

## ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP ELISA ĐỂ PHÂN TÍCH TỒN DƯ KHÁNG SINH NHÓM QUINOLONE TRONG TÔM TẠI MỘT SỐ TỈNH VEN BIỂN KHU VỰC PHÍA BẮC

Application of Enzyme - Linked Immunosorbent Assay method to analyse quinolone residues in shrimps coming from the North Vietnam

Phạm Kim Đăng<sup>1</sup>, Guy DEGAND<sup>3</sup>, Phạm Hồng Ngân<sup>2</sup>, Guy MAGHUIN-ROGISTER<sup>3</sup>, Marie-Louise SCIPPO<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Khoa Chăn nuôi và Nuôi trồng thủy sản - Đại học Nông nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup> Khoa Thú y- Đại học Nông nghiệp Hà Nội

<sup>3</sup> Khoa thú y - Đại học Liège - Vương quốc Bỉ

### TÓM TẮT

Khả năng phân tích tồn dư quinolone trong tôm của kit ELISA do CER Vương Quốc Bỉ sản xuất có trên thị trường đã được đánh giá trong điều kiện của Việt Nam. Việc nghiên cứu chuẩn hoá kit được thực hiện theo tiêu chuẩn và yêu cầu của Quyết định số 2002/657/EC do Ủy ban Châu Âu thiết lập cho phương pháp bán định lượng. Tình hình tồn dư quinolone trong tôm trên thị trường phía Bắc đã được đánh giá thông qua việc phân tích 90 mẫu tôm được lấy ở 4 địa phương đại diện (Hà Nội, Quảng Ninh, Nam Định, Nghệ An) bằng phương pháp ELISA và khẳng định bằng phương pháp Sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS/MS). Kết quả chuẩn hoá cho thấy kit rất ổn định để phân tích các quinolone được thử và trong tôm với giới hạn nồng độ phát hiện là 0,7 ppb. Kết quả phân tích đánh giá tình hình tồn dư phát hiện 5 quinolone (enrofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin và axit oxolinic) trong 9 mẫu nhiễm (tỷ lệ nhiễm 10%) với nồng độ dao động từ 0,4 đến 145 ppb. Trong đó, có 4 mẫu nhiễm ở nồng độ cao hơn giới hạn tồn dư cho phép theo Nghị định 2377/90 CE của Ủy ban Châu Âu.

Từ khoá: ELISA, phát hiện kháng sinh, quinolone, tồn dư, tôm.

### SUMMARY

A commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) provide by CER Belgium was evaluated for the analysis of quinolone antibiotics in shrimps coming from Vietnam. The kit validation study was performed according to the Commission Decision 2002/657/EC criteria established for semi-quantitative methods. Quinolone residues were measured in 90 shrimp samples coming from Hanoi, and provinces of Quang Ninh, Nam Dinh and Nghe An. Screening was performed with ELISA and confirmation by the LC-MS/MS. Result showed that the kit is suitable for analysis of all quinolone antibiotics in shrimp tissue with a limit of detection level of 0,7 ppb. Residues of 5 quinolones (enrofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin and oxolinic acid) were found in 9 samples (10 %), with levels ranging from 0,4 to 145 ppb. Four samples displayed a residue level higher than the Maximum Residue Limit fixed by European Union in directive 2377/90 CE.

Keywords: Antibiotic detection, ELISA, quinolone, residue, shrimp.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tồn dư kháng sinh trong thực phẩm ảnh hưởng xấu đến sức khoẻ cộng đồng và môi trường, là một trong những nguyên nhân gây những bệnh hiểm nghèo như ung thư, đột biến gen, quái thai, dị ứng và tăng nguy cơ xuất hiện

