

基因芯片法与常规检测法在食源性疾病中的应用对比分析

刘莹*

(廊坊市疾病预防控制中心, 廊坊 065000)

摘要: 目的 对比分析基因芯片法与常规检测法在食源性疾病中的应用效果。**方法** 收集 2016 年 4 月到 2018 年 8 月收治的诊断食源性疾病的患者 98 例为研究对象, 收集患者的新鲜粪便, 根据检测方法不同分为对照组与观察组, 观察组应用基因芯片法进行病原菌的检测, 对照组则应用常规培养法进行病原菌的检测。观察比较两组的病原菌检测阳性率和检测时间等相关指标。**结果** 在 98 例患者中, 观察组采用基因芯片法检测出病原菌 58 例(副溶血弧菌 9 例, 痢疾杆菌 32 例, 沙门菌 10 例, 大肠埃希菌 2 例, 金黄色葡萄球菌 5 例), 病原菌检出率为 58.2%。对照组采用常规培养法检测出病原菌 32 例(副溶血弧菌 5 例, 痢疾杆菌 19 例, 沙门菌 4 例, 金黄色葡萄球菌 4 例), 病原菌检出率为 32.7%。基因芯片法和培养法对病原菌、痢疾杆菌的检出率差异存在统计学意义($P < 0.05$)。观察组采用基因芯片法用于食源性疾病患者的病原菌检测时间明显短于常规培养法, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 基因芯片技术能够快速检出食源性疾病病原菌, 可以替代常规培养法对病原菌进行检测, 在食源性疾病的早期诊断和治疗中具有重要的临床价值。

关键词: 食源性疾病; 病原菌; 基因芯片; 培养法

Comparative analysis of application of gene chip method and routine detection method in foodborne diseases

LIU Ying*

(Langfang City Center for Disease Control and Prevention, Microbiology Inspection Division, Langfang 065000, China)

ABSTRACT: Objective To compare and analyze the effects of gene chip and conventional detection in foodborne diseases. **Methods** A total of 98 patients diagnosed with foodborne diseases were collected as study objects from April 2016 to August 2018. Fresh feces of patients were collected and divided into control group and observation group according to different detection methods. The observation group was tested for pathogens by gene chip method, while the control group was tested for pathogens by conventional culture method. The positive detection rate, detection time and other related indicators were observed and compared between the 2 groups. **Results** Among the 98 patients, the observation group detected 58 pathogens by gene chip method (9 cases of *Vibrio parahaemolyticus*, 32 cases of *Shigella castellani*, 10 cases of *Salmonella*, 2 cases of *Escherichia coli*, 5 cases of *Staphylococcus aureus*). The detection rate of pathogens was 58.2%. In the control group, 32 cases of pathogens were detected by

基金项目: 廊坊市科技支撑计划项目(2018013083)

Fund: Supported by Langfang Science and Technology Support Plan Project (20180 13083)

*通讯作者: 刘莹, 主要研究方向为食源性疾病微生物检验。E-mail: liuying00425@163.com

*Corresponding author: LIU Ying, Center for Disease Control and Prevention, No.121 Heping Road, Guangyang District, Langfang City, Hebei Province, China. E-mail: liuying00425@163.com

routine culture method (5 cases of *Vibrio parahaemolyticus*, 19 cases of *Shigella castellani*, 4 cases of *Salmonella* and 4 cases of *Staphylococcus aureus*), and the detection rate of pathogenic bacteria was 32.7%. There was a statistically significant difference in the detection rate of pathogenic bacteria and dysentery bacilli by gene chip method and culture method ($P < 0.05$). The detection time of the pathogens in the observation group using the gene chip method for foodborne diseases was significantly shorter than that of the conventional culture method, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Gene chip technology can quickly detect the pathogen of foodborne disease, and can replace the conventional culture method to detect the pathogen. It has important clinical value in the early diagnosis and treatment of foodborne disease.

