

花样繁多等优点,很受消费者的青睐。因此,为了预防金黄色葡萄球菌引起的食物中毒的发生,应该加强对广大市民的引导和教育,建议在购买即食食品时,首先选择大企业生产线生产的定型包装食品,尽量在超市等卫生条件好的商家购买;其次尽可能少量多次购买,避免长期存放于冰箱;第三就是在食用前彻底加热。在外就餐尽量选择在大、中型严格控制卫生条件的餐馆就餐,食品生产及其他有关部门应加强合作,共同负起责任,从农田到各环节都加以监督管理,杜绝食品污染。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 1—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 总则 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 10—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [3] 叶玲清, 陈伟伟, 杨毓环, 等. 福建省 2010 年食品中金黄色葡

萄球菌的污染状况及耐药性分析 [J]. 海峡预防医学杂志, 2012, 18 (2): 53-54.

- [4] 王燕梅, 乔昕, 袁宝群, 等. 2006—2009 年江苏省食品中食源性致病菌的监测分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22 (5): 431-434.
- [5] 炊慧霞, 张秀丽, 廖兴广, 等. 2007 年河南省食源性致病菌的监测结果分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19 (1): 173-175.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 29921—2013 食品安全国家标准 食品中致病菌限量 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [7] Food and Environmental Hygiene Department of Hong Kong. Microbiological guidelines for ready-to-eat food [S]. Hong Kong: 2001.
- [8] London Health Protection Agency. Guidelines for assessing the microbiological safety of ready-to-eat foods placed on the market [S]. London: 2009.
- [9] Australia New Zealand Food Standards Code. Guideline for the microbiological examination of ready-to-eat food [S]. 2001.
- [10] 徐进, 庞璐. 即食食品微生物限量标准比较分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24 (5): 474-478.

调查研究

2012—2013 年成都市生鸡肉中弯曲菌调查分析

黄伟峰, 雷高鹏, 黄玉兰, 吕虹, 李莉, 徐耀芳, 赵晋, 杨小蓉
(四川疾病预防控制中心, 四川 成都 610041)

摘要:目的 了解成都市零售环节鸡肉中的弯曲菌定量污染水平以及其随季节变化的趋势, 为食品安全风险评估提供依据。方法 选择成都市及周边的大型超市和农贸市场作为采样点, 采取未分割的新鲜鸡冷藏鸡胴体。用涂布平板法计数, 用多重 PCR 进行鉴定。结果 采集 255 份样品, 阳性数 202 份, 检出率为 79.22%; 弯曲菌污染量 > 500 cfu/g 的样品占 32.55% (83/255); 农贸市场样品的阳性率高于超市样品; 夏季阳性率高于其他季节; 共分离到空肠弯曲菌 300 株、结肠弯曲菌 393 株和胎儿弯曲菌 11 株。结论 四川省零售环节鸡肉中弯曲菌的污染严重。

关键词: 鸡肉; 弯曲菌; 定量监测; 多重 PCR; 食源性致病菌; 污染; 检出率

中图分类号: R155; R446.5 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)S-0021-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.S.007

Analysis of quantitative monitoring results of *Campylobacter* isolated from chicken in Chengdu in 2012-2013

HUANG Wei-feng, LEI Gao-peng, HUANG Yu-lan, LV Hong,
LI Li, XU Yao-fang, ZHAO Jin, YANG Xiao-rong

(Sichuan Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610041, China)

Abstract: Objective To learn about the quantitative contaminated level and the seasonal change trend of *Campylobacter* in chicken retail part of Chengdu, and provide foundation for food safety risk assessment. **Methods** Choose the large