nguồn gen kháng thuốc ở các chủng vi sinh vật, đặc biệt vi sinh vật gây bệnh (Aarestrup, 1999; Bogaard và Stobberingh, 2000; Pena và cộng sự, 2004). Để tăng cường kiểm soát dư lượng, Ủy ban Châu Âu đã ban hành Quyết định số 2377/90 EC qui định giới hạn cho phép thuốc thú y trong sản phẩm động vật (CE, 1990), theo đó các sản

phẩm có nguồn gốc từ động vật phải được kiểm soát dư lượng tuân thủ qui trình của Chỉ thị số 96/23 EC (EU, 1996). Đặc biệt các phương pháp phân tích được công nhận và áp dụng trong chiến lược kiểm soát dư lượng phải chuẩn hoá theo quyết định số 2002/657/CE (CE, 2002). Trước sức ép đó, muốn hàng hoá có nguồn gốc từ động vật được phép lưu thông trên thị trường Châu Âu, trước hết, các nước xuất khẩu và các nhà sản xuất phải có chiến lược phân tích kiểm soát dư lượng tốt và cần thiết phải có những nghiên cứu về hệ thống các phương pháp phân tích sử dụng trong chương trình giám sát dư lượng (Heeschen, 1993; Suhren và Heeschen, 1996).

Quinolone là một trong những nhóm kháng sinh tổng hợp hoá học có khả năng khuếch tán tốt trong mô bào, nhanh chóng ức chế và tiêu diệt vi khuẩn thông qua sự ức chế tổng hợp ADN (Brown, 1996) do đó được sử dụng phổ biến và hiệu quả trong cả nhân y và thú y (Appelbaum và Hunter, 2000; Crumplin và Smith, 1976; Emmerson và Jones, 2003). Tuy nhiên việc sử dụng nhóm kháng sinh này trong chăn nuôi thú y và thủy sản có tác dụng xấu đến môi trường và sức khỏe cộng đồng (WHO, 1998).

Những năm gần đây, ngành thủy sản Việt Nam đã vượt qua những rào cản an toàn thực phẩm góp phần đưa sản phẩm thủy sản thâm nhập vào 106 nước, trong đó có những thị trường khó tính như châu Âu, Mỹ, Nhật Bản. Giá trị kim ngạch xuất khẩu thủy sản trung bình hàng năm giai đoạn 2001-2007 tăng trên 10%. Năm 2007 đạt trên 3,76 tỷ USD (tăng 12% so với năm 2006) trong đó tôm đông lạnh vẫn là mặt hàng xuất khẩu chiến lược quan trọng với khối lượng đạt 145 nghìn tấn (năm 2006 là 143,6 nghìn tấn) với giá trị đạt 1,37 tỷ USD, tăng 2,65% so với năm 2006 (Thông tin khoa học công nghệ và kinh tế Thủy sản, số 1 năm 2008). Nhưng thực tế số lô hàng thủy sản bị các nước nhập khẩu phát hiện có dư lượng kháng sinh vẫn còn cao (NAFIQAVED, 2007). Tình trạng trên không chỉ gây thiệt hại lớn về kinh tế của các doanh nghiệp mà quan trọng là còn ảnh hưởng đến uy tín chất lượng hàng thủy sản Việt Nam (Bộ Thủy sản, 2006). Trước tình hình đó, Bộ Thủy sản (nay là Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) đã ban hành một số qui định và nhiều chỉ thị để hướng dẫn kiểm soát dư lượng, trong đó Quyết định số 07/2005/QĐ-BTS ngày 24/02/2005 và số 26/2005/QĐ-BTS ngày 18/8/2005 liên quan đến

danh mục hoá chất và kháng sinh cấm và hạn chế sử dụng trong sản xuất kinh doanh thủy sản. Thế nhưng, kết quả điều tra thực tế cho thấy việc sử dụng kháng sinh trong nuôi tôm vẫn tiếp diễn và phổ biến nhất là nhóm quinolone (Nguyễn Thanh Phương và cộng sự, 2006; Phạm Kim Đăng và cộng sự, 2007).

