

矿泉水和山泉水中铜绿假单胞菌污染调查及分离菌株毒力基因与耐药性分析

魏磊^{1,2} 吴清平^{1*} 张菊梅¹ 吴克刚² 郭伟鹏¹ 阙绍辉³

- (1. 广东省微生物研究所 省部共建华南应用微生物国家重点实验室 广东省菌种保藏与应用重点实验室 广东省微生物应用新技术公共实验室 广东 广州 510070)
- (2. 广东工业大学 轻工化工学院食品工程与科学系 广东 广州 510006)
- (3. 广东环凯微生物科技有限公司 广东 广州 510663)

摘要:【目的】初步掌握全国矿泉水和山泉水生产过程中铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的污染情况。分析矿泉水与山泉水中铜绿假单胞菌的致病性与耐药性。【方法】研究通过对广西、湖北、云南等全国9个省36家水厂进行采样,共采集108个样本,并根据《饮用天然矿泉水检测方法》国家标准(GB/T 8538-2008)检测其铜绿假单胞菌的污染率、污染水平。对分离出的铜绿假单胞菌菌株进行毒力基因与药敏实验。【结果】全国矿泉水水源水、活性炭过滤后水、成品水的污染率分别为16.7%、16.7%、0,污染水平分别为3.7、2.0、0 CFU/250 mL。全国山泉水水源水、活性炭过滤后水、成品水的污染率分别为66.7%、83.3%、5.6%,污染水平分别为5.1、7.3、2.0 CFU/250 mL。对所分离出的36株铜绿假单胞菌进行毒力基因检测和药敏试验显示:*exoU*、*exoS*、*phzM*、*toxA*、*lasB*检出率分别为25.0%、75.0%、100%、88.8%、100%,但对美国国家临床实验室标准化委员会标准中14种抗生素均无耐药性。【结论】山泉水水源水、活性炭过滤后水、成品水污染率明显高于矿泉水,但污染水平均较低,无大于40.0 CFU/250 mL样品检出。山泉水活性炭过滤后污染率最高,表明大部分企业在活性炭过滤环节存在污染问题。毒力基因*exoU*、*exoS*、*phzM*、*toxA*、*lasB*在分离到的36株铜绿假单胞菌检出率高,但分离到的菌株对所选取的14种抗生素均无耐药性。

关键词: 矿泉水, 山泉水, 铜绿假单胞菌, 毒力基因, 耐药性

基金项目: 广东省战略性新兴产业核心技术攻关项目(No. 2012A032300018); 广东省科技计划项目(No. 2010B030900013)

*通讯作者: Tel: 86-20-87688132; 信箱: wuqp203@163.com.cn

收稿日期: 2014-04-19; 接受日期: 2014-05-21; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-05-23

The pollution survey of *Pseudomonas aeruginosa* in mineral water and spring water and the analyses of virulence genes and antibiotic resistance of the isolates

WEI Lei^{1,2} WU Qing-Ping^{1*} ZHANG Ju-Mei¹ WU Ke-Gang² GUO Wei-Peng¹
QUE Shao-Hui³

- (1. State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China)
- (2. Department of Food Science and Technology, School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510006, China)
- (3. Guangdong Huankai Microbial Science and Technology Company Limited, Guangzhou, Guangdong 510663, China)