收稿日期: 2014-11-13

作者简介: 黄伟峰 男 硕士生 研究方向为微生物检验 E-mail: hyc0608@163.com

通讯作者: 杨小蓉 女 副主任技师 研究方向为微生物检验 E-mail: yangyangxr@163.com

supermarkets and the farmers markets in and surrounding Chengdu City as the sampling points, take the undivided fresh chicken and frozen chicken as samples. Count by spread plate method and identify by multiplex PCR. **Results** A total of 202 positive samples were detected from 255 specimens, with the detection rate of 79.22%. The detection rate of samples, which contamination quantity of *Campylobacter* was more than 500 cfu/g, reached 32.55% (83/255). The positive rate of samples in the farmers markets was higher than that in the supermarkets. The positive rate in summer was higher than that in other seasons. 300 *Campylobacter jejuni* strains, 393 *Campylobacter coli* strains and 11 *Campylobacter fetus* strains were isolated. **Conclusion** Chicken at the retail part was polluted seriously by *Campylobacter* in Sichuan Province. Supervision departments should take measures to improve the sanitation in the farmers markets and reduce cross-contamination during slaughter the chicken. Meanwhile, the public should also enhance food safety awareness and avoid cross-contamination through cooking.

Key words: Chicken; *Campylobacter*; quantitative monitoring; multiple PCR; foodborne pathogens; contamination; detection rate

弯曲菌(*Campylobacter*)是一种在严格微需氧环境(5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂)生长的革兰阴性菌。弯曲菌是世界范围内重要的细菌性肠道病原菌,其中空肠弯曲菌(*C. jejuni*)和结肠弯曲菌(*C. coli*)是最为常见^[1]。在欧美发达国家中,人感染弯曲菌的病例已经超过沙门菌和志贺菌等常见的肠道致病菌,居病原菌导致感染性腹泻的首位^[2],近些年来在发展中国家弯曲菌感染的病例也呈上升趋势^[3]。除了会引起急性胃肠炎,更严重的是人感染空肠弯曲菌后可能会导致格林-巴利综合征(GBS)。有研究表明,部分血清型的空肠弯曲菌的脂多糖(LPS)在分子结构上与人类神经节苷脂表位之间具有分子模拟现象,因此导致的交叉反应(宿主产生的抗-神经节苷脂自身抗体)可能是GBS的发病机理^[4]。

弯曲菌可寄居在禽类、牛、羊及狗等多种动物体内,感染的动物通常无明显病症,但可长期向外界排菌,引起人类感染。其中,家禽是弯曲菌病最重要的传染源^[5],加强家禽中弯曲菌污染量的监测对弯曲菌疾病的预防控制有重要作用。为了解四川省区域内零售环节中鸡肉弯曲菌的污染现状以及其随季节变化的趋势,为食品安全风险评估提供数据支持,本实验室于2012年10月—2013年9月对成都市及其周边的大型超市和农贸市场中出售肉鸡的弯曲菌污染状况进行了调查。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集

选择成都市内各大型超市和农贸市场作为采样点,采取未分割的鸡胴体。每个采样点(以一个超市或一个摊位为单位计算)每次的采样量不超过4只,用无菌采样袋采集样品,放置于采样箱中,并在3 h内送到实验室开展检测。

1.1.2 主要仪器与试剂

Veriti 梯度 PCR 仪(美国 ABI)、QIAxcel 毛细管电泳仪(德国 Qiagen)、三气培养箱(美国 Thermo);缓冲蛋白胨水(BPW)、karmali 培养基及添加剂 SR0205E、微需氧产气袋、厌氧罐、MH 血平板、弯曲菌多重 PCR 试剂盒、弯曲菌胶乳凝集试剂盒。

1.2 方法

1.2.1 样品处理

用 BPW 充分淋洗鸡胴体,每 1 kg 鸡肉加入 500 ml BPW。将淋洗液 10 倍倍比稀释,取两个合适的浓度涂布 karmali 培养基,每个浓度涂布 2 个平板,置于 42 ℃ 的三气培养箱(5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂)中培养。

