

风险监测

熟肉及速冻米面食品中变形杆菌污染状况及耐药特征分析

郭玉梅¹, 秦丽云¹, 剧慧栋¹, 王菀¹, 刘琳²

(1. 石家庄市疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050011;

2. 白求恩国际和平医院, 河北 石家庄 050091)

摘要:目的 了解石家庄市市售熟肉制品和速冻米面食品中变形杆菌的污染状况, 进一步研究菌株产超广谱 β -内酰胺酶和对抗生素的耐药性。方法 采取石家庄市市售熟肉制品和速冻米面食品进行变形杆菌分离培养, 用BD Phoenix专家系统对所分离出的菌株进行鉴定和药敏试验。结果 377份样品中共有83份检出变形杆菌, 总污染率为22.0%。其中熟肉制品、生制速冻米面食品和熟制速冻米面食品变形杆菌污染率分别为20.8%(32/154)、28.7%(43/150)和11.0%(8/73); 变形杆菌计数范围为 $10^3 \sim 10^9$ cfu/g。药敏结果显示, 80株奇异变形杆菌除对四环素和多粘菌素存在天然耐药外, 对氨苄西林耐药率最高(36.3%, 26/80), 其次是头孢唑林(27.5%, 22/80); 3株普通变形杆菌除对四环素、多粘菌素、氨苄西林和头孢唑林存在天然耐药外, 且均对氯霉素耐药。所有菌株均对阿米卡星、美罗培南、哌拉西林敏感。所分离的奇异变形杆菌中, 有25.0%~33.3%产生超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs); 多重耐药(MDR)菌株占12.5%~33.3%。结论 石家庄市市售熟肉及速冻米面食品中变形杆菌污染较严重, 分离株产ESBLs和MDR水平较高, 有潜在引起食源性疾病的风险。

关键词: 变形杆菌; 熟肉; 速冻米面食品; 食源性致病菌; 耐药性; 超广谱 β -内酰胺酶; 多重耐药; 石家庄

中图分类号: R155.5; S852.61⁺2 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)01-0099-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.01.022

Characteristic analysis of prevalence and antimicrobial resistances of *Proteus* in cooked foods and quick-frozen food made of rice and flour

GUO Yu-mei, QIN Li-yun, JU Hui-dong, WANG Xian, LIU Lin

(Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Hebei Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: Objective To understand the contamination of *Proteus* in cooked foods and quick-frozen food made of rice and flour from Shijiazhuang markets, and to study the characteristics of extended-spectrum β -lactamase production and drug-resistance. **Methods** Food samples were collected, and the isolated strains were identified and testing for susceptibility with BD Phoenix expert system. **Results** Total prevalence of *Proteus* was 22.0% (83/377), and the contamination rates were 20.8% (32/154), 28.7% (43/150) and 11.0% (8/73) in cooked foods, raw and cooked quick-frozen food made of rice and flour. *Proteus* counting range was 10^3 - 10^9 cfu/g. Susceptibility results showed that 80 *Proteus mirabilis* were naturally resistant to tetracycline and polymyxin. In addition, the highest rate of resistance was to ampicillin (36.3%), followed by cefazolin (27.5%). 3 *Proteus vulgaris* were naturally resistant to tetracycline, polymyxin, ampicillin and cefazolin, and the highest rate of resistance was to chloramphenicol (100%). All strains were sensitive to amikacin, meropenem and piperacillin. In all *Proteus mirabilis* isolated strains, ESBL-producing strains accounted for 25.0% - 33.3%. The multi-drug resistant (MDR) strains accounted for 12.5%-33.3%. **Conclusion** The contamination of *Proteus* in cooked foods and quick-frozen food made of rice and flour was quite serious. Higher levels of producing ESBLs and MDR existed in food isolates which had a potential foodborne risk.

