

福建省龙岩市农村居民 碘营养水平与甲状腺功能调查

陈建安¹, 陈志辉^{2*}, 陈庆平¹, 王木华², 吴佳妮², 华卫平³, 陈建东³ 阮雪玲¹, 周志鹏¹

1. 龙岩市疾病预防控制中心, 福建医科大学公共卫生学院教学(实习)基地, 福建 364000;

2. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001; 3. 漳平市疾病预防控制中心, 福建 364400

摘要: **目的** 了解龙岩市农村居民碘营养水平和甲状腺功能, 为防治提供依据。 **方法** 用B超法检测儿童甲状腺, 用砷铈催化分光光度法检测尿碘和饮用水碘含量, 直接滴定法检测盐碘含量, 直接化学发光免疫分析法检测甲状腺功能指标[总、游离三碘甲状腺原氨酸(TT₃、FT₃), 总、游离甲状腺素(TT₄、FT₄)], 促甲状腺激素(TSH)、甲状腺球蛋白(Tg)、甲状腺球蛋白抗体(TGA)、抗甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)。 **结果** 居民饮用水碘含量0~2.7 μg/L; 8~10岁儿童甲状腺肿大率为1.6%(2/129); 居民户碘盐覆盖率、合格碘盐食用率均为100%(85/85); 儿童、成人、孕妇和哺乳期妇女尿碘中位数分别为343.6、353.1、178.5和174.4 μg/L; 儿童、成人存在碘摄入过量; 孕妇、哺乳期妇女尿碘处于适宜水平; 儿童TT₃、FT₃、TT₄、FT₄, 成人FT₃、TT₄、FT₄, 孕妇TT₃、FT₃、TT₄异常比例都超过10%, 这4类人群TGA、TPOAb高于正常的比率分别为1.9%(5/265)、7.9%(24/305)。 **结论** 龙岩市部分农村地区儿童、成人碘摄入量, 食用盐碘浓度有下调空间; 建议将甲状腺功能监测列入常规监测内容。

关键词: 碘营养; 农村居民; 甲状腺功能

中图分类号: R 151.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2705(2013)05-0001-03

Investigation on iodine nutrition and thyroid function in rural residents of Longyan, Fujian China

CHEN Jian-an, CHEN Zhi-hui, CHEN Qing-ping, et al.

Longyan Center for Disease Control and Prevention,

Teaching Base of Public Health College, Fujian Medical University, Fujian 364000, China

Abstract: Objective To investigate the iodine nutrition and thyroid function in rural residents of Longyan city for IDD control and prevention. **Methods** The goiter of children was detected by B ultrasound, urinary and water iodine content was determined by arsenic cerium catalytic spectrophotometric assay. Iodine content was determined by direct titrimetric. Thyroid function (TT₃, TT₄, FT₃, FT₄) and TSH, Tg, TGA and TPOAb were measured by direct chemiluminescence immunoassay. **Results** The iodine content of drinking water was 0-2.7 μg/L. The goiter rate aged 8 to 10 was 1.6% (2/129). Both household iodized salt coverage and qualified iodized salt rates were 100% (85/85). The medians of urinary iodine of children, adults, pregnant and lactating women were 343.6, 353.1, 178.5 and 174.4 μg/L respectively. The children and adult existed excessive iodine intake. The urinary iodine of pregnant and lactating women were at suitable level. The abnormal rates of TT₃, FT₃, TT₄, FT₄ for children, FT₃, TT₄ and FT₄ for adult and TT₃, FT₃, TT₄ for pregnant women were over 10%. The rates of TGA, TPOAb of four groups for higher than normal were 1.9% (5/265) and 7.9% (24/305) respectively. **Conclusion** The iodine intake of children and adult in rural areas is excessive in Longyan. Edible salt iodine concentration reasonable reducing may be considered. The determine of thyroid function should be recommended in routine surveillance.

Key Words: Iodine Nutrition; Rural Residents; Thyroid Gland Function

龙岩市地处山区, 曾是福建省碘缺乏病流行较

严重的地区之一。通过实施以食盐加碘为主的综合防治措施, 1999年在全省率先实现消除碘缺乏病阶段目标^[1]。为了解农村居民碘营养水平, 评价近年防治效果, 2009年6月我们对居民开展调查, 结果报

基金项目: 国家科技支撑计划课题(No. 2006BAI06B05)。

第一作者简介: 陈建安, 主任医师。专业: 地方病防治。

* 通讯作者: 陈志辉, E-mail: 18906913056@163.com。

道如下。

1 对象与方法

1.1 调查地区 按照“我国不同地区碘缺乏病防治关键技术的研究实施方案”，选择漳平市双洋镇园当村作为调查地区。

1.2 调查对象 在调查地选择至少包含 8~10 岁儿童、18~45 岁成人、孕妇、哺乳期妇女中任意 1 类成员的家庭 30 户，以上述 4 类成员为调查对象；在其他家庭或学校选择 8~10 岁儿童、18~45 岁成人补充，使各组人数达 100 人，男女各半；在市妇幼保健院选择孕妇、哺乳期妇女补充至各组 50 人。上述人群均体格健康，无甲状腺疾病史。

1.3 调查内容 检测儿童甲状腺容积；采集部分调查对象家中食用盐检测碘含量；在 1 个月内间隔 1 周连续 3 次收集 4 类人群的随意 1 次尿样，检测尿碘含量；采集静脉血，检测甲状腺功能指标 (TT₃、FT₃、TT₄、FT₄)，TSH、Tg、TGA 和 TPOAb；采集部分居民饮用水检测碘含量。开展现场调查时征得研究对象同意，事先阅读“知情同意书”并签名。

1.4 检测方法 用 B 超法检测甲状腺容积，铷铯催化分光光度测定法检测尿碘和饮用水碘含量，直接滴定法检测盐碘；甲状腺功能指标和 TSH、Tg、TGA 和 TPOAb，采用直接化学发光免疫分析法，用贝克曼 Access2 化学发光仪进行检测。

1.5 判定标准 根据 WS 276-2007《地方性甲状腺肿诊断标准》^[2]判定甲状腺肿大情况；尿碘判定依据 2007 年 WHO/UNICEF/ICC IDD 的标准，即 6 岁

以上一般人群：中位数 < 100 μg/L 为缺乏，100~199 μg/L 为适宜，200~299 μg/L 为大于需要量，≥ 300 μg/L 为过量；孕妇：尿碘中位数 < 150 μg/L 为缺乏，150~249 μg/L 为适宜，250~499 μg/L 为大于需要量，≥ 500 μg/L 为过量；哺乳期妇女：< 100 μg/L 为缺乏，≥ 100 μg/L 为适宜^[3]。甲状腺功能及相关指标正常值范围由省疾控中心提供。

1.6 质量保障 调查人员经统一培训，尿碘、盐碘、水碘以及 TT₃、FT₃、TT₄、FT₄、TSH、Tg、TGA 和 TPOAb 等指标由省疾控中心负责检测，设定质控标准，检测过程带入标准物质。

1.7 数据处理 用 EpiInfo 和 SPSS 软件统计分析；中位数比较用 Median 检验。

2 结果

2.1 水碘检测结果 共采集 43 份居民饮用水，水碘值 0~2.7 μg/L，中位数 0.5 μg/L，表明该地区外环境严重缺碘。

2.2 盐碘检测结果 共检测 85 份食用盐，碘盐覆盖率、合格碘盐食用率均为 100%；碘含量均数为 (29.8±3.6)mg/kg，中位数为 30.1 mg/kg。

2.3 8~10 岁儿童甲状腺肿大率 检测 129 名儿童甲状腺容积，均数为 (2.5±0.9)mL，中位数为 2.4 mL，肿大率为 1.6%(2/129)。

2.4 尿碘检测结果 儿童、成人、孕妇和哺乳期妇女尿碘(3 次尿样尿碘均值)中位数分别为 343.6、353.1、178.5 和 174.4 μg/L，儿童和成人均高于孕妇和哺乳期妇女(Z=51.76, P<0.01)，见表 1。

表 1 龙岩市农村地区 4 类人群尿碘频数分布(%)

Table 1 Urinary iodine frequency distribution of four kinds of rural residents in Longyan (%)

人群	检测份数	中位数(μg/L)	尿碘(μg/L)频数分布				
			<50	50~	100~	200~	≥300
儿童	143	343.6	0(0.0)	3(2.1)	13(9.1)	41(28.7)	86(60.1)
成人	71	353.1	0(0.0)	2(2.8)	9(12.7)	15(21.1)	45(63.4)
孕妇	40	178.5	2(5.0)	6(15.0)	16(40.0)	6(15.0)	10(25.0)
哺乳期妇女	50	174.4	0(0.0)	10(20.0)	25(50.0)	9(18.0)	6(12.0)

将 40 名孕妇按怀孕时间分为孕早期(0~13 周)、孕中期(14~27 周)和孕晚期(28~40 周)3 组，尿碘中位数分别为 336.6 μg/L(3 人)、153.9 μg/L(25 人)和 195.9 μg/L(12 人)。

2.5 甲状腺功能检测结果 4 类人群(316 人)各项指标中位数都在正常值范围，其中 TT₃、FT₃、TT₄、FT₄、TSH、Tg 高于正常的比例分别为 18.4%、7.6%、16.1%、14.9%、4.7%和 0%；低于正常的比例分别为 1.9%、13.3%、1.6%、0.9%、0.9%、

2.8%；TGA、TPOAb 高于正常的比例分别为 1.9%、7.9%，见表 2、3。

3 讨论

双洋镇地处漳平市北部，总面积 289.5 km²，人口 1.08 万人。检测结果居民饮用水含碘量都在 2.7 μg/L 以下，按 GB 16005-1995《碘缺乏病病区划分标准》，属碘缺乏状态。调查显示儿童甲状腺肿大率 1.6%，居民碘盐覆盖率和合格碘盐食用率均为 100%，儿童

尿碘中位数为 343.6 $\mu\text{g/L}$, 都达到国家消除碘缺乏病的考核要求, 表明我市碘缺乏病防治成果得到巩固。

表 2 龙岩市农村地区居民甲状腺功能及相关指标检测结果(中位数)

Table 2 Test results of thyroid function and related indicators of rural residents in Longyan (Median)

人群	人数	TT3 (noml/L)	FT3 (pmol/L)	TT4 (nmol/L)	FT4 (pmol/L)	TSH (mU/L)	Tg (ug/L)	TGA	TPOAb
儿童	161	2.45	5.01	134.83	12.89	2.65	13.12	0.05	0.8
成人	104	1.91	4.14	133.22	12.45	1.51	6.85	0.3	1.7
孕妇	40	2.42	4.12	145.17	8.71	1.73	10.68	—	0.9
哺乳期妇女*	11	1.96	4.83	119.84	9.25	2.65	5.7	—	—

