

十种直接入口食品中肠道病毒分离初探

四川省绵阳市卫生防疫站 郑幸福 朱学英

肠道病毒污染食物是引起肠道病的主要病原之一。多种肠道病毒只需一个蚀斑单位的剂量即可使人感染^[1]。据报导,近年来国外对食品进行病毒学监测证明从不同的食物中可分离到许多病毒^[2]。而国内这方面报导很少。为保护人民身体健康,为食品卫生管理部门提供科学依据,我们于夏秋季节采取了绵阳市内十种能直接入口的食品(饮料、卤肉、水果、西红柿、黄瓜、酱油、冰糕、凉粉、蛋糕)进行肠道病毒分离,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 样品均由食品卫生医师到生产厂家及销售点随机抽取。每个品种不少于30个样,每个样按500g或500ml采取,冰糕按3支为一个样采取,样品均在夏秋季的6—9月用无菌方法采取。

1.2 样品采用吸附沉淀浓缩法处理,即液体样品取样250ml于无菌广口瓶中,用1mol/L HCl调PH至4.0,加入皂土0.25g, Mg-Cl₂0.25g,振摇20分钟放冰箱过夜,使其自然沉淀,次日弃上清液后将沉淀离心3000rpm15分钟,弃上清液后将沉淀部分加入2mlPH8.1的EDTA—甘氨酸洗脱液^[3],洗脱吸附于皂土上的病毒,悬浮混匀数分钟后离心3000rpm15分钟,将上清液吸入无菌试管中用双抗、卡那霉素处理至无菌后放-20℃冰箱备检。

1.3 固体样品取样250g,于无菌广口瓶中,加入PH8.1的EDTA—甘氨酸洗脱液解离吸附于样品的病毒,放4℃冰箱过夜,次日将上清液移入另一灭菌广口瓶中,用1mol/L

HCl调PH至4.0后按液体样品处理。

1.4 病毒分离与鉴定

病毒分离采用Hep-2传代细胞(由四川省卫生防疫站提供)经连续接种两代以上未出现细胞病变者,判为病毒分离阴性。若出现细胞病变者经连续传代两次均在2—5天内出现++~++++典型稳定的细胞病变者判为病毒分离阳性,收获毒液后放-20℃冰箱保存待鉴定。

病毒鉴定采用中国医学科学院昆明医学生物研究所生产的脊髓灰质炎病毒I、II、III型单克隆抗体和肠道病毒组合免疫血清作固定病毒(100TCID₅₀)和固定血清(80个中和单位)法作细胞培养中和试验鉴定^[4]。

2 结果

表1 十种食品中肠道病毒分离阳性情况

样品名称	数量	分离阳性数	阳性率%
卤肉	30	6	20.00
西红柿	30	2	6.66
桃子	30	6	20.00
李子	30	4	13.33
黄瓜	30	7	23.33
酱油	33	4	12.12
冰糕	34	7	20.58
饮料	30	1	3.33
蛋糕	30	1	3.33
凉粉	30	0	0
合计	307	38	12.38

307个样品用Hep-2传代细胞培养分离出病毒38株,检出率为12.38%。经鉴定,其中脊髓灰质炎病毒22株,检出率为

7.16%，占检出毒株的 57.89%，ECHO 病毒 13 株，检出率为 4.23%，占分离毒株的 34.21%，Co × B₂ 病毒 1 株，检出率为 0.33%，占分离毒株的 2.63%，未定出型别的 2 株，检出率为 0.65%，占分离毒株的 5.26%。本文检出率较高的样品有卤肉、桃

子、黄瓜和冰糕，达 20% 以上，最低的是凉粉，未检出病毒。以上十种食品病毒分离阳性情况见下表 1。

根据病毒鉴定结果，可以看出脊髓灰质炎病毒是 III 型为主，ECHO 病毒以 ECHO24 型为主，鉴定结果见表 2。

表2 十种食品中肠道病毒的分型情况

样品名称	病毒 型 别							
	脊 灰	%	ECHO	%	COXB	%	待定	%
卤 肉	1(III)	3.33	1(9)2(24)	10.00	1(B2)	3.33	1	3.33
桃 子	4(I)1(III)	16.67	1(24)	3.33				
李 子	4(III)	13.33						
西红柿	1(I)	3.33	1(3)	3.33				
黄 瓜	3(I)2(III)	16.67	1(19)1(9)	6.67				
酱 油			3(20)	9.00			1	3.03
冰 糕	1(I)4(III)	16.67	2(24)	6.67				
蛋 糕	1(I)	3.33						
饮 料			1(20)	3.33				
凉 粉	0	0	0	0	0	0	0	0
合 计	22	7.16	13	4.23	1	0.30	2	0.61

注：表中括号内为病毒型别。待定株为未鉴定出型别的毒株。

3 讨 论

从本次食品中肠道病毒的分离发现在十种直接入口的食品中病毒分离阳性率平均为 12.38%，黄瓜的阳性最高率(23.33%)。本文采用的吸附沉淀浓集法处理样品具有操作简便，快速，试剂易购和无需特殊食品设备的优点，一般实验室均能采用。本方法是利用肠道病毒在 PH4.0 以下环境中吸附在沉淀剂中，离心后再加入少量 PH8.1 的 EDTA—甘氨酸洗脱液在沉淀层中，使病毒解离于洗脱液中，离心后收集上清液为浓集的病毒样品液进行病毒分离。本法特别适合液体样品中病毒的浓集，对少量固体样品也能有较好的浓集病毒的效果。用本法处理样品分离出的脊髓灰质炎病毒以 III 型为主，I 型次之，ECHO

病毒以 ECHO24.20 型较多，和我们近年来对绵阳市脊髓灰质炎病原学监测结果基本符合，说明用本法处理样品做肠道病毒分离是比较可靠的，为今后的食品病毒检测提供了参考方法，也为食品中肠道病毒的监测提供了科学依据及参考方法。

参 考 文 献

- [1] 赵国胜·食品病毒的污染及卫生学意义·国外医学卫生学分册 1986;13(1):22。
- [2] 吴家驹·病毒的食物传播·中国公共卫生 1984;4(5):34。
- [3] 梁善秋,等·从医院污水中分离肠道病毒的初步报告·中国公共卫生 1985;4(6):6。
- [4] 常见病毒病实验技术·中国医学科学院流行病学防治研究所编·第一版·科学技术出版社出版·1978·288 页。