



肉类微生物学

- 1 肉类微生物学概论
 - 1.1 微生物的概念
 - 1.2 微生物的生物学特性
 - 1.3 肉类微生物学历史
 - 1.4 肉类微生物学的内容与研究任务
 - 1.5 微生物在肉制品中的控制
- 2 革兰氏阳性食源性致病菌
 - 2.1 肉毒梭菌
 - 2.2 产气荚膜梭菌
 - 2.3 单核增生性李斯特菌
 - 2.4 蜡样芽胞杆菌
 - 2.5 金黄色葡萄球菌
- 3 革兰氏阴性食源性致病菌
 - 3.1 沙门氏菌
 - 3.2 出血性大肠杆菌
 - 3.3 小肠结肠炎耶尔森氏菌
 - 3.4 空肠弯曲杆菌
 - 3.5 志贺氏菌
 - 3.6 副溶血性弧菌
 - 3.7 霍乱弧菌
 - 3.8 变形杆菌
 - 3.9 布氏杆菌
- 4 其他重要的肉类微生物
 - 4.1 霉菌
 - 4.2 酵母
 - 4.3 病毒
 - 4.4 肉类发酵剂
 - 4.5 肉类腐败菌
- 5 肉类微生物的控制
 - 5.1 化学性方法
 - 5.2 物理性方法
 - 5.3 抗生素类
 - 5.4 HACCP 体系
 - 5.5 食品微生物的快速检验

本期作者简介:

刘琳: 1984 年生 山东菏泽人, 西南大学 食品科学学 硕士
研究方向: 食品微生物学院
写作题目: 革兰氏阴性食源性致病菌
E-mail: iamliulin@163.com

发表论文:

- | | |
|---------------------|-------------------|
| 1 可食性抗菌膜在肉类食品保鲜中的应用 | 《肉类研究》2007 年 12 期 |
| 2 肉类微生物安全 | 《肉类研究》2008 年 2 期 |
| 3 调理肉制品保鲜技术研究进展 | 《肉类研究》2008 年 5 期 |

肉类微生物学(三)

Meat Microbiology(part3)

肉中革兰氏阴性食源性致病菌

刘琳

(西南大学 食品科学学院,重庆 400715)

摘要: 肉类是人们日常生活中必不可少的食品,但因其营养丰富极易受到微生物的污染而发生腐败变质,降低其食用价值和商品价值,缩短其货架期并增加食源性疾病的危害,因此肉类的安全越来越引起人们的关注。本文主要针对肉中的G⁻食源性致病菌的食品卫生学意义、生物学特性、流行病学特性、检验以及相应的预防措施进行了综述。

关键词: 肉类; G⁻食源性致病菌; 食品卫生; 流行病学特性

G⁻ Foodborne Pathogen in the Meats

Liu-Lin

(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715)

Abstract: Meat is the indispensable food in our daily life, but it's contaminated easily by the microorganism because of its rich nutrition, then it spoils and goes bad. This will reduce its dietary property and the goods value, shorten its shelf life and increase the foodborne hazardous, so the meat safety is drawing the people's close attention. The article reviewed mainly the significance of food hygiene, the bionomics, epidemiology characteristics, the analysis of gram-negative foodborne pathogen in the meats, and the corresponding preventive measures

Key words: Meat; Gram-negative foodborne pathogen; Food hygiene; Epidemiology characteristics

中图分类号: TS201.3 文献标志码: A 文章编号: 1001-8123 (2008)06-0032-15

食源性疾病是指通过食物进入人体内的各种致病因子引起的感染或中毒。食源性疾病是一个巨大并不断扩大的世界性公共卫生问题,无论在发达国家还是发展中国家,其发生率均居高不下,涉及到的人数之巨令人触目惊心。全球每年发生40~60亿例食源性腹泻,发展中国家每年有180万人口死于食源性腹泻,即使是在工业化国家,亦有30%以上的人群患食源性疾病。据美国CDC报道,美国每年约有7,600万人患食源性疾病,其中32,500人入院治疗,约有5,200人死亡。在我国食源性疾病也普遍存在,其中微生物食物中毒居首位。导致食物中毒的主要是动物性食品,其中肉类和水产品是高危

食品,肉及肉制品引起的食物中毒占20%,水产品引起的食物中毒占10%。Saucier博士在一篇关于肉类微生物安全的文章中估计,每年全球人口的5%~10%受到某种形式的畜产品污染的影响,其中33%是由受污染的肉类食品引起^[1]。因此十分有必要了解肉中食源性致病菌的相关知识。

1 沙门氏菌(*Salmonella* Species)

1.1 食品卫生学意义

沙门氏菌最早是由一个叫Salmon的美国人发现并由此命名。知道该菌可引起人类的疾病已有100多年的历史。沙门氏菌是引起食物感染与食物

中毒的重要致病菌,也是最常见的食源性疾病的病原微生物。据世界各国的统计资料证明:沙门氏菌引发的食物中毒在细菌性食物中毒中占据首位。2004年在FoodNet监控的感染型疾病实验室诊断15806例病例中,沙门氏菌6464例,约占总病例的40.9%。2005年欧盟共有176395例沙门氏菌感染,发病率为38.2/10万,是居第二位的人畜共患病^[2]。引起沙门氏菌感染和中毒的食品有多种,主要是动物源性食品,包括各种肉类、蛋类、乳类和水产品等,我国以肉类为主,日本以鱼类为主。健康家畜该菌的带菌率为2%~15%,鸡、鸭、鹅的带菌率较高,其中鸡带菌率为12%~14%。大型肉类加工厂:牛肉带菌率为6.2%、猪肉9%、鸡肉19.5%;分散屠宰带菌率较高:牛肉为42.1%、猪肉33.6%、羊肉14.3%。2005年欧盟食源性沙门氏菌感染的暴发中,禽肉占2.7%,猪肉占1.5%,牛肉占0.3%^[3]。山东省1983~2002年共发生沙门氏菌食物中毒286起,11228人中毒,15人死亡,平均年发病率为1.13/10万,病死率为0.13%;中毒食品以猪肉最多,其中毒起数、发病人数、死亡人数分别占总数的61.18%、62.46%、80.00%;中毒主要是由原料肉污染造成^[4]。2003年8月12日,新疆伊宁县巴依托海乡阿孜尔力村因参加婚宴聚餐发生267人食物中毒,经流行病学调查及病原学检验,证实为一起因食用病牛肉而由鼠伤寒沙门氏菌引发的群体突发性食物中毒事件^[5]。2006年6月12日,武汉市硚口区发生一起沙门氏菌食物中毒事件,经疾病预防控制中心调查得知:患者均食用了卤牛肉、卤牛肚、白斩鸡、酱板鸭^[6]。因此在食品卫生检验,尤其是在动物源性食品的检验中,将沙门氏菌检验列为重要的检验项目之一。

1.2 生物学特性

两端钝圆的短杆菌,(1~3) μm ×(0.4~0.9) μm ,无荚膜、芽胞,除鸡白痢和鸡伤寒沙门氏菌外,均有鞭毛,能运动。需氧或兼性厌氧菌,生长温度0~42℃,最适温度37℃,最适pH值6.8~7.8,最低Aw0.94,最高盐浓度8%。对营养要求不高,在普通培养基上均能良好生长。在普通营养琼脂上培养18~24h,可形成中等大小、圆形或近圆形、表面光滑、无色半透明、边缘整齐、直径2~3mm的菌落。本属各血清型细菌的生化特性非常一致:发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇和山梨醇产酸产气;不发酵乳糖、蔗糖和侧金盏花醇;靛基质、V-P、尿素酶、苯丙氨酸脱氨酶试验阴性;通常产生 H_2S 和利用枸橼酸盐。对热、消毒药及外界环境的抵抗力不

强。60℃ 15~20min即可杀死,100℃立即死亡。23℃时存活18~19个月,7℃以下存活20个月。-25℃低温冷冻可存活10个月以上。水中能存活2~3周,冰或粪便中可存活1~2个月,在乳及肉类中能存活数月,在含盐10%~15%的腌肉中可存活2~3个月,在冻肉中可存活6个月。水煮或油炸大块鱼、肉、香肠时,若食品内部温度达不到杀死该菌的温度时,它仍能存活。肉表面的沙门氏菌在温度适宜时一昼夜可向肉的内部侵入1~2cm,往往成为食物中毒的原因。5%石炭酸、0.2%升汞液,2%烧碱水等消毒液5min即能杀死。耐药菌株日益增多,其对药物的敏感性逐渐降低,许多耐药菌株具有耐药质粒,不仅能抵抗一种抗菌药物,甚至能抵抗多种抗菌药物。目前大多数菌株能抵抗青霉素、链霉素、土霉素、磺胺类药等,对庆大霉素、氯霉素、呋喃唑酮等均有较高的敏感性。

沙门氏菌属分为肠道沙门氏菌和邦戈尔沙门氏菌,肠道沙门氏菌几乎包括了所有对人和温血动物致病的各种血清型菌种。据调查统计,引起人类食物感染与中毒的沙门氏菌常见的有28个血清型,主要为鼠伤寒沙门氏菌、猪霍乱沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、都柏林沙门氏菌、纽波特沙门氏菌、汤卜逊沙门氏菌、爪哇沙门氏菌、海德堡沙门氏菌等,它们约占沙门氏菌中毒的60~70%以上。2004年美国CDC调查的5942例沙门氏菌分离菌株中(占总沙门氏菌实验室鉴定的92%),有五个血清型占到50%,其中鼠伤寒沙门氏菌1170例(20%),肠炎沙门氏菌865例(15%),纽波特沙门氏菌585例(10%),爪哇沙门氏菌406例(7%),海德堡沙门氏菌304例(5%)。

