

• 调查报告 •

上海市普陀区食品中单核细胞增生李斯特氏菌的监测与分析*

黄晶晶, 顾文超, 汪 怡, 张 磊, 吴婷婷, 唐海丰[△]

(上海市普陀区疾病预防控制中心微生物检验科, 上海 200333)

[摘要] 目的 了解上海市普陀区食品中单核细胞增生李斯特氏菌(LM)的污染状况、分子分型特征及耐药性。**方法** 选取 2021—2023 年从上海市普陀区各采购渠道所采集的 8 类食品, 共计 504 件, 对其 LM 阳性率进行检测, 对分离鉴定所得的阳性菌株进行分子分型, 并进行药物敏感性试验。**结果** 504 件样品中, 共有 22 件样品检出 LM, 总检出率为 4.4%, 其中调理肉制品检出率最高(9.1%)。22 株 LM 获得 18 个带型, 带型相似度为 42.11%~100.00%。22 株 LM 对头孢西丁均耐药, 部分菌株对克林霉素、苯唑西林、氨苄西林、红霉素、四环素耐药, 耐药率分别为 27.3%、18.2%、4.5%、4.5%、4.5%, 多重耐药率为 36.4%。**结论** 上海市普陀区的肉与肉制品受 LM 污染最为严重, 其中菌株 PFGE 带型呈多样性, 且多重耐药比例较高。

[关键词] 食品; 单核细胞增生李斯特氏菌; 病原菌; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.21.022 中图法分类号:R155.3+1

文章编号:1009-5519(2024)21-3715-04 文献标识码:A

Monitoring and analysis of Listeria monocytogenes in food in Putuo District, Shanghai*HUANG Jingjing, GU Wenchao, WANG Yi, ZHANG Lei, WU Tingting, TANG Haifeng[△]

(Department of Microbial Inspection, Shanghai Putuo District Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200333, China)

[Abstract] **Objective** To understand the contamination status, molecular typing characteristics, and drug resistance of Listeria monocytogenes(LM) in food in Putuo District, Shanghai. **Methods** A total of 504 samples of 8 types of food collected from various procurement channels in Putuo District, Shanghai from 2021 to 2023 were selected, and their LM positivity rate was tested. Molecular typing will be performed on the positive strains isolated and identified, and drug sensitivity tests will be conducted. **Results** Out of 504 samples, LM was detected in 22 samples, with a total detection rate of 4.4%, of which the detection rate of conditioned meat products was the highest(9.1%). 22 LM strains obtained 18 banding patterns, with a band similarity of 42.11%—100.00%. 22 strains of LM were resistant to cefoxitin, and some strains were resistant to clindamycin, penicillin, ampicillin, erythromycin, tetracycline, with resistance rates of 27.3%, 18.2%, 4.5%, 4.5%, and 4.5%, respectively. The multidrug resistance rate was 36.4%. **Conclusion** Meat and meat products in Putuo District, Shanghai are most severely contaminated by LM, with a diverse range of PFGE strains and a high proportion of multi drug resistance.

[Key words] Food; Listeria monocytogenes; Pathogenic bacteria; Drug resistance

单核细胞增生李斯特氏菌(LM)是一种在自然环境中广泛存在的革兰阳性杆菌, 是一种重要的食源性病原菌。LM 可来源于多种食品, 软奶酪、香肠、未经巴氏消毒的牛奶和乳制品、肉类、熏鱼、蔬菜、沙拉和即食产品都可成为其感染来源^[1]。LM 可通过食物污染引起人类感染, 尤其是对于老年人、孕妇、新生儿和免疫系统较为脆弱的人群, 其可引起肠胃炎、脑膜炎、

败血症、胎儿流产、单细胞增多等^[2]。LM 可形成菌膜, 从而使其对消毒剂具有良好的抗性, 并且能够在极端条件下适应和生存^[3], 是威胁食品安全的重要致病菌。为掌握上海市普陀区 LM 在各类食品中的污染状况, 本研究对 2021—2023 年生禽肉、调理肉制品、寿司、外卖配送餐、动物性淡水产品、动物性海产品、中式凉拌菜、预包装冷藏即食食品进行 LM 分离

