

小白菜表面粪大肠菌群的污染及其耐药性研究

李 琼^{1,2}, 李雅颖², 姚槐应^{1,4*}, 葛超荣³

(1.浙江大学环境与资源学院, 杭州 310058; 2.中国科学院城市环境研究所, 福建 厦门 361021; 3.浙江大学附属第一医院, 杭州 310003; 4.中国科学院宁波城市环境观测研究站, 浙江 宁波 315830)

摘 要:为明确粪大肠菌群对蔬菜的污染及其耐药性,对厦门市集美区主要菜市场及超市的小白菜进行抽样调查。采用平板计数和 MPN 法对小白菜表面的粪大肠菌群进行计数,并通过对分离的细菌进行药敏试验,揭示粪大肠菌群对常用抗生素的耐药性。结果显示平板计数粪大肠菌群数量平均为 $631.3 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,合格率达 90.9%;MPN 计数平均为 $48.2 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$,合格率达 87.9%。清洗处理后粪大肠菌群数量从 $564.7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 降到 $92.5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$;流水浸泡 10 min 后,粪大肠菌群数量从 $564.7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 降到 $99.2 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。药敏试验结果表明,粪大肠菌对青霉素和四环素的耐药率达到 100%,对红霉素的耐药率达到 85.0%,但对庆大霉素、阿米卡星和环丙沙星没有耐药性。研究表明清洗处理显著降低粪大肠菌群的数量,粪大肠菌群对常用抗生素具有一定程度的耐药性,其耐药谱较广。

关键词:MPN; 平板计数; 药敏试验; 耐药性; 粪大肠菌群

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)05-0862-06 doi:10.11654/jaes.2014.05.006

Occurrence of Fecal Coliforms on Chinese Cabbages and Their Resistance to Antibiotics

LI Qiong^{1,2}, LI Ya-ying², YAO Huai-ying^{1,4*}, GE Chao-rong³

(1.College of Resources and Environment, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 3.First Affiliated Hospital of Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China; 4.Ningbo Urban Environment Observation and Research Station, Chinese Academy of Sciences, Ningbo 315830, China)

Abstract: Microbial contamination of vegetables has aroused public concerns. An investigation was carried out to examine occurrence and resistance to antibiotics of fecal coliforms on fresh Chinese cabbages collected from farmers–markets and supermarkets in Jimei district of Xiamen city, China. Fecal coliforms were quantified using both MPN (most–probable–number) and PC (plate count) methods. Two treatments (washing or immersion in water) were used to evaluate the effect of cleaning on the abundance of fecal coliforms. The resistance of the isolated fecal coliforms to six common antibiotics (gentamicin, amikacin, penicillin, erythromycin, tetracycline, and ciprofloxacin) was evaluated using antimicrobial susceptibility testing. The results showed that average population of fecal coliforms from the samples was $631.3 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ by PC method, with qualified rate of 90.9%, whereas average population of fecal coliforms was $48.2 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ by MPN method, with qualified rate of 87.9%. Washing and 10 min immersion reduced the number of fecal coliform bacteria to $93 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ and $99 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ from $565 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. The resistance the fecal coliforms to antibiotics was tetracycline (100%), penicillin (100%), and erythromycin (85%). However, the coliforms had no resistance to gentamicin, amikacin, and ciprofloxacin. Our results suggest that cleaning treatments can significantly reduce the number of fecal coliforms and the fecal coliforms have resistance to common antibiotics.

Keywords: MPN; CFU; antimicrobial susceptibility testing; resistance; fecal coliform

近年来,随着经济全球化进程的加快,食品安全已成为世界性公共卫生热点。粪大肠菌群等食源性致病菌是引起食源性疾病的首要原因,是食品安全的重

大隐患^[1]。我国人畜禽粪便每年产生总量约为 19 亿 t,如未经处理直接排放,不但可能造成严重的环境污染,其中带有的致病微生物,还可以通过直接接触或进入土壤和作物,对人类健康产生影响^[2]。在蔬菜种植中,农民经常施用未腐熟畜禽粪便或生粪,从而造成蔬菜污染进而频频引发食物中毒。2006 年到 2007 年,加拿大先后发现生菜、菠菜、胡萝卜被大肠杆菌和肉毒杆菌污染。2011 年 5 月,德国发生罕见的病原体 O104:H4 型

