

## 南京市零售生鲜鸡类食品中沙门氏菌的污染状况调查

吴云凤<sup>1</sup>,袁宝君<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>南京中医药大学第二临床医学院营养学教研室,江苏 南京 210023;<sup>2</sup>江苏省疾病预防控制中心食品安全与评价所,江苏 南京 210009)

**[摘要]** **目的:**对南京市零售市场上鸡类食品中的沙门氏菌进行定性、定量检测,以了解其沙门氏菌的污染状况。**方法:**选取超市和农贸市场作为采样点,分别采用 PCR 方法和最可能数(most probable number,MPN)定量法对样品进行检测;运用 @risk 风险评估软件,用 Cumulative 分布拟合阴性和阳性样品中沙门氏菌的污染水平,用 Discrete 分布拟合所有样品中沙门氏菌的污染水平。**结果:**288 份鸡类食品中沙门氏菌阳性率高达 14.9%,6 种不同鸡类食品中沙门氏菌阳性率无差异,农贸市场零售鸡类食品沙门氏菌的阳性率高于超市;在 8 个抽检月份中,6、7 月份阳性率较高,分别为 27.5%和 20.0%。阴性样品中沙门氏菌的污染水平为 0.009 MPN/g,阳性样品中沙门氏菌的污染水平为 1.080 MPN/g,所有检测样品中沙门氏菌的平均污染水平为 0.018 MPN/g。**结论:**南京市零售鸡类食品中沙门氏菌的污染状况不容忽视,未来应加强对沙门氏菌污染的定量监测。

**[关键词]** 沙门氏菌;鸡肉;定量监测;污染状况

**[中图分类号]** R155.55

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)02-284-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20150235

## Contamination status of Salmonella in retail raw chicken products of Nanjing

Wu Yunfeng<sup>1</sup>, Yuan Baojun<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Nutrition, Second Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023; <sup>2</sup>Institute of Food Safety and Evaluation, Jiangsu Provincial for Disease Prevention and Control, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective:** To monitor the Salmonella contamination status of commercial chicken products in Nanjing city through detecting Salmonella qualitatively and quantitatively. **Methods:** Retail chicken products were collected from supermarkets and farmers markets in different region of Nanjing city. Samples were examined by polymerase chain reaction (PCR) and most probable number (MPN) method. Cumulative distribution was used to fit the contamination level of the positive and negative samples, and Discrete distribution was used to all. **Results:** Of the total 288 chicken products, 43 (14.9%) tested positive for Salmonella. In regard to the positive rate of Salmonella, no significant difference was observed among the six different samples. Prevalence of Salmonella in chicken products from farmers markets was higher than that from supermarkets. During the eight surveillance months, the top two contamination rate was detected in June and July, 27.5% and 20.0% respectively. MPN value of negative samples was 0.009 MPN per g and that of positive samples was 1.080 MPN per g, 0.018 MPN per g for the average. **Conclusion:** The overall pollution situation of Salmonella in retail raw chicken products of Nanjing had aroused public concern, enhanced quantitative monitoring of the Salmonella infection was needed.

**[Key words]** Salmonella; Chicken; Quantitative monitoring; Contamination status

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(02):284-287]

近年来,食品的微生物安全逐渐受到全世界的关注<sup>[1]</sup>。沙门氏菌被认为是目前世界范围内最重要的食物源性致病菌之一,主要引起食物中毒和败血症,

世界各地都有沙门氏菌感染及食物中毒的报道<sup>[2]</sup>。据美国疾病预防控制中心(CDC)的报道,每年美国大约有 40 000 例沙门氏菌感染病例,每 10 万人就有 15.2 例非伤寒沙门氏菌感染病例,因为许多轻型患者可能未得以确诊,实际的感染人数可能达报告病例的 20 倍以上。据不完全统计,美国每年大约有

