

调查研究

2005—2013年河北省即食食品中单增李斯特菌污染及耐药特征研究

张淑红,侯凤伶,关文英,申志新

(河北省疾病预防控制中心,河北 石家庄 050021)

摘要:目的 研究2005—2013年河北省即食食品中单增李斯特菌污染状况及耐药特征。方法 单增李斯特菌检验参照(GB/T 4789.30),药物敏感性试验应用微量肉汤稀释法,对15种抗生素进行耐药检测。结果 单增李斯特菌总污染率为1.34%,凉拌菜及沙拉(2.62%)、生食水产品(2.51%)的检出率均高于所测其他食品。136株单增李斯特菌对15种抗生素耐药率为13.97%,以氯霉素耐药率最高(7.35%),其次是四环素和复方新诺明(均为4.41%),强力霉素和环丙沙星的耐药率均为2.94%,所有菌株对青霉素、亚胺培南、头孢噻吩、利福平、氨苄西林-舒巴坦酸敏感。结论 河北省即食食品中存在单增李斯特菌污染,分离菌株存在较严重的耐药情况,且耐药性有增长趋势,应加强即食食品的监管以保证食品安全及公众健康。

关键词:即食食品;单增李斯特菌;耐药性;餐馆;凉菜;生食水产品;食源性致病菌

中图分类号:R155;R378;F768.2 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)06-0596-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.06.020

Characteristic analyses of prevalence and antimicrobial resistances of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Hebei Province from 2005 to 2013

ZHANG Shu-hong, HOU Feng-ling, GUAN Wen-ying, SHEN Zhi-xin

(Hebei Province Center for Disease Prevention and Control, Hebei Shijiazhuang 050021, China)

Abstract: Objective To evaluate the prevalence and antimicrobial resistances of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Hebei Province from 2005 to 2013. **Methods** The detection of *L. monocytogenes* was referred to GB/T 4789.30. The antimicrobial susceptibility was determined by broth microdilution susceptibility testing. **Results** Total prevalence of *L. monocytogenes* was 1.34% in ready-to-eat foods, in which the higher prevalence in cold dish or salad was 2.62%, and 2.51% in raw aquatic products. Among 15 antimicrobials, 13.97% strains resistant to one or more antibiotics. The resistant rate of chloramphenicol, tetracycline and sulfamethoxazole, doxycycline and ciprofloxacin were the top three, which were 7.35%, 4.41% and 2.94%, respectively. All strains were sensitive to penicillin, imipenem, cefalotin, rifampicin and ampicillin-sulbactam. **Conclusion** There was a certain degree of *L. monocytogenes* contamination in ready-to-eat foods in Hebei Province. It was suggested that the antimicrobial resistance was serious and grow rapidly. More attention should be paid to the supervision of ready-to-eat foods to ensure food safety and public health.

Key words: Ready-to-eat foods; *Listeria monocytogenes*; tolerance; restaurant; cold dish; raw seafood; foodborne pathogen

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, 简称单增李斯特菌)为细胞内寄生的革兰氏阳性杆菌,是重要的食源性人畜共患病原菌,其致病力较强,可引起人类的败血症、脑膜炎及单核细胞增生等多种疾病,死亡率高达35%~70%^[1]。单增李斯特菌广泛分布于环境中,如污水、土壤、动物及各种生食和即食食品中。即食食品因食用前不再经过

任何烹调或加工,其受单增李斯特菌的污染会大幅度增加感染李斯特菌病的风险。同时其耐药性的发展也对该病的临床治疗带来更严峻的考验。为了解该类食品单增李斯特菌的污染及耐药情况,本文对2005—2013年即食食品中单增李斯特菌的污染状况及耐药特征进行研究,为加强食品安全及抗生素合理使用提供科学依据。

收稿日期:2014-08-12

基金项目:河北省卫生厅科技计划课题(20120259)

作者简介:张淑红 女 硕士 副主任技师 研究方向为微生物学

E-mail:zhangsh855@163.com

通讯作者:申志新 男 硕士 主任技师 研究方向为微生物学

E-mail:shen8789@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株来源

136株单增李斯特菌分离自2005—2013年河北省市售熟肉制品、即食非发酵豆制品、凉拌菜及

沙拉、盒饭及米粉、冷冻饮品、生食水产品、焙烤食品、鲜榨果汁共八类 10 129 份即食食品。单增李斯特菌标准菌株 (CMCC 54004)、质控菌株肺炎链球菌 (ATCC 49619) 均购自中国食品药品检定所。