* 基金项目:上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划项目(GWVI-3)。

作者简介:黄晶晶(1991—), 本科, 初级检验技师, 主要从事食品中病原微生物的检测。 [△] 通信作者, E-mail: etang800128@163.com。

鉴定,并对阳性菌株进行脉冲场凝胶电泳(PFGE)分子分型和药物敏感性分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源 选取 2021—2023 年从上海市普陀区各采购渠道所采集的生禽肉(180 件)、调理肉制品(88 件)、寿司(40 件)、外卖配送餐(20 件)、动物性淡水产品(40 件)、动物性海产品(40 件)、中式凉拌菜(60 件)、预包装冷藏即食食品(36 件)8 类食品,共计 504 件。

1.1.2 主要试剂及仪器 李氏增菌肉汤 LB(LB1, LB2)、李斯特氏菌显色培养基、PALCAM 琼脂平板、TSA-YE 琼脂平板(上海申启公司);木糖发酵管、鼠李糖发酵管(青岛海博公司);革兰阳性菌生化鉴定卡(法国 Biomerieux 公司);1 M Tris-HCL、0.5 M EDTA(上海生工公司);SeaKem Gold Agarose(瑞士 Lonza 公司);蛋白酶 K、限制性内切酶 Asc I(日本 TaKaRa 公司);溶菌酶(德国 SIGMA 公司);革兰阳性菌药物最低抑菌浓度(MIC)测试版(珠海美华公司)。标准菌株 LMATCC19115、肺炎链球菌 ATCC49619 由上海市普陀区疾病预防控制中心提供。

恒温培养箱 BINDER KB115、恒温培养箱 BINDER KB240(德国宾得公司);VITEK 2 Compact 全自动微生物生化鉴定系统(法国 Biomerieux 公司);电热恒温振荡水槽 DKZ-3B(上海一恒科学仪器有限公司);PFGE 仪 CHEF-Mapper XA、凝胶成像系统 Gel Doc XR(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 LM 的分离与鉴定 按照《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》中的方法检测 LM,用李氏增菌肉汤增菌后划线接种于李斯特氏菌显色平板和 PALCAM 琼脂平板,挑取可疑菌落分别接种木糖、鼠李糖发酵管,然后选择木糖阴性、鼠李糖阳性的可疑菌落,采用全自动微生物生化鉴定系统进行鉴定。

1.2.2 LM 的 PFGE 分型 参照美国疾病预防控制中心和国家致病菌识别网中 LM PFGE 标准操作程序,对分离出的 LM 进行 PFGE 分型。使用限制性内切酶 Asc I 将 LM 胶块于 37 °C 酶切 2 h。电泳参数:49~450 kb,4.0~40.0 s,18 h。电泳结束后,胶块使用 GelRed 染料染色 30 min,再用超纯水脱色 60 min,再使用凝胶成像系统读取电泳图谱并转化为图片,最后应用 BioNumerics7.6 软件对获得的电泳图谱进行聚类分析,从而构建聚类树状图。

1.2.3 LM 药物敏感性试验 采用美国临床实验室标准化委员会推荐的微量肉汤稀释法,使用革兰阳性菌药物 MIC 测试板进行药物敏感性试验。

1.3 统计学处理 使用 Excel2010 软件进行数据整理,计数资料以率或百分比表示。

2 结果

2.1 2021—2023 年各类食品中 LM 检出情况 504 件样品中,共有 22 件样品检出 LM,总检出率为 4.4%,其中调理肉制品检出率最高(9.1%),其次是外卖配送餐(5.0%)、生禽肉(4.4%),其他类别检出率较低。2022 年检出率最高(8.0%),2021、2023 年检出率均较低且相近。见表 1。

表 1 2021—2023 年各类食品中 LM 检出情况[n/n(%),n=22]

食品类别	阳性样品			合计
	2021 年	2022 年	2023 年	
生禽肉	4/80(5.0)	—	4/100(4.0)	8/180(4.4)
调理肉制品	—	6/40(15.0)	2/48(4.2)	8/88(9.1)
寿司	—	1/40(2.5)	—	1/40(2.5)
外卖配送餐	—	1/20(5.0)	—	1/20(5.0)
动物性淡水产品	—	—	1/40(2.5)	1/40(2.5)
动物性海产品	—	—	1/40(2.5)	1/40(2.5)
中式凉拌菜	1/60(1.7)	—	—	1/60(1.7)
预包装冷藏即食食品	1/36(2.8)	—	—	1/36(2.8)
合计	6/176(3.4)	8/100(8.0)	8/228(3.5)	22/504(4.4)