1.3 流行病学

1.3.1 传播源与传播途径

沙门氏菌广泛存在于自然界中,包括各种家畜、家禽、野生动物、鼠类体表、肠道和内脏以及被动物粪便污染的水和土壤中。有些畜禽生前患沙门氏菌病、外伤、疲劳、消瘦等抵抗力下降时,这些细菌就进入动物血液和肌肉呈现全身感染,在肉及内脏中则会带有更大量的沙门氏菌,通过畜禽屠宰、加工、运输、贮藏、销售、烹调等各个环节污染食品。此外,饮食行业从业人员是沙门氏菌病的患者或带菌者,也是一个重要的污染源。饲料被污染,导致动物带菌或感染,继而也会污染食品。食品被沙门氏菌污染后,在适宜的环境条件下增殖,当人们食入一定数量沙门氏菌的食品后,即可发生感染和中毒。一般认为中毒菌量为 10^3cfu/g 以上。

1.3.2 发病症状

沙门氏菌中毒一般分为五种类型：(1)胃肠炎型(约占病例70%)：突然发病，发烧、体温可达30~40℃以上，伴有恶寒、恶心、呕吐、腹泻、腹痛。主要由鼠伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌等引起。(2)类伤寒型：病情缓和，突有高烧，体温可达40℃以上，头痛、全身无力、四肢痛、腓肠肌痛或痉挛、腰痛及神经系统紊乱。多数由甲、乙、丙型副伤寒沙门氏菌等引起。(3)类霍乱型：剧烈腹泻、呕吐、体温升高、恶寒、全身无力、腹痛。可出现严重脱水以致循环衰竭。(4)类感冒型：体温升高、恶寒、全身不适、四肢及腰部痛、鼻塞、咽喉炎等上呼吸道症状。(5)败血症型：起病突然，有高烧、恶寒、出冷汗和轻重不一的胃肠炎症状，主要由猪霍乱沙门氏菌引起。沙门氏菌食物中毒发病率较高，高者可达80%~90%，一般为40%~60%。病程为3~7天，病死率通常为0.3%~0.5%。

1.3.3 致病机制

(1)侵袭力。有Vi抗原的沙门氏菌具有侵袭力，能穿过小肠上皮到达固有层。一般细菌在此部位常被吞噬细胞吞噬，但由于Vi抗原的保护作用，被吞噬后的该菌在细胞内不被破坏，反而在细胞内继续生长繁殖，并随游走的吞噬细胞将该菌带至机体的其他部位。(2)毒素。沙门氏菌有较强的内毒素，可引起发热、白细胞改变、中毒性休克，并能激活补体系统产生多种生化效应，导致一系列病理生理变化。(3)肠毒素。某些沙门氏菌如鼠伤寒沙门氏菌能产生类似大肠埃希菌的肠毒素。

1.4 检验与预防措施

GB 4789.4-2003适用于食品和中毒样品中沙门氏菌的检验。GB 4789.31-2003适用于各种食品、食物中毒的检验及食品从业人员肠道的沙门氏菌检验。目前其他快速检测技术如免疫荧光标记、酶联免疫吸附法、噬菌体裂解试验、核酸探针、PCR技术等^[7]。国内外也有多种商品化的生化快速检测系统如API系统、R/B系统、肠管系统等，其中API系统应用最为广泛。近些年来BAX系统在许多国家用于沙门氏菌的快速检测。预防措施^[8]：(1)控制养殖场的污染。从源头上确保畜禽产品不受沙门氏菌的污染，如确保良好的畜禽生活环境、畜禽体卫生、饮水和饲料卫生等。(2)控制加工、流通环节的污染。加强对畜禽产品加工、流通环节的监管，要求生产加工企业严格遵守畜禽产品安全生产技术规程，降低生产加工过程中沙门氏菌污染的危险，对上市前的畜禽产品进行强制性抽检，确保

受污染的畜禽产品不得进入市场。(3)控制饲料的污染。具体措施：①加酸处理 沙门氏菌在高于10℃、pH6~7.5时繁殖最快。目前饲料不可能作冷藏处理，但添加各种有机酸(甲酸、乙酸、丙酸和乳酸)降低饲料的pH，就可以消灭或抑制其沙门氏菌生长，并可改善动物肠道的微生物区系。②合理使用抗菌剂。已证实饲料中添加抗菌剂能有效抑制沙门氏菌。③加热处理。制粒过程中饲料所受到的热足以杀死沙门氏菌。当饲料含水量为15%，加热到88℃时可将沙门氏菌杀灭。(4)严格执行有关畜禽产品安全的法律法规，以法律的手段来约束整个畜禽产品生产链所有参与者的行为，尽量避免因沙门氏菌污染畜禽产品而导致食物中毒。在畜禽产品生产的整个链环中，对养殖、加工、销售等各个环节全面实行HACCP系统管理，即以沙门氏菌的流行病学为开端，沿着畜禽产品生产链一直追溯到养殖场实行全面控制，并将控制的重点放在对人类健康的直接危害上，确保到达消费者手中的产品是安全的。同时消费者注意正确的食用和贮藏方法，对可疑肉类和内脏等要彻底煮熟，大块肉要煮透，以防止内生；生、熟食品严格分开，防止交叉污染。此外研制沙门氏菌疫苗，如在英国接种预防疫苗的家禽由于大大减少了禽肉中的致病菌进而可以预防沙门氏菌病的发生。

2 出血性大肠杆菌(*Enterohemorrhagic Escherichia coli*)

2.1 食品卫生学意义

出血性大肠杆菌(EHEC)是致病性大肠杆菌中的一类，主要包括O157:H7、O26:H11和O111:MN，其中血清型O157:H7致病力最强。EHECO157感染可使人患腹泻、出血性结肠炎(HC)，还可引发溶血性尿毒综合征(HUS)及血栓性血小板减少紫癜(TTP)等严重并发症，严重者可导致死亡，致死率高达5%~10%。据美国CDC估计，美国每年约2万人因EHEC O157:H7发病，死亡人数可高达250~500人。近年来非洲、欧洲及英国、加拿大、澳大利亚、日本等国家均有EHECO157:H7引起的感染和中毒，且有些地区呈不断上升趋势。经调查知：牛的带菌率为1.1%，羊0.8%，猪0.6%，鸡0.3%^[9]。欧美等国食品中O157:H7的阳性率一般为0.07%~2%，最高可达10%以上，检出品种主要为牛肉、羊肉及汉堡包等。美国自1982年以来，已在40个州发生100多起EHECO157暴发，其中52%由牛肉制品引起^[10]。1999年加拿大、英国的EHECO157暴发由意大利腊肠引起。1988年我国

首次报道 O157:H7 出血性肠炎。该菌的感染现已成为一个全球性的公共卫生问题,无论在发达国家还是发展中国家,都受到广泛关注。

2.2 生物学特性

两端钝圆,单在或成对的中等大杆菌,(2~6) μm $\times$ (1.1~1.5) μm ,有时为卵圆形。本菌为周毛菌,能运动,不产生芽胞,许多菌株有荚膜。需要或兼性厌氧、对营养要求不高,15~45℃时均能生长,最适生长温度 37℃,最适 pH 7.2~7.4,最低 Aw 0.95,最高盐浓度 6.5%。在普通营养琼脂上培养 18~24h 后形成凸起、光滑、湿润、乳白色、边缘整齐、直径 2~3mm 的圆形菌落。本菌属细菌能发酵葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇产酸产气,菌株对蔗糖、卫矛醇、水杨苷发酵结果不一致;苯丙氨酸脱羧酶试验、H₂S、明胶液化、尿素酶、氰化钾试验阴性;赖氨酸脱羧酶试验、靛基质和 MR 试验阳性,靛基质、V-P 和枸橼酸盐利用试验阴性。在自然界生存能力较强,土壤、水中可存活数月,寒冷干燥的环境中可存活较久,而潮湿的环境中存活不到一个月。对热抵抗力不强,60℃ 30min 即可被杀死。对常用消毒剂的抵抗力不强,5%~10% 漂白粉,3% 来苏尔,5% 石碳酸等均能迅速杀死。在 2mol/l 游离氯的水中可很快死亡。对强酸和强碱较敏感。对抗菌药物的敏感性日益降低,耐药菌株也越来越多,不同国家和地区,不同动物源性大肠杆菌对抗生素类药物的敏感性也不同。

2.3 流行病学

2.3.1 传播源与传播途径

EHECO157 的贮存宿主主要是牛,其他的反刍动物以及家禽家畜如鸡、羊、猪、马、鹿、狗、家兔、鸟类等为潜在的宿主。EHECO157 能够长期寄居在健康携带者和健康的牛、羊等动物的肠道中,因此无症状的带菌者和动物都可能是传染源^[11]。被污染的食物、水及日常用品都可能成为传播因子。污染的肉类及其制品,未经巴氏消毒的牛奶,采摘过程中污染的水果和蔬菜,被污染的饮用水、娱乐场所用水和农田灌溉水均可引发 EHECO157 感染。EHECO157 以消化道传播为主,主要分为食物型、水型和接触型三种传播类型。其中食物型引发暴发的机率最高,其次为水型。接触型引发的疫情强度一般较低。此外,由于 EHECO157 能够长时间定殖肠道内,经常接触动物的人很容易被传染,这一传播方式也应引起人们的高度重视。

