

调查研究

石家庄市零售鸡肉样品中弓形杆菌污染调查

蒋瑞萍¹, 王晓丽¹, 高伟利¹, 徐保红¹, 张弘¹, 裴艳涛²
(1. 石家庄市疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050021;
2. 河北师范大学, 河北 石家庄 050024)

摘要:目的 调查石家庄市零售鸡肉中弓形杆菌的污染情况, 为石家庄市弓形杆菌分布特征和防控提供基础数据支持。方法 从石家庄市内四区的菜市场、超市、连锁店随机购买零售鸡肉样品 90 份, 应用驱动增强动力双孔滤膜法从样品中分离培养弓形杆菌, 利用弓形杆菌多重聚合酶链式反应 (PCR) 检测及测序的方法对分离菌株进行种属鉴定, 利用 16S rDNA、*rpoB* 基因测序的方法验证菌种鉴定结果。结果 90 份鸡肉样品中, 60 份样品检出弓形杆菌 86 株, 其中嗜低温弓形杆菌 49 株、布氏弓形杆菌 37 株, 弓形杆菌检出率为 66.67% (60/90)。60 份阳性样品中, 嗜低温弓形杆菌阳性样品 45 份 (75.00%), 布氏弓形杆菌阳性样品 35 份 (58.33%)。嗜低温弓形杆菌和布氏弓形杆菌混合感染阳性样品 20 份, 占比为 22.22% (20/90)。不同采样点弓形杆菌检出率有较大差异。结论 石家庄市零售鸡肉中弓形杆菌污染较重, 嗜低温弓形杆菌污染率高于布氏弓形杆菌, 两种弓形杆菌混合污染样品率较高。

关键词: 弓形杆菌; 鸡肉; 分离; 鉴定; 食源性致病菌
中图分类号: R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2019)02-0154-05
DOI: 10.13590/j.cjfh.2019.02.012

Contamination of *Arcobacter* in retail chicken meat in Shijiazhuang City

JIANG Ruiping¹, WANG Xiaoli¹, GAO Weili¹, XU Baohong¹, ZHANG Hong¹, PEI Yantao²
(1. Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention, Hebei Shijiazhuang 050021, China;
2. Hebei Normal University, Hebei Shijiazhuang 050024, China)

Abstract: Objective To investigate the contamination of *Arcobacter* in retail chicken meat in Shijiazhuang City, and provide basic data support for the distribution characteristics and prevention and control of *Arcobacter* in Shijiazhuang. **Methods** A total of 90 chicken meat samples were randomly collected from wholesale markets, supermarkets and butchers in Shijiazhuang. Enhanced membrane filter technique was used to isolate *Arcobacter* from the chicken meat samples, multiplex polymerase chain reaction (PCR) detection was used to identify *Arcobacter* and 16S rRNA and *rpoB* genes of the *Arcobacter* isolates were sequenced and analyzed to confirm the detection result. **Results** Among the 90 samples, 60 samples were *Arcobacter* positive (66.67%), and 86 *Arcobacter* strains were isolated. Forty-nine of the eighty-six isolates were *A. cryaerophilus* and the rests were *A. butzleri*. Among the 60 *Arcobacter* positive samples, 45 samples (75.00%) were *A. cryaerophilus* positive and 35 samples (58.33%) were *A. butzleri* positive. About 22.22% (20/90) samples were cocontaminated with *A. cryaerophilus* and *A. butzleri*. There were significant differences in the contamination rate of *Arcobacter* in different markets. **Conclusion** In Shijiazhuang City, the contamination of *Arcobacter* in retail chicken meat was serious, and the contamination rate of *A. cryaerophilus* was higher than *A. butzleri* in chicken meat samples. The contamination rate of *A. cryaerophilus* and *A. butzleri* were high.

