

CO₂ 烛缸法是国家标准方法结果的 8 倍。试样对比试验(见表 3),CO₂ 烛缸法是国家标准方法结果的 20 倍。CO₂ 烛缸法培养能更真实地反映试样中乳酸菌活菌数量,而且培养时间能缩短 24 h。目前国家标准规定的乳酸菌计数方法,未限定培养条件,对产品质量很难做出客观评价。因此,急需对有关标准进行补充修改,以适应经济发展的需要。

表 1 CO₂ 烛缸法试验结果(37 /48 h)

	1 ×10 ⁻²	1 ×10 ⁻³	1 ×10 ⁻⁴	1 ×10 ⁻⁵	1 ×10 ⁻⁶	报告结果
平皿 1 CFU/皿	无法 计数	无法 计数	66	7	0	
平皿 2 CFU/皿	无法 计数	无法 计数	60	6	1	
活菌计数 CFU/mL			6.3 ×10 ⁵			6.3 ×10 ⁵

表 2 常规法试验结果(37 /72 h)

	1 ×10 ⁻²	1 ×10 ⁻³	1 ×10 ⁻⁴	1 ×10 ⁻⁵	1 ×10 ⁻⁶	报告结果
平皿 1 CFU/皿	无法 计数	70	6	0	0	
平皿 2 CFU/皿	无法 计数	90	13	0	0	
活菌计数 CFU/mL		8.0 ×10 ⁴				8.0 ×10 ⁴

表 3 3 份试样对比试验乳酸菌计数结果 CFU/mL

试样编号	常规法(37 /72 h)		CO ₂ 烛缸法(37 /48 h)	
	计数结果	检验结论	计数结果	检验结论
1	1.2 ×10 ⁵	不合格	3.0 ×10 ⁶	合格
2	1.7 ×10 ⁵	不合格	3.6 ×10 ⁶	合格
3	1.8 ×10 ⁵	不合格	4.0 ×10 ⁶	合格

2.2 本文建立的 CO₂ 烛缸法,比常规有氧培养法更
适合乳酸菌生长,与汪川等^[3]的研究结果相一致。
在 CO₂ 烛缸环境中,乳酸菌生长速度快,而且方法
简便,适合基层实验室开展工作。

2.3 在常规有氧环境中的乳酸菌计数,平板培养基
的表面均无菌落生长,在进行革兰氏染色等乳酸菌
的鉴定时须拨开培养基,在培养基的里面找菌落,操
作非常困难。而 CO₂ 烛缸法中的乳酸菌计数,平板
培养基的表面乳酸菌的菌落生长良好,^[4]对进行乳
酸菌的染色及鉴定容易操作。

3 小结

3.1 本文建立的乳酸菌计数方法(CO₂ 烛缸法),方
法操作简便,乳酸菌生长速度快,计数平板表面有菌
落生长,适宜进行乳酸菌的活菌计数。

3.2 希望本文提出的活性乳酸菌制品中乳酸菌计
数方法问题,能引起有关部门注意,在修订相关标准
时加以参考。

参考文献:

[1] GB 16321—1996. 乳酸菌饮料卫生标准[S].
[2] GB/T 16347—1996. 乳酸菌饮料中乳酸菌的微生物检验
[S].
[3] 汪川,张朝武,余倩,等.酸奶中保加利亚乳杆菌分离条
件的优化[J]. 中国微生物学杂志,2001,13(3):73—74.
[4] R E 布坎南,N E 克本斯,编. 伯杰细菌鉴定手册[M].
第 8 版. 北京:科学出版社.

[收稿日期:2002 - 09 - 01]

中图分类号:R15;Q939. 117 文献标识码:B 文章编号:1004 - 8456(2003)01 - 0042 - 02

泉州市食品中单核细胞增生李斯特氏菌的定性、定量及耐药性分析

陈伟伟¹ 杨育红² 杨毓环¹ 马群飞¹

(1. 福建省卫生防疫站,福建 福州 350001;2. 泉州市卫生防疫站,福建 泉州 360000)

摘 要:为了解福建省泉州市食品中单增李斯特氏菌的污染状况,于 2000 年 12 月至 2001 年 12 月
对泉州市市售的 155 份生肉、熟肉制品、水产品中的单增李斯特氏菌进行了定性、定量及耐药性测
定。检出李斯特氏菌 47 株,总检出率为 35.48%,其中生肉类 68.12%,海产品类 12.5%,熟肉类
6.52%。检出单增李斯特氏菌 6 株,总检出率 3.87%,其中生肉类 8.7%,海产品和类熟肉类中未检
出。6 株单增李斯特氏菌均对氨苄西林、头孢噻吩、氯洁霉素、氧氟沙星、青霉素 G、四环素、万古霉
素敏感,对环丙沙星中度敏感,对呋喃妥因不敏感。根据测定结果,建议有关部门及早制定相应的
管理措施,加强监测,防止其引起的食物中毒爆发流行。

关键词:利斯特氏菌属;抗药性;微生物;食品

作者简介:陈伟伟 女 主管技师



Qualitative and Quantitative Analysis and Drug Resistance test

for *Listeria Monocytogenes* in Foods in Quanzhou

Chen Weiwei ,et al.

