

## 福建省 2000 年 ~ 2003 年食品中单核细胞 增生李斯特菌的监测与分析

陈伟伟 洪锦春 杨毓环 马群飞 林昇清

(福建省疾病预防控制中心,福建 福州 350001)

**摘要:**为系统了解福建省食品中单核细胞增生李斯特菌的污染状况、分布特征以及血清型别,为评价和预警我省食品污染状况和制定相关食品卫生政策提供可靠的基础数据,根据福建省的不同地理位置和经济状况,选择福州、泉州、龙岩和尤溪 4 个市县为监测点,在夏季和冬季随机采集农贸市场的 4 大类样品。样品 LB 增菌后,采用科玛嘉单核细胞增生李斯特菌显色平板分离,做 VITEK32 全自动微生物鉴定系统和 *Listeria monocytogenes* API 试剂条生化试验、溶血试验、小鼠毒力试验和血清学试验。2000 年 ~ 2003 年对生肉、熟肉、水产品 and 生牛奶 4 大类共 1 369 份食品进行检测,单核细胞增生李斯特菌的总检出率为 6.14%。不同种类食品的阳性率高低不一,阳性率最高为生肉(12.44%),水产品 and 生牛奶中均未检出。生肉类中阳性率最高为冻鸡肉(38.46%),鲜鸡肉中未检出。4 个市县的检出率呈地区性差异,幅度介于 7.55% ~ 5.20% 之间。夏季和冬季的检出率差异无显著性。30 株单核细胞增生李斯特菌的血清型别以 1/2a 型为主。监测结果显示福建省市售生(冻)畜禽肉存在着不同程度的单核细胞增生李斯特菌污染,应加强畜、禽类屠宰、运输、加

上对益生菌耐药性的远期影响并无确切的结论,但许多国家已逐渐建立了益生菌的安全性资料,除分析耐药性变化外,还对益生菌食用后对人体可能产生的不良作用进行流行病学监测。

目前,越来越多的国外益生菌新菌种申报进入中国市场,而我国的益生菌市场尚处于不成熟的发展阶段,应给予益生菌的耐药性问题特别的关注。本文对我国保健食品市场使用的 12 株益生菌菌株进行的耐药性分析,获得了初步的、有价值的基本资料。建立并加强国内益生菌的安全性评价和耐药性监测体系,对保护广大消费者利益,促进保健食品市场的健康发展是极为必要和迫切的。

### 参考文献

[1] 康白. 微生物学原理[M]. 大连: 大连出版社, 2002, 180.  
 [2] Philippe M. Safety aspects of probiotic products[J]. Scand J Nutr, 2001, 45: 22-24.  
 [3] [www.Products with Probiotics.htm](http://www.Products with Probiotics.htm)[Z].  
 [4] Petersen A, Aarestru F M, Jensen A B. Global Salnr Surv. A global *Salmonella* surveillance and labrotary support project of the World Health Organization[Z]. 2002.

[5] Yoshikasu Hamasaki, Mitsuko Ayaki, Hidatake Fuchu. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic Lactobacilli[J]. Journal of Food protection, 2001, 12 (54): 2007-2014.  
 [6] 陈代杰. 抗菌药物与细菌耐受性[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 2002, 138-139.  
 [7] Soile T, Kavindra VS, Pekka V. Vancomycin resistance factor of *Lactobacillus rhamnosus* GG in relation to enterococcal vancomycin resistance (van) genes[J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 4: 195-204.  
 [8] Markay AD, Taylor MB, Kibbler CC, et al. *Lactobacillus endocarditis* caused by a probiotic organism[J]. Clinical Microbiology and Infection, 1999, 5: 290-292.  
 [9] Klein G, Hallmann C, Cases IA, et al. Exclusion of *vanA*, *vanB* and *vanC* type glycopeptide resistance in strains of *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus rhamnosus* used as probiotics by polymerase chain reaction and hybridization methods[J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, 89: 815-824.  
 [10] WHO/FAO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in food[Z]. 2002.