注:—表示未采集此类样品或未检测 LM。

2.2 PFGE 分型结果 22 株 LM 通过 Asc I 酶切后共获得 18 个 PFGE 带型(图 1),带型相似度为 42.11%~100.00%,其中 1 个带型包含 3 株菌,2 个带型分别包含 2 株菌,其余带型均包含 1 株菌。sh072021205 和 sh072022184 分离自不同时间、不同地点、不同食品,PFGE 带型却完全相同;sh072022155 和 sh072022158 分离自相同时间、相同地点,但 PFGE 条带相似度仅为 60.00%。

2.3 抗生素耐药性结果 22 株 LM 对头孢西丁均耐药,耐药率为 100.0%。1 株(4.5%)LM(sh07202-1205,来源生禽肉)对氨苄西林、苯唑西林、克林霉素、头孢西丁存在四重耐药;1 株(4.5%)LM(sh072021269,来源中式凉拌菜)对红霉素、四环素、头孢西丁存在三重耐药;1 株(4.5%)LM(sh072022025,来源调理肉制品)对苯唑西林、克林霉素、头孢西丁存在三重耐药;1 株(4.5%)LM(sh072022184,来源寿司)对苯唑西林、克林霉素、头孢西丁存在三重耐药;2 株(9.1%)LM(sh072021206、

sh072021254, 来源生禽肉)对克林霉素、头孢西丁存在双重耐药;1 株(4.5%)LM(sh072022158, 来源调理肉制品)对克林霉素、头孢西丁存在双重耐药;1 株

