

文章编号: 1006- 3110(2005)03- 0671- 02

中毒人员呕吐物敌鼠的快速检测

夏文斌, 陶赛辉

摘要: 目的 研究呕吐物中敌鼠的快速检测。方法 采用无水乙醇提取呕吐物中的敌鼠, 用三氯化铁反应定量。结果 检出限为 0.020 g/kg, 线性范围为: 0~ 2 mg/10 ml, 相关系数 $r = 0.9991$, 变异系数为 4.6%~ 8.1%, 回收率为 90%~ 105%。结论 此法准确、快速, 同时可适用于现场检测。

关键词: 呕吐物; 敌鼠; 三氯化铁反应法; 快速化学检测

中图分类号: R595

文献标识码: B

敌鼠为一种抗凝血杀鼠药, 其化学名为 2-(二苯基乙酰基) 茛- 1,3- 二酮。敌鼠中毒多见于不慎误食或自杀等意外伤害事件。对敌鼠中毒人员的抢救应争分夺秒, 所以快速检测中毒人员呕吐物中毒物, 对挽救中毒人员的生命具有十分重要的意义。本文建立了能在现场快速检测呕吐物中敌鼠的办法, 同时也适用于残留食物或污染食物中敌鼠的快速检测。此法准确、最低检出浓度为 0.020 g/kg, 对中毒事件快速检测具有较高的实用价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 酒石酸: 0.5% 三氯化铁乙醇溶液; 无水乙醇等试剂均为市售分析纯; 敌鼠标准使用液(1.0 g/L), 由省疾病预防控制中心提供。

作者单位: 湖南省宁乡县疾病预防控制中心(湖南 宁乡 410600)

作者简介: 夏文斌(1967-), 男, 湖南宁乡人, 学士, 主要从事卫生检验和疾病控制管理工作。

1.1.2 器材 吸管、10 ml 比色管、小漏斗、50 ml 锥形瓶、专用小安瓿, 内装酒石酸 100 mg。

1.2 方法

1.2.1 原理 在酸性介质中, 敌鼠或其钠盐能与三氯化铁发生反应, 生成砖红色物质, 颜色深浅与敌鼠含量成正比。与预先制好的标准色列比较可以目视比色定量, 亦可在 485 nm 波长下通过分光光度计比色定量。

1.2.2 样品前处理 取 10 g 样品(中毒人员呕吐物、残留食物或疑被污染的食物) 用无水硫酸钠脱水, 如含水较多可用无水硫酸钠与检材研磨成干沙状, 置于 50 ml 锥形瓶中, 加无水乙醇 20 ml, 振摇 15 min 后过滤, 取滤液备用。

1.2.3 样品测定 取 2 支 10 ml 具塞比色管, 于第 1 支管中加入 10 ml 无水乙醇, 该管作为空白管。于第 2 支管中加入 5 ml 样品处理液, 加无水乙醇至 10 ml 于各管中加入 0.5% 三氯化铁 1.0 ml, 加酒石酸 1 小管(100 mg)。摇匀放置 5 min 后, 比色定量。

法多数菌株存活时间不长, 而且不适于营养要求高的细菌^[3,4]; 脱纤维羊血冷冻保存法使用的羊血对一般实验室来说来源困难^[5]; 甘油原液保存法因甘油的脱水作用使其保存菌种效果不佳, 某些菌株容易死亡^[6,7]。结果表明, 我室用甘油- 生理盐水保存法保存菌种适用于一般细菌的保存, 同时也适用于链球菌、奈瑟氏菌、弧菌、真菌等需特殊方法保存的菌种, 适用范围广, 操作简便, 效果好, 无变异现象发生, 为微生物实验教学和有关科研工作的开展提供了保证, 对基层医院和科研单位也极具推广价值。甘油- 生理盐水保存液保存菌种优于甘油原液的原因可能是加入生理盐水适当降低了甘油的高渗作用, 且用肉汤培养物加入甘油- 生理盐水保存液中, 又适量增加了保存液的营养成分, 从而更好地保护了待保存的菌株^[6]。将链球菌、奈瑟氏菌和水弧菌在- 80 ℃冻存和 37 ℃水浴中快速解冻, 减少了冻结和解冻过程中形成冰晶对细菌产生损伤, 能更好地保存链球菌、奈瑟氏菌、弧菌等需特殊方法保存的细菌^[1]。经过我室反复进行实验, 此方法保存菌种最好采用幼龄肉汤培养

