

- Lucidum* (Polyporaceae): Structures of *Ganoderma* acid U-Z. J Chem Research, 1983, 299
- 43 Hiroshi Kohda, et al. The biologically active constituents of *Ganoderma Lucidum* (Fr). Karst Chem Pharm Bull, 1985, 33(4): 1367
 - 44 Morigiwa, et al. Angiotensin converting enzyme - inhibitory triterpenes from *Ganoderma Lucidum*. Chem Pharm Bull, 1986, 34(7): 3025~3028
 - 45 Yasuo komoda, et al. Ganoderic acid and its derivatives as cholesterol synthesis inhibitors. Chem Pharm Bull, 1989, 37(2): 531~533
 - 46 Shizuko Tanaka, et al. Complete amino acid sequence of an immunocholalatory protein, Ling Zhi - 8(LZ - 8). J Biol Chem, 1989, 264(28): 16372
 - 47 Kohsuke Kino, et al. Isolation and characterization of a new immunomodulatory protein, Ling Zhi - 8(LZ - 8), from *Ganoderma Lucidum*. J Biol Chem, 1989, 264(1): 472~478
 - 48 Mizuno, et al. Mineral composition and germanium contents of several medicinal mushrooms. CA, 1989, 111: 28661a
 - 49 顾东蕾, 等. 有机锗抗癌药研究的进展. 国外药理学合成药, 生化药, 制剂分册, 1988, 9(1): 4
 - 50 Fujio Suzuki. Prevention of suppressed gamman production in thermally injured mice by administration of A novel organogermanium compound Ge - 132. J Interferon Res, 1984, 4(2): 223~233
 - 51 周赓超摘编自《化学与生物》. 灵芝的药效和食效. 生命的化学, 1987, 7(1): 17
 - 52 Kawamata Shuichi, et al. Determination of Ge in food by acid digestion under reflux and coprecipitation with ferric hydroxide. (Jap) CA 1988, 108: 54520m
 - 53 刘耕陶, 等. 灵芝的药理研究, 药学术论文摘要. 1978, 191~192
 - 54 Akira Shimizu, et al. Isolation of an inhibitor of platelet aggregation from a fungus, *Ganoderma Lucidum*. Chem Pharm Bull, 1985, 33(7): 3012~3015
 - 55 湖南医药工业研究所 201 组. 灵芝有效成分灵芝生物碱的研究. 中草药通讯, 1979, 6: 1
 - 56 Hseu Ruey Shyang, et al. (Tai wan) Application of hydrolytic enzyme in *Ganoderma* species. Chung Kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih, 1986, 24(2): 103

气单胞菌分离与鉴定方法研究概况(综述)

陈稚峰 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

气单胞菌(*Aeromonas*)是革兰氏阴性杆状细菌。Bergey 氏细菌鉴定手册(第 9 版)将此菌属归于弧菌科。本属包括四个种:嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)、豚鼠气单胞菌(*A. caviae*)、温和气单胞菌(*A. sobria*)和杀鲑气单胞菌(*A. salmonicida*)。这种分类方法为 WHO 质量评定协作中心接受。本属细菌是常见的腐物寄生菌,普遍存在于水生环境中,是多种动物的重要病原菌。近年来,世界各地临床报道表明该属某些种能引起人类急性肠胃炎、败血症及伤口感染等多种疾病,且临床病例呈上升趋势。气单胞菌已成为引人注目的人兽共患病新病原,受到医学界和水产部门的高度重视。^[1]

目前,对于气单胞菌的分离与鉴定方法国外研究得比较深入,检验方法不断改进,国内近年来对此也开展了一些工作。现将气单胞菌的分离、鉴定方法研究状况介绍如下。

1 气单胞菌的分离、鉴定用培养基

1.1 肠道培养基

由于临床和卫生检验中最常使用肠道培养基,了解这类培养基对于气单胞菌的分离效果如何就成了很有意义的工作。Desmond E 等人^[2]于 1985 年比较了 8 种肠道琼脂培养基对嗜温气单胞菌的分离效果,所研究的培养基包括亮绿琼脂(BG)、亚硫酸铋琼脂(BS)、去氧胆酸钠琼脂(DC)、Hektoen 肠道琼脂(HE)、沙门氏—志贺氏琼脂(SS)、麦康凯琼脂(MAc)、木糖赖氨酸去氧胆酸钠琼脂(XLD)、伊红美兰琼脂(EMB)。结果表明气单胞菌在不同的培养基上分离效果差异很大。在供试肠道琼脂中,所有的被试菌株都能生长的只有 DC 和 XLD。DC 对气单胞菌的抑制性最小,其上生长的菌落可达血琼脂的 90% 以上。BG 对气单胞菌的抑制最强,豚鼠气单胞菌和温和气单胞菌在 BG 上不能生长,其他几种肠道培养基分离气单胞菌效果也不理想。

