

- 6 Spamins VL; Barany G; Wattenberg LW Effects of Organosulfur Compounds from Garlic and Onions on Benzo(a)pyrene - induced Neoplasia and Glutathione S - Transferase Activity Carcinogenesis (Lond.)1988; 9: 131 - 4.
- 7 Wattenberg LW; Spamins VL; Barany G Inhibition of N - Nitrosodiethylamine Carcinogenesis in Mice by Naturally Occurring Organosulfur Compounds and Monoterpenes Cancer Res. 1989 49: 26 89 ~ 92.
- 8 GB5009. 33 - 85 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定方法.
- 9 邹忠梅,于德泉,丛浦珠. 葱属植物化学及药理研究进展. 药学学报,1999,34(5) 395 ~ 400.

金黄色葡萄球菌污染水产食品的研究

王丽哲 南京农业大学食品科技学院 210095

晋怀峰 大连海洋渔业集团公司 116113

宫树权 吉林农业大学教学实验场 130118

王兆宝 大厂回族自治县通达肉类有限公司 065300

摘要 检测我国水产食品中金黄色葡萄球菌的污染情况表明,污染率达 6.5%,污染菌数为 10cfu/g。对分离出的 20 株金黄色葡萄球菌生理生化试验表明,血浆凝固酶试验与卵黄反应具有很高的一致性,但金黄色色素的产生率较低(25%)。

关键词 金黄色葡萄球菌 水产品 污染

Abstract By the qualitative and quantitative method the contamination of aquatic products by *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was studied. The results showed that the incidence of *S. aureus* in aquatic products was 6.5% and the population of *S. aureus* was 10cfu/g. 20 strains *S. aureus* isolated from the all samples were characterized by a series of physiological and biochemical tests. The results showed that the plasma coagulase test was greatly consistent with egg yolk clearing. However, the percentage of golden pigment production was rather low only 25%.

Key words *Staphylococcus aureus* Aquatic Product Contamination

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* 以下简称金葡菌或 *S. a*)是引起食品污染和食物中毒的重要细菌,在自然界中分布广泛。该菌污染食品后,不仅使食品腐败变质,而且部分菌株产生肠毒素(Enterotoxin 或 SE),引起食物中毒。美国、匈牙利、芬兰等国在历年发生的细菌性食物中毒事件中,金葡菌占第一位;在日本、英国和欧洲等一些国家占第二位;该菌及其肠毒素的污染也引起我国卫生防疫和进出口检验等部门的广泛重视。本试验研究了水产食品中金葡菌的生态分布,污染状况及生物学特性,将为我国水产食品卫生指标提供参考。

1 材料与方法

1.1 样品来源及处理

所用样品购自农贸市场和商店,共无菌采样 31 个,检样分新鲜水产品和水产制品两种,采样后立即检样。

1.2 培养基配制

1.2.1 巴尔德-帕克(Baird-purker)培养基(简称 B.P 培养基)

成分:胰蛋白胨 10g,牛肉浸膏 5g,酵母浸膏 1g,丙酮酸钠 10g,甘氨酸 12g,氯化锂 5g,琼脂 20g,蒸馏水 1000ml。

配制:将上述成分装进三角烧瓶内,加热溶解,自然冷却后用 1mol/L NaOH 调 pH 值为 7.0 ± 0.2 , 121℃ 高压灭菌 15min,冷却后加入 50ml 30% 卵黄盐水和 10ml 过滤除菌的 1% 亚硝酸钾溶液,摇匀,制成平板后,保存于冰箱,用于分离培养与计数。

1.2.2 增菌培养基

成分:蛋白胨 10g,牛肉膏 5g,甘露醇 10g,氯化钠 60g,0.2% 酚红 12ml,蒸馏水 1000ml。

配制:将上述成分装入三角烧瓶内,加热使其完全溶解,自然冷却后调 pH 值至 7.2 ~ 7.4,分装于大试管中,每管 10ml,121℃ 灭菌 15min,保存于冰箱内,用

于选择增菌培养。

1.2.3 琼脂斜面培养基

取 41g 营养琼脂,加入 1000ml 蒸馏水,加热使琼脂完全溶解,调 25℃ 时 pH 为 7.2,分装于试管中,每管 5ml,121℃ 灭菌 15min 取出后,放成斜面,自然凝固后保存于冰箱内,用于菌株的短期保存。

1.2.4 单料氯化钠甘露醇增菌肉汤培养基

成分:牛肉膏 0.5g,蛋白胨 1.0g,氯化钠 0.5g,蒸馏水 100ml。

配制:沸水浴中加热 30min,使其溶解,冷却后调 pH 为 7.2~7.4,分装于试管中,每管约 5~10ml,121℃ 高压灭菌 15min,保存于冰箱内,以活化菌株,作生化鉴定用。

