

厨房内弯曲菌分子流行病学研究进展

赖宏刚^{1,2,3}, 唐苑悦^{2,3,4}, 任方哲^{2,3,4}, 焦新安^{2,3,4}, 黄金林^{2,3,4*}

[1. 扬州大学旅游烹饪学院, 扬州 225009; 2. 扬州大学江苏省人兽共患病重点实验室, 扬州 225009;
3. 江苏高校动物重要疾病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009; 4. 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 225009]

摘 要: 微生物性因素已经成为世界各国食源性疾病暴发的主要原因。弯曲菌在厨房加工阶段的流行传播及溯源分析对疾病的预防控制至关重要。目前, 我国对厨房内加工过程中弯曲菌的流行性监测很少, 特别是在新兴的中央厨房等集中加工和配送的模式下, 相关的研究都有待于开展。因此, 应更多地致力于厨房内禽肉加工过程中弯曲菌的流行监测研究, 从而建立起从农场到餐桌完整的弯曲菌监测体系。本文以弯曲菌为例, 阐述了其在国内外厨房中的流行状况, 进一步明确了弯曲菌在厨房内的主要传播途径为交叉污染; 详细综述了用于弯曲菌交叉传播的主要溯源技术如多位点序列分析, 脉冲场凝胶电泳分型和全基因组测序分型, 为建立起完善的弯曲菌风险评估体系及预防控制奠定基础 and 提供参考。

关键词: 弯曲菌; 厨房; 流行情况; 交叉污染; 溯源技术

Research progress of molecular epidemiological study on *Campylobacter* in kitchen

LAI Hong-Gang^{1,2,3}, TANG Yuan-Yue^{2,3,4}, REN Fang-Zhe^{2,3,4},
JIAO Xin-An^{2,3,4}, HUANG Jin-Lin^{2,3,4*}

[1. College of Tourism and Culinary Science, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2. Jiangsu Key Lab of Zoonosis, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 3. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China; 4. Key Laboratory of Prevention and Control of Biological Hazard Factors (Animal Origin) for Agri-food Safety and Quality, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of China, Yangzhou 225009, China]

ABSTRACT: Microbial factors have become the main cause of foodborne disease eruption in the world. The epidemic transmission and traceability analysis of *Campylobacter* in the kitchen process is essential for disease prevention and control. In China, there is little surveillance on the prevalence of *Campylobacter* in the kitchen, especially in the emerging central kitchen and other centralized processing and distribution models, relevant research needs to be carried out. Therefore, more efforts should be made to monitor the prevalence of *Campylobacter* in poultry meat processing in the kitchen, so as to establish a complete *Campylobacter* monitoring system from farm to fork. Taking *Campylobacter* as an example, this paper described its prevalence state in kitchens at home and abroad, further clarified the main transmission route of *Campylobacter* in the kitchen was cross contamination; summarized in detail the main traceability techniques for *Campylobacter* cross-transmission, such as multi-locus sequence typing, pulsed field gel electrophoresis,

基金项目: 山东省泰山产业领军人才项目(tscy20190113)

Fund: Supported by the Taishan Industry Leading Talents Project in Shandong Province (tscy20190113)

*通信作者: 黄金林, 博士, 教授, 主要研究方向为人畜共患病原微生物与食品安全。E-mail: jinlin@yzu.edu.cn

*Corresponding author: HUANG Jin-Lin, Ph.D, Professor, Yangzhou University, No.88, South University Road, Yangzhou 225009, China. E-mail: jinlin@yzu.edu.cn

and whole-genome sequencing, thereby laying the foundation and reference for the establishment of a complete *Campylobacter* risk assessment system and control measures.

KEY WORDS: *Campylobacter*; kitchen; prevalence state; cross-contamination; traceability technology

0 引言

弯曲菌(*Campylobacter*)是全球范围内引起细菌性肠胃炎的重要食源性病原菌之一^[1]。近年来其感染率在世界各地呈现上升的趋势,给公众健康和食品安全带来严重威胁,并造成重大经济损失^[2]。在新西兰,2016年将近50%的食源性疾病是由弯曲菌引起的,每10万人发病人数为158.9人^[3];在英国,2015年每10万人发病人数为96.22人^[4];在澳大利亚,2001年到2016年间每10万人发病人数超过110人^[5];在美国,每年约130万人感染弯曲菌,在2020年每10万人发病人数为14.4人^[6]。据估计,美国每年因弯曲菌感染造成的经济损失为1.7亿美元^[7],欧洲为24亿欧元^[8]。而在我国弯曲菌引起疾病暴发的报告较少。在2018年,我国首次报道由结肠弯曲菌引发的肠胃炎病例^[9],这可能与我国缺少相关的疾病监测、流行病学分析和实验室检测能力等因素有关^[10]。通过对弯曲菌感染病例的研究发现,接触和消费禽肉及其内脏是引发弯曲菌感染的主要原因^[11]。欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)已经证实食用禽肉及其产品是感染弯曲菌病的首要风险因素,约50%~90%的人类感染可以归因于鸡肉^[12-14]。EFSA的研究认为,20%~30%的人感染弯曲菌与鸡肉的加工、制备和食用有关^[15]。消费者感染弯曲菌的主要途径是食用未煮熟的、内部受弯曲菌污染的鸡肉,或者在制备鸡肉过程中的交叉污染^[16]。而在我国的厨房内处理鸡肉的加工过程比较复杂,砧板的生熟不分、无效的清洁行为等不安全的操作行为,都可能会使我国居民感染弯曲菌的风险增加。本文旨在通过对国内外厨房内弯曲菌的流行状况、传播途径及溯源技术的应用进行详细的综述,为我国厨房内生鲜鸡加工环节的弯曲菌流行病学调查和防控提供依据及参考。