Abstract: [Objective] This experiment was made to obtain a preliminary understanding of pollution of *Pseudomonas aeruginosa* in the production process of mineral water and spring water. Pathogenicity and antibiotic resistance of *P. aeruginosa* of mineral water and spring water were analyzed. **[Methods]** This experiment based on 108 samples from 36 mineral water and spring water factories in 9 provinces. According to the methods for examination of drinking natural mineral water (GB/T8538-2008), the pollution rates and pollution levels of *P. aeruginosa* had been obtained. The tests of virulence gene and antibiotic resistance were tested on collected *P. aeruginosa* isolates. **[Results]** The pollution rates of source water, activated carbon filtered water and finished products of mineral water were 16.7%, 16.7%, 0 respectively. The pollution levels of source water, activated carbon filtered water and finished products of mineral water were 3.7, 2.0, 0 CFU/250 mL respectively. The pollution rates of source water, activated carbon filtered water and finished products of spring water were 66.7%, 83.3% and 5.6% respectively. The pollution levels of source water, activated carbon filtered water and finished products of spring water were 5.1, 7.3, 2.0 CFU/250 mL respectively. The virulence gene and antibiotic resistance tests of 36 *P. aeruginosa* isolates showed that the detection rates of *exoU*, *exoS*, *phzM*, *toxA* and *lasB* were 25.0%, 75.0%, 100%, 88.8%, 100% respectively; 36 *P. aeruginosa* strains were sensitive to 14 kinds of antibiotics which were selected according National Committee for Clinical Laboratory Standards of The United States of America. **[Conclusion]** The pollution rates of source water, activated carbon filtered water and finished products of spring water were significantly higher than mineral water. Both the pollution levels of 2 kinds of water samples were relatively low and there was no greater than 40.0 CFU/250 mL of the sample. The activated carbon filtered water of spring water was the highest pollution rate among all samples, which indicated that most of the factories had some microbial pollution in the activated carbon filter link. The high detection rates of virulence genes, including *exoU*, *exoS*, *phzM*, *toxA* and *lasB* in 36 strains of collected *P. aeruginosa* were analysed. All 36 isolates of collected *P. aeruginosa* were sensitive to 14 kinds of antibiotics.

Keywords: Mineral water, Spring water, *Pseudomonas aeruginosa*, Virulence gene, Antibiotic resistance

据世界卫生组织(WHO)统计,人类 70%–80%的疾病都来源于不洁净的饮用水。随着人们生活水平的提高,矿泉水和山泉水已受到广大消费者青睐,但近年来却时有成品水中检出铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的报道, Varga 等在匈牙利国内 492 份成品水中的 7 份检出铜绿假单胞菌,

该菌的污染率为 1.4%^[1-2]。本研究团队邓梅清等在广东省 30 份成品水中有 4 份检出该菌,污染率为 13.3%^[3]。铜绿假单胞菌俗称绿脓杆菌。在自然界分布广泛,主要存在于潮湿的环境,该菌为条件致病菌,是医院内感染的主要病原菌之一^[4-5]。患代谢性疾病、血液病和恶性肿瘤的患者,以及术后或某些

治疗后的患者易感染该菌,引起的医院内感染高达30%以上,而呼吸道感染率更高,居病原菌之首^[6-7]。

铜绿假单胞菌的致病作用主要是因为其可表达粘附素、弹性蛋白酶等十几种毒力因子。其中基因 *exoS* 和 *exoU* 分别编码胞外酶 ExoS 和 ExoU, ExoS 主要通过破坏宿主细胞肌动蛋白细胞骨架重排等作用来抑制其吞噬作用,而 ExoU 是具有磷脂酶和腺苷酸环化酶活性的细胞毒素;基因 *toxA* 编码最具有毒性的胞外产物外毒素 A,它可以阻止宿主细胞蛋白质的合成,使组织坏死;基因 *phzM* 编码吩嗪化合物从而抑制细胞线粒体活动;基因 *lasB* 编码的肺弹性蛋白酶可以水解宿主细胞的弹性蛋白等结缔组织成分^[8]。研究表明毒力因子的起动力主要是通过群体感应控制,各种致毒因子是否表达,表达水平及各种毒力因子协同作用共同影响着铜绿假单胞菌的毒性^[9]。随着抗菌药物的广泛应用,越来越多的研究发现了高耐药性铜绿假单胞菌株。一般认为铜绿假单胞菌通过产生抗生素灭活酶改变抗菌药物作用的靶位、膜屏障与主动外排限制药物到达其作用靶位、形成生物膜等几种方法产生耐药性^[10]。

迄今为止还没有关于矿泉水与山泉水中铜绿假单胞菌污染情况的研究报告,本研究从9个省36家矿泉水和山泉水水厂、采集了108个水样,在检测其铜绿假单胞菌的污染率、污染水平后,对分离到的菌株进行毒力基因与药敏试验,以期对矿泉水和山泉水生产企业和食品安全监督部门防控铜绿

假单胞菌污染提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

根据“饮用天然矿泉水检测方法”国家标准(GB/T 8538-2008),从2013年1月开始,分别采集广西、福建、海南、湖北、上海、北京、云南、贵州、四川9个省^[11]。每个地区采集4家水厂的成品水、碳后水和水源水,共12个水样,累计36家水厂,108个水样。全部水样均在4℃1d内运到实验室进行检测。

