

WHO 沙门氏菌及食源性致病菌耐药性监测培训班纪要

由 WHO 组织,卫生部食品卫生监督检验所承办的 WHO 沙门氏菌及食源性致病菌耐药性监测培训班于 2001 年 4 月 16 ~ 21 日在北京市举办。培训班的目的在于推广食源性沙门氏菌分离、鉴定、抗菌素敏感性测试的标准化检验方法及这些方法在食源性疾病和抗菌素耐药性监控中的应用。

培训班对学员进行了理论知识、实验技能、数据统计分析等多方面的培训。丹麦兽医研究所的 Dr. Henrik Wegener 和 Mr. Rene Hendriksen、美国 CDC 的 Jenny C. Lay 及 WHONET 软件的设计者 Dr. John Stelling、卫生部食品卫生监督检验所冉陆、国家药品生物制品检定所金少鸿、卫生部临床检验中心的胡继红负责教学。21 名学员分别来自 11 个省的公共卫生检验部门、农业部兽药监察所、国家药检所、预科院营卫所和卫生部食检所。

本次培训内容主要分为基础理论、计算机上机实习和实验室操作 3 个部分。其中基础理论主要包括食源性疾病的流行病学趋势及其监测和食源性致病菌的抗生素耐药性污染及其控制两大部分;计算机授课内容为 WHONET 软件的初级应用;实验室操作包括沙门氏菌的分离鉴定和血清分型、抗生素敏感性试验纸片扩散法、定量稀释法。

1 食源性疾病的流行病学趋势及其监测

1.1 食源性疾病的流行病学及对公共卫生的影响

近年来食源性疾病的发病率在各国仍居高不下,在由传染性疾病导致的死亡病例中,其中 22 % 是食物、水和土壤源性的。在发达国家和发展中国家,食源性疾病的主要病原体是肠炎沙门氏菌和空肠弯曲菌,主要致死病原体是单增李斯特菌,在一些国家里引起食源性疾病爆发的多为出血性大肠杆菌/大肠杆菌 O157:H7,此外较重要的致病因素尚有耐万古霉素的粪肠球菌和疯牛病/可传播性海绵状脑病病原体。在这些病原体中,沙门氏菌的传播主要是通过食物链通过环境—废水、污水传播给生产和消费人群。在目前的大型动物饲养系统中,沙门氏菌有从中心饲养区向外扩散的趋势。对控制动物食源性疾病而言,暴发监测仍起主要的作用,但由于实验室

间各自独立,缺乏标准的实验方法,国际间的合作不够,因而只能得到散在的信息和数据。针对这种情况,WHO 建立了全球沙门氏菌监测网,其目的就在于通过增强各国实验室对沙门氏菌和沙门氏菌病的监测能力,增加监测数据的有效性,改善报告系统,使监测数据能够在互联网上共享。

1.2 食源性疾病及食源性致病菌的监测 近年来各国政府及相关技术部门运用高新技术建立了多种食源性疾病和食源性致病菌监测系统和预警系统。如欧洲的 Enter-Net (沙门氏菌、产志贺氏毒素的 O157 国际监测网)、美国的 Foodnet (食源性疾病主动监测网)、PHLIS (公共卫生实验室信息系统)、NARMS (国家肠道细菌耐药性检测系统)、Pulsenet (细菌分子分型国家电子网络)和 WHO 的沙门氏菌全球监测网 (GSS)。

1.3 世界卫生组织的全球沙门氏菌监测网 (<http://www.who.ch/salmsurv>) 全球沙门氏菌监测网是由多个机构组成的全球性的网络,包括沙门氏菌监测,血清分型和抗生素耐药性检测。目前已有 104 个国家参与,共有 348 位个人成员,100 个国家级的机构成员。正在进行的项目包括电子讨论组、地区培训项目、外部质量保证体系、网站、国家数据库和参考实验室的服务。建立全球沙门氏菌监测网的目标是提高各个国家和地区实验室的沙门氏菌检测能力和血清分型、抗生素耐药性检测的能力。目前全球的沙门氏菌监测存在很多不足:需要国家之间的沟通;需要提高实验室的水平,包括人员的培训及建立质量保证体系;需要增加对监测数据的利用。

1.4 通过“从农田到餐桌”食品供应链中各学科的协作控制食源性疾病的发生 在“从农田到餐桌”的食品供应链中,涉及多个环节,因此要保证食品安全,必须进行各学科间的合作,由公共卫生部门和医疗单位发现危险因素后,动员相关的社会各方面力量以对其进行控制。在美国,为降低食源性疾病的发病率,美国农业部 (USDA)、食品药品监督管理局 (FDA)、环保局 (EPA)、疾病控制中心 (CDC) 建立了广泛的合作关系,通过监测、危险性分析、生物学研究、检验、对公众的教育、社会各方面的合作等多种

