

• 个案与短篇 •

1 起混合性污染引起的食物中毒事件的实验室检测分析

李红燕¹, 贾利萍²

(1. 陕西省宝鸡市疾病预防控制中心 721006; 2. 陕西省宝鸡市眉县疾病预防控制中心 722300)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.070 文献标识码:C 文章编号:1673-4130(2011)14-1654-02

2010 年 9 月 3 日 4 时 35 分, 陕西省眉县疾病预防控制中心接到青化乡卫生院报告: 9 月 2 日 20 时开始, 该乡石马寺村有十几个村民陆续因上腹部阵发性疼痛、腹泻, 伴恶心、呕吐、发热等前来就诊, 患者曾在 9 月 2 日参加家宴, 怀疑为食物中毒。接到报告后, 眉县疾控中心立即组织专业人员深入就餐场所及患者所在医院开展流行病学调查、采样、检测。经对调查和检测结果综合分析, 确定为 1 起鼠伤寒沙门菌和蜡样芽孢杆菌混合污染引起的食物中毒, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 流行病学调查

1.1.1 临床表现 从 9 月 2 日 20 时出现首发病例至 9 月 3 日 12 时, 共有 50 例发病, 均出现不同程度的急性胃肠炎症状, 主要表现为上腹部阵发性疼痛, 继而出现腹泻, 为稀水样便, 伴恶心、呕吐、发热等症状, 其中腹痛、腹泻 48 例(96%)、恶心 42 例(84%)、呕吐 40 例(80%)、发热 23 例(46%)。症状最严重的一位村民除上述症状外, 还有头昏、头痛、短时意识昏迷。经青化乡卫生院及时治疗, 患者症状很快缓解, 未发生死亡病例。

1.1.2 流行特征 患者均有家宴就餐史, 其临床表现基本相同, 发病时间集中。2 日 20 时出现首发病例, 2 日 24 时出现发病高峰, 3 日 12 时无新发病例。共发病 50 例, 罹患率 17%, 其中男性 26 例, 女性 24 例; 年龄最大 79 岁, 最小 5 岁, 平均年龄 44 岁。全部食用了 9 月 2 日午餐, 有 19 例未食用当日早餐。发病距最后就餐时间(午餐)最短 6 h, 最长 21 h, 中位数 5 h。

1.1.3 饮食卫生 对现场食物调查发现, 凉菜中猪耳朵、牛肉、猪肝、面筋、豆腐卷等从县城购买, 回家后在冰柜存放, 其他凉菜、热菜为食用前现场加工制作。制作过程均在家中室外露天操作, 卫生状况差。此起事件发生在秋季高温天气, 家宴操

作环境卫生状况差, 细菌容易滋生繁殖。根据现场调查, 结合患者临床表现及抗菌治疗效果, 分析此次中毒为细菌性食物中毒。

1.2 实验室检测

1.2.1 样品来源 采集食物样品 7 份, 其中熟肉 3 份(有牛肉、猪耳朵、猪肝), 臊子面汤菜 1 份(黄花、木耳、豆腐), 面筋、豆腐卷、豆角各 1 份。

1.2.2 培养基及诊断血清 检验所需的各种培养基和生化微量管、诊断血清均由杭州微生物试剂厂提供, 有效期内使用。

1.2.3 检验方法及项目 按照 GB/T4789-2003^[1], 定性检测样品有变形杆菌、志贺菌、沙门菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、产气荚膜杆菌。

1.2.4 菌株分离 按照《卫生防疫细菌检验》, 将采集的可疑食物直接或增菌后直接划线接种于不同的平板培养基, 37℃培养 24 h 后挑取可疑菌落做纯培养^[2]。

2 结果

2.1 菌落特征 从豆腐卷及猪肝中分离出在甘露醇卵黄多黏菌素琼脂(MYP)平板上呈粉红色、扁平、表面粗糙的菌落, 菌落周围有粉红色的晕环; 在营养琼脂平板上菌落呈淡黄色、不透明、大菌落, 表面粗糙似蜡状, 边缘不整齐; 革兰染色镜检为革兰阳性杆菌。从凉拌豆角和猪耳朵中分离出, 在沙门志贺菌属琼脂培养基(SS)平板上生长为无色、透明和半透明、中等大小、乳糖不发酵菌落, SS 上产 H₂S 中心黑色菌落; 革兰染色镜检为革兰阴性杆菌。