1 厨房内弯曲菌的流行现状

目前,很多研究主要是围绕弯曲菌在家禽的养殖、屠宰和零售阶段开展流行病学调查分析,并采取相应的措施来降低各个加工阶段的弯曲菌污染,但是在零售阶段禽肉的弯曲菌污染仍然保持较高的水平。而在禽肉进入厨房加工阶段弯曲菌的流行状况研究甚少。

在国外已有部分学者开展了初步的研究。MEAD等^[17]曾对操作人员在厨房内模拟生鲜鸡的净膛处理进行研究。挑选5名志愿者在家庭厨房内对生鲜鸡进行净膛操

作,并采用一种容易识别的大肠杆菌标记菌株接种在生鲜鸡结肠中。在所有的模拟组中,净膛操作导致肠内容物的渗漏和肠道粪便的污染。在每个生鲜鸡的肠道、腹腔,以及在鸡胸肉表面都检测出标记菌株。同时每名志愿者的双手都受到了标记菌株的污染,也证实了净膛操作会引发微生物的交叉污染。此外,标记菌株也扩散到加工区域外。因此,在家庭厨房中对家禽进行净膛操作可能会引发食物与生鲜鸡所携带的任何食源性病原菌的交叉污染。DAWKINS等^[18]对英国的商业厨房、中央厨房、医院食堂和大学食堂4类厨房开展弯曲菌的流行病学调查。在大型商业厨房中,弯曲菌的污染水平最高。而在对其他厨房的12次采样中,有6次分离出弯曲菌。在鸡肉制备阶段,操作人员的双手的弯曲菌流行率为4.4%(2/45)。在所有厨房内均从生鲜鸡中分离出弯曲菌。同时发现不同的类型的鸡肉弯曲菌流行率不同,冻鸡肉的弯曲菌流行率为9.8%~30%,生鲜鸡的流行率为88%。而在我国商业厨房内,弯曲菌在生鲜鸡中的流行率为50%~78.43%^[19]。在欧洲的一些国家,研究人员对家庭厨房内弯曲菌的流行状况开展了一系列的研究,其中挪威的生鲜鸡流行率为83%,葡萄牙和法国的流行率为80%^[20]。如表1所示,我国商业厨房内生鲜鸡弯曲菌的流行率与国外家庭厨房和商业厨房的已有报道基本一致,这可能与其相同的生鲜鸡来源、加工运输及储存条件相同有关^[19]。MEDEIROS等^[21]对加拿大一家商业餐厅的125份厨房表面擦拭样品进行采集分析,并未检测出弯曲菌,这可能与有效的清洁措施、食品的充分制备和储存、良好的卫生习惯、以及生食与熟食的物理分离减少了弯曲菌的交叉污染等有关。HUMPHREY等^[22]对英国家庭厨房内鸡肉制备阶段弯曲菌的流行状况进行了调查。发现在处理完鸡肉后,接触程度较高的表面如砧板、抹布及水龙头的弯曲菌流行率在70%以上。而在我国的商业厨房内,与鸡肉直接接触的表面,如砧板、刀具和容器的弯曲菌流行率可达57.14%~82.86%^[19]。弯曲菌不仅能够在厨房接触表面流行和传播,在食物中也具有存活的可能性。JONES等^[23]研究了在烹调鸡肝时不同温度与弯曲菌存活数量之间的线性关系。结果表明鸡肝内部的核心温度和弯曲菌的存活率之间成反比,当最短烹调时间为1 min,平均核心温度为36℃时,弯曲菌的存活率为100%。当鸡肉的最高平均核心温度为72℃时,弯曲菌的存活率为8.3%。此外采用Logistic模型预测了鸡肝内部不同核心温度条件下弯曲菌的存活率。当参照英国食品标准局(UK Food Standards Agency, FSA)推荐的温度(72℃至少2 min)对鸡肝进行烹调时,预测

表 1 不同国家和地区厨房内整鸡的来源和弯曲菌流行率
Table 1 Sources and *Campylobacter* prevalence of whole chickens in kitchens in different countries and regions