物, 采用 24 h 肉汤培养物冻存结果无明显差异, 但如果使用陈旧培养物或将固体培养物直接洗入保存液, 链球菌、奈瑟氏菌、弧菌等需特殊方法保存的细菌, 冻存 3 个月后细菌基本死亡, 这可能是因为陈旧培养物中细菌自身所产生的有害代谢产物过多, 使其在保存过程中容易死亡^[2]。

[参考文献]

- [1] 邱波, 姚斐. 低温对常见致病弧菌菌种保存的影响[J]. 职业与健康, 2003, 19(9): 53.
- [2] 中国科学院微生物研究所编著组. 菌种保藏手册[M]. 北京: 科学出版社, 1980. 1.
- [3] 微生物学及检验技术[M]. 广东: 人民出版社, 1979. 391.
- [4] 陈秀英. 菌种保存方法的比较[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(2): 231.
- [5] 尹洪萍, 蔡玲斐. 一种脱纤维血冷冻菌种保存法[J]. 杭州医学高等专科学校学报, 2003, 24(1): 25.
- [6] 尤敏, 管福来, 王萍, 等. 医学微生物教学用菌种保存方法的比较[J]. 潍坊医学院学报, 2004, 26(1): 27- 28.
- [7] 俞利平, 蔡玲斐. 介绍二种简便的菌种保存方法[J]. 中国农村医学杂志, 2004, 2(1): 68.

(收稿日期: 2005- 03- 11)

2 结果与讨论

2.1 最大吸收峰 图 1 为按实验方法绘制的 1.0 mg 敌鼠-反应物的吸收光谱。由图 1 曲线可看出敌鼠显色液在 485 nm 处呈现最大吸收峰。同时以无水乙醇调零,测定试剂空白吸光度为 0.021。本实验选用测定波长为 485 nm。

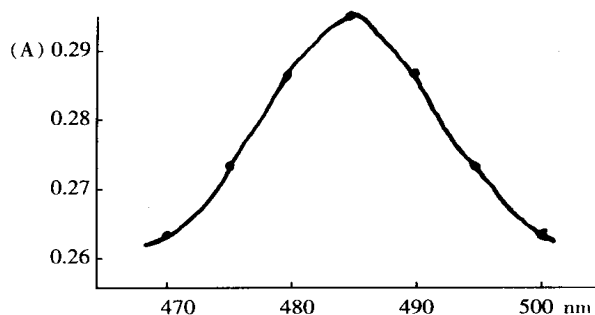


图 1 敌鼠吸收曲线图

2.2 标准曲线的制作 取 8 支 10 ml 具塞比色管,分别加入敌鼠标准溶液 0.0、0.05、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 ml,加无水乙醇至 10 ml,加 0.5% 三氯化铁溶液 1.0 ml,加酒石酸 100 mg,摇匀,放置 5 min 后,零管调零点,采用 1 cm 比色杯于 485 nm 波长比色定量,并绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 0.283X - 0.002$, 回归系数 $Y = 0.9991$, 在 0~2 mg/10 ml 之间线性相关系数良好。

2.3 三氯化铁的用量 图 2 为按实验方法绘制的 0.5 mg 敌鼠标准用不同量 0.5% 三氯化铁对应的吸收光谱。曲线表明三氯化铁用量在 0.8~2.0 ml 之间时,结果较为稳定一致,故本法将三氯化铁用量定为 1.0 ml。