注:“—”表示无数值; * 哺乳期妇女溶血的血样未统计在内。

表 3 龙岩市农村地区居民甲状腺功能及相关指标异常比例(%)

Table 3 Abnormal rates of thyroid function and related indicators of rural residents in Longyan (%)

人群	TT3	FT3	TT4	FT4	TSH	Tg	TGA/TPOAb
儿童	28.6/ 1.9	14.9/ 8.7	17.4/ 2.5	18.0/ 0	8.1/ 0.6	0/ 0.6	1.2/ 5.0
成人	2.9/ 2.9	0/ 19.2	12.5/ 1.0	15.4/ 1.0	1.0/ 1.9	0/ 5.8	2.9/ 10.6
孕妇	22.5/ 0	0/ 17.5	25.0/ 0	5.0/ 5.0	0/ 0	0/ 5.0	—/ 12.5
哺乳期妇女	0/ 0	0/ 9.1	0/ 0	0/ 0	9.1/ 0	0/ 0	—/ —
合计	18.4/ 1.9	7.6/ 13.3	16.1/ 1.6	14.9/ 0.9	4.7/ 0.9	0/ 2.8	1.9/ 7.9

注:分子为“偏高”,分母为“偏低”;“—”表示无数值;人数同表 2。

尿碘是反映人体碘营养水平的敏感指标,可近似代表人体的碘摄入量^[4]。调查结果表明,本项目所调查的农村地区儿童、成人存在碘摄入过量(尿碘值在 300 $\mu\text{g/L}$ 以上的分别占 60.1%和 63.4%),而孕妇和哺乳期妇女尿碘水平适宜。提示内陆农村地区居民食用盐碘浓度有下调空间;同一地区尽管居住环境相同,但不同人群尿碘水平变化不一致。因此在今后防治工作中,要加强孕妇和哺乳期妇女碘营养水平的监测力度。

甲状腺功能及相关指标检测结果表明,我市农村地区儿童、成人、孕妇和哺乳期妇女各项指标中位数都在正常值范围,但各组中都有部分对象甲状腺功能指标和 TSH 异常。其中儿童 TT₃、FT₃、TT₄、FT₄,成人 FT₃、TT₄、FT₄及孕妇 TT₃、FT₃、TT₄异常的比例都超过 10%,而 4 类人群 TPOAb、TGA 异常的比例只有 7.9%和 1.7%,表明有一部分甲状腺功能指标异常非自身免疫性甲状腺疾病所致,这种

情况在缺碘性甲状腺肿中可以见到^[5]。提示今后在开展尿碘水平监测的同时,要加强甲状腺功能指标的监测。

参考文献

- [1] 陈建安,蓝永贵,陈惠琴,等. 2009 年福建省龙岩市实现消除碘缺乏病目标县级考评结果分析[J]. 中国地方病学杂志, 2011, 30(2):165-168.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 地方性甲状腺肿诊断标准[M]. 北京:人民卫生出版社, 2008:1-4.
- [3] 陈志辉,许龙善,王木华,等. 福建省沿海地区居民碘营养状况调查[J]. 中国地方病学杂志, 2011, 30(6):606-610.
- [4] 陈建安,陈志辉,陈庆平,等. 福建省龙岩市中心城区居民碘营养水平与甲状腺功能调查[J]. 中国地方病学杂志, 2012, 31(4):430-433.
- [5] 杨丽芬,陈会欣,李维,等. 2009 年吉林省农村地区孕妇和哺乳期妇女碘营养状况与甲状腺功能调查[J]. 中国地方病学杂志, 2011, 30(2):162-164.

收稿日期:2012-12-06;修回日期:2013-02-26 责任编辑:范新宇

征 订 启 事

《海峡预防医学杂志》是中华预防医学会系列杂志,预防医学综合性刊物,国内统一刊号:CN 35 1185/R。杂志辟有专家论坛、论著、综述、流行病学调查研究、突发事件调查、实验研究与检验技术、卫生监督监测、卫生管理、卫生统计、疾病防治和健康教育等栏目。杂志为双月刊,每年 6 期,每期 96 页,全年定价 30 元。本刊为自办发行。

2014 年的征订工作已经开始,欢迎订阅! 订阅地址:福建省福州市津泰路 76 号 海峡预防医学杂志编辑部 邮编 350001。请注明订阅份数、订阅单位、详细地址和邮编、收件人及联系电话。本期另附订单。

编辑部电话:0591-87519605。

福建省 AIDS 病人治疗 1 年后 CD4⁺T 淋巴细胞变化及影响因素分析

邱月锋, 颜芊芊, 吴守丽, 梁菲菲, 谢美榕, 夏品苍

福建省疾病预防控制中心, 福州 350001

摘要: **目的** 分析福建省 AIDS 病人抗病毒治疗后 CD4⁺T 淋巴细胞变化情况, 探讨影响因素。 **方法** 将治疗满 1 年的 AIDS 病人 CD4⁺T 淋巴细胞计数与基线时进行比较, 用 logistic 回归分析影响因素。 **结果** 接受治疗 1 年以上患者 CD4⁺T 淋巴细胞计数升高明显。年龄 ≥ 30 岁、静脉吸毒、曾经停药、基线反复的细菌性肺炎是主要危险因素。 **结论** 在我省抗病毒治疗 1 年以上的患者, 其 CD4⁺T 淋巴细胞免疫重建良好。

关键词: 艾滋病(AIDS); CD4⁺T 淋巴细胞; 抗病毒治疗; 治疗效果

中图分类号: R 512.91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2705(2013)05-0004-03

Analysis on the change of CD4⁺T cell and the influencing factors in AIDS patients after one year treatment in Fujina, China

QIU Yue-feng, YAN Ping-ping, WU Shou-li, et al.

Fujian Center for Disease Control and Provention, Fujian 350001 China

Abstract: **Objective** To investigate the change of CD4⁺T cell in AIDS patients after treatment for one year and explore the influencing factors. **Methods** The counts of CD4⁺T cell between baseline and the level after one year treatment were compared and the influencing factors were analyzed by logistic regression model. **Results** After one year treatment, the CD4⁺T cells increased significantly. The main risk factors for CD4⁺T cell change were as follows: age ≥ 30, taking drugs with intravenous injection, suspended treatment and bacterial pneumonia. **Conclusion** The recovery of immune system of AIDS patients after anti-virus treatment for one year is satisfactory.

Key Words: AIDS; CD4⁺T Cell; Anti-virus Treatment; Treatment Effect

人类免疫缺陷病毒(HIV)感染, 主要是侵犯人 CD4⁺T 淋巴细胞, 致使其数量减少和功能缺陷, 使机体免疫平衡被破坏而造成免疫功能低下, 导致各种机会感染和肿瘤^[1,2]。因此, CD4⁺T 淋巴细胞绝对数是随访 HIV/AIDS、判断 HIV 感染者病程进展, 适时监控治疗效果的重要指标。本研究分析福建省治疗 1 年以上病人治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞变化情况, 分析其影响因素。

1 材料与方法

1.1 资料来源 资料源自中国疾病预防控制中心“艾滋病抗病毒治疗数据管理系统”中相关数据及福建省 CDC AIDS 抗病毒治疗数据库。

1.2 研究对象 2004 年 1 月 1 日至 2012 年 3 月 31 日, 按国家免费艾滋病抗病毒治疗手册(第 2 版)医学入选标准^[3], 在我省接受 AIDS 免费抗病毒治疗 1

年以上的成人为研究对象。

1.3 CD4⁺T 淋巴细胞计数 采用 BD FACSCalibur 流式细胞仪, 荧光标计物为 BD Tri-TEST™ CD3⁺FITC/CD4⁺PE/CD45⁺PerCP。CD4⁺T 淋巴细胞计数以治疗 1 年后增加 150/mm³ 为参照标准^[3]。

1.4 数据处理 用 SPSS 15.0 软件对病人治疗 1 年后 CD4⁺T 淋巴细胞变化差值进行比较, 并分析可能影响 CD4⁺T 淋巴细胞升高的因素。

2 结果

2.1 一般情况 截止 2012 年 3 月 31 日, 在我省接受免费抗病毒治疗资料完整且治疗 1 年以上成人艾滋病患者有 593 人, 见表 1。

2.2 治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞比较 按不同因素分组后比较治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞变化, 结果显示: 按各种分组, 治疗前后 CD4⁺T 淋巴细胞变化差值均有统计学意义, 治疗后均有升高, 见表 1。

2.3 单因素非条件 logistic 回归分析 治疗 1 年后以 CD4⁺T 淋巴细胞升高 150/mm³ 判定为治疗

有效, 低于 $150/\text{mm}^3$ 定为治疗无效, 将基线及治疗过程中可能影响疗效的因素进行单因素 logistic 回归分析。结果显示, 静脉吸毒、治疗过程中曾停药、基线持续、间断发热、反复的细菌性肺炎、基线出现其他症状等与治疗效果有统计学意义, 见表 2。

表 1 患者基本情况、基线与治疗 1 年后 CD4^+ T 淋巴细胞计数比较

Table 1 Comparison of CD4^+ T cell counts between baseline and after one year treatment

分组	人数 (%)	基线均值	1年后均值	差值均数	t 值
性别:男	397(66.9)	123.15	304.97	181.82	23.19
女	196(33.1)	142.00	361.92	219.92	18.51
年龄(岁):14~	121(20.4)	118.88	340.73	221.85	16.51
30~	363(61.2)	132.33	329.99	197.66	22.94
50~	109(18.4)	131.20	284.34	153.14	10.32
婚姻:未婚	94(15.9)	124.23	304.07	179.85	18.51
已婚或同居	411(69.3)	124.89	325.49	200.60	25.58
离异或分居	42(7.1)	136.26	348.62	212.36	7.91
丧偶	46(7.8)	173.70	326.26	152.57	5.48
感染:输血	5(0.8)	51.00	306.60	255.60	2.60
静脉吸毒	23(3.9)	161.52	286.83	125.30	3.36
同性性传播	32(5.4)	143.52	280.13	136.61	6.24
异性性传播	456(76.9)	129.65	330.94	201.29	26.22
基线: <50	—	19.56	237.71	218.14	23.48
50~200	—	121.74	329.71	207.96	19.52
合计		129.38	323.79	194.41	29.50