2.3.2 发病症状

EHECO157:H7 感染力极强,100~200 个即可致病,而其他致病大肠杆菌则要 100 万个以上才能致病。EHECO157:H7 感染后主要临床表现起病急,通常为突然发生剧烈腹痛和非血性腹泻,数天后出现血性腹泻,无粪质,不发热或仅有轻度发热,白细胞计数可增多,部分患者一周后可发生严重的 HUS、TTP,还可出现窦性心动过缓、惊厥等。低热或不发热、血性粪便是出血性肠炎和其他肠道疾病的主要区别。EHEC 可感染任何年龄组,儿童和老年人比较易感。人感染的潜伏期为 4~9d,腹泻后排菌 2~62d。病程 10d 左右,病死率 3%~5%。

2.3.3 致病机制

EHEC 是产志贺毒素大肠杆菌的一个病原体亚型。主要攻击回肠末端或结肠^[12]。其重要致病因素:(1)志贺样毒素(SLT)亦称 Vero 毒素、志贺毒素(Stx),主要作用于人的结肠和回肠细胞^[13]。Stx 由一个 A、B 亚单位组成 A-5B 模式的复合毒素。A 亚单位为其毒力单位,具有 RNA-N 端糖苷酶的活性,能干扰细胞蛋白质的合成,导致细胞损伤死亡;B 亚单位无毒性但能与具有特定受体(Gb3)的细胞结合,从而引导 A 亚单位发挥作用^[14,15]。志贺毒素有两种基因编码:志贺毒素 1 基因和 2 基因,两基因均位于噬菌体上,噬菌体具有转染能力,从而使受体菌产生相应毒力。(2)EHEC 溶血素。其由 EHEC 溶血素基因编码,可促进白介素-1 的分泌,增强志贺毒素对血管上皮细胞的毒力,裂解红细胞产生血红蛋白和血红素,从而导致溶血现象^[16]。(3)黏附素亦称紧密素,由 eae 基因编码,可促进 O157:H7 黏附在人的肠内皮细胞上,定殖在肠道表面。黏附素侵入组织细胞的作用是由一种超微损伤-黏附和脱落(A/E)病变介导。即黏附细菌可导致肠刷状缘局部破坏、原生质膜变形、细胞骨架重新排列和局部形成肌动蛋白富集的杯状基架。A/E 损伤可导致肠黏膜吸收能力下降,引发电解质平衡的破坏,继而出现腹泻^[17]。

2.4 检验与预防措施

目前 EHECO157:H7 缺乏有效的治疗方法,自然感染不会产生持久免疫力,且重大疫情发生后控制困难,事态严重,给公众健康和社会稳定带来极大威胁。因此监测和预防工作显得尤为重要。我国相关检测方法主要有:GB/T 4789.3-2003《食品中大肠菌群的测定方法》、GB/T 4789.6-2003《食品中致泻大肠埃希氏菌检验方法》、GB/T 4789.31-

2003《应用肠杆菌科噬菌体检验食品致泻大肠埃希氏菌的检验程序和方法》。其他检验技术如基因探针、PCR技术、基因芯片等。目前O157:H7感染的预防关键仍是减少污染,控制好食品生产、加工、运输等各个环节,广泛开展对群众的健康教育,做好食品卫生工作;同时加强个人卫生工作,养成良好的卫生习惯,避免发生接触性传播,从而切实控制O157:H7的继发感染。对疫点及污物和周围环境应选用当地卫生防疫部门推荐的消毒剂进行预防性消毒。加强动物检疫,积极开展群众性的卫生运动,避免人畜混住等。还应建立该菌感染的监测和研制相应的预防疫苗。

3 小肠结肠炎耶尔森菌(*Yersinia enterocolitica*)

3.1 食品卫生学意义

小肠结肠炎耶尔森菌(*Y. enterocolitica*)是自20世纪80年代以来引起国际上广泛注意的一种人畜共染病原细菌,也是能在冷藏温度下生长的少数肠道致病菌之一,全球由该菌引起的食源性疾病爆发已有数十起。本菌主要存在人和动物的肠道内,据调查从人及猪、牛、羊、马、狗、猴、猫、骆驼等哺乳动物,鸡、鸭、鹅、鸽等禽类,鱼、虾等水生动物,蛙、蜗牛等冷血动物,昆虫上均曾分离到本菌。食用动物带菌率较高,据调查德国市场出售的鸡肉带菌率28.9%、猪肉34.5%、牛肉10.8%。有的国家报告猪肉检出率为10.8%、鸡肉34.5%、牛肉14.6%。我国有些单位也从不同食品中不同程度地检出本菌。由于本菌分布广泛,食品污染率高,所以对人类健康造成严重威胁,除引起皮肤结节红斑,丹毒样皮疹、关节炎和假阑尾综合症等感染型疾病外,还经常引起爆发性的食物中毒。世界上越来越多的国家报道了发生小肠结肠炎耶尔森菌感染和中毒的事例。动物性食品如肉类、奶类常被本菌污染。本菌在外界环境中不仅可以长期保存生命力,而且可以生长繁殖。4℃下可存活18个月。冷藏食品可防止其他病原菌的繁殖,但本菌在0~4℃仍能继续繁殖并产生毒素。在冰箱内存放的污染食品,对人仍具有感染性。对这种可通过食物传播且有嗜冷性的致病菌必须引起足够的重视。世界上已有许多国家已将本菌列入食品检验法规,如1978年美国把本菌列入食物中毒原因菌,1983年日本中央法规中列入了本菌的检验。1985年我国卫生部颁布了食品中本菌的检验方法(国家标准),2003年最新版国家标准《食品卫生微生物学检验小肠结肠炎耶尔森菌检验》颁布。

3.2 生物学特性

短小、卵圆形或杆状,单在、短链、或成对排列,22~25℃幼龄培养物主要呈球形,(0.99~3.45)μm×(0.52~1.27)μm,无芽胞、荚膜。30℃培育有鞭毛,37℃则无鞭毛。需氧或兼性厌氧,生长温度0~45℃,最适生长温度25~30℃。生长pH4~10,最适pH7.2~7.4,最低Aw0.95,最高盐浓度7%。对营养要求不高,在普通培养基上均能生长,但生长缓慢。普通营养琼脂上培养24~48h形成圆形、光滑、稍凸起、透明或半透明、边缘整齐、直径0.5~2mm的菌落。其生化特性不稳定,25℃和37℃培养时反应结果不同。能发酵葡萄糖、甘露醇、蔗糖、山梨醇。尿素酶、鸟氨酸脱羧酶、β-半乳糖苷酶、MR实验阳性。V-P实验(22℃)阳性,37℃阴性。不分解乳糖、鼠李糖。苯氨酸脱氢酶、细胞色素氧化酶、H₂S试验阴性,不利用柠檬酸盐。对热敏感,60℃30min、65℃1min即可杀死。对低温有较强的耐受性,4℃可存活18个月。肉在-20~-18℃保藏时,该菌明显减少。辐射对本菌有一定的杀灭作用。有人用紫外线照射20min但不能杀死全部该菌。碎牛肉中的耶氏菌在60krad照射后,约25%存活。0.5%KOH溶液中能存活10~15min。有耐盐性,NaCl5%仍能生长,7%才可抑制其生长,少数菌株可耐受10%NaCl。本菌对抗生素的敏感性不定,但对青霉素、红霉素、先锋霉素、氨苄青霉素不敏感。

3.3 流行病学

3.3.1 传染源和传播途径

*Y. enterocolitica*在自然界分布广泛,人、动物、食品、水源受到其污染均可成为人和动物耶尔森菌病的传染源。目前发现几乎所有家畜都有*Y. enterocolitica*的自然感染,其中猪、牛、猫、狗等可成为健康带菌者,对人类构成严重威胁。猪的带菌率最高,一般其扁桃体和舌头较盲肠或大便带菌率高,据报道猪咽喉带菌率为30%,舌头53%~62.5%,对人类有致病的血清型O:3和O:9可作为正常咽喉菌群存在,占从猪分离菌株中的70%~90%。食物和水源污染往往是爆发胃肠型耶尔森菌病的重要原因。其传播途径可概括为人与人、人与动物、食物、水的传播,流行病学资料证明大多数病例是通过消化道感染,被感染的人群和动物的咽喉、舌头、痰和气管分泌物等都可能带有*Y. enterocolitica*,因此该菌也可通过呼吸道在人群和动物间传播。

3.3.2 发病症状

一般儿童发病率较成年人高,通常为10%。中毒表现多样且随着年龄的不同而不同:(1)胃肠炎型,多见于儿童,主要症状:腹泻、腹痛和发热。(2)末端回肠炎、阑尾炎及肠系膜淋巴结炎型,呈急腹症样发病,儿童和青少年多见。(3)结节性红斑型,成人多见。(4)关节炎及鞘膜炎型,表现为无肿胀的关节疼痛,也以成人多见。(5)败血症型,多见于免疫功能受抑制的患者。若出现败血症可致死亡,病死率高达34%~50%。

3.3.3 发病机制^[18]

