

## 我国婴幼儿食品致病细菌的耐药性监测<sup>\*</sup>

王树峰<sup>1</sup>, 雷质文<sup>2</sup>, 梁成珠<sup>2+</sup>, 赵丽青<sup>2</sup>, 贾俊涛<sup>2</sup>, 房保海<sup>2</sup>, 祝素珍<sup>2</sup>, 马维兴<sup>2</sup>

(1 中国海洋大学 青岛 266002;

2 山东出入境检验检疫局 青岛 266002)

**摘 要:** 本实验从95份婴幼儿食品中,检出共29株菌株,包括8株阴沟肠杆菌、5株非脱羧勒克氏菌、2株少动鞘氨醇单胞菌、3株屎肠球菌、2株鸪鸡肠球菌、3株阪崎杆菌、2株泛菌属、2株产酸克雷伯氏菌、1株植生拉乌尔菌及1株解鸟氨酸拉乌尔菌。并对这29株菌株进行了耐药性监测,发现其中只有泛菌属对18种抗生素全敏感,其它9类菌株均产生了不同程度的耐药,同一菌株对不同的药物的抗药性不同,不同菌株对同一药物的抗药性也不同,并且普遍出现多重耐药现象。耐药率12.5%~100%,其中耐药率最高的是氨苄西林(AM)。

**关键词:** 婴幼儿食品; 致病菌; 耐药性监测

中图分类号: TP274.5 文献标识码: A 国家标准学科分类代码: 330.47

## The drug resistant investigation of pathogenic bacteria for Chinese infant food

Wang Shufeng<sup>1</sup>, Lei Zhiwen<sup>2</sup>, Liang Chengzhu<sup>2+</sup>, Zhao Liqing<sup>2+</sup>,  
Jia Juntao<sup>2+</sup>, Fang Baohai<sup>2+</sup>, Zhu Suzhen<sup>2+</sup>, Ma Weixing<sup>2+</sup>

(1 Ocean University of China, Qingdao 266000, China;

2 Shandong Entry-Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China)

**Abstract:** In this investigation, 29 strains of bacteria were detected from 95 samples of infant food, including 8 strains of *E. cloacae*, 5 strains of *Leclercia adecarboxylata*, 2 strains of *Sphingomonas paucimobilis*, 3 strains of *Enterococcus faecium*, 2 strains of *Enterococcus gallinarum*, 3 strains of *E. sakazakii*, 2 strains of *Pantoea dispersa*, 2 strains of *Klebsiella oxytoca*, 1 strain of *Raoultella planticola*, 1 strain of *Raoultella ornithinolytica*, as well as 1 strain of ornithine Raoul. Resistance rate ranges from 12.5% to 100%, the highest rate of drug resistance is ampicillin (AM). The results indicate that only the strain of *Pantoea dispersa* is sensitive to 18 types of antibiotic, other strains have resistance to antibiotics in various degrees. Besides, the same strain had different resistance to antibiotics and different strains have different resistance to one antibiotic. More remarkably, the strains even have multiple resistances to antibiotics.

**Key words:** infant food; pathogenic bacteria; resistance monitoring

<sup>\*</sup> 项目基金: 国家质量监督检验检疫总局课题资助(2006IK138)

<sup>+</sup> 通讯作者

## 1 引 言

初生至三周岁的婴幼儿时期是人一生中身心健康发展的重要时期,因此婴幼儿的合理营养对奠定其一生的体格和智能极为重要。不同于一般食品,婴幼儿食品有其特殊的营养和卫生要求,必须符合相应的法规标准。

母乳是婴幼儿最理想的食物,在母乳不足或无母乳时,婴幼儿配方食品是母乳的最佳替代品,适于初生至 36 月龄的婴幼儿食用。其中,婴幼儿配方食品的营养成分能满足初生至 6 月龄婴儿生长发育的营养需要;较大婴儿和幼儿配方食品适于 6~36 月龄婴幼儿食用,但需适当添加辅食才能满足婴幼儿的营养需要。按配方的不同,婴幼儿食品产品主要有配方乳粉、配方豆粉及特殊配方食品几大类。配方乳粉通常以牛乳(或羊乳)为基础,参考健康母乳成分组成<sup>[1]</sup>或根据婴幼儿的生长发育特点配制而成。配方豆粉通常以大豆蛋白为主要原料配制而成,适用于对乳蛋白过敏和(或)对乳糖不耐受的婴幼儿。特殊配方食品则是专门针对早产儿、低体重儿或代谢紊乱的婴幼儿特殊营养需要而设计配方。婴幼儿辅助食品,又称婴幼儿补充食品或婴幼儿断奶期(转奶期)食品,根据原料、适用年龄段及包装形式的不同,大致可分为两大类:婴幼儿谷物食品和罐装婴幼儿食品。婴幼儿谷物食品是以谷类或豆类为基础加工成粉状、薄片状或饼干等食品,用水、牛乳或其他适宜的液体调稀或冲调成糊状喂食,该类食品适合于婴儿断乳期食用;罐装婴幼儿食品是以各种蔬菜、水果、鱼、禽、肉、肝等为原料加工制成的汁、泥、酱、糊状类即食食品<sup>[10]</sup>。

