

调查研究

2011年北京市38批保健食品中污染菌的分离与鉴定

王似锦,刘文杰,牛振东,江志杰,张光华,高春
(北京市药品检验所,北京 100035)

摘要:目的 了解保健食品中污染菌的种类和特点。方法 按照食品安全国家标准 GB 4789—2010 对 38 批次的保健食品进行检验,采用全自动细菌鉴定系统对污染菌进行鉴定。结果 从 38 批次的保健食品中分离、鉴定出 69 株污染菌,在大肠菌群、沙门菌和金黄色葡萄球菌的检验过程中分离得到致病菌和条件致病菌。结论 需从控制原料、控制生产环境以及严格消毒灭菌三方面提高保健食品的卫生质量。

关键词:保健食品;污染菌;鉴定;食品安全

中图分类号:R155; R378.2; R378.1 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)02-0178-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.02.019

Isolation and identification of contaminated bacteria from 38 batches of health foods of Beijing in 2011

WANG Si-jin, LIU Wen-jie, NIU Zhen-dong, JIANG Zhi-jie, ZHANG Guang-hua, GAO Chun
(Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China)

Abstract: Objective The types and characteristics of contaminated bacteria in health foods were investigated. **Methods** 38 batches of health foods were analyzed according to National food safety standard GB 4789-2010, and bacteria were identified by automatic microbial identification system. **Results** 69 contaminated bacteria were isolated from 38 batches of health foods. Pathogens and opportunistic pathogens were isolated when taking examinations of *Coliforms*, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*. **Conclusion** Microbiological quality of health foods can be improved by control of raw materials, environment, strict disinfection and sterilization.

Key words: Health foods; contaminated bacteria; identification; food safety

目前国内关于保健食品微生物学质量的研究大都是按照食品安全国家标准 GB 4789 系列^[1-7]进行若干批次的微生物检验,然后分别按照不同剂型、不同原料,分别对不同项目进行合格率的分析^[8-10]。这样的总结与分析只能了解到保健食品是否符合现行食品安全国家标准,是否受到现行国标规定的 4 种致病菌的污染。但是,大量的试验表明,保健食品还有可能受到其他致病菌或潜在致病菌的污染,如有关保健食品中蜡样芽孢杆菌的污染情况的报道^[11],有关保健食品中分离出条件致病菌如芽孢菌属、微球菌属和葡萄球菌属的报道^[12]。目前,国内鲜有关于保健食品中污染菌的分离与鉴定的报道。因此,本研究对 38 批次保健食品中的污染菌进行分离,并采用 VITEK2-Compact 菌种鉴定系统进行菌种鉴定,从污染菌的种类、特点以及潜在的危害性等方面入手,对保健食品的微生物污染情况进行分析与讨论,对目前

保健食品的致病菌检验提出建议。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

2011 年 10 ~ 12 月,在北京市各药店、超市和商场随机抽取 35 个品种共 38 批次样品,每批次样品重量均在 200 ~ 400 g (≥4 个独立包装)。研究所用样品详细信息见表 1,以英文字母加剂型代表保健食品名称,如“A 胶囊”。

1.1.2 主要仪器与试剂

AVC-4D1 型垂直超净工作台(新加坡 ESCO)、HFsafe-1500 生物安全柜(上海力申科学仪器有限公司)、MIR 生化培养箱(日本 SANYO)、BX61 显微镜(日本 Olympus)、VITEK2-Compact 全自动细菌鉴定系统(法国生物梅里埃)。

培养基均购自北京陆桥技术有限责任公司,在有效期内使用。生理盐水按照 GB 4789.2—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》^[1]配制及灭菌。

收稿日期:2013-10-19

作者简介:王似锦 男 主管药师 研究方向为药品、保健食品和化妆品的微生物检验 E-mail:sijinw@163.com

表1 保健食品样品信息表

Table 1 The information of the health foods samples

样品代号	批号	样品代号	批号	样品代号	批号
A 胶囊*	20101208	M 粉	20110808	Z 颗粒	20110103
B 胶囊*	20110602	N 口服液	91010	AA 酱	310511
C 胶囊	110518	O 胶囊	20110301	AB 汁	260511
D 胶囊	H11060201516	P 胶囊	00008	AC 胶囊	20110623
E 胶囊	—	Q 胶囊	20110702	AD 胶囊	20110701
F 胶囊	20110523E03C	R 片	7011041	AD 胶囊	20110703
F 胶囊	20110708F04C	S 胶囊	1003002	AE 胶囊	11201008
G 丸	2101020-01	T 胶囊	11121001	AF 茶*	20110423
H 胶囊	110725	U 茶	20110901	AG 胶囊	11090201
I 胶囊	20110601	V 片*	20110903	AH 茶*	20110401
J 胶囊	11B3001	X 胶囊*	20110601	AH 茶*	20110601
K 茶	110401	Y 胶囊	110501	AI 茶	11060202
L 丸	110101078	W 片	20110901		

