

调查研究

我国部分地区婴儿人群梭状芽胞杆菌暴露水平调查

李颖¹,李凤琴²,江涛²,刘翔³,雷高鹏⁴,陈玉贞⁵,吴玲玲⁶,薛成玉⁷,胡晓宁⁸,董银苹²

(1.首都儿科研究所附属儿童医院,北京 100020; 2.国家食品安全风险评估中心 国家卫生健康委员会食品安全风险评估重点实验室,北京 100021; 3.宁夏回族自治区疾病预防控制中心,宁夏 银川 750004; 4.四川省疾病预防控制中心,四川 成都 610041; 5.山东省疾病预防控制中心,山东 济南 250014; 6.河南省疾病预防控制中心,河南 郑州 450016; 7.黑龙江省疾病预防控制中心,黑龙江 哈尔滨 150030; 8.甘肃省疾病预防控制中心,甘肃 兰州 730000)

摘要:目的 以人群调查研究方式对我国部分地区婴儿及婴儿配方粉中梭状芽胞杆菌污染水平进行分析,获得我国婴儿人群梭状芽胞杆菌暴露水平数据。方法 在我国六个省(自治区)设点,调查婴儿人群的基本信息,并对相关人群的粪便标本以及食品、环境和所在地市售婴儿配方粉样品进行采集,对所有样品/标本进行梭状芽胞杆菌检测。结果 本研究共调查婴儿 501 人。按照喂养方式分组,包括纯母乳喂养 247 人,混合/人工喂养 254 人。按照年龄分组,包括 0~6 月龄 367 人,7~12 月龄 134 人。采集样品 813 份,其中 246 份样品/标本中分离出梭状芽胞杆菌 246 株,总检出率为 30.3% (246/813),其中检出率较高的梭状芽胞杆菌分别为生孢梭菌(8.4%, 68/813)、双酶梭菌(6.2%, 50/813)和丁酸梭菌(4.6%, 37/813);梭状芽胞杆菌分离率最高的为粪便标本(37.3%, 187/501),之后依次为市售婴儿配方粉样品(22.3%, 27/121)、环境样品(19.5%, 25/128)和食品样品(11.1%, 7/63);其中混合/人工喂养组检出率高于纯母乳喂养组,7~12 月龄组检出率高于 0~6 月龄组,差异均有统计学意义($\chi^2 = 40.833$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 27.829$, $P < 0.01$)。结论 我国部分地区婴儿食用的食品及生活的环境中梭状芽胞杆菌暴露水平较高。

关键词:婴儿;婴儿配方粉;梭状芽胞杆菌;生孢梭菌;丁酸梭菌;暴露水平

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)02-0165-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.02.011

A study on *Clostridium* spp. exposure level on infant population in some parts of China

LI Ying¹, LI Fengqin², JIANG Tao², LIU Xiang³, LEI Gaopeng⁴,CHEN Yuzhen⁵, WU Lingling⁶, XUE Chengyu⁷, HU Xiaoning⁸, DONG Yinpings²

(1. Children's Hospital Affiliated to Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China; 2. National Health Commission Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China; 3. Ningxia Centers for Disease Control and Prevention, Ningxia Yinchuan 750004, China; 4. Sichuan Centers for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China; 5. Shandong Centers for Disease Control and Prevention, Shandong Jinan 250014, China; 6. Henan Centers for Disease Control and Prevention, Henan Zhengzhou 450016, China; 7. Heilongjiang Centers for Disease Control and Prevention, Heilongjiang Harbin 150030, China; 8. Gansu Centers for Disease Control and Prevention, Gansu Lanzhou 730000, China)

Abstract: Objective A case-control study on *Clostridium* spp. contamination on infant population and infant formula powdered was carried out, the data on *Clostridium* spp. exposure in some parts of China was obtained. **Methods** Epidemiological information and samples were collected from 6 locations in 6 provinces in China. The isolation and identification, of *Clostridium* spp. were performed. **Results** Totally 501 infants were investigated. Among them, 247 were exclusive breastfeeding and 254 were mixed feeding. According to the month grouping, 367 were 0-6 months and 134 were

收稿日期:2020-02-29

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81402684)

