

2000 - 2005 年广东省食品中食源性致病菌的监测与分析

严纪文¹ 朱海明¹ 王海燕¹ 何冬梅¹ 杨 冰¹ 宋曼丹¹ 赖蔚苓¹
王 建¹ 马 聪¹ 邓 峰¹ 柯昌文¹ 倪汉忠¹ 黄吉城²

(1. 广东省疾病预防控制中心,广东 广州 510300;

2. 中华人民共和国广州出入境检验检疫局,广东 广州 510623)

摘 要:为了解广东省食品中食源性致病菌的污染状况和污染水平。按国家监测网的工作手册进行了食源性致病菌的检测和菌密度测定,应用 RiboPrinter[®] Microbial Characterization System 检测分离菌株的基因指纹图谱,纸片法作药敏试验。在监测的 10 类 2 265 份食品中,共分离出 76 株沙门菌、75 株单核细胞增生性李斯特菌、161 株副溶血性弧菌、2 株空肠弯曲菌、2 株 O157 H7 大肠杆菌。5 种食源性致病菌的检出率为 13.95 %。部分分离的菌株基因指纹图谱分析的结果是:58 株沙门菌分属于 22 个血清型,25 株单核细胞增生性李斯特菌分属于 11 个 RP 基因型,55 株副溶血性弧菌分属于 14 个 RP 基因型。药敏试验结果显示,沙门菌、副溶血性弧菌、O157 H7 大肠杆菌均有多重耐药株,单核细胞增生性李斯特菌对抗生素产生耐药性的比例较低。沙门菌、单核细胞增生性李斯特菌和副溶血性弧菌阳性样品中的几何平均菌密度分别为 265、96 CFU/g 和 93 MPN/100 g。5 种食源性致病菌对广东省食品的污染普遍存在。肉类食品和水产品的污染尤为严重,政府相关部门应尽快对畜牧养殖业抗生素的使用进行科学指导,并制定相关的法规进行监督和约束。

关键词:食品;食源性致病菌;基因;图谱[文献类型];抗生素类;抗药性

Surveillance on Food-borne Pathogens in Guangdong from 2000 to 2005

YAN Ji-wen, ZHU Hai-ming, WANG Hai-yan, HE Dong-mei, YANG Bing, SONG Man-dan,
LAI Wei-dong, WANG Jian, MA Cong, DENG Feng, KE Chang-wen, NI Han-zhong, HUANG Ji-cheng
(Guangdong Provincial Center for Disease Prevention and Control, Guangdong Guangzhou 510300, China)

Abstract: To investigate the situations and levels of food contamination by food-borne pathogens, 2 265 food samples were collected from markets and restaurants of 5 prefectures of Guangdong in the period 2000 - 2005. Pathogen examination and density calculation were made according to the standard operation procedure (SOP) of the National Surveillance Network. Ribotyping was characterized by the RiboPrinter[®] Microbial Characterization System. K-B method was used for testing antibiotic susceptibility. 76 strains of *Salmonella*, 75 strains of *Listeria monocytogenes*, 161 strains of *Vibrio parahaemolyticus*, 2 strains of *Campylobacter jejuni* and 2 strains of *EHEC* O157 H7 were isolated from the 2 265 samples. The overall positive rate was 13.95 %. 58 strains of *Salmonella*, 25 strains of *Listeria monocytogenes*, 55 strains of *Vibrio parahaemolyticus* were sorted to 22, 11 and 14 ribogroups respectively. Antibiotic susceptibility tests revealed that *Salmonella*, *Vibrio parahaemolyticus* and *EHEC* O157 H7 had multiple antibiotic resistant strains, but most *Listeria monocytogenes* strains showed high antibiotic susceptibility. The geometrical mean densities for *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus* were 265 CFU/g, 96 CFU/g and 93 MPN/100 g respectively. The results showed that the 5 food-borne pathogens widely existed in foods of Guangdong Province. Contamination of meat and marine products was particularly serious. The government should take measures to give the culturists scientific directions in the utilization of antibiotics in farms, and set relevant technical standards to monitor and manage the food industry.