Hơn nữa, để phát triển và tăng trưởng bền vững, bên cạnh các thị trường xuất khẩu, ngành thủy sản đã chú ý đến tiềm năng thị trường nội địa. Nhưng việc kiểm soát dư lượng các mặt hàng nội địa chưa được quan tâm đúng mức gây ảnh hưởng đến tâm lý và sức khỏe người tiêu dùng.

Để góp phần bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng, bảo vệ môi trường và tăng cường kiểm soát dư lượng kháng sinh, việc đánh giá khả năng thích ứng các phương pháp phân tích, đặc biệt các phương pháp đặc hiệu như ELISA là rất cần thiết. Mục đích của nghiên cứu nhằm đánh giá khả năng ứng dụng phương pháp ELISA trong phân tích tồn dư quinolone trong tôm tại một số tỉnh miền Bắc.

## 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

*Mẫu trắng:* là mẫu tôm không chứa nhóm kháng sinh quinolone đã được khẳng định bằng phương pháp sắc ký lỏng phổ khối (LC-MS/MS) tại phòng thí nghiệm phân tích thực phẩm - Bộ môn Khoa học thực phẩm- Khoa Thú y - Đại học Liège, Vương quốc Bỉ.

*Dung dịch kháng sinh chuẩn:*

Kháng sinh chuẩn: tất cả 5 kháng sinh thuộc nhóm quinolones được sử dụng trong nghiên cứu này gồm enrofloxacin, flumequin, norfloxacin, Ciprofloxacin và sarafloxacin ở dạng bột và đều là sản phẩm của Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA).

Dung dịch gốc 1 mg/ml: hoà tan trong methanol với sự có mặt của  $\text{NH}_4\text{OH}$  2M.

Dung dịch dùng củng cố mẫu được pha loãng từ dung dịch gốc (1 mg/ml) bằng nước cất.

*Hỗn hợp methanol/PBS (50/50) pH 7,4* (dung dịch PBS pH 7,4 là hỗn hợp 9 gam NaCl, 7,78 gam  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  và 0,75 gam  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pha trong 1 lít nước cất).

*Kít ELISA phân tích quinolone:*

10 bộ kít thuộc 5 lô khác nhau do phòng thí nghiệm Hormonologie - CER, Marloie, Vương quốc Bỉ cung cấp.

*Mẫu kiểm tra thử nghiệm:*

Chín mươi mẫu tôm được lấy ngẫu nhiên 6 đợt độc lập vào 6 tháng khác nhau trong năm (tháng 5, 6, 7, 10, 11 và 12 năm 2006) tại các chợ 4 địa phương đại diện gồm Hà Nội, Quảng Ninh, Nam Định và Nghệ An. Mỗi địa phương, mỗi đợt lấy 3 mẫu tại các quầy ở các chợ khác nhau. Riêng Hà Nội, ngoài chợ mẫu còn được lấy ở ba siêu thị. Các mẫu đều có nguồn gốc từ các đầm nuôi ở các địa phương đại diện, riêng mẫu được lấy tại Hà Nội được xác định nguồn gốc từ Quảng Ninh, Hải Phòng và Nam Định. Mẫu sau khi lấy được bảo quản lạnh chuyển về phòng thí nghiệm loại bỏ đầu và vỏ. Sau khi nghiền đồng nhất bằng máy moulinex, mẫu được lưu giữ ở âm 80°C.

**2.2. Phương pháp**

Tính ổn định của kít được đánh giá qua kết quả phân tích đường chuẩn của 10 bộ kít thuộc 5 lô vào các ngày khác nhau, mỗi nồng độ khi thử trên một bộ kít được lặp lại 2 lần. Đường chuẩn được xây dựng trên cơ sở phân tích 6 dung dịch chuẩn sarafloxacin có nồng độ tương ứng là 0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 và 1,0 ng/ml.