作者简介:李颖 女 副主任医师 研究方向为新生儿及小儿急救医学 E-mail:jizhenly@163.com

通信作者:董银苹 女 副研究员 研究方向为食品微生物学 E-mail:dongyinpings@cfsa.net.cn

7-12 months. A total of 813 samples were collected. After testing, 246 strains of *Clostridium* spp. were obtained and the positive rate was 30.3% (246/813). *C. sporogenes* (8.4%, 68/813), *C. bifermentans* (6.2%, 50/813) and *C. butyricum* (4.6%, 37/813) had the highest detection rate. 37.3% (187/501) of the stool samples were *Clostridium* spp. positive, followed by 22.3% (27/121) of the infant formula powder, 19.5% (25/128) of the environmental swab and 11.1% (7/63) of the food samples. The detection rate of *Clostridium* spp. in mixed feeding group was significantly higher than that of breast-feeding group ($\chi^2 = 40.833$, $P < 0.01$), and 7-12-month-old group was significantly higher than that of 0-6 months group ($\chi^2 = 27.829$, $P < 0.01$). **Conclusion** There was a high exposure level of *Clostridium* spp. in food and environment in infant population in some parts of China.

Key words: Infant; infant formula powder; *Clostridium* spp.; *Clostridium sporogenes*; *Clostridium butyricum*; exposure level

梭状芽胞杆菌(*Clostridium* spp.)是一群厌氧或微需氧、革兰阳性的产芽胞杆菌。该菌广泛分布于自然界,食品和土壤中均有较高的分离率。由于其能形成芽胞,对外界有较强的抵抗力,因此可在外环境中长期滞留。目前已知的梭状芽胞杆菌有200余种,其中绝大多数为非致病菌,且有些菌株如丁酸梭菌(*C. butyricum*)和酪酸梭菌(*C. tyrobutyricum*)在中国、韩国及日本等亚洲国家也被当做益生菌使用^[1]。但部分梭状芽胞杆菌可致人类严重疾病,如肉毒梭菌(*C. botulinum*)、丁酸梭菌以及巴氏梭菌(*C. baratii*)能引起肉毒中毒;破伤风梭菌(*C. tetanus*)可引起破伤风;产气荚膜梭菌(*C. perfringens*)和艰难梭菌(*C. difficile*)可引起腹泻等^[2]。除此之外,由产气荚膜梭菌、乙二醇梭菌(*C. glycolicum*)、类腐败梭菌(*C. paraputrificum*)、生胞梭菌(*C. sporogenes*)、尸毒梭菌(*C. cadaveris*)引起的菌血症,近端梭菌(*C. subterminale*)和第三梭菌(*C. tertium*)引起的败血症,近端梭菌和生胞梭菌引起的腹腔和胸腔感染,产气荚膜梭菌和丁酸梭菌引起的新生儿坏死性小肠结肠炎等疾病也常有报道。上述梭状芽胞杆菌还可引起肺炎、软组织感染、化脓性关节炎、脑膜炎、脊髓炎、气性坏疽等疾病,且部分疾病的病死率可达70%^[1,3-16]。

婴儿人群免疫力较低,肠道功能尚未健全,易受梭状芽胞杆菌感染,在其肠道内定植、繁殖后致病。目前已知的婴儿肉毒中毒、新生儿坏死性小肠结肠炎、腹泻和菌血症等婴儿疾病均与梭状芽胞杆菌感染相关。婴儿感染致病性梭状芽胞杆菌后,临床症状常不典型,梭状芽胞杆菌本身属于苛养菌,不宜培养,检测方法繁琐复杂,实验室检测确诊困难,致使婴儿梭状芽胞杆菌感染相关疾病不易做出临床诊断,漏诊和误诊率较高,严重危害婴儿人群身体健康。

本研究对梭状芽胞杆菌进行了系统研究,通过对我国部分省份婴儿和婴儿配方粉的调查分析,首次获得了我国婴儿人群梭状芽胞杆菌暴露水平数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

在四川、甘肃、河南、宁夏、黑龙江、山东六个省(自治区)设置采样点,对婴儿人群进行流行病学调查,采集人群粪便标本、食品和环境样品,同时在人群所在地的商场、超市、商店和市场等处采集当地消费量较高的市售婴儿配方粉(powdered infant formula, PIF)备用。

1.1.2 主要仪器与试剂

恒温培养箱,生物安全柜,冷冻离心机,API 20 A 厌氧菌鉴定系统、厌氧培养装置均购自法国梅里埃,凝胶成像系统、聚合酶链式反应(PCR)仪均购自美国Bio-Rad。