1.2.2 分离纯化

培养 48 h 后,在 karmali 平板上选择浅灰或者灰白色、半透明而中心较暗、圆形、光滑、中央突起、针尖或者水珠状、沿划线生长、直径 1~3 mm 的可疑菌落,用弯曲菌胶乳凝集试剂盒,并结合 GB/T 4789.9—2008^[6]进行初步鉴定。挑取 5 个可疑菌落接种血平板进行纯化(不到 5 个全部挑取)。

1.2.4 菌落计数

选择可疑菌落数平均在 15~150 cfu/皿的稀释度进行计数。

1.2.5 多重 PCR 鉴定

42 ℃ 微需氧培养 48 h 后,在纯化后的血平板上挑取菌苔,用煮沸法提取 DNA 模板,多重 PCR 检测 5 种弯曲菌的特征基因和一个弯曲菌属 23S rRNA 基因。弯曲菌多重 PCR 试剂盒采用 20 μl 扩增体系,6 个基因的 PCR 循环参数一样:预变性 95 ℃ 6 min,后续循环 95 ℃ 30 s, 59 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 30 个循环,末轮循环 72 ℃ 7 min,产物当时不能检测时 4 ℃ 保存。

1.2.6 毛细管电泳检测

选用 QIAxcel DNA Screening Kit 的凝胶卡夹,

15 ~ 1 000 bp 的 Alignment Marker 和 50 ~ 800 bp 的 Size Marker。Method Details 选择 AM320, 结果用 QIAxcel ScreenGel 软件分析。

2 结果

2.1 可疑菌株挑取及鉴定

挑取选择平板上不规则或沿划线生长、颜色暗灰色偏绿或灰色偏褐的菌落, 或者呈帽檐状中央突起、颜色暗灰色的菌落, 提取 DNA 后运用多重 PCR 进行鉴定, 其毛细管电泳结果见图 1。

2.2 不同采样地点鸡肉中弯曲菌的污染情况

2012 年 10 月—2013 年 9 月共采样 255 份, 检出率 79.22% (202/255), 每个月的的采样情况及检出率, 见表 1。市场样品的检出率 83.33% (115/138), 略高于超市样品的 74.36% (87/117)。从采样时间来看, 5 ~ 9 月份的检出率明显高于其

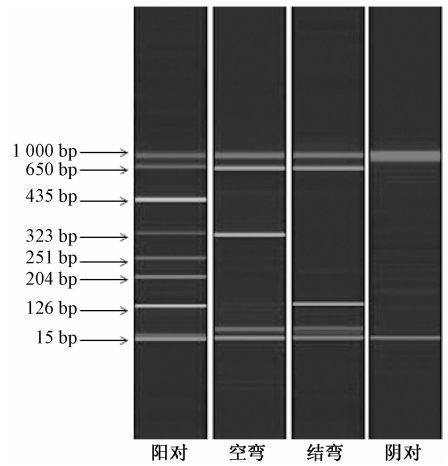


图 1 毛细管电泳结果

Figure 1 Results of capillary electrophoresis

他月份, 可见夏季弯曲菌的检出率要高于其他季节。

表 1 超市和市场的检出结果 (%)

Table 1 Detection results of the supermarket and the farmers market

地点	Oct-12	Nov-12	Dec-12	Jan-13	Feb-13	Mar-13	Apr-13	May-13	Jun-13	Jul-13	Aug-13	Sep-13
超市	60.00	50.00	70.00	100.00	80.00	60.00	83.33	90.00	80.00	90.00	60.00	80.00
市场	66.67	91.67	91.67	68.42	70.00	66.67	—	100.00	85.71	100.00	91.67	92.31

注: —表示 2013 年 4 月份由于禽流感爆发, 未去市场采样

2.3 鸡肉中弯曲菌的定量分析结果

通过对 karmali 平板计数, 结合淋洗液稀释倍数和可疑菌落多重 PCR 的阳性率, 可以计算出每克鸡肉样品中弯曲菌的含量。表 2 为不同污染程度样品的比例, 在 255 份样品中, 只有 20.78% (53/255) 未污染弯曲菌; 而污染量较高 (> 500 cfu/g) 的样品达 32.55% (83/255)。由图 2 可以看出, 污染量较高的样品中, 市场样品的检出率 44.20% (61/138), 远远高于超市样品的检出率 18.80% (22/117)。在时间分布上, 5 ~ 9 月份的检出率也高于其他月份。