1.2 材料及仪器

API20NE 生化鉴定条,法国梅里埃公司;0.45 μm 滤膜,美国 Millipore 公司;CN 培养基、M-H 培养基、不锈钢多联过滤系统,广东环凯公司;DNA 引物,华大基因公司;DNA 提取试剂盒,生工生物工程有限公司;药敏纸片, Oxoid 公司。

1.3 实验方法

根据 GB/T 8538-2008,将 250 mL 水样通过 0.45 μm 滤膜,将滤膜放置于 CN 选择培养基上,36℃培养 2 d,铜绿假单胞菌菌落选择参照表 1。

以 *P. aeruginosa* ATCC 15442 为阳性对照, *Escherichia coli* ATCC 25922 为阴性对照, *ecfX* 为对照基因,分别检测 *exoU*、*exoS*、*phzM*、*toxA*、*lasB* 在 36 株铜绿假单胞菌中的存在情况。采用通用引物进行多重 PCR 实验,具体反应条件参照文献^[12],将扩增好的产物进行电泳后用紫外凝胶系统观察照相。

表 1 铜绿假单胞菌菌落选择与鉴定

Table 1 The selection and evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* colony

菌落形态 Colony morphology	乙酰胺肉汤 Acetamide broth	氧化酶试验 Oxidase test	金氏 B 培养是否产荧光 Kim B (Fluorescent)	判定 Judge
蓝/绿 Blue/Green	NT	NT	NT	Y
非蓝绿、产荧光 No B/G, Fluorescent	+	NT	NT	Y
红褐色 Reddish brown	+	+	+	Y
其他 Other	NT	NT	NT	N

注: NT: 不用试验; No B/G: 非蓝绿; +: 阳性; Y: 铜绿假单胞菌阳性; N: 铜绿假单胞菌阴性。

Note: NT: No test; No B/G: No Blue/Green; +: Positive; Y: *P. aeruginosa* positive; N: *P. aeruginosa* negative.

根据美国国家临床实验室标准化委员会(NCCLS)标准,以 *P. aeruginosa* ATCC 15442 为阳性对照, *E. coli* ATCC 25922 为阴性对照。采用纸片扩散法,分别用环丙沙星(CIP, 5 µg/片)、左氧氟沙星(LEV, 5 µg/片)、氧氟沙星(OFX, 5 µg/片)、诺氟沙星(NOR, 10 µg/片)、庆大霉素(CN, 10 µg/片)、托普霉素(TOB, 10 µg/片)、氨丁卡霉素(AK, 10 µg/片)、多粘菌素 B (PB, 300 units)、亚胺培南(YMP, 10 µg/片)、美罗培南(MEM, 10 µg/片)、噻

吩酰胺菌素(ATM, 30 µg/片)、头孢他啶(CAZ, 30 µg/片)、头孢吡肟(FEP, 30 µg/片)、哌拉西林他唑巴坦(TZP, 100/10 µg)等标准中规定的 14 种药敏片对收集到的铜绿假单胞菌进行药敏试验。将药敏片分别放在已涂布好铜绿假单胞菌的培养基上,放入 37 °C 培养箱内培养 24 h 后,用游标卡尺测量其抑菌圈直径。

2 结果与分析

2.1 铜绿假单胞菌污染率和污染水平

如表 2 所示,矿泉水厂和山泉水厂 108 份水样中共有 34 份水样检出铜绿假单胞菌,污染率为

表 2 铜绿假单胞菌检出结果

Table 2 The detection results of *Pseudomonas aeruginosa*

企业编号 Manufactory No.	水源水 Source water (CFU/250 mL)	活性炭过滤后水 Carbon filtered water (CFU/250 mL)	成品水 Finished water (CFU/250 mL)
桂 A GUI A		40.0	
桂 B GUI B	1.0	2.0	
桂 C GUI C	7.0	3.0	
闽 A MIN A		20.0	
闽 B MIN B		2.0	
滇 B DIAN B	1.0		
黔 A QIAN A	30.0	20.0	
黔 B QIAN A	1.0	3.0	
鄂 A E A	3.0	2.0	
鄂 B E B		1.0	
鄂 C E C		1.0	
川 A CHUAN A	2.0	2.0	
川 B CHUAN B		2.0	
海 A HAI A	5.0	3.0	
海 B HAI B	4.0	4.0	
海 C HAI C	1.0		
海 D HAI D	3.0		
沪 A HU A	5.0	2.0	
沪 B HU B	4.0		
京 A JING A	3.0	3.0	1.0
京 B JING B	2.0	3.0	
京 C JING C		2.0	
阳性样品平均数 Averages	4.8	6.4	1.0

注: A 和 B: 山泉水; C 和 D: 矿泉水。

Note: A and B: Spring water; C and D: Mineral water.

