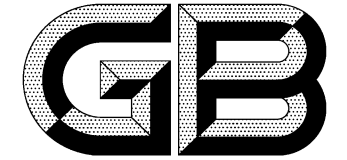


ICS 07.100.30
C 53



中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.10—2003
代替 GB/T 4789.10—1994

GB/T 4789.10—2003

食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

Microbiological examination of food hygiene—
Examination of *Staphylococcus aureus*

中华人民共和国
国家标准
食品卫生微生物学检验
金黄色葡萄球菌检验
GB/T 4789.10—2003

*

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.bzcb.com

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 字数 18 千字
2004年8月第一版 2004年8月第一次印刷

*

书号: 155066·1-21344 定价 12.00 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 4789.10-2003

2003-08-11 发布

2004-01-01 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

前 言

本标准对 GB/T 4789.10—1994《食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》进行修订。

本标准与 GB/T 4789.10—1994 相比主要修改如下：

——按照 GB/T 1.1—2000 对标准文本的格式和文字进行修改。

——修改并规范原标准中的“设备和材料”。

——附录 A 中 A.2.15 试剂浓度由 0.008 mol/L 修改为 0.2 mol/L。

本标准自实施之日起,GB/T 4789.10—1994 同时废止。

本标准的附录 A 是规范性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位:北京市卫生防疫站、中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准主要起草人:刘以贤、冉陆、付萍、姚景会。

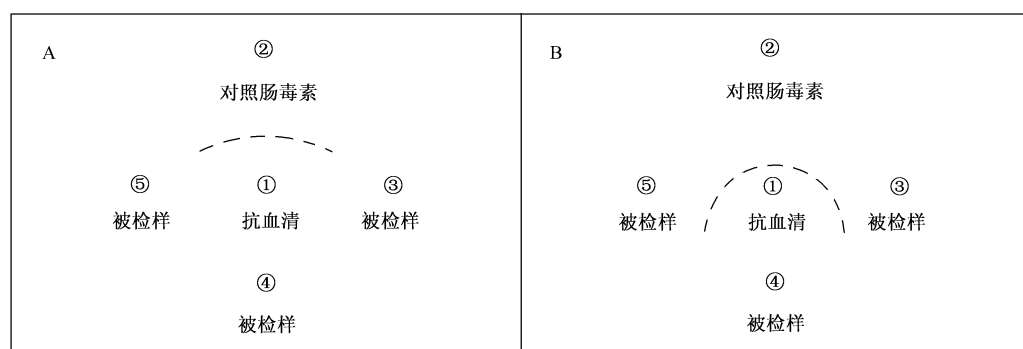
本标准于 1984 年首次发布,1994 年第一次修订,本次为第二次修订。

10 mL三氯甲烷,振摇 10 min,静置,将底层三氯甲烷弃去(如不分层,可 8 000 r/min 离心 20 min)。加入 6 mol/L 盐酸溶液调 pH 至 4.5,8 000 r/min 离心 20 min,取上清液,加 5 mol/L 氢氧化钠溶液,调 pH 至 7.5,离心取上清液,装入透析袋或玻璃纸,用电扇吹干,或放多聚乙二醇浓缩至 1 mL~2 mL,做微玻片双向琼脂扩散。

A. 4.2.2 层析法:如需提取较纯肠毒素,可将上述浓缩液用蒸馏水洗下,装入透析袋,以 0.008 mol/L pH5.6 磷酸盐缓冲液平衡,加入 CM 层析柱内,流速 1 mL/min~2 mL/min,用 0.008 mol/L pH5.6 磷酸盐缓冲液洗脱,再用 0.2 mol/L pH6.8 磷酸盐缓冲液洗脱出肠毒素。洗脱液装入透析袋内,用电扇或多聚乙二醇浓缩至 1 mL,做微玻片双向琼脂扩散,检测肠毒素。