注: * 为不合格;—为无生产批号

1.2 方法

采用食品安全国家标准 GB 4789 系列^[1-7]对保健食品进行检验,包括菌落总数、霉菌、酵母菌、大肠菌群、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、沙门菌和志贺菌。按照 GB 16740—1997《保健(功能)食品通用标准》^[13]及企业标准判定。按照图 1 所示对细菌进行分离、纯化、镜检和鉴定。详细分离过程见表 2。

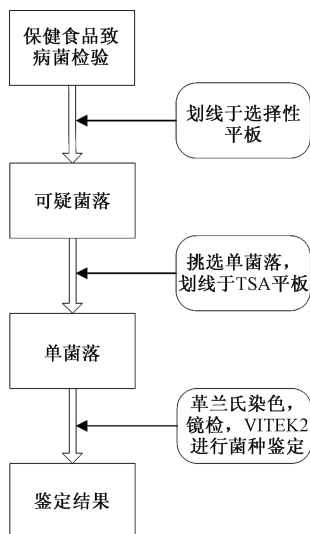


图1 保健食品污染菌分离鉴定流程图

Figure 1 Flow chart for identification of isolated bacteria in health foods

2 结果与分析

2.1 污染菌分离结果

对从 35 个品种共计 38 批次的保健食品检验中分离得到的 69 株菌进行了分离、纯化和鉴定,详细信息见表 2。38 批次的保健食品中,有 7 批次不合格,不合格项目详细信息见表 3。

2.2 大肠菌群检查中肠道致病菌的检出结果

大肠菌群是粪便和肠道致病菌污染食品的指

示菌^[14]。38 批次保健食品中大肠菌群超标的有 B 胶囊、V 片、AH 茶和 AF 茶,同时从这 4 批次保健食品中分离得到了肺炎克雷伯菌肺炎亚种、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌、解鸟氨酸拉乌尔菌。说明保健食品的大肠菌群检查可以有效指示样品是否受到肠道致病菌的污染。其中,大肠埃希菌可造成腹泻和食物中毒的爆发^[14],肺炎克雷伯菌可以使免疫力低的人群罹患肺炎^[15],阴沟肠杆菌作为条件致病菌也可造成医院感染^[16],拉乌尔菌可造成患者类似伤寒的发热症状^[17]。

但是,在某些大肠菌群检验合格的保健食品中,同样分离得到属于大肠菌群的肠道致病菌,如在 E 胶囊和 Q 胶囊等样品中分离得到阴沟肠杆菌, G 丸中分离得到大肠埃希菌。这可能是由于大肠菌群检验中通常采用最大可能数(MPN)法,对于固体制剂来说,总取样量为 3.33 g,明显小于其他致病菌(如沙门菌、志贺菌)检验中样品的取样量(25 g)。

2.3 革兰氏阴性杆菌(泛菌属)的分离及辨别

从保健食品中分离出革兰氏阴性杆菌,中文名为泛菌属。通过大量的分离试验可知,该菌在 HE 平板上为红色或半透明橙色菌落,在 SS 平板上为红色菌落或无色透明小菌落;在 EMB 平板上为黑色菌落,有时有金属光泽;在 BS 平板上不生长;可使胆盐乳糖发酵培养基产酸变色,但不产气。该菌属常见自植物表面、种子、土壤和水,也可从动物和人的伤口、血及尿中分离得到,是人的条件致病菌^[14]。在实际检验过程中,该菌有可能被误认为大肠埃希菌,因为可使胆盐乳糖发酵培养基产酸变色;也有被误认为大肠菌群的可能。由于是在进行沙门菌检验时分离得到了该菌,因此可通过 HE 平板和 BS 平板上的菌落特征分辨该菌和大肠埃希菌及沙门菌的区别。

