ICS 07.100.30
C 53

中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.30—2008
代替 GB/T 4789.30—2003

食品卫生微生物学检验
单核细胞增生李斯特氏菌检验

Microbiological examination of food hygiene—
Examination of *Listeria monocytogenes*

2008-11-21 发布　　2009-03-01 实施

中华人民共和国卫生部
中国国家标准化管理委员会　发布

GB/T 4789.30—2008

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
食品卫生微生物学检验
单核细胞增生李斯特氏菌检验
GB/T 4789.30—2008
*
中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
网址 www.spc.net.cn
电话:68523946　68517548
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 29 千字
2009年3月第一版　2009年3月第一次印刷
*
书号:155066·1-36035　定价 18.00 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)68533533

GB/T 4789.30-2008

七叶苷	1.0 g
萘啶酮酸	20.0 mg/L
盐酸吖啶黄素	12.0 mg/L
蒸馏水	1 000 mL

A.15.2 制法

将各组分混合，不加入抗生素，调节 pH 到 7.3±0.2，121 ℃高压灭菌 15 min。

用无菌水分别制备 0.5 %（质量浓度）的吖啶黄素溶液和萘啶酮酸溶液，过滤除菌后。分别取 3 mL 吖啶黄素溶液、8 mL 萘啶酮酸溶液加入到 1 000 mL 培养基中。

A.16 李斯特氏菌增菌肉汤（*Listeria* Enrichment Broth，LEB）

A.16.1 成分

胰胨	17.0 g
多价胨	3.0 g
酵母膏	6.0 g
氯化钠	5.0 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
蒸馏水	1 000 mL
盐酸吖啶黄素	15.0 mg/L
萘啶酮酸	40.0 mg/L

A.16.2 制法

将各组分混合，不加入抗生素，调节 pH 到 7.3±0.2，121 ℃高压灭菌 15 min。

用无菌水分别制备 0.5%（质量浓度）的吖啶黄素溶液和萘啶酮酸溶液，过滤除菌后。分别取 3 mL 吖啶黄素溶液、8 mL 萘啶酮酸溶液加入到 1 000 mL 培养基中。

前　言

本标准的第一法修改采用美国 FDA《细菌性检验手册》（Bacteriological analytical manual，Chapter 10，2002）；第二法等同采用国际分析家学会的《单核细胞增生李斯特氏菌检验方法》（AOAC-RI Performance tested methods VIDAS *Listeria monocytogenes* Test，999.06）；第三法等同采用国际分析家学会的《单核细胞增生李斯特氏菌检验方法》（AOAC International Official Method 2003.12，BAX *Listeria monocytogenes*）。

本标准的第一法与美国 FDA/BAM 方法相比主要区别如下：

——增菌培养基以 LB 肉汤替代了 BLEB 肉汤；

——选择性分离培养基以 PALCAM 代替了 OXA，增加了 CHROMagar *Listeria* 显色培养基；

——增加了初筛步骤；

——培养温度以 36 ℃±1 ℃代替 35 ℃。

本标准代替 GB/T 4789.30—2003《食品卫生微生物学检验　单核细胞增生李斯特氏菌检验》。

本标准与 GB/T 4789.30—2003 相比主要修改如下：

——删除了规范性引用文件。

——修改了第一法。包括选择性分离培养基以 PALCAM 代替了 MMA，增加了 CHROMagar *Listeria* 显色培养基；增加了初筛步骤；删除了尿素酶试验和硝酸盐还原试验。

——增加了第二法，全自动酶联荧光免疫分析仪筛选法。

——增加了第三法，全自动病原菌检测系统筛选法。

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中华人民共和国卫生部负责解释。

本标准负责起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准参加起草单位：福建省疾病预防控制中心、陕西省疾病预防控制中心、湖北省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：刘秀梅、杨洋、陈伟伟、郭云昌、田静、马国柱、马弋。

本标准所代替标准的历年版本发布情况为：

——GB/T 4789.30—1994、GB/T 4789.30—2003。

A.9.2.2　其他各种糖发酵管可按上述成分配好后，分装每瓶 100 mL，115 ℃高压灭菌 15 min。另将各种糖类分别配好 10%溶液，同时高压灭菌。将 5 mL 糖溶液加入于 100 mL 培养基内，以无菌操作分装小试管。