庖肉肉汤(cooked meat medium, CMM)培养基、胰酪胨蛋白胨葡萄糖酵母提取物(trypticase-peptone-glucose-yeast extract, TPGY)肉汤培养基均购自北京陆桥技术股份有限公司,哥伦比亚血琼脂平板、革兰染液均购自法国梅里埃,DNA提取试剂盒、2×Pfu PCR MasterMix均购自天根生化科技有限公司,载体质粒PMD19-T vector、感受态细胞JM109均购自大连TaKaRa,明胶(美国Sigma),无水乙醇,磷酸氢二钠。

1.2 方法

1.2.1 溶液配制

明胶磷酸盐缓冲液(GBS):取明胶2g和磷酸氢二钠4g于1000ml蒸馏水中,加热并充分溶解后,调pH值至6.2,121℃高压灭菌15min备用。

1.2.2 婴儿人群病例对照研究设计和采样

1.2.2.1 人群分组设计

人群分组主要按照喂养方式和年龄两因素分为:纯母乳喂养组和混合/人工喂养组、0~6月龄组和7~12月龄组。纯母乳喂养指婴儿只食用母乳,不加任何代乳食品;混合喂养指婴儿食用母乳的同时,添加了部分代乳食品;人工喂养指婴儿不食用

母乳,全部用代乳食品喂养。

本研究在我国四川、甘肃、河南、宁夏、黑龙江、山东六个省(自治区)共完成 501 名婴儿人群流行病学调查和样品/标本采集,具体情况见表 1。

表 1 试验人群分组情况(人)

Table 1 Grouping of infants

分组	纯母乳喂养	混合/人工喂养	合计
0~6 月龄	243	124	367
7~12 月龄	4	130	134
合计	247	254	501

1.2.2.2 采样要求

每个人组的婴儿个体,应采集食品(主要包括婴儿正在食用的配方粉、谷类和罐装辅食等,采集自婴儿家庭,纯母乳喂养无辅食添加者不采集)和环境(包括婴儿用奶瓶和水瓶、配奶桌、冰箱、婴儿车、婴儿床、葆婴人员手和母亲乳头等,采集自婴儿家庭)样品以及婴儿粪便标本进行实验室检测。市售 PIF 应选取当地消费量较高的产品作为采集对象,应尽量多涵盖不同品牌和不同阶段的产品。

1.2.2.3 采样方法

粪便标本:用无菌竹签或采样勺采集婴儿粪便至少 5 g 于无菌采样盒内。

食品样品:固体和半固体食品应用无菌采样勺采集至少 100 g 于无菌采样袋内;液体食品应采集至少 100 ml 于无菌采样管内。

环境样品:大面积物体表面(如桌面、床面、冰箱内表面等)应以一点为中心,用棉拭子轻涂周围半径 10 cm 范围后,将棉拭子插入采样管内;小面积物体表面(如奶瓶内壁、奶嘴、葆婴人员手等)则用棉拭子轻涂整个物体表面后,将棉拭子插入采样管内。

市售 PIF 样品:同批次样品采集 2 个最小独立包装,若最小独立包装小于 100 g,则总采样量应大于 200 g。

1.2.3 样品前处理和增菌

按照 GB 4789.12—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 肉毒梭菌及肉毒毒素检验》^[17]要求进行样品前处理和增菌培养,培养结束后取一定量的培养液于离心管内,加入等体积的无水乙醇,室温静置 1 h 后划线接种哥伦比亚血琼脂平板培养基,置于 37 ℃ 厌氧培养 48 h。

1.2.4 梭状芽胞杆菌分离株的鉴定

取 1.2.3 中分离到的疑似菌落接种哥伦比亚血琼脂平板培养基,于 37 ℃ 厌氧培养 48~72 h。分别进行革兰染色镜检、API 20A 检测和 16S rRNA 克隆测序等鉴定^[18]。

1.3 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 19 和 Excel 对各组间梭状芽胞杆菌检出结果进行卡方检验,以 $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同地区梭状芽胞杆菌分离情况

本研究共采集粪便标本 501 份、食品样品 63 份、环境样品 128 份和市售 PIF 样品 121 份,共计 813 份。经革兰染色、API 20A 和 16S rRNA 克隆测序等多种方法鉴定结果相结合后,其中从 246 份样品/标本共分离梭状芽胞杆菌 246 株,包括生孢梭菌 68 株、双酶梭菌(*C. bifementans*) 50 株、丁酸梭菌 37 株、索氏梭菌(*C. sordellii*) 22 株、第三梭菌 20 株、艰难梭菌 12 株、类腐败梭菌 11 株、乙二醇梭菌 7 株、拜氏梭菌(*C. beijerinckii*) 6 株、产气荚膜梭菌 3 株以及分枝梭菌(*C. ramosum*)、近端梭菌和尸毒梭菌各 1 株。另外,也分离出其他非致病性梭菌 7 株,结果见表 2。

