

· 实验技术 ·

一起中学弯曲菌食源性疾病暴发事件的病原学检测结果

郑艳敏¹, 王波¹, 滕臣刚¹, 黄飞飞¹, 田礼钦¹, 杨海兵², 张梦寒²

1. 苏州市疾病预防控制中心食品卫生科, 江苏 苏州 215004; 2. 苏州市疾病预防控制中心, 江苏 苏州 215004

摘要: **目的** 分析苏州市某中学一起弯曲菌食源性疾病暴发事件的病原学检测结果, 为弯曲菌食源性疾病暴发事件致病因子识别提供参考。**方法** 收集该事件病例肛拭子18份、食堂工作人员肛拭子10份、留样食品43份、饮用水样品2份、食品原材料2份和环境涂抹样品31份, 采用胃肠道感染测试条快速筛查病原体, 采用双孔滤膜法分离培养病原菌, 采用脉冲场凝胶电泳(PFGE)进行聚类分析, 采用弯曲菌琼脂稀释法进行药敏试验。**结果** 共报告63例病例, 主要临床症状有腹泻, 51例占80.95%; 发热, 39例占61.90%。无住院和死亡病例。分离培养出弯曲菌阳性样本12份, 其中11份来源于病例肛拭子, 为空肠弯曲菌阳性10份, 结肠弯曲菌阳性1份; 1份来源于食品原材料, 为结肠弯曲菌阳性。PFGE聚类分析结果显示, 10株空肠弯曲菌同源性100.0%; 对萘啶酸、环丙沙星和四环素耐药率为100.0%, 且表现出多重耐药性。**结论** 这是一起由空肠弯曲菌感染引起的食源性疾病暴发事件; 采用胃肠道感染测试条、双孔滤膜法分离培养及PFGE分子分型技术能够快速、准确识别致病因子。

关键词: 空肠弯曲菌; 食源性疾病暴发; 脉冲场凝胶电泳; 病原学特征

中图分类号: R516.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 02-0321-04

Etiological characteristics of an outbreak of *Campylobacter* foodborne disease in a middle school

ZHENG Yanmin¹, WANG Bo¹, TENG Chengang¹, HUANG Feifei¹, TIAN Liqin¹, YANG Haibing², ZHANG Menghan²

1. Department of Food Hygiene, Suzhou Center for Disease Control and Prevention, Suzhou, Jiangsu 215004, China;

2. Suzhou Center for Disease Control and Prevention, Suzhou, Jiangsu 215004, China

Abstract: Objective To analyze the etiological characteristics of an outbreak of *Campylobacter* foodborne disease in a middle school in Suzhou City, so as to provide insights into the identification of pathogenic factors of *Campylobacter* foodborne disease outbreaks. **Methods** Eighteen anal swabs from patients, 10 anal swabs from canteen workers, 43 food samples, 2 drinking water samples, 2 food original material samples and 31 environmental samples were collected, and the pathogens were rapidly screened using the gastrointestinal infection detection strip. The pathogens were isolated and cultured using the double-pore filtration membrane method, and cluster analysis of bacterial isolates was performed using pulsed field gel electrophoresis (PFGE). In addition, the susceptibility of *Campylobacter* isolates to antibiotics was tested using the *Campylobacter* agar dilution method. **Results** A total of 63 cases with *Campylobacter* infections were reported, and the major clinical symptoms included diarrhea (51 cases, 80.95%) and fever (39 cases, 61.90%), while no inpatients or deaths were found. Twelve *Campylobacter*-positive samples were detected, including 11 anal swabs sampled from patients and one food original material sample. Among the 11 positive anal swabs, there were 10 samples positive for *Campylobacter jejuni* and one sample positive for *C. coli*, and of the one positive food original material, *C. coli* was identified. PFGE analysis showed that 10 *C. jejuni* isolates had 100.0% homology, and these 10 isolates were 100.0% resistant to naphthylidic acid, ciprofloxacin and tetracycline, appearing multidrug resistance. **Conclusions** This is an outbreak of foodborne disease caused by *C. jejuni* infections. Gastrointestinal infection detection strips, double-pore

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.03.022

基金项目: 苏州市科技发展计划(民生科技)项目(SS202043); 苏州市“科教兴卫”青年科技项目(KJXW2021055)

作者简介: 郑艳敏, 硕士, 主管医师, 主要从事食品安全与营养工作

通信作者: 张梦寒, E-mail: 68865691@qq.com

filtration membrane and PFGE typing are rapid and accurate to identify pathogenic factors.