1.3 分离培养与菌落计数

各样品无菌研碎后按原料样以 1:10, 1:100, 1:1000 稀释,共四个梯度,分别接种于增菌培养基和 B.P 培养基中,进行选择分离培养,具体步骤如图 1。最后记录各类型的菌落数,计算出食品中的污染量。

1.4 生化鉴定

1.4.1 色素

肉眼观察纯培养的菌落颜色:金黄色或乳白色。

1.4.2 血浆凝固酶试验

兔心脏采血,每 5ml 全血加入乙二胺四乙酸二钠(EDTA)10mg 抗凝,3000r/min 离心 10~15min,分离血浆。将血浆用灭菌生理盐水作 1:4 稀释,以 0.5ml/管分装于小试管中备用。

取营养肉汤中培养 12h 的菌悬液 0.5ml 接种于

上述含血浆的试管中,37℃ 培养。

每 2h 观察一次,血浆呈胶胨状凝固者为阳性。

1.4.3 过氧化氢酶试验

在试管中加入少量 30% H₂O₂,取细菌少许插入 H₂O₂ 液面下,有气泡产生为阳性。

1.4.4 溶血试验

将营养琼脂 100ml 培养基加热融化,冷却至 50℃,按 5% 比例无菌加入脱纤维兔血 5~10ml,摇匀,倾注平板,将待检菌划线接种于血液琼脂上,37℃ 培养 24h。在菌落周围出现溶血环者,为阳性。

2 试验结果

2.1 金葡菌的培养特性

2.1.1 增菌培养基的培养特性

增菌培养基为高盐培养基,呈棕红色。接种后,金葡菌耐高盐生长,分解甘露醇,产酸,使指示剂酚红变色,培养基呈黄色,混浊。

2.1.2 B.P 培养基中的培养特性

在 B.P 培养基上,金葡萄菌菌落呈圆形,光滑,中央凸出,湿润的灰至浓黑菌落,在不密集的平板上直径为 2~3mm,常带有淡色边缘围以不透明带。有时在周围围有透明带。(这种现象称为卵黄反应阳性),用接种针触动时,菌落有黄油至树胶样粘性。

2.2 水产品金葡菌的污染状况

31 份水产品检测结果如表 1 所示。检样中共有 2 个样品受到金黄色葡萄球菌的污染,检出率为 6.5%。其中新鲜水产品检出率为 10.5%,污染菌数为

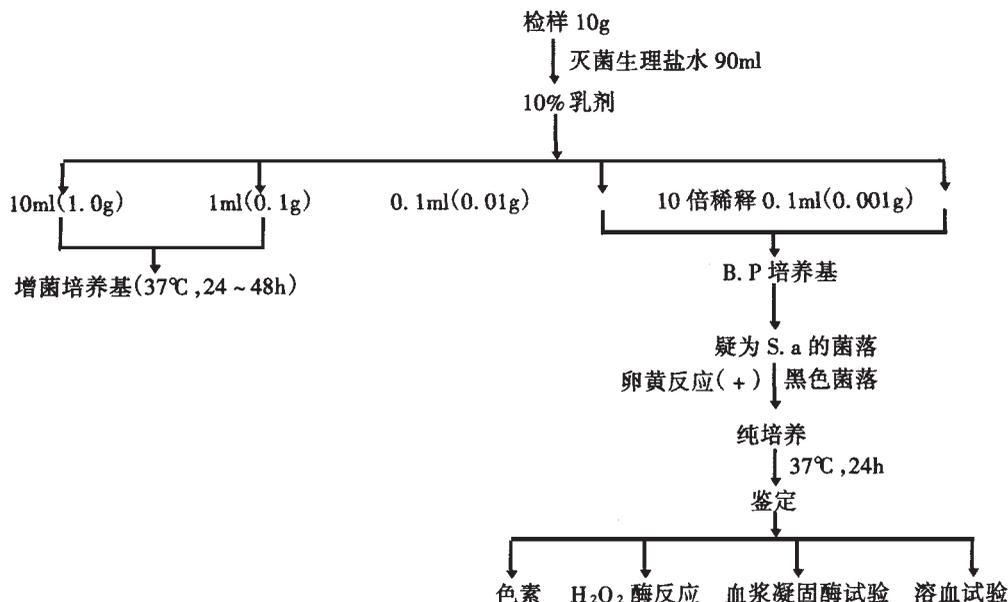


图 1 检验程序

表1 水产品中金葡萄菌的污染程度

检样名称	检样数	S. a 阳性数(血浆凝固酶阳性数)	菌数/mg			
			10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
新鲜水产品	19	2(10.5%)	1(5.3%)	-	1(5.3%)	-
水产制品	12	-(0)	-	-	-	-
总计	31	2(6.5%)	1(3.2%)	-	1(3.2%)	-