样品/标本中梭状芽胞杆菌总检出率为 30.3% (246/813),其中检出率最高的为生孢梭菌(8.4%, 68/813),其次为双酶梭菌(6.2%, 50/813)、丁酸梭菌(4.6%, 37/813)、索氏梭菌(2.7%, 22/813)、第三梭菌(2.5%, 20/813)、艰难梭菌(1.5%, 12/813)和类腐败梭菌(1.4%, 11/813)。其他梭状芽胞杆菌的检出率均低于 1.0%。从检出省份看,山东省检出最多为 84 株,其次为甘肃省 54 株、宁夏回族自治区 51 株、四川省 40 株、河南省 11 株和黑龙江省 6 株。

2.2 不同类别样品/标本中梭状芽胞杆菌检出情况

所有样品/标本中,粪便标本中梭状芽胞杆菌的检出率最高,为 37.3% (187/501),其次为市售 PIF 样品(22.3%, 27/121)、环境样品(19.5%, 25/128)和食品样品(11.1%, 7/63),具体分离鉴定情况见表 3。其中 25 份检测结果为阳性的环境样品主要包括家庭葆婴人员手涂抹样品 13 份、患儿配奶桌涂抹样品 4 份、患儿奶瓶涂抹样品 3 份、患儿奶嘴涂抹样品 1 份、母亲乳头涂抹样品 1 份、婴儿车涂抹样品 1 份、家庭冰箱内壁涂抹样品 1 份和土壤样品 1 份。7 份检测阳性的食品样品均为婴儿家庭内正在食用的配方粉。

2.3 不同人群中梭状芽胞杆菌的检出情况

经统计分析,混合/人工喂养组检出率高于纯母乳喂养组,差异有统计学意义($\chi^2 = 40.833, P < 0.01$);7~12 月龄组检出率高于 0~6 月龄组,差异有统计学意义($\chi^2 = 27.829, P < 0.01$),具体见表 4。

将喂养方式和年龄两个因素进一步分析发现,喂养方式对 0~6 月龄婴儿检出率有一定影响,即混合/人工喂养的 0~6 月龄婴儿梭状芽胞杆菌检出率高于纯母乳喂养组,差异有统计学意义($\chi^2 = 17.452,$

表2 梭状芽胞杆菌分离鉴定结果(株)

Table 2 Isolation and identification of *Clostridium* spp. strains

菌株名称	甘肃省	宁夏回族自治区	四川省	河南省	山东省	黑龙江省	合计
生胞梭菌	33	8	10	3	9	5	68
双酶梭菌	2	5	9	1	33	0	50
丁酸梭菌	12	7	7	0	11	0	37
索氏梭菌	3	5	4	0	9	1	22
第三梭菌	2	5	1	0	12	0	20
艰难梭菌	1	8	0	3	0	0	12
类腐败梭菌	1	4	5	0	1	0	11
乙二醇梭菌	0	2	1	0	4	0	7
拜氏梭菌	0	0	3	3	0	0	6
产气荚膜梭菌	0	2	0	0	1	0	3
分枝梭菌	0	1	0	0	0	0	1
近端梭菌	0	1	0	0	0	0	1
尸毒梭菌	0	1	0	0	0	0	1
其他非致病性梭菌	0	2	0	1	4	0	7
合计	54	51	40	11	84	6	246

表3 不同地区样品/标本中梭状芽胞杆菌分离鉴定情况(株)

Table 3 Isolation and identification of *Clostridium* spp. from samples in different areas

省份	粪便	市售 PIF	食品	环境	合计
甘肃省	47	7	0	0	54
宁夏回族自治区	31	3	1	16	51
四川省	25	10	2	3	40
河南省	6	5	0	0	11
黑龙江省	3	0	3	0	6
山东省	75	2	1	6	84
合计	187	27	7	25	246