A.9.3　试验方法

取适量纯培养物接种于糖发酵管，36 ℃±1 ℃培养 24 h～48 h，观察结果，蓝色为阴性，黄色为阳性。

A.10　过氧化氢酶试验

A.10.1　试剂

3%过氧化氢溶液：临用时配制。

A.10.2　试验方法

用细玻璃棒或一次性接种针挑取单个菌落，置于洁净试管内，滴加 3%过氧化氢溶液 2 mL，观察结果。

A.10.3　结果

于半分钟内发生气泡者为阳性，不发生气泡者为阴性。

A.11　溶菌试剂

A.11.1　成分

蛋白酶	150.0 μL
裂解缓冲液	12.0 mL

A.11.2　制法

将 150.0 μL 蛋白酶加入 1 瓶 12.0 mL 的裂解缓冲液中。将准备日期标记在瓶上，储存在 2 ℃～8 ℃，在两周内使用。

A.12　李斯特氏菌缓冲增菌肉汤(buffered *Listeria* enrichment broth，BLEB)

A.12.1　成分

胰酪胨大豆粉	3.0 g
酵母膏	6.0 g
磷酸氢二钾	1.4 g
磷酸氢二钠	9.6 g
萘啶酮酸	40.0 mg/L
放线菌酮	50.0 mg/L
盐酸吖啶黄素	15.0 mg/L

A.12.2　制法

将各组分混合，不加入抗生素，调节 pH 到 7.3±0.2，121 ℃高压灭菌 15 min。

用无菌水分别制备 0.5%（质量浓度）的吖啶黄素溶液和萘啶酮酸溶液，用 40%(体积分数)的酒精制备 1%的（质量浓度）放线菌酮溶液。过滤除菌后，分别取 3 mL 吖啶黄素溶液、8 mL 萘啶酮酸溶液和 5 mL 放线菌酮溶液加入到 1 000 mL 培养基中。

A.13　丙磺酸钠-李斯特氏菌缓冲增菌肉汤(MOPS-buffered *Listeria* enrichment broth，MOPS-BLEB)

A.13.1　成分

胰酪胨大豆粉	3.0 g
3-(*N*-吗啉代)丙磺酸	6.7 g
3-(*N*-吗啉代)丙磺酸钠	10.5 g

食品卫生微生物学检验
单核细胞增生李斯特氏菌检验

1　范围

本标准规定了食品中单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)的检验方法。

本标准适用于食品和食源性疾病样品中单核细胞增生李斯特氏菌的检验。

2　设备和材料

除微生物实验室常规无菌及培养设备外，其他设备和材料如下：

2.1　冰箱：2 ℃～5 ℃。

2.2　恒温培养箱：30 ℃±1 ℃、36 ℃±1 ℃。

2.3　均质器。

2.4　显微镜：10×～100×。

2.5　电子天平：感量 0.1 g。

2.6　锥形瓶：100 mL、500 mL。

2.7　无菌吸管：1 mL（具 0.01 mL 刻度）、10 mL（具 0.1 mL 刻度）。

2.8　无菌平皿：直径 90 mm。

2.9　无菌试管：16 mm×160 mm。

2.10　离心管：30 mm×100 mm。

2.11　无菌注射器：1 mL。

2.12　金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)。

2.13　马红球菌(*Rhodococcus equi*)。

2.14　小白鼠：16 g～18 g。

2.15　全自动微生物鉴定系统(VITEK)[1]。

2.16　全自动酶联荧光免疫分析仪(mini VIDAS 或 VIDAS)[1]。

2.17　全自动病原菌检测系统(BAX 系统，包含 BAX 系统 Q7)[2]。

3　培养基和试剂

3.1　含 0.6%酵母浸膏的胰酪胨大豆肉汤(TSB-YE)：见第 A.1 章。

3.2　含 0.6%酵母浸膏的胰酪胨大豆琼脂（TSA-YE)：见第 A.2 章。

3.3　李氏增菌肉汤 LB(LB_1，LB_2)：见第 A.3 章。

3.4　1%盐酸吖啶黄(acriflavine HCl)溶液：见 A.3.2.1。

3.5　1%萘啶酮酸钠盐(naladixic acid)溶液：见 A.3.2.1。

3.6　PALCAM 琼脂：见第 A.4 章。

3.7　革兰氏染色液：见第 A.5 章。

1)　由法国生物梅里埃公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效的产品。

2)　由美国杜邦公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效的产品。