Key words: *Proteus*; cooked food; quick-frozen food made of rice and flour; foodborne pathogens; drug resistance; extended spectyum β -lactamase; multi-drug resistant; Shijiazhuang

变形杆菌 (*Proteus*) 是引起细菌性食物中毒的

常见致病菌^[1-2], 当人食入被变形杆菌严重污染的食品后, 会引起以中毒性肠炎和人体过敏性中毒为主要临床特点的食物中毒。为了解石家庄市市售食品中变形杆菌的污染情况, 进一步掌握食品中变形杆菌对抗生素的耐药水平, 本课题组开展了石家庄市市售熟肉制品和速冻米面食品变形杆菌污染

收稿日期: 2015-08-11

基金项目: 石家庄市科学技术研究与发展指导计划(121461733)

作者简介: 郭玉梅 女 主管检验技师 研究方向为微生物检验

E-mail: guokexin2199@163.com

情况调查和耐药性分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集

采集2013—2014年石家庄市超市、农贸市场等市售熟肉制品154份、生制速冻米面制品150份和熟制速冻米面制品73份。

1.1.2 主要仪器与试剂

BD Phoenix 100全自动细菌鉴定及药敏系统、NMIC/ID-4药敏鉴定板均购自美国BD;GN增菌液、SS琼脂、营养琼脂、三糖铁琼脂(TSI)购自北京陆桥技术公司。

1.2 方法

1.2.1 检测方法

变形杆菌检验方法参照WS/T 9—1996《变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则》^[3]和《预防医学微生物学及检验技术》^[4]进行菌株分离试验,采用定量法进行变形杆菌计数。

1.2.2 菌株鉴定及药敏试验

应用BD Phoenix 100全自动细菌鉴定仪对分离到的可疑变形杆菌进行鉴定和药敏试验。共包括20种药物:阿米卡星、庆大霉素、亚胺培南、美罗培南、头孢唑林、头孢他啶、头孢噻吩、头孢吡肟、氨曲南、氨苄青霉素、哌拉西林、阿莫西林/克拉维酸、氨

苄青/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦、多粘菌素、复方新诺明、氯霉素、环丙沙星、左氧氟沙星、四环素。大肠标准菌株(ATCC 25922)和肺炎克雷伯菌(ATCC 700603)为质控菌株。对BD Phoenix 100专家系统提示产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)菌株进行统计。

1.3 统计学分析

采用B×C列联表 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 石家庄市市售熟肉及速冻米面食品变形杆菌污染状况

2013—2014年对石家庄市超市、农贸市场销售的熟肉制品、生制速冻米面制品、熟制速冻米面制品共377份样品进行变形杆菌的检测,其中有83份检出变形杆菌,总检出率为22.0%。其中,奇异变形杆菌检出率为21.2%(80/377),普通变形杆菌检出率为0.8%(3/377);变形杆菌在熟肉制品、生制速冻米面食品和熟制速冻米面食品中的检出率差异有统计学意义($P < 0.05$);熟肉制品和生制速冻米面食品的检出率差异无统计学意义($P > 0.05$);变形杆菌在速冻米面食品中检出率为22.9%(51/223),见表1。生制速冻米面食品中变形杆菌计数范围高于熟肉制品和熟制速冻米面食品。

表1 不同类别食品中变形杆菌检出情况

Table 1 Detection of *Proteus* isolated from different foods

食品种类	样品数 /份	计数 /(cfu/g)	检出率/%		
			奇异变性杆菌	普通变性杆菌	小计
熟肉制品	154	$10^3 \sim 10^7$	19.5(30/154)	1.3(2/154)	20.8(32/154)
生制速冻米面食品	150	$10^4 \sim 10^9$	28.0(42/150)	0.7(1/150)	28.7(43/150)
熟制速冻米面食品	73	$10^3 \sim 10^6$	11.0(8/73)	0.0(0/73)	11.0(8/73)
合计	377	—	21.2(80/377)	0.8(3/377)	22.0(83/377)

