

整鸡中弯曲菌定量检测方法的建立与优化

白 瑶^{1,2}, 崔生辉³, 徐 潇³, 李凤琴^{1*}

(1. 国家食品安全风险评估中心 卫生和计划生育委员会食品安全风险评估重点实验室, 北京 100021;
2. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050; 3. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘 要: **目的** 建立一种简便、灵敏、稳定的整鸡中弯曲菌定量检测方法, 并用北京地区市售整鸡样品进行验证。**方法** 分别对 37 株鸡肉中常污染的背景杂菌、24 株弯曲菌菌株进行抗生素敏感性测试, 对弯曲菌分离用选择性培养基及抗生素添加剂进行优化和改进; 用 77 份人工定量污染弯曲菌的鸡淋洗液进行添加回收实验, 以生长指数评价选择性平板对鸡肉样品中背景杂菌的抑制情况和弯曲菌生长状况影响。**结果** 在改良后的 Karmali 和 Preston 选择性平板上, 弯曲菌生长状态稳定, 并可有效抑制鸡肉样品中常见的背景干扰杂菌的生长繁殖, 此方法对鸡肉中弯曲菌检出的灵敏度可达 2.5 CFU/g。**结论** 所建方法灵敏度高、操作简便、计数准确, Karmali 和 Preston 平板组合后可有效提高鸡肉中弯曲菌的检出率, 适用于禽类食品中弯曲菌的定量检测。
关键词: 弯曲菌; 抗生素; 整鸡; 定量检测

Development and optimization of enumeration for *Campylobacter* species

BAI Yao^{1,2}, CUI Sheng-Hui³, XU Xiao³, LI Feng-Qin^{1*}

(1. Key Lab of Food Safety Risk Assessment, National Health and Family Planning Commission, China National Centre for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China; 2. National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China;
3. National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To establish a simple, sensitive, and stable quantitative enumeration method for *Campylobacter* spp. from chicken carcass, and to evaluate it by application in detection of *Campylobacter* species from retail chicken in Beijing. **Methods** Based on the plate counting theory, the method of enumeration for *Campylobacter* species was developed. A total of 37 strains of indigenous flora and 24 strains of *Campylobacter* were used for antimicrobial susceptibility testing, and the selective culture and antibiotic supplements were optimized. Totally, 77 samples with artificial contamination with *Campylobacter* were evaluated. Growth index was employed for evaluating the growth of *Campylobacter* as well as the inhibition of indigenous flora in plates. **Results** *Campylobacter* spp. grew well and was not inhibited by any antibiotic in selective plates, but indigenous flora could be inhibited on the modified Karmali and Preston plates. The limit of enumeration for *Campylobacter* species from chicken was 2.5 CFU/g. **Conclusion** The method could be applied to detect the *Campylobacter* species in food specifically, quantitatively and accurately. Preston selective agar in combination with Karmali could improve the detection of *Campylobacter* species from chicken carcass.

基金项目: 卫生部食品安全风险评估优先项目

Fund: Supported by Priority Food Safety Risk Assessment Project of the Ministry of Health

*通讯作者: 李凤琴, 研究员/博士生导师, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: lifengqin@cfsa.net.cn

*Corresponding author: LI Feng-Qin, Professor, China National Center for Food Safety Risk Assessment, 7# PanjiayuanNanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China. E-mail: lifengqin@cfsa.net.cn

KEY WORDS: *Campylobacter*; antimicrobial; chicken carcass; quantitative enumeration

1 引言

弯曲菌是一种重要的食源性致病菌。近20年来,全球范围内弯曲菌感染病例激增,一些国家弯曲菌感染率甚至超过沙门氏菌。其中弯曲菌属中的空肠弯曲菌和结肠弯曲菌两个种又是最常见的人兽共患病致病菌,引起人致病的弯曲菌中80%~90%是空肠弯曲菌,其次是结肠弯曲菌,其他弯曲菌偶尔致病^[1]。虽然空肠弯曲菌感染多为自限性疾病,但20%以上的患者会出现病情复发或病程延长现象,严重者会并发格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome, GBS)。全世界每年由空肠弯曲菌引起的食源性腹泻病例达4~5亿人次^[2]。欧洲在2006~2011年期间,仅弯曲菌导致的食源性疾病每年有19多万人次,且发病率呈持续上升趋势^[3]。美国每年约有200万人次患弯曲菌病,其中15%需住院治疗^[4],因此弯曲菌感染已成为危害消费者健康的重要公共卫生问题。

