

北京市朝阳区食物中毒相关金黄色葡萄球菌 病原学分析

郝 民, 王恒伟, 邵希凤, 田 甜, 宋衍燕*

(北京市朝阳区疾病预防控制中心, 北京 100021)

摘要: 目的 了解 2017 年北京市朝阳区 11 株食物中毒相关金黄色葡萄球菌耐药性、耐药基因、毒力基因及分子分型。**方法** 依据 GB 4789.10-2016 对甲、乙饭店留样食品、餐具及厨师手涂抹样品进行金黄色葡萄球菌分离鉴定; 荧光定量 PCR 法检测耐药基因 *mecA*、*vanA* 与毒力基因 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*; 纸片法与微量肉汤稀释法进行药物敏感性试验; 脉冲场凝胶电泳(pulsed field gel electrophoresis, PFGE)进行溯源分析。**结果** 甲、乙饭店留样食品、餐具涂抹及厨师手涂抹样品共检出 11 株金黄色葡萄球菌。耐药基因 *mecA*、*vanA* 与毒力基因 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see* 均未检出。检出菌株对青霉素 100% 耐药, 四环素、氯霉素耐药率分别为 27.3%、9.09%, 未发现耐甲氧西林金黄色葡萄球菌株。PFGE 分型显示, 甲饭店餐具涂抹菌株、手涂抹菌株及乙饭店所有菌株可为 3 种带型。**结论** 甲乙饭店分别为两起由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件, 皆为携带菌株的厨师污染餐具及食品引起, 菌株具有较高耐药性。

关键词: 食物中毒; 金黄色葡萄球菌; 耐药; 毒力基因; 脉冲场凝胶电泳

Etiological analysis of *Staphylococcus aureus* associated with food poisoning in Chaoyang district of Beijing

HAO Min, WANG Heng-Wei, SHAO Xi-Feng, TIAN Tian, SONG Yan-Yan*

(Chaoyang District Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100021, China)

ABSTRACT: Objective To understand the drug resistance, drug resistant gene, virulent gene and molecular typing of 11 food poisoning-related *Staphylococcus aureus* in Chaoyang district of Beijing in 2017. **Methods** The samples of residue food, tablewares and food processing staff's hands from restaurant A and B were collected for the isolation and identification of *Staphylococcus aureus* according to GB 4789.10-2016. The drug resistant genes *mecA*, *vanA* and virulent genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* were detected by real-time PCR. The drug sensitivity was tested by using K-B assay and broth microdilution according to the clinical and laboratory standard institute (CLSI). Pulse field gel electrophoresis (PFGE) was applied to the source-tracking of this food poisoning accident. **Results** Eleven strains of *Staphylococcus aureus* were detected in the samples of residue food, tablewares and food processing staff's hands in restaurant A and B. The drug resistant genes *mecA*, *vanA* and virulent genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* were not detected. The resistant rate to penicillin was 100%, tetracycline and chloramphenicol were 27.3% and 9.09%. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* was not found. PFGE typing results revealed that the strains isolated from tableware's in restaurants A, food processing staff's hands in restaurants A and all strains isolated from

*通讯作者: 宋衍燕, 副主任技师, 主要研究方向为食品安全与环境、公共场所检测。E-mail: songyanyancdc@163.com

*Corresponding author: SONG Yan-Yan, Associate Senior Technologist, State Key Laboratory of Food Science and Technology, Beijing 100021, China. E-mail: songyanyancdc@163.com

restaurants B were grouped into 3 groups. **Conclusion** The food poisoning in restaurants A and B were caused by different *Staphylococcus aureus* which carried by food processing staff contaminated tablewares and food. Those strains showed higher drug resistance.