31.5%，这些检出的样品包括水源水 15 份、活性炭过滤后水 18 份和成品水 1 份。18 个矿泉水厂家和 18 个山泉水厂家中共有 5 个矿泉水厂家和 17 个山泉水厂家检出铜绿假单胞菌，污染率整体比较高，但矿泉水成品水中无铜绿假单胞菌检出，山泉水成品水仅有 1 份检出铜绿假单胞菌。矿泉水厂与山泉水厂样品污染水平都很低，无超过 50 CFU/250 mL 样品检出，平均污染水平为 5.4 CFU/250 mL。其中水源水、碳后水和成品水的平均污水水平分别为 4.8、6.4 和 1.0 CFU/250 mL。

如表 3 所示，矿泉水厂的污染率为 11.1%，其水源水、碳后水和成品水的污染率分别是 16.7%、16.7%和 0，污染水平分别为 3.7、2.0、0 CFU/250 mL。山泉水厂的污染率为 51.9%，其水源水、碳后水和成品水的污染率分别为 66.7%、83.3%和 5.6%，污染水平分别为 5.1、7.3、2.0 CFU/250 mL。

如表 4 所示，矿泉水与山泉水水源水中，以地

下水为水源的水源水共 33 份，5 份检出铜绿假单胞菌，占全部地下水的 15.2%。以地表水为水源的水源水共 3 份，2 份检出铜绿假单胞菌，占全部地表水的 66.6%。

2.2 分离毒力基因分析

以 *P. aeruginosa* ATCC 15442 为阳性对照，*E. coli* ATCC 25922 为阴性对照，*ecfX* 为对照基因，分别检测 *exoU*、*exoS*、*phzM*、*toxA*、*lasB* 在 36 株铜绿假单胞菌中的存在情况。从表 5 中可以看出，对照基因 *ecfX* 在所有菌株中均检出，目标毒力基因在分离株中检出率高，*exoU*、*exoS*、*phzM*、*toxA*、*lasB* 分别在 9、27、36、32、36 株菌中检出，检出率分别为 25.0%、75.0%、100%、88.8%、100%。

2.3 分离株抗药性测定

如表 6 所示，药敏试验结果表明，所有 36 株从样品中分离的铜绿假单胞菌株对 NCCLS 标准中选取的 14 种抗生素敏感，没有发现耐药菌株。

表 3 两种水厂中铜绿假单胞菌污染情况

Table 3 The pollution situation of *Pseudomonas aeruginosa* in two kinds of water treatment plants

样品 Samples	水源水 Source water		活性炭过滤后水 Carbon filtered water		成品水 Finished water		总数 Total amount	
	污染水平 Contamination rate (CFU/250 mL)	污染率 Contamination level (%)	污染水平 Contamination rate (CFU/250 mL)	污染率 Contamination level (%)	污染水平 Contamination rate (CFU/250 mL)	污染率 Contamination level (%)	污染水平 Contamination rate (CFU/250 mL)	污染率 Contamination level (%)
	矿泉水 Mineral water	3.7	16.7	2.0	16.7	0	0	2.8
山泉水 Spring water	5.1	66.7	7.3	83.3	2.0	5.6	6.1	51.9
平均 Average	4.8	41.7	6.4	50.0	1.0	2.8	5.4	31.5

表 4 不同水源的铜绿假单胞菌污染情况

Table 4 The contamination rates of *Pseudomonas aeruginosa* in different source water samples

样品 Samples	阳性数量 Positive amount	样品总数 Total	污染率 Contamination rate (%)
地表水 Surface water	2	3	66.6
地下水 Ground water	5	33	15.2