人类可通过污染的食物或水等多种途径暴露弯曲菌而患病^[5]。禽类是空肠弯曲菌和结肠弯曲菌的重要自然宿主,禽类盲肠内容物中弯曲菌的数量可达 $7.0 \log_{10} \text{CFU/g}$ ^[6, 7],食用被弯曲菌污染且未彻底加热的禽类是感染弯曲菌的主要原因^[8],其中90%以上是由于食用了被污染的鸡肉产品或被其交叉污染的其他食品所致^[9, 10]。弯曲菌在食品中虽不宜生长繁殖,但引起人类发病的感染剂量却很低,摄入400~500个活菌即可引发肠道感染^[2]。为了解食品中弯曲菌的污染水平,各国相继建立了食品中弯曲菌检测方法。我国现行国标方法^[11]对食品中弯曲菌的检测仅限于定性;国际标准化组织(ISO)对食品中弯曲菌的最可能数(most probable number, MPN)检测^[12]灵敏度虽高,但为半定量法,且适用范围有限,不能准确定量;荧光定量PCR的方法虽可对样品中弯曲菌进行快速定量,但实验结果存在假阳性和假阴性的误差,且不能得到活菌,无法对污染菌进一步分析;美国农业部方法虽可以对鸡肉中弯曲菌进行定量^[13],但由于我国家禽养殖过程中,抗生素不合理使用现象严重,导致市售鸡肉样品中耐药杂菌种类多、污染水平高,严重干扰鸡肉样品中弯曲菌的检测,进一步加大了弯曲菌定量检测和分离的难度。因此,建立一种灵敏度

高、操作简便、准确稳定、适应于我国国情的鸡肉中弯曲菌定量检测方法迫在眉睫。

本研究通过对我国鸡肉样品中污染的除弯曲菌以外的常见干扰杂菌进行分类和耐药性分析,调整并优化选择性培养基种类及添加的抗生素类别和浓度,建立定量检测鸡肉中弯曲菌的方法,并用所建方法对北京地区零售整鸡中弯曲菌污染水平进行监测,为评估鸡肉暴露弯曲菌对人群健康影响的风险提供可靠方法和准确数据。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 主要仪器

生物安全柜(Thermo 1389, 美国 Thermo 公司); 无菌匀浆袋(Stomacher 3500, 英国 Seward 公司); 全自动微生物分析系统(VITEK 2 COMPACT 60, 法国 Bio Mérieux 公司); 高压灭菌器(MLS-3780, 日本 Sanyo 公司); 恒温水浴装置(SWB25, 美国 Thermo 公司); 微需氧恒温培养箱(FORMA 3131, 美国 Thermo 公司); 高速台式离心机(LEGEND MICRO 21R, 美国 Thermo 公司); 螺旋涂布仪(Spiral Systems, 西班牙 EDDY. JET. IUL 公司)。

2.1.2 培养基与试剂

无菌脱纤维羊血(北京陆桥技术有限责任公司); 缓冲蛋白胨水(BPW, 美国 BD 公司, REF 218105); MH 培养基(美国 BD 公司, REF 225250); Brucella 培养基(美国 BD 公司, REF 211088); mCCDA 培养基与添加剂(英国 OXOID 公司, CM 0739, SR 0155); Kar-mali 培养基与添加剂(英国 OXOID 公司, CM 0935, SR 0205E); Preston 培养基与添加剂(英国 OXOID 公司, CM 0689, SR 0204E); 万古霉素、头孢哌酮、放线菌酮(中国食品药品检定研究院); 多粘菌素 B 硫酸盐($\geq 8000 \text{IU/mg}$, 北京陆桥技术有限责任公司); 利福平(美国 Sigma 公司, 83907); Taq DNA 聚合酶(日本 Takara 公司, DRR100B); 丙三醇、二甲基亚砷等其他常规试剂均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司。