注:除“输血”外($P=0.06$),其余 P 值均 <0.01 。感染途径不详 76 人(12.8%)

2.4 多因素 logistic 回归分析 将单因素分析中有统计学意义的感染途径、治疗过程中是否停药、基线持续或间断发热、反复的细菌性肺炎、出现其他症状及性别、年龄、婚姻状况做多因素 logistic 回归分析, 可能影响 CD4 升高的危险因素为:年龄 ≥ 30 岁、静脉吸毒、曾经停药、基线反复的细菌性肺炎, 保护因素为基线出现其他症状, 见表 3。

3 讨论

抗病毒治疗即高效抗逆转录病毒治疗(HAART)使 AIDS 相关的并发症和死亡率大大下降, 显著改善了病人的生存质量和预后, CD4^+ T 淋巴细胞的升高与否是判断治疗效果的标准之一^[4]。

本研究抗病毒治疗 1 年以上患者中, 无论按性别、年龄、婚姻状况还是感染途径分组, 治疗 1 年后 CD4^+ T 淋巴细胞均值与基线相比, 均有升高, 说明治疗效果明显。但并非所有的患者治疗 1 年后 CD4^+ T 淋巴细胞都得到明显提高, 以文献[3]关于患者接受抗病毒治疗后第 1 年 CD4^+ T 淋巴细胞计数平均增长 $150/\text{mm}^3$ 为参照标准, 将患者划分为治

表 2 影响 AIDS 治疗效果的单因素 logistic 回归分析结果

Table 2 The results of influencing factors for treatment effect by single-factors logistic regression analysis

变量	CD4^+ 升高	CD4^+ 未升高	OR(95% CI)
性别:男	117	79	1
女	208	189	1.35(0.95~1.90)
年龄段:14~30(岁)	80	41	1
30~50	198	165	2.57(1.51~4.39)
50~	47	62	1.63(1.06~2.50)
婚姻状况:未婚	48	46	1
已婚或同居	231	180	0.81(0.52~1.27)
离异或分居	25	17	0.71(0.34~1.48)
丧偶	21	25	1.24(0.61~2.52)
感染途径:输血	4	2	1
静脉吸毒	5	18	7.20(1.01~51.39)*
同性性传播	10	22	4.4(0.69~28.12)
异性性传播	261	195	1.49(0.27~8.24)
不详	45	31	1.38(0.24~7.99)
换药:否	202	187	1
是	123	81	0.71(0.50~1.00)
停药:否	322	257	1
是	3	11	4.60(1.27~16.64)*
随访时出现持续或间断发热:否	312	256	1
是	13	12	1.13(0.51~2.52)
随访出现毒副反应:否	60	66	1
是	265	202	0.69(0.47~1.03)
基线有肺结核:否	227	218	1
是	12	13	1.13(0.50~2.53)
基线有皮肤损害:否	298	256	1
是	9	9	1.16(0.46~2.98)
基线是否持续腹泻:否	295	250	1
是	30	18	0.71(0.39~1.30)
基线持续或间断发热:否	211	206	1
是	114	62	0.56(0.39~0.80)*
基线食管念珠菌病:否	310	266	1
是	1	1	1.17(0.07~18.72)
基线耶氏肺孢子菌感染:否	310	266	1
是	1	1	1.17(0.07~18.72)
基线肺外结核:否	310	266	1
是	1	1	1.17(0.07~18.72)
基线反复细菌性肺炎:否	309	259	1
是	2	8	4.77(1.01~22.67)*
基线带状疱疹:否	252	221	1
是	73	47	0.73(0.49~1.11)
基线出现其他症状#:否	109	135	1
是	216	133	0.50(0.36~0.69)*
基线 WHO 分期: I	83	82	1
II	5	11	2.23(0.74~6.69)
III	114	87	0.77(0.51~1.17)
IV	103	86	0.85(0.56~1.28)
基线病毒载量分级: <1000	65	33	1
≥ 1000	5	6	0.42(0.12~1.49)
治疗 1 年后病毒载量分级: <1000	81	65	1
≥ 1000	4	8	2.49(0.72~8.65)

注: # 基线其他症状包括:发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、夜间盗汗、腹泻、恶心、喷射性呕吐、头痛、视力下降、视力模糊、皮疹和淋巴结肿大。* $P < 0.05$ 。

表3 影响 AIDS 治疗效果的多因素 logistic 回归分析结果

Table 3 The results of influencing factors for treatment effect by multi-factors logistic regression analysis

影响因素	系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值(95% CI)
30~50 岁	1.142	0.321	112.667	<0.001	3.134(1.671~5.879)
≥50 岁	0.635	0.257	6.085	0.014	1.886(1.139~3.123)
静脉吸毒	2.557	1.275	4.024	0.045	12.902(1.060~156.974)
曾经停药	1.798	0.809	4.938	0.026	6.035(1.236~29.458)
基线反复的细菌性肺炎	1.776	0.820	4.691	0.030	5.908(1.184~29.488)
基线出现其他症状	-0.702	0.192	13.350	<0.001	0.496(0.340~0.722)

疗有效及无效,用 logistic 回归分析影响患者 CD4⁺ T 淋巴细胞提高的因素,结果显示,静脉吸毒、治疗过程中曾停药、基线持续或间断发热、基线反复的细菌性肺炎、基线出现其他症状等与治疗效果有统计学意义。多因素 logistic 回归分析结果显示,可能影响 CD4⁺ T 淋巴细胞升高的危险因素为:静脉吸毒、曾经停药、年龄≥30 岁、基线反复的细菌性肺炎,保护因素为基线出现其他症状。

静脉吸毒影响 CD4⁺ T 淋巴细胞升高的原因可能是静脉吸毒人员往往存在依从性、毒品成瘾性,合并结核、HBV、HCV、反复发生细菌感染等问题,有研究认为静脉吸毒人群抗病毒治疗后死亡率高于非静脉吸毒人群^[5],与本研究结果相似。同时,酗酒、精神障碍、缺乏家庭社会的关怀支持等都会导致该人群在治疗中存在困难^[6]。因此,对静脉吸毒传播方式感染的患者,在治疗中要加强管理,加强医院、家庭、社区各界的多方合作,可以开展同伴教育、项目支持来提高患者的服药依从性^[7]。

停药影响 CD4⁺ T 淋巴细胞升高的原因可能与患者的治疗依从性相关,于兰等^[8]研究显示,病人的间断停药、漏服及治疗方案是疗效的影响因素,且停药 OR 值较大,与本研究结果一致。本研究中基线出现其他症状者(包括发热、咳嗽、咳痰、呼吸困难、胸痛、夜间盗汗、腹泻、恶心、喷射性呕吐、头痛、视力下降、视力模糊、皮疹、淋巴结肿大)有利于 CD4⁺ T 淋巴细胞提高,可能是基线出现这些症状从而使患者对疾病更谨慎,治疗依从性更高有关。由于没有对这些患者的依从性具体分析,故对此结果需持谨慎态度。

年龄≥30 岁作为影响 CD4⁺ T 淋巴细胞升高的危险因素可能与年龄大免疫力下降有关,但 Alexander molassiotis 等^[9]研究显示年龄对治疗效果无影响。多数研究显示基线 CD4⁺ T 淋巴细胞较低者发生机会性感染的几率升高^[10,11],本研究显示基线出现反复的细菌性肺炎可影响 CD4⁺ T 淋巴细胞治疗后升高,有待于更多的研究加以证实。

综上所述,在我省接受艾滋病免费抗病毒治疗 1 年以上患者 CD4⁺ T 淋巴细胞升高明显,提示免疫重建良好。同时,年龄≥30 岁、静脉吸毒、曾经停药、基线反复的细菌性肺炎,可能影响抗病毒治疗 1 年后 CD4⁺ T 淋巴细胞升高。

参考文献

- [1] Carre N, Boufassa F, Hubert JB, et al. Predictive value of viral load and other markers for progression to clinical AIDS after CD4 cell count falls below 200/pl [J]. *Int J Epidemiol*, 1998,27(5):897-903.
- [2] 谢静, 李天生. HIV 感染的 CD4⁺ T 淋巴细胞损伤机制[J]. *中国病毒病杂志*, 2011,1(3):167-170.
- [3] 卫生部艾滋病临床专家工作组. 国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:16-17.
- [4] Temesgen Z. Advances in antiretroviral therapy [J]. *Drug News Perspect*, 2008,21 (2):125-131.
- [5] 李应, 王志勇, 李国伟, 等. 静脉与非静脉吸毒感染成人 HIV/AIDS 的 HAART 疗效对比研究[J]. *大理学院学报*, 2010,9(8):36-39.
- [6] 孙晓云, 阮玉华, 邢辉, 等. 艾滋病病人高效抗逆转录病毒治疗依从性的影响因素[J]. *中国艾滋病性病*, 2008,14(3):302-305.
- [7] 方路, 王莉, 段呈玉, 等. 应用同伴教育以提高经静脉吸毒感染的 HIV/AIDS 病人治疗依从性研究[J]. *云南中医中药杂志*, 2008,29(9):3-5.
- [8] 于兰, 豆智慧, 曲淑霞, 等. HAART 药物依从性对 CD4 细胞增长率的影响研究[J]. *中国艾滋病性病*. 2005, 11(4):255-257.
- [9] Molassiotis A, Nahas-Lopez V, Chung WY, et al. Factors associated with adherence to antiretroviral medication in HIV-infected patients [J]. *International journal of AIDS and STDs*, 2002,13:301-310.
- [10] Deuffic-Burban S, Losina E, Wang B, et al. Estimates of opportunistic infection incidence or death within specific CD4 strata in HIV-infected patients in Abidjan, Coted'Ivoire: impact of alternative methods of CD4 count modeling[J]. *Eur J Epidemiol*, 2007,22(10):737-744.
- [11] 雷娜, 姚文虎, 魏洪霞, 等. 187 例 HIV/AIDS 患者机会性感染特点分析[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*. 2011,31(9):1379-1382.