KEY WORDS: foodborne disease; pathogen; gene chip; culture method

1 引言

细菌性食源性疾病是全世界范围内的公共健康问题, 食品供应的全球化意味着食源性疾病可在不同国家中快速传播, 在许多国家中均有大规模的暴发情况, 也是我国传染病预防的重点疾病, 严重危害了人类的生命健康^[1-3]。食源性疾病具有高发病率, 对老人、婴幼儿、免疫力低下患者有高致死率^[4]。摄入病毒、寄生虫、细菌、有毒的生物毒素或化学物质污染的水和食物等均会引发食源性疾病, 如果能够尽早快速鉴定病原菌类型, 对食源性疾病的预防与治疗具有重要意义^[5,6]。常规的致病菌检测方法为平板培养法, 该方法已在临床中广泛应用, 但由于该方法具有培养时间长、操作工作量大、检测灵敏度低等缺点, 目前已经无法满足临床防治食源性疾病的需要^[7,8]。近年来, 随着遗传学、分子生物学的相关技术不断发展, 临床中病原菌的检测逐渐由细胞水平向基因水平改变^[9]。基因芯片法是一种新型的分子生物学检测技术, 主要是通过基因序列的检测从而完成细菌的鉴定, 从而提高感染性疾病病原菌的临床诊断准确率和灵敏度^[10]。基因芯片法的原理主要是基于细菌的 16S rRNA 基因的高度保守性, 针对保守区域设计通用引物, 扩增 16S rRNA 基因的可变区序列, 从而对细菌进行分析鉴定^[11]。基因芯片技术是一种全新的病原菌检测方法, 其具有高通量、高敏感性、检测速度快等优点^[12,13], 与传统的基因测序相比, 基因芯片法的检测范围更广, 检测速度明显提高, 并且可同时检测多个样本, 有助于更快速有效的检出病原菌^[14]。目前采用基因芯片法检测新鲜粪便中的食源性致病菌研究相对较少。

本研究分别采用基因芯片法与常规检测法对食源性疾病患者的新鲜粪便进行检测, 对比 2 种方法的检测效果, 为食源性疾病的检出找到最为快捷有效的方法。

2 材料与方 法

2.1 一般资料

采集诊断为食源性疾病的患者 98 例为研究对象, 所

有患者均符合食源性疾病的临床诊断标准^[15]。患者年龄 3~52 岁, 平均年龄(25.7±10.3), 男 56 例, 女 42 例。收集患者的新鲜粪便为送检标本, 根据检测方法不同分为对照组与观察组, 观察组应用基因芯片法进行病原菌的检测, 对照组则应用常规培养法进行病原菌的检测。

2.2 试剂与仪器

DNA Mini Kit 试剂盒(货号: 51306, 德国 Qiagen 公司); Vere Foodborne 基因芯片(意法半导体公司); 酵母提取物(货号: Y1625-250G, 美国西格玛奥德里奇公司); 胰化蛋白胨(货号: LP0185B, 英国 Oxoid 公司); 氯化钠(货号: S7653-5KG; 美国西格玛奥德里奇公司); 琼脂粉(货号: A1296, 美国西格玛奥德里奇公司); PCR 试剂盒(货号: A33227, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司)。

ThermoSuretect 全自动病原菌检测系统(美国 Thermo 公司); DW-25L262 冰箱(青岛海尔股份有限公司); 18113 恒温培养箱(37 °C, 美国 Thermo 公司); T100 PCR 仪(美国伯乐公司)。

2.3 方 法

收集患者的新鲜粪便为送检标本, 对照组采用常规培养法进行病原菌检测, 将采集的新鲜粪便 3~4 g 接种于革兰阴性浓缩肉汤(Gram-negative concentrated broth, GN)培养基中, 于 37 °C 恒温培养箱中培养 18~24 h, 观察菌落的形成情况。如有菌落生成则挑取菌落接种于霍乱双糖铁琼脂培养基和动力-吡啶-尿素培养基中, 在于 37 °C 培养箱中进行病原菌的分离培养, 细菌的培养鉴定操作过程完全严格参照《全国临床检验操作规程》^[16]。

观察组采用基因芯片法进行病原菌的检测, 将新鲜粪便样本进行细菌 DNA 的提取, 完全按照说明书进行操作。提取的细菌 DNA 放置于-20 °C 冰箱保存。采用全自动病原菌检测系统和基因芯片对细菌 DNA 进行检测^[14]。