2.1.3 实验样品与菌株

市售冰鲜整鸡样品购自北京市某超市。空肠弯曲

菌标准菌株 7 株(ATCC33291, ATCC33560, WHO EQAS C10-1, WHO EQAS C12-1, WHO EQAS C12-2, CJ1, CJ5); 弯曲菌鸡肉分离株 17 株(包括 7 株空肠弯曲菌和 10 株结肠弯曲菌); 鸡淋洗液中常污染的背景菌分离株 37 株, 经生化鉴定, 确认为大肠埃希氏菌、弗格森埃希菌、屎肠球菌、粪肠球菌、口腔链球菌、肺炎克雷伯菌肺炎亚种、产酸克雷伯菌、少动鞘氨醇单胞菌、温和气单胞菌、铜绿假单胞菌、沃氏葡萄球菌、粘质沙雷菌、玫瑰色库克菌等。背景菌具体信息见表 1。

表 1 弯曲菌分离方法优化实验所用选择性培养基和背景菌相关信息

选择性培养基	菌株数量(株)	
	革兰氏阴性菌	革兰氏阳性菌
mCCDA 平板	5	0
Campy-Cefex 平板	6	4
Karmali 平板	9	3
Preston 平板	5	5
合计(株)	25	12

2.2 方 法

2.2.1 各种选择性培养基中最适抗生素添加浓度的确定

选择性培养基中多粘菌素 B 添加浓度的确定: 分别测定在 mCCDA、Karmali、Preston 和 Cefex 四种选择性平板上, 多粘菌素 B 在 0~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内对弯曲菌和各种背景菌的最小抑菌浓度(minimal inhibitory concentrations, MIC)。将实验用弯曲菌和 37 株背景菌各制成 10^3 CFU/mL 的菌悬液, 用多点接种仪分别点种于添加不同浓度多粘菌素 B 的改良 mCCDA、Karmali、Preston 和 Cefex 药敏测试平板上, 在 42 $^{\circ}\text{C}$ 、微需氧(5% O_2 , 10% CO_2 , 85% N_2)条件下培养 48 h 后, 分别获得多粘菌素 B 对弯曲菌和各背景菌的 MIC 值。

头孢哌酮和利福平添加浓度的确定: 在 Preston 和 Karmali 平板上, 分别测定头孢哌酮和利福平在 0~25 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内对弯曲菌和各种背景菌的 MIC 值。

分别统计以上三种抗生素在选择性平板上对各

种背景菌和弯曲菌的 MIC 值, 在基本不影响弯曲菌生长的抗生素浓度范围内, 选择最大程度抑制背景菌生长的抗生素浓度, 作为添加到选择性平板中该抗生素的最适添加浓度。

2.2.2 弯曲菌分离最适选择性培养基的筛选

为评价选择性培养基中抗生素浓度对弯曲菌生长的影响, 分别将 14 株空肠弯曲菌和 10 株结肠弯曲菌在 MH 血平板上培养 48 h 的新鲜培养物, 用无菌生理盐水制成菌悬液并梯度稀释, 采用螺旋涂布法将 10^3 CFU/mL 的菌悬液分别涂布于 MH 血平板和 8 种选择性平板上(选择性平板的具体配方见表 2), 每个平板涂布 100 μL , 每个菌株每个种类培养基设两个平行, 于 42 $^{\circ}\text{C}$ 、微需氧(5% O_2 , 10% CO_2 , 85% N_2)条件下培养 48 h 后, 分别统计每个平板上弯曲菌的菌落数, 用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 比较选择性平板和 MH 血平板上的菌落数差异, 筛选出弯曲菌分离用最适选择性培养基。