注:—为无数据

2.2 不同食品中变形杆菌分离株抗生素耐药结果

所检出的83株变形杆菌中有80株奇异变形杆菌,3株普通变形杆菌。80株奇异变形杆菌除对四环素和多粘菌素存在天然耐药外,对氨苄青霉素耐药率最高(36.3%),其次是头孢唑林(27.5%);3类食品中,生制速冻米面食品分离的变形杆菌对庆大霉素、头孢唑林、哌拉西林、左氧氟沙星的耐药率高于熟肉制品和熟制速冻米面食品分离的奇异变形杆菌,差异有统计学意义($P < 0.05$)。奇异变形杆菌对头孢吡肟的耐药率(6.3%)高于头孢他啶(1.3%)和头孢噻吩(5.0%)。尤其是对亚胺培南出现了耐药株,耐药率为6.3%,所有菌株均对阿米卡星、美罗培南、哌拉西林/他唑巴坦敏感,见表2。3株普通变形杆菌除对四环素、多粘菌素、氨苄西林和头孢唑林存在天然耐

药外,且均对氯霉素耐药,见表3。

2.3 不同食品中变形杆菌产ESBLs菌株结果

奇异变形杆菌产ESBLs菌株在熟肉制品中最高为33.3%(10/30),其次为生制速冻米面食品28.6%(12/42)和熟制速冻米面食品25.0%(2/8)。3类食品分离的产ESBLs株奇异变形杆菌差异无统计学意义($P > 0.05$),见表4。3类食品中均未检出产ESBLs的普通变形杆菌。

2.4 不同食品中变形杆菌多重耐药(MDR)分离株结果

3类食品分离出的奇异变形杆菌中,以生制速冻米面食品多重耐药菌率最高为33.3%(14/42),其次为熟肉制品26.7%(8/30)和熟制速冻米面食品12.5%(1/8)。3类食品分离的奇异变形杆菌中

表2 80株奇异变形杆菌的耐药结果

Table 2 Resistance to eighty strains of *P. mirabilis* in this study

抗生素名称	药物浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	熟肉制品分离株 耐药率/% ($n=30$)	生制速冻米面食品分离 株耐药率/% ($n=42$)	熟制速冻米面食品分离 株耐药率/% ($n=8$)	总耐药率 /% ($n=80$)
阿米卡星	8~32	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)
庆大霉素	2~8	13.3(4)	33.3(14)	0.0(0)	22.5(18)
亚胺培南	1~8	13.3(4)	2.4(1)	0.0(0)	6.3(5)
美罗培南	1~8	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)
头孢唑林	4~16	16.7(5)	40.5(17)	0.0(0)	27.5(22)
头孢他啶	1~16	3.3(1)	0.0(0)	0.0(0)	1.3(1)
头孢噻吩	1~32	0.0(0)	9.5(4)	0.0(0)	5.0(4)
头孢吡肟	2~16	3.3(1)	9.5(4)	0.0(0)	6.3(5)
氨基曲南	2~16	6.7(2)	4.8(2)	12.5(1)	6.3(5)
氨苄青霉素	4~16	30.0(9)	45.2(19)	12.5(1)	36.3(29)
哌拉西林	4~64	6.7(2)	31.0(13)	0.0(0)	18.8(15)
阿莫西林/克拉维酸	4/2~16/8	3.3(1)	2.4(1)	0.0(0)	2.5(2)
氨苄青霉素/舒巴坦	4/2~16/8	10.0(3)	11.9(5)	0.0(0)	10.0(8)
哌拉西林/他唑巴坦	4/4~64/4	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)	0.0(0)
多粘菌素	0.5~2	100.0(30)	100.0(42)	100.0(8)	100.0(80)
复方新诺明	0.5/9.5~2/38	20.0(6)	33.3(14)	12.5(1)	26.3(21)
氯霉素	4~16	20.0(6)	35.7(15)	12.5(1)	27.5(22)
环丙沙星	0.5~2	13.3(4)	28.6(12)	12.5(1)	21.3(17)
左氧氟沙星	1~8	3.3(1)	11.9(5)	0.0(0)	7.5(6)
四环素	2~8	100.0(30)	100.0(42)	100.0(8)	100.0(80)

