

食物中毒

一起粪肠球菌引起食源性疾病暴发流行病学分析及分子溯源调查

陈夏威,蔡春生,何彬洪,曹舜珊,郭艳,郑悦康,区金结,王博远

(中山市疾病预防控制中心,广东 中山 528403)

摘要:目的 调查某小型餐馆发生的一起食源性疾病暴发事件,分析事件发生的原因及危险因素,并提出预防措施。方法 采用现场流行病学方法调查事件特征及危险因素,通过运用脉冲场凝胶电泳(PFGE)方法对致病因子进行同源性分析。结果 共调查到5例病例,临床表现为腹泻、腹痛。调查结果提示中毒食物为2019年6月13日晚餐的卤鸡腿饭,现场卫生学调查提示可能的危险因素为卤鸡腿常温放置时间过长,供餐前重新加热时间不足。现场采样的3份病例肛拭子标本、1份卤鸡腿和1份切菜砧板棉拭样品均检出粪肠球菌,脉冲场凝胶电泳检测同源性为100%。结论 食用受大量粪肠球菌污染的卤鸡腿是本次食源性疾病暴发的主要原因。建议加强小型餐馆从业人员食品安全意识,掌握正确的食品烹饪方法。

关键词:粪肠球菌;食源性疾病;暴发;流行病学调查

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)01-0099-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.01.019

Epidemiological and molecular survey of a foodborne disease outbreak caused by *Enterococcus faecalis*

CHEN Xiawei, CAI Chunsheng, HE Binhong, CAO Shunshan, GUO Yan,

ZHENG Yuekang, OU Jinjie, WANG Boyuan

(Zhongshan Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Zhongshan 528403, China)

Abstract: Objective To investigate a foodborne disease outbreak in a small restaurant, analyze its causes and risk factors, and propose the measures for prevention and control. **Methods** Using field epidemiology survey to describe the features and analyze the risk factors of the incident. The strains homology was evaluated by pulsed field gel electrophoresis (PFGE). **Results** The major clinic manifestations of 5 cases were diarrhea and abdominal pain. Dietary survey showed that suspicious food was pot-stewed chicken leg at dinner on June 13, 2019. The result of field hygienic survey indicated that the risk factor of the incident was the long placement time of the pot-stewed chicken leg at normal temperature status and insufficient re-heating time before dinner. *Enterococcus faecalis* was isolated from 3 anal swabs of cases, the pot-stewed chicken leg and the cutting board swab which sampled in the kitchen, and the strains were 100% homological. **Conclusion** The outbreak was caused by eating the pot-stewed chicken leg which was contaminated by abundant *Enterococcus faecalis*. It was suggested to strengthen the food safety awareness of small restaurant employees and the proper cooking method should be mastered.

Key words: *Enterococcus faecalis*; foodborne disease; outbreak; epidemiological survey

肠球菌在自然界中普遍存在,通常被认为是在包括人类在内所有陆生动物肠道内共生的一种细菌^[1]。在食品工业中,肠球菌的某些菌种在一些食品的发酵催熟过程和某些特定香味的生成中起关键性的作用^[2],同时也能导致一些肉类的腐败^[3],但引起食源性疾病暴发的较为罕见。2019年6月14日,中山市疾病预防控制中心通过国家食源性疾

病监测信息系统识别到某三甲医院收治4名腹痛、腹泻等胃肠道不适症状者,均来自某儿童培训机构及下属各分支机构员工,具有共同进餐史,疑似食源性疾病事件。经过流行病学调查,结合病例临床表现和实验室检测结果,确认为一起粪肠球菌引起的食源性疾病暴发。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病例定义

2019年6月13日至14日,某儿童培训机构及

收稿日期:2019-12-24

基金项目:广东省中山市科技计划项目(2019B1106)

