

• 论 著 •

腹泻 4 项病毒抗原检测在疑似食物中毒中的临床应用*

何兰香¹, 毛智趣¹, 李志奇¹, 唐光定², 李容芳³

(1. 广东省清远市阳山县疾病预防控制中心检验科 513100; 2. 广东省清远市阳山县妇幼保健院
检验科 513100; 3. 广东省清远市阳山县人民医院检验科 513100)

摘要:目的 探讨腹泻 4 项病毒抗原(轮状病毒、肠道腺病毒、诺如病毒、星状病毒)联合检测在疑似食物中毒中的应用价值。方法 收集疑似食物中毒患者急性期粪便 176 份,采用荧光免疫层析法进行腹泻 4 项病毒抗原检测,同时进行致病菌培养鉴定。结果 176 份疑似食物中毒患者粪便标本中,检出 1 株志贺菌,未检出其他致病菌;腹泻 4 项病毒抗原中轮状病毒、肠道腺病毒、诺如病毒、星状病毒抗原的检出率分别为 9.66%、1.70%、14.77%、2.84%。结论 应用腹泻 4 项病毒抗原联合检测可明确病毒病原体,及时识别和预警食源性疾病暴发。

关键词:食物中毒; 食源性疾病; 腹泻病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.05.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)05-0585-03

Clinical application of 4-item diarrhea viral antigen in suspected food poisoning*

HE Lanxiang¹, MAO Zhiqu¹, LI Zhiqi¹, TANG Guangding², LI Rongfang³

(1. Department of Clinical Laboratory, Yangshan County Center for Disease Control and Prevention, Qingyuan, Guangdong 513100, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Yangshan County Woman and Child Health Care Hospital, Qingyuan, Guangdong 513100, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Yangshan County People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 513100, China)

Abstract: Objective To investigate the application value of combined detection of four diarrhea viral antigens (rotavirus, enteric adenovirus, norovirus, astrovirus) in suspected food poisoning. Methods One hundred and seventy-six stool samples from the patients with acute phase of suspected food poisoning were collected and performed the 4-item viral antigen detection by adopting the immunofluorescence chromatography, and at the same time the culture and identification of pathogenic bacteria at the same time were performed. Results Among 176 stool samples of patients with suspected food poisoning, one strain of Shigella was detected and other pathogens were not detected out; the detection rates of four viral antigens of rotavirus, enteric adenovirus, norovirus and astrovirus were 9.66%, 1.70%, 14.77% and 2.84% respectively. Conclusion The combined detection of four diarrhea viral antigens can definite viral pathogens, timely identify and early warn food-borne disease outbreaks.

Key words: food poisoning; foodborne diseases; diarrhea virus

食品是人类赖以生存和发展的物质基础,而食品安全是关系到人类健康和国计民生的重大课题,是国际社会广泛关注的热点问题^[1]。据 WHO 统计,发达国家每年约有 1/2 的人感染食源性疾病(包括食物中毒),而在一些发展中国家,食品安全甚至是导致死亡的主要原因^[2]。目前,已知的食源性疾病大约有 250 多种,大多数是由致病菌、病毒和寄生虫导致的感染性疾病,随着抗菌药物的广泛应用和社会经济发展以及人民群众卫生习惯的改善,致病菌和寄生虫导致的食源性腹泻已得到有效控制,而腹泻病毒感染已成为食源性腹泻暴发的最主要病原^[3]。目前已知引起食源性腹泻的常见腹泻病毒病原包括轮状病毒(RV)、肠道腺病毒(EAdV)、诺如病毒(NV)和星状病毒(AstV)^[4]。为有效预防和控制非细菌食源性疾病的发生和爆发,本研究采用荧光免疫层析法联合检测腹泻 4 项病毒抗原,旨在探讨腹泻 4 项病毒抗原联合检测在食物中毒中的应用价值。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 收集 2014 年 5 月至 2015 年 12 月清远市阳山县疾病预防控制中心、阳山县人民医院和阳山县妇幼保健院

