

- 展[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(4): 383-387.
- [9] 陈斌卿, 刘志诚, 王茂起. 现代食品卫生学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 878.
- [10] 图力古尔, 包海鹰, 李玉. 中国毒蘑菇目录[J]. 菌物学报, 2014, 33(3): 517-548.
- [11] LITTEN W. The most poisonous mushroom [J]. Scientific America, 1975, 232(3): 90-101.
- [12] 陈作红, 张志光. 毒蘑菇毒素及其中毒治疗(I)——鹅膏肽类毒素[J]. 实用预防医学, 2003, 10(2): 260-262.

## 食源性疾病监测专栏

# 从一起疑似产气荚膜梭菌食源性疾病暴发调查反思 实验室依赖的病因筛查思路

梁骏华<sup>1</sup>, 陈日暖<sup>2</sup>, 吴国杰<sup>3</sup>, 潘雪梅<sup>4</sup>, 黄琼<sup>1</sup>

(1. 广东省疾病预防控制中心营养与食品安全所, 广东 广州 511430; 2. 新会区疾病预防控制中心, 广东 江门 529100; 3. 江门市疾病预防控制中心, 广东 江门 529000; 4. 连州市疾病预防控制中心, 广东 清远 513400)

**摘要:**目的 调查一起急性胃肠炎暴发的原因, 并对当前基层疾病预防控制中心在食源性疾病暴发流行病学调查中有关样品和标本采集后, 致病因子的筛查思路进行了分析探讨。方法 制定病例定义, 开展病例搜索和个案调查, 采用描述性流行病学方法分析事件特征; 开展病例对照研究探讨危险因素和现场卫生学调查追溯原因。采集病例标本和环境样品进行致病菌分离。结果 共搜索病例 43 例, 临床表现主要以腹泻 (100.0%, 43/43)、腹痛 (93.0%, 40/43)、恶心 (32.6%, 14/43) 等为主。流行曲线符合点源暴发模式, 可疑餐次为 2013 年 9 月 12 日午餐, 病例对照研究结果提示烧鸭为可疑食物 ( $OR = 4.0, 95\% CI$  为 1.04 ~ 15.23)。共采集各类样品和标本 36 份, 在 13 份病例肛拭子中分离培养出产气荚膜梭菌 5 份, 阳性率为 38.5%。结论 该事件为一起疑似产气荚膜梭菌食源性疾病暴发, 可能危险因素为烧鸭烤熟后在室温下长时间 (约 5~6 h) 缓慢冷却后受污染, 且未经重新加热直接进食所致。建议加强对餐饮机构厨师的监督管理, 防止类似事件再次发生。基层流行病学调查人员应摒弃“实验室依赖”的惯性思维, 加强对各种致病因子“症状流行病学”知识的归纳总结, 以降低在各种食源性疾病暴发中, 因不熟悉疾病临床特征而导致的误判和漏检。

**关键词:** 产气荚膜梭菌; 暴发; 症状; 流行病学; 病因; 筛查

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2018)03-0274-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2018.03.011

## Self-examination of lab-dependent way in etiology screening in an investigation of a suspected foodborne outbreak of *Clostridium perfringens*

LIANG Jun-hua<sup>1</sup>, CHEN Ri-nuan<sup>2</sup>, WU Guo-jie<sup>3</sup>, PAN Xue-mei<sup>4</sup>, HUANG Qiong<sup>1</sup>

(1. Guangdong Provincial Center of Disease Control and Prevention, Guangdong Guangzhou 511430, China; 2. Center for Disease Control and Prevention of Xinhui District, Guangdong Jiangmen 529100, China; 3. Center for Disease Control and Prevention of Jiangmen City, Guangdong Jiangmen 529000, China; 4. Center for Disease Control and Prevention of Lianzhou City, Guangdong Qingyuan 513400, China)

**Abstract: Objective** To investigate an acute gastroenteritis outbreak and discuss the methodology of etiology screening.

