

(3)加强食醋的市场准入工作。一是在对食醋企业进行现场审查时,要求审查组对原材料严格把关,以便控制掺假工业冰醋酸的现场;二是要加强对企业的回访工作,要定期、不定期地进行审查。

参考文献

- [1] 李先端,马志静,张丽宏,等. 酿造醋和配制醋质量分析与鉴别[J]. 中国食品与营养,2011,17(2):27-31.
[2] 郭春红,代兴碧,吕长富,等. 酸性重铬酸钾法快速鉴别酿造、

勾兑酱油和醋的方法研究[J]. 重庆医科大学学报,2011,36(8):962-968.

- [3] 卫生部. GB 2719—2003 食醋卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
[4] 刘晓伟,李忠海,杨代明,等. 高效液相指纹图谱对食醋的掺伪判定研究[J]. 中国调味品,2010,6(35):96-98.
[5] 卫生部. GB 1903—2008 食品添加剂 冰乙酸(冰醋酸)[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
[6] 卫生部. GB/T 22099—2008 酿造醋酸与合成醋酸的鉴定方法[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

调查研究

温州市食品中肠出血性大肠杆菌 O157:H7 污染状况调查

李毅,章乐怡,洪程基,马雪莲,吴跃进

(浙江省温州市疾病预防控制中心,浙江 温州 325000)

摘要:目的 调查温州市食品中肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的污染状况,了解肠出血性大肠杆菌 O157:H7 毒力因子的携带与耐药情况。方法 采用分层随机抽样的方法,对 2008—2011 年抽取的 231 份食品样品,用免疫磁珠富集法对大肠杆菌 O157:H7 进行分离,对该分离株进行生化、血清学鉴定,以纸片法(K-B 法)进行药敏试验;采用 PCR 方法检测 O、H 抗原基因和 *stx1*、*stx2*、*eaeA*、*hlyA* 等 4 种毒力基因。结果 231 份样品中,分离出 1 株肠出血性大肠杆菌 O157:H7,检出率为 0.43%;O157 抗原和 H7 抗原的核酸检测结果阳性,但未检测到 *stx1*、*stx2*、*eaeA*、*hlyA* 等 4 种毒力基因,菌株对红霉素、利福平、150 μg/片和 10 μg/片两种浓度的 O/129(二氨基二异丙基喋啶磷酸盐)耐药。结论 温州市食品中存在大肠杆菌 O157:H7 的污染,检出率较低,但提示要加强主动监测,通过有效干预,防范肠出血性大肠杆菌 O157:H7 所致食源性疾病的发生。

关键词:肠出血性大肠杆菌 O157:H7;抗原基因;毒力基因;耐药;食源性致病菌;调查

中图分类号:R155.5 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)04-0369-03

Investigation on the contamination of *Enterohemorrhagic escherichia coli* O157:H7 on food in Wenzhou

Li Yi, Zhang Leyi, Hong Chengji, Ma Xuelian, Wu Yuejin

(Wenzhou Center for Disease Control & Prevention, Wenzhou 325000, China)

Abstract: Objective To investigate the contamination of *Enterohemorrhagic escherichia coli* (EHEC) O157:H7 on food in Wenzhou, and to understand its virulent factors and drug resistance. **Methods** Food samples were collected by random in 2008–2011 and were isolated for EHEC O157:H7 by IMS. The contamination of isolates was identified by biochemical methods and serum subtyping and the drug susceptibility was tested by K-B method; O157 and H7 antigen gene and the virulence genes of *stx1*, *stx2*, *eaeA* and *hlyA* were detected by PCR. **Results** A EHEC O157:H7 strain was isolated from 231 food samples (0.43%); in which the O157 and H7 antigen gene was positive, but the virulence genes were not detected, and the strain was resistant to erythromycin, rifampin at concentration of 150 μg and 10 μg of O/129. **Conclusion** The contamination of EHEC O157:H7 was existed in food in Wenzhou, although the detection rate was low. It suggests that strengthening active surveillance through effective intervention to prevent EHEC O157:H7 caused by food-borne diseases is necessary.