表 2 不同污染水平的鸡肉样品数

Table 2 Number of chicken samples of different contaminated levels

污染量/(cfu/g)	0	1 ~ 100	101 ~ 500	501 ~ 1 000	> 1 000
百分比/%	20.78	29.41	17.25	6.67	25.88

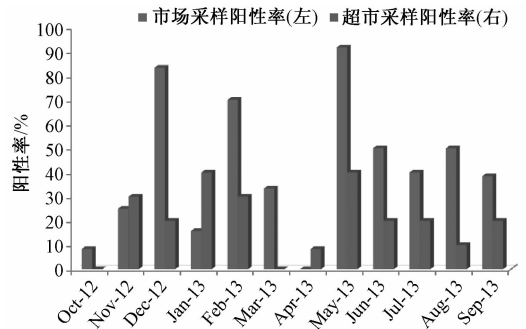


图 2 > 500 cfu/g 的样品分布情况

Figure 2 Distribution of the sample (> 500 cfu/g)

2.4 各种弯曲菌检出情况

共分离到弯曲菌菌株 704 株, 其中空肠弯曲菌 300 株, 结肠弯曲菌 393 株, 胎儿弯曲菌 11 株, 见表 3。空肠弯曲菌检出率为 47.06% (120/255), 结肠弯曲菌检出率为 56.08% (143/255), 其中 26.67% (68/255) 样品同时分离到空肠弯曲菌和结肠弯曲菌, 见表 4。

表 3 每月弯曲菌的分离情况 (株)

Table 3 Monthly separation of *Campylobacter*

类型	Oct-12	Nov-12	Dec-12	Jan-13	Feb-13	Mar-13	Apr-13	May-13	Jun-13	Jul-13	Aug-13	Sep-13
空弯	12	27	29	20	29	23	11	43	19	11	35	41
结弯	14	22	21	30	14	16	25	51	52	71	39	38
胎弯	1	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5
合计	27	49	50	50	43	44	36	94	71	82	74	84

表4 每种弯曲菌的检出情况(%)

分离弯曲菌种类	空肠弯曲菌	结肠弯曲菌	空弯和结弯	胎儿弯曲菌
检出率	20.39	29.41	26.67	2.74

3 讨论

弯曲菌是一种重要的人兽共患性肠道病原菌,且致病剂量低,有研究表明100个左右弯曲菌就能引起人类腹泻^[7]。弯曲菌一旦进入人的食物链很容易导致感染或食物中毒现象的发生,而其源头很多时候是家禽屠宰过程中粪便的溢出使加工中的禽肉受到了弯曲菌污染^[8]。

本次调查结果表明,四川省零售环节鸡肉中弯曲菌的检出率达79.22%(202/255),其中空肠弯曲菌检出率为47.06%(120/255),说明我省零售环节鸡肉中弯曲菌污染水平比较严重。但各地的污染情况各不一样,陈尚林等^[9]在2012年宿迁市新鲜鸡肉中空肠弯曲菌的检出率为73.33%(11/15),袁丹茅等^[10]在龙岩市鸡肉中弯曲菌的检出率为20.00%(4/20)。

不同零售场所生鸡肉中弯曲菌的污染情况也有差别,农贸市场中的检出率高于超市。尤其是在高污染量的样品(>500 cfu/g)中,农贸市场中的检出率为44.20%高于超市的18.80%。很大原因是由于农贸市场宰杀环境卫生状况差,且未定期清洁台面和水池,引起的交叉污染;而超市样品多是大型加工厂宰杀,经过冷链保藏运输,低温环境有助于减少鸡肉中弯曲菌的数量^[11]。