**[基金项目]** 南京中医药大学青年自然科学基金(13XZR16);  
南京中医药大学新专业建设专项课题(NZYXZY2013-10)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: jscdcybj@163.com

1 000 人死于急性沙门氏菌感染<sup>[3]</sup>。我国沙门氏菌食物中毒的发病率也较高,占总食物中毒的 40%~60%<sup>[4]</sup>。目前认为,鸡肉是沙门氏菌污染的重要来源<sup>[5]</sup>,而目前相关的定量污染研究较少。为了解鸡肉中沙门氏菌的污染状况,特开展了鸡类食品中沙门氏菌的定性定量污染检测研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

选择南京市各批发零售市场作为采样点,按照无菌操作采集活鸡、整鸡、鸡翅、鸡腿、鸡胸、鸡内脏、鸡爪等鸡类食品,共 288 份。检测中所使用的缓冲蛋白胨水(BPW,北京陆桥技术有限公司),Taq DNA 聚合酶、dNTPs、100 bp DNA marker、MgCl<sub>2</sub>、6× loading buffer 及琼脂糖(宝生物工程(大连)有限公司),细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒(天根生化科技有限公司,北京)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品的处理

依照 GB/T 4789.4-2010 沙门氏菌的检测方法<sup>[6]</sup>,用无菌剪刀均匀地剪取整鸡、鸡爪、鸡翅、鸡腿等有骨可食鸡肉各 25 g,用均质器将鸡胸、鸡内脏打碎后取均质样品各 25 g,加入 225 ml 的缓冲蛋白胨水(BPW)中,均质 1 min,为 1:10 的均匀稀释液。

#### 1.2.2 增菌培养

取 1:10 的均匀稀释液,制备 1:100、1:1 000 的稀释液。选择适宜的稀释度,每个稀释度各取 1 ml,分别加入 3 管装有 9 ml 无菌 BPW 中,36℃恒温培养 24 h。

#### 1.2.3 模板提取

纯菌 DNA 的提取采用水煮法,即用接种环刮取适量的纯培养菌落,混悬于含有 400 μl TE 1.5 ml 离心管中,100℃水浴 10 min,立即冰浴 1 min,12 000 r/min 离心 10 min,取上清作为 PCR 反应的模板。

鸡肉样本 DNA 的提取,采用天根细菌基因组 DNA 快速提取试剂盒,按说明书进行操作。

#### 1.2.4 PCR 定性检测

引物的合成:本实验以沙门氏菌 *invA* 基因为基础,选择特异性引物,序列为 PsaI F:5'-GT-GAAATTATCGCCACGTTCCGGCAA-3',PsaI R:5'-ATCGCACCGTCAAAGGAACC-3'<sup>[7]</sup>,由大连宝生物工程(大连)有限公司合成,扩增片段总长度为 284 bp。

PCR 反应体系:25 μl 扩增反应体系:H<sub>2</sub>O 17.9 μl,10 × PCR buffer 2.5 μl,25 μmol/L MgCl<sub>2</sub> 2 μl,

10 μmol/L dNTPs 0.5 μl,10 μmol/L PsaI F 0.5 μl,10 μmol/L PsaI R 0.5 μl,5 U/μl Taq 酶 0.1 μl,DNA 模板 1 μl。

PCR 反应参数:扩增反应程序:94℃预变性 10 min;94℃变性 30 s,65℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共进行 34 个循环;72℃终延伸 7 min;于 4℃下保存。

阴性对照、阳性对照的设置:在进行 PCR 扩增的时候,设置阴性对照和阳性对照。阴性对照为 PCR 反应的空白对照(以水代替 DNA 模板),阳性对照采用含有检测序列的纯菌 DNA 作为 PCR 反应的模板。

电泳检测 PCR 扩增产物:用 1×TBE 配 1.5% 的琼脂糖凝胶,取 PCR 扩增产物上样,每孔 5 μl,在 75 V 电压下电泳 40 min,用 Gel-Doc 凝胶成像分析系统 UVI 观察结果并拍照。

