

# 一起由沙门氏菌和金黄色葡萄球菌混合引起的 食物中毒病原分析

骆业巧\*, 王 进, 司 波

(宿迁市产品质量监督检验所, 宿迁 223800)

**摘 要:** **目的** 对引起食物中毒相关样品进行病原菌的分离、鉴定和耐药分析。**方法** 参照 GB 4789 系列标准的方法流程对采集的食物样本进行沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌、副溶血弧菌和单核细胞增生李斯特氏菌共 5 项致病菌指标检测, 按照纸片扩散法(K-B 法)进行药敏实验。**结果** 从食物中毒样品中检出肠炎沙门氏菌、金黄色葡萄球菌, 确定为二者混合感染引起的食物中毒。药敏结果显示肠炎沙门氏菌对多数抗生素敏感, 金黄色葡萄球菌耐药性强, 对链霉素、头孢噻肟、氯霉素、红霉素有一定的耐药性。**结论** 本起事件是由肠炎沙门氏菌和金黄色葡萄球菌混合感染引起的食物中毒事件, 建议食品卫生监管人员应加强对餐饮环节的监督引导, 避免类似事件发生。

**关键词:** 肠炎沙门氏菌; 金黄色葡萄球菌; 食物中毒; 耐药

## Pathogen analysis of a food poisoning event caused by *Salmonella* sp. and *Staphylococcus aureus*

LUO Ye-Qiao\*, WANG Jin, SI Bo

(Suqian Product Quality Supervision and Testing Institution, Suqian 223800, China)

**ABSTRACT: Objective** To carry out isolation, identification and drug resistance analysis of pathogenic bacteria in food poisoning related samples **Methods** The collected food samples were tested for *salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* according to GB 4789 series standard methods and procedures. The antibiotic sensitivity of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* were detected by Kirby-Bauer (K-B) method. **Results** *Salmonella enteritidis* and *Salmonella aureus* were detected in food samples, and it was confirmed that the food poisoning was caused by mixed infection of the two bacteria. The drug susceptibility results showed that *Salmonella enteritidis* was sensitive to most antibiotics, and *Staphylococcus aureus* was resistant to streptomycin, cefotaxime, chloramphenicol and erythromycin. **Conclusion** This event is a food poisoning incident caused by the mixed infection of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella aureus*. It is suggested that food hygiene supervisors should strengthen the supervision and guidance of catering links, and strengthen the safety awareness training of catering staff, to avoid similar incidents.

**KEY WORDS:** *Salmonella enteritidis*; *Staphylococcus aureus*; food poisoning; drug resistance

\*通讯作者: 骆业巧, 硕士, 工程师, 主要研究方向为微生物实验室的日常检验和管理。E-mail: 651996148@qq.com

\*Corresponding author: LUO Ye-Qiao, Master, Engineer, Suqian Product Quality Supervision and Testing Institution, National Liquor Quality Inspection Center, Suqian 223800, China. E-mail: 651996148@qq.com

## 1 引言

沙门氏菌(*Salmonella* sp.)属于肠杆菌科革兰氏阴性菌,是食品、水源及畜产品的重要污染菌,最常见的来源是动物来源的食物,如鸡蛋、肉类等受污染的食品,是引起食源性疾病的重要致病菌之一<sup>[1]</sup>。在我国,每年由沙门氏菌引起的食物中毒人次超 300 万之多<sup>[2]</sup>,其中由鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)和肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)引发的食物中毒事件最多<sup>[3]</sup>。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)是革兰氏阳性葡萄球菌属,能够在高盐、干燥的环境下生存,这一特性有利于其在食物中生存<sup>[4]</sup>。金黄色葡萄球菌的致病性并不是通过菌体自身,致病力强弱主要取决于其产生的毒素和侵袭性酶。金黄色葡萄球菌产生的肠毒素(staphylococcal enterotoxins, SEs)也会污染食品,引起食物中毒<sup>[5,6]</sup>。沙门氏菌和金黄色葡萄球菌二者作为重要的食源性致病菌,它们广泛分布于自然界,均可引起以呕吐、腹痛、腹泻、食欲不振等急性消化道症状的食物中毒<sup>[7-9]</sup>。