Key word: Food; Foodborne Pathogens; Genes; Pictorial Works[Publication Type]; Antibiotic; Drug Resistance

我国于 2000 年建立了全国的食品污染物监测网,广东省是该监测网的第一批监测点。自 2000 - 2005 年以来,遵循国家监测网的要求,选择沙门菌、O157 H7 大肠杆菌、单核细胞增生性李斯特菌、空肠

弯曲菌和副溶血性弧菌为监测指标,对广东省 10 大类食品进行了食源性致病菌的监测。获得了 10 000 多个有效数据,现总结分析如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 采样点的选择 在广东省选择广州、汕头、韶关、湛江和深圳 5 个地区 9 个县、市的 48 个市场、

基金项目:广东省科技资金扶持项目(2003B0127);广东省医学科研指令性课题(C2005001)

作者简介:严纪文 女 副主任技师

通讯作者:邓峰 男 主任医师 课题负责人

115 个餐饮店为采样点,这些采样点在地理分布上分别位于广东省的东、南、西、北部,有山区、平原和沿海地区,既有工业和经济发达的地区,也有经济相对落后的农业地区,是广东省食品的主要生产和加工地,采集的样品基本能反映广东省食品的污染情况。

1.1.2 监测指标菌的确定 2000 - 2002 年以沙门菌、O157 H7 大肠杆菌、单核细胞增生性李斯特菌为监测指标菌,2003 - 2005 年增加空肠弯曲菌和副溶血性弧菌为监测指标菌。

1.1.3 样品的采集和运送 所有样品均按无菌操作采集和保存,并在冷藏的条件下,8 h 内运达实验室检验。

1.1.4 培养基及试剂 沙门菌、O157 H7 大肠杆菌、单核细胞增生性李斯特菌、副溶血性弧菌检测所用培养基均由北京陆桥技术有限公司提供。药敏试验用的抗生素纸片由英国 Oxoid 公司生产,广州市乐通泰生物科技有限公司提供。质控标准菌株 ATCC 25922 大肠埃希氏菌、ATCC 27853 铜绿假单胞菌由本中心菌种库提供。VITEK - 32 全自动微生物分析系统和鉴定用的 GNI⁺、NFC 卡及 API 试条由法国生物梅里埃公司提供。基因指纹图谱测定用的 RiboPrinter[®] Microbial Characterization System 及 Pvu 内切酶、EcoR 试剂盒由美国杜邦公司提供。O157

H7 大肠杆菌富集用的免疫磁珠由挪威 Dynal 公司提供。O157 H7 大肠杆菌的毒力检测所用引物: eaeA、SLT1、SLT2 和 Hly 引物由上海生工生物工程技术有限公司提供。空肠弯曲菌检测用的培养基由中国 CDC 营养与食品安全所提供。

1.2 方法

1.2.1 食源性致病菌的检测及其密度的确定 参

照中国疾病预防控制中心营养与食品安全所下发的“国家食源性疾病预防网工作手册”和 GB/T 4789 — 2003 进行。

1.2.2 基因指纹图谱的测定 取分离的沙门菌、单核细胞增生性李斯特菌和副溶血性弧菌的纯培养物,提取 DNA,沙门菌选择 Pvu 内切酶,其它选择 EcoR 内切酶试剂盒,用 RiboPrinter[®] Microbial Characterization System 进行基因指纹图谱的测定。

1.2.3 O157 H7 分离株毒力基因的检测 提取 O157 H7 分离株纯培养物的 DNA 进行裂解,反应程序:94 变性,52 ~ 62 梯度退火 30 s,72 延伸,30 个循环。反应总体积为 50 μl。用 PCR 进行 eaeA、SLT1、SLT2 和 Hly 毒力基因的检测。

1.2.4 药敏试验 参照全国临床检验操作规程^[1]中“药敏试验方法”和“临床和实验室标准化协会”(clinical and laboratory standards institute CLSI)推荐的纸片扩散法进行。结果判定参照 CLSI 药敏标准^[2]。质控参比菌株为 ATCC 25922 大肠埃希氏菌和 ATCC 27853 铜绿假单胞菌。

