

牛奶中弯曲菌流行现状与防控研究进展

任方哲^{1,2,3#}, 胡娟娟^{1,2,3#}, 唐苑悦^{1,2,3}, 黄金林^{1,2,3*}

[1. 扬州大学生物科学与技术学院, 扬州 225000; 2. 江苏省人兽共患病学重点实验室, 扬州 225000;
3. 农业农村部农产品质量安全生物性危害因子(动物源)控制重点实验室, 扬州 225000]

摘要: 弯曲菌是世界范围内普遍流行的食源性病原菌, 牛奶营养成分丰富且作为日常膳食的主要成分, 是弯曲菌重要的传播媒介。弯曲菌感染人后主要引起以腹泻为主的急性胃肠炎症状, 同时可伴发包括免疫损伤性疾病在内的严重并发症; 近年来因饮用牛奶导致的弯曲菌感染病例呈逐年上升趋势, 给公共卫生和食品安全带来了巨大威胁。本文结合国内外关于牛奶中弯曲菌的研究报道, 对牛奶源弯曲菌的污染情况及流行分布特征进行了综述, 分析了牛奶中弯曲菌的主要污染途径, 同时针对牛奶环境中弯曲菌的污染特点, 对该菌检测方法以及防控手段和策略进行了介绍分析, 并对未来研究方向进行了展望, 以期降低牛奶源弯曲菌感染风险, 保障食品安全和消费者健康提供借鉴。

关键词: 弯曲菌; 牛奶; 流行分布; 检测与防控

Research progress on prevalence and prevention strategies for *Campylobacter* in milk

REN Fang-Zhe^{1,2,3#}, HU Juan-Juan^{1,2,3#}, TANG Yuan-Yue^{1,2,3}, HUANG Jin-Lin^{1,2,3*}

[1. College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou 225000, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou 225000, China; 3. Key Laboratory of Prevention and Control of Biological Hazard Factors (Animal Origin) for Agri-food Safety and Quality, Ministry of Agriculture of China, Yangzhou 225000, China]

ABSTRACT: *Campylobacter* is one of the most popular foodborne pathogens worldwide. Milk is an essential part of daily diet with rich nutrients, a potential vector for the transmission of *Campylobacter*. *Campylobacter* infections mainly resulting in acute gastroenteritis with diarrhea as the main cause, and can be accompanied by serious complications, including immune injury diseases. The incidence and prevalence of campylobacteriosis by drinking milk have increased in recent years, which pose a great threat to public health and food safety. This study reviewed the contamination and distribution characteristics of *Campylobacter* in milk based on previous published researches, analyzed the contamination sources of *Campylobacter* in milk, as well as the corresponding detection and control methods, and prospected the focus of the future researches, which can provide references for reducing the risk of *Campylobacter* infection in milk and ensuring food safety and consumer health.

KEY WORDS: *Campylobacter*; milk; prevalence and distribution; detection and prevention

基金项目: 国家自然科学基金项目(32000093)、江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJB180017)、山东省泰山产业领军人才项目(tscy20190113)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32000093), the Natural Science Foundation of the Higher Education Institutions of Jiangsu Province (20KJB180017), and the Taishan Industry Leading Talents Project in Shandong Province (tscy20190113)

#任方哲、胡娟娟为共同第一作者

#REN Fang-Zhe and HU Juan-Juan are Co-first Authors

*通信作者: 黄金林, 教授, 主要研究方向为食源性病原菌与食品安全。E-mail: jinlin@yzu.edu.cn

*Corresponding author: HUANG Jin-Lin, Professor, Yangzhou University, Wenhui East Road 48, Yangzhou 225000, China. E-mail: jinlin@yzu.edu.cn

0 引言

牛奶富含碳水化合物、矿物质、维生素、脂质、蛋白质等多种营养物质, 已成为日常膳食的重要组成部分。牛奶来源于动物生产, 而奶牛在养殖过程中易受到食源性病原菌感染, 因环境不良或操作不当等因素, 牛奶在制备、储运过程中可能受到污染并给食品安全带来风险^[1]。美国疾病控制与预防中心(Center for Disease Control and Prevention, CDC)统计数据显示 29.00%食源性疾病暴发与乳制品, 尤其是与生牛乳有关^[2-3], 其中弯曲菌是造成牛奶污染的重要病原菌之一。