从“阜阳奶粉事件”到“三聚氰胺事件”,人们对国产奶粉的信任度越来越低,乳制品的安全受到了空前的关注,因此对大量的婴幼儿食品进行细菌和真菌的普查至关重要。细菌与抗生素反复接触后,对药物的敏感性逐渐减弱,甚至能抵抗抗生素而不被抑制和杀灭,细菌的这种特性称为耐药性。本研究对从婴幼儿食品中分离的细菌进行了耐药性分析,对致病菌引起食品安全

事件的预防和控制提供了有力的依据。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

2.1.1 培养基:YGC-D、TSB、NaCl-TSB、肠球菌肉汤、蜡样芽孢杆菌增菌液、沙氏培养基、李斯特前增菌肉汤、缓冲蛋白胨水(BPW)、EE 肉汤、蒸馏水、KF 培养基、金黄色葡萄球菌显色培养基、蜡样芽孢杆菌显色培养基、白色念珠菌显色培养基、FB<sub>2</sub> 增菌液、单增李斯特氏菌显色培养基、RVS、HE、DHL、阪歧杆菌显色培养基、胰酪胨大豆酵母浸膏琼脂(TSA-YE),均购于北京陆桥技术有限责任公司。

2.1.2 仪器:超净工作台、恒温培养箱、高压灭菌锅、浊度仪 API 20E 鉴定卡(法国-梅里埃公司)、梅里埃微生物分析仪(VITEK-2 compact)。

2.1.3 AC 纸片、EC 纸片,均购于 3M 公司。

2.1.4 AST-GN13、AST-GP61,均购于法国-梅里埃公司。

### 2.2 样品采集与细菌的分离鉴定

分别对 40 份乳粉食品(10 份婴儿辅助食品、骨泥、蔬菜泥,22 份婴儿米粉,18 份婴儿磨牙棒类、饼干,5 份奶粉伴侣)进行了菌落总数、霉菌、酵母菌、肠杆菌科、金黄色葡萄球菌、肠球菌、蜡样芽孢杆菌、白色念珠菌、阪崎杆菌、沙门氏菌和单核细胞增生李斯特氏菌的检测。

### 2.3 药敏试验

采用 VITEK COMPACT2 全自动细菌鉴定仪进行药敏试验,具体方法参照 VITEK COMPACT2 全自动细菌鉴定仪使用说明书。

## 3 结果与分析

### 3.1 样品中细菌种类检测结果(表 1)

分别对 40 份乳粉食品样品(10 份婴儿辅助食品、骨泥、蔬菜泥,22 份婴儿米粉,18 份婴儿磨牙棒类、饼干,5 份奶粉伴侣)进行了细菌检测,其中样品中的细菌检测结果如下:

表 1 样品中分离到的细菌种类

Table 1

| 样品编号   | 检测到的菌株                                                                      |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------|
| NF001  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )、非脱羧勒克氏菌、少动鞘氨醇单胞菌                       |
| NF002  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )                                        |
| NF003  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )、屎肠球菌( <i>Enterococcus faecium</i> )    |
| NF004  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )、屎肠球菌( <i>Enterococcus faecium</i> )    |
| NF005  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )、植生拉乌尔菌( <i>Raoultella planticola</i> ) |
| NF008  | 鹌鸡肠球菌( <i>Enterococcus gallinarum</i> )                                     |
| NF012  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )、非脱羧勒克氏菌                                |
| NF018  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )                                        |
| NF023  | 蜡样芽孢杆菌                                                                      |
| NF024  | 鹌鸡肠球菌( <i>Enterococcus gallinarum</i> )                                     |
| NF029  | 蜡样芽孢杆菌                                                                      |
| NF034  | 泛菌属                                                                         |
| MF005  | 阴沟肠杆菌( <i>Enterobacter cloacae</i> )、非脱羧勒克氏菌、阪崎杆菌、解鸟氨酸拉乌尔菌、泛菌属              |
| MF006  | 屎肠球菌                                                                        |
| MF012  | 非脱羧勒克氏菌                                                                     |
| MF013  | 非脱羧勒克氏菌                                                                     |
| MYB009 | 阪崎杆菌                                                                        |
| FZ005  | 阪崎杆菌                                                                        |
| FZ006  | 产酸克雷伯氏菌                                                                     |
| FZ008  | 产酸克雷伯氏菌                                                                     |