2.2.3 鸡淋洗液中弯曲菌和干扰菌生长状态评价

为评价鸡肉样品中存在的背景干扰菌对弯曲菌分离的影响, 分别从北京地区 27 个不同零售地点采集 77 个整鸡样品, 反复冻融三次以消除其中的弯曲菌干扰^[14]。将处理后的样品置于 stomacher 3500[®]无菌均质袋中, 按照每公斤样品 500 mL 的比例添加无菌缓冲蛋白胨水(BPW), 将鸡胴体充分揉搓 5 min 后, 取适量鸡淋洗液, 添加新鲜配制的弯曲菌菌悬液, 使鸡淋洗液中弯曲菌的终浓度分别为 10^1 、 10^2 、 10^3 CFU/mL。采用螺旋涂布法, 分别将弯曲菌菌悬液、鸡淋洗液和加弯曲菌标准菌株的鸡淋洗液涂布于 MH 血平板和各选择性平板上, 每个平板每次涂布 100 μL , 同时设两个平行, 于 42 $^{\circ}\text{C}$ 、微需氧(5% O_2 , 10% CO_2 , 85% N_2)条件下培养 48 h 后, 分别计数每个平板上的背景干扰菌和目标菌菌落, 分别比较 mCCDA 和 Campy-Cefex、mCCDA 和 Karmali、Karmali 和 Preston 以及 mCCDA、Campy-Cefex、Karmali 和 Preston 平板对弯曲菌的分离及对背景干扰菌的抑菌效果。依据 Peterz 提出的生长指数, 对鸡淋洗液中的干扰菌在平板上的生长状况进行评价^[15]: 生长指数 1 代表每个平板上背景干扰菌落数小于 30 CFU, 生长指数 2 代表菌落数范围为 30~150 CFU; 生长指数 3 代表菌落数范围为 151~300 CFU; 生长指数 4 代表菌落数大于 300 CFU。筛选出支持弯曲菌生长但抑制背景干扰菌生长的最佳选择性培养基。

表 2 弯曲菌分离所用培养基及配方
Table 2 Selective agars used in this study

名称	培养基基础	添加剂
mCCDA	OXOID CM 0739	SR0155: 头孢哌酮 32 µg/mL; 两性霉素 B 10 µg/mL
改良 mCCDA		SR0155; 多粘菌素 B 5 µg/mL; 利福平 6.25 µg/mL
Campy-Cefex	BD 211086	头孢哌酮 33 µg/mL; 放线菌酮 200 µg/mL; 裂解羊血 50 mL/L
改良 Campy-Cefex		头孢哌酮 33 µg/mL; 放线菌酮 200 µg/mL; 利福平 6.25 µg/mL; 万古霉素 20 µg/mL; 裂解羊血 50 mL/L
Karmali	OXOID CM 0935	SR0205: 丙酮酸钠 100 µg/mL; 头孢哌酮 32 µg/mL; 万古霉素 20 µg/mL; 两性霉素 B 10 µg/mL
改良 Karmali		SR0205; 多粘菌素 B 10 µg/mL; 利福平 6.25 µg/mL
Preston	OXOID CM 0689	SR0204: 多粘菌素 B 5 µg/mL; 利福平 10 µg/mL; 甲氧苄氨嘧啶 10 µg/mL; 两性霉素 B 10 µg/mL; 裂解羊血 50 mL/L
改良 Preston		SR0204; 头孢哌酮 33 µg/mL; 裂解羊血 50 mL/L

3 结 果

3.1 不同抗生素对弯曲菌和背景干扰菌抑菌效果

在四种选择性平板上, 37 株不同种类的背景干扰菌在改良后的 Cefex 平板上均能正常生长。

在添加多粘菌素 B 的 mCCDA 和 Karmali 平板上, 24 株弯曲菌对多粘菌素 B 的 MIC 值均高于 25 µg/mL, 但 mCCDA 平板上背景干扰菌 MIC 值高于 12.5 µg/mL 菌株为 13 株, 而 Karmali 平板上仅有两株背景干扰菌生长。在添加多粘菌素 B 的 Cefex 平板上, 10 株弯曲菌的 MIC 值均低于 12.5 µg/mL, 但背景干扰菌 MIC 值高于 12.5 µg/mL 的菌株数量为 12 株。添加多粘菌素 B 的 Preston 平板上, 18 株弯曲菌的 MIC 值均低于 3.125 µg/mL, 干扰菌 MIC 值高于 12.5 µg/mL 的菌株数量为 1 株。在添加利福平的 Karmali 平板上, 22 株弯曲菌的 MIC 值均高于 25 µg/mL, 2 株为 6.25 µg/mL, 而干扰菌 MIC 值高于 12.5 µg/mL 的菌株数量仅有 5 株。在添加头孢哌酮的 Preston 平板上, 23 株弯曲菌的 MIC 值均不低于 32 µg/mL, 1 株为 8 µg/mL, 而干扰菌 MIC 值高于 12.5 µg/mL 的菌株数量仅有 1 株。

