

# 单核细胞增生李斯特氏菌食品分离株协同溶血现象研究

曾静<sup>1\*</sup>, 刘莉<sup>1</sup>, 周雪婷<sup>1,2</sup>, 周熙城<sup>1</sup>, 张琳<sup>3</sup>, 张西萌<sup>1</sup>, 魏海燕<sup>1</sup>, 马丹<sup>1</sup>, 倪元颖<sup>2</sup>

(1. 北京出入境检验检疫局, 北京 100026; 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100193;  
3. 河北出入境检验检疫局, 石家庄 050051)

**摘要:** **目的** 对从食品中分离的 88 株单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)进行协同溶血(christie, atkins and munch-petersen, cAMP)测试。**方法** 根据食品安全国家标准食品微生物学检验单核细胞增生李斯特氏菌检验 GB 4789.30-2010 的方法进行 cAMP 测试。**结果** 所测试的 88 株单核细胞增生李斯特氏菌分离株与 GB 4789.30 中描述的结果一致, 即在靠近金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的接种端溶血增强, 78 株靠近马红球菌一端呈阴性反应。同时, 发现 10 株分离株 cAMP 测试结果与传统的测试结果不同, 在靠近马红球菌(*Rhodococcus equi*)的接种端溶血增强。**结论** 对 88 株单核细胞增生李斯特氏菌分离株 cAMP 测试结果表明, 有大约 11% 的菌株在靠近马红球菌的接种端溶血增强。

**关键词:** 单核细胞增生李斯特氏菌; 协同溶血; 金黄色葡萄球菌; 马红球菌

## Christie, atkins and munch-petersen for *Listeria monocytogenes* isolated from food

ZENG Jing<sup>1\*</sup>, LIU Li<sup>1</sup>, ZHOU Xue-Ting<sup>1,2</sup>, ZHOU Xi-Cheng<sup>1</sup>, ZHANG Lin<sup>3</sup>, ZHANG Xi-Meng<sup>1</sup>, WEI Hai-Yan<sup>1</sup>, MA Dan<sup>1</sup>, NI Yuan-Ying<sup>2</sup>

(1. Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Beijing 100026, China; 2. College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. Hebei Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shijiazhuang 050051, China)

**ABSTRACT: Objective** To do the christie, atkins and munch-petersen (cAMP) testing for *Listeria monocytogenes* isolates from food. **Methods** The GB 4789.30-2010 method was used for cAMP test. **Results** Characterization on all 88 food isolates by cAMP test revealed that 88 strains showed characteristics enhancement of haemolytic zone with *Staphylococcus aureus*, meanwhile 78 strains showed negative reaction with *Rhodococcus equi* and another 10 strains showed characteristics enhancement of haemolytic zone with *R. equi*. **Conclusion** In this study, there are about 11% *L. monocytogenes* isolated from food showing characteristics enhancement of haemolytic zone with *R. equi*.

**KEY WORDS:** *Listeria monocytogenes*; christie, atkins and munch-petersen; *Staphylococcus aureus*; *Rhodococcus equi*

基金项目: 国家质检总局公益性行业科研专项(201110034)

**Fund:** Supported by the Special Public Welfare Research Project of AQSIQ (201110034)

\*通讯作者: 曾静, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测方法研究。E-mail: jingzeng\_cn@163.com

\*Corresponding author: ZENG Jing, Professor, Beijing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No. 6, Tianshuiyuan Street, Chaoyang District, Beijing 100026, China. E-mail: jingzeng\_cn@163.com