目前已基本证实其致病因素可归因于其所具有的特殊染色体基因、毒力质粒和菌毛。①侵袭性。经研究发现致病性 *Y. enterocolitica* 对组织培养的哺乳动物细胞(HeI 细胞)有侵袭能力,但在其内并不繁殖且与菌株毒力无关。②耐热肠毒素(Yst)。*Y. enterocolitica* 能产生耐热性肠毒素且其具有致病性,但 *Y. enterocolitica* 的致泻功能是否由它引起尚不清楚。③毒力质粒。所有致病性 *Y. enterocolitica* 普遍带有40~48MDa的毒力质粒(pYV)。pYV 为许多与毒力有关的表型编码,V、W 抗原是其重要毒力因子。其作用是使细菌在吞噬细胞内得以繁殖,且与细菌自凝性密切相关。近年来众多研究证实 pYV 编码的特异性外膜蛋白 YOP 在致病过程中起到重要作用。

3.4 检验与控制措施

食品中 *Y. enterocolitica* 的检验参照 GB4789.8-2003。其他检测方法^[19]如酶联免疫吸附试验、放射免疫沉淀试验、核酸探针技术、聚合酶链式反应技术、生物传感器技术、生物芯片检测技术等。该菌最易在猪扁桃腺中发现。由于大多数待宰猪只扁桃体携带此菌,因此在屠宰场控制此菌的传播比较困难,猪健康携带者的大量存在及其广泛传播使该问题更加恶化。猪的屠宰加工质量明显影响着 *Y. enterocolitica* 的传播,因此改进屠宰技术可阻止该菌的传播,其中重要的是加强对猪头和下水的处理。此外,对该菌的快速检测技术进行研究和应用于食品生产的综合控制及流行病学研究对防止污染有特别重要的意义。

4 空腔弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)

4.1 食品卫生学意义

空腔弯曲杆菌为弯曲菌属中的一个种,是引起散发性细菌性肠炎最常见的菌种之一。该菌在

小肠内繁殖侵入肠上皮引起炎症,对人类健康构成了较为严重的威胁。欧美发达国家的感染率为50~100/10万。美国 CDC 统计资料显示,美国每年弯曲菌感染人数240万,占总人口的1%,死亡124人。该菌广泛存在于家禽、鸟类、狗、猫、牛、羊等动物体内,猪盲肠带菌率为59.9%、牛盲肠26.5%、鸡60%~90%。苏州调查显示鸡带菌率为89.3%、狗75%、猪61.5%、鸭79.2%。在肉品中污染也很严重,英国严查的6169个牛和猪的肉样,总阳性率为1.6%,屠宰场肉样为4%。日本调查猪肘子中本菌的检出率为10%,肝脏为16.6%。吉林省某地肉联屠宰厂猪胴体表面阳性检出率为10%;江苏的半净膛鸡阳性率为10%。空腔弯曲杆菌是一种重要的人畜共患病病原菌,其可引起羊流产、猪、狗、猫、猴等动物的肠炎、牛乳房炎,禽类肝炎以及人类的腹泻和败血症等。本菌还可以作为致病菌和正常的菌群成员共存于动物肠道内。鸡和猪的带菌率较高,可达80%~100%。该菌随粪便排出体外,污染食品、环境和水源。多种动物性食品及水源被污染,可引起人类空腔弯曲杆菌肠炎的流行。

4.2 生物学特性

弧形、鞭形或S形,常见两菌连接成为海鸥展翅状,偶尔为较长的螺旋状。在培养物中幼龄时较短,(0.2~0.5)μm(1.5~2.0)μm;老龄者较长可达8μm。在老龄培养物中也可见到球状体。无芽胞、荚膜。单极鞭毛或两极鞭毛,能做快速直线或螺旋体状运动。微需氧,在大气和绝对无氧环境中不能生长,5%氧气+85%氮气+10%CO₂中生长最为适宜。生长温度37~43℃,42~43℃生长最好,pH 5.5~8.0,最低Aw0.99,最高盐浓度1.5%。对营养要求高,普通琼脂上生长不良。常用分离培养基有Skirrow氏培养基和改良Camp-BAP布氏杆菌培养基。在此培养基上培养48h后形成两种菌落:一种不溶血性、灰白色、扁平、湿润、有光泽、有扩散趋势、形似水滴样菌落;另一种不溶血,孤立、稍隆起、有光泽、大小1~2mm。本菌生化反应不活泼,不发酵糖类,呼吸代谢中无酸性或中性产物,从氨基酸或TAC中获得能量。MR 试验、V-P 试验、靛基质试验均阴性。不分解尿素、不液化明胶,无酯酶活性,不产生色素,氧化酶和接触酶阳性。抵抗力较弱,培养物放置冰箱内很快死亡。56℃ 5min 即被杀死,干燥、日光亦可迅速致死,培养

物室温可存活2~24周。但冷冻干燥可保存其生命力达13~16个月。对常用药物大都较敏感,对部分药物有耐药性。一般对庆大霉素、四环素族、氯霉素族、卡那霉素、链霉素等敏感;而对青霉素、万古霉素、杆菌肽、多黏菌素及磺胺药等有耐药性。

4.3 流行病学

4.3.1 传染源与传播途径

弯曲菌病是一种重要的人畜共患病,家畜、家禽、野生动物及宠物都是弯曲菌的重要宿主。猪、牛、羊、鸡、鸭、鸽等动物肠道中带菌率较高。通常感染的动物无明显病症,但可长期向外界排菌,继而引起人类感染。在发达国家,食用生的或未熟透的禽肉,是引发弯曲菌病的主要原因。美国、新西兰等地由此引起的病例占总数10%~50%。发展中国家多以水源性传播为主,河水、溪水、泉水、井水中均可分离出该菌。饮用未消毒的牛奶也是重要的感染原因。此外,直接与带菌动物、宠物接触,也常是重要的感染原因。无症状带菌者和恢复期病人也可成为传染源。恢复期病人排菌时间平均为8d,有的可长达数周。特别是儿童带菌者,他们带菌率高,又不能妥善地处理粪便,可成为重要的传染源。

4.3.2 发病症状

(1) 胃肠炎 潜伏期18h~8d。主要症状为腹部剧烈疼痛,并伴有腹泻、发热、头痛、呕吐、肌肉痛和血便等。此病通常为自限性疾病,致死率很低。小孩、老人和免疫缺陷症病人易患此病。(2) 格林-巴利综合征 尽管多数弯曲菌病是自愈性疾病,很少引起死亡,但可引发多种并发症如盲肠炎、结肠炎、中毒性巨结肠炎、皮疹、新生儿疾病、流产、肾和泌尿系统疾病、肠出血、直肠脓肿、菌血症、胰腺炎和肝炎等。后期的并发症包括活动性关节炎、格林-巴利综合征(Guillain-Barresyndrome, GBS)。GBS是弯曲菌感染最严重的并发症,它是一种外周神经系统急性脱髓鞘性疾病,在人群中发病率低,但后果严重,主要引起运动神经功能障碍,严重时可导致呼吸肌麻痹而死亡。

4.3.3 发病机制

致病因素主要为侵袭力、耐热毒素及内毒素。(1) 经口感染后,该菌通过胃防御屏障到达小肠,其借助于表面物质粘附定居于肠上皮细胞,起初位

于肠绒毛隐窝处繁殖,在细菌本身及毒素的作用下刺激肠壁蠕动加快,肠内容物流动加快,肠道微环境情况改善,为其繁殖提供了有利机会^[20]。(2) 毒素^[21] ①细胞紧张性肠毒素。它是一种在结构和作用机理上与大肠埃希氏菌不耐热肠毒素和霍乱毒素极为相似的一种毒素,主要通过细胞膜上的GM1神经节苷脂结合,引起细胞内cAMP P浓度升高而发生水样腹泻。毒素对热敏感,56℃30min即可灭活,pH<3.0或>9.0均可使其丧失活性。对胰酶有抵抗力,但对木瓜蛋白酶相链霉蛋白酶敏感,不溶解人和动物红细胞。②细胞毒素。它可能通过细胞膜上的蛋白质或糖蛋白与细胞结合,而不与GM1神经节苷脂结合,不被抗大肠埃希氏菌不耐热肠毒素或霍乱毒素抗毒素所中和。该毒素60℃30min、100℃15 min可使其灭活,对胰酶和蛋白酶均敏感(5mg/L),pH>9.0或<3.0均可破坏其活性。该毒素虽能单独引起腹泻,但不引起肠液积聚,却与血性腹泻的发生有关。③细胞致死性膨胀毒素。它可使Vero和Hela细胞膨胀2~4d后发生崩解。对热敏感,胰酶也易使之失活,不透析。

4.4 检验与预防措施

食品中空腔弯曲杆菌的检验参照GB4789.9-2003。其他快速检测方法如多重PCR技术、实时荧光PCR技术、磁捕获-荧光聚合酶链式反应快速检测等。预防措施^[22]:(1) 动物源弯曲菌的控制是关键。家畜、家禽、野生动物及宠物都是弯曲菌的重要宿主,其中家禽是空肠弯曲菌病最重要的传染源,因此必须加强家禽弯曲菌的预防。为此应采取综合性生物防控措施,处理好排泄物及其被污染的物品、饲养场卫生,净化水源;采取全进全出的饲养方式;采取有效合理的药物预防,正确使用抗生素。尽量避免人与家禽的直接接触,减少感染机会;减少禽类与其它动物和野生禽接触,防止交叉污染。目前尚无空肠弯曲杆菌的预防疫苗,所以应重点加强家禽饲养管理和屠宰加工、运输等各个环节的管理与监督。我国家禽的个体宰杀占有相当比例,这给预防与控制造成困难。应大力推行集中屠宰、集中加工、集中销售的模式。从农场到餐桌全程控制,采用HACCP方法减少弯曲菌可能的污染。(2) 建立和完善国家对弯曲菌的监测系统,加强与发达国家和国际卫生组织的技术交流与合作。(3) 对弯曲菌危害进行危险性评估。(4) 积极开展