(4.5%)LM(sh072023292, 来源生禽肉)对苯唑西林、头孢西丁存在双重耐药。多重耐药率为 36.4%(8/22)。见表 2。

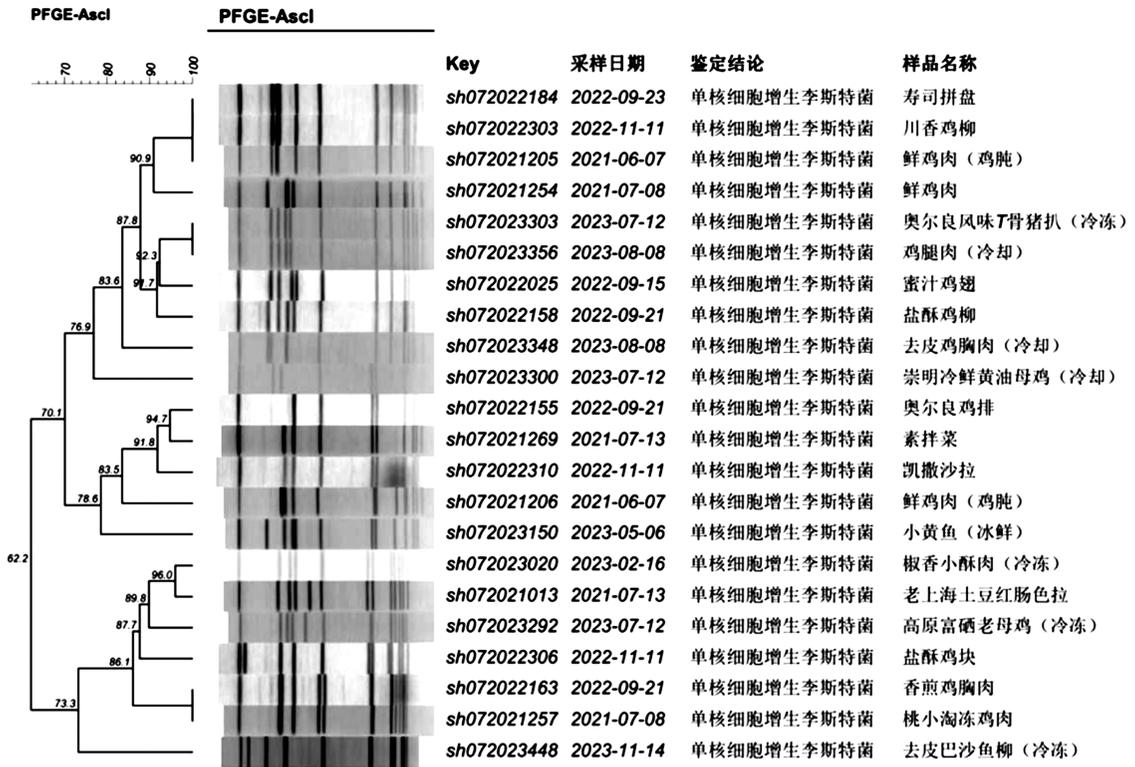


图 1 2021—2023 年 22 株 LM PFGE 聚类图

表 2 LM 耐药性分析

抗菌药物	2021 年		2022 年		2023 年	
	耐药菌株数(n)	耐药率(%)	耐药菌株数(n)	耐药率(%)	耐药菌株数(n)	耐药率(%)
氨苄西林	1	16.7	0	0	0	0
青霉素	0	0	0	0	0	0
苯唑西林	1	16.7	2	25.0	1	12.5
红霉素	1	16.7	0	0	0	0
克林霉素	3	50.0	3	37.5	0	0
环丙沙星	0	0	0	0	0	0
达托霉素	0	0	0	0	0	0
复方新诺明	0	0	0	0	0	0
万古霉素	0	0	0	0	0	0
四环素	1	16.7	0	0	0	0
氯霉素	0	0	0	0	0	0
庆大霉素	0	0	0	0	0	0
头孢西丁	6	100.0	8	100.0	8	100.0
亚胺培南	0	0	0	0	0	0

3 讨 论

随着全球化贸易的加速和食品供应链的日益复杂,LM 等食源性病原体的传播途径变得更加多样和

隐蔽,其可以通过受污染的食品在全球范围内迅速传播,从而导致疾病的产生和暴发,给公共卫生安全带来严峻的挑战。识别和追踪 LM 等食源性病原体的

传播途径,需要高度精确和可靠的分子分型技术。PFGE 因分辨率高、分型能力强、重复性好的特点被誉为细菌性传染病病原分子分型的“金标准”^[4]。通过 PFGE 分析,能够揭示不同菌株之间的亲缘关系,从而为疫情调查和疾病控制提供帮助。随着抗菌药物使用的增加,LM 展现出了越来越令人担忧的耐药性趋势,甚至出现了对青霉素和氨苄西林的耐药^[5]。这种耐药性的出现不仅限制了治疗选择,增加了医疗成本,还可能导致疾病控制和预防的传统策略失效。因此,掌握 LM 的耐药谱,并理解其耐药机制,对于制定有效的干预措施至关重要。

上海市普陀区 2021—2023 年监测的 8 类(共 504 件)食品中,LM 的检出率为 4.4%,与多地食品中的检出率相近^[5-8],提示普陀区在售食品中存在一定水平的 LM 污染,相关部门应加强对市场的监管力度。8 类样品中均检出 LM,其中调理肉制品检出率最高,其次是外卖配送餐、生禽肉,其中肉与肉制品的检出率最高,与多地监测结果^[9-11]一致,提示肉与肉制品是 LM 污染最为严重的食品,肉与肉制品大多无外包装,在生产、加工、运输和销售环节直接裸露在外,反复多次与人、桌面、刀具接触,很容易导致 LM 的污染,因此应成为普陀区重点监测的食品。

PFGE 是一种常用的分子生物学技术,对于追踪细菌感染来源和传播途径具有重要作用。本研究采用 PFGE 分型方法将 22 株 LM 分为 18 个 PFGE 带型,无优势带型、无聚集,提示为散发污染。通过 PFGE 图谱的比较和分析发现,不同菌株之间存在明显差异,某些 PFGE 带型的菌株在不同地点和不同年份之间具有高度相似性,甚至带型完全一致,这表明其可能具有共同的流行病学特点和传播途径。而其他一些 PFGE 带型则只在特定的地点或时间段内出现,这可能与某些地理环境或人群密切相关。通过对分型结果的统计与分析,可以更好地了解菌株的遗传背景和菌株间的关系,从而快速追踪和溯源病原菌的来源,预防和控制疫情的扩散。