KEY WORDS: food poisoning; *Staphylococcus aureus*; drug resistance; virulent gene; pulse field gel electrophoresis

1 引言

革兰氏阳性金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, SA), 属于葡萄球菌属, 无芽孢、鞭毛, 大多数无荚膜, 广泛分布于自然界, 如空气、水、土壤、饲料和一些物品上, 也存在于人和动物体表、鼻咽部及肠道^[1], 50%以上健康人皮肤表面存在葡萄球菌, 30%~80%的人群为该病原菌携带者^[2]。金黄色葡萄球菌是引起人类和动物化脓性感染的重要致病菌, 也是造成人类食物中毒的重要致病菌^[3,4]。它产生的肠毒素(staphylococcal enterotoxins, SEs)是一类结构相关、毒性相似、抗原性不同的外毒素, 包含 SEA、SEB、SEC、SED、SEE 等^[5,6]。有研究显示, 细菌性食物中毒事件主要致病因素为副溶血型弧菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌^[7,8]。2017年2月16日3人就餐于北京市某饭店与2月17日就餐于另一家饭店的3人均出现了呕吐、腹痛、腹泻症状, 本研究采集相关食品、餐具及厨师手涂抹, 并对样品进行食物中毒相关致病菌分离鉴定, 对分离到的金黄色葡萄球菌进行药物敏感性试验、耐药基因检测、毒力基因检测以及脉冲场凝胶电泳试验(pulse field gel electrophoresis, PFGE), 并对结果进行统计分析。通过对食物中毒事件分离菌株进行病原学检测, 了解其病原学特征并进行溯源, 以期找出食物中毒事件根本原因及其特征与发展规律, 为食物中毒事件防控提出科学有效方案。

2 材料与方法

2.1 样品

2017年2月17日, 北京市某两所饭店发生食物中毒事件, 采集留样食品6件、餐具涂抹10件、厨师手涂抹2件。

2.2 主要试剂

Baird-Parker(北京陆桥技术股份有限公司); 血平板(美国 Thermo 公司); MUELLER-HINTON AGAR(上海汉尼生物技术有限公司); Vitek GP 鉴定卡(生物梅里埃公司); 金黄色葡萄球菌 *mecA*、*vanA* 及 5 种肠毒素检测试剂盒(real-time PCR Taqman 探针法)(北京中瑞恒达科技有限公司); 头孢西丁药敏实验纸片(扩散法)(上海汉尼生物技术有限公司); 革兰氏阳性需氧菌药敏鉴定板(上海星佰生物有限公司); *Sma*I(日本 TaKaRa 公司); *Xba*I限制性内切酶(美

国 BioLabs 公司); SeaKem Gold Agarose(瑞士 Lonza 公司); GelRed(美国 BIOTIUM 公司)。

2.3 主要仪器

Vitek 2 Compact(法国生物梅里埃公司); ViiATM 7 Real-Time PCR System(美国赛默飞世尔科技公司); Bio-Rad Universal Hood II 自动凝胶成像仪、Bio-Rad CHEF MAPPERTM 脉冲场凝胶电泳系统(美国伯乐公司)。

2.4 实验方法

2.4.1 分离与鉴定

依据食品安全国家标准 GB 4789.10-2016《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》^[9]对采集样品进行金黄色葡萄球菌分离鉴定。

2.4.2 毒力基因和耐药基因检测

金黄色葡萄球菌毒力基因 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see* 与耐药基因 *mecA*、*vanA* 检测, 参照试剂盒金黄色葡萄球菌 *mecA*、*vanA* 及 5 种肠毒素检测试剂盒(real time PCR Taqman 探针法)说明书进行。

2.4.3 药物敏感性检测

依据美国临床和实验室标准协会(CLSI)颁布抗菌药物敏感性试验执行标准, 头孢西丁采用 K-B 纸片法, 质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC25923; 青霉素、氨苄西林、红霉素、克林霉素、环丙沙星、达托霉素、复方新诺敏、万古霉素、四环素、氯霉素、庆大霉素、头孢西丁与头孢唑林采用微量肉汤稀释法, 质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213。K-B 纸片法: 取新鲜菌苔制备的 0.5 麦氏浊度菌悬液均匀涂布于 M-H 琼脂平板, 无菌镊子夹取头孢西丁纸片置于 M-H 琼脂平板, 37 °C 培养 24 h 记录结果; 微量肉汤稀释法参照革兰氏阳性需氧菌药敏鉴定板说明书进行。