表 5 铜绿假单胞菌毒力基因检测结果
Table 5 The detection results of virulence gene

编号 No.	<i>exoU</i>	<i>exoS</i>	<i>phzM</i>	<i>toxA</i>	<i>lasB</i>	<i>ecfX</i>	编号 No.	<i>exoU</i>	<i>exoS</i>	<i>phzM</i>	<i>toxA</i>	<i>lasB</i>	<i>ecfX</i>
A		+	+	+	+	+	18		+	+	+	+	+
B							19		+	+	+	+	+
1		+	+	+	+	+	20	+		+	+	+	+
2	+		+	+	+	+	21		+	+		+	+
3	+		+	+	+	+	22		+	+	+	+	+
4		+	+		+	+	23		+	+		+	+
5		+	+	+	+	+	24		+	+	+	+	+
6	+		+	+	+	+	25		+	+	+	+	+
7		+	+	+	+	+	26		+	+	+	+	+
8	+		+	+	+	+	27		+	+	+	+	+
9	+		+	+	+	+	28		+	+	+	+	+
10		+	+	+	+	+	29		+	+	+	+	+
11	+		+	+	+	+	30		+	+	+	+	+
12		+	+	+	+	+	31		+	+	+	+	+
13		+	+	+	+	+	32		+	+	+	+	+
14	+		+	+	+	+	33		+	+	+	+	+
15		+	+	+	+	+	34		+	+	+	+	+
16		+	+		+	+	35		+	+	+	+	+
17	+		+	+	+	+	36		+	+	+	+	+
							Total (%)	25.0	75.0	100	88.8	100	100

注: A: 铜绿假单胞菌 ATCC 15442; B: 大肠杆菌 ATCC 25922.

Note: A: *P. aeruginosa* ATCC 15442; B: *E. coli* ATCC 25922.

表 6 铜绿假单胞菌药敏试验结果
Table 6 The susceptibility test results of *Pseudomonas aeruginosa* isolates

抗生素 编号 No.	CIP (mm)	LEV (mm)	OFX (mm)	NOR (mm)	CN (mm)	TOB (mm)	AK (mm)	PB (mm)	IPM (mm)	MEM (mm)	ATM (mm)	CAZ (mm)	FEP (mm)	TZP (mm)
S	≥21	≥17	≥16	≥17	≥15	≥15	≥17	≥12	≥16	≥16	≥16	≥18	≥18	≥18
I	16–20	14–16	13–15	13–16	13–14	13–14	15–16	–	14–15	14–15	14–15	15–17	15–17	–
R	≤15	≤13	≤12	≤12	≤12	≤12	≤14	≤11	≤13	≤13	≤13	≤14	≤14	≤17
A	29.1	28.2	32.3	41.1	29.5	36.9	29.8	31.7	29.7	30.9	26.4	29.1	24.3	33.9
B	27.6	29.0	34.4	39.1	29.5	33.6	29.3	27.5	25.3	34.9	26.3	29.8	25.4	30.7
1	28.1	33.4	33.3	40.5	20.3	30.3	30.3	34.6	35.1	37.8	31.5	18.6	22.2	31.8
2	29.2	26.4	30.4	42.6	20.3	32.4	27.3	34.7	36.6	36.8	32.3	19.3	24.6	32.6

(待续)