2.4 统计学方法

本研究数据的统计学分析均采用 SPSS 21.0 软件进行, 其中计量资料采用($\bar{x} \pm s$)描述, 经 t 检验分析; 计数资料采

用(n, %)描述, 经 χ^2 检验分析, 当 $P < 0.05$ 时, 差异存在统计学意义。

3 结果与分析

3.1 2组病原菌检测阳性率的比较

在 98 例患者中, 观察组采用基因芯片法检测出病原菌 58 例(副溶血弧菌 9 例, 痢疾杆菌 32 例, 沙门菌 10 例, 大肠埃希菌 2 例, 金黄色葡萄球菌 5 例), 病原菌检出率为 58.2%; 对照组采用常规培养法检测出病原菌 32 例(副溶血弧菌 5 例, 痢疾杆菌 19 例, 沙门菌 4 例, 金黄色葡萄球菌 4 例), 病原菌检出率为 32.7%, 详见表 1、表 2。基因芯片法和培养法对病原菌的检出阳性率差异存在统计学意义($P < 0.05$), 详见表 1。基因芯片法和培养法对痢疾杆菌的检出阳性率差异存在统计学意义($P < 0.05$), 详见表 2。而基因芯片法和培养法对沙门菌、副溶血弧菌、金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的检出阳性率则无明显统计学差异($P >$

0.05), 详见表 2。

3.2 两组的病原菌检测时间比较

观察组采用基因芯片法用于食源性疾病患者的病原菌检测时间明显短于常规培养法, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 如表 3。

表 1 两组病原菌检测总阳性率的比较(n, %)

Table 1 Comparison of total positive rate of pathogen detection in two groups (n, %)

组别	病原菌检测	
	阳性	阴性
观察组(n=98)	58(59.2%)	40(40.8%)
对照组(n=98)	32(32.7%)	66(67.3%)
χ^2	13.348	
P	0.000	

表 2 两组各种病原菌检测的阳性率的比较(n, %)

Table 2 Comparison of positive rates of detection of various pathogens in 2 groups (n, %)

组别	痢疾杆菌		沙门菌		副溶血弧菌		金黄色葡萄球菌		大肠埃希菌	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
观察组(n=98)	32(32.7%)	66(67.3%)	10(10.2%)	88(89.8%)	9(9.2%)	89(90.8%)	5(5.1%)	93(94.9%)	2(2.0%)	96(98.0%)
对照组(n=98)	19(19.4%)	79(80.6%)	4(4.1%)	94(95.9%)	5(5.1%)	93(94.9%)	4(4.1%)	94(95.9%)	0(0.0%)	98(100.0%)
χ^2	4.479		2.769		1.231		0.116		2.021	
P	0.034		0.096		0.267		0.733		0.155	

表 3 两组的病原菌检测时间比较($\bar{x} \pm s, h$)

Table 3 Comparison of pathogen detection time between the two groups ($\bar{x} \pm s, h$)

组别	病原菌检测时间
观察组(n=98)	7.5±1.6
对照组(n=98)	45.4±8.3
t -test	44.387
P	0.000

4 结论与讨论

细菌检测常规的检测方法为传统培养法, 传统的培养法主要包括血清学试验、分离培养、生化反应等, 成本较低, 操作简单并且具有灵活性, 是临床中应用最广泛的

方法, 但由于营养因素复杂且难以控制, 标本的采集时间、采集量、培养基质量与培养条件均会对最终的培养结果造成较大干扰^[17]。因此, 传统培养法的病原菌检出情况并不理想, 研究报告, 该方法进行病原菌检测的检出率往往在 30%左右, 并且检测时间过长, 大多超过 48 h, 这些情况均不利于食源性疾病的早期诊断^[18]。本研究结果显示, 对照组采用常规培养法检测出病原菌 32 例(副溶血弧菌 5 例, 痢疾杆菌 19 例, 沙门菌 4 例, 金黄色葡萄球菌 4 例), 病原菌检出率仅为 32.7%。

在本研究的 98 例患者中, 观察组采用基因芯片法检测出病原菌 58 例(副溶血弧菌 9 例, 痢疾杆菌 32 例, 沙门菌 10 例, 大肠埃希菌 2 例, 金黄色葡萄球菌 5 例), 病原菌检出率为 58.2%。基因芯片法和培养法对病原菌、痢疾杆菌的检出率差异存在统计学意义($P < 0.05$)。观察组采用基因芯片法用于食源性疾病患者的病原菌检测时间明显短于常规培养法, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示我们基因

