

文章编号: 1000-8020(2014) 03-0435-04

· 调查研究 ·

中国八省婴幼儿食品中蜡样芽胞杆菌污染状况研究



李莹 裴晓燕 杨大进¹ 李宁

国家食品安全风险评估中心 北京 100022

摘要:目的 了解中国八省婴幼儿食品中蜡样芽胞杆菌的污染状况。方法 2012年在中国8个省市进行了调查,共采集1716份婴幼儿食品,采用平板计数法进行蜡样芽胞杆菌的定量分析。**结果** 9.85%的婴幼儿食品检出蜡样芽胞杆菌,婴幼儿配方粉和婴幼儿即食谷基辅助食品中蜡样芽胞杆菌阳性率分别为14.08%和6.01%,定量结果>100 CFU/g的样品分别占总样品量的2.20%和1.11%。**结论** 我国零售婴幼儿食品存在不同程度的蜡样芽胞杆菌污染,应继续加强对婴幼儿食品中蜡样芽胞杆菌的监管。

关键词: 婴幼儿食品 蜡样芽胞杆菌 食品污染

中图分类号: TS207.4 TS216

文献标志码: A

Occurrence of *Bacillus cereus* in infants and young children foods in 8 provinces in China

LI Ying, PEI Xiaoyan, YANG Dajin, LI Ning

China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China

Abstract: Objective To investigate the contamination status of infants and young children foods by *Bacillus cereus*. **Methods** 1716 food samples were collected from retail market in 8 provinces in China and examined for *Bacillus cereus* by the plate count method. **Results** *Bacillus cereus* was isolated from 9.85% of all the samples (169/1716). 14.08% of the powered formula for infants and young children were contaminated with *B. cereus* as well as 6.01% of the ready-to-eat cereal-based complementary foods for infants and young children. Counts higher than 100 CFU/g were found in 18 samples of the powered formula (2.20%) and 10 samples of the ready-to-eat cereal-based complementary foods (1.11%). **Conclusion** Inspection and management of infants and young children foods should be enhanced to prevent *Bacillus cereus* infection.

Key words: infant food, *Bacillus cereus*, food pollution

蜡样芽胞杆菌是一种产芽胞革兰阳性杆菌,是导致食源性疾病的常见致病菌,感染症状通常表现为恶心、呕吐、腹泻等胃肠道感染症状,也可导致胃肠外感染,如脑膜炎、肺炎、心内膜炎和全身性感染等。DRAZIN等^[1]指出蜡样芽胞杆菌脑膜炎在新生儿中很罕见,但一旦发生具有极高的

死亡率,其报道的一例早产儿蜡样芽胞杆菌菌血症继发颅内感染的病例,虽然经过积极救治后存活,但仍留下严重后遗症。

婴幼儿的饮食结构较单一,尤其对于6个月以下的人工喂养婴儿,婴儿配方食品是其唯一营养来源。即使产品符合现行卫生标准,婴幼儿食品也不是绝对无菌产品,这意味着这些产品中可能含有引发食源性疾病的病原体,对婴幼儿有潜在的感染风险,尤其对于早产儿、低出生体重儿

作者简介:李莹,女,实习研究员,研究方向:食品安全风险监测, E-mail: liying@cfssa.net.cn

¹ 通信作者:杨大进,男,研究员

(<2.5 kg) 或有免疫缺陷的婴儿。如果婴幼儿配方食品的冲调方法或储存方式不当,会大大增加这种风险。本文从关注婴幼儿食品中微生物安全性出发,在全国范围内开展对市售婴幼儿配方粉及婴幼儿即食谷基辅助食品中蜡样芽胞杆菌的调查。

1 材料与方法

1.1 采样点的选择

2012 年 1—12 月在黑龙江、河北、河南、湖北、湖南、江苏、江西和广东 8 个省份共采集 1716 份样品。要求采集样品要有地区代表性,包括大、中等城市、经济发展水平不同的区县及地区等。样品采自超市、农贸市场、零售店等地点,包括乡镇、农村地区的超市、集贸市场及小卖部。

1.2 样品

婴幼儿配方粉: 适合婴儿(0~12 月龄)、较大婴儿及幼儿(6~36 月龄)的配方粉; 婴幼儿即食谷基辅助食品: 婴幼儿谷物辅助食品、婴幼儿高蛋白谷物辅助食品、婴幼儿饼干或其他婴幼儿即食谷物辅助食品。