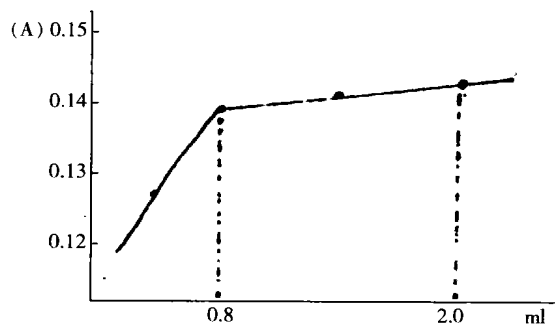


图 2 $FeCl_3$ 用量对测定的影响

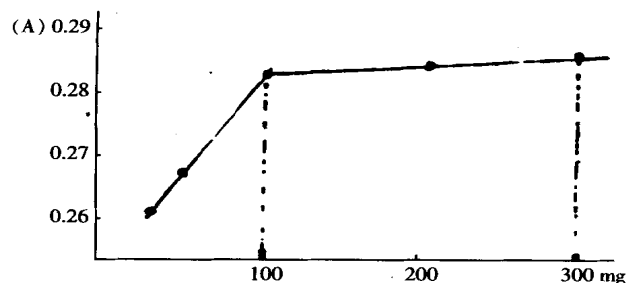


图 3 酒石酸用量对测定的影响

2.4 酒石酸用量试验 图 3 为按实验方法绘制的 1.0 mg 敌鼠标准加入不同量酒石酸对应的吸收光谱,曲线表明酒石酸用量

在 100~300 mg 时,结果基本稳定一致。故酒石酸实验用量取 100 mg。

2.5 标准比色系列的稳定性 按标准曲线的制作方法制作标准色列,并用石蜡将管口封好,放置 30、60、90、100 d 分别测定其吸光度。结果表明,当温度在 0℃~30℃ 之间变化时,标准色列可稳定 3 个月。

2.6 检出限 取 10 ml 无水乙醇加入 0.5% 三氯化铁 1.0 ml,加酒石酸 100 mg,摇匀,放置 5 min 后,采用 1 cm 比色杯,在 485 nm 波长下,于分光光度计上以空白调零,0.05 mg 标准对应的吸光度为 0.012,本方法的最低检测质量为 0.05 mg,最低检测浓度为 0.020 g/kg。

2.7 准确度试验 向同一份人工合成样品中分别添加 4 种敌鼠浓度的标准品,按操作步骤进行测定,分别计算其回收率。其回收率在 90%~105% 之间,符合分析方法的有关要求,测定结果准确可靠,见表 1。

表 1 样品测定结果及回收率实验(n=3)

本底值 (g/kg)	加入量 (g/kg)	测定总值 (g/kg)	相对标准偏差 (%)	回收率 (%)
0.50	0.20	0.68	3.8	90
	0.40	0.91	2.1	102
	0.60	1.09	1.5	98
	0.80	1.34	1.2	105

2.8 精密度试验 人工合成敌鼠浓度为 0.5、1.0、2.0 g/kg 的 3 个样品,充分混匀后,按操作步骤进行测定,每个浓度重复 8 次测定,其变异系数分别为 4.6%、2.5% 和 1.1%。0.5~2.0 g/kg 之间的相对标准偏差均小于 5%,该方法精密度好。

2.9 与其他方法比较 人工合成敌鼠浓度为 0.5、1.0、2.0 g/kg 的 3 个样品,分别应用本法与紫外分光光度法进行测定,每种样品均平行测定 3 次。测定值见表 2。

表 2 两种不同方法测定值比较表(g/kg)

编号	敌鼠含量	三氯化铁法	紫外分光光度法
1	0.50	0.505	0.479
		0.485	0.480
		0.490	0.502
2	1.0	0.990	0.920
		0.925	0.950
		1.02	0.98
3	2.0	2.05	1.97
		1.97	2.00
		1.86	1.94

对两种方法的测定结果进行配对 t 检验: $t_{\text{计算}} = 0.766$, $t_{0.05, 8} = 2.306$, $t_{\text{计算}} < t_{\text{理论}}$, $P > 0.05$ 。结果表明:本方法与常规的紫外分光光度法测定结果无显著性差异。可用于中毒人员呕吐物中敌鼠的快速检测,相对于紫外分光光度法^[2]样品处理简单、工作量减小。本方法在三氯化铁比色法^[2]的基础上,由硫酸改用酒石酸固体试剂,便于携带、安全、简化前处理过程,建立了中毒人员呕吐物中敌鼠的快速测定法。该方法准确、快速,适用于现场检测。

[参考文献]

- [1] 张涨富. 毒物快速系列分析手册[M]. 安徽:科学技术出版社, 1986. 306~327.
- [2] 叶世柏. 化学性食物中毒[M]. 河北:预防医学理化检验专业委员会, 2001. 155~160.

(收稿日期:2005-03-09)