo thành nấm sợi hoặc giả nấm sợi có mang phần bào tử 3 - 4 μm. Trên một số môi trường (khoai tây, cà rốt, mật, môi trường gạo...), các sợi nấm này sinh ra các phần bào tử hoặc các đám bào tử, có hoặc không phân nhánh, hình cầu hoặc hình trứng, thành dây, dài 6 - 12μm. Các phần bào tử của *C. albicans* tạo các vi sợi nấm nếu nuôi cấy 3 - 4 giờ trong huyết thanh người hay động vật ở 37⁰C. Loài này không bị ức chế bởi actidione và tetrazolium. Trong 24 giờ, các đặc tính của sự lên men và đồng hóa các loại đường rất đặc trưng.

Bảng 6.7: Khả năng đồng hóa (auxan) và lên men (Zym) các nguyên tố chứa cacbon. Khả năng sử dụng KNO₃ của 9 loài thuộc *Candida*

+: đồng hóa hoặc lên men; -: sự vắng mặt của đồng hóa hay lên men; v: đồng hóa hay lên men thay đổi; +/-: đồng hóa hay lên men yếu hoặc không chắc chắn.

Đồng hóa (Auxan) hoặc lên men (Zym)	Loài <i>Candida</i>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Auxan: D-glucoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoza	+	+	-	-	+	+	+/-	+	+
Sacaroza	+	v	+	-	+	+	+/-	+	+
D-galactoza	+	+	+	-	+	+	v	v	+
Lactoza	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Rafinoza	-	-	+	-	-	+	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellobioza	-	v	v	-	-	+	-	+	+
D-xyloza	+	+	v	-	+	+	-	+	+
Tréhaloza	+	+	v	-	+	+	+	+	+

L-arabinoza	v	-	v	-	v	+	-	-	-
Adonitol	v	+	-	-	+	+	-	.	.
2-ceto-gluconate	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Methyl-D-glucozit	+	+	-	-	+	+	-	.	.
Melezitoza	v	v	-	-	.	+	-	+	+
N-axetyl-glucosamin	+	+	-	-	+	+	+	+	-
Zym: D-glucoza	+	+	+	+	+	+	v	+	+
Maltoza	+	+	-	-	-	-	-	v	+
Sacaroza	v	v	+	-	-	+	-	+/-	v
KNO ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1- *Candida albicans*; 2- *C. tropicalis*; 3- *C.pseudotropicalis*; 4- *C. kruzei*; 5- *C. parapsilosis*; 6- *C. guilliermondii*; 7- *C. zeilanoïdes*; 8- *C. lusitaniae*; 9- *C. viswanathii*.

Các loài cỏ như *C. caussenii* và *C. langeronii* được nhóm lại dưới tên *C. albicans*. Một vài biến đổi nhỏ như *C. stellatoidea* (không lên men và đồng hóa sacaroza, làm giảm ít tetrazolium) đôi khi người ta coi nấm men này như một loài của *C. albicans*.

Candida tropicalis ít được phân lập, nó gây những bệnh như *C. albicans*, trừ các đẹn sữa. Tế bào hình trứng (4 - 8) x (5 - 11) µm, được phân biệt bởi các đặc tính sau: không làm giảm tetrazolium; bị ức chế bởi atidione; sử dụng và lên men các loại đường đã nêu trong bảng VI.7. *Candida pseudotropicalis* (*C. kefyri*), hình thái cuối: *Kluyveromyces fragilis* (*K. marxianus*) hiếm hơn và gây bệnh phổi và một số bệnh ít gặp khác. Đó là loài nấm men hình trứng (2,5 - 4) x (5 - 10) µm, phân biệt nhờ khả năng phát triển khi có mặt actidione, làm giảm tetrazolium (môi trường mầu hồng), không sử dụng lactoza, không đồng hóa và không lên men maltoza (bảng VI.7).

Candida Konsei (hình thái cuối: *Pichia Kudriavéii* + *Issatchenkia orientalis*) có thể gây ra các biểu hiện bệnh học như *C. tropazalis* và ít khi gây ra các bệnh nhiễm trùng máu. Nó cũng có thể gây bệnh tiêu chảy cho trẻ em đang bú, nấm men hình trứng (3 - 5) x (6 - 20) µm sinh ra các khuẩn lạc bề mặt đục mờ, nhạy với actidione, không làm giảm tetrazodim. Loài này chỉ sử dụng và lên men duy nhất đường D - glucoza.

Candida parapsilosis (hình thái cuối: *Lodderomyces elogisporus*) gây ra các viêm nhiễm giống như *C. tropiralis*. Chúng cũng gây nhiễm trùng máu và viêm màng tim. Nấm men hình trứng (2,5 - 4) x (2,5 - 9) µm nhạy cảm với actidion, làm giảm 1 ít tetrazolium. Các đặc tính lên men và đồng hóa các đường trình bày trong bảng VI.7.

Candida guilliermondii (hình thái cuối: *Pichia guilliermondii*): ít gặp, gây bệnh nhiễm trùng máu và viêm màng tim, ít khi gây thương tổn đến vùng quanh móng hay các biểu hiện khác. Tế bào cỡ (2 - 4) x (5,5 - 7) µm, phát triển trong môi trường actidione và làm giảm tetrazolium.

Candida zeilanoïdes, nấm men hình trứng (1,5 - 5) x (4 - 10) µm. Gây nhiễm trùng máu, nhạy với actidion và làm giảm (không bắt buộc) tetrazolium.

Candida viswanathii đã được xác nhận là nguyên nhân gây các bệnh phổi và viêm màng não ở Ấn Độ, viêm âm đạo ở Châu phi. Nấm men này có hình thược (2,5 - 7) x (4 - 12) µm. Nhạy với actidione, làm giảm ít tetrazolium.

Candida lusitanae (hình thái cuối: *Clavispora lusitanae*), là một nhân tố gây bệnh nhiễm trùng máu hay viêm nhiễm đường tiểu tiện, nấm men hình trứng (1,5 - 6) x (2,5 - 10) µm. Nhạy với actidione và làm giảm ít tetrazolium.

6.3.4.4. Các nấm men thuộc giống *Cryptococcus*

Giống *Cryptococcus* được Kutzing phát hiện từ năm 1833 và được Phaff và Spencer nghiên cứu tiếp tục năm 1969, bao gồm các nấm men hình cầu hay hình trứng đường kính (3 - 8) x (3 - 10) µm, nảy chồi theo nhiều hướng, được bao bởi một lớp vỏ polyozit và không sinh ra sợi một cách bình thường. Các nấm men trong giống này không lên men bất cứ loại đường nào nhưng chúng sinh ra enzym ureaza đặc biệt ở 37°C. Chúng đồng hóa inositol nhưng tính chất này cũng đặc trưng cho các nấm men nhóm nấm men, ví dụ như *Trichosporon* (*T. cutaneum*). Nhiều loài trong giống này sinh sản hữu tính như (*C. albidus* và *C. laurentii*). Chúng có thể gây bệnh hay không hiện vẫn là vấn đề gây tranh cãi.

C. neoformans là nấm men gặp nhiều trong tự nhiên nhất là trong hoa quả, đất, các sản phẩm sữa, phân chim bồ câu. Nó là nguyên nhân của một số ít các ca bị cryptococose, chủ yếu tác động lên cơ thể bị suy yếu do hệ mạng nội mô bị hỏng (mụn nhọt, bệnh Hodgkin...), do bị đái đường hay SIDA ... Hoặc các bệnh được chữa bằng corticoit (hoóc môn thượng thận) hay các chất ức chế khả năng miễn dịch. Các đối tượng khỏe mạnh cũng có thể mắc *Cryptococcus*. Bệnh nấm phủ tạng này đứng thứ 3 ở Pháp sau candidose và aspergillose, là loại bệnh bán cấp do nhiều lý do hoặc định kỳ, trú ngụ ở phổi, màng gây bệnh viêm màng não, xương, đường tiểu, nhiễm trùng máu, hạch..., lây truyền qua đường hô hấp. Bệnh Cryptococose có ở động vật nhất là động vật nuôi trong nhà với các dạng trong mũi và phổi. Bệnh viêm vú bò cái do *C. neoformans* không phải là một bệnh hiếm.

Việc chẩn đoán bệnh nấm *Cryptococcus* qua việc xét nghiệm thấy nấm men có trong các sản phẩm mang bệnh. Có thể sử dụng các phương pháp miễn dịch học. Trên môi trường Sabouraud, các khuẩn lạc của *C. neoformans* ban đầu có màu trắng phớt như kem đặc sau đó chuyển thành màng nhầy màu thổ hoàng. Chúng gồm các nấm men dạng tròn 3 - 7 µm. Loại gây bệnh này đặc trưng rõ qua khả năng phát triển ở 37°C và các tính chất bệnh lý của nó (Auxanogramme của bảng VI.8); KNO₃ không được sử dụng như là nguồn nitơ. Trong môi trường urê - indole, ureaza được tổng hợp nhanh (30 phút đến 4 giờ); phenol-oxydaza được tổng hợp trên môi trường nhiều axit caffeic (axit 3- 4 dihydroxycinnamique) hoặc đơn giản hơn là các hạt *Guizotia abyssinica* được xem xét nhờ các khuẩn lạc bị hóa đen. Tính chất cuối cùng này được tận dụng để tạo điều kiện phân lập *C. neoformans* trong môi trường bị nhiễm tạp nhiều. Thí nghiệm trên chuột cho thấy đây là loài gây bệnh.

Dạng *C. neoformans* sinh sản hữu tính, tế bào có dạng nấm bầu: *Filobasidiella neoformans*. Những nghiên cứu gần đây đã xác định 4 loại huyết thanh khác nhau A, B, C và D tương ứng với 2 loài khác nhau: *C. neoformans* var *neoformans* tương ứng với huyết thanh A và D ở hình thái cuối *Filobasidiella neoformans* var *neoformans*; *C. n.* var *gattii* thích ứng với huyết thanh B và C với hình thái cuối *F. n.* var *bacillispora*.

Bảng 6.8: Khả năng đồng hóa (Auxan) và lên men (Zym) các chất chứa carbon. Khả năng sử dụng KNO₃ bởi 5 loài *Cryptococcus*. + : đồng hóa hoặc lên men; - : không đồng hóa hoặc lên men; +/- : đồng hóa hoặc lên men yếu hay không chắc chắn; v : đồng hóa hay lên men thay đổi.

Đồng hóa (Auxan) hoặc lên men (Zym)	Loài				
	1	2	3	4	5
Auxan: D-glucoza	+	+	+	+	+
Maltoza	+	+	+	+	+
Sacaroza	+	+	+	-	+
D-galactoza	+	v	+	v	v
Lactoza	-	-	+	v	-

Raffinoza	v	+	v	v	v
Inositol	+	+	+	+	+
Xenlobioza	v	+	+	+	-
D-xyloza	+	+	+	+	+
Tréhaloza	+	v	+	+	v
L-arabinoza	v	+	+	v	+
Adonitol	v	-	v	-	.
2-xeto-gluconat	+	+	+	+	.
Methyl-D-glucozit	+	v	v	-	v
Melezitoza	+	v	+	v	+
N-axetyl-glucozamin	+	-	v	+	.
Zym : D-glucoza	-	-	-	-	-
Maltoza	-	-	-	-	-
Sacaroza	-	-	-	-	-
KNO ₃	-	+	-	+	-

1: *Cryptococcus neoformans*; 2: *C. albidus*; 3: *C. laurentii*; 4: *C. terreus*; 5: *C. uniguttulatus*

Hai loài *C. neoformans* sau cùng khác nhau nhiều điểm *C. n. var Neoformans* (huyết thanh A và D) có dạng hình cầu, có nhiều trong đất, trong nhiều chất tự nhiên và trong phân chim bồ câu, nó phát triển tốt ở 30 - 37⁰C, không sử dụng axit malic, fumaric và suxinic như nguồn cacbon và nitơ (môi trường canavanine, glucololle, bromothymol (CGB xanh); gây bệnh chuột nếu cây qua đường máu. *C. n. var gattii* (huyết thanh B và C) có dạng thuôn dài, thậm chí rất dài, phát triển ở 30⁰C tốt hơn ở 37⁰C, sử dụng các axit malic, fumaric và suxinic cũng như là créatinine; nó đồng hóa glyxine như là nguồn nitơ và cacbon duy nhất (môi trường CGB), có khả năng chịu được canavanine; gây bệnh cho chuột yếu. Người ta vẫn chưa biết nơi trú ngụ tự nhiên của nó.

