

研究报告

后疫情时代下市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染评估

张园园¹, 赵子驭¹, 张晏宁¹, 韦叶雨¹, 白莉², 王晔茹², 叶可萍^{*1}

1 南京农业大学食品科技学院 国家肉品质量安全控制工程技术研究中心 江苏省肉类生产与加工质量安全控制协同创新中心, 江苏 南京 210095

2 国家食品安全风险评估中心, 北京 100021

张园园, 赵子驭, 张晏宁, 韦叶雨, 白莉, 王晔茹, 叶可萍. 后疫情时代下市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染评估[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3220-3231

Zhang Yuanyuan, Zhao Ziyu, Zhang Yanning, Wei Yeyu, Bai Li, Wang Yeru, Ye Keping. Assessment of *Listeria monocytogenes* contamination in retail fresh pork in the post-COVID-19 era[J]. Microbiology China, 2022, 49(8): 3220-3231

摘要:【背景】2019年底新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)疫情的流行给食品安全带来了挑战。【目的】评估后疫情时代市售生鲜猪肉中单增李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)的污染情况。【方法】选取2020–2021年疫情期间不同地点、不同包装方式、不同季度的生鲜猪肉,分析单增李斯特菌的污染率和污染水平,并对分离菌株的流行病学特征进行分析。【结果】生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率为15.28%(77/504),其中猪肉直营店和农贸市场的污染率高于超市。不同包装方式中,预包装和简易包装的污染率高于散装样品,并且不同季度的污染率存在显著性差异,第三季度污染率最高,为27.78%。定量结果发现,40.26%超过10 MPN/g (MPN: most probable number),其中有3个样品的污染水平超过100 MPN/g。血清型分析结果发现,1/2a-3a (48.05%)和1/2c-3c (44.16%)为主要血清型。耐药性试验结果表明,19.50%的分离株存在多重耐药,有2株(2.60%)对所有抗生素都敏感,68株(88.30%)对苯唑西林耐药,46株(59.70%)对氨苄西林耐药,45株(58.40%)对头孢噻肟耐药。【结论】后疫情时代下不同地点、不同包装方式、不同季度的市售生鲜猪肉中存在不同程度的单增李斯特菌污染,个别产品污染水平较高,血清分布和耐药特征多样,有必要加强食品安全监管,以减少食源性疾病的发生。

关键词: 生鲜猪肉; 单增李斯特菌; 血清型; 耐药性; 后疫情时代; 污染

基金项目: 国家大学生创新训练计划(202110307047); 国家食品安全风险评估项目(08061TQ200003)

Supported by: Program for Student Innovation Through Research and Training (202110307047); National Center for Food Safety Risk Assessment of China (08061TQ200003)

*Corresponding author: E-mail: yekeping.arc@163.com

Received: 2021-12-12; Accepted: 2022-01-31; Published online: 2022-04-01

Assessment of *Listeria monocytogenes* contamination in retail fresh pork in the post-COVID-19 era

ZHANG Yuanyuan¹, ZHAO Ziyu¹, ZHANG Yanning¹, WEI Yeyu¹, BAI Li², WANG Yeru², YE Keping^{*1}

¹ Jiangsu Collaborative Innovation Center of Meat Production and Processing, Quality and Safety Control, National Center of Meat Quality and Safety Control, College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China

² China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China

Abstract: **[Background]** The outbreak of corona virus disease 2019 (COVID-19) at the end of 2019 posed a major challenge to food safety. **[Objective]** To assess the contamination of *Listeria monocytogenes* in commercial fresh pork in Nanjing in the post-COVID-19 era. **[Methods]** We collected the fresh pork samples from different locations and in different packages and quarters during 2020–2021, and then analyzed the contamination rate and level of *L. monocytogenes* and the epidemiological characteristics of the isolates. **[Results]** The contamination rate of *L. monocytogenes* in fresh pork was 15.28% (77/504). The contamination rates of pork from open-air market and pork direct-sale stores were higher than that from supermarkets. Among different packaging methods, pre-package and simple package had higher contamination rate than bulk package. Further, the contamination rate varied significantly among different quarters, being the highest (27.78%) in the third quarter. Quantitative results demonstrated that 40.26% of the positive samples had the contamination level exceeding 10 MPN/g (MPN: most probable number). In particular, the contamination level of three samples exceeded 100 MPN/g. The results of serotyping showed that 1/2a-3a (48.05%) and 1/2c-3c (44.16%) were the main serotypes. Moreover, 19.50% of the isolates were multi-antibiotic resistant, and 2 isolates (2.60%) were sensitive to all the test antibiotics. Among the 77 isolates, 68 (88.30%), 46 (59.70%), and 45 (58.40%) were resistant to oxacillin, ampicillin, and cefotaxime, respectively. **[Conclusion]** In the post-COVID-19 era, the *L. monocytogenes* contamination of fresh pork varied among different locations, packaging methods, and quarters. A few products had high contamination levels, and the serotype distribution and resistance characteristics were diverse. Therefore, it is essential to strengthen food safety supervision to reduce the occurrence of foodborne diseases.

