

# 椰毒假单胞菌酵米面亚种增菌培养基的研究

王淑真 杨宝兰 周桂莲 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

**摘要** 银耳氯霉素增菌培养基 (银耳 1%, 氯霉素  $2.5 \mu\text{g/ml}$ ) 可使样品中的大部分杂菌受到抑制, 而有利于椰酵菌增殖, 提高了检出效果。从经该增菌液培养的 57 份玉米面样品, 有 34 份检出该菌, 检出阳性率为 59.6%, 而不加氯霉素的对照组在 38 份样品中仅有 1 份检出该菌, 阳性率为 2.6% 效果显著不同。

椰毒假单胞菌酵米面亚种 (简称椰酵假单胞菌) 是近几年来由酵米面和变质银耳引起食物中毒的新型细菌。对该菌的检验工作已逐渐引起人们的重视, 为推进该项工作的进展和提高培养质量, 我们研制了银耳增菌培养基, 此培养基可使大部分杂菌受到抑制而有利于该菌的繁殖, 从而提高了样品的检出率。现将结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验用菌株

椰酵假单胞菌 (血清型 O-III、O-IV、O-V、O-VI)、蜡样芽胞杆菌、巨大芽胞杆菌、苏云金芽胞杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、克雷白氏杆菌。

### 1.2 银耳 市售银耳研磨碎制成粉状, 备用。

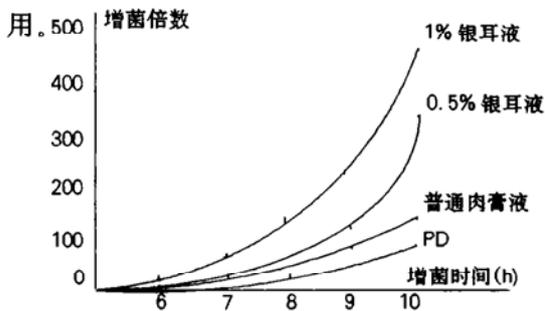


图1 椰酵假单胞菌在各培养基中的生长情况比较

1.3 抑菌剂 氯霉素、庆大霉素、新霉素、红霉素、四环素、卡那霉素、磺胺。

1.4 方法 将不同菌株培养 24 小时的菌苔用无菌蒸馏水分别制成统一菌液。平板计数, 同时各取 1ml (约 100 个) 菌液分别接入等量 (9ml) 的四种培养基 (0.5% 银耳液、1% 银耳液、普通肉膏液体培养基和马铃薯葡萄糖液体培养基 (PD))。相当于每 ml 增菌液中接入约 10 个椰酵假单胞菌, 经 37℃ 增菌培养后, 于 6—10 小时之内每小时平板计数一次, 按接种菌量 (个/ml) 计算出增菌倍数。比较各增菌液的增菌效果。

## 2 结果

2.1 椰酵假单胞菌在不同培养基中增菌效果的观察 (表 1、图 1)。

根据试验结果的平均数值和生长曲线 (表 1、图 1) 可看出 1% 银耳增菌液细菌增长速度较快, 观察 10 小时细菌数增长可达 472 倍。增菌效果显著高于其他几种增菌液。

在 1% 银耳液中能抑制蜡样芽胞杆菌、巨大芽胞杆菌、苏云金氏芽胞杆菌等革兰氏阳性杆菌生长, 但还有一些球菌和部分大肠菌群细菌仍能在此培养基上生长, 表 2。为

提高检出率必须减少此类菌的干扰,故选用了适当的抑菌剂,进行了抑菌试验。

## 2.2 抑菌剂的选择

为选择既能抑制杂菌生长又不影响椰酵假单胞菌生长的抑菌剂,用了多种抗菌药物进行药敏试验,初步筛选证明氯霉素对椰酵假单胞菌不敏感,又进一步测定了氯霉素的适宜浓度。

### 2.2.1 氯霉素抑菌浓度的测定见表3。

从上述结果看,氯霉素浓度 $10\mu\text{g/ml}$ 除克雷白氏菌外,能抑制其他类细菌。椰酵假单胞菌能够耐受 $10\mu\text{g/ml}$ 浓度。

### 2.2.2 玉米面影响氯霉素抑菌效果的观察

为进一步确定在含有样品的情况下加入氯霉素的有效浓度,将玉米面样品人为染菌,在1%银耳液100ml中加入1mg氯霉素( $10\mu\text{g/ml}$ ),接种污染椰酵假单胞菌的玉米面样品10克,同时用不加氯霉素的银耳液为对照,37℃17—18小时,银耳卵黄平板分离,观察对椰酵假单胞菌的检验结果和抑制杂菌的程度。从分离情况看,平板杂菌较多, $10\mu\text{g/ml}$ 氯霉素不能较好地抑制样品中的杂菌,样品影响了椰酵假单胞菌的检出。又用同样方法在银耳液中分别加入不同量氯霉素(10、20、 $30\mu\text{g/ml}$ )的培养基上做染菌试验观察(见表4)。

表1 椰酵假单胞菌在各培养基中的生长情况

菌株 (型)	增菌 时间 (小时)	试验 次数	平均增长倍数			
			对照培养基		银耳培养基	
			普通肉膏液	PD	0.5% 银耳液	1% 银耳液
IIIIVV	6	5	9.3	7.1	8.1	17.6
IIIIVV	7	5	17.6	10.3	17.5	29.8
IIIIVV	8	5	22.1	21.8	36.4	55.3
IIIIVV	9	5	47.0	36.4	63.6	119.2
IIIIVV	10	5	131.9	97.9	316.0	472.0