Để đánh giá khả năng phát hiện và khả năng ứng dụng của kít trong điều kiện phòng thí nghiệm ở Việt Nam, các tham số liên quan đến khả năng phát hiện của phương pháp được đánh giá theo tiêu chuẩn châu Âu (Quyết định 2002/657/CE). Bên cạnh đó, khả năng phát hiện và khả năng định lượng của kít tại các nồng độ tương ứng với giá trị MRL (Maximum Residue Limit - giới hạn nồng độ tối đa cho phép theo Quyết định số 2377/90 CE của Ủy ban Châu Âu) cũng được phân tích đánh giá. Mỗi kháng sinh thử 20 mẫu trắng (được xem như mẫu thực sự âm tính) và 20 mẫu cùng cố các quinolone đại diện ở nồng độ bằng nồng độ giới hạn phát hiện (0,7 ppb) (được xem như mẫu thật sự dương tính). Các tham số độ xác thực và độ mạnh của phương pháp được tính toán theo các công thức sau:

$$\text{Độ xác thực (\%)} = \frac{PA + NA}{N} \times 100\%$$

$$\text{Độ nhạy (\%)} = \frac{PA}{N^+} \times 100\%$$

$$\text{Độ đặc hiệu (\%)} = \frac{NA}{N^-} \times 100\%$$

Trong đó :

N là tổng số mẫu phân tích =  $N^+ + N^-$

$N^+$  là số mẫu thực sự dương tính (mẫu cùng cố)

$N^-$  là số mẫu thực sự âm tính (mẫu trắng)

PA là số mẫu dương tính theo kết quả phân tích trong số  $N^+$  mẫu

FN là số mẫu âm tính theo kết quả phân tích trong số  $N^+$  mẫu

FP là số mẫu dương tính theo kết quả phân tích trong số  $N^-$  mẫu

NA là số mẫu âm tính theo kết quả phân tích trong số  $N^-$  mẫu

Mỗi kít phân tích 20 mẫu gồm 2 mẫu trắng và 2 mẫu cùng cố của mỗi kháng sinh đại diện. Mẫu được chuẩn bị và tách chiết theo hướng dẫn kèm theo trong kít. Sau khi đọc giá trị OD (mật độ quang) của các giếng trên khay ở bước sóng 450 nm, kết quả được tính toán nhờ vào công thức thiết lập trên Microsoft Office Excel 2003.

Để khẳng định khả năng ứng dụng của kít để phát hiện quinolone và bước đầu đánh giá tình hình dư lượng nhóm quinolone trong tôm, 90 mẫu tôm lấy từ thị trường một số tỉnh phía Bắc được mô tả ở mục 2.1 được phân tích bằng phương pháp ELISA và phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS/MS) để khẳng định lại nồng độ và định danh chính xác các quinolone.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN****3.1. Tính ổn định và khả năng phát hiện***3.1.1. Kết quả phân tích đường chuẩn*

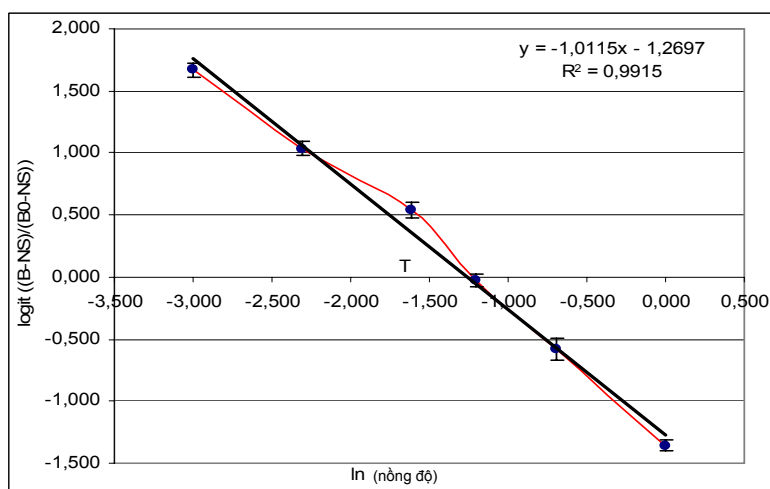
**Bảng 1. Kết quả phân tích kiểm tra đường chuẩn**