Còn các loài khác đã đề cập đến có gây bệnh hay không vẫn còn bàn cãi, chúng có các đặc tính auxanographiques riêng (bảng VI.8) và có hình thái không khác nhau nhiều: *C. albidus* (hình thái cuối: *Filobasidiella floriforme*) có hình bầu dục (3 - 8) x (4 - 10) µm; hình trứng hoặc thuôn dài (2 - 5) x (3 - 7) µm, *C. terreus* có hình tròn hoặc hình trứng (3,5 - 6,5) x (4 - 6,5) µm và *C. uniguttulatus* (hình thái cuối: *Filobasidiella uniguttulatum*), hình tròn hoặc trứng (3 - 5) x (4 - 7) µm.

6.3.4.5. Các nấm men gây bệnh thuộc giống *Torulopsis*

Giống *Torulopsis* do Berlese đưa ra năm 1894 gồm các nấm men hình cầu hoặc trứng (2 - 4) x (4 - 6) µm, nảy chồi theo nhiều hướng tạo thành các chuỗi ngắn phân nhánh. Gồm nhiều loài, trong *Candida*, phân biệt với các nấm men gây bệnh tạm thời khác bởi nhiều đặc trưng âm tính: không có giả nấm sợi (phân biệt với *Candida* và *Trichosporon*), không có lớp vỏ và không tổng hợp enzym ureaza (phân biệt với *Cryptococcus*), không có chất màu carotenoid (phân biệt với *Rhodotorula*) và không tạo thành asques (phân biệt với *Saccharomyces*). Chúng có rất nhiều trong nhiễm thực thể (đất, rau quả...). Một vài loài hoại sinh trên da hay đường ruột có thể gây bệnh cho người và động vật như *T. glabrata* và đặc biệt là *T. dattila*, *T. pintolopesii*, *T. candida* (*T. famata*), *T. globosa*, *T. haemulonii* và *T. pulcherrima*. Các đặc tính auxanographiques cho phép phân biệt các loài này (Bảng VI.9).

Các ảnh hưởng của *Torulopsis* cũng có thể xác định khi sức khỏe suy sút (các bệnh đường huyết, u, đặt cố định các ống thông...). Loại *T. globosa* hoại sinh trên đường tiêu hóa, đường hô hấp hoặc đường tiêu là nguyên nhân chính. Nó là nguyên nhân của các bệnh viêm âm đạo, nhiễm đường tiêu và đường ruột, glossites; đôi khi cả nhiễm trùng máu và viêm màng tim, đặc biệt là lan truyền trong các cơ quan nội tạng. Các loài khác cũng có thể gây ra bệnh nhiễm khuẩn (*T. dattila*, *T. candida*).

T. haemulonii được phân lập từ vẩy da, đường tiêu hóa, từ dịch lỏng trong màng bụng. Ở động vật, *T. pintolopesii* được phân lập từ gan, chuột cái và đường tiêu hóa của chuột. *T. slooffii* mà người ta coi như là một chủng *T. pintolopesii* được phân lập từ ruột lợn. Các loài trên cần có vitamin và khó nuôi cấy.

T. globosa (*Candida glabrata*) trên môi trường Sabouraud hình thành các khuẩn lạc trắng sau đó có màu kem với hình dạng khác nhau, nhẵn hoặc nhăn, bóng hoặc mờ. Các tế bào nấm men có hình trứng kích thước (2,5 - 4,5) x (4 - 6) μm . Bảng VI.9 trình bày các đặc tính sinh hóa của các loài: *T. candida* (*T. famata*), hình thái cuối: *Debaryomyces hansenii*). *T. dattila* (hình thái cuối: *Kluyveromyces thermotolerans*), *T. globosa* (hình thái cuối: *Citeromyces matritensis*), *T. haemulonii* và *pulcherrima* (hình thái cuối: *Metschnikovia pulcherrima*).

6.3.4.6. Các nấm men gây bệnh thuộc giống *Trichosporon*

Giống *Trichosporon* được Behrend đưa ra năm 1890, gồm các nấm men bất toàn, sinh ra các khuẩn lạc dày, bề mặt bóng giống như đánh xi và có các giả nấm sợi, nấm sợi thực, các đỉnh bào tử (nấm men) và các phần bào tử. Giả nấm sợi và các nấm men có thể không xuất hiện. Việc nảy chồi của các phần bào tử là một yếu tố cho phép phân biệt giống này với *Geotrichum*. Trong 15 loài đã được nhận biết có 2 loài xác định là có gây bệnh. Ở dạng hoại sinh, các nấm men này gặp ở đất, nước, trong hoa quả, gỗ... *T. fermentans* thường được xếp vào giống *Geotrichum* bị nghi ngờ là gây bệnh.

Loài *T. cutaneum* (*T. beigeli*) là nguyên nhân gây bệnh “Piedra trắng”. Đó là một bệnh thấy ở các vùng nhiệt đới hoặc ôn đới, ảnh hưởng tới tóc, râu ria và các vùng phụ cận của háng. Lông bị nhiễm có các nốt nhỏ mềm, dài, màu trắng hoặc màu nhạt.

T. cutaneum và *T. geotrichum* ở mức độ nhỏ hơn, có thể gây bệnh ở những vật chủ bị thương hoặc thiếu dinh dưỡng, các biểu hiện bệnh: nhiễm trùng máu khi có hay không có vết thương ở da, viêm màng tim, màng phổi, màng não, áp xe não... Các bệnh này được quan sát thấy ở các bệnh nhân có hệ miễn dịch yếu và nhiều khi dẫn đến tử vong khi không có cách chữa trị mạnh bằng các chất kháng nấm đặc hiệu.

T. cutaneum là một loài có rất nhiều hình dạng trên môi trường thạch Sabouraud sinh ra các khuẩn lạc màu trắng - vàng nhạt dạng kem, nhẵn hay nhám, mặt sau màu nâu nhạt. Các khuẩn lạc này gồm các nấm sợi có màng ngăn, các khúc bào tử có hình trụ, nhất thời nảy chồi và các phần bào tử. Kích thước rất khác nhau, các khúc bào tử có kích thước (3 - 7) x (3 - 14) μm . Các nhà danh pháp học phân vân giữa 2 loài bởi chúng có nhiều đặc tính có thể xếp vào lớp nấm khuẩn. Các tính chất sinh lý được ghi trong bảng VI.9. *T. capitatum*, tế bào hình elip (3,5 - 6,5) x (7 - 12) μm được nhiều tác giả coi như là một loài trong *Geotrichum* (*G. capitatum*) như *T. fermentans*. Loài này có tế bào hình trứng hay elip (3,5 - 7) x (7 - 12) μm phân biệt nhờ khả năng lên men tạm thời D. glucoza, galactoza và xellobioza

Bảng 6.9: Khả năng đồng hóa (Auxan) và lên men (Zym) các nguyên tố cacbon. Khả năng sử dụng KNO_3 bởi 6 loài *Torulopssis* và 3 loài *Trichosporon*. +: đồng hóa hoặc lên men; -: không đồng hóa hoặc lên men; +/-: đồng hóa hoặc lên men yếu hoặc nghi ngờ; v: đồng hóa hoặc lên men thất thường

Đồng hóa (Auxan) hoặc lên men (Zym)	Loài <i>Candida</i>								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Auxan: D-glucoza	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoza	-	+	+	+	+	+	v	-	-
Sacaroza	-	v	+	+	+	+	v	-	-
D-galactoza	-	+	+	-	+	+	v	v	+

Lactoza	-	v	-	-	-	-	+	-	-
Rafinoza	-	+	+	+	+	-	v	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	v	-	-
Cellobioza	-	+	-	-	-	+	v	-	+
D-xyloza	-	+	-	-	+	+	+	-	+
Tréhaloza	-	+	+	+	+	+	v	-	-
L-arabinoza	-	v	-	-	+	-	+	-	v
Adonitol	-	+	-	-	-
2-ceto-gluconate	-	+	-	-	+	+	+	v	-
Methyl-D-glucozit	-	+	-	+	-	+	v	-	-
Melezitoza	-	+	+	v	+	+	v	-	-
N-axetyl-glucosamin	-	+	-	v	+	v	v	-	-
Zym: D-glucoza	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Maltoza	-	-	v	v	-	-	-	-	-
Sacaroza	v	v	+	+	+	-	v	-	-
KNO ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1: *Torulopsis glabrata* (*); 2: *T.candida*; 3: *T.dattila*; 4: *T.globosa*; 5: *T.haemulonii*; 6: *T.pulcherrima*; 7: *Trichosporon cutaneum*; 8: *Tr.capitanum*; 9: *Tr.fermentans*. * những loài *Torulopsis* có thể xếp trong giống *Candida* nên không chấp nhận trong bài này.

6.3.4.7. Các nấm men thuộc giống *Rhodotorula*

Giống *Rhodotorula* được Harrson đưa ra năm 1928 gồm một số loài nấm men có chất màu đỏ carotenoid - vàng, tế bào hình trứng hoặc dài thuôn, mọc chồi theo nhiều hướng. Một số loài hay gặp và là yếu tố thường xuyên gây các bệnh nấm. Những năm gần đây các bệnh nhiễm khuẩn do *R. glutinis* và *R. rubra* gây ra, không kèm theo sốt đã được quan sát thấy. Các nấm trong *Rhodotorula* không lên men các loại đường và không đồng hóa instol. Các viem nhiễm do *Rhodotorula* thường hiếm và thường khó phát hiện nguồn gốc. Đây thường là những bệnh nhiễm trùng máu hoặc nhiễm trùng do các ống thông. Đôi khi, các nhiễm trùng máu có thể không do các tổn thương nội tạng. Từ các nhiễm trùng này, *R. glutinis* và *R. rubra* đã được phân lập; đây thường là những loài hoại sinh trên da người và động vật.

R. glutinis (hình thái cuối *Rhodospiridium toruloides*) nấm men có màu vàng, kích thước (3 - 5) x (4 - 10) µm, có thể phát triển ở 37⁰C trong nhiều trường hợp, gây ra những tổn thương. Ở động vật, *R. rubra* (*R. mucilaginoso*) là một nấm men sinh ra các khuẩn lạc màu hồng, đôi khi cũng có thể phát triển ở 37⁰C tế bào hình trứng hơi dài, kích thước (3 - 5) x (4 - 10) µm, nảy chồi ở một vị trí nhất định, không sinh giả nấm sợi. Tế bào tiếp tục tách biệt hoặc tạo thành các chuỗi ngắn. Hai loại này đồng hóa các đường: D-glucoza, maltoza, sacaroza, raffinoza, D-xyloza, trehaloza và melezitoza. *R. rubra* không đồng hóa methyl-glucozit (tính chất đôi khi thay đổi) và không sử dụng KNO₃. *R. glutinis* đôi khi đồng hóa methyl-glucozit và sử dụng nitrat.

