

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250213005

引用格式: 张璐, 高腾, 黄亮, 等. 基于基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法快速鉴定食品中肠杆菌科细菌及耐药性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(8): 131–138.

ZHANG L, GAO T, HUANG L, *et al.* Rapid identification and drug resistance analysis of Enterobacteriaceae bacteria in food based on matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(8): 131–138. (in Chinese with English abstract).

基于基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法快速 鉴定食品中肠杆菌科细菌及耐药性分析

张璐, 高腾, 黄亮, 王世洁, 李卉, 赵培蓓, 连莹莹, 方彦飞, 路瑞玲, 李伟昊*
(邯郸市疾病预防控制中心, 邯郸 056008)

摘要: **目的** 了解邯郸地区 3 类食品中肠杆菌科细菌的污染分布与耐药情况, 构建食源性肠杆菌科的污染数据库。**方法** 采集邯郸市 2023—2024 年市售食药物质、特殊膳食用食品和坚果与籽类及其加工制品类食品, 通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱进行肠杆菌科分离鉴定, 同时对肠杆菌科开展定量计数和药敏检测。**结果** 196 份食品中, 检出肠杆菌科阳性样品 22 份, 阳性率 11.2%。散装食品中肠杆菌科检出率 20.0% 高于预包装食品中的检出率 6.3%, 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.415$, $P<0.05$)。肠杆菌科细菌污染量总范围在 1.00~4.67 lg CFU/g 之间。22 份阳性食品中鉴定出 31 株肠杆菌科细菌, 其中包括 9 个属 17 种细菌。15 种抗生素的药敏实验中 32.26% 的肠杆菌科细菌为耐药株, 其中氨苄西林(25.81%)和头孢他啶(12.90%)耐药率相对较高, 氯霉素、复方新诺明、粘菌素、头孢噻肟、氨苄西林/舒巴坦和四环素耐药率较低(耐药率均 $\leq 10.00\%$), 而对厄他培南、美罗培南、头孢他啶/阿维巴坦、替加环素、环丙沙星、萘啶酸和阿米卡星的敏感率均为 100.00%。散装红枣中检出 1 株非脱羧勒克氏菌耐抗生素种类最多。**结论** 邯郸地区食品中存在一定程度的肠杆菌科细菌污染, 散装食品明显比预包装食品污染率高, 肠杆菌科细菌检出种类繁多, 不同细菌耐药性差异明显, 需进一步加强针对性监测工作, 以防控食源性疾病。

关键词: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法; 食源性疾病; 肠杆菌科; 耐药性

Rapid identification and drug resistance analysis of Enterobacteriaceae bacteria in food based on matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry

ZHANG Lu, GAO Teng, HUANG Liang, WANG Shi-Jie, LI Hui, ZHAO Pei-Bei,
LIAN Ying-Ying, FANG Yan-Fei, LU Rui-Ling, LI Wei-Hao*
(Handan Center for Disease Control and Prevention, Handan 056008, China)

收稿日期: 2025-02-13

基金项目: 邯郸市科技计划项目(23422083171)

第一作者: 张璐(1989—), 女, 硕士, 主管技师, 主要研究方向为食品微生物检验。E-mail: 15133083529@163.com

*通信作者: 李伟昊(1976—), 男, 博士, 主任技师, 主要研究方向为生化与分子生物学。E-mail: hdliweiha@126.com

ABSTRACT: Objective To understand the contamination distribution and drug resistance of Enterobacteriaceae bacteria in 3 types of food in Handan Area, and to build a contamination database of foodborne Enterobacteriaceae.

Methods Food and drug substances, food for special diet, nuts and seeds and their processed products were collected in Handan City from 2023 to 2024. Enterobacteriaceae were isolated and identified by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry, and quantitative count and drug sensitivity test of Enterobacteriaceae were performed. **Results** Among 196 food samples, 22 samples were positive for Enterobacteriaceae, positive rate 11.2%. The detection rate of Enterobacteriaceae in bulk food was 20.0% higher than 6.3% in pre-packaged food, and the difference was statistically significant ($\chi^2=8.415$, $P<0.05$). The total contamination of Enterobacteriaceae ranged from 1.00–4.67 lg CFU/g. The 31 strains of Enterobacteriaceae were identified in 22 positive foods, including 17 kinds of bacteria from 9 genera. In the drug susceptibility test of 15 kinds of antibiotics, 32.26% of Enterobacteriaceae bacteria were drug-resistant strains, and the resistance rates of ampicillin (25.81%) and ceftazidime (12.90%) were relatively high, while the resistance rates of chloramphenicol, compound sulfamethoxazole tablets, colistin, cefotaxime, ampicillin/sulbactam and tetracycline were relatively low (all resistance rates $\leq 10.00\%$). The sensitivity to ertapenem, meropenem, ceftazidime/avibactam, tigacycline, ciprofloxacin, nalidixic acid and amikacin was 100.00%. One strain of *Leclercia adecarboxylata* was detected in bulk jujube, which was resistant to the most types of antibiotics. **Conclusion** There is a certain degree of Enterobacteriaceae bacteria contamination in food in Handan Area, and the contamination rate of bulk food is significantly higher than that of pre-packaged food. A wide variety of Enterobacteriaceae bacteria are detected, and the drug resistance of different bacteria is significantly different. Targeted monitoring should be further strengthened to prevent and control foodborne diseases.

