



中华人民共和国国家标准

GB 4789.31—2013

GB 4789.31—2013

食品安全国家标准

食品微生物学检验

沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌的肠杆菌科噬菌体诊断检验

中华人民共和国
国家标准
食品安全国家标准
食品微生物学检验

沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌的肠杆菌科噬菌体诊断检验

GB 4789.31—2013

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

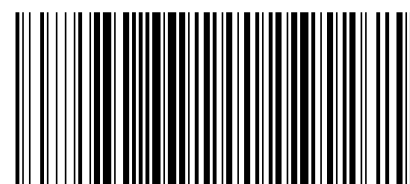
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 30 千字
2014年3月第一版 2014年4月第三次印刷

*

书号: 155066·1-48549 定价 21.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB 4789.31-2013

2013-11-29 发布

2014-06-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

附录 B

增菌液灵敏度测定方法

B.1 沙门氏菌增菌液灵敏度测定方法

B.1.1 试验菌株为沙门氏菌鼠伤寒血清型,沙门氏菌肠炎血清型。

B.1.2 干扰菌株为大肠埃希氏菌。

B.1.3 将试验菌株和干扰菌株接种营养肉汤管,在 36 °C ±1 °C 培养 18 h~24 h。菌液浓度约为 10⁹ CFU/mL。大肠埃希氏菌菌液浓度不需测定,应测定沙门氏菌鼠伤寒血清型和肠炎血清型的菌液浓度。

B.1.4 每组 8 支 15 mm×150 mm 试管,编号,单号试管内每管加入灭菌生理盐水 4.5 mL,双号试管内每管加入灭菌生理盐水 5.0 mL。

B.1.5 在 1 号管内加入沙门氏菌营养肉汤培养液 0.5 mL,在 2 号管内加入沙门氏菌培养液 0.05 mL。再从 2 号管内吸取沙门氏菌稀释菌液,加入到 3 号管内 0.5 mL,加入到 4 号管内 0.05 mL。按此法继续稀释到 8 号管。每次稀释应更换一支吸管。

B.1.6 吸取 6 号管内的稀释菌液各 0.1 mL,分别点加在 2 个营养琼脂平板上,用弯曲的接种环将菌液均匀涂布,待平板表面的菌液干燥后,于 36 °C ±1 °C 培养 14 h~24 h。计算平板上生长的沙门氏菌菌落数,取其平均数,约为 100 CFU。

B.1.7 接 B.1.5,排好若干组每组 10 支需要测定的增菌液,第 8 管到第 10 管都加入 8 号稀释管的稀释菌液各 0.1 mL;第 7 管到第 1 管逆序加入该稀释度的稀释菌液各 0.1 mL。

B.1.8 逆序向每管内加入未稀释的大肠埃希氏菌菌液 0.1 mL。振摇各管,使加入的菌液混合均匀。在 36 °C ±1 °C 培养 18 h~24 h。

B.1.9 振摇各管,使培养物混合均匀。挑取培养物,划线接种到鉴别培养基上,使能够出现单个菌落。在 36 °C ±1 °C 培养 18 h~24 h。

B.1.10 观察在鉴别培养基上沙门氏菌和大肠埃希氏菌菌落的生长情况。按照表 B.1 记录增菌培养的结果。

表 B.1 增菌培养的结果

增菌培养的结果	记录
沙门氏菌菌落数在 90% 以上,大肠埃希氏菌的菌落少见	++++
沙门氏菌菌落数约占 80%	+++
沙门氏菌和大肠埃希氏菌的菌落数分别占 50%	++
平板上大肠埃希氏菌的菌落为主,可见少数几个沙门氏菌的菌落	+
平板上生长的是大肠埃希氏菌的菌落,未见沙门氏菌的菌落	-
注:判定增菌液的灵敏度,是以++++和+++的结果为准。8~10 号管 3 管中有 1 管或 1 管以上达到++++,或+++的增菌效果,就可以判定已经达到这一管的灵敏度(约 1 CFU)。++和+的结果可检出,也可能被疏忽。	

前言

本标准代替 GB/T 4789.31—2003《食品卫生微生物学检验 沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌的肠杆菌科噬菌体检验方法》。

本标准与 GB/T 4789.31—2003 相比,主要变化如下:

——修改了操作步骤;

——增加了附录 B。

硫代硫酸钠	4.5 g
蒸馏水	加至 1 000.0 mL

A.3.2 制法

将 A.3.1 成分混合加热溶解,冷却至 25 °C 校正 pH 至 7.2±0.1,高压灭菌 121 °C,15 min,冷却后分装试管备用。

A.4 营养肉汤(NB)

A.4.1 成分

蛋白胨	15.0 g
牛肉膏	3.0 g
氯化钠	5.0 g
蒸馏水	加至 1 000.0 mL

A.4.2 制法

将 A.4.1 成分混合加热溶解,冷却至 25 °C 校正 pH 至 7.2±0.2,高压灭菌 121 °C,15 min,备用。

A.5 营养琼脂(NA)

成分和制法:在 1 000 mL 营养肉汤(NB)内加入琼脂 15 g(如用作噬菌体试验,只加琼脂 10 g),高压灭菌 120 °C,15 min,备用。

A.6 营养半固体琼脂(NSA)

成分和制法:在 1 000 mL 营养肉汤(NB)内加入琼脂 3 g,高压灭菌 120 °C,15 min,备用。

A.7 三糖铁琼脂(TSI)

A.7.1 成分

蛋白胨	20.0 g
牛肉膏	3.0 g
乳糖	10.0 g
蔗糖	10.0 g
葡萄糖	1.0 g
硫酸亚铁铵(含 6 个结晶水)	0.5 g
酚红	0.025 g 或 5 g/L 溶液 5 mL
氯化钠	5.0 g
硫代硫酸钠	0.5 g
琼脂	12.0 g
蒸馏水	加至 1 000.0 mL

食品安全国家标准

食品微生物学检验

沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌的肠杆菌科噬菌体诊断检验

1 范围

本标准规定了应用肠杆菌科噬菌体诊断方法检验食品中沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌。本标准适用于各类食品和食源性疾病事件样品中沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌的检验。本标准适用于食品行业从业人员肠道沙门氏菌和志贺氏菌带菌检验。

2 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌、培养的设备外,其他设备和材料如下:

- 恒温培养箱:36 °C±1 °C, 42 °C±1 °C,50 °C±1 °C;
- 厌氧培养装置:41.5 °C±0.5 °C;
- 显微镜:10 倍~100 倍;
- 水平仪:噬菌体试验的工作台面应调整至水平位置;
- 已灭菌 1 mL 一次性注射器(应为塑料材质),针头无编号,使用前测定每滴 5 μL~10 μL(每 mL 有 100 滴~200 滴)可用;
- 微量移液器及吸头(10 μL 和 5 μL);
- 定量移液器及吸头(100 μL 和 50 μL);
- 无菌吸管:10 mL、5 mL、1 mL;
- 无菌毛细管;
- 无菌培养皿:90 mm;
- 无菌棉签;
- 带盖的灭菌小试管:8 mm×50 mm;
- 载物玻片。

3 培养基和试剂

- 亚硒酸盐胱氨酸(SC)增菌液:见附录 A 中 A.1。
- 四硫磺酸钠煌绿(TTB)增菌液:见 A.2。
- 志贺氏菌(BCT)增菌液:见 A.3。
- 营养肉汤(NB):见 A.4。
- 营养琼脂(NA):见 A.5。
- 营养半固体琼脂(NSA):见 A.6。
- 三糖铁琼脂(TSI):见 A.7。
- 葡萄糖铵琼脂:见 A.8。