6.3.4.8. Các nấm men gây bệnh giống *Malassezia*

Các nấm men trong giống *Malassezia* được Baillon đưa ra năm 1889: không có khả năng lên men, có khả năng tự dưỡng ở nhiều mức độ khác nhau (lipophiles - có thể sử dụng các

nguồn vô cơ). Thuật ngữ di truyền học *Pityrosporum* Sabouraud (1904) cũng được dùng thường xuyên. Đó là các tế bào có kích thước nhỏ 2 - 6 µm đường kính, hình trứng hoặc elip, chỉ mọc một chuỗi duy nhất theo trục chính với một vành nhỏ gốc chồi. Chúng là loài hoại sinh trên da người và nhiều loài động vật. Loài *M. furfur* là tự dưỡng và *M. pachydermatis* ít có khả năng tự dưỡng hơn. Vấn đề danh pháp của các loài nấm men này rất phức tạp bởi khó nuôi cấy ở giai đoạn đầu và các đặc tính lâm sàng khó xác định. Ban đầu, tên giống *Pityrosporum* được tạo ra để tập hợp các nấm men được phân lập từ phần da có nhiều lông. Nhiều người công nhận sự tồn tại của 3 loài trong số này: *P. orbiculare* gây bệnh *Pityriasis versicolor* ở người, *P. ovale* giống bệnh *Pityriasis capitis* và bệnh viêm da nhờn và *P. pachydermatis* gây viêm da ở động vật. Các nghiên cứu gần đây chứng tỏ 2 loài đầu tiên chỉ tạo thành một thực thể duy nhất. Thuật ngữ di truyền học "*Malassezia*" được ưu tiên, hiện nay chỉ dùng cho các loài *M. furtur* (gồm *P. orbiculare* và *P. ovale*) và *M. pachydermatis*.

M. furtur trước hết là nguyên nhân của bệnh *Pityriasis versicolor*. Đó là một bệnh nấm ngoài da ở mọi vị trí và thường gặp, đặc trưng bởi các vết màu cà phê nâu bất thường trên thân hay trên cánh tay.

Trong các vảy da lấy từ những nơi bị bệnh, thu được các nấm men hình cầu 5 - 8 µm, tụ thành đám và các sợi ngắn có đường kính 3 - 4 µm. Nấm men này phân lập được trong canh trường Sabouraud, nếu chúng ta phủ các vảy bằng một màng dầu ôliu mỏng hoặc dầu lạc tiệt trùng. Đó cũng là nguyên nhân gây bệnh *Pityriasis capitis* và viêm màng nhầy, bệnh biểu hiện các tổn thương bề mặt phần da có nhiều lông, chân, ngực. Người ta quan sát thấy ở các vảy da các tế bào nấm men hình trứng. Hiện nay các nấm men này được coi là tác nhân gây bệnh viêm nang lông trước hết ở những người có hệ miễn dịch bị suy yếu, nhưng chúng cũng tồn tại ở những đối tượng bình thường. *M. furtur* bị coi là nguyên nhân của một số ít trường hợp gây nhiễm có hệ thống hay các bệnh nhiễm trùng máu ở những cơ thể yếu.

M. pachydermatis được phân lập từ tai ngoài của chó và mèo bị chứng á sừng và viêm tai. Loài này có thể là tự dưỡng, có thể nhất thời gặp trên da người nhưng không bao gồm thể vi sinh vật bình thường. Cũng như *M. furtur* nó có thể gây bệnh nhiễm trùng máu ở trẻ em đẻ non mà phải ăn ngoài.

Các khuẩn lạc nhỏ của *M. furtur* nhận được trên môi trường Sabouraud dưới lớp dầu có màu vàng kem. Tế bào có hình cầu, nảy chồi, 3 - 5 µm. *M. pachydermatis* ít có khả năng tự dưỡng, về hình thức rất gần với *M. furtur*, tế bào hình chai có chồi mọc chỉ ở một đầu và được nối bằng một gốc lớn. Loài này có thể nhận được trong canh trường Sabouraud không có dầu.

6.3.4.9. Các nấm men gây bệnh thuộc giống *Saccharomyces*

Saccharomyces do Meyen và Hansen 1983 là một loài nấm men rất hay gặp trong tự nhiên. Chỉ có loài *S. cerevisiae* mới được nói đến một cách đặc biệt như một loài gây bệnh. Để làm rõ vai trò này luôn gặp khó khăn nhất là khi có mối liên hệ với *C. albicans*. *S. cerevisiae* đã được phân lập từ ca bệnh nhiễm trùng máu hoặc các bệnh khác (viêm màng âm đạo, viêm ruột kết) mà ở đó, nó là nguyên nhân chủ yếu có thể gây bệnh nhưng luôn gặp ở bệnh nhân có sức khỏe yếu. *S. cerevisiae* là một loài nấm men có mặt ở khắp nơi, có nhiều nguồn gốc, có trong nhiều loại hoa quả. Tế bào hình cầu, hình trứng dài thuôn, có kích thước rất khác nhau (3 -10) x (4 -14) µm nhiều tế bào có hình trụ kích thước lớn, dài đến 20 µm hoặc hơn. *S. cerevisiae* sử dụng các loại đường sau: D-glucoza, maltoza, sacaroza. Loài nấm men này không đồng hóa bất cứ hợp chất cacbon nào trong số sau: lactoza, inositol, xellobioza, D-xyloza, L-arabinoza, adonitol, 2-ceto-gluconat và N-axetyl-glucosamin.

Tuy nhiên còn rất nhiều loài khác không thể nêu hết trong cuốn sách này. Ngoài nấm men còn có nhiều loài virus, xạ khuẩn, Rickettsia, tảo, nguyên sinh động vật gây hại. Nhưng chủ yếu nhiễm độc trong lương thực thực phẩm là do vi khuẩn, nấm mốc và nấm men đã trình bày trên.

6.4. Công thức và các đặc tính của độc tố vi nấm hay gặp trong thực phẩm

Bảng 6.10. Tính chất lý - hóa của các aflatoxin

(* kết quả của Townsend, ** của Stubblefield và đồng tác giả, *** của Beljars)

	Công thức phân tử	Phân tử lượng	Điểm nóng chảy			Huỳnh quang	Độ quay cực quang học CHCl ₃ [α] _D	Hấp thụ tia UV EtOH		Hấp thụ tia IR CHCl ₃ γ max (cm ⁻¹)
				*	**			γ (nm)	ε	
Aflatoxin B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269	265-270	25,2 -266,2	Xanh lam	-558 ⁰	223 265 362	25.600 13.400 21.800	1760 (mạnh) 1684 (yếu) 1632. 1598 1562
Aflatoxin B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	305-309	280-283	xanh lam	- 492 ⁰ ***_430	222 265 362	69.600 9.200 (*** 11.000) 14.700 (*** 20.800)	
Aflatoxin G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246	247-250	246,7-247,3	lục	-556 ⁰	243 257 264 362	11.500 9.900 10.000 16.100	1760 1695 1630 1595
Aflatoxin G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	229 - 231	237 - 240		lục	-473 ⁰	221 245 265 365	28.000 12.900 11.200 19.000	
Aflatoxin M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299			xanh lam tím	-280 ⁰	226 265 357	23.100 11.600 19.000	3425 1760 1690
Aflatoxin M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293			tím		221 264 357	20.000 10.900 21.000	3325 1760 1690

Bảng 6.11. Những triệu chứng chủ yếu của bệnh độc tố aflatoxin theo các vật nuôi (+ có triệu chứng; - không có triệu chứng)

Tổn thương gan	Trâu	Lợn	Cừ u	Vịt con	Gà tây	Gà giò
Hoại tử cấp và chảy máu	-	-	-	+	+	-
Xơ hóa mãn tính	+	+	-	-	-	-
Nốt nhỏ tái tạo	+	+	-	-	+	-
Tăng sinh ống mật	+	+	-	+	+	+
Tắc mạch	+	-	-	-	-	-
Tế bào gan						
Tế bào khổng lồ	+	+	-	+	+	-
Nhân khổng lồ	+	+	-	+	+	+
Thâm nhiễm các tế bào viêm nhiễm	-	-	-	-	+	+

Bảng 6.12. Mối liên quan giữa hàm lượng aflatoxin trong thức ăn xác định bằng huỳnh quang và việc sinh ra u gan ở chuột

Hàm lượng aflatoxin của thức ăn (mg/kg)	Thời gian thử nghiệm (ngày)	Trường hợp u gan
5,0	370	44/15
3,5	340	11/15
3,5	335	7/10
1	294	5/9
1	323	8/15
0,2	360	2/10
0,2	361	1/10

0,005	484	0/10
-------	-----	------

Bảng 6.13. Ảnh hưởng của chủng *A. flavus*, và những điều kiện nuôi cấy sinh ra các aflatoxin

Chủng	Môi trường nuôi cấy	Tổng lượng aflatoxin (mg/l hoặc mg/kg)	Số lượng so sánh (% các aflatoxin)			
			B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
ATCC 15517	Tổng hợp	45	87	4	9	< 1
?	Lạc	265	44	1	54	1
MRE1	Lạc	14	98	2	0	0
NRRL 2999	Lúa mì	870	35	9	48	7
NRRL 2999	Lúa mì + metionin	1700	44	11	38	7
NRRL 2999	Gạo	?	23,8	6,3	6,8	0,9
NRRL 3000	Sacaroza + các axit amin (nuôi cấy chìm) 72h ở 20 ⁰ C	86	26	0	74	0
NRRL 3000	ở 25 ⁰ C	154	70	0	30	0

Bảng 6.14. Ảnh hưởng của các đường hexoza khác nhau lên sản lượng aflatoxin. Số dấu + chỉ lượng aflatoxin nhiều hay ít, dấu - chỉ không có; số 0 là không thí nghiệm.

Gluxit	Nồng độ	
	1%	3%
D-glucoza	+++	+++
D-manoza	+++	+++
D-fructoza	+++	+++
D-galactoza	-	++
D-guloza	-	0
D-arabinoza	-	-
D-xiloza	+	++
D-riboza	-	+
D-eritroza	-	0
D-glixerandehit	+++	+++

Các độc tố *Penicillium* sinh ra

Bảng 6.15. Những đặc tính chủ yếu của các bệnh độc tố nấm

Hội chứng chủ yếu	Nấm gây bệnh	Cơ chất	Độc tố	Động vật cảm thụ
Bệnh độc tố gan	<i>Aspergillus flavus</i>	Hạt có dầu và khô dầu, hạt, bột...	Các aflatoxin	Lợn > trâu bò > ngựa > cừu; vịt con > gà tây, ngỗng, trĩ > gà giò; điều, chó, khỉ, người (?) cá hồi.
	<i>Aspergillus versicolor</i>	Hạt, sản phẩm có dầu hạt, gạo, lạc	Sterimatoxistin, avecxin các ocratoxin	Gà giò, cừu non, cừu cái lợn, người (?)
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Gạo, lúa miến, kê,		

