

北京市瓶装矿泉水铜绿假单胞菌污染调查

陈 倩 陆 峥 杨玉芝 北京市卫生防疫站 (100013)

铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 广泛分布于自然界, 该菌不仅是一种条件致病菌, 而且是水源性和食源性疾病的主要致病菌之一。美国 and 德国曾有报道, 矿泉水中铜绿假单胞菌检出率为 1.2% ~ 11% 不等。^{〔1〕} 我国有关这方面的报道较为少见。目前食品中铜绿假单胞菌法定检验方法尚未确立。为了解我市瓶装天然矿泉水中铜绿假单胞菌的污染情况, 我们参照文献^{〔4,5〕} 及有关资料, 建立了矿泉水中铜绿假单胞菌检验方法。于 1994 年 7 月对北京市 12 个厂家 12 种牌号的矿泉水共 55 件同时进行铜绿假单胞菌及卫生指标的检验, 并进行了进口与国产培养基对比及污染情况分析, 现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 北京市 12 个矿泉水厂采集的不同批号的 55 件瓶装天然矿泉水, 所有样品均在保质期内。

1.2 培养基和试剂

CNA 选择性分离培养基 (OXOID LOT NO 300.43991, EXPIRY 10/94)

溴化十六烷基三甲胺干燥培养基 (上海云岭化工厂 900501)

乙酰胺干燥培养基 (上海云岭化工厂 900501)
绿脓菌素测定用培养基、氧化酶试剂、革兰氏染色液。

1.3 仪器

VITEK-AMS 微生物自动生化分析仪 (梅里埃-VITEK 公司)

1.4 检验项目

铜绿假单胞菌、大肠菌群和细菌总数

1.5 检验方法

铜绿假单胞菌的检验

增菌 取 2mL 样本加入 10mL 普通营养肉汤 37℃ 24 ~ 48h。

分离培养 取肉汤培养物划线接种 CNA 选择性分离平板、溴化十六烷基三甲胺平板、乙酰胺平板, 37℃ 24 ~ 48h 培养。

分纯及初步鉴定 挑取可疑菌落接种普通营养琼脂斜面 37℃ 24h。培养物做涂片革兰氏染色镜检及氧化酶、绿脓菌素测定。

生化鉴定 用 VITEK-AMS 自动生化分析仪做系统生化鉴定。

大肠菌群和细菌总数测定 按国标 GB 4789.3 — 84 和 GB 4789.2-84 方法进行。判定合格标准: 细菌总数

<100/mL, 大肠菌群 (MPN) <6/100mL。

2 结果

2.1 铜绿假单胞菌的检出情况 检测 55 件矿泉水, 13 件分离出铜绿假单胞菌, 其中 11 件为典型铜绿假单胞菌, 2 件为不产色素的铜绿假单胞菌, 总检出率为 23.6%。

2.2 卫生指标测定结果 55 件样品大肠菌群 (MPN) 全部 <3/100mL。细菌总数 18 件均 >100/mL, 其中细菌总数最高者为 2.8×10^4 /mL。总超标率 32.7%, 合格率 67.3%。

2.3 铜绿假单胞菌检出结果与细菌总数超标结果的相关分析, 见表 1。

对 55 件矿泉水同时进行铜绿假单胞菌及细菌总数检验, 两种结果经统计学计数资料的相关分析, $r = 0.6102$ ($\chi^2 = 17.84$ $P < 0.005$)。结果有正相关关系。说明细菌总数超标的样本其铜绿假单胞菌阳性者也多。

表 1 检出铜绿假单胞菌与细菌总数超标结果				
铜绿假单胞菌		细菌总数		合计
		超标 >100/mL	合格 <100/mL	
阳	性	11	2	13
阴	性	7	35	42
总	计	18	37	55

$\chi^2=17.84$ $P<0.005$

2.4 样本铜绿假单胞菌初步生化鉴定结果

氧化酶阳性, 乙酰胺酶阳性, 革兰氏阴性杆菌, 绿脓菌素试验阳性或阴性。

2.5 应用 VITEK-AMS 自动生化分析仪对初检铜绿假单胞菌所做系统生化分析的主要结果见表 2。

表 2 VITEK-AMS 仪测试铜绿假单胞菌主要项目结果				
葡萄糖氧化	乙酰氨	尿素	枸橼酸盐	丙二酸盐
+	+	—	+	+
苯丙氨酸	乳糖	麦芽糖	甘露醇	硫化氢
—	—	—	+	—
β -半乳糖苷酶	葡萄糖发酵	精氨酸	赖氨酸	氧化酶
—	—	+	—	+

3 讨论

3.1 从检测结果可以看出 55 件矿泉水的卫生指标合格率为 67.3%, 主要问题是细菌总数超标。铜绿假单胞菌检出率为 23.6%, 说明我国瓶装矿泉水同样存在铜绿假单胞菌污染, 市售瓶装矿泉水的卫生问题不容忽视。^{〔3〕}