收治的疑似食物中毒的腹泻患者粪便标本 176 份。采集腹泻患者急性期粪便标本,置于灭菌干燥、有盖的 5 mL 螺口塑料采样管中,立即送实验室检测,或置 -20 °C 冰箱冷冻保存待检。

1.2 仪器与试剂 BH400fx 荧光免疫层析分析仪(北京博晖创新光电技术股份有限公司)及仪器专用检测卡检测腹泻 4 项病毒抗原(RV、EAdV、NV、AstV)。致病菌检测所用培养基和试剂均由广东环凯微生物科技有限公司、宁波天润生物药业有限公司提供,严格按照说明书和国家标准进行操作。

1.3 方 法

1.3.1 腹泻诊断标准 每天大便次数增加(≥ 3 次)或大便性状发生明显改变(稀便、水样便、黏液便、脓血便等)。

1.3.2 致病菌培养检测 按照《2013 年国家食源性疾病预防工作手册》、中华人民共和国国家标准 2012 版《食品微生物学检验》进行沙门菌、金黄色葡萄球菌、志贺菌、致泻大肠埃希菌、副溶血性弧菌致病菌培养鉴定。

1.3.3 腹泻 4 项病毒抗原联合检测 腹泻 4 项病毒抗原联合检测试剂卡利用荧光免疫层析技术,采用双抗体夹心法检测。

* 基金项目:广东省清远市社会发展领域自筹经费科技计划项目(2015B119)。

作者简介:何兰香,女,卫生检验副主任技师,主要从事卫生检验方面的研究。

当待测标本加入测试卡加样孔后,待检标本中含有的 RV、EAdV、NV、AstV 抗原与荧光标记的抗体形成反应复合物,在层析作用下,反应复合物沿硝酸纤维素膜向前移动,分别被硝酸纤维素膜检测区上预包被的 RV、EAdV、NV、AstV 单克隆抗体捕获,在检测区上形成反应条带,使用 BH400fx 联检仪检测反应条带的荧光值,当荧光值等于或高于检出限时显示为阳性,低于检出限时显示阴性。严格按仪器、试剂说明书的要求进行操作。

2 结 果

2.1 致病菌培养 176 份疑似食物中毒腹泻患者粪便样本中,检出志贺菌 1 株,检出率为 0.57%,未检出其他致病菌。

2.2 腹泻 4 项病毒抗原检测 176 份疑似食物中毒腹泻患者粪便样本中,共检出腹泻病毒抗原 51 份,占 28.98%,其中 RV、EAdV、NV、AstV 抗原的检出率分别为 9.66%、1.70%、14.77%、2.84%,见表 1。

表 1 致病菌和腹泻 4 项病毒抗原检出情况 (n=176)

病原体	阳性(n)	检出率(%)	构成比(%)
志贺菌	1	0.57	1.92
RV	17	9.66	32.69
EAdV	3	1.70	5.77
NV	26	14.77	50.00
AstV	5	2.84	9.62
合计	52	29.55	100.00

