

基因芯片法在食源性疾病中诊断效果及影响 多因素 Logistic 分析研究

刘 莹^{1*}, 王海霞²

(1. 廊坊市疾病预防控制中心, 廊坊 065000; 2. 三河市疾病预防控制中心, 廊坊 065000)

摘要: 目的 对比基因芯片法在食源性疾病诊断中的效果, 并对影响多因素进行 logistic 分析。**方法** 选择 180 例临床表现符合食源性疾病诊断标准的患者作为研究对象, 随机均分为实验组和对照组各 90 例, 对照组采用传统的常规培养检测方法, 实验组采用基因芯片法进行检测, 对比 2 种方法的检出率、检测耗时以及检测灵敏度。**结果** 实验组的检出率和检测灵敏度均高于对照组的检出率和检测灵敏度, 对照组的检测耗时大约是实验组检测耗时的 8.24 倍。**结论** 相比常规方法, 应用基因芯片法的诊断速度更快、准确率更高, 在诊断食源性疾病中的应用效果更佳。通过对单因素的 χ^2 和 t 检验, 确定对食源性疾病有直接影响的多个因素。对影响食源性疾病的多个因素进行 Logistic 分析, 分析结果表明在本次研究分析中, 影响较大的因素是人们的饮食卫生以及进食规律。

关键词: 基因芯片; 食源性疾病; 诊断效果; 影响因素; Logistic 分析

Study on the diagnostic effect of gene chip in foodborne diseases and Logistic analysis of multiple factors

LIU Ying^{1*}, WANG Hai-Xia²

(1. Langfang Disease Prevention and Control Center, Langfang 065000, China; 2. Sanhe Disease Prevention and Control Center, Langfang 065000, China)

ABSTRACT: Objective To compare the effect of gene chip method in the diagnosis of foodborne diseases, and to carry out Logistic analysis on the influencing factors. **Methods** Choose 180 cases of patients with clinical manifestations of foodborne disease diagnosis standard as the research object, randomly divided into experimental group and the control group ($n=90$), the control group used the traditional regular train detection method, the experimental group used gene chip testing. The detection rate of two methods, detection time consuming and the detection sensitivity were compared. **Results** The detection rate and detection sensitivity of the experimental group were higher than that of the control group, and the detection time of the control group was 8.24 times longer than that of the experimental group. **Conclusion** Compared with conventional methods, the method of gene chip is faster and more accurate in diagnosing foodborne diseases. Multiple factors directly affecting foodborne illness are identified by single factor's χ^2 and t tests. Logistic analysis was carried out on several factors affecting foodborne diseases, and the analysis results showed that in this study, the major factors influencing the analysis were people's dietary hygiene and eating habits.

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 (2018013083)

*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 065000, China. E-mail: liuying00425@163.com

KEY WORDS: gene chip; foodborne illness; diagnostic effect; influencing factors; logistic analysis

1 引言

世界卫生组织认为,凡是通过摄食进入人体的各种致病因子引起的,通常具有感染性的或中毒性的一类疾病,都称之为食源性疾病,包括常见的食物中毒、肠道传染病、人畜共患传染病、寄生虫病以及化学性有毒有害物质所引起的疾病。

食源性疾病是通过进食行为而获病,具有高发病率、爆发性、以及季节性的特点,对公共卫生安全以及社会稳定影响极大^[1]。防治食源性疾病在我国已经成为公共卫生安全预防的重点。

常规确定食源性疾病致病菌的方式大多为使用培养基接种提取的致病病菌,通过复杂且繁琐的步骤,鉴定致病菌。这种方法的检测时间长,检测灵敏度低,已经不能满足现在医院对食源性疾病诊断的需求^[2]。

基因芯片法是指利用已知序列的核酸探针测定目标对象基因序列的方法。基因芯片法可以同时大量的核酸进行快速、高效地检测,能够满足对食源性疾病诊断^[3]。因此,将病原学检查作为重点,本研究将分别应用 2 种检测方法对采集的肠道传染病患者的致病菌进行检测,对比 2 种检测方法在对食源性疾病中的诊断效果,并使用 logistics 分析法分析多个影响食源性疾病的因素。本研究对于食源性疾病精准诊断具有重要意义,能够有效减少食源性疾病发病率,提升治愈几率。