该菌的病原学与流行病学、功能基因组学与蛋白质学、分子诊断与基因工程疫苗等方面研究。

5 志贺氏菌(*Shigella Species*)

5.1 食品卫生学意义

志贺氏菌是人类及灵长类动物细菌性痢疾(简称菌痢)最为常见的病原菌。据报道国际上每年都有因志贺氏菌引起的疾病的暴发与流行。根据WHO年度报告,亚(除中国外)、非、拉各洲仅小于5岁的儿童每人每年发生腹泻2.2次,细菌性腹泻病例多达1.5~2.5亿人。我国以福氏和宋内志贺氏菌痢疾流行较为常见,年统计病例为200万左右,发病有逐年下降的趋势,但仍居24种法定传染病的首位。2004年11月29日太原市发生一起志贺氏菌食物中毒事件,经调查是因食用猪肝引起^[23]。2006年3月27日新疆和田市某酒店发生一起宋内氏志贺氏菌食物中毒事件,经调查是因食用牛筋皮、卤鸡胗、猪心引起^[24]。

5.2 生物学特性

志贺氏菌为肠杆菌科的一属菌,又称痢疾杆菌,包括痢疾志贺氏菌、福氏志贺氏菌、鲍氏志贺氏菌和宋内志贺氏菌4个群,其中福氏和宋内志贺氏菌引起的细菌性痢疾(菌痢)较为常见。有的也可引起食物中毒。细菌的形态与一般肠道杆菌无明显区别。(0.5~0.7)μm×(2~3)μm,无芽胞、荚膜、鞭毛,有菌毛。需氧或兼性厌氧;营养要求不高,能在普通培养基上生长,最适温度37℃,最适pH6.4~7.8,最低Aw0.96,最高盐浓度5%。37℃培养18~24h后形成圆形、微凸、光滑湿润、无色、半透明、边缘整齐,直径约2mm的菌落。宋内志贺氏菌菌落一般较大,较不透明,并常出现扁平的粗糙型菌落。在液体培养基中呈均匀浑浊生长,无菌膜形成。福氏志贺氏菌菌落中等大小,圆形灰色,稍凸起,不溶血。本菌属都能分解葡萄糖产酸不产气,大多不分解乳糖,无动力。仅宋内志贺氏菌迟缓发酵乳糖。氧化酶、蔗糖、肌醇、卫矛醇、鼠李糖、本胺糖、脲酶、V-P试验、枸橼酸盐、苯丙氨酸脱氨酶、赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶、精氨酸、明胶试验均为阴性;硝酸盐还原,甲基红、甘露醇、靛基质均为阳性。对外界的抵抗力不强,宋内志贺氏菌最强,福氏志贺氏菌次之,而痢疾志贺氏菌最弱,在潮湿的土壤中能生存34d,37℃水中20d,冰块中10d。对NaCl有一定的耐受性,随温度升高而存活时间缩短。阳光直射30min、50~60℃10min即可杀死。一般消毒药能很快将其杀死。

5.3 流行病学

5.3.1 传染源与传播途径

传染源是病人和带菌者(包括恢复期带菌者、慢性带菌者和健康带菌者),无动物宿主。主要通过粪便传播。志贺氏菌随痢疾患者、痢疾带菌者粪便排出体外,通过食物、水和手经口传染给健康人群而致病。食物中毒的主要原因是食品加工、集体食堂、饮食行业的从业人员中痢疾患者和痢疾带菌者,在它们与食品接触过程中污染了食品,特别是液态或湿润状态的食品,在适宜的温度下,细菌大量繁殖,临食前未充分加热,就可能引起食物中毒。人类对志贺氏菌有较高的敏感性,一般10CFU就可致病。

5.3.2 发病症状

志贺氏菌的感染型食物中毒有两种类型:①肠炎型:腹痛、腹泻为主,水样便;②痢疾型:典型的痢疾症状。痢疾分急性和慢性两种类型,病程在两个月以上者属慢性。急性细菌性痢疾常有发热、腹痛、里急后重等症状,并有脓血粘液便。若及时治疗,预后良好。若治疗不彻底,10%~20%的病人可转为慢性。症状不典型者,易被误诊,影响治疗而成慢性或带菌者。急性感染中有一种中毒性痢疾,以小儿为多见。无明显的消化道症状,主要表现为全身中毒症状。因其内毒素致使微血管痉挛、缺血、缺氧,导致DIC、多功能衰竭,脑水肿,死亡率高。

5.3.3 发病机制^[25]

(1)侵袭力。其菌毛能粘附在回肠末端和结肠黏膜的上皮细胞。继而穿入上皮细胞内生长繁殖。一般在黏膜固有层内繁殖形成感染灶,引起炎症反应。入侵结肠黏膜上皮细胞是各种志贺氏菌的主要致病特性,细菌侵入血流罕见。志贺氏菌只有侵入肠黏膜后才能致病。否则即使菌量再大也不引起疾病。(2)内毒素。志贺氏菌所有菌株都有强烈的内毒素。内毒素作用于肠粘膜,使其通透性增高,进一步促进其对内毒素的吸收,引起发热、神智障碍,甚至中毒性休克等一些列症状。内毒素破坏肠粘膜,可形成炎症、溃疡,呈现典型的脓血粘液便。内毒素尚能作用于肠壁植物神经系统,使肠功能发生紊乱,肠蠕动失调和痉挛。尤其是直肠括约肌痉挛最明显,因而出现腹痛、痢疾等症状。(3)志贺毒素(STX)。系外毒素,多由痢疾志贺氏菌I型和II型产生。ST具有三种生物学活性:肠毒性,像大肠杆菌的VT毒素一样引起腹泻,细胞毒性,阻止小肠上皮细胞对糖和氨基酸的吸收;神经毒性,在痢疾志贺氏菌引起的重症感染者可

作用于中枢神经系统,造成昏迷或脑膜炎。ST 和内毒素有协同作用,两者在体外可加重对人血管内皮细胞的损伤。在志贺氏菌感染的 HUS 等并发症中,ST 和内毒素的持续存在的联合作用可能与之有关。对细胞操作的机制同 Vero 毒素。因此 I 型痢疾志贺氏菌感染的症状较重,除便血、高烧外,常伴有血尿综合症和白血病样反应,病死率较高。

5.4 检验与预防措施

食品中志贺氏菌的检验参照 GB4789.5-2003。快速检测方法如核酸探针、PCR、RAPP、ELISA 等。预防措施:志贺氏菌随粪便排出体外,通过食物、水和手经口传染给健康人。只要切实把好病从口入这一关,菌痢是可预防的。加强饮水卫生,严格做到不喝生水,注意饮食卫生,不食生冷蔬菜、不吃不洁瓜果、不吃腐败变质的食物、不食未经回锅煮透的剩饭剩菜以及防蝇灭蝇;养成良好的卫生习惯,食前便后要洗手,勤剪指甲,可口服痢疾疫苗,增强集体抵抗力。

6 副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)

6.1 食品卫生学意义

副溶血性弧菌是弧菌属的一种嗜盐杆菌(嗜盐弧菌),主要存在于海水和海产品中的海洋性细菌。引起食物中毒的主要是海产品如梭子鱼、乌贼等,鱼体的带菌率低者 20%,高者达 90%;其次是蛋品、肉类或蔬菜。其中以各种海产品的带菌率情况较为普遍,墨鱼最高,带菌率为 93%,梭子鱼 78%,带鱼 41.2%,黄鱼 27.3%;淡水鱼中也有本菌的存在。其次在咸菜、肉类、禽类和蔬菜等产品中;肉、禽类食品中,腌制品约占半数。副溶血性弧菌是一种重要的食源性致病菌,污染的产品被人不慎食用后,可引起肠胃炎。根据国家食源性疾病监测网对我国 13 个地区食源性疾病暴发情况的监测数据可知,1992~2001 年副溶血性弧菌引起的急性肠胃炎在细菌性食物中毒中占首位^[26]。目前,副溶血性弧菌食物中毒已在数量上超过沙门氏菌中毒案例,成为我国的首要食源性致病菌,特别是在一些沿海城市,由该菌引起的食物中毒占细菌性食物中毒总数的比例高达 60% 以上^[27]。

6.2 生物特性

弧状、杆状、或丝状,无芽孢、荚膜。大多数菌体在液体培养基中有单端鞭毛、能运动。需氧性很强,对营养要求不高,但在无盐的环境中不能生长。在含盐 0.5% 的培养基上即能生长,在含盐 3%~3.5% 的培养基上生长最好。本菌生长速度