弯曲菌是一种重要的人畜共患食源性病原菌, 该菌在自然界中分布广泛, 宿主包括家禽、家畜、野生动物等, 人类主要通过摄食被污染的食物和饮水, 以及交叉污染等因素被感染, 近年来弯曲菌感染率在全球呈上升趋势, 引起广泛关注^[4]。弯曲菌感染主要引起肠胃炎病症, 包括发热、呕吐, 或痉挛性腹痛, 有时产生伴水样或血样腹泻等临床症状^[5]。抵抗力较弱的人群感染还可诱发包括急性反应性关节炎、米勒费舍尔综合征(Miller-Fisher Syndrome, MFS)和格林巴利综合征(Guillain-Barre Syndrome, GBS)等多种并发症, 严重危害人类健康^[6-8]。调查报告估计全球每年约有 40~50 亿人次感染弯曲菌^[9], 美国每年用于弯曲菌病治疗的花费约为 17 亿美元, 欧盟约为 24 亿欧元, 给社会公共卫生和经济发展带来了沉重的负担^[10]。

在弯曲菌感染暴发案例中, 受污染的牛奶及其产品是人类感染的重要来源^[11-12]。但目前关于牛奶中弯曲菌的研究主要以特定地区的流行调查为主, 有关弯曲菌在牛奶生产环节主要传播途径及防控策略还有待进一步分析。本文结合国内外研究报道, 综述了牛奶中弯曲菌流行现状, 针对弯曲菌传播特征, 对该菌检测手段和防控策略进行了综合分析, 以期降低弯曲菌感染风险, 保障乳制品食品安全提供借鉴。

1 牛奶中弯曲菌污染流行概况

对 2000—2021 年牛奶中弯曲菌污染数据采用随机效应模型进行 meta 分析, 预估全球范围内牛奶中弯曲菌的污染率大致在 5%左右^[13]。其中, 未经巴氏杀菌的生牛乳是弯曲菌感染的主要风险来源, 对 1993—2006 年弯曲菌暴发病例进行分析, 发现食用未经巴氏杀菌的乳制品引发了 1571 例感染病例, 其中 202 例住院治疗和 2 例死亡^[14-15]。在美国, 2007—2012 年的统计数据发现因食用牛奶导致弯曲菌感染的病例从 2007—2009 年间的 22 次增加至 2010—2012 年间的 40 次, 总体呈逐年上升趋势^[16]。另外, 值得注意的是牛奶产品即使经过巴氏杀菌也有可能导致弯曲菌感染, 据估计食用未经巴氏杀菌的牛奶引发的食物中

毒发率是巴氏杀菌奶的 150 多倍, 在零售环节牛奶产品中仍可发现弯曲菌污染现象^[14,17]。

1.1 奶源弯曲菌流行影响因素

弯曲菌污染的奶源样品种类包括牛奶、山羊奶和绵羊奶, 研究发现弯曲菌在牛奶中的污染情况要高于其他奶源^[9,18]。弯曲菌属分为 29 个种, 对污染奶源样品进行弯曲菌种属分析, 发现空肠弯曲菌是污染牛奶最主要的种类, 其次为结肠弯曲菌、豚肠弯曲杆菌、胎儿弯曲菌等其他亚种^[13,19]。对不同月份弯曲菌流行率进行监测, 发现 6 月份牛奶中弯曲菌流行率最高, 2 月份最低, 表明牛奶源弯曲菌的流行与季节和温度有一定的相关性^[20]。

在不同国家及区域, 牛奶中弯曲菌的流行情况存在一定差异, 目前在全球范围内, 研究报道奶源弯曲菌流行率最高的为欧洲(42.9%), 其次是亚洲(22.5%)、非洲(20.4%)、美洲(10.2%)和大洋洲(4%)^[13]。在同一国家不同地理位置也发现类似现象, 对坦桑尼亚 3 个城市的 534 份牛奶样品进行检测, 其流行率分别为 21.40%、7.00%和 9.70%^[17]。意大利不同区域 3 个农场弯曲菌流行率分别为 31.20%、100%和 25.00%, 也存在一定差异^[21]。

欧洲地区饮食习惯偏好于饮用生牛乳, 这可能是造成其弯曲菌流行率偏高的潜在原因; 欧洲不同国家对生牛乳产品售卖的合法性规定不一, 研究发现禁止售卖生牛乳产品的国家弯曲菌流行率较低^[14]。牛奶中弯曲菌的主要污染来源是奶牛粪便, 农场中奶牛的饲养规模、饲养方式和卫生管理措施也是造成不同区域弯曲菌流行率差异的原因之一。除此以外, 不同研究结果之间可能还受到样本量、检测方法、季节等因素的影响^[22]。总而言之, 弯曲菌在牛奶中的流行与当地饮食习惯、卫生管理水平以及环境因素密切相关, 但对于不同区域之间弯曲菌流行率的差异仍需理性看待。