收稿日期:2013-04-07;修回日期:2013-05-19

责任编辑:方林;英文编辑:范新宇

三峡库区宜昌段 1997—2012 年 鼠密度灰色模型构建及预测

张皓^{1,3}, 徐勇¹, 潘会明¹, 贺圆圆¹, 赵鑫¹, 崔雪峰⁴, 王大军⁴, 吴开琼⁴, 梅立志⁵,
杜海国⁵, 吴娟娟⁶, 黄卫东⁶, 鲁亮⁷, 郭玉红⁷, 官旭华⁸, 燕虹³, 杨小兵⁹

1. 三峡大学公共卫生研究中心(宜昌市疾病预防控制中心), 湖北 443005;
2. 中国疾病预防控制中心现场流行病学培训项目, 北京 100050; 3. 武汉大学公共卫生学院, 湖北 430071;
4. 兴山县疾病预防控制中心, 湖北 443700; 5. 秭归县疾病预防控制中心, 湖北 443600;
6. 夷陵区疾病预防控制中心, 湖北 443100; 7. 中国疾病预防控制中心, 北京 102206;
8. 湖北省疾病预防控制中心, 武汉 430079; 9. 武汉市疾病预防控制中心 湖北 430015

摘要: **目的** 探讨三峡库区宜昌段鼠密度变化规律。**方法** 对三峡库区宜昌段 1997—2012 年室内外鼠密度, 构建灰色模型 GM(1,1), 并进行预测分析。**结果** 预测 2013—2014 年监测点鼠密度呈逐年轻微下降趋势, 拟合模型结果满意, 室内鼠密度分别为 1.55%、1.45%; 室外鼠密度分别为 1.30%、1.29%。**结论** 三峡库区宜昌段随着生态环境的改变, 鼠密度和鼠类构成也发生相应变化, 要加强鼠密度监测, 为防制媒介传染病的发生提供参考。

关键词: 鼠密度; 三峡库区; 灰色模型 GM(1,1); 媒介传染病

中图分类号: R 184.35 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2705(2013)05-0007-03

Analysis and forecast of rat density in Three Gorges reservoir area in Yichang, Hubei by Grey Model (1997-2012)

ZHANG Hao, XU Yong, PAN Hui-ming, et al.

Public Health Research Center of Three Gorges University,

Yichang Center for Disease Control and Prevention, Hubei 443003, China

Abstract: Objective To explore the rat density variation in Three Gorges reservoir area in Yichang, Hubei. **Methods** By establishing GM(1,1) model of rat density in Three Gorges reservoir area in Yichang city from 1997 to 2012, to forecast the indoor and outdoor rat density from 2013 to 2014. **Results** The predicted values of rat density showed slight downward trend from 2013 to 2014 in Three Gorges reservoir area in Yichang city. The fitted models are significant statistically. The indoor rat densities will be 1.55% and 1.45%, 1.30% and 1.29% for outdoor from 2013 to 2014. **Conclusion** With the environment changes in Yichang Three Gorges reservoir, the rat density and constitute were changed correspondingly. It is suggested that rat density surveillance should be strengthened for vector-borne diseases control and prevention.

Key Words: Rat density; Three Gorges Reservoir; Grey Model (1,1); Vector-borne Diseases

鼠传疾病复杂多样, 有较高的病死率或致残率^[1]。三峡工程 2009 年完工, 目前水位最高达 175 m, 水库蓄水面积 1 084 km², 淹没或搬迁 19 个区(县), 273 个乡镇(镇), 11 424 个村^[2]。工程蓄水后环境变化可能造成鼠类数量和种群的变化。按照国务院三峡建委《长江三峡工程生态环境监测实施规划》要

求, 我们在三峡库区宜昌段开展了鼠类监测工作。本研究对 1997—2012 年的监测点鼠种构成及密度变化进行分析, 为了解其鼠类消长规律提供参考^[3]。

1 材料与方法

1.1 监测区概况 三峡工程涉总面积 8 556 km², 人口约 120 万。1996 年确定人群健康监测宜昌站点布设在兴山县(建阳坪乡)、秭归县(郭家坝镇)、夷陵区(三斗坪镇、乐天溪镇)和三峡坝区, 共 13 万人左右。2002 年后监测点调整为兴山县的峡口镇(原建阳坪

基金项目: 湖北省卫生厅 2011—2012 年度青年人才项目 (No. QJX2010-55)。

第一作者简介: 张皓, 医师。专业: 急性传染病防制和卫生应急处置。

* **通讯作者:** 杨小兵, 副主任医师, 博士研究生。

乡)和秭归县的郭家坝镇、沙镇溪镇共 3 个监测点,人口 10 万人左右。目前监测区总面积约 592 km²。

1.2 鼠类监测方法 使用鼠夹法,以捕鼠率作为鼠密度指标,鼠密度=(捕获鼠数/有效夹数)×100%。每个监测点在室内布放≥150 有效夹次,室外≥200。

1.3 资料收集和分析 收集监测数据、及每年年度监测技术报告。用“三峡监测信息系统软件”录入数据,用 SPSS 19.0 软件统计分析。

1.4 灰色系统 GM(1,1)模型的建立^[4,5] 灰色模型(GM),把一组离散的、随机的原始数列,经 m 次累加生成规律性强的序列,达到原始序列随机性弱化的目的。然后对累加生成列建模,最后进行 m 次累加还原成预测值。一般取 m=1,作为一次累加生成列建模,即 GM(1,1)。GM(1,1)模型是只包含单变量的一阶微分方程的模型。

1.4.1 计算一次累加生成数据 y(t) 及均值数据 z(t) 设原始灰色数列为:x(1),x(2),...,x(n),记为 X=[x(1),x(2),...,x(n)]

$$y(t) = \sum_{k=1}^t x(k), t=1,2,\dots,n$$

1.4.2 建立 y(t) 的一阶线性微分方程 $\frac{dy(t)}{dt} + \alpha(t) = \mu$ 此式即为 GM(1,1)模型,其解为

$$\hat{y}(t+1) = \left[x(1) - \frac{\alpha}{\mu} \right] e^{-\alpha t} + \frac{\alpha}{\mu}, \text{其中 } \alpha, \mu \text{ 为待}$$

定系数,根据最小二乘法估计: $\hat{\alpha} = \frac{1}{D} \{ (n-1) \left[- \sum_{t=2}^n x(t) \cdot z(t) \right] + \left[\sum_{t=2}^n z(t) \right] \cdot \left[\sum_{t=2}^n x(t) \right] \}$

$$\hat{\mu} =$$

$$\frac{1}{D} \{ \left[\sum_{t=2}^n z(t) \right] \cdot \left[- \sum_{t=2}^n x(t) \cdot z(t) \right] + \left[\sum_{t=2}^n z^2(t) \right] \cdot \left[\sum_{t=2}^n x(t) \right] \}$$

其中: z(t) 是由 y(t) 滑动求均值得到的:

$$z(t) = \frac{1}{2} [y(t) + y(t-1)], t=1,2,3,\dots,n$$

$$D = (n-1) \left[\sum_{t=2}^n z^2(t) \right] - \left[\sum_{t=2}^n z(t) \right]^2$$

1.4.3 模型检验 若两者拟合精度好则模型可用于外推预测,若两者拟合精度不合格,须经残差修正后再行外推预测。拟合检验指标有平均相对误差和后验差比值 C 与小误差概率 P。

$$\bar{e}\% = \frac{\sum | \hat{x}(t) - x(t) |}{\sum x(t)} \times 100\%$$

$$C = \frac{S_e}{S_x}$$

式中 $S_e = \sqrt{S_e^2}$ 而 $S_e^2 = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N [e^{(0)}(j) - e]^2$

$$S_x = \sqrt{S_x^2} \text{ 而 } S_x^2 = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N [x^{(0)}(j) - x]^2$$

$$P = P \{ |e^{(0)}(K) - \bar{e}| < 0.6744 S_x \}$$

1.4.4 外推预测 如果拟合检验结果满意,即模型效果满意,可按下式进行外推预测:

$$\hat{x}(t) = \hat{y}(t-1) t = n+1, n+2, \dots, n+k$$

2 结果

2.1 鼠情监测 1997—2012 年,平均室内捕鼠 522 只,鼠密度 3.4%(522/15 563);室外鼠密度 1.5%(346/23 840)。种类组成室内以褐家鼠占优势,其次是小家鼠。户外鼠种类较多,每年捕获种类不一,以其它种类如鼯鼠类占优势,其次为黄毛鼠,见表 1。

2.2 GM(1,1)模型的建立及预测 取 1997—2012 年监测点鼠密度为区间数值邻域,通过分析确定模型。

室内 GM(1,1)模型:

$$\hat{y}(t+1) = -65.460232e^{-0.069076t} + 72.600232$$

后验差检验:C=0.8452,P=0.4000

预测 2013、2014 年宜昌市三峡库区监测点室内鼠密度分别为:1.55%和 1.45%。

室外 GM(1,1)预测模型: $\hat{y}(t+1)$

$$= -172.435972e^{-0.008644t} + 174.175972$$

后验差检验:C=1.0232,P=0.3333

预测 2013、2014 年监测点室外鼠密度分别为:1.30%和 1.29%。

3 讨论

预测 2013—2015 年三峡库区宜昌段监测点室内鼠密度为:1.55%、1.45%和 1.35%,呈逐年轻微下降趋势;预测 2013—2015 年三峡库区宜昌段监测点室外鼠密度为:1.30%、1.29%和 1.35%,呈逐年轻微下降趋势。提示随着生态环境的改变,鼠密度和鼠类构成也发生了相应变化,要继续加强监测,可为防制媒介传染病的发生提供参考。

运用 GM 模型分析事物的可控性、可观性和可达成性,可提供迅速、正确的决策。预测的优点:①不需要大量样本;②样本不需规律性分布;③计算工作量大;④定量分析结果与定性分析结果不会相差太大;⑤可用于近期、短期和中长期预测;⑥预测精准度高。GM(1,1)模型所需数据少,当用上全部数据不合格时,可进行降维处理,直至模型达到要求为止,因此比较灵活,广泛用于出血热等疾病的监测^[6-8]。

表1 三峡库区湖北宜昌段1997—2012年鼠种及鼠密度分布(%)

Table 1 Rat species and density of Three Gorges reservoir area in Yichang city(1997-2012)