快,易形成扩散性菌落。生长 pH7.0~9.5,最适 pH7.4~8.0,生长温度 15~48℃,最适温度 30~37℃,最低 Aw0.94~0.97,最高盐浓度 5~10%。在固体培养基上形成隆起、圆形、稍混浊不透明、表明光滑湿润的菌落。在血脂平板上的菌落周围可见溶血环。该菌能分解发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、淀粉和阿拉伯胶糖,产酸不产气。不能发酵乳糖、蔗糖、纤维二糖、木糖、卫矛醇、肌醇、水杨苷。产生靛基质,液化明胶,硝酸盐还原为亚硝酸盐。过氧化氢酶、卵磷脂酶和甲基红试验阳性,尿素酶、V-P 试验阴性,不产生 H₂S,能分解淀粉和酪蛋白。淡水中 1d 左右即死亡,海水中则能存活 47d 以上。pH6.0 以下生长不佳。对热敏感,65℃ 5~10min、90℃ 3min 即可将其杀死。15℃ 以下生长即受抑制,但在 -20℃ 保持于蛋白胨水中,经 11 周仍能继续存活。对酸的抵抗力较弱,2% 醋酸和食醋中 1min 即死亡。对氯、石炭酸、来苏尔抵抗力较弱,如在 0.5mg/l 的氯中 1min 死亡。

6.3 流行病学

6.3.1 传染源和传播途径

副溶血性弧菌是一种海洋性的食源性致病菌,导致食物中毒的常见食品一般均直接或间接与海产品有关,其食物来源主要为贝、虾、蟹、鱼等海产品,其次为凉拌菜和熟食制品等。

6.3.2 发病症状

食物中毒的潜伏期 2~26h 不等,最短者仅 1h,一般~10h。主要症状为上腹疼痛、腹泻,恶心、呕吐、发热等,腹泻多为水样便,亦有大便脓血。随后腹部剧烈疼痛,持续 1~2d。主要病变在十二指肠、空肠和回肠上部。一般病后 3~5d 痊愈,但严重者亦可脱水、休克。本病多发生在夏秋两季,病程 1~7d,一般恢复较快。病后带菌时间短,不超过一周。

6.3.3 发病机制

本菌食物中毒的发病机理目前尚不十分清楚,副溶血性弧菌致病类型属于感染型而非毒素型。与菌株毒力有关的因素有耐热性溶血素、不耐热性溶血素、磷脂酶、溶血磷脂酶、霍乱原样毒素、胃肠毒素等。组织切片显微镜检查证实细菌可穿过回肠上皮侵入固有层,引起炎症反应。解剖死亡病人的尸体时,发现肠管有轻度糜烂,胃粘膜发炎,各脏器淤血等,完全出现肠毒素样病变。因此有报道证实其中毒与该菌产生的溶血素有关。耐热性溶血素可使小鼠、豚鼠的回肠段、心肌细胞发生变性,是一种心脏毒素。

6.4 检验与预防措施

食品中副溶血性弧菌检验参照 GB 4789.7-

2003。《北欧食品分析委员会方法(NMKL), NO1156-1997(第二版)》所提供的检测方法可简捷、快速定性、定量,且又可以同时检验霍乱弧菌、创伤弧菌、溶藻性弧菌。预防措施:关键抓住防止污染、控制病原菌和杀灭病原菌等3个主要环节。防止食品带菌者和食品容器及炊具对食品的污染;副溶血性弧菌不耐低温,故低温保存海产品及其他食品是一种有效预防的方法;海产品在烹调过程中,应烧透煮熟,生食海蜇等凉拌食品时事先应洗净,在食醋中浸泡10min或沸水中漂洗数分钟以杀灭该菌。

7 霍乱弧菌(*Vibrio cholerae*)

7.1 食品卫生学意义

霍乱弧菌是弧菌属中对人致病性最强的一个种,引起一种烈性肠道传染疾病霍乱,发病急、传染性强、病死率高,属于国际检验传染病。自1817年以来,全球共发生了7次世界性霍乱大流行,前6次都是由古典型霍乱弧菌引起,1961年开始由埃尔托霍乱弧菌引起第7次世界霍乱大流行,迄今已波及140个国家和地区,报告病例400万例以上,实际发病人数远远超这一数字。据WHO专家会议估计,全球每年约发生550万例,其中以亚洲、非洲和拉丁美洲流行较为严重,引起亚洲10万和非洲2万人死亡。自1961年起,我国霍乱时起时伏从未终止。从全球范围来看,霍乱仍是值得引起人们重视的传染病之一。

7.2 生物学特性

霍乱弧菌分为O₁群霍乱弧菌和非O₁群霍乱弧菌。O₁群霍乱弧菌包括古典生物型和埃尔托(EL-Tor)生物型。O₁群霍乱弧菌可引起广泛的霍乱大流行,非O₁群霍乱弧菌只引起散发的肠胃炎或局限性暴发。菌体弯曲呈弧状或逗点状,(1~3)μm(0.3~0.6)μm,无芽胞、荚膜,单鞭毛,运动性强。对营养要求不高,兼性厌氧,生长温度16~42℃,最适生长温度37℃,最低Aw0.94~0.97,最高盐浓度5~10%。在pH8.8~9.0的碱性蛋白胨或平板上生长良好。在碱性平板上可形成圆形、光滑、透明、直径为2mm的菌落。在固体培养基上一般呈无色、圆形、透明、光滑、湿润、扁平或稍突起、边缘整齐的菌落。发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、半乳糖产酸产气,迟缓发酵乳糖,不发酵阿拉伯糖、卫矛醇、水杨素、木糖、侧金盏花醇和肌醇。氧化酶、明胶液化试验阳性。V-P试验大多数EL-Tor型阳性,古典型的阴性。该菌能分解色氨酸产

生吲哚,同时能还原硝酸盐为亚硝酸盐,靛基质阳性。EL-Tor型能产生强烈的溶血素,溶解羊红细胞,在血平板上生长的菌落周围出现明显的透明溶血环,古典型霍乱弧菌不溶解羊红细胞。个别EL-Tor型菌株亦不溶血。古典生物型对外界的抵抗力较弱,EL-Tor型抵抗力较强。河水、井水、海水中存活1~3周,鲜鱼、贝壳类食物上存活1~2周,蔬菜、水果上存活1周。对热、干燥、日光、化学消毒剂和酸均很敏感,耐低温、耐碱。湿热55℃15min、100℃1~2min,水中加0.5mg/g氯15min可被杀死。0.1%高锰酸钾浸泡水果、蔬菜可达到消毒目的。在正常胃酸中仅能存活4min。

7.3 流行病学

7.3.1 传染源与传播途径

病人和带菌者是霍乱的主要传染源。病人在发病期间,可连续排菌5d,长者可达2周。尤其是中、重型病人,排菌量较大,每毫升粪便含有弧菌10⁷~10⁹CFU,污染面广,是重要的传染源。轻型病人易被忽视,常得不到及时隔离和治疗,健康带菌者多不易检出,所以两者在散播疾病上也起着重要的传染源作用。传播途径:①经水传播。水是霍乱最主要的传播途径。②食源性传播。食物在生产、运输、加工、贮存和销售中可能被污染的水或被病人、带菌者污染,这些受污染的食物在霍乱的传播甚至暴发中起重要作用,如婚宴或聚餐发生霍乱是食物型霍乱感染的主要形式之一。③经生活必需品接触传染。与病人、带菌者或被该菌污染的物品接触而感染。④经苍蝇等昆虫传播。昆虫将病菌带到食物上进而传播。人群对霍乱弧菌普遍易感,但由于胃酸具有强大的杀弧菌作用,只有在大量进水、饮食或胃酸缺乏,并进入足够量的霍乱弧菌时才致病。病后可获一定程度的免疫力,能产生抗菌抗体和抗毒素抗体,但持续时间较短,病人可再次感染。

7.3.2 发病症状

霍乱主要症状:头昏、疲倦、腹胀、强烈腹泻。病程分为:(1)泻吐期持续数小时或1~2d,先泻后吐,一般无发热症状(O₁₃₉血清型除外)。①腹泻腹泻是发病的第1个症状,多数不伴随腹痛(O₁₃₉型除外),少数患者有腹部隐痛,无里急后重。起初大便含粪质,后为黄色水样便或米泔水样便,有肠道出血者排出洗肉水样便,无粪臭。大便量多次频,每日可达10余次,甚至排便失禁。O₁₃₉血清型霍乱以发热、腹痛相对常见。非O₁群霍乱弧菌感染具有侵袭性,可在肝硬化、胰岛素依赖型糖尿病、肾病综

合征和烧伤患者中引起败血症。②呕吐发生在腹泻后,多为喷射状,次数不多。呕吐物初为胃内容物,继而为水样。严重者呕出米泔水样液体,少有恶心。轻者可无呕吐。(2)脱水虚脱期 频繁的泻吐使病人迅速出现失水和电解质紊乱,严重者出现循环衰竭,持续数小时~3d。①脱水 轻度脱水者皮肤黏膜稍干燥,皮肤弹性略差,眼窝稍陷,无意识障碍,一般失水1000mL。中度脱水者皮肤弹性差,眼窝凹陷,声音轻度嘶哑,血压下降及尿量减少,约丧失失水3000~3500mL。重度脱水者出现皮肤干皱,声音嘶哑,两颊深凹,腹呈舟状,神志淡漠或不清,病人极度无力口渴,尿量减少,失水约4000mL。②代谢性酸中毒 患者呼吸增快,严重者除出现库斯莫尔呼吸外,还可出现意识障碍。③电解质紊乱 表现为痉挛部位的疼痛和肌肉呈强直状态。低血钾可引起肌张力减低、腱反射消失、鼓肠、至心律失常。儿童对于严重低血钾尤为敏感。④循环衰竭 四肢厥冷、脉搏细速,血压下降或不能测出,继而可出现意识障碍和急性肾衰竭。(3)恢复及反应期。脱水纠正后,症状逐渐消失,体温、脉搏、血压恢复正常。大量输液使循环改善,残存的肠内毒素继续吸收,约1/3病人出现反应性发热,体温38~39℃,持续1~3d后消退,尤以儿童多见。