芯片法在食源性疾病患者的病原菌检测中的应用对于提高检出率, 改善诊断准确性等方面具有明显优势, 同时该方法还具有操作迅速, 获得检测结果的时间较短的优点, 对于临床早期诊断具有重要意义。

综上所述, 基因芯片技术可快速的检出食源性疾病病原菌, 可替代常规培养法对病原菌进行检测。虽然基因芯片技术具有上述优势, 但同样也存在一定的不足, 例如检测费用较高, 会在一定程度的增加家庭和社会的经济压力, 在技术方面也需要科研工作者不断的完善与改进, 已达到更理想的检测效果。

参考文献

- [1] 黄金林. 食源性致病菌研究动态[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(7): 1477-1478.
Huang JL. Research trends of foodborne pathogenic bacteria [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(7): 1477-1478.
- [2] 陆皎, 王晓莉, 吴林海. 国内外食源性疾病防控的研究进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 21(2): 196-199.
Lu J, Wang XL, Wu LH. Research progress on prevention and control of foodborne diseases at home and abroad [J]. Chin J Dis Control Prev, 2017, 21(2): 196-199.
- [3] 付燕燕, 张茂俊. 浅谈食源性疾病的传播和耐药性[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(7): 2664-2669.
Fu YY, Zhang MJ. Discussion on the spread and drug resistance of foodborne diseases [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(7): 2664-2669.
- [4] 卢玲玲, 柯碧霞, 何冬梅, 等. 食源性疾病监测中影响致病菌分离率及分离时限的因素分析[J]. 华南预防医学, 2017, 43(5): 471-473.
Lu LL, Ke BX, He DM, *et al.* Factors affecting the isolation rate and separation time of pathogenic bacteria in foodborne disease surveillance [J]. South Chin J Prev Med, 2017, 43(5): 471-473.
- [5] 刘素芬, 梁骏华, 黄琼, 等. 一起检出多种致病菌的食源性疾病暴发调查与病因探讨[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(1): 100-104.
Liu SF, Liang JH, Huang Q, *et al.* Investigation and outbreak of foodborne disease outbreaks with multiple pathogens [J]. Chin J Food Hyg, 2017, 29(1): 100-104.
- [6] 汪皓秋, 俞骅, 郑伟, 等. 二代测序技术在一起食源性疾病事件病原鉴定中的初步应用[J]. 中华预防医学杂志, 2018, 52(6): 647.
Wang HQ, Yu H, Zheng W, *et al.* Preliminary application of second generation sequencing technology in pathogen identification of foodborne disease events [J]. Chin J Prev Med, 2018, 52(6): 647.
- [7] 孙晶. 核酸法在食源性致病菌检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(9): 3409-3413.
Sun J. Research progress of nucleic acid method in detection of foodborne pathogenic bacteria [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(9): 3409-3413.
- [8] 王小强, 营思思, 韩锐郡, 等. 多重寡核苷酸连接-聚合酶链式反应-通用基因芯片检测食源性致病菌方法的建立[J]. 卫生研究, 2017, 46(2): 225-231.
Wang XQ, Ying SS, Han RJ, *et al.* Establishment of a method for detection of foodborne pathogens by multiple oligonucleotide ligation-polymerase chain reaction-generic gene chip [J]. J Hyg Res, 2017, 46(2): 225-231.
- [9] 郑辉. 病原微生物检测技术应用及展望分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(18): 25-26.
Zheng H. Application and prospect analysis of pathogenic microorganism detection technology [J]. World Latest Med Inf, 2017, 17(18): 25-26.
- [10] 徐晓丽, 林娟, 鄢仁祥. 基因芯片与高通量测序技术的原理与应用的比较[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(11): 36-44.
Xu XL, Lin J, Yan RX. Comparison of principles and applications of gene chips and high-throughput sequencing technology [J]. Chin J Biochem Mol Biol, 2018, 34(11): 36-44.
- [11] 陈燕飞, 雷永良, 陈秀英, 等. 基因芯片法菌种鉴定技术在非结核诊断中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(17): 2545-2547.
Chen YF, Lei YL, Chen XY, *et al.* Application of gene chip identification technology in non-tuberculosis diagnosis [J]. Chin J Health Lab Technol, 2017, 27(17): 2545-2547.
- [12] 姜文华. 分子生物学技术在微生物检验中的应用效果分析[J]. 中国医药指南, 2017, 15(14): 290-291.
Jiang WH. Analysis of application effect of molecular biology technology in microbial testing [J]. Guide Chin Med, 2017, 15(14): 290-291.
- [13] 张妮. 分子生物学技术在病原菌快速检测中的应用进展[J]. 国际儿科学杂志, 2017, 44(5): 332.
Zhang N. Progress in the application of molecular biology techniques in rapid detection of pathogenic bacteria [J]. Int J Pediatr, 2017, 44(5): 332.
- [14] 许俊钢, 靳晓利, 张国强. 基因芯片法和培养法在细菌性痢疾中的应用对比[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(23): 4049-4050.
Xu JG, Jin XL, Zhang GQ. Comparison of gene chip method and culture method in bacterial dysentery [J]. Chin J Health Lab Technol, 2015, 25(23): 4049-4050.
- [15] 杨绍基. 传染病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
Yang SJ. Infectious diseases [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005.
- [16] 厉小玉, 刘获, 周俊, 等. 2006年-2014年杭州市儿童细菌性痢疾的菌谱分布及耐药性变迁[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(22): 3960-3963.
Li XY, Liu D, Zhou J, *et al.* The spectrum distribution and drug resistance of children with bacillary dysentery in Hangzhou from 2006 to 2014 [J]. Chin J Health Lab Technol, 2015, 25(22): 3960-3963.
- [17] 冯洁, 谢建云, 冯丽萍, 等. 培养法和 PCR 法用于实验大、小鼠细菌检测的比较分析[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(8): 23-26.
Feng J, Xie JY, Feng LP, *et al.* Comparative analysis of culture method and PCR method for experimental bacteria detection in mice and mice [J].

