

2018~2019 年南昌市市售生鲜肉中小肠结肠炎耶尔森氏菌污染情况分析

吴 鑫*, 章志超, 刘 德, 朱应飞, 范宏伟

(江西省食品检验检测研究院, 南昌 330001)

摘 要: **目的** 了解 2018~2019 年南昌市生鲜肉品中小肠结肠炎耶尔森氏菌的污染现状。**方法** 以市售的生鲜肉品(猪肉、牛肉和鸡肉)为研究对象, 2018 年 8 月~2019 年 7 月期间每月从南昌地区当地超市和农贸市场累进行采样。样品经 4 °C 冷增菌, 划线 CIN 平板分离后, 对可疑菌进行了生化鉴定。比较分析了不同采样场所、不同类型肉品以及不同采样时间小肠结肠炎耶尔森氏菌的检出情况。**结果** 采集的 480 份样品中小肠结肠炎耶尔森氏菌的平均检出率为 14.8%, 来自超市的样品中小肠结肠炎耶尔森氏菌的检出率高于农贸市场中的样品; 猪肉、牛肉和鸡肉样品的阳性检出率分别为 7.0%、18.8% 和 22.5%, 其中猪肉和牛肉样品中污染率最高的均为调理肉; 2018 年 12 月~2019 年 4 月采集的样品阳性检出率处在较高水平。**结论** 生鲜肉品中应重点关注整鸡、调理肉品中小肠结肠炎耶尔森氏菌污染风险, 气温较低或低温贮藏的肉品中小肠结肠炎耶尔森氏菌污染风险较高。

关键词: 肉品; 小肠结肠炎耶尔森氏菌; 污染

Analysis of *Yersinia enterocolitica* contamination in fresh meat in market in Nanchang city from 2018 to 2019

WU Xin*, ZHANG Zhi-Chao, LIU De, ZHU Ying-Fei, FAN Hong-Wei

(Jiangxi Food Inspection Testing Institute, Nanchang 330001, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the contamination of *Yersinia enterocolitica* in fresh meat in Nanchang from 2018 to 2019. **Methods** The main fresh meat products (pork, beef and chicken) sold in Nanchang city were selected as the research objects. From August 2018 to July 2019, samples were collected from local supermarkets and farmers' markets every month. The samples were separated by 4 °C cold enrichment and CIN plate, and biochemical identification of the suspected bacteria was performed. The detection rates of *Y. enterocolitica* in different sampling sites, different types of meat and different sampling time were compared. **Results** The average detection rate of *Y. enterocolitica* in 480 collected samples was 14.8%, and the detection rate of *Y. enterocolitica* in samples from supermarkets was higher than that in samples from farmers' markets. The positive detection rates of pork, beef and chicken samples were 7.0%, 18.8% and 22.5%, respectively. The highest pollution risk of pork and beef samples was from conditioned meat. The positive detection rate was at a high level from December 2018 to April 2019.

基金项目: 江西省市场监督管理局科技计划项目(GSJK201907)

Fund: Supported by Science and Technology Project of Jiangxi Administration for Market Regulation (GSJK201907)

*通讯作者: 吴鑫, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品卫生检验。E-mail: jxyjwx@163.com

*Corresponding author: WU Xin, Master, Associate Chief Technician, Jiangxi Food Inspection Testing Institute Nanchang 330001, China. E-mail: jxyjwx@163.com

Conclusion The risk of *Yersinia enterocolitica* contamination in whole chickens and conditioned meat should be paid more attention. The pollution risk of *Y. enterocolitica* was at a high level in meat stored in low temperature.

KEY WORDS: meat; *Yersinia enterocolitica*; contamination

1 引言

小肠结肠炎耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)属革兰氏阴性杆菌, 广泛分布于自然界中^[1]。该菌主要通过污染食品或水源, 经粪-口途径传播, 可引起发热、腹泻、小肠结肠炎, 甚至败血症等疾病, 是重要的人兽共患致病菌^[2,3]。小肠结肠炎耶尔森氏菌具有嗜冷特性, 能够在冷藏温度环境下生长繁殖, 甚至反复冻融保持较好活性^[4,5], 对冷链贮藏环节的食品卫生与安全问题带来较大隐患。