1.1.2 试剂

脑心浸液琼脂培养基 (美国 OXID)、单增李斯特菌鉴定 PCR 试剂盒 (天津基因生物芯片有限公司)、微量细菌定量 (MIC) 药敏测试盒 (天津市金章科技发展有限公司), 所有试剂均在有效期内使用。

1.2 方法

单增李斯特菌的检验参照相应的国家标准方法 (GB/T 4789.30—2003、GB/T 4789.30—2008、GB 4789.30—2010)^[2-4], 耐药性检测参照美国临床实验室标准研究所 (CLSI) 推荐的微量肉汤稀释法^[5], 抗生素选择结合临床用药和研究需要, 共选择 15 种抗生素。参照 CLSI 相关解释标准进行结果判定^[5]。

2 结果

2.1 河北省即食食品中单增李斯特菌污染状况

2005—2013 年对河北省市售八类即食食品 (包括熟肉制品、即食非发酵豆制品、焙烤食品、凉拌菜及沙拉、生食水产品、盒饭及米粉类、冷冻饮品、鲜榨果汁) 进行单增李斯特菌的监测, 10 129 份样品共分离单增李斯特菌菌株 136 株, 检出率 1.34%。其中凉拌菜及沙拉 (2.62%)、生食水产品 (2.51%) 的检出率较高 ($\chi^2 = 29.88, P < 0.01$), 熟肉制品 (1.53%)、盒饭及米粉类 (1.00%) 检出率位于平均水平, 即食非发酵豆制品 (0.74%) 和冷冻饮品 (0.67%) 的检出率相对较低, 焙烤食品和鲜榨果汁类样品未检出单增李斯特菌, 见表 1。

表 1 不同类别即食食品中单增李斯特菌污染情况

Table 1 Prevalence of *Listeria monocytogenes* isolated from different ready-to-eat foods

食品品种	样品数/份	菌株数/株	检出率/%
凉拌菜及沙拉	1 414	37	2.62
生食水产品	638	16	2.51
熟肉制品	2 876	44	1.53
盒饭及米粉	1 598	16	1.00
即食非发酵豆制品	2 580	19	0.74
冷冻饮品	595	4	0.67
焙烤食品	228	0	0.00
鲜榨果汁	200	0	0.00
合计	10 129	136	1.34

2.2 河北省即食食品中单增李斯特菌对 15 种抗生素的药敏试验结果

136 株单增李斯特菌对青霉素、亚胺培南、头孢噻吩、利福平、氨苄西林-舒巴坦完全敏感, 对其他

10 种抗生素则产生不同程度的耐药性, 其中对氯霉素耐药最为严重, 耐药率为 7.35%、中介率 6.62%、敏感率最低, 为 86.03%; 其次是对四环素和复方新诺明耐药, 耐药率 4.41%; 对强力霉素、环丙沙星耐药率为 2.94%, 同时发现较多对环丙沙星中度敏感菌株, 为 11.03%, 造成其较低的敏感率 86.03%; 左氧氟沙星的耐药率 2.21%, 同样出现较多中敏株, 达 9.56%, 造成其敏感率仅为 88.24%。同时发现, 出现对氨苄西林不敏感菌株, 以及 2 株对万古霉素 MIC 中介菌株, 见表 2。

表 2 即食食品中单增李斯特菌对 15 种抗生素耐药结果

Table 2 Resistance to 15 antibiotics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods

抗生素	耐药数/株	耐药率/%	中介数/株	中介率/%	敏感数/株	敏感率/%
庆大霉素	0	0	1	0.74	135	99.26
氨苄西林	1	0.74	0	0	135	99.26
青霉素	0	0	0	0	136	100
四环素	6	4.41	0	0	130	95.59
强力霉素	4	2.94	1	0.74	131	96.32
亚胺培南	0	0	0	0	136	100
红霉素	0	0	6	4.41	130	95.59
环丙沙星	4	2.94	15	11.03	117	86.03
左氧氟沙星	3	2.21	13	9.56	120	88.24
头孢噻吩	0	0	0	0	136	100
利福平	0	0	0	0	136	100
万古霉素	0	0	2	1.47	134	98.53
氯霉素	10	7.35	9	6.62	117	86.03
复方新诺明	6	4.41	0	0	130	95.59
氨苄西林/舒巴坦	0	0	0	0	136	100