3.2 耐药性结果与分析

从 40 份乳粉食品、10 份婴儿辅助食品(骨泥、蔬菜泥)、22 份婴儿米粉、18 份婴儿磨牙棒类(饼干)、5 份奶粉伴侣共 95 份婴儿食品中,检出 8 株阴沟肠杆菌、5 株非脱羧勒克氏菌、2 株少动鞘氨醇单胞菌、3 株屎肠球菌、2 株鹌鸡肠球菌、3 株阪崎杆菌、2 株泛菌属、2 株产酸克雷伯氏菌、1 株植生拉乌尔菌及 1 株解鸟氨酸拉乌尔菌,共计 11 种(属)29 株菌株。用 VITEK 方法对这 29 株菌株作了耐药性检测,结果表明,婴儿食品中不同菌株的耐药情况不同。

对 8 株阴沟肠杆菌的耐药性分析表明,NF003、NF012、NF018 对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、头孢替坦(CTT)产生了耐药性,阴沟肠杆菌对这三种药物的耐药率均为 37.5%。NF003 对头孢她啶(CAZ)、头孢曲松(CRO)、头孢吡亏(FEP)、氨曲南(AZM)、甲氧

苄啉/磺胺甲恶唑(SXT)都产生了耐药性,阴沟肠杆菌对其耐药率都为 12.5%。NF003、NF012、NF018、MF005 对头孢唑啉(CZ)产生了耐药性,阴沟肠杆菌对其耐药率都为 50%。对其他药物未产生耐药性。其中 NF003(某批进口婴儿成长奶粉)对 9 种药物产生了耐药性,耐药率也最高,说明进口的婴儿奶粉质量也不容乐观,加强对进口奶粉的监测至关重要。

对 5 株非脱羧勒克氏菌的耐药性分析表明,NF001 对头孢唑啉(CZ)、氨曲南(AZM)、呋喃妥因(NIT)产生了耐药性,NF012 对所有药物都是敏感的,MF005 对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)产生可耐药性,MF012 对氨苄西林(AM)、头孢唑啉(CZ)产生了耐药性,MF013 对氨苄西林/舒巴坦(AMS)和氨曲南(AZM)产生了耐药性。其中菌株对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、头孢替坦(CTT)、氨曲南

(AZM)的耐药率达到了40%,对呋喃妥因(NIT)的耐药率为20%,其它药物耐药率为0。而在这5株菌株中,仅有NF012对所有药物是敏感的,说明非脱羧勒克氏菌在婴儿食品中存在不同程度的耐药率,应加以重视。

对2株少动鞘氨醇单胞菌进行的耐药性分析表明,NF001对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、头孢唑啉(CZ)、头孢她啶(CAZ)、头孢吡亏(FEP)、氨曲南(AZM)6种药物产生耐药,尽管只有2株菌株,但耐药率约为50%;而NF002对所有药物是敏感的。同样是进口奶粉,从NF001中检出的细菌已产生了很高的耐药性,如果婴幼儿食用了这种奶粉,将对免疫力低下的婴幼儿产生严重后果。

对3株屎肠球菌进行的耐药性分析表明,NF004对加替沙星(GAT)利奈唑胺(LZ)万古霉素(VA)呋喃妥因(NIT)4种药物产生耐药性,NF005仅对左氧氟沙星(LEV)产生耐药性。耐药率都约为33.3%。NF006对所有药物都敏感。

对2株鹌鸡肠球菌进行耐药性分析,NF008对加替沙星(GAT)、利奈唑胺(LZ)、万古霉素(VA)、呋喃妥因(NIT)4种药物产生了耐药性,NF024仅对Benzylpenicillin产生了耐药性。

对3株阪歧杆菌进行耐药性分析,MF005、MYB009分别对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、头孢唑啉(CZ)3种药物产生了耐药,FZ005对所有药物都敏感。阪歧肠杆菌(*E. sakakii*)是一种新发现并引起广泛关注的致病菌。1998年,比利时暴发阪歧肠杆菌引起的新生儿小肠结肠坏死事件,涉及12个新生儿,死亡10人。产生耐药性的阪歧杆菌更需引起关注。