Keywords: *Campylobacter jejuni*; foodborne disease outbreak; pulsed field gel electrophoresis; etiological characteristics

弯曲菌属微需氧、革兰阴性杆菌，菌体弯曲如小逗点状，主要通过污染肉制品经口传播，是美国第二常见的食源性致病菌，每年影响超过 130 万人；同时在世界范围内已确认的引起腹泻的病原体中居第四位^[1]。已有 12 种弯曲菌被确定为能引起人类感染的病原体，其中空肠弯曲菌造成超过 90% 的人类弯曲菌感染。流行病学调查显示，弯曲菌常在生鸡肉中发现^[2]。可能由于实验室检测能力不足，2003—2017 年我国未报告由弯曲菌引起的食源性暴发事件^[3]。2016 年弯曲菌过滤培养法在全国推广，食源性疾病病例中弯曲菌检出率提升至 12%^[4]。本研究对苏州市首起由弯曲菌感染引起的食源性疾病暴发事件进行病原学分析，为弯曲菌食源性疾病暴发事件致病因子的识别提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品来源 2021 年 5 月 19 日苏州市某中学发生 1 起弯曲菌食物中毒事件，共 63 人发病，均为学生。采集病例肛拭子 18 份，食堂工作人员肛拭子 10 份，留样食品 43 份，饮用水样品 2 份，食品原材料 2 份，环境涂抹样品 31 份。药敏试验质控菌株空肠弯曲菌 ATCC 33560 由 Microbiologics 提供；脉冲场凝胶电泳（pulsed field gel electrophoresis, PFGE）分子对照菌株沙门菌 H9812 由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所提供。

1.2 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 30 全自动细菌鉴定仪（法国梅里埃公司）；FilmArray™ 系统及胃肠道感染测试条（FilmArray GI Panel）（法国梅里埃公司）；PFGE 电泳系统 CHEF Mapper 及分子成像系统 Universal Hood II（美国 Bio-Rad 公司）；VITEK 2 NH 鉴定卡（法国梅里埃公司）；微需氧产气包（美国 Thermo 公司）。双孔滤膜法弯曲菌检测试剂盒及弯曲菌琼脂稀释法抗生素最低抑菌浓度（minimum inhibitory concentration, MIC）检测试剂盒（青岛中创汇科生物科技有限公司），包含红霉素、阿奇霉素、泰利霉素、克林霉素、萘啶酸、环丙沙星、庆大霉素、链霉素、氯霉素、氟苯尼考和四环素等 11 种抗生素；哥伦比亚血琼脂培养基（广州迪景微生物科技有限公司）；限制性内切酶 *Xba* I（美国 Promega 公司）；限制性内切酶 *Sma* I（大连 Takara 公司）；SeaKem Gold 琼脂糖（瑞士 Lonza 公司）；聚乙二醇

十六烷基醚和脱氧胆酸钠（美国 Sigma 公司）；Gel-Red 染液（美国 Biotium 公司）；1 mol/L Tris-HCl、0.5 mol/L EDTA 及 5×TBE（北京索莱宝科技有限公司）。

1.3 方法

1.3.1 多种病原体快速筛查 将 28 份肛拭子制作成 4 个混合样品，使用胃肠道感染测试条对 22 种胃肠道感染病原体进行快速筛查，包括 13 种细菌（弯曲菌属、艰难梭菌毒素 A/B、类志贺邻单胞菌、沙门菌、弧菌属、霍乱弧菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌、6 种致泻性大肠埃希菌/志贺菌）、4 种寄生虫（隐孢子虫、环孢子虫、痢疾阿米巴和蓝氏贾第鞭毛虫）和 5 种病毒（腺病毒 F 组 40/41、星状病毒、诺如病毒 G I/G II、轮状病毒 A 群和札如病毒）。