国家	厨房类型	鸡肉类型	流行率/%	来源	参考文献
英国	商业厨房、中央厨房、 医院食堂、大学食堂	冻鸡; 生鲜鸡	9.8~30; 88	农贸市场	[16]
中国	商业厨房	冷鲜鸡; 生鲜鸡	50~78; 43	农贸市场; 超市、中央厨房	[19]
挪威	家庭厨房	生鲜鸡	83	超市	[18]
葡萄牙、法国	家庭厨房	生鲜鸡	80	超市	[18]

弯曲菌的存活率低于 0.001%, 这对烹饪过程弯曲菌的灭活具有重要的指导意义。目前, LAI 等^[19]已经开展了我国商业厨房内弯曲菌流行状况的研究, 而在我国家庭厨房以及新兴的中央厨房内仍缺乏相关的数据。这也将会限制我国厨房内弯曲菌风险评估模型的建立以及防控措施的制定。

2 厨房内弯曲菌的主要传播途径

食源性病原菌主要的传播途径有 3 种: (1)空气-食品 (air-to-food, AF), 主要是通过空气中的气溶胶或粉尘污染食品。这一污染途径容易发生在食品制备和包装过程^[24]。但由于空气中弯曲菌的存活率和污染率较低, 因此这种污染途径所引起弯曲菌感染的概率很小。(2)物体表面-流质食品 (surface-to-food in fluids, SFF) 是在适宜的条件下, 食源性病原菌在水箱内壁或管道等表面形成细菌生物被膜, 当其他流质食物 (果汁、果酱、果泥、蔬菜汁及牛奶等) 流经受污染的管道表面时, 部分病原菌可扩散至流质食物中, 一旦被人类误食, 会引发食物中毒^[25]。而这种污染途径容易发生在大型的食品加工企业, 较少见于厨房环境中。(3)物体表面-食品接触面 (surface-to-food by contact, SFC), 是食物通过接触受污染的介质表面而被污染, 这是弯曲菌在厨房内流行的主要传播途径^[26]。

目前国外的一些研究主要是通过 SFC 途径探究弯曲菌在厨房内的流行和传播。家禽是弯曲菌的主要宿主, 在屠宰和零售阶段, 家禽胴体携带弯曲菌的数量可达 $10^2 \sim 10^3$ CFU/g^[27-28]。在进入厨房加工阶段, 生鲜鸡仍保持较高的弯曲菌流行率和带菌量。在葡萄牙, 家庭厨房内生鲜鸡弯曲菌的带菌量可高达 4.1×10^2 CFU/g^[29]。而在我国商业厨房内, 生鲜鸡的弯曲菌带菌量可达 $(2.16 \pm 0.80) \log$ CFU/100 cm²^[19]。MOORE 等^[30]通过对爱尔兰厨房内禽类弯曲菌污染状况的调查, 发现 94% 的新鲜禽类和 77% 的冷冻禽类检测出弯曲菌, 而在鸡肉熟食品中并未发现弯曲菌。在厨房内加工鸡肉时, 一旦鸡肉携带弯曲菌, 就会污染到鸡肉接触的各个表面, 造成交叉污染。BOER 等^[31]认为弯曲菌是可以从生鸡肉传递到砧板、餐盘和双手。GORMAN 等^[32]对爱尔兰国内家庭厨房准备午餐过程中病原菌的交叉污染进行研究, 发现弯曲菌最易污染双手、砧板、工作台面及抹布。海绵或者抹布都是弯曲菌传播的重要媒介, 弯曲菌可以通过受污染的海绵或者抹布传递到其他物品的表面, 如台面、餐盘、水、

海绵、抹布和餐具等。此外, 在抹布中弯曲菌具有很高的流行率和载量^[33]。MATTICK 等^[34]评估了弯曲菌在尚未清洁的餐具表面, 以及在清洗过程和干燥过程中的存活率及转移率, 并证明了弯曲菌在清洗过程中并不容易被彻底杀灭。虽然从受污染的餐具表面转移到食物的风险大大降低, 但是在加工阶段抹布和海绵的使用会使弯曲菌的转移率增加。在对厨房进行流行病学调查时, 受采样方法局限、采样部位的不同和随机性, 并不能真实地反映弯曲菌在厨房内的交叉污染状况。因此, 在国外有部分研究建立了弯曲菌交叉污染的数学模型, 来描述弯曲菌在食物加工过程中的交叉污染状况及其传播规律。CHEN 等^[35]建立了弯曲菌交叉污染的数学模型, 研究表明水龙头到双手的传递率和双手到生菜的传递率相同, 这证明了水龙头也是弯曲菌传播的重要媒介之一。而在我国, 有待于建立适合中国厨房的弯曲菌传播模型。