	<i>Penicillium islandicum</i>	đại mạch	rugulosin luteoskirin islanditoxin	
Bệnh độc tổ thận	<i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium viridicatum</i>	Lạc, gạo, hạt ngô, đại mạch, lúa mì, cỏ lùng	Xitrinin	Lợn
Bệnh độc tổ tim	<i>Penicillium charlesii</i> <i>Penicillium terrestre</i> <i>Penicillium viridicatum</i> <i>Penicillium cyclopium</i>	ngũ cốc	axit carolic axit terrestric axit viridicatic axit penixilic	axit carolic axit terrestric axit viridicatic axit penixilic
Bệnh độc tổ dạ dày, ruột	<i>Fusarium nivale</i> <i>Fusarium tricinetum</i> <i>Fusarium roseum</i> <i>Trichothecium roseum</i> <u><i>Trichoderma viride</i></u>	hạt nhiều loại cơ chất	các xiecpen	lợn, ngựa, cừu
Xuất huyết	<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus nhóm</i> <i>glaucus</i> <u><i>Penicillium rubrum</i></u> <i>Penicillium</i> <i>purpurogenum</i> <i>Byssochlamys fulva</i> <i>Stachybobrys atra</i> <i>Fusarium sporotri</i> <i>chioides</i>	hạt, bột hạt, bột, quả khô hạt sản phẩm ngũ cốc nước quả rơm rạ ngũ cốc, nhất là kê (sau mùa đông)	các quinon các antraquinon các rubratoxin axit glaucanic axit bixoclamic stachibotrioto xin fusariogenin	tất cả trâu bò, gà vịt, thỏ lợn, ngựa, ngỗng gà giò ngựa(Ucrain) người(Ucrain, Xibia)
Bệnh độc tổ thần kinh	<i>Aspergillus clavatus</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Gloeotinia temulenta</i> <i>Fusarium nivale</i> <i>Penicillium citreoviride</i> <i>Diplodia zeae</i>	hạt đang ủ mầm mạch nha hoà thảo (nhất là Lolium) ngũ cốc (nhất là kiểu mạch) gạo ngô	clavaxin (patulin) mantorizin ? butenolit citreoviridin ?	trâu bò trâu bò người, súc vật nuôi trong nhà ngựa, người trâu bò, cừu (Nam phi)
kích thích động đực	<i>Fusarium graminearum</i> <i>Mucor, Absidia</i>	ngô bảo quản	zearalenon	lợn, gà vịt

hoặc gây sảy thai		các loại thực phẩm	?	gà đẻ
Eczema ở mặt	<i>Pythomyces chartarum</i> <i>Periconia minutissima</i>	cỏ cỏ gà (Cynodon dactylon)	các sporidesmin ?	cừu (Tân Tây lan) Trâu bò (hoa Kỳ)

CHƯƠNG 7. ỨNG DỤNG TRONG BẢO QUẢN THỰC PHẨM

Cách tốt nhất hiện nay để đề phòng sự hình thành các chất độc do nấm mốc, vi khuẩn nấm men ... là cần bảo quản trong kho và vận chuyển các thực phẩm trong những điều kiện ức chế được sự phát triển của vi sinh vật, làm giảm khả năng nhiễm tạp vi sinh vật trong từng công đoạn và các điểm nguy hiểm của một quá trình sản xuất theo HACCP, CCPs, để đạt tiêu chuẩn ISO và sử dụng hệ thống CIP có hiệu quả trước và sau mỗi đợt sản xuất để tẩy rửa, vệ sinh, sát trùng nhà xưởng, trang thiết bị bảo đảm yêu cầu vệ sinh và an toàn cho sản xuất và cho sản phẩm thực phẩm.

Chúng ta sẽ xem xét một cách tóm tắt đến các biện pháp đấu tranh trực tiếp hay gián tiếp khác nhau có thể được dùng trong công nghiệp thực phẩm.

7.1. Khử trùng bằng nhiệt độ

Trong kỹ thuật khử trùng bằng nhiệt độ và đặc biệt là dùng hơi nước tạo các áp suất khác nhau là một phương pháp cũ nhất, đơn giản nhất và có hiệu lực nhất mỗi khi có thể dùng phương pháp này.

Nhiệt độ chủ yếu tác động làm biến tính protein tế bào, từ đó làm bất hoạt enzym, làm chết vi sinh vật. Về phương diện này dùng phương pháp nhiệt ẩm có hiệu lực hơn phương pháp nhiệt khô (ví dụ: lòng trắng trứng thêm 50% nước, đông đặc ở 56°C; trong khi đó muốn làm đông kết lòng trắng trứng không thêm nước phải đạt 170°C).

Các kỹ thuật khử trùng cổ điển trong phòng thí nghiệm thường dùng phương pháp hấp 115 ÷ 120°C trong 20 ÷ 30 phút hoặc sấy 160 ÷ 170°C trong 1 ÷ 2 giờ.

Các phương pháp khử trùng trên sẽ hủy diệt hoặc loại bỏ mọi loài và dạng vi sinh vật sống, trên thực tế đã thực hiện được trong các xưởng sản xuất bánh công nghiệp có nhiệt độ khoảng 150°C, nếu sau khi ra lò cho đến lúc đóng gói bánh không bị nhiễm khuẩn nữa thì nó vẫn vô trùng

Bảng 7.1. Tác động của nhiệt độ ẩm lên một vài loài nấm men

Loài nấm	Giai đoạn	Thời gian cần để giết chết ở			
		50°C	56°C	60°C	100°C
<i>Neurospora tetrasperma</i>	Bào tử túi	-	-	4 giờ	-
	Bào tử đính	30 phút	-	-	5 phút
<i>Byssochlamys fulva</i>	Bào tử túi	-	-	-	10 phút
<i>Borytis cinerea</i>	Bào tử và sợi nấm	vài phút	-	-	-
<i>Penicillium Chrysogenum</i>	Bào tử đính	-	3 ngày	-	5 phút
<i>Verticillium albo-atrum</i>	Bào tử đính và sợi nấm	10 phút	-		

Phương pháp khử trùng Pasteur chủ yếu dùng cho các sản phẩm sữa và các loại đồ uống, giữ thức ăn ở nhiệt độ 60 ÷ 80°C trong một khoảng thời gian có thể tới 1 giờ. Tại nhiệt độ này đủ để giết đa số các vi khuẩn và một số lớn nấm, như vậy thức ăn được xử lý và có một độ ổn định nhất định. Với những loài như: *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* thì không có hiệu lực. Hiện nay thường dùng các chế độ nhiệt độ sau: 70⁰ ÷ 74⁰C (FPE) trong 20 ÷ 30 giây hoặc 140⁰C trong 2 ÷ 3 giây. (UHTS)

Phương pháp Tyndal tiến hành 3 lần đun nóng kế tiếp nhau ở nhiệt độ từ 60 ÷ 100°C trong thời gian từ 30 ÷ 60 phút, giữa mỗi lần đun để 24 giờ ở nhiệt độ ẩm.

Phương pháp Therlak, thông dụng ở Bungari, dùng khử trùng cho các sản phẩm ngũ cốc nghi ngờ xử lý nhiệt ở $400 \div 450^{\circ}\text{C}$ trước khi đem cho súc vật ăn.

7.2. Sử dụng nhiệt độ lạnh

Việc sử dụng các kho lạnh đã mở ra những khả năng bảo quản mới cho nền công nghiệp thực phẩm nhờ tác dụng ức chế sự phát triển của nấm mốc của nhiệt độ thấp.

Việc giữ thực phẩm ở nhiệt độ gần 0°C , làm lạnh sâu ở -8°C , thậm chí ở -30°C phù hợp với loại sản phẩm được bảo quản. Một số thực phẩm không chịu được nhiệt độ quá thấp, ví như chuối không chịu được nhiệt độ dưới 11°C . Mỗi loại có một nhiệt độ bảo quản tối ưu: với nhiều loại táo là 8°C , với táo Reinette Clochard là 1°C . Người ta khuyên nên làm lạnh thịt ngay sau khi mổ; như vậy sẽ tạo một lớp màng mỏng làm giảm sự thoát hơi nước và ngăn cản các loài nấm xâm nhập.

Trong một số trường hợp, người ta khuyên dùng các kỹ thuật tiền lạnh (techniques de prerefrigeration).

Dù thế nào thì cũng không nên quên rằng lạnh chỉ ngăn trở sự phát triển của nấm chứ không giết chết nấm; các bào tử vẫn sống và khi nào có điều kiện thì nảy mầm ngay. Đặc biệt là trường hợp khi dây chuyền làm lạnh bị đứt đoạn sẽ gây tai họa lớn cho thực phẩm bảo quản.

Tuy có nhiều ưu điểm nhưng việc làm lạnh không phải là giải pháp tốt nhất cho tất cả mọi vấn đề bảo quản thực phẩm chống nấm mốc, hơn nữa nếu thiếu thiết bị làm lạnh ở một số giai đoạn trong dây chuyền là điều rất có hại.

7.3. Khử nước, làm khô, đông khô

Hạ thấp hàm lượng nước trong sản phẩm đến giới hạn cần thiết cho sự nảy mầm của bào tử đủ để hạn chế sự phát triển của những loài nấm làm ô nhiễm, gây độc sản phẩm đó. Khi đó người ta khuyên nên dùng canxi clorua hoặc silicagen, tốt nhất là trong chân không kèm theo nâng nhiệt độ.

Hạt ngũ cốc khô bị nhiễm ít hơn nhiều so với hạt ẩm. Việc phơi khô hoa quả là kiểu bảo quản dễ dàng nhất, và nhiều khi người ta thu được những sản phẩm có tỷ lệ đường cao hơn nhiều so với sản phẩm ban đầu và chỉ một vài loài nấm ưa áp suất thẩm thấu cao mới có thể phát triển được.

Thông thường, bằng cách thêm đường hoặc muối làm biến đổi áp suất thẩm thấu của cơ chất do đó mà giảm bớt các loài nấm có thể sinh trưởng được, bởi thế mút hoa quả bảo quản được lâu hơn. Ướp muối có lẽ là cách cổ xưa nhất để bảo quản thực phẩm chống các vi sinh vật.

Việc khử nước tương đối là một biện pháp bảo quản khá hữu hiệu.

Một kỹ thuật bảo quản còn ít được sử dụng đối với thực phẩm vì chi phí tương đối cao nhưng chắc chắn sau này sẽ phát triển mạnh mẽ, đó là phương pháp đông khô. Phương pháp đông khô là làm đóng băng rồi cho thăng hoa để thu được một sản phẩm khô có phẩm chất cao. Khi làm khô sản phẩm được đóng băng trong môi trường không có oxy và ở nhiệt độ thấp thu được một sản phẩm khô, không bị biến chất, có thể bảo quản lâu không hư hỏng ở nhiệt độ thường với điều kiện tránh không khí và độ ẩm.

Phương pháp đông khô, mới đầu được dùng để bảo quản huyết tương, rồi đến các dược phẩm, dần dần đã có vị trí trong ngành công nghiệp thực phẩm. Từ năm 1964, Hoa Kỳ hàng năm đã có khả năng xử lý 45 000 tấn thực phẩm; ở Châu Âu đã bắt đầu trang bị một vài trạm đông khô rau quả, đặc biệt bảo quản tôm, tôm càng nhỏ, trứng, cùng một số loại quả (nhất là quả dâu), nước ép quả, và các loại canh thịt gà, rau và nấm trồng. Giữ trong bao gói kín không oxy, hơi nước và không lọt ánh sáng, các sản phẩm đông khô được bảo quản rất tốt nhưng chi phí kinh tế cao nên việc dùng rộng rãi phương pháp này mới bị hạn chế.

7. 4. Làm biến đổi độ axit

Hiệu lực chống nấm mốc của các axit do nồng độ ion H^+ , vừa do bản chất của gốc axit; các axit vô cơ tác động chủ yếu theo kiểu trên, còn các axit hữu cơ thì tác động chủ yếu do các phần tử nguyên vẹn của chúng.

Việc axit hóa môi trường đến $pH = 3,9$ làm cho môi trường đó trở nên không thích hợp cho vi sinh vật phát triển (tuy nhiên người ta có thể thấy có loài nấm trong dung dịch axit sunfuric đậm đặc!). Người ta giải thích việc bấp cái dưới dạng dưa chua bảo quản tốt hơn ở dạng bình thường là do việc tăng độ chua.

Trong số các axit clohidric, axetic, xitric, lactic, malic và tactric, chỉ có axit axetic là có phần nào có ích trong việc bảo quản thực phẩm, vì vậy đôi khi người ta đã cho nó vào bánh mì để bánh khỏi bị hư hỏng.

Axit thường đóng vai trò gián tiếp vì tạo điều kiện thuận lợi cho hoạt động của các chất ức chế: chẳng hạn, axit benzoic và các este của axit p-hydroxibenzoic ở $pH = 3$ có hoạt tính cao gấp 2 hoặc 3 lần so với ở $pH = 6$.