[收稿日期: 2004 - 12 - 11]

中图分类号: R15; TS218; R978. 19 文献标识码: A

文章编号: 1004 - 8456(2005)02 - 0108 - 05

基金项目: 国家科技部基金资助课题; 福建省科技项目(2002Y018)

作者简介: 陈伟伟 女 主管技师

This work was supported by both the Special Funds of Ministry of science and Technology and the Grant from Science and Technology Plan of Fujian Province (2002Y018), China.



工过程的卫生管理和监测,提出预防单核细胞增生李斯特菌食物中毒和加强宣传教育的措施,减少食源性疾病的发生。

关键词:食品;李斯特氏菌;单核细胞增生;血清分型;食品污染

## Surveillance and analysis on food contamination by *L. monocytogenes* in Fujian Province from 2000 to 2003

CHEN Wei-wei, HONG Jin-chun, YANG Yu-huan, MA Qun-fei, LIN Sheng-qing  
(Fujian Provincial Center for Disease Prevention and Control, Fujian Fuzhou 350001, China)

**Abstract:** To explore the extent and distribution of *L. monocytogenes* contamination of food products in Fujian and the serotypes of the isolates and to provide fundamental information for policy makers to work out relevant regulations and establish food safety warning system, four sentinel surveillance spots (Fuzhou, Quanzhou, Longyan and Youxi) have been chosen for surveillance according to their geographic locations and their economic level. Food samples were randomly collected in markets in winter and summer seasons. Then the collected samples were processed and inoculated in *L. monocytogenes* agar plates. After that, the isolates were studied by biochemical, hemolysis, mouse toxicity and serotype tests. 1 369 samples from four sorts of foods (raw meat, cooked meat, raw milk and aquatic products) were collected and tested during the period 2000 ~ 2003. The overall positive rate for *L. monocytogenes* was 6.44%. The positive rate of *L. monocytogenes* in different foods varied: raw meat 12.44%, cooked meat 0.31% and *L. monocytogenes* were not found in samples of raw milk and aquatic products. Among various kinds of raw meats, the positive rate of *L. monocytogenes* in frozen chicken was the highest (38.46%) with frozen pork, beef and mutton (30.30%), fresh raw pork (4.04%), fresh raw beef (3.82%) and fresh raw mutton (1.08%) followed, and *L. monocytogenes* were not found in fresh raw chicken. The positive rate of *L. monocytogenes* in foods also showed regional difference and seasonal difference. The positive detected rate of *L. monocytogenes* in summer was 16.00% (52/325), while 11.52% (31/269) in winter, the difference was not significant. The serotype of 30 strains of *L. monocytogenes* was 1/2a chiefly. The study showed that the investigated foods in surveillance spots had been contaminated by *L. monocytogenes* in different degrees. So it is necessary to further strengthen the supervision and monitoring in the process of slaughtering, transportation and processing, and take measures to prevent food poisoning caused by *L. monocytogenes* and reduce the occurrence of foodborne diseases.

**Key Words:** Food; *Listeria monocytogenes*; Serotyping; Food Contamination

单核细胞增生李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, 以下简称李斯特菌) 是国际上较为关注的一种病死率极高的食源性致病菌, 该菌在美国、加拿大等国曾引发多起食物中毒爆发。美国 CDC 统计<sup>[1]</sup>, 2003 年美国李斯特菌病的平均发病率为 3.3/100 万人。目前在国内还未见引起食物中毒的报告, 但已有单增李斯特菌引起孕妇发病导致围产儿死亡的报道<sup>[2]</sup>。我省上杭县曾发生畜间伊凡诺夫李斯特菌病的流行。为了解我省食品中单增李斯特菌的污染状况, 于 2000 年 12 月 ~ 2003 年 12 月对福州、泉州、龙岩市和尤溪 4 个市县的市售生肉、熟肉制品、水产品共 1 369 份食品进行单增李斯特菌检测。

### 1 材料

1.1 样品来源 随机采集福州市、泉州市、龙岩市

及尤溪县农贸市场的生肉类、熟肉类(非定型包装熟肉制品)、生牛奶和水产鱼贝类样品共 1 369 份。生肉类包括冻肉和生鲜肉(牛、猪、羊和鸡)。

1.2 培养基 LB 增菌液、TSA 培养基、TSB 增菌液、SIM 动力半固体均购自北京陆桥技术有限公司; 李斯特菌显色培养基购自郑州博赛生物公司; 血琼脂基础培养基来自上海腹泻病防治研究所。