对于肠道培养基作为气单胞菌初筛培养基分离

效果不佳的原因, Kay 等人^[3]提出如下解释: 气单胞菌发酵糖类的能力有变化, 以发酵特征为基础选择可疑菌时容易造成疏漏; 某些糖类的代谢产物对气单胞菌生长可能有抑制作用; 培养基中糖类发酵的酸性产物可使氧化酶试验造成假阴性; 肠道琼脂中的选择性药物对气单胞菌具抑制作用。

1.2 选择性培养基

为了提高气单胞菌的分离检出率, 各国学者设计了多种选择性培养基, 其中有一定效果的有以下几种。

DNA 酶—甲 苯 胺 蓝—氨 苄 青 霉 素 琼 脂 (DNTA)^[4]

Mishra 等人研究结果表明, 气单胞菌在此培养基上菌落具脱色环, 这种琼脂对肠杆菌科具明显抑制效果, 该琼脂对气单胞菌的分辨率一般, 且需培养 48 小时气单胞菌才能表现出特征性。

pril—木糖—氨苄青霉素琼脂(ROG)^[5]

该培养基主要用于分离粪便中的亲水气单胞菌。其中氨苄青霉素可抑制大多数肠杆菌科细菌, pril 是抑制氨去污剂, 由烷基硫酸盐、烷基—苯甲酸磺酸盐等组成, 可抑制变形杆菌, 亲水气单胞菌不发酵木糖。此琼脂分离效果较好。

Rimler—shotts 氏亲水气单胞菌分离培养基(RS 琼脂)^[5]

在 RS 琼脂上, 可见四种特征性菌落, 其中仅黄色菌落通常为亲水气单胞菌。使用该培养基可大大提高亲水气单胞菌的检出率。

氨苄青霉素琼脂(ASBA 琼脂)^[6]

气单胞菌在 ASBA 上生长, 菌落具有 β —溶血环, ASBA 中氨苄青霉素对肠杆菌细菌有很好的抑制效果, 用于分离粪便中的气单胞菌效果最令人满意, S. Mishra 比较了每升含 10mg 氨苄青霉素的羊血琼脂(ASBA10)和每升含 30mg 氨苄青霉素的羊血琼脂(ASBA30)。结果表明, ASBA30 分离粪便中气单胞菌的能力比 ASBA10 更好。

Butzler 弯曲菌选择琼脂(BCSA)^[7]

Misra 等人报道, 在用多种选择性培养基对临床粪便培养过筛检测中, 经常发现在 BCSA 上可长出若干大而灰白的溶血菌落, 经鉴定为气单胞菌, 经试验表明 BCSA 对气单胞菌分离检出率与 ASBA30 无显著差异。所以 Misra 认为可以用 BCSA 代替 ASBA30 用于气单胞菌的初筛培养基。

胰酪胨大豆血琼脂(TSBA)^[5]

TSBA 是在胰酪胨大豆琼脂(TSA)中加入血液或血清而成的, 对杀鲑气单胞菌的分离效果很好。此外, 如果以氯化血红素代替血液, 也能取得与 TSBA 相似的分离效果。

Robinson^[6]对 ASBA、MAc 及 ROG 等分离气单胞菌的效果进行了评价, 他认为 ASBA 分离气单胞菌效果最好。Mishra^[4]比较了 ASBA10、ASBA30、DNTA 等对人畜粪便中气单胞菌的分离效果, 结果以 ASBA30 为最佳。他的工作还表明, 如果将 ASBA30 与 DNTA 联合使用, 则试样中 98% 的气单胞菌菌株均可分离出来。

鲁培基^[8]、徐新强^[9]等人在实际工作中采用 ASBA 分离气单胞菌, 都取得了较好的效果。

1.3 鉴定、鉴别培养基^[5]