蔬菜、肉品、乳品和水产品等食品基质中常有小肠结肠炎耶尔森氏菌被检出的报道, 其中肉与肉制品和速冻食品是小肠结肠炎耶尔森氏菌污染的最主要的食品类型之一^[1,6-11]。较多研究表明, 肉制品中小肠结肠炎耶尔森氏菌的污染率在 2.1%~27.4%, 一些生食制品阳性检出率甚至超过 30%^[8,12]。目前, 小肠结肠炎耶尔森氏菌暂未纳入各类食品的微生物限量要求和日常食品安全抽检项目^[13], 因此小肠结肠炎耶尔森氏菌带来的潜在食品安全风险容易被忽视。且该菌在南昌各类食品中污染情况的研究鲜有报道。

为了更好地掌握小肠结肠炎耶尔森氏菌在一些高污染风险食品中的分布特征, 本研究以南昌市售的生鲜猪肉、牛肉和鸡肉为研究对象, 连续监测 1 年, 对搜集的 480 份样品进行了小肠结肠炎耶尔森氏菌污染情况分析, 以期更好地掌握该地区生鲜肉品中该菌的污染状况, 为预防和控制因该菌导致的食品安全问题提供参考。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

猪肉 200 份、牛肉 160 份和整鸡 120 份, 2018 年 8 月~2019 年 7 月购自 15 家农贸市场和 9 家超市。每个月随机从 1~2 家超市, 采集约 10 份样品, 从 3~4 家农贸市场, 采集约 30 份样品。采样地点分布在南昌市的西湖区、青云谱区、青山湖区、红谷滩新区和南昌县。

蛋白胨-山梨醇-胆汁肉汤(peptone sorbitol bile broth, PSBB, 上海西格玛奥德里奇贸易有限公司); 头孢噻肟-氯苯酚-新生霉素(ceftriaxone-irgasan-novobiocin, CIN)琼脂(美国赛默飞世尔科技有限公司); 尿素酶细菌微量生化鉴定管(北京陆桥生物技术有限公司), VITEK 2 革兰氏阴性菌鉴定卡(法国梅里埃生物公司); 小肠结肠炎耶尔森氏菌核酸检测预分装试剂盒(荧光 PCR 法, 深圳生科源生物股份有限公司)。

2.2 仪器与设备

ZXSD-A1430 生化培养箱(上海智城分析仪器制造有限公司); VITEK2 Compact 60 全自动微生物生化鉴定系统(法国梅里埃生物公司); CFX96 Touch 实时定量 PCR 仪(美国伯乐公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 样品采集

根据日常消费购买习惯, 选取市售的生猪肉、生牛肉和生鲜整鸡为采样对象, 每次采样时从单个摊位采集同种同类型样品最多 1 份, 每月采样 1 次, 采集 40 份样品(猪肉和牛肉 30 份, 整鸡 10 份), 连续采样 12 个月。样品采集后立即放入无菌采样袋中, 冷藏保存并运送回实验室检测。从采样到送达实验室检测的间隔时间不超过 2 h。

2.3.2 增菌

参照 ISO 14273:2017 中冷增菌流程^[14]并略作修改, 以无菌操作取 25 g 猪肉或牛肉样品放入含有 225 mL PSBB 培养基的均质袋中, 拍击式均质器均质 1 min。整鸡样品则按照 500 mL/kg 的量按比例加入 PSBB 培养基中, 充分揉搓漂洗 1 min, 取漂洗液增菌。所有样品增菌液于 4 °C 增菌 21 d。

2.3.3 增菌液碱处理和小肠结肠炎耶尔森氏菌选择性分离、鉴定

样品增菌后, 参照 ISO 14273:2017 方法^[14], 对增菌液进行碱处理, 取处理后的增菌液于 CIN 琼脂上进行划线分离, 并挑取可疑菌落进行尿素酶试验初步确证。尿素酶试验阳性的菌落经纯化后, 参照相应的仪器和试剂说明书进行 VITEK 2 上机和荧光 PCR 法 2 种方法鉴定。

3 结果与分析

3.1 不同肉品类别的样品中小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况

调查分析的不同生鲜肉中, 采集的猪肉和牛肉样品均涉及肉馅、肉块和预制调理肉 3 种类型, 鸡肉样品全部为整鸡。各种样品数量比例亦考虑了市场销售特点。由表 1 可知, 总体来看, 采集的 480 份样品中 *Y. enterocolitica* 的平均检出率为 14.8%。猪肉、牛肉和鸡肉样品中 *Y. enterocolitica* 的阳性检出率分别为 7.0%、18.8%和 22.5%, 鸡肉样品中 *Y. enterocolitica* 污染风险最高, 猪肉样品污染风险最低。从不同肉品状态来看, 猪肉馅和猪肉块中目标菌检出率偏低。调理猪肉中小肠结肠炎耶尔森氏菌的检出