**Methods** Cases were identified according to the definition. Descriptive epidemiological approaches and case-control study designs were employed in the analysis. All the samples were tested for common pathogens by isolation. **Results** A total of 43 cases were found. Epidemiological curve suggested that it was a point source outbreak and the major symptoms were

收稿日期: 2018-03-19

基金项目: 食品安全应急与监测预警技术研究和应用 (200902009)

作者简介: 梁骏华 男 副主任医师 研究方向为食源性疾病监测与食品安全事故流行病学调查 E-mail: 466168469@qq.com

通信作者: 黄琼 女 主任医师 研究方向为食源性疾病监测与食品安全事故流行病学调查 E-mail: huangqiong18@yahoo.com.cn

diarrhea (100.0% , 43/43) , abdominal pains (93.0% , 40/43) , nauseous (32.6% , 14/43) and so on. **Results** From the case-control study revealed that the roast duck served at lunch on September 12 was suspectable. A total of 36 samples, including rectal swabs from patients, hand swabs from kitchen workers, leftover food and environmental swabs, were collected. Five samples (collected from 13 patients) were positive. **Conclusion** This was a suspected foodborne outbreak of *Clostridium perfringens*. The possible cause was that the roast duck was contaminated by *Clostridium perfringens* when stored in the external environment at room temperature for about 5-6 h and was directly ate by patients without reheating. It is necessary to strengthen the supervision and administration of chefs, and improve health consciousness of the public to prevent such case. Investigators should abandon the “lab-dependent” way and strengthen the summary of symptoms-based epidemiology related to a variety of agents so as to decreases the rate of erroneous diagnosis and misdiagnosis due to the unfamiliar of symptoms of various foodborne diseases.

**Key words:** *Clostridium perfringens*; outbreak; symptom; epidemiology; etiological factor; screening

2013年9月12日,某市一工厂有近50名工人出现腹痛、腹泻等症状,经调查后被认为是一起疑似产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)食源性疾病暴发,该型细菌导致的暴发在美国约占食源性疾病暴发总数的4.0%<sup>[1]</sup>,但在我国的文献报道却较少。本研究进行了探讨与分析,并以此案例为契机,就如何在现场调查中快速锁定致病因子,避免盲目开展检测项目,以减轻实验室和材料资源的浪费提出相应的解决办法与建议。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

2013年9月11日至9月14日,在某工厂内出现腹泻(排便 $\geq 3$ 次/24h,且伴有性状改变),伴有腹痛、恶心、头晕、头痛、腹胀等症状之一的员工。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 调查方法

病例搜索和调查资料描述性分析:组织工厂相关管理人员,对厂内各部门所有员工进行排查,按照病例定义搜索病例,由调查组核定确认,设计专用个案调查表,并通过面访形式进行流行病学个案调查。收集病例发病及各餐次的进餐地点等相关信息。描述病例的临床症状和三间分布特征,根据流行病学曲线分析可能的暴露时间,推断可疑餐次范围。

可疑餐次调查:通过开展病例对照研究,比较病例组和对照组在可疑餐次暴露上的风险比(OR),95%的可信区间(95%CI)不包括1,则在食堂进食该餐次与发病存在统计学关联。

可疑食物调查:在锁定可疑餐次基础上,选择进食该餐次而不发病的员工作为对照组,计算病例组和对照组进食各种食物的OR值,95%CI不包括1,则差异有统计学意义。对筛选出来的2种可疑食物进一步采用叉生分析,确定中毒食物。

现场卫生学调查:通过现场勘查及访谈食堂管理人员和厨师的方式,收集食堂加工用水来源、可

疑食品加工原料、加工过程、加工用具及环境等信息,分析可疑食物污染来源及加工过程中存在的问题。

#### 1.2.2 标本和样品的采集与检测

采集病例和食堂工作人员的肛拭子、手拭子、食堂剩余食物留样和食堂加工工具等标本和样品,依据GB 4789.4—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》<sup>[2]</sup>、GB 4789.5—2012《食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验》<sup>[3]</sup>、WS/T 9—1996《变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则》<sup>[4]</sup>、GB 4789.10—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》<sup>[5]</sup>、GB/T 4789.6—2003《食品卫生微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验》<sup>[6]</sup>、GB/T 4789.14—2003《食品卫生微生物学检验 蜡样芽胞杆菌检验》<sup>[7]</sup>、GB/T 4789.7—2008《食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验》<sup>[8]</sup>进行分离培养和鉴定,采用实时荧光聚合酶链式反应(RT-PCR)方法检测诸如病毒核酸<sup>[9]</sup>。

