

2003 - 2004 年中国食品中单核细胞增生李斯特菌耐药监测

张亚兰¹ 冉 陆¹ 李迎惠² 吴蜀豫³ 付 萍¹ 姚景会¹ 叶长芸⁴ 阚 飙⁴ 王茂起¹

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021;

2. 深圳市疾病预防控制中心,广东 深圳 518020;3. 厦门疾病预防控制中心,福建 厦门 361004;

4. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所,北京 102206)

摘要:为了解我国食品中单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, *Lm*)药物敏感性的状况,为我国食源性单核细胞增生李斯特菌耐药性监测提供基线资料。对2003及2004年全国食品污染物监测网11省(市)分离的142株*Lm*,采用E-test法对13种抗生素进行药物敏感性试验。142株*Lm*的平均耐药率为14.1%,主要耐受四环素、强力霉素、红霉素和链霉素。其中,对四环素耐受最严重,耐药率达13.4%。7类食品中自生鸡肉中分离的菌株耐药率最高,达28.3%。11省市中,来自河南、北京和吉林的菌株耐药率居前三位,分别为37.5%、26.3%、25.0%。监测结果表明我国食品中的*Lm*存在耐药株,分离自不同食品、不同省份的*Lm*耐药性存在差异。

关键词:食品;李斯特菌;单核细胞增生;微生物敏感性试验;E试验

Surveillance of Drug Resistance of *Listeria monocytogenes* from Foods in China, 2003 - 2004

ZHANG Ya-lan, RAN Lu, LI Ying-hui, WU Shu-yu, FU Ping, YAO Jing-hui,

YE Chang-yun, KAN Biao, WANG Mao-qi

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: To learn the status of antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* (*Lm*) isolated from foods in China, and provide basic data to the surveillance of antibiotic resistance of *Lm* isolated from foods in China, the antibiotic susceptibility to 13 antibiotics of 142 strains of *Lm* in foods from 11 provinces and cities was studied by E-test. The average rate of antibiotic resistance of the 142 strains of *Lm* was 14.1%. The high rates of resistance were detected in tests with tetracycline, doxycycline, erythromycin and streptomycin. Resistance to tetracycline was most prevalent, accounting for 13.4%. Strains from raw chicken had the highest rate of antibiotic resistance (27.1%). Among the 11 provinces and cities, Henan, Beijing and Jilin were the top three regions in rate of resistant strains (37.5%, 26.3% and 25.0%, respectively). This study indicates that antibiotic-resistant strains of *Listeria monocytogenes* exist in foods of China and that adequate and efficient antibiotic treatment of listeriosis is crucial for the prevention and control of the development of antibiotic-resistant *Lm*.

Key word: Food; *Listeria monocytogenes*; Microbial Sensitivity Tests; E-test

单核细胞增生李斯特菌(*Listeria monocytogenes*, *Lm*)为革兰阳性短杆菌,可在新生儿、免疫力低下病人和老年人中引起严重的感染,如脑膜炎或败血症,而孕妇感染可导致流产^[1]。无论是爆发还是散发的李斯特菌感染,食源性传播是引起感染的主要途径^[2]。由于*Lm*感染的病死率可达30%,因此合理有效地使用抗生素控制和治疗*Lm*感染至关重要。通常*Lm*的耐药水平较低,但是近年来由于抗生素在临床和畜牧业中的滥用,该菌的耐药性日益严重,由于部分耐药基因可以在细菌间转移,所以李斯特

菌的耐药状况不容乐观。为了解我国食品中*Lm*药物敏感性的状况,本文采用E-test法,对从2003-2004年全国食品污染物监测网分离的142株*Lm*进行了13种抗生素药物敏感性试验。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 2003及2004年,全国食品污染物监测网自北京、上海、吉林、山东、河南、陕西、江苏、浙江、湖北、广东、广西11个省(市)的生鸡肉、生猪肉、生牛肉、生羊肉、熟肉制品、水产品、蔬菜等食品中分离的142株*Lm*。所有菌株均经API LISTERIA鉴定。