率最高; 3 种不同状态的牛肉样品的阳性检出率均较高, 其中调理牛肉样品中小肠结肠炎耶尔森氏菌的检出率也最高, 达到 24.3%。

与本研究不同, 较多文献报道则认为猪肉产品中 *Y. enterocolitica* 污染风险比畜禽类都高, 应特别警惕^[8,15,16]。猪肉中阳性检出率最低这可能与鸡肉的采样地点和处理方式有关。Van 等^[15]认为猪作为耶尔森氏菌属主要载体, 最大的污染源为猪的舌咽部和肠道内容物。猪肉产品的风险主要来源于上述部位的污染, 因此不同结果的差异可能与采样当地市场屠宰销售环境和采样处理方式有关。本研究中 78.3%鸡肉样品来自农贸市场, 且为现场宰杀, 因此处理过程中各环节的交叉污染不可避免。与其他肉品不同, 整鸡样品采用的是漂洗增菌方式, 导致各身体部位的微生物污染风险均被综合考虑。调理肉是以生鲜肉为主要原料, 添加调味料和其他辅料制成的非即食类肉制品。无论是超市, 还是农贸市场多以冷藏或冻藏方式销售, 因此除了考虑更多的加工过程带来污染因素外, 低温贮藏也可能增加了 *Y. enterocolitica* 被检出风险。同时, *Y. enterocolitica* 的污染分布存在一定地域差异特征^[17], 也可能是造成不同肉品中该菌检出率差异的另一个原因。

3.2 不同采样场所的样品中小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况

考虑到农贸市场较多, 分布较广的特点, 为了保证采集的样品的代表性和全面性, 每个月从 1~2 家大、中型超市, 采集约 10 份样品, 从 3~4 家农贸市场, 采集约 30 份样品。检出结果如表 2 所示。导致超市中生鲜肉品中小肠结肠炎耶尔森氏菌的检出率可能有 2 点: (1)超市中销售的肉品中牛肉品牌丰富, 采集的样品中牛肉占 65.6%, 且各类型牛肉样品 *Y. enterocolitica* 检出率均处在较高水平; (2)超市中销售的生鲜肉品基本贮藏于冷柜中, 而 *Y.*

enterocolitica 为嗜冷菌, 冷/冻藏环境有利于该菌保持活性, 并在菌群中占据优势。采集于农贸市场中的样品结构较为均衡, 猪肉样品的阳性检出率较低, 导致农贸市场总体阳性检出率下降, 同时也和农贸市场生鲜肉冷/冻藏的肉品很少, 多为室温销售的环境有关。一些文献报道了不同冷冻冷藏食品中 *Y. enterocolitica* 的检出率均接近 20%, 与本研究结果接近^[12,16]。

3.3 不同采样时间的样品中小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况

对肉品中的小肠结肠炎耶尔森氏菌污染情况连续监测了 12 个月, 图 1 为肉品中 *Y. enterocolitica* 检出率和采样时天气温度随采样时间变化的情况。由图 1 可知, 整个监测期间, *Yersinia enterocolitica* 的阳性检出率总体呈先下降后上升, 再下降趋势, 其中 2018 年 11 月和 2019 年 6 月均未检出阳性样品, 2018 年 12 月~2019 年 4 月采集的样品中阳性检出率总体维持在较高水平, 其中 2019 年 3 月监测到样品中阳性检出率最高, 达到 42.5%, 来源于农贸市场的阳性样品占比高达 76.5%。同时, 从气温来看, 2018 年 12 月~2019 年 4 月期间采样的天气温度则处在最低水平阶段。考虑到每个月采集的样品结构和分布均类似, 这可能和采样气温关系更大。