7.3.3 发病机制^[28]

霍乱弧菌进入人体的小肠后,在细菌定居因子及粘附因子的共同作用下,粘附于肠道上皮,大量繁殖并产生致泻性极强的肠毒素。一定条件下该菌进入小肠后,依靠其鞭毛运动,穿过黏膜表面迅速繁殖,经过短暂的潜伏期后便急骤发病。该菌不侵入肠上皮细胞和肠腺,也不侵入血流,尽在局部繁殖和产生霍乱肠毒素,此毒素作用于肠黏膜上皮细胞与肠腺使肠液过度分泌,继而使大量体液和电解质进入肠腔而发生剧烈吐泻,泻出物呈米泔水样,并含大量弧菌。由于大量脱水和失盐,可发生代谢性酸中毒,血循环衰竭,甚至休克或死亡。霍乱毒素属外毒素,具有很强的抗原性,本质是蛋白质,不耐热,56℃30min即可破坏其活性,对蛋白酶敏感但对胰蛋白酶抵抗。

7.4 检验与预防措施

长期以来,对该菌的鉴定都采用传统检验方法即形态学、生理生化特征及血清学鉴定,系细胞水平鉴定,操作繁杂、费时。近年来国内外已开始采用PCR技术、DNA探针技术对霍乱弧菌特别是流行菌株进行快速鉴定。预防措施:建立疫情报告网,一旦发现病人,立即按《中华人民共和国传染

病防治法》中的相关规定处理;防止病从口入,认真开展三管(管饮食、管饮水、管粪便),一灭(灭蝇)的综合性措施;加强卫生宣传教育,掌握防病知识,落实各项卫生制度;做好国内和国际卫生检疫,严格防止和控制本病的传播;加强霍乱疫情和水源及食品的检测工作。发生疫情时的紧急措施:核实诊断并进行疫情报告;确定疫区并彻底消毒和采取相应管理措施,对接触者进行登记和检疫。

8 变形杆菌(*Proteus* Species)

8.1 食品卫生学意义

变形杆菌属包括普通变形杆菌、奇异变形杆菌、摩根变形杆菌、雷极氏变形杆菌及无恒变形杆菌,其中前三种与食物中毒有关。变形杆菌为腐物寄生菌,在自然界分布较广如水、土壤、腐败有机物和动物肠道中均有该菌存在,所以食品受其污染的机会很多。据调查知动物带菌率为0.9%~62.7%、食品污染率为3.8%~8.0%,食品污染的高低与食品新鲜度、运输、贮存的卫生条件密切相关,特别是不遵守操作规程,肉用动物屠宰解体时割破胃肠道等情况下,肉类及其制品污染率更高。被污染的食品在夏秋高温季节、变性杆菌大量生长繁殖,食用时极易引发食物中毒。变形杆菌食物中毒也是一种比较常见的细菌性食物中毒,特别是熟肉类和凉拌菜。吃病死畜禽肉而引起变形杆菌食物中毒的常有发生。值得注意的是变形杆菌不分解蛋白质,但可分解多肽类,即使熟肉中带有大量变形杆菌,其感官性质可能没有腐败迹象,但食用后引起食物中毒。2005年2月1日,深圳布吉某海鲜大酒店发生一起13人的食物中毒事故;经调查证实为一起因食用污染的卤猪脚而由奇异变形杆菌引起的食物中毒^[29]。2003年5月16日,康乐县白王乡老树村一村民宰杀病畜分食,30人发生食物中毒未发生死亡;经采样检验,检出变形杆菌。2006年6月24日,焦作市某大酒店发生一起21人的食物中毒事故,经调查证实为一起因食用污染的蒜泥白肉而由奇异变形杆菌引起的食物中毒^[30]。一般情况下变形杆菌对人体无害,因此仅从食品中检出变形杆菌无意义。在检验时除了进行一般的分离和鉴定变形杆菌外,还需做每克食品中变形杆菌的数量测定。

8.2 生物学特性

周身鞭毛,运动性强,无荚膜、芽胞,两端钝圆的小杆菌,(1~3) μm ×(0.4~0.6) μm ,菌体呈球形、杆状、长而弯曲或长丝状。需氧或兼性厌

氧,对营养要求不高,在普通培养基上生长良好。10~45℃均能生长,最适温度34~37℃。在普通营养琼脂上呈扩散生长,以间距性环形而形成不同层次的同心环,在琼脂表面形成一层波形薄膜。苯丙氨酸脱氨酶阳性,能迅速分解尿素(2~4h)。普通变形杆菌和奇异变形杆菌能迅速产生大量H₂S,明胶液化明显。本菌抵抗能力中等,与沙门氏菌相似,对巴氏消毒和常用消毒药物敏感,对一般抗生素不敏感。

8.3 流行病学

8.3.1 传染源与传播途径

变形杆菌在自然界中分布广泛,土壤、污水、腐物和动物肠道中均有出现。健康人和腹泻病人带菌率为13.3%~52%;动物带菌率为0.9%~62.7%。食品的带菌率可达3.8%~8.0%。该菌通过食物(主要为动物性食品,特别是熟肉以及内脏的熟制品)、伤口感染人类。

8.3.2 发病症状

变形杆菌食物中毒分为急性肠胃炎型和过敏型两种。急性肠胃炎型是由于大量该菌随同食物进入胃肠道,并在小肠内繁殖引起的感染。同时该菌可产生肠毒素,肠毒素为蛋白质和碳水化合物的复合物,具有抗原性,可引起中毒性肠胃炎。过敏型中毒主要是因为摩根变形杆菌产生很强的脱羧酶,使食品中的组氨酸脱羧形成组胺。变形杆菌食物中毒潜伏期短、发病快、一般3~5小时,最短仅1h,主要表现为恶心、呕吐、腹痛剧烈如刀割、腹泻、头痛、发热、全身无力等,腹泻一日数次至数十次。多为水样便,有恶臭,少数带粘液。病程1~3d。摩根变形杆菌可引起过敏性反应,潜伏期30~60min,也可短至5min或长达数小时,主要变现为颜面潮红、酒醉状、头痛、血压下降、心悸过速等。有时也伴有发热、呕吐、腹泻等症状。多在12h内恢复。水产品引起这类中毒较多,主要是由于摩根变形杆菌在微酸性(pH5~6)条件下,使鱼肉中的游离氨基酸脱羧酶形成组胺。当组胺积蓄到一定量时人即可发生中毒。

8.3.3 致病机理

变形杆菌在人体内的不同部位致病。侵袭因子包括菌毛、鞭毛、外膜蛋白、脂多糖、荚膜抗原、脲酶、免疫球蛋白A蛋白酶、溶血素、氨基酸脱羧酶等多种因子(见表1),其重要特性是迁徙生长能够使其定居并存活于更高的组织。

变形杆菌的毒力因子及致病作用表^[31]

毒力因子	在致病中的作用
菌毛	细菌向上皮细胞的粘附
鞭毛(丛集现象)	细菌从输尿管进入肾脏
尿素酶	细菌生长过程中pH上升导致结石形成,抗HRPTEC
IgA蛋白酶	IgA蛋白酶
氨基酸脱羧酶	产生α-酮酸,作用是铁载体
侵袭因子	细菌与宿主细胞作用并向其渗透
溶血素(HpmA和HlyA)	细胞毒性
CPS	生物膜和结石形成
LPS(内毒素)	内毒素

8.4 检验和预防措施

食品中变形杆菌的检验主要分五个步骤即分离培养、生化鉴定、血清学检查、变形杆菌菌数的测定、动物试验。快速检测方法如PCR技术、GNI、GNI⁺、ID-E/NF系统等。预防措施与大肠杆菌的相似,着重加强有关的食品卫生制度,严格执行生、熟食品分开,做到熟食不放置过夜,否则食前必须充分加热。

9 布氏杆菌(Brucella Species)

9.1 食品卫生学意义

布氏杆菌病是由布氏杆菌属引起的全世界范围流行的人畜共患病。布氏杆菌可感染多种家畜和野生动物,其中牛、羊、猪最易感染,同时它也可感染人类。特别是羊布氏杆菌对人的威胁最大,引起相似的临床症状和病理损伤,如睾丸炎或附睾炎、不育、生殖器官及胎膜发炎、流产、不孕、关节炎、气管炎及各种组织的局部病灶等,导致巨大的经济损失和严重的公共卫生问题。

9.2 生物学特性

球形、卵圆形、球形杆,(0.5~0.7)μm×(0.6~1.5)μm。需氧,在严格厌氧的条件下不生长。可在弱酸或弱碱性的培养基上生长繁殖,适宜pH6.6~7.4,生长温度20~40℃,最适温度37℃。对营养要求较高,琼脂平板上的菌落无色、透明、圆形稍隆起、表面光滑、随后逐渐变混浊。血脂平板上不溶血。肉汤培养基中生长均匀混浊,无菌膜形成。在自然界中生命力较强,在病畜的分泌物、排泄物及死畜的脏器中能生存4个月,在食品中能生存2个月。加热60℃或日光下暴晒10~20min可杀死此菌,对常用化学消毒剂敏感,2%石炭酸来苏尔、火碱溶液或0.1%的升汞1h可杀死本菌;5%新鲜石灰乳2h或1%~2%福尔马林3h可将其杀死;0.5%洗必泰或0.01%度米芬、消毒净或新洁