3.2 铜绿假单胞菌检出阳性结果与细菌总数超标结果有正相关关系。加拿大卫生福利部已建议增设铜绿假单胞菌作为指标菌。^{〔2〕} 检出该菌说明瓶装水已受到严重污染, 绝对不允许销售。有报道, 铜绿假单胞菌在矿泉水中繁殖可达 10⁴ cfu/mL。^{〔2〕} 当饮用者免疫低下, 可能会引发感染。但我国尚未建立瓶装矿泉水铜绿假单胞菌的检测方法, 如何对检出的铜绿假单胞菌进行定量计数仍需做进一步工作。

3.3 本实验用普通营养肉汤增菌, 2 种培养基同时检出 13 件样本铜绿假单胞菌阳性, 可见典型光滑型和粗糙型 2 种菌落形态, 进口与国产培养基检测结果符合率为 100%。进口培养基纯净透明, 易于分离出纯菌, 但价格昂贵, 不易得到。国产溴化十六烷基三甲胺培养基相对分离效果次于进口培养基, 但不影响分离结果。因此, 在无进口培养基条件

下, 仅做定性试验时, 可采用普通营养肉汤或肉浸液肉汤增菌, 用溴化十六烷基三甲胺培养基和乙酰胺培养基同时分离, 使用自动生化分析仪或普通生化管进行较全面生化鉴定。此法用于检测瓶装矿泉水中的铜绿假单胞菌, 较为简便易行, 适用于基层。

4 参考文献

1 P.R.Hunter.The Microbiology of Bottled Natural Mineral Water.Journal of Applied Bacteriology. 1993,74:345 ~ 352
2 牛胜田. 市售瓶装水的微生物学质量及有关条例. 国外医学, 卫生学分册. 1994,21(1):31 ~ 34
3 王志刚, 等. 瓶装天然矿泉水饮料的微生物—国家标准和微生物超标问题. 食品科学, 1993,1(总 157):49 ~ 51
4 何晓青. 卫生防疫细菌检验. 北京: 新华出版社, 1989
5 北京市卫生防疫站. 卫生防疫微生物检验操作规程 北京: 北京出版社, 1991

矿泉水生产过程绿脓杆菌污染调查

温瑞荣 王少玲 符振华 胡 伟 海南省卫生防疫站 (570003)

对海南省某矿泉水生产企业绿脓杆菌污染调查, 采用血清和细菌素 2 种分型方法对调查所获 33 株绿脓杆菌进行分型研究, 追踪瓶装矿泉水绿脓杆菌污染来源, 为加强卫生管理, 提高瓶装矿泉水质量提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标准菌株 18 株标准绿脓杆菌细菌素测定用菌株, 成都生物制品所。

分型血清 20 种绿脓杆菌分型用血清, 成都生物制品所。

1.2 样品

水样 采自瓶装矿泉水生产过程不同阶段水样(水源、水罐、粗滤、臭氧处理、超滤、灌注前)共 9 份。

瓶装矿泉水 采自成品仓库共 8 批。

环境样品 采自灌注车间工人手、鞋、抹布、装瓶筐、灌注口、门把手、空气、消毒空瓶和盖, 未消毒瓶盖等 27 份样品。

1.3 方法

1.3.1 细菌总数测定 按 GB 8338.61.62 — 87 和 GB 4789.2 — 94 方法进行。

1.3.2 绿脓杆菌检验 按卫生部消毒技术规范进行。

1.3.3 绿脓杆菌血清学分型 采用玻片凝集法。

1.3.4 绿脓杆菌素分型 按照王世鹏氏快速点滴细菌素分

型方法进行。

2 结果

2.1 细菌数测定和绿脓杆菌分离结果

对矿泉水厂生产过程不同阶段水样和灌注车间环境样品及容器等计 44 份样品, 进行细菌总数测定, 绿脓杆菌分离结果见表 1 和表 2。

表 1 不同生产过程水样细菌总数及绿脓杆菌检验结果 n								
	水	储	粗	臭	超	灌	瓶	合
	源	水	滤	氧	滤	注	装	
	水	罐	水	水	水	水	水	计
样 品 数	1	2	1	1	1	3	8	17
超 标 数	0	2	1	0	0	0	8	11
细菌总数 x (个/mL)	<1	300	180	77	88	73	4100	
绿脓杆菌 阳 性 数	0	2	0	1	1	3	8	15

表 1 所示水源是清洁的 (<1/mL), 经储水罐后水质污染 (300/mL)。粗滤后经臭氧消毒、超滤、直至灌装前水质细菌总数尚在合格范围内 (73 ~ 88/mL), 但亦接近超标