1.2.5 统计方法 将数据录入、转换后应用 SPSS 11.0 相关软件包进行统计分析。

2 结果

2.1 样品的品种及分布 2000 - 2005 年在广东省 5 个地区共采集了 2 265 份食品,其中湛江地区 650 份、韶关地区 343 份、汕头地区 493 份、深圳地区 257 份、广州地区 522 份。品种含猪肉、牛肉、羊肉、生鸡肉、水产品、非定型包装的熟肉制品、生牛奶及奶制品、酸奶、冰激凌及蔬菜,共 10 类食品。样品的分布及品种详见表 1。

表 1 2000 - 2005 年广东省食品监测样品的来源与分布 份

地区	猪肉	牛肉	鸡肉	羊肉	熟肉	生奶及奶制品	水产品	冰激凌	酸奶	蔬菜	合计
湛江	59	51	118	29	65	88	199	12	6	23	650
韶关	71	24	81	16	79	—	7	10	—	55	343
汕头	81	62	82	12	68	3	139	4	—	42	493
深圳	22	23	36	7	26	40	81	10	—	12	257
广州	53	33	146	25	58	49	91	19	7	41	522
合计	286	193	463	89	296	180	517	55	13	173	2265

注:—为未采样。

2.2 10 类食品中食源性致病菌的检出率 在 2000 - 2005 年检测的 2 265 份食品中,共检出食源性致病菌 316 株,5 种食源性致病菌的总检出率为 13.95 %。在 10 类食品中,生肉和水产品的检出率最高。生奶及奶制品、冰激凌、酸奶中未检出致病菌。详见表 2、表 3。

2.3 分离菌株的基因指纹图谱分析 对 2000 -

2005 年自食品中分离的 58 株沙门菌、25 株单核细胞增生性李斯特菌和 55 株副溶血性弧菌进行了基因指纹图谱的分析。结果显示,58 株沙门菌分属 22 个血清型(见表 4)。25 株单核细胞增生性李斯特菌分属于 11 个 RP 基因型,其中 72.5 % 的分离株与 RP 库中 Dup - 1053、1039、1042、1030、1062 的基因指纹模板相似。55 株副溶血性弧菌分属于 14 个 RP 基



表 2 广东省 5 个地区 2000 - 2005 年 5 种食源性致病菌的总检出率统计表

地区	沙门菌		单增李斯特菌		副溶血性弧菌		空肠弯曲菌		O157 H7		合计	
	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检样数 (份)	总检出率 (%)
湛江	650(39)	6.00	650(10)	1.54	199(55)	27.64	118(0)	0.00	451(0)	0.00	650(104)	16.00
韶关	343(6)	1.75	343(19)	5.54	7(1)	1.43	81(1)	1.23	262(0)	0.00	343(26)	7.58
汕头	493(12)	2.43	493(18)	3.65	139(32)	23.02	82(0)	0.00	354(1)	0.03	493(63)	12.78
深圳	257(4)	1.56	257(7)	2.72	81(39)	48.15	36(0)	0.00	176(0)	0.00	257(50)	19.46
广州	522(15)	2.87	522(21)	4.02	91(34)	37.36	146(1)	0.07	431(1)	0.02	522(71)	13.60
合计	2265(76)	3.36	2265(75)	3.31	517(161)	31.14	463(2)	0.43	1647(2)	0.01	2265(316)	13.95

注:括号中为阳性份数。

表 3 2000 - 2005 年广东省 10 类食品中 5 种食源性致病菌的检出率

品种	沙门菌		单增李斯特菌		副溶血性弧菌		空肠弯曲菌		O157 H7	
	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)	检测数 (份)	检出率 (%)
猪肉	286(20)	6.99	286(7)	2.45	—	—	172(0)	0.00	286(1)	0.35
牛肉	193(5)	2.59	193(7)	3.63	—	—	—	—	193(0)	0.00
鸡肉	463(34)	7.34	463(30)	6.48	—	—	463(2)	0.43	463(0)	1.12
羊肉	89(0)	0.00	89(5)	5.62	—	—	—	—	89(1)	0.00
熟肉	296(1)	0.34	296(15)	5.07	—	—	—	—	296(0)	0.00
水产品	517(14)	2.70	517(9)	1.74	517(161)	31.14	—	—	—	—
生奶	180(0)	0.00	180(0)	0.00	—	—	—	—	180(0)	0.00
冰激淋	55(0)	0.00	55(0)	0.00	—	—	—	—	55(0)	0.00
酸奶	13(0)	0.00	13(0)	0.00	—	—	—	—	13(0)	0.00
蔬菜	173(2)	1.16	173(2)	1.16	—	—	—	—	173(0)	0.00
合计	2265(76)	3.36	2265(75)	3.31	517(161)	31.14	635(2)	0.31	1647(2)	0.12