Keywords: fresh pork; *Listeria monocytogenes*; serotype; antibiotic resistance; post-COVID-19 era; contamination

2020年,一场突如其来的新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)疫情席卷全球,具有传染性强、传播速度快、传播途径广等特点,给人们的生活带来巨大的危害。伴随着新型冠状病毒肺炎疫情的常态化及对经

济社会的深刻影响,我国对后疫情时代可能面临的食品安全问题高度重视。在积极防控新型冠状病毒肺炎疫情的大背景下,开展食品中致病菌的污染评估,可以为后疫情时代下的食品安全风险评估及监督管理提供理论基础。单增

李斯特菌(*Listeria monocytogenes*)是一种重要的食源性病原菌,在食品环境中能够广泛传播,而且容易定殖在食品加工器械表面并形成生物膜,同时可以在低温和低 pH 值等恶劣环境中生长,使其污染食品的风险增加。被单增李斯特菌感染会造成昏迷、呼吸困难、败血症、脑膜炎、孕妇流产等后果,严重时甚至导致死亡,致死率高达 20%–30%^[1]。

单增李斯特菌在各类食品中都存在不同程度的污染,其中生鲜肉中单增李斯特菌的污染最严重^[2]。国外监测数据显示,生肉中单增李斯特菌的污染率为:伊朗 14.10%^[3],泰国 15.40%^[4],波特兰 10.80%^[5]。据中国 28 个省份畜禽肉产品中单增李斯特菌的污染结果显示,生鲜猪肉污染率(11.68%)显著高于熟肉制品(4.61%)^[6]。2012–2016 年,有学者从中国 43 个城市采集了 1 212 份零售生猪肉,发现单增李斯特菌的污染率为 18.50% (31/168),其中 90.32% 的阳性样品浓度低于 10 MPN/g (MPN: most probable number), 6.45% 的阳性样品浓度大于 110 MPN/g^[7],由目前国内外监测结果发现,单增李斯特菌的定量监测数据较缺乏。此外,由单增李斯特菌引发的人群感染率也不断增长。有报道 2018 年欧洲确定被单增李斯特菌感染的人数较往年呈显著上升趋势,约 2 550 例感染者^[8]。Li 等^[9]报道,2013–2017 年中国部分哨点医院共有 211 例李斯特菌病例,其中围产期的平均病死率为 31.20%,非围产期的平均病死率为 16.40%。然而李斯特菌病的发生几乎未与生鲜肉存在流行病学联系,由即食食品导致的患病风险较大。

生鲜肉中的单增李斯特菌可能通过不同表面直接或间接接触即食食品而导致交叉污染。为了减少单增李斯特菌引起食源性疾病的发

生,保障消费者的健康,国际上引入了微生物风险评估的概念。开展风险评估可以确定影响不同食品中单增李斯特菌生长的因素,对特定食品引起的单增李斯特菌病的患病风险进行估计,有助于实施有效的风险管理措施,以保障食品安全。目前,国内外学者已经在各类即食食品、奶制品和水产品中开展了单增李斯特菌的风险评估工作^[10]。其中 Sun 等^[11]和 Wang 等^[12]分别对散装熟肉制品和生鲜猪肉中的单增李斯特菌开展风险评估,用概率分布的形式描述单增李斯特菌在各阶段的生长情况,分析得出影响单增李斯特菌生长的重要因素。新型冠状病毒肺炎疫情的暴发使后疫情时代食品安全整体形势更加严峻,而国内外在此期间对生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况监测较少。在确保疫情防控工作的同时,开展生鲜猪肉中单增李斯特菌的监测不仅对防控因单增李斯特菌引发的食品安全、降低居民患病风险具有重要意义,而且可为生鲜猪肉中单增李斯特菌的风险评估提供数据支撑。

单增李斯特菌根据菌体抗原 H 和鞭毛抗原 O 可以分为 13 个血清型(1/2a、1/2b、1/2c、3a、3b、3c、4a、4ab、4b、4c、4d、4e 和 7),研究表明,从食品和患者中分离的菌株,至少 95% 是血清型 4b、1/2a、1/2b 和 1/2c^[13]。近年来,基于聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 的单增李斯特菌分子血清分型技术应运而生。目前,针对李斯特菌病,抗生素的广泛使用导致单增李斯特菌菌株出现耐药性,给人体健康带来巨大挑战和威胁。有报道显示,单增李斯特菌对青霉素、红霉素、氨基糖苷类、链霉素和四环素等常用抗生素已产生不同程度的耐药现象^[14]。对食源性病原体血清型和耐药性的监测可以为病原体引起的临床症状

治疗提供信息。

因此, 研究通过监测 2020 年 10 月至 2021 年 9 月后疫情时代下市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况, 并结合分离菌株耐药性和血清型的研究结果, 可为单增李斯特菌的定量风险评估提供数据支撑, 并为市场监管部门的防控工作提供科学依据, 以便加强新型冠状病毒肺炎疫情期间的食品安全监督管理, 减少后疫情时代食源性疾病的发生。

1 材料与方法

1.1 材料

2020 年 10 月至 2021 年 9 月, 根据不同采样地点、不同季度、不同包装方式采集南京市售生鲜猪肉样品 504 份, 其中每个季度平均采样 126 份; 预包装: 简易包装: 散装的比例为 161:172:171; 超市: 猪肉直营店: 农贸市场的比例为 186:160:158。样品采集后放入有冰袋的泡沫盒中, 4 h 内带回实验室进行检测。