#### 1.2.5 定量检测

根据凝胶电泳结果,按是否扩增出 284 bp 的特异性条带,以确定各管中是否含有沙门氏菌,有沙门氏菌生长的试管记为阳性管。根据阳性管数,查阅 MPN 表<sup>[8]</sup>,得出样品中沙门氏菌的含菌量。最低检出限为 0.300 MPN/g。

### 1.3 统计学方法

根据相关数据,用几何均数法计算含菌量并进行换算。但由于 MPN 法的最低检出限为 0.300 MPN/g,样品含菌量低于 0.300 MPN/g 的无法检出。为了估计阴性样品中的平均未检出浓度,假设用其最低检出限的一半作为平均值,通过 left-hand-tailed cumulative 分布来表示阴性样品中的浓度<sup>[9]</sup>。假设阳性样品的最大污染水平为 10 MPN/g 即 1 lgMPN/g,可用累积分布的形式描述这些阴性和阳性样品中污染水平以估计不确定性<sup>[10]</sup>。使用 Discrete 分布来模拟所有鸡类食品样品中沙门氏菌污染水平的不确定性<sup>[11]</sup>。

数据分析采用 SPSS19.0 统计软件和 @risk5.7 风险评估软件。对鸡类食品中沙门氏菌污染状况进行分析,并对其污染水平进行定量估计。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 样品的基本情况

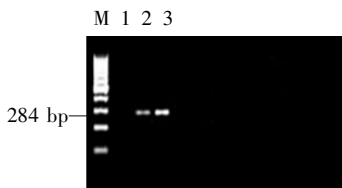
在南京市农贸市场和超市共采集鸡类食品样品 288 份,包含了位于南京市玄武区、鼓楼区、下关区、雨花区 4 个区的农贸批发市场和超市,以这些采样点所得的样品来反映南京市零售市场上鸡类

食品产品的总体情况。

采集的共 288 份样品中,整鸡 67 份,占 23.3%;鸡翅 54 份,占 18.8%;鸡腿 70 份,占 24.3%;鸡胸 60 份,占 20.8%;鸡内脏 28 份,占 9.7%;鸡爪 9 份,占 3.1%。采集的样品中,114 份来自超市,占 39.6%;174 份来自农贸市场,占 60.4%。

### 2.2 不同鸡类食品中沙门氏菌的检出情况

沙门氏菌的扩增条带如图 1 所示。288 份样品中,43 份检出有沙门氏菌,阳性率为 14.9%。6 种不同鸡类食品中沙门氏菌阳性率无差异( $\chi^2 = 3.5, P > 0.05$ ,图 2)。



M:Marker; 1:阴性对照;2:阳性样品;3:阳性对照。

图 1 沙门氏菌的 PCR 扩增结果

Figure 1 PCR amplification of *Salmkonella*

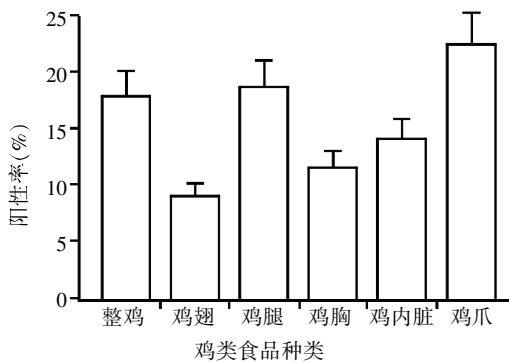


图 2 不同鸡类食品中沙门氏菌的阳性类

Figure 2 The positive rate of *Salmonella inchi* cken products

### 2.3 不同地点鸡类食品中沙门氏菌的分布情况

采样地点分为超市和农贸市场两种。从超市采集的零售鸡类食品受沙门氏菌污染的程度较低(6/114,5.3%),而从农贸市场采集的零售鸡类食品被沙门氏菌污染的程度则相对较高(37/174,21.3%),不同采样地点鸡类食品中沙门氏菌阳性率有统计学差异( $\chi^2 = 13.9, P < 0.05$ )。

