椰毒假单胞菌酵米面亚种干燥培养基的研制

王淑真 杨宝兰 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)
王淑颖 周桂莲
侯正宗 河北省卫生防疫站 (071000)

摘要 椰毒假单胞菌在干燥银耳卵黄培养基与新配制银耳卵黄培养基上差别不大, 生长菌落较大, 菌落周围呈现虹彩环, 易于辨认, 利于挑选, 在产色素上优于新配制的培养基, 检出率优于PDA。通过检测市售玉米面样品58份、鲜银耳38份、鲜蘑菇30份、食物中毒样品3份的检验, 得到较满意的结果, 因此确证了干燥银耳培养基是可行的。干燥银耳培养基制作简便, 有利于培养基的标准化工作。

银耳卵黄培养基^[1]是分离鉴别椰毒假单胞菌酵米面亚种(简称椰酵假单胞菌)的专用培养基, 不利其他细菌生长。该培养基选择性强, 菌落特性显著, 利于鉴别。为了便于基层食品卫生检验工作的应用, 加强培养基的标准化, 以保证检验质量, 并有利于工厂批量生产, 我们在此基础上进一步改进, 研究制成干燥银耳培养基。并对此干燥培养基的分离鉴别性能作了一系列的试验比较, 证明与新配制的银耳培养基效果完全一致。

1 材料与方法

1.1 材料 标准椰酵假单胞菌、市售银耳、琼脂粉。

1.2 方法 首先将市售银耳低温烘干、研磨、过100目筛筛成银耳粉。按照银耳粉1.5%、琼脂1.2%~1.4%的比例混合配制。使用前将配制好的干燥银耳培养基, 按一定量溶于蒸馏水中, pH7.0。高压灭菌, 冷却至50℃左右, 用无菌方法加入10%的新鲜卵黄, 混匀制成银耳卵黄培养基倾注平板, 分离椰酵假单胞菌。37℃、24~48h, 椰酵假单胞菌生长为光滑湿润的菌落, 菌落周围带虹彩环, 易于辨认、挑选。

2 效果验证

通过以下试验, 对椰酵假单胞菌在干燥银耳培养基和新配制的培养基上的生长和分离效果进行了比较。

2.1 标准菌株、菌落特点的观察比较

选用了5个血清型的标准椰酵假单胞菌(O—III、O—IV、O—V、O—VI、O—VII)共45株, 在干燥银耳培养基和新配制银耳培养基上均能生长为光滑湿润的菌落, 菌落周围呈现有虹彩环的特点。见表1。

椰酵假单胞菌在2个培养基上生长没有太大差别, 并且干燥银耳培养基上黄色素的产生较新配制的培养基产生的快、色深。

2.2 人为污染样品效果的比较

将椰酵假单胞菌代表株, 做不同浓度菌液, 测定菌数, 并污染样品(1mL菌液污染于1g玉米面样品)后, 加蒸馏水至10mL, 充分混匀, 挑取2接种环分离于3种培养基(干燥银耳卵黄平板、新配制银耳卵黄平板、马铃薯葡萄糖琼脂平板(PDA))。37℃ 24~48h, 挑取可疑菌落观察检出效果。见表2。

从表2的15次试验结果来看, 干燥银耳培养基检出14次(93.3%), 新配制银耳培

培养基检出 15 次 (100%), 两者差别不大。PDA 培养基检出 7 次 (46.7%), 样品中的杂

菌在 PDA 平板上生长旺盛, 影响了要分离细菌的检出。

表 1 椰酵假单胞菌菌落特点的观察比较

菌株血清型	菌株数	干燥银耳卵黄培养基			新配制银耳卵黄培养基		
		菌落光滑	虹彩环	产黄色素	菌落光滑	虹彩环	产黄色素
O—III	9	6+/3-	+	8+/1-	6+/3-	+	8+/1-
O—IV	8	+	+	+	+	+	+
O—V	8	+	+	+	+	+	+
O—VI	15	14+/1-	+	+	14+/1-	+	+
O—VII	5	+	+	+	+	+	+

注: + 表示菌落光滑和产生色素 - 表示菌落较粗糙和不产色素

表 2 染菌样品 3 种培养基检出效果

菌株血清型	试验次数	染菌浓度 个/mL	检出次数		
			干燥银耳卵黄培养基	新配制银耳卵黄培养基	PDA 培养基
O—III	2	40~350	2	2	1
O—IV	5	11~160	4	5	2
O—V	5	26~270	5	5	2
O—VI	3	16~77	3	3	2
总计	15		14	15	7
%			93.3	100.0	46.7

2.3 中毒样品检验结果的比较

将 3 份中毒样品用干燥和新配制的银耳培养基进行分离培养, 在 2 种培养基上均检出椰酵假单胞菌。对检出的细菌进一步做血清学鉴定, 证实从两份样品中分别检出 O—V 型和 O—VI 型, 另一份样品同时检出了 O—V、O—VI 2 个血清型的椰酵假单胞菌, 结果满意。见表 3。

表 3 中毒样品的检验结果

培养基	中毒样品检验			检出血清学型别		
	1	2	3	1	2	3
干燥银耳培养基	+	+	+	O—V	O—VI	O—V
新配制银耳培养基	+	+	+	O—V	O—VI	O—V

2.4 市售玉米面样品的检验

采市售玉米面样品 58 份, 银耳氯霉素增菌液、接种样品 10g 37℃ 18h 左右, 增

菌后用干燥银耳卵黄培养基平板分离, 从 35 份样品中分离到椰酵假单胞菌, 阳性率为 60.3%。

2.5 现场验证试验比较

进行 3 种培养基检验椰酵假单胞菌的对比试验观察。应用干燥银耳卵黄培养基、马铃薯葡萄糖琼 (PDA) 及氯霉素马铃薯葡萄糖琼 (CPDA) 平板同时检验鲜银耳 38 份, 检出阳性 20 份, 阳性率为 52.7%。检验鲜蘑菇 30 份, 阳性 9 份, 阳性率为 30.0%。共对比检验样品 68 份, 阳性 29 份, 阳性率 42.6%。干燥银耳培养基与 PDA、CPDA 对比检出结果见表 4、表 5。

表 4 干燥银耳培养基与 PDA 检出结果比较

	干燥银耳培养基	
	+	-
PDA	11	2
	9	46

表 5 干燥银耳培养基与 CPDA 检出结果比较

	干燥银耳培养基	
	+	-
CPDA	14	3
	9	42

银耳平板上生长的椰酵假单胞菌菌落个大, 菌落周围呈现虹彩现象, 易于辨认及挑
(下接第 9 页)