7.5. Khử trùng bằng các tác nhân quang hóa

Chiếu xạ ion hóa

Thuật ngữ chiếu xạ ion hóa chỉ dùng riêng cho các tia X, tia α , tia catốt, tia β , và các phần tử neutron, proton... tương đối nặng.

Trong những năm gần đây nhất, nhiều tiến bộ lớn đã được thực hiện trong việc sử dụng các tia đó vào thực tiễn. Tuy nhiên sự không ưa thích của công chúng, vì họ còn nghi ngại trên các sản phẩm đã xử lý còn tồn lưu các tia phóng xạ, và các qui định chặt chẽ của pháp luật còn chưa cho phép các phương pháp khử trùng được phổ cập đó được sử dụng rộng rãi.

Ở Hoa kỳ, trong lĩnh vực này đã có sự cố gắng đầu tư rất lớn (chỉ ở riêng một trung tâm đã được thiết lập một nguồn coban 60 tới hơn 1 triệu curi!).

Các công trình ở Liên xô cũ đã được tóm tắt trong các bảng điểm tình hình của Sosedov và Vakar về lúa mì, và của Chmyr về ngô.

Ở Tây Âu nhiều cơ quan khác nhau, trong số đó có Ủy ban Năng lượng Nguyên tử, đã tiến hành những nghiên cứu chủ yếu trong việc bảo quản khoai tây, hạt ngũ cốc và hoa quả.

Mới đây đã xuất bản những bản điểm lại các công trình về tình hình dùng cách chiếu xạ để bảo quản các thực phẩm hiện nay, và về độc lý học của chúng.

Các bức xạ có lẽ đã tác động vào sự chuyển hóa tế bào: Chúng có thể đã biến đổi cấu trúc các chất chuyển hóa chủ yếu, như là các axit amin, các axit nucleic và các protein khác nhau.

Bảng 7. 1. So sánh độ miễn cảm của các bào tử nấm mốc

và các vi khuẩn khi nhiễm xạ

A. Tia tử ngoại. Năng lượng ở $2537A^0$, cần thiết để ức chế 90% số vi sinh vật không mọc thành khuẩn lạc. Liều tính theo $eg/cm^2 \times 10^2$.

B. Tia γ . Liều tính theo $rad \times 10^{+6}$, cần thiết để ức chế toàn bộ số khuẩn lạc.

C. Tia x. Liều tính theo $rad \times 10^{-3}$, cần thiết để giết chết 90% số tế bào.

	Vi sinh vật	Giai đoạn	Liều dùng
	<i>Bacillus anthracis</i>	bào tử	452
	<i>Bacillus subtilis</i>	sinh dưỡng	520

A	- nt -	bào tử	900
	<i>Neurospora crassa</i>	tiểu bào tử đính	1360
	- nt -	đại bào tử đính	2800
	<i>Aspergillus nigar</i>	bào tử đính	23000
B	<i>Bacillus pumilus</i>	bào tử	2,1
	<i>Diplococcus pneumoniae</i>	sinh dưỡng	0,5
	<i>Aspergillus nigar</i>	bào tử đính	0,32
C	<i>Bacillus brovis</i>	bào tử ngủ	47,0
	<i>Neurospora crassa</i>	tiểu bào tử đính	48,0
	<i>Neurospora tetrasperma</i>	bào tử túi	40,0
	<i>Aspergillus terreus</i>	bào tử đính	30,0

Liều lượng cỡ 1.10^6 rad đã đủ để khử trùng phần lớn các thực phẩm. Tuy nhiên hạt lúa mì chỉ được hoàn toàn vô trùng với 3.10^6 rad, đặc biệt các loài thuộc *Alternaria* và *Cladasporium* rất khó bị hủy diệt.

Một công trình rất mới đã xác nhận những kết quả nghiên cứu trước đây về lợi ích của việc xử lý nhiệt kèm theo xử lý chiếu xạ tia γ để bảo vệ quả chống các tác nhân gây thối rữa khác nhau.

Tia phóng xạ khá đắt tiền, những điều kiện bảo hộ khi sử dụng, sự biến đổi mùi vị mà chúng gây ra, mặc dù vô hại, nhưng chúng chưa được ứng dụng nhiều trong bảo quản thức ăn. Trong công nghiệp dược phẩm, chúng được dùng phổ biến.

7.6. Các loại chiếu xạ khác nhau

1. Các tia hồng ngoại chưa được biết có tác dụng diệt nấm ngoài tác dụng nhiệt của chúng.
2. Các tia tử ngoại (có độ dài sóng giữa 2000 và 4000 A^0) có thể diệt một số vi sinh vật. Độ mẫn cảm thay đổi tùy theo độ dài sóng của tia chiếu xạ (thường hay dùng độ dài sóng 2537 A^0), vì có vẻ tương đối có hiệu quả và dễ sản xuất để bán. Người ta đã chứng minh được rằng các tia UV tác động lên các mối nối -SH- của axit dezoxiribonucleic, điều đó có hiệu quả là làm bất hoạt hóa các nucleotidaza.

Tuy nhiên các tia UV đối với vi khuẩn độc hơn nhiều so với nấm mốc trong khi một liều từ 3000 đến 7000 microrad/giây/cm² đã đủ giết chết vi khuẩn thì ít nhất phải 150 000 để có tác dụng với hệ sợi nấm của đa số loài nấm, và 2 000 000 microrad để tiêu hủy các bào tử. Vì vậy cần hoặc tăng cường độ hoặc kéo dài thời gian chiếu xạ để đạt kết quả mong muốn. Người ta đã thu được những kết quả tốt trong phòng nhỏ, bật đèn khử trùng một thời gian dài khi không có người làm việc, cụ thể trong các xưởng sản xuất phomat.

Đôi khi người ta đã nhấn mạnh đến tính chọn lọc của các tia UV, mặt khác, nhắc đến những biện pháp bảo hộ mà người sử dụng phải chú ý để tránh viêm màng tiếp hợp mắt, khi các liều lượng chiếu tới niêm mạc mắt vượt quá một trị số.

Các chùm dây sóng tĩnh điện và siêu âm tương đối gần đây mới được sử dụng và lĩnh vực áp dụng của chúng còn hạn chế. Ở đây cũng vậy, vi khuẩn mẫn cảm hơn nấm: Xử lý với tần số 26 Kc/giây, và 500 W trong 20 phút không có hiệu lực với sợi nấm và bào tử túi của loài *Aspergillus nidulans*, sau 19 phút chỉ có một phần bào tử đính bị hủy diệt.

7.7. Các chất bảo quản hóa học

Việc cho những chất sát trùng vào thức ăn, nhiều nước đã có chế độ quy định rõ ràng.

Từ xưa đã có luật rõ ràng: “Trên nguyên tắc, chất hóa học thêm vào là một chất ngoại lai đối với thức ăn. Chỉ nên dùng khi có lý do đáng kể, với liều lượng tối thiểu phù hợp với nhu cầu, ngoài các thức ăn cơ bản, nếu có thể, và với 3 điều hạn chế mà các nhà chức trách thường tiến hành:

- a/ Cấm dùng những chất có thể gây hại đến sức khỏe;
- b/ Cấm dùng các chất làm giảm giá trị dinh dưỡng của thức ăn;
- c/ Cấm dùng các chất có thể dùng làm chất giả mạo.

Đó là những biện pháp rất hợp lý nhằm mục đích bảo vệ người tiêu dùng.

Trong thực tế chỉ được phép dùng dùng những chất sát trùng như những chất dùng trong dược phẩm. Một số chất hiện nay cho phép hay gặp là:

- Axit propionic, axit sorbic, glixerol;
- Với nồng độ hạn chế: Rượu etylic (20% thể tích); anhydric sunfuro, sunfit, bisunfit, metabisunfit ($1 \text{ }^0_{/00}$ tính theo SO_2); axit benzoic, natri benzoat ($2 \text{ }^0_{/00}$ tính theo axit); axit parahydroxibenzoic, các este metylic, etylic và propilic của axit này và các chất dẫn xuất natri của chúng ($1,5 \text{ }^0_{/00}$ với một chất hoặc hỗn hợp của chúng); phenol ($1,5 \text{ }^0_{/00}$); crezol ($3 \text{ }^0_{/00}$), p. cloroim. crezol ($3 \text{ }^0_{/00}$);
- Dùng có điều kiện: clobutol, hidroxiquinolein và các muối của nó; phenyl thủy ngân axetat, borat và nitrat; octhoclora thủy ngân phenol; natrietyl - thủy ngân - thioalixilat.

Trong dược thư Hoa kỳ (“United States Pharmacopeia”), Dược điển Anh (“British Pharmaceutical Codex”) cũng khuyên dùng những chất tương tự như vậy.

Nếu các chất khác nhau đó có tính hạn chế vi khuẩn, thì chúng lại không có tác động mấy đến các loài nấm.

Chất axit propionic (ở 0,5%) đã cho phép bảo quản tương đối tốt ngô hạt ẩm, cũng như một số hạt ngũ cốc khác nhau, và cỏ ẩm cho gia súc trong 2 tháng; tuy nhiên hình như nó có mùi làm cho gia súc ăn thức ăn đã xử lý như vậy thấy kém ngon miệng, và nó có tính ăn mòn làm hư hỏng máy móc.

Axit sorbic ($\text{CH}_3 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH} = \text{CH} - \text{COOH}$), các muối natri, kali và canxi của nó là những chất có tính ức chế nấm cao nhất. Tuy trường hợp, dùng ở các nồng độ từ 0,015% ÷ 0,02%, nó đã cho những kết quả tốt trong việc bảo quản nhiều loại thực phẩm, nhất là đối với những thực phẩm có các este axit béo. Một chất dẫn xuất của nó, chất axit sorbohdroxamic, có hiệu lực tốt hơn. Người ta cũng khuyên dùng chất sorboylpanmitat 0,13% để bảo quản bánh mì.

Trong số các este của axit parahydroxibenzoic, este metylic được coi là có tính ức chế nấm cao nhất, nhưng với men bánh mì thì không có tác dụng bằng este propilic.

Thêm vào danh sách rất hạn chế đó là một số chất đã được các tổ chức quốc tế có thẩm quyền (Ủy ban hỗn hợp FAO - OSM, Dược điển thực phẩm Châu Âu, Hội đồng kinh tế Châu Âu công nhận, thường là với tính chất tạm thời (axit formic và các muối của nó, axit boric và các muối của nó, các hợp chất borat hữu cơ, axit lactic, hexametylen tetramin, izopropylic xitrat, etylen oxit và propylen oxit, natri biaxetat), hoặc để dùng trong những trường hợp thật đặc biệt:

- Clo và các chất dẫn xuất, bạc và các chất dẫn xuất, ozon dùng cho nước;
- Natri hoặc kali nitrit, natri hoặc kali nitrat dùng cho thực phẩm ướp muối.
- Diphenyl, orthophenyl - phenol, natri orthophenyl - phenat, dùng để xử lý bề mặt các quả họ cam chanh.

- Natri và kali silicat, vôi, dùng cho vỏ trứng.

Thường dùng để xử lý quả sau khi thu hoạch.

Ngoài những chất “cổ điển”, một vài năm gần đây, đã có nhiều công trình nghiên cứu về các chất diệt nấm tổng hợp mới, có độc tính thấp đối với động vật máu nóng.

7.8. Biện pháp phòng chống gián tiếp

Thay vào việc xử lý trực tiếp các thực phẩm, mỗi khi có thể, người ta sẽ dùng những biện pháp phòng chống gián tiếp: thật vậy, trong nhiều trường hợp, chỉ cần một biện pháp đề phòng sơ đẳng là đã hạn chế được các nguồn nhiễm.