KEY WORDS: matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry; foodborne disease; Enterobacteriaceae; drug resistance

0 引言

肠杆菌科(Enterobacteriaceae)细菌包括一大类在自然界分布广泛的生物性状相近的革兰氏阴性无芽孢杆菌^[1]。肠杆菌科细菌种类繁多,大多数为定植于人体和动物肠道的正常菌群,但当宿主免疫力低下,或宿主与菌群间平衡关系被破坏,其中部分条件致病菌就可能转变成致病菌进而引起人类或动物疾病。例如,肠杆菌属(*Enterobacter*)、变形杆菌属(*Proteus*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)为常见的条件致病菌^[2]。肠杆菌科中少部分为致病菌,包括高致病性的鼠疫耶尔森菌(*Yersinia pestis*)和可引起肠道感染的志贺菌属(*Shigella*)、沙门氏菌属(*Salmonella*)以及埃希氏菌属(*Escherichia*)等^[3]。近年来,世界范围内由于摄入被肠杆菌科污染的食品而导致食源性疾病的事件频发,严重威胁公共卫生安全^[4]。据报道,仅美国每年由食源性病原体引起4000多万例疾病,死亡人数更是超过几千人^[5],造成约达百亿美元经济损失^[6-7]。我国食源性疾病的情况也不容乐观,平均每6.5人中就有1人因摄入致病菌污染的食品而患病。2020年吉林“酸汤子”中毒事件和2021年河南“学生营养餐”事件,不仅对公众健康造成威胁,更加引发公共信任危机,影响社会稳定。因此,人们特别关注食品中微生物的

安全问题,与大肠菌群、粪大肠菌群等其他指标菌相比,以肠杆菌科作为卫生指标菌来评价食品的卫生状况更加敏感和精确,对公共卫生有更重要的意义^[8]。随着抗菌药物使用剂量和时间等方面的不规范使用增多,细菌耐药性已成为全球日趋严重的问题^[9-10]。尤其肠杆菌科细菌中多重耐药菌的占比较大,使其成为临床治疗的棘手问题,应特别引起关注^[4,11]。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)鉴定食源性致病菌主要是通过采集软电离后微生物菌体的蛋白质、脂多糖、多肽等成分的加氢离子特异性指纹图谱,与数据库中的标准图谱分析比对,得到最接近菌种的分值鉴定,以此来区分和鉴定样品中微生物的种类。传统微生物检测方法耗时费力,操作复杂,仅适用于一类菌种的鉴定,需要极强的专业技术;聚合酶链反应方法成本高,耗时较长,会有假阳性结果;而MALDI-TOF MS因其操作流程简单,分析速度快,低成本、高通量、高准确度等优点被临床实验室认可和接受,并且在食源性病原体检测、抗生素耐药性检测以及药理学中发挥着重要的作用^[12-13]。近些年,关于邯郸地区食品中微生物污染和耐药情况鲜有报道,为了解河北省邯郸地区市售食品中肠杆菌科的污染分布及菌群耐药情况,建立本

地区食品中肠杆菌科的污染数据库,本研究采用MALDI-TOF MS方法分离鉴定了邯郸市2023—2024年市售食品中肠杆菌科细菌,并对分离菌株开展了耐药性分析。为邯郸市食品安全监督管理和临床针对肠杆菌科细菌抗菌药物的合理使用提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

依据2023—2024年《国家食品污染和有害因素风险监测工作手册》要求,通过随机抽样的方式共采集196份样品,包括食物质113份、特殊膳食用食品42份、坚果与籽类及其加工制品41份。样本主要来自邯郸18个县区餐饮服务和流通的各种环节,如小、中、大型餐馆,便利店/零售店、超市、农贸市场、路边摊位、网店等。所有样品的采样时间和地点在4个季度、18个县区均匀覆盖。预包装食品指预先定量包装或制作在包装材料和容器中的食品,且在一定限量范围内具有统一的质量或体积标识,标签标示应包括食品名称、配料表、生产者、贮存条件等信息。散装食品是指未预先定量包装,需通过称重、计量等方式销售的非密封食品,或虽预先包装但需拆封后按需称重销售的食品。样品采集后在原有储存温度下运输,4 h内送达实验室检验。采样时应确保有效期内的样品包装完好,并注意避免污染。

氧化酶试剂、革兰氏染色液(青岛高科技工业园海博生物技术有限公司);缓冲蛋白胨水(buffered peptone water, BPW)、营养琼脂(nutrient agar, NA)、结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂(violet red bile glucose agar, VRBGA)、葡萄糖琼脂(北京陆桥技术股份有限公司); α -氰基-4-羟基肉桂酸(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid, HCCA)、标准细菌测试溶液(bacteria test standard, BTS)(德国Bruker公司);肠杆菌药敏检测试剂盒(郑州安图生物工程股份有限公司);大肠埃希氏菌 ATCC25922(广东环凯微生物科技有限公司)。使用以上试剂时均在有效期内^[14]。

1.2 仪器与设备

Microflex LRF 质谱仪(德国 Bruker 公司); AutoMic-i600 全自动微生物鉴定药敏分析仪(郑州安图生物工程股份有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 肠杆菌科菌落计数和确认

参照2023—2024年《国家食品污染和有害因素风险监测工作手册》,依据GB 4789.41—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 肠杆菌科检验》平板计数法检测肠杆菌科,对采集的食品样品进行典型菌落的计数和确认。

1.3.2 MALDI-TOF MS 鉴定肠杆菌科

挑取营养琼脂上典型单菌落均匀涂抹于MALDI靶板的靶位上,并记录样本位置和编号;加入1 μ L BTS标准品溶液至靶位中,自然晾干;标准品或样本靶位上先加1 μ L 70%甲酸,干燥后再加1 μ L HCCA基质溶液,自然晾干^[15]。将靶板放入质谱仪,采用BTS标准品质谱图对仪器进行校准。使用校准后的参数对样本进行检测,选取鉴定分值高于2.0为肠杆菌科阳性。河北省疾病预防控制中心对所有阳性菌株复核确认。