2 材料与方法

2.1 研究对象

抽取某一医院接诊的食源性疾病患者共 180 人作为本文的研究对象,所有抽取的患者其临床特征均符合食源性疾病的诊断标准。

随机将 180 位患者均分为 2 组,分别记为实验组和对照组。其中,实验组中男性患者 56 人,女性患者 34 人,年龄范围为 9~35 岁,平均年龄为 25.5 岁;对照组中男性患者 48 人,女性患者 42 人,年龄范围在 15~42 岁,平均年龄为 28.5 岁。比较所有研究对象的基本资料,均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性能够作为本次研究对象^[4]。

收集所有患者的新鲜粪便作为食源性致病菌的送检样本,实验组患者的送检样本应用基因芯片法进行检测,对照组患者的送检样本采用常规的培养基培养检测方法。

2.2 试剂与仪器

对照组培养基材料:95%灭菌葡萄糖溶液(上海联迈生物工程有限公司);60×15 mm 玻璃培养皿(无锡 DVS 德凡仪

器);胰化蛋白胨(山东一晨生物科技有限公司);氯化钠(苏州斌顺化工有限公司);琼脂粉(上海日心食品有限公司);矿物油(延安市盛源化工有限公司);酵母提取物(徐州赛奇生物科技有限公司)。

实验组:基因芯片片基(南京科瑞芯生物科技有限公司);Taq 酶(南京安研生物科技有限公司);显色液、杂交液(上海如吉生物科技发展有限公司);酪胺盐酸盐试剂(上海联迈生物工程有限公司);PCR 仪器(上海冠森生物有限公司)。

TG16K-II 离心机、T-SCAN 20 扫描仪(上海继谱电子科技有限公司);玻璃点样毛细管、DPV-20E 点样仪、DVS-500EC 荧光显微镜、DVS-260 恒温生化箱(无锡 DVS 德凡仪器);DuPont Qualican BAX® Q7 system 病原菌检测系统(广州海滔科学仪器有限公司)^[5]。

2.3 实验方法

2.3.1 对照组样本检测方法

取对照组患者的新鲜粪便样本 5 g,接种至制备好的胰化蛋白胨培养基上,将培养基放置在恒温生化箱中,在 37 °C 中恒温培养 6 h。培养基中形成菌落时,使用毛细管挑取菌落接种在吡啶-尿素琼脂培养基中,并在培养基中进行病原菌分离培养与鉴定^[6]。所有细菌培养和鉴定使用的仪器以及操作过程完全按照标准操作规程进行。

2.3.2 实验组样本检测方法

取实验组患者的新鲜粪便样本 5 g,加入一定量的蒸馏水,将悬浊液放入离心机离心 5 min 后静置 10 min。向将上层清液中加入 Taq 酶、PCR 试剂以及去离子水,利用 PCR 仪在含 1.5 μL 的 25 mmol/L Mg²⁺、0.4 U Taq 酶、2.0 μL 的 35 ng/μL 模板基因组 DNA 组成的引物中进行 PCR 扩展^[7]。

PCR 扩展后,按照样点间距离(100±10) μm、样点大小为 80 μm 进行点样,制备基因芯片。基因芯片制备完成后,提取实验组样本的 DNA,使用点样机将提取的 DNA 点样至基因芯片上。在 42 °C 的恒温环境下,进行 2 h 的恒温水浴^[8]。水浴杂交处理后,使用混合 0.2% SDS 的柠檬酸钠缓冲液,在 42 °C 对杂交后的新品冲洗 4 min。将冲洗、干燥处理后的基因芯片送入病原菌检测系统,输出送检样品中致病菌检测结果。

2.4 统计学处理

本文中研究的相关数据采用 Excel 软件输入,数据统计学分析使用 SPSS 19.0 软件,所有的数据计量方式为 $\bar{x} \pm s$ 。对实验数据采用 χ^2 检验分析, $P<0.05$,即实验数据差异存在统计学意义^[9]。

3 结果与分析

3.1 实验结果

在本次实验研究的实验组与对照组共 180 例患者中,使用基因芯片法和常规方法对食源性疾病致病菌的检出阳性率如表 1 所示,表中所有数据差异 $P < 0.05$, 存在统计学意义。

表 1 致病菌检测阳性率比较
Table 1 Comparison of positive detection rates of pathogenic bacteria

组别	致病菌检测结果		χ^2	P 值
	阳性	阴性		
实验组(n=90)	76(84.4%)	14(15.6%)	14.292	0.014
对照组(n=90)	62(68.9%)	28(31.1%)	10.187	0.021

