

研究报告

南通市市售牛乳中 β -内酰胺酶检测结果分析

熊海平,苏婧,许海燕

(南通市疾病预防控制中心,江苏 南通 226007)

摘要:目的 调查南通市市售牛乳中是否含有生鲜牛乳抗生素分解剂— β -内酰胺酶。方法 采用卫生部颁布的“乳及乳制品中舒巴坦敏感 β -内酰胺酶类药物检验方法—杯碟法”检测牛乳样品中的 β -内酰胺酶。结果 5家公司被检测102份牛乳,其中有2家共15份被检出 β -内酰胺酶。15份 β -内酰胺酶阳性的牛乳标本抑菌圈直径差值(B-A)在3.9~17.9 mm之间。结论 南通市部分市售牛乳检出 β -内酰胺酶,有一定的食用安全隐患,应采取措施加强监管。

关键词:牛乳; β -内酰胺酶; 抗生素; 违法添加物; 兽药残留

中图分类号:R155.57; TS201.25 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0417-03

Analysis on the detection results of β -Lactamase in commercial milk product in Nantong

XIONG Hai-ping, SU Jing, XU Hai-yan

(Nantong Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nantong 226007, China)

Abstract: Objective To investigate antibiotic decomposition of raw milk β -lactamase residues in milk samples of commercially availability in Nantong, and to provide the basis for reasonably controlling β -lactamase added in milk.

Methods To test β -lactamase in milk samples employing "sulbactam sensitive β -lactamases drug test method-cup method, in milk and milk products" published by Ministry of Health. **Results** Among 102 milk samples from 5 manufactures, β -lactamase was detected in 15 samples (relevance ratio: 14.7%) from 2 factories. The differences between bacteriostatic ring of 15 positive samples were among 3.9 - 17.9 mm. **Conclusion** β -lactamase adding residues are available in commercial milk products in the market of Nantong, and some residues are tremendous, which would make food safety hazards to some extent. So it's necessary to enhance administration and control.

Key words: Milk; β -lactamase; antibiotic; adulterant; residues of vefer inoary drugs

乳腺炎是乳牛的常见疾病,我国乳牛乳腺炎的患病率达到50%以上^[1],为防治乳腺炎等疾病,常在乳牛养殖过程中使用抗生素等药物。 β -内酰胺类抗生素因具有广谱的抗菌性且价格低廉,而被广泛、超剂量应用于乳牛养殖业,导致牛乳中高浓度的 β -内酰胺类抗生素残留^[2]。如果人饮用了含残留抗生素的牛乳,就会诱导人体内的一些条件致病菌产生耐药性;有过敏体质者使用后甚至出现过敏反应^[3]。另外还可能破坏人体内的正常菌群,造成“二重感染”,使疾病的治疗更加困难^[4]。牛乳中的抗生素尤其是 β -内酰胺类抗生素残留问题日益受到国际社会的重视,我国规定所有生鲜牛奶强制检测抗生素含量,超标者不许出售。一些不法商家为使产品达标,在乳及乳制品中违法添加 β -内酰胺

酶,该酶可分解牛乳中残留的 β -内酰胺类抗生素。 β -内酰胺酶对人体的安全性至今尚未评价,因此国家禁止将该酶作为食品添加剂使用。为了解南通市市售牛乳中是否含有 β -内酰胺酶,本研究对采集的102份牛乳样品使用杯碟法检测了 β -内酰胺酶,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株与样品

藤黄微球菌(*Micrococcus luteus*)^[5] CMCC(B) 28001,由江苏省疾病预防控制中心食品安全与评价所惠赠,取菌种5代内的新鲜培养物作为试验菌株。

通过市场调查,在南通地区销售牛乳市场覆盖率较高的公司有5家,其产品按照包装类型可分为袋(瓶)装、盒(杯)装两种。在充分考虑代表性的原则下,我们采用分层随机的方式,分3次从这5家公司的销售网点采集牛乳样品共102份。分3批检验。

收稿日期:2013-07-23

作者简介:熊海平 男 副主任技师 研究方向为微生物检验

E-mail:cxxyhp@126.com

通讯作者:苏婧 女 助理工程师 研究方向为微生物检验

E-mail:sujingch@gmail.com

1.1.2 主要仪器与试剂

微生物实验室常规灭菌及培养设备、游标卡尺、麦氏比浊仪(TA-XJP,北京天安)、pH计(Mettler-Toledo FE20-FiveEasy™)、5~20 μl和20~200 μl移液器、无菌牛津杯[外径(8.0±0.1)mm、内径(6.0±0.1)mm、高度(10.0±0.1)mm]。

