

为较适宜的模拟条件,均可达到 80% 的损伤率。本实验研究克服了以往进行沙门氏菌检验研究时无损伤菌模型的情况下做损伤菌实验的盲目性。为沙门氏菌检验提供了科学的方法,也为食品微生物检验箱进

行沙门氏损伤菌检验提供了合理方法。

4 参考文献

- 1 中华人民共和国,食品卫生学检验方法(微生物学部分) GB 4789.4—84. 1985—04—01

食品中李斯特氏菌检验方法的比较及探讨

傅 萍 李志刚 白竞玉 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

李斯特氏菌是近十几年来报道较多的病原菌之一,由该菌引起的人畜共患性疾病已成为全球性疾病,对人主要是脑膜炎、菌血症、孕妇流产等,死亡率可达 30%~70%。^[4]李斯特氏菌在自然界分布广泛,可污染多种食品。WHO 1988 年的调查结果为:30% 以上的肉及其制品、15% 的家禽、5%~15% 的奶制品、4%~8% 的水产品被污染。^[5]据报道,欧美国家由李斯特氏菌引起的食物中毒不断发生,发病率也日渐上升。WHO 和

54004(2型)、54007(46型) 卫生部药品生物制品检定所提供。

金黄色葡萄球菌 本室保存菌株。

马红球菌(R. equi) 中丹培训中心赠送。

样品 采自北京市各副食店新鲜猪肉末和双桥奶牛场的生牛奶。

培养基

含 0.6% 酵母浸膏的胰酪胨大豆肉汤(TSB-YE)及琼脂(TSA-YE)^[1]

EB 增菌肉汤^[1]

食源性李斯特氏菌病在我国传播。国外从食品中检验李斯特氏菌的方法通常采用 EB 法和 LB 法,我们通过对 73 份样品中李斯特氏菌的检验,比较了此 2 种方法,实验结果说明 LB 法比 EB 法的检出率高。建议国家标准方法以 LB 法为依据。

1 材料与方

1.1 材料

单核细胞增生性李斯特氏菌标准菌株

其它实验用培养基参照 GB 4789.28 实验动物

昆明种小白鼠,16~18g(雌雄均有) 中国医学科学院实验动物所提供。

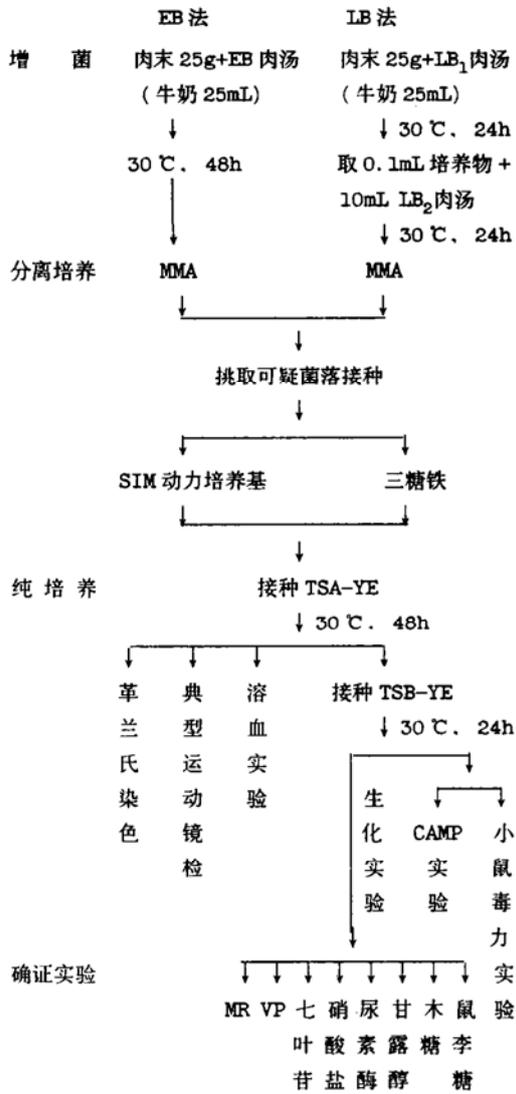
1.2 方法

1.2.1 染菌实验 比较 EB 法和 LB 法的最低检出率。将标准菌株 54007 号的菌液稀释成 6 种浓度(3×10^{-1} 、 3×10^0 、 3×10^1 、 3×10^2 、 3×10^3 、 3×10^4 CFU/mL),计数各浓度每毫升的菌落数。