1.3.3 药敏检测

将分离后新鲜的纯菌配制成0.5麦氏浊度的菌悬液,取100 μ L加入16.0 mL肠杆菌培养液中混匀,再向接种后的培养液中滴加1滴显色液(主要成分为刃天青),混匀。然后将培养液和肠杆菌药敏板放入AutoMic-i600全自动微生物鉴定药敏分析仪,严格按照仪器使用说明书进行操作,实验结束后进行结果判读。抗生素的种类主要有碳青霉烯类、氨基糖苷类、 β -内酰胺类、头孢类、喹诺酮类等,包括氯霉素(chloramphenicol, CHL)、复方新诺明(compound sulfamethoxazole tablets, SXT)、粘菌素(colistin, COL)、厄他培南(ertapenem, ETP)、美罗培南(meropenem, MEM)、头孢噻肟(cefotaxime, CTX)、头孢他啶(ceftazidime, CAZ)、头孢他啶/阿维巴坦(ceftazidime/avibactam, CZA)、四环素(tetracycline, TCY)、替加环素(tigecycline, TGC)、环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、萘啶酸(nalidixic acid, NAL)、阿米卡星(amikacin, AMK)、氨苄西林(ampicillin, AMP)、氨苄西林/舒巴坦(ampicillin/sulbactam, SAM)共15种抗菌药物。以大肠埃希氏菌 ATCC25922 为质控菌株,药物敏感性的判读依据是美国临床和实验室标准协会(Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI) CLSI-M100 ED34 执行标准。

1.4 数据处理

实验数据采用SPSS 23.0软件进行统计分析,使用 χ^2 检验进行组间差异的比较, $\alpha=0.05$ 为检验水准,以平均数 \pm 标准偏差表示计量数据, $P<0.05$ 表示存在统计学差异。

2 结果与分析

2.1 肠杆菌科监测结果

2.1.1 肠杆菌科定性监测结果

(1)菌落形态与总体污染情况

肠杆菌科细菌在VRBGA分离平板上典型的菌落形态是粉红色,红色或紫色,有或无沉淀环的菌落,选取典型菌落划线至NA平板进行确认,在NA平板上为湿润、光滑、灰白色的中等大小菌落,如图1(以霍氏肠杆菌为例)。

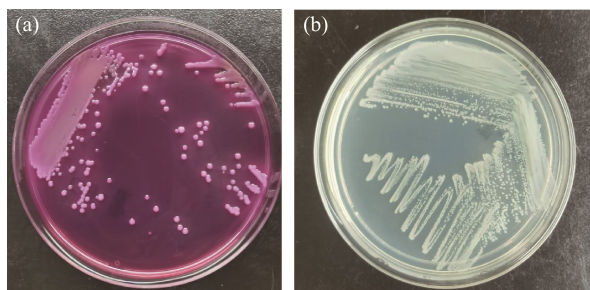


图1 霍氏肠杆菌在VRBGA (a)和NA (b)平板上的菌落形态
Fig.1 Colony morphology of *Enterobacter hormaechei* on VRBGA (a) and NA (b) plates

2023—2024年,选取196份食品(包括食药物质、特殊膳食食用食品和坚果与籽类及其加工制品)开展肠杆菌科细菌监测。3大类食品中,检出肠杆菌科阳性食品22份,阳性率11.2%。

(2)不同年度和不同类别食品中肠杆菌科监测结果

2023年食品中肠杆菌科检出率为11.0% (16/146),2024年食品中肠杆菌科检出率为12.0% (6/50),不同年度的肠杆菌科检出率无显著性差异($\chi^2=0.041, P>0.05$)。不同类别的食品中食药物质的检出率最高,为15.0% (17/113)。17份阳性食药物质包括黑芝麻7份、山楂3份、枣2份、小茴香2份、乌梅1份、桂圆1份、枸杞子1份。不同类别的食品中肠杆菌科检出率无显著性差异^[16]($P=0.070$)。不同类别食品的检出率见表1。

表1 不同类别食品中肠杆菌科检出率
Table 1 Detection rates of Enterobacteriaceae in different food categories

食品类别	样品份数	阳性份数	检出率/%
食药物质	113	17	15.0
特殊膳食食用食品	42	1	2.4
坚果与籽类及其加工制品	41	4	9.8
合计	196	22	11.2

表3 食品中肠杆菌科细菌污染情况
Table 3 Contamination of Enterobacteriaceae in food

样品	肠杆菌科计数/(lg CFU/g)			
	最小值	最大值	平均值±标准偏差	
食品类别	食药物质	1.00	4.67	2.86±0.99
	特殊膳食食用食品	—	—	1.00
	坚果与籽类及其加工制品	1.60	4.26	2.35±1.27
食品来源	便利店/零售店	1.93	4.26	3.14±1.17
	超市	1.00	4.34	2.30±0.95
	农贸市场	2.70	4.67	3.69±1.40
采样时间	网店	2.32	4.58	3.66±1.19
	第一季度	—	—	4.26
	第二季度	1.00	4.67	2.75±1.27
	第三季度	1.00	4.34	2.61±1.13
	第四季度	2.30	2.70	2.50±0.28