生境	年份	有效夹	捕鼠数	鼠种构成							鼠密度
				褐家鼠	小家鼠	黄胸鼠	黑线姬鼠	黄毛鼠	食虫目	其它	
室内	1997	1 289	92	71.7	26.1	1.1	0	0	0	1.1	7.1
	1998	1 655	76	61.8	19.7	18.4	0	0	0	0	3.3
	1999	1 125	78	83.3	14.1	2.6	0	0	0	0	6.9
	2000	279	16	93.8	0	0	0	0	0	6.3	5.7
	2001	1 732	54	61.1	18.5	0	0	0	18.5	1.9	3.1
	2002	608	2	0	0	0	0	100.0	0	0	0.3
	2003	1 172	8	50.0	50.0	0	0	0	0	0	0.7
	2004	1 330	17	52.9	0	29.4	0	17.7	0	0	1.3
	2005	1 166	14	78.6	7.1	14.3	0	0	0	0	1.2
	2006	802	33	33.3	54.6	6.1	0	0	0	6.1	4.1
	2007	478	23	47.8	0	21.7	30.4	0	0	0	4.8
	2008	1 108	61	3.3	13.1	83.6	0	0	0	0	5.5
	2009	1 503	33	0	15.2	84.9	0	0	0	0	2.2
	2010	537	13	0	7.7	61.5	15.4	0	0	15.4	2.4
2011	391	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	
2012	388	2	50.0	50.0	0	0	0	0	0	0.5	
小计	15 563	522	—	—	—	—	—	—	—	—	3.4
室外	1997	344	6	16.7	16.7	0	0	0	0	66.7	1.7
	1998	187	3	0	0	0	0	0	0	100.0	1.6
	1999	476	8	0	0	0	0	0	0	100.0	1.7
	2000	1510	39	2.6	0	0	0	59.0	0	38.5	2.6
	2001	1027	8	0	0	0	0	75.0	0	25.0	0.8
	2002	1430	12	58.3	41.7	0	0	0	0	0	0.8
	2003	898	2	0	0	0	100.0	0	0	0	0.2
	2004	544	12	0	0	0	16.7	25.0	0.0	58.3	2.2
	2005	859	6	0	0	0	66.7	0	0.0	33.3	0.7
	2006	1 162	11	0	0	9.1	63.6	0	0.0	27.3	1.0
	2007	1 462	40	0	0	10.0	60.0	15.0	0.0	15.0	2.7
	2008	3 508	34	2.9	23.5	41.2	17.7	0	0.0	14.7	1.1
	2009	4 432	83	3.6	8.4	8.4	19.3	2.4	9.6	48.2	1.9
	2010	2 567	48	0	2.1	41.7	31.3	6.3	0.0	18.8	1.9
2011	1 658	11	0	0	18.2	0	45.5	0.0	36.4	0.7	
2012	1 776	23	0	13.0	26.1	4.4	0	0.0	56.5	1.3	
小计	23 840	346	—	—	—	—	—	—	—	—	1.5

由于GM(1,1)模型较简单,是一维时间序列资料,未能考虑其它影响因素。若能收集到与发病率的多种子因素资料(难度较大),如环境、社会等方面的因素,利用多元统计或其它多元应用数学知识,借助先进工具进行分析预测,会使结果更加贴近实际,也才有更大的现实意义。因为传染病的流行趋势会受到多种因素的影响,本文为保持,均用GM(1,1),故外推预测结果仅供参考。

(感谢潘宝骏教授对本文耐心细致的指导。)

参考文献

[1] 郑剑宁,王燕,裘炯良.鼠传疾病与鼠类宿主研究概况[J].中国媒介生物学及控制杂志,2007,18(5):427-429.
 [2] 杨小兵,徐勇,赵鑫,等.三峡库区湖北省宜昌段蓄水前后媒介生

物监测及变化趋势分析[J].中国媒介生物及控制杂志,2010,21(3):204-207.

[3] 杨小兵,徐勇,赵鑫,等.三峡库区湖北省宜昌段人群健康状况及影响因素分析[J].中国初级卫生保健杂志,2010,24(3):73-76.
 [4] 邓聚龙.灰色系统理论教程[M].武汉.华中理工大学出版社.1988:38-55.
 [5] 邓聚龙.灰预测与灰决策[M].武汉.华中科技大学出版社.2002:111-174.
 [6] 蔡金钟.疾病监测的灰色预测模型GM(1,1)研究[J].厦门大学学报:自然科学版,1995,34(1):121-126.
 [7] 郭仁友,徐曼如,卞永红.GM(1,1)模型预测流行性出血热疫情探讨[J].江苏预防医学,1995,23(2):36-37.
 [8] 仇丽霞,陈利民,杭洋.GM(1,1)灰色模型在家鼠型肾综合征出血热动态研究中的应用[J].中国媒介生物学及控制杂志,1996,7(3):208-209.

收稿日期:2013-02-27;修回日期:2013-05-30 责任编辑:范新宇

龙海市居民应对突发公共卫生事件 知识与技能干预效果评价

颜翠兰¹, 林国华¹, 郭新科¹, 洪源浩², 管纪惠²

1. 龙海市疾病预防控制中心, 福建 363100; 2. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001

摘要: **目的** 评价福建省龙海市居民应对突发公共卫生事件知识与技能的健康教育干预效果。**方法** 用多阶段整群抽样法, 对基线调查的 500 人和末期评估的 300 人进行问卷调查。**结果** 经过 1 年干预后, 居民的非典、鼠疫知识与技能得分略有提高但未达显著性水平, 应对灾害、传染病和食物中毒预防等知识和技能得分均有提高。**结论** 形式多样的健康教育, 对提高居民应对突发公共卫生事件知识与技能有显著效果。

关键词: 突发公共卫生事件; 知识与技能; 居民; 疾病控制

中图分类号: R 1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2705(2013)05-0010-03

Evaluation of intervention effect on knowledge and skills for public health emergency in residents of Longhai, Fujian

Yan Cui-lan, LIN Guo-hua, Guo xin-ke, et al.

Longhai Centre for Disease Control and Prevention, Fujian 363100, China

Abstract: Objective To evaluate the effect of intervention on the knowledge and skills for public health emergency in resident of Longhai, Fujian. **Methods** By using multi-stage cluster sampling, totally 500 residents for baseline survey and 300 residents for final evaluation were investigated by questionnaire. **Results** After one year intervention by health education, the scores of knowledge and skills for public health emergency increased, including disaster, infectious disease and food poisoning prevention and so on, except the scores of SARS and plague. **Conclusion** A variety of health education shows significant effect on increasing the knowledge and skills of residents for public health emergency.

Key Words: Public Health Emergency; Knowledge and Skill; Intervention; Disease Control

突发公共卫生事件是指突然发生, 造成或者可能造成社会公众健康严重损害的重大传染病疫情、群体不明原因疾病、重大食物和职业中毒以及其他严重影响公众健康事件^[1]。发生这些事件不仅对人们健康造成严重影响, 且极大危及经济发展、社会稳定和国家安全^[2]。有关研究显示, 人们普遍缺乏应急准备和逃生自救的知识与技能^[3]。为提高居民应对事件的能力, 评估健康教育干预效果, 2008—2010 年龙海市 CDC 与中国健康教育中心联合开展了科技部项目“公众应对突发公共卫生事件知识与技能干预研究”, 先后对龙海市居民进行了基线调查、干预研究与终末评估, 现将干预效果评估结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 龙海市 18 岁以上的城市居民, 基线调查 500 人, 终末调查 300 人。

1.2 研究方法

1.2.1 抽样方法 均采用多阶段系统抽样法。第一阶段, 抽取龙海市的 2 个街道; 第二阶段, 在样本街道中抽取 2 个居委会; 第三阶段, 基线调查在每个居委会中抽取 135 户, 终末调查抽取 75 户, 每户选取 1 名 18 岁以上成年人为调查对象。

1.2.2 调查与干预 ① 基线调查与终末调查: 均用课题组设计的《公众应对突发公共卫生事件知识与技能调查问卷》, 内容: 基本情况、灾害、传染病暴发和其他突发公卫事件 4 个部分。由经过统一培训的调查员入户面对面调查, 终末评估在干预 1 年后进行; ② 干预措施: 以基线调查的 4 个居委会的样本户为中心, 向其邻近户辐射状干预, 通过制作和发放健康教育宣传小册子、折页和张贴海报, 开展针对“地震、火灾、水灾的逃生自救、台风的应急避险、突发公共卫生事件应对能力(传染病)、健康教育(人际传播)”等的知识讲座, 通过电视、LED 播放“公众公共安全教育”公益广告宣传和进行火灾发生情景的模拟演练等实施健康教育干预。

1.2.3 知晓率判定标准 单一知识点计算: 正确回

答该知识点每道题的人数/总人数×100%；多个知识点的计算：正确回答1个知识点得1分，答错为0分，合计得分为知晓率。

1.3 数据处理 干预前后数据用EpiData 3.0软件建立数据库，双人双录入。用SPSS 17.0软件统计分析，定量资料用t检验或方差分析，率的比较用χ²检验。

2 结果

2.1 基本情况 基线调查共收到有效问卷500份，被调查者年龄平均(44.2±14.6)岁；终末调查共收到有效问卷300份，年龄平均(45.1±16.2)岁。调查对象基本情况见表1。

表1 龙海市被调查居民的基本情况

Table 1 Basic information of residents investigated in Longhai city

基本情况	干预前	干预后
性别：男	251(50.2)	152(50.7)
女	249(49.8)	148(49.3)
年龄：18~	88(17.6)	55(18.3)
(岁) 30~	111(22.2)	62(20.7)
40~	135(27.0)	72(24.0)
50~	71(14.2)	50(16.7)
≥60	95(19.0)	59(19.7)
文化程度：≤小学	73(14.6)	66(22.0)
初中	199(39.8)	122(40.7)
高中	171(34.2)	100(33.3)
≥大学	57(11.4)	12(4.0)
婚姻：未婚	51(10.2)	33(11.0)
在婚	434(86.8)	256(85.3)
丧偶	9(1.8)	5(1.7)
离异	6(1.2)	4(1.3)
职业：企事业	43(8.6)	13(4.3)
办事业务	48(9.6)	18(6.0)
专业技术	23(4.6)	14(4.7)
服务业	143(28.6)	118(39.3)
制造生产	35(7.0)	15(5.0)
农业	7(1.4)	6(2.0)
医务	11(2.2)	7(2.3)
学生	6(1.2)	10(3.3)
离退休	78(15.6)	39(13.0)
无业	86(17.2)	45(15.0)
其他	20(4.0)	15(5.0)
家庭月收入：0~	60(12.0)	51(17.0)
(元) 1 000~	197(39.4)	109(36.3)
2 000~	159(31.8)	103(34.3)
5 000~	33(6.6)	13(4.3)
10 000~	9(1.8)	6(2.0)
≥20 000	7(1.4)	1(0.3)
不明	35(7.0)	17(5.7)
合计(人数)	500	300

2.2 干预前后居民知识与技能得分比较 干预后除非典、鼠疫及对化学品中毒处理方法的知晓率外，其他知识和技能均明显提高，见表2、3。

表2 干预前后龙海市居民应对突发公共卫生事件知识与技能的得分比较

Table 2 Score comparison of the knowledge and skills for public health emergency before and after intervention in Longhai residents