Kí hiệu	Dung chuẩn		Mật độ quang (OD)	CV (%)
	Nồng độ (ng/ml)		$\bar{X} \pm SD$	
NSB*	0		0,071 ± 0,006	6,88
C0	0		1,226 ± 0,037	3,05
C1	1		0,307 ± 0,008	2,57
C2	0,5		0,485 ± 0,016	3,23
C3	0,3		0,642 ± 0,021	3,24
C4	0,2		0,801 ± 0,022	2,72
C5	0,1		0,923 ± 0,022	2,44
C6	0,05		1,043 ± 0,028	2,65

NSB = Non Specific Binding: sử dụng dung dịch đệm photphat

Kết quả cho thấy mật độ quang của các giếng chứa các nồng độ thiết lập đường chuẩn của 10 bộ kit rất ổn định (hệ số biến động từ 2,44% đến 6,88%). Đặc biệt, giữa  $\ln[\text{nồng độ}]$  của các dung dịch xây dựng đường chuẩn và đáp ứng của kit  $[\text{logarit} ((B - NS)/(B_0 - NS))]$  có quan hệ tuyến tính chặt chẽ, tương quan nghịch, với giá trị trung bình  $R^2$  là 0,9915 (Bảng 1, Đồ thị 1).

Đường chuẩn tuyến tính trong khoảng nồng độ từ 0,05 đến 1 ng/ml và tính ổn định của kit là tương đối cao (Đồ thị 1). Hay nói cách khác, về lý thuyết kit có thể xác định chính xác nồng độ kháng nguyên (trong trường hợp này là sarafloxacin) trong các mẫu sau khi tách chiết ở nồng độ trong khoảng 0,05 đến 1 ng/ml.



**Đồ thị 1. Đường chuẩn**

(B và B0 tương ứng là mật độ quang của dung dịch chuẩn ở các nồng độ khác nhau và tại nồng độ bằng 0. NS mật độ quang của dung dịch không đặc hiệu)

### 3.1.2. Khả năng phát hiện của kit

Đối với mẫu trắng ở 20 lần lặp lại đều không phát hiện quinolone. Còn các mẫu khác đều có thể phát hiện các kháng sinh được củng cố (Bảng 2). Tuy nhiên, dù được củng cố cùng

một nồng độ nhưng kết quả khác nhau giữa các mẫu củng cố và khác so với nồng độ thực trong mẫu (nồng độ củng cố).

Ở cả hai nồng độ củng cố (0,7 ppb và ở nồng độ bằng MRL), kit rất nhạy và phát hiện tốt

nhất đối với sarafloxacin và enrofloxacin, tiếp đó là norfloxacin, ciprofloxacin và phát hiện kém nhất đối với flumequin. Kết quả này là do khả năng phát hiện kháng thể đặc hiệu của kit. Các kháng sinh có cấu trúc càng giống với kháng nguyên sử dụng để kích thích sản xuất kháng thể thì khả năng phát hiện của kit càng cao. Theo thông tin ghi trong kit thì kháng nguyên sử dụng để sản xuất kháng thể là dẫn xuất của sarafloxacin, do đó kết quả này hoàn toàn phù hợp.

Như vậy, có thể kết luận kit có khả năng phát hiện tốt các kháng sinh thuộc nhóm quinolone được thử ở nồng độ 0,7 ppb. Cũng từ kết quả này, theo chúng tôi, khi áp dụng kit này vào thực tế phân tích mẫu kiểm soát dư lượng để có kết luận chính xác về nồng độ dư lượng và đặc biệt định danh chính xác hợp chất quinolone, cần áp dụng các phương pháp khẳng định như phương pháp sắc ký lỏng khối phổ.