表2 保健食品中分离菌的鉴定结果

Table 2 Identification results of isolated bacteria in health foods

序号	样品代号	批号	分离过程	Vitek2-Compact 鉴定结果	革兰氏 染色	序号	样品代号	批号	分离过程	Vitek2-Compact 鉴定结果	革兰氏 染色
1	A 胶囊*	20101208	APC	枯草芽孢杆菌	BCL	35	S 胶囊	1003002	GN-EMB	泛菌属	GN 杆
2	B 胶囊*	20110602	APC	施氏假单胞菌	GN 杆	36	T 胶囊	11121001	GN-EMB	屎肠球菌	GP 球
3	B 胶囊*	20110602	APC	变异库克菌	GN 杆	38	U 茶	20110901	BPW- TTB-BS	泛菌属	GN 杆
4	B 胶囊*	20110602	BPW- TTB-HE	肺炎克雷伯菌 肺炎亚种	GN 杆	37	T 胶囊	11121001	BPW- TTB-HE	阴沟肠杆菌	GN 短杆
5	B 胶囊*	20110602	BPW- TTB-HE	大肠埃希菌	GN 杆	39	V 片*	20110903	LB-EMB	阪崎肠杆菌	GN 杆
6	C 胶囊	110518	LB-EMB	非脱羧勒克菌	GN 杆	40	V 片*	20110903	LB-EMB	阪崎肠杆菌	GN 杆
7	C 胶囊	110518	7.5% -BP	铅黄肠球菌	GP 球	41	V 片*	20110903	BPW-SC-HE	阪崎肠杆菌	GN 杆
8	D 胶囊	H11060201516	BPW- TTB-HE	施氏假单胞菌	GN 杆	42	V 片*	20110903	GN-SS	阴沟肠杆菌	GN 杆
9	E 胶囊	—	BPW- TTB-BS	阴沟肠杆菌	GN 杆	43	V 片*	20110903	7.5% -BP	屎肠球菌	GP 球
10	F 胶囊	20110523E03C	7.5% -BP	屎肠球菌	GP 球	44	V 片*	20110903	GN-EMB	阴沟肠杆菌	GN 杆
11	F 胶囊	20110523E03C	7.5% -BA	蜡样芽孢杆菌	GP 球	45	W 片	20110901	LB-EMB	泛菌属	GN 杆
12	F 胶囊	20110523E03C	APC	屎肠球菌	GP 球	46	X 胶囊*	20110601	LB-EMB	解鸟氨酸拉 乌尔菌	GN 杆
13	F 胶囊	20110708F04C	GN-EMB	泛菌属	GN 杆	47	X 胶囊*	20110601	BPW-SC- HE-TSA	解鸟氨酸拉 乌尔菌	GN 杆
14	F 胶囊	20110708F04C	7.5% -BA	屎肠球菌	GP 球	48	X 胶囊*	20110601	GN-EMB	解鸟氨酸拉 乌尔菌	GN 杆
15	F 胶囊	20110708F04C	BPW-TTB	泛菌属	GN 杆	49	X 胶囊*	20110601	GN-SS	解鸟氨酸拉 乌尔菌	GN 杆
16	G 丸	2101020-01	7.5% -BA	人葡萄球菌	GP 球	50	X 胶囊*	20110601	GN-SS	肺炎克雷伯 菌肺炎亚种	GN 杆
17	G 丸	2101020-01	7.5% -BA	大肠埃希菌	GN 杆	51	Y 胶囊	110501	BPW-SC-HE	阴沟肠杆菌	GN 杆
18	H 胶囊	110725	7.5% -BA	非脱羧勒菌	GN 杆	52	Y 胶囊	110501	BPW-SC-HE	布氏柠檬 酸杆菌	GN 杆
19	H 胶囊	110725	DMIB-BA	屎肠球菌	GP 球	53	Z 颗粒	20110103	GN-EMB	屎肠球菌	GP 球
20	H 胶囊	110725	APC	少动鞘氨醇单 胞菌	GN 杆	54	AA 酱	310511	BPW-SC-HE	肺炎克雷伯 菌肺炎亚种	GN 杆
21	H 胶囊	110725	BPW- TTB-HE	塞氏柠檬酸 杆菌	GN 短杆	55	AB 汁	260511	BPW-SC-HE	阴沟肠杆菌	GN 杆
22	I 胶囊	20110601	7.5% -BA	蜡样/苏云金/ 蕈状芽孢杆菌	BCL	56	AC 胶囊	20110623	GN-EMB	鹌鸡肠球菌	GP 球
23	J 胶囊	11B3001	7.5% -BA	死谷芽孢杆菌	BCL	57	AD 胶囊	20110701	GN-EMB	美洲爱文菌	GN 杆
24	K 茶	110401	7.5% -BA	蜡样/苏云金/ 蕈状芽孢杆菌	BCL	58	AD 胶囊	20110703	GN-EMB	美洲爱文菌	GN 杆
25	L 丸	110101078	GN-EMB	阴沟肠杆菌	GN 杆	59	AE 胶囊	11201008	GN-SS	屎肠球菌	GP 球
26	M 粉	20110808	GN-EMB	屎肠球菌	GP 球	60	AE 胶囊	11201008	GN-EMB	鹌鸡肠球菌	GP 球
27	N 口服 液	91010	BPW- TTB-HE	屎肠球菌	GP 球	61	AF 茶*	20110423	LB-EMB	肺炎克雷伯 菌肺炎亚种	GN 杆
28	O 胶囊	20110301	BPW- TTB-HE	屎肠球菌	GP 球	62	AG 胶囊	11090201	LB-EMB	泛菌属	GN 杆
29	P 胶囊	00008	BPW- TTB-HE	屎肠球菌	GP 球	63	AG 胶囊	11090201	GN-SS	肺炎克雷伯 菌肺炎亚种	GN 杆
30	Q 胶囊	20110702	GN-SS	阴沟肠杆菌	GN 短杆	64	AH 茶*	20110401	LB-EMB	产酸克雷伯菌	GN 杆
31	Q 胶囊	20110702	BPW-TTB	阴沟肠杆菌	GN 短杆	65	AH 茶*	20110401	LB-EMB	阪崎肠杆菌	GN 杆
32	R 片	7011041	7.5% -BP	球形赖氨酸芽 孢杆菌/纺锤 形赖氨酸芽孢 杆菌	BCL	66	AH 茶*	20110401	BPW-SC-BS	阪崎肠杆菌	GN 杆
33	R 片	7011041	GN-EMB	屎肠球菌	GP 球	67	AH 茶*	20110601	GN-SS	解鸟氨酸拉 乌尔菌	GN 杆
34	S 胶囊	1003002	7.5% -BP	人葡萄球菌	GP 球	68	AH 茶*	20110401	GN-SS	阪崎肠杆菌	GN 杆
						69	AI 茶	11060202	BPW-SC-HE	阪崎肠杆菌	GN 杆

