

云南部分地区熟肉制品中食源性致病菌的污染情况及耐药性分析

张晶晶, 朱静静, 金富红, 杨海鑫, 黄艾祥*

(云南农业大学食品科学技术学院, 昆明 650201)

摘 要: **目的** 了解云南省部分地区熟肉制品中食源性致病菌的污染情况及致病菌的耐药情况。**方法** 在云南省部分地区采集熟肉制品共 115 件, 按照国标法对熟肉中的金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠埃希氏菌 O157: H7 和致泻大肠埃希氏菌进行分离鉴定, 利用微量肉汤稀释法对金黄色葡萄球菌进行 12 种抗生素的药敏试验。**结果** 云南省部分地州的熟肉制品中存在不同程度的污染, 金黄色葡萄球菌污染最严重(19/115, 16.5%), 沙门氏菌次之(1/115, 0.8%), 大肠埃希氏菌 O157:H7 和致泻大肠埃希氏菌未检出。19 株金黄色葡萄球菌药敏实验分析得出多重耐药率为 21.1%。所有菌株对达托霉素敏感, 对其余的抗生素都有不同程度的耐药, 主要以耐青霉素(100%)和红霉素(68.4%)为主, 沙门氏菌 SM-054 对 6 种抗生素耐药, 耐药情况较严重。**结论** 根据熟肉样品来源的不同, 检出率也存在差异, 夏季的农贸市场和饭馆中金黄色葡萄球菌的污染情况较严重, 应采取有效的监管措施, 同时加强管理抗生素的使用, 确保熟肉制品的质量和安全性。

关键词: 食品安全; 熟肉制品; 致病菌; 耐药性

Contamination and drug resistance analysis of food-borne pathogens in cooked meat products in parts of Yunnan province

ZHANG Jing-Jing, ZHU Jing-Jing, JIN Fu-Hong, YANG Hai-Xin, HUANG Ai-Xiang*

(College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

ABSTRACT: Objective To understand the contamination and drug resistance of foodborne pathogens in cooked meat products in parts of Yunnan province. **Methods** A total of 115 pieces of cooked meat products were collected in parts of Yunnan Province, and *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Diarrhoeal Escherichia coli* were isolated and identified in cooked meat according to the national standard method. The antimicrobial susceptibility test of 12 antibiotics against *Staphylococcus aureus* was carried out by microbroth dilution method. **Results** There are varying degrees of contamination in cooked meat products in some prefectures in Yunnan province, among which *Staphylococcus aureus* contamination was the most serious (19/115, 16.5%), followed by *Salmonella* (1/115, 0.8%), *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* were not detected. The drug susceptibility test analysis of 19 strains of *Staphylococcus aureus* showed that the multi-drug resistance rate was 21.1%. All strains were sensitive to daptomycin, and had varying degrees of resistance to other antibiotics, mainly resistant to penicillin (100%) and erythromycin (68.4%), and *Salmonella* SM-054 was resistant to 6 kinds of

基金项目: 云南省重点研发计划(2018BC006)

Fund: Supported by the Key Research and Development Plan of Yunnan Province(2018BC006)

*通讯作者: 黄艾祥, 教授, 主要研究方向为食物新资源开发与乳品科学。E-mail: aixianghuang@126.com

*Corresponding author: HUANG Ai-Xiang, Professor, College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China. E-mail: aixianghuang@126.com

antibiotics, the drug resistance was more serious. **Conclusion** Depending on the source of cooked meat samples, the detection rate is also different. In summer, the contamination of *Staphylococcus aureus* in farmer's markets and restaurants is serious. It should be taken the effective regulatory measures and strengthened management of the use of antibiotics to ensure the quality and safety of cooked meat products.

KEY WORDS: food safety; cooked meat products; pathogenic bacteria; drug resistance

1 引 言

如今熟肉制品消费量较为庞大, 覆盖范围较为广^[1], 医疗技术等方面的进步使人类的平均寿命变长, 但是食源性疾病的发病率并没有减少^[2]。在引发食源性疾病的物质中, 微生物所占比例极高, 约为 98.5%, 而肉制品中食源性致病菌的污染极为严重^[3,4]。熟肉制品中每一种病原体所引起的疾病和食品安全问题具有强暴发性、持续时间长的特点, 且一般聚集性发病, 不仅危害人们的身体健康, 也给公共卫生安全带来了巨大的负担^[5-7]。目前越来越多的致病菌对抗生素产生了耐药性^[8], 很多的致病菌在抗生素下仍然生长, 再加上抗生素的滥用, 致病菌耐药情况愈发严重, 导致很多致病菌感染疾病无药可治^[9,10]。因此对熟肉制品中食源性致病菌的污染情况及耐药性的监测分析具有重要意义。