Key words: *Arcobacter*; chicken meat; isolation; identification; foodborne pathogens

弓形杆菌属 (*Arcobacter* spp.) 归于 ϵ -变形菌纲弯曲杆菌科, 曾被称为类弯曲菌, 是一种与弯曲杆

菌 (*Campylobacter*) 形态相似、亲缘关系很近的新型革兰阴性致病菌。弓形杆菌最初被划为弯曲菌属, 直到 1991 年才从弯曲菌属中划分出来, 纳入弯曲菌科弓形杆菌属^[1]。弓形杆菌菌体大小为 (0.2 ~ 0.9) $\mu\text{m} \times$ (0.5 ~ 3.0) μm , 无芽胞、无荚膜, 弯曲短杆状, 通常呈 S 形或螺旋形, 长时间培养后可出现球形、近似球形或疏松螺旋的丝状, 一端或两端具有

收稿日期: 2019-01-31
作者简介: 蒋瑞萍 女 主管技师 研究方向为微生物学
E-mail: jrpok97@163.com
通信作者: 裴艳涛 男 实验师 研究方向为预防微生物学
E-mail: pytok97@163.com

单鞭毛,运动活泼。该菌能够在正常氧气浓度和厌氧环境下生长,最适生长于微需氧环境(3%~10% O_2),不需要 H_2 ,最适生长温度为 25~30℃,在 37 和 42℃ 生长不定,4℃ 条件下不能生长。弓形杆菌具有氧化酶和过氧化氢酶活性^[1]。目前,弓形杆菌已发现 27 个种^[2],其中,布氏弓形杆菌(*Arcobacter butzleri*)、嗜低温弓形杆菌(*Arcobacter cryaerophilus*)、斯氏弓形杆菌(*Arcobacter skirrowii*)可导致动物流产、乳腺炎、胃肠功能紊乱和人类菌血症、心内膜炎、腹膜炎和腹泻^[3-5],因此,弓形杆菌被认为是新发肠道病原菌和人畜共患菌,近年来逐渐引起重视^[6]。

弓形杆菌在自然界分布广泛,其最重要的人类感染源是食品,在牛肉、猪肉、鸡肉、鹅、牛奶等食品中均曾检出弓形杆菌^[7-9]。其中,禽类的检出率要高于牛肉、猪肉等畜肉^[10-11],鸡肉中检出率可高达 73%^[12]。此外,弓形杆菌还大量存在于各种水体中,包括饮用水、湖泊水、地表水、地下水、污水等^[7,11],可通过水体媒介进入肠道,引发一系列疾病,危害人类和动物的身体健康。关于弓形杆菌的研究,主要集中在比利时、波兰、德国、日本、巴西等国家。我国弓形杆菌的研究报道较少,2016 年以前仅有使用聚合酶链反应(PCR)法检测禽肉样品中弓形杆菌污染的报道^[13]。2016 年后,一种新的弯曲菌分离技术——驱动增强动力双孔滤膜法开始应用于弓形杆菌的分离培养,采用此方法从北京市 6 个农贸市场的 60 份零售鸡肉样品中分离出 125 株弓形杆菌^[14]。

本研究对从石家庄市市内四区的 14 家菜市场、超市、肉店中随机购买的 90 份零售鸡肉样品进行弓形杆菌的分离培养和鉴定工作,对石家庄市市售鸡肉中弓形杆菌的污染状况进行了分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

石家庄市市内四区随机选取 14 个菜市场、超市或肉店进行采样,每个摊位随机采集新鲜鸡肉样品不超过 2 份,共采集 90 份样品。采集的样品装入无菌袋中冷藏运输至实验室。

1.1.2 主要仪器与试剂

PCR 仪(美国 Bio-Rad),毛细管电泳系统(德国 Qiagen),生物安全柜,三气培养箱,振荡器。

弯曲菌培养检测试剂盒、哥伦比亚血平板均购自青岛中创生物科技有限公司,GoTaq® Colorless Master Mix(美国 Promega),引物合成和测序由上海

生工生物技术有限公司完成。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

鸡肉样品称重,将弯曲菌检测试剂盒中的 10× 缓冲蛋白胨水(BPW)稀释至工作浓度后加至装有鸡肉样品的自封袋中(每 1 kg 鸡肉样品加入 300 ml BPW 工作液)。自封袋封口后置于振荡器上,100 r/min 振荡 15 min,然后反复揉搓样品 5 min。