调查内容	干预前	干预后	t值	
灾害知识技能	知晓地震自救	4.19±1.47	5.29±1.10	12.12**
	知晓水灾自救	4.31±1.27	5.02±1.01	8.80**
	知晓火灾自救	3.97±0.97	4.59±0.73	10.24**
	灾害事件总分	12.46±2.83	14.91±2.19	13.66**
传染病知识与技能	非典	0.85±0.36	0.86±0.34	0.442
	人禽流感	4.44±1.41	5.51±0.89	13.16**
	流感	1.11±0.74	1.41±0.69	5.69**
	麻疹	1.38±0.72	1.78±0.50	9.22**
	肺结核	2.57±1.21	3.67±1.45	11.03**
	伤寒	0.19±0.39	0.52±0.50	9.80**
	霍乱	1.47±0.70	1.79±0.49	7.57**
	鼠疫	0.83±0.37	0.87±0.34	1.34
	传染病总分	12.83±3.81	16.40±3.57	13.12**
其他	食物中毒应对	1.38±0.65	1.73±0.50	8.45**
灾害	放射性事故应对	3.06±1.34	2.45±2.14	3.86**

注：干预前调查500人，干预后调查300人；**P<0.01。

表3 干预前后龙海市居民应对突发公共卫生事件知识的知晓率比较(%)

Table 3 Comparison of awareness rate of knowledge for public health emergency before and after intervention in Longhai residents (%)

调查内容	干预前	干预后	χ ² 值
交通事故求助电话	245(49.0)	262(87.3)	119.4**
毒气泄漏逃生知识	251(50.2)	238(79.3)	71.6**
放射性事故	199(39.8)	182(60.7)	32.7**

注：干预前调查500人，干预后调查300人；*P<0.05，**P<0.01。

3 讨论

目前我国已进入突发事件高发期，据统计近10年来平均每年因自然灾害、突发事件灾难、公共卫生和安全事故造成非正常死亡人数超过20万，伤残200余万人，每年造成经济损失约6500亿元^[4]。

突发公共卫生事件有突发性、关注性和要求及时处置性等特点^[5]，苗头事件的早期发现是防控工作重点。虽然近年来加强事件的监测、预警和反应处理演练等工作，但针对居民应对事件的健康教育开展较少，居民应对突发公共卫生事件知识还不够。瑞典一项调查显示，人们不愿采取应急准备的原因是认为这种灾难不可能发生或可能性较低，即使采取了应对措施作用也很小，甚至没有任何作用^[6]。

(下转第61页)

头颈部肿瘤患者放射治疗期间 营养状况综合评价

袁平^{1,2}, 陈仲武^{3*}, 阙少聪^{1,2}, 林仲^{1,2}, 张纬建³, 洪金省³

1. 福建省疾病预防控制中心, 福州 350001; 2. 福建医科大学公共卫生学院, 福州 350005;

3. 福建医科大学附属第一医院, 福州 350005

摘要: **目的** 构建营养评价综合模型, 评价头颈部肿瘤患者放疗期间营养状况。 **方法** 用 SPSS 17.0 软件, 根据患者营养状况建立综合评价模型。经因子分析确定了 4 个公因子 F1、F2、F3、F4。 **结果** 建立的综合评价模型为: $F = 0.485 F_1 + 0.236 F_2 + 0.164 F_3 + 0.115 F_4$ 。将患者综合评分按四分位数分为 4 类: 正常、轻度、中度、重度营养不良。 **结论** 利用因子分析得到的营养综合评价模型, 能更全面反映患者营养状况, 有利于早期发现营养不良, 及时给予营养干预。

关键词: 头颈部肿瘤; 营养评价; 放射疗法

中图分类号: R 739.91 文献标志码: A 文章编号: 1007-2705(2013)05-0012-03

Comprehensive evaluation of nutritional status of patients with head and neck cancer during radiotherapy

YUAN Ping, CHEN Zhong-wu, QUE Shao-chong, et al.

Fujian Center for Disease Control and Prevention, Fujian 350001

School of Public Health, Fujian Medical University, Fujian 350005, China

Abstract: Objective To establish comprehensive model for evaluating nutritional status of patients with head and neck cancer during radiotherapy. **Methods** According to nutritional status of patients, comprehensive evaluation model was established by SPSS 17.0 package, using factor analysis to get four common factors (F1, F2, F3, F4). **Results** The comprehensive evaluation model was $F = 0.485 F_1 + 0.236 F_2 + 0.164 F_3 + 0.115 F_4$. The scores of nutritional status of patients were divided into 4 types: normal, slight, median and severe malnutrition. **Conclusion** The comprehensive model by factor analysis can be applied to evaluate the nutritional status of patients. It is benefit to early discovery of malnutrition and to take measures for nutritional intervention.

Key Words: Head and Neck Cancer; Nutritional Evaluation; Radiotherapy

头颈部肿瘤易影响进食, 加上放疗影响, 患者营养不良率高达 74.2%^[1]。对营养不良患者评定等级、估计营养需要量、制定营养治疗计划, 临床上尚无统一标准。不同的营养评价方法(指标)反映的侧重点不同^[2], 且结果受多种因素影响, 因此, 有必要建立综合评价方法。本文综合反映营养状况的指标, 探索性地用因子分析法建立营养状况综合评价模型, 对患者进行营养状况综合评价。

1 材料与方法

1.1 确定营养状况评价指标 在文献回顾和专家论证的基础上, 确定测量指标(体质指数、上臂肌围)

和血液指标(转铁蛋白、血清前白蛋白、红细胞、血红蛋白和淋巴细胞)^[3,4]为本次营养状况评价的指标。血清前白蛋白和转铁蛋白用德灵 BN-II 特定蛋白仪的免疫比浊法检测; 淋巴细胞、红细胞、血红蛋白、血小板采用 Bayer120 血球分析仪的散射偏振光法检测。

1.2 确定研究对象 具备条件 ① 经病理学检查确诊的头颈部肿瘤患者; ② 接受放射治疗; ③ 无其他严重躯体疾病; ④ 病情许可且能配合调查。

1.3 数据处理

1.3.1 统计方法 用 EpiData 建立数据库, 用 SPSS 17.0 软件中的因子分析法建立评价模型。

1.3.2 营养状况综合评价模型的建立 在确立公因子的基础上, 采用回归法, 以每个公因子为因变量, 以各不同指标的测量数值作为自变量建立线性

基金项目: 福建省卫生厅青年科研课题基金资助(No. 2010-1-25)。

第一作者简介: 袁平, 主管医师。专业: 肿瘤营养。

* 通讯作者: 陈仲武, E-mail: 708920855@qq.com。

回归方程(公因子表达式),计算患者各公因子的得分;按确定的各公因子的特征值与所有公因子特征值之和的比作为权重,建立综合评价模型,得到患者的营养综合评分^[5];以所有患者的营养状况综合评价得分的最大值和最小值为限,将分值平均分正常、轻度、中度和重度营养不良4组。分别评价放疗第2周、第4周、第6周患者的营养状况。

2 结果

2.1 基本情况 选择2008至2010期间在福建医科大学附属第一医院接受放射治疗的头颈部肿瘤患者,共148例,排除18例,符合条件130例(男性90例,女性40例);年龄19~89岁(中位年龄51岁)。鼻咽癌77例,口咽及口腔癌23例,喉癌16例,其它部位肿瘤14例。临床分期(UICC/AJCC2002分期)^[6]: I期3例, II期26例, III期38例, IV期63例。初诊患者84例,术后患者46例。

2.2 建立营养状况综合评价模型(因子分析) 用因子分析筛选出主成分(主要指标),确定综合评价指标和某一特征评价指标,以揭示研究对象的营养状况。

2.2.1 因子分析适用性检验 经KMO检验统计量为0.769,大于0.7,说明因子分析的效果较好。

2.2.2 确定公因子个数 根据引入特征根>1的原则,提取4个公因子,其累积贡献率已达到78.9%,超过75.0%,可认为能综合代表绝大部分指标信息,见表1。

表1 因子分析结果的特征值、贡献率及累计贡献率(%)

Table 1 The Eigenvalues, the contribution rate and the cumulative contribution rate by factor analysis (%)

公因子序号	特征根(λi)	贡献率	累积贡献率
1	4.799272	0.3823	0.3823
2	2.230689	0.1859	0.5682
3	1.55672	0.1297	0.6979
4	1.089675	0.0908	0.7887

2.2.3 解释公因子的实际意义 采用方差最大正交旋转法,使各公因子尽可能反映不同的营养状况,使其具有专业意义。旋转后的因子载荷矩阵见表2。

2.2.4 计算公因子得分 根据旋转后公因子得分系数矩阵,以每个公因子为因变量,以7个营养指标标准化测量值作为自变量,采用回归法建立各公因子表达式。根据公因子的表达式,计算各位患者每个公因子得分。以此类推,计算其他各时点(放疗第2、4、6周)的得分。

表2 因子分析旋转后的因子载荷

Table 2 The rotated component matrix by factor analysis

营养指标	公因子			
	1	2	3	4
上臂肌围(x1)	0.92573	0.12103	-0.07549	0.04171
体重指数(x2)	0.92039	0.06014	0.06789	0.10393
淋巴细胞总数(x3)	0.0983	0.0844	0.86743	-0.00826
红细胞(x4)	0.07431	0.924	-0.04889	0.11628
血红蛋白(x5)	0.18497	0.82592	0.0909	-0.00037
血清前白蛋白(x6)	0.08891	0.10107	0.11422	0.78386
转铁蛋白(x7)	0.15439	0.02113	-0.0686	0.63364

2.2.5 建立综合评价模型 经因子分析确定了4个公因子,分别从蛋白质-热能营养不良、慢性蛋白营养不良、免疫低下型营养不良和快反应蛋白营养不良4方面反映营养状况的综合水平,按确定的每个公因子的旋转后的特征值与4个公因子特征值之和的比作为权重,计算患者营养状况综合因子得分。建立的综合评价模型为: $F=0.485 F_1+0.236 F_2+0.164 F_3+0.115 F_4$ 其中F为综合评价总分, F_1 为第1公因子得分, F_2 为第2公因子得分, F_3 为第3公因子得分, F_4 为第4公因子得分。

由以上综合评价模型结合专业知识可见,蛋白质-热能营养不良因子的权重最大(48.5%),慢性蛋白营养不良因子、免疫低下型营养不良因子和快反应蛋白营养不良因子权重分别为23.6%、16.4%和11.5%。反映蛋白质-热能营养不良仍为营养不良的主要形式。