1.2 13种E-test抗生素条 氯霉素(Chloramphenicol, CHL, 0.016~256 μg/ml);氨苄西林(Ampicillin, AMP, 0.016~256 μg/ml);庆大霉素(Gentamicin,

基金项目:国家科技攻关计划(2001BA804A36,2003BA712A05-04);

北京市自然科学基金资助项目(7032042)

作者简介:张亚兰 女 硕士生

通讯作者:冉陆 女 研究员

GEN, 0.016 ~ 256 µg/ml); 阿米卡星 (Amikacin, AMK, 0.016 ~ 256 µg/ml); 环丙沙星 (Ciprofloxacin, CIP, 0.002 ~ 32 µg/ml); 强力霉素 (Doxycycline, DOX, 0.016 ~ 256 µg/ml); 磺胺嘧啶 (Sulfadiazine, SDI, 0.064 ~ 1 024 µg/ml); 四环素 (Tetracycline, TCY, 0.016 ~ 256 µg/ml); 复方新诺明 (Trimethoprim/Sulfamethoxazole, SXT, 0.002 ~ 32 µg/ml); 亚胺培南 (Imipenem, IPM, 0.016 ~ 256 µg/ml); 红霉素 (Erythromycin, ERY, 0.016 ~ 256 µg/ml); 链霉素 (Streptomycin, STR, 0.016 ~ 256 µg/ml); 万古霉素 (Vancomycin, VAN, 0.016 ~ 256 µg/ml) 均为瑞典 AB-Biodisk 公司产品。Mueller-Hinton 琼脂购自英国 OXOID 公司。

质控菌株大肠杆菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 ATCC29213。

1.3 药敏试验 采用 E-test 法。操作和结果判读按照 E-test 说明书及 NCCLS M100-S14 进行。将新鲜 *Lm* 培养物用生理盐水制备成 0.5 McFarland 菌悬液, 接种

于含 5% 羊血的 Mueller-Hinton 琼脂平板, 将抗生素条贴于上述平板表面, 低浓度端朝外, 高浓度端指向中心, 35 °C 培养 18 h 后读取结果。质控菌株为大肠杆菌 ATCC25922 及金黄色葡萄球菌 ATCC29213。试验结果用 WHONET 5.3 软件进行分析。

2 结果

2.1 *Lm* 药敏试验结果 142 株 *Lm* 13 种抗生素的药物敏感性试验结果见表 1。142 株 *Lm* 中有 20 株菌耐药, 平均耐药率为 14.1%。其中 15 株菌耐受 1 种抗生素, 均为四环素, 5 株菌耐受 2 种抗生素。在 13 种抗生素中, *Lm* 对四环素的耐受最严重, 耐药率达 13.4%, 其后依次为强力霉素 (2.8%)、红霉素 (0.7%)、链霉素 (0.7%)。受试菌对其他抗生素均敏感, 但有 5 株菌 (3.5%) 对环丙沙星中度敏感, 且该抗生素最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC) MIC₉₀ 达到 1.0 µg/ml, 等同于敏感界值。