(续表)														
3	30.8	26.3	30.0	44.5	24.8	33.1	28.6	34.4	24.5	30.5	33.9	20.0	25.4	34.2
4	27.4	25.2	30.7	36.8	24.4	36.8	26.7	29.7	33.7	33.5	25.3	21.3	24.7	35.5
5	29.1	27.2	30.3	41.1	25.5	36.0	28.8	35.7	39.7	31.9	27.4	19.1	24.3	33.9
6	28.2	28.2	30.3	39.1	26.3	36.0	27.0	32.6	36.5	32.8	32.4	20.2	27.8	32.5
7	25.6	30.0	31.4	35.0	22.5	33.4	28.3	29.5	23.3	36.9	23.3	19.8	25.3	30.6
8	23.2	34.6	29.5	31.2	34.9	33.7	35.6	21.7	30.0	35.6	31.3	21.6	24.4	30.9
9	25.6	36.1	25.7	33.9	33.1	32.3	27.1	17.8	21.7	33.0	32.5	22.5	27.8	30.2
10	26.6	31.0	25.4	27.1	30.3	36.8	29.6	19.6	21.2	33.5	27.1	21.3	20.8	30.2
11	23.3	32.8	21.6	31.6	34.9	32.0	28.7	18.9	21.6	34.4	27.4	23.7	29.6	29.9
12	25.8	35.1	23.8	32.8	29.9	31.6	35.1	21.1	24.5	36.5	28.9	25.2	28.5	34.2
13	27.2	32.0	23.3	33.5	32.9	36.9	28.0	19.7	21.9	35.0	28.7	25.2	26.5	35.5
14	23.8	34.8	24.5	32.8	33.6	35.4	29.1	19.9	20.6	31.7	32.3	21.3	24.8	33.5
15	26.1	30.7	23.2	33.3	32.0	33.3	33.1	19.9	22.9	34.4	28.9	22.8	26.1	33.8
16	27.2	30.7	25.5	32.4	27.2	35.5	29.6	19.0	23.1	35.7	38.6	22.2	25.9	31.7
17	27.0	32.1	26.7	33.6	29.2	33.2	29.5	17.9	22.7	33.9	28.8	23.2	24.5	32.8
18	27.0	34.4	21.2	33.4	33.4	31.7	29.0	19.9	21.9	31.4	27.3	20.6	23.4	30.4
19	28.2	24.8	26.0	30.0	31.1	32.3	34.4	23.1	23.1	32.4	28.9	19.8	24.1	32.8
20	25.5	28.3	29.5	25.0	26.8	29.1	23.1	25.1	23.5	29.0	28.0	26.5	26.0	24.9
21	25.9	30.3	30.8	33.2	25.2	34.0	25.3	31.5	33.9	31.9	28.0	19.7	24.9	35.5
22	29.3	27.1	26.9	30.4	20.8	33.8	27.5	34.8	31.6	30.4	24.1	19.9	23.6	30.3
23	32.7	22.0	33.4	37.1	27.1	30.7	29.2	33.3	36.0	38.3	29.1	21.6	27.7	30.0
24	29.6	26.9	28.0	33.8	29.2	31.7	27.5	32.4	32.2	37.5	24.6	29.6	27.6	31.2
25	28.4	29.3	30.5	38.0	23.9	31.0	27.6	30.7	35.2	37.2	28.5	19.6	20.8	33.9
26	31.4	28.4	28.2	36.8	25.9	31.5	31.2	30.4	33.4	33.7	26.0	19.0	21.4	31.3
27	30.5	29.9	31.9	39.3	25.2	34.9	28.9	31.1	40.1	33.3	30.5	19.1	24.1	32.6
28	29.9	27.4	29.9	41.4	24.3	33.2	31.3	36.1	36.1	34.4	30.4	19.7	25.1	33.4
29	32.5	32.0	33.0	42.4	26.6	36.8	35.8	33.8	25.5	33.3	30.9	20.3	25.6	36.5
30	32.6	28.8	29.2	37.6	26.3	33.8	28.6	31.9	37.9	32.8	28.5	19.7	28.1	35.2
31	30.8	34.7	32.7	37.5	27.6	34.7	33.0	29.4	35.2	35.5	26.7	21.2	27.2	36.5
32	21.5	37.3	34.3	41.1	28.1	37.0	33.5	39.4	37.9	37.3	38.2	18.8	19.8	32.3
33	27.1	33.5	35.3	35.6	24.3	30.5	33.4	33.7	34.1	31.9	30.6	28.6	22.2	31.9
34	25.3	26.5	32.4	32.7	29.3	32.7	29.3	35.7	33.6	30.8	39.4	31.4	24.6	32.6
35	27.8	23.3	40.9	28.5	29.8	34.0	25.6	33.4	29.5	34.5	30.9	25.0	25.4	34.2
36	29.4	24.2	31.7	28.8	28.4	36.5	27.7	26.6	30.7	30.5	29.3	31.3	24.7	35.5

注: A: 铜绿假单胞菌 ATCC 15442; B: 大肠杆菌 ATCC 25922; S: 敏感; I: 中度耐药; R: 耐药。

Note: A: *P. aeruginosa* ATCC 15442; B: *E. coli* ATCC 25922; S: Sensitive; I: Intermedium resistance; R: Resistance.