收稿日期:2013-09-18

基金项目:国家自然科学基金项目(81101283);宁波市自然科学基金(2013A610185)

作者简介:李 琼(1988—),女,硕士研究生,研究方向为土壤分子微生物。E-mail:liqiong8741@126.com

* 通信作者:姚槐应 E-mail:huaiyingyao@163.com

大肠杆菌疫情并向欧洲各地蔓延^[3]。近年来,蔬菜和水果的消费量日益增多,为了防止维生素损失,人们比过去更讲究吃生鲜蔬菜和水果^[4],这使得受病原菌污染风险增加。病原菌污染事件频发,导致人们对蔬菜的要求已从数量型逐步转向质量型^[5]。然而当前我国政府及民众对蔬菜卫生要求更看重蔬菜中的药化残留以及无公害蔬菜产地环境条件的规范,而对蔬菜病原菌污染关注不够,至今尚没有新鲜蔬菜微生物的检测标准。

对病原菌数量和浓度的精确估算在食品评价中是不可或缺的^[6]。我国对于大肠菌群的计数主要通过平板菌落计数法和最大可能数(MPN)两种方法来实现^[7-8]。MPN法现常用于食品中微生物的风险评估^[9]。

抗生素多为抗微生物药物,能直接杀死环境(土壤和水体等)中某些微生物或抑制其生长,影响环境中微生物群落的组成^[10]。目前,规模化养殖快速发展,兽药抗生素被广泛应用,导致动物粪便中抗生素含量严重超标,细菌耐药性日益增强,直接危害人类健康。为调查市售蔬菜微生物污染状况,提出控制蔬菜污染的有效方法,本文对厦门市集美区内主要蔬菜批零市场和超市所售的小白菜进行了微生物指标和常用抗生素的耐药性检测。

1 材料与方法

1.1 试验材料

样品取于厦门市集美区主要农贸市场及超市,共33个,其中农贸市场20个,超市13个,抽样的蔬菜为小白菜。样品采集后用无菌小刀去除根和泥土等,取其可食部分,立即装入无菌塑料自封袋中。保证在无菌条件下尽快送往实验室测试。

1.2 主要试剂

1.2.1 药敏试纸

环丙沙星($5\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$),四环素($30\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$),庆大霉素($10\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$),阿米卡星($30\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$),青霉素($10\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$),红霉素($15\mu\text{g}\cdot\text{片}^{-1}$),购自赛默飞世尔生物化学制品有限公司。

1.2.2 培养基

科玛嘉显色培养基购自博赛生物技术公司,M-H培养基,EC肉汤和LST(月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤)购自青岛海波生物技术公司。

1.3 质控菌株

药敏试验质控菌株为ATCC25922^[11]。

1.4 主要试验仪器及设备

全自动不锈钢立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医

疗器械厂);SHP-250生化培养箱(上海精宏实验设备有限公司);SW-CJ-1FD超净工作台(苏静安泰空气技术中心)。

1.5 方法

1.5.1 检测方法

将收集的小白菜称取整株样品100g,依次放入3个灭菌的三角瓶中,以1:1的配比加入无菌生理盐水,于摇床上 $250\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡30min,静置10min,然后将3份洗涤水合并,用科玛嘉ECC显色培养基进行粪大肠菌群计数^[9],显蓝色的为粪大肠菌群,3次重复。

1.5.2 不同洗涤方法处理

取适量的整株样品分成三组处理:直接检测组、清洗组和浸泡组。清洗组样品放入清洁瓷盆中,按居民生活中常用的洗菜方法,用自来水清洗3遍,再放入清洁小筐中冲淋1遍,沥干后样品直接进行检测。另一组装入玻璃瓶中用自来水流水浸泡1、3、5、10min,稍晾干后分别对其进行表面粪大肠菌群计数,3次重复。