尔灭5 min 内即可杀死本菌。布氏杆菌根据其宿主倾向性和危害分为五类：马尔他布氏杆菌感染和危害的宿主广泛，包括人、牛及多种野生动物；流产布氏杆菌主要感染和危害牛；猪布氏杆菌主要感染和危害猪；绵羊布氏杆菌主要感染和危害绵羊；犬布氏杆菌主要感染和危害犬。羊布氏杆菌对人的威胁最大。不同种类的布氏杆菌大多具有不同宿主间交叉感染的能力，并具有明显的宿主-危害倾向。

9.3 流行病特性

9.3.1 传染源与传播途径

牲畜是布氏杆菌的唯一传染源，人传染人的病例极为罕见。动物传染人的途径：(1)经皮肤黏膜传染。与病畜密切接触的饲养、屠宰、挤乳等从业人员由于未采取必要的个人防护，皮肤或黏膜直接与病原体接触而引起传染。(2)经食物传染。人吃下带有该菌而未煮熟的肉、乳或乳类制品时，可经消化道传染。病菌也可通过污染的手、食具等间接污染食物而侵入人体。该病一年中都有病例发生，而人群发病高峰期往往在动物发病一个月后出现。

9.3.2 发病症状

布氏杆菌主要引起绵羊、山羊、牛、猪等家畜流产。人与病畜接触和食用病畜的乳、肉等感染，发生波浪热。病人潜伏期10~30d，发热达38~39℃，持续2~3周后退热。此种病反复发作，同时全身出现无力、关节痛、神经痛、肝脾肿大等症状，严重时可能造成菌血症、败血症，甚至毒血症。

9.3.3 发病机制^[32]

该菌经皮肤或黏膜侵入人体随淋巴到达淋巴结，被吞噬细胞吞噬。若吞噬细胞未能将该菌杀灭，则其在胞内生长繁殖形成局部原发病灶。此阶段称为淋巴源性迁徙阶段，相当于潜伏期。细菌在吞噬细胞内大量繁殖导致吞噬细胞破裂，随之大量细菌进入淋巴液和血液循环形成菌血症。在血液里细菌又被血液中的吞噬细胞吞噬并随血液带至全身，在肝、脾、淋巴结、骨髓等处的单核-吞噬细胞系统内大量繁殖，形成多发性病灶。当病灶内释放出来的细菌超过吞噬细胞的吞噬能力时，则其在细胞外血液中生长、繁殖，临床呈现明显的败血症。在机体某些因素的作用下，有些菌体被破坏死亡，释放出内毒素及菌体其它成分，造成临床上不仅有菌血症、败血症，而且还有毒血症的表现。目前认为内毒素在致病病理损、临床症状方面起重要作用。机体免疫功能正常时，通过细胞免疫及体液免疫清除病菌而获痊愈。若免疫功能不健全

或感染菌量大、毒性强、则部分细菌逃脱免疫，又可被吞噬细胞吞噬带入各组织器官形成新感染灶，称为多发性病灶阶段。一定时期后感染病灶的细菌生长繁殖再次入血，导致疾病复发，所造成的组织病例损伤广泛，临床表现也就多样化，如此反复成为慢性感染。

9.4 检验与预防措施

传统检测方法如细菌学检测、血清学检测、变态反应检测，快速检测方法如ELISA、PCR法、基因检测技术、荧光探针分析法等^[33]。预防措施：为了防止人类患布氏杆菌病，必须加强对肉品、乳品的卫生检验，对乳及其制品必须进行完善的消毒灭菌；加强粪、水管理、防止病畜或病人的排泄物污染水源；屠宰场、毛、皮、乳、肉加工厂等工作人员应穿工作服、戴口罩及手套。污染地面、用具等用3%~5%石炭酸、漂白粉等严格消毒处理，以防止对人的感染。

10 结束语

随着社会经济的发展和人们生活水平的逐步提高，人们越来越重视肉类食品的安全，为确保人类的健康我们必须营造肉类食品安全良好氛围，全面落实各项法律法规将饲养、生产、加工、贮存、销售环节全部纳入食品安全管理系统，真正实现“从饲养到餐桌”全程监控。减少甚至杜绝致病菌污染肉类，让每位消费者吃上无污染、无残留的绿色肉类。

参考文献

- [1] 殷俊(译). 肉类畜产品安全: 向细菌开战[J]. 肉类研究, 2005(5): 15-16.
- [2] B. Norrung, S. Buncic. Microbial safety of meat in the European Union[J]. Meat Science, 2007, xxx-xxxxxx
- [3] EFSA (European Food Safety Authority). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005 [J]. The EFSA Journal, 2006b, 94.
- [4] 马呈珠, 薛良辉, 张红, 等. 山东省286起沙门菌食物中毒中毒分析[J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(1): 20-22.
- [5] 任智慧, 温真. 一起由鼠伤寒沙门氏菌引起的食物中毒中毒调查[J]. 地方病通报, 2007, 22 (3): 51.
- [6] 邓丽娟, 李莺, 马骏, 等. 一起肠炎沙门氏菌食物

- 中毒调查分析[J]. 公共卫生与预防医学, 2007, 18 (3): 65.
- [7] 张艳红, 吴延功, 杜元钊, 等. 沙门氏菌快速检测方法研究进展[J]. 动物医学进展, 2001, 22(2): 39-41.
- [8] 吴斌, 秦成, 石智, 等. 畜产品中沙门氏菌的风险评估[J]. 大连轻工业学院学报, 2004, 23(3): 226-228.
- [9] 吴家兵, 李群, 陆美娟, 等. 安徽省肠出血性大肠杆菌 O157:H7 宿主动物监测研究[J]. 安徽预防医学杂志, 2006, 12 (4): 197-201
- [10] Reilly A. Bulletin of World Health Organization, 1998, 76(3): 245-255
- [11] Mukherjee J. Human Stx-specific monoclonal antibodies prevent systemic complications of *Escherichia coli* O157:H7 infection[J]. Infect Immun, 2002, 70(2): 612-619.
- [12] Caprioli A. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission[J]. Vet Res, 2005, 36 (3): 289-311.
- [13] Pond K. Water recreation and disease. Plausibility of associated infections: acute effects, sequelae and mortality [M]. London: WHO, 2005: 65-70.
- [14] Mukherjee J. Human Stx-specific monoclonal antibodies prevent systemic complications of *Escherichia coli* O157:H7 infection[J]. Infect Immun, 2002, 70 (2): 612-619.
- [15] 邹全明. 肠出血性大肠杆菌 O157 感染防治研究进展[J]. 微生物学杂志, 2004, 24 (5): 96-98.
- [16] 罗霞, 徐建国. 产志贺毒素型大肠杆菌的研究进展[J]. 疾病监测, 2006, 21(4): 217-220.
- [17] Welinder-Olsson C. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)[J]. Scand J Infect Dis, 2005, 37: 405-416.
- [18] 郑浩轩, 姜泊. 小肠结肠炎耶尔森菌研究概况[J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(5): 416-419.
- [19] 岳明祥, 高志贤. 鼠疫耶尔森菌检测技术研究进展[J]. 中国地方病防治杂志, 2004, 19(6): 342-344.
- [20] 柳增善. 食品病原微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007, 70.
- [21] 阳成波, 蒋原, 祝长青, 等. 空肠弯曲菌致病机理研究进展[J]. 动物医学进展, 2003, 24(3): 35-37.
- [22] 黄金林, 何蕊, 许海燕, 等. 弯曲菌的公共卫生危害及其控制策略[J]. 动物保健, 2006, (6): 9-11.
- [23] 崔文平. 一起由志贺氏菌引起食源性菌痢的调查报告[J]. 山西职工医学院学报, 2005, 15 (1): 73
- [24] 杨璐璐, 艾德尔艾力·阿尤甫. 一起宋内氏志贺氏菌引起的食物中毒分析[J]. 地方病通报, 2007, 22(5): 45.
- [25] 柳增善. 食品病原微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007, 96.
- [26] 刘秀梅, 陈艳. 1992~2001 年食源性疾病暴发资料分析—国家食源性疾病预防网[J]. 卫生研究, 2004, 33(6): 725-727.
- [27] 斯国静, 吴奇志. 2001~2003 年杭州市细菌性食物中毒病原菌检测和分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(3): 320.
- [28] 柳增善. 食品病原微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007, 256-257.
- [29] 吴海娟, 樊沙丽, 黄福松, 等. 一起奇异变形杆菌引起食物中毒的调查[J]. 华南预防医学, 2007, 33(1): 77.
- [30] 陈海慧, 王峰, 柴雷. 一起由奇异变形杆菌引起食物中毒的调查[J]. 中国初级卫生保健, 2007, 21(9): 83.
- [31] Review: Potential virulence factors of proteus bacilli[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 1997, 61(1): 65-89.
- [32] 柳增善. 食品病原微生物学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007, 267-268.
- [33] 郑锦玲, 蒋成砚, 董仲生, 等. 布氏杆菌病检测技术的研究进展[J]. 中国农学通报, 2006, 22(6): 25-28.