

□动物性食品中的结肠炎耶尔森氏菌污染与检测（综述）□

江苏农学院肉食品卫生专业 王秉栋

结肠炎耶尔森氏菌 (*Yersinia enterocolitica*) 为革兰氏阴性细菌，隶属于肠杆菌科耶尔森氏菌属。由于该菌是一种嗜冷菌，在低温下不仅能生存，而且能继续繁殖，这一特性将危及到动物性食品冷藏的安全。据报导，曾从猪肉、牛肉、羊肉、牛奶、牡蛎冰激凌等食品及水、粪便中检出该菌。现已证实了人、猪、犬、牛、马、羊、猫、猴、鼠、骆驼、浣熊、野兔、野鸡、鹅、知更鸟、

水獭等均带有该菌，其中猪的带菌率较高，并且检出率与季节有关。日本曾有人检测了1000头猪，夏季检出率为8.4%，冬季为15.3%。分离株的血清型多为与人感染有关的O₃血清型，占61%，该菌通过污染的猪肉，可引起人食后中毒。另外，1975年加拿大曾有人从巴氏消毒牛奶中检出结肠炎耶尔森氏菌，这是因奶牛带菌，可能通过粪便污染了牛乳。1977年美国曾报导因饮用被污染

a) 品味时能引起嗅觉和味觉产生复杂感觉组合的刺激物质。味道受触觉、热觉、痒觉甚至动觉的影响。

b) 由味道引起的多种感觉的复杂组合。
参见ISO549 2/II—1978

多汁性：咀嚼肉时从肉中压榨出的液汁的总体印象。

嫩度：属于一种质地性状，用来描述食物在咀嚼期间所表现出来的对牙齿咬断作用的抵抗力。

参见ISO 549 2/3—1979

色泽

肥度

6.2.2 评分

品评组应采用评分的方法判定某一性状的强度。采用9分制，即由9（强度最大）至1（强度为零）。

为减少品评时组内变异及样本类型内部的变异，有必要采用特殊的试验设计。

品评员最低数目：6名

试验的最低次数，每种类型的样本应有6个平行样。

样品编码：随机三位数字或字母。

为减少或避免品评的时间（日和日的）变异，所有试验样本必须同时检验，最好参

考统计学中有关不完全区组试验设计的内容。品评组的品评能力日与日间是不同的，若一品评组进行一个以上的试验，则要确保每一试验中同一类型的样本有不同的编码。

6.2.3 统计处理：计算试验中每一类型样本的平均值，用这些数据进行方差分析，检验样本类型间是否存在显著性差异，用多重比较试验检验各平均数间差异的显著性。

表1. 不同显著水准时属于组1的品评员的最小数目

品评员的总数	一个品评组中品评员的最小数目		
	$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$	$\alpha=0.001$
6	3	4	5
7	3	4	5
8	3	4	5
9	4	5	6
10	4	5	6
11	4	5	6
12	4	5	6
13	4	5	7
14	4	6	7
15	5	6	7
16	5	6	7
17	5	6	8
18	5	6	8
19	5	7	8
20	5	7	8

译自《Worlds Poultry Science Journal》

1987, 43卷1期, 64~68页

了结肠炎耶尔森氏菌的巧克力牛奶发生一起中毒事件。该菌流行范围较广,关于中毒事例,许多国家均相继有所报导。欧洲、非洲、日本和加拿大多为血清型O₃,其次为O₄,与O₅,在美国和加拿大西部主要的流行型为O₈。尽管目前在我国尚未见到由该菌引起的食物中毒报告,但必须防患于未然,我国食品卫生检验工作者应提高警惕,加强防范措施,密切关注在食品生产加工、烹调过程中的卫生操作和管理。同时,还要加强对冷藏食品的监测工作。

对于结肠炎耶尔森氏菌的检测程序大致为:先将肉样或乳样,一般按1:9的比例均匀分布在磷酸盐缓冲液(PH7.2或PH7.6)

中,于4℃(或25℃)增菌培养,然后再将培养物经适当处理后接种于麦康凯或SS琼脂(或SS—D琼脂)平板及肉汤中,再经25℃培养,进行分离,挑取可疑菌落进行革兰氏染色,并转种双糖铁培养基。如双糖铁反应呈乳糖阴性、葡萄糖阳性(不产气)、H₂S阴性、革兰氏染色为阴性短杆菌时,则作尿素酶、苯丙氨酸脱氨酶、动力、乳糖、蔗糖、葡萄糖产气、胍基质等试验。耶尔森氏菌属与沙门氏菌属生化特性鉴别见表1。在血清学特性方面,结肠炎耶尔森氏菌主要有O和H两种抗原。本菌为无芽孢杆菌,大小为0.5~1×1~2μ。

表1. 耶尔森氏菌属与沙门氏菌属生化特性

生化特性	耶 尔 森 氏 菌 属			沙 门 氏 菌 属
	鼠疫耶尔森氏菌	人为结核耶尔森氏菌	结肠炎耶尔森氏菌	
动 力 (22℃)	—	+	+	+
(37℃)	—	—	—	+
尿 素	—	+	+	—
葡萄糖产气	—	—	—	+
马栗树皮试	+	+	—	—
鼠李糖	±	+	—	+
水杨素	±	+	—	—
蔗 糖	—	—	+	—
β—半乳糖苷酶	+	+	+	±
鸟氨酸脱羧酶	—	—	+	+
枸橼酸盐	—	—	—	+
胍 基 质	—	—	±	—