### 2.4 不同月份鸡肉产品中沙门氏菌的检出情况

2011 年 5~12 月,从南京不同的超市及农贸市场,随机采集 288 份生鲜鸡类食品样品,进行了沙门氏菌的定量检测。5~12 月每月采集的样品数依次为 21、40、45、46、42、36、39 和 19 份。各月抽检的鸡类食品样品数基本相近,5 月份和 12 月份采集

的鸡类食品样品数比其他 6 个月少。在 8 个抽检月份中,6、7 月份阳性率较高,分别为 27.5%和 20.0%,其余几个月的阳性率基本相似。总体上看,各月抽检样品沙门氏菌的阳性率有差异( $\chi^2 = 19.9, P < 0.05$ ,图 3)。

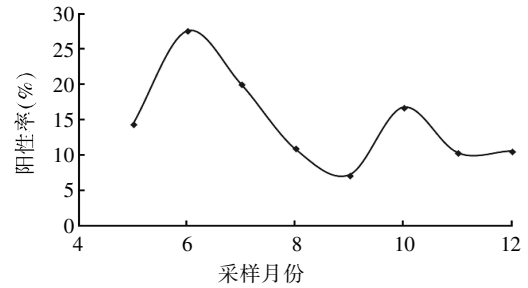


图 3 不同月份鸡类食品中沙门氏菌阳性率

Figure 3 The positive rate of *Salmonella* in chicken products in different months

### 2.5 南京市零售鸡类食品中沙门氏菌的污染水平

沙门氏菌含量 >0.300 MPN/g 的样品共 43 份,检出浓度范围为 0.300~9.300 MPN/g。阴性样品中沙门氏菌的平均污染水平为 0.009 MPN/g。阳性样品中沙门氏菌的污染水平为 1.080 MPN/g。据此估计所有检测样品中沙门氏菌的平均污染水平为 0.018 MPN/g。

## 3 讨论

南京市零售鸡类食品中沙门氏菌阳性率为 14.9%,与国内其他地区研究数据相比,处于中等水平<sup>[12-14]</sup>,比国外水平低<sup>[15]</sup>,说明不同国家和地区鸡类食品中沙门氏菌阳性率可能存在差异。江苏省 2008~2009 年曾对不同种类生肉中食源性致病菌的污染情况进行比较,检测的 4 种食源性致病菌中,沙门氏菌阳性率最高,为 17.5%<sup>[16]</sup>,与本次阳性率相近,但无法判断沙门氏菌的污染情况在南京地区近年来的变化趋势,未来需要开展连续性监测工作。

不同鸡类食品中沙门氏菌的阳性率无差异,这很可能与采集的样品数少和样品数不等有关,国内尚缺乏相关的研究数据。超市采集的鸡肉样品沙门氏菌阳性率低于农贸市场采集者,这与何瑞琪等<sup>[17]</sup>对广州市零售鲜鸡肉中微生物污染状况的研究相似;石颖等<sup>[18]</sup>也对陕西关中畜禽肉及凉拌菜中沙门氏菌污染进行分析,从超市采集的零售肉样品沙门氏菌阳性率(46.8%)低于从农贸市场采集的零售肉样品(54.6%),这很可能与超市存放条件较好以及多为冻品销售有关系,因为冷冻可以抑制食品中

沙门氏菌的生长,而且超市中的食品大都摆放在洁净的冰块中。因此,为保障鸡肉食品的安全,防止食用鸡肉食品引起的食物中毒事件的发生,南京市相关部门应切实加强鸡肉产品运输和储存过程的管理,并加强农贸市场的卫生监督管理。