表2 不同细菌在银耳液中生长情况

增菌液	观察时间(小时)	蜡样芽胞	巨大芽胞	苏杆云金氏菌	枯草杆菌	金葡黄葡萄球菌	白球葡萄菌	大肠杆菌	克氏雷白菌
1% 银耳液	6	—	—	—	+	++	+	+	++
	8	—	—	—	++	+++	++	+++	++++
对照 (PD)	6	++	++	++	+	+	+	++	++
	8	++++	++++	++++	+++	++	+	++++	++++

+ : 生长      — : 不生长

从表4情况看,氯霉素含量 $20\mu\text{g/ml}$ 和 $30\mu\text{g/ml}$ 时能检出椰酵假单胞菌, $10\mu\text{g/ml}$ 与 $20\mu\text{g/ml}$ 浓度培养基增菌后在平板上分离的情况看,样品中的杂菌不能完全

被抑制。玉米面样品影响了氯霉素的浓度,在检验样品时氯霉素浓度采用 $20\sim 30\mu\text{g/ml}$ 为宜。

表3 氯霉素的抑菌浓度

细菌名称	株数	氯霉素 ( $\mu\text{g/ml}$ )					对照	
		40	20	10	5	2.5		1.25
克雷白氏菌	1	—	—	+	+	+	+	+
大肠杆菌	2	—	—	—	—	—	—	+
枯草杆菌	1	—	—	—	—	—	—	+
葡萄球菌	2	—	—	—	—	—	-1/+1	+
椰酵假单胞菌	6	—	—	-1/+5	+	+	+	+

+: 生长 —: 不生长

表4 不同浓度氯霉素银耳液对染菌样品的检验结果

菌株 (型)	染菌量 个/100ml	氯霉素 ( $\mu\text{g/ml}$ )			对照*
		10	20	30	
III	45	—	+	+	—
IV	65	—	+	+	—
III	280	+	+	+	—
VI	640	+	+	+	—

\* 不加氯霉素银耳液

### 2.3 样品检验效果

用 pH7.0 1% 银耳液 100ml, 加入 2.5mg 氯霉素 (临时加), 接样品 10 克, 37℃ 17—18 小时增菌, 银耳卵黄平板分离, 从 57 份玉米面样品中的 34 份中检出了可疑细菌, 经鉴定为椰酵假单胞菌, 检出率为 59.6%。在不加氯霉素的对照中, 杂菌生长过多, 只检出 1 株椰酵假单胞菌。从上述结果看银耳氯霉素增菌液, 适用于椰酵假单胞菌的检验, 是一个效果较好的增菌培养基。银耳氯霉素增菌液检出效果见表 5。

表5 银耳氯霉素增菌液检出效果

	玉米面检样数		检出率
	检样数	检出数	
银耳氯霉素增菌液	57	34	59.6
对照增菌液*	38	1	2.6

\* 不加氯霉素银耳液

### 3 讨论

3.1 用银耳氯霉素增菌液, 增菌的样品中检出率达 59.6%, 说明样品的污染率很高, 也是增菌效果较好的原因。在同样情况下不加氯霉素的对照组, 只检出 1 株椰酵假单胞菌。因经培养后产生许多泡沫, 样品浮起, 杂菌生长旺盛, 抑制了椰酵假单胞菌的生长。因此, 虽然样品严重污染椰酵假单胞菌, 也难以分离到该菌。

3.2 培养基中氯霉素浓度  $10\mu\text{g/ml}$  时, 在 100ml 增菌液中接入 10 克样品后会影响到椰酵假单胞菌的检出效果, 仍有部分杂菌生长, 氯霉素浓度过高对椰酵假单胞菌也有抑制作用, 故采用  $25\mu\text{g/ml}$  为宜。

### 4 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部发布. 食品卫生检验方法 (微生物部分) GB4789.1—4789.28—84
- 2 王淑真, 等: 椰酵假单胞菌酵米面亚种新鉴别培养基的研究, 中国食品卫生杂志, 1989,1(3) 10—12

## 中华预防医学会首届“杨森杯”优秀论文评选活动落下帷幕

中华预防医学会系列期刊首届“杨森杯”优秀论文颁奖大会 1993 年 12 月 28 日在京召开。中国科协常委、书记处刘超, 中华预防医学会会长何界生、西安中美合资杨森制药有限公司董事长郑鸿出席会议并讲话并颁奖。会上向 17 位获“杨森杯”奖的优秀论文作者颁发了奖杯、证书; 向 26 位获优秀论文奖作者及获“伯乐杯”奖的编辑部颁发了证书。

本刊阳传和等作者的“小麦中 T-2 毒素酶联免疫吸附测定” (1992 年第 4 卷第 1 期) 获“杨森杯”奖。程惠娟等作者的“试行宾馆、饭店卫生规范效果观察” (1992 年第 3 卷第 1 期) 和赖成民等作者的“广东省预防农药食物中毒的流行病学研究及综合预防效果” (1992 年第 4 卷第 1 期) 获优秀论文奖, 本编辑部荣获“伯乐奖”。

会上何界生会长高度评价了为了人民的健康辛勤工作在预防医学工作第一线的广大预防医学工作者, 并向热情支持人民健康事业的西安杨森制药有限公司致以深切的谢意。西安杨森制药有限公司的郑鸿董事长表示, 愿进一步与广大医务工作者携手, 推进人民健康事业的前进。 (李小芳 供稿)