### 1.3 统计学分析

建立统一数据库,应用SPSS 13.0软件进行数据整理和分析。计数资料用率表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 描述性分析结果

共搜索到43例病例,罹患率5.4%(43/795),主要表现为腹泻(100.0%,43/43)和腹痛(93.0%,40/43),其次为恶心(32.6%,14/43)、腹胀(23.3%,10/43),头晕(18.6%,8/43)和头痛(11.6%,5/43)比例较低,病例均无发热和呕吐症状。腹泻一般为3~4次/24h,最多为8次/24h,多为黄色糊状便,腹痛多为下腹部绞痛。抽取其中33例患者进行血常规检查发现,白细胞计数下降的有16例(48.5%),嗜碱性粒细胞百分比升高的有

13例(39.4%),中性粒细胞计数下降的有9例(27.3%),淋巴细胞计数增高的有8例(24.2%)。患者病程为1~2d,临床表现以轻症为主,无重症和死亡病例。

首例发病时间为2013年9月12日16:00,末例发病时间为2013年9月13日6:00,发病高峰为2013年9月13日2:00~4:00,流行病学曲线提示为点源暴露模式,见图1;根据发病时间中位数和集中发病的时间间隔,推断可能暴露时间为2013年9月12日午餐,其前后相邻的早餐和晚餐也作为可疑餐次考虑<sup>[10]</sup>,但由于工厂只提供午餐和晚餐,员工自行食用早餐,因此重点考虑2013年9月12日午餐和晚餐。

男、女罹患率分别为4.1%(12/296)和6.2%(31/499),二者比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 1.69$ ,  $P > 0.05$ );厂内住宿工人发病21人,罹患率为5.8%(21/362),厂外住宿工人发病22人,罹患率为5.1%(22/433),两者差异无统计学意义( $\chi^2 =$

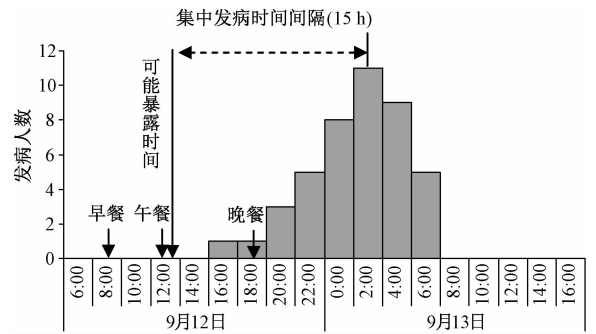


图1 43例病例发病时间流行曲线图  
Figure 1 Epidemic curve of 43 cases distribution by date of onset

0.20,  $P > 0.05$ )。

## 2.2 可疑餐次调查结果

选择43例病例作为病例组,从病例所在的部门随机选择在食堂就餐且没有发病的121名工人作为对照组,分析比较两组人群在各餐次暴露的OR值,结果显示,2013年9月12日午餐为可疑餐次(见表1)。

表1 某工厂食源性疾病暴发可疑餐次分析结果

Table 1 Analysis result for suspicious meal of foodborne disease outbreak in a factory

可疑餐次	病例组(n=43)		对照组(n=121)		OR值	95% CI
	食堂就餐	非食堂就餐	食堂就餐	非食堂就餐		
2013年9月12日午餐	42	1	101	20	8.32	1.08~63.98
2013年9月12日晚餐	33	10	82	39	1.57	0.70~3.51