1.2.2 弓形杆菌的分离培养

吸取新鲜的淋洗液 300 μl,分成 6~7 点(每点 45 μl 左右),均匀地滴加在贴有滤膜的双孔板上,静置 45~60 min,待平板干燥后,用无菌镊子轻轻揭去滤膜,于 37℃ 微需氧环境(5% O_2 、10% CO_2 和 85% N_2)中倒置培养 48 h;从双孔板上各挑取 2~3 个直径为 1~2 mm,边缘整齐、光滑湿润、有光泽的可疑菌落,划线接种于哥伦比亚血平板,置于 37℃ 微需氧环境下纯培养 48 h。

1.2.3 核酸提取

取一环新鲜培养的弓形杆菌分离菌株培养物(10 μl),加入 200 μl 无菌生理盐水中,振荡混匀,13 000 r/min 离心 2 min(离心半径为 8 cm),弃去上清液;加入 100 μl 超纯水,振荡混匀,在沸水中煮 10 min,立刻放在冰上冷却,13 000 r/min 离心 2 min(离心半径为 8 cm),吸取上清,-20℃ 保存,备用。

1.2.4 弓形杆菌多重 PCR 检测及序列测定

采用嗜低温弓形杆菌、布氏弓形杆菌、斯氏弓形杆菌三重 PCR 对弓形杆菌进行鉴定^[14]。引物序列及扩增片段长度见表 1。布氏弓形杆菌和斯氏弓形杆菌扩增引物分别扩增 16S rRNA 基因 401 和 641 bp 的部分序列,嗜低温弓形杆菌扩增引物扩增 23S rRNA 基因 257 bp 的部分序列。随机选取部分菌株的 PCR 扩增产物进行序列测定,序列结果与美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库进行 BLAST 比对,确定菌株的菌种结果。PCR 产物电泳采用毛细管电泳仪进行分析。

1.2.5 16S rDNA 和 *rpoB* 基因扩增及序列分析

16S rDNA 和 *rpoB* 基因扩增方法参照文献[14]。引物序列及扩增片段长度见表 1。PCR 产物电泳采用毛细管电泳仪进行分析。对 PCR 扩增产物进行序列测定,序列结果与 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,确定菌株的菌种结果并对 1.2.4 结果进行核实。

2 结果

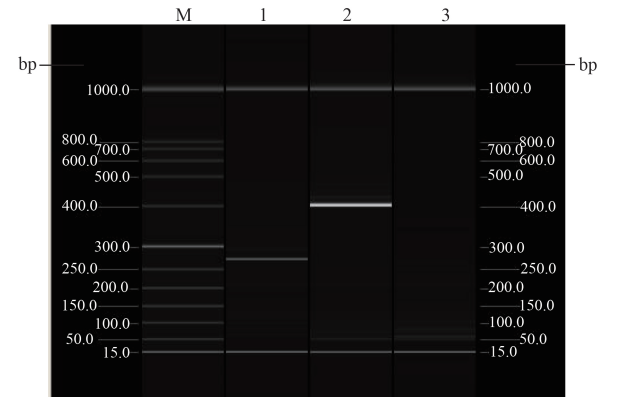
2.1 弓形杆菌分离鉴定结果

90 份鸡肉样品中,60 份样品分离出 86 株弓

表 1 弓形杆菌多重 PCR、16S rDNA 及 *rpoB* 基因扩增引物及扩增片段长度

Table 1	Primers used in multiplex PCR, 16S rDNA and <i>rpoB</i> gene PCR and the length of target fragments		
鉴定菌种及靶基因	引物名称	引物序列(5'-3')	扩增片段/bp
布氏弓形杆菌	BUTZ-F	CCT GGA CTT GAC ATA GTA AGA ATG A	401
	ARCO-R	CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC	
嗜低温弓形杆菌	CRY-F	TGC TGG AGC GGA TAG AAG TA	257
	CRY-R	AAC AAC CTA CGT CCT TCG AC	
斯氏弓形杆菌	SKIR-F	GGC GAT TTA CTG GAA CAC A	641
	ARCO-R	CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC	
16S rDNA	16S-27-F	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG	1 465
	16S-1492-R	GGT TAC CTT GTT ACG ACT T	
<i>rpoB</i>	A Rpob-F	CCA ATT TAT GGA TCA AAC	527
	A Rpob-R	GTT GCA TGT TNG NAC CCA T	