作者简介:陈夏威 男 副主任医师 研究方向为营养与食品卫生和现场流行病学调查 E-mail:76011183@qq.com

下属各分支机构的15名员工中出现腹泻(排便 ≥ 3 次/24 h,粪便性质为稀便、水样便或粘液便等)伴腹痛症状者。

1.1.2 主要仪器与试剂

VITEK 2全自动细菌鉴定及药敏分析仪(法国梅里埃),脉冲场凝胶电泳(PFGE)仪(美国Bio-Rad)。Apa I酶(美国Promega),硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖琼脂(TCBS)培养基(广东环凯微生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 病例搜索

通过查看食源性疾病监测信息系统、接诊医院就诊记录、在A小食店翻查外卖登记记录以及访谈该儿童培训机构有关人员等方式,开展病例搜索。

1.2.2 流行病学调查

使用统一的《食源性疾病流行病学调查表》对该培训机构就餐人员进行访谈调查,收集病例的人口学信息、发病时间、临床症状及进食史,描述三间分布并提出假设。

1.2.3 现场卫生学调查

对A小食店进行现场卫生学调查,向厨房工作人员调查食品原料来源以及加工、制作、贮存过程,分析引起事件的关键环节,并对厨房卫生状况进行评估。

1.2.4 现场采样及实验室检查

采集病例肛拭子标本,以及A小食店食物加工环境拭样、可疑食物及配料等样品进行食源性致病菌检验。所检项目包括金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌、副溶血性弧菌、沙门菌、产气荚膜梭菌、志贺菌、致泻大肠埃希菌、肠球菌,均按照相应国标方法^[4-12]检测。经分离培养后,观察可疑菌落特征,使用VITEK 2全自动细菌鉴定及药敏分析仪进行表型生化鉴定,并开展定性定量检测。经纯化的阳性菌株用Apa I酶酶切后,PFGE分析以验证同源性。参照《全国临床检验操作规程(第四版)》^[13]肠球菌属和SN/T 1933.1—2007《食品和水中心肠球菌检验方法 第1部分:平板计数法和最近似值测定法》^[14]进行定性定量检测。

1.2.5 数据分析

调查表录入已建立的病例数据库,进行描述性流行病学分析。

2 结果

2.1 基本情况

2019年6月13日14时,某儿童培训机构为下属两个分支机构的15名员工举办业务培训,培训完

毕后约18时B机构5人和C机构3人共8名员工在A小食店进食晚餐,随后6月14日凌晨至早上陆续有4名员工因出现急性胃肠炎症状就诊。截至6月14日21时,共查找有5名曾在A小食店进食晚餐的员工出现腹泻、腹痛,腹泻次数4~7次不等,均为水样便,部分病例腹痛为绞痛,均符合病例定义,罹患率为62.5%(5/8)。

2.2 流行病学调查结果

首例病例于6月14日3时发病,末例于6月14日8时发病,之后无新发病例,发病中位数为6月14日5时。病例发病流行病学曲线呈现点源暴发模式特征(见图1)。病例年龄在22~49岁之间,均为女性。其中2名来自B机构,3名来自C机构。

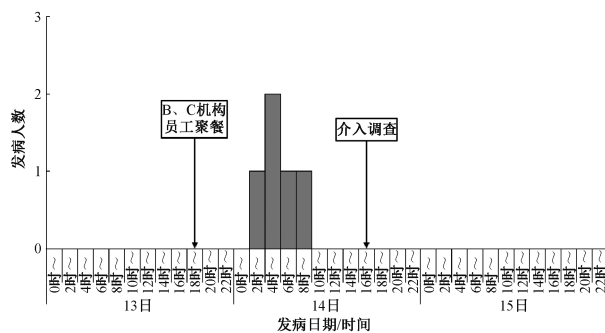


图1 病例发病时间分布

Figure 1 Distribution of cases onset time

对聚餐的8名员工进行进食史调查,5例病例唯一的共同进食餐次为6月13日A小食店提供的晚餐,且均食用卤鸡腿饭。其余3人各食用了牛腩饭、榨菜肉丝饭、凉瓜肉丝饭。进食卤鸡腿者全部发病,未食用卤鸡腿饭者未发病。