2020 年 3 月本市某公司食堂发生一起食物中毒事件。在食堂就餐后共有 24 名职工陆续出现呕吐、腹痛、腹泻等典型的食物中毒症状。根据调查从就餐到出现食物中毒症状,最短潜伏期为 2 h,最长潜伏期为 5.1 h,平均潜伏期为 3.9 h,为查明引起食物中毒的原因,帮助该公司排查引发食物中毒的原因,接到报告后实验人员立即前往采集当天该公司食堂剩余饭菜进行微生物学检测,以期通过对人员调查查找、分析致病环节,找到主要的致病因素,提供确实有效的防控措施和建议,防止类似事件再次发生。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

#### 2.1.1 仪器

VITEKII 全自动微生物生化鉴定仪(法国梅里埃公司); Yamato SQ 810c 高压灭菌锅(日本 Yamato 公司); BX 53 奥林巴斯显微镜(日本奥林巴斯公司); DRP 9272 型生化培养箱(上海森信公司)。

#### 2.1.2 试剂

缓冲蛋白胨水、HE 琼脂、BS 琼脂、7.5%氯化钠肉汤、Barid-parker 平板、冻干血浆、水解酪蛋白胨琼脂、脑心浸液肉汤等培养基等(广东环凯微生物科技有限公司); 沙门氏菌血清(宁波天润生药业有限公司); 药敏纸片(国家抗菌药物细菌耐药性检测中心); GN、GP 卡(生物梅里埃美国股份有限公司)。

#### 2.1.3 标准菌株

表皮葡萄球菌 [*Staphylococcus epidermidis*, (CMCC(B)26069)]、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*, ATCC 25922)(广东省食品微生物安全技术研发中心,菌种保

藏中心)。

### 2.2 样本来源

按照无菌采样方式采集该食堂当天供应的剩余食品 15 种,放置于无菌采样袋中,保存于冷藏箱中。对采集的可疑食品带回后当天立即进行检测。

### 2.3 数据处理与统计分析

使用统计软件 SPSS 21.0 对 24 名病例和随机抽取未发病的 17 名共同就餐者进食的食物进行统计分析。根据病例对照研究计算卡方值,分析食品与发病的关联性<sup>[10,11]</sup>。

### 2.4 实验室检测分析

#### 2.4.1 病原菌株的分离鉴定

参照 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》<sup>[12]</sup>、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》<sup>[13]</sup>、GB 4789.5-2012《食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验》<sup>[14]</sup>、GB 4789.7-2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验》<sup>[15]</sup>、GB 4789.30-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验》<sup>[16]</sup>的方法流程对采集的食物样本进行沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌、副溶血弧菌和单核细胞增生李斯特氏菌共 5 项致病菌指标检测。将采集的食物在相应的增菌液中进行增菌培养,挑取增菌培养物划线接种于选择性平板上,观察菌落形态。挑取选择性平板上的可疑菌落进行生化实验。

挑取生化实验可疑菌落涂片固定,经革兰氏染色后镜检观察。

挑取生化实验后的可疑菌落进行血清学鉴定。

#### 2.4.2 分离菌株的药敏实验

药敏实验方法采用的是纸片扩散法(K-B 法)进行药敏实验<sup>[17]</sup>。该方法原理是通过抑菌圈的大小来反应测试菌株对特定药物的敏感程度,一般抑菌圈越大,测试菌株的最低抑菌浓度越小。根据药敏纸片说明书方法从营养琼脂平板挑取纯培养菌株制成 0.5 麦氏单位菌悬液,使其含菌量在  $10^8$  CFU/mL 左右。吸取 0.5 mL 上述菌悬液于 MH 琼脂平皿上,用无菌棉拭子涂布均匀至琼脂边缘。置室温下 10 min 后用无菌镊子取药敏纸片,使用其平贴于平板表面。90 cm 直径的平板适贴 5 张药敏纸片,纸片间距约 25 mm,据平板边缘不小于 15 mm。最后将贴好纸片的平板置于 36 °C 条件下培养 24 h,用游标卡尺量取抑菌圈直径。本次药敏实验以大肠埃希氏菌、表皮葡萄球菌标准菌株作为质控对照。