注: *新分离菌株有时为阳性

关于增菌液,吴信法曾介绍用PH7.2磷酸盐缓冲液于25℃培养24~72小时后,将0.5ml增菌培养物用4.5ml的0.25%氢氧化钾—0.5%氯化钠处理2分钟,如用0.5%氢氧化钾—0.5%氯化钠则仅需15秒,将已处理的培养物0.1ml划线于麦康凯或CIN琼脂平板或接种于肉汤中,于25℃培养48小时。该法可有效地从每克磨碎牛肉(需氧菌平板计数约为10⁶—10⁷CFU/g)分离出2—12个对小鼠有毒性及无毒性菌株;同样从已污染了结肠炎耶尔森氏菌的猪舌(需氧菌平板计数约10⁵~10⁷

CFU/g)分离出该菌。吴光先曾介绍用含1%山梨醇和0.15%胆盐的改良磷酸盐增菌液可提高结肠炎耶尔森氏菌检出的灵敏度,其配方为:取8.23g磷酸氢二钠,1.20g磷酸二氢钠,5g氯化钠于100ml水中溶解后,再加1g山梨醇和0.15g胆盐,充分混匀溶解后分装,高压消毒121℃灭菌15分钟,其PH为7.6±0.1。

关于培养基,阎倬云曾介绍一种新培养基为BABY4琼脂,其1000ml中的成分为:琼
(下转30页)

免疫扩散。

试验结果,猪肉、牛肉、羊肉的诊断免疫抗体,与其相应抗原均在24小时左右出现了典型的沉淀反应带(或称沉淀弧),但是1:200的牛肉和羊肉抗原的沉淀带稍弱,结果如下表:

品 名	1孔	2孔	3孔	4孔	5孔	6孔	7孔
猪肉香肠	猪肉抗体	卅	—	卅	—	卅	卅
猪肉牛肉香肠	牛肉抗体	卅	—	卅	—	卅	卅
猪肉羊肉香肠	羊肉抗体	卅	—	卅	—	卅	卅

六、讨论和结论

1. 从本试验证明,凡是高分子蛋白质的物质,均可成为良好的抗原。各种畜禽肉都是高分子蛋白质结构,所以有较强的抗原性,这种抗原一般叫完全抗原。这些肉内可能含有少量的脂肪,也可以被称为蛋白类脂质化合物,也属完全抗原。本次试验只使用了猪肉、牛肉和羊肉,可以推测其他肉,如兔肉、马肉、驴肉、鸡肉、鸭肉均有良好的抗原性,并属完全抗原,所以也可以使用琼脂凝胶免疫扩散法鉴别之。因此肉的正确鉴别,使用本方法是科学的,也是正确的。

2. 肉均属高分子蛋白质,而且属于同一个类型。因此从免疫反应学上,应考虑它们之间的共同抗原,进行血清学反应时会出现类属反应,使结果失去一定的正确性。为了避免这种现象出现,制造出来的各种诊断高免血清,可以使用吸收法将同类抗原吸收掉,这样可以避免出现类属反应。

3. 煮熟了的肉制品或鲜肉,进行沉淀免疫扩散试验,往往是阴性或很微弱,特异性也已失去。Poli氏(1977年)指出,肉经70℃以上处理10小时,便丧失其与其相应抗血清反应的能力,但是加热30分钟,还未失去其抗原性,而加热至80℃就完全失去其抗原性,所以煮熟了的肉或肉制品,不能用本法

鉴别。而对灌肠、肉松等鉴别检验,只能检取它的已制成的原料,但须在尚未加热加工之前进行。

4. 山羊肉与绵羊肉,水牛肉与黄牛肉,马肉与驴肉,用血清学反应,很难明显地把它们鉴别开来,但使用生物化学如等电点法,有时可能解决这类问题。然而水牛肉的蛋白质不同于其他动物,因此,可以设想水牛肉肌红蛋白的特异抗血清,不会与黄牛肉呈交叉反应。

5. 琼脂扩散法,根据扩散的方向不同,可以分单相扩散和双相扩散。本试验是使用双相双扩散,抗原和抗体可以在琼脂上向四面扩散,敏感性也最强。所以免疫法鉴定各种肉,最好不用单相单扩散,单相双扩散或双向单扩散,而使用本法的双相双扩散,抗原抗体相互呈垂直方向扩散,相应的抗原抗体在最适的平衡点上形成免疫沉淀带。此法用于肉的诊断既准确又简便,而不需要复杂而昂贵的设备,并能于24小时内提供明确的结果。

~~~~~  
(上接35页)

脂17g,酵母膏3g,去氧胆酸钠1.5g,氯化钾0.8g,中性红0.04g,山梨糖10g,灭滴灵0.01g,两性霉素B0.005g,新生霉素0.01g。测定PH为7.4。煮沸灭菌,可贮存一个月。据知,BABY4琼脂对耶尔森氏菌有高度选择性。

由本菌引起的中毒以胃肠炎型最为常见。其他尚有盲肠炎型、关节炎型、结节性红斑型及败血症型等。患者常显示腹泻、腹痛、恶心、呕吐等胃肠炎症状,腹泻呈水样或稀便。发热病人常在37.5~39.5℃,一般症状较轻,病程仅1~2天,经治疗即可康复,愈后良好,无死亡。本菌对链霉素、庆大霉素、四环素、多粘菌素B、卡那霉素较敏感,而对青霉素、红霉素则不敏感。