注:—表示特殊膳食食用食品、第一季度各只检出1份肠杆菌科阳性样本,故无最小值和最大值。

(3)不同采样地点类型和不同包装类型食品中肠杆菌科监测结果

采样地点类型分布在餐饮服务和流通的各个环节,超市中肠杆菌科检出率最高,为17.3% (14/81);其次是便利店/零售店11.1% (3/27)和网店7.1% (3/42)。不同采样地点类型食品中肠杆菌科的检出率无显著性差异^[17]($P=0.351$)。不同采样地点类型食品中肠杆菌科检出率见表2。

表2 不同采样地点类型食品中肠杆菌科检出率
Table 2 Detection rates of Enterobacteriaceae in food from different sampling sites

采样地点类型	样品份数	阳性份数	检出率/%	
餐饮服务环节	饭店/酒店	4	0	0
	便利店/零售店	27	3	11.1
	超市	81	14	17.3
流通环节	农贸市场	41	2	4.9
	网店	42	3	7.1
	路边摊位	1	0	0

散装食品中肠杆菌科检出率为20.0% (14/70),预包装食品中肠杆菌科检出率为6.3% (8/126)。肠杆菌科在散装食品中明显高于预包装食品中的检出率^[18],存在显著性差异($\chi^2=8.415, P<0.05$)。

2.1.2 肠杆菌科定量监测结果

2023—2024年采集食品样品共计196份,肠杆菌科细菌定量总范围在1.00~4.67 lg CFU/g之间,其污染量见表3。污染情况按照食品类别、来源和采样时间划分,食品肠杆菌科细菌的污染量在不同类别、不同来源和采样时间之间无显著性差异($P>0.05$),其中类别上食药物质的污染量略高于坚果类的污染量;来源方面采集于农贸市场样品的污染量略高于网店,而超市的污染量相对最低;采样时间上第二季度样品的肠杆菌科细菌污染量相对高于第三、第四季度。

2.2 MALDI-TOF MS 鉴定食品中肠杆菌科结果

196 份食品中, 使用 VRBGA 平板和 NA 平板分离培养后, 通过 MALDI-TOF MS 方法对纯培养单菌落进行鉴定, 分离得到肠杆菌科细菌 31 株(包括 9 个属和 17 个种), 菌属分布为泛菌属 12 株、肠杆菌属 8 株、克罗诺杆菌属 3 株、克雷伯菌属 3 株、柠檬酸杆菌属 1 株、克吕沃氏菌属 1 株、勒克氏菌属 1 株、埃希氏菌属 1 株、沙雷氏菌属 1

株, 污染率分别为 6.12%、4.08%、1.53%、1.53%、0.51%、0.51%、0.51%和 0.51%, 在不同种类食品中的检出丰度见图 2(其他食品中枸杞子检出 1 株成团泛菌、桂圆检出 1 株分散泛菌和特殊膳食用食品检出 1 株肺炎克雷伯杆菌)。按照食品不同种类划分, 坚果和黑芝麻中检出的肠杆菌科细菌种类较为丰富。成团泛菌检出菌株数最高(8 株), 分布在黑芝麻、山楂、小茴香、枣和枸杞子中; 其次霍氏肠杆菌检出菌株数较高(4 株), 分布在坚果、黑芝麻和山楂中。

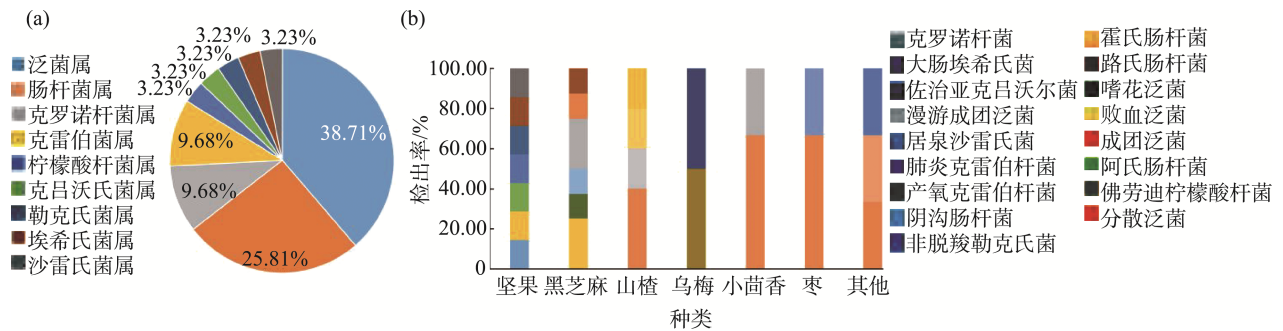


图 2 肠杆菌科细菌在食品中检出比例(a)与不同种类食品中检出丰度(b)

Fig.2 Proportion of Enterobacteriaceae bacteria detected in food (a) and abundance detected in different types of food (b)

2.3 肠杆菌科耐药性

2.3.1 耐药实验结果

对分离鉴定出的 31 株肠杆菌科细菌进行 15 种抗生素的药物敏感性实验, 结果显示有 32.26% (10/31) 的肠杆菌科细菌为耐药株, 其中对 AMP 和 CAZ 有相对较高的耐药性, 耐药率分别 25.81% 和 12.90%; 而对 ETP、MEM、CZA、TGC、CIP、NAL 和 AMK 的敏感率均为 100.00%。肠杆菌科细菌耐药情况见表 4。

2.3.2 耐药谱特征

耐药谱分析显示, 9.68% (3/31) 的菌株为多重耐药(对 3 种及 3 种以上抗生素耐药), 其中对 3 种抗生素耐药的有 2 株, 分别为霍氏肠杆菌和肺炎克雷伯杆菌。对 6 种抗生素耐药的有 1 株, 为非脱羧勒克氏菌(农贸市场的散装红枣中检出)。31 株菌共产生 9 种耐药谱, 无明显优势耐药谱, 肠杆菌科细菌具体耐药谱见表 5。