## 2.3 可疑食物调查结果

根据可疑餐次分析结果,重点对9月12日午餐菜谱采用病例对照研究,分析该餐次食物与发病的

关系。分析显示,食用土豆炖排骨和烧鸭均是该起暴发的危险因素,进一步叉生分析结果显示,烧鸭是可疑食物,详见表2~3。

表2 某工厂食源性疾病暴发可疑食物的病例对照分析结果

Table 2 Case-control study analysis result for suspicious foods of foodborne disease outbreak in a factory

可疑食物	病例组(n=42)		对照组(n=101)		OR值	95% CI
	食用	未食用	食用	未食用		
土豆炖排骨	26	16	36	65	2.93	1.39~6.18
烧鸭	38	4	65	36	5.26	1.74~15.93
丝瓜炒肉	11	31	32	69	0.77	0.34~1.71
白瓜片	10	32	24	77	1.00	0.43~2.33
萝卜丝	14	28	28	73	1.29	0.59~2.79
水菜	22	20	60	41	0.75	0.36~1.55

表3 2013年9月12日午餐两种可疑食物叉生分析

Table 3 Crossover analysis result for 2 suspicious foods served at lunch on September 12, 2013

土豆炖排骨	烧鸭	病例组	对照组	OR值	95% CI
+	+	24	31	7.48	2.03~27.53
-	+	14	34	3.98	1.04~15.23
+	-	1	7	1.38	0.12~15.36
-	-	3	29	ref	ref

注:ref表示共同对照;+表示食用;-表示未食用

## 2.4 现场卫生学调查结果

工厂生活用饮水一直为自来水公司市政管网水,未使用二次供水系统,近期无管网维修史,现场

未发现循环水作业,食堂用水污染的可能较小。生产楼每层都有一台饮水机,饮水机工艺流程为:市政水→过滤→烧水→开水(水未烧开不出水)。员工宿舍未设饮水机,工人均用热水瓶从车间带水回宿舍饮用。食堂共有员工10人(厨工2人,分菜7人,采购1人),近期末进行员工调整,所有食堂工作人员在2013年9月12日之前1周内,均未出现腹痛、腹泻等或因病缺勤现象,食堂员工带菌污染食物的可能性较小。

食堂经营范围包括熟卤食物,由厨师制作,但

无操作专间。烧鸭加工过程的询问调查显示,当餐共食用 70 kg 烧鸭,由 4 ~ 5 km 外的白沙市场好味烧烤店送货,12 日早上 9:00 左右送到,食堂厨工砍切小块后盛放于大菜盆中,室温下保存,11:30 开餐时未经重新加热直接向工人分发,每人大约 100 g。烧鸭烤熟后经过运送、砍切和保存过程,在室温下经过长时间(5 ~ 6 h)缓慢冷却,多个环节都可能被污染。近两天白沙市场附近的医疗机构无腹痛、腹泻病例增加现象,污染环节可能为食堂砍切和砍切后保存。

### 2.5 实验室检验结果

2013 年 9 月 13 日上午,市疾病预防控制中心(CDC)采集患者肛拭子 22 份、砧板棉拭子 2 份、食物 4 份、厨工手拭子 8 份。其中 13 份患者肛拭子、4 份厨工手拭子及 1 份砧板棉拭子送省 CDC 检测产气荚膜梭菌和致泻大肠埃希菌,其他样品和标本留在市 CDC 进行诺如病毒、沙门菌、志贺菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、副溶血性弧菌和蜡样芽胞杆菌检测。省 CDC 在 13 份患者肛拭子中检测出 5 份产气荚膜梭菌阳性,阳性率为 38.5%。