形杆菌,检出率为 66.67% (60/90)。经弓形杆菌多重 PCR 鉴定,嗜低温弓形杆菌 49 株(扩增出 257 bp 的特异性条带),占 56.98% (49/86),布氏弓形杆菌 37 株(扩增出 401 bp 的特异性条带),占 43.02% (37/86)。部分菌株 PCR 产物电泳结果见图 1。随机选取部分多重 PCR 产物进行测序,序列与 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,所得序列均与数据库中已有弓形杆菌相似度达 99% 及以上。部分布氏弓形杆菌菌株 401 bp PCR 产物序列与 NCBI 数据库布氏弓形杆菌 NCTC 12481 菌株比对结果见图 2。对 86 株弓形杆菌分离菌株的 16S rRNA 和 *rpoB* 基因进行扩增和测序,基因序列与 NCBI 数据库进行 BLAST 序列比对,序列与数据库弓形杆菌 16S rRNA 和 *rpoB* 序列相似度均高于 99%,比对结果与多重 PCR 产物扩增和序列比对结果一致。



注:M 为 QX DNA Size marker 50~800 bp;
1 为嗜低温弓形杆菌;2 为布氏弓形杆菌;3 为空白对照
图 1 弓形杆菌多重 PCR 鉴定电泳图

Figure 1 Electrophoresis results of multiplex PCR of *Arcobacter*

2.2 不同型别弓形杆菌阳性样品分布特征

60 份弓形杆菌阳性样品中,嗜低温弓形杆菌阳性样品 45 份(75.00%),布氏弓形杆菌阳性样品 35 份(58.33%),见表 2。20 份阳性样品为布氏弓形杆菌和嗜低温弓形杆菌混合污染样品,占比为 22.22% (20/90)。不同采样点的样品弓形杆菌分离情况存在较明显差异,某连锁肉店和菜市场 11 的

GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(1) CCTGGACTTGACATAGTAAGAATGATTAGAGATAGATTAGTGTC (1) CCTGGACTTGACATAGTAAGAATGATTAGAGATAGATTAGTGTC (1) CCTGGACTTGACATAGTAAGAATGATTAGAGATAGATTAGTGTC
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(46) TGC TTG CAG AAAC TTG CATA CAG GTG CTG CAC CGG CTG CTG CAG C (46) TGC TTG CAG AAAC TTG CATA CAG GTG CTG CAC CGG CTG CTG CAG C
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(91) TCG TGT CGT GAG ATG TTT GGG TTA AGT CCC GCA AC GAG CGC AAC CC (91) TCG TGT CGT GAG ATG TTT GGG TTA AGT CCC GCA AC GAG CGC AAC CC (91) TCG TGT CGT GAG ATG TTT GGG TTA AGT CCC GCA AC GAG CGC AAC CC
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(136) TCG TGT CGT GAG ATG TTT GGG TTA AGT CCC GCA AC GAG CGC AAC CC (136) TCG TGT CGT GAG ATG TTT GGG TTA AGT CCC GCA AC GAG CGC AAC CC (136) TCG TGT CGT GAG ATG TTT GGG TTA AGT CCC GCA AC GAG CGC AAC CC
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(181) GCCTACGCAAGTAGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCGAAGTCATCAT (181) GCCTACGCAAGTAGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCGAAGTCATCAT (181) GCCTACGCAAGTAGGAGGAAGGTGAGGATGACGTCGAAGTCATCAT
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(226) GGCCCTTACGTTCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGGGTATACA (226) GGCCCTTACGTTCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGGGTATACA (226) GGCCCTTACGTTCCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGGGTATACA
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(271) AAGAGCAGCAATACGGTGACGTGGAGCAAAATCTCAAAAATGCCCTC (271) AAGAGCAGCAATACGGTGACGTGGAGCAAAATCTCAAAAATGCCCTC (271) AAGAGCAGCAATACGGTGACGTGGAGCAAAATCTCAAAAATGCCCTC
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(316) CCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTGGAAT (316) CCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTGGAAT (316) CCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTGGAAT
GX-2016S1005 GX-2016S1001 <i>A. butzleri</i> NCTC12481	(361) CGCTAGTAACTCGTAGATCAGCTATGCTACCGTGAATACGTT (361) CGCTAGTAACTCGTAGATCAGCTATGCTACCGTGAATACGTT (361) CGCTAGTAACTCGTAGATCAGCTATGCTACCGTGAATACGTT