1.2 牛奶中弯曲菌的主要污染来源

牛奶因水活度高、营养丰富、pH 适宜等特性, 非常适宜病原微生物繁殖和扩增。在牛奶生产、运输到销售全产业链中, 即使少量弯曲菌残留也会对食品安全造成较大风险, 因此明晰弯曲菌在牛奶生产过程中主要污染途径, 有助于科学防控弯曲菌污染。

牛奶在健康奶牛体内是不含病原菌的, 但当牛奶被排出体外后, 可能被奶牛体表或环境中存在的弯曲菌污染。奶牛是弯曲菌的常见宿主, 弯曲菌主要定植于其肠道环境中且载量较高, 养殖过程中奶牛可通过粪便向外排菌, 牛奶很可能因操作不当或卫生条件不良被粪便中的弯曲菌污染, 通过多位点序列分型(multilocus sequence typing, MLST)发现牛奶样品中分离出的弯曲菌与粪便源弯曲菌属于相同的克隆复合群^[21], 证实了奶牛粪便中的弯曲菌可以交叉污染牛奶, 这是目前造成牛奶污染最主要的风险来源^[20,23]。此

外, 弯曲菌感染在少数情况下发现可引发奶牛乳腺炎, 可直接分泌出被污染的牛奶^[21]。

农场粪便清理不及时、卫生管理不到位, 会造成弯曲菌通过土壤、水源、空气、昆虫和啮齿动物等媒介在环境中迅速水平传播(图 1)^[24], 弯曲菌虽然是一类苛养菌, 但在应对环境压力应激时可进入存活但不可培养(viable but non-culturable, VBNC)状态, 在外界环境中可以存活很长一段时间^[25], 进而污染垫料以及挤奶器具等^[20,24], 在饲养过程中奶牛卧地会造成乳房外部感染, 在挤奶环节因设备清洁不达标或操作不规范可导致牛奶交叉污染^[20,26-27]。

挤奶后, 牛奶运输过程处置操作或保存不当会产生二次污染。除此以外, 挤奶工作人员的个人卫生会对牛奶污染产生影响^[13]。在部分国家, 因追求牛奶的营养价值及口感, 允许生鲜牛奶产品直接上市销售, 这也增加了因饮用牛奶导致弯曲菌感染的风险^[3]。

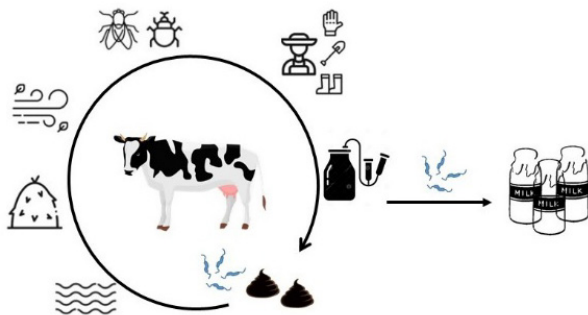


图1 牛奶中弯曲菌污染主要来源^[24]

Fig.1 Main sources of milk contamination by *Campylobacter*^[24]

1.3 毒力基因和耐药性流行现状

细菌致病力的强弱与毒力基因表达相关, 特定毒力基因的存在虽不是弯曲菌对人类致病的直接证据, 但具有诱发弯曲菌病的潜在风险。*wlaN* 基因被报道与格林巴利综合征密切相关, 该基因被报道在牛奶源弯曲菌中的携带率为 50.00%, 明显高于牛肉源弯曲菌的携带率(40.90%); 同时该研究发现牛奶源弯曲菌细胞肿胀性致死毒素基因 *cdtB* 的携带率(92.3%)高于牛肉源(90.90%)和猪肉源(82.10%)弯曲菌^[28], 表明携带 *wlaN* 基因和 *cdtB* 基因的牛奶源弯曲菌对人类的致病力可能相对更高。除此之外, 关于牛奶源弯曲菌毒力基因的分析相对较少, 需进行进一步研究。

随着抗生素在畜禽养殖过程中的大量使用, 导致弯曲菌耐药性迅速增加, 耐药弯曲菌通过食物链传播给人类, 给临床治疗带来一定的困难。在美国, 牛奶源弯曲菌分离株对四环素、环丙沙星和萘啶酸的耐药率分别为 68.40%、13.20%和 13.20%^[3]; 伊拉克牛奶源弯曲菌分离株对四环素、利福平和新霉素较为敏感, 而对甲氧苄胺嘧啶完全耐