$P < 0.01$), 具体见表5。

3 讨论

越来越多的研究证实,某些梭状芽胞杆菌感染与婴儿疾病密切相关。目前已有研究^[2,19-23]证实,婴儿肉毒中毒、新生儿坏死性小肠结肠炎、婴儿腹泻及菌血症等疾病均与梭状芽胞杆菌感染相关,这其中就包括本研究分离到的丁酸梭菌、产气荚膜梭菌、艰难梭菌、第三梭菌、类腐败梭菌和尸毒梭菌等。

表4 不同分组间梭状芽胞杆菌检出率差异统计结果

Table 4 Statistical results of *Clostridium* spp. detection rate between groups

分类	分组	检测人数	检出人数	检出率/%	χ^2 值	P 值
喂养方式	纯母乳喂养	247	72	29.1	40.883	<0.001
	混合/人工喂养	254	147	57.9		
年龄	0~6月龄	367	134	36.5	27.829	<0.001
	7~12月龄	134	85	63.4		

表5 两因素交叉分析人群检出率差异统计结果

Table 5 Two-factor cross-analysis of the statistical results of *Clostridium* spp. detection rates in infant population

因素1	因素2	检测人数	检出人数	检出率/%	χ^2 值	P 值
0~6月龄	纯母乳喂养	243	70	28.8	17.452	<0.001
	混合/人工喂养	124	64	51.6		
7~12月龄	纯母乳喂养	4	2	50.0	0.002	0.969
	混合/人工喂养	130	83	63.8		
纯母乳喂养	0~6月龄	243	70	28.8	0.137	0.711
	7~12月龄	4	2	50.0		
混合/人工喂养	0~6月龄	124	64	51.6	3.410	0.065
	7~12月龄	130	83	63.8		

注:我国各地区7~12月龄婴儿仍然坚持纯母乳喂养人群较少,本研究只调查到4名符合入组标准的婴儿,由于该项样品数量远低于其他分组,可能会造成统计偏差,因此该组统计数据仅供参考

PIF是婴儿时期主要食品来源,在婴儿梭状芽胞杆菌暴露中有较大的贡献率。BARASH等^[24]检测39份PIF发现,12份样品的梭状芽胞杆菌检出为阳性(30.8%),共检出梭状芽胞杆菌13种,其中生胞梭菌的检出率最高为20.5%,其次为丁酸梭菌(10.3%),同时检出1株产气荚膜梭菌。国家食品

安全风险评估中心(以下简称“评估中心”)实验室曾经对79份市售PIF检测发现,梭状芽胞杆菌的检出率约为14%,其中生胞梭菌为主要污染菌^[25]。本研究结果证实,我国市售PIF样品中梭状芽胞杆菌检出率为22.3%,其中生胞梭菌和丁酸梭菌的检出率均较高,这与文献报道和本研究组之前的研究结

论基本相同。英国一项研究^[26]证实,一例婴儿肉毒中毒病例是由于食用了受肉毒梭菌污染的 PIF 引起,与评估中心实验室对我国发生的一例婴儿肉毒中毒的实验室溯源结果^[27]一致,因此,有效控制 PIF 中梭状芽胞杆菌污染是减少婴儿该菌暴露水平和相关疾病发生的重要措施。

除 PIF 外,本研究还发现,我国婴儿家庭喂养环境中梭状芽胞杆菌污染率也达到了 19.5%。同时,将婴儿人群按照喂养方式和年龄等因素进行分组后,结果证实,混合/人工喂养组检出率高于纯母乳喂养组,7~12 月龄组检出率高于 0~6 月龄组。交叉分析后也发现,同年龄情况下,喂养方式对检出率有一定影响,即混合/人工喂养组检出率高于纯母乳喂养组。由此推测,婴儿梭状芽胞杆菌检出率的高低主要由其食用的食品和接触的环境中该菌的污染率决定,即混合/人工喂养和 7~12 月龄组 PIF、辅食等代乳性食品的摄入量增多,且与外环境接触更易频繁导致婴儿梭状芽胞杆菌感染率增加。

从地域分布看,山东省、甘肃省和宁夏回族自治区的检出率相对较高。究其原因,可能与采样量及实验室检测水平有较大关系。

虽然 30 余种致病性梭状芽胞杆菌中多数为条件性致病菌,即在人群患有基础疾病或免疫力低下时才可导致疾病发生,但婴儿人群尤其是新生儿,本身由于发育和免疫力等特点决定了梭状芽胞杆菌在婴儿人群容易致病。