采样时要注意包装的完整性,采样后应按照贮藏温度进行保管,尽快送至实验室进行检验,全部过程要注意避免污染。

1.3 培养基及试剂

磷酸盐缓冲液、甘露醇卵黄多粘菌素琼脂(mannitol yolk polymyxin agar, MYP)、营养琼脂、胰酪胨大豆羊血琼脂、酪蛋白琼脂、动力培养基、V-P 培养基、硝酸盐肉汤、西蒙氏柠檬酸盐培养基、明胶培养基、糖发酵管、溶菌酶营养肉汤、过氧化氢溶液等。由各省自行购买并制备实验室试剂,未对生产厂家进行统一规定。为保证检测结果的准确性和稳定性,要求对每一批次产品取适

量样品进行严格质控,力求标准化。

1.4 检验方法

参照美国食品及药物管理局和加拿大卫生部健康产品和食品局的推荐方法制定了统一规范的定量检测操作程序^[2-3]。

称取样品 25 g,加入 225 ml 磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水均质混匀,根据对样品污染状况的估计,依次 10 倍递增稀释,选择 2~3 个适宜稀释度的样品匀液,每个稀释度以 0.3、0.3 和 0.4 ml 接种量分别涂布 3 块 MYP 琼脂平板,将平板静置 10 min, (30 ± 1) °C 培养 (24 ± 2) h。MYP 琼脂平板上,典型菌落为微粉红色,周围有白色至淡粉红色沉淀环。如果菌落不典型,可继续培养 (24 ± 2) h 再观察。从每个平板中至少挑取 3 个典型菌落(小于 3 个全选),分别划线接种于营养琼脂平板, (30 ± 1) °C 培养 (24 ± 2) h,进行确证实验,包括染色镜检及溶血试验、根状生长试验、蛋白质毒素结晶试验、溶菌酶耐性试验等生化鉴定。根据 MYP 平板上蜡样芽胞杆菌的典型菌落数,计算并报告每克样品中蜡样芽胞杆菌菌数,以 CFU/g 表示。

1.5 实验室质量控制

操作流程做到详细、明确和统一,做好过程质量控制工作,确保调查数据的准确性和可比性。

2 结果

2.1 检测情况

婴幼儿配方粉和婴幼儿即食谷基辅助食品的调查结果见表 1。由于国内尚未制定食品中蜡样芽胞杆菌限量标准,故参照国际上目前最为严格的澳新食品安全局婴儿配方食品中蜡样芽胞杆菌标准为 $n = 5, c = 0, m = 100/g$ 作为分析参考依据^[4]。

表 1 2012 年不同种类婴幼儿食品中蜡样芽胞杆菌的调查结果

Table 1 Prevalence of *Bacillus cereus* in infants and young children foods in 2012

样品	N	阳性		> 100 CFU/g	
		n	检出率/%	样品数	百分比/%
婴幼儿配方粉	817	115	14.08	18	2.20
婴儿	384	48	12.50	3	0.78
较大婴儿及幼儿	427	66	15.46	15	3.51
不详	6	1		0	
婴幼儿即食谷基辅助食品	899	54	6.01	10	1.11
婴幼儿谷物辅助食品	812	48	5.91	9	1.11
婴幼儿高蛋白谷物辅助食品	85	6	7.06	1	1.18
婴幼儿饼干及其他	2	0		0	
合计	1716	169	9.85	28	1.63

婴幼儿配方粉中蜡样芽胞杆菌的检出率为远高于婴幼儿即食谷基辅助食品 ($\chi^2 = 31.390, P < 0.001$), 但两者蜡样芽胞杆菌定量结果 > 100 CFU/g 的样品在总样品量中所占比例差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.173, P = 0.075$)。

2.2 婴幼儿配方粉

共获得 817 份婴幼儿配方粉的调查数据, 包含 52 个品牌。表 2 显示共检出 115 份蜡样芽胞杆菌阳性样品, 检出率为 14.08%, 定量检测值范围在 $< 10 \sim 6 \times 10^4$ CFU/g。18 份样品定量结果 > 100 CFU/g, 涉及 8 个品牌。