PALCAM 琼脂培养基(PALCAM agar)、李斯特氏菌显色培养基、李斯特菌生化鉴定管、李氏增菌肉汤 LB 培养基、药敏培养基、胰蛋白胍大豆肉汤培养基, 南京迈博生物技术有限公司; DNA 提取试剂盒, 北京天根生物技术有限公司; 药敏纸片, 南京睿翼特生物技术有限公司; 100 bp DNA Marker、Gel-red 染料、Green Master Mix 预混液, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 引物, 南京金斯瑞生物技术有限公司。

拍打式均质器, Interscience 公司; PCR 仪, Eppendorf 公司; 琼脂糖凝胶电泳仪, 南京生兴生物技术有限公司; 凝胶成像分析仪, Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 生鲜猪肉中单增李斯特菌污染率和污染水平的检测

根据 GB 4789.30—2016《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-第三法单核细胞增生李斯特氏菌 MPN 计数法》对生鲜猪肉中单增李斯特菌进行检测^[15]。将生鲜猪肉样品 25 g 放入装有 225 mL LB₁ 增菌液的均质袋中, 从均质后的 LB₁ 取出一定量混合液进行逐级稀释, 选取 3 个适宜连续稀释度的匀液(10^{-1} 、 10^{-2} 和 10^{-3})各吸取 1 mL 接种于 10 mL LB₁ 增菌液, 每一稀释度接种 3 管, 置于 30 °C 培养 24 h。再分别移取 0.1 mL 转接于 10 mL LB₂ 增菌液内, 于 30 °C 培养 24 h 后接种到李斯特菌显色平板, 37 °C 培养 24–48 h 后进行分离鉴定。鉴定结果为阳性的试管数量, 根据 GB 4789.30—2016 查 MPN 检索表得出定量结果。

1.2.2 血清分型

单增李斯特菌分离菌株均接种在胰蛋白胍大豆肉汤培养基中, 37 °C 静置培养 24 h。按照 DNA 提取试剂盒说明书提取细菌基因组 DNA, 并在 -20 °C 保存。单增李斯特菌血清分型采用 Doumith 等^[16]建立的多重 PCR 进行检测分析。该方法将 5 对引物组合成一个多重 PCR 体系。多重 PCR 体系包括 *lmo0737*、*lmo1118*、ORF2819、ORF2110 和 *prs* 引物, 具体引物序列详见表 1。PCR 反应体系(25 μL): *lmo0737*、*lmo1118*、ORF2819 和 ORF2110 上、下游引物(5 μmol/L)各 1 μL, *prs* 上、下游引物(5 μmol/L)各 0.2 μL, 每个 PCR 体系均加入 2×*Taq* PCR Master Mix 12.5 μL, DNA 模板 2 μL, ddH₂O 2.1 μL; PCR 反应条件: 95 °C 4 min; 94 °C 30 s, 54 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 7 min^[17]。PCR 扩增产物用琼脂糖凝胶电泳进行检测, 通过电泳条带得到对应的血清型。

表 1 单增李斯特菌分子血清分型引物信息

Table 1 Information of *L. monocytogenes* molecular serotyping primer sets

引物名称	引物序列	产物长度	血清型特异性
Gene target	Primer sequences (5'→3')	Product size (bp)	Serotype specificity
<i>lmo0737</i> -F	AGGGCTTCAAGGACTTACCC	691	1/2a, 1/2c, 3a, 3c
<i>lmo0737</i> -R	ACGATTTCTGCTTGCCATTC		
<i>lmo1118</i> -F	AGGGGTCTTAAATCCTGGAA	906	1/2c, 3c
<i>lmo1118</i> -R	CGGCTTGTTCCGCATACTTA		
ORF2819-F	AGCAAAATGCCAAAACCTCGT	471	1/2b, 3b, 4b, 4d, 4e, 7
ORF2819-R	CATCACTAAAGCCTCCCATTC		
ORF2110-F	AGTGGACAATTGATTGGTGAA	597	4b, 4d, 4e
ORF2110-R	CATCCATCCCTTACTTTGGAC		
<i>prs</i> -F	GCTGAAGAGATTGCGAAAGAAG	370	All <i>Listeria</i> species
<i>prs</i> -R	CAAAGAAACCTTGATTTGCGG		

1.2.3 耐药性分析

以金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 作为质控菌株,判定标准参照美国临床实验室标准化协会提供的标准^[18]。运用 K-B 纸片扩散法对单增李斯特菌分离株进行耐药性分析。选取 20 种抗生素,用接种环挑取单增李斯特菌菌落接种于 5 mL TSB-YE 培养基中,置于 35 °C 培养 24 h。吸取 0.1 mL 菌液均匀涂布于添加了 5%脱纤维绵羊血的 M-H 琼脂平板表面,将含药纸片贴于含菌平板表面放置 10 min,置于 35 °C 培养 48 h,取出测量抑菌圈直径。

1.2.4 数据处理

采用 SPSS 23 软件进行统计学分析,利用卡

方检验(χ^2)比较不同采样地点、不同包装方式、不同季度的差异性,显著性水平 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同地点市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况

由表 2 可看出,超市采集的猪肉中单增李斯特菌的污染率比猪肉直营店和农贸市场低,说明不同地点生鲜猪肉中都存在单增李斯特菌污染的风险,其中超市污染风险相对较小。卡方检验结果显示不同采样地点生鲜猪肉中单增李斯特菌污染率无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 不同地点生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率