## 3 结果与分析

### 3.1 统计分析结果

运用卡方统计方法对 24 名病例和随机抽取未发病的 17

名共同就餐者进食的食物进行统计分析,采集的 15 种剩余食物中土提示豆鸡块、鸭肉、豆皮包肉、凉拌黄瓜这 4 组食物的  $P$  值 $<0.05$ ,有显著统计学意义(见表 1)。按  $\alpha=0.05$  水准,可

认为 2 组人员是否发生食物中毒在食用食物种类有明显不同,同时结合食堂人员讲述这 4 种食物在制作与传递过程中存在污染的可能性,是引起本次食物中毒事件的主要原因。

表 1 食物中毒可疑食物统计分析表  
Table 1 Statistical analysis of suspected food with food poisoning

食物名称	病例( $n=24$ )		未发病共同进餐人员( $n=17$ )		P 值
	食用人数	未食用人数	食用人数	未食用人数	
土豆鸡块	23	1	7	10	$<0.001$
鸭肉	21	3	5	10	$<0.001$
豆皮包肉	19	5	3	14	$<0.001$
凉拌黄瓜	21	3	4	13	$<0.001$

### 3.2 菌落形态及特征

在土豆鸡块、鸭肉、豆皮包肉、凉拌黄瓜这 4 种食物中分离到 16 株可疑菌,可疑菌革兰氏染色结果为杆状的革兰氏阴性菌和葡萄球状的革兰氏阳性菌(见图 1)。

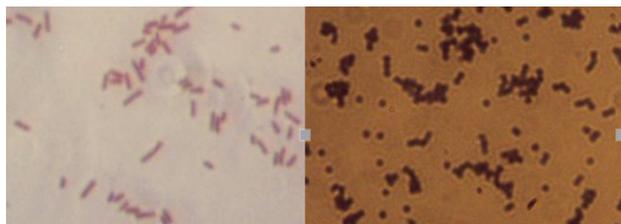


图 1 可疑菌落革兰氏染色结果

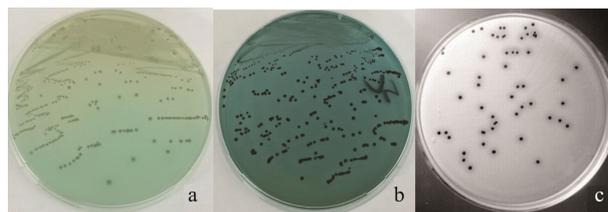
Fig.1 Gram staining results of suspicious colonies

纯化的革兰氏阴性菌在选择性平板 BS 琼脂平板、HE 琼脂平板,纯化的革兰氏阳性可疑菌在选择性平板 Baird-Parker 琼脂平板上典型菌落形态见图 2。

### 3.3 分离菌株的生化鉴定结果

上述可疑菌生化实验结果:分离纯化的杆状革兰氏阴性菌株,三糖铁琼脂生化反应为斜面产碱、底层产酸、产气、产硫化氢。半固体琼脂中能沿穿刺线扩散生长,有鞭毛动力。梅里埃全自动微生物生化鉴定仪 VITEKII 鉴定结果为:沙门氏菌(99% probability)、可信度:非常可信。血清学实验结果为(1, 9, 12; g, m)。结合生化实验及血清学实验结果,确定该菌为肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritis*)。分离纯化的葡萄球状革兰氏阳性菌株,梅里埃全自动微生物生化鉴定仪 VITEKII 鉴定结果为金黄色葡萄球菌(96% probability)、可信度:非常可信。接种血

浆凝固酶后约 4 h 左右发生凝集,根据菌落特征及生化实验结果判定为金黄色葡萄球菌。沙门氏菌和金黄色葡萄球菌生化反应结果见表 2。经过检验确定土豆鸡块、鸭肉中检出肠炎沙门氏菌,豆皮包肉中检出金黄色葡萄球菌,凉拌黄瓜中同时检出肠炎沙门氏菌和金黄色葡萄球菌。