注:括号中数值为分离株数

表3 3株普通变形杆菌耐药谱

Table 3 Antimicrobial resistance patterns of three strains of *P. vulgaris* in this study

菌株号	耐药谱
13JX011	头孢唑林-氨苄青霉素-多粘菌素-氯霉素-四环素
13SJ416	头孢唑林-氨苄青霉素-多粘菌素-氯霉素-四环素
13GY018	头孢唑林-氨苄青霉素-氨苄青霉素-舒巴坦-多粘菌素-氯霉素-环丙沙星-四环素

表4 不同食品中变形杆菌产ESBLs菌株比较

Table 4 Characteristics of ESBL-producing *Proteus* isolates detected in different foods

食品种类	奇异变性杆菌		普通变性杆菌	
	产ESBLs 菌株/株	占比 /%	产ESBLs 菌株/株	占比 /%
熟肉制品	10	33.3(10/30)	0	0.0(0/2)
生制速冻米面食品	12	28.6(12/42)	0	0.0(0/1)
熟制速冻米面食品	2	25.0(2/8)	0	0.0(0/0)
合计	24	30.0(24/80)	0	0.0(0/3)

多耐药菌株的检出率差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表5。3株普通变形杆菌中,仅有1株来自熟肉制品的菌株且为多重耐药株。

表5 不同食品中变形杆菌多重耐药分离株比较

Table 5 Characteristics of multi-drug resistant *Proteus* isolates detected in different foods

食品种类	奇异变性杆菌		普通变性杆菌	
	MDR 菌株/株	占比 /%	MDR 菌株/株	占比 /%
熟肉制品	8	26.7(8/30)	1	50.0(1/2)
生制速冻米面食品	14	33.3(14/42)	0	0.0(0/1)
熟制速冻米面食品	1	12.5(1/8)	0	0.0(0/0)
合计	23	28.8(23/80)	1	33.3(1/3)

3 讨论

变形杆菌食物中毒在细菌性食物中毒中是较常见的一种,主要是大量活菌 ($>10^6$ cfu/g) 侵入肠道引起的感染型食物中毒,引起食物中毒的变形杆菌主要是普通变形杆菌和奇异变形杆菌,引起食物中毒的食品以动物性食品为主^[3]。而近年来,随着生活节奏的加快,速冻米面食品以其方便、快捷的优势进入千家万户的餐桌,由于速冻米面食品在运输、储存和销售过程中对温度条件的限制,其卫生状况也越来越被消费者关注。本文围绕熟肉制品和速冻米面食品中变形杆菌污染的情况及检出菌株的耐药性进行了调查和研究,以期了解此类食品引起潜在食物中毒的危险性。

本次调查结果显示熟肉制品及速冻米面食品中变形杆菌检出率较高,熟肉制品变形杆菌检出率为20.8%,与文献^[5]的报道(20%)相近,高于2008年马鞍山市熟食变形杆菌(12.5%)^[6],也高于2008年河北省食源性致病菌检测中熟肉制品中沙门菌(4.46%)、单核细胞增生李斯特菌(3.42%)的报道^[7]。速冻熟制米面食品中变形杆菌检出率为11.0%,高于2010年丽水市食源性致病菌检测中熟制速冻米面食品中单核细胞增生李斯特菌(6.25%),低于熟制速冻米面食品中金黄色葡萄球菌(50.0%)^[8],也高于2008年河北省食源性致病菌检测中米面食品中单核细胞增生李斯特菌(10.71%)、金黄色葡萄球菌(6.35%)^[7]。本次调

查显示,变形杆菌进行半定量计数后,3类食品中计数范围为 $10^3 \sim 10^9$ cfu/g,一般认为计数在 $\geq 10^6$ cfu/g时,可判定为占优势且为引起食物中毒的可疑食品。可见,变形杆菌引起食物中毒的潜在危险很大,应引起足够重视。熟肉制品被变形杆菌污染后,通常无感官性状的变化,食用前未加热或加热不彻底,食用后即可引起食物中毒;生制速冻米面食品和熟制速冻米面食品大多以制作、运输和储存过程中生熟交叉污染和熟后污染为主要污染渠道^[9-10]。