1.3 仪器及鉴定卡 VITEK32 全自动微生物鉴定仪、GPI 生化鉴定卡和 API 生化试剂条均产自法国生物梅里埃公司。

1.4 实验动物 普通级昆明种小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 购自福建省实验动物中心, 合格证号: 闽医动质第 23-002(质)。

1.5 分型血清 全套血清含 O-抗血清 8 型(O / , O , O , O / O , O , O , O 和 O )、

H- 抗血清 4 型(H- A、H- AB、H- C 和 H- D)。日本生研公司生产,购自广州千江公司。

## 2 方法

2.1 增菌、分离与生化鉴定 称取 25 g 试样放入 225 ml LB 增菌液,均质后 30 培养 48 h,划线接种于李斯特菌显色培养基平板上,挑取浅蓝色且带晕轮的菌落及其它蓝色菌落接种 SIM 半固体和 TSI 琼脂上,对形成伞状、在双糖铁琼脂斜面及底部产酸及过氧化氢酶阳性的菌株进行革兰氏染色,符合革兰氏阳性短杆菌的菌株接种 TSA 平板培养 24 h 后填充 GPI 卡并上 VITEK 仪器鉴定。将 VITEK 鉴定为李斯特菌属的菌株接种新鲜血平板,将 37 培养 24 h 后形成一溶血环的菌落制成 1 个麦氏单位的菌悬液,按使用说明滴加到 API Listeria 试剂条上,35 ~ 37 孵育 18 ~ 24 h,在 DIM 生化孔滴加 ZYM 试剂,判读结果后查编码表鉴定到种。

2.2 小鼠毒力试验 待测菌株经 TSB 增菌液 37 培养 24 h 后,腹腔注射实验小鼠 3 只,每只 0.5 ml,

对照组注射营养肉汤,观察 2 ~ 5d。

2.3 血清分型 用玻片凝集法确定 O 抗原,用试管法确定 H 抗原。

2.4 菌株结果的判定 符合 VITEK 鉴定结果为 99 % *Listeria species*, API 生化试剂条鉴定的数码图谱编码为 6510,溶血试验阳性且小鼠毒力试验阳性的菌株均判定为单核细胞增生李斯特菌。

## 3 结果

3.1 不同地区食品种类单核细胞增生李斯特菌的检出率 4 类食品单核细胞增生李斯特菌阳性率最高为生肉 (12.44 %),其次为熟肉,水产品 and 生牛奶中均未检出单核细胞增生李斯特菌。生肉类中单核细胞增生李斯特菌阳性率最高为冻鸡 (38.46 %),依次为冻猪牛羊肉 (30.30 %)、生鲜猪肉 (4.07 %)、生鲜牛肉 (3.82 %)、生鲜羊肉 (1.08 %),生鲜鸡肉中未检出。4 个地市中单核细胞增生李斯特菌阳性率最高的是尤溪县 (7.55 %),依次为福州市 (6.35 %)、龙岩市 (5.48 %)、泉州市 (5.20 %)。见表 1、表 2。

表 1 2000 年 ~ 2003 年 4 个地区 4 类食品中单增李斯特菌的检出状况

试样品种	福州市			泉州市			龙岩市			尤溪县			合计		
	样品数	阳性数	阳性率 %	样品数	阳性数	阳性率 %	样品数	阳性数	阳性率 %	样品数	阳性数	阳性率 %	样品数	阳性数	阳性率 %
生肉	156	25	16.03	156	17	10.90	216	21	9.72	139	20	14.39	667	83	12.44
熟肉	81	1	1.23	66	0	0.00	95	0	0.00	81	0	0.00	323	1	0.31
水产品	63	0	0.00	101	0	0.00	0	0	0.00	31	0	0.00	195	0	0.00
生牛奶	94	0	0.00	4	0	0.00	72	0	0.00	14	0	0.00	184	0	0.00
合计	394	25	6.35	327	17	5.20	383	21	5.48	265	20	7.55	1369	84	6.14