从省份分布上看, 广东省检出率最高, 河北、湖北及江苏检出率低于平均值, 其余 4 个省的检出率与平均检出率较为接近。

表 2 2012 年不同省份婴幼儿配方粉中蜡样芽胞杆菌的调查结果

省份	N	阳性		> 100 CFU/g	
		n	检出率/%	样品数	百分比/%
广东	55	21	38.18	0	0
河北	92	8	8.70	0	0
河南	93	10	10.75	2	2.15
黑龙江	139	21	15.11	0	0
湖北	74	4	5.41	2	2.70
湖南	196	36	18.37	13	6.63
江苏	91	5	5.49	0	0
江西	77	10	12.99	1	1.30
合计	817	115	14.08	18	2.20

2.3 婴幼儿即食谷基辅助食品

共获得 899 个调查数据, 包含 67 个品牌。表 3 显示蜡样芽胞杆菌阳性样品共检出 54 份, 检出率为 6.01%, 定量检测值范围在 $< 10 \sim 2 \times 10^4$ CFU/g。10 份为定量结果 > 100 CFU/g 的样品, 涉及 9 个品牌。

从省份分布上看, 广东、黑龙江及湖南 3 个省份检出率较高, 超过 10%, 河北、湖北及江苏检出率低于平均值, 河南和江西检出率与平均检出率较为接近。

3 讨论

蜡样芽胞杆菌是婴幼儿食品中的常见污染菌。BECKER 等^[5]收集 17 个国家的 261 份婴幼儿食品样品, 54% 的样品检出蜡样芽胞杆菌, 污染量在 $0.3 \sim 600$ CFU/g, 将其中污染菌

表 3 2012 年不同省份婴幼儿即食谷基辅助食品中蜡样芽胞杆菌的调查结果

Table 3 Prevalence of *Bacillus cereus* in ready-to-eat cereal-based complementary foods for infants and young children in 2012

省份	N	阳性		> 100 CFU/g	
		n	检出率/%	样品数	百分比/%
广东	69	10	14.49	0	0
河北	96	3	3.13	0	0
河南	100	6	6.00	0	0
黑龙江	23	3	13.04	0	0
湖北	188	5	2.66	4	2.13
湖南	107	16	14.95	2	1.87
江苏	229	5	2.18	3	1.31
江西	87	6	6.90	1	1.15
合计	899	54	6.01	10	1.11

量在 100 CFU/g 的阳性样品加水调制, 27°C 培养 $7 \sim 9$ h, 蜡样芽胞杆菌可达 10^5 CFU/g。ROWAN 等^[6]检测 10 个品牌共 100 份婴儿配方粉样品, 38% 的样品检出蜡样芽胞杆菌, 26.3% 的菌株产肠毒素。KIM 等^[7]对韩国 230 份不同类型的婴幼儿食品进行微生物学检测, 发现蜡样芽胞杆菌的检出率最高, 达 20.9%。

本研究获得了 2012 年我国婴幼儿食品蜡样芽胞杆菌的污染状况, 结果明显低于 KIM 等^[7]的研究。研究中未检出蜡样芽胞杆菌定量结果 $> 10^5$ CFU/g 的样品, 参考澳新食品标准局标准, 应重视定量结果 > 100 CFU/g 的样品。有研究表明, 加水冲调过程中部分蜡样芽胞杆菌菌株在 30°C 条件下的传代时间为 31 min, 在 42°C 条件下的传代时间为 11 min^[8], 因此冲调过程中不恰当操作可能使得蜡样芽胞杆菌大量增殖而致病。

本研究中婴幼儿配方粉蜡样芽胞杆菌检出率远高于婴幼儿即食谷基辅助食品, 造成两类食品蜡样芽胞杆菌检出结果差异的原因主要与生产加工工艺有关, 婴幼儿即食谷基辅助食品在生产加工过程中有高温蒸煮等加工环节, 灭菌效果更为彻底。婴儿配方粉和较大婴儿及幼儿配方粉中蜡样芽胞杆菌阳性样品检出率相近 ($\chi^2 = 1.463, P = 0.226$), 但后者定量结果 > 100 CFU/g 的样品检出率显著高于前者 ($\chi^2 = 6.951, P = 0.008$), 分析数据发现定量结果 > 100 CFU/g 的样品集中在部分品牌, 提示这些品牌的产品在生产加工过程可能存在问题。婴幼儿高蛋白谷物辅助食品及婴幼儿谷物辅助食品中蜡样芽胞杆菌检出率相近, 差