营养试验培养基 M—70

用于鉴定与研究气单胞菌利用碳及其能量主要来源。

半胱氨酸铁琼脂

以半胱氨酸为硫的来源测试气单胞菌形成 H_2S 的能力。

弹性硬蛋白琼脂

用以检测气单胞菌产生弹性硬蛋白酶的能力, 气单胞菌属常为阳性反应。气单胞菌菌落周围有透明环, 表示弹性蛋白被水解。

2 气单胞菌的生化鉴定

2.1 属间生化鉴定

气单胞菌与肠杆菌科、假单胞菌属及弧菌属在性状上有很多相似之处, 若未做氧化酶试验就很容易被误认为肠杆菌科。另外, 由于这类细菌引起的胃肠炎极似其他肠道病原菌, 所以如何通过生化鉴定准确地将气单胞菌属与其他菌群区分开, 在检验工作中是非常重要的。

据 Schubert^[10]的研究, 可将氧化酶试验作为鉴定气单胞菌属的生化初筛方法, 即在琼脂平板菌落上滴 1~2 滴氧化酶试剂, 气单胞菌及弧菌变成黑紫色, 而肠杆菌科细菌无颜色变化。用于临床常规的氧化酶试验应采用非选择性琼脂培养基。在此基础上, 进行其他生化反应将气单胞菌与其他相似菌进行鉴别, 结果见表 1。

2.2 属内种间的生化鉴定

Douglas W 等人^[11]用 APIZYM 系统对亲水群气单胞菌的生化特性进行了研究, 于泉等^[12]试验了用

糖类代谢、氮化物代谢、生理特性、单一碳源利用、胞外酶产生等 5 类共 56 项生化反应对 28 株气单胞菌进行鉴别分类,结果表明其中的典型反应包括动力、37℃ 营养肉汤中生长、七叶苷水解、水杨素发酵等。

Altwegg M 等^[13] 试验用 API 20E、API 50E、APE ATB32GN 等系统对气单胞菌的种间生化鉴定进行了研究,也得出了一些典型的生化反应。对于气单胞菌种的鉴别有意义的生化反应如表 2。

表 1 气单胞菌属与相似菌的鉴别

试 验	气单胞菌属	弧菌属	邻单胞菌属	假单胞菌属	肠杆菌科
氧 化 酶	+	+	+	+	—
明 胶 酶	+	+	—	+	d
0 - F 试 验	F	F	F	O	F
葡萄糖产气	±	—	—	—	+
甘 露 醇	+	+	—	NC	d
肌 醇	—	—	+	NC	d
鸟 氨 酸	—	+	+	NC	d
精 氨 酸	+	— ⁽¹⁾	+	+	d
赖 氨 酸	d	+	+	NC	d
0/129 抑制	—	+	±	—	—
粘 丝 试 验	—	+	—	—	—

+ :1~2 天内,90% 以上阳性 — :90% 以上阴性 NC:无变化
O:氧化 F:发酵 d:反应不一致
(1)F 群细菌除外

表 2 气单胞菌属内种的鉴定

试 验	亲水气单胞菌	豚鼠气单胞菌	温和气单胞菌	杀鲑气单胞菌
37℃ 肉汤中生长	+	+	+	—
动 力	+	+	+	—
D—葡萄糖产气	+	—	+	+
阿 拉 伯 糖	d ⁺	+	—	+
水 杨 苷	+	d [—]	—	+
VP 反 应	+	—	+	—
吲 哚 产 生	+	+	+	—
KCN 中 生 长	+	+	d [—]	—
胨 水 中 产 H ₂ S	+	—	+	—
赖 氨 酸 脱 羧 酶	+	—	+	—
精 氨 酸 利 用	+	+	—	—
组 氨 酸 利 用	+	+	—	—
G + Cmol %	56~62	61~63	58~60	57~59

d⁺:反应不一致,多数为阳性 d[—]:反应不一致,多数为阴性 ND:未测定

Namdari^[14]发现某些气单胞菌有自杀现象,且比较稳定,不易发生变异,于是便提出了以自杀现象为基础结合该菌的产气性和七叶苷水解,快速检测本属细菌。Namdari拟出了一个简明的鉴定程序:自杀而不产气者为Ac,不自杀、有明显产气、又能快速水解七叶苷者为Ah,不自杀能产气、不分解七叶苷者为As。该程序经210株来自临床和环境的气单胞菌分析验证,表明方法可靠、快速、简便,值得推广。