2.2 生化反应结果 从平板上挑取可疑菌落接种于三糖铁琼脂、半固体琼脂各一管, 观察结果。豆腐卷及猪肝 2 份样品的结果是: 三糖铁琼脂(一/十), H₂S(一), 不产气; 半固体中动力(十)。凉拌豆角和猪耳朵 2 份样品(一/十), H₂S(+), 动力(十)。分离纯化后进一步生化反应, 见表 1。

表 1 生化反应结果

细菌来源	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	H ₂ S	枸橼酸	硝酸盐还原	过氧化氢酶	VP	甲基红	明胶液化
凉拌豆角	+	—	+	—	—	+	+	+	—	—	+	—
猪耳朵	+	—	+	—	—	+	+	+	—	—	+	—
豆腐卷	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	—	+
猪肝	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	—	+

2.3 血清学鉴定 分别挑取凉拌豆角和猪耳朵样品三糖铁琼脂上的培养物作玻片凝集试验, 结果为 A-F 多价 O 血清为(++++), O1(++++), O4(++++), H 抗原第一相 i(+), 盐水(—)。

2.4 蜡样芽孢杆菌计数 取 10 mL 均质样液, 从 10⁻³~10⁻⁶ 制备一系列稀释液, 接种于 MYP 平板, 将平板置 36℃培养 24 h, 菌落计数结果见表 2。

表 2 蜡样芽孢杆菌计数

细菌来源	稀释液菌落数				蜡样芽孢杆菌(CFU/g)
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
豆腐卷	无法计数	260	80	6	8.0×10 ⁶
猪肝	无法计数	224	61	4	6.1×10 ⁶

2.5 检验结果 根据菌落特征、革兰染色观察、生化反应、血清学鉴定等结果判定,本次食物中毒的致病菌为鼠伤寒沙门菌和蜡样芽孢杆菌混合污染。

3 讨论

这起事件发生在秋季高温天气,家宴操作属露天操作,卫生状况差,细菌容易滋生繁殖。根据现场调查结合患者临床症状体征及抗菌治疗效果,分析此次中毒为细菌性食物中毒。根据病例临床表现、实验室检测结果及流行病学特征,确定本次食物中毒是由于鼠伤寒沙门菌和蜡样芽孢杆菌混合污染食物而引起。

沙门菌是人及动物重要的肠道致病菌,人通过食用含大量沙门菌污染的肉类、蛋类等食物而发病^[3],由沙门菌引起的食物中毒全年均可发生,但主要发生在 5~11 月份。在中国,由沙门菌或鼠伤寒沙门菌所致食物中毒常有报道^[4-5]。蜡样芽孢杆菌在通常情况下并不致病,当其污染食品且菌量达到 10⁶ CFU/g 时,可引起食物中毒^[6],对蜡样芽孢杆菌引起的食物中毒近年来有所报道^[7]。但由这 2 种致病菌混合感染所致的食物中毒尚未见报道。

本次食物中毒事件提示卫生工作人员要大力宣传《食品安全法》,加强对农村日常卫生监督管理和指导,做好家宴场所卫

• 个案与短篇 •

生清洁工作,做好餐具、饮具、厨具等用具的消毒工作;原料与成品分开、成品与半成品分开存放,防止交叉污染。对炊事人员进行培训,并要求持证上岗,同时进行全民健康教育,广泛宣传食物中毒的防治知识,减少食物中毒事件发生。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB/T 4789-2003 食品卫生检验方法微生物部分[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [2] 何晓青. 卫生防疫细菌检验[M]. 南昌:新华出版社,1989.
- [3] 王季午,马亦林,翁心华,等. 传染病学[M]. 4 版. 上海:上海科技出版社,2005:579-589.
- [4] 李卫东,刘晓娟,郑秀清,等. 1 起由沙门氏菌引起食物中毒的调查分析[J]. 医学动物防制杂志,2011,1(27):56-58.
- [5] 许华,廖周勇. 1 起由鼠伤寒沙门菌引起食物中毒的调查与实验室分析[J]. 现代预防医学杂志,2010,20(37):3944.
- [6] 北京市卫生防疫站. 卫生防疫微生物检验操作规程[M]. 北京:北京出版社,1991:232.
- [7] 陈秀丽,张得平,冷军. 1 起由蜡样芽孢杆菌引起食物中毒调查分析[J]. 公共卫生与预防医学杂志,2007,5(18):69.