## 1 引言

在李斯特菌属(*Listeria*)有6个种,包括单核细胞增生李斯特氏菌(*L. monocytogenes*)、伊氏李斯特菌(亦称绵羊李斯特菌, *L. ivanovii*)、英诺克李斯特菌(亦称无害李斯特菌, *L. innocua*)、威氏李斯特菌(*L. welshimeii*)、斯氏李斯特菌(*L. seeligeri*)和格氏李斯特菌(*L. grayi*),只有单核细胞增生李斯特氏菌被认为是感染人和动物的病原菌,伊氏李斯特菌是动物病原菌,罕见感染人类<sup>[1-3]</sup>。单核细胞增生李斯特氏菌在自然界中分布广泛,存在于土壤、水、食物、动物饲料,该菌感染昆虫、鱼类和甲壳类动物。单核细胞增生李斯特氏菌可以耐受极端环境,如温度、pH和渗透压<sup>[4-7]</sup>。作为人畜共患病微生物,该菌易引起人类败血症、脑膜炎、肺炎和流产。敏感人群包括:60岁以上的老人、孕妇、新生儿和免疫缺陷症患者。由于该菌的致死率达到30%,1990年世界卫生组织将其认定为4个主要的食源性致病微生物之一<sup>[8]</sup>。协同溶血试验(christie, atkins and munch-petersen, cAMP)是鉴定单核细胞增生李斯特氏菌的重要步骤之一,通过协同溶血试验有效地区分单核细胞增生李斯特氏菌和英诺克李斯特菌<sup>[9-14]</sup>。在最新版的伯杰氏手册中对单核细胞增生李斯特氏菌的cAMP试验的描述是:在金黄色葡萄球菌一端呈阳性反应,在马红球菌一端呈阴性反应(SA+/RE-);伊氏李斯特菌表现为SA-/RE+;英诺克李斯特菌表现为SA-/RE-。李斯特菌cAMP试验中金黄色葡萄球菌一端的反应特点被广泛认可,但是李斯特氏菌与马红球菌一端的反应始终存在争议<sup>[15]</sup>。

本研究对88株分离自食品的单核细胞增生李斯特氏菌进行了cAMP测试,以确定分离自食品的单核细胞增生李斯特氏菌的cAMP试验是否均呈现典型的SA+/RE-结果,该项研究对食品检测实验室日常工作中对单核细胞增生李斯特氏菌的准确鉴定具有重要的意义,避免了非典型SA+/RE+反应的单核细胞增生李斯特氏菌的漏检,保障食品安全。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

#### 2.1.1 菌株来源

采用国家标准GB4789.30-2010从食品中分离到88株单增细胞增生李斯特菌,经法国生物梅里埃有

限公司的VITEK鉴定卡进行鉴定确认。参比菌株单核细胞增生李斯特氏菌ATCC15313、金黄色葡萄球菌ATCC25923、马红球菌ATCC6939、伊氏李斯特氏菌ATCC1911。

#### 2.1.2 培养基

含有0.6%酵母提取物的胰大豆琼脂(TSA-YE, 路桥生物有限公司)、哥伦比亚羊血琼脂(CSBA, 天津市金章科技发展有限公司)。

## 2.2 方法

参照GB4789.30-2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验》<sup>[16]</sup>中5.4.5描述的方法,对分离的88株单增细胞增生李斯特菌和参比菌株ATCC15313进行了cAMP测试。

## 3 结果与分析

88株单增细胞增生李斯特菌分离株和参比菌株ATCC15313进行了cAMP测试。在CSBA培养基上所有测试菌株均在金黄色葡萄球菌一端产生明显增强的溶血区域,78株分离株在马红球菌一端没有溶血现象,呈现阴性反应;编号为16、76、77、78、79、80、81、85、86、89的分离株在马红球菌一端呈弱溶血现象,伊氏李斯特氏菌ATCC1911在马红球菌一端呈强的、铲状溶血现象,结果见图1。同时还发现,随着培养时间的延长,与马红球菌一端有溶血现象的菌株溶血增强。因此,在进行cAMP试验时,如果培养24h没有发现马红球菌一端的溶血现象,应进一步培养到48h。与马红球菌一端呈阴性反应的单增细胞增生李斯特菌菌株,将培养时间延长到48h,依然呈现阴性结果。

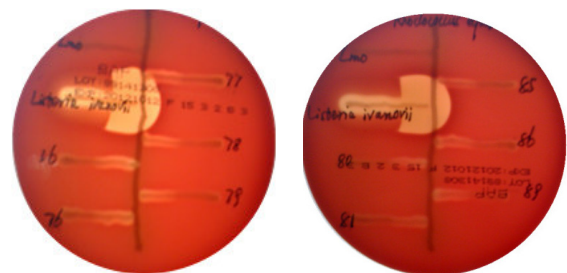


图1 单增细胞增生李斯特菌在马红球菌一端的溶血现象  
Fig. 1 The hemolysis phenomenon of *L. monocytogenes* on the end of *R. equi*.