1.3.2 弯曲菌的双孔滤膜法分离培养 留样食品和食品原材料用 0.1% 的蛋白胨水润洗，取 1 mL 润洗液加入到 4 mL 弯曲菌促生长增菌培养液中；取饮用水样品和环境涂抹样品各 1 mL 加入到 4 mL 弯曲菌促生长增菌培养液中；肛拭子直接溶于 4 mL 弯曲菌促生长增菌培养液中。混匀，42℃微需氧，增菌培养 24 h。无菌放置 45 μm 滤膜于弯曲菌选择性平板表面，将 200 μL 增菌液分成 6~8 个点均匀滴加于滤膜上，待液体充分透过滤膜后，轻轻揭开滤膜，弃去。42℃微需氧培养 48 h，参照 GB 4789.9—2014《食品微生物学检验 空肠弯曲菌检验》分离鉴定空肠弯曲菌和结肠弯曲菌，挑取仅在微需氧条件下生长的可疑菌落用 VITEK 2 Compact 30 全自动细菌鉴定仪鉴定。

1.3.3 弯曲菌菌株 PFGE 分子分型 参考文献 [5] 和《国家致病菌识别网技术手册（2020 版）》的细菌分子分型实验方法，采用 PFGE 对空肠弯曲菌菌株进行分子分型。以限制性内切酶 *Sma* I 对空肠弯曲菌菌株进行酶切，初始转换时间 6.76 s，终末转换时间 35.38 s，电泳时间 19 h。采用 BioNumerics 8.0 软件非加权配对算术平均法对 PFGE 图谱进行聚类分析。聚类分析图谱显示带型相似度 65%~80% 为同一亚群，>80% 为同一亚型，>90% 为同一克隆株^[6]。

1.3.4 空肠弯曲菌菌株药敏试验 采用弯曲菌琼脂稀释法进行药敏试验。挑取在血平板上生长的新鲜菌落至生理盐水中，制成 10⁸ CFU/mL 的菌悬液，用无菌生理盐水 10 倍稀释，按照试剂盒说明书要求用 8 联排无菌加样枪吸取 2 mL 菌悬液点加在药敏板检测孔

琼脂上,药敏板 42℃微需氧培养 24 h,观察空肠弯曲菌菌株生长情况并记录 MIC。MIC 折点:红霉素≥8 μg/mL、环丙沙星≥4 μg/mL、四环素≥16 μg/mL、阿奇霉素≥1 μg/mL、萘啶酸≥32 μg/mL、庆大霉素≥4 μg/mL、链霉素≥16 μg/mL、氯霉素≥32 μg/mL、氟苯尼考≥8 μg/mL、泰利霉素≥8 μg/mL 和克林霉素≥1 μg/mL^[7-8]。多重耐药指对 3 种及以上抗菌药物耐受。

2 结果

2.1 病例临床特征 63 例病例中腹泻 51 例,占 80.95%;发热 39 例,占 61.90%;头痛 19 例,占 30.16%;呕吐 7 例,占 11.11%;腹痛 4 例,占 6.35%;乏力 3 例,占 4.76%;头晕 3 例,占 4.76%。就医的 23 例病例血常规检测结果显示,白细胞升高 11 例,占 47.83%。潜伏期为 2~6 d, $M(Q_R)$ 为 2.88 (0.38) d。无住院和死亡病例。

2.2 病原菌检测结果 快速筛查结果显示弯曲菌核酸阳性,其他病原体阴性。双孔滤膜法分离培养出阳性样本 12 份;其中 11 份来源于病例肛拭子,为空肠弯曲菌阳性 10 份,结肠弯曲菌阳性 1 份;1 份来源于食品原材料,为结肠弯曲菌阳性。结合流行病学调查和实验室检测结果判断这是一起由弯曲菌引起的食源性疾病暴发事件,可疑食物是 5 月 17 日中餐的土耳其烤肉,原材料为去骨鸡腿肉。