手段进行直接的干预,以提高食品的质量,确保公众的健康。

1.5 实验室在食源性疾病监测中的作用 在食源性疾病的监测中,实验室可承担以下任务:追踪流行趋势、确认爆发流行和进行血清分型、确定抗生素耐药性的发生及其趋势、监测沙门氏菌控制措施的效果及进行直接的公共卫生干预措施。美国的4个全国性的公共卫生工作网络,PHLIS、Foodnet、NARMS和Pulsenet,均与实验室工作密切相关。食源性疾病是一个全球性的问题,可靠的实验室数据是进行食源性疾病的监测的基础。而数据的交流和可比较性则是建立在完好的质控的基础上的。

1.6 质量保证、质量控制和生物安全 在沙门氏菌分离鉴定、血清分型实验和耐药实验中分别应针对不同的关键环节进行室内和室间的质量控制,以得到可靠的和相应的资料。在微生物实验中危险的生物因素包括致病微生物、生物毒素和生物过敏源,据其危险程度可划分为4级。因此必须对工作人员进行相应的安全教育,并要求其在实验室工作和运送感染性物品时必须遵守一定的工作规则。

2 食源性致病菌的耐药性监测 细菌的耐药机理主要有以下几种:产生灭活抗生素的酶、作用靶位改变、细菌外膜通透性改变、外排机制、产生菌膜以达到群体防护耐药的效果。在已知的1709种具有感染性的微生物中,近50%是动物源性的,而常见致病微生物的73%是动物源性的。同时由于在食物链中垂直作用和水平作用的结合,因而认为耐药性的发展和传播与人畜共患病有关,故应对食物链中非人用抗生素的使用情况加以重视和控制。现代的大型动物饲养系统非常有利于动物源性致病微生物的定居和传播,必须依赖持续使用抗生素以预防疾病和促进生长,其必然造成的后果是:通过食物从动物传播到人的微生物性感染越来越难以治愈,并且这一趋势将不断发展。因此要控制微生物耐药性的发展,必须贯彻减少农业抗生素使用的战略思想。食品卫生领域的专业人员应对食源性致病菌耐药性的公共卫生学意义有足够的认识。

WHO关于肉用动物耐药性污染的全球准则中推荐的主要条款为:应报告所有的用于肉用动物疾病控制的抗生素;禁止将人类疾病治疗用抗生素用做动物生长促进剂;建立肉用动物中抗生素使用的国家监控系统;在抗生素安全评价许可证发放之前,应考虑人用药物耐药性的潜在危害;进行耐药性监

控,以确定出现的健康问题,并及时采取纠正措施以保证公众健康;制定兽医工作指导原则,减少在肉用动物中过量使用或误用抗生素。目前美国和欧盟均已制定了相应的耐药性遏制政策,美国制定了关于发放新药许可证的FDA-CVM框架性文件,并要求对已批准的药物氟喹诺酮类、威里霉素等进行危险性评估;欧盟发布了对5种生长促进剂的禁令,并要求所有的无定论的抗生素均不得用作生长促进剂。在丹麦进行了关于减少在肉用动物中使用抗生素,对耐药性及食品生产率影响的干预试验,得出了如下结论:人类和肉用动物构成了部分交叉的耐药菌宿主,肉用动物中抗生素的使用可导致人类感染控制中的耐药性问题,禁止将抗生素作为生长促进剂给与肉用动物,只会给生产者带来很小的负面影响,但是禁止将抗生素作为生长促进剂使用和减少预防性和治疗性药物在肉用动物中的误用和过量使用,却可以降低耐药性细菌感染对公众健康的全面威胁。

授课老师指出,在沙门氏菌的控制方面,没有单一的干预措施是100%有效的,控制措施应该涉及食物链的各个阶段,以能够产生最大的公众健康效益为阶段性目标。一般的控制策略包括沙门氏菌的监测方法和常规性的沙门氏菌预防措施。在丹麦的家禽和蛋禽控制规划中,要求在家禽饲养过程中不得检出沙门氏菌。因此在饲养中对所有的家禽均进行沙门氏菌的血清学和细菌学检验,并进行多方面的控制。如重视垂直传播、繁殖场所的卫生条件 and 生产场所的清洁/消毒水平的影响,对可疑污染的蛋类,要求确定来源并进行消毒。并规定在生产中不得使用疫苗。通过屠宰前的种种干预措施,最终达到了控制牲畜、蛋禽及其终产品肉和蛋中的沙门氏菌的目的。因此,在肉用动物生产的各个阶段对沙门氏菌进行监测,是屠宰前沙门氏菌干预的一个重要手段,也是了解沙门氏菌在食物链中流行的一个重要方法。屠宰前实施可操作的沙门氏菌控制策略,是在优质饲养的动物中消除沙门氏菌重要的第一步。许多国家已经通过在禽类屠宰前进行沙门氏菌干预,降低了人类沙门氏菌病的发生率。