每个浓度各取 1mL 与 0.5g 样品混合、分别加入 EB、LB 肉汤中，直接在 MMA 上分离、经 30℃、48h 增菌后再分离。

1.2.2 EB 法主要参考 FDA 法^{〔1〕}

LB 法主要参考丹麦法^{〔2〕}



2 结果

2.1 染菌实验结果 (见表 1)

表 1 染菌实验结果

标准菌液 CFU/mL	EB				LB			
	增菌 0h		增菌 48h		增菌 0h		增菌 48h	
	李斯特氏菌	杂菌	李斯特氏菌	杂菌	李斯特氏菌	杂菌	李斯特氏菌	杂菌
3×10^{-1}	-	+++	-	++++	-	+++	-	++++
3	-	+++	+++	++++	-	+++	+++	++++
3×10	-	+++	+++	++++	-	+++	+++	++++
3×10^2	-	+++	+++	++++	-	+++	+++	++++
3×10^3	-	+++	+++	++++	-	+++	+++	++++
3×10^4	+	+++	+++	++++	+	+++	+++	++++

注: - 未检出 + 1~10 个菌落 +++ 100~300 个菌落
++++ 大于 300 个菌落

从表 1 中看出，当样品中李斯特氏菌浓度为 $3 \sim 3 \times 10^3$ CFU/mL 时，不能直接检出，当其浓度为 3×10^4 CFU/mL 时可直接检出。当其浓度为 3 CFU/mL 时，用 EB 和 LB 肉汤增菌后能检出，低于此浓度不能检出。两种方法 1 次增菌效果一致。

2.2 EB 和 LB 法检验样品中的李斯特氏菌 (见表 2)

表 2 样品中李斯特氏菌的检出情况

方法	样品数	EB		LB	
		阳性	检出率	阳性	检出率
猪肉末	63	5	7.9	14	22.2
生牛奶	10	0	0	0	0
总计	73	5	6.8	14	19.2

表 2 结果说明，LB 法的检出率高于 EB 法。两种方法除了部分培养基成份有差别外，LB 采用 2 次增菌效果优于 1 次增菌的 EB 法，从而提高了检出率。

2.3 从样品中分离的李斯特氏菌的鉴定见表 3

表3 样品中分离的李斯特氏菌株鉴定

编号	SIM	典 型 运 动	MR	VP	硝 酸 盐	尿 素 酶	七 叶 苷	糖发酵			CAMP实验			分 离 株 数	
								甘 露 醇	木 糖	鼠 李 糖	溶 血 实 验	金 葡 黄 色 球 菌	马 红 球 菌		小 鼠 试 毒 力 验
A	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	1
B	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+/-	-	-	-	-	12
C	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	1
D	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	4
E	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	4
54007	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	

注：“+”阳性 “-”阴性 “+/-” 11株阳性、1株阴性。

从19份阳性样品中分离出了22株李斯特氏菌；在TSA-YE平板上均生长为蓝灰色菌落；革兰氏染色为阳性球杆菌；典型运动为轻微旋转或翻滚状；在SIM半固体里均可见伞状（或呈弯月牙形），其中B组中2株和E组中2株出现双伞状。

表3的溶血实验中，仅A组产生窄小的β型透明溶血环；在协同溶血实验（CAMP）中，A组出现协同溶血现象，即在于金黄色葡萄球菌相近处的溶血现象有所增强，但效果不明显，54007的协同溶血现象也不明显。

根据表3中各项反应，A组分离株鉴定为单核细胞增生性李斯特氏菌（*L. monocytogenes*）；B组鉴定为英诺克氏李斯特氏菌（*L. innocua*）；C组为威尔斯李斯特氏菌（*L. welshimeri*）；D组为格氏李斯特氏菌（*L. grayi*）；E组为默氏李斯特氏菌（*L. murrayi*）。