注:括号中为分离菌株数。—为未检测。

表 4 2000 - 2005 年广东省 10 类食品中沙门菌的血清型分布

菌型	检出株数	构成比(%)
德尔卑沙门菌 <i>S. derby</i>	14	24.14
肠炎沙门菌 <i>S. enteritidis</i>	5	8.62
阿贡纳沙门菌 <i>S. agona</i>	4	6.90
里定沙门菌 <i>S. reading</i>	4	6.90
爪哇安纳沙门菌 <i>S. javiana</i>	4	6.90
里尔沙门菌 <i>S. lille</i>	4	6.90
圣保罗沙门菌 <i>S. saintpaul</i>	3	5.17
肯塔基沙门菌 <i>S. kentucky</i>	3	5.17
韦太夫雷登沙门菌 <i>S. weltevreden</i>	2	3.45
沙门菌 <i>Salmonella ser.</i>	2	3.45
鼠伤寒沙门菌 <i>S. typhimurium</i>	2	3.45
乙型副伤寒沙门菌 <i>S. paratyphi B</i>	1	1.72
阿尔巴尼沙门菌 <i>S. albania</i>	1	1.72
婴儿沙门菌 <i>S. infantis</i>	1	1.72
鸭沙门菌 <i>S. anatum</i>	1	1.72
新港沙门菌 <i>S. newport</i>	1	1.72
彻斯特沙门菌 <i>S. chester</i>	1	1.72
明斯特沙门菌 <i>S. muenster</i>	1	1.72
索尔福沙门菌 <i>S. salford</i>	1	1.72
吉韦沙门菌 <i>S. give</i>	1	1.72
哈特沙门菌 <i>S. haardt</i>	1	1.72
比尔绍湾沙门菌 <i>S. bilthoven</i>	1	1.72
合计	58	100.00

因型,其中 72.3 % 的分离株与 RP 库中 Dup - 6626、16623、6621、6625、6618 的基因指纹模板相似。

2.4 O157 H7 大肠杆菌分离株毒力基因的检测结果
结果显示,分离自羊肉的 O157 H7 大肠杆菌携有 *eaeA*、*SLT2* 和 *Hly* 毒力基因,而分离自猪肉的菌株未检出毒力基因。

2.5 沙门菌、单核细胞增生性李斯特菌、副溶血性弧菌和 O157 H7 大肠杆菌分离株的药敏试验
对 2000 - 2005 年分离自广东省 10 类食品的 76 株沙门菌、34 株单核细胞增生性李斯特菌、60 株副溶血性弧菌、2 株 O157 H7 大肠杆菌进行了 7 类 14 种抗生素的药敏试验。结果见表 5。

2.6 阳性样品中沙门菌、单核细胞增生性李斯特菌、副溶血性弧菌菌密度的定量分析
对 2000 - 2005 年监测的 322 份食源性致病菌阳性的食品进行目标菌密度的定量分析,其中沙门菌、单核细胞增生性李斯特菌采用平板直接涂布法进行定量,副溶血性弧菌则采用 MPN 法进行定量。定量结果见表 6。

2.7 10 类食品中 5 种食源性致病菌污染的基本状况
2000 - 2005 年对广东省 10 类食品的监测结果提示,5 种食源性致病菌对食品的污染普遍存在。