本研究食品分离80株奇异变形杆菌对阿米卡星、美罗培南、哌拉西林/他唑巴坦最敏感,耐药率为0.0%,可作为食物中毒严重感染时临床首选药。本研究中奇异变形杆菌对亚胺培南耐药率为6.3%高于国内学者对部分医院和食品分离株的报道,其他类抗生素的耐药率均低于以往的报道^[6,11-12]。

本研究结果显示食品中分离到的奇异变形杆菌,质粒介导的产ESBLs菌株的比率为30.0%,高于2006年的临床株(18.1%)^[13],与2010年对临床株的报道(37.20%)^[10]相近。可见,在食品分离株中,产ESBLs菌株的污染情况较严重。通过本研究发现,食品中奇异变形杆菌分离株对3类以上抗生素耐药的三重耐药菌所占分离菌株的12.5%~33.3%,目前鲜见类似相关的报道,可能与耐药质粒的水平转移有关。

以上研究表明,变形杆菌是引起食源性疾病的一种重要细菌,且在食品中呈现较高的污染水平。变形杆菌对常见抗生素有不同程度的耐药性,且在产ESBLs菌株和MDR菌株食品中维持较高水平。因此,一要加强食品中变形杆菌的检测,二要结合本地区菌株的耐药特性对其引起的食源性疾病进行相应的临床用药,以减轻公众的疾病负担,三

是建议消费者提高卫生安全意识,增强食源性疾病的安全防范能力。

参考文献

- [1] 刘伟,王菊光,谢利军,等.2009—2012年北京市海淀区细菌性食物中毒检测结果分析[J].预防医学情报杂志,2014,30(10):857-860.
- [2] 郭玉梅,秦丽云,徐保红,等.2003至2012年石家庄地区细菌性食物中毒病原菌特征研究[J].微生物学杂志,2013,33(5):73-77.
- [3] 中华人民共和国卫生部.WS/T 9—1996 变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则[S].北京:中国标准出版社,1996.
- [4] 王秀茹.预防医学微生物学及检验技术[M].北京:人民卫生出版社,2002.
- [5] 封会茹,董晓根,余红,等.直接入口食品中变形杆菌污染状况调查[J].现代预防医学,2010,37(7):1250-1251.
- [6] 汪永禄,陶勇,王利,等.马鞍山市2008年食品中变形杆菌检测及分子特征分析[J].公共卫生与预防医学,2010,21(5):23-27.
- [7] 侯凤玲,申志新,申玉学,等.河北省食源性致病菌监测网的建立及主动监测结果分析[J].中国卫生检验杂志,2008,18(2):225-228.
- [8] 秦丽云,吕国平,王芃,等.石家庄市2010年食源性致病菌主动监测结果分析[J].现代预防医学,2013,40(13):2415-2418.
- [9] 孙长颢,孙秀发,凌文化.营养与食品卫生学[M].北京:人民卫生出版社,2007:432-433.
- [10] 炊慧霞,张秀丽,崔莹,等.2012年河南省市售生制速冻面米制品食源性致病菌污染状况监测[J].中国食品卫生杂志,2014,26(5):500-503.
- [11] 年华,褚云卓,田素飞,等.奇异变形杆菌耐药性变迁10年连续监测分析[J].中国公共卫生,2012,28(8):1130-1132.
- [12] 陶胜来,吴桂珍,张振华.临床分离奇异变形杆菌耐药性及产ESBLs菌株的流行现状[J].中国微生态学杂志,2013,25(9):1082-1084.
- [13] 汪复.2006年中国CHINET细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2008,8(1):1-9.

欢迎投稿《中国食品卫生杂志》网址:www.zgspws.com