根据世卫组织的统计, 全球每年约有 1/10 的人因为食用被污染的食物而生病。据美国有线电视新闻网报道, 2017 年沙门氏菌的感染数量与 2014~2016 年的平均水平相比增加了近一倍^[11]。据历年来《中国卫生统计年鉴》的数据, 在 2001~2017 年间我国食源性疾病年均发生 1225 起, 平均每年发病人数为 11651 人次, 且整体呈上升趋势^[12]。云南省的食源性疾病形势严峻, 2013 年 1 月至 2017 年 11 月云南省食源性疾病暴发事件共报告 2519 起, 发病 18681 例, 死亡 257 例, 病死率 1.38%, 主要致病菌是沙门氏菌 (38.89%)^[13]。

本研究通过对熟肉制品中食源性致病菌进行检验, 评价此地区熟肉制品被微生物污染情况, 分析分离致病菌的耐药情况, 进而加大对食品的监管力度, 保障食品的质量安全, 营造良好的食品市场生产环境, 为相关监管部门的工作提供依据。

2 材料与方法

2.1 主要设备及试剂

LDZM-60KCS 高压灭菌锅(上海申安医疗器械厂); HFsafe-1200LC 生物安全柜(上海力申科学仪器有限公司); DNP-9082BS-III 恒温培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司); JCM-5000 电子显微镜(日本尼康公司); MALDI-TOF 飞行时间质谱(德国 bruker 有限公司); TA-2XJP 麦氏浊度仪

(北京天安联合科技有限公司); Vizion 全自动药敏实验菌液接种仪(美国赛默飞世尔科技公司)。

Gel Red 染色液、血琼脂培养基、M-H 肉汤、细菌稀释液、无菌生理盐水、药敏检测板、药敏接种肉汤(北京陆桥技术股份有限公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 样品采集

实验样品采自于云南省楚雄州、玉溪市、普洱市、丽江市、迪庆州和昭通市, 总 115 件熟肉制品。115 件样品包含几种常见肉类样品, 肉类包括猪肉 50 件、牛肉 27 件、鸡肉 21 件、鸭肉 17 件; 并且采于 4 个不同类型的采样点, 包括农贸市场 49 件、各饭馆 48 件、各超市 13 件、各零售店 5 件。

2.2.2 分离鉴定

按照国家标准《食品卫生微生物学检验》方法对金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、大肠埃希氏菌 O157: H7、致泻性大肠埃希氏菌 4 类致病菌进行分离鉴定^[14-17]。

2.2.3 耐药性检测

根据临床与实验室标准化协会推荐的食源性致病菌耐药性检测方法以及抗生素选择标准, 共选用 11 类 12 种抗生素对 19 株金葡菌进行检测, 选用 10 类 14 种抗生素对 1 株沙门氏菌进行检测, 通过微量肉汤稀释法进行药敏实验。

采用冻干型细菌定量药敏测试盒定量测定金黄色葡萄球菌的最小抑菌浓度, 将待测定的金黄色葡萄球菌和质控菌株(ATCC 29213)接种到脑心浸液肉管中, 过夜培养。从过夜培养的 BHI 肉汤管中挑取菌液划线接种脑心浸液琼脂平板, 过夜培养。从过夜培养的 BHA 平板上挑取单个菌落, 再次划线接种 BHA 平板, 过夜培养。从 24 h 培养的平板上挑取 3~5 个纯新鲜菌落, 均匀悬浮于 1.5 mL 细菌稀释管中, 将该菌液用 VITEK 浊度计调整至 0.5 麦氏浊度。用微量移液器吸取已比浊好浓度的菌液 100 μ L 加入到 10 mL M-H 肉汤管中, 混匀, 缓慢倒入 V 型无菌槽内, 使用微量移液器一次加入到 96 孔药敏板中(每孔 50 μ L)。自动设置 A12~H12 不加任何抗生素的孔里 4 个(A12~D12)加菌, 作为生长对照; 4 个(E12~H12)不加菌, 作为空白对照。将接种好的 96 孔药敏板加盖, 置于培养箱中(36 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C 培养 24 h, 培养箱中放置水槽以保持湿度。同时满足相同的操作测定标准质控菌株^[18]。结果参照《革兰氏阳性需氧菌药敏检测板使用说明书》进行判读。