2.3 现场卫生学调查

2.3.1 A小食店基本情况

A小食店是主要供应熟食快餐的小型餐饮服务单位,面积约50 m²,从业人员3名,均称近期无腹泻、发热、呕吐等情况,但未能出示有效健康证明。厨房卫生状况较差,现场可见冰箱生熟食混放,用于食物加工的用具无生熟分开的标识。该店使用市政供水,近期无停水或管道维修记录;用于食物储存的设备未发现损坏情况或维修记录。

2.3.2 卤鸡腿制作过程

6月11日A小食店老板杨某采购124份鸡腿于冰箱冷冻备用;6月13日7时30分,员工取出12份鸡腿放置于不锈钢盆用冷水浸泡解冻,解冻后用刀划开,约10时放入卤汁锅煮约25 min(卤汁为6月11日制作,每天重复加热使用),捞出鸡腿放置在店门口分餐盘中,盘底采用温水恒温存放,午餐待顾客点餐后直接分餐。午市过后剩余鸡腿常温放置于桌面,待晚市客人点餐后,用碟子盛装煮好

的饭加卤鸡腿,一起放入微波炉加热 3~5 min 后供餐。

2.4 现场采样及实验室检测结果

共采集 3 份病例肛拭子标本、1 份 6 月 14 日制作的卤鸡腿样品、1 份卤汁样品和 10 份厨房环境及加工用具涂抹样品。按照相应的国家标准方法检测,所有样品均未检出相应菌落,经分离培养后发现有多份样品/标本的 TCBS 平板上生长着单一且形态相同的可疑黄色圆形菌落,使用 VITEK 2 全自动细菌鉴定及药敏分析仪进行表型生化鉴定,检测结果显示,3 份病例肛拭子标本、1 份切菜砧板棉拭样以及 1 份卤鸡腿样品均检出粪肠球菌。卤鸡腿样品粪肠球菌定量计数结果为 2.3×10^6 CFU/g。

2.5 菌株 PFGE 溯源分析

经 PFGE 分子分型分析,分离出的 5 株粪肠球菌分子分型相似性为 100% (图 2)。

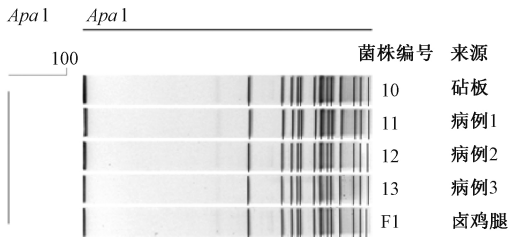


图 2 5 株粪肠球菌 PFGE 图谱

Figure 2 PFGE atlas of 5 *Enterococcus faecalis* strains

3 讨论

根据现场流行病学调查,结合病例临床表现和实验室检测结果,确定该事件为一起粪肠球菌引起的食源性疾病暴发,主要依据:一是病例有唯一共同的进食食物(6月13日晚餐 A 小食店提供的卤鸡腿),未进食的同餐人员未发病;二是病例发病时间集中,呈现点源暴发模式,无人传人情况;三是病例症状均以腹泻、腹痛为主,潜伏期短,符合粪肠球菌感染表现(8.5~11.5 h);四是病例肛拭子、切菜砧板棉拭子以及卤鸡腿均培养分离出粪肠球菌,表型生化鉴定一致。所有依据均符合肠球菌食物中毒的特点及实验室诊断原则^[15-16],而且本次事件 PFGE 分子分型相似性 100%,从分子水平上提供了更加充分的证据。本次调查也存在局限性,一是未能找到曾在 A 小食店进食卤鸡腿的其他消费者,不能掌握这些人是否发病;二是只采集了病例的肛拭子,未能采集粪便而开展粪肠球菌定量计数检测,无法掌握病例带菌量。