**Bảng 2. Khả năng phát hiện của phương pháp ở nồng độ giới hạn phát hiện và giới hạn nồng độ tối đa cho phép theo Quyết định 2377/90 CE của Ủy ban Châu Âu đối với một số quinolone**

Mẫu	Quinolone đại diện	Nồng độ củng cố (ppb)	Kết quả phân tích, n=20 (ppb)
Mẫu trắng	-	0	0
Mẫu củng cố tại giới hạn phát hiện	Enrofloxacin	0,7	0,521 ± 0,060 <sup>b</sup>
	Flumequin	0,7	0,095 ± 0,236 <sup>d</sup>
	Norfloxacin	0,7	0,475 ± 0,035 <sup>a</sup>
	Ciprofloxacin	0,7	0,334 ± 0,053 <sup>c</sup>
	Sarafloxacin	0,7	0,638 ± 0,023 <sup>a</sup>
Mẫu củng cố ở nồng độ tối đa cho phép theo Qui định 2377/90 CE	Enrofloxacin	100	73,559 ± 2,236
	Flumequin	200	5,010 ± 0,581
	Norfloxacin	100	43,004 ± 1,351
	Ciprofloxacin	100	37,352 ± 2,283
	Sarafloxacin	30	28,519 ± 0,929

Các số mang các chữ số khác nhau trong cùng cột thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ )

### 3.2. Độ đặc hiệu, tính chọn lọc và độ xác thực của phương pháp

Kết quả ở bảng 3 cho thấy phương pháp có thể phát hiện tất cả 5 quinolone được thử ở nồng độ 0,7 ppb với độ xác thực, độ đặc hiệu và độ nhạy có thể chấp nhận được. Độ đặc hiệu và độ

nhạy của phương pháp đối với sarafloxacin và enrofloxacin là 100%. Đối với norfloxacin, phương pháp có thể phát hiện với độ xác thực và độ nhạy tương ứng là 98,75 % và 97,5%. Còn flumequin và ciprofloxacin được phát hiện với độ xác thực, độ nhạy thấp nhất và tương ứng là 97,5 % và 95 %.

**Bảng 3. Các tham số độ mạnh của phương pháp đối với các quinolone được thử tại ngưỡng phát hiện tối thiểu**

Kháng sinh	MRLs <sup>(*)</sup> (ng/g)	Các tham số độ mạnh của phương pháp		
		Độ xác thực (%)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Norfloxacin	-	98,75	97,50	100,00
Flumequin	200	97,50	95,00	100,00
Enrofloxacin	100	100,00	100,00	100,00
Ciprofloxacin	100	97,50	95,00	100,00
Sarafloxacin	100	100,00	100,00	100,00

(\*) : LMRs là giá trị giới hạn tối đa dư lượng kháng sinh theo Quyết định 2377/90/CE Ủy ban Châu Âu

Đặc biệt, phương pháp có khả năng phát hiện các quinolone trong tôm với độ đặc hiệu là 100%. Hay nói cách khác nếu mẫu thực sự âm tính thì 100% kết quả phân tích sẽ là âm tính.

Như vậy, phương pháp có thể phát hiện tất cả các quinolone được thử ở nồng độ 0,7 ppb với xác suất sai số bé hơn hoặc bằng 5%. Đối chiếu

với quyết định số 2002/657/CE (CE, 2002) qui định về việc chuẩn hoá phương pháp phân tích tồn dư thực phẩm thì kết quả này hoàn toàn đáp ứng được yêu cầu của một phương pháp bán định lượng.