表2 分离菌株的生化特性

检样名称	菌株数	卵黄反应		色素特性		H ₂ O ₂ 酶试验		溶血试验		血浆凝固酶试验	
		阳性	阴性	金黄色	乳白色	阳	阴	阳	阴	阳	阴
新鲜水产品	17	17	0	4(23.5)	13(76.5)	17(100)	-	16(94.1)	1(5.9)	2(11.8)	15(88.2)
水产制品	3	3	0	1(33.3)	2(66.7)	3(100)	-	3(100)	-	-	3(100)
总计	20	20	0	5(25)	15(75)	20(100)	-	19(95)	1(5)	2(10)	18(90)

注:分离菌株均为 B. P 培养基中卵黄反应阳性菌,阴性菌落未做生化鉴定。

10cfu/mg, 水产制品检出为 0, 污染菌数为 10¹ ~ 10³cfu/mg, 在 2 个阳性检样中有 1 个检样的污染菌数达 10³cfu/mg。

2.3 分离菌株的生化特性

在 B. P 培养基上呈卵黄反应阳性的菌落,经纯培养后,做色素特性,过氧化氢酶,溶血,血浆凝固酶等生化鉴定试验,结果如表 2 所示。

从 31 个检样分离的 20 株卵黄反应阳性菌中,黄色素产生率只有 25%,绝大部分金葡萄菌在营养琼脂中为乳白色菌落。溶血阳性率达 95%,过氧化氢阳性率为 100%,血浆凝固酶阳性率为 2%。5 个产生金黄色素的菌株中,有 1 株(20%)为血浆凝固酶阳性,4 株(80%)阴性。在 15 个产生乳白色色素的菌株中,1 株(6.7%)为血浆凝固酶阳性。

3 分析与结论

3.1 关于水产品中金葡萄菌的生态分布及污染状况国外曾进行了较为全面的调查研究,而我国研究较少。本次试验采用胡东良、刘佩红等在 1995 年改进的金葡萄菌检测方法,测定该菌的污染程度和数量,检验所需时间与我国法规中的检验方法所需时间相等。

3.2 在 31 个检样中,金黄色葡萄球菌阳性检出率 6.5%,其中鲜品的检出率为 10.5%,制品检出率为 0。日本品川邦汎报道,鱼贝类金葡萄菌阳性率为 29.2%,生食鱼 45.1%,鱼制品 62.2%。本次实验表明,我国水产品的金葡萄菌污染率明显低于日本。这与我国采样标准和检测方法与日本不同有关,其次本试验检样较少,也有一些影响,今后应进一步扩大检样数,新鲜水产品中金葡萄菌可能来自水体环境的污染或

运输过程中的污染。

3.3 生化鉴定表明,20 株卵黄反应阳性菌中,血浆凝固酶阳性仅有 2 株(10%);H₂O₂ 酶试验和溶血性试验的阳性率均达到 95% 以上。我国食品微生物检验标准中规定以血浆凝固酶阳性作为金葡萄菌的判定标准,并辅以革兰氏染色和溶血试验。近来研究发现,血浆凝固酶试验作为金葡萄菌鉴定的权威标准并不完全准确,许多研究者报道有些金葡萄菌产生的血浆凝固酶极弱。

在纯培养过程中,5 株金黄色菌落中有 1 株(20%)在血浆凝固酶试验中呈阳性;在 15 株中乳白色菌株中有 1 株(6.7%)呈血浆凝固酶阳性。这可能是其他产凝固酶的葡萄球菌或金葡萄菌的色素变异株。本试验中金葡萄菌的金黄色色素产生率偏低,仅 50%,可见金黄色色素的产生,并不能做为金葡萄菌的鉴别性状。

3.4 据报道,食品中分离出的金葡萄菌,有 36.6% 可产生一种或多种肠毒素。所以水产品中污染金葡萄菌后有食物中毒潜在的可能性。为了提高水产品,特别是鲜品的卫生质量,在养殖过程中注意水体质量,卫生管理科学饲养,以防金葡萄菌的污染是非常重要的。

参考文献

- 1 胡东良,胡希荣. 食品微生物学专集,1991,57~59.
- 2 胡东良等. 食品微生物学实验技术. 吉林农业大学出版社. 长春,1991.
- 3 胡东良. 食品中金黄色葡萄球菌快速检测. 吉林农业大学学报,1992,4:56~61.
- 4 品川邦汎. 食品中毒菌制御. 中央法规出版社. 东京,1988,6.
- 5 寺山武. 临床と微生物,1988,15(1):10~15.