

食品中单核细胞增生李斯特氏菌调查及毒力研究

王连秀 赵维勇 牛桓彩 张 才 王彦彬

(北京市昌平区卫生防疫站,北京 102200)

摘 要:为了解和掌握各类食品中单核细胞增生李斯特氏菌(Lm)污染状况及菌株的毒力情况,采集5类265件食品,菌株鉴定应用API细胞鉴定系统;毒力测定采用溶血实验、多聚酶链反应(PCR)以及小鼠致病力实验的方法进行。结果显示Lm检出率为4.90%;其中从生肉、熟肉、灌肠和速冻食品中的检出率分别为15.00%、2.48%、9.52%;从熟肉和速冻食品中还检出其它李斯特氏菌,检出率分别为4.96%、5.92%;乳制品和水产品中未检出Lm。13株Lm毒力测定显示,溶血实验与小鼠的致病力和PCR测定的溶血素基因无必然联系,而溶血素基因与内化素基因阳性结果相同。Lm对多种抗生素敏感,其中对氨苄青霉素、头孢唑啉和环丙沙星敏感率为100%。

关键词:李斯特氏菌,单核细菌增生 毒力

中图分类号:R15;Q939.122;TS207.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2001)02-0016-03

单核细胞增生李斯特氏菌是一种能引起人畜共患疾病的重要病原菌,由食物传播的李斯特氏菌在人群和动物中的暴发流行,被列为九十年代食品中四大病原菌之一。而它引起的李氏病主要表现为脑膜炎、脓毒血症和孕妇流产等,易感人群为新生儿、孕妇、老人及免疫低下的成年人,病死率高达27%~44%。该菌的特点为在冷冻食品中能长期生存并增殖,低温情况下毒力可能增加,Lm本身的特点及致病性在国际上引起广泛的关注。WHO和美国FDA于1986年设立了李斯特氏菌的研究中心。我国于1994年制定了李斯特氏菌检验方法(GB 4789.30-94),为了解和掌握各类食品中Lm污染状况,我们于1999年5~10月对本区5类食品进行了检测。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试样来源 生肉类(牛、羊、猪、鸡)来源于5个农贸市场;熟肉及灌肠制品和水产品来源于25个不同宾馆饭店;乳制品来源于5个乳品加工厂;速冻食品来源于8个商场和2个超市零售柜台,5~10月份共采样265件。

1.1.2 Lm标准菌株(54004)由北京市卫生防疫站提供。

1.1.3 PCR扩增引物购于中国人民解放军军事医学科学院。

1.1.4 API LISTERIA生化试条购于法国生物—梅

里埃公司。

1.1.5 小鼠致病力实验用小鼠由中国预防医学院流行病学研究所提供。

1.1.6 抗生素敏感试验用纸片、标准参比菌株(大肠埃希氏菌 ATCC25922、金黄色葡萄球菌 26112、铜绿色假单胞菌 ATCC27853)、M—H培养基均购于中国药品生物制品鉴定所。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离按照国家食品卫生检验标准 GB 4789.30-94进行。

1.2.2 菌株鉴定用分离的菌株接种在API LISTERIA生化试条上,培养后读取结果输入计算机用API细菌鉴定系统进行分析。

1.2.3 溶血实验和小鼠致病力实验按照 GB 4789.30-94进行;内化素基因和溶血素基因的检验参照PCR试剂盒操作说明书进行。

1.2.4 抗生素敏感试验采用改良Kirby-Bauer纸片法,判定标准为中国药品生物制品鉴定所按WHO标准修订的各种抗菌素敏感标准,标准参比菌株平行测定的抑菌圈落在参考限度范围内。

2 结果

2.1 各类食品中Lm检出情况 对5类265件试样进行分离鉴定,共检出Lm 13株,检出率为4.90%,其中生肉类检出率最高为15.00%,其次为速冻食品9.52%,熟肉及灌肠为2.48%,另外在熟肉及灌肠制品、速冻食品中还检出其它李斯特氏菌10株,

