

3 讨论

3.1 饮用天然矿泉水检验方法^{〔1〕}对矿泉水菌落总数测定采用 24h 结果。由于矿泉水存在一群 G⁻小杆菌,在普通营养琼脂上迟缓发育,24h 培养结果不能真正反应矿泉水被细菌污染的程度。建议矿泉水中细菌总数测定采用 48h 结果。

3.2 矿泉水中菌落总数主要作为矿泉水被细菌污染的指标。^{〔1~3〕}国家颁发的食品卫生标准对各类食品的菌落总数测定,都是根据用普通营养琼脂进行需氧培养所得的结果确定的,培养温度和时间也有所不同。^{〔4〕}由于矿泉水生产工艺比较特殊,水生细胞,如容易污染矿泉水的革兰氏阴性非发酵菌,用常规检验方法却不能检测出来。上海某大学在启用沙滤水前作例行水质检验时曾发现过大量铜绿假单胞菌。由于沙滤水过滤装置可积聚有机物,水中的细菌得以生长,典型的是水生性细菌,特别是假单胞菌属等。^{〔6〕}目前矿泉水厂家多采用臭氧和紫外线消毒,臭氧在水中半衰期为 12~30min,无持续杀菌力。^{〔5〕}非发酵菌容易在其中繁殖。

3.3 革兰氏阴性非发酵菌中某些菌属如假单胞菌属为典型的水生性细菌。^{〔6〕}这群细菌在自然界分布较广,营养要求不高。矿泉水中存在的 G⁻非发酵菌群在普

通营养琼脂上迟缓发育。所以矿泉水中菌落总数测定应包括检出 G⁻非发酵菌。建议有关部门在制定矿泉水卫生标准时,应对矿泉水中的 G⁻非发酵菌引起足够的重视。

4.4 矿泉水中存在的 G⁻非发酵菌在普通营养琼脂上迟缓发育,可能与营养条件,培养温度及时间等因素有关。这群细菌适合何种培养条件,它是通过什么途径污染矿泉水的,以及这群细菌为非发酵菌中哪一菌属,耐紫外线和臭氧程度如何,这些问题有待我们进一步研究。

4 参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部、地质矿产部、轻工业部. 饮用天然矿泉水, GB 8537—87. 1988-08-01
- 2 中华人民共和国卫生部、地质矿产部、饮用天然矿泉水检验方法, GB 8538.61—8538.63—87, 1988—08—01
- 3 中华人民共和国卫生部、食品卫生微生物检验方法, GB 4789.2—84; 1984-05-01
- 4 孟昭赫. 食品卫生检验方法注解(微生物学部分). 北京: 人民卫生出版社, 1989, 32~37
- 5 薛广波, 等. 实用消毒学. 北京: 解放军出版社, 1986: 468~470, 477~479
- 6 黄志明. 稳定性二氧化氯应用手册. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1993: 10~11
- 7 谢少文, 等. 实验细菌学. 山东省医学科学院, 1982: 266~268

血浆凝固酶实验条件的探索

徐玉珍 陆爱英
俞福州 程桂彰

湖州市卫生防疫站 (313000)

血浆凝固酶试验是一项古老、经典的细菌学生化试验,被 Bergor 手册列为葡萄球菌属分类的主要方法。临床上认为有

致病力的葡萄球菌血浆凝固酶试验多为阳性,^{〔1〕}在食品中葡萄球菌检验中,血浆凝固酶试验是鉴定金黄色葡萄球菌的三个

依据之一,^{〔2〕}故血浆凝固酶试验是卫生及医学检验常规检验项目。

在食品中葡萄球菌检验的国家标准方法中,对血浆凝固酶试验中菌液的增菌时间规定为24h,难以短时间内获得检验结果,不利于实施食品卫生监督,故作者对血浆凝固酶试验中菌液的增菌时间及血浆使用浓度等实验条件进行探索。

1 材料与方法

1.1 菌株来源 血浆凝固酶阳性金黄色葡萄球菌13株、ATCC 25923 1株,其余12株自食品中分离得到,并按GB 食品卫生微生物检验——葡萄球菌检验鉴定确认。

血浆凝固酶试验阴性葡萄球菌亦自食品中分离并经鉴定而得。(阴性对照菌株)

1.2 血浆制备 取3.8%柠檬酸钠1份加入人全血4份混匀,离心沉淀,取上清液(血浆),将数份血浆混合后供试验用。

1.3 肉浸液肉汤 用新鲜牛肉按常规制作,pH7.4~7.6,121℃15min灭菌备用。

1.4 菌株及菌液制备 将上述14株菌株分别用肉浸液36℃±1℃增菌18~24h后分离到血平板上,36℃±1℃培养18~24h。选取典型菌落接种于普通琼脂斜面上备用。每支普通斜面上的菌种用接种针接种4支肉浸液培养基中,在36℃±1℃分别增菌6,12,18,24h,作为实验用菌液。