表 4 31 株肠杆菌科细菌药物敏感实验结果

Table 4 Results of drug susceptibility test of 31 strains of Enterobacteriaceae

抗生素类别	抗生素名称	耐药株数	中介株数	耐药率/%
氯霉素类	CHL	2	2	6.45
叶酸途径拮抗剂	SXT	3	0	9.68
脂肽类	COL	1	0	3.23
碳青霉烯类	ETP	0	1	0
	MEM	0	0	0
头孢类	CTX	2	0	6.45
	CAZ	4	0	12.90
β-内酰胺复合剂	CZA	0	0	0
	SAM	2	3	6.45
	TCY	1	0	3.23
四环素类	TGC	0	0	0
	CIP	0	1	0
喹诺酮类	NAL	0	0	0
	AMK	0	0	0
氨基糖苷类	AMP	8	5	25.81

表 5 31 株肠杆菌科细菌的耐药谱

Table 5 Drug resistance spectrum of 31 strains of Enterobacteriaceae

耐药情况	细菌种类	耐药谱	菌株数	比例/%
单重耐药	霍氏肠杆菌(<i>Enterobacter hormaechei</i>)	AMP	2	6.45
	克罗诺杆菌属(<i>Cronobacter</i> spp.)	COL	1	3.23
	阿氏肠杆菌(<i>Enterobacter asburiae</i>)	AMP-SAM	1	3.23
双重耐药	阴沟肠杆菌(<i>Enterobacter cloacae</i>)	CHL-AMP	1	3.23
	路氏肠杆菌(<i>Enterobacter ludwigii</i>)	SXT-AMP	2	6.45
	成团泛菌(<i>Pantoea agglomerans</i>)	CTX-CAZ	1	3.23
多重耐药	霍氏肠杆菌(<i>Enterobacter hormaechei</i>)	CHL-CAZ-AMP	1	3.23
	肺炎克雷伯杆菌(<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	SXT-CAZ-AMP	1	3.23
	非脱羧勒克氏菌(<i>Leckereria adecarboxylata</i>)	SXT-CTX-CAZ-TCY-AMP-SAM	1	3.23

3 讨论与结论

食物质、特殊膳食用食品和坚果类食品是健康饮食的重要组成部分,然而这些食品被有害微生物污染后,可能通过食物链增加人类患病的风险。目前国内大部分食品仍以大肠菌群和粪大肠菌群等作为食品生产的指示菌,但肠杆菌科不仅包含大肠菌群范围内的乳糖发酵型细菌,也包含许多如沙门氏菌、志贺氏菌等非乳糖发酵型细菌^[3],所以肠杆菌科因其包含的菌属范围更广、更能反映食品卫生状况的真实性进而正逐步替代了传统的卫生指示菌。特别是欧洲食品行业中广泛使用肠杆菌科作为卫生指示菌,作为判断食品加工后是否被微生物污染的依据^[19-20]。

本研究食品中肠杆菌科总的阳性率为 11.2%,低于福建省的 17.6%^[1],与土耳其肠杆菌科 10.59%相接近^[21]。样品中食物质、超市来源的阳性检出率要高于其他类型和其他来源的食品,差异不具有统计学意义,仍需继续监测。散装食品检出率 20.0%明显高于预包装食品检出率 6.3%,这可能是由于散装食品储存方式不当,暴露在外环境中时间长更容易被微生物污染导致的^[22]。对食品中肠杆菌科细菌定量计数检测结果显示污染量总范围在 1.00~4.67 lg CFU/g,低于海南地区即食鲜切果蔬肠杆菌科细菌的污染量 1.30~6.86 lg CFU/g^[4],这与食品类型及其生产加工方式不同有一定关系。食物质的肠杆菌科污染量高于坚果类及特殊膳食用食品,可能是由于其原材料、加工工艺和加工环境等不同引起的。食品来源中农贸市场污染量高于网店、便利店/零售店等可能由于农贸市场环境相对更加杂乱、卫生状况较差、散装食品较多等原因导致。第二、三季度污染量较高表示环境温度对肠杆菌科细菌的繁殖提供了有利条件^[23],因此,要注意食品的保存温度,避免因温度不合适造成细菌污染量的增加。本次研究通过样品采集、实验室检测、数据库录入及分析数据以确定 3 类食品中肠杆菌科污染程度,不仅丰富了邯郸地区食品微生物污染数据库的内容,而且为食品安全监管、流行病学追踪、企业食品安全管理体系等提供数据支持。

近年来,食源性致病微生物导致的食品中毒或致死事件不仅造成重大的经济损失,也给人们的身体健康带来了极大的危害,甚至引发社会恐慌^[12]。因此,对食品中细菌类型进行迅速和精确的鉴别,并确定其来源,在食品安全方面起到重要的作用。使用 MALDI-TOF MS 方法在食品中快速且准确的鉴定出微生物种类受到越来越广泛的认可和应用。按照 GB 4789.41—2016 关于食品肠杆菌科典型菌落的确认要进行革兰氏染色镜检、氧化酶实验和葡萄糖发酵实验,而 MALDI-TOF MS 鉴定肠杆菌科细菌每株用时仅约为 10 min;除此以外,有报道显示 MALDI-TOF MS 鉴定需氧革兰氏阴性细菌可做到 99.8%属水平、98.2%种水平且与生化测试、DNA 测序鉴定结果一致^[12],这表明