3 讨论

矿泉水厂的污染率为 11.1%，其水源水、碳后水和成品水的污染率分别是 16.7%、16.7%和 0，污染水平分别为 3.7、2.0、0 CFU/250 mL。山泉水厂的污染率为 51.9%，其水源水、碳后水和成品水的污染率分别为 66.7%、83.3%和 5.6%，污染水平分别为 5.1、7.3、2.0 CFU/250 mL。山泉水水源水、活性炭过滤后水、成品水污染率明显高于矿泉水，但污染水平均较低，在阳性样品中，平均污染水平均未大于 10.0 CFU/250 mL。矿泉水与山泉水中成品水的铜绿假单胞菌污染率很低，在 18 份矿泉水成品水中没有检测到铜绿假单胞菌，18 份山泉水成品水中仅 1 份检出铜绿假单胞菌。在全部水样中，山泉水活性炭过滤后水污染率最高，达到了 83.3%，表明大部分企业在活性炭过滤环节存在污染问题，生产企业应给予活性炭过滤环节足够的重视，定期对活性炭进行清洗和消毒。矿泉水与山泉水水源水中，地下水铜绿假单胞菌污染率远小于地表水，地下水铜绿假单胞菌的污染率为 15.2%，地表水铜绿假单胞菌的污染率为 66.6%。毒力基因 *exoU*、*exoS*、*phzM*、*toxA*、*lasB* 在收集到的 36 株分离菌株中检出率高，这表明其致病性强。但对 NCCLS 标准中的 14 种抗生素均无耐药性，其可控性较强。

参考文献

- [1] Fuentefria DB, Ferreira AE, Corção G. Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: Are they genetically related?[J]. Journal of Environmental Management, 2011, 92(1): 250-255
- [2] Nagaveni S, Rajeshwari H, Oli AK, et al. Widespread emergence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from CSF samples[J]. Indian Journal of Microbiology, 2011, 51(1): 2-7
- [3] Deng MQ, Zhang JM, Guo WP, et al. Study on contamination investigation of *Pseudomonas aeruginosa* in mineral water[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2009, 19(11): 2672-2673 (in chinese)
- 邓梅清, 张菊梅, 郭伟鹏, 等. 矿泉水中铜绿假单胞菌污染状况调查研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(11): 2672-2673
- [4] Frank DW. The exoenzyme S regulon of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Molecular Microbiology, 1997, 26(4): 621-629
- [5] Aujoulat F, Lebreton F, Romano S, et al. Comparative diffusion assay to assess efficacy of topical antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa* in burns care[J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2011, 10(27): 1-10
- [6] Waters V, Zlosnik JEA, Yau YCW, et al. Comparison of three typing methods for *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis[J]. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2012, 31(12): 3341-3350
- [7] Allydice-Francis K, Brown PD. Diversity of antimicrobial resistance and virulence determinants in *Pseudomonas aeruginosa* associated with fresh vegetables[J]. International Journal of Microbiology, 2012, 2012: 1-7
- [8] Zhu YY, Yi Y, Yang X, et al. Discovery of new structure of class 1 integron in MDR *Pseudomonas aeruginosa* and its association with drug-resistance[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2013, 53(9): 927-932 (in chinese)
- 朱易莹, 易勇, 杨犀, 等. 多重耐药铜绿假单胞菌中 I 型整合子新结构的发现及其与耐药的相关性[J]. 微生物学报, 2013, 53(9): 927-932
- [9] Bradbury RS, Roddam LF, Merritt A, et al. Virulence gene distribution in clinical, nosocomial and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Medical Microbiology, 2010, 59(8): 881-890
- [10] Feinbaum RL, Urbach JM, Liberati NT, et al. Genome-wide identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence-related genes using a *Caenorhabditis elegans* infection model[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(7): e1002813
- [11] GB/T 8538-2008. Methods for examination of drinking natural mineral water[S] (in chinese)
- 国家标准 GB/T 8538-2008. 饮用天然矿泉水检测方法[S]
- [12] Li F. The distribution regularity and genetic diversity of food-borne in packaging drinking nature spring water[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China University of Technology, 2013 (in chinese)
- 李飞. 包装饮用水食源性致病菌分布规律和遗传多样性研究[D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2013