

Chromatography, 1986, 363:353—359.

- [6] Tjaden, Stegehuis. Liquid chromatographic determination of chloramphenicol in kidney tissue homogenates using valve-switching techniques[J]. Analyst, 1988, 113:171—174.
- [7] Nagata, Saeki. Simultaneous determination of thiamphenicol, florfenicol, and chloramphenicol residues in muscles of ani-

mals and cultured fish by liquid chromatography[J]. J liquid chromatography, 1992, 15(12):2045—2056.

- [8] 陈家华. 高效液相色谱快速测定家禽组织中氯霉素残留的研究[J]. 中国抗生素杂志, 1992, 17(5):351—355.

[收稿日期:2002-07-26]

中图分类号:R15;O675.7⁺2;S816.73 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2002)06-0017-03

一起豆瓣酱引起的肉毒中毒及其实验诊断

张雪平 薛峰 王荫椿

(兰州生物制品研究所,甘肃兰州 730046)

新疆地区历来是我国肉毒中毒发病最多的地区,尤以北疆居多。^[1]究其原因是(1)北疆土壤中肉毒梭菌芽胞污染率高。(2)北疆汉族居民较多,他们大多有家制发酵豆制品的传统习惯,常因食用含毒的发酵豆制品而致中毒。新疆地区肉毒中毒多发生在冬春季节(12月、1、2、3、4月份),这个时期缺少蔬菜,常以家制豆豉、臭豆腐佐餐,中毒机会较多。

最近新疆吐鲁番地区发生的一起家庭式肉毒中毒,全家8口中有5人吃了自制发酵豆瓣酱而中毒,尤以父母亲为重,当地疑为A型肉毒中毒,但因无该型抗毒血清而于发病后8天入住甘肃省人民医院救治。我们协助做了流行病学调查和实验诊断,从中毒食品中检测出B型肉毒毒素,并分离到一株B型肉毒梭菌,编号为B-020115,证实此起中毒为B型肉毒中毒。

1 流行病学调查

1.1 豆瓣酱的制作过程 1月2日家庭主妇朱××将本地农场产的黄豆淘净,煮烂(约煮2h)后,倒入缸中,用塑料袋封口,置于火墙上焖一周。一周后打开用筷子挑一挑,见有丝状物出现,味奇臭,即加入冷盐水、茴香、辣椒等调味品,第二天开始食用。

1.2 进食及发病情况 2002年1月10日5人开始食用自制豆瓣酱,夫妇2人每天吃1碗,混在稀饭里吃,并送给二儿子夫妇及大儿子食用,食量不等。1月15日5人先后开始发病,主要症状是全身无力,视力模糊,吞咽困难。小儿子一家离父母亲较远,未食用,均未发病。

1.3 临床症状 全身无力、视力模糊、吞咽困难,发病后第三天出现复视,眼睑下垂,瞳孔散大,腹胀,舌头发硬,头昏,肩膀重,气喘。

2 例住院患者在未确定型别的情况下,于1月

25日自购并使用A型肉毒抗毒素2万单位,1月26日经本实验室检验确诊为B型肉毒中毒后,立即(发病10日后)改用B型肉毒抗毒素治疗(停用A型肉毒抗毒素),每天每人肌注2万单位,每人总量5万单位。家中其它患者于明确诊断后也在当地使用了B型肉毒抗毒素。5人均痊愈,无一例死亡。

2 实验诊断^[2]

2.1 豆瓣酱中B型肉毒毒素检测 取豆瓣酱汁液适量置于灭菌离心管中离心,吸取上清液供中和试验和毒力测定用。将上清液做不同倍数稀释,选用14~16g小白鼠,进行腹腔注射,每只0.5mL,测得每毫升豆瓣酱汁液至少含有1600LD₅₀的肉毒毒素(即肉毒毒素含量1600LD₅₀/mL)。

中和试验证明样品中含有B型肉毒毒素。中和试验所用A、B、C、D、E、F型和6型混合肉毒诊断血清由兰州生物制品研究所生产(批号960601,1996年6月生产,有效期至2006年6月)。

2.2 豆瓣酱中B型肉毒梭菌检测 取增菌产毒培养基(明胶琼脂半固体培养基)接种豆瓣酱少许,煮沸1h,冷却,于35℃培养5d,进行增菌产毒试验。由增菌产毒培养液中检出16000LD₅₀/mL(培养液毒力测定结果)的B型肉毒毒素(由肉毒分型血清的中和试验证实)。

2.3 由豆瓣酱中分离的一株B型肉毒梭菌 将上述增菌产毒培养液接种于葡萄糖血琼脂平板,35℃厌氧培养3~4d,根据菌落形态及菌体形态挑取可疑菌落,接种增菌产毒培养基,于35℃培养5d进行毒素检测、中和试验和培养特性检查。经过反复分离、增菌产毒培养和分型检定,分离到一株纯一的B型肉毒梭菌,编号为B-020115。

