

一起奇异变形杆菌食物中毒的病原学鉴定

李秀彬 陈萌莉 杨东霞 杨暑伏

(哈尔滨市道外区卫生防疫站,黑龙江 哈尔滨 150026)

1999年6月,我区发生一起因食用烧鸡引起的食物中毒,经流行病学调查和实验室检查,证实是由奇异变形杆菌引起的。鉴于变形杆菌是一种条件致病菌,要确认为食物中毒病原菌,必须对该菌作出系统的鉴定,包括同源性实验,感染菌数及感染性试验。现将系统鉴定报告如下。

1 流行病学调查

我区某酒楼于1999年6月14日12时,为徐某家承办婚宴,就餐者80余人,15时左右,陆续有人发病,至18时共发病28人,主要临床症状为腹痛,并伴有恶心、呕吐、腹泻、发烧等急性胃肠道症状。多数病人症状较轻,仅2例症状较重者,经医院对症治疗,3d后痊愈出院。发病者均有食用烧鸡史。

2 材料与方法

2.1 样品 取患者腹泻便2件、呕吐物1件,吃剩的鸡肉、鱼、肘子各1件,生、熟菜墩涂抹液各1件,病人发病早期、恢复期血清各2件,健康人血清1件。

2.2 培养基 亚硒酸盐增菌液,肉汤增菌液。普通营养琼脂、SS、EMB、三糖铁琼脂培养基由本实验室制备;数值鉴定系列生化培养基^[1]购自哈尔滨市卫生防疫站。

2.3 分离、鉴定方法^[2,3] 按常规将试样磨碎,制成悬液,增菌,平板分离,挑取优势菌落,做系统生物学特征鉴定。

2.4 变形杆菌菌落数测定 烧鸡试样悬液10倍稀释,各取1 100、1 1 000、1 10 000、1 100 000倍稀释液0.1 mL接种于琼脂斜面凝结水处,37℃培养18~24 h,计算变形杆菌的最近似值。

2.5 抗蔓延生长试验 取病人恢复期血清0.1 mL混合于冷至50℃左右的营养琼脂中,倾注平板,取分离菌株点种于该琼脂上,37℃培养24 h,观察有无蔓延生长。以不含抗血清的琼脂做对照。

2.6 动物试验 小白鼠15 g左右,购自哈尔滨兽医研究所,取过夜肉汤培养物0.3 mL腹腔注射。

2.7 血清抗体滴度测定 采用试管凝集法。以病人血清为抗体,分离菌株为抗原。

3 结果

细菌经增菌、分离培养,在EMB、SS平板呈纯培养生长。分别自病人徐某粪便[编号01]、刘某粪便[02]、徐某呕吐物[03]、吃剩烧鸡[04]标本中检出同一生长特性菌共4株。

3.1 形态及染色特征 4株菌均为杆状,革兰氏染色阴性,无芽胞、无荚膜。

3.2 培养特征 在亚硒酸盐增菌液中,呈均匀浑浊生长,表面有菌膜,在普通琼脂平板上呈蔓延生长,菌落连成一片,无色素产生,在SS琼脂上,菌落成半透明。光滑、湿润、边缘整齐,在EMB琼脂上,菌落呈灰白色、圆形、光滑、中心稍厚。

3.3 生理生化特征 4株菌均为氧化酶阴性,动力阳性,能迅速分解尿素,苯丙氨酸脱氨酶阳性。4株菌生化反应试验阳性的有葡萄糖、海藻糖、木糖、柠檬酸盐、H₂S、明胶。反应阴性的有乳糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、肌醇、鼠李糖、阿拉伯糖、苦杏仁甙、甲基葡萄糖苷、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、ONPG、吲哚、V-P。用数值法鉴定,编码是0636000,为奇异变形杆菌。^[1]

3.4 变形杆菌菌数测定结果 吃剩的烧鸡变形杆菌最近似值 $>1 \times 10^6$ CFU/g。

3.5 拮抗试验结果 4株分离菌,在营养琼脂上呈融合状生长,无拮抗现象产生。

3.6 抗蔓延试验结果 在含病人恢复期血清的营养培养基上,4株菌均为孤立菌落,无蔓延生长现象出现。对照营养琼脂上菌落扩散生长。

3.7 动物试验结果 将4株菌培养物分别腹腔注射小白鼠4只,6 h后出现竖毛、寒颤、不活泼后全部死亡。肝脾组织培养出注射菌。对照组动物无异常。

3.8 血清、抗体滴度测定结果 2例病人发病早期血清抗体滴度为1 10,恢复期为1 80,增长8倍。健康人血清抗体滴度为阴性。

4 讨论

奇异变形杆菌是食物中毒常见的变形杆菌之一,由于该菌为条件致病菌,必须在一定的感染剂量下,才能引起临床感染。这起食物中毒的临床症状,流行病学调查及实验诊断资料说明,它是由食用污染的烧鸡引起的。