2.4.4 PFGE

(1)PFGE 实验

参考中国疾病预防控制中心 PulseNet China 网络实验室推荐的金黄色葡萄球菌 PFGE 标准操作方法对 11 株金黄色葡萄球菌进行 PFGE 分型。实验菌株选用 *Sma*I 限制性内切酶酶切, 200 μL 体系, 酶切 4 h。Marker 沙门氏菌 H9812 标准菌株选择 *Xba*I 限制性内切酶酶切, 其余参数与受试菌株相同。电泳条件: 起始脉冲时间(initial switch time): 4.0 s; 终止脉冲时间(final switch time): 40.0 s; 电压: 6 V; 脉冲夹角(included angle): 120°; 电泳时间: 19 h,

温度 14℃。电泳结束后,胶块置入 GelRed 染色 30 min, 纯水脱色 30 min, 自动凝胶成像仪观察结果。

(2) 聚类分析

PFGE 图像导入 BioNumerics 软件进行处理, 选择 Dice 相关系数和 UPGMA 方法, 条带位置差异容许度 (tolerance) 设置为 1.5%。

3 结果与分析

3.1 菌株

北京市某甲饭店食物中毒事件采集餐具、厨师手涂抹样品分别分离到 2 株、1 株金黄色葡萄球菌; 某乙饭店食物中毒事件采集留样食品、餐具涂抹及厨师手涂抹样品分别分离到 5 株、2 株、1 株金黄色葡萄球菌(表 1)。

3.2 毒力基因和耐药基因检测

11 株金黄色葡萄球菌 *sea*、*seb*、*sec*、*sed*、*see*、*mecA*、*vanA* 均阴性。

3.3 药物敏感性检测

11 株金黄色葡萄球菌对青霉素 100% 耐药, 四环素、氯霉素耐药率为 27.3%、9.09%; 对其它抗生素均无耐药现象, 两种及以上的抗生素耐药率为 27.3%, 多重耐药菌率为 9.09%(表 2)。

3.4 PFGE 结果

11 株金黄色葡萄球菌使用 *Sma*I 限制性内切酶酶切后, 对 PFGE 结果用 Bio Numerics 软件进行聚类分析。按照 100% 相似度, 可分为 3 种带型: 甲饭店的分离菌株与乙饭

店分离株为两种带型, 相似度为 77%; 甲饭店餐具涂抹分离菌株与厨师手涂抹分离菌株仅有一个条带差异, 相似度为 93%; 乙饭店分离株均为同一带型(图 1)。

表 1 金黄色葡萄球菌检出情况
Table 1 General data of *Staphylococcus aureus* in this study

样本名称	菌株
甲饭店案板涂抹	未检出金黄色葡萄球菌
甲饭店刀涂抹	检出金黄色葡萄球菌甲-1
甲饭店分餐勺(肉)涂抹	检出金黄色葡萄球菌甲-2
甲饭店分餐勺(米饭)涂抹	未检出金黄色葡萄球菌
甲饭店碗涂抹	未检出金黄色葡萄球菌
甲饭店厨师手涂抹	检出金黄色葡萄球菌甲-3
乙饭店三文鱼	检出金黄色葡萄球菌乙-1
乙饭店北极贝	检出金黄色葡萄球菌乙-2
乙饭店甜虾	检出金黄色葡萄球菌乙-3
乙饭店萝卜丝	检出金黄色葡萄球菌乙-4
乙饭店冰	检出金黄色葡萄球菌乙-5
乙饭店田园沙拉	未检出金黄色葡萄球菌
乙饭店案板涂抹	检出金黄色葡萄球菌乙-6
乙饭店刀 1 涂抹	未检出金黄色葡萄球菌
乙饭店刀 2 涂抹	未检出金黄色葡萄球菌
乙饭店冰铲涂抹	未检出金黄色葡萄球菌
乙饭店盛菜盘涂抹	检出金黄色葡萄球菌乙-7
乙饭店厨师手涂抹	检出金黄色葡萄球菌乙-8

表 2 金黄色葡萄球菌药物敏感实验结果
Table 2 Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolates tested in this study