1.5 稀释血浆制备 分别取混合血浆1份各加入生理盐水1份、2份、4份混匀,以上已稀释血浆再加入正式试验用等量菌液即成1:2、1:4、1:8稀释血

浆。

1.6 血浆凝固酶试验 取1:2、1:4、1:8稀释血浆各0.5mL分别注入56支小试管中,再加上已增菌6、12、18、24h的14株菌株的菌液(包括阴性对照菌株)各0.5mL,混合后置于36℃±1℃水浴箱中,每30min观察1次,观察6h,如呈现凝块即为血浆凝固酶试验阳性。

另取盛有0.5mL肉浸液小试管,参比以上方法加入不同稀释度血浆中作肉浸液肉汤对照。

2 结果

2.1 阴性对照菌株与不同稀释度血浆全部阴性。肉浸液与不同稀释度血浆对照管全部阴性。

2.2 13株试验菌株(包括ATCC 25923株)的6、12、18、24h增菌液与1:2、1:4、1:8 3种不同稀释度血浆所作血浆凝固酶试验全部在6h内出现阳性。(表1)

13株金黄色葡萄球菌不同增菌 表1 时间和血浆浓度凝固酶试验结果			
不同增菌 时间(h)	不同血浆浓度阳性菌株数		
	1:2	1:4	1:8
6	13	13	13
12	13	13	13
18	13	13	13
24	13	13	13

2.3 不同增菌时间菌液出现阳性时间观察见表2、3、4、5。

3 讨论

3.1 从表1可以看出,葡萄球菌血浆凝固酶试验所用菌液,只要增菌6h以上即可得到与增菌24h相同的结果。有

人〔3〕甚至不进行增菌,直接挑取菌落混悬于稀释血浆中,作成浓悬液作凝固酶试验,亦取得同样效果,所以认为在必须极早报告检验结果的情况下,缩短增菌时间是可行的,可提前 18h 作出检验结果。

13 株金葡菌 6h 增菌液

表 2 凝固酶阳性出现时间观察

观察时间 h	不同血浆浓度阳性菌株数		
	1:2	1:4	1:8
0.5	5	7	9
1	9	11	12
1.5	13	13	13
6	13	13	13

13 株金葡菌 12h 增菌液

表 3 凝固酶阳性出现时间观察

观察时间 h	不同血浆浓度阳性菌株数		
	1:2	1:4	1:8
0.5	7	7	9
1	9	12	12
1.5	13	13	13
6	13	13	13

13 株金葡菌 18h 增菌液

表 4 凝固酶阳性出现时间观察

观察时间 h	不同血浆浓度阳性菌株数		
	1:2	1:4	1:8
0.5	9	13	10
1	11	13	12
1.5	13	13	13
6	13	13	13

3.2 从表 2、3、4、5 中可以看到,不论增菌时间长短或血浆浓度如何,凝固酶试

验从 30min 后应连续观察 6h,不宜因有的菌已阳性而提早结束观察,使凝固得慢的阳性菌误报阴性菌。增菌时间短时尤应注意。

13 株金葡菌 24h 增菌液

表 5 凝固酶阳性出现时间观察

观察时间 h	不同血浆浓度阳性菌株数		
	1:2	1:4	1:8
0.5	12	11	11
1	13	12	12
1.5	13	13	13
6	13	13	13

3.3 凝固酶试验所用血浆以免血浆最好。金黄色葡萄球菌的血球凝固酶有抗原性,〔4〕有些人的血清中,尤其是慢性葡萄球菌感染者,可查到凝固酶抗体而影响凝固酶试验结果,所以使用人血浆时宜采用多人混合血浆,以克服以上缺陷,从表 1 可见,血浆 1:2、1:4、1:8 浓度不影响实验结果,故在血浆紧张状况下可稀释到 1:8 再用,以节省血浆。

4 参考文献

- 1 李仲兴,等.临床细菌学.北京:人民卫生出版社,1986
- 2 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 4789.1~4789.28-84.1984-12-25
- 3 何晓青,等.卫生防疫细菌检验.北京:新华出版社,1989
- 4 余波.医学微生物学.北京:人民卫生出版社,1983

(上接第 23 页)

- 9 黄幸纤、陈星若主编.环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法.浙江:浙江科学技术出版社,1985,2
- 10 高山友子.多价不饱和脂肪酸与亚硝酸反应生成物的变异活性.静冈县立大学药学院卫生化学修士论文,1992

- 11 句海松.抗氧化剂研究进展.中国药学杂志,1990,25(12):712~715
- 12 K,N,Shashikanth and Akiyosa hosono Agric. Biol. Chem. 1986,50(11):47