注: a: BS 平板上的典型菌落呈灰绿色,光滑圆形,菌落大小 1~2 mm;  
b: HE 平板上的典型菌落呈蓝绿色,带有黑色中心,光滑圆形,菌落大小 1~2 mm;  
c: Baird-Parker 平板上的典型菌落呈黑色圆形凸起、菌落周围有浅色边缘浅周围带有不透明圈,外有一圈清晰带,菌落大小 2~3 mm。

图 2 不同选择性琼脂平板上的菌落特征

Fig.2 Colony characteristics on different agar plates

### 3.4 药敏实验结果

抑菌圈大小以抑菌圈边缘肉眼见不到细菌生长为限。为方便测量可以用游标卡尺从平板背面测量抑菌圈直径。根据各抗菌药物纸片说明判定实验结果:本次从食物中毒样品中分离到的肠炎沙门氏菌对多数抗生素敏感,金黄色葡萄球菌耐药性较强,对链霉素、头孢噻肟、氯霉素、红霉素有一定的耐药性(见表 3)。

表 2 可疑菌落生化实验结果  
Table 2 Biochemical test results of suspicious colonies

项目	赖氨酸脱羧酶	尿素酶	$\beta$ -半乳糖苷酶	蔗糖	葡萄糖	硫化氢	阿拉伯醇	山梨醇	甘露醇	鸟氨酸脱羧酶	丙二酸盐	乳酸盐产碱
沙门氏菌	+	—	—	—	+	+	—	+	+	+	—	+
项目	磷脂酰磷脂酶	麦芽糖	$\beta$ -半乳糖苷酶	蔗糖	木糖	环式糊精(	磷酸酶	山梨醇	甘露醇	精氨酸双水解酶	6.5%NaCl 生长	乳酸盐产碱
金黄色葡萄球菌	+	+	—	+	—	—	+	—	+	+	+	+

注：“+”：阳性反应；“—”：阴性反应。

表 3 肠炎沙门氏菌和金黄色葡萄球菌药敏实验结果  
Table 3 Susceptibility test results of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus*

药物	肠炎沙门氏菌 ( <i>Salmonella enteritidis</i> ) 抑菌圈直径/mm	金黄色葡萄球菌 ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) 抑菌圈直径/mm	大肠埃希氏菌 ( <i>Escherichia coli</i> ) 抑菌圈直径/mm	表皮葡萄球菌 ( <i>Staphylococcus epidermidis</i> ) 抑菌圈直径/mm
丙氟哌酸	24.78	25.11	32.20	31.18
阿米卡星	21.62	28.11	22.59	30.02
卡那霉素	22.41	23.57	24.26	22.89
链霉素	21.50	19.22	22.81	21.33
头孢噻肟	23.56	16.57	26.50	20.14
氯霉素	20.86	17.33	22.99	19.79
硫酸庆大霉素	29.32	27.11	31.16	29.30
红霉素	21.26	15.23	23.30	19.77
万古霉素	24.56	26.54	29.30	28.77
氨苄西林	21.60	22.13	22.10	24.19
四环素	16.20	21.55	19.77	22.15

## 4 结 论

目前食源性致病微生物是引发食物中毒等食源性疾病的主要元凶<sup>[18,19]</sup>。在我国沙门氏菌引起的食物中毒占据首位，其中肠炎沙门氏菌检出率较高<sup>[20-22]</sup>。沙门氏菌一般以污染肉及肉制品为主，高发期在夏季，夏季气温高，食物容易因储存不当、加热不完全、加工过程交叉污染等情况引发食物中毒。金黄色葡萄球菌适应力强、极易在环境中生存，当受污染食品在适宜条件下，金黄色葡萄球菌就可产生足量的肠毒素造成食物中毒并且可以通过多种方式和途径污染食物。本次食物中毒事件检测结果发现食物中毒人员食用了受到肠炎沙门氏菌和金黄色葡萄球菌污染的食物所致。凉拌黄瓜中检测沙门氏菌和金黄色葡萄球菌可初步判定工作人员卫生安全意识较差，存在容器存在生熟混用、容器消毒不规范等问题。为预防类似事件再次发生，