2.3 PFGE 分型结果 10 株空肠弯曲菌(病例 TC1、TC3、TC6、TC10、TC11、TC16、TC18、TC22、TC24、TC26)的 PFGE-Sma I 聚类分析图谱完全一致,同源性 100.0%,属同一克隆株,见图 1。2 株结肠弯曲菌同源性为 82.4%,为同一亚型。

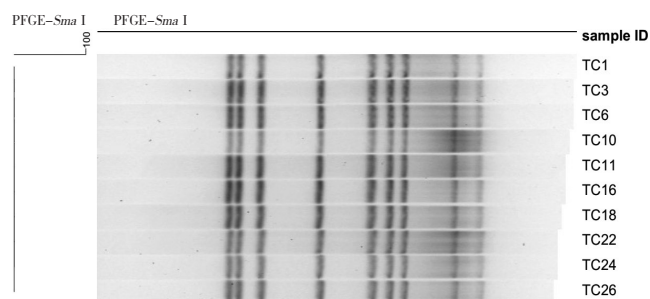


图 1 10 株空肠弯曲菌的 PFGE 聚类分析图谱

Figure 1 PFGE analysis of subtypes of 10 *Campylobacter jejuni* isolates

2.4 药敏试验结果 10 株空肠弯曲菌菌株对萘啶酸、环丙沙星和四环素耐药率为 100.0%,表现为多

重耐药性;对红霉素、阿奇霉素、庆大霉素、链霉素、氯霉素、氟苯尼考、泰利霉素和克林霉素 100.0% 敏感。

3 讨论

弯曲菌感染潜伏期为 2~5 d,症状持续 1 周左右^[9],实验室分离培养时间长且要求条件苛刻。为快速追踪传染源并有效控制疫情,本研究优化了弯曲菌检测流程,采用胃肠道感染测试条快速筛查病原体,双孔滤膜法分离培养鉴定,PFGE 技术溯源。实验室传统分离培养方法至少需要 96 h 且检出率低,本研究优化检测流程后在 1 h 内即可检出病原体,同时可减少杂菌干扰,提高检出率。

PFGE 具有重现性好、分辨率高、结果稳定和易于标准化等优点,已广泛应用于疫情调查和传染源追踪。本次实验室检测显示弯曲菌阳性样本 12 份,其中 10 份来源于病例的空肠弯曲菌同源性为 100.0%;结肠弯曲菌同源性为 82.4%,为同一亚型,认为本次事件由结肠弯曲菌感染导致证据不足。留样食品及饮用水样品中未检出空肠弯曲菌,可能与留样时间过长、工作人员采样部位、实验室检测能力和弯曲菌自身特点有关。

本研究检出的 10 株空肠弯曲菌对萘啶酸、环丙沙星和四环素的耐药率均为 100.0%,具有多重耐药性,与 LI 等^[10]和 ZHANG 等^[11]的研究结论相近。10 株空肠弯曲菌对红霉素、阿奇霉素、庆大霉素、链霉素、氯霉素、氟苯尼考、泰利霉素和克林霉素 100.0% 敏感,与北京市房山区(空肠弯曲菌对红霉素、阿奇霉素、泰利霉素、氯霉素、克林霉素、链霉素和庆大霉素敏感性均超过 80%)^[12]和深圳市南山区(空肠弯曲菌对红霉素、阿奇霉素、泰利霉素、克林霉素、链霉素和庆大霉素均 100.00% 敏感)^[4]结果相近,对临床治疗空肠弯曲菌引起的食源性疾病具有指导意义。应充分关注空肠弯曲菌的耐药性,建立长期监测系统^[13]。

综上所述,采用胃肠道感染检测试条、双孔滤膜法分离培养和 PFGE 分子分型技术能够快速、准确识别致病因子,可应用于弯曲菌引起的食源性疾病暴发事件的快速检测和定性,临床治疗时应根据药敏试验结果合理使用抗菌药物。

参考文献

[1] HSIEH Y H, SULAIMAN I M. Chapter 5-Campylobacteriosis: an emerging infectious foodborne disease-science direct [J]. Food-