## 3 讨论

根据病例临床表现和实验室检测结果,参考 GB 14938—94《食物中毒诊断标准及技术处理总则》<sup>[11]</sup>和 WS/T 7—1996《产气荚膜梭菌食物中毒诊断标准及处理原则》<sup>[12]</sup>,判定本次中毒事件疑似由产气荚膜梭菌引起。流行病学和现场卫生学调查证据提示 2013 年 9 月 12 日午餐的烧鸭烤熟后在较高温度下长时间缓慢冷却,在存储、再加工及运输过程中受污染,且未经重新加热直接进食而导致暴发发生。依据如下:(1)病例流行曲线提示为一次点源暴露引起,工人饮用的水为过滤并煮沸的市政供水,与工厂同一供水管网的区域未报告症状相似的聚集性病例,水源性污染可能小。(2)国外关于产气荚膜梭菌引起的食源性疾病暴发报道<sup>[1,13]</sup>,临床症状、潜伏期、病程及常见可疑食物等都与本次事件高度相似,且符合 WS/T 7—1996 诊断标准中的 3.1 ~ 3.2。(3)由于此菌在自然界广泛存在,在土壤、污水、垃圾、家畜、昆虫及人的粪便中都可检出,所以试验结果不能作为本次事件致病的确切证据,但阳性率为 38.5%,高于学者报道<sup>[14]</sup>的健康人群 2% ~ 15% 带菌水平,提示存在产气荚膜梭菌感染发病的可能。

食源性疾病暴发的病因溯源调查需结合病例临床表现、流行病学数据以及实验室证据综合分析,三方面的证据是有机结合、相辅相成的,过分倚

重任一方证据均会引起对其他方面证据的忽略从而导致证据链条的缺失。以该案例的病原因子筛查思路为例,暴露出当前基层 CDC 在暴发调查实施病因筛查时普遍存在的一个问题:过分依赖实验室常规检验项目结果,忽视结合流行病学特征筛查致病因子。该起调查中,市 CDC 调查人员开展病原体检测时未充分结合疾病的流行病学特征考虑,直接要求实验室开展“包围式”检测项目,以找出可能的致病因子,这种调查思路切断了流行病学和实验室之间的联系,本质上是调查人员受“实验室依赖”的惯性思维所误导,该调查思维在基层 CDC 中普遍存在。以产气荚膜梭菌为例,该菌广泛分布于人畜粪便、土壤、污水等外环境中,可产生多种外毒素,根据其产生 4 种主要致死性外毒素( $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\epsilon$ 、 $\iota$ )的能力不同,可以分为 A、B、C、D、E 五个型。其中主要 A 型对人致病,也有少数为 C 型<sup>[15-17]</sup>,主要引起人的食源性疾病暴发和非食源性胃肠道疾病<sup>[16-17]</sup>。目前我国有关产气荚膜梭菌感染中毒的食源性疾病病例报道较少,也缺乏详细的病例统计资料,主要是疾病预防控制机构人员在应对以急性胃肠炎为主要临床表现的食源性疾病暴发时,过分依赖实验室检测结果,如果确定是微生物引起,往往统一检测沙门菌、志贺菌、致泻大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌、副溶血性弧菌、溶血性链球菌和变形杆菌等 8 种致病菌和诺如病毒,而一旦检测结果呈阴性,则将事件定性为“不明原因胃肠炎暴发”,很少再进一步检测其他病原菌。这种包围式检测方法,加重了调查人员对流行病学调查技术的忽视,进一步阻碍了对不明原因胃肠炎致病因子的探索。根据食源性疾病暴发报告系统监测数据,2011—2013 年广东省共报告食源性疾病暴发 300 起,其中不明原因食源性疾病暴发占 16.3% (49/300),49 起事件中,血常规指标提示细菌感染且以急性胃肠炎为主要临床表现的占 95.9% (47/49),说明可能存在常规检测项目外的食源性致病菌。对于每一种特定的致病因子,导致中毒总人群的各种临床症状/体征出现的概率是固定的,根据大数定律和中心极限定理,其在每一个总体中抽取的样本(相当于每一次暴发)中的该症状,出现的频率密度曲线也服从正态分布。在食源性疾病暴发中,调查人员最先获取的信息是病例的临床特征,因此,总结归纳既往确诊的食源性致病因子导致的各种症状百分比,用于比较分析未知致病因子在某起暴发中的各种症状出现的比例,结合潜伏期等流行病学特征,将检测多种食源性致病菌缩小至一定范围(比如 2 ~ 3 种),避免采