1.5.3 药敏试验

药敏试验采用纸片琼脂扩散法(K-B法)。将浓度0.5麦氏单位的粪大肠菌群菌悬液接种于药敏培养基。接种方法为以无菌棉棒蘸取已制备好的菌液,并在管壁上挤压除去多余的菌液后,向一个方向均匀涂布接种于M-H琼脂平板表面,然后将平板每转动 60° 涂布一次,共涂3次,最后沿平板边缘涂布一圈。盖上平皿盖,置室温干燥3~5min待平皿面稍干后用无菌镊子或纸片分配器将药敏试纸平放于含菌琼脂平板表面,并轻压使其紧贴在上面。纸片应贴得均匀,各纸片中心距离不小于24mm,纸片距平板内缘应不少于15mm。直径为90mm的平皿可贴6~7张纸片。纸片一旦接触琼脂避免再次移动。平板经室温放置15min再倒置于 35°C 培养箱中,培养16~18h后测量抑菌圈直径。根据药敏试验抑菌环直径判断标准(WS/T125—1999)判定其对药物的敏感性。所有试验操作过程均在超净工作台上进行。

1.5.4 数据处理

试验数据经Microsoft Excel 2003整理后,采用SPSS和SigmaPlot软件处理。

2 结果与分析

2.1 供试小白菜表面粪大肠菌群直接检测结果

从表1中可以看出,用平板计数法和MPN法两种方法得到的结果基本一致。我国目前对蔬菜粪大肠

菌群数量没有明确的限量标准,所以对于 MPN 法,我国仅参考其他国家类似产品标准,制定大肠杆菌群不得高于 $100 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 的限量值。农贸市场的 20 个样品合格率为 90.0%,而超市的合格率为 84.6%。对于平板计数法,则参考国际微生物规格委员会(ICMSF)对食品微生物限量标准中蔬菜的规定,数量范围在 $100 \sim 1000 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 为合格。农贸市场中共有 20 份样品,其中有 18 份样品在 $100 \sim 1000 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内,合格率为 90.0%,另外两个样品用平板计数方法得到的数值分别为 1217、1083 $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,未达到合格水平。超市的 13 份样品中合格的为 12 份,合格率达到 92.3%。超市和农贸市场相比,两种计数方法均差异显著,MPN 法 P 值为 0.03,平板计数法得到 P 值为 0.04。

2.2 洗涤方法对小白菜表面粪大肠菌群的影响

由图 1 可知,采用平板计数法,自来水冲洗和流水浸泡 10 min 对清除小白菜表面粪大肠菌群效果最好,粪大肠菌群数量从 $564.7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 分别降到 92.5

$\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $99.2 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ($P < 0.05$),效果显著。而采用 MPN 法,清洗处理和流水浸泡 10 min 对蔬菜表面的粪大肠菌群的数量也有显著的降低效果。MPN 值由对照的 $55.4 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 分别降低到 $6.4 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $5.4 \text{ MPN} \cdot \text{g}^{-1}$ ($P < 0.05$)。从图 1 中也可以看出,小白菜流水浸泡 10 min 的处理与清洗处理之间没有显著差异。浸泡处理的小白菜随着浸泡时间的增加,小白菜表面的粪大肠菌群的数量也逐渐减少。

2.3 小白菜上分离的粪大肠菌群对不同药物的敏感性

药敏试验可以说明样品中分离出的粪大肠菌群对不同药物的耐药情况。从表 2 和图 2 中可以看出,分离的菌株对青霉素和四环素的耐药率最高,都达到了 100%;其次为红霉素,从 28 个样品中分离得到的细菌对红霉素的耐药率达到 84.8%;只有从农贸市场样品中分离得到的 1 株细菌对庆大霉素中度敏感;所有的受试菌株对阿米卡星和环丙沙星都高度敏感。

从表 3 中可以看出,全部的受试菌株均对试验中

表 1 供试小白菜样品表面的粪大肠菌群监测结果

Table 1 Fecal coliforms on the surface of selected Chinese cabbages

采集地点 Sampling sites	指标 Index	小白菜表面的粪大肠菌群 Fecal coliforms on the surface of selected Chinese cabbages	
		平板计数法 PC method	MPN 法 MPN method
农贸市场 Farmers-market	数值范围 Range	277~1217 $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$	9.2~120 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$
	平均值 Average	605 $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$	45 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$
	合格率 Qualified rate	90.0%	90.0%
超市 Supermarket	数值范围 Range	293~1238 $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$	21~150 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$
	平均值 Average	672 $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$	53 $\text{MPN} \cdot \text{g}^{-1}$
	合格率 Qualified rate	92.3%	84.6%
	P	0.04	0.03

Note: PC--Plate count method; MPN--Most-probable-number method.