收稿日期:2012-05-10

作者简介:李毅 男 硕士 主管技师 研究方向为微生物检验 E-mail:WZL88363335@tom.com

Key words: EHEC O157: H7; antigen gene; virulence genes; resistance; foodborne pathogens; investigation

肠出血性大肠埃希菌(EHEC)是重要的食源性致病菌。在EHEC众多血清型中,O157:H7是与人类疾病相关的最常见血清型,不仅可引起人类腹泻、出血性肠炎,还可引起溶血性尿毒综合征、血栓性血小板减少性紫癜等,甚至死亡^[1]。O157:H7主要通过带菌动物(以牛、猪为主),也可通过人类带菌者的粪便污染食品,引起食源性疾病。污染食品以肉类和肉制品为主,也有乳类或其他食品^[1]。为控制食源性疾病的爆发、降低食源性疾病的发病率,从2000年开始,卫生部建立了全国食品中污染物监测系统,2004年开展的全国食品污染物监测网和2010年开展的全国食品安全风险监测项目的食源性致病菌监测方案中,都将肠出血性大肠杆菌O157:H7列为监测项目之一。为了解温州市肠出血性大肠杆菌O157:H7的污染水平,从2008年5月至2011年8月,4年间共监测温州市售的生肉类、熟肉制品、中式凉拌菜、速冻熟制米面制品、米粉米线盒饭等5大类食品共231份。现就肠出血性大肠杆菌O157:H7的检测报告如下。

1 样品与方法

1.1 样品

采用分层随机抽样法,根据人群消费较为集中和消费量较大的分布情况,选取温州市所辖区内至少3个县、区作为采样点,分成农贸市场、大型超市、餐饮店三个层次,然后按简单随机抽样原则,抽取相关食品组成调查样品。2008—2011年,从温州市鹿城区、瑞安市、永嘉县、苍南县、乐清市各农贸市场、超市和餐饮店抽取样品共计231份,每份约500g。

1.2 大肠杆菌O157:H7的分离鉴定方法

样品25g接种于225ml含20μg/ml新生霉素的改良EC肉汤,36℃±1℃培养18~24h,用免疫磁珠捕获与分离,用加样器各取50μl免疫磁珠悬液分别转移至CT-SMAC平板和改良CHROMagar O157显色琼脂平板一侧,然后用无菌涂布棒将免疫磁珠涂布平板的一半,再用接种环划线接种平板的另一半。待琼脂表面水分完全吸收后,翻转平板,于36℃±1℃培养18~24h,挑取可疑菌落接种于三糖铁琼脂,同时接种MUG-LST肉汤,并用已知MUG阳性的大肠埃希菌株做对照,于36℃±1℃培养18~24h。必要时进行氧化酶试验和革兰氏染色,初步符合大肠杆菌的生化反应者,用O157和H7因子血清作玻片凝集试验,凝集呈阳性者再用VITEK全自动生化鉴定系统进行系统生化

鉴定^[2]。

1.3 分离菌株毒力及特异基因的检测

应用聚合酶链反应(PCR)法,对产志贺毒素1基因(*stx1*)、产志贺毒素2基因(*stx2*)、粘附因子基因(*eaeA*)、溶血素基因(*hlyA*)及O157抗原基因、H7抗原基因进行检测,其序列、扩增产物大小、PCR检测具体步骤见文献^[3-4],所有引物由上海生工生物工程公司合成,TaqDNA酶、dNTPs、PCR Buffer、PCR Marker等亦由上海生工生物工程公司提供。

1.4 药敏试验

采用Kirby-Bauer纸片扩散法,结果判断按临床和实验室标准化协会(CLSI)抗微生物药物敏感性试验执行标准:M100-S21-CLSI 2011版。质控菌株为金黄色葡萄球菌ATCC 25923、大肠埃希菌ATCC 25922。

1.5 试剂及主要仪器设备

O157:H7检测培养基同GB/T 4789.36—2008^[2]由青岛海博生物技术有限公司提供;O157免疫磁珠试剂和DynaL磁珠架购自丹麦DynaL公司;GNI⁺测试条由法国生物梅里埃公司提供;VITEK-32全自动生化鉴定系统仪购自法国生物梅里埃公司、Mastercycler[®] ep gradient S银质梯度PCR仪由艾本德中国有限公司提供、复日FR-98生物电泳图像分析系统由上海复日科技有限公司提供。

1.6 药敏纸片

利福平(RFP)、链霉素(S)、强力霉素(DO)、多粘菌素B(PB)、红霉素(E)、妥布霉素(TOB)、四环素(TE)、氨苄西林(AMP)、丁胺卡那霉素(AK)、庆大霉素(CN)、氟哌酸(NOR)、复方新诺明(SXT)、氯霉素(C)、痢特灵(FR)、壮观霉素、丙氟哌酸(CIP)、O/129(二氨基二异丙基喋啶磷酸盐)纸片150μg、10μg等药敏纸片均为Oxoid产品,在有效期内使用。