(Health and Anti-epidemic Station of Fujian , Fuzhou Fujian 350001 , China)

Abstract: The qualitative and quantitative analysis and drug resistance test for *Listeria Monocytogenes* in 155 samples of raw meat , meat products and sea foods from Quanzhou market were carried out in the period from Dec. 2000 to Dec. 2001 in an attempt to find out the food contamination status by *Listeria Monocytogenes* in Quanzhou , Fujian Province. The overall positive detection rate for *Listeria* was 35.8 % (raw meat 68.12 % , sea foods 12.5 % and processed meat products 6.52 %) and for *Listeria Monocytogenes* was 3.87 % (raw meat 8.7 % and not detected in sea foods and processed meat products) . Six strains of *Listeria Monocytogenes* were highly sensitive to ampicillin , cefoxitin , ofloxacin. penicillin G, tetracycline and vacomycin ; moderate sensitive to ciprofloxacin and resistant to nitrofurantoin. It is recommended that the relevant authorities develop appropriate control measures promptly to strengthen monitoring and prevent the outbreak of food poisoning caused by *Listeria Monocytogenes*.

Key Words: *Listeria* ; Drug Resistance ; Microbial ; Food

单核细胞增生李斯特氏菌 (*Listeria monocytogenes* ,以下简称单增李氏菌)是一种病死率极高的食源性致病菌,因其污染食品引起李斯特氏菌病致死的事件在欧美等国时有发生。^[1~3]我国尚未发现食物中毒的爆发流行,但已有单增李氏菌引起孕妇发病导致围产儿死亡的报道。^[2]2000年3月卫生部法监司发出加强李斯特氏菌监测,预防食物中毒发生的通知。为了解我省沿海发达地区泉州市食品中单增李斯特氏菌的污染状况,我们于2000年12月~2001年12月对泉州市售生肉、熟肉制品、水产品中的单增李斯特氏菌进行定性、定量及耐药性测定。

1 材料

1.1 样品来源 随机采集泉州市农贸市场的生肉类(包括牛、猪、羊、鸡肉),熟肉类(非定型包装熟肉制品)和水产鱼贝类样品共155份。

1.2 培养基 LB增菌液、TSB增菌液、SIM动力半固体均购自北京陆桥技术有限公司。李斯特氏菌显色培养基购自郑州博赛生物公司。血琼脂基础培养基购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、GPS101药敏鉴定卡和API生化试剂条均为法国生物梅里埃公司生产。

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

2 方法

2.1 定性 称取25g试样放入225mL LB增菌液,

均质后30℃培养48h,划线接种于李斯特氏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 and 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填充GPI卡并上VITEK仪器鉴定。将李斯特氏菌属菌株接种新鲜血平板37℃培养24h后形成溶血环的菌落制成1全麦氏单位的菌悬液,按使用说明滴加到API *Listeria* 试剂条上,35~37℃孵育18~24h,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 定量 采用MPN计数法,把25g试样加到225mL LB增菌液中均质,在3个无菌空试管中各加入10mL均质液,在6管9mL LB增菌肉汤中,3管加1mL,3管加0.1mL均质液。培养、分离、鉴定同前法。按最终发现单增李氏菌阳性的管数,查MPN表,报告计数结果。

2.3 耐药性测定 24h培养的菌落制成1个麦氏单位的菌悬液,吸取200μL加到1.8mL的无菌生理盐水中,混匀后填充GPS101药敏卡,上VITEK仪器测定。

2.4 小鼠毒力试验 待测菌株经TSB增菌液37℃培养24h后,腹腔注射实验小鼠3只,每只0.5mL,对照组注射营养肉汤,观察2~5d。

3 结果

3.1 生化特性 VITEK生化结果 蛋白胨基质、杆菌肽、奥普托钦、6%NaCl、10%胆汁、七叶苷、红四氮唑、右旋葡萄糖、水杨素、海藻糖、纤维二糖阳性。半

纤维素酶、40 %胆汁、精氨酸、尿素、新生霉素、乳糖、甘露醇、棉子糖、山梨醇、蔗糖、阿拉伯糖、丙酮酸、淀粉、菊糖、蜜二糖、松三糖、核糖、木糖阴性。分离菌株的生物编码均为 76221220440,鉴定结果为 99 % *Listeria species*。API 生化试剂条鉴定结果为,数码图谱编码 6510,判定为单增李斯特氏菌。

3.2 各类食品中李斯特氏菌属检出情况 155 份市售食品中,李斯特氏菌属的总检出率为 35.48 %,其中单增李斯特氏菌总检出率为 3.87 %。李斯特氏菌属的检出率生肉类 68.12 %、海产品类 12.5 %、熟肉类 6.52 %。生肉中单增李斯特氏菌的检出率为 8.7 %,熟肉和鱼贝类中均未检出(表 1)。