食品卫生监管人员应加强对餐饮环节的监督引导工作，加强对餐饮从业人员安全意识培训、改变不良工作习惯，提高餐饮从业人员综合素质。

细菌耐药性的产生与抗生素的使用息息相关，尽量减少抗生素的使用对细菌耐药性的产生具有重要意义<sup>[23]</sup>。药敏实验发现分离得到的肠炎沙门氏菌对大部分抗生素敏感，而金黄色葡萄球菌具有一定的耐药性。药敏实验结果能帮组医务工作人员在抗生素的选择和使用上提供参考，形成更好的治疗方案。

## 参考文献

- [1] Djebbi-Simmons D, Xu W, Janes M, et al. Survival and inactivation of *Salmonella enterica* serovar typhimurium on food contact surfaces during log, stationary and long-term stationary phases [J]. Food Microbiol, 2019, 84: UNSP 103272.
- [2] Wang L, Huo X, Qi W, et al. Rapid and sensitive detection of *Salmonella*

- typhimurium* using nickel nanowire bridge for electrochemical impedance amplification [J]. *Talanta*, 2020, 211: 120715.
- [3] Howe K, Salehi S, Bailey RH, *et al.* Supplemental invasion of *Salmonella* from the perspective of *Salmonella enterica* serovars kentucky and *Typhimurium* [J]. *BMC Microbiol*, 2017, 17: 88.
- [4] 藏程琳. 沙门氏菌快速检测方法构建及致病菌共增菌培养基的研制 [D]. 长春: 吉林大学, 2020.  
Zang CL. Construction of rapid detection method for *Salmonella* and development of co-proliferative culture medium for *Pathogenic* bacteria [D]. Changchun: Jilin University, 2020.
- [5] 吴南卫, 朱兰兰, 尹江源, 等. 一起由产 A 型肠道毒素金黄色葡萄球菌引起的食物中毒实验室分析[J]. *海南医学*, 2019, 30(8): 1047-1049.  
Wu NW, Zhu LL, Yin JY, *et al.* Laboratory analysis of a food poisoning case caused by *Staphylococcus aureus* producing enterotoxin A [J]. *Hainan Med*, 2019, 30(8): 1047-1049.
- [6] 李彦娟, 赵喜红, 徐泽智, 等. 金黄色葡萄球菌引起食物中毒的作用机制与其耐药性的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(14): 2786-2792.  
Li YM, Zhao XH, Xu ZZ, *et al.* Development of *Staphylococcus aureus* in both food-borne pathogen and antibiotic resistance [J]. *Prog Mod Biomed*, 2011, 11(14): 2786-2792.
- [7] 张金华, 王桂红. 一起由都柏林沙门氏菌引起食物中毒的调查分析[J]. *东南大学学报*, 2013, 32(1): 29-31.  
Zhang JH, Wang GH. Investigation and analysis of a food poisoning caused by *Salmonella dublin* [J]. *J South Univ Med Sci*, 2013, 32(1): 29-31.
- [8] 向红, 周黎, 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.* Research progress of *Staphylococcus aureus* and its food poisoning [J]. *China J Food Hyg*, 2015, 27(2): 196-199.
- [9] 周莉, 王永, 王法云, 等. 食品中金黄色葡萄球菌概况及新型检测技术研究进展[J]. *中国酿造*, 2016, 35(2): 1-4.  
Zhou L, Wang Y, Wang FY, *et al.* Recent advance of general situation and novel detection technologies of *Staphylococcus aureus* in food [J]. *China Brew*, 2016, 35(2): 1-4.
- [10] 温晋华, 马玉春. 某企业食堂就餐引起鼠伤寒沙门氏菌食物中毒的流行病学分析[J]. *河北医学*, 2015, 21(12): 2120-2122.  
Wen JH, Ma YC. Epidemiological analysis of *Salmonella typhimurium* food poisoning caused by dining in an enterprise canteen [J]. *Hebei Med*, 2015, 21(12): 2120-2122.
- [11] 赵堡宁, 田疆. 一起肠炎沙门氏菌引发的食物中毒[J]. *宁夏医科大学学报*, 2019, 41(12): 1294-1296.  
Zhao BN, Tian J. A case of food poisoning caused by *Salmonella enteritis* [J]. *J Ningxia Univ Med*, 2019, 41(12): 1294-1296.
- [12] GB 4789.4-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验 [S].  