综合以上结果, Karmali 平板上添加 10 µg/mL 的多粘菌素 B 和 6.25 µg/mL 的利福平、Preston 平板上添加 32 µg/mL 的头孢哌酮可作为改良后选择性平板的最适组合, 用于鸡淋洗液中弯曲菌的定量分离。

3.2 弯曲菌在选择性培养基上生长状态评价

弯曲菌在 8 种选择性平板上的菌落计数统计结果显示, 14 株空肠弯曲菌和 10 株结肠弯曲菌在 8 种选择性平板上的菌落数无显著性差异($P>0.05$)。

3.3 鸡淋洗液中弯曲菌生长状态评价

弯曲菌纯培养物菌悬液和加标弯曲菌的鸡淋洗液培养后的菌落计数结果显示, 弯曲菌在鸡淋洗液中的添加量为 10^1 、 10^2 、 10^3 CFU/mL 时, 用所建方法均可有效回收。

3.4 选择性平板对鸡淋洗液中背景干扰菌的抑制效果

3.4.1 mCCDA 与 Cefex 选择性培养基对背景干扰菌抑制效果比较

对 9 份鸡淋洗液用改良的 mCCDA 和 Cefex 平板分别进行弯曲菌和背景干扰菌分离, 并计算生长指数, 结果弯曲菌在改良的 mCCDA 培养基上的生长指数显著低于改良的 Cefex 平板, 说明用改良的 Cefex 平板分离弯曲菌优于改良的 mCCDA, 具体见表 3。

3.4.2 mCCDA 与 Karmali 选择性培养基对背景干扰菌抑制效果比较

对 8 份鸡淋洗液用改良的 Karmali 与 mCCDA 平板分别进行弯曲菌和干扰菌分离, 并计算生长指数, 结果背景干扰菌在改良的 Karmali 平板上的生长指数显著低于改良的 mCCDA 平板, 说明用改良的 Karmali 平板抑制背景干扰菌的作用优于改良的 mCCDA, 具体见表 4。

表 3 9 份鸡淋洗液中背景干扰菌在五选择性平板上的生长指数

Table 3 Comparison of the growth index of competing flora isolated from 9 chicken carcass rinses on five selective agar plates

选择性平板	生长指数
mCCDA	2.43
mCCDA+多粘菌素 B 2.5 µg/mL+利福平 6.25 µg/mL	2
mCCDA+多粘菌素 B 5 µg/mL+利福平 6.25 µg/mL	1.67
Cefex	3.43
Cefex+利福平 6.25 µg/mL+万古霉素 20 µg/mL	2.13
MH 血平板	3.6

表 4 8 份鸡淋洗液中背景干扰菌在五选择性平板上的生长指数

Table 4 Comparison of the growth index of competing flora isolated from 8 chicken carcass rinses in four selective agar plates

选择性平板	生长指数
mCCDA	2.63
mCCDA+多粘菌素 B 5 µg/mL+ 利福平 6.25 µg/mL	2.25
Karmali	2.43
Karmali +多粘菌素 B 5 µg/mL+ 利福平 6.25 µg/mL	1.67
MH 血平板	3.50

3.4.3 Karmali 和 Preston 平板对干扰菌抑制效果比较

对 30 份鸡淋洗液用改良的 Karmali 与 Preston 平板分别进行弯曲菌和背景干扰菌分离, 并计算生长指数, 结果两种选择性平板上的生长指数无显著差异, 说明两种选择性培养基分离弯曲菌、抑制背景干扰菌效果相当。

表 5 30 份鸡淋洗液中背景干扰菌在两种改良的选择性平板上的生长指数

Table 5 Comparison of the growth index of competing flora isolated from 30 chicken carcass rinses in two selective agar plates

平板	生长指数
Karmali +多粘菌素 B 10 µg/mL+利福平 6.25 µg/mL	2.61±0.60
Preston +头孢哌酮 32 µg/mL	2.54±0.63