图 2 布氏弓形杆菌 16S rRNA 基因序列比对图
Figure 2 Sequence alignment result of 16S rRNA genes of *Arcobacter butzleri*

表 2 鸡肉样品中弓形杆菌的分离情况和菌种鉴定结果
Table 2 Isolation of *Arcobacter* from chicken meat samples

采样点	样品 份数	阳性样品份数(%)		
		弓形杆菌属	嗜低温弓形杆菌	布氏弓形杆菌
菜市场 1	8	6 (75.00)	5 (62.50)	3 (37.50)
菜市场 2	4	4 (100.00)	4 (100.00)	3 (75.00)
菜市场 3	11	4 (36.36)	3 (27.27)	1 (9.09)
菜市场 4	21	19 (90.48)	17 (80.95)	13 (61.90)
菜市场 5	14	12 (85.71)	5 (35.71)	7 (50.00)
菜市场 6	2	2 (100.00)	2 (100.00)	2 (100.00)
菜市场 7	2	2 (100.00)	2 (100.00)	1 (50.00)
菜市场 8	4	1 (25.00)	1 (25.00)	0 (0.00)
菜市场 9	4	4 (100.00)	1 (25.00)	3 (75.00)
菜市场 10	4	3 (75.00)	2 (50.00)	2 (50.00)
菜市场 11	1	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
超市 1	3	1 (33.33)	1 (33.33)	0 (0.00)
超市 2	4	2 (50.00)	2 (50.00)	0 (0.00)
连锁肉店	8	0 (00.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
合计	90	60 (66.67)	45 (50.00)	35 (38.89)

检出率均为 0.00%,有四个菜市场检出率为 100.00%。

3 讨论

弓形杆菌作为新发肠道病原菌和人畜共患菌,在世界各国逐渐引起重视^[6]。2016 年,王敏等^[14]采用驱动增强过滤法对北京市 6 个农贸市场的

60 份鸡肉样品进行了弓形杆菌的分离鉴定,阳性率为 73.33%。除此以外,还未见在中国进行市售鸡肉样品中弓形杆菌分离和鉴定的报道。本研究对石家庄市 90 份市售鸡肉样品进行弓形杆菌的分离和鉴定,检出率为 66.67%,高于日本 (23.00%、48.00%)^[10-11]、伊朗 (28.00%)^[15]、尼日利亚 (32.00%)^[16]、北爱尔兰 (62.00%)^[17] 和西班牙 (64.30%)^[18],低于北京市 (73.33%)^[14] 和泰国 (100%)^[11]。

国外研究中,鸡肉中分离的弓形杆菌以布氏弓形杆菌为主,在泰国和日本的研究中,分离的弓形杆菌均为布氏弓形杆菌^[11,16,18]。本研究中嗜低温弓形杆菌阳性样品占总阳性样品的 75.00%,布氏弓形杆菌阳性样品占总阳性样品的 58.33%;而北京市市售鸡肉样品中嗜低温弓形杆菌所占比例高达 97.73%,布氏弓形杆菌所占比例为 20.45%^[14],由此可见,石家庄市和北京市市售鸡肉中弓形杆菌的污染虽然存在地区差异,但均以嗜低温弓形杆菌居多,这与国外报道^[11,16,18]的布氏弓形杆菌检出率明显高于嗜低温弓形杆菌的结果存在明显差异。本研究未能从石家庄市市售鸡肉样品中分离出斯氏弓形杆菌,在北京市和国外等相关研究^[14,19-20]中,鸡肉样品中斯氏弓形杆菌的检出率也较低,这可能是由于鸡肉样品中斯氏弓形杆菌污染率较低,也可能是已有文献中选用的弓形杆菌分离培养方法并不适合斯氏弓形杆菌,导致分离培养出斯氏弓形杆菌机会大大降低。本研究中采用淋洗液直接过滤培养的方法,未经过增菌过程,后续研究中将在弓形杆菌分离中增加增菌过程并用增菌液进行多重 PCR 鉴定,希望能够增强斯氏弓形杆菌的检出能力。