表 2 不同季节和地区肉类中单核细胞增生李斯特菌的污染率

试样类别	试样名称	6 ~ 8 月	11 ~ 1 月	福州市	泉州市	龙岩市	尤溪县	合计
		阳性率 (阳性数/检测数)	阳性率 (阳性数/检测数)	阳性率 (阳性数/检测数)	阳性率 (阳性数/检测数)	阳性率 (阳性数/检测数)	阳性率 (阳性数/检测数)	
鲜肉类	生鸡肉	0.00(0/33)	0.00(0/49)	0.00(0/5)	0.00(0/25)	0.00(0/33)	0.00(0/19)	0.00(0/82)
	生牛肉	16.67(2/60)	4.23(3/71)	0.00(1/29)	5.56(2/36)	1.82(1/55)	9.09(1/11)	3.82(5/131)
	生猪肉	6.17(5/81)	2.20(2/91)	7.69(2/26)	11.90(5/42)	0.00(0/50)	0.00(0/54)	4.07(7/172)
	生羊肉	2.27(1/44)	0.00(0/51)	0.00(0/26)	4.35(1/23)	0.00(0/30)	0.00(0/14)	1.08(1/93)
冻肉类	冻鸡	39.56(36/91)	36.92(24/65)	34.09(15/44)	30.00(9/30)	44.45(20/45)	43.24(16/37)	38.46(60/156)
	冻猪牛羊	50.00(8/16)	100.00(2/2)	26.92(7/26)	0.00(0/0)	0.00(0/3)	75.00(3/4)	30.30(10/33)
合计		16.00(52/325)	11.52(31/269)	16.03(25/156)	10.90(17/156)	0.46(21/216)	14.39(20/139)	12.44(83/667)

3.2 不同季节生肉类的检出率 夏季的检出率为 16.00 % (52/325), 冬季的检出率为 11.52 % (31/269), 夏季和冬季的检出率差异无显著性 ( $\chi^2 = 0.11, P > 0.05$ )。

不同地区冻生肉类的污染率均高于生鲜肉类, 见表 2。

3.3 30 株单核细胞增生李斯特菌血清分型的结果为: 1/2a 型菌株占 50 % (15/30), 1/2b 型菌株占 20 % (6/30), 1/2c 型菌株占 30 % (9/30)。

## 4 讨论

4.1 2000 年 ~ 2003 年从 1 369 份食品中分离的李

斯特菌阳性率平均为 6.14 %, 不同种类食品的阳性率高低不一, 最高的检出率为生肉 12.44 %, 水产品 and 生牛奶中均未检出。4 个市县单核细胞增生李斯特菌的检出率呈地区性差异, 从高到低为尤溪、福州、龙岩、泉州, 幅度介于 7.55 % ~ 5.20 % 之间。生肉中单核细胞增生李斯特菌的检出率从高到低为冻鸡肉、冻猪牛羊肉、生鲜猪肉、生鲜牛肉、生鲜羊肉和生鲜鸡肉。监测结果表明福建省市售生(冻)畜禽肉存在着不同程度的单核细胞增生李斯特菌污染, 应加强畜、禽类屠宰、运输、加工过程的卫生管理和监测。

4.2 此次监测冻鸡肉单核细胞增生李斯特菌的污染率 (38.46 %) 较高, 对泉州市阳性样品定量分析单核

## 福建省带壳牡蛎中副溶血性弧菌的市场调查

陈艳<sup>1</sup> 刘秀梅<sup>1</sup> 马群飞<sup>2</sup> 王明<sup>3</sup>

(1. 中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100050; 2. 福建省疾病预防控制中心,福建 福州 350001;  
3. 福建省卫生厅卫生监督所,福建 福州 350001)