GB 4789.4-2016 National food safety standard-Food microbiological examination-Test of *Salmonella* [S].
- [13] 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 microbiological examination-Test of *Staphylococcus aureus* [S].
- [14] GB 4789.5-2012 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验[S].  
GB 4789.5-2012 National food safety standard-Food microbiological examination-Test of *Shigellas* [S].
- [15] GB 4789.7-2013 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验[S].  
GB 4789.7-2013 National food safety standard-Food microbiological examination test of *Vibrio parahaemolyticus* [S].
- [16] GB 4789.30-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验[S].  
GB 4789.30-2016 National food safety standard-Food microbiological examination test of *Listeria monocytogenes* [S].
- [17] 谭瑶, 赵清, 舒为群, 等. K-B 纸片扩散法药敏试验[J]. *检验医学与临床*, 2010, 7(20): 2290-2291.  
Tan Y, Zhao Q, Shu WQ, *et al.* K-B paper diffusion method drug sensitivity test [J]. *Lab Med Clin Med*, 2010, 7(20): 2290-2291.
- [18] 田礼钦, 滕臣刚. 2001-2013 年苏州市食源性疾病暴发事故流行病学分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2015, 27(6): 614-619.  
Tian LQ, Teng CG. Analysis on epidemiological characteristic of foodborne disease in Suzhou from 2001-2013 [J]. *Chin J Food Hyg*, 2015, 27(6): 614-619.
- [19] 宗雯琦, 戴月, 甄世祺, 等. 2015 年江苏省食源性疾病暴发事件的流行病学特征分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(10): 4272-4277.  
Zong WQ, Dai Y, Zhen SQ, *et al.* Epidemiological characteristics of food borne disease outbreaks in Jiangsu province in 2015 [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(10): 4272-4277.
- [20] 魏雯, 任婧, 王蓉, 等. 宝鸡市一起肠炎沙门氏菌食物中毒事件调查及溯源分析[J]. *实用预防医学*, 2020, 5: 543-546.  
Wei W, Ren J, Wang R, *et al.* Investigation and trace analysis of salmonella enteritis food poisoning incident in Baoji city [J]. *Prac Prev Med*, 2020, 5: 543-546.
- [21] 郑艳敏, 滕臣刚, 田礼钦, 等. 苏州某市一起肠炎沙门氏菌食物中毒事件调查分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(5): 1394-1400.  
Zheng YM, Teng CG, Tian LQ, *et al.* Investigation and analysis of a *Salmonella enteritidis* food poisoning incident in a city of Suzhou [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(5): 1394-1400.
- [22] 彭立昌, 马骏. 一起肠炎沙门氏菌引起的食物中毒调查分析[J]. *中国食品卫生杂志*, 2017, 29(2): 233-237.  
Peng LC, Ma J. Investigation and analysis of an intestinal *Salmonella enterica* food poisoning incident [J]. *Chin J Food Hyg*, 2017, 29(2): 233-237.
- [23] 林秋云, 杜光文, 曾树权, 等. 潮州市食品中食源性致病菌污染状况及耐药性监测结果[J]. *中国热带医学*, 2008, 8(6): 1015-1017.  
Lin QY, Du GW, Zeng SQ, *et al.* Status of contamination of foods with food-borne pathogenic bacteria and results of monitoring of drug resistance in Chaozhou city [J]. *China Trop Med*, 2008, 8(6): 1015-1017.

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



骆业巧, 硕士, 工程师, 主要研究方向为微生物实验室的日常检验和管理。  
E-mail: 651996148@qq.com