

3 讨论 不同性状的液体食品(鲜牛奶、桔汁、酱油)通过瞬时消毒机均可达到满意的消毒效果,细菌杀灭率可达99.9%~99.99%。根据食品卫生标准规定的细菌总数,鲜奶中不得超过30 000cf μ /ml,果汁中不超过100cf μ /ml、酱油中不超过50 000cf μ /ml,从瞬时消毒后的效果来看,牛奶中残留菌数为18 214cf μ /ml,桔汁为8~82cf μ /ml,酱油为57~230cf μ /ml,均达食品卫生标准。

H. R. Kotilainen^[2]报导,处理紧急情况下手术器械的重力排气式瞬时灭菌器的监测,是用嗜热脂肪杆菌芽胞以提供灭菌周期合适的安全度。我们曾用嗜热脂肪杆菌芽胞作DRM—II型瞬时消毒机的指示剂,在132℃下该生物指示剂不能被杀灭。用于手术器械的灭菌与食品消毒有不同的要求,为

了避免加热处理过度,造成能源浪费和食品营养的破坏,我们认为作为液体食品的瞬时消毒指示剂,细菌繁殖体代表可在金黄色葡萄球菌或大肠杆菌中任选一种,芽胞指示菌以枯草芽胞杆菌为合适。

瞬时消毒升温迅速,降温急剧,受热时间控制在数秒钟之内即可有效的杀灭液体食品中的细菌达到食品卫生的标准,而且有稳定的杀菌效果,经瞬时处理后的食品保持原有的风味,基本不改变食品的营养成份。是目前较理想的液体食品消毒方法。

4 参考文献

- 1 Underwood W B. Textbook of Sterilization ed 2, Chicago R R. Dannelly and Sons Co 1942. 19—93
- 2 H. R. Kotilainen et al Infection Control An Evaluation of There Biological Indicator Systems in Flash Sterilization 1987. 8(8)311—316

一种微量快速的脲基质试验方法

唐细良 唐紫林 刘加吾 湖南省卫生防疫站 (410005)

脲基质试验为鉴定细菌的一项常规生化试验。而目前通用的方法^[1]耗时1~2天,个别甚至长达4—5天,且灵敏度欠佳。本着经济、快速、准确、简便的原则,我室对此项生化试验进行了较深入研究。

1 材料与方

1.1 菌株来源 从本站流行病科细菌室获得标准菌株24株。其中沙门氏菌属4株、志贺氏菌属2株、变形杆菌4株、非O1弧菌2株、大肠杆菌4株、腊样芽胞杆菌2

株、枸橼酸杆菌、肺炎克雷伯菌、耶尔森氏菌、水弧菌、产气杆菌、绿脓杆菌各1株。

1.2 仪器 温箱、玻璃平皿、吸管、试管、滤纸、酒精灯、接种环、高压消毒灭菌器。

1.3 培养基及试剂

蛋白胨(含有色氨酸)20g,氯化钠5g,琼脂15g,蒸馏水1L。

制法 将上述成份配制,校正pH7.2±0.1,分装小试管,每管约0.5ml,121℃高压灭菌15min。或于高压消毒灭菌后,冷却

至 55℃ 左右, 倾注平板。

靛基质试剂 将 5g 对二甲氨基苯甲醛溶解于 75ml 戊醇中。然后缓慢加入浓盐酸 25ml。

1.4 采用双盲对照实验方法, 先将标准株编号, 再由 2 人分别完成未知标准株的微量快速靛基质试验及标准对照试验。分别记录实验结果。

2 结果

2.1 微量快速法与标准法靛基质试验结果比较

微量快速靛基质试验又可分为平板法和试管法。前者适合于大批细菌鉴定, 后者用于单个细菌鉴定。

2.1.1 平板法 将平板等分为 10~15 个区, 用接种环挑取不同菌液分别点种于各区中央, 37℃ 培养 4—6h, 平板上可见薄层菌斑即可。挑取菌落或带菌落的培养基约绿豆大小, 置于直径约 1cm 大小的滤纸片中央, 滴加靛基质试剂 1 滴, 置于酒精灯上微加热烘烤, 挑取物或滤纸片立即呈红色者为阳性, 不变色者为阴性。

2.1.2 试管法 按严格无菌操作技术要求, 将待检菌接种环点种于培养基表面, 于 37℃ 培养 4—6h, 培养基表面可见薄层菌斑即可。挑取菌落或紧靠菌落的培养基约绿豆大小, 置于直径约 1cm 大小的滤纸片中央, 其余步骤同上述平板法。

2.1.3 标准靛基质试验法 每株菌均同时接种至 3 支靛基质试管中, 置于 37℃ 温箱中, 分别于 6、24、48h 取出, 加入靛基质试剂 0.5ml, 轻摇试管, 阳性者于试剂层呈深红色, 阴性者不变色, 介于二者之间为可疑。