### 3.2. Kết quả phân tích mẫu tôm trên thị trường một số địa phương phía Bắc

**Bảng 4. Tình hình tồn dư kháng sinh nhóm quinolone trong tôm bán trên thị trường một số địa phương khu vực phía Bắc**

Địa phương lấy mẫu	Số mẫu phân tích (mẫu)	Kết quả phân tích bằng phương pháp ELISA			Kết quả phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS		
		Số mẫu nhiễm (mẫu)	Ký hiệu mẫu nhiễm	Nồng độ nhiễm (ppb)	Số mẫu nhiễm (mẫu)	Nồng độ nhiễm (ppb)	Loại quinolone nhiễm
Hà Nội	36	3	HN <sub>6</sub>	16,11	3	22,58	Enrofloxacin
			HN <sub>14</sub>	45,57		88,89	Norfloxacin
			HN <sub>29</sub>	87,58		145,28	Ciprofloxacin
Quảng Ninh	18	2	QN <sub>17</sub>	8,75	3	21,43	Danofloxacin
			QN <sub>5</sub>	123,17		134,51	Enrofloxacin
			QN <sub>11</sub>	-		0,4	Enrofloxacin
Nam Định	18	2	ND <sub>12</sub>	12,48	2	47,54	Axit Oxolinic
			ND <sub>15</sub>	34,37		112,14	Ciprofloxacin
Nghệ An	18	1	NA <sub>13</sub>	86,12	1	107,35	Enrofloxacin

Trong tổng số 90 mẫu phân tích, 9 mẫu tôm bị nhiễm quinolone (tỷ lệ nhiễm 10%). Đặc biệt, tất cả các địa phương nghiên cứu đều phát hiện mẫu bị nhiễm quinolone với nồng độ dư lượng cao nhất là 145 ppb và thấp nhất là 0,4 ppb (Bảng 4).

Điều đáng quan tâm là tất cả các mẫu có nồng độ dư lượng lớn hơn hoặc bằng 0,7 ppb đều phát hiện được bằng phương pháp ELISA. Riêng mẫu QN<sub>11</sub> được phát hiện nhiễm enrofloxacin ở nồng độ 0,4 ppb bằng phương pháp LC-MS/MS thì phương pháp ELISA không phát hiện được. Kết quả này hoàn toàn phù hợp vì nồng độ nhiễm bé hơn ngưỡng phát hiện của phương pháp (0,7 ppb).

Nếu đối chiếu kết quả phân tích với qui định giới hạn cho phép thuốc thú y trong sản phẩm động vật của Quyết định số 2377/90 EC của Ủy Ban Châu Âu (CE, 1990) và Quyết định số 07/2005/QĐ-BTS của Bộ Thủy sản nay là Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, trong 9 mẫu phát hiện nhiễm quinolone có 4 mẫu không

đạt tiêu chuẩn gồm HN<sub>29</sub>, QN<sub>5</sub>, ND<sub>15</sub>, NA<sub>13</sub> (chiếm 4,44 % mẫu kiểm tra).

### 4. KẾT LUẬN

Kít ELISA của hãng CER Vương quốc Bỉ có khả năng phát hiện tốt các kháng sinh thuộc nhóm quinolone trong tôm ở nồng độ lớn hơn hoặc bằng 0,7 ppb.

Khả năng phát hiện, hiệu lực của kít trong điều kiện phòng thí nghiệm ở Việt Nam đáp ứng được yêu cầu của một phương pháp bán định lượng qui định trong Quyết định số 2002/657/CE Ủy ban Châu Âu (CE, 2002). Tuy nhiên, muốn định danh loại kháng sinh quinolone và xác định nồng độ chính xác cần phải khẳng định lại bằng các phương pháp khẳng định lý hoá khác.

Tất cả các địa phương nghiên cứu đều phát hiện mẫu bị nhiễm quinolone với nồng độ dư lượng cao nhất là 145 ppb và thấp nhất là 0,4 ppb (tỷ lệ nhiễm 10%). Trong đó có 4 mẫu không đạt yêu cầu vệ sinh an toàn thực phẩm theo qui định của Việt Nam và Ủy ban Châu Âu.