总之,气单胞菌的致病性已引起广泛重视,其分离、鉴定方法正朝着快速、简便、准确方面发展。

3 参考文献

- 1 胡圣尧,等.气单胞菌生物学特性研究进展.中国卫生检验杂志,1995,5(2):125~127
- 2 Desmond E, et al. Growth of *Aeromonas species* on enteric agars. J Clin Microbiol, 1986,23(6):1065~1067
- 3 Kay BA, et al. Media for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. J Clin Microbiol, 1985,22(3):888~890
- 4 Mishra S, et al. Comparison of selective media for primary isolation of *Aeromonas species* from human and animal feces. J Clin Microbiol, 1987,25(11):2040~2043
- 5 杨正时.气单胞菌分离与鉴定用培养基研究进展.国外医

- 学(微生物学分册),1990,13(1):26~29
- 6 Robinson J, et al. Media for isolation of *Aeromonas spp* from feces. J Med Microbiol, 1989,18:405~411
- 7 Misra SK, et al. Growth of *Aeromonas spp* on Butzler campylobacter selective agar and evaluation of the agar for the primary isolation of *Aeromonas spp* from clinical specimens. J Clin Microbiol, 1989,27(2):346~347
- 8 鲁培基,等.从腹泻患者粪便中分离和鉴定气单胞菌属.中华传染病杂志,1992,10(1):21~23
- 9 许新强,等.嗜水气单胞菌的生态学调查.中国人兽共患病杂志,1989,5(4):36~37
- 10 于泉.医学气单胞菌.国外医学(微生物学分册),1987,6:254~258
- 11 Douglas W, et al. Enzymatic characterization of *Aeromonas hydrophila* complex by the APIZYM system. J Clin Microbiol, 1982,16(4):692~696
- 12 于泉,等.与致病性有关的气单胞菌生化特性.微生物学通报,1987,3:114~116
- 13 Altwegg M, et al. Biochemical identification of *Aeromonas genospecies* isolated from humans. J Clin Microbiol, 1990,28(2):258~264
- 14 辜明铭.气单胞菌的致病性与检验方法研究进展.国外医学(临床生化与检验学),1991,12(2):61~64

离子色谱法在食品分析中的应用(综述)

陈青川 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

离子色谱法(IC)是70年代中期发展起来的一项新的液相色谱技术,目前已成为分析化学领域中发展最快的分析方法之一,它已被广泛地用于无机阴、阳离子和有机离子的测定。它具有灵敏度高,选择性好,试样用量少,易实现自动化等优点,已公认是进行食品分析的一种有效手段。^[1]鉴于离子色谱法用于食品分析的时间还不太长,加之发展很快,本文仅就1990年以来国内外这方面的进展作一简要介绍。

1 采用电导检测器的离子色谱法

电导检测器仍然是目前离子色谱法中使用最多的检测器,根据有无抑制系统,又可将其进一步分为抑制型离子色谱法(或双柱离子色谱法)和非抑制型离子色谱法(或单柱离子色谱法)。根据分离机理的不同,可分为:

1.1 高效离子色谱(HPIC)

HPIC是离子色谱的主要分离方式,它的分离机理主要是离子交换,一般用于亲水性阴、阳离子的分离。目前HPIC多用微膜抑制器(MMS)作为抑制系统,由于MMS具有抑制容量高、死体积小的优点,因此适宜于采用较高强度的淋洗液和进行梯度淋洗。文献[2]采用IC早期的纤维膜抑制器,以国产薄壳强碱性阴离子交换树脂(YSA—2)为分离柱,以4mmol/L NaHCO₃ + 3.8mmol/L Na₂CO₃ + 3.7%对硝基苯酚为淋洗液,测定了海带中的碘。有关MMS的应用详见表1。值得一提的是,日本学者^[10]采用该方法,成功地测定了四大类共130种食品中PO₄³⁻的含量,其试样种类几乎涵盖了所有的食品,成为近年来IC在食品分析中最成功的应用范例(分析条件见表1)。此外,一些最新型的技术方法也被首先应用