Table 2 Contamination rate of *L. monocytogenes* in fresh pork from different locations

采样地点	样品数	检出数	污染率
Sampling locations	Number of samples (copies)	Positive samples (copies)	Contamination rate (%)
超市	186	25	13.44
Supermarket			
猪肉直营店	160	28	17.50
Open-air market			
农贸市场	158	24	15.19
Pork direct-sale stores			

2.2 不同包装方式市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况

从不同包装方式来看(表 3), 预包装和简易包装猪肉中单增李斯特菌的污染率比散装高, 但卡方检验结果显示不同包装方式生鲜猪肉中单增李斯特菌污染率无显著性差异($P>0.05$)。说明包装有导致单增李斯特菌污染的风险。

2.3 不同季度市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况

由表 4 可知, 不同季度生鲜猪肉中单增李斯特菌污染率有显著性差异, $\chi^2=32.175$, $P<0.01$ 。第三季度污染率最高, 为 27.78%, 第四季度最低, 为 4.76%, 可以看出生鲜猪肉中单增李斯特菌污染率与季节有关, 随着温度的升高, 污染率

增加。

2.4 生鲜猪肉中单增李斯特菌的定量污染水平

由表 5 可以看出, 生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率为 15.28% (77/504), MPN 定量检测结果表明, 59.74% (46/77)阳性样品中单增李斯特菌的污染水平低于 10 MPN/g, 40.26%超过 10 MPN/g, 其中有 3 份样品的污染水平高于欧盟委员会 No. 1441/2007 文件中关于食品中单增李斯特菌的限量标准(100 MPN/g)^[19]。此外, 低于 100 MPN/g 的阳性样品在简易包装中占比较大。结果发现, 虽然生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染水平大部分在限量标准内, 但仍存在高污染水平的风险。

表 3 不同包装方式生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率

Table 3 Contamination rate of *L. monocytogenes* in fresh pork with different packaging methods

包装方式 Packaging methods	样品数 Number of samples (copies)	检出数 Positive samples (copies)	污染率 Contamination rate (%)
预包装 Pre-package	161	24	14.91
简易包装 Simple package	172	31	18.02
散装 Bulk package	171	22	12.86

表 4 不同季度生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率

Table 4 Contamination rate of *L. monocytogenes* in fresh pork in different seasons

季度 Quarters	样品数 Number of samples (copies)	检出数 Positive sample (copies)	污染率 Contamination rate (%)
1	126	11	8.73c
2	126	25	19.84b
3	126	35	27.78a
4	126	6	4.76d

注: 同列污染率中不同字母表示存在显著性差异($P<0.01$)

Note: Those with different letters in the same column of contamination rates indicate significant differences ($P<0.01$).

表 5 生鲜猪肉中单增李斯特菌污染水平的分析

Table 5 Analysis of contamination level of *L. monocytogenes* in fresh pork

序号 No.	污染水平 Contamination level (MPN/g)	检出数 Positive sample (copies)	超市:猪肉直营店:农贸市场 Supermarket: open-air market: pork direct-sale stores	预包装:简易包装:散装 Pre-package: simple package: bulk package
1	3-10	46	14:18:14	13:22:11
2	10-100	28	9:10:9	9:9:10
3	>100	3	2:0:1	2:0:1

2.5 分离株的血清型分析

如图 1 所示,单增李斯特菌分离株共鉴定出 4 种不同的血清型,其中,48.05% (37/77)为 1/2a-3a,44.16% (34/77)为 1/2c-3c,6.49% (5/77)为 1/2b-3b-7,1.30% (1/77)为 4b-4d-4e。由结果可知,分离株血清型主要为 1/2a-3a 和 1/2c-3c。

2.6 分离株的耐药性分析

将分离的 77 株单增李斯特菌对 20 种抗生素

进行药敏试验,如表 6 所示,19.5% (15/77)分离株具有多重耐药性,其中,10 株为血清型 1/2c-3c,血清型 1/2b-3b-7 和 1/2a-3a 各 2 株,另外一株为毒力较强的血清型 4b-4d-4e。有 2 株 (2.6%)对所有抗生素都敏感,血清型均为 1/2c-3c。其他菌株分别对 1 种(20.8%)、2 种(14.3%)、3 种(42.9%)、4 种(14.3%)、5 种(2.6%)、6 种(1.3%)和 7 种(1.3%)不同抗生素有耐药性。