表 1 142 株 *Lm* 对 13 种抗生素的敏感性

抗生素	判定界值 (µg/ml)			MIC (µg/ml)			敏感度 (%)		
	耐药	中敏	敏感	MIC 范围	MIC ₅₀	MIC ₉₀	耐药	中敏	敏感
氨苄西林 (AMP)	32	-	8	0.047 ~ 0.500	0.190	0.250	0	0	100.0
庆大霉素 (GEN)	16	8	4	0.008 ~ 0.500	0.064	0.125	0	0	100.0
阿米卡星 (AMK)	64	32	16	0.125 ~ 3.000	0.750	1.500	0	0	100.0
红霉素 (ERY)	8	4	1	0.094 ~ 12.000	0.250	0.380	0.7	0	99.3
复方新诺明 (SXT)	4	-	2	0.004 ~ 0.190	0.012	0.023	0	0	100.0
磺胺嘧啶 (SDI)	512	-	256	2 ~ 48	12	24	0	0	100.0
环丙沙星 (CIP)	4	2	1	0.25 ~ 1.50	0.75	1.00	0	3.5	96.5
万古霉素 (VAN)	32	8 ~ 16	4	1.00 ~ 2.00	1.50	1.50	0	0	100.0
四环素 (TCY)	16	8	4	0.125 ~ 128.000	0.25	32.00	13.4	0	86.6
强力霉素 (DOX)	16	8	4	0.032 ~ 12.000	0.094	8.000	2.8	8.5	88.7
链霉素 (STR)	16	-	4	0.50 ~ 512.00	2.00	3.00	0.7	0.7	98.6
氯霉素 (CHL)	32	16	8	2 ~ 6	3	4	0	0	100.0
亚胺培南 (IPM)	16	8	4	0.032 ~ 0.250	0.094	0.190	0	0	100.0

注:“-”没有判定的参比数据。

2.2 分离自不同食品的 *Lm* 的耐药状况 142 株 *Lm* 主要来自生鸡肉、生猪肉、生牛肉、生羊肉、熟肉制品、水产品、蔬菜等食品。不同食品分离的 *Lm* 耐药状况见表 2。在 6 种食品中, 分离自生鸡肉菌株的耐药率最高, 达 28.3%, 水产品 and 生羊肉中未发现耐药株。

表 2 不同食品中 *Lm* 的耐药状况

食品名称	菌株数	耐药
生鸡肉	53	15
熟肉制品	18	1
水产品	11	0
生羊肉	14	0
蔬菜	6	1
生牛肉	16	2
生猪肉	24	1

2.3 各省(市) *Lm* 的耐药状况 142 株 *Lm* 来自 11 省(市): 北京、上海、吉林、山东、河南、陕西、江苏、浙江、湖北、广东、广西。除上海、浙江和广东外, 其余各省(市) 检出的 *Lm* 均有不同程度的耐药 (见表 3)。

表 3 各省(市) *Lm* 的耐药状况

省(市)	菌株数	耐药
北京	19	5
吉林	4	1
山东	18	1
河南	8	3
陕西	25	5
上海	7	0
浙江	8	0
江苏	14	1
湖北	18	3
广东	16	0
广西	5	1

3 讨论

3.1 本次检测的 142 株 *Lm* 均来自我国食品污染物监测网。我国食品污染物监测网选择的监测点都是我国食品生产和加工的主要省市,网点实验室具有一定的检测能力和水平,且具有地域代表性,所以本次研究可基本反映我国食品中 *Lm* 的耐药状况。本次研究结果显示,11 个监测点中仅上海、浙江和广东未检出耐药株,说明 *Lm* 耐药已成为全国性问题。本次研究还发现除生羊肉外,其它各种生肉及肉制品中的 *Lm* 均有不同程度的耐药,而国内许多资料都显示肉类食品中 *Lm* 污染最严重^[3-5],这说明我国存在潜在的 *Lm* 食品安全问题。而要预防食源性李斯特菌病的发生,除了采取措施控制 *Lm* 污染外,还应重视 *Lm* 耐药性的监测。

3.2 从本研究结果看,*Lm* 虽然对一线药物尚未出现耐受,但在二线药物中,红霉素已出现了耐受,环丙沙星的敏感性也有降低趋势。

3.3 对于李斯特菌的药物敏感性试验,目前国际上没有统一的标准方法。李斯特菌营养要求高,生长缓慢,药敏试验不宜采用常规的纸片扩散法^[6],而琼脂稀释法虽然是药敏试验方法的金标准,但是该方法操作繁琐。本研究中使用的 E-test 法是一种定量药敏试验方法,结合了纸片扩散法和琼脂稀释法的优点。国外有学者曾对 E-test 法和琼脂稀释法测定 *Lm* 药物敏感性的结果进行比较,两者的一致性可达 86%~90%,由此认为 E-test 法也适于测定 *Lm* 的 MIC 值^[7]。