MALDI-TOF MS 在大规模食源性致病菌检测方面具有高效性和准确性。本研究中 196 份食品样品中共分离鉴定出 31 株肠杆菌科细菌,包括 9 个属 17 个种,比巴西蔬菜^[24] 18 个属 38 个种少,高于海南地区^[4]和淮安市^[25]分离出的细菌种类,17 种细菌没有明显优势菌种,不同于海南地区果蔬中肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌是优势菌种,说明邯郸地区食品中肠杆菌科存在高散发的流行特征。按菌属划分泛菌属占比最高,为 38.71%,其次为肠杆菌属占 25.81%;按菌种划分成团泛菌属占 25.81%,其次为霍氏肠杆菌 12.90%。本研究检出的泛菌属全部来源于食物质,文献报道中药材^[26]、冬枣叶片^[27]中都有泛菌属细菌检出,且泛菌属广泛存在于土壤、水体和植物表面,其占比高可能是由于食品原料受自然环境污染而直接携带该菌;另外,泛菌属样品中散装食品比例高,若储存与运输条件不当,如高湿热环境或包装密封性差可能促进该菌增殖。

食物中已发现存在引起严重社区感染的耐药细菌,它们能够通过食物链将耐药基因传递至人体^[28]。目前,对肠杆菌科的耐药研究主要集中在人医临床和兽医临床方面^[29],而我国对食品中肠杆菌科细菌的耐药性的监测除了特殊膳食用食品和即食果蔬食品,其他类型食品中特别是药物质、坚果类食品肠杆菌科耐药性研究很少,主要以某些重要的致病性肠杆菌科如沙门氏菌、阪崎克罗诺杆菌等为研究对象,所以,对肠杆菌科耐药性情况的监测意义重大。本研究从 15 种药物的耐药结果可看出邯郸地区食品中确实存在肠杆菌科耐药情况。检出的 31 株肠杆菌科细菌中有 15 株存在耐药或中介情况,其中有 3 株菌是多重耐药菌株。肠杆菌科细菌分离株对 AMP 耐药率最高,其次是 CAZ,提示青霉素类和第 3 代头孢菌素类对分离株细菌抗菌效能低,而碳青霉烯类药物的敏感程度高,与张伟伟^[11]和崔小璠等^[30]针对临床分离的肠杆菌科细菌耐药性情况不太相同,这说明食源性样品与临床样品耐药情况存在差异。本次监测结果表明不同种类的肠杆菌科对多种药物的耐药性存在较大差别,因此,在实际临床工作中需要根据特定的药敏结果合理选择用药,避免经验用药。肠杆菌科药敏结果提示可能的耐药基因是 *bla*_{TEM}、*bla*_{SHV} 和 *bla*_{CTX-M}, 其编码的 β -内酰胺酶能水解青霉素类和头孢菌素类抗生素,导致细菌耐药。细菌耐药性主要由质粒介导,携带耐药质粒的肠杆菌科细菌在菌株之间通过质粒接合、转座子介导的基因转移形成耐药基因的快速水平传播^[31]。人体摄入含有多重耐药的 *非脱羧勒克氏菌* 的食品,在宿主体内定植,并发生基因水平转移,可能会影响体内菌群的耐药谱,或者导致某些敏感致病菌产生耐药性^[32]。国内外对肠杆菌科细菌的严重耐药性也有相关报道^[33-34]。

综上所述,邯郸地区食品受到了一定程度肠杆菌科细菌的污染^[35],特别是散装食品污染明显高于预包装食品,存在潜在的食品卫生安全隐患。建议加强相关食品企业源

头控制:严格检测食品原料,确保其微生物指标符合标准;定期审核食品原料供应商,确保其生产和加工过程符合卫生要求。加强食品加工环节的卫生监管:确保食品加工企业遵守国家卫生标准;监管部门应定期对食品加工企业进行卫生检查,确保其符合卫生要求;加强食品加工从业人员的卫生培训,提高其卫生意识和操作规范^[36-37]。优化食品储存条件:确保食品在储存中保持适当的低温,抑制微生物生长;使用抗菌包装材料,减少食品在储存过程中的微生物污染风险;对储存环境进行定期清洁和消毒,特别是散装食品储存环境,防止交叉污染。推广快速检测技术,实现即时检测和反馈、食品安全监控,预警微生物污染情况。与此同时,还应继续进一步加强食品中肠杆菌科及耐药情况的监测,为食品安全提供更多参考依据,以期减少食源性疾病的发生,保障人民群众健康。