注: * 为不合格;—为无生产批号;分离过程:APC 为菌落总数,TSA 为大豆酪蛋白琼脂培养基,BPW 为缓冲蛋白胨水,TTB 为四硫磺酸钠煌绿增菌液,SC 为亚硒酸盐胱氨酸增菌液,BS 为亚硫酸铋琼脂,HE 为 HE 琼脂,LB 为胆盐乳糖发酵管,EMB 为伊红美蓝琼脂平板,BP 为 Baird-Parker 琼脂平板,BA 为血琼脂平板,GN 为 GN 肉汤,DMIB 为葡萄糖肉浸液肉汤,SS 为沙门、志贺菌属琼脂培养基;革兰氏染色:GN 为革兰氏阴性,GP 为革兰氏阳性,BCL 为芽孢杆菌

2.4 沙门菌的检查及布氏柠檬酸杆菌的检出结果

38 批次保健食品均未检出沙门菌。但在沙门菌检查过程中,分离得到布氏柠檬酸杆菌,该菌在选择

性平板上的菌落形态与沙门菌很难区分。如 Y 胶囊中分离得到的布氏柠檬酸杆菌,经过缓冲蛋白胨水(BPW)增菌,亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)选择性

表3 不合格保健食品微生物指标检查结果(cfu/g)
Table 3 Microbiological test results of unqualified health foods

样品代号	批号	菌落总数 (合格≤1 000)	霉菌 (合格≤25)	酵母菌 (合格≤25)	大肠菌群 (合格≤40)
A 胶囊*	20101208	11 000	1 700	<10	<30
B 胶囊*	20110602	4 900	160	<10	430
V 片*	20110903	15 000	<10	<10	230
AH 茶*	20110601	77 000	1 400	<10	11 000
AH 茶*	20110401	87 000	1 900	<10	4 600
AF 茶*	20110423	7 600	410	<10	24 000
X 胶囊*	20110601	89 000	1 700	<10	<30