本研究中,布氏弓形杆菌和嗜低温弓形杆菌混合污染的样品占 22.22%,低于北京市布氏弓形杆菌和嗜低温弓形杆菌、斯氏弓形杆菌和嗜低温弓形杆菌的总混合污染率 (15%)^[14]。

本研究的 90 份鸡肉样品分别购自石家庄市市内四区的 14 个菜市场、超市和连锁肉店,14 个采样点的弓形杆菌检出率也存在差异。菜市场 11 可能因为采样量太少,未能检出弓形杆菌,但总体来说菜市场采集的鸡肉样品中弓形杆菌检出率较高。在连锁肉店采集的 8 份样品中均未检出弓形杆菌,该采样点采集样品的采样人员、样品种类、样品重量、采样方法与其他采样点无明显区别,可能该连锁企业内对鸡肉屠宰、加工过程中质量控制更为严谨,并在生产、配送、销售过程中实行冷链模式,使鸡肉样品受弓形杆菌污染的概率大大降低。

本研究分析了石家庄市鸡肉样品中弓形杆菌的污染情况,为石家庄市弓形杆菌的分布特征和石家庄市食品安全评估提供了强有力的基础数据支持,对石家庄市提前做好弓形杆菌防控以及控制弓形杆菌引起的食源性疾病等具有重要的指导意义。

参考文献

[1] VANDAMME P, FALSEN E, ROSSAU R, et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov[J]. Int J Syst Bacteriol, 1991, 41(1):88-103.

[2] PÉREZ-CATALUÑA A, SALAS-MASSÓ N, FIGUERAS M J. *Arcobacter canalis* sp. nov., isolated from a water canal contaminated with urban sewage[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2018, 68(4): 1258-1264.

[3] FERREIRA S, QUEIROZ J A, OLEASTRO M, et al. Insights in the pathogenesis and resistance of *Arcobacter*: a review[J]. Crit Rev Microbiol, 2016, 42(3): 364-383.

[4] KAYMAN T, ABAY S, HIZLISOY H, et al. Emerging pathogen *Arcobacter* spp. in acute gastroenteritis: molecular identification, antibiotic susceptibilities and genotyping of the isolated *Arcobacters*[J]. J Med Microbiol, 2012, 61(10): 1439-1444.

[5] FIGUERAS M J, LEVICAN A, PUJOL I, et al. A severe case of persistent diarrhoea associated with *Arcobacter cryaerophilus* but attributed to *Campylobacter* spp. and a review of the clinical incidence of *Arcobacter* spp.[J]. New Microbe New Infect, 2014, 2(2): 31-37.

[6] HO H T K, LIPMAN L J A, GAASTRA W. *Arcobacter*, what is known and unknown about a potential foodborne zoonotic agent [J]. Vet Microbiol, 2006, 115(1/3): 1-13.

[7] ERTAS N, DOGRUER Y, GONULALAN Z, et al. Prevalence of *Arcobacter* species in drinking water, spring water, and raw milk as determined by multiplex PCR [J]. J Food Prot, 2010, 73(11): 2099-2102.

[8] SHAH A H, SALEHA A A, MURUGAIYAH M, et al. Prevalence and distribution of *Arcobacter* spp. in raw milk and retail raw beef[J]. J Food Prot, 2012, 75(8): 1474-1478.

[9] SHAH A H, SALEHA A A, ZUNITA Z, et al. Prevalence, distribution and antibiotic resistance of emergent *Arcobacter* spp. from clinically healthy cattle and goats[J]. Transbound Emerg Dis, 2013, 60(1): 9-16.