A. 4.3 双向琼脂扩散检测肠毒素

A. 4.3.1 微玻片法:将在 95%乙醇中浸泡的载片用洁净纱布擦干,吸取溶化的 0.2%琼脂糖(蒸馏水配制)滴在载玻片上,使剩余的琼脂糖流下,放在无尘的环境中干燥,先将一层薄塑料板放在载玻片上,然后将带孔的有机玻璃模板边缘涂一层薄的硅胶或凡士林,放在塑料板上,两边用橡皮圈系紧固定,吸取 1%琼脂糖,立即从模板中间孔加入载玻片和模板之间,直至充满琼脂糖,凝固后再将孔中琼脂糖用注射器针头挑去,在中间孔滴加抗血清,四周滴加菌株产毒液或食品提取液,放入加有湿棉球的容器内,放 25℃~30℃、18 h~24 h 观察结果。可在灯光上,并对着暗的背景观察,在抗血清和提取液之间呈现明显沉淀线。如沉淀线只能微弱可见时,可进行染色。具体内容见图 A.4。



A——被检样无肠毒素,为阴性;

B——被检样 3、5 含肠毒素,为阳性;4 无肠毒素,为阴性。

图 A.4

A. 4.3.2 玻片法:吸取溶化的 1%琼脂糖 2.5 mL,铺在洁净载玻片上,凝固后用直径 2.5 mm 的金属打孔器打成辐射型,孔距为 2.5 mm,中心孔加入肠毒素抗血清,周围六个孔加入菌株或食品的肠毒素提取液,放入有滴加 2/10000 三氯化钠湿棉球的容器内,以保持湿度。置 25℃~30℃、18 h~20 h,观察结果,在抗血清的提取物之间有明显沉淀线即为阳性。

A. 4.3.3 染色法:用微玻片法取下胶带和有机玻璃模板,玻片法可直接将玻片放入蒸馏水中浸泡 4 h~8 h,中间换 2 次~3 次水,在下述各液中浸 10 min,10%乙酸中含 1%噻嗪红 R(或氨基黑);1%乙酸;1%乙酸含 1%甘油,如脱色不净,可继续浸泡。取出后盖一滤纸,吸去多余液体,在室温或 35℃烘干。阳性者沉淀被染上颜色,可长期保存。

A. 4.4 酶联免疫法检测肠毒素(双抗体法)

A. 4.4.1 包被抗体:用 0.1 mol/L pH9.5 碳酸盐缓冲液稀释肠毒素抗血清使成 5 μg/mL,加入洗净的苯乙烯凹孔板内,每孔 0.2 mL,置 36℃±1℃ 30 min,弃去上液。

A. 4.4.2 洗涤:用 0.05% 0.02 mol/L pH7.2 吐温-20 缓冲液洗涤五次。

A. 4.4.3 加入检样:如为液体,可直接加入 0.2 mL,固体样品取 100 g,加入 0.2 mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液 100 mL,均质后取过滤液 0.2 mL。

A. 4.4.4 洗涤:同 A.4.4.2。

食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

1 范围

本标准规定了食品中金黄色葡萄球菌的检验方法。

本标准适用于各类食品和食物中毒样品中金黄色葡萄球菌的检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 4789.28—2003 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

3 设备和材料

- 3.1 冰箱:0℃~4℃。
- 3.2 恒温培养箱:36℃±1℃。
- 3.3 显微镜:10×~100×。
- 3.4 均质器或灭菌乳钵。
- 3.5 架盘药物天平:0 g~500 g,精确至 0.5 g。
- 3.6 灭菌试管:10 mm×100 mm、16 mm×160 mm。
- 3.7 灭菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)。
- 3.8 灭菌锥形瓶:500 mL、100 mL。
- 3.9 灭菌培养皿:直径 90 mm。
- 3.10 注射器:0.5 mL。
- 3.11 灭菌 L 型涂布棒。
- 3.12 灭菌刀、剪子、镊子等。

4 培养基和试剂

- 4.1 胰酪胨大豆肉汤:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.59 规定。
- 4.2 7.5%氯化钠肉汤:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.61 规定。
- 4.3 血琼脂平板:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.6 规定。
- 4.4 Baird-Parker 琼脂平板:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.60 规定。
- 4.5 肉浸液肉汤:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.1 规定。
- 4.6 0.85%灭菌生理盐水。
- 4.7 兔血浆:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.63 规定。

5 检验程序

金黄色葡萄球菌检验程序见图 1。