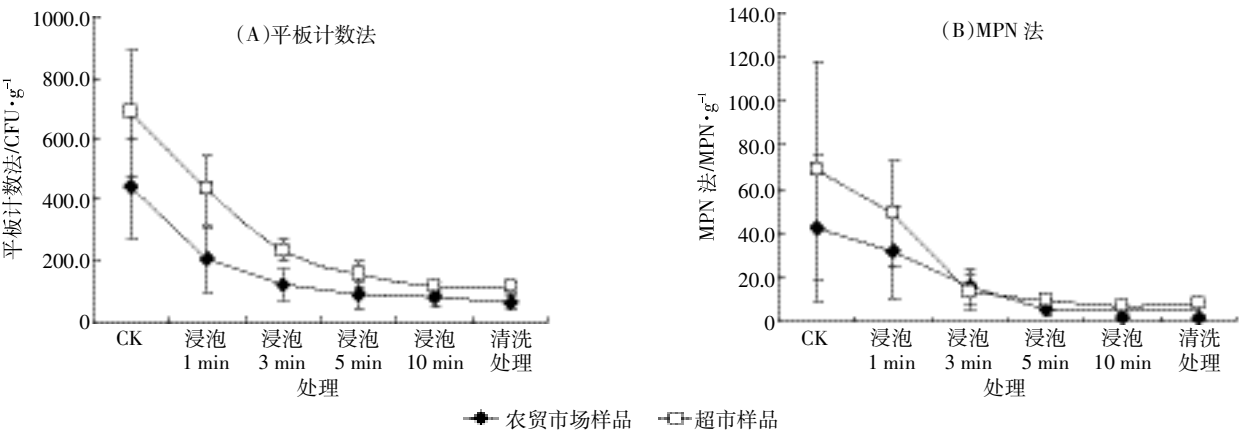


图 1 不同洗涤方法对小白菜表面粪大肠菌群的影响

Figure 1 Influence of different cleaning methods on fecal coliforms on the surface of Chinese cabbages (A. Plate count method; B. Most-probable-number method)

表 2 小白菜上分离的粪大肠菌群对不同药物的耐药情况

Table 2 Antibiotic resistance of fecal coliforms isolated from selected Chinese cabbages

抗菌药物 Antibiotics	质控抑菌直径 Zone diameter/mm	纸片含药量 Antibiotic concentration/ μg	耐药率 Rates of resistance/%		
			S	I	R
庆大霉素 Gentamicin	24	10	97.0	3.0	0.0
四环素 Tetracycline	20	30	0.0	0.0	100.0
环丙沙星 Ciprofloxacin	33	5	100.0	0.0	0.0
阿米卡星 Amikacin	22	30	100.0	0.0	0.0
青霉素 Penicillin	16	10	0.0	0.0	100.0
红霉素 Erythromycin	25	15	0.0	15.2	84.8

注:S 为敏感;I 为中度敏感;R 为耐药。

Note: "R" means resistance; "I" means intermediate sensitivity; "S" means sensitivity

的青霉素和四环素耐药,而对三种抗生素同时耐药的菌株有 28 株,占受试样品的 85.0%,表现出很高的多重耐药性。图 2 是根据不同抗生素抑菌圈的直径,对受试样品的耐药性进行主成分分析 (PCA), 结果表明,农贸市场和超市两个不同的采样地区对小白菜上的粪大肠菌群菌株的耐药情况并未完全区分开来,不同取样点的样品对抗生素的耐药状况基本一致,无显著差异。

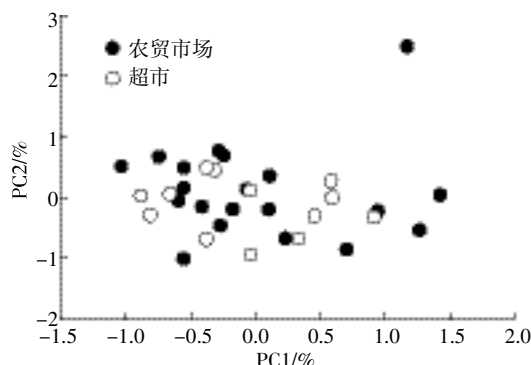


图 2 小白菜上分离的粪大肠菌群对不同样品来源的耐药情况

Figure 2 Antibiotic resistance of fecal coliforms isolated from Chinese cabbages with different origins