粪肠球菌耐盐、耐碱、耐高温^[17],在食品中极易大量繁殖^[18]。本起事件中 A 小食店的卤鸡腿在常温状态下放置时间达 4 h 以上,食物加工环境也被

证实存在粪肠球菌污染,另外,考虑该小食店的供餐能力和加热方法,不能保证完全杀灭污染卤鸡腿的粪肠球菌,这些因素都是导致进食人员发病的关键原因。

国内外报道肠球菌临床感染及引起多重耐药的相关研究较多^[19-21],可以引起心内膜炎、败血症和尿道炎等多种临床感染性疾病。而国内食源性疾病暴发的报道则较少且年代较远^[22-25],国外也仅查找到美国 2009 年报道的一起粪肠球菌导致 13 人发病的食源性疾病暴发^[26],直至近年鲜见相关报道,这可能与实验室检测能力以及对肠球菌食源性疾病的认知程度不足有关^[25]。本次事件是中山市近年来首次发现的粪肠球菌食源性疾病暴发事件,除了分离培养常规目标菌落的传统检测方法,对可疑菌落进行排查以及运用 PFGE 检测技术验证菌株同源性也起到关键性的作用。值得注意的是,肠球菌普遍能从各种畜禽肉类、蛋类等食物中分离^[27-29],而且其产生的耐药因子能通过食物传播^[30-31],加重疾病负担,应引起足够的公共卫生关注。

因此,建议加大“肉/蛋类-肠球菌”组合的食品安全风险监测力度,研发新型、快速和可靠的肠球菌检测检验方法,从而提高该类食源性疾病的防控水平。另外,建议加强小型餐饮服务单位的食品安全监管,督促小型餐饮服务单位认真落实食品加工、存放环节的操作规程,保证供餐食品的卫生安全,预防类似事件的发生。