3.4.4 mCCDA、Cefex、Karmali 和 Preston 四组选择性平板对干扰菌抑制效果比较

30 份鸡淋洗液中的背景干扰菌在几种选择性平

板上的生长指数见表 6。由表 6 可见, 改良的 Karmali 和 Preston 平板上的干扰菌生长指数最低。奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*)虽在 mCCDA 和 Karmali 平板上有迁徙生长现象, 而在 Preston 平板上却无此现象。综合 3.4.3 和 3.4.4 结果, Karmali 和 Preston 两种选择性培养基可以作为鸡肉中弯曲菌定量检测分离用培养基, 但在有奇异变形杆菌存在的情况下, 鸡肉中弯曲菌的定量结果以 Preston 平板计数结果为宜。

表 6 30 份鸡淋洗液中的干扰菌在 8 种选择性平板上的生长指数

Table 6 Comparison of the growth index of competing flora isolated from 30 chicken carcass rinses in eight selective agar plates

平板	生长指数
mCCDA	1.83±1.13
mCCDA+多粘菌素 B 5 µg/mL+利福平 6.25 µg/mL	1.57±0.84
Cefex	3.60±0.84
Cefex+利福平 6.25 µg/mL+万古霉素 20 µg/mL	1.77±0.88
Karmali	1.33±0.60
Karmali+多粘菌素 B 10 µg/mL+利福平 6.25 µg/mL	1.17±0.45
Preston	1.53±0.62
Preston+头孢哌酮 32 µg/mL	1.23±0.42
MH 血平板	3.87±0.43

4 讨 论

目前从食品中分离弯曲菌最常用的选择性培养基包括 Preston、Karmali、mCCDA 和 Cefex 等。在 Preston 平板上, 抗生素头孢哌酮对 23 株弯曲菌的 MIC 值高于 32 µg/mL, 这与弯曲菌对头孢哌酮天然耐药密切相关。在 Karmali 平板上, 22 株弯曲菌对添加利福平的 MIC 值为 25 µg/mL, 与早期研究报道相符^[16,17]。由于多粘菌素 B 对革兰氏阴性细菌有良好的抑菌效果^[18,19], 因此添加多粘菌素 B 的 Karmali 平板可有效抑制鸡淋洗液中的常见干扰菌, 从而提高 Karmali 平板对弯曲菌的检出率。药敏测试结果表明, 在 mCCDA 和 Karmali 两种无血平板上, 多粘菌素 B 对所有受试弯曲菌的 MIC 值均高于 25 µg/mL, 而在含血的 Cefex 和 Preston 平板上, 多粘菌素 B 对大多数弯曲菌的 MIC 值均较低, 推测可能由于多粘菌素 B 与血液中某种成分发生化学反应, 使药物的抗菌效果增强。

将不同浓度的弯曲菌定量涂布于含不同成分抗生素的 mCCDA、Karmali、Preston 和 Cefex 等选择性平板上,微需氧环境下培养后计数,统计结果显示弯曲菌可有效回收,表明弯曲菌的生长不受选择性平板中含有的抗生素的影响。将弯曲菌定量添加至鸡淋洗液中,用改良后的 Karmali、Preston 两种选择性平板进行分离回收时,平板上生长的背景干扰菌数量不影响弯曲菌计数,表明改良后的 Karmali 和 Preston 平板可用于鸡肉中弯曲菌的定量检测。

改良后的 Karmali 和 Preston 平板分离弯曲菌灵敏度可达 2.5 CFU/g,且操作简便、计数准确,无需消耗大量的耗材、增菌肉汤,无需进行预增菌和增菌,节约了实验时间。由于我国养殖业中存在抗生素滥用现象严重,导致零售肉类食品中含有对多种抗生素耐药的菌株如大肠埃希氏菌、奇异变形杆菌等,此类背景菌在增菌肉汤中生长速度明显高于弯曲菌,易成为优势菌群,培养 8~12 h 后即消耗增菌肉汤中的大量营养物质,导致弯曲菌增菌效果不佳,从而影响样品中污染的弯曲菌检出率,但平板计数法可有效避免此类问题。因此在对鸡肉中弯曲菌进行定量检测时,选择淋洗液直接涂布计数方法,既节省时间、物力和财力,又可满足对弯曲菌进行定量检测的需求,所建方法可用于后续鸡肉中弯曲菌定量检测和弯曲菌对我国居民健康影响风险评估的数据采集。