参考文献

- [1] 叶玲清,陈伟伟,李闽真,等.福建省特殊膳食食品中肠杆菌科污染状况调查[J].海峡预防医学杂志,2021,27(1):73-75.
YE LQ, CHEN WW, LI MZ, *et al.* Investigation of Enterobacteriaceae contamination in special dietary foods in Fujian Province [J]. Strait Journal of Preventive Medicine, 2021, 27(1): 73-75.
- [2] 郭汶,杨雨,张青,等.航空食品生产环境中肠杆菌科细菌的分离鉴定及多位点序列分型研究[J].口岸卫生控制,2024,29(1):51-55,58.
WU W, YANG Y, ZHANG Q, *et al.* Isolation and identification of Enterobacteriaceae bacteria in aviation food production environment and study on multi locus sequence typing [J]. Port Health Control, 2024, 29(1): 51-55, 58.
- [3] 揭琴丰,李露敏,邱伟华,等.江西省婴儿配方羊奶粉生产加工过程肠杆菌科和克罗诺杆菌属污染情况调查[J].当代医学,2019,25(25):24-27.
JIE QF, LI LM, QIU WH, *et al.* Survey of Enterobacteriaceae and *Cronobacter* spp. contamination in the production process of infant formula sheep milk powder in Jiangxi Province [J]. Contemporary Medicine, 2019, 25(25): 24-27.
- [4] 谢作蓉,常秀亭,朱梦,等.海南地区2023年即食鲜切果蔬肠杆菌科细菌污染及产超广谱 β -内酰胺酶菌株耐药性研究[J].中国热带医学,2024,24(11):1341-1348.
XIE ZR, CHANG XT, ZHU M, *et al.* Contamination of Enterobacteriaceae and drug resistance of ESBLs-producing strains in ready-to-eat fresh-cut fruits and vegetables in Hainan in 2023 [J]. China Tropical Medicine, 2024, 24(11): 1341-1348.
- [5] NEWELL DG, KOOPMANS M, VERHOEF L, *et al.* Food-borne diseases-The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 139(Supplement): S3-S15.
- [6] SCALLAN E, HOEKSTRA RM, ANGULO FJ, *et al.* Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens infectious diseases [J]. Emerging Infectious Diseases, 2011, 17(1): 7-15.
- [7] SCHARFF R. Economic burden from health losses due to foodborne illness in the United States [J]. Journal of Food Protection, 2012, 75(1): 123-131.
- [8] 堵舒桐,彭斌,王金泉,等.新疆某现代化肉牛屠宰加工过程中肠杆菌科细菌的检测研究[J].新疆农业科学,2015,52(2):344-348.
DU ST, PENG B, WANG JQ, *et al.* Detection of Enterobacteriaceae in a beef cattle slaughtering and processing plant in Xinjiang [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2015, 52(2): 344-348.
- [9] LAUREN ON, DANILO A, RENATA MC, *et al.* Community-acquired antimicrobial resistant Enterobacteriaceae in central America: A one health systematic review [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17: 7622.
- [10] FU B, XU J, YIN DD, *et al.* Transmission of *bla*_{NDM} in Enterobacteriaceae among animals, food and human [J]. Emerging Microbes & Infections, 2024, 13: 2337678.
- [11] 张伟伟.2023年临床分离肠杆菌科细菌的分布特征及其耐药情况分析[J].航空航天医学杂志,2024,35(7):830-832.
ZHANG WW. Distribution characteristics and drug resistance of clinically isolated Enterobacteriaceae bacteria in 2023 [J]. Journal of Aerospace Medicine, 2024, 35(7): 830-832.
- [12] 尹盼盼,白雯静,李海燕,等.基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在微生物鉴定中的研究进展[J].微生物学通报,2023,50(10):4655-4666.
YIN PP, BAI WJ, LI HY, *et al.* Research progress of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in microbial identification [J]. Microbiology China, 2023, 50(10): 4655-4666.
- [13] 任婷,史敏,刘聪慧,等.基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱在食源性致病菌鉴定中的应用[J].食品安全质量检测学报,2024,15(5):62-68.
REN T, SHI M, LIU CH, *et al.* Application of matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry in identification of foodborne pathogens [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(5): 62-68.
- [14] 张璐,高腾,李伟昊,等.邯郸市售婴幼儿食品微生物污染状况调查[J].食品安全质量检测学报,2024,15(17):159-165.
ZHANG L, GAO T, LI WH, *et al.* Investigation on microbial contamination of infant foods sold in Handan [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(17): 159-165.
- [15] 韩瑞芳,王孟轲,田甜,等.能力验证过程中一株双相亚利桑那沙门菌的鉴定[J].河南预防医学杂志,2019,30(5):347-350.
HAN RF, WANG MK, TIAN T, *et al.* Identification of a *S. diarizonae* during proficiency testing [J]. Henan Journal of Preventive Medicine, 2019, 30(5): 347-350.
- [16] 崔莹,张广伟,王钰,等.河南省市售食品中沙门菌污染状况、血清型、耐药性和分子分型研究[J].中国食品卫生杂志,2024,36(8):934-940.
CUI Y, ZHANG GW, WANG Y, *et al.* Contamination status, serotype, drug resistance and molecular typing of *Salmonella* in retail food in He'nan Province [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2024, 36(8): 934-940.
- [17] 李婧,刘本周,彭佳艳,等.保山市2021年食品中致病菌监测结果分析[J].食品安全导刊,2023(1):101-103.
LI J, LIU BZ, PENG JY, *et al.* Analysis of the results of surveillance of pathogenic bacteria in food in Baoshan City in 2021 [J]. China Food Safety Magazine, 2023(1): 101-103.
- [18] 吴科明,李叶青,李林柯,等.2014—2016年防城港市食源性致病菌监测结果[J].职业与健康,2018,34(3):329-331.
WU KM, LI YQ, LI LK, *et al.* Monitoring results of food borne pathogens