由表 1 可知, 微量快速法较标准法靛基

质试验有以下优点。其一是时间明显缩短。微量快速法 4—6h 就能明确地判断结果, 而标准法一般需要 24h 才能判断结果。其次灵敏度高。个别菌株在某一时间里标准法只能判为结果可疑, 而微量快速法 4—6h 就能准确地判断出结果。其三, 微量快速法判断结果的准确性不低于标准法。

表 1 微量快速法与标准法靛基质试验结果比较

菌 株	标准法 (h)		
	微量快速法 4—6h	24h	48h
伤寒沙门氏菌	-/-	-/-	-/-
鼠伤寒沙门氏菌	-/-	-/-	-/-
波茨坦沙门氏菌	-/-	-/-	-/-
沙门氏菌 B	-/-	-/-	-/-
奇异变形杆菌 (I)	-/-	-/-	-/-
奇异变形杆菌 (II)	-/-	-/-	-/-
腊样芽胞杆菌 (I)	-/-	-/-	-/-
腊样芽胞杆菌 (II)	-/-	-/-	-/-
耶尔森氏菌	-/-	-/-	-/-
非 O1 弧菌 (内蒙)	-/-	-/-	-/-
绿脓杆菌	-/-	-/-	-/-
宋内氏痢疾杆菌	-/-	-/-	-/-
枸橼酸杆菌	-/-	-/-	-/-
肺炎克雷伯菌	-/-	-/-	-/-
产气杆菌	-/-	-/-	-/-
致病性大肠杆菌 (I)	+/-	+/+	+/+
致病性大肠杆菌 (II)	+/-	+/+	+/+
致病性大肠杆菌 (III)	+/-	+/+	+/+
非 O1 弧菌 (儿)	+/-	+/+	+/+
普通大肠杆菌	+/-	+/+	+/+
福氏痢疾杆菌	+/-	+/+	+/+
莫根氏变形杆菌	+/-	+/+	+/+
雷极氏变形杆菌	+/-	+/+	+/+
水弧菌	+/+	+/+	+/+

2.2 同一平板上靛基质阳性和阴性株混合点种结果

实验结果表明, 微量快速法中平板法与试管法靛基质试验结果完全一致, 4—6h 均能判断结果。当有大批待鉴定时, 平板法

可表现出明显的优越性。至于在同一平板上同时接种不同的细菌,就靛基质试验而言,结果有无相互干扰,请见表2。

表2 同一平板上靛基质试验阳性
和阴性株混合点种结果

两菌斑 距离 (mm)	37℃培养 时间 (h)	阴性株 [☆]		阳性株 [★]	
		次数 (+)	次数 (-)	次数 (+)	次数 (-)
5	6	10	0	10	0
5	24	10	0	10	0
10	48	10	0	10	0

注:☆为伤寒沙门氏杆菌 ★为致病性大肠杆菌(I)

由表2可知,在控制菌斑之间距离及培养时间的前提下,同一平板上同时点种靛基质阳性和阴性菌株,结果无相互干扰作用。

3 讨论

3.1 微量快速法较标准法靛基质试验时间明显缩短。微量快速法只需4—6h就能明确判断结果,而标准法一般需要24h才能显示出正确结果。“国标”〔1〕中规定此项生化试验的培养时间为1—2天,个别甚至需要4—5天。不难理解,细菌在37℃培养24h后加入试验试剂,亦不能避免假阴性的出现。而微量快速法中,细菌在37℃培养4—6h,一旦培养基表面形成肉眼可见的菌斑,此项试验结果就可以准确地判断,若控制细菌培养时间不超过24h,没有假阴性出现。

3.2 微量快速法较标准法靛基质试验灵敏度高。微量快速法系固体培养基,将细菌点种于培养基表面,存放于37℃环境中,细菌很快繁殖形成密集菌斑分解代谢产物,靛基质高浓度地分布于菌斑周围,越近其菌斑浓度越高。挑取含高浓度靛基质的培养物置于洁净干燥滤纸中央,滴加靛基质试剂,溶剂迅速被滤纸吸收扩散。靛基质、对二甲氨基苯甲醛的浓度从滤纸中心以同心圆分布,越近中央,浓度越高。置于酒精灯上微加热烘烤,可使溶剂挥发,进一步提高了靛基质与对二甲氨基苯甲醛的浓度,加快了二者生成红色化合物的反应速度。因此,微量快速法的灵敏度高于标准法。

3.3 微量快速法与标准法靛基质试验结果完全相符。就24株标准株而言,两种方法的最终结果完全一致。这是因为两种试验方法的原理完全相同的缘故。

3.4 微量快速法中平板法与试管法都具有上述三个优点。平板法尤适合于大批菌的鉴定,能节省较多的人力。而试管法适合于少量细菌的鉴定,经济效益更佳。

4 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部·食品微生物学检验染色法、培养基和试剂, GB4789.28—84. 1985—04—01