

对氰化钾试验有关影响因素的探讨

钟自鸣 陈家丽

(衡阳铁路分局卫生防疫站, 湖南)

氰化钾试验是肠杆菌科各属间的重要鉴别试验方法之一, 可将沙门氏菌属和志贺氏菌属与其他肠道菌属相区别。由于文献记载的试验方法各有不同, 胨的种类、KCN 浓度、培养基分装量、接种菌量以及观察结果的时间均不一致^[1,2,3]。因此, 往往因试验方法不当, 操作不严, 而导致试验失败。为此, 我们对该实验方法的有关因素进行了研究探讨, 现将结果报告于下:

材 料 和 方 法

一、供试菌株

1. KCN 试验阳性菌株: 柠檬酸杆菌(菌号

48018)、摩根氏变形杆菌(菌号 49086)、产气杆菌(菌号 45102)。

2. KCN 试验阴性菌株: 伤寒沙门氏菌(菌号 50097)、大肠埃希氏菌(菌号 44101)、福氏志贺氏菌 2a 型。

福氏 2a 菌系本室由痢疾患者粪便分离所得, 其他菌株由卫生部药品生物制品检定所提供。

二、胨种类

胰胨(英 OXO、批号 2625), 聚胨(日 Csaka、批号 0306), 胰胨(北京生化药厂、批号 641), 胨(上海禽蛋二厂, 蛋粉为基质, 批号 780603), 胨

(上海东海制药厂,鱼粉为基质,批号 781015)。为便于实验,将五种豚按上述次序编号 1—5。

三、培养基

KCN 基础液配方(克): 豚 10、NaCl 5、KH₂PO₄ 0.225、Na₂HPO₄ 5.073、蒸馏水 1 升、pH 7.6, 121℃ 高压蒸气灭菌 15 分钟。将 5 种豚分别配成基础液,分装若干小瓶,灭菌后,无菌加入 0.5% KCN 溶液(0.5 克 KCN 加于 100ml 无菌蒸馏水中),配成含不同浓度的 KCN 培养基(KCN 最终浓度为 1:2000、1:3000、1:4000、1:5000、1:6000、1:8000、1:10000、1:13000 和 1:20000)。每种浓度的培养基按 1 和 4 毫升两种量分装入灭菌器皿中(1 毫升装入 12 × 100 毫米试管塞软木塞,4 毫升装入青霉素小瓶塞胶塞,均用石蜡封口)。同法分装不含 KCN 的培养基做对照。分装后的培养基置 37℃ 培养 24 小时,检查无菌生长后使用。

四、方法

将六种供试菌株的 18—24 小时肉汤培养物,挑取一铂环(环直径 3 毫米,菌液浓度在 10 亿/毫升左右),接种于各种 KCN 浓度的培养基和对照培养基中,用石蜡再次封口,置于 37℃ 培养 24 小时后观察第一次结果,连续观察 4 天。

结 果

一、五种豚与 KCN 浓度、观察时间的关系(见表 1)

表 1 结果说明,用六种供试菌株测试 5 种豚的 KCN 最适浓度(按 1—5 号豚的顺序)分别为 1:10000、1:8000、1:6000、1:5000 和 1:6000,

表 1 五种豚与 KCN 浓度、观察时间的关系

豚 号	供试菌株测试结果	
	KCN 最适浓度	观察时间*(小时)
1	1:10000	48
2	1:8000	48
3	1:6000	48
4	1:5000	48
5	1:6000	96

* 为出现典型反应的时间(典型反应系指已知 KCN 试验阳性菌株均出现阳性反应;KCN 试验阴性菌株均出现阴性反应)。

除 5 号豚外,均可在 48 小时内出现供试菌株的典型反应,显示了不同品质牌号的豚与 KCN 用量之间的关系;同时,每种豚的 KCN 浓度大于或小于最适浓度时,供试菌株则显示不典型反应,如 1、2 号豚(进口豚)在 KCN 浓度 ≤ 1:13000 和 1:10000,观察时间超过 48 小时,则可出现假阳性反应;反之,KCN 浓度 ≥ 1:8000 和 1:6000,观察时间不足 48 小时,则可出现假阴性反应。

二、KCN 培养基不同分装量对试验结果的影响(见表 2)

表 2 最适浓度的 KCN 培养基不同分装量的试验结果

豚 号	KCN 培养基分装量(毫升)	观察时间(小时)	供试菌株		对照试验
			KCN 试验(+)*	KCN 试验(-)	
1	1	24	+	+	+
	4	48	+	-	+
2	1	24	+	+	+
	4	48	+	-	+
3	1	24	+	+	+
	4	48	+	-	+
4	1	24	+	+	+
	4	48	+	-	+
5	1	24	+	+	+
	4	48	+	-	+

* 表中“+”为阳性反应;“-”为阴性反应。

表 2 结果表明,在 5 种豚的 KCN 浓度适宜的条件下,1 毫升分装量的供试菌株在 24 小时后全部呈现阳性结果,说明 1 毫升分装用量,在接种菌量相同的情况下,不能显示典型反应。4 毫升分装量的供试菌株,在 48 小时后可以出现典型反应。在不含 KCN 的对照培养基中供试菌株均呈阳性反应。

讨论与小结

1. 由于 KCN 试验影响因素较多,有人提出操作要严格,要以标准菌株同时作对照,对结果的观察要按规定的时限等,致使该试验在实际应用上受到一定限制。本文报道了用六种标准菌株对几个影响因素的初步探讨,为本试验在

选择胨、氰化钾浓度、观察结果时间、培养基用量等方面提供了一种依据。

2. 实验结果表明,使用不同种类的胨,必须测定加入的KCN最适浓度。用英OXO胰胨和日Csaka聚胨做试验,KCN最适浓度为1:10000和1:8000,国产胨质量稍逊,KCN用量要大,在选用时应予考虑。

3. KCN试验观察结果时间,一般记载2—4天不等^[1,2,3]。本试验结果,除5号胨外,以48小时内观察较为适宜。少于24小时或超过48小时,都有出现假阴性和假阳性的可能。

4. V. Moeller所改进的KCN试验系用10×150毫米小试管分装约1毫升,国内资料记

载,一些试验大多改用青霉素小瓶,4毫升分装。我们重复了上述两种分装量的试验,结果说明1毫升量不能达到试验要求,供试菌株全部显示阳性结果,是否与接种菌量有关,尚需进一步实验、探讨。

参 考 文 献

- [1] 方景灿等译:肠杆菌科,第1版,人民卫生出版社,北京,第4,376页,1960。
- [2] 中华人民共和国卫生部:食品卫生检验方法《微生物学部分》,第1版,技术标准出版社,北京,第130页,1976。
- [3] 上海市卫生防疫站:卫生防疫检验《细菌检验》第1版,科学技术出版社,上海,第87,381页,1979。