3 讨论

为了确保食品安全,食品法典委员会(CAC)、国际食品微生物规格委员会(ICMCS)等国际组织及美国、欧盟、日本等发达国家均制定了严格的食品微生物限量标准,其体系包括食品种类、检测项目、限量标准、取样计划、应用要求和法定状态等内容。本研究的目的是通过调查小白菜粪大肠菌群的数量,了解市售小白菜的污染状况。本实验表明,无论是批零市场还是超市中销售的小白菜均有粪大肠菌群的残留,而目

前市售的沙拉蔬菜中基本都能检测到粪大肠菌群的存在^[5,12]。平板计数法和 MPN 法都是粪大肠菌群常用的计数方法,用平板计数法和 MPN 法检测 33 个蔬菜样品,其合格率分别为 90.9%和 87.9%,两种方法之间没有显著差异,与之前研究结果基本一致^[13-14]。孙锡娟等^[15]的研究发现,从粪大肠菌群的检出率来看,叶菜类(小白菜、菠菜等)的检出率达到 18%~66%;孙贵娟等^[16]进行的调查也表明蔬菜被污染,检出率也达到 41.67%。小白菜上的粪大肠菌群的含量为 $639 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,这一数据低于其他研究结果^[5,17]。但是,卢丹等^[18]对蔬菜进行检测,得出食源致病菌的检出率只为 10%。这些差异可能由于环境条件和市场的卫生条件造成。虽然大多数蔬菜上的粪大肠菌群的数量都达到了安全标准,但仍有少部分的蔬菜存在污染,甚至污染较为严重。因此,应十分重视来自粪便病原微生物对食品安全的影响。

为减少小白菜表面的粪大肠菌群数量,我们采用不同的洗剂处理。Sapers 的研究表明有效的清洗方法可以减少蔬菜表面上大多数的病原菌^[14]。用不同的洗涤方法处理样品后,发现不管是自来水清洗还是用流水浸泡法处理,蔬菜表面的粪大肠菌群的数量都会下降^[17]。用自来水清洗后粪大肠菌群数量从 $564.7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 降到 $92.5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,效果显著。陈欣等^[17]对蔬菜进行洗剂处理后,也发现进行清水处理的样品菌群数量明显下降。而用流水浸泡处理,需要浸泡 10 min 以上,效果才能达到清洗的水平。所以经过常规清洗或者是流水浸泡 10 min 后,蔬菜表面的菌群会显著减少,容易达到安全标准。

从常见的食品中分离的大肠菌群对四环素和青霉素的耐药比较常见^[19-21],我们分离到的细菌对四环素和青霉素也达到了 100%耐药。Johnston 等^[22]从美国

西南部收获的新鲜芹菜、香菜、菠菜等蔬菜中分离出了菌群,并采用药敏试验鉴定其抗性类型,结果表明新鲜果蔬中含有大量常用抗生素(如四环素等)的耐药菌。值得注意的是,本试验结果显示受试菌株对红霉素也有很高的耐药率,达到84.8%,且粪大肠菌群的耐药谱较广,菌株最多对供试6种抗生素其中的3种产生耐药,具有明显的多重耐药性特征。细菌耐药性问题已成为社会公共卫生安全的重大威胁。抗生素生产、使用过程中,耐药细菌也经历了一个从产生到广泛传播、耐药机制从简单到复杂、耐药谱从单重到多重甚至泛耐药的过程^[23]。细菌染色体或质粒可以携带抗生素耐药基因发生基因水平转移,而且已有相当多的证据证明了抗生素抗性基因具有很高的迁移性和活性^[24-25],能促进微生物对抗生素耐药性的快速进化。而养殖业抗生素的滥用导致畜禽粪便中抗生素含量升高,未经处理或简单处理的堆肥施入土壤后会对蔬菜造成污染^[26]。因此,蔬菜耐药菌及其耐药基因的污染问题值得注意和深入研究。