3 讨论

3.1 EB法和LB法的检出率有差别，2者的培养基成份及增菌主要有区别见表

4。

表4 EB法和LB法的比较

培养基成份	g	
	EB	LB
氯化钠	5	20
七叶苷	-	1
甘氨酸	10	-
增菌次数	1	2

注：“-”为无

3.2 据文献报导李斯特氏菌在SIM动力培养基中，30℃、2~5d出现伞状或半月牙形，实验用2种半固体（SIM和普通半固体）分离株和标准株在上述2种半固体上均出现伞状（有的出现双伞状）或半月牙形，说明普通半固体也能观察该菌的动力现象。

3.3 在分离培养基MMA中未加放线菌酮，因为该试剂主要起到抑制霉菌的作用，经实验在3~4d内分离培养基不易生长霉菌。

3.4 该菌菌落在MMA上通过斜射光线观察为蓝色或蓝灰色，由于菌落不典型，观察时较困难，先将可疑菌落接种SIM和三

糖铁上, 结合此 2 项反应, 再作一系列生化实验, 可提高挑取菌落的准确性。

4 参考文献

1 Joseph Lovtt, et al. FDA Bacteriological Analytical Manual. 1988, Supplement (9/87) Second Printing (2/89) 29.01 ~ 32

2 中丹培训班学习材料. 李斯特氏菌的分离 1991; 3
3 中华人民共和国卫生部. 食品卫生检验方法微生物学部分. GB 4789—84. 1985—04—01
4 Schlech, w. f, t al. Epidemic Listeriosis—evidence for Transmission by Food. N. Engl. J. Med. 1983, 308: 203 ~ 206
5 Foodborne Listeriosis Report of a WHO Informal Working Group. Geneva: 1988

食品中有机锗 (Ge_{132}) 的测定方法研究

刘师诚 杨永红 北京市卫生防疫站 (100013)

有机锗 (Ge_{132}) 能增强人体免疫功能且毒性较低, 近年来被广泛添加于各类食品中。无机锗 (GeO_2) 则毒性较高, 长期食用会中毒, 因此对食品中锗进行形态分析十分重要。目前, 我国食品中锗的测定方法大多采用测定其总量, 尚不能对其形态进行分离测定。我们参照板野一臣^[1]的方法, 采用离子柱层析对无机锗和有机锗进行分离、测定, 并运用于多种食品的检测, 取得较好结果, 现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 试剂及仪器

无机锗标准液 称取 GeO_2 (含量 99.999%) 0.144g 用 0.1mol/L NaOH 溶液 10mL 加温溶解, 再加入 0.1mol/L HCl 溶液 10mL 进行中和, 加水稀释至 100mL。此溶液每 mL 含 1.00mg Ge。临用时用水配制成 1.00 μ g Ge/mL。

有机锗 (Ge_{132}) 标准液 称取有机锗 (Ge_{132} 含量 99.99%) 0.234g, 用 0.1mol/L NaOH 溶液 10mL 加温溶解, 加入 0.1mol/L HCl 溶液 10mL, 并用水稀释

至 100mL, 此溶液浓度为 1.00mg Ge/mL。临用时用水配制成浓度为 1.00 μ g Ge/mL。溶液 (若结果乘 2.34 则为有机锗 Ge_{132} 量)。

苯茚酮溶液 称取苯茚酮 60mg 用含 8mL HCl 的乙醇溶解并稀释至 100mL。

阳离子交换树脂制备 取约 20g Amberlite CG-120I 树脂, 经乙醇、水漂洗后, 装交换柱 (1cm \times 25cm) 用 3mol/L HCl 溶液过柱, 并用水淋洗至 pH4 左右, 使其转为 (H^+) 型备用。

阴离子交换树脂柱制备 取约 20g 717[#] 强碱性阴离子树脂, 经乙醇、水漂洗后装交换柱 (1cm \times 30cm), 先用 3mol/L NaOH 溶液淋洗, 后用水淋洗至 pH8 左右, 再用 3mol/L 醋酸溶液淋洗, 并用水淋洗至 pH4 左右, 使其转换为 (CH_3COO^-) 型备用。

724—微机型分光光度计 上海光学仪器厂

1.2 方法

样品处理

液体样品 取样品 10mL (约含 0.5 ~ 10mg Ge) 直接通过阴离子交换树