检出率分别为 4.96 %和 9.52 %,见表 1。

表 1 5 类食品中李斯特氏菌检出情况

	件数	单增李		其 它	
		斯特氏菌		李斯特氏菌	
		检出 件数	检出率 %	检出 件数	检出率 %
生 肉	40	6	15.00	0	0.00
熟肉及灌肠制品	121	3	2.48	6	4.96
乳 制 品	32	0	0.00	0	0.00
速冻食品	42	4	9.52	4	9.52
水 产 品	30	0	0.00	0	0.00
合 计	265	13	4.90	10	3.77

2.2 13 株 Lm 毒力实验结果 13 株 Lm 用 API 细菌生化鉴定为阳性,在 5 %血平板上 30 观察溶血现象,48 h 完全溶血的 7 株,72 h 完全溶血的 6 株;溶血素基因和内化素基因分别有 4 株阳性;小鼠致病力实验 10 株阳性,3 株阴性,见表 2。

表 2 13 株 Lm 毒力实验结果

	菌株号	溶血实验		PCR 基因		小鼠致病 力实验
		48 h	72 h	扩增实验		
				内化素	溶血素	
生猪肉	24	+	-	-	-	
生猪肉	26	+	-	-	-	+
生鸡肉	41	-	+	-	-	+
生鸡肉	46	-	+	-	-	+
生羊肉	88	++	-	-	-	+
生羊肉	89	-	+	-	-	+
猪肉大葱水饺	186	+	-	-	-	-
芹菜速冻水饺	191	-	+	-	-	-
酱猪蹄	194	-	+	+	+	+
酱肴肉	195	+	-	-	-	+
猪肉水饺	203	+	+	+	+	+
羊肉水饺	204	+	+	+	+	+
猪肚	食 84	-	+	+	+	+
标准菌株	54004	+	+	+	+	+

注: + 代表阳性反应; - 代表阴性反应。

2.3 13 株 Lm 对 14 种抗生素的敏感率 氨苄青霉素、头孢唑啉和环丙沙星 100 %;庆大霉素、妥布霉素、诺氟沙星、甲氟呱酸 92.3 %;丁胺卡那霉素、氧氟沙星 84.6 %;其它抗生素头孢呋新、头孢三嗪、复方新诺明、吡哌酸、依诺沙星都低于 50 %,标准菌株(54004)对后 5 种抗生素也不敏感,详见表 3。

3 讨论

此次调查试样来源较广泛,共 5 类 265 件试样,基本反映了我区部分食品中李斯特氏菌的污染状况,总检出率为 4.90 %,与国内其他省市的检出率

表 3 13 株 Lm 抗生素敏感试验结果

抗 生 素	敏感菌 株数	抗生素敏 感率 %	标准菌株(54004) 抑菌直径 mm	判断标准 抑菌圈直径 mm
氨苄青霉素	13	100.0	27	≥20
庆大霉素	12	92.3	24	≥15
诺氟沙星	12	92.3	19	≥17
氧氟沙星	11	84.6	18	≥17
依诺沙星	4	30.7	0	≥17
头孢三嗪	3	23.1	0	≥21
头孢唑啉	13	100.0	25	≥18
丁胺卡那霉素	11	84.6	22	≥17
吡哌酸	5	38.5	0	≥19
甲氟呱酸	12	92.3	13	≥17
复方新诺明	5	38.5	0	≥16
环丙沙星	13	100.0	18	≥17
头孢呋新	6	46.2	0	≥18
妥布霉素	12	92.3	23	≥15

相似,^[1,2]主要检出的食品以肉类为主。Lm 具有在低温下食品中生长繁殖的特点,本次调查的 42 件速冻食品中检出率较高(9.52 %)。但 Lm 对热的抵抗力较弱,80 3 min 即可全部杀死,本次调查采集的乳制品以消毒奶及加工后奶制品为主未检出 Lm,所以经巴氏消毒后的鲜奶是比较安全的。熟肉食品的阳性检出与污染有关。调查结果提示,食用冷藏、冷冻食品或未消毒的鲜奶时,最好经高温短时灭菌,以防 Lm 引起的食物中毒的发生。

