

FOCT 15580-75和FOCT 13345-85的20倍。

5.3 鉴定液的组成、配制和鉴定操作均比 YB

314-64、FOCT 15580-75和FOCT 13345-85简单、容易,且不需加热,解决了长期不能现场化学鉴定问题。

参 考 文 献

- 1 杨熙珍,杨武编著.金属腐蚀电化学热力学电位—pH图及其应用.化学工业出版社,1991,122~129.

0-1噬菌体鉴定食品中沙门氏菌的试验研究

朱 曜 四川进出口商品检验局 610081

沙门氏菌在食品中的污染是最广泛而能引起人们食品中毒的一种肠道致病菌,所以规定必须检验沙门氏菌,一经检出,就作不合格处理。

沙门氏菌分布于自然界十分广泛。经世界沙门氏菌研究小组研究共有2000多个血清型菌株。据报导荷兰 Walcheren 于1971~1975年流行沙门氏菌时,发现它在动物、它和环境之间似乎存在着循环性传染。美国卫生单位报导,在很多国家中沙门氏菌按年龄的比例分布1岁以下的小孩发病率最高,1~5岁发病率减少,10岁以上,发病率保持低水平。

世界上沙门氏菌病大流行的情况,不乏其例。我国也发生过因食用被沙门氏菌污染的食品而引起沙门氏菌病。因此,在食品加工中,特别是非熟制的肉类食品,必须控制沙门氏菌的污染。各国都制订了沙门氏菌标准检验方法,这些检验方法的周期长,一般为5~6天。为了缩短检验周期和更便于判断疑难菌株,对使用0-1噬菌体鉴定沙门氏菌进行了试验研究。

1 材料

1.1 供试样品 分割冻猪肉,兔肉,白条猪肉,冰蛋,鸡肉等5种产品,各500份。

1.2 培养基和试剂 (试剂略)

1.2.1 沙门氏菌0-1噬菌体:卫生部微生物药品检定所提供,4℃冰箱内保存备用。

1.2.2 营养琼脂平板,营养肉汤培养基,检验沙门氏菌各种培养剂,均按常规法制作。

1.2.3 诊断血:A~F群沙门氏菌12种因子血清,成都生物制品研究所提供。

1.2.4 供试菌株:B群猪鼠伤寒沙门氏菌(*s. typhimurium*),C群伤寒沙门氏菌菌株,H群塔克森沙门氏菌(*s. typhi-Quis*),A~F群以外的沙门氏菌(*s. tucson*),G₁群伊巴丹沙门氏菌(*s. ibadan*),其他大肠杆菌,付大肠杆菌,变形杆菌,志贺氏痢疾杆菌等,均由成都生物制品研究所提供。

2 试验方法

2.1 加噬菌体:营养琼脂制成平板,等冷凝和表面干燥后,将噬菌体涂布于琼脂平板表面,凉干后放入4℃冰箱内备用。或制备的营养肉汤,分装于小试管内,每管2 ml,加入少量噬菌体,混匀,培养后放入4℃冰箱内备用。

2.2 样品接种培养和分离培养:按常规法处理样品,并接种至增菌培养基和分离培养基 He 和 DHL。

2.3 点种菌落:He 和 DHL 琼脂平板培养24±1 h后,取出检查,并将典型菌落或可疑菌落点

种子已涂布菌体的琼脂平板和接种于加噬菌的肉汤管内混匀, 37℃培养6 h或2~3 h后, 观察结果。

2.4 对照试验: 将4种已知沙门氏菌和其他肠杆菌, 分别涂布接种于营养琼脂平板或 HE 和 HDL 琼脂平板或 HE 和 HDL 琼脂平板上, 37℃培养24±1 h, 分别取其菌落各1接种环点种于噬菌体琼脂平板上, 37℃培养6h, 同时分别取1接种环菌落, 接种于装有噬菌体肉汤试管内混

表1 沙门氏菌在噬菌体培养基中生长情况表

菌株	噬菌体琼脂	噬菌体肉汤
鼠伤寒沙门氏菌	+	+
猪伤寒沙门氏菌	+	+
啫克森沙门氏菌	+	+
伊巴丹沙门氏菌	+	+
大肠杆菌	—	—
副大肠杆菌	—	—
变形杆菌	—	—
志贺氏痢疾菌	—	—