综上所述,我国婴儿人群食用的食品和家庭喂养环境中梭状芽胞杆菌的暴露水平较高,为降低梭状芽胞杆菌相关婴儿疾病发生的可能,提出建议如下:一是坚持母乳喂养,减少月龄较小的婴儿摄入过多代乳食品;二是注重良好的喂养卫生习惯,接触婴儿人员应重视个人卫生,接触婴儿前要洗手洗脸,母亲喂养时注意乳头清洁,人工喂养时注意餐具的消毒灭菌;三是尽量避免让婴儿食用梭状芽胞杆菌污染率较高的食品,如蜂蜜和发酵食品等;四是 PIF 生产企业应重视产品中梭状芽胞杆菌污染的质量控制;五是建议国家制定相关的法规政策和健康教育手段,以减少我国婴儿人群梭状芽胞杆菌暴露水平,保护婴儿人群健康。

参考文献

[1] CASSIR N, BENAMAR S, LA SCOLA B. *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen[J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(1):37-45.

[2] KIU R, CAIM S, ALCON-GINER C, et al. Preterm infant-associated *Clostridium tertium*, *Clostridium cadaveris*, and *Clostridium paraputrificum* strains: genomic and evolutionary

insights[J]. Genome Biol Evol, 2017, 9(10):2707-2714.

- [3] ABUSNINA W, SHEHATA M, KAREM E, et al. *Clostridium sporogenes* bacteremia in an immunocompetent patient [J]. IDCases, 2019, 15:e00481. DOI: 10.1016/j.idcr.2018.e00481.
- [4] ALDAPE M J, BAYER C R, BRYANT A E, et al. A novel murine model of *Clostridium sordellii* myonecrosis: insights into the pathogenesis of disease [J]. Anaerobe, 2016, 38(1):103-110.
- [5] KIU R, HALL L J. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens* [J]. Emerg Microbes Infect, 2018, 7(1):141.
- [6] CAI D, SOROKIN V, LUTWICK L, et al. *C.glycolicum* as the sole cause of bacteremia in a patient with acute cholecystitis[J]. Ann Clin Lab Sci, 2012, 42(2):162-164.
- [7] SHINHA T, HADI C. *Clostridium paraputrificum* bacteremia associated with colonic necrosis in a patient with AIDS[J]. Case Rep Infect Dis, 2015:312919.
- [8] INKSTER T, CORDINA C, SIEGMETH A. Septic arthritis following anterior cruciate ligament reconstruction secondary to *Clostridium sporogenes*; a rare clinical pathogen [J]. J Clin Pathol, 2011,64(9):820-821.
- [9] CORBETT C E, WALL B M, COHEN M. Case report: empyema with hydropneumothorax and bacteremia caused by *Clostridium sporogenes*[J]. Am J Med Sci, 1996,312(5):242-245.
- [10] THIND S K, PREIS J I. *Clostridium subterminale* septicemia in a patient with esophageal cancer[J]. IDCases, 2014,1(3):47-49.
- [11] EDAGIZ S, LAGACE-WIENS P, EMBIL J, et al. Empyema caused by *Clostridium bifementans*: a case report [J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2015,26(2):105-107.
- [12] HALE A, KIRBY J E, ALBRECHT M. Fatal spontaneous *Clostridium bifementans* necrotizing endometritis: a case report and literature review of the pathogen[J]. Open Forum Infect Dis, 2016,3(2):ofw095.
- [13] KACHRIMANIDOU M, TSINTARAKIS E. Insights into the role of human gut microbiota in *Clostridioides difficile* infection [J]. Microorganisms, 2020,8(2):E200.
- [14] SHEN A, EDWARDS A N, SARKER M R, et al. Sporulation and germination in *Clostridial* pathogens [J]. Microbiol Spectr, 2019,7(6):GPP3-0017-2018. DOI: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0017-2018.
- [15] MILLER D L, BRAZER S, MURDOCH D, et al. Significance of *Clostridium tertium* bacteremia in neutropenic and nonneutropenic patients: review of 32 cases[J]. Clin Infect Dis, 2001,32(6):975-978.
- [16] GARCÍA-JIMÉNEZ A, PRIM N, CRUSI X, et al. Septic arthritis due to *Clostridium ramosum* [J]. Semin Arthritis Rheum, 2016,45(5):617-620.
- [17] 中华人民共和国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 肉毒梭菌及肉毒毒素检验:GB 4789.12—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [18] 董银苹,徐进,王伟,等.浓缩乳清蛋白粉及其制品中梭状芽胞杆菌的分离及鉴定[J].中国食品卫生杂志,2015,27(5):494-498.
- [19] DRIVENES B, KRAUSE T G, ANDERSSON M, et al. Infant botulism in Denmark from 1995 to 2015 [J]. Dan Med J, 2017,