药^[9]; 在坦桑尼亚, 牛奶源弯曲菌对阿奇霉素、萘啶酸和氯霉素的耐药率分别为 42.60%、64.80%和 13.00%^[17]。造成不同国家牛奶源弯曲菌耐药水平差异的原因可能是饲料中允许添加的抗生素种类或动物疾病治疗规定用药的标准不同^[29]。大环内酯类红霉素是治疗弯曲菌病的有效药物之一, 近年来弯曲菌对红霉素的耐药率最高可达 100%^[17,30-31]。因此, 牛奶源弯曲菌耐药性问题需引起重视, 在畜禽养殖过程中进一步规范用药。

2 牛奶中弯曲菌的检测与防控

2.1 牛奶中弯曲菌的检测方法

牛奶物质成分组成复杂, 所含脂肪球和蛋白质微粒会对弯曲菌分离及鉴定产生干扰, 给奶源弯曲菌检测带来一定的困难。目前, 对牛奶中弯曲菌的检测主要以传统培养法和分子生物学方法为主^[13]。

传统培养法以 GB 4789.9—2014《食品微生物学检验空肠弯曲菌检验》和美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)的方法为代表^[32]; 通过离心、增菌、分离和鉴定 4 个步骤实现对弯曲菌的检测; 离心处理能够去除牛奶中的部分脂肪, 同时起到富集细菌的作用; 添加抗生素并增菌培养, 可以抑制杂菌生长并提升弯曲菌检出率; 平板培养法的优点是准确度高、成本低、可获得定性和定量结果; 但该方法较为耗时, 整个周期需要 7~10 d, 检测效率较低, 不能实现对食品安全风险的及时预警。

分子生物学方法灵敏度高、特异性强、检测耗时短、操作简便, 在牛奶源弯曲菌检测方面受到广泛关注。牛奶中乳脂会干扰细菌 DNA 的提取, 并抑制 PCR 反应^[33-34], 通过前处理去除牛奶成分中干扰物质后可提升分子生物学方法在牛奶病原微生物检测领域的适用性。目前用于弯曲菌检测的靶基因包括 *ceuE*、*mapA*、*hipO*、*cdtB*、*cdtC* 和 *gyrA* 等, 基于 16S rRNA、*mapA* 和 *ceuE* 基因建立的多重 PCR 方法可检测并区分空肠弯曲菌和结肠弯曲菌亚种^[35], 利用 *sapB2* 基因可鉴定胎儿弯曲菌^[36]; 基于 *hipO*、*gyrA* 和 *pepT* 基因设计引物和探针, 与 SmartCyclerII 系统配合使用, 建立实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)体系能同时检测空肠弯曲菌、结肠弯曲菌和拉里弯曲菌^[37]; 在 PCR 体系中加入叠氮溴化丙啶(propidiummonoazide, PMA)可以区分活菌和死菌, PMA 能渗入死菌受损的细胞膜中抑制引物与 DNA 结合, 可检出处于 VBNC 状态下的弯曲菌, 从而实现牛奶污染状况更为准确的评估^[38]。但是基于 PCR 反应的检测方法往往需要一定的技术经验以及特定的设备支持, 这在一定程度上限制了其在食品快检领域的应用。

环介导等温扩增(loop mediated isothermal amplification, LAMP)技术通过 Bst DNA 聚合酶的作用, 在恒温条件下即可进行高效扩增, 节省了检测时间以及对仪器设备的依赖性^[39]。基于 Au/Pt 纳米簇开发的比色 DNA 传感器, 通过在

引物探针尾部引入 12 个胞嘧啶核苷酸结合稳定 Au/Pt 纳米簇, 在弯曲菌 DNA 量增加的过程中可使 Au/Pt 过氧化氢酶活性逐渐降低, 通过显色反应可实现对牛奶中弯曲菌的快速检测^[40]。以上快速检测方法的优点是可应用于食品现场检验, 但在病原菌污染定量分析方面有所不足, 在特定条件下仍需与传统方法结合使用。除此以外, 基于免疫学技术的检测方法, 如胶体金试纸、免疫磁珠、表面等离子共振等也可应用于弯曲菌检测, 其优点是特异性好, 但在大规模应用时特异性抗体制备可能存在成本较高的问题; 且抗原抗体反应主要是基于蛋白水平的检测, 对于细菌而言较大的体积和抗原暴露等问题可能会限制检测效率, 造成假阳性和假阴性情况的出现, 同时牛奶样品的前处理还需进一步优化^[41-43]。