3 弯曲菌交叉传播常用的分子溯源技术

弯曲菌广泛存在于自然环境及多种动物中, 这对弯曲菌的来源进行溯源具有必然的挑战性。常规的分子分型方法 (如血清分型等) 不能准确地明确弯曲菌的传染源。因此, 分子分型研究成为追溯弯曲菌的传染源、调查其传播途径的重要手段。目前已建立了多种弯曲菌的分子分型方法^[36], 如多位点序列分型 (multi-locus sequence typing, MLST)、脉冲场凝胶电泳 (pulsed field gel electrophoresis, PFGE) 分型以及新兴的全基因组测序 (whole-genome sequencing, WGS) 分型等, 对弯曲菌的分子溯源分析具有重要意义。

3.1 MLST 分型

MLST 是研究者在 1998 年创建的一种基于核酸序列分型的分子生物学方法^[37-38]。该方法以管家基因的序列多态性分析为基础, 通过比较管家基因的差异而分析不同菌株的遗传相关性及其差异性。该方法的 7 个管家基因包括 *aspA*、*glnA*、*gltA*、*glyA*、*pgmA*、*tkt* 和 *uncA*。首先合成这 7 个管家基因的引物, 再对管家基因进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增, 将扩增后的产物进行测序, 然后将测序结果进行剪切处理并上传至 MLST 数据库, 最后进行等位基因对比, 获得每个等位基因相对应的编号以及每株分离株的序列类型 (sequence types, STs)。由于等

位基因之间的差别导致菌株的序列类型不同,通过比较不同菌株的ST型就可以揭示菌株之间的亲缘关系。MLST分型技术不仅可以用于流行病学研究,也可用于种群结构和分子进化学的研究。同时,该技术在种群进化和全球疾病暴发监测方面具有广泛的应用,并用来描述不同时间或空间内特定宿主弯曲菌种群的动力学,有助于更好地了解和掌握弯曲菌的分子流行病学规律^[39]。ROSNER等^[12]采用基于人和动物/食物分离菌株的MLST数据的非对称岛模型进行来源归因分析。揭示了鸡及其他家禽、猪、牛都可能是弯曲菌的重要宿主来源,进一步证实了食用鸡肉和外出就餐是德国居民感染弯曲菌的首要风险因素。感染的途径主要是在家庭厨房制备鸡肉、同时准备生肉和未制熟的食物以及接触家禽。并且56%的空肠弯曲菌感染可以归因于鸡,32%可以归因于猪。因此要减少人类感染弯曲菌,需要加强在食物链上的干预,比如采取有效措施降低鸡肉中弯曲菌的污染水平。NOHRA等^[40]分析了在新西兰国内2013年至2014年间,不同供应商的两种零售鸡肉产品中空肠弯曲菌和结肠弯曲菌的丰度和群体遗传结构。通过比较不同来源弯曲菌的ST型多样性,发现人源弯曲菌分离株具有更高的丰富度和更多的ST型,且ST型多样性高于鸡肉分离株。人源弯曲菌中的ST型菌株,如ST45和ST50菌株仅能够从供应商B和其他供应商的鸡肉样品中分离到,这也证实了不同供应商鸡肉样品中特有的ST型菌株导致了该地区弯曲菌病的暴发。通过计算相似比例指数(proportional similarity index, PSI)以评估人源弯曲菌、生鲜鸡和鸡腿的空肠弯曲菌ST型频率分布之间的相似性。人源弯曲菌和鸡腿中分离出的弯曲菌ST型的PSI最高,但两者的置信区间(confidence interval, CI)重叠很广,表明二者并不具有显著性差异。然而,在人源弯曲菌和供应商A及其他供应商分离株之间存在显著性差异,这说明更多的人类弯曲菌感染可能是由于食用了来自其他供应商的零售鸡肉产品而引发的。在对我国5家商业厨房的流行病学调查中^[19],采用多位点序列分型方法对分离到的57株空肠弯曲菌进行分析,总共得到了16个ST型。其中主要流行的ST型为ST693和ST45,这两个ST型的分离株存在于生鲜鸡、砧板、地面、桌面和抹布,这说明在商业厨房环境内存在着相同ST型菌株的交叉污染。但是采用该方法并未能明确揭示相同ST型菌株是否属于同一个克隆群,这也有待于进一步证实。虽然MLST分型技术具有可进行高通量分析、分辨率高、流程标准化、重复性强、数据易于保存和共享、可用于不同实验室之间进行交流等优点,但是该技术要求细菌的管家基因具有一定的变异性^[41],因此也存在局限性,比如基因相对保守的细菌(如炭疽杆菌、结核杆菌)并不适合使用该方法。