**摘要:**为了解零售带壳牡蛎中副溶血性弧菌(VP)的污染情况,2003年4月~2004年3月每月在福建省福州和厦门两地收集带壳牡蛎,样品共252份,分别来自水产品批发市场(11%)、零售市场(50%)和饭店(39%)。采用Vitek鉴定系统和最可能数(MPN)法进行VP的定性和定量分析。结果显示,带壳牡蛎VP几何平均密度为46 MPN/100 g,46%的试样VP密度低于30 MPN/100 g的最低检出限,仅厦门2个试样菌量超过 $10^4$  MPN/100 g。两个地区、不同采样点和不同季节之间试样VP平均密度差别均有显著性。厦门试样菌量高于福州;批发市场试样菌量最高;春季试样菌量(93 MPN/100 g)高于其它季节(约为40 MPN/100 g)。研究结果可以用于估计生食牡蛎人群VP的暴露量。

**关键词:**弧菌;副溶血性;牡蛎;食品污染;定量研究

细胞增生李斯特菌的菌量最高为 $1.1 \times 10^4$  MPN/100 g<sup>[3]</sup>,而生鲜鸡肉却没有检出。此次生鲜鸡肉样品均为现场宰杀的全鸡。冻鸡肉样品采自市场的散装冻鸡分割肉(冻鸡翅、腿、爪、胸脯肉),经过宰杀、多次分割、称重、装箱、速冻等生产和市场销售环节,比鲜鸡肉大大增加了李斯特菌污染的可能性。说明我省冻鸡肉(分割肉)的加工和环境的污染较为严重,具体污染的原因还有待进一步调查。

4.3 熟肉制品的阳性率较低,这与熟肉制品均经过热加工和单核细胞增生李斯特菌不耐热有关。唯一一份腊肉中检出单核细胞增生李斯特菌可能与农贸市场销售摊位的腊肉与冻肉一起摆放交叉污染引起有关。

4.4 目前单核细胞增生李斯特菌引起食源性疾病的主要血清型是4b和1/2a<sup>[4]</sup>,本次分离的30株菌株中1/2a占50%,应引起注意。

4.5 在卫生控制方面,在强调良好的卫生操作规范(GHP)和良好的生产操作规范(GMP)的建立并且较好的应用和执行时,危害分析关键控制点(HACCP)在供应链上能更好地发挥食品安全管理的作用。美国在20世纪80年代末,意识到某些即食肉类产品有利于单增李斯特菌的生长,可导致消费者患李斯特菌病。因此,对生产条件进行了改造,采取的主要

措施是在加工环境(肉类产品可能被污染)中控制李斯特菌的生长。在了解该菌的生态学特征后,确定如何通过厂房布置、设置设计、清洁程序的完善和新的化学消毒剂的使用来控制该菌的生长。同时在销售和储存肉类产品时使用混合抑制剂(如乳酸钠、二乙酸钠)来控制该菌的生长,以达到保护消费者的目的<sup>[5]</sup>。

### 参考文献

- [1] Preliminary food net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food—selected sites, United States, 2003 [DB/OL]. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5316a2.htm>, 2004-06-25.
- [2] 张经. 围产期李斯特菌病—附八例报告[J]. 中华围产医学杂志, 2000, 3(1): 56-57.
- [3] 陈伟伟, 杨育红, 杨毓环. 泉州市食品中单核细胞增生李斯特菌的定性、定量及耐药性分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2003, 15(1): 43-45.
- [4] James MJay. Foodborne listeriosis[M]. Modern food microbiology. New York: Published by van Nostrand Reinhold, 1991, 553-556.
- [5] Bruce Tompkin. 肉制品的微生物安全问题[A]. 第一届 ICMSF—中国国际食品安全会议[C]. 北京: 2004. 10. 21-22.

[收稿日期: 2004-12-26]

中图分类号: R15; Q933.122; TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-8456(2005)02-0112-04

基金项目: 国家科技部“十五”攻关项目(2001BA804A03, 2001BA804A34); 社会公益项目(2001DIB00148, 2002DIA300167)

作者简介: 陈艳 女 博士

通讯作者: 刘秀梅 女 研究员 首席科学家

This work was supported by the Grant from National Science and Technology Program Funds (2001BA804A03, 2001BA804A34) and the Special Funds (2001DIB00148, 2002DIA300167) of Ministry of Science and Technology.