2.3 不同食品中单增李斯特菌分离株耐药特征

单增李斯特菌分离株总耐药率为 13.97%, 各类分离株耐药率均在 9.09% ~ 25.00% 之间, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.39, P > 0.05$)。但由于部分种类存在较多中介菌株, 如生食水产品、盒饭及米粉类样品中分离株敏感率仅为 50.00%, 明显低于其他种类样品 ($\chi^2 = 9.30, P < 0.01$)。凉拌菜及沙拉、熟肉制品、即食非发酵豆制品中分离株敏感率无明显差异。

19 株耐药菌株中包括耐 1 种抗生素的 11 株, 占所有菌株的 8.09% (11/136); 耐 2 种抗生素的有 4 株, 占 2.94% (4/136); 耐 3 种及以上抗生素菌株有 4 株, 占 2.94% (4/136), 其中包括一株 2011 年分离自非发酵豆制品的耐 5 种抗生素菌株, 其耐药谱为: 四环素-强力霉素-环丙沙星-氯霉素-复方新诺明。

所有分离株耐药数量以耐 1 种为主, 占 57.89% (11/19), 耐 2 种抗生素的分离株占 21.05% (4/19), 耐 3 种及以上抗生素的菌株占 21.05% (4/19), 其中 1 株分离自即食非发酵豆制品 (2011 年) 菌株则耐 5 种抗生素。见表 3。

表3 不同即食食品中单增李斯特菌分离株耐药特征

Table 3 Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from different ready-to-eat foods

食品品种	菌株数/ 株	耐药率/ %	中介率/ %	敏感率/ %	耐受抗生素数量(百分比/%)		
					耐1种/株	耐2种/株	耐3种及以上/株
凉拌菜及沙拉	37	13.51(5/37)	5.41(2/37)	81.08(30/37)	3(15.79)	1(5.26)	1(5.26)
生食水产品	16	18.75(3/16)	31.25(5/16)	50.00(8/16)	1(5.26)	1(5.26)	1(5.26)
熟肉制品	44	9.09(4/44)	18.18(8/44)	72.73(32/44)	2(10.53)	1(5.26)	1(5.26)
盒饭及米粉	16	25.00(4/16)	25.00(4/16)	50.00(8/16)	3(15.79)	1(5.26)	0(0)
即食非发酵豆制品	19	10.53(2/19)	5.26(1/19)	84.21(16/19)	1(5.26)	0(0)	1*(5.26)
冷冻饮品	4	25.00(1/4)	0.00(0/4)	75.00(3/4)	1(5.26)	0(0)	0(0)
合计	136	13.97(19/136)	14.71(20/136)	71.32(97/136)	11(57.89)	4(21.05)	4(21.05)

注: * 为该菌株耐5种抗生素(四环素、强力霉素、环丙沙星、氯霉素、复方新诺明),于2011年分离自非发酵豆制品

2.4 2005—2013年即食食品中单增李斯特菌分离株耐药性变迁

单增李斯特菌分离株耐药率不断增长,对部分抗生素如氯霉素、左氧氟沙星及环丙沙星的MIC值呈逐年增加趋势,并且MIC范围也在加大,变化最

明显的是氯霉素,2011—2013年与2005—2007年相比MIC₅₀增大2倍,MIC₉₀增大4倍,MIC范围也大幅增加。左氧氟沙星和环丙沙星的MIC值也有不同程度增加。对其他抗生素的MIC值则未见明显变化,见表4。

表4 2005—2013年单增李斯特菌分离株耐药率及对部分抗生素耐药性变迁趋势

Table 4 Trends of the antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods