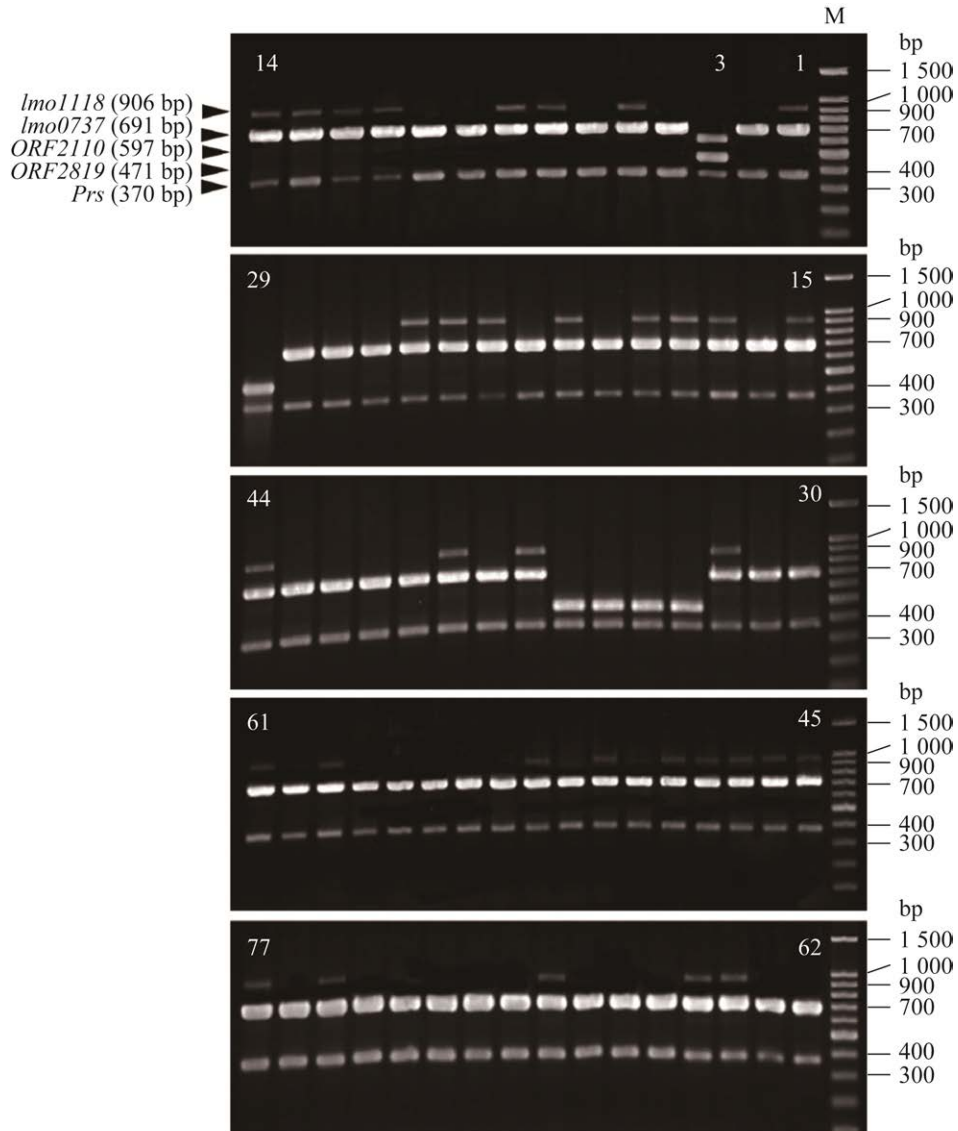


图 1 生鲜猪肉中分离的单增李斯特菌血清型分布

Figure 1 Serotypes distribution of *L. monocytogenes* strains isolated from fresh pork. From right to left are the numbers of the isolates. For example, sample No. 1 is serotype 1/2c-3c, sample No. 3 is serotype 4b-4d-4e, sample No. 29 is serotype 1/2b-3b-7, sample No. 30 is 1/2a-3a serotype, M is DNA Marker.

表 6 生鲜猪肉中分离的单增李斯特菌耐药试验结果

Table 6 Antibiotic resistance results of *L. monocytogenes* strains isolated from fresh pork

抗生素名称	耐受	中度耐受	敏感
Antimicrobial agents	Resistant	Intermediate	Sensitive
头孢噻肟 Cefotaxime	45 (58.4)	26 (33.8)	6 (7.8)
头孢噻吩 Cefotiofene	0 (0)	1 (1.3)	76 (98.7)
头孢哌酮 Cefoperazone	3 (3.9)	37 (48.1)	37 (48.1)
阿米卡星 Amikacin	0 (0)	0 (0)	77 (100)
庆大霉素 Gentamicin	0 (0)	0 (0)	77 (100)
链霉素 Streptomycin	4 (5.2)	1 (1.3)	72 (93.5)
四环素 Tetracycline	2 (2.6)	13 (16.9)	62 (80.5)
多西环素 Doxycycline	3 (3.9)	4 (5.2)	70 (90.9)
环丙沙星 Ciprofloxacin	0 (0)	0 (0)	77 (100)
左氧氟沙星 Levofloxacin	0 (0)	0 (0)	77 (100)
呋喃妥因 Nitrofurantoin	1 (1.3)	7 (9.1)	69 (89.6)
利福平 Rifampicin	0 (0)	0 (0)	77 (100)
甲氧苄胺嘧啶 Trimethoprim	12 (15.6)	2 (2.6)	63 (81.8)
青霉素 Penicillin	1 (1.3)	0 (0)	76 (98.7)
氨苄西林 Ampicillin	46 (59.7)	8 (10.4)	23 (29.9)
苯唑西林 Oxacillin	68 (88.3)	0 (0)	9 (11.7)
万古霉素 Vancomycin	0 (0)	0 (0)	77 (100)
红霉素 Erythromycin	4 (5.2)	0 (0)	73 (94.8)
氯霉素 Chloramphenicol	2 (2.6)	0 (0)	75 (97.4)
亚胺培南 Imipenem	8 (10.4)	8 (10.4)	61 (79.2)