氨苄西林和青霉素均能穿透细胞膜并且在细胞内稳定存在,对 LM 的杀伤性较强,是临床上经常用于治疗该菌所致感染的一线药物^[12]。本研究对分离的 22 株 LM 进行 14 种抗菌药物敏感性试验,结果显示,22 株 LM 对头孢西丁均耐药,部分菌株对克林霉素、苯唑西林、氨苄西林、红霉素、四环素耐药,且出现了 1 株四重耐药、3 株三重耐药、4 株双重耐药,多重耐药率高达 36.4%。2021—2023 年,LM 对氨苄西林、红霉素、克林霉素、四环素的耐药率有所降低,对苯唑西林和头孢西丁的耐药性无太大变化,其中对头

孢西丁的耐药率最高。本研究甚至出现了对临床一线药物氨苄西林的耐药株,这与李红欢等^[5]和秦璞等^[12]的研究结果一致。值得注意的是,这种多重耐药性的存在并非孤立现象,多地均出现过 LM 的多重耐药现象^[5,13-14]。这种耐药性的存在意味着传统的治疗手段可能失效,从而增加了治疗失败和疾病传播的风险。因此,在抗菌药物使用策略上应采取更为谨慎的态度,以防止耐药性的进一步发展。LM 的耐药性分析揭示了一种令人担忧的趋势,随着时间的推移,耐药率和耐药种类正逐渐提高,且出现多重耐药现象,提示某些药物可能不再是首选。因此,定期更新 LM 的耐药性监测数据对于指导临床实践至关重要,可确保患者能够得到及时且有效的治疗。

综上所述,上海市普陀区的肉与肉制品受 LM 污染最为严重,应重点监测;菌株 PFGE 带型呈多样性,无聚集,为散发污染;菌株多重耐药比例较高,且出现了对常用抗菌药物的耐药性。因此,LM 的分子分型和耐药性研究有助于临床选择更有效的治疗方案,从而降低由该菌引起的食源性疾病的风险。

参考文献

- [1] KRZYSZTOF S, EWA W, NATALIA W, et al. Assessment of the prevalence and drug susceptibility of listeria monocytogenes strains isolated from various types of meat [J]. *Foods*, 2020, 9(9):1293-1293.
- [2] 刘洪蕾, 王真. 食源性单核细胞增生李斯特氏菌检测方法研究进展[J]. *动物医学进展*, 2022, 43(10):111-116.
- [3] 孙琳璐, 张红芝, 方太松等. 食品环境中单核细胞增生李斯特菌菌膜形成、转移及防控措施研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(13):289-299.
- [4] 孟昭倩, 段然, 吕东月, 等. 2014—2019 年阜阳市食品和病人分离单增李斯特菌的分子特征分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2020, 36(12):1019-1024.
- [5] 李红欢, 陈朔, 康立超, 等. 食源性单增李斯特菌的分离鉴定及药物敏感试验[J]. *中国兽医杂志*, 2018, 54(12):89-92.
- [6] 石红霞. 食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测分析[J]. *食品安全导刊*, 2022(7):116-118.
- [7] 李文伟. 食品中单核细胞增生李斯特氏菌的污染状况分析[J]. *食品安全导刊*, 2020(24):128.
- [8] 范霞. 食品中单核细胞增生李斯特氏菌检测结果的分析[J]. *食品安全导刊*, 2020(9):117-118.
- [9] 石奔, 赵薇, 杨修军, 等. 2011—(下转第 3725 页)