1 “+”表示裂解, 无菌生长

2 “—”表示未裂解, 在噬菌体培养基上长菌

匀, 37℃培养2~3 h。

2.5 观察结果: 被检菌在噬菌体琼脂平板或肉汤内不生长, 而以大肠杆菌, 副大肠杆菌, 志贺氏痢疾菌, 变形杆菌作对照, 试验结果如表1所示。

从以上试验结果看, 沙门氏菌均被含有沙门氏菌0—1噬菌体裂解, 而其他肠杆菌均未被裂解, 而生长良好。

3 噬菌体法鉴定肉品中沙门氏菌

3.1 琼脂平板法鉴定试验: 使用生产的猪分割肉, 冻兔肉, 冰蛋和猪白条肉, 鸡肉作试验, 按常规法进行增菌和分离培养, 在 HE 和 DHL 分离培养基平板上, 分别挑取典型菌落和可疑沙门氏菌菌落, 点种于噬菌体琼脂平板上, 37℃培养6 h, 取出观察。另以已知沙门氏菌和常规沙门氏菌检验方法作对照, 试验结果。如表2所示。

表2 平板法鉴定沙门氏菌结果

品名	分制猪肉	兔肉	冰蛋	白条猪肉	鸡肉
检样数	500	500	500	500	500
HE 培养					
裂解数	12	11	68	73	91
菌 %	2.4	2.2	13.6	14.6	18.2
DHL 培养					
裂解数	12	11	68	73	91
菌 %	2.4	2.2	13.6	14.6	18.2
常现法					
阳性数	12	11	68	73	91
%	2.4	2.2	13.6	14.6	18.2
两法符合率 (%)	100	100	100	100	100
对照	+	+	+	+	+

+表示噬菌裂解阳性, 每做1次, 只做1个对照, 以上均同

从以上试验结果可以看出, 噬菌体裂解沙门氏菌与常规法检验沙门氏菌, 结果完全符合, 符合率达100%。

3.2 肉汤鉴定试验: 本试验仍为以上5种样品, 在 HE 及 DHL 琼脂平板上将典型或可疑沙门氏菌菌落接种到噬菌体肉汤内, 37℃培养2~3 h, 取出检查结果, 并以常规法和沙门氏菌培养

物作对照, 试验结果如表3所示。

从以上试验结果看, 噬菌体肉汤鉴定沙门氏菌与常规法检验沙门氏菌完全符合, 符合率达100%。

从表2, 3 还可以看出噬菌体琼脂平板与噬菌体肉汤鉴定沙门氏菌, 效果完全相同。从分离培养菌作噬菌体裂解试验, 完全是正确可行的。

表3 噬菌体肉汤法鉴定沙门氏菌结果

品名		分制猪肉	兔肉	冰蛋	白条猪肉	鸡肉
检样数		500	500	500	500	500
HE 培养	裂解数	12	11	68	73	91
菌	%	2.4	2.2	13.6	14.6	18.2
DHL 培养	裂解数	12	11	68	73	91
菌	%	2.4	2.2	13.6	14.6	18.2
DHL 培养	裂解数	12	11	68	73	91
菌	%	2.4	2.2	13.6	14.6	18.2
两法符合率（%）		100	100	100	100	100
对照		+	+	+	+	+

4 生化和血清反应法与噬菌体鉴定沙门氏菌实际应用

在检验肉类沙门氏菌中,采用增菌培养,分离培养和生化鉴定后,还采用血清凝集法鉴定沙门氏菌。鉴定沙门氏菌,一般使用沙门氏菌抗血清 A~F 群17个因子血清或 A~F 群53因子血清,而且以 O 型多价血清反应为阳性,生化反应又符合者,便作检出沙门氏菌处理。但是 A~F 群以外的沙门氏菌,用上述血清诊断,多半是阴性,而生化是符合沙门氏菌条件的,这种情况下,采用噬菌体裂解试验均为阳性。现在噬菌体裂解试验对分离出的可疑沙门氏菌进行比较,结果如表4所示。

表4 噬菌体法与生化血清法鉴定沙门氏菌

菌号	特征
1~15	+生化符合,血清凝集阳性,噬菌体裂解
21~33	+生化符合,血清凝集阴性,噬菌体裂解
41~51	-生化不符,血清凝集阳性,噬菌体不裂解
60~74	-生化不符,血清凝集阴性,噬菌体不裂解

从以上试验结果看,凡是生化符合,血清反应为阳性,噬菌体裂解鉴定也均为沙门氏菌。生化符合,血清反应鉴定为阴性,噬菌体裂解鉴定也均为沙门氏菌。说明该检出菌均为 A~F 群以外的沙门氏菌。生化不符合,血清反应为阳性,噬菌体裂解也为阴性,说明被检菌是与沙门氏菌有共同。抗原的肠道菌。生化不符合,血清反应为阴性,噬菌体裂解为阴性,这些被检