2.2 牛奶中弯曲菌的防控策略

牛奶中弯曲菌污染的源头和重点是养殖环节的动物宿主, 因此在养殖环节控制弯曲菌污染可极大程度降低人感染弯曲菌病的风险^[19]。目前在农场水平降低弯曲菌污染的策略主要是减少弯曲菌在宿主中的定植量, 通过使用细菌素或噬菌体的方法, 或通过免疫以及益生菌策略提升宿主健康水平; 其次还可通过提升农场生物安全和卫生管理水平, 降低弯曲菌在环境中的交叉污染^[44]。

在奶牛饲料或饮水中添加益生菌可有效降低弯曲菌污染水平, 益生菌可通过调节肠道 pH 环境、竞争生态位、调节免疫系统等多种机制发挥作用^[45]; 益生菌可添加在饲料或饮水中使用, 目前乳杆菌属、芽孢杆菌属、双歧杆菌属、肠球菌属益生菌已应用于弯曲菌消减研究, 发现可降低污染量 1~5 log CFU/g^[44,46]。部分益生菌还可分泌细菌素, 其选择性在非己细菌细胞膜表面形成孔道并裂解其他细菌, 来自多粘芽孢杆菌的 SRCAM 602、唾液乳杆菌的 OR-7、屎肠球菌的 E760 已发现对弯曲菌有显著的消减作用, 可降低污染量 4~8 log CFU/g^[44]。噬菌体可通过特异性结合细胞表面受体识别靶标细菌, 通过在菌体内复制、转录、翻译最终导致靶细菌裂解, 同时不会破坏肠道其他菌群。将噬菌体应用于养殖环节控制弯曲菌污染已被证实是一种有效的方法, 目前噬菌体主要以口服方式使用, CP8 和 CP34 可降低弯曲菌污染量 0.5~5 log CFU/g, CP220 可降低 1.9~2.3 log CFU/g^[47-48]; 不同噬菌体消减效果有所不一, 这可能与流行的弯曲菌型有一定关系, 因而使用噬菌体组合的效果要优于使用单一噬菌体^[49]。疫苗注射可提高宿主对相应病原菌的抵抗力, 基于弯曲菌鞭毛蛋白 FlaA、FliD、FspA 和膜表面抗原 CadF、CjaA 开发的亚单位疫苗可降低弯曲菌污染量 1~2 log CFU/g^[50-51]。但弯曲菌与大部分宿主之间是一种类似共生的关系(即大量定植却不致病), 使得疫苗的保护性效力有所减弱, 所以目前还没有商品化的弯曲菌疫苗生产应用; 而且疫苗在使用过程中存在成本较高、流程烦琐、只针对单一菌种等缺点, 对于其合理应用

方式仍需进一步摸索^[52]。

加强农场卫生管理水平和提升生物安全意识对于弯曲菌防控也是十分重要的一环^[44]。弯曲菌在自然界中分布广、宿主多样; 在农场设置物理屏障, 可有效降低野生源弯曲菌传播风险^[53]。制定卫生和消毒规范, 农场配备用于洗手、更换服装及鞋具的前厅, 养殖区配备浸脚消毒池; 动物饮水、饲料、垫料及时更换, 地面及时清扫等对于弯曲菌防控也是大有裨益的^[44,54]。另外, 在零售和消费环节, 不饮用未经巴氏杀菌的生牛乳, 以及对牛奶产品进行加热处理后饮用也能在一定程度上降低弯曲菌感染风险^[13]。

3 结束语

弯曲菌是全球范围内重要的食源性病原菌, 该菌感染后导致的弯曲菌病给社会公共卫生带来严重威胁。目前研究报道牛奶, 尤其是未经巴氏杀菌的生牛乳是弯曲菌传播给人的重要媒介。牛奶中弯曲菌的污染可发生在包括采集、处理、分装、储运等各个环节, 其中养殖环节是污染的源头和重要途径, 因牛奶营养物质丰富且液体环境相对中性, 所以即使少量残存的细菌也会造成严重的食品安全风险。因此, 未来研究需对奶牛养殖环节进行更全面、系统地监测; 同时优化牛奶中弯曲菌的检测方法, 提升检出效率; 利用分子溯源技术探究弯曲菌在牛奶生产过程中交叉污染途径, 探明挤奶环节关键控制点; 开发有效防控技术体系, 切实降低牛奶中弯曲菌污染风险。除此以外, 针对牛奶源弯曲菌的耐药情况, 需加强耐药性监测, 合理规范使用抗生素; 并对细菌耐药机制进行深入研究, 尝试寻找新的抗菌药物替代品。同时应重视牛奶源弯曲菌毒力基因的研究, 分析毒力基因在牛奶源弯曲菌中的携带率, 并结合已有研究结果进一步探究弯曲菌致病机制。