1.7 统计方法

统计分析采用SPSS 13.0软件,使用FISHER精确概率法分析。

2 结果

2.1 5大类食品中肠出血性大肠杆菌O157:H7检出率

在231件样品中检出O157:H7大肠杆菌1株,检出率0.43%,5大类食品中肠出血性大肠杆菌O157:H7检出率最高为生肉类1.56%;其他检出率

全部为 0% ;5 大类食品中生肉类、熟肉制品、速冻熟制米制品、米粉米线盒饭和冷菜之间,无显著性差异($P > 0.05$;) ,具体结果见表 1。

表 1 5 类食品中肠出血性大肠杆菌 O157:H7 检出率

Table 1 The detection rate of EHEC O157:H7 in 5 kinds of food

样品种类	样品数量	阳性数	检出率(%)
生肉类	64	1	1.56
速冻熟制米制品	41	0	0
熟肉制品	49	0	0
冷菜	56	0	0
米粉米线盒饭	21	0	0
总计	231	1	0.43

注: $P > 0.05$;由于有一个格以上理论数小于 1,所以使用 FISHER 精确概率法分析。

2.2 分离菌株毒力及特异基因检测结果

1 株分离菌株的 O157 和 H7 基因检测结果均为阳性,毒力基因 *stx1*、*stx2*、*eaeA*、*hlyA* 检测结果均为阴性。

2.3 药敏试验

1 株分离的肠出血性大肠杆菌 O157:H7 对抗菌药物:红霉素、利福平、0/129(二氨基二异丙基嘧啶磷酸盐)纸片 150 μg 、10 μg 耐药,其他抗菌药物全部敏感。

3 讨论

肠出血性大肠杆菌 O157:H7 作为一种食源性疾病的病原菌,可引起出血性肠炎等疾病,在世界范围内得到普遍关注。自 1982 年美国首次发现因该致病菌引起的食物中毒以来,肠出血性大肠杆菌 O157:H7 疫情开始逐渐扩散和蔓延,相继在英国、加拿大、日本等多个国家引起腹泻暴发和流行。我国自 1997 年在一定范围内开展监测工作以来,已陆续有十余个省份从市售食品、进口食品、腹泻病患者、家畜家禽等分离到肠出血性大肠杆菌 O157:H7,表明肠出血性大肠杆菌 O157:H7 感染性腹泻已逐渐成为威胁人群健康的重要公共

卫生问题。此次经过近 4 年对温州市食品中肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的监测表明,温州市食品中存在肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的污染,检出率较低可能与温州市不是肠出血性大肠杆菌 O157:H7 的流行地区有关,虽然本研究中分离出的肠出血性大肠杆菌 O157:H7 菌株未携带毒力基因,但仍应该加强食品中 O157:H7 的污染状况和菌株毒力基因的情况及动态变化的监测,防患于未然,同时本市也应将大肠杆菌 O157:H7 列入食品安全预警监测系统。

对分离出的 1 株肠出血性大肠杆菌 O157:H7 对 18 种抗菌药物除红霉素、利福平、0/129(二氨基二异丙基嘧啶磷酸盐)纸片 150 μg 、10 μg 耐药,其他抗菌药物全部敏感,与胡元玮等^[8]报道的结果一致。药敏试验可作为防治用药的依据,也可反映病原菌的变异情况,及时地指导临床合理用药。

参考文献

- [1] 王秀茹. 预防医学微生物学及检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:295.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789.36—2008 食品卫生微生物学检验大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [3] 中华人民共和国卫生部. WS 271—2007 感染性腹泻诊断标准[M]. 北京:人民卫生出版社,2008.
- [4] 国家认证认可监督管理委员会. SN/T 1827—2006 进出口食品中产志贺毒素大肠杆菌检验方法[S]. 北京:中国标准出版社,2007.
- [5] 杜雪飞,陈晓蔚,丁洁. 从海产品中检出大肠埃希菌 O157:H7[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(3):499-500.
- [6] 韦俊超,占利,王雅琴,等. 从农村耕牛粪便中检出产志贺毒素大肠埃希菌 O157:H7[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(11):1983-1985.
- [7] 朱根忠,吴芹. 江苏省建湖地区大肠埃希菌 O157:H7 毒力基因分析[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(1):113-115.
- [8] 胡元玮,朱淑英,徐卸佐. 我市首次分离到 O157:H7 大肠杆菌分离株的生化特征、毒力因子与耐药性的探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(1):131-132.