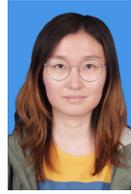
Chin J Comp Med, 2015, 25(8): 23–26.

[18] 徐奋奋, 金晓霞, 黄亚琴. 食源性疾病监测中副溶血性弧菌现场快速检测方法的建立与应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(21): 3089–3091.

Xu FF, Jin XX, Huang YQ. Establishment and application of on-site rapid detection method for *Vibrio parahaemolyticus* in foodborne disease surveillance [J]. Chin J Health Lab Technol, 2017, 27(21): 3089–3091.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



刘莹, 主要研究方向为食源性疾病微生物检验。

E-mail: liuying00425@163.com

食品接触材料研究专题征稿函

食品与药品接触材料是指用于制造食品包装容器和构成食品包装的材料总称, 包括纸、塑料、金属、玻璃、陶瓷等原材料以及粘合剂, 涂覆材料等各种辅助材料。食品与药品包装是食品的重要组成部分, 具有保护食品与药品不受外来生物、化学和物理因素的影响, 维持食品与药品质量稳定的特点。为了满足各种食品与药品的包装要求, 接触材料必须具备适当的阻隔性、足够的机械强度、化学稳定性、耐高温及光学性能等多种性能。此外, 当接触材料直接与食品、药品接触时, 有些物质会迁移渗透到食品、药品中, 可能导致食品、药品的安全隐患。因此, 食品与药品接触材料的安全问题也显得尤为重要。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品接触材料研究”专题, 由华南农业大学 **向红教授**担任专题主编, 主要围绕食品接触材料的制备、性能(机械性能、阻隔性、化学稳定性、抗菌性及其他性能)、接触材料中有害物质的检测及其向食品中的迁移行为、绿色及智能接触材料的研究与开发等方面或您认为有意义的相关领域展开论述和研究, 综述及研究论文均可。

鉴于您在该领域丰富的研究经历和突出的学术造诣, 学报主编**吴永宁技术总师**和专题主编**向红教授**特邀请您为本专题撰写稿件, 综述、研究论文、研究简报均可, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。

本专题计划在**2020年1月**正刊出版, 请在**2019年11月20日**前通过网站或E-mail投稿。我们将快速处理并经审稿合格后优先发表。希望您能够通过各种途径宣传此专题, 并积极为本专题推荐稿件和约稿对象。感谢您的参与和支持!

投稿方式: 备注“**2019专题: 食品接触材料研究**”

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部