	青霉素	苯唑西林	红霉素	克林霉素	环丙沙星	达托霉素	复方 新诺敏	万古霉素	四环素	氯霉素	庆大霉素	头孢西丁	头孢唑林	红霉素/ 克林霉素
甲-1	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
甲-2	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
甲-3	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
乙-1	R	S	I	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-2	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-3	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-4	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-5	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-6	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-7	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
乙-8	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

注: R: 耐药; S: 敏感; I: 中介。

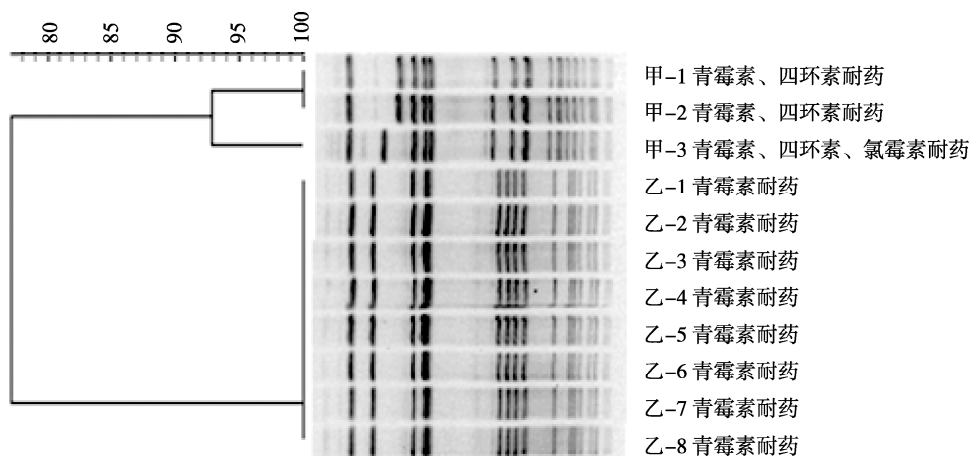


图 1 金黄色葡萄球菌 PFGE 指纹图谱聚类图

Fig.1 Clustering of pulsed-field gel electrophoresis-based fingerprint of *Staphylococcus aureus*

4 结 论

欧洲食品安全局报告显示, 仅 2013 年欧洲由葡萄球菌属引起的食源性疾病事件就高达 386 件, 占欧盟各国所报道疫情总数的 7.4%, 其中多数事件是由金黄色葡萄球菌引起^[10]。据美国疾病控制与预防中心报告, 每年美国平均发生约 240000 起葡萄球菌性食物中毒事件, 造成约 1000 人住院治疗, 甚至出现中毒人员死亡情况^[11]。国内葡萄球菌性食物中毒事件也占有一定比例。根据突发公共卫生事件报告管理信息系统数据, 2017 年我国细菌性食物中毒事件 110 件, 中毒总人数 4256 人, 其中金黄色葡萄球菌引起事件占比为 20%^[7]。金黄色葡萄球菌引起的食物中毒中, 由细菌及其肠毒素引起比例分别为 5%、95%^[12]。由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒潜伏期长, 以腹泻为主; 由肠毒素引起的食物中毒潜伏期短、起病急剧, 先恶心, 后反复呕吐^[4], 腹泻较轻。有文献报道, 30%左右金黄色葡萄球菌未检测到肠毒素^[12]。本研究中分离到的金黄色葡萄球菌肠毒素 SEA、SEB、SEC、SED、SEE 均为阴性, 所有样品均未分离到沙门氏菌、副溶血型弧菌弧菌、变形杆菌、蜡样芽孢杆菌、致泻性大肠埃希氏菌、志贺氏菌、单核细胞增生李斯特菌等其他致病菌, 根据流行病学调查和实验室病原学诊断, 定性为由金黄色葡萄球菌引起的两起食物中毒。本次事件留样食品、餐具涂抹样品及厨师手涂抹样品金黄色葡萄球菌分离率分别为 83.3%、40%与 100%。由于甲饭店留样食品管理不规范, 导致未采集到留样食品影响了菌株分离鉴定。