表 5 2000 - 2005 年广东省监测样品食源性致病菌的耐药谱及药敏结果										%
抗生素名称	含量 (μg)	沙门菌			单核细胞增生性李斯特菌			副溶血性弧菌		
		R	I	S	R	I	S	R	I	S
氨苄西林 (AMP)	10	18.42	2.63	78.95	0.00	5.88	94.12	78.33	6.67	1.50
阿莫西林 (AMX)	25	22.37	1.32	76.31	0.00	5.88	94.12	58.33	28.33	13.34
庆大霉素 (GEN)	10	5.26	2.63	92.11	0.00	2.94	97.06	61.67	1.50	23.33
链霉素 (STR)	10	32.89	35.53	31.58	2.94	8.82	85.29	88.33	1.67	10.00
四环素 (TCY)	30	50.00	3.95	46.05	2.94	0.00	97.06	33.33	0.00	96.67
环丙沙星 (CIP)	5	1.32	0.00	98.68	0.00	0.00	100.00	1.67	10.00	88.33
复方新诺明 (SXT)	25	14.47	3.95	81.58	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00
甲氧苄啶 (TMP)	5	17.11	1.32	81.57	2.94	0.00	97.06	0.00	36.67	63.33
氯霉素 (CHL)	30	13.16	15.79	71.05	0.00	0.00	100.00	0.00	0.00	100.00
萘啶酮酸 (NAL)	30	47.37	7.89	44.74	100.00	0.00	0.00	3.33	0.00	96.67
磺胺嘧啶 (SSS)	300	38.16	1.32	60.52	44.12	0.00	55.88	6.67	18.33	75.00
头孢曲松 (CRO)	30	2.63	9.21	88.16	35.29	64.71	0.00	0.00	1.67	98.33
阿米卡星 (AMK)	30	5.26	9.21	85.53	0.00	2.94	97.06	66.67	8.33	25.00
头孢噻吩 (CEP)	30	6.58	7.89	85.53	0.00	0.00	100.00	33.33	43.33	23.34

注 :R 为耐药 ,I 为中介度 ,S 为敏感。

表 6 2000 - 2005 年食源性致病菌阳性样品中的菌密度定量分析		
致病菌名称	菌量密度中位数	菌量密度几何平均值
沙门菌	57 CFU/g	265 CFU/g
单核细胞增生性李斯特菌	56 CFU/g	96 CFU/g
副溶血性弧菌	60 MPN/100 g	93 MPN/100 g

从地理分布上看 ,深圳地区的检出率 (19.46 %) 高于湛江 (16.00 %)、广州 (13.60 %)、汕头 (12.78 %) 和韶关 (7.58 %)。各地区检出率差异有统计学意义。(² = 21.07 , *P* < 0.05)。

特别值得关注的是水产品中食源性致病菌的污染状况 ,在 517 份水产品中共检出食源性致病菌 184 株 ,总检出率高达 35.59 % ,是各类食品中检出率最高的一种。在监测中 ,除海产品外还有 69 份淡水鱼、虾 ,在这些淡水水产品中检出 40 株副溶血性弧菌。这些淡水水产品均采集于制作“ 鱼生 ”的餐饮店。本监测结果提示 ,水产品的卫生状况已对公众健康造成了严重的威胁 ,采用危险性评价原则尽快制定生吃水产品相关食源性致病菌的限量卫生标

准 ,是迫在眉睫的事情。

本监测结果显示 ,广东省单核细胞增生性李斯特菌对食品的污染主要集中在肉类食品。尤其以鸡肉和非定型包装的熟肉制品的污染最为严重。这些熟肉制品均采集于农贸市场的熟食店。

在检测的 635 份样品中。仅在 2 份鸡肉中检出空肠弯曲菌。空肠弯曲菌的检出率偏低是否与广东省禽类的屠宰方式有关 ,值得探讨。

(感谢中国 CDC 刘秀梅、冉陆的技术指导和广东 CDC 公卫所、湛江、澄海、仁化、宝安、番禺、增城、海丰 CDC 对本文的大力协助。)

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 全国临床检验操作规程[Z].

[2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing tenth informational supplement [J]. 2005 ,25 (1) : M100-S15.

[收稿日期 :2006 - 08 - 01]

中图分类号 :R15 ;R117 ;X836 文献标识码 :A 文章编号 :1004 - 8456(2006)06 - 0528 - 04