从抗生素角度来看, 77 株分离株对庆大霉素、青霉素、万古霉素和环丙沙星等敏感比例较高, 有 68 株单增李斯特菌(88.3%)对苯唑西林耐药, 46 株(59.7%)对氨苄西林耐药, 45 株(58.4%)对头孢噻肟耐药。此外, 分别有 12 株(15.6%)对甲氧苄胺嘧啶、8 株(10.4%)对亚胺培南耐药。所有分离株均对四环素、呋喃妥因、氨苄西林、头孢哌酮等表现出较高的中度耐药。

3 讨论

新型冠状病毒肺炎疫情的暴发严重影响了人们的正常生活, 同时也给我国食品行业带来了巨大考验。后疫情时代, 食品安全与清洁卫生水平引起大众的高度重视, 调查食品中致病菌污染情况对疫情期间加强食品安全管理具有一定的

理论参考意义。本研究监测了后疫情时代市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况, 与 2015 年 Wang 等^[12]的结果(污染率 5.5%, 污染水平平均小于 100 MPN/g)相比, 市售生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率大幅增加, 而且有个别样品污染水平较高, 说明生鲜猪肉因单增李斯特菌引发食源性疾病的风险在增大, 需要引起更多的关注。此外, 有学者调查显示, 国内各市生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染率范围较广, 最高可达 56.0%^[20]。造成不同地方生鲜猪肉中单增李斯特菌污染率差异的原因可能与屠宰场的加工环境、运输环节冷链的控制、市场销售的卫生状况及实地采样情况等条件有关。

在不同场所采集的生鲜猪肉中, 单增李斯特菌在超市的污染率(13.44%)低于猪肉直营店

(17.50%)和农贸市场(15.19%),这一现象与田巍威等^[21]研究结果一致,原因可能是农贸市场和猪肉直营店的市场环境较复杂,建议加强卫生管理,避免交叉污染。此外,本试验表明预包装和简易包装的污染率高于散装,朱磊等^[22]和朱静鸿等^[23]研究也同样发现定型包装食品中单增李斯特菌的检出率高于散装食品,与本研究结果相一致,说明包装有导致单增李斯特菌污染的风险。根据不同季度分析生鲜猪肉中单增李斯特菌的污染情况发现,污染率随着季度温度的升高而增加,第三季度的温度接近单增李斯特菌的最适生长温度(30–37 °C),污染率最高^[24]。然而由于单增李斯特菌在 4 °C 条件下仍然能生长繁殖,并能耐受–20 °C 低温^[25],所以在温度较低的第一季度和第四季度仍然可以在生鲜猪肉中检出单增李斯特菌,这一现象与乌日娜等^[26]和沈托等^[27]的研究结果一致。因此,在二、三季度售卖生鲜猪肉时,工作人员更要格外注意卫生,定期清洁消毒,食品监管部门应当重点加强对这 2 个季度食品的安全监督。

单增李斯特菌的致病力与血清型有着密切联系,菌株的血清型分型对食品链中李斯特菌病的监测、暴发诊断及溯源研究具有重要作用。本研究中单增李斯特菌 1/2a-3a 血清型检出率较高,此结果与国内外其他研究^[28-29]一致。侯配斌等^[30]和 Korsak 等^[31]分别对各类食品中分离的单增李斯特菌进行血清型分析,均发现 1/2c 和 1/2a 占比较大,同时也说明这 2 种血清型在食品中较为普遍。此外,本研究还获得一株血清型为 4b-4d-4e 的多重耐药性菌株,有报道显示 4b-4d-4e 血清型的单增李斯特菌可能具有较强的毒力,容易引起人类李斯特菌病的暴发,所以要加强对该血清型的监测,减少食源性疾病的发生^[32]。

细菌耐药问题一直是国内外的关注焦点和

研究热点,世界卫生组织(World Health Organization, WHO)已将其列为最大的公共安全问题之一。本研究有 15 株菌对 4 种以上不同的抗生素具有多重耐药性,目前不同地区分离菌株的多重耐药率也存在较大的差异,这可能是由于不同地区抗菌药物使用的差异及分离株本身性质的区别^[12]。此外,本研究 66.7% (10/15)的多重耐药菌株的血清型为 1/2c-3c,有一株为毒力较强的 4b-4d-4e 血清型,所以分离菌株的血清型与耐药性之间可能存在一定的相关性,在治疗与以上血清型有关的感染性疾病时可以优先使用较为敏感的药物,减少或避免使用已明显产生耐药性的药物。77 株分离株对庆大霉素、青霉素、万古霉素、环丙沙星等敏感数量较多,与 Chen 等^[33]的研究结果一致,其中对庆大霉素敏感的原因可能是因为该抗生素不再用于兽医治疗,也不再作为常规动物育肥的生长促进剂^[34]。目前万古霉素是治疗人类李斯特病的主要抗生素之一,被誉为“抗生素的最后一道防线”。此外,本研究有 68 株(88.3%)对苯唑西林耐药,说明抗生素在广泛使用中仍存在严重的滥用现象,增加了感染性疾病治愈的难度。根据世界卫生组织分类,苯唑西林是非常重要的抗菌药物,属于兽医和人类医学中使用的主要抗生素类别^[35]。本研究 46 株(59.7%)对氨苄西林耐药的现象可能是由于氨苄西林是首选抗生素,广泛用于人类李斯特菌病的治疗^[36]。四环素在农业上的广泛应用,使抗生素耐药性通过食物链传递给了人类病原菌,导致分离株具有较高的中度耐药^[37]。耐药菌株的出现会降低临床治疗的有效性,并且增加食源性疾病的严重性。因此,要注重加强抗菌药物的管理,合理使用抗生素。