注:以上各批次保健食品中的致病菌(沙门菌、志贺菌、金黄色葡萄球菌和溶血性链球菌)均未检出

增菌,划线于 HE 平板和 BS 平板上的菌落形态分别为黄色菌落带黑心、黑色有金属光泽,这与沙门菌的菌落形态极为相似,只有做进一步的分析,如采用沙门菌显色培养基、三糖铁斜面或进一步的生化试验才能够与沙门菌分辨。

2.5 金黄色葡萄球菌的检查

在金黄色葡萄球菌检查过程中,经过 7.5% 氯化钠肉汤增菌,划线于 Baird-Parker 平板和血平板,检出的污染菌为屎肠球菌、蜡样芽孢杆菌、人葡萄球菌、非脱羧鞘菌、蜡样/苏云金/蕈状芽孢杆菌。其中,屎肠球菌和人葡萄球菌为人类正常的寄生菌,对人健康的危害不大^[14]。但是,蜡样芽孢杆菌可引起胃肠道外感染及胃肠道感染^[11]。非脱羧鞘菌是人类的条件致病菌,有引起食物中毒的报道^[18]。

2.6 保健食品中污染菌的分析

从保健食品中的污染菌分析,有大量的污染菌广泛分布于环境中,如枯草芽孢杆菌,施氏假单胞菌等。也有污染菌是人及动物体内正常菌群的一部分,如阴沟肠杆菌、人葡萄球菌等,这与文献^[12]的报道一致。

3 小结

在 38 批保健食品的微生物检验中,未发现 GB 16740—1997《保健(功能)食品通用标准》^[13]中规定的不得检出的致病菌,但发现了一些致病菌及条件致病菌,如克雷伯菌属、阴沟肠杆菌、大肠埃希菌、阪崎肠杆菌、拉乌尔菌属、蜡样芽孢杆菌和非脱羧鞘菌等,这些菌有危害人类健康的潜在风险。因此,如要提高保健食品的卫生质量,防止污染,一是控制原材料的卫生水平,保证原材料的洁净;二是控制生产环境,防止人员和环境的再次污染;三是做好终产品的消毒和灭菌。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 2—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010.

[2] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789. 3—2003 食品卫生微生物学检验 大肠菌群测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[3] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 4—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2010.

[4] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 5—2012 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2012.

[5] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 10—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2010.

[6] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789. 11—2003 食品卫生微生物学检验 溶血性链球菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[7] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 15—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数[S]. 北京:中国标准出版社,2010.

[8] 刘建琪,王岚,张红,等. 2006—2009 湖南省健康相关产品微生物检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(5):1171-1172.

[9] 付玉生. 1257 份保健食品微生物污染状况及影响因素探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2013,23(2):489-491.

[10] 邢丽萍,李萍,王文,等. 呼和浩特市保健食品微生物污染状况调查分析[J]. 预防医学情报杂志,2010,26(9):749-750.

[11] 黄结,黄橘. 保健食品中检出蜡样芽孢杆菌的情况分析[J]. 中国食品卫生杂志,2012,24(2):173-176.

[12] Warburton D W, Harrison B, Crawford C, et al. Current microbiological status of 'health foods' sold in Canada [J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 42(1-2):1-7.

[13] 中华人民共和国技术监督局. GB 16740—1997 保健(功能)食品通用标准[S]. 北京:中国标准出版社,1997.

[14] Holder J G. 简明第八版伯杰细菌鉴定手册[M]. 刘复今,译. 济南:山东大学出版社,1988.

[15] Podschun R, Ullmann U. *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors [J]. Clinical Microbiology Reviews, 1998, 11(4):589-603.

[16] 蒙雨明,韦柳华,彭华. 阴沟肠杆菌的感染分布及耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2013,23(17):4284-4288.

[17] Morais V P, Daporta M T, BAO A F, et al. Enteric fever-like syndrome caused by *Raoultella ornithinolytica* (*Klebsiella ornithinolytica*) [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2009, 47(3):868-869.

[18] 伍海燕,宋燕,张萍,等. 一起由非脱羧鞘菌引起食物中毒的调查和实验室检验与分析[J]. 中国医药导报,2012,9(33):136-139.