3 结果与分析

3.1 四种食源性致病菌的污染情况

从 115 份样品中分离出 19 株金黄色葡萄球菌和 1 株沙门氏菌,检出率分别为 16.5%和 0.8%,大肠埃希氏菌 O157:H7 和致泻大肠埃希氏菌未检出。此实验总体检出率相对较高,可能由于此实验样品采集量较少且未进行计数,且根据不同地区贩卖及食用的熟肉制品的不同,样品数量采集不均匀,具有偶然因素,检测结果与实际报道可能有所偏差。

3.1.1 不同采样场所样品中金黄色葡萄球菌的污染情况

总共分离的 115 个样品中检出的 19 株金黄色葡萄球菌均来自于农贸市场和饭馆,农贸市场的检出率略高于饭馆。农贸市场和饭馆的熟肉制品金黄色葡萄球菌污染较为严重,农贸市场和饭馆是熟肉制品的主要销售地点,零售店和超市销售的较少。农贸市场和饭馆是个体商贩,没有统一的生产规范,难以管理,包装简陋,并且相对而言销售价格会比超市和零售店低,选择较多,熟肉制品制作所需时间较长,通常需要预先制作好备用,人流密集、常温长时间存放易被污染。而超市和零售店的卫生条件相对于缺乏监管的农贸市场和饭馆而言更具有优越性,熟肉制品一般低温存放,且超市及零售店管理更加规范,加工制作人员管理较为严格,因此检出率较低。结果见表 1。

表 1 不同采样场所样品中金黄色葡萄球菌的分离情况
Table 1 Separation of *Staphylococcus aureus* from samples in different sampling locations

样品来源	样品数	阳性数	检出率/%
农贸市场	49	11	22.45
饭馆	48	8	16.67
超市	13	0	0
零售店	5	0	0

3.1.2 不同肉类样品中金黄色葡萄球菌的分离情况

总共分离的 115 个样品中检出的 19 株金黄色葡萄球菌,分别从四类肉制品中均有检出。在不同种类的熟肉制品中,暂未发现明显的金黄色葡萄球菌分布趋势和特征,这可能与样品的采集场所、贩卖方式等有关。结果见表 2。

表 2 不同肉类样品中金黄色葡萄球菌的分离情况
Table 2 Separation of *Staphylococcus aureus* from different meat samples

样品种类	样品数	阳性数	检出率/%
猪肉	50	9	18
牛肉	27	6	22.2
鸡肉	21	2	14.3
鸭肉	17	2	11.8

3.1.3 不同时间样品中金黄色葡萄球菌的分离情况

采集的 115 份样品中,6~9 月金黄色葡萄球菌的检出率明显高于其余几个月的检出率,可能是因为这个时间段气温较高,有利于肉制品中微生物生长繁殖而造成金黄色葡萄球菌的污染。结果见表 3。

表 3 不同时间样品中金黄色葡萄球菌的分离情况
Table 3 Separation of *Staphylococcus aureus* in samples at different times

月份	样品数	阳性数	检出率/%
4~5 月	20	2	10
6~7 月	40	10	25
8~9 月	35	6	17.1
10~11 月	20	1	5

3.2 金黄色葡萄球菌的耐药情况

19 株金黄色葡萄球菌均有一定的耐药性,多重耐药菌株有 5 株,多重耐药率为 21.1%,所有抗生素耐药率从高到低依次为:青霉素 100%、红霉素 68.4%、复方新诺明 21%、苯唑西林 10.5%、庆大霉素 10.5%、四环素 10.5%、环丙沙星 10.5%、克林霉素 10.5%、头孢西丁 5.3%、万古霉素 5.3%、氯霉素 5.3%、达托霉素 0%。其中检出的 1 株沙门氏菌对氨苄西林、四环素、萘啶酸、磺胺甲噁唑、氯霉素、氨苄西林/舒巴 6 种抗生素产生耐药,此株沙门氏菌耐药也相对严重。结果见表 4、表 5。