细菌耐药性广泛传播的根本原因,大部分可归结为抗菌药物的大量使用,尤其是不合理使用和滥用。鉴于耐药性细菌的大量出现,各个国家已经采取相应的措施,加快新抗菌药的开发,包括鼓励开发合适的新药和疫苗,这是解决耐药问题的传统而有效的方法^[14]。另外,应以当代系统的医学、药理学、管理学知识和研究为基础,科学使用药物,使之达到安全、有效、经济的目的,从而降低细菌耐药性^[27]。

4 结论

通过对厦门市集美区主要菜市场及超市的小白菜进行抽样调查发现,粪大肠菌群指标合格率约为90%,但仍有一定的微生物残留。自来水清洗和流水浸泡10 min均能有效清除粪大肠菌群残留。药敏试验结果显示,蔬菜中分离的粪大肠菌群对青霉素、四环素和红霉素均有较强的耐药性,具有多重耐药特征。

参考文献:

- [1] 李少彤, 栾玉明, 蒋卓勤. 食源性致病菌检测现状与食品微生物危险性评估的研究进展[J]. 现代预防医学, 2006, 33(9): 1556-1557.
LI Shao-tong, LUAN Yu-ming, JIANG Zhuo-qin. Current situation of food-borne Pathogens and food microbiological risk assessment[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2006, 33(9): 1556-1557.
- [2] Soriano J M, Rico H, Molto J C, et al. Assessment of the microbiological quality and wash treatments of lettuce served in university restaurants[J]. *J Food Microbiology*, 2000, 58(1): 123-128.
- [3] 倪云龙. 大肠杆菌也是狠角色[J]. 生命·科学, 2011, 263(9): 60-64.
NI Yun-long. *E. coli* is also ruthless role[J]. *Life·Science*, 2011, 263(9): 60-64.
- [4] 陈月英. 我国居民蔬菜消费需求现状及前景[J]. 中国食物与营养, 2005(7): 38-39.
CHEN Yue-ying. Current situation and prospect of vegetable consumption demand of inhabitants in our country[J]. *Food and Nutrition in China*, 2005(7): 38-39.
- [5] 高铭营, 李宝聚, 石延霞, 等. 鲜食蔬菜中食源性病原菌污染及防控[J]. 中国食物与营养, 2009(5): 9-11.
GAO Ming-ying, LI Bao-ju, SHI Yan-xia, et al. Food-borne pathogens pollution in fresh vegetables and its prevention[J]. *Food and Nutrition in China*, 2009(5): 9-11.
- [6] Bassett J, Jackson T, Jewell K, et al. Impact of microbial distributions on food safety[M]. ILSI Europe, 2010.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789. 39—2008 大肠菌群测定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
Ministry of Health of PRC. GB/T 4789. 39—2008 Detection of Coliform bacteria[S]. Beijing: China Standards Press, 2006.
- [8] Jouini A, Slama K B, Saenz Y, et al. Detection of multiple-antimicrobial resistance and characterization of the implicated genes in *Escherichia coli* isolates from foods of animal origin in Tunis[J]. *Journal of Food Protection*, 2009, 72(5): 1082-1088.
- [9] Endrikat S, Gallagher D, Pouillot R, et al. A comparative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in prepackaged versus retail-sliced Deli meat[J]. *Journal of Food Protection*, 2010, 73(4): 612-619.
- [10] 王 冉, 刘铁铮, 王 恬. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. 生态学报, 2006, 26(1): 265-270.
WANG Ran, LIU Tie-zheng, WANG Tian. The fate of antibiotics in environment and its ecotoxicology[J]. *Acta Ecology Sinica*, 2006, 26(1): 265-270.
- [11] Wayne P A. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing[C]. Ninth informational supplement NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2008: M100-S9.
- [12] 李秀桂, 唐振柱, 黄 彦, 等. 即食凉拌食品中微生物污染调查分析及大肠菌群限量探讨[J]. 公共卫生与预防医学, 2009, 20(3): 24-26.
LI Xiu-gui, TANG Zhen-zhu, HUANG Yan, et al. Evaluation of microbiological contamination and coliform safety limit in cold ready-to-eat (RTE) foods[J]. *Journal of Public Health and Preventive Medicine*, 2009, 20(3): 24-26.
- [13] 李子江, 邓铁娥, 蒋受坤. 食品中大肠菌群两种测定方法的比较[J]. 疾病监测与控制杂志, 2012, 6(8): 491-492.
LI Zi-jiang, DENG Tie-e, JIANG Shou-kun. The comparison of two methods for determining the coliform group in food[J]. *Journal of Diseases Monitor & Control*, 2012, 6(8): 491-492.
- [14] Sapers G M. Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products[J]. *Food Technology and Biotechnology*, 2001, 39(4): 305-311.
- [15] 孙锡娟, 卢善玲. 施肥方式对蔬菜大肠杆菌污染的影响[J]. 上海农业学报, 1996, 12(2): 68-72.