- borne Dis, 2018; 119-155.
- [2] TÎRZIU E, BĂRBĂLAN, MORAR A, et al. Occurrence and antimicrobial susceptibility profile of *Salmonella* spp. in raw and ready-to-eat foods and *Campylobacter* spp. in retail raw chicken meat in Transylvania, Romania [J]. Foodborne Pathog Dis, 2020, 17 (8): 479-484.
- [3] LI W, PIREZ S M, LIU Z, et al. Surveillance of foodborne disease outbreaks in China, 2003-2017 [J/OL]. Food Control, 2020, 118 [2021-12-14]. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107359>.
- [4] 刘敏, 鞠长燕, 马艳萍, 等. 深圳市南山区腹泻患者弯曲菌感染及病原学特征分析 [J]. 疾病监测, 2020, 35 (1): 16-20.
LIU M, JU C Y, MA Y P, et al. Infection status of *Campylobacter* and its etiologic characteristics in diarrhea patients in Nanshan district, Shenzhen [J]. Dis Surveill, 2020, 35 (1): 16-20.
- [5] MOGHADAM S O, POURMAND M R, DOURAGHI M, et al. Utilization of PFGE as a powerful discriminative tool for the investigation of genetic diversity among MRSA strains [J]. Iran J Public Health, 2017, 46 (3): 351-356.
- [6] 商晓春, 周晓红, 帅慧群, 等. 一起空肠弯曲菌食源性疾病突发事件的流行病学和病原学研究 [J]. 中国学校卫生, 2020, 41 (11): 1741-1744.
SHANG X C, ZHOU X H, SHUAI H Q, et al. Epidemiological and etiological study on an emergency of foodborne disease caused by *Campylobacter jejuni* [J]. Chin J Sch Health, 2020, 41 (11): 1741-1744.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 3rd ed. CLSI Guideline M45 [S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.
- [8] Centers for Disease Control and Prevention. *Campylobacter* [EB/OL]. (2019-03-15) [2021-12-14]. <https://www.cdc.gov/narms/antibiotics-tested.html>.
- [9] Centers for Disease Control and Prevention. *Campylobacter* [EB/OL]. (2019-12-23) [2021-12-14]. <https://www.cdc.gov/campylobacter/faq.html>.
- [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/OL]. Front Microbiol, 2018, 9 [2021-12-14]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00052>.
- [11] ZHANG A, SONG L, LIANG H, et al. Molecular subtyping and erythromycin resistance of *Campylobacter* in China [J]. J Appl Microbiol, 2016, 121 (1): 287-293.
- [12] 刘海波, 刘颖, 王云霞, 等. 2018年北京市房山区弯曲菌监测结果及耐药性分析 [J]. 职业与健康, 2020, 36 (9): 1197-1199, 1204.
LIU H B, LIU Y, WANG Y X, et al. Surveillance results and antibiotic susceptibility analysis of *Campylobacter* in Fangshan District of Beijing in 2018 [J]. Occup Health, 2020, 36 (9): 1197-1199, 1204.
- [13] YU H, ELBEDIWI M, ZHOU X H, et al. Epidemiological and genomic characterization of *Campylobacter jejuni* isolates from a foodborne outbreak at Hangzhou, China [J/OL]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (8) [2021-12-14]. <https://doi.org/10.3390/ijms21083001>.
- 收稿日期: 2021-09-24 修回日期: 2021-12-14 本文编辑: 吉兆洋

· 读者 · 作者 · 编者 ·

2022年第2期优秀论文评审结果

《预防医学》2022年第2期刊出论文经编辑部推荐, 专家审议, 评选出优秀论文4篇, 编辑部将向优秀论文作者颁发荣誉证书。

1. 韩迪, 沈明珠, 施冰等作者《苏州市中小学生非同日3时点血压测量结果》
2. 杨天池, 李舒婷, 陈琴等作者《宁波市肺结核患者药物性肝损伤的影响因素研究》
3. 倪卫桂, 余勇, 谢悦等作者《成都市结直肠癌患者抑郁症状的影响因素研究》
4. 何丁玲, 冯世平, 赵霞等作者《艾滋病住院患者焦虑和抑郁情况调查》

《预防医学》编辑部