参考文献

- [1] Jorgensen F, Ellis-Iversen J, Rushton S, *et al.* Influence of season and geography on *Campylobacter jejuni* and *C. coli* subtypes in housed broiler flocks reared in Great Britain[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77(11): 3741–3748.
- [2] Ruiz-Palacios GM. The health burden of *Campylobacter* infection and the impact of antimicrobial resistance: playing chicken[J]. *Clin Infect Dis*, 2007, 44(5): 701–703.
- [3] European Food Safety Authority Report. Rise in human infections from *Campylobacter* and *E. coli*, whilst *Salmonella* cases continue to fall[Z]. April 9, 2013.
- [4] Morbidity and Mortality Weekly Report. Incidence and Trends of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food-Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 1996-2012[N]. April 19, 2013, 62(15): 283–287.
- [5] Luangtongkum T, Jeon B, Han J, *et al.* Antibiotic resistance in *Campylobacter*: emergence, transmission and persistence[J]. *Futur Microbiol*, 2009, 4(2): 189–200.
- [6] Sessmentseries M. Risk Assessment of *Campylobacter* Spp. in Broiler Chickens[R]. 2009.
- [7] Reich F, Atanassova V, Haunhorst E, *et al.* The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*[J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 127(1): 116–120.
- [8] O'Leary MC, Harding O, Fisher L, *et al.* A continuous common-source outbreak of campylobacteriosis associated with changes to the preparation of chicken liver pâté[J]. *Epidemiol Infect*, 2009, 137(03): 383–388.
- [9] Garin B, Gouali M, Wouafo M, *et al.* Prevalence, quantification and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. on chicken neck-skins at points of slaughter in 5 major cities located on 4 continents[J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 157(1): 102–107.
- [10] Guerin MT, Sir C, Sargeant JM, *et al.* The change in prevalence of *Campylobacter* on chicken carcasses during processing: A systematic review[J]. *Poult Sci*, 2010, 89(5): 1070–1084.
- [11] GB/T 4789.9-2008 食品卫生微生物学检验空肠弯曲菌检验[S].
GB/T 4789.9-2008 Microbiological examination of food hygiene-Examination of *Campylobacter jejuni*[S].
- [12] ISO WHO. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part3: Semi-quantitative method. GB-BSI[S].
- [13] FSIS USDA. Isolation, Identification and Enumeration of *Campylobacter jejuni/coli/lari* from Poultry Rinse, Sponge and Raw Product Samples[S]. MLG 41.02. 2013.
- [14] 栾军, 祝长青, 蒋原, 等. 空肠弯曲菌选择性增菌培养和分离方法的比较[J]. *中国人兽共患病学报*, 2008, 24(2): 117–119.
Luan J, Zhu CQ, Jiang Y, *et al.* A comparative study on the selective enrichment cultivation and isolation method for *Campylobacter jejuni* [J]. *Chin J Zoonoses*, 2008, 24(2): 117–119.
- [15] Peterz M. Comparison of Preston agar and a blood-free selective medium for detection of *Campylobacter jejuni* in food [J]. *J Assoc Off Anal Chem*, 1990, 74(4): 651–654.
- [16] Ahonkhai VI, Cherubin CE, Sierra MF, *et al.* In vitro susceptibility of *Campylobacter fetus subsp. jejuni* to N-formimidoylthienamycin, rosaramicin, cefoperazone, and other antimicrobial agents[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1981, 20(6): 850–851.
- [17] Karmali MA, De Grandis S, Fleming PC. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* with special reference to resistance patterns of Canadian isolates[J]. *Antimicrob Agents Che-*

mother, 1981, 19(4): 593–597.

- [18] Chon J, Kim H, Yim J, *et al.* Improvement of Karmali Agar by Addition of Polymyxin B for the Detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in Whole-Chicken Carcass Rinse[J]. J Food Sci, 2013, 78(5): 752–755.
- [19] Chon J, Hyeon J, Yim J, *et al.* Improvement of Modified Charcoal-Cefoperazone-Deoxycholate Agar by Supplementation with a High Concentration of Polymyxin B for Detection of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in Chicken Carcass Rinses[J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(5): 1624–1626.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



白瑶, 中国疾病预防控制中心在读博士研究生, 主要研究方向为食品微生物。
E-mail: shanguangm11@163.com



李凤琴, 研究员/博士, 博士生导师, 主要研究方向为食品微生物。
E-mail: lifengqin@cfsa.net.cn