3.2 PFGE 分型

PFGE分型技术是在20世纪80年代后期发展起来的一种重要的分离大分子DNA的电泳技术。传统的琼脂糖凝

胶电泳技术分离DNA分子长度的上限是50 kbp,对于超过50 kbp的DNA分子,其分子筛作用较弱,可能无法清晰分辨电泳条带^[42]。随着科技的进步,该技术现在已经可以分离高达10 Mbp级的DNA分子片段。PFGE分型技术能够对整个染色体进行分析,具有重复性好、特异性高、易标准化、分辨力强等优点,是细菌分子分型研究的“金标准”^[43]。目前,PFGE分型技术已经被广泛应用于探索家禽养殖、屠宰直至最终消费等不同阶段之间弯曲菌的分子流行病学关系^[42]。很多研究通过PFGE分型技术证实了禽肉是人类感染弯曲菌的重要来源之一。SILVA等^[43]采用PFGE分型技术对从家禽粪便、禽肉和人类粪便鉴定出的弯曲菌分离株进行分析,发现在巴西南部不同的禽类中分布着不同的弯曲菌克隆群。同时PFGE分子图谱显示鸡肉可能是家禽产品弯曲菌污染的重要来源。在芬兰,IMAI等^[44]采用了PFGE分型方法分析了102株弯曲菌(70株来自人类,32株来自家禽),证实了家禽产品是该研究区域内的二级人类感染源。YU等^[45]对韩国仁川市发生的中学生胃肠炎疫情进行了一项回顾性队列研究。通过对教师、学生和餐厅厨师采用问卷调查的形式,收集有关症状、餐厅食物食用天数和食物种类等信息。从66名患病学生和11名餐厅厨师中采集粪便样品,并从餐饮厨房采集食物样品进行流行病学分析。研究发现791人中,92人患病,发病率为11.6%。在77份粪便样品中,空肠弯曲菌的阳性样品有31份(40.3%)。采用PFGE对弯曲菌分离株进行分子分型分析,结果显示DBRS16.001($n=29$ 株)、DBRS16.002($n=1$ 株)和DBRS16.003($n=1$ 株)。DBRS16.001模式与DBRS16.002模式和DBRS16.003模式的相似性分别为92.3%和85.5%,PFGE的结果证实了疾病暴发中的感染源是一致的。通过对餐厅厨师的采访调查,发现可能是因为食用了未煮熟的鸡肉导致此次疫情的暴发。这也是韩国国内首次报道与食用受污染鸡肉相关的空肠弯曲菌感染。CARDOSO等^[29]对葡萄牙家庭厨房内生鲜鸡加工过程中弯曲菌的污染状况进行调查,通过脉冲场凝胶电泳对分离到的72株弯曲菌进行了基因型鉴定,发现在3个家庭中分离到的5株空肠弯曲菌表现出相似的PFGE图谱,这证实了生鲜鸡与砧板、抹布及水槽之间存在弯曲菌的交叉污染。当然,PFGE分型技术也有其不足之处,首先DNA重排会影响到PFGE的分析;其次,PFGE图谱仅仅包含DNA片段的大小和多少等信息,并不包括具体的序列信息,这会导致其准确性下降。此外,PFGE分型技术操作过程复杂、需要昂贵的仪器、影响因素多、耗时长、且各实验室所采用的酶切电泳等条件不同,这会造成实验结果无法进行对比;与其他病原菌相比,弯曲菌的基因组较小,这可能是导致该方法对弯曲菌的分辨力降低的重要原因^[46]。

3.3 WGS 分型

病原菌WGS分型是指对病原菌整个基因组的核苷酸序列进行测序,并通过分析这些核苷酸携带的全部遗传信

息而达到分子分型的目的。WGS 分型包含了病原菌全部的基因序列信息,可用于发现基因组结构的变异^[47]。目前,病原菌 WGS 分型主要有两种方式:基于全基因组的单核苷酸多态性分型(whole genome-based single-nucleotide polymorphisms, wgSNP)和基于全基因组的多位点序列分型(whole genome multilocus sequence typing, wgMLST)。通过 WGS、比较基因组学和群体遗传学构建系统发育树,并结合流行病学调查,可准确推测病原体之间的进化关系,为疾病的暴发识别和溯源分析提供可靠的依据^[48]。