从上表中可以看出,基因芯片法的阳性检出率要高过常规培养检测方法的阳性检出率,基因芯片法的阴性检出率要低于常规培养检测方法的阴性检出率。

使用基因芯片法和常规培养检测方法对实验组和对照组 180 例样本致病菌检测时间比较表 2 所示。

表 2 样本致病菌检测时间比较
Table 2 Comparison of detection time of pathogenic bacteria in samples

组别	致病菌检测时间/s	检测有效率/%
实验组(n=90)	6.8±1.7	84.4
对照组(n=90)	56±8.6	68.9

采用 SPSS 19.0 软件进行数据正态性检验,结果如图 1 所示。

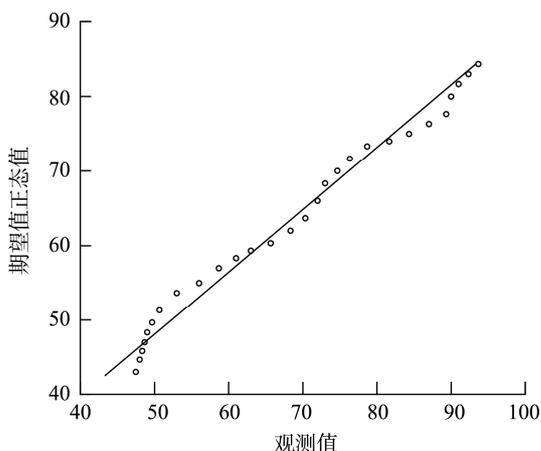


图 1 数据正态性检验结果
Fig. 1 Data normality test results

分析上图可知,数据服从正态性分布。分析上表可知,

使用常规培养检测方法检测致病菌的检测时间大约是使用基因芯片法检测耗时的 8.24 倍。

使用荧光扫描仪测试 2 种方法对 6 种食源性疾病致病菌的检测灵敏度,测试结果如图 2 所示。

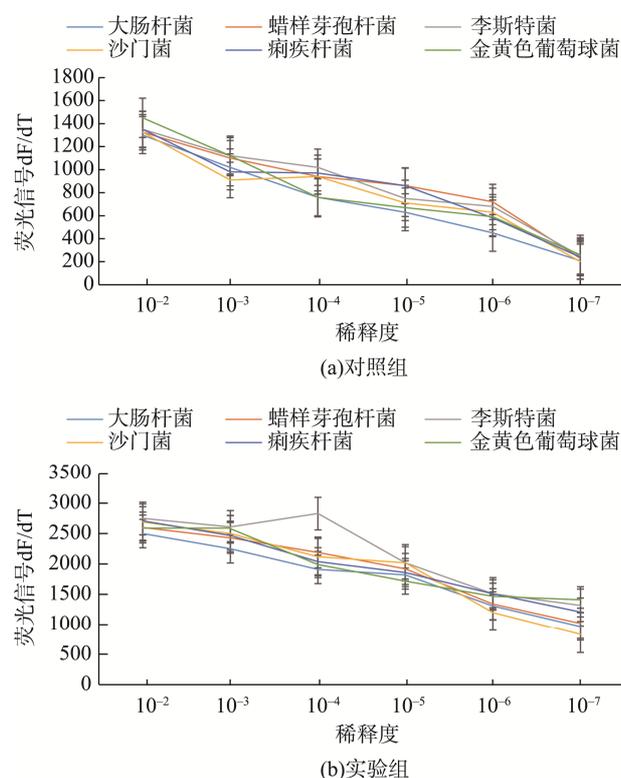


图 2 两种方法检测致病菌灵敏度对比(n=90)
Fig.2 comparison of sensitivity of the two methods to detect pathogenic bacteria(n=90)

分析上图可知,随着稀释度不断增加,致病菌的荧光信号值不断下降,即 2 种方法的检测灵敏度均不断下降,但是基因芯片法的检测致病菌荧光信号值始终高于常规检测方法检测致病菌荧光信号值。说明基因芯片法检测灵敏度更高^[10,11]。通过对比分析以上实验数据,说明使用基因芯片法检测食源性致病菌的检测效率高、准确率高、检测灵敏度高,即使用基因芯片法辅助诊断食源性疾病的效果更佳。

对参与本次研究的患者进行生活习惯、饮食习惯等致病影响因素调查,使用 Logistic 分析法分析影响食源性疾病的多个因素。

3.2 影响多因素 logistic 分析

本次研究的 180 例患者的临床表现均符合食源性疾病的诊断标准,将检测结果作为分析的因变量,将影响因素作为 Logistic 分析自变量,按照表 3 对多个可能影响因素进行赋值^[12]。