2.3 患者营养状况综合评价

2.3.1 营养综合评价等级划分 根据综合评价模型计算放疗前每位患者的4个公因子和综合营养评价得分,将得分值从小到大排序,按四分位数(P_{25} 、 P_{50} 和 P_{75})将其分为4类,其对应的因子得分值作为评定各时期营养状况的标准,分营养正常和轻度、中度和重度营养不良4个等级。综合评价等级的划分标准,见表3。

表3 患者营养综合评价等级的划分标准

Table 3 The comprehensive nutritional evaluation standard of patients

评价等级	百分位数	综合评价总分范围
营养正常	$>P_{75}$	>1.0088
轻度营养不良	$P_{50} \sim P_{75}$	$-0.1543 \sim 1.0088$
中度营养不良	$P_{25} \sim P_{50}$	$-0.9572 \sim -0.1543$
重度营养不良	$<P_{25}$	<-0.9572

2.3.2 患者放疗各时期营养状况变化 按建立的

营养状况综合评价模型(以放疗前130名患者为数据来源),评价在放疗不同时期的营养状况。各时期营养不良发生率间差异有统计学意义(趋势 $\chi^2=20.73, P=0.014$),表明患者营养不良发生率递增,营养状况呈逐步恶化趋势,见表4。

表4 患者放疗不同时期的营养状况综合评价(%)

Table 4 Comprehensive evaluation of nutritional status in different periods of patients during radiotherapy (%)

营养状况	合计	营养正常	营养不良		
			轻度	中度	重度
放疗前	130	42(32.3)	47(36.2)	32(24.6)	9(6.9)
放疗:第2周	130	31(23.8)	49(37.7)	38(29.2)	12(9.2)
第4周	130	26(20.0)	43(33.1)	38(29.2)	23(17.7)
第6周	130	25(19.2)	42(32.3)	35(26.9)	28(21.5)

3 讨论

头颈部肿瘤患者是营养不良发生率最高的群体之一。放疗期间患者营养状况逐步恶化,在制定放疗方案前,需对患者营养状况进行评估。目前评价指标很多,但临床上尚无统一方法。常见的指标是BMI,但不能反映患者在治疗期间短期内营养状态变化情况。所以仅用其中一个指标来评价,结果片面,且结论不一致,甚至相互矛盾,难以得出结论^[7,8]。本研究在前期研究基础上^[9],用因子分析法筛选出主成分,确定综合评价指标和某一特征评价指标,分析产生4个公因子,分别代表蛋白质-热能型、免疫低下型、慢性反应蛋白型和快反应蛋白型营养指标。蛋白质热量营养不良,体重显著降低是其最主要临床特点。本研究显示蛋白质-热能营养不良因子的权重最大(占48.5%),与吴蓓雯等^[10]研究的结果相同。慢性蛋白营养指标反映机体储铁水平。免疫低下型营养指标反映机体免疫功能。本研究显示,在放疗间,淋巴细胞、淋巴细胞百分比呈下降趋势,表明患者机体免疫功能降低;且两者均值在放疗第2周开始低于正常参考值,提示患者有营养不良,与李向林^[11]、戴福仁等^[12]结果一致。急性蛋白营养指标主要为转铁蛋白、血清前白蛋白,半衰期短,转铁蛋白半衰期为8d,前白蛋白的半衰期更短,仅为2d,在蛋白质和能量摄入的短期内即有明显变化,对营养支持治疗的反应迅速,可作为临床营养不良的早期诊断和营养治疗的监测指标。本研究发现转铁蛋白从第2周开始已低于正常参考值。

最后利用4个公因子的权重建立营养状况综合评价模型,可较客观描述患者放疗期间的营养状况。

评价结果与高凤莉等^[13]研究一致。临床医生在制定放疗方案前,需对患者的营养状况进行评估,因不同评价方法(指标)所反映出的营养状况的侧重点各异,导致评定结果不同,本研究将营养指标综合进行因子分析,建立营养状况综合评价模型,所得评价结果能更全面反映患者的营养状况,随时监测放疗期间动态变化过程,早期发现患者,降低营养不良发生,有益于治疗和康复。采用因子分析法构建营养状况综合评价模型是将数学理论应用到临床医学的一次探索性实践,今后研究的方向是对模型进一步完善,增加主观评价的量化指标、潜在的营养风险等指标进入模型,使模型更加客观有效地评价营养状况。

(本文蒙福建省疾病预防控制中心洪荣涛主任医师悉心指导,特此致谢!)

参考文献

- [1] Munshi A, Pandey MB, Durga T, et al. Weight loss during radiotherapy for head and neck malignancies; what factors impact it? [J]. *Nutr Cancer*, 2003, 47(2): 136-140.
- [2] Mahdavi AM, Safaiyan A, Ostadrahimi A. Subjective vs Objective nutritional assessment study in children: a cross-sectional study in the northwest of Iran [J]. *Nutr Res*, 2009, 29(4): 269-274.
- [3] 李淑媛. 临床营养学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2006: 29-36.
- [4] Rapp-Kesek D, Stahle E, Karlsson TT. Body mass index and albumin in the preoperative evaluation of cardiac surgery patients [J]. *Clin Nutr*, 2004, 23(6): 1398-1404.
- [5] 张文彤, 董伟. SPSS 统计分析高级教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 363-365.
- [6] Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. *AJCC Cancer Staging Manual 6th edition*[C]. New York: Springer, 2002: 8-45.
- [7] 葛声, 蔡东联, 唐彦, 等. 采用主成分分析法对糖尿病住院患者营养状况综合评价[J]. *中国临床营养杂志*, 2005, 13(5): 285-288.
- [8] 李榕, 马美丽, 宋懿懿, 等. 初治晚期肺癌132例患者营养状况调查[J]. *肿瘤*, 2008, 28(4): 353-356.
- [9] 袁平, 吴小南, 张经纬, 等. 头颈部肿瘤患者放射治疗期间营养状况动态分析[J]. *海峡预防医学杂志*, 2010, 16(1): 80-82.
- [10] 吴蓓雯, 曹伟新. 利用层次分析法构建住院患者营养状况综合评价量表[J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2010, 30(1): 20-23.
- [11] 李向林. 围化疗期恶性肿瘤患者的营养状况分析[J]. *现代肿瘤医学*, 2011, 19(12): 2548-2551.
- [12] 戴福仁, 赵新新, 董素莲. 肿瘤内科住院患者营养风险筛查多原发癌临床特征分析及营养支持应用状况[J]. *现代实用医学*, 2010, 22(6): 617-619.
- [13] 高凤莉, 张福泉, 鲁重美, 等. 头颈部肿瘤病人放疗期间营养状态变化及放疗毒副反应的研究[J]. *临床消化病杂志*, 2008, 20(4): 214-216, 219.

收稿日期: 2012-10-07; 修回日期: 2013-01-10 责任编辑: 范新宇

多重荧光 PCR 检测婴幼儿食品中常见病原菌

刘秀峰^{1,3}, 强华^{2*}, 潘珍瑜^{1,3}, 江建真^{1,3}, 潘洁茹^{1,3}

1. 福州市疾病预防控制中心, 福建 350004; 2. 福建医科大学, 福州 350004;
3. 福建医科大学教学基地, 福州 350004

摘要: **目的** 建立婴幼儿食品中 3 种常见病原菌的多重荧光 PCR 检测方法。**方法** 根据阪崎杆菌 16S-23SrDNA 保守区、金黄色葡萄球菌耐热核酸酶(nuc)基因序列和蜡样芽胞杆菌 *cerA* 特异基因, 设计合成引物和探针, 优化反应条件。**结果** 建立的多重荧光 PCR 方法只特异性地扩增目标病原菌; 用国标法和多重荧光 PCR 方法同时对 194 份奶粉和米粉样品进行检测, 结果完全一致。多重荧光 PCR 方法检测过程可在 8 h 内完成。**结论** 建立的多重荧光 PCR 法敏感性高、特异性强、快速、准确, 可同时检测婴幼儿食品中的阪崎杆菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽胞杆菌, 适合批量样本检测, 有很好的应用前景。

关键词: 婴幼儿食品; 食品安全; 多重荧光 PCR; 阪崎肠杆菌; 金黄色葡萄球菌; 蜡样芽胞杆菌

中图分类号: R155.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-2705(2013)05-0015-03

Establishment of a multiple real-time PCR method for detection of pathogens in infant food

LIU Xiu-feng, QIANG Hua, PAN Zhen-yu, et al.

Fuzhou Center For Disease Control and Prevention;

Teaching Base of Fujian Medical University, Fujian 350004, China

Abstract: Objective To establish a multiple real-time PCR method for detection of three kinds of pathogens in infant food. **Methods** Primers and probes were designed based on the conservative sequence of 16S-23SrDNA of *Enterobacter sakazakii* and nuc gene of *Staphylococcus aureus* and *cerA* gene of *Bacillus cereus*, and the reaction conditions of multiple PCR were optimized. **Results** *Enterobacter sakazakii* and *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* generated fluorescent signals only. The infant food samples were detected by real-time PCR and GB4789 method. The results of Guobiao and PCR method for determining 194 milk and rice flour samples were coincidental. The detection could be finished in 8 hours. **Conclusion** The detection of real-time PCR method was of sensitivity and specificity, and can be applied to rapid diagnosis of *Enterobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in infant food and can be applied to detection for bulk samples.