(收稿日期:2011-05-11)

浅析全自动酶联免疫分析系统的发展趋势

张茂海

(湖北省大冶市人民医院检验科 435100)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.071

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2011)14-1655-02

酶联免疫吸附试验(ELISA)就是用一种抗原或抗体吸附到载体上,最后通过一定的方式使酶标记抗体或抗原与之结合或被阻止与之结合,然后通过显色来检测目标抗体或抗原是否存在的试验。由于 ELISA 成本低、操作较简便、灵敏度和特异性很高,因此已经成为现代检验医学基本的、常规的检测技术。其检测的操作方式也从手工到半自动又到全自动分析系统在不断改进。尽管以后出现了 PCR 和时间分辨荧光免疫技术,由于前者的检测原理和检测对象与 ELISA 有很大不同;而后者尽管灵敏度进一步得到提高,但除标记物之外,其检测程序几乎与 ELISA 相同,且成本相对较高,都难以替代 ELISA。本文对 ELISA 技术的历史现状及发展趋势作一简要分析。

1 ELISA 检测分析系统的发展历程及现状

最早的 ELISA 反应载体既有检测乙型肝炎血清标志物的多孔酶标,也有做人绒毛膜促性腺激素(HCG)试验的单一试管。发展到现在,反应载体最多见的是 48~96 孔的酶标反应板。操作从开始的完全手工、目测,到后来的半自动的洗板机、ELISA 检测仪。半自动分析系统以芬兰雷勃 MK 系列为代表,它们几乎装备到所有医疗卫生防疫机构及血站系统。但是随着现代医疗水平的提高,其检测速度、加样一致性、加样精度、反应时间的孔间差却无法上述各机构实验室日益发展的需要。因为二级以上医院每天要完成约 500~1 500 个或更多个肝炎、艾滋病、梅毒等病原体以及致畸原标志物的检测,这种半自动检测系统每天每个实验室完成 2 次试验已是十分的紧张,更不可能随机去完成 1 个标本或 1 个项目的实验。以后仪器的改进从样本的前处理到加样、洗板、检测一体机,都在努

力弥补上述不足、减少上述误差。这些仪器包括从瑞士哈美顿公司的 MCRO 系列和费米系列到意大利的爱丽斯以及日本的同类机型^[1]。各公司都不停地在中国推广他们的各种型号的全自动仪器,但收效远不及以雷勃 MK 系列为代表的半自动检测系统当时在中国掀起的浪潮。即使有些大的医疗机构购买了这类仪器,但其真正的使用状况也不容乐观。

2 全自动酶免分析系统发展缓慢的原因及应有的取向

全自动酶免分析系统发展到现在已经举步维艰。其主要原因是从半自动的 MK 系列到全自动的费米系列等仪器的设计都受到 48~96 孔酶标反应板制约。所以不管是半自动还是全自动检测系统,都没有从根本上解决单人份、单项目的随机化快速检测。而全自动检测仪器就更为显著,因为一旦仪器的板架位被饱和占据,在这一反应周期内就无法再进行相同的试验。随之而来的是 8 孔和 12 孔的加样头要求每次批应有 8 和 12 的倍数个样本,否则便造成浪费。另外就是难以实现多孔加样头的液面探测功能,对原始管的直接上机要求太高。尽管现在每根加样针具有独立液面检测功能的多针加样头已有生产,即便这样仍然无法完全消除各孔之间反应时间上的差别。装备这样的机器之后,一天也最适做 2 批,难以实现随机化。所以费米系列等全自动仪器也多在血站及少数的大医院并不良性的运转着。而这种高投入设备使用的好处就是:降低劳动强度,提高加样精度及进一步减少孔间差。

全自动酶免分析系统的发展应如何取向,许多文献对这个问题都有过提及^[2-4],但多是对检测仪器的现状以及如何更好地使用好这些设备进行讨论,很少从临床实际工作的角度提出