MOFFATT 等^[49]对从澳大利亚某学校厨房的鸡肝和临床病人样品中分离出来的空肠弯曲菌和结肠弯曲菌进行 wgMLST 测序,结果显示了 3 种不同的基因序列类型,包括 ST991(食物来源)、ST535 和 ST528(均为临床来源),并证实了此次弯曲菌感染是由于食用受弯曲菌污染的鸡肝所引起的。该研究通过流行病学证据(包括全基因组数据)有效地支持了公共卫生调查。wgMLST 的使用突出了弯曲菌在流行病学调查中的显著多样性。在瑞典南部地区,LAHTI 等^[50]对一次婚宴上暴发的弯曲菌感染进行分子溯源调查,同时采用 PFGE 和全基因组测序技术,对 3 株鸡源和 6 株患者分离株进行了分型分析。在 5 株人源和 1 株鸡源空肠弯曲菌分离株以及 2 株结肠弯曲菌分离株(1 株人源和 1 株鸡源)中,鉴定出了相似的 PFGE 图谱。并且采用全基因组测序分型进一步证实了 PFGE 的结果,6 株空肠弯曲菌的分离株属于一个克隆群,且 ST 型均为 ST50。这充分证明此次疾病的暴发是由于处理新鲜鸡肝时的交叉污染或者食用未煮熟的鸡肝而引起的。同时在人源和鸡源弯曲菌的分离株中可以发现相同的基因型,进一步支持了疾病暴发和鸡肝来源的养殖场之间的联系。从而强调了在鸡群养殖阶段实施严格的生物防控措施以及烹饪阶段充分烹煮鸡肝来防止弯曲菌感染人类的重要性。在我国东部地区,CHEN 等^[51]对一所中学内暴发的弯曲菌病感染进行调查,通过对厨房工作人员和腹泻患者的肛拭子以及市场的生鸡肉进行弯曲菌的检测,并结合全基因组测序技术分析,发现 4 株腹泻病人分离株与 1 株鸡肉分离株共有 99% 的相似等位基因,首次证实了生鲜鸡肉是此次疾病暴发的潜在来源。在 LAI 等^[52]的研究中,通过对我国一家商业厨房内分离到的 75 株空肠弯曲菌进行全基因组测序技术分析,发现从生鲜鸡、刀具、双手及抹布中分离出来的空肠弯曲菌菌株的 ST 型相同,并且它们的核心基因组高度同源,这说明这些菌株属于同一个克隆群,这进一步证实了在我国商业厨房内生鲜鸡加工过程中存在着弯曲菌的交叉污染。WGS 不仅能对菌株进行分型,还能够获得分子血清型、耐药和毒力基因谱等信息,同时也可以建立公共分型网站和菌株的数据库,实现数据的共享和查询^[53]。

4 结束语

弯曲菌是重要的食源性病原菌之一,禽肉在其流行传

播中扮演着极其重要的角色。在当今社会,消费者越来越多的选择外出就餐,食品安全问题日益突出。而在我国厨房内不当的加工操作又极易引发弯曲菌的交叉污染。但是我国对家庭厨房内以及新兴的中央厨房内禽肉加工过程中弯曲菌的流行性监测极少,相关的研究都有待于开展。因此,应加强厨房内禽肉加工过程中弯曲菌的流行病学监测,从而建立起从农场到餐桌完整的监测体系,为建立起完善的病原菌风险评估体系奠定基础。随着科学溯源技术的发展和防控措施完善,以及未来人类对弯曲菌的全面认知,弯曲菌的流行必将得到遏制。

参考文献

- [1] FISCHER GHPE. *Campylobacter*. 2022 Aug 8. in: Statpearls [internet] [M]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022.
- [2] COSTA D, IRAOLA G. Pathogenomics of emerging *Campylobacter* species [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(4): e00072-18.
- [3] LTD IOESAR. Notifiable diseases in New Zealand: Annual report 2016. Porirua, New Zealand: Institute of environmental science and research Ltd; 2017 [Z]. 2018.
- [4] ENGLAND PH. *Campylobacter* data 2006 to 2015. November 2016. National laboratory data for residents of England and Wales. London, United Kingdom [Z]. 2018.
- [5] MOFFATT CRM, FEARNEY E, BELL R, et al. Characteristics of *Campylobacter* gastroenteritis outbreaks in Australia, 2001 to 2016 [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020, 17(5): 308-315.
- [6] RAY LC, COLLINS JP, GRIFFIN PM, et al. Decreased incidence of infections caused by pathogens transmitted commonly through food during the COVID-19 pandemic-foodborne diseases active surveillance network, 10 U.S. sites, 2017-2020 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2021, 70(38): 1332-1336.
- [7] SHER AA, ASHRAF MA, MUSTAFA BE, et al. Epidemiological trends of foodborne *Campylobacter* outbreaks in the United States of America, 1998-2016 [J]. Food Microbiol, 2021, 97: 103751.
- [8] EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017 [J]. EFSA J, 2018, 16(12): e05500.
- [9] LI Y, GU Y, LV J, et al. Laboratory study on the gastroenteritis outbreak caused by a multidrug-resistant *Campylobacter coli* in China [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020, 17(3): 187-193.
- [10] LI Y, ZHANG S, HE M, et al. Prevalence and molecular characterization of *Campylobacter* spp. isolated from patients with diarrhea in Shunyi, Beijing [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 52.
- [11] LAKE RJ, CAMPBELL DM, HATHAWAY SC, et al. Source attributed case-control study of campylobacteriosis in New Zealand [J]. Int J Infect Dis, 2021, 103: 268-277.
- [12] ROSNER BM, SCHIELKE A, DIDELOT X, et al. A combined