Cơ sở của chống sự phát triển của nấm mốc trên thực phẩm là giữ vệ sinh nghiêm ngặt các bao bì và những nơi bảo quản hàng hóa.

Tường, trần và nền nhà phải được tẩy trùng đều đặn: Nên dùng các dung dịch hipoclorit, crezin hoặc crezitol sorbic. Điều rất nên làm là phủ lớp vôi hoặc lớp chống mốc bên ngoài.

Đôi khi, chính bao bì làm ô nhiễm thực phẩm. Giấy hoặc túi chất dẻo có một lớp chống mốc giúp ta tránh được một phần các điều trở ngại đó.

Khí quyển vận chuyển các bào tử từ nấm mốc: đó là một nguồn ô nhiễm quan trọng. Nếu nguồn ô nhiễm từ ngoài vào, ta có thể đặt những lưới lọc (có mắt dày để bào tử không lọt qua được) trước những cửa thông gió; hơn nữa, người ta có thể tránh không cho không khí ngoài lọt vào, khi mở cửa chẳng hạn, bằng cách giữ cho trong nhà có áp suất hơi cao hơn một chút.

Người ta cũng có thể làm trong sạch không khí bằng hun khói hoặc phun mù những chất sát trùng, hoặc bằng chiếu các tia UV (tia tử ngoại, tia cực tím).

Phun nước hoặc nước oxy già vào không gian trong nhà có tác dụng làm lắng bụi một cách cơ học, phương pháp này đôi khi được dùng trong các phòng thí nghiệm.

Từ lâu trong y học người ta dùng:

- Rezoxin dung dịch 10%, dưới dạng mây mù (0,15 ÷ 0,2 ml trong 1 m³ không khí).
- Các glycol (dietylen glycol và trietylen glycol) cho bay hơi hoặc phun mù.
- Các tinh dầu thơm, hoặc riêng, hoặc kết hợp với các chất đã nói ở trên.

Nếu như các chất đó có tác dụng nhất định về mặt chống vi khuẩn thì với nấm mốc, hiệu lực của chúng quá kém, khiến cho không thể dùng được.

Hơi andehit formic có tỷ trọng gần bằng 1, rất dễ khuếch tán. Đó là một chất diệt nấm rất tốt, nhất là trong khí quyển bão hòa hơi nước, nó có thể được sử dụng:

- Hoặc phun dung dịch formol (10g dung dịch 3% mỗi m³).
- Hoặc cho một dung dịch formol bay hơi, thoát hơi andehit formic (có nhiều cách pha chế các hỗn hợp), tính theo 1 m³ không khí:

Formol 40%	20ml
Nước	20ml
Kali permanganat	8g

Hoặc:

Formol 40%	30ml
Nước sôi	180ml

- Hoặc bằng cách hạ cấp trùng hợp cao phân tử của trioximetylen bằng những “hộp sinh formol” đặc biệt (hộp đựng 75g trioximetylen cho 20m³ không khí, dưới hộp có đặt những bắc; khi dùng, người ta đục lỗ trong hộp và đốt bắc đó).

- Andehit formic có mùi rất khó chịu và có tác dụng kích thích niêm mạc, nên mặc dù có hiệu quả và rẻ tiền, nhưng việc sử dụng bị hạn chế. (Người ta có thể làm cho mùi khó chịu đó mất đi nhanh hơn bằng cách phun amoniác vào trong nhà sau khi đã phun formol tác động trong thời gian cần thiết), hoặc quạt không khí vô trùng đuổi hết formol trước lúc làm việc. Một số công thức mới được sửa đổi hoàn chỉnh đã tránh được các điều bất lợi trên.

Người ta cũng đã khuyên dùng cách phun mù axit lactic, với liều lượng 300 ÷ 500 mg/m³ có hiệu lực với vi khuẩn, nhưng rất ít hiệu lực với nấm mốc.

Trong các chất sát trùng cation (các amon đĩnh 4 gốc hữu cơ), chất lauryl - dimetyl - cacbetoxi - metylamon bromua có tính diệt nấm rõ rệt. Chúng gây kích thích niêm mạc nên khó dùng ở dạng phun mù.

Ngược lại, các phức chất hữu cơ có thể phun mù (độc tính thấp hơn các borat), dùng ở dạng những phần tử rất nhỏ bay lơ lửng (một vài micromet) đã mang lại kết quả tốt.

Mới đây người ta đã hoàn chỉnh một kỹ thuật mới để phát tán thuốc trừ sâu bằng cách dùng các hỗn hợp cùng chung điểm sôi. Cũng bằng cách này có thể phân tán, dưới dạng hun khói, nhiều chất diệt nấm khác nhau. Đó là một biện pháp rất thuận tiện, chắc rồi sẽ được phát triển mạnh mẽ để dễ dàng tẩy trùng các nhà kho chứa thực phẩm.

Nhiều chất ở thể khí đã được khuyên nên dùng để tẩy trùng không khí, thường đó là những chất oxy hóa hoặc ngưng tác nhân ankyl hóa.

- Chất ozon cho kết quả chống vi khuẩn tốt, nhưng muốn diệt nấm phải dùng ở nồng độ cao, gây tổn kém quá nhiều;
- Chất propylen oxit, với nồng độ tác dụng trong khoảng 800 và 2000 mg/l, đã được khuyên dùng để tẩy trùng bề mặt, đặc biệt trong những sản phẩm dạng bột.
- Chất metyl bromua có sức thấm lớn hơn nhiều, nhưng hiệu lực kém (tác dụng tối thiểu bắt đầu thể hiện ở 3500 mg/l, và độc lớn với người).
- Chất etylen oxit, có tác dụng ở 400 ÷ 1000 mg/l hiện nay là chất khí thường được dùng cho dụng cụ ở bệnh viện lẫn cho thực phẩm. Tác dụng của nó cao nhất khi có một tỷ suất độ ẩm nhất định (30%). Đôi khi người ta chê nó có tác động kháng vitamin; vì nó dễ bắt lửa nên khi dùng phải cẩn thận; vì vậy người ta thường hòa lẫn nó với các khí trơ (cụ thể trộn lẫn 10% etylenoxit và 90% khí cacbonic).
- Chất β - propiolacton (BPL) ở dạng hơi có hiệu lực hơn là etylen oxit; người ta đã dùng nó với nồng độ 1 ÷ 1,5mg/l không khí; làm rộp da và chảy nước mắt, có khả năng gây ung thư khiến cho việc sử dụng nó trong thực tế giảm nhiều.

Mới đây, người ta đã khuyên dùng chất dietyeste của axit pirocacbonic (DEPC). Do thủy phân cho rượu và khí cacbonic. Nó được dùng để khử trùng rượu vang.

Chất anhidrit sunfuro, một chất trừ sâu tốt, đôi khi cũng được dùng làm chất diệt vi khuẩn và diệt nấm. Một kỹ thuật rất khéo léo, dùng các “túi sinh hơi” đã cho phép bảo quản tốt quả nho để ăn. Việc tẩm giấy bằng diphenyl, hoặc các hòm hộp bằng bìa cho bốc hơi amoniác từ từ cũng cho phép bảo quản quả loại cam chanh được lâu hơn.

Người ta cũng có thể xét đến biện pháp tương tự dùng cho các thực phẩm khác.

7.9. Kết luận

Như tiến sĩ Austwick, một chuyên gia người Anh mới đây đã viết cho chúng tôi: “Những hiểu biết của chúng ta về các bệnh độc tố nấm (có liên quan đến các nấm vi thể) còn rất nhiều hạn chế và còn cần nghiên cứu nhiều để xác định, trong đa số trường hợp, vai trò của các loại nấm khác nhau và những điều kiện sản sinh các chất độc”.

Chỉ có một sự hợp tác ở tầm vóc quốc tế giữa các nhà nấm học, các thầy thuốc, thú y sĩ, nhà hóa sinh học và nhà địa lý học mới có thể cho phép kiểm tra được những kết quả trong lĩnh vực này.

Về phần chúng tôi, chủ yếu chúng tôi đã tìm cách cho mọi người chú ý đến tầm quan trọng của vấn đề chúng tôi đã trực tiếp làm, đọc và sưu tập được các vấn đề cần quan tâm hiện nay là:

- 1/ Nghiên cứu sinh thái các loại vi sinh vật sản sinh độc tố làm hư hại mùa màng hoặc lây nhiễm vào các thực phẩm.
- 2/ Nghiên cứu những phương pháp hóa học và những thử nghiệm sinh học chính xác và nhanh chóng để phát hiện độc tố của vi sinh vật trong thực phẩm.
- 3/ Nghiên cứu các độc tố do vi sinh vật với tính chất là những nguyên nhân có thể gây bệnh cho người, còn chưa được biết rõ.
- 4/ Mở rộng những biện pháp phòng chống sự phát triển và phân tán của các loại vi sinh vật có hại khác nhau.
- 5/ Triển khai những biện pháp thực hành để khử độc cho các thực phẩm đáng nghi ngờ và tìm biện pháp phòng ngừa trong quá trình sản xuất là chính.

Như lời Butler đã nhấn mạnh: “Trong những nước gọi là phát triển, sự có mặt nhưng lượng rất nhỏ chất chống mốc còn sót lại trong thực phẩm thường gây xáo động lớn, tuy rằng độc tính của một số trong các chất đó còn đáng nghi ngờ. Cần quan tâm đến những chất như các độc tố nấm, các chất này, ở trạng thái chỉ có vết trong thực phẩm, đã có thể gây hại đến sức khỏe con người”. Chúng ta bắt buộc phải lựa chọn.

Chú thích: Một số từ viết tắt:

- HACCP - Hazard Analytical Critical Control Points
(Các điểm kiểm tra xác xuất các mối nguy biến xảy ra trong các công đoạn của một quá trình sản xuất.)
- ISO - International Standard organization
(Tổ chức tiêu chuẩn hóa quốc tế)
- CIP - Cleanable - In - Place.
(Phân xưởng chuẩn bị các dụng dịch tẩy rửa, vệ sinh, sát trùng cho các phân xưởng sản xuất).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. GERARDJ. Tertora, BERDELL R. FUNKE
Microbiologie
The Benjamin Cummings publishing company, Inc 1992.
2. HARLEY, KLEIN
Microbiology, second Edition
Published in the United States by W.C. Brown publishers la traduction française - published in Belgium
3. D.A.A. MOSSEL, J.E.L. CORRY
Microbiology of Foods.
(A textbook for advanced studies)
ISSN C 47: 330 389 - Willy - Nexport 1992
4. FDA/CFSAN Bad Buy Book - 1996
U.S Food and Drug Administration
Centre for food safety and applied nutrition
Food born pathogenic Microorganisms and Natural toxins Handbook
5. PIERRE GÉLINAS
Répertoire des Microorganisms
Pathogènes - transmis par les aliments imprimé au Canada
Agriculture et Agroalimentaire Canada 1995.
6. MONIQUE LARENT - GOURGAUDD
Mémento technique de microbiologie lavossier
Tech et Doc. 1989
7. M.R. Adans and M.O. Moss
Food microbiology
Published by the Royal Society of chemistry 1995.
8. C.M. BOUREOIS, J.F. MESCLE, J. ZUCCA
Microbiologie Alimentaire, (Tom 1)
Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments
Technique et Documentation (Lavoisier), 1996
11, rue Lavoisier, F.75 384 Paris Cedex 08
9. Jay. J.M. 1992
Moderne food microbiology. An AVI Book
10. Dr. Mansi El - Mansi and Prof. Charlie Bryce (1998)
Fermentation Microbiology and Biotechnology.
Taylor and Francis Group
T. J. International Ltd, padstow, UK.
11. Guy legra, Elisabeth Vierling (1997).
Microbiologie et toxicologie des Aliments et Se'curite' alimentaire.
Doin editeurs centre regional de Documentation Pedagogique d' Aquitaine.
12. ASEPT EDITTEUR 1994 ; **l'Hygiène dans la qualité des Aliments**
Auto - Diagnostic de 'Hygiène des entreprises agro- alimentaires et entreprises associées
13. H. BEERENS.
Nettoyage et Désinfection

Institut Pasteur de Lille. Cours international de microbiologie des aliments, 1986.