表 3 Logistic 分析研究因素及赋值
Table 3 Logistic analysis factors and assignment

因素	变量	赋值
人口社会学	性别	男=1; 女=2
	年龄阶段	9~20岁=1; 21~30岁=2; 31~40岁=3; 41~50岁=4;
	饮酒	不喝=1; 偶尔=2; 经常=3;
生活方式	抽烟	不喝=1; 偶尔=2; 经常=3;
	饭前洗手	没有=1; 偶尔=2; 经常=3;
	熬夜	没有=1; 偶尔=2; 经常=3;
	三餐规律	没有=1; 偶尔=2; 经常=3;
饮食习惯	饮食偏好	没有=1; 甜味=2; 咸味=3; 油腻=4; 辛辣=5;
	就餐场所	家里或食堂=1; 外卖等=2;
	饮生水	不喝=1; 偶尔=2; 经常=3;
	因变量	判断

对上述影响因素进行单因素的 χ^2 和 t 检验, 检验结果如下表所示^[13]。

在系数为 $\alpha=0.05$ 、 $\beta_0=0.10$ 下建立如下式所示的 logistic 回归模型^[14]。

$$\hat{y} = P(y=1|x) = \frac{e^z}{1+e^z} \quad (1)$$

上式中, $e=2.718281828459$, x 为表 3 中因素的赋值, z 为影响因素的影响因子, 本文通过计算音箱因素赋值的加权平均数确定影响因子具体数值。将上表中经过 χ^2 和 t 检验后均满足 $P<0.05$ 的因素送入回归模型中, 得到影响患者患食

源性疾病的多个因素^[15]。根据表 3 对确定多个因素进行分析, 得到如下表所示的食源性疾病患病多因素 Logistic 分析表。

分析表 4、5 中的数据, 由于除吸烟、饭前有时洗手、三餐规律的 P 值大于 0.05, 因此不具备统计学意义。排除这 3 个因素之外, 其余所有的影响因素的 OR 值均大于 1, 说明所有的因素都对食源性疾病存在影响。对比分析 OR 值数值的大小, 可以判断在多个影响食源性疾病的因素中, 外卖、三餐不规律对食源性疾病的影响最大, 患者自身的饮酒、卫生习惯、熬夜等对食源性疾病存在一定的影响, 但影响较少。

表 4 单因素 χ^2 和 t 检验结果
Table 4 Test results of single factor χ^2 and t

影响因素	B	Wald	P 值
性别	0.179	0.843	0.399
年龄阶段	0.359	11.243	0.026
饮酒	0.488	18.961	0.012
抽烟	0.756	4.634	0.031
饭前洗手	0.287	1.365	0.048
熬夜	0.167	0.135	0.412
三餐规律	0.584	5.369	0.018
饮食偏好	0.287	35.647	0.035
就餐场所	0.255	24.298	0.024
饮生水	0.493	6.219	0.015

表 5 食源性疾病影响多因素 Logistic 分析表
Table 5 Multivariate Logistic analysis of foodborne diseases

因素		β	Wald	P 值	OR 值	置信区间
饮酒	是	0.604	6.712	0.009	2.367	1.248 ~ 4.614
	否	-	-	-	-	-
吸烟	是	0.070	0.104	0.747	1.063	0.598 ~ 1.754
	否	-	-	-	-	-
饭前洗手	有时	0.097	0.224	0.638	1.106	0.739 ~ 1.653
	从不	0.842	8.042	0.005	2.376	1.294 ~ 4.085
三餐规律	是	0.250	0.971	0.369	1.484	0.753 ~ 2.174
	否	1.657	6.348	0.012	5.249	1.446 ~ 17.098
饮食偏好	是	0.721	10.764	0.001	2.078	1.339 ~ 3.271
	否	-	-	-	-	-
场所	外卖	1.8344	12.792	0	6.875	2.348 ~ 18.724
	家里或食堂	-	-	-	-	-
饮生水	有	0.373	3.269	0.048	1.483	1.003 ~ 2.1034
	无	-	-	-	-	-