由于广谱高效抗菌药物尤其第三代头孢菌素在临床治疗及养殖业的广泛应用, 大量耐药菌株尤其多重耐药菌株的出现引起了高度重视。本研究中的 11 株金黄

色葡萄球菌: 青霉素耐药率为 100%, 四环素、氯霉素耐药率为 27.3%、9.09%; 两种以上抗生素的耐药率为 27.3%; 未发现耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)。耐药基因 *mecA*、*vanA* 的结果与头孢西丁、万古霉素的药敏检测结果一致。金黄色葡萄球菌青霉素完全耐药, 高于文献报道金黄色葡萄球菌食品分离株耐药率 70%~93%^[3,5,6,13], 可能与本研究菌株数量有限有关。另一方面, 青霉素结合蛋白突变是导致菌株对 β -内酰胺类抗菌药物耐药的主要原因^[14]。四环素为常用兽用抗生素, 吸收率低、约 30%~90% 抗生素以原性通过排泄物排出, 其抗生素耐药可通过动物到人群的直接接触及食物链方式传播到人群^[15]。此外, PFGE 分型仅有一条带差异的菌株, 存在氯霉素耐药差异, 提示此核酸片段存在氯霉素乙酰转移酶基因或外排泵基因^[16]。

具有重复性好、分辨力强特点的 PFGE 被誉为细菌分子生物学分型技术的“金标准”, 被广泛用于分子流行病学研究, 分析菌种间相关性、协助追踪感染来源^[17]。本研究中 11 株金黄色葡萄球菌的 PFGE 酶切条带经过聚类分析后可分为 3 种带型。根据 Tenover 等^[18]及 Fred 等^[19]提出的菌株同源性判断标准: 甲、乙饭店分离株分别具有同源性, 甲、乙饭店应为两起食物中毒事件, 可能由携带金黄色葡萄球菌的厨师操作不当, 污染了餐具与食品引起的。因此, 为预防金黄色葡萄球菌食物中毒, 一方面应加强食品加工相关人员健康管理, 定期健康体检, 带菌者暂停工作或调换岗位; 第二方面加强餐饮单位重点环节内部管理, 功能区域合理布局, 生熟食品分开储存、加工场所彻底清洗消毒, 加工过程严格遵守餐饮卫生规范; 第三方面严格遵循食品留样制度, 足量、专人管理留样食品。加强对《食品卫生法》和《食品卫生规范》的学习。