14. JEAN LOUIS JOUVE et Coordinateurs.

La qualité microbiologique des aliments

Polytechnica, 1993. 15, rue Lacépède. F - 75005 Paris, ISBN . 2-84654- 810 X

15. Guy legra, Elisabeth Vierling (1997).

Microbiologie et toxicologie des Aliments et Se'curite' alimentaire.

Doin editeurs centre regional de Documentation Pedagogique d' Aquitaine.

16. Nguyễn Đức Lượng

Công nghệ vi sinh vật Tập 1,2

Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành Hồ chí Minh 1996

17. Lương Đức Phẩm, Vũ Kim Dũng

Vi sinh vật lương thực phẩm (Tập 1)

Nhà xuất bản báo LTTP, 1980.

..
18. PGS.TS Nguyễn Thị Hiền (chủ biên), PGS.TS Nguyễn Kim Vũ, KS Bùi Bích Thủy (2003)

Vai trò của nước và hệ thống tẩy rửa, khử trùng (CIP) trong nhà máy thực phẩm.

Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

19. Lương Đức Phẩm, 2002

Công Nghệ Vi Sinh Vật

Nhà xuất bản Nông Nghiệp,

MỤC LỤC

	Trang
Mở đầu	2
Chương 1. Hình thái, cấu tạo, sinh sản của vi sinh vật	3
1.1. Vi khuẩn	3
1.2. Nấm men	6
1.3. Nấm mốc	7
1.4. Vi rút	8
1.5. Xạ khuẩn	8
1.6. Vi tảo	9
1.7. Động vật đơn bào	9
Chương 2. Các quá trình sinh lý của vi sinh vật	11
2.1. Quá trình dinh dưỡng của vi sinh vật	11
2.2. Quá trình hô hấp của vi sinh vật	12
2.3. Phân loại vi sinh vật theo kiểu hô hấp	12
Chương 3. Ảnh hưởng các điều kiện khác nhau đến hoạt động của vi sinh vật	14
3.1. Ảnh hưởng của những yếu tố lý học	14
3.2. Ảnh hưởng của những yếu tố hoá học	16
3.3. Ảnh hưởng của những yếu tố sinh học	18
Chương 4. Sự phân bố vi sinh vật trong tự nhiên	19
4.1. Hệ vi sinh vật không khí	19
4.2. Hệ vi sinh vật của đất	21
4.3. Hệ vi sinh vật của nước	21
Chương 5. Vi sinh vật trong đời sống con người và các loại nhiễm độc do vi sinh vật	25
5.1. Vi sinh vật trong đời sống con người	25
5.2. Tác hại của vi sinh vật	25
5.3. Nhiễm độc từ thực phẩm và nhiễm độc tố bởi vi sinh vật	25
5.4. Kiểm tra chất lượng thực phẩm	27
5.5. Kiểm tra vi sinh vật trong sản phẩm thực phẩm	31
Chương 6. Các vi sinh vật chỉ thị nhiễm tạp hay gặp trong thực phẩm	36
6.1. Vi khuẩn	36
6.1.1. <i>Salmonella choleraesuis</i>	36
6.1.2. <i>Clostridium perfringens</i>	40
6.1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	41

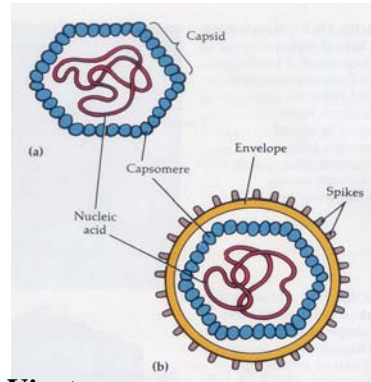
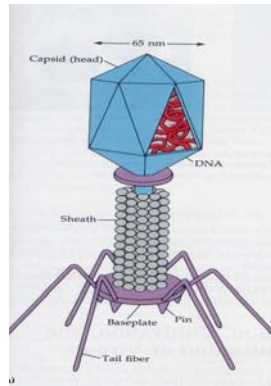
6.1.4. <i>Bacillus cereus</i>	42
6.1.5. <i>Eschrichia coli</i>	44
6.1.6. <i>Vibrio vulnificus</i>	46
6.1.7. <i>Streptococcus spp</i>	47
6.1.8. <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	48
6.1.9. <i>Campylobacter jejuni</i>	48
6.1.10. Các loài giống <i>Shigella</i>	49
6.1.11. Vi khuẩn <i>Cl.botulinum</i>	51
6.1.12. Những loài khác của <i>Pseudomonadaceae</i> và của <i>Nasseriaceae</i>	54
6.1.13. Những loài khác của <i>Vibrionaceae</i>	54
6.1.14. Những loài khác gây bệnh cho gia súc	54
6.1.15. <i>Aeromonas hydrophila</i>	57
6.1.16. <i>Plesiomonas Shigelloides</i>	58
6.1.17. Những loài hiếm hơn.	58
6.2. Nấm mốc	64
6.2.1. Những loài thường gặp	65
6.2.2. Những loài ít gặp hoặc ít gây nguy hiểm	66
6.2.3. Các độc tố chính của nấm mốc	67
6.2.3.1. <i>Aspergillus flavus</i>	67
6.2.3.2. Các <i>Penicillium</i> khác thuộc nhóm <i>Biverticillata symetrica</i>	74
6.2.3.2. Bệnh độc tố do <i>Fusarium</i>	75
6.3. Nấm men	82
6.3.1. Các loại nấm men chủ yếu gây hư hỏng thực phẩm	82
6.3.2. Các loại hư hỏng do nhiễm tạp vi sinh vật	86
6.3.3. Các nhân tố ảnh hưởng đến sự phát triển nấm men	86
6.3.4. Các nấm men gây bệnh cho người và động vật	87
6.4. Công thức và các đặc tính của độc tố vi nấm hay gặp trong thực phẩm	96
Chương 7. Ứng dụng trong bảo quản thực phẩm	99
7.1. Khử trùng bằng nhiệt độ	99
7.2. Sử dụng nhiệt độ lạnh	100
7.3. Khử nước, làm khô, đông khô	100
7. 4. Làm biến đổi độ axit	101
7.5. Khử trùng bằng các tác nhân quang hóa	101

7.6. Các loại chiếu xạ khác nhau	102
7.7. Các chất bảo quản hóa học	103
7.8. Biện pháp phòng chống gián tiếp	105
7.9. Kết luận	106
Tài liệu tham khảo	107
Mục lục	109
Phụ lục	

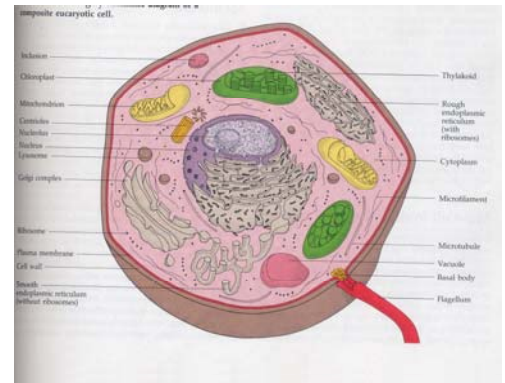
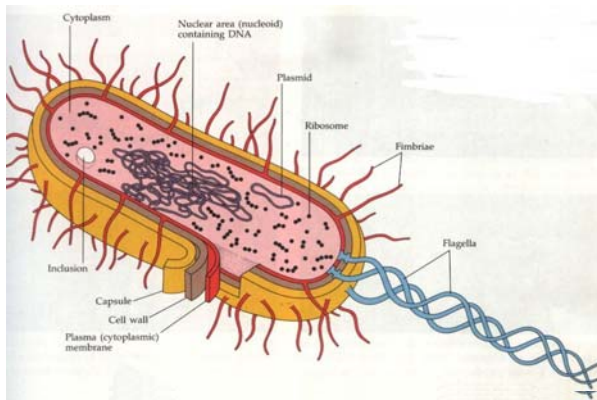
PHỤ LỤC 1.

HÌNH ẢNH VI SINH VẬT LIÊN QUAN HAY GẶP CÓ LỢI VÀ CÓ HẠI

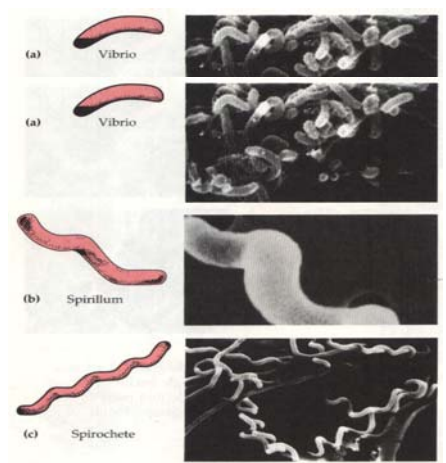
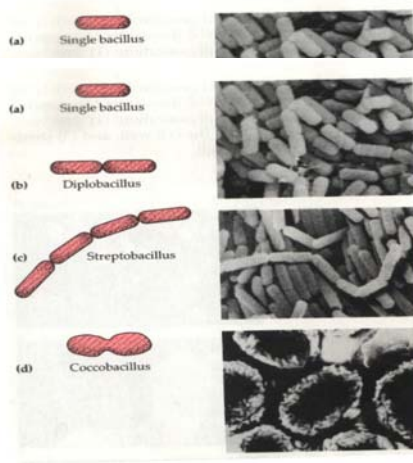
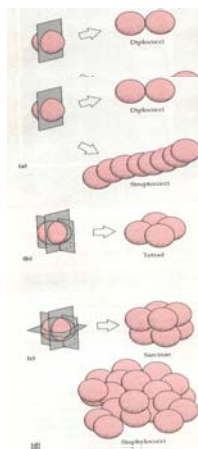
- Hình ảnh một số vi sinh vật và các chi chính hay gặp



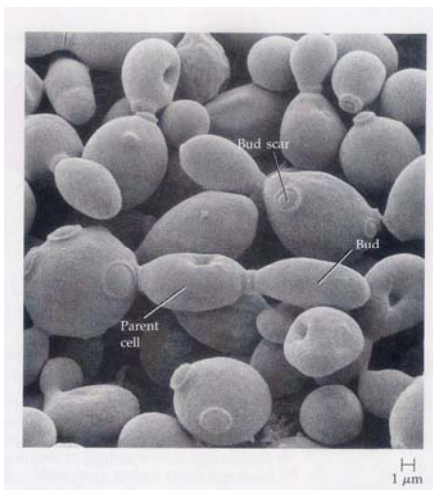
Virut



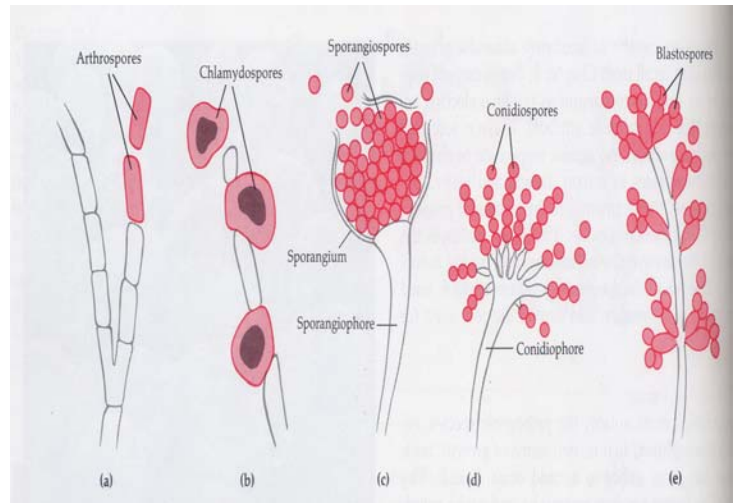
Hai loại Tế bào procaryote và eucaryote



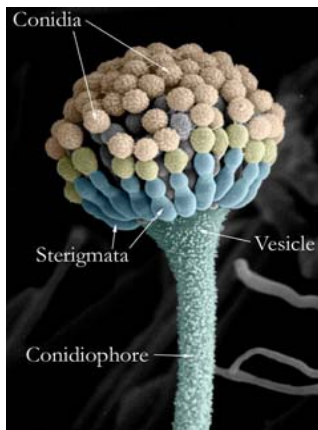
Các chi vi khuẩn chính và hình thức sinh sản của chúng