Lm 毒力实验分析 API 法鉴定 Lm 多有报道,比国标法简单快速。^[1]溶血实验是 Lm 容易鉴定的表型,国外学者认为溶血是对致病李氏菌与非致病李氏菌进行区别的一个重要性状。此次 13 株 Lm 在血平板上呈完全溶血现象,其中有 6 株 72 h 出现溶血,表现出慢弱溶血现象,但对小鼠仍有致病力。证明了张顺和报道的 Lm 菌产生溶血素多少与其对小鼠的毒力无必然联系。^[3]另外 API 法鉴定和溶血试验阳性 Lm 对小鼠致病力试验的阳性率为 76.92 %,国内报道从食品中分离出来的 Lm 对小鼠致病力试验的阳性率为 81.25 %,并认为低体重小白鼠易感染 Lm 致死。

从 PCR 结果看出,有 4 株 Lm 内化素基因与溶血素基因同时扩增阳性,说明此菌株有更强的感染

力和致病力。有 6 株致病力阳性而内化素、溶血素基因扩充阴性,这可能与 Lm 毒力由多基因决定有关,^[4]致病力是由多个毒力基因作用的结果,而内化素基因与溶血素基因只不过是两个单基因,是否如此,这方面需进一步研究探讨。

本次检出的 Lm 对多种抗生素敏感,其中氨苄青霉素、头孢唑啉和环丙沙星、庆大霉素、诺氟沙星、甲氧苄啶在治疗 Lm 感染的病人时应作为首选抗生素。

参考文献:

- [1] 余淑冰,等.单核细胞增生李斯特菌污染调查及快速检验方法的比较[J].中国预防医学杂志,1998,32(4):240—241.
- [2] 张秀丽,等.河北省食品单核细胞增生李斯特菌污染调查[J].中国公共卫生杂志,1998,616—617.
- [3] 张顺和,等.食品中单增李氏菌的小鼠毒力实验[J].中国公共卫生学报,1993,12(4):224—227.
- [4] 姜永强(综述).产单核细胞李斯特菌毒力因子的分子遗传学研究进展[J].国外医学(微生物学分册),1996,19(3):23—25.

Study on *Listeria monocytogenes* in foods/Wang Lianxiu, Zhao Weiyong, Niu Huancai, et al. Chinese Journal of Food Hygiene. - 2001,13(2):16~18

Abstract: To find out pollution of foods by *Listeria monocytogenes* (Lm) and toxicity of Lm. 265 foods belonged to 5 kinds were collected. API bacterial identify system, haemolysis test, PCR and mouse pathogenicity test were used. There were Lm in 4.9% foods. Detectable rate was 15.00%, 2.48%, 9.52%, 4.9% in meats, sausages and quick-frozen foods respectively. There were no Lm in dairy products and aquatic products. Toxicity determine showed that hemolysin genes determined from hemolysis test, mouse pathogenicity test and PCR had no relationship. Hemolysin genes and internalin genes tests were positive. Lm was sensitive to antibiotic. The sensitive rates of Lm to penbritin and ancef were 100%.

Author's address: Wang Lianxiu, Health and Anti-epidemic Station of Changping District Beijing City 102200 PRC.

Key Words: *Listeria monocytogenes* Virulence

矿化水、温泉水、餐桌水和矿泉水评估

Wilkershaustn B 等人在 2000 年 6 月出版的《Eur J Med Res》上发表文章,该文章概括地调查和评价了在德国常用的含有矿物质的特殊饮用水。他们共调查了 257 个厂家和查阅了 226 份报告。尤其注重钠、钙、钾、镁、氯和氟在婴儿喂养、预防龋齿和由饮用水引起的对健康的影响问题。特殊饮用水的钠含量从 0.9 mg/L (Finkenbachquelle, 矿化水) ~ 12 830 mg/L (Bad Mergentheimer Albertquelle, 矿泉水)。钾的含量范围也很宽,在 1.4 mg/L (Kisslegger Sprudel, 矿化水) 和 611 mg/L (Obenauer Lowenssprudel, 矿化水) 之间。在调查中特别重视氟的含量,因为它具有防止龋齿和强化骨骼的作用,但超量时氟也具有一定的危害性。相当多的商用矿化水和餐桌水氟含量过低(0.007 mg/L, Kirkeler Waldquelle, 矿化水)或氟含量超过 4.1 mg/L (Hardenstein Brunnen, 矿化水)。后者对健康是不适宜的,特别是对儿童。鉴于商用矿化水和餐桌水矿物质和氟含量的范围较宽,文章建议应明确规定在瓶子的标签上标明微量元素的含量,并声明由其产生的对健康的相关影响。

(刘瑕编译)