其中在NF005、NF034中检出2株泛菌属,但都属于敏感菌株。在FZ006、FZ008中检出2株产酸克雷伯氏菌,其中FZ006对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、哌拉西林/他唑巴坦(PTZ)、头孢唑啉(CZ)、氨曲南(AZM)5种药物产生耐药性,FZ008对氨苄西林(AM)、头孢唑啉(CZ)产生了耐药性,产酸克雷伯氏菌对AM、CZ都产生了耐药性,耐药率达到100%。

在NF005中检出1株植生拉乌尔菌、在MF005中检出1株解鸟氨酸拉乌尔菌,分别对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、氨曲南

(AZM)产生了耐药性。

## 4 讨 论

尽管从95例婴幼儿乳产品中未检出沙门氏菌、单核细胞增生李斯特氏菌等常规致病菌,但是检出8株阴沟肠杆菌、5株非脱羧勒克氏菌、2株少动鞘氨醇单胞菌、3株屎肠球菌、2株鹌鸡肠球菌、3株阪歧杆菌、2株泛菌属、2株产酸克雷伯氏菌、1株植生拉乌尔菌、1株解鸟氨酸拉乌尔菌,共11种(属)29株不常见菌株,并已产生了不同程度的耐药性。

肠杆菌属是极其重要的医源性病原菌,除了可能导致因肠杆菌感染而住院甚至进入ICU的病人,儿科病人尤其容易发展为严重的肠杆菌病人。在对来自110 000名儿科ICU病人数据库的6 000多例医院内感染病例的调查中,各种肠杆菌属的感染病例占全部感染病例(包括血液感染、外科部位感染、呼吸道感染和尿道感染等)的6.2%~12.2%。在本试验中,从95例乳产品中检出了8株阴沟肠杆菌,很容易造成免疫力低下婴幼儿的腹泻和其他感染。试验结果还显示肠杆菌属对9种药物产生了耐药性,尤其对广谱头孢菌素的耐药性最多。基于1992~2003年NNIS报告的数据,表明2002年肠杆菌对广谱头孢菌素的耐药性下降了5%。这个数据说明了肠杆菌属引起感染的多样性与数量之大,具有一定的警告意义,尤其是检出的3株阪歧杆菌。国外研究发现,乳粉中阪歧肠杆菌引起感染的婴幼儿死亡率为80%,这个数据相当惊人。此外,阪歧肠杆菌对氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)、头孢唑啉(CZ)3种药物也产生了耐药,假使发生感染,对治疗也带来一定困难<sup>[3-6]</sup>。

肠球菌是人类和动物肠道中的正常栖居菌,通常分离于腹腔感染物中,往往会感染泌尿器官和生殖器官。如果单从我们以乳产品分离到的肠球菌,根据95例样品中分离到5株肠球菌的检验结果看,由肠球菌感染引起的疾病与乳产品没有直接关系。而很可能是自身机体和抵抗能力较低以及服用皮质类固醇、免疫抑制剂和抗生素有关。肠球菌是普遍存在的,但是肠球菌对多数抗生素都表现出不同程度耐药性,直接关系到



婴幼儿的健康,当发生疾病时,就给临床治疗带来一定困难,造成难以控制的感染<sup>[2]</sup>。

1885年建立的克雷伯氏菌属是肠杆菌科中最古老的属之一,其中拉乌尔菌属于克雷伯氏菌属。在一项研究中发现,克雷伯氏菌引起的风险因素包括低出生体重和男性性别,对新生儿病房疾病暴发尤其应该特别关注。Sarria及其同事在综述中发表了整理的克雷伯氏菌抗生素敏感性试验结果,数据表明大部分菌株对氨苄青霉素、超广谱头孢克肟和替卡西林具有耐药性。从食品中分离出的克雷伯氏菌引起婴幼儿的感染尚未见有报道。

非脱羧勒克氏菌已从多种食品、水和环境中分离到,但Tamura等研究的大多数菌株来自于人类临床样本,直到1993年,病例中分离的菌株仅有1株对头孢他啶、头孢噻肟、氨曲南耐药,其它全敏感<sup>[7]</sup>。但在本试验中分离的5株非脱羧勒克氏菌对头孢唑啉(CZ)、氨曲南(AZM)、呋喃妥因(NIT)、氨苄西林(AM)、氨苄西林/舒巴坦(AMS)产生耐药性,耐药谱广,耐药率高,婴幼儿食用这种感染广谱耐药的非脱羧勒克氏菌的食品,后果可想而知。