- case-control and molecular source attribution study of human *Campylobacter* infections in Germany, 2011–2014 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5139.
- [13] EFSA& ECDC. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016 [J]. *EFSA J*, 2017, 15: e5077.
- [14] LAKE RJ, CAMPBELL DM, HATHAWAY SC, *et al.* Source attributed case-control study of campylobacteriosis in New Zealand [J]. *Int J Infect Dis*, 2021, 103: 268–277.
- [15] HAVELAAR AH, HAAGSMA JA, MANGEN MJ, *et al.* Disease burden of foodborne pathogens in the Netherlands, 2009 [J]. *Int J Food Microbiol*, 2012, 156(3): 231–238.
- [16] EFSA& ECDC. The European Union one health 2018 zoonoses report [J]. *EFSA J*, 2019, 17(12): e05926.
- [17] MEAD GC, SCOTT MJ. Spread of an enteric ‘marker’ organism during evisceration of New York dressed poultry in a simulated kitchen environment [J]. *Br Poult Sci*, 1997 38(2): 195–198.
- [18] DAWKINS HC, BOLTON FJ, HUTCHINSON DN. A study of the spread of *Campylobacter jejuni* in four large kitchens [J]. *J Hyg (Lond)*, 1984, 92(3): 357–364.
- [19] LAI HG, TANG YY, REN FZ, *et al.* An investigation into the critical factors influencing the spread of *Campylobacter* during chicken handling in commercial kitchens in China [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(6): 1164.
- [20] MORETTO T, NGUYEN-THE C, DIDIER P, *et al.* Consumer practices and prevalence of *Campylobacter*, *Salmonella* and *Norovirus* in kitchens from six European countries [J]. *Int J Food Microbiol*, 2021, 347: 109172.
- [21] MEDEIROS DT, SATTAR SA, FARBER JM, *et al.* Occurrence of *Campylobacter* spp. in raw and ready-to-eat foods and in a Canadian food service operation [J]. *J Food Prot*, 2008, 71(10): 2087–2093.
- [22] HUMPHREY T, MASON M, MARTIN K. The isolation of *Campylobacter jejuni* from contaminated surfaces and its survival in diluents [J]. *Int J Food Microbiol*, 1995, 26(3): 295–303.
- [23] JONES AK, RIGBY D, BURTON M, *et al.* Restaurant cooking trends and increased risk for *Campylobacter* infection [J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(7): 1208–1215.
- [24] REIJ MW, DEN-AANTREKKER ED. Recontamination as a source of pathogens in processed foods [J]. *Int J Food Microbiol*, 2004, 91(1): 1–11.
- [25] 姜红如, 李凤琴, 于红霞. 食物加工过程中交叉污染与微生物定量风险评估[J]. *卫生研究*, 2013, (5): 875–879.
- JIANG HR, LI FQ, YU HX. Cross contamination and quantitative risk assessment of microorganisms in food processing [J]. *J Hyg Res*, 2013, (5): 875–879.
- [26] PÉREZ-RODRÍGUEZ F, VALERO A, CARRASCO E, *et al.* Understanding and modelling bacterial transfer to foods: A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2008, 19(3): 131–144.
- [27] DUQUE B, REZE S, ROSSERO A, *et al.* Quantification of *Campylobacter jejuni* gene expression after successive stresses mimicking poultry slaughtering steps [J]. *Food Microbiol*, 2021, 98: 103795.
- [28] ASUMING-BEDIAKO N, KUNADU AP, JORDAN D, *et al.* Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *Campylobacter jejuni* in raw retail chicken meat in Metropolitan Accra, Ghana [J]. *Int J Food Microbiol*, 2022, 376: 109760.
- [29] CARDOSO MJ, FERREIRA V, TRUNINGER M, *et al.* Cross-contamination events of *Campylobacter* spp. in domestic kitchens associated with consumer handling practices of raw poultry [J]. *Int J Food Microbiol*, 2021, 338: 108984.
- [30] MOORE G, BLAIR IS, MCDOWELL DA. Recovery and transfer of *Salmonella typhimurium* from four different domestic food contact surfaces [J]. *J Food Prot*, 2007, 70(10): 2273–2280.
- [31] BOER E, HAHNE M. Cross-contamination with *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. from raw chicken products during food preparation [J]. *J Food Prot*, 1990, 53(12): 1067–1068.
- [32] GORMAN R, BLOOMFIELD S, ADLEY CC. A study of cross-contamination of food-borne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland [J]. *Int J Food Microbiol*, 2002, 76(1–2): 143–150.
- [33] BEUMER RR, TEGIFFEL MC, SPOORENBERG E, *et al.* *Listeria* species in domestic environments [J]. *Epidemiol Infect*, 1996, 117(3): 437–442.
- [34] MATTICK K. The survival of foodborne pathogens during domestic washing-up and subsequent transfer onto washing-up sponges, kitchen surfaces and food [J]. *Int J Food Microbiol*, 2003, 85(3): 213–226.
- [35] CHEN Y, JACKSON KM, CHEA FP, *et al.* Quantification and variability analysis of bacterial cross-contamination rates in common food service tasks [J]. *J Food Prot*, 2001, 64(1): 72–80.
- [36] 伊廷存, 霍胜楠, 程祥龙, 等. 食源性致病菌溯源分型技术研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 16(10): 5293–5298.
- YI TC, HUO SN, CHENG XL, *et al.* Advances in traceability typing and identification of foodborne pathogens [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 16(10): 5293–5298.
- [37] RICKE SC, KHATIWARA A, KWON YM. Application of microarray analysis of foodborne *Salmonella* in poultry production: A review [J]. *Poult Sci*, 2013, 92(9): 2243–2250.
- [38] CANTON R, COQUE TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2006, 9(5): 466–475.
- [39] ZHANG G, ZHANG X, HU Y, *et al.* Multilocus sequence types of *Campylobacter jejuni* isolates from different sources in Eastern China [J]. *Curr Microbiol*, 2015, 71(3): 341–346.
- [40] NOHRA A, GRINBERG A, MIDWINTER AC, *et al.* Exposure to whole chicken carcasses may present a greater risk of campylobacteriosis compared to exposure to chicken drumsticks [J]. *Zoonoses Public Health*, 2018, 65(7): 822–830.
- [41] 陈颖, 王娉, 杨海荣, 等. 食源性病原菌分型方法研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2012, 3(2): 136–139.
- CHEN Y, WANG P, YANG HR, *et al.* Progress on subtyping methods of foodborne pathogen [J]. *J Food Saf Qual*, 2012, 3(2): 136–139.