零售环节生鸡肉中弯曲菌的污染状况也随着月份不同发生变化^[12]。从表1可以看到,在5~9月份弯曲菌的检出率要明显高于其它月份。弯曲菌是嗜热菌,其最适生长温度为37~42℃,而5~9月份的高温天气有利于弯曲菌的生长。在高污染量的样品(>500 cfu/g)中,检出率随着月份的波动情况相似,尤其是温度高低对农贸市场样品检出率的影响明显。但在2012年12月农贸市场的检出率为91.67%,而当月高污染量的样品的检出率为83.33%,2013年2月农贸市场的检出率和当月高污染量的样品的检出率均为70.00%,很可能也是宰杀过程中严重的交叉污染所致。

另外,生鸡肉中同时污染空肠弯曲菌和结肠

弯曲菌的情况也很常见,达26.67%(68/255)。在检验过程中,应多挑取不同形态的弯曲菌可疑菌落进行鉴定。

近年来弯曲菌在中国已经逐渐成为引起腹泻的主要病原菌之一^[13],本实验室和四川省其他地方也多次在腹泻病人的粪便中分离出空肠弯曲菌和结肠弯曲菌。因此,监管部门应采取措施改善农贸市场环境卫生,尤其是监督活禽交易市场中宰杀点的卫生条件,敦促其勤对台面和水池进行消毒,可以有效避免弯曲菌及其他致病菌的交叉污染。同时应多进行宣传教育,呼吁市民能养成良好烹饪习惯,生熟刀具餐具分开放置,避免厨房中的交叉污染,能够有效减少食源性疾病的发生概率。

参考文献

- [1] 吴蜀豫,张立实,冉陆,弯曲菌及弯曲菌病的流行现状[J].中国食品卫生杂志,2004,16(1):58-61.
- [2] Altekruze S F, Stern N J, Field P I, et al. *Campylobacter jejuni*: an emerging foodborne pathogen[J]. Emerg Infect Dis, 1999(5): 28-35.
- [3] 刘夏阳,于俊峰,顾一心,等. 感染性腹泻患者弯曲菌感染的实验室检测及监测[J]. 疾病监测, 2014, 29(5): 354-358.
- [4] 吴铮,范文辉. GBS与空肠弯曲菌感染[J]. 神经科学通报, 2005, 21(1): 87-90.
- [5] 黄金林,许海燕,郑国军,等. 部分省市鸡群空肠弯曲菌和结肠弯曲菌的流行状况分析[J]. 中国预防兽医学报, 2008, 30(1): 72-75.
- [6] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789.9—2008 食品卫生微生物学检验 空肠弯曲菌检验[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [7] Black, Levine, Clements M L, et al. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans[J]. Infect Dis, 1988(157): 472-479.
- [8] 王君玮,王娟,曲志娜,等. 空肠弯曲菌对动物源性食品安全的影响及对策[J]. 中国人兽共患学报, 2013, 29(11): 1119-1123.
- [9] 陈尚林,李娜,葛莉,等. 宿迁市肉鸡沙门菌和空肠弯曲菌污染状况调查[J]. 江苏预防医学, 2014, 1(25): 75-76.
- [10] 袁丹茅,金建潮,刘素意,等. 龙岩市5类食品中空肠和结肠弯曲菌监测[J]. 预防医学情报杂志, 2010, 26(3): 182-184.
- [11] 姜峰. 空肠弯曲菌流行病学及在鸡肉低温贮藏过程中失活动力学特征研究[D]. 扬州: 扬州大学学位论文, 2009.
- [12] 张秀丽,炊慧霞,廖兴广,等. 2011年河南省肉鸡养殖和屠宰加工过程弯曲菌污染状况主动监测[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 9(23): 2133-2135.
- [13] 刘超,蔡方成,席孝庄,等. 空肠弯曲菌感染致人畜共患的周围神经病[J]. 中华儿科杂志, 2000, 38(1): 13-15.