参考文献

- [1] ELIZABETH M S, DARIA V T, MICHAEL S. Pathogenicity of *Enterococci*[J]. *Gilmore Microbiol Spectr*, 2019, 7(4): 1-38.
- [2] FRANZ C M, HUCH M, ABRIQUEL H, et al. *Enterococci* as probiotics and their implications in food safety[J]. *Int J Food Microbiol*, 2011, 151(2): 125-140.
- [3] HAMMERUM A M. *Enterococci* of animal origin and their significance for public health[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(7): 619-625.
- [4] 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 金黄色葡萄球菌检验: GB 4789. 10—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽胞杆菌检验: GB 4789. 14—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验: GB 4789. 7—2013[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 感染性腹泻诊断标准: WS 271—2007[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.
- [8] 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 沙门氏菌检验:GB 4789.4—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [9] 中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准 食品微生物学检验 产气荚膜梭菌检验:GB 4789.13—2012[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [10] 中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验:GB 4789.5—2012[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [11] 中华人民共和国卫生部.细菌性和阿米巴性痢疾诊断标准:WS 287—2008[S].北京:人民卫生出版社,2008.
- [12] 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 致泻大肠埃希氏菌检验:GB 4789.6—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [13] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程(第四版)[M].北京:人民卫生出版社,2015:658-661.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.食品和水中心肠球菌检验方法 第1部分:平板计数法和最近似值测定法:SN/T 1933.1—2007[S].北京:中国标准出版社,2007.
- [15] 陈炳卿,刘志诚,王茂起.现代食品卫生学[M].北京:人民卫生出版社,2001:760-761.
- [16] 陈世铭,高连永.急性中毒的诊断与救治[M].北京:人民军医出版社,1996:868-870.
- [17] 刘伟翌,杜淑芬,孟广涛,等.肠球菌生化鉴定系列培养基及D群诊断血清的研制和应用[J].中国公共卫生,1998,14(1):42-44.
- [18] CAMARGO C H, BRUDER-NASCIMENTO A, LEE S H, et al. Prevalence and phenotypic characterization of *Enterococcus* spp. isolated from food in Brazil[J].Braz J Microbiol, 2014, 45(1): 111-115.
- [19] 黄仁刚,杨兴祥,喻华,等.肠球菌属血流感染92例临床及病原菌特点分析[J].中国感染与化疗杂志,2015,15(1):6-10.
- [20] 狄婷婷,高原.粪肠球菌研究进展[J].中国公共卫生,2012,28(11):1530-1532.
- [21] 吕娜,高原.粪肠球菌致病因子的研究进展[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版),2015,30(4):323-326.
- [22] 杨东霞,何全安,李新庆,等.一起由鸡肠球菌引起367名学生食物中毒事故的调查分析[J].河南预防医学杂志,2005,16(2):108-109.
- [23] 单文清,戴志芳,何艳,等.一起粪肠球菌食物中毒的调查[J].实验与检验医学,2008,26(2):212.
- [24] 马国泰,张军,樊胡.肠球菌引起食物中毒的调查分析[J].中华流行病学杂志,1998,19(4):250.
- [25] 杨毓环,马群飞,洪锦春.多种肠球菌污染引起的肠球菌性食物中毒的实验室调查分析[J].中国卫生检验杂志,2013,23(12):2664-2666.
- [26] CDC. Surveillance for foodborne disease outbreaks-United States, 2009-2010[J].MMWR,2013,62(3):41-55.
- [27] 胡鹏威,刘楚云,何娇明,等.16S rRNA 基因测序分析技术在食品污染菌监测中的应用[J].现代预防医学,2019,46(11):2028-2101.
- [28] 刘利强,杜娟,陈苗,等.鲜蛋蛋壳表面肠球菌分离鉴定与耐药性[J].中国公共卫生,2018,37(7):1048-1051.
- [29] GREGORY H T, EPIPHANIE N, EMILY C, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococci* isolated from retail meats in the United States, 2002 to 2014 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(1): AEM.01902-17.
- [30] CHOI J M, WOO G J. Transfer of tetracycline resistance genes with aggregation substance in foodborne *Enterococcus faecalis* [J]. Current Microbiology, 2015, 70(4):476-484.
- [31] 彭子欣,徐进.肠球菌耐药机制与食源性传播研究进展[J].中华预防医学杂志,2018,52(10):1062-1066.

· 新型冠状病毒肺炎科普知识 ·

如何让孩子吃好,保持健康远离疾病?

中国疾病预防控制中心营养与健康所研究员 赵文华:

让孩子吃好就是要满足营养需要,我们建议:一是要努力做到食物多样化,没有一种天然的食物能够提供孩子们生长发育所需要的全部营养素。要做到薯类、谷类成为膳食主体,不能不吃主食,而且要多吃粗杂粮,要保证鱼、禽、瘦猪牛羊肉、蛋类的摄入量,多吃大豆和豆制品,适当多喝奶,以保证充足的优质蛋白的需要。要坚持多吃蔬菜和水果,既要做到量多,也要尽可能的增加种类,要主动足量喝水,避免不渴不喝水,要控制油炸、火烤以及深度加工的食品,少吃过咸、过油、过甜、过辣的食物,不喝或少喝含糖饮料。二是培养孩子们的健康饮食习惯,做到三餐有规律,会选择零食,不挑食、不偏食,会看营养标签。提倡和践行家庭分餐,或者使用公筷、公勺。三是要鼓励孩子们多参与,让孩子们参与食谱的制定,参与食物的制作,让孩子们学会做几道菜,从小学到的技能和培养的好习惯,会让孩子们终生受益。

(来源 国家卫生健康委官网,相关链接: <http://www.nhc.gov.cn/xcs/kpzs/202002/e139257b19b64e269e4657c6745baad3.shtml>)