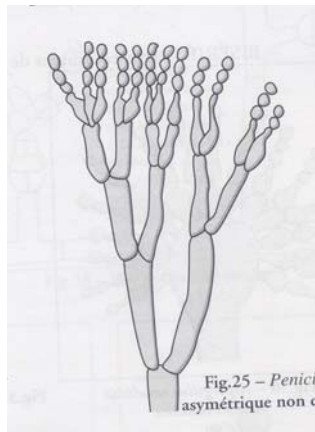
Nấm men và phương pháp sinh sản chính Nảy chồi



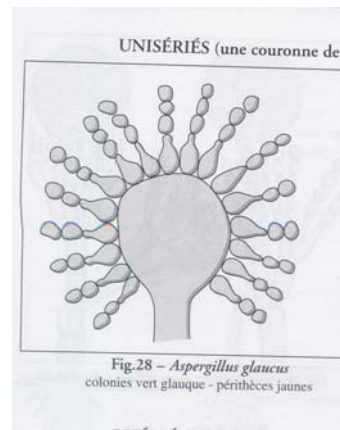
Nấm mốc và các hình thức sinh sản chính



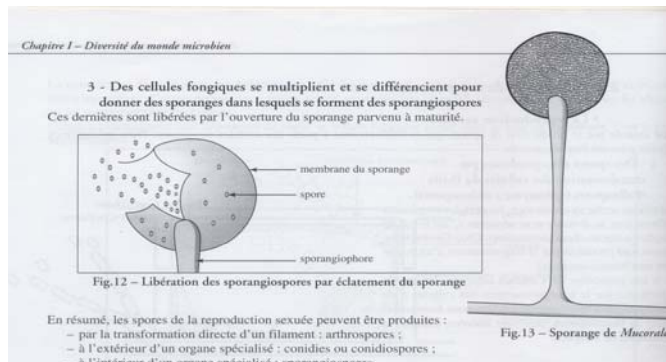
Aspergillus oryzae



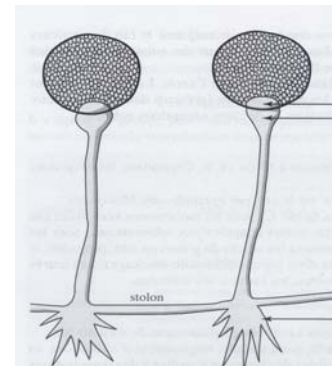
Penicillium



Aspergillus glaucus



Mucor



Rhizopus

PHỤ LỤC 2.

2.1. Theo các quy chế thế giới như :

- **GMP** –(**Good Manufacture Practice**) Thực hiện quá trình chế biến tốt là phải bảo đảm tốt chặt chẽ quy trình đưa ra , hợp vệ sinh.

- **HACCP** – (**Hazard Analytical Critical Control Points**) Các điểm kiểm tra để phân tích mối nguy thường xuyên nhiễm vi sinh vật

- **CCPs** , –những vị trí sản xuất dễ nhiễm bẩn nhất trong quy trình được thiết lập và chọn làm điểm phân tích VSV chủ yếu và cho phép ngưỡng giới hạn của nó, nếu đạt thì chất lượng sản phẩm cuối cùng đạt chỉ tiêu VSV mà không cần kiểm tra. Hay nói cách khác là biện pháp quản lý quá trình sản xuất chứ không phải chỉ phân tích sản phẩm cuối cùng mà quản lý theo GMP, HACCP để sản phẩm cuối cùng luôn đạt tiêu chuẩn ISO đề ra .

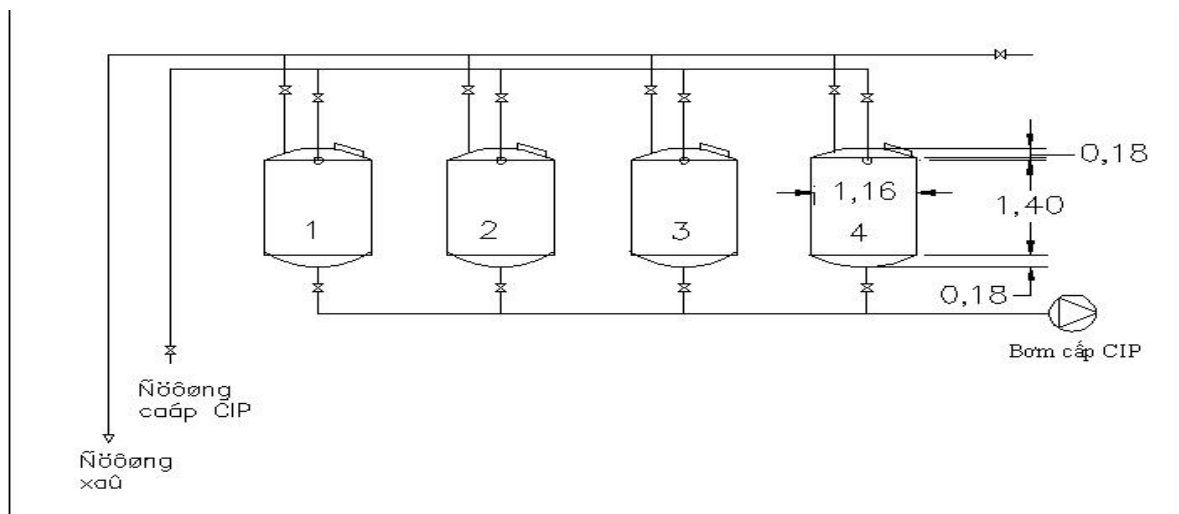
- **ISO** – (**International Standard Organization**) Tổ chức tiêu chuẩn hóa quốc tế. Bảo đảm 2 vấn đề trên cho sản phẩm an toàn cho người sử dụng trong nước và quốc tế, đạt chỉ tiêu chất lượng sản phẩm theo ISO đề ra.

2.2. Biện pháp ngăn chặn Vi sinh vật nhiễm tạp -

Tẩy, rửa sạch mọi vết bẩn bám vào nguyên liệu, dụng cụ. **Hệ thống CIP** toàn thiết cho mỗi cơ sở chế biến Thực phẩm từ thủ công đến tự động hoàn toàn để tẩy rửa hết mọi vết bẩn bám vào bề mặt thiết bị, đường ống, van , nhà xưởng cùng với chất sát trùng để tiêu diệt VSV và bào tử của nó bám vào trước và sau mỗi đợt sản xuất, từ đó hạn chế nơi cư trú và nhiễm tạp VSV vào quá trình sản xuất và sản phẩm cuối cùng đạt chỉ tiêu VSV cho phép .

Sơ đồ hệ thống CIP bao gồm các thùng chứa đựng các hóa chất chính như sau

HỆ THỐNG CIP (Cleaning -In- Place)



, Hệ thống CIP

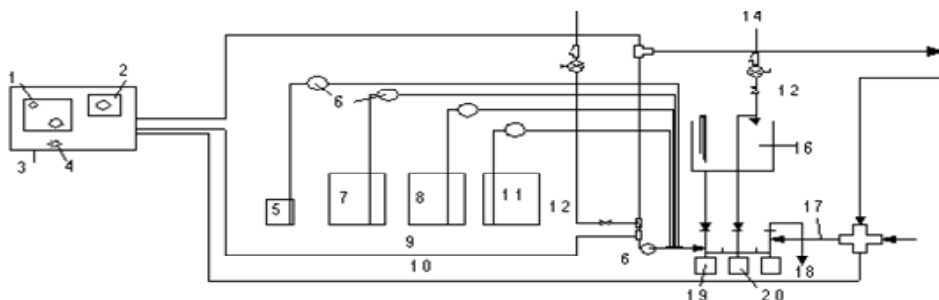
Trong dây chuyền công nghệ sản xuất Thực phẩm có những thiết bị làm việc ở chế độ gián đoạn vì vậy sau mỗi lần thiết bị làm việc cần phải vệ sinh thiết bị . Việc vệ sinh thiết bị

phụ thuộc vào thiết bị tiếp xúc với chất tẩy rửa nào, tùy vào tính chất vận tẩy rửa mà ta có biện pháp vệ sinh thích hợp. Thông thường người ta sử dụng hệ thống CIP. Hệ thống CIP có cấu tạo như sau:

- Hệ thống CIP của từng phân xưởng sản xuất hay chon nhà máy.

Hệ thống CIP gồm 4-5 thùng.

- Thùng 1 : Nước nóng. Tẩy rửa hết các vết bẩn tan trong nước nóng
 - Thùng 2 : NaOH – 1,5- 2%. Tẩy rửa hết vết bẩn là chất béo, protein, tạp chất hữu cơ
 - Thùng 3 : HNO₃ –1,5-2%. Tẩy rửa hết vết bẩn là muối vô cơ, cặn bám vô cơ
 - Thùng 4 : Nước Javen, hay chất sát trùng, tiêu diệt vi sinh vật bám vào bề mặt thiết bị, đường ống, nhà xưởng vv.
 - Thùng 5. Nước vô trùng, tráng lại chất sát trùng nếu không còn bám vào bề mặt thiết bị sản xuất, nếu dùng chất sát trùng phun xong bay hơi ngay không để lại trên bề mặt thiết bị thì không cần thiết bị này.
 - Thùng 6. Nếu cần thu hồi lại hóa chất để xử lý và dùng lại cho tiết kiệm hơn
- Ngoài ra có hệ thống bơm đủ áp suất để bơm các hóa chất trên đủ lực cơ học phá tan và tẩy rửa hết vết bẩn theo thời gian tuần hoàn cần thiết tương ứng nhiệt độ và nồng độ hóa chất đặt trước ở bảng điều chỉnh tự động hay bằng tay tùy theo trang bị của từng nhà máy.



SƠ ĐỒ 2. SƠ ĐỒ HỆ THỐNG CIP TỰ ĐỘNG

- | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> 1. NÚT KHỞI ĐỘNG. 2. NHIỆT KẾ TỰ GHI 3. ROLE ĐIỀU CHỈNH THỜI GIAN 4. SECLECTOR(BỘ ĐẶT) 5. THÙNG CHỨA CLO HAY CHẤT SÁT TRÙNG 6. BƠM 7. THÙNG CHỨA DUNG DỊCH AXÍT 8. THÙNG CHỨA DUNG DỊCH KIỀM 9. ỐNG DẪN NỐI VỚI MÁY BƠM 10. ỐNG DẪN NỐI VỚI NHIỆT TỰ GHI 11. THÙNG POLYPHOTPHAT 12. VAN MOTOR 13. ĐƯỜNG HƠI | <ul style="list-style-type: none"> 14. ĐƯỜNG NƯỚC 15. BỘ PHẬN LẤY MẪU 16. THÙNG TẬP TRUNG 17. ĐƯỜNG HỒI LƯU 18. ĐƯỜNG THÁO RA 19. CHỖ RA 20. TUẦN HOÀN |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