- in Fangchenggang City from 2014—2016 [J]. *Occupation and Health*, 2018, 34(3): 329–331.
- [19] 叶青华. 食源性致病肠杆菌科细菌数值鉴定系统和耐药性研究[D]. 武汉: 华南理工大学, 2016.
- YE QH. Study on the numerical identification and antimicrobial resistance of foodborne *Enterobacteriales* [D]. Wuhan: Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [20] 陈帅, 贾华云, 张林青, 等. 2016—2018 年湖南省含乳冷冻饮品生产加工过程肠杆菌科和单核细胞增生李斯特菌监测[J]. *实用预防医学*, 2021, 28(4): 430–434.
- CHEN S, JIA HY, ZHANG LQ, *et al.* Surveillance of Enterobacteriaceae and *Listeria monocytogenes* in the production process of milk-containing frozen drinks in Hunan Province, 2016—2018 [J]. *Practical Preventive Medicine*, 2021, 28(4): 430–434.
- [21] BUKET ED, BURAK D. The investigation of mycotoxins and Enterobacteriaceae of cereal-based baby foods marketed in Turkey [J]. *Foods*, 2021, 10: 3040.
- [22] 宋韶芳, 张维蕻, 林晓华, 等. 2020 年—2022 年广州市市售坚果与籽类食品质量监测结果分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(16): 2015–2019.
- SONG SF, ZHANG WW, LIN XH, *et al.* Analysis of quality monitoring results of nut and seed foods sold in Guangzhou City from 2020 to 2022 [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2023, 33(16): 2015–2019.
- [23] 高利海. 2023 年广东省炒货食品及坚果制品监督抽检结果分析[J]. *食品安全导刊*, 2024(18): 36–39.
- GAO LH. Analysis of the results of the supervision and sampling of roasted food and nut products in Guangdong Province in 2023 [J]. *China Food Safety Magazine*, 2024(18): 36–39.
- [24] NICOLLE FAP, THIAGO SS, PRISCILA A, *et al.* *Salmonella* and other Enterobacteriaceae in conventional and organic vegetables grown in Brazilian farms [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2023, 54: 1055–1064.
- [25] 杭婧, 宋呈文, 金华. 淮安市婴幼儿食品肠杆菌检测及耐药性研究[J]. *现代食品*, 2023, 29(19): 125–128.
- HANG J, SONG CW, JIN H. Detection and drug resistance study of Enterobacteriaceae in infant food in Huai'an City [J]. *Modern Food*, 2023, 29(19): 125–128.
- [26] 白雯静, 刘兴国, 田妮娜, 等. 基于基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法的 3 种中药材中污染菌的快速鉴定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(7): 2650–2655.
- BAI WJ, LIU XG, TIAN NN, *et al.* Rapid identification of microbial contamination for 3 kinds of Chinese medicinal herbs based on the matrix assisted laser analytical ionization time of flight mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(7): 2650–2655.
- [27] 余小漫, 于琳, 蓝国兵, 等. 广东省冬枣叶枯病原菌的分离与鉴定[J]. *植物病理学报*, 2021, 51(3): 317–324.
- SHE XM, YU L, LAN GB, *et al.* Identification of the pathogen causing *Ziziphus jujuba* Mill. cv. dongzao leaf necrotic disease in Guangdong Province [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2021, 51(3): 317–324.
- [28] LI XZ, MEHROTRA M, GHIMIRE S, *et al.* Beta-lactam resistance and beta-lactamases in bacteria of animal origin [J]. *Veterinary Microbiology*, 2007, 121(3-4): 197–214.
- [29] NAMWIN SS, RABBI N, FLEISCHER CNK, *et al.* A systematic review and meta-analysis of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in West Africa [J]. *BMC Medical Genomics*, 2024, 17: 267.
- [30] 崔小璠, 刘蕊, 刘慧敏, 等. 2017-2019 年某院肠杆菌科细菌检出特征及耐药基因检测[J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(16): 2411–2415.
- CUI XF, LIU R, LIU HM, *et al.* Detection characteristics and drug resistance genes of Enterobacteriaceae bacteria in a hospital from 2017 to 2019 [J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2021, 31(16): 2411–2415.
- [31] 张玉敏, 顾全, 韩素桂, 等. 碳青霉烯类耐药肠杆菌科细菌耐药基因分型与临床感染分析[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(12): 1656–1660.
- ZHANG YM, GU Q, HAN SG, *et al.* Genotyping and clinical infection of carbapenem resistant Enterobacteriaceae [J]. *Journal of Tropical Medicine*, 2022, 22(12): 1656–1660.
- [32] 韩蓓, 梁欢, 付桂明, 等. 市售即食食品中非致病菌的耐药性及耐药基因转移的研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2012, 24(5): 412–416.
- HAN B, LIANG H, FU GM, *et al.* Antibiotic resistance analysis and the AR gene transfer in non-pathogens isolated from ready-to-eat food [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2012, 24(5): 412–416.
- [33] AL-KHAROUSI ZS, GUIZANI N, AL-SADI AM, *et al.* Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated from fresh fruits and vegetables and characterization of their AmpC β -Lactamases [J]. *Journal of Food Protection*, 2019, 82(11): 1857–1863.
- [34] RICHTER L, PLESSIS DEM, DUVENAGE S, *et al.* Occurrence, identification, and antimicrobial resistance profiles of extended-spectrum and AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from fresh vegetables retailed in Gauteng Province, South Africa [J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2019, 16(6): 421–427.
- [35] 刘晔, 宋晓红, 王文军, 等. 山西省市售食品中阪崎克罗诺杆菌耐药性及分子分型研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2023, 33(16): 1925–1927.
- LIU Y, SONG XH, WANG WJ, *et al.* Drug resistance and molecular typing of *Cronobacter sakazakii* in food of Shanxi Province [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2023, 33(16): 1925–1927.
- [36] 欧已铭, 赖克强, 朱颖, 等. 2023 年欧盟食品和饲料快速预警系统中坚果及其制品通报分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(23): 200–207.
- OU YM, LAI KQ, ZHU Y, *et al.* Analysis of notifications of nuts and products in the European Union rapid alert system for food and feed in 2023 [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(23): 200–207.
- [37] 裴晓燕, 李莹, 遇晓杰, 等. 婴儿配方粉干法加工过程肠杆菌科和克罗诺杆菌属监测[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(5): 610–615.
- PEI XY, LI Y, YU XJ, *et al.* Survey of Enterobacteriaceae and *Cronobacter* spp. in the dry-mix process of powdered infant formula [J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2017, 29(5): 610–615.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)