主要检测试剂青霉素标准品(批号:121130)、β-内酰胺酶标准品(批号:20120806,活性单位:7300万U/ml)、舒巴坦标准品(批号:120911)、抗生素检测用培养基Ⅱ由江苏省疾病预防控制中心食品安全与评价所惠赠。营养琼脂培养基购自北京陆桥技术有限责任公司,上述试剂均在有效期内使用。

1.2 检测方法及结果判定

参照卫生部颁布的《乳及乳制品中舒巴坦敏感β-内酰胺酶类药物检验方法—杯碟法》进行检测。各组加入物质见表1。同时用pH 7.2~7.4磷酸盐缓冲溶液(PBS)作空白对照,以判定试验结果的有效性。

表1 各组别的添加试液
Table 1 Solution in each group

组别 (1 ml/组)	添加物质		
	青霉素	舒巴坦	β-内酰胺酶
A	5 μl(0.1 mg/ml)	-	-
B	5 μl(0.1 mg/ml)	25 μl(1 mg/ml)	-
C	5 μl(0.1 mg/ml)	-	25 μl(200 U/ml)
D	5 μl(0.1 mg/ml)	25 μl(1 mg/ml)	25 μl(200 U/ml)

注:每批试验用PBS做空白对照,-表示未添加

结果判定:①如磷酸盐缓冲溶液结果为A、B、D均产生抑菌圈,A与B的抑菌圈直径差异≤3 mm,且重复性良好;C的抑菌圈小于D,且直径差异≥

3 mm,试验重复性良好,则判断试验系统成立。

②如测试样品B、D均产生抑菌圈,C与D抑菌圈直径差异≥3 mm,当A的抑菌圈小于B,且直径差异≥3 mm,则判定试样β-内酰胺酶检验结果为阳性;当A与B的抑菌圈直径差异≤3 mm,则判定试样β-内酰胺酶检验结果为阴性。

2 结果

2.1 牛乳中β-内酰胺酶的检出情况

102份牛乳样品中有15份检出β-内酰胺酶,检出率为14.7%。102份标本分属5家乳品公司,其中2家公司的产品检出β-内酰胺酶。见表2。

表2 南通市市售牛乳中β-内酰胺酶检出情况
Table 2 β-lactamase detection results of milk sold in Nantong

公司编号	检测数	检出数	检出率/%
1	25	6	24.0
2	20	0	0
3	19	0	0
4	17	0	0
5	21	9	42.9
合计	102	15	14.7

2.2 15份β-内酰胺酶阳性牛乳样品抑菌圈直径测量结果

由表3可见,PBS对照符合判定试验系统成立条件,表明检测结果可信。C与D抑菌圈直径差值远大于3 mm,符合结果的判定条件。阳性样品A与B产生的抑菌圈直径差值差异显示,15份牛乳样品中检测到β-内酰胺酶的抑菌圈直径差值(B-A)在

表3 15份β-内酰胺酶阳性牛乳样本抑菌圈直径测量结果

Table 3 Antibacterial circle diameters of 8 β-lactamase positive milk samples

批次	样本编号	抑菌圈直径/mm				B-A /mm	结果
		A	B	C	D		
第一批	NTNR-2012-2	20.6	26.5	14.4	25.3	5.9	阳性
	NTNR-2012-4	18.8	25.3	11.0	25.3	6.5	阳性
	NTNR-2012-13	13.4	23.1	10.8	24.5	9.7	阳性
	NTNR-2012-14	6.6	24.5	11.0	22.5	17.9	阳性
	NTNR-2012-27	14.8	25.6	6.2	24.4	10.8	阳性
	NTNR-2012-31	18.1	25.3	5.8	23.8	7.2	阳性
	NTNR-2012-32	14.3	26.5	6.0	24.9	12.2	阳性
	NTNR-2012-33	23.8	27.9	6.0	27.5	4.1	阳性
	空白对照1(PBS)	24.5	25.7	14.3	24.3	1.2	系统成立 ^[5]
第二批	NTNR-2013-17	17.2	26.2	9.3	21.4	9.0	阳性
	NTNR-2013-21	12.7	23.3	8.7	16.9	10.6	阳性
	NTNR-2013-22	21.4	25.3	13.8	22.0	3.9	阳性
	空白对照2(PBS)	25.7	26.2	18.2	25.5	0.5	系统成立
第三批	NTNR-2013-39	9.8	21.5	8.6	20.1	11.7	阳性
	NTNR-2013-41	16.8	24.1	9.4	19.2	7.3	阳性
	NTNR-2013-43	10.7	16.1	9.3	21.2	5.4	阳性
	NTNR-2013-47	17.2	24.5	14.4	20.6	7.3	阳性
	空白对照3(PBS)	23.8	25.2	17.6	23.7	1.4	系统成立