4 结论

总之,本研究监测了后疫情时代市售生鲜猪

肉中单增李斯特菌的污染情况,为单增李斯特菌的定量风险评估提供了数据支撑。分离菌株的血清型分布和多重耐药性使单增李斯特菌引起的疾病治愈更加困难,存在潜在的公共健康风险。因此,在后疫情时代有关部门应当加强生鲜猪肉加工、运输、销售等环节的监管,消费者应提高食品安全风险防范意识,以防止风险叠加,保障消费者健康。

REFERENCES

- [1] Muhterem-Uyar M, Dalmasso M, Bolocan AS, Hernandez M, Kapetanakou AE, Kuchta T, Manios SG, Melero B, Minarovičová J, Nicolau AI, et al. Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios[J]. *Food Control*, 2015, 51: 94-107
- [2] Osaili TM, Alaboudi AR, Nesiari EA. Prevalence of *Listeria* spp. and antibiotic susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolated from raw chicken and ready-to-eat chicken products in Jordan[J]. *Food Control*, 2011, 22(3/4): 586-590
- [3] Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Rahnama M, Tahmasby H, Mahzounieh M. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria* species isolated from poultry products marketed in Iran[J]. *Food Control*, 2012, 28(2): 327-332
- [4] Indrawattana N, Nidabhasobon T, Sookrung N, Chongsang-nguan M, Tungtrongchitr A, Makino SI, Tungyong W, Chaicumpa W. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw meats marketed in Bangkok and characterization of the isolates by phenotypic and molecular methods[J]. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 2011, 29(1): 26-38
- [5] Wiczorek K, Dmowska K, Osek J. Prevalence, characterization, and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolates from bovine hides and carcasses[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(6): 2043-2045
- [6] Li WW, Bai L, Fu P, Han HH, Liu JK, Guo YC. The epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2018, 15(8): 459-466
- [7] Chen MT, Cheng JH, Zhang JM, Chen YT, Zeng HY, Xue L, Lei T, Pang R, Wu S, Wu HM, et al. Isolation, potential virulence, and population diversity of *Listeria monocytogenes* from meat and meat products in China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 946
- [8] European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). The European union one health 2018 zoonoses report[J]. *EFSA Journal*, 2019, 17(12): e05926
- [9] Li WW, Bai L, Ma XC, Zhang XL, Li XP, Yang XR, Huang JY, Fanning S, Guo YC. Sentinel listeriosis surveillance in selected hospitals, China, 2013-2017[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2019, 25(12): 2274-2277
- [10] Ross T, Rasmussen S, Fazil A, Paoli G, Sumner J. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats in Australia[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2009, 131(2/3): 128-137
- [11] Sun WX, Liu YT, Wang X, Liu Q, Dong QL. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in bulk cooked meat from production to consumption in China: a Bayesian approach[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(6): 2931-2938
- [12] Wang K, Ye KP, Zhu YP, Huang Y, Wang GY, Wang HH, Zhou GH. Prevalence, antimicrobial resistance and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolated from chilled pork in Nanjing, China[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 64(2): 905-910
- [13] Jamali H, Thong KL. Genotypic characterization and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* from ready-to-eat foods[J]. *Food Control*, 2014, 44: 1-6
- [14] Doménech E, Jimenez-Belenguer A, Amorós JA, Ferrus MA, Escriche I. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* strains isolated in ready-to-eat foods in Eastern Spain[J]. *Food Control*, 2015, 47: 120-125
- [15] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 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—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017
- National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National Food Safety Standard Food Microbiological Examination of *Listeria Monocytogenes*: GB 4789.30—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017 (in Chinese)
- [16] Doumith M, Buchrieser C, Glaser P, Jacquet C, Martin P.

- Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42(8): 3819-3822
- [17] 蒋兵. 单增李斯特菌在猪、鸡肉品加工及销售过程中的污染情况及基因分型研究[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2018
- Jiang B. The pollution analysis and genotyping of *Listeria monocytogenes* in the processing and marketing of pork and chicken[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2018 (in Chinese)
- [18] Clinical and Laboratory Standard Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria: M45A-A2[M]. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2010: 12-13
- [19] European Commission. Commission regulation (EC) No.1441/2007, amending regulation (EC) No. 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs[S]. *Official Journal of the European Union*, 2007, L322, 12-29
- [20] 宫春波, 董峰光, 王朝霞, 孙月琳. 烟台市售肉及肉制品中单增李斯特氏菌的污染及其风险评价[J]. *食品科技*, 2013, 38(6): 132-136
- Gong CB, Dong FG, Wang ZX, Sun YL. Risk assessment and investigation of *Listeria monocytogenes* contamination of meat and meat products at retail in Yantai[J]. *Food Science and Technology*, 2013, 38(6): 132-136 (in Chinese)
- [21] 田巍威, 周汉红, 薛镗, 常虹, 李红. 2010-2013 年达州市市售食品单增李斯特菌污染监测结果分析[J]. *现代预防医学*, 2015, 42(17): 3214-3215
- Tian WW, Zhou HH, Xue L, Chang H, Li H. Analysis of monitoring result of *Listeria monocytogenes* in the Dazhou market food, 2010-2013[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2015, 42(17): 3214-3215 (in Chinese)
- [22] 朱磊, 陈秀红, 朱慧琳, 杨步财. 2013 年滁州市食源性致病菌监测分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(1): 372-376
- Zhu L, Chen XH, Zhu HL, Yang BC. Surveillance of food-borne pathogens in Chuzhou in 2013[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2015, 6(1): 372-376 (in Chinese)
- [23] 朱静鸿, 龚云伟, 武艳力. 食品中单核细胞增生李斯特菌污染状况调查[J]. *中国卫生工程学*, 2016, 15(5): 491-493
- Zhu JH, Gong YW, Wu YL. Investigation of *Listeria monocytogenes* contamination in food[J]. *Chinese Journal of Public Health Engineering*, 2016, 15(5): 491-493 (in Chinese)
- [24] 芦丹, 刘国蓉, 李宏通, 舒高林, 刘毅, 牛桓彩. 北京市昌平区 2010-2015 年市售食品中单核细胞增生李斯特菌污染状况分析[J]. *实用预防医学*, 2018, 25(3): 264-266
- Lu D, Liu GR, Li HT, Shu GL, Liu Y, Niu HC. Contamination by *Listeria monocytogenes* in commercially available food in Changping district, 2010-2015[J]. *Practical Preventive Medicine*, 2018, 25(3): 264-266 (in Chinese)
- [25] 林梅, 李晓华, 朱衍馨, 朱瑞明, 王桂玲. 防治食品李斯特菌污染的方法及措施[J]. *东南国防医药*, 2011, 13(6): 569-570
- Lin M, Li XH, Zhu YX, Zhu RM, Wang GL. Methods and measures to prevent and control *Listeria contamination* in food[J]. *Military Medical Journal of Southeast China*, 2011, 13(6): 569-570 (in Chinese)
- [26] 乌日娜, 刘翔, 郭邦成, 闫立群, 张玉平. 银川市市售食品中单增李斯特菌污染状况分析研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(18): 5958-5961
- Wu RN, Liu X, Guo BC, Yan LQ, Zhang YP. Analysis of contamination status of *Listeria monocytogenes* from retail food in Yinchuan[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, 42(18): 5958-5961 (in Chinese)
- [27] 沈托, 焦莉萍, 李通情, 张系忠, 刘玮, 魏惠琴, 魏明敏. 2011-2015 年渭南市市售食品中单核细胞增生李斯特菌污染状况监测与分析[J]. *实用预防医学*, 2018, 25(1): 66-69
- Shen T, Jiao LP, Li TQ, Zhang XZ, Liu W, Wei HQ, Wei MM. Contamination status of *Listeria monocytogenes* in market-sold food in Weinan city, 2011-2015[J]. *Practical Preventive Medicine*, 2018, 25(1): 66-69 (in Chinese)
- [28] Shimojima Y, Ida M, Nakama A, Nishino Y, Fukui RE, Kuroda S, Hirai A, Kai A, Sadamasu K. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Tokyo, Japan[J]. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2016, 78(7): 1183-1187
- [29] Chen MT, Wu QP, Zhang JM, Wu S, Guo WP. Prevalence, enumeration, and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from raw foods in South China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1026
- [30] 侯配斌, 陈玉贞, 李心朋, 李文, 刘静, 董海燕, 王梅, 张华宁. 2013-2016 年山东省食品中单核细胞增生李

- 斯特菌的血清型、耐药性及分子分型分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2020, 24(2): 160-163, 169
- Hou PB, Chen YZ, Li XP, Li W, Liu J, Dong HY, Wang M, Zhang HN. Antibiotic resistance, serotype and molecular typing of *Listeria monocytogenes* from foods in Shandong province from 2013 to 2016[J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2020, 24(2): 160-163, 169 (in Chinese)
- [31] Korsak D, Borek A, Daniluk S, Grabowska A, Pappelbaum K. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food and food processing environment in Poland[J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 158(3): 203-208
- [32] 贾忠兰, 叶长芸, 许丽风, 王怡倩. 围产期李斯特菌感染 6 例的临床及分子特征[J]. 中国感染与化疗杂志, 2020, 20(3): 282-287
- Jia ZL, Ye CY, Xu LF, Wang YQ. Clinical and molecular characteristics of six cases of perinatal listeriosis[J]. Chinese Journal of Infection and Chemotherapy, 2020, 20(3): 282-287 (in Chinese)
- [33] Chen MT, Wu QP, Zhang JM, Yan ZA, Wang J. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from retail-level ready-to-eat foods in South China[J]. Food Control, 2014, 38: 1-7
- [34] Harakeh S, Saleh I, Zouhairi O, Baydoun E, Barbour E, Alwan N. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from dairy-based food products[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(13): 4022-4027
- [35] Wiczorek K, Dmowska K, Osek J. Characterization and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from retail beef meat in Poland[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2012, 9(8): 681-685
- [36] Conter M, Paludi D, Zanardi E, Ghidini S, Vergara A, Ianieri A. Characterization of antimicrobial resistance of foodborne *Listeria monocytogenes*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 128(3): 497-500
- [37] Wang HH, Manuzon M, Lehman M, Wan K, Luo HL, Wittum TE, Yousef A, Bakaletz LO. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes[J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 254(2): 226-231