年份	菌株数/株	耐药数/株	耐药率/%	氯霉素 MIC / (μg/ml)			左氧氟沙星 MIC / (μg/ml)			环丙沙星 MIC / (μg/ml)		
				MIC ₅₀	MIC ₉₀	范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	范围
2005—2007	13	1	7.69	4	8	2~8	1	2	0.25~2	1	1	0.250~1
2008—2010	26	3	11.54	8	8	3~16	2	4	0.25~16	1	1	0.500~2
2011—2013	97	15	15.46	8	32	2~128	2	4	0.50~16	1	2	0.125~16
合计	136	19	13.97	8	16	2~128	1	4	0.25~16	1	2	0.125~16

3 讨论

单增李斯特菌是一种能引起人畜共患病的食源性致病菌。由于该菌污染食品种类较多,在冷藏温度下仍然繁殖且可引发严重疾病,世界卫生组织将其列为四大食源性致病菌之一,由其引起的散发和暴发病例主要与即食食品有关^[6]。1999年国际食品卫生法典委员会(CCFH)确认的21种引起关注的病原体-食品组合中,单增李斯特菌-即食食品为其中的一个优先组合。自上世纪九十年代以来,单增李斯特菌在即食食品中的污染有较多报道^[7-10],其检出率在不同地方及不同食品中均存在较大差异。本文结果显示河北省即食食品中单增李斯特菌的检出率为1.34%。国外研究易被单增李斯特菌污染的食品主要为乳制品(奶酪、巴氏消毒奶、冰激淋)、肉制品(鸡肉、火腿等)、海产品及蔬菜沙拉等。国内相关报道中吉林省以熟肉制品(17.0%)、凉拌菜(9.1%)检出率较高^[11],扬州则以熟肉制品及凉拌菜等即食食品(9.62%)的检出率较高^[12]。而本文结果则以凉拌菜及沙拉、生食水产品中单增李斯特菌的检出率较高,分别为2.62%、2.51%,而熟肉制品检出率则略低(1.53%)。

目前,抗生素广泛使用与滥用导致各种食源性致病菌耐药性问题日益严重。本文结果显示河北省即食食品单增李斯特菌分离株耐药率较高

(13.97%)。一般认为单增李斯特菌对除头孢菌素和磷霉素以外的所有抗革兰氏阳性菌抗生素均敏感,首次报道该菌的四环素耐受株是上世纪八十年代^[13],而后陆续报道从食品、环境及人李斯特菌病例中分离出耐四环素、强力霉素及红霉素的单增李斯特菌^[14-15]。经过多年的发展,单增李斯特菌表现出向多重耐药发展的趋势,Pesavento等^[16]的研究表明即食食品中的分离株对氨苄西林、庆大霉素和甲氧西林耐药性较高。而本文结果显示河北省即食食品分离株对氯霉素耐药率最高,其次是四环素和复方新诺明,对治疗李斯特菌病首选药物氨苄西林敏感性较高(99.26%),对治疗青霉素过敏人群李斯特菌病首选药物红霉素的敏感性下降,出现多株中度耐药菌株,同时对万古霉素中度耐药菌株2株,对氯霉素、左氧氟沙星及环丙沙星等的MIC值逐渐增加,多耐药株也在增加。可见河北省即食食品中单增李斯特菌分离株对临床药物均出现不同程度耐药,且耐药率呈不断上升趋势。

食用动物源细菌耐药性的产生主要来源于养殖业抗生素不规范使用所造成的选择压力。抗生素不仅用于疫病治疗,也用作饲料添加剂以预防疾病及促进生长,从而使细菌产生耐药性。食用动物内脏产品、生乳及饲料样品中均有检出氯霉素、四环素类、磺胺类代谢产物的报道^[17-18]。早在2002年中国农业

部在《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》^[19]中已将氯霉素列为禁药,但本文结果显示单增李斯特菌对氯霉素、四环素及复方新诺明有较高的耐药率,提示抗生素的违禁使用和滥用仍然存在。

综上所述,河北省即食食品存在单增李斯特菌污染,其分离株耐药率较高,并有不断发展的趋势。因细菌的耐药基因及质粒等耐药性可通过食品或交叉污染传播给人类^[20],因此,应切实加强即食食品中单增李斯特菌耐药性监测,加大监管力度,加强宣传教育,提高人民的食品卫生及防病意识,规范抗生素使用,切断耐药传播途径,有效控制耐药性的传播和发展,以保障食品安全和公众健康。