- 64(9):1-3.
- [20] SHELLEY E B, O'ROURKE D, GRANT K, et al. Infant botulism due to *C. butyricum* type E toxin; a novel environmental association with pet terrapins [J]. *Epidemiol Infect*, 2015, 143(3):461-469.
- [21] HALPIN A L, KHOURI J M, PAYNE J R, et al. Type F infant botulism: investigation of recent clusters and overview of this exceedingly rare disease [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 66(S1):S92-S94.
- [22] DOYLE C J, GLEESON D, JORDAN K, et al. Anaerobic spore formers and their significance with respect to milk and dairy products [J]. *Int J Food Microbiol*, 2015, 197(12):77-87.
- [23] ROZÉ J C, ANCEL P Y, LEPAGE P, et al. Nutritional strategies and gut microbiota composition as risk factors for necrotizing enterocolitis in very-preterm infants [J]. *Am J Clin Nutr*, 2017, 106(3):821-830.
- [24] BARASH J R, HSIA J K, ARNON S S. Presence of soil-dwelling clostridia in commercial powdered infant formulas [J]. *J Pediatr*, 2010, 156(3):402-408.
- [25] GAN X, DONG Y P, YAN S F, et al. Contamination and characterization of multiple pathogens in powdered formula at retail collected between 2014 and 2015 in China [J]. *Food Control*, 2018, 87(12):40-45.
- [26] BRETT M M, MCLAUCHLIN J, HARRIS A, et al. A case of infant botulism with a possible link to infant formula milk powder: evidence for the presence of more than one strain of *Clostridium botulinum* in clinical specimens and food [J]. *J Med Microbiol*, 2005, 54(8):769-776.
- [27] DONG Y P, WANG W, JIANG T, et al. Molecular and epidemiological characterization of infant botulism in Beijing, China [J]. *Biomed Environ Sci*, 2017, 30(6):460-464.

调查研究

海口市5类食品中蜡样芽胞杆菌药敏和毒力基因检测及分子分型研究

王艳燕¹, 张慧娟², 冯桃¹, 陈聪¹, 庞燕¹

(1.海口市疾病预防控制中心, 海南 海口 570311;

2.中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 北京 102206)

摘要:目的 了解海口市5类食品中蜡样芽胞杆菌污染状况、毒力基因携带类型、药物敏感特点和分子分型特征。方法 参照 GB 4789.14—2014《食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽胞杆菌检验》对海南粉、海南粉配料、奶粉类、快餐类和糕点类5类食品进行分离鉴定蜡样芽胞杆菌,并应用普通聚合酶链式反应(PCR)方法进行菌群特异性基因 *groEL* 和 10种毒力基因检测;采用微量肉汤稀释(MIC)法检测菌株对抗生素的敏感性;应用脉冲场凝胶电泳(PFGE)技术对菌株进行分子分型。结果 626份不同食品样品中有197份检出蜡样芽胞杆菌,检出率为31.5%,其中海南粉检出率最高,为63.1%(140/222)。所有菌株均至少携带1种毒力基因,*entFM*基因携带率最高,为99.0%(195/197),*ces*基因携带率最低,为2.5%(5/197);同时携带 *nheA*、*nheB* 和 *nheC* 基因的菌株占88.8%(175/197),同时携带 *hblA*、*hblC* 和 *hblD* 基因的菌株占13.7%(27/197)。所有菌株对庆大霉素和氯霉素的敏感率均为100.0%(197/197),对万古霉素和环丙沙星敏感率分别为99.5%(196/197)和92.9%(183/197),对青霉素和复方新诺明的耐药率分别为100.0%(197/197)和90.9%(179/197)。PFGE分型结果显示,所有菌株可分为30个簇,117种带型。结论 海口市5类食品均存在蜡样芽胞杆菌污染,其中海南粉污染较重,对食品安全构成潜在的威胁;可依据菌株的毒力基因、分子分型和抗生素敏感性特点进行针对性防控和重点监管。

关键词:蜡样芽胞杆菌;毒力基因;药物敏感;脉冲场凝胶电泳;分子分型

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)02-0170-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.02.012