参考文献

- [1] LEJEUNE JT, RAJALA-SCHULTZ PJ. Food safety: Unpasteurized milk: A continued public health threat [J]. Clin Infect Dis, 2009, 48(1): 93-100.
- [2] TAYLOR EV, HERMAN KM, AILES EC, et al. Common source outbreaks of *Campylobacter* infection in the USA, 1997-2008 [J]. Epidemiol Infect, 2013, 141(5): 987-996.
- [3] COLLO LPD, KARNS JS, BISWAS D, et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of *Campylobacter* spp. in bulk tank milk and milk filters from US dairies [J]. J Dairy Sci, 2017, 100(5): 3470-3479.
- [4] BURNHAM PM, HENDRIXSON DR. *Campylobacter jejuni*: Collective components promoting a successful enteric lifestyle [J]. Nat Rev Microbiol, 2018, 16(9): 551-565.
- [5] PETERS S, PASCOE B, WU Z, et al. *Campylobacter jejuni* genotypes are associated with post-infection irritable bowel syndrome in humans [J]. Commun Biol, 2021, 4(1): 1015.
- [6] FIEDORUK K, DANILUK T, ROZKIEWICZ D, et al. Whole-genome

- comparative analysis of *Campylobacter jejuni* strains isolated from patients with diarrhea in Northeastern Poland [J]. Gut Pathog, 2019, 11: 32.
- [7] SHAHRIZAILA N, LEHMANN HC, KUWABARA S. Guillain-Barré syndrome [J]. Lancet, 2021, 397(10280): 1214–1228.
- [8] SAINATO R, ELGENDY A, POLY F, et al. Epidemiology of *Campylobacter* infections among children in Egypt [J]. Am J Trop Med Hyg, 2018, 98(2): 581–585.
- [9] ALMASHHADANY DA. Isolation, biotyping and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates from raw milk in Erbil City, Iraq [J]. Ital J Food Saf, 2021, 10(1): 8589.
- [10] GEISSLER AL, BUSTOS CF, SWANSON K, et al. Increasing *Campylobacter* infections, outbreaks, and antimicrobial resistance in the United States, 2004–2012 [J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(10): 1624–1631.
- [11] MODI S, BRAHMBHATT MN, CHATUR YA, et al. Prevalence of *Campylobacter* species in milk and milk products, their virulence gene profile and anti-bio gram [J]. Vet World, 2015, 8(1): 1–8.
- [12] HAURI AM, JUST M, MCFARLAND S, et al. Campylobacteriosis outbreaks in the state of Hesse, Germany, 2005–2011: Raw milk yet again [J]. Dtsch Med Wochenschr, 2013, 138(8): 357–361.
- [13] TAGHIZADEH M, NEMATOLLAHI A, BASHIRY M, et al. The global prevalence of *Campylobacter* spp. in milk: A systematic review and meta-analysis [J]. Int Dairy J, 2022, 133: 10542.
- [14] LANGER AJ, AYERS T, GRASS J, et al. Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks, and state laws—United States, 1993–2006 [J]. Emerg Infect Dis, 2012, 18(3): 385–391.
- [15] BURAKOFF A, BROWN K, KNUTSEN J, et al. Outbreak of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter jejuni* infections associated with raw milk consumption from a herdshare dairy—Colorado, 2016 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2018, 67(5): 146–148.
- [16] MUNGAI EA, BEHRAVESH CB, GOULD LH. Increased outbreaks associated with nonpasteurized milk, United States, 2007–2012 [J]. Emerg Infect Dis, 2015, 21(1): 119–122.
- [17] KASHOMA IP, KASSEM II, JOHN J, et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from dressed beef carcasses and raw milk in Tanzania [J]. Microb Drug Resist, 2016, 22(1): 40–52.
- [18] ARTURSSON K, SCHELIN J, THISTED LS, et al. Foodborne pathogens in unpasteurized milk in Sweden [J]. Int J Food Microbiol, 2018, 284: 120–127.
- [19] HANSSON I, SANDBERG M, HABIB I, et al. Knowledge gaps in control of *Campylobacter* for prevention of campylobacteriosis [J]. Transbound Emerg Dis, 2018, 65(S1): 30–48.
- [20] HANSSON I, OLSSON EE, FERRARI S, et al. Detection of *Campylobacter* species in different types of samples from dairy farms [J]. Vet Rec, 2020, 186(18): 605.