各月抽检的样品中,6、7月份沙门氏菌阳性率较高,分别为27.5%和20.0%,可能因为夏季气温较高,沙门氏菌容易大量生长繁殖,而且夏季人体的抵抗力有所下降,易感性高,因此更容易发生食物中毒,这与我国沙门氏菌引起食物中毒的相关报道<sup>[4]</sup>较为一致。未来还需进一步收集膳食暴露数据,对鸡肉中的沙门氏菌进行定量风险评估,确定最终的发病风险。

南京市零售鸡类食品中沙门氏菌的定量检测结果表明,样品中沙门氏菌的平均污染水平仅为0.018 MPN/g。污染水平虽然很低,但个别产品中的沙门氏菌含量较高,最高的达到9.300 MPN/g,需引起重视。因为对于幼儿、体弱老人及其他疾病患者等易感性较高的人群而言,即使是较少含菌量及较弱致病力的菌型,仍可发生食物中毒,甚至出现较重的临床症状。未来应进一步加强对鸡类食品中沙门氏菌污染的监测,为沙门氏菌定量风险评估奠定基础。

[参考文献]

[1] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of human Salmonella infections caused by contaminated dry dog food-United States, 2006-2007[J]. MMWR, 2008, 57(19):521-524

[2] 金宁一,胡仲明,冯书章. 新编人兽共患病学[M]. 北京:科学出版社,2007:728-739

[3] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food-10 States, 2008[J]. MMWR, 2009, 58(13),333-337

[4] 孙长颢. 营养与食品卫生学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社,2012:447-448

[5] 王欢. 合肥地区鸡肉中沙门氏菌的食品安全风险评估[D]. 合肥:安徽农业大学,2013

[6] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789.4-2010 食品卫生微生物学检验-沙门氏菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2010

[7] Ginocchio CC,Rahn K,Clarke RC,et al. Naturally occurring deletions in the Centisome 63 pathogenicity [J]. Infect Immun, 1997, 65(4):1267-1272

[8] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789.3-2010 食品卫生微生物学检验-大肠杆菌检验[S]. 北京:中国标准出版社,2010

[9] 骆璇. 上海市鲜猪肉中金黄色葡萄球菌定量风险评估[D]. 上海:复旦大学,2010

[10] 郭剑飞,李柏林,欧杰,等. 基于食品安全性的预测微生物学研究模式[J]. 食品科技,2004,30(2):5-11

[11] Bahk GJ,Hong CH,Oh DH,et al. Modeling the level of contamination of Staphylococcus aureus in ready-to-eat kimbab in Korea[J]. J Food Prot, 2006, 69(6):1340-1346

[12] 任慧婧,谭艾娟,吕世明,等. 贵阳市市售鸡肉中五种食源性致病菌污染状况调查研究[J]. 山地农业生物学报,2012,31(1):91-94

[13] 席昭雁,张阿峰,吴荣,等. 陕西省食品中沙门氏菌监测研究[J]. 中华疾病控制杂志,2011,15(8):671-673

[14] 关文英,申志新,张淑红,等. 河北省食品中沙门氏菌的耐药性研究[J]. 现代预防医学,2006,33(10):1761-1763

[15] Tabe ES,Oloya J,Doetkott DK,et al. Characterization of multidrug-resistant salmonella enterica subsp.enterica serovar typhi-murium var.copenhagen and typhimurium isolated from feedlot cattle[J]. J Food Prot Trend, 2010, 30(5):273-279

[16] 王燕梅,乔昕,符晓梅,等. 江苏省2008~2009年肉类和水产品食源性致病菌监测[J]. 中国公共卫生, 2011,27(5):539-541

[17] 何瑞琪,魏素红,郭善广,等. 广州市售鲜鸡肉微生物污染状况调查[J]. 现代食品科技,2010,26(7):746-749

[18] 石颖,杨保伟,师俊玲,等. 陕西关中畜禽肉及凉拌菜中沙门氏菌污染分析[J]. 西北农业学报,2011,20(7):22-27

[收稿日期] 2014-08-17