确认变形杆菌引起的食物中毒,必须有较完整的实验依据。我们首先在2例病人粪便,1例病人呕吐物及吃剩烧鸡样品中检出奇异变形杆菌,对这4株菌进行形态学、培养特征、生理生化的检测,初步认定这起食物中毒是由奇异变形杆菌引起。但由于变形杆菌在自然界分布广,也存在于健康人及动物肠道中,必须对分离的不同来源的菌株做同源性试验。试验证明了这4株不同来源菌株的同源性;同时测定了烧鸡样品,奇异变形杆菌菌数在 1×10^6 CFU/g以上,具备感染致病的剂量;动物试验结果显示,感染菌有一定的毒力,构成对人的感染致病的可能;病人血清抗体滴度测定提示了分离菌与病人血清抗体的同一性;病人恢复期血清抗体滴度测定,提示了分离菌与病人血清抗体的相关性,病人恢复期

血清抗体滴度较疾病早期增长8倍,从而证明此起食物中毒是由奇异变形杆菌引起。从这一起变形杆菌食物中毒病原菌鉴定中,我们认为,对于条件致病菌所致食物中毒的诊断,除流行病学调查,临床表现和检样中的病原菌有代表性外,必须对不同来源的可疑致病菌作生物学同源性试验,如果分离菌生物学特征、生理生化反应不一致,确诊的依据就不够充分。同时要测定致病可疑食物的污染菌污染程度和恢复期病人血清抗体滴度的增长程度。以上实验数据齐全,确认一起食物中毒,尤其是条件致病菌引起的食物中毒,才有充分的科学依据。

参考文献:

- [1] 徐迪诚,蔡妙英主编.革兰氏阴性杆菌新编码鉴定手册[M].哈尔滨:黑龙江科技出版社,1994,147.
- [2] 孟昭赫,主编.食品卫生检验方法注解(微生物部分)[M].北京:人民卫生出版社,1990,167.
- [3] BaLous A. Manual of Clinical Microbiology [M]. 5th ed. Washington D C: Americal Society for Microbiology, 1991, 361.

[收稿日期:2001-09-14]

中图分类号:R15;R117 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2002)02-0015-02

氢化物发生——原子荧光法检测食品包装材料中微量锑

杨 君 张耀庭 李松青

(天津市卫生防病中心,天津 300011)

采用钛白、锑白混合涂搪原料包装以及用聚对苯二甲酸乙二醇树脂为原料包装的食品,容易使食品中的锑的含量偏高,曾发生因饮用了搪瓷容器中的柠檬水而中毒的事件。因此对于包装材料中的锑检验十分必要。锑的传统检验方法是孔雀绿分光光度法,^[1]此方法操作繁琐,灵敏度低,而且需要使用毒性很大的苯进行提取,使该方法难以推广。本文采用氢化物发生——原子荧光技术测定食品包装材料中的微量锑,具有操作简单、快速、精密度好、灵敏度高的优点。方法的最小检出限达 $0.1 \mu\text{g/L}$,是检测微量锑的一种理想的方法。目前该方法在卫生检验中的应用尚少,下面就将其原理、仪器等有关技术指标作一个介绍。

1 材料与方法

1.1 原理 在酸性介质中试样中的锑与硼氢化钾反应生成挥发性锑的氢化物(SbH_3),以氩气为载气,

将氢化物导入电热石英原子化器中原子化,在特制锑空心阴极灯照射下,基态锑原子被激发至高能态,在去活化回到基态时,发射出特征波长的荧光,其荧光强度与锑含量成正比,根据标准系列进行定量。

1.2 仪器 AFS—2202型原子荧光光度计(北京海光仪器公司)。

1.3 试剂 浓盐酸,4%盐酸,4%乙酸,2.0%硼氢化钾、0.5%氢氧化钾混合液,硫脲(20 g/L)、碘化钾(100 g/L)混合液,1.0 $\mu\text{g/mL}$ 锑标准溶液(用国家标准物质BW 3145 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液稀释)。本实验所需容器均需用3%(体积分数)硝酸浸泡24 h后洗净晾干,实验用水为蒸馏水经离子交换树脂处理后的去离子水。

1.4 仪器条件 负高压300 V,灯电流60 mA,原子化温度200℃,观测高度8 mm,读数时间10 s。

1.5 试样处理

1.5.1 搪瓷试样 加入沸4%乙酸至距上口边缘1