3.4 本次研究还获得了我国食源性 *Lm* 对 13 种抗生素的 MIC₅₀ 及 MIC₉₀。与国外相关报道^[8,9] 相比,各抗生素 MIC₅₀ 均低于国外报道,而 MIC₉₀ 中除四环素显著高于国外报道,且超过了耐受限值外,其余抗生素的 MIC₉₀ 均与国外报道值接近。说明我国

Lm 对四环素的敏感性较低,而对其余 12 种抗生素的敏感性与国外相似。

参考文献

- [1] Charpentier E, Courvalin P. Antibiotic resistance in *Listeria spp.* [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43 (9): 2103-2108.
- [2] Charpentier E, Gerbaud G, Jacquet C, et al. Incidence of antibiotic resistance in *Listeria* species [J]. *J Infect Dis*, 1995, 172(1): 277-281.
- [3] 陈伟伟,洪锦春,杨毓环,等.福建省 2000 年 - 2003 年食品中单核细胞增生李斯特菌的监测与分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2005, 17(2): 112-115.
- [4] 吴蜀豫,李迎惠,冉陆,等.中国 2001 年 11 省(市)食品中李斯特菌污染状况的主动监测[J]. *中华流行病学杂志*, 2003, 24(8): 657-660.
- [5] 付萍,冉陆,姚景会,等.中国七类食品中单核细胞增生性李斯特氏菌污染状况调查[J]. *卫生研究*, 1999, 28(2): 106-107.
- [6] 李迎慧,冉陆.李斯特菌的耐药性及耐药基因[J]. *国外医学卫生学分册*, 2004, 31(2): 120.
- [7] Werenfrid Heger, Manfred Dierich, Franz Allerberger. In vitro susceptibility of *Listeria monocytogenes*: comparison of the E-test with the agar dilution test [J]. *Chemotherapy*, 1997, 43, (5): 303-310.
- [8] Amar Safdar, Donald Armstrong. Antimicrobial activities against 84 *Listeria monocytogenes* isolates from patients with systemic listeriosis at a comprehensive cancer center (1955 - 1997) [J]. *J Clin Microbio*, 2003, 41(1): 483-485.
- [9] Franco Abuin C M, Quinto Fernandez E J, Fente Sampayo C, et al. Susceptibilities of *Listeria species* isolated from food to nine antimicrobial agents. *Antimicrob [J]. Agents Chemother*, 1994, 38(7): 1655-1657.

[收稿日期:2006-05-09]

中图分类号:R15;Q939.122 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2006)05-0398-03

[上接导读]

“实施 HACCP 的必要基础程序”、“食品添加剂暴露评估方法”、“部分国家食品可追溯性管理实施研究”和“预测食品微生物学概述及应用”4 篇文章所讲述的与我国现在的食品生产加工和食品安全工作有些距离。这使我想到了 20 世纪 80 年代的计算机。那时很多到过国外的人回来说我国对计算机的使用简直就是浪费,因为国人用很贵的计算机多是用来打字的,而国外用计算机买票、借书、付费等,那才是计算机的正经营生。那之后不到 20 年,我们国家的计算机也做到了。任何事情都得有个过程,我们所介绍的并不是空中的月亮,有一天我们会与发达国家在食品安全方面并驾齐驱的,先准备着。

“2003 - 2005 年中国酱油中氯丙醇监测结果与分析”、“2003 - 2004 年中国食品中单核细胞增生李斯特菌耐药监测”、“中国已获批准的保健食品现状分析”和“辣椒油中苏丹红 I 号检测能力验证研究”都是全国性的工作,介绍给大家。

[下转第 417 页]