总之,本次调查所有样品均选自国内外正常销售的配方奶粉及婴幼儿食品,除了检出3株阪崎杆菌外,还检出了26株不常见的菌株,充分提示我们:婴儿食品市场不容忽视,存在严重潜在危险,值得注意的是进口乳制品的质量也不容乐观。因此,此次调查结果更具现实指导意义。国内外多项调查表明,婴幼儿配方奶粉及婴儿食品即使是符合现有的国家标准,也同样存在污染阪崎肠杆菌、肠杆菌科、肠球菌等问题,也同样具有因食用该类产品造成婴幼儿感染的可能性<sup>[8,9]</sup>。鉴于这些菌株对婴幼儿的特殊危害,建议有关部门将阪崎肠杆菌作为婴儿奶粉及婴儿食品的常规监测项目,应加强其他肠杆菌科的检测,尽快制定并颁布相应的国家标准检测方法及相关微生物限量标准,从而在最大限度上避免细菌对婴幼儿的危害,保障消费者的健康。

## 参考文献

[1] 孔保华. 乳品科学与技术[M]. 北京:科学出版社,2004.

KONG B H. Dairy science and technology[M]. Beijing: Science Press,2004.

[2] 郭楠,张朕. 商丘市市售营养强化食品、婴幼儿食品现状调查[J]. 河南预防医学杂志,2006,17(2):105-106.

GUO N, ZHANG ZH. Shangqiu market nutrition enriched food, babies and infants food present situation investigation[J]. Henan Journal of Preventive Medicine, 2006, 17(2): 105-106.

[3] 曾明,王斌,李凤祥等译. 肠杆菌科[M]. 第二版,北京:化学工业出版社,2008.

ZENG M, WANG B, LI F X, et al. Enterobacteriaceae[M]. Second edition, Beijing: Chemical Industry Press, 2008.

[4] 沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验[M]. 第三版,北京:高等教育出版社,1998:63-64.

SHEN P, FAN X, LI G W. Microbiology experiment[M]. Third edition, Beijing: Higher Education Press (HEP), 1998:63-64.

[5] 严杰,钱利生,余传霖. 临床医学分子细菌学[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:353-357.

YAN J, QIAN L SH, YU CH L. Clinical medicine member bacteriology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003:353-357.

[6] 俞树荣. 微生物学和微生物检验[M]. 第二版,北京:人民卫生出版社,1997:152-156.

YU SH R. Microbiology and microorganism examination[M]. Second edition, Beijing: People's Medical Publishing House, 1997:152-156.

[7] 裴晓燕,刘秀梅. 中国市售配方奶粉中阪崎肠杆菌和其他肠杆菌的污染状况[J]. 中国食品学报,2006,6(5):7-9.

PEI X Y, LIU X M. The pollution condition of *Enterobacter sakazakii* and Enterobacteriaceae of formula milk powder in China[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(5):7-9.

[8] 金庆中,刘平,孟媛等. 北京市售婴幼儿食品中呋喃污染状况及相关暴露量的现况研究[J]. 卫生研究,2008,37(4):471-473.

JING Q ZH, LIU P, MENG Y, et al. Contamination status and relatively exposure of furan on Beijing infant food[J]. Journal of Hygiene Research, 2008, 37(4):471-473.

[9] 陆峥,王丽丽,王迪等. 北京市售国产婴幼儿配方奶粉及婴幼儿食品带染阪崎肠杆菌调查[J]. 中

国卫生检验杂志,2008,18(1):140-141.

LU ZH, WANG L L, WANG D, et al. Survey of *Enterobacter sakazakii* from infant formula powder samples made in Beijing [J]. Chinese Journal of health Laboratory Technology, 2008, 18 (1): 140-141.

- [10] 杨检林,李忠海,任国谱. 婴幼儿食品研究进展 [J]. 安徽农业科学. 2008,36(8):3482-3484.

YANG J L, LI ZH H, REN G P, et al. Research Progress on Making Baby and Infant Food Like Breast Milk[J]. Journal Of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(8): 3482-3484.

- [11] 高宏伟,徐彪,朱来华,等. 应用 LAMP 检测方法检测肉制品中的单增李斯特菌[J]. 食品安全质量检测学报, 2010, 27(1): 12-17.

GAO H W, XU B, ZHU L H, et al. Detection of *Listeria monocytogenes* in meat by loop-mediated isothermal amplification [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2010, 27(1): 12-17.

## 作者简介



王树峰,在职硕士,主要从事进出口食品安全监管工作。

E-mail: wangsf1998@yahoo.com.cn

**Wang Shufeng**, on-the job master candidate, mainly engaged in the supervision of the import and export food safety.



梁成珠,研究员,博士生导师,主要从事动物分子病毒学与动物疫病诊断研究。

E-mail: liangcz@163.com

**Liang Chengzhu**, Professor; PhD supervisor; mainly engaged in the work of animal molecular virology and animal disease diagnosis.