注: 说明上表中第 1 行中的字母名称表示的意思。

4 结论与讨论

对患者新鲜粪便进行致病菌检测是辅助诊断食源性疾病的必要方式, 常规的培养检测方法具有操作成本较低等优点, 虽然在临床中使用广泛, 但是检测效率较低。根据研究前期收集的数据, 传统方法不仅检测时间较长, 而且检出率较低, 检测结果不理想。基因芯片法是一种利用基因杂交的原理的检测方法。本文通过选取 180 例患者为研究对象, 对比基因芯片法和传统培养检测方法在食源性疾病诊断中的应用效果。结果表明, 在对食源性疾病诊断过程中, 应用基因芯片法的诊断正确率更高, 确诊速度更快, 有助于及时对患者进行诊治, 诊断效果更佳。

影响食源性疾病的因素很多, 本文对多个可能影响食源性疾病的因素进行 Logistic 分析。结合其它文献资料数据, 食源性疾病的发生大多与患者的饮食卫生、饮食习惯等有较大关系。外食行为、饮食规律情况等对食源性疾病的影响较大。饮食不规律, 经常外卖的人员患食源性疾病的可能性会较大; 同时, 生活习惯与卫生习惯较差的人员, 由于长时间的不良习惯导致身体素质差, 患食源性疾病的几率也相对较高。由于本次分析过程中没有考虑到季节对食源性疾病的影响, 后续应该扩大影响因素范围, 进一步分析多因素对食源性疾病的影响。

参考文献

- 李长平, 胡良平. 非配对设计二值资料—水平多重 Logistic 回归分析[J]. 四川精神卫生, 2019, 32(4): 297-303.
Li CP, Hu LP. One-level multiple Logistic regression analysis with the dichotomous choice data collected from the unpaired design [J]. Sichuan Mental Health, 2019, 32(4): 297-303.
- 李万芳, 陈守强. 高血压致慢性心力衰竭中医证型危险因素 Logistic 分析[J]. 世界中医药, 2019, 14(5): 1330-1334.
Li WF, Chen SQ. Logistic analysis risk factors of TCM patterns of chronic heart failure caused by hypertension [J]. World Chin Med, 2019, 14(5): 1330-1334.
- 伍雅婷, 王肖, 石梦蝶, 等. 2013-2017 年武汉市食源性疾病致病因子监测分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(7): 1199-1202, 1237.
Wu YT, Wang X, Shi MD, et al. Pathogenic factors of foodborne diseases in Wuhan, 2013-2017 [J]. Mod Prev Med, 2019, 46(7): 1199-1202, 1237.
- 徐玲, 尹婷婷. 冠心病冠状动脉粥样硬化发生的危险因素多因素 Logistic 分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(6): 626-629.
Xu L, Yin TT. Multivariate logistic analysis of the risk factors of the coronary atherosclerosis formation in patients with coronary heart disease [J]. J Clin Exper Med, 2019, 18(6): 626-629.
- 曹继红, 张子龙, 李深伟, 等. 高通量基因芯片在口岸疟原虫检测中的应用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2019, 37(1): 61-65.
Cao JH, Zhang ZL, Li SW, et al. Application of high-throughput DNA microarray for rapid detection of Plasmodium spp. at port [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2019, 37(1): 61-65.
- 宋茂松, 匡桂芳, 松梅, 等. 儿童注意缺陷多动障碍的非生物学相关因素 Logistic 回归分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2019, 27(5): 477-480.
Song MS, Kuang GF, Song M, et al. Logistic regression analysis of non-biological related factors in children with attention deficit hyperactivity disorder [J]. Chin J Child Health Care, 2019, 27(5): 477-480.
- 谢朝云, 陈东, 陈应强, 等. 慢性鼻窦炎多重耐药菌感染危险因素 Logistic 回归分析[J]. 中国医学科学院学报, 2018, 40(6): 803-808.
Xie ZY, Chen D, Chen YQ, et al. Logistic regression analysis of the risk factors for multidrug-resistant bacterial infections in chronic rhinosinusitis [J]. Acta Acad Med Sin, 2018, 40(6): 803-808.
- 李佳凡, 吴金菊, 赵存喜. 合肥市社区医务人员食源性疾病认知及临床诊断能力调查[J]. 安徽医学, 2018, 39(9): 1149-1154.
Li JF, Wu JJ, Zhao CX. Survey on cognition and clinical diagnostic ability of foodborne diseases among community medical workers in Hefei [J]. Anhui Med J, 2018, 39(9): 1149-1154.
- 张子龙, 李深伟, 邱瑾, 等. 高通量基因芯片在压载水中检测致病菌的应用[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(3): 431-437.
Zhang ZL, Li SW, Qiu J, et al. High-throughput DNA microarray used for pathogens detection in the ballast water [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2018, 27(3): 431-437.
- 顾珺巍, 丁裕斌, 付利娟, 等. 基于基因芯片整合分析筛选及验证 BeWo 细胞合体化相关调控因子[J]. 重庆医科大学学报, 2019, (8): 1041-1048.
Gu JW, Ding YB, Fu LJ, et al. Screening and validation of the regulatory factors for BeWo cell fusion based on gene microarray integration [J]. J Chongqing Med Univ, 2019, (8): 1041-1048.
- 王瑞, 王金萍, 张超学. 子宫输卵管四维超声造影剂逆流发生影响因素的 Logistic 回归分析[J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(15): 1473-1477.
Wang R, Wang JP, Zhang CX. Influencing factors for contrast agent reflux in four-dimensional hysterosalpingo-contrast sonography: a logistic regression analysis [J]. J Third Mil Med Univ, 2019, 41(15): 1473-1477.
- 任金武, 马聪敏, 张立红, 等. 基于 Logistic 判别模型初步分析肾透明细胞癌 CT 征象与预后的关系[J]. 临床放射学杂志, 2018, 37(5): 789-792.
Ren JW, Ma CM, Zhang LH, et al. The relation of CT features and prognosis of renal cell carcinoma: preliminary analysis based on logistic discrimination model [J]. J Clinl Radiol, 2018, 37(5): 789-792.
- 王身林, 王身芳, 李长君, 等. 脑出血患者经外周静脉置入中心静脉导管后感染影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(5): 706-709, 752.
Wang SL, Wang SF, Li CJ, et al. Influencing factors for peripherally inserted central venous catheter-related infection in patients with cerebral hemorrhage [J]. Chin J Nosocomiol, 2019, 29(5): 706-709, 752.
- 李冬霞, 陈颖颖, 韩梅, 等. 强直性脊柱炎合并低高密度脂蛋白血症的临床特征及影响因素分析[J]. 中国全科医学, 2019, 22(20): 2422-2425.
Li DX, Chen YY, Han M, et al. Clinical characteristics and influencing factors of ankylosing spondylitis with hypo-high-density lipoproteinemia [J]. Chin General Prac, 2019, 22(20): 2422-2425.