- SUN Xi-juan, LU Shan-ling. Colibacillus contamination of vegetables in Shanghai suburban areas and influence of manuring measures on contamination[J]. *Acta Agriculturae Shanghai*, 1996, 12(2):68-72.
- [16] 孙贵娟, 林毓宁, 邓其军, 等. 南宁市致泻性大肠杆菌病原监测与研究[J]. 广西医学, 2000, 22(4):684-686.
- SUN Gui-juan, LIN Yu-ning, DENG Qi-jun, et al. Surveillance and study of diarrheacausing *E. coli* (DCEC) in Nanning[J]. *Guangxi Medical Journal*, 2000, 22(4):684-686.
- [17] 陈 欣, 常志州, 袁 生, 等. 常见蔬菜受粪肥病原菌污染情况的研究[J]. 中国蔬菜, 2007(2):25-27.
- CHEN Xin, CHANG Zhi-zhou, YUAN Sheng, et al. Investigation on vegetables polluted by animal manure [J]. *China Vegetables*, 2007(2):25-27.
- [18] 芦 丹, 张海玲, 金文军, 等. 2008—2010 年北京市昌平区食品中食源性致病菌污染状况分析[J]. 中国预防医学杂志, 2011, 12(8):714-715.
- LU Dan, ZHANG Hai-ling, JIN Wen-jun, et al. Food contamination by pathogenic bacteria between 2008—2010 in Changping Beijing [J]. *Journal of Public Health and Preventive Medicine*, 2011, 12(8):714-715.
- [19] Ryu S H, Park S G, Choi S M, et al. Antimicrobial resistance and resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from commercial fish and seafood[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 152:14-18.
- [20] Van T T H, Chin J, Chapman T, et al. Safety of raw meat and shellfish in Vietnam; An analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 124:217-223.
- [21] Vasilakopoulou A, Psichogiou M, Tzouveleakis L, et al. Prevalence and characterization of class 1 integrons in *Escherichia coli* of poultry and human origin[J]. *Foodborne Pathogens and Disease*, 2009, 6:1211-1218.
- [22] Johnston L M, Jaykus L A. Antimicrobial resistance of Enterococcus species isolated from produce[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70:3133-3137.
- [23] 崔生辉, 林 兰, 丁 宏, 等. 耐药细菌产生与传播的原因[J]. 中华预防医学杂志, 2011, 45(10):875-877.
- CUI Sheng-hui, LIN Lan, DING Hong, et al. The Causes of emergence and prevalence of drug-resistant bacteria[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2011, 45(10):875-877.
- [24] 孔维栋, 朱永官. 抗生素类兽药对植物和土壤微生物的生态毒理学效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(1):1-9.
- KONG Wei-dong, ZHU Yong-guan. A Review on ecotoxicology of veterinary pharmaceuticals to plants and soil microbes[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(1):1-9.
- [25] Séveno N A, Kallifidas D, Smalla K, et al. Occurrence and reservoirs of antibiotic resistance genes in the environment[J]. *Reviews in Medical Microbiology*, 2002, 13(1):15-27.
- [26] Peak N, Knapp C W, Yang R K, et al. Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(1):143-151.
- [27] 高美英. 抗生素耐药性的挑战与控制对策[J]. 医药导报, 2004, 23(4):210-212.
- GAO Mei-ying. Challenge and control strategies of antibiotic resistance in bacteria[J]. *Herald of Medicine*, 2004, 23(4):210-212.