3 讨 论

随着社会经济发展和人类食品需求量的增大,很多食品因病原体污染而影响了人们的身体健康,食源性疾病(包括食物中毒)给全球造成了严重的公共卫生问题和巨大的经济负担^[5]。近年来,随着抗菌药物的广泛应用和人民群众生活水平的提高以及卫生习惯的改善,细菌感染所致的食源性疾病呈逐年下降的趋势,而腹泻病毒感染已成为导致非细菌性腹泻暴发的最主要病原。因为患者临床症状以呕吐、腹痛、腹泻为主,与细菌性食物中毒相似,目前大多数医疗机构的实验室都尚未开展相应的腹泻病毒病原体检测,往往被诊断为“食物中毒”或“胃肠炎”^[6]。病毒性腹泻具有传播快、潜伏期短、发病急、感染力强、病后免疫力不能持久等特点,常可导致突发性公共卫生事件^[7]。其中 NV 是引起儿童和成人非细菌性胃肠炎的主要病原体,常在医院、餐馆、学校、托儿所、军队等人群密集的地方引起急性暴发,近年来,国内外在幼儿园和学校暴发的由 NV 引起的群体性疫情的报道增多^[8-10]。NV 属于人类杯状病毒科的单股正链 RNA 病毒,具有高度感染性,10~100 个病毒颗粒就能引起感染,与流感病毒相似,传染迅速,被称为“胃肠道型流感”。在全球,NV 引起的食源性疾病暴发排第一位,占食源性疾病暴发的 50% 以上,在非细菌性胃肠炎暴发中占 90% 以上^[11]。2013 年广东省共报道 19 起其他非细菌感染性腹泻暴发疫情,均由 NV 引起^[12]。本研究显示,在 176 例疑似食物中毒腹泻患者粪便样本中,共检出 NV 抗原 26 例(检出率为 14.77%),占检出病原体总数的 50.00%。

人类 RV 是引起婴幼儿腹泻的主要病原体,美国疾病预防控制中心报告每年全世界大约有 1.4 亿腹泻患儿感染 RV,死亡约 100 万^[13]。RV 性腹泻是我国北方秋冬季小儿腹泻最常见的病原体,曾被称为秋季腹泻^[14]。本研究中 RV 抗原检出率为 9.66%,仅次于 NV 抗原。随着国民经济的快速发展和

社会生活水平的提高,人民群众对饮食卫生的要求也相应提高,各级政府和卫生行政部门对卫生监督的高度重视,自 2014 年春节后阳山县没有发生群体性食源性疾病事件,本研究中检测的样本均来自家庭散发病例。为及早干预、控制食源性疾病(包括食物中毒)疫情发生,实验室必须及时提供有效、可靠、快速的实验诊断依据,本研究采用荧光免疫层析法检测 176 份疑似食物中毒患者粪便标本的腹泻 4 项病毒抗原,并同时进行致病菌培养,结果显示致病菌培养检出 1 株志贺菌,检出率位 0.57%,未检出其他致病菌;腹泻 4 项病毒抗原总的检出率为 28.98%,RV、EAdV、NV、AstV 检出率分别为 9.66%、1.70%、14.77%、2.84%,与广州市刘泽滨等^[15]报道的结果较为一致,而 EAdV 检出率明显高于无锡市^[16]、北京地区^[17],RV、NV、AstV 相关数据与广州市、无锡市、北京相对较为一致,同时均以 NV 检出率居高,与张静等^[18]对我国 2006—2013 年 NV 感染性腹泻流行现状的报道数据接近。

感染性腹泻是人类最常见的疾病,在世界各地广泛流行,已成为全球性的重要的公共卫生问题,近年来国内外均有 EAdV、AstV 引发病毒性腹泻暴发的报道,对 EAdV、AstV 的预防控制仍不可掉以轻心^[19-20]。为减少病毒性腹泻爆发的风险,及时控制疫情扩散,应用快速的筛查方法检测腹泻病毒显得尤其重要,采用荧光免疫层析法联合检测肠道 4 项病毒抗原(RV、EAdV、NV、AstV),可以在短时间内明确食源性疾病病原体,及时排除致病菌引起的细菌性食物中毒,在腹泻诊断、疑似食物中毒中具有相当的应用价值,该实验过程相对简单,整个操作只需 5 min 且 1 次实验同时检测 4 种病毒抗原,可为临床治疗提供及时、有效、可靠的实验信息。