3.9~17.9 mm 之间,有5份样品的差值在10 mm 以上。在试验系统成立及满足结果判定的条件下 A、B 产生的抑菌卷直径差值是判定样品是否含有 β -内酰胺酶的重要依据,因此阳性样品间 A、B 抑菌卷直径差值的差异意义值得进一步探讨。

3 讨论

牛乳中抗生素残留问题受到社会的广泛关注,农业部颁布的 NY 5045—2008《无公害食品 生鲜牛乳》^[6]行业标准规定生鲜牛乳中不得检出抗生素。就我国目前的养殖状况而言,生鲜牛乳中抗生素残留问题依然存在。一些不法奶商在经济利益的驱使下,人为地使用生物制剂如 β -内酰胺酶去降解牛乳中残留的抗生素,生产人造“无抗奶”,给牛乳产品又带来质量安全隐患。如何提高奶牛的养殖管理水平,从源头解决牛乳中抗生素残留及非法添加生物制剂等问题,应引起有关部门的高度重视。

β -内酰胺酶是我国禁止使用的食品添加剂之一,该酶的使用掩盖了牛奶中实际含有的抗生素。 β -内酰胺酶能够使青霉素内酰胺结构破坏而失去活性,导致青霉素、头孢菌素等抗生素药物耐药性增高^[7],进而带来一系列的公共卫生问题。

由检测的试验原理可知,A 与 B 产生的抑菌圈

直径差值(B-A)与牛乳样品中的 β -内酰胺酶的浓度呈正相关,B-A 的值越大,则样品中的 β -内酰胺酶的浓度越高,其可在一定程度上反映样品中 β -内酰胺酶的含量。本次检测结果显示,15 份阳性标本 B-A 的直径差值在 3.9~17.9 mm 之间,有5份样品在 10 mm 以上。提示不同牛乳样品中的含量不一致,有些样品的含量较大,由此带来的食品安全隐患不容忽视。

参考文献

- [1] 邓冬云,余淑冰,梁景涛,等. 佛山市区牛奶及奶粉中抗生素残留状况调查[J]. 中国热带医学,2004,4(3):470-471.
- [2] 李延华,王伟君,张兰威. 牛乳中 β -内酰胺酶类抗生素残留及检测方法的比较[J]. 食品研究与开发,2007,28(4):169-172.
- [3] Ponvert C, Le Clainche L, de Blic J, et al. Allergy to β -lactam antibiotics in children[J]. Pediatrics, 1999, 104(4):45.
- [4] Yamaki M, Berruga L, Althaus R L, et al. Occurrence of antibiotic residues in milk from Manchega Ewe Dairy Farms[J]. J Dairy Sci, 2004, 87(10):3132-3137.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 乳及乳制品中舒巴坦敏感 β -内酰胺酶类药物检验方法——杯碟法(卫监督发[2009]44号)[S]. 2009-5-8.
- [6] 中华人民共和国农业部. NY 5045—2008 无公害食品 生鲜牛乳[S]. 北京:农业出版社,2008.
- [7] 魏国美. 杯碟法测定乳与乳制品中 β -内酰胺酶[J]. 福建分析测试, 2010, 19(3):57-59.

研究报告

2012年深圳市市售转基因番木瓜检测

杨永存,李浩,杨冬燕,邓平建

(深圳市疾病预防控制中心,广东 深圳 518020)

摘要:目的 对深圳市场转基因番木瓜进行筛查和品系鉴定,为评估市售转基因番木瓜的食用安全风险奠定基础,为政府监管提供依据。方法 在深圳市场随机抽取转基因番木瓜 57 份,采用实时荧光 PCR 法,运用大部分转基因植物共有的 *CaMV35S* 启动子和 *NOS* 终止子进行转基因成分筛查,对筛查出的阳性样品运用各品系特异性的引物探针进行品系鉴定。结果 57 份番木瓜样品中,转基因阳性率为 91.2%,其中,GMYK16-0-1 品系占 96.1%,华农 1 号品系占 3.9%,未检出其他品系转基因番木瓜;超市和农产品批发市场的转基因番木瓜阳性率存在明显差异;所有转基因番木瓜均无转基因相关标识。结论 九成以上市售转基因番木瓜为未经我国农业部批准种植的转基因品系,建议政府相关部门加强对转基因番木瓜的监管。

关键词:转基因番木瓜;品系鉴定;转基因标示;监督管理;食品安全

中图分类号:R155.54; Q78 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2013)05-0419-05

收稿日期:2013-06-13

作者简介:杨永存 女 主管医师 研究方向为转基因食品检测及安全性评价 E-mail:lilac_zdx@126.com

通讯作者:邓平建 男 主任技师 研究方向为食品安全检测与评价。 E-mail:szdpj2002@163.com