根据 19 株金黄色葡萄球菌的耐药谱进行分析得出结果与部分相关研究结果^[19]类似,如今在畜禽养殖中,很多抗生素被用预防治疗及促进生长而大量使用,从而导致细菌对很多抗生素产生了耐药性^[20,21],因此应加强管理金黄色葡萄球菌耐药性的检测,把检测金黄色葡萄球菌的耐药趋势作为常规工作,依照监测结果优化选择抗生素进行治疗,有利于临床用药,尤其应严格控制检出率极高的青霉素和红霉素的使用。

5 结 论

云南省部分地区熟肉制品中仍存在食源性致病菌的污染,尤其是金黄色葡萄球菌,且部分金黄色葡萄球菌及沙门氏菌表现出较强的耐药性。加强熟肉制品质量监管势在必行,应规范熟食加工制作卫生行为,做好防尘设施,减少污染环节,实施熟食低温保存、低温销售制度,控制细菌繁殖。对动物的预防治疗和促进生长等所需的抗生素应加强管理,优化选择抗生素进行治疗,降低菌株的耐药性。

表 4 金黄色葡萄球菌药敏结果统计表
Table 4 Statistical table of results of *Staphylococcus aureus* drug-sensitivity plates

菌株编号	抗生素种类											
	PEN	OXA	ERY	CLI	CIP	DAP	SXT	VAN	TET	CHL	GEN	CFX
JP-006	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-007	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-008	R	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S
JP-009	R	S	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S
JP-010	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-018	R	S	R	S	I	S	S	S	S	I	S	S
JP-019	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-022	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-029	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S
JP-058	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-059	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-063	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R
JP-064	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
JP-077	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S
JP-088	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
JP-104	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	S
JP-112	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
JP-069	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S
JP-068	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S

注: “R”表示耐药, “I”表示中介, “S”表示敏感。

表 5 沙门氏菌 SM-054 药敏结果统计表
Table 5 Statistics of drug sensitivity results of *Salmonella* SM-054

	抗生素种类													
	AMP	CFX	CFZ	CTX	CAZ	GEN	AZM	TET	CIP	NAL	SXT	CHL	AMS	IPM
MIC 值	≥32	≤4	≤4	≤1	≤4	≤4	≤16	≥16	≤1	≥32	≥76	≥32	≥32/16	≤1
结果	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S

注: “R”表示耐药, “I”表示中介, “S”表示敏感。

参考文献

[1] 房红芸, 于冬梅, 郭齐雅, 等. 中国成人即食熟制猪肉消费现状[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(2): 56–58.
Fang HY, Yu DM, Guo QY, *et al.* Status of consumption of ready-to-eat cooked pork in China [J]. Food Nutr China, 2018, 24(2): 56–58.

[2] 袁玉荣. 秦皇岛市食源性致病菌的调查分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2012.
Yuan YR. Investigation and analysis of foodborne pathogenic bacteria in Qinhuangdao city [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2012.

[3] Bunic S. Integrated food safety and veterinary public health [M]. Fruugo: CABI Publishing Series, 2006.

[4] Consuelo CP, Angel M, Rosa P. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples [J]. TrAC Trends Anal Chem, 2010, 29(9): 1038–1049.

[5] 马照中, 王志刚. 郑州市部分病媒微生物基本状况及控制对策[J]. 深圳中西医结合杂志, 2018, 28(10): 22–23.
Ma ZZ, Wang ZG. The basic status and control strategies of some vector microorganisms in Zhengzhou city [J]. Shenzhen J Integrat Tradit Chin Western Med, 2018, 28(10): 22–23.