[15] 冯磊, 年士艳, 赵阳, 等. 不同分析策略下应用二分类 Logistic 回归进行疾病风险评估的结果差异性分析[J]. 中华检验医学杂志, 2018, 41(3): 232-236.

Feng L, Nian SY, Zhao Y, *et al.* Difference analysis of results of disease risk assessment by using binary Logistic regression under different analysis strategies [J]. Chin J Lab Med, 2018, 41(3): 232-236.

(责任编辑: 于梦娇)

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

“乳制品加工与质量控制”专题征稿函

近年来, 随着我国经济发展和社会进步, 人们生活水平不断提高, 越来越多的人开始注重日常饮食, 尤其对乳制品的需求量逐年上升。乳制品作为一种与人们生活密切相关的食品, 其发展也受到了我国政府和社会的极大关注和高度重视, 乳制品行业也被列入国家重点鼓励发展的行业。

鉴于此, 本刊特别策划了“**乳制品加工与质量控制**”专题, 由中国海洋大学**易华西**教授担任专题主编, 主要围绕**乳制品的营养成分研究、乳制品的风味物质研究、益生菌在乳制品中的应用、乳制品工艺研究、乳制品的质量安全控制研究**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。本专题计划在**2020年8-9月出版**(学报为中国科技核心, 2019年知网影响因子1.201)。

我们去年也组织过此专题, 由上海交通大学的张少辉教授担任专题主编, 共来稿二十余篇, 分2期出版, 各方面反响都很不错。

鉴于您在该领域的成就, 学报主编国家食品安全风险评估中心**吴永宁**研究员及专题主编中国海洋大学**易华西**教授特别邀请有关食品领域研究人员为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述及研究论文均可, 请在**2020年7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。

同时烦请您帮忙在同事之间转发一下, 希望您能够推荐该领域的相关专家并提供电话和E-mail。再次感谢您的关怀与支持!

投稿方式(注明专题**乳制品加工与质量控制**):

网站: www.chinafoodj.com(备注: 投稿请登录食品安全质量检测学报主页-作者登录-注册投稿-投稿选择“专题: **乳制品加工与质量控制**)

邮箱投稿: E-mail: jfoodsqa@126.com(备注: **乳制品加工与质量控制**专题投稿)

《食品安全质量检测学报》编辑部