- 查机构建设存在问题及对策[J]. 现代医院, 2023, 23(6): 871-873.
- [18] 郭芙蓉, 吴源泉, 吴建华. 基层医院伦理建设及医务人员伦理认知现状分析[J]. 中国卫生标准管理, 2023, 14(17): 58-64.
- [19] 张红霞, 张新庆, 罗艳艳, 等. 护理核心期刊文献的研究伦理审查情况分析[J]. 医学与哲学, 2020, 41(5): 44-47.
- [20] 杜美晨, 欧阳艳琼, 刘倩. 中国学者国内外护理文献的伦理学质量比较与评价[J]. 护理学杂志, 2019, 34(15): 98-101.
- [21] 徐晓文, 周洁. 医疗卫生机构临床科研伦理委员会建设的困境和对策研究[J]. 江苏科技信息, 2022, 39(25): 44-46.
- [22] 赵丽, 柏玲, 王丽娜, 等. ICU 护理人员伦理认知影响因素分析[J]. 中国医学伦理学, 2023, 36(8): 904-908.
- [23] 胡娟, 杨敏. 护理专业学生伦理敏感性的研究进展[J]. 护理学杂志, 2023, 38(5): 117-120.
- [24] 罗玉莲. 护理伦理再教育对实习护生伦理认知与决策能力的干预效果评价[J]. 中国实用护理杂志, 2017, 33(25): 1987-1991.
- [25] 寇洁, 张楠楠, 黄永慧, 等. 河南省三甲综合医院临床护士护理伦理认知与践行现状及其影响因素[J]. 护理实践与研究, 2023, 20(11): 1616-1620.
- [26] KARJALAINEN H, HALKOAHO A, PIETILÄ A M, et al. Intensive care nurses' perceptions of various ethics concerns affecting clinical research[J]. Scand J Caring Sci, 2019, 33(2): 371-379.
- [27] 王爽, 张新庆, 赵延东, 等. 我国医学科研人员的伦理认知及培训需求状况分析[J]. 中国医学伦理学, 2022, 35(1): 41-46.
- [28] 李晓, 于萍, 李琳, 等. 研究者伦理培训与多角度调查分析对培训优化的思考[J]. 医学与哲学, 2022, 43(24): 32-35.
- [29] ISHIHARA I, INAGAKI S, OSAWA A, et al. Effects of an ethics education program on nurses' moral efficacy in an acute health care facility[J]. J Nurs Manag, 2022, 30(7): 2207-2215.
- [30] 曹娟, 仲艳, 陈光明, 等. 我国护理人员护理科研伦理认知分析及提升策略研究[J]. 中国医学伦理学, 2022, 35(11): 1218-1223.
- [31] 徐聆, 尹雨晴, 张洁, 等. 从高校护理硕士学位论文看护理科研伦理现状[J]. 全科护理, 2021, 19(10): 1428-1431.
- [32] RENNIE S, DAY S, MATHEWS A, et al. The role of inclusion benefits in ethics committee assessment of research studies[J]. Ethics Hum Res, 2019, 41(3): 13-22.
- [33] 蔡雨廷, 徐玉梅. 科技伦理治理对构建和谐医患关系的作用研究[J]. 中国医学伦理学, 2023, 36(9): 1012-1016.
- [34] GELLING L, ERSSER S, HEASLIP V, et al. Ethical conduct of nursing research[J]. J Clin Nurs, 2021, 30(23): e69-e71.

(收稿日期: 2024-03-10 修回日期: 2024-06-29)

(上接第 3718 页)

- 2019 年吉林省市售食品中单增李斯特菌污染情况分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(23): 9046-9051.
- [10] 王丽, 钱国双, 吴霖. 2019—2021 年南阳市食品中单核细胞增生李斯特菌的污染情况分析[J]. 河南医学研究, 2022, 31(14): 2621-2624.
- [11] 朱莉勤, 王波, 张宁, 等. 苏州市食品中单增李斯特菌污染状况及分子特征分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(3): 972-977.
- [12] 秦璞, 赵汉林, 崔思瑶, 等. 2013—2022 年河北省单核细胞增生李斯特菌的临床分布及耐药性[J]. 中国感染控制杂志, 2023, 22(6): 655-659.
- [13] NOLL M, KLETA S, DAHOUK A S. Antibiotic susceptibility of 259 listeria monocytogenes strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany[J]. J Infect Public Heal, 2018, 11(4): 572-577.
- [14] AIYEDUN J O, OLATOYE O I, OLUDAIRO O O, et al. Occurrence, antimicrobial susceptibility and biofilm production in listeria monocytogenes isolated from pork and other meat processing items at Oko-Oba abattoir, Lagos State, Nigeria[J]. Sahel J Vet Sci, 2020, 17(4): 24-30.

(收稿日期: 2024-02-26 修回日期: 2024-07-23)