## 5. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aarestrup, F. M. (1999). *Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals*. International Journal of Antimicrobial Agents, số 12, tr 279-285.
- Appelbaum, P. C., Hunter, P. A. (2000). *The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives*. International Journal of Antimicrobial Agents, số 16, tr 5-15.
- Bộ Thủy sản (2006). *Công điện của Bộ trưởng Bộ Thủy Sản*. Số: 01/BTS-VP, ngày 12 tháng 9 năm 2006.
- Bogaard, A. E. V. D., Stobberingh, E. E. (2000). *Epidemiology of resistance to antibiotics links between animals and humans*. International Journal of Antimicrobial Agents, số 14, tr 327-335.
- Brown, S. A. (1996). *Fluoroquinolones in animal health*. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, số 19, tr 1-14.
- Communauté Européenne (1990). *Règlement (CEE) n°2377/90 du Conseil du 26 juin 1990 établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale*. J. Off. Comm. Eur., L 224, tr 1.
- Communauté Européenne (2002). *Décision N° 2002/657/CE du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats* (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) [notifiée sous le numéro C(2002) 3044] J. Off. Comm. Eur., L 221, tr 8-36.
- Crumplin, G. C., Smith, J. T. (1976). *Nalidixic acid and bacterial chromosome replication*. Nature, số 260, tr 643-645.
- Emmerson, A. M., Jones, A. M. (2003). *The quinolones: decades of development and use*. J. Antimicrob. Chemother., số 51, tr 13-20.
- European Union (EU) (1996). *Directive 96/23/CE du Conseil, du 29 avril 1996, relative aux mesures de contrôle à mettre en oeuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/358/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE*. Off. J. Eur. Communities., L 125, tr 10-32.
- Heeschen, W. H. (1993). *The EEC approach*. In: International Dairy Federation (IDF) Workshop on residues of antibiotics and other antimicrobial inhibitors in raw and heat-treated milk: Significance, detection and development of an integrated detection system, Copenhagen, Denmark: IDF.
- NAFIQAVED (Cục quản lý chất lượng - An toàn vệ sinh và thú y thủy sản) (2007). *Báo cáo hội nghị tổng kết công tác quản lý kiểm soát dư lượng và vệ sinh thú y thủy sản năm 2007 - Kế hoạch 2008*. Tổ chức tại Hà Nội, ngày 24 tháng 12 năm 2007.
- Nguyen, T. P., Huynh, T. T., Pham, k. d., dang, V. B., (2006). *Survey on the use of chemicals and drugs in shrimp farming in Vietnam*. In, Final report of a Joint Vietnamese - Belgian project funded by SPO "Improvement of shrimp production sustainability and safety in Vietnam", City, tr 4-23.
- Pena, A., Serrano, C., Reu, C., Baeta, L., Calderon, V., Silveira, I., Sousa, J. C., Peixe, L. (2004). *Antibiotic residues in edible tissues and antibiotic resistance of faecal Escherichia coli in pigs from Portugal*. Food Additives and Contaminants, số 21, tr 749-755.
- Phạm Kim Đăng, Đặng Vũ Bình, Phạm Hồng Ngân, Caroline Douny, Marie Louise Scippo, Guy Degand, Guy Maghuin-Rogister (2007). *Hiện trạng nuôi và sử dụng kháng sinh cho nuôi tôm trên địa bàn tỉnh Quảng Ninh*. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, số 2, tr 22-27.
- Suhren, G., Heeschen, W. (1996). *Detection of inhibitors in milk by microbial tests A review*. Food / Nahrung, số 40, tr 1-7.
- Thông tin khoa học công nghệ và Kinh tế thủy sản (2008). *Xuất khẩu thủy sản của Việt Nam năm 2007*. Số 01 năm 2008, tr 26.
- WHO (Division of Emerging & Other Communicable Diseases) (1998). *Use of Quinolones in Food Animals and Potential Impact on Human Health*. In: WHO Meeting WHO/EMC/ZDI/98.12.