- [42] 王宇. 脉冲场凝胶电泳技术在致病菌分型技术的应用[J]. 中国卫生生产, 2015, 12(23): 186–189.
- WANG Y. Pulsed-field gel electrophoresis and its application in pathogen molecular typing [J]. China Health Ind, 2015, 12(23): 186–189.
- [43] SILVA DT, TEJADA TS, BLUM-MENEZES D, *et al.* *Campylobacter* species isolated from poultry and humans, and their analysis using PFGE in southern Brazil [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 217: 189–194.
- [44] IMAI Y, KIKUCHI M, MATSUDA M, *et al.* Macro-fingerprinting analysis at the chromosomal genomic DNA level of isolates of thermophilic *Campylobacter coli* and *C. jejuni*, by pulsed-field gel electrophoresis [J]. Cytobios, 1994, 78(313): 115–122.
- [45] YU JH, KIM NY, CHO NG, *et al.* Epidemiology of *Campylobacter jejuni* outbreak in a middle school in Incheon, Korea [J]. J Korean Med Sci, 2010, 25(11): 1595–1600.
- [46] 邢丽萍, 薛永春, 杨月清. 空肠弯曲菌分型技术的研究进展[J]. 公共卫生与预防医学, 2012, 23(6): 58–60.
- XING LP, XUE YC, YANG YQ. Research progress in typing techniques of *Campylobacter jejuni* [J]. J Pub Health Prey Med, 2012, 23(6): 58–60.
- [47] GENESTET C, TATAI C, BERLAND JL, *et al.* Prospective whole-genome sequencing in tuberculosis outbreak investigation, France, 2017–2018 [J]. Emerg Infect Dis, 2019, 25(3): 589–592.
- [48] 李柏生, 柯昌文, 张永慧. 全基因组测序在食源性疾病监控和暴发调查中的应用[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(2): 269–272.
- LI BS, KE CW, ZHANG YH. Application of whole genome sequencing for the foodborne disease surveillance and outbreak investigation [J]. Chin J Food Hyg, 2016, 28(2): 269–272.
- [49] MOFFATT CR, GREIG A, VALCANIS M, *et al.* A large outbreak of *Campylobacter jejuni* infection in a university college caused by chicken liver pate, Australia, 2013 [J]. Epidemiol Infect, 2016, 144(14): 2971–2978.
- [50] LAHTI E, LOFDAHL M, AGREN J, *et al.* Confirmation of a campylobacteriosis outbreak associated with chicken liver pate using PFGE and WGS [J]. Zoonoses Public Health, 2017, 64(1): 14–20.
- [51] CHEN H, DAI Y, CHEN J, *et al.* Epidemiological and whole genomic sequencing analysis of a *Campylobacter jejuni* outbreak in Zhejiang Province, China, May 2019 [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020, 17(12): 775–781.
- [52] LAI H, TANG Y, WANG Z, *et al.* Handling practice as a critical point influencing the transmission route of campylobacter throughout a commercial restaurant kitchen in China [Z]. 2022.
- [53] BILLINGTON C, KINGSBURY JM, RIVAS L. Metagenomics approaches for improving food safety: A review [J]. J Food Prot, 2022, 85(3): 448–464.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



赖宏刚, 博士, 讲师, 主要研究方向为食源性病原菌与食品安全。
E-mail: lhghstc@163.com



黄金林, 博士, 教授, 主要研究方向为人畜共患病原微生物与食品安全。
E-mail: jinlin@yzu.edu.cn