- [21] BIANCHINI V, BORELLA L, BENEDETTI V, et al. Prevalence in bulk tank milk and epidemiology of *Campylobacter jejuni* in dairy herds in Northern Italy [J]. Appl Environ Microbiol, 2014, 80(6): 1832–1837.
- [22] KAAKOUSH NO, CASTANO-RODRIGUEZ N, MITCHELL HM, et al. Global epidemiology of *Campylobacter* infection [J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3): 687–720.
- [23] JAAKKONEN A, CASTRO H, HALLANVUO S, et al. Longitudinal study of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Campylobacter jejuni* on Finnish dairy farms and in raw milk [J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85(7): e02910–18.
- [24] SZOTT V, FRIESE A. Emission sources of *Campylobacter* from agricultural farms, impact on environmental contamination and intervention strategies [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2021, 431: 103–125.
- [25] GOMES CN, PASSAGLIA J, VILELA FP, et al. High survival rates of *Campylobacter coli* under different stress conditions suggest that more rigorous food control measures might be needed in Brazil [J]. Food Microbiol, 2018, 73: 327–333.
- [26] 闫超, 李肖莉, 李莹洁, 等. 关于生鲜乳有害微生物污染与危害的分析与研究 [J]. 河北农业, 2020, 3: 60–61.
- YAN C, LI XL, LI YJ, et al. Analysis and study on contamination and harm of harmful microorganisms in fresh milk [J]. Hebei Agric, 2020, 3: 60–61.
- [27] VERDIER-METZ I, GAGNE G, BORNES S, et al. Cow teat skin, a potential source of diverse microbial populations for cheese production [J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(2): 326–333.
- [28] ANDRZEJEWSKA M, SZCZEPAŃSKA B, ŚPICA D, et al. Prevalence, virulence, and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in raw milk, beef, and pork meat in Northern Poland [J]. Foods, 2019, 8(9): 420.
- [29] KHADEMI F, SAHEBKAR A. Prevalence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species in Iran: A systematic review and meta-analysis [J]. Int J Microbiol, 2020, 2020: 8868197.
- [30] IGWARAN A, OKOH AI. Occurrence, virulence and antimicrobial resistance-associated markers in *Campylobacter* species isolated from retail fresh milk and water samples in two district municipalities in the eastern cape province, South Africa [J]. Antibiotics (Basel), 2020, 9(7): 426.
- [31] SATO K, BARTLETT PC, KANEENE JB, et al. Comparison of prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* spp. isolates from organic and conventional dairy herds in Wisconsin [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(3): 1442–1447.
- [32] The U.S. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual [EB/OL]. [2000-12-29]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-7-campylobacter> [2022-09-30].
- [33] ZADOKS RN, TASSI R, MARTIN E, et al. Comparison of bacteriological culture and PCR for detection of bacteria in ovine milk—sheep are not small cows [J]. J Dairy Sci, 2014, 97(10): 6326–6333.
- [34] DOUGLAS CA, IVEY KL, PAPANICOLAS LE, et al. DNA extraction approaches substantially influence the assessment of the human breast milk microbiome [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 123.
- [35] 何蕊, 黄金林, 许海燕, 等. 弯曲菌多重 PCR 检测方法的建立及其初步应用 [J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2007, 1: 5–8.
- HE R, HUANG JL, XU HY, et al. Establishment of multiplex PCR for detection of *Campylobacter* and its preliminary application [J]. J Yangzhou Univ, 2007, 1: 5–8.
- [36] 唐虹, 徐仲兰, 孔科, 等. 胎儿弯曲菌 PCR 检测方法的建立及其初步应用 [J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(8): 694–698.
- TANG H, XU ZL, KONG K, et al. Establishment of PCR method for