抗生素敏感试验可以用于细菌耐药性的流行病学研究,提示细菌的耐药趋势及进行新抗生素的研制。药敏试验必须严格按照标准化的方法操作,并做好室内和室间的质量控制。目前国际通用的方法一般有:纸片扩散法(Disk diffusion)、稀释法(Dilution Method)-MIC法(金标准)和E-test法。

3 WHONET 软件的初步应用 在传染病控制和耐药性监测方面,由医院等基层单位进行常规监测,其优点是能够全面和不断地对微生物数据库进行回顾,在经济投入方面也相对较便宜。在常规监测的基础上,有针对性地制定当地的政策和方针,进行干扰因素的评估、传染病控制、数据交流和提高数据质量。

WHONET 5 软件是以实验室微生物数据为基础的管理工具,可以强化当地数据的应用以改善医疗措施,加强数据交换方面的合作。目前世界上许多实验室已经将实验体系计算机化,故此可以通过数据共享,建立完整的实验室信息系统,以临床的检测报告为基础,进行传染病控制和耐药性监测。

4 实验室操作 本次培训班的沙门氏菌的分离、鉴定和血清分型方法均按照已通过 ISO 和 WHO 认证的微生物学检验方法进行,该方法与我国的国标方法在增菌培养基及选择性平板等方面有所不同。在我国即将加入世界贸易组织之际,引入国际上的通用方法,使我国的专业人员早日了解和掌握国际上通用的检验方法,可以为将来与国际接轨打下基础。

沙门氏菌的血清分型结果与实验中所使用的血清质量有密切的关系,在实验中发现国产血清的质量不稳定,难以正确分型。

本次教学实验的另一个项目是使用 API20E 和 API30E 快速生化反应板对沙门氏菌进行了生化鉴定,这是目前肠杆菌科的快速、简便、特异的鉴定方

法。

使用纸片扩散法和 E 实验检测了沙门氏菌对抗生素的敏感性,并进行了琼脂稀释法的示教,所有实验操作均按最新版的 NCCLS 手册进行,并通过标准菌株进行了实验室的质量控制。强调质控的意义在于,只有在良好的质控条件下的实验结果才是正确可信的,因而在今后的工作中质控对于抗生素的使用具有指导作用。

5 小结 通过培训学习,学员充分认识到了实验室在食源性疾病预防与控制中的重要性及微生物实验室质量控制和质量保证的重要性。初步掌握了食源性疾病的流行病学及其监测与控制,不同试样中沙门氏菌的分离、鉴定及血清分型;抗生素敏感性实验;以及用 WHONET 5 软件对日常微生物检验数据进行分析,对本实验室的工作进行评价。每个学员得到了法国巴斯德研究所出版的沙门氏菌血清分型表、2001 版的 NCCLS 手册等大量的宝贵材料,对了解和掌握国际标准化方法,今后开展相关工作都是极为重要的技术资料。培训班的老师和学员来自公共卫生、兽药、人用药和医院等不同的领域,不同专业的人员互相交流、互相学习,为今后在开展从餐桌到餐桌再到人类健康的监测和研究中进行合作,在我国建立监测食源性疾病和食源性细菌的抗生素耐药性的实验室网络奠定了良好的基础。

[李燕俊供稿]

中图分类号:R15;R378.2⁺2 文献标识码:D 文章编号:1004-8456(2001)05-0047-03

欧洲关于食品中化学物质的危险性评估的动向

国际生命科学学会欧洲分会正在协调一次欧洲委员会(EC)关于食品安全的集体行动:食品和膳食中化学物质的危险性评估(FOSIE)。旨在建立一个多学科的欧洲网络来评价危险性评估领域中的现有知识,并研究新的定性、定量评估方法的科学基础。

该项目由几个主题小组负责进行,要求各小组对本领域现状、方法的局限性和可靠性及改进的可能性进行评价,确定需要进行的研究。

2000 年 4 月召开的第一次会议启动了这项行动计划,对各小组进行了分工。所有小组都讨论了以下内容:

- (1) 低分子量化学物质(添加剂、污染物、天然毒素、加工助剂、包装材料迁移物)。
- (2) 微量营养素、食品补充剂和强化食品。
- (3) 宏量营养素、整个食品。
- (4) 在欧盟第五次框架项目中提及的新食品(不包括转基因食品)。

会上确定了一些所有小组都必须解决的特殊问题。包括:如何解决混合物问题;如何正确考虑急性膳食风险和慢性暴露等。

第二次会议计划在 2001 年 6 月举行,各小组将对任务完成情况进行报告和汇总。

该项目预计于 2002 年底完成。

(摘自《国际生命科学学会中国办事处通讯》第 13 期)