注:LMO代表单增细胞增生李斯特菌菌株ATCC15313, *Listeria ivanovii*代表伊氏李斯特氏菌ATCC1911,16、76、77、78、79、80、81、85、86、89是分离株,垂直的接种线是马红球菌ATCC6939接种线。

## 4 讨 论

众所周知, 伊氏李斯特菌与马红球菌一端呈现阳性反应, 但是其溶血环的形状与单增细胞增生李斯特菌的不同, 伊氏李斯特菌的溶血环呈铲状或者半圆形, 单增细胞增生李斯特菌的溶血环呈圆形或者火箭形; 本研究单增细胞增生李斯特菌的溶血环火箭形, 该结果与其他研究者的结果相同<sup>[2,4,5,7]</sup>。在本研究所测试的 88 株单增细胞增生李斯特菌, 78 株呈现典型的 SA+/RE- 反应; 10 株呈现非典型的 SA+/RE+ 反应, 占总分离株的 11%。这一结果表明: 从食品中分离的单增细胞增生李斯特菌呈非典型的 SA+/RE+ 反应的比率较高, 在实际工作中, 特别是经验不足的检验员可能会造成误判, 带来的后果就是漏检, 会给企业和消费者带来一定的风险。因此, 该研究结果在减少单增细胞增生李斯特菌漏检率, 保障进出口食品安全、保障企业和消费者利益方面具有重要的意义。

### 参考文献

- [1] Awaisheh SS. Survey of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* sp. contamination in different common ready-to-eat food products in Jordan [J]. Pak J Biol Sci, 2009, 2(23): 1491-1497.
- [2] Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*-A food-borne pathogen [J]. Microbiol Rev, 1991, 55: 752.
- [3] Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A, et al. Human listeriosis caused by *Listeria Ivanovii* [J]. Emerg Infect Dis, 2010, 16(1): 136-138.
- [4] Krawczyk-Balska A1, Markiewicz Z. The intrinsic cephalosporin resistome of *Listeria monocytogenes* in the context of stress response, gene regulation, pathogenesis and therapeutics [J]. J Appl Microbiol, 2015, accepted.
- [5] Lomonaco S, Nucera D, Filipello V. The evolution and epidemiology of *Listeria monocytogenes* in Europe and the United States [J]. Infect Genet Evol, 2015, 35: 172-183.
- [6] Dhama K, Karthik K, Tiwari R. Listeriosis in animals, its public health significance (food-borne zoonosis) and advances in diagnosis and control: a comprehensive review [J]. Vet Quar, 2015, 15:1-25.
- [7] Walecka E, Molenda J, Bania J. The impact of environmental stress on *Listeria monocytogenes* virulence [J]. Pol J Vet Sci, 2009, 12(4): 575-579.
- [8] 梅玲玲, 程苏云. 2000-2004 年浙江省食品中单增李斯特菌污染状况调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16 (7): 784-785. Mei LL, Cheng SY. Surveillance of contamination by *L. monocytogenes* in food Guzhou from 2000-2004 [J]. Chin J Health Lab Technol, 2006, 16(7): 784-785.
- [9] Vázquez-Boland JA, Dominguez L, Fernández-Garayzabal J F, et al. *Listeria monocytogenes* CAMP reaction [J]. Clin Microbiol Rev, 1992, 5(3): 343.
- [10] McKellar RC. Use of the CAMP test for the identification of *Listeria monocytogenes* [J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60(12): 4219-4225
- [11] Mathakiya RA, Roy A, Nayak JB. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates by CAMP test [J]. Vet World, 2011, 4(7): 301-303.
- [12] Nakazawa M, H Nemoto. Synergistic hemolysis phenomenon of *Listeria monocytogenes* and *Corynebacterium equi* [J]. Nihon Juigaku Zasshi, 1980, 42(5): 603-607.
- [13] Vázquez-Boland JA, Dominguez L, Fernández-Garayzabal J F, et al. *Listeria monocytogenes* CAMP reaction [J]. Clin Microbiol Rev, 1992, 5(3): 343.
- [14] Mcllella RC. Novel methanism for the CAMP reaction between *Listeria monocytogenes* and *Corynebacterium equi* [J]. Int J Food Microbiol, 1993, 18(1): 77-82.
- [15] Fernandez-Garayzabal JF, Suarez G, Blanco MM, et al. Taxonomic Note: a Proposal for Reviewing the Interpretation of the CAMP Reaction between *Listeria monocytogenes* and *Rhodococcus equi* [J]. Int J Syst Bacteriol, 1996, 46: 832-834.
- [16] GB 4789.30-2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S]. GB 4789.30-2010 National food safety standard-Food microbiological analysis-Examination of *Listeria monocytogenes* [S].

(责任编辑: 杨翠娜)

### 作者简介



曾 静, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物检测方法的研究和建立。  
E-mail: jingzeng\_cn@163.com