[10] KABEYA H, MARUYAMA S, MORITA Y, et al. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan[J]. Int J Food Microbiol, 2004, 90(3): 303-308.

[11] MORITA Y, MARUYAMA S, KABEYA K, et al. Isolation and phylogenetic analysis of *Arcobacter* spp. in ground chicken meat and environmental water in Japan and Thailand [J]. Microbiol Immunol, 2004, 48(7): 527-533.

[12] ANDERSEN M M, WESLEY I V, NESTOR E, et al. Prevalence of *Arcobacter* species in market-weight commercial turkeys [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2007, 92(3): 309-317.

[13] 游淑珠,王晓玉,胡松楠,等. PCR 法检测动物源性食品中布

氏弓形杆菌[J].现代食品科技, 2013, 29(10): 2533-2537.

[14] 王敏,顾一心,梁昊,等. 北京市零售鸡肉标本中弓形杆菌污染初步分析[J].疾病监测,2016, 31(12): 1050-1054.

[15] RAHIMI E. Prevalence and antimicrobial resistance of *Arcobacter* species isolated from poultry meat in Iran [J]. Br Poult Sci, 2014, 55(2): 174-180.

[16] ADESIJI Y O, COKER A O, OLOKE J K. Detection of *Arcobacter* in feces and healthy chickens in Osogbo, Nigeria[J]. J Food Prot, 2011, 74(1): 119-121.

[17] SCULLION R, HARRINGTON C S, MADDEN R H. Prevalence of *Arcobacter* spp. in raw milk and retail raw meats in Northern

Ireland[J]. J Food Prot, 2006, 69(8): 1986-1990.

[18] COLLADO L, GUARRO J, FIGUERAS M J. Prevalence of *Arcobacter* in meat and shellfish [J]. J Food Prot, 2009, 72(5): 1102-1106.

[19] HOUF K, DE ZUTTER L, VAN HOOFF J, et al. Occurrence and distribution of *Arcobacter* species in poultry processing[J]. J Food Prot, 2002, 65(8): 1233-1239.

[20] ATABAY H I, CORRY J E, ON S L. Diversity and prevalence of *Arcobacter* spp. in broiler chickens[J]. J Appl Microbiol, 1998, 84(6): 1007-1016.

(上接第 115 页)

- 阴性对照:不含相应物种的 DNA。
- PCR 空白对照:以灭菌去离子水替代 DNA 加入实时荧光 PCR 反应体系。
- 空白提取对照:以灭菌去离子水替代样品进行 DNA 提取。

6 结果判断与表述

6.1 质量控制

- 若以下条件的其中一条不满足要求时,结果视为无效:
- 阳性对照:荧光通道出现典型的扩增曲线,相应的 Ct 值<30.0;
- 阴性对照:Ct 值≥35.0;
- PCR 空白对照:Ct 值≥35.0;
- 空白提取对照:Ct 值≥35.0;
- 内参照反应:荧光通道出现典型的扩增曲线,相应的 Ct 值<30.0;
- 样品平行反应:Ct 值经 6.2 结果判定后应一致。

6.2 结果判定

- (1)如 Ct 值<30.0,且质量控制符合要求,则判定为检出相应物种源性成分。
- (2)如 Ct 值≥30.0,且质量控制符合要求,则判定为未检出相应物种源性成分。

6.3 结果表述

- 检出 XXX 源性成分。
- 未检出 XXX 源性成分。

7 防污染措施

检测过程中放置交叉污染的措施按照 GB/T 27403 中的规定执行。

8 方法检出限

裸盖鱼引物探针检出限范围为 0.1%~5%,油鱼引物探针检出限范围为 1%~10%,南极犬牙鱼引物探针检出限范围为 1%~2%。

注:因使用的设备、试剂盒不同,其检出限有所差异。

本方法负责起草单位:深圳市计量质量检测研究院。

验证单位:河南省产品质量监督检验院、天津市食品安全检测技术研究院、重庆市食品药品检验检测研究院、福建省食品药品质量检验研究院、广东省食品检验所。

主要起草人:林霖、张世伟、吴佳辉、王坤、杨国武、杨俊。