表 1 各类食品中李斯特氏菌属检出情况				
试样种类	试样数	Listeria spp	单增李斯	其它李斯
	份	%	特氏菌 %	特氏菌 %
生肉类	69	47(68.12)	6(8.70)	41(59.42)
熟肉类	46	3(6.52)	0	3(6.52)
鱼贝类	40	5(12.50)	0	5(12.50)
总计	155	55(35.48)	6(3.87)	49(31.61)

3.3 单增李斯特氏菌阳性样品的定量检测及毒力试验 分别从生猪肉、生牛肉及冻鸡肉中分离出 6 株单增李斯特氏菌。其中单增李斯特氏菌的菌量最高为 1.1×10^4 MPN/100 g,最低为 < 30 MPN/100 g。6 株单增李斯特氏菌的小鼠毒力试验均为阳性(表 2),对照组未见异常。

表 2 单增李斯特氏菌阳性样品的定量检测及毒力试验结果			
菌株编号	试样名称	菌量 MPN/100 g	小鼠毒力
01QR2	生猪肉	2.0×10^2	+
01QR3	生猪肉	1.6×10^2	+
01QR4	生牛肉	1.5×10^2	+
01QR78	生牛肉	< 30	+
01QR91	冻鸡腿	1.6×10^2	+
01QR92	冻鸡腿	1.1×10^4	+

3.4 药敏试验结果 6 株单增李斯特氏菌均对氨苄西林、头孢噻吩、氯洁霉素、氧氟沙星、青霉素 G、四环素、万古霉素敏感,对环丙沙星中度敏感,对呋喃妥因不敏感。

4 讨论

4.1 本次调查结果表明,泉州市市售生畜禽肉的单增李斯特氏菌污染率较高,检出率高于我省以往报道,^[4]可能与所用的选择性培养基有关。在水产品和熟肉制品中未检出单增李斯特氏菌,但其它李斯特氏菌的检出,说明这些食品同样存在污染单增李斯特氏菌的可能性。泉州市地处我省经济发达的口岸城市,食品进出口贸易频繁。随着我国现代化食品加工工业

的发展,一旦存在此菌的污染源,就可能导致大量产品的污染。阳性样品定量检测表明,冻鸡肉中单增李斯特氏菌的菌量高达 1.1×10^4 MPN/100 g,由于李斯特氏菌其低温增殖的特性,容易达到感染的菌量。另外,高菌量的产品本身在销售、储藏和烹饪过程能引起交叉污染。作者认为,鉴于食品中存在单增李斯特氏菌较为普遍,建议有关部门及早制定相应的管理措施。特别是加强对市售食品的监测,发现污染食品应及时对产品溯源并要求厂家采取卫生处理措施,同时,规范加工、销售等环节的卫生条件。还应该针对性地指导消费者在储藏、制作食品过程中避免和消除单增李斯特氏菌的污染方法。

4.2 食源性致病菌的耐药性对食品安全及人类健康的影响已经引起许多国家的警惕。^[5]本次药敏试验结果表明,此次分离菌的单增李斯特氏菌对氨苄西林、氧氟沙星等常用抗菌药物敏感,防制工作中可以考虑选用。已有资料表明,此菌耐药性是可以转移的,牛奶和奶制品的肠球菌可作为李斯特氏菌的耐药基因的来源。单增李斯特氏菌耐药性的发展,对治疗这种病死率极高的感染将造成严重的问题,^[6]应加以密切关注。

4.3 本次调查所用的选择性平板系法国进口李斯特氏菌显色培养基,与现行 GB 4789—1994 采用的 MMA 平板相比,在前者上的单增李斯特氏菌菌落呈现晕轮,特征明显,容易识别,而且杂菌生长少,MMA 则相反。前者可以提高工作效率。溶血实验是鉴别单增李斯特氏菌的一个重要方法。目前多采用协同溶血试验,但该试验操作繁琐。我们在实际工作中,采用新鲜血平板(冷藏 1 周以内的羊血)作溶血试验,一般也能得到满意的结果。

(感谢本站陈拱立主任医师对本文提出宝贵意见!)

参考文献:

[1] 丸山 务. リステリアをめぐ最近の动向について[J]. 食品卫生研究,1994,44(10):67—82.
[2] 张经. 围产李斯特氏菌病 - 附八例报告[J]. 中华围产医学杂志,2000,3(1):56—57.
[3] 罗海波,主编. 现代医学细菌学[M]. 北京:人民卫生出版社,1995:117—120.
[4] 罗伟伟,付萍,杨毓环. 用 PCR 检测六类食品中单核细胞增生李斯特氏菌[J]. 中国人兽共患病杂志,2000,16(3).
[5] 冉陆. 食源性致病菌及其耐药性[J]. 预防医学文献信息,2001,7(5):609.
[6] Henrik C, Wegener. WHO 沙门氏菌及食源性致病菌耐药性监测培训班[Z]. 2001,4.

[收稿日期:2002 - 08 - 11]