应用腹泻 4 项病毒抗原联合检测技术,明确病毒病原体,及时识别和预警食源性疾病爆发,对有效预防和控制食源性疾病的发生和爆发具有重要意义。

参考文献

- [1] 向辉. 食源性致病微生物快速检测技术研究进展[J]. 华南预防医学, 2015, 41(6): 541-544.
- [2] 刘晓红. 食源性疾病的预防与控制[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(20): 146-147.
- [3] 邓爱萍, 孙立梅, 莫艳玲, 等. 广东省 2012 年病毒性腹泻病原学特征分析[J]. 华南预防医学, 2014, 40(2): 119-122.
- [4] 吴清平, 寇晓霞, 张菊梅. 食源性病毒及其检测方法[J]. 微生物学通报, 2004, 31(3): 101-105.
- [5] 陈艳, 严卫星. 国内外急性胃肠炎和食源性疾病负担研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(2): 190-193.
- [6] 罗小芳, 陆学东. 病毒性腹泻的实验室诊断进展[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(12): 1190-1191.
- [7] 胡菊妹, 薛涛, 董旭, 等. 湖州市食源性腹泻病例中诺如病毒感染现状与特征[J]. 浙江预防医学, 2014, 26(12): 1226-1228.
- [8] 梁飘, 林英, 陈书华. 聚集性诺如病毒感染事件的病原学检验[J]. 现代医院, 2015, 15(7): 81-82.
- [9] 秦田秀. 桂林市首起诺如病毒食物中毒事件的调查[J]. 中国保健营养, 2013, 23(1): 397-398.
- [10] 张振, 陈兵, 廖玉学, 等. 1 起新型诺如病毒感染性腹泻暴发疫情的现场流行病学调查[J]. 华南预防医学, 2015, 41(1): 11-15.

求,但未能及时通过校准后比对试验的校准操作是不被认可的操作。笔者认为,血细胞分析仪校准后,必须及时进行校准后比对试验并通过比对,才能保证实验室不同品牌、不同系列的血细胞分析仪实验结果间具有可比性,满足临床实验室认可的需要。

校准可以使用仪器配套的校准品,但配套校准物的价格高、效期短且难以及时获得等特点,使配套校准物的使用难以得到推广。近年来,新鲜全血是最佳的比对试验标本及校准物^[8-9],这一观点已经深入人心,而使用可溯源到国际参考方法的固定血细胞分析仪定值新鲜全血,再使用定值的新鲜全血对其他血细胞分析仪进行校准的方法开始被广泛采用。本文作者采用了该方法,首先使用配套的校准品对迈瑞 BC5800 进行校准,校准后进行了校准验证,校准验证通过后对新鲜血进行定值,以该新鲜血作为校准品对 BC5300 及 BC5180 进行校准,校准后进行了校准验证,校准验证通过后使用新鲜血进行比对试验,确保检验结果间具有可比性,满足临床的需要。

在本次校准实验中,BC5800 的 RBC 偏倚不超过表 1 的一列数值,无需进行校准;而 WBC、Hb、MCV 及 PLT 的偏倚均在表 1 的一列和二列之间,需进行校准,调整仪器的校准系数,在调整仪器的校准系数后对 RBC、WBC、Hb、MCV 及 PLT 进行校准验证,各个项目的偏倚均不超过一列的数值,校准合格;使用新鲜血在 BC5800 进行定值后,使用另外两支新鲜血对 BC5300、BC5180 进行校准,结果显示 BC5300 及 BC5180 的 RBC、WBC、Hb、MCV、PLT 的偏倚均小于表 1 的第一列数值,无需校准,而校准验证结果亦显示 BC5300、BC5180 的 RBC、WBC、Hb、MCV、PLT 的偏倚均小于表 1 的第一列数值,证明校准合格。在新鲜血比对试验中 BC5800 与 BC5300、BC5800 与 BC5180 的 WBC、RBC、Hb、MCV、PLT、HCT、MCH、MCHC 相对偏差符合率均超过 80%,比对试验通过,检验结果间的可比性得到保障,可满足临床的需要。