参考文献

- [1] 李毅. 金黄色葡萄球菌及其肠毒素研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(4): 392–395.
Li Y. Advancement in researches of *Staphylococcus aureus* and its enterotoxin [J]. Chin J Health Lab Technol, 2004, 14(4): 392–395.
- [2] Atanassova V, Meindl A, Ring C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal enterotoxins* in raw pork and uncooked smoked ham—a comparison of classical culturing detection and RELP-PCR [J]. Int J Food Microbiol, 2001, 68(1–2): 105–113.
- [3] 张健, 陈惠玲, 邓志爱, 等. 广州市食源性金黄色葡萄球菌肠毒素及耐药分析[J]. 实用预防医学, 2018, 25(4): 398–400.
Zhang J, Chen HL, Deng ZA, et al. Enterotoxins and drug resistance of foodborne *Staphylococcus aureus* in Guangzhou city [J]. Pract Prev Med, 2018, 25(4): 398–400.
- [4] 蓝晨菲. 金黄色葡萄球菌肠毒素在食源性微生物中的研究进展[J]. 养生保健指南, 2018, (27): 6, 35.
Lan CF. Development of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food-borne bacteria [J]. Health Guide, 2018, (27): 6, 35.
- [5] 张严峻, 王志刚, 程苏云, 等. 金黄色葡萄球菌食品和病人分离株肠毒素基因和耐药性比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 33–35.
Zhang YJ, Wang ZG, Cheng SY, et al. Distribution of enterotoxin gene and drug resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from patients and food samples [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(1): 33–35.
- [6] 汪永禄, 张萍, 陶勇, 等. 不同来源金黄色葡萄球菌肠毒素及耐药性检测分析[J]. 实用预防医学, 2014, 21(4): 488–491.
Wang YL, Zhang P, Tao Y, et al. Analysis on enterotoxin and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from different sources [J]. Pract Prev Med, 2014, 21(4): 488–491.
- [7] 王霄晔, 任婧寰, 王哲, 等. 2017 年全国食物中毒事件流行特征分析[J]. 疾病监测, 2018, 33(5): 359–364.
Wang XY, Ren JH, Wang Z, et al. Epidemiological characteristics of food poisoning events in China, 2017 [J]. Dis Surveill, 2018, 33(5): 359–364.
- [8] 付萍, 刘志涛, 梁骏华, 等. 2014 年中国大陆食源性疾病暴发事件监测资料分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(6): 628–634.
Fu P, Liu ZT, Liang JH, et al. Analysis of foodborne disease outbreaks in mainland China in 2014 [J]. Chin J Food Hyg, 2018, 30(6): 628–634.
- [9] GB 4789. 10–2016 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].
GB 4789. 10–2016 National food safety standard—Food microbiology inspection—*Staphylococcus aureus* test [S].
- [10] Authority EFS. The European Union summary report on trends and sources of zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2003 [J]. EFSA J, 2015, 13(1): 3391.
- [11] Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens [J]. Emerging Infect Dis, 2011, 17: 7–15.
- [12] 向红, 周葵, 廖春, 等. 金黄色葡萄球菌及其引起的食物中毒的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(2): 196–199.
Xiang H, Zhou L, Liao C, et al. Progress of *Staphylococcus aureus* and food poisoning [J]. Chin J Food Hyg, 2015, 27(2): 196–199.
- [13] 张兰荣, 王连秀, 张文利. 食品中金黄色葡萄球菌的污染状况及耐药性分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(1): 35–36.
Zhang LR, Wang LX, Zhang WL. Contamination and drug resistance of *Staphylococcus aureus* in food [J]. Chin J Food Hyg, 2004, 16(1): 35–36.
- [14] 蒋景华, 陈文光, 章泽豹, 等. 金黄色葡萄球菌耐药的现状及临床治疗对策[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(10): 1292–1293.
Jiang JH, Chen WG, Zhang ZB, et al. Drug resistance of *Staphylococcus aureus*: Current situation and clinically therapeutic countermeasures [J]. Chin J Nosocomiol, 2007, 17(10): 1292–1293.
- [15] 王斌, 周颖, 姜庆五. 环境中抗生素污染及对人群健康的影响[J]. 中华预防医学杂志, 2014, 48(6): 540–544.
Wang B, Zhou Y, Jiang QW. Antibiotic contaminate in the environment and its impact on human health [J]. Chin J Prev Med, 2014, 48(6): 540–544.
- [16] 孙明姣. 北京地区儿童 MRSA 感染分离株抗生素敏感性及其耐药基因的检测[C]. 2012 年中华医学会全国临床微生物学术交流大会论文集, 2012: 184–186.
Sun MJ. Detection of antibiotic sensitivity and resistance genes of MRSA isolates from children in Beijing [C]. The collection of essays in National Clinical Microbiology academic exchange conference, China Medical Association, 2012: 184–186.
- [17] 王丽丽, 徐建国. 脉冲场凝胶电泳技术(PFGE)在分子分型中的应用现状[J]. 疾病监测, 2006, 21(5): 276–279.
Wang LL, Xu JG. Application of pulsed field gel electrophoresis (PFGE) in molecular typing [J]. Dis Surveill, 2006, 21(5): 276–279.
- [18] Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing [J]. J Clin Microbiol, 1995, 33: 2233–2239.
- [19] Talon D, cailleaux V, Thouvez M, et al. Discriminatory power and usefulness of pulsed-field gel electrophoresis in epidemiological studies of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Hop Infection, 1996, 32: 135–145.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介

郝 民, 主管技师, 主要研究方向为
食品安全与环境、公共场所检测。
E-mail: shandonghaomin@126.com

宋衍燕, 副主任技师, 主要研究方向为
食品安全与环境、公共场所检测。
E-mail: songyanyancdc@163.com