- [6] 陈艳, 朱彩明, 周银柱. 长沙市食源性疾病主动监测系统监测结果分析[J]. 实用预防医学, 2015, 22(9): 1115-1117.
Chen Y, Zhu CM, Zhou YZ. Analysis of monitoring results of active foodborne disease surveillance system in Changsha city [J]. Pract Prev Med, 2015, 22(9): 1115-1117.
- [7] 白婧, 刘伟, 纪黎黎, 等. 北京市海淀区食源性疾病主动监测系统监测结果分析[J]. 现代预防医学, 2015, 42(19): 3498-3500.
Bai J, Liu W, Ji LL, et al. Analysis of the results of active surveillance of foodborne diseases in Haidian district, Beijing [J]. Mod Prev Med, 2015, 42(19): 3498-3500.
- [8] 沈定霞, 罗燕萍, 徐雅萍, 等. 葡萄球菌对红霉素和克林霉素的诱导耐药性研究[J]. 中华检验医学杂志, 2005, (4): 400-402.
Shen DX, Luo YP, Xu YP, et al. Study on the induced resistance of staphylococcus to erythromycin and clindamycin [J]. Chin J Lab Med, 2005, (4): 400-402.
- [9] 王冰, 刘明春, 吴聪明, 等. 呼和浩特地区奶牛乳房炎金黄色葡萄球菌的耐药性调查[J]. 中国兽医杂志, 2007, (3): 30-32.
Wang B, Liu MC, Wu CM, et al. Surveillance of *Staphylococcus aureus* in dairy cow mastitis in Hohhot [J]. Chin J Vet Med, 2007, (3): 30-32.
- [10] 万蝶, 吴长德. 虎源金黄色葡萄球菌耐药性的检测及耐 β -内酰胺类药机制的研究[J]. 新农业, 2015, (15): 4-8.
Wan D, Wu CD. Drug resistance detection of *Staphylococcus aureus* from tiger source and study on resistance mechanism of β -lactam drugs [J]. New Agric, 2015, (15): 4-8.
- [11] 徐文婷. 食源性疾病不可小视[N]. 人民网生命时报, 2018-9-19.
Xu WT. Foodborne diseases should not be underestimated [N]. People's Daily Life Times, 2018-9-19.
- [12] 江南大学食品安全风险治理研究院. 食源性疾病监测报告工作规范(试行)[R]. 2019.
Research institute of food safety risk management of Jiangnan university. Food-borne disease surveillance report working specification (trial) [R]. 2019.
- [13] 赵江, 闵向东, 张强, 等. 云南省 2013 年至 2017 年食源性疾病暴发事件监测分析[J]. 昆明医科大学学报, 2018, 39(6): 118-123.
Zhao J, Min XD, Zhang Q, et al. Surveillance and analysis of foodborne disease outbreaks in Yunnan province from 2013 to 2017 [J]. J Kunming Med Univ, 2018, 39(6): 118-123.
- [14] GB 4789. 10—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S].
GB 4789. 10—2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-*Staphylococcus aureus* inspection [S].
- [15] GB 4789. 4—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验[S].
GB 4789. 4—2016 National food safety standard-Food microbiology inspection *Salmonella* inspection [S].
- [16] GB 4789. 6—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验[S].
GB 4789. 6—2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-*Escherichia coli* inspection [S].
- [17] GB 4789. 36—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠埃希氏菌 O157: H7/NM 检验[S].
GB 4789. 36—2016 National food safety standard-Food microbiology inspection-*Escherichia coli* O157: H7/NM inspection [S].
- [18] 王迪, 张晓媛, 陈倩, 等. 北京市食源性金黄色葡萄球菌耐药及分子分型研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(5): 428-434.
Wang D, Zhang XY, Chen Q, et al. Drug resistance and molecular typing of food-borne *Staphylococcus aureus* in Beijing [J]. Chin J Food Hyg, 2014, 26(5): 428-434.
- [19] 崔霞, 张晓媛, 王迪, 等. 2015~2018 年北京市食源性金黄色葡萄球菌耐药性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1821-1825.
Cui X, Zhang XY, Wang D, et al. Analysis on the drug resistance of food-borne *Staphylococcus aureus* in Beijing from 2015 to 2018 [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(7): 1821-1825.
- [20] 炊慧霞, 张秀丽, 廖兴广, 等. 2007 年河南省食源性致病菌的监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(1): 173-175, 192.
Cui HX, Zhang XL, Liao XG, et al. Analysis of the surveillance results of food-borne pathogens in Henan province in 2007 [J]. Chin J Health Inspect, 2009, 19(1): 173-175, 192.
- [21] 周晓红, 孙明华, 徐佩华. 酒店酱卤类熟肉制品中金黄色葡萄球菌检测结果及耐药性分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1440-1442.
Zhou XH, Sun MH, Xu PH. Detection results and drug resistance analysis of *Staphylococcus aureus* in cooked meat products of hotel sauces [J]. Chin J Health Inspect, 2011, 21(6): 1440-1442.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



张晶晶, 硕士研究生, 主要研究方向为肉制品微生物安全。
E-mail: 278372301@qq.com



黄艾祥, 教授, 主要研究方向为食物新资源开发与乳品科学。
E-mail: aixianghuang@126.com