通过校准、校准验证和比对试验,本实验室相同品牌不同型号的血细胞分析仪检测结果具有溯源性和可比性,可满足临床的需要。总之,血细胞分析仪校准后必须进行校准验证,以确保实验结果的准确性及溯源性;而血细胞分析仪校准后必须及时进行比对试验并通过比对^[10-12],确保检验结果间具有可

比性,满足临床的需要。

参考文献

- [1] 黎海生,胡大春,钱净.同一医院内不同血细胞分析系统检测结果可比性验证[J].国际检验医学杂志,2015,36(5):596-598,600.
- [2] 魏静,冷珊珊. Sysmex 不同型号血细胞分析仪检测结果的比对分析和偏倚评估[J]. 检验医学与临床,2016,13(10):1399-1401.
- [3] 任晓艳,何超,杨银芳,等.同系列不同型号血细胞分析仪的可比性评估[J]. 检验医学与临床,2016,13(5):666-668.
- [4] 戴平,梅燕萍.不同血细胞分析系统的检测结果的可比性评价[J]. 现代医学,2015,43(12):1543-1546.
- [5] 中华人民共和国卫生部.血细胞分析的校准指南:WS/T 347-2011[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [6] 中华人民共和国卫生部.临床血液学检验常规项目分析质量要求:WS/T 406-2012[S].北京:中国标准出版社,2013.
- [7] 中国合格评定国家认可委员会.医学实验室质量和能力认可准则在临床血液学检验领域的应用说明:CNAS-CL43[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [8] 彭明婷.建立血细胞分析溯源体系的有关问题[J].中华检验医学杂志,2006,29(4):381.
- [9] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:141.
- [10] 陈丽芳,林淑仪,姚淑雯,等.多台血细胞分析仪检测结果可比性分析[J].广州医药,2013,44(1):39-40,50.
- [11] 雷继魁.多台血细胞分析仪可比性研究[J].国际检验医学杂志,2013,34(22):3066-3068.
- [12] 肖秀林.社区医院血液分析仪校准方法的建立和应用[J].中国卫生检验杂志,2015,25(12):1891-1894.

(收稿日期:2016-08-18 修回日期:2016-10-20)

(上接第 586 页)

- [11] 孔翔羽,靳森,段招军.诺如病毒与食源性疾病[J].中国临床医生杂志,2015,43(7):21-23.
- [12] 杨芬,孙立梅,郭丽丽,等.广东省 2013 年其他感染性腹泻流行病学特征研究[J].华南预防医学,2015,41(3):233-237.
- [13] 李梦东,王宇明.实用传染病学[M].重庆:科学技术文献出版社重庆分社,1989:443-446.
- [14] 郑建军,邱再平,叶小红,等.一起轮状病毒引起的腹泻暴发疫情调查[J].浙江预防医学,2016,28(1):71-73.
- [15] 刘泽滨,王琼,胡琴,等.四种腹泻病毒抗原联检技术在临床儿童腹泻诊断中的应用价值[J].现代检验医学杂志,2014,29(3):91-93.
- [16] 管红霞,肖勇,沙丹,等.无锡市病毒性腹泻流行的监测分析[J].中国卫生检验杂志,2014,24(9):1306-1308.

- [17] 孙建飞,姬莉莉,陈玲霞,等.2012 年北京市怀柔区病毒性腹泻监测结果[J].职业与健康,2014,30(15):2092-2094.
- [18] 张静,常昭瑞,孙军玲,等.我国诺如病毒感染性腹泻流行现状及防控措施建议[J].疾病监测,2014,29(7):516-521.
- [19] 李林,查巍,金载璇,等.腹泻患儿粪便中轮状病毒与肠道腺病毒检测结果分析[J].临床输血与检验,2015,17(3):212-214.
- [20] 付建光,蒋春梅,祝雯雯,等.2013 年徐州地区人星状病毒基因特征分析[J].中华传染病杂志,2015,33(2):91-95.

(收稿日期:2016-09-29 修回日期:2016-11-21)