菌均为非沙门氏菌。从以上试验结果说明,沙门氏菌0-1噬菌体有较强的特异性。

5 分析讨论

5.1 噬菌体 (*bacteriophage*) 是病毒的一种,但是它是细菌的病毒,并具有一定的形态结构与严格的寄生性,能在生活的具有感受性的菌体内繁殖,并能将细菌体裂解。各种细菌均有其自己的噬菌体,沙门氏菌的0-1噬菌体在自然界分布也十分广泛,它只能在沙门氏菌菌体内寄生或增殖。噬菌体进入菌体要经过4个步骤才能使菌体裂解。第1步是吸附。当沙门氏菌0-1噬菌体与沙门氏菌相遇时,首先是0-1噬菌体吸附于沙门氏菌的菌体上,如果不是沙门氏菌而是志贺氏痢疾菌,0-1噬菌体是不会吸附在菌体上的。第2步是侵入。这时噬菌体尾部的溶菌酶消解细菌壁的坚固内层,溶成孔洞,而后使之侵入到菌细胞内。进入了菌体后的噬菌体就迅速增殖,就是第3期的增殖期。一般噬菌体进入后6~7 min 开始出现增殖,这种增殖作用,是噬菌体中的去氧核糖核酸起着支配作用。大量复制子代噬菌体的去氧核糖核酸及噬菌体的蛋白质,并形成完整的噬菌体颗粒,最后达到成熟阶段,也就是当噬菌体成熟时,溶解寄生细胞壁的溶菌酶逐渐增加,促使菌细胞裂解,这就是第四步的裂解阶段,这时又释放子代噬菌体。所以平板法接种,一般只需要6 h 培养,而肉汤只要2~3 h,便可以判断结果。沙门氏菌0-1噬菌体只

能对沙门氏菌发生裂解作用,对其他任何菌是不会裂解的,所以用它来鉴定沙门氏菌有高度的特异性。

5.2 食品沙门氏菌检验应迅速正确,否则将污染有沙门氏菌的食品投放市场,可以引起消费者的食物中毒,尤其是熟食制品,更应加强沙门氏菌检验,至于出口的冻猪分割肉,冻兔肉,冰蛋等都规定必须检验沙门氏菌,而常规沙门氏菌检验需要6~7天才能出结果;使用血清凝集反应法,往往出现交叉反应,使检验失去正确性。而使用沙门氏菌0-1噬菌体鉴定沙门氏菌,只要经过增菌,分离培养,然后进行噬菌体裂解试验,只需要54 h左右便可以报告结果,而且特异性强,不会发生交叉反应,并可省去三糖铁琼脂培养,尿素酶试验以及赖氨酸脱羧酶试验,V-P试验,靛基质试验,硝酸盐氰化钾试验,甘露醇,ONPG试验,丙二酸铜试验,卫茅醇试验等,可以大大地节省人力物力。

5.3 很多单位常用A~F群沙门氏菌因子血清鉴定沙门氏菌,往往出现两个问题。一是检出菌是A~F群以外的沙门氏菌,所以生化符合,而血清学反应是阴性。其次是交叉反应,因为沙门氏菌与其他肠道菌如志贺氏痢疾菌,大肠杆菌,副大肠杆菌,变形杆菌等往往有共同“O”

抗原,而使用的血清往往与这些细菌发生交叉反应。在以上两种情况下,如果采用噬菌体裂解试验,便能很快地得出鉴定结果。本试验分离出来20多个菌株,就是在以上情况下得出的。

6 结 语

由于沙门氏菌0-1噬菌体鉴定食品中沙门氏菌特异性强,无交叉反应,快速准确,只要经过增菌和分离培养,取其典型或可疑菌落接种到噬菌体琼脂平板或肉汤,便可得到正确的结果,是值得推广应用的一种好方法。

参 考 文 献

- 1 出口食品沙门氏菌属检验方法,中华人民共和国专业标准2B, 8~83
- 2 盛祖嘉. 微生物遗传学基础. 上海科学技术出版社, 1963.
- 3 Adams, M. H. Bacteriophages, New york; In tescience Publishers, 1959.
- 4 Hershey, A. D. et. al. Growth and Inherilance in Bacteriophage. Carnegie Inst, wash, yearbook. 1951, 50, 195.
- 5 Waksman. S. A. The Aclinomycetes. New york; The Ronald press co, 1967, 181.
- 6 本江元吉. 酸醇协会志. 1967, 25, 454.