目前, *Y. enterocolitica* 在食品中的流行现状和气温的关系的专门研究较少。然而, 一些关于 *Y. enterocolitica* 流行分布的地域性差异特征则间接支持了本研究结果, 例如 Liang 等^[18]认为我国北方屠宰场中猪的 *Y. enterocolitica* 污染率高于南方; 王鑫^[19]认为从天气寒冷的地区分离到的致病性 *Y. enterocolitica* 更多。气温影响和低温贮藏原理类似, 较低的气温更能保持 *Y. enterocolitica* 活性与菌群优势地位, 当采样气温高于 20 ℃时, 其他杂菌较多且污染水平较高, 干扰了样品中 *Y. enterocolitica* 被检出。

表 1 不同类型肉品中小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况比较
Table 1 Detection of *Y. enterocolitica* in different types of meat

肉品种类	肉品状态	样品数/份	阳性样品数/份	检出率/%	平均检出率/%
猪肉	肉馅	71	4	5.6	14.8
	肉块	112	8	7.1	
	调理肉	17	2	11.8	
	合计	200	14	7.0	
牛肉	肉馅	5	1	20.0	18.8
	肉块	85	12	14.1	
	调理肉	70	17	24.3	
	合计	160	30	18.8	
鸡肉	整鸡	120	27	22.5	

表 2 不同采样场所的小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况比较
Table 2 Detection of *Y. enterocolitica* in different sampling sites

采样场所	样品数/份	冷/冻藏样品数占比/%	阳性样品数/份	阳性检出率/%
超市	122	100	26	21.3
农贸市场	358	8.9	45	12.7

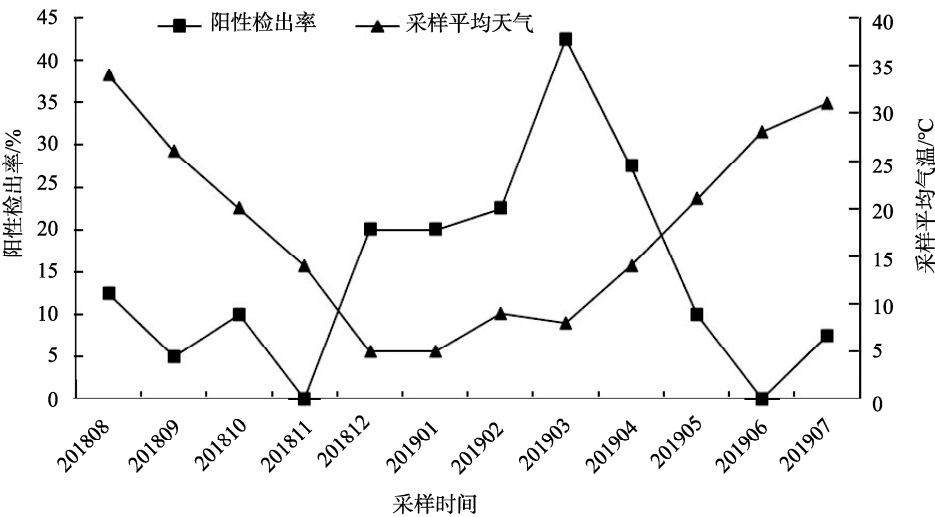


图 1 不同采样时间的小肠结肠炎耶尔森氏菌检出情况比较
Fig.1 Detection of *Y. enterocolitica* in different sampling time

4 结 论

调查的 480 份生鲜肉样品中, 鸡肉中 *Y. enterocolitica* 污染风险最高, 其次为牛肉, 猪肉中 *Y. enterocolitica* 污染风险最低。低温贮藏和较低的采样气温时生鲜肉食品中 *Y. enterocolitica* 被检出风险较高, 应重点关注整鸡、調理肉品中 *Y. enterocolitica* 污染风险。

参考文献

[1] Petsios S, Fredriksson-Ahomaa M, Sakkas H, et al. Conventional and molecular methods used in the detection and subtyping of *Yersinia enterocolitica* in food [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 237: 55–72.

[2] 中华预防医学会. 耶尔森菌诊断(T/CPMA 005-2019)[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(9): 1035–1043.

Chinese Preventive Medicine association. *Yersinia* diagnosis (T/CPMA 005-2019) [J] Chin J Epidemiol, 2019, 40(9): 1035–1043.

[3] Estrada CSML, Velázquez LDC, Favier GI, et al. Detection of *Yersinia*, spp. in meat products by enrichment culture, immunomagnetic separation and nested PCR [J]. Food Microbiol, 2012, 30(1): 157–163.