取“包围式检测”手段,从而大幅度减轻实验室应急压力是完全可行的。BENNETT等<sup>[1]</sup>学者统计了1998—2008年美国金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌和产气荚膜梭菌所致暴发的急性胃肠炎的各种症状比例,通过对比分析发现,尽管3种致病因子所导致的中毒人群的各种症状均以腹痛、腹泻、呕吐为主,但各症状出现的频率有明显差异,提示在一起暴发中,可以通过分析各种症状在群体中出现的比例来辅助对可疑致病因子进行推断。此外,缩减可疑致病因子范围,还可减少对应急现场各种样品及标本的浪费,增加检测结果的可信度。在该案例中,调查人员曾采集到留样食品烧鸭,但只有约100 g,却因对致病因子的“症状流行病学”不熟悉而被用于过早检测沙门菌,以致后来怀疑致病因子是产气荚膜梭菌后因样品或标本已用尽而无法开展进一步验证。

该调查所暴露出的实验室依赖性思维是目前广大基层疾病预防控制机构存在的普遍性问题,同时也是广东省一直以来不明原因胃肠炎在食源性疾病暴发中所占比例无法得到有效下降的原因,因此,以此案例为契机,建议加强对各类型确诊暴发的致病因子所导致人群的症状发病频率进行统计归纳,尽可能细化每种症状的特点,并以此构建暴发“症状流行病学”数据库,开发基于智能手机操作系统技术平台的第三方应用程序并实现互联网数据共享,以便全国调查人员在应急暴发现场能快速方便的查阅并缩减可疑致病因子范围,节约检材资源并提高实验室效率。

## 参考文献

- [ 1 ] BENNETT S D, WALSH K A, GOULD L H. Foodborne disease outbreaks caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*-United States, 1998-2008[J]. Clin Infect Dis, 2013,57(3):425-433.
- [ 2 ] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验:GB 4789.4—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [ 3 ] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 志贺氏菌检验:GB 4789.5—2012[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [ 4 ] 中华人民共和国卫生部. 变形杆菌食物中毒诊断标准及处理原则:WS/T 9—1996[S]. 北京:中国标准出版社,1996.
- [ 5 ] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验:GB 4789.10—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [ 6 ] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 食品卫生微生物学检验 致泻大肠埃希氏菌检验:GB/T 4789.6—2003[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [ 7 ] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 食品卫生微生物学检验 蜡样芽胞杆菌检验:GB/T 4789.14—2003[S]. 北京:中国标准出版社,2003.
- [ 8 ] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. 食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验:GB/T 4789.7—2008[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [ 9 ] 李晖,方苓,邹丽容,等. 广东省暴发性胃肠炎中诺如病毒的分子流行病学特点分析[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2007,27(1):5-8.
- [ 10 ] World Helath Organization. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control[M]. WHO Press, 2007.
- [ 11 ] 中华人民共和国卫生部. 食物中毒诊断标准及技术处理总则:GB 14938—94[S]. 北京:中国标准出版社,1994.
- [ 12 ] 中华人民共和国卫生部. 产气荚膜梭菌食物中毒诊断及处理原则:WS/T 7—1996[S]. 北京:中国标准出版社,1996.
- [ 13 ] CHIN J. Control of communicable diseases manual[M]. American Public Health Association, 2000.
- [ 14 ] 张彬彬,陈晓蔚. 一起耐热型A型产气荚膜梭菌食物中毒的病原菌分离[J]. 江苏预防医学,1997,8(2):66-67.
- [ 15 ] 郁庆福. 现代卫生微生物学[M]. 北京:人民卫生出版社,1995.
- [ 16 ] VINCENT A, FISCHETTI P R J J. Gram-positive pathogens[M]. Washington D. C.: ASM Press, 2000.
- [ 17 ] SARKER M R, SINGH U, MCCLANE B A. An update on *Clostridium perfringens* enterotoxin[J]. J Nat Toxins, 2000,9(3):251-266.