Key Words: Infant Food; Food Safety; Multiple Real-Time PCR; *Enterobacter Sakazakii*; *Staphylococcus Aureus*; *Bacillus Cereus*

阪崎肠杆菌可导致婴儿及早产儿脑膜炎、败血症和坏死性结肠炎, 病死率高达 50%^[1], 已引起世界多国的重视; 金黄色葡萄球菌和蜡样芽胞杆菌是食物中毒的常见病原菌, 国家食源性疾病监测网将这 3 种细菌列为婴儿配方食品重点监测。本研究建立了可同时检测上述 3 种病原菌的多重荧光 PCR 技术, 为快速检测婴幼儿食品中病原菌提供新手段, 报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 仪器与试剂 7300 荧光 PCR 仪(美国 ABI 公司)。mLST 增菌液、MYP 琼脂、TSA 琼脂、营养肉汤、阪崎肠杆菌显色培养基(北京陆桥); API20E 生化反应板和 Bired-Parker(法国梅里埃); 荧光 PCR 试剂引物和探针由深圳生科源公司合成。

1.1.2 菌株 从日常婴幼儿食品病原菌监测中分离, 经国标法鉴定的 25 株阪崎肠杆菌、6 株金黄色葡萄球菌和 63 株蜡样芽胞杆菌。2 种目标菌的参考菌

基金项目: 福州市科技计划项目(No. 2010-s-82)。

第一作者简介: 刘秀峰, 主任技师。专业: 微生物研究。

* 通讯作者: 强华, E-mail: qianghua66@sina.com。

株和 15 株近源株均为北京陆桥标准株:阪崎肠杆菌 ATCC29544 和 ATCC51329、金黄色葡萄球菌 ATCC25923、福氏志贺菌 ATCC12022、痢疾志贺氏菌 CMCC51105、宋内氏志贺氏菌 CMCC51592、弗劳地枸橼酸菌 CMCC48021、副溶血性弧菌 ATCC17802、铜绿假单胞菌 ATCC15442 和 ATCC9027、普通变形杆菌 CMCC49027、大肠埃希氏菌 ATCC25922 和 ATCC8739、奇异变形杆菌 CMCC49005;肠炎沙门氏菌、大肠杆菌 O₁₅₇:H₇、溶血性链球菌、蜡样芽胞杆菌和小肠耶尔森氏菌为国家 CDC 考核株。

1.1.3 样品 194 份婴儿食品购自超市,均在保质期内。

表 1 多重荧光 PCR 法检测 3 种病原菌的引物和探针

Table 1 Primers and probes of three kinds of pathogens for multiple real-time PCR

病原菌	基因	引物和探针
阪崎肠杆菌	16S-23S	Primer F:5'-CCGGAACAAGCTGAAAATTGA-3' Primer R:5'-TCTTCGTGCTGCGAGTTTG-3' Probe:5'-(FAM)ACTCTGACACACCGCGCATTCCTG(TAMRA)-3'
蜡样芽胞杆菌	<i>cerA</i>	Primer F:5'-GCTAAAAGGTGTACTIONTAGCTTAGG-3' Primer R:5'-TATATACATTATGCGTCATCAC-3' Probe:5'-(HEX)AGTTCCGCTATATAAAGCTCCTAAACCAA(TAMRA)-3'
金黄色葡萄球菌	Nuc	Primer F:5'-AGTATATAGTGCAACTTCAACTAAA-3' Primer R:5'-ATCAGCGTTGTCTTCGCTCCAAATA-3' Probe:5'-(ROX)AGTTTGACAAAAGGTCAAAGAAGCTGATAAAT(TAMRA)-3'

1.2.4 PCR 反应条件^[5] 将 3 种目标菌基因组 DNA 混合后作为模板,同时加入 3 对引物进行多重荧光 PCR 扩增,调整和优化 Mg²⁺、dNTP 浓度和延伸时间等反应参数。分别选用 6 个浓度梯度研究引物浓度对 PCR 反应的影响;先加入等量引物,再根据荧光曲线调整引物浓度,确定最佳反应条件。实时 PCR 反应参数:50 °C 2 min,95 °C 3 min 1 个循环;95 °C 5 s,55 °C 60 s 40 个循环,55 °C 收集荧光。

1.2.5 特异性检测 对 27 株阪崎杆菌、7 株金黄色葡萄球菌、64 株蜡样芽胞杆菌和 15 株近源菌株进行荧光 PCR 检测,观察目标菌的特异性扩增和近源菌有无交叉扩增。

1.2.6 敏感性分析^[6] 用阪崎肠杆菌、蜡样芽胞杆菌和金黄色葡萄球菌标准菌株营养肉汤增菌液分别配制 3.0×10⁶CFU/mL 菌液,按 1:1 比例混合,用生理盐水做 10 倍递增稀释,各菌液浓度依次为 10¹~10⁶CFU/mL,然后分别取 10 00、500 和 200 μL 菌液进行荧光 PCR 检测。

1.2 方法

1.2.1 菌株分离鉴定 按 GB 4789《食品微生物检验方法 阪崎肠杆菌检验、金黄色葡萄球菌检验和蜡样芽胞杆菌检验》进行。

1.2.2 DNA 模板的提取 取 1 000 μL 增菌液于 1.5 mL 离心管中,13 000 r/min 离心 5 min,吸弃上清液,加 50 μL DNA 裂解液(或挑取纯菌株培养物于离心管,直接加 50 μL DNA 裂解液),置 100 °C 金属浴 5 min,冷却后 13 000 r/min 离心 5 min,留上清液备用。

1.2.3 引物和探针设计^[2-4] 3 种病原菌的引物、探针见表 1。

2 结果

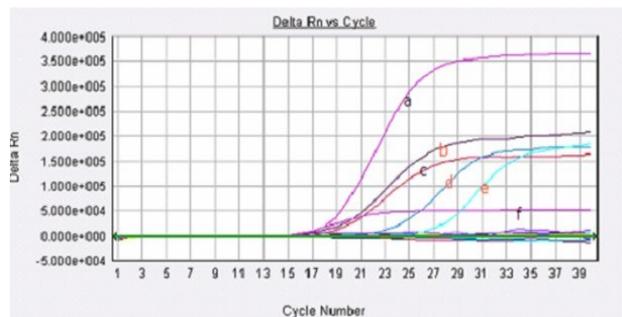
2.1 特异性分析 对 27 株阪崎杆菌、7 株金黄色葡萄球菌、64 株蜡样芽胞杆菌和 15 株近源菌株进行荧光 PCR 检测,3 种目标细菌均扩增出特异的荧光曲线,其它近源菌株荧光很弱,对结果没有干扰,结果易判别,见图 1。

2.2 敏感性分析 阪崎杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽胞杆菌荧光 PCR 检测的敏感性分别为 10、50 和 20 CFU/mL。

2.3 优化反应条件 10×PCR 缓冲液 2.5 μL, Mg²⁺(25 μM)3.5 μL, dNTPs(2.5 μM)2.0 μL。引物浓度为:阪崎肠杆菌(25 μM)0.2 μL、金黄色葡萄球菌(50 μM)0.2 μL、蜡样芽胞杆菌(25 μM)0.2 μL, Taq DNA 聚合酶(5 U/μL)0.3 μL。

2.4 婴儿食品检测结果 用国标法和多重荧光 PCR 同时对 194 份奶粉、米粉样品进行检测,荧光 PCR 方法与国标法检测结果完全一致;阪崎肠杆菌检出数均为 25 份(12.9%),金黄色葡萄球菌均为 6

份(3.1%),蜡样芽胞杆菌均为63份(32.5%)。多重荧光PCR扩增整个检测过程在8h内完成。米粉检测结果见图2。



a, b: 阪崎肠杆菌及阳性对照; c, d: 蜡样芽胞杆菌及阳性对照; e, f: 金黄色葡萄球菌及阳性对照

图1 多重荧光PCR法的特异性检测结果

Figure 1 Specific results for detecting pathogens by multiple real-time PCR method



a, b: 样品中阪崎肠杆菌及阳性对照; c, d: 样品中蜡样芽胞杆菌及阳性对照; e, f: 样品中金黄色葡萄球菌及阳性对照

图2 多重荧光PCR法检测米粉中病原菌的结果

Figure 2 The results for detecting pathogens in infant food by multiple real-time PCR method

3 讨论

根据阪崎肠杆菌16S-23S rDNA保守区、金黄色葡萄球菌耐热核酸酶(nuc)基因序列和蜡样芽胞杆菌cerA特异基因,设计、合成引物和探针,对反应条件进行优化,建立针对婴幼儿食品中常见病原菌的多重荧光PCR检测方法。

对27株阪崎肠杆菌、7株金黄色葡萄球菌、64株蜡样芽胞杆菌和15株近源菌株进行荧光PCR检测,结果3种目标菌均扩增出特异的荧光曲线,其它近源菌株荧光很弱,对结果没有干扰,特异性很高。

多重PCR荧光在一个反应管中有多对引物存在,会产生引物竞争。本实验中,在3对引物浓度都为50 μM时,阪崎肠杆菌和蜡样芽胞杆菌都能成功扩增出相应片段,但金黄色葡萄球菌的扩增受到抑制,因而对引物浓度进行适当调整:先增加金黄色葡萄球菌引物的浓度(100 μM),但效果不好;后降低扩增效率最好的阪崎肠杆菌引物浓度(50 μM),结果3种目标菌的相应片段都得到同时扩增。许一平等^[7]的实验也证明降低扩增效率高的引物浓度比增加扩增效率低的引物浓度更有效。

在对实际样本的检测中,由于婴儿食品营养丰富,在增菌过程中会产生很多生物活性物质,可能干扰检测结果。研究中用营养肉汤2次增菌后进行荧光PCR检测,效果很好。

用国标法和多重荧光PCR法同时检测194份奶粉和米粉样品,结果一致。样品中阪崎肠杆菌、蜡样芽胞杆菌和金黄色葡萄球菌的污染率分别为12.9%、32.5%、3.1%。阪崎肠杆菌和蜡样芽胞杆菌检出率很高,应引起高度重视。

本研究建立的多重荧光PCR方法敏感性高、特异性强,快速、准确。可用于婴儿食品中阪崎肠杆菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽胞杆菌的检测。本方法适合于批量样本的检测,具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 刘秀梅,裴晓燕,郭云昌. 中国安徽阜阳劣质婴儿配方粉中阪崎肠杆菌的污染[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 17(1): 10-12.
- [2] Liu Y, Cai X, Zhang X, et al. Real time PCR using Taqman and SYBR Green detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula[J]. J Microbiol Methods, 2006, 65(1): 21-31.
- [3] Bavykin SG, Lysov YP, Zakhariyev V, et al. Use of 16S rRNA, 23SrRNA, and gyrB Gene sequence analysis to determine phylogenetic relationships of *Bacillus cereus* group microorganisms[J]. Clin Microbiol, 2004, 42(8): 3711-3713.
- [4] 田静,计融,杨军,等. PCR方法快速检测食品中的金黄色葡萄球菌[J]. 卫生研究, 2007, 36(2): 183-186.
- [5] Iversen C, Forsytte SJ. Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, a pathogen associated with infant milk formula[J]. Food Sci Technol, 2003, 14: 443-454.
- [6] 赵红庆,苑锡铜,黄留玉. 多重PCR技术在病原检测中的应用[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(5): 863-865.
- [7] 许一平,成炜,陈福生. 多重PCR技术在食源性病原菌检测中的应用[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 355-359.

收稿日期: 2013-04-07; 修回日期: 2013-05-19

责任编辑: 方林; 英文编辑: 范新宇