异无统计学意义($\chi^2 = 0.179, P = 0.672$)。不同省份之间的阳性样品检出率差异考虑也与不同省份采集样品的品牌有关。

总体上看,婴幼儿配方粉及婴幼儿即食谷基辅助食品均以定型包装的形式在市场上销售,经过了较为严格的灭菌及密封包装,但仍存在一定的蜡样芽胞杆菌检出率。尤其是婴儿配方粉,作为6月龄以下人工喂养婴儿几乎唯一的营养来源,被调查样品的蜡样芽胞杆菌检出率达12.50%(48/384),并有一部分样品中蜡样芽胞杆菌检出值超过100 CFU/g,对婴儿存在潜在的食品安全风险,需要从原料、辅料、生产设备、生产环境及包装材料等方面查找原因,进行溯源分析。

从2012年我国婴幼儿食品中蜡样芽胞杆菌的调查情况可以看出,该菌对婴幼儿食品的污染普遍存在,并有部分样品的蜡样芽胞杆菌检测结果超过100 CFU/g。从食品安全的角度来看,需要对食品中检出的蜡样芽胞杆菌菌株进行产毒分析以了解其致病性,并对存在问题的婴幼儿食品生产加工企业开展生产加工过程调查,发现问题进一步提高其产品质量,同时制订相关食品安全标准,为应对突发食物中毒事件提供参考依据。

参考文献

[1] DRAZIN D, LEHMAN D, DANIELPOUR M. Successful surgical drainage and aggressive medical therapy in a preterm neonate with *Bacillus cereus*

meningitis [J]. *Pediatr Neurosurg* 2010 46(6):466-471.
 [2] RHODEHAMEL E J, HARMON S M. *Bacteriological analytical manual* [M]. 8th ed. United States: Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, College Park, MD, 2001.
 [3] MFLP-42. Isolation and enumeration of the *Bacillus cereus* group in foods [S]. Government of Canada Laboratory Procedure. Health products and food branch 2011.
 [4] Standard 1.6.1. Microbiological Limits for Food [S]. FSANZ. 2012.
 [5] BECKER H, SCHALLER G, VON WIESE W, et al. *Bacillus cereus* in infant foods and dried milk products [J]. *Int J Food Microbiol* 1994 23(1):1-15.
 [6] ROWAN N J, ANDERSON J G. Diarrhoeal enterotoxin production by psychrotrophic *Bacillus cereus* present in reconstituted milk-based infant formulae (MIF) [J]. *Lett Appl Microbiol* 1998 26(2):161-165.
 [7] KIM S A, OH S W, LEE Y M, et al. Microbial contamination of food products consumed by infants and babies in Korea [J]. *Lett Appl Microbiol* 2011, 53(5):532-538.
 [8] HOCKING A D. Food-borne microorganisms of public health significance [M]. 6th ed. Australia: AIFST (NSW Branch) Food Microbiology Group 2003.

收稿日期:2013-06-28

《卫生研究》编辑委员会

(按汉语拼音序)

- | | | | | | | | | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 名誉主任 | 葛可佑 | | | | | | | | | | |
| 主任 | 陈君石 | | | | | | | | | | |
| 委员 | 白雪涛 | 蔡琳 | 曹佳 | 曹兆进 | 常元勋 | 陈炳卿 | 陈君石 | 陈西平 | 陈学敏 | 程锦泉 | 程书均 |
| | 程义勇 | 段国兴 | 郭红卫 | 郭新彪 | 韩驰 | 郝卫东 | 胡东生 | 季成叶 | 金水高 | 金泰虞 | 金银龙 |
| | 兰亚佳 | 李德鸿 | 李洪源 | 李立明 | 李涛 | 李勇 | 李凤琴 | 梁超轲 | 林少彬 | 凌文华 | 刘秉慈 |
| | 刘殿武 | 刘沛 | 刘小立 | 刘秀梅 | 马爱国 | 马冠生 | 牛侨 | 戚其平 | 秦立强 | 宋伟民 | 孙长颢 |
| | 孙秀发 | 孙贵范 | 王五一 | 王心如 | 王振刚 | 王竹天 | 邬堂春 | 吴逸明 | 吴永宁 | 徐东群 | 徐贵发 |
| | 徐海滨 | 薛彬 | 严卫星 | 杨克敌 | 杨晓光 | 杨月欣 | 叶冬青 | 荫士安 | 于雅琴 | 翟成凯 | 翟凤英 |
| | 张朝武 | 张德兴 | 张国雄 | 张立实 | 张天宝 | 张祥宏 | 赵景波 | 张万起 | 张遵真 | 郑玉新 | 庄志雄 |