[4] 张彦春, 张爽, 杨杰, 等. 自腹泻病例和家用冰箱分离的小肠结肠炎耶尔森菌病原特征分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(6): 582–585.

Zhang YC, Zhang S, Yang J, et al. Pathogenic characteristics of *Yersinia enterocolitica* isolated from diarrhea cases and household refrigerators [J]. Chin J Food Hyg, 2018, 30(6): 582–585.

[5] Fredrikssonahomaa M. Isolation of enteropathogenic *Yersinia* from non-human sources [J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 954: 97–105.

[6] Liang J, Duan R, Xia S, et al. Ecology and geographic distribution of *Yersinia enterocolitica* among livestock and wildlife in China [J]. Vet Microbiol, 2015, 178(1–2): 125–131.

[7] Zixin P, Mingyuan Z, Menghan L, et al. Prevalence, antimicrobial resistance and phylogenetic characterization of, *Yersinia enterocolitica*, in retail poultry meat and swine feces in parts of China [J]. Food Control, 2018, 93: 121–128.

[8] Verbikova V, Borilova G, Babak V, et al. Prevalence, characterization and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinia* species found in fruits and vegetables from the European Union [J]. Food Control, 2018, 85: 161–167.

[9] 赵静, 王利, 邱翔, 等. 江黄颡鱼小肠结肠炎耶尔森氏菌的主要生物学特性研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2013, 39(1): 12–16.

Zhao J, Wang L, Qiu X, et al. The main biological characteristics of *Yersinia enterocolitica* from *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. J Southwest Univ National (Nat Sci Ed), 2013, 39(1): 12–16.

[10] Bonardi S, Guern ASL, Savin C, et al. Detection, virulence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* in bulk tank milk in Italy [J]. Int Dairy J, 2018, 84: 46–53.

[11] Hallanvuos S, Herranen M, Jaakkonen A, et al. Validation of EN ISO method 10273-Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in foods [J]. Int J Food Microbiol, 2019, 288: 66–74.

[12] 杨卫, 丁业荣, 常宏伟, 等. 冷冻冷藏食品小肠结肠炎耶尔森菌病原学

- 检测[J]. 中国公共卫生, 2017, 33(2): 338–341.
- Yang W, Ding YR, Chang HW, *et al.* Pathogenic detection of *Yersinia enterocolitica* in frozen and refrigerated food [J]. China Publ Health, 2017, 33(2): 338–341.
- [13] 国家市场监督管理总局. 2019 年食品安全监督抽检计划[EB/OL]. (2019-02-17). [2020-03-10]. http://gkml.samr.gov.cn/nsjg/bgt/201902/t20190217_289802.html.
- State Administration for Market Regulation. 2019 sampling inspection plan for food safety supervision [EB/OL]. (2019-02-17). [2020-03-10]. http://gkml.samr.gov.cn/nsjg/bgt/201902/t20190217_289802.html.
- [14] ISO10273: 2017. Microbiology of food and animal feeding stuffs: horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* [S].
- [15] Van DI, Berkvens D, Vanantwerpen G, *et al.* Contamination of freshly slaughtered pig carcasses with enteropathogenic *Yersinia* spp.: Distribution, quantification and identification of risk factors [J]. Int J Food Microbiol, 2015, 204: 33–40.
- [16] 胡惠娟, 吴清平, 张菊梅, 等. 食品中小肠结肠炎耶尔森菌污染调查和 ERIC-PCR 分型研究[J]. 现代食品科技, 2014, (6): 294–300.
- Hu HJ, Wu QP, Zhang JM, *et al.* The Contamination investigation and ERIC-PCR typing of *Yersinia enterocolitica* in foods [J]. Mod Food Sci Technol, 2014, (6): 294–300.
- [17] Liang J, Duan R, Xia S, *et al.* Ecology and geographic distribution of *Yersinia enterocolitica* among livestock and wildlife in China [J]. Veter Microbiol, 2015, 178(1–2): 125–131.
- [18] Liang J, Wang X, Xiao Y, *et al.* Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered in Chinese abattoirs [J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(8): 2949–2956.
- [19] 王鑫. 中国小肠结肠炎耶尔森菌分子流行病学研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2009.
- Wang X. Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitis* in China [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2009.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



吴 鑫, 硕士, 副主任技师, 主要研究方向为食品卫生检验。

E-mail: jxyjwx@163.com