- detection of *Campylobacter fetal* and its preliminary application [J]. Chin J Zoonoses, 2019, 35(8): 694–698.
- [37] LIU KC, JINNEMAN KC, NEAL-MCKINNEY J, *et al.* Simultaneous identification of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and *Campylobacter lari* with smart cyclor-based multiplex quantitative polymerase chain reaction [J]. Foodborne Pathog Dis, 2017, 14(7): 371–378.
- [38] WULSTEN IF, GALEEV A, STINGL K. Underestimated survival of *Campylobacter* in raw milk highlighted by viability real-time PCR and growth recovery [J]. Front Microbiol, 2020, 11: 1107.
- [39] ZANG XQ, TANG HY, JIAO XN, *et al.* Can a visual loop-mediated isothermal amplification assay stand out in different detection methods when monitoring *Campylobacter jejuni* from diverse sources of samples? [J]. Food Control, 2017, 75: 220–227.
- [40] DEHGHANI Z, HOSSEINI M, MOHAMMADNEJAD J, *et al.* New colorimetric DNA sensor for detection of *Campylobacter jejuni* in milk sample based on peroxidase-like activity of gold/platinum nanocluster [J]. Chemistryselect, 2019, 4(40): 11687–11692.
- [41] LUCIANI M, FEBO T, ZILLI K, *et al.* Rapid detection and isolation of *Escherichia coli* O104:H4 from milk using monoclonal antibody-coated magnetic beads [J]. Front Microbiol, 2016, 7: 942.
- [42] DURSUN AD, BORSA BA, BAYRAMOGLU G, *et al.* Surface plasmon resonance aptasensor for *Brucella* detection in milk [J]. Talanta, 2022, 239: 123074.
- [43] ZANG XQ, KONG K, TANG HY, *et al.* A GICA strip for *Campylobacter jejuni* real-time monitoring at meat production site [J]. LWT-Food Sci Technol, 2018, 98: 500–505.
- [44] SORO AB, WHYTE P, BOLTON DJ, *et al.* Strategies and novel technologies to control *Campylobacter* in the poultry chain: A review [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2020, 19(4): 1353–1377.
- [45] MOHAN V. The role of probiotics in the inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization and virulence attenuation [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015, 34(8): 1503–1513.
- [46] SIKIC PM, LANGERHOLC T, MICETIC-TURK D, *et al.* Effect of *Lactobacillus* spp. on adhesion, invasion, and translocation of *Campylobacter jejuni* in chicken and pig small-intestinal epithelial cell lines [J]. BMC Vet Res, 2020, 16(1): 34.
- [47] LOC CC, ATTERBURY RJ, EL-SHIBINY A, *et al.* Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens [J]. Appl Environ Microb, 2005, 71(11): 6554–6563.
- [48] EL-SHIBINY A, SCOTT A, TIMMS A, *et al.* Application of a group II *Campylobacter* bacteriophage to reduce strains of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* colonizing broiler chickens [J]. J Food Protect, 2009, 72(4): 733–740.
- [49] HAMMERL JA, JACKEL C, ALTER T, *et al.* Reduction of *Campylobacter jejuni* in broiler chicken by successive application of group II and group III phages [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114785.
- [50] NEAL-MCKINNEY JM, SAMUELSON DR, EUCKER TP, *et al.* Reducing *Campylobacter jejuni* colonization of poultry via vaccination [J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114254.
- [51] CHINTOAN-UTA C, CASSADY-CAIN RL, STEVENS MP. Evaluation of flagellum-related proteins FlhD and FspA as subunit vaccines against *Campylobacter jejuni* colonisation in chickens [J]. Vaccine, 2016, 34(15): 1739–1743.
- [52] MEUNIER M, GUYARD-NICODEME M, VIGOUROUX E, *et al.* Promising new vaccine candidates against *Campylobacter* in broilers [J]. PLoS One, 2017, 12(11): e0188472.
- [53] RACICOT M, VENNE D, DURIVAGE A, *et al.* Evaluation of strategies to enhance biosecurity compliance on poultry farms in Quebec: Effect of audits and cameras [J]. Prev Vet Med, 2012, 103(2–3): 208–218.
- [54] SANDBERG M, SORENSEN LL, STEENBERG B, *et al.* Risk factors for *Campylobacter* colonization in Danish broiler flocks, 2010 to 2011 [J]. Poult Sci, 2015, 94(3): 447–453.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



任方哲, 博士, 讲师, 主要研究方向为人兽共患食源性病原菌。

E-mail: fzen@yzu.edu.cn



胡娟娟, 硕士研究生, 主要研究方向为食源性病原菌与食品安全。

E-mail: 2795139539@qq.com



黄金林, 教授, 主要研究方向为食源性病原菌与食品安全。

E-mail: jinlin@yzu.edu.cn