在葡萄糖血琼脂平板上该菌落扁平、灰白,呈弥散状,大小不等,边缘不规则,周围有溶血环;菌体纤细,杆状,芽胞为梭状,位于偏端,偶尔游离,新培养的幼龄菌体为革兰氏阳性。

该菌在增菌产毒培养液中培养 5 d 能产生 > 64 000 LD₅₀/mL 的 B 型肉毒毒素。

将该菌的单个菌落接种增菌培养液做芽胞耐热试验。结果表明该 B 型肉毒梭菌(B-020115)的芽胞能耐受 6 h 的煮沸(兰州地区的沸点为 94)。

3 讨论与小结

3.1 本文报告了一起因食用自制豆瓣酱引起的食物中毒,经流行病学调查和实验检验,自豆瓣酱中检出 B 型肉毒毒素和 B 型肉毒梭菌,并分离到它的纯一菌株,证明为一起 B 型肉毒中毒。按照肉毒梭菌诊断标准及处理原则给予 B 型肉毒抗毒素治疗。^[3]

3.2 此次中毒食品为自制豆瓣酱,与国内多个报告相符。其自制过程正适合肉毒梭菌繁殖产毒需要。因污染的黄豆即使在煮烂后其中的肉毒梭菌芽胞也不可能被全部杀灭(见结果 2.3),芽胞在营养丰富的介质中,适宜的温度下(火墙上),又经密封、发酵(等于厌氧培养),迅速生长繁殖并产毒。该中毒食

品中的毒素含量 1 600 LD₅₀/mL,毒力较高。虽估计 2 个入院病人吃进毒素甚多,但由于 B 型肉毒毒素与神经系统的亲和力较弱,^[4]故本次发病进程较慢,症状不十分严重。然而也未能从他(她)们的血清中检出肉毒毒素(用抗毒血清前采血测试),可能与发病已近 10 d,早已停食中毒食品有关。

3.3 我们建议在早期型别不明的情况下应联合使用 A、B、E 3 型肉毒抗毒素,待型别确定后再采用对型抗毒素治疗。不能因为新疆地区发生 A 型肉毒中毒较多而忽略了 B 型肉毒中毒的可能,以便为患者得到有效治疗争取时间。

参考文献:

- [1] 夏宏器,吴季高,黄愿峰.肉毒中毒[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,1982.3—4.
- [2] GB 4789.12—94.食品卫生微生物学检验——肉毒梭菌及肉毒毒素检验[S].
- [3] WS/T 83—1996.肉毒梭菌食物中毒诊断标准及处理原则[S].
- [4] 王萌椿.一起豆豉引起的肉毒中毒及其实验诊断[J].中华流行病学杂志,1992,13(1):53.

[收稿日期:2002-05-06]

中图分类号:R15;R378.8⁺3 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2002)06-0019-02

杏仁露中氰化物测定方法的研究

徐向阳 翟凤兰

(朝阳市卫生防疫站,辽宁 朝阳 122000)

杏仁为我国北方特产之一。近几年,以杏仁为原料制做的杏仁露由于其冷、热饮皆宜,已成为男女老少喜爱的饮料。氢氰酸与醛酮类相结合以氰甙形态存在于蔷薇科(如李、桃、杏等)植物的果仁中。杏仁中含有苦杏仁甙,这种甙类本身无毒,但与其共存的酶或胃酸可将甙类水解后释放出氢氰酸,以致中毒。因此在 GB 16322—1996 植物蛋白饮料卫生标准中规定的杏仁露中氰化物的标准为 0.05 mg/L,^[1]检验方法按 GB/T 5009.48—1996 规定执行。^[2]在 GB/T 5009.48 和 GB/T 5009.36 中测定氰化物的方法均采用异烟酸-吡唑啉酮分光光度法。在实际工作中我们发现测定杏仁露类试样时在加入显色剂后都出现不同程度的白色浑浊,严重干扰实验测定。经实验发现是杏仁露中的苯甲醛与吡唑啉酮作用产生了白色浑浊。通过实验,我们将显色剂更换为异

烟酸-巴比妥酸,消除了苯甲醛的干扰。此方法的最低检测量为 0.1 μg,校正曲线相关系数为 $r = 0.9991$,高、中、低 3 种浓度回收率为 92.9%~95.4%,相对标准偏差(RSD)分别为 4.4%、4.7%、9.2%。

1 材料与方法

1.1 原理

试样中氰化物经水蒸汽蒸馏后被碱溶液吸收,与氯胺 T 生成氯化氰,然后与异烟酸-巴比妥酸反应生成紫蓝色化合物,于 600 nm 波长处比色定量。

1.2 仪器

水蒸汽蒸馏装置。50 mL、25 mL 具塞比色管。721 型分光光度计。

1.3 试剂