参考文献

- [1] 李郁,魏建中,王桂军,等.产单核李斯特菌的研究进展[J].中国卫生检验杂志,2005,15(7):888-890.
- [2] 中华人民共和国卫生部.GB/T 4789.30—2003 食品卫生微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [3] 中华人民共和国卫生部.GB/T 4789.30—2008 食品卫生微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [4] 中华人民共和国卫生部.GB 4789.30—2010 食品卫生微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [5] CLSI. M100-S23: Reformance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third in forwation supplement [S]. 2013.
- [6] World Health Organization. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods:interpretative summary [EB/OL]. (2010-12-12) [2014-04-15]. http://www.fao.org/ag/agn/agns/jemra_riskassessment_listeria_en.asp.
- [7] Harvey J, Gilmour A. Occurrence and characteristics of *Listeria* in foods produced in Northern Ireland [J]. Int J Food Microbiol, 1993, 19(3):193-205.
- [8] Gambarin P, Maqnaosco C, Losio M N, et al. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat seafood and potential hazards for the consumers [J]. Int J Food Microbiol, 2012(16):497-635
- [9] Jorgensen L V, Huss H H. Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood [J]. Int J Food Microbiol, 1998, 42(1/2):127-131.
- [10] Inoue S, Nakama A, Arai Y, et al. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan [J]. Int J Food Microbiol, 2000, 59(1/2):73-77.
- [11] 赵薇,刘桂华,王艳秋,等.食品中单增李斯特菌污染及耐药状况调查[J].中国卫生检验杂志,2012,22(6):1394-1395.
- [12] 巢国祥,焦新安,徐勤,等.8类食品单增李斯特菌流行特征及耐药性状研究[J].中国卫生检验杂志,2005,15(5):519-521.
- [13] Poyart-salmeron C, Carlier C, Trieu-Cuot P, et al. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* [J] The Lancet, 1990, 335(8703):1422-1426.
- [14] Walsh D, Duffy G, Sheridan J J, et al. Antibiotic resistance among *Listeria*, including *Listeria* [J]. Journal of Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 90(4):517-522.
- [15] Pourshaban M, Ferrini A M, Mannoni V, et al. Transferable tetracycline resistance in *Listeria monocytogenes* from food in Italy [J]. J Med Microbiol, 2002, 51(7):564-566.
- [16] Pesavento G, Ducci B, Nieri D, et al. Prevalence and antibiotic susceptibility of *Listeria* spp. isolated from raw meat and retail foods [J]. Food Control, 2010, 21(5):708-713.
- [17] 覃志英,苏小川,黎军,等.动物性食品中3种药物残留状况调查及分析[J].广西医科大学学报,2006,23(3):503-504.
- [18] 刘维华,晁向阳,蒋安文,等.从部分兽药残留检测状况浅谈畜产品质量安全[J].中国兽药杂志,2006,40(5):48-51.
- [19] 中华人民共和国农业部公告,第193号.《食品动物禁用的兽药及其化合物清单》[Z]. 2002.
- [20] 世界卫生组织.《WHO关于食用动物耐药性污染的全球准则》[Z]. 2000.

· 公告 ·

食品药品监管总局办公厅关于食品用香精等标准有关问题的通知

食药监办食监一函〔2014〕455号

各省、自治区、直辖市食品药品监督管理局,新疆生产建设兵团食品药品监督管理局:

根据国家卫生计生委食品司《关于食品用香精等标准有关问题的复函》(国卫食品标便函〔2014〕184号,详见附件),食品安全国家标准《食品添加剂食品用香精》(GB 30616-2014)替代《食品添加剂乳化香精》(GB 10355-2006)和《咸味食品香精》(QB/T 2640-2004),替代《食用香精》(QB/T 1505-2007)中食品用香精的内容,不包括QB/T 1505-2007中的饲料用香精、接触口腔与嘴唇用香精等内容。食品安全国家标准《食品添加剂聚二甲基硅氧烷及其乳液》(GB 30612-2014)替代原卫生部发布的食品添加剂乳化硅油产品标准。请各级食品药品监管部门在食品添加剂监管工作中遵照执行。

附件:国家卫生计生委食品司《关于食品用香精等标准有关问题的复函》(国卫食品标便函〔2014〕184号)

国家食品药品监督管理总局办公
2014年9月17日