



中华人民共和国国家标准

GB/T 28228—2011

GB/T 28228—2011

入出境船舶压舱水中单核细胞 增生李斯特氏菌的检验方法

Detection of *Listeria monocytogenes* in ballast water of entry-exit ships

中华人民共和国
国家标准
入出境船舶压舱水中单核细胞
增生李斯特氏菌的检验方法
GB/T 28228—2011

*

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(100013)
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

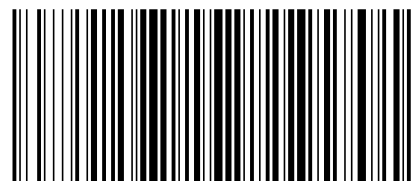
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 15 千字
2012年3月第一版 2012年3月第一次印刷

*

书号: 155066·1-44534 定价 16.00 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/T 28228-2011

2011-12-30 发布

2012-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

A.2.2 PALCAM 选择性添加剂

多粘菌素 B	5.0 mg
盐酸吡啶黄	2.5 mg
头孢他啶	10.0 mg
无菌蒸馏水	500 mL

A.2.3 制法

将 A.2.1 中成分加热溶解,调 pH 至 7.2~7.4,121 °C 高压灭菌 15 min,冷却至 50 °C,加入 2 mL PALCAM 选择性添加剂,混匀后倾倒入无菌平皿,备用。

A.3 含 0.6% 酵母浸膏的胰酪胨大豆琼脂 (TSAye)

A.3.1 成分

胰胨	17.0 g
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
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.3.2 制法

将上述各成分加热搅拌溶解,调 pH 至 7.2~7.4,分装,121 °C 高压灭菌 15 min,备用。

A.4 SIM 动力培养基

A.4.1 成分

胰胨	20.0 g
多价胨	6.0 g
硫酸铁铵	0.2 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼脂	3.5 g
蒸馏水	1 000 mL

A.4.2 制法

将上述各成分加热混匀,调 pH 至 7.2,分装小试管,121 °C 高压灭菌 15 min,备用。

A.5 5% 羊血琼脂

A.5.1 成分

蛋白胨	1.0 g
-----	-------

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准修改采用美国食品和药物管理局(FDA)《细菌学检验手册:单核细胞增生李斯特氏菌的检测和计数》(2003年1月)(BAM;Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*, January 2003)。

本标准与 FDA 方法的主要区别是:

- 增加了初筛步骤;
- 明确了计数步骤;
- 培养箱温度由 35 °C 修改为 36 °C ± 1 °C。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

本标准由中国检验检疫科学研究院归口。

本标准起草单位:中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国秦皇岛出入境检验检疫局、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:张顺合、王林、庞秋艳、张乐、李金有、李俊成、李德昕、聂维忠、陈春田、顾大勇、慈颖、赵彬、韩辉。

5.5.5 协同溶血试验(CAMP)

在羊血琼脂平板上划两条平行线,分别接种金黄色葡萄球菌和马红球菌。挑取典型的纯培养菌落在两平行线之间垂直划线接种,垂直线与两平行线相近但不相交,于 30℃±1℃培养 24 h~48 h,观察培养板上的溶血情况。单核细胞增生李斯特氏菌在靠近金黄色葡萄球菌接种的区域内溶血反应增强,且通常在 24 h 溶血现象比在 48 h 更明显;而在靠近马红球菌接种的区域溶血反应无增强或增强不明显。

5.5.6 鉴定特征

单核细胞增生李斯特氏菌的鉴定特征见表 1。

表 1 单核细胞增生李斯特氏菌的鉴定特征

鼠李糖	木糖	过氧化氢酶	葡萄糖	麦芽糖
+	-	+	+	+
甘露醇	MR/VP 试验	动力试验	溶血试验	协同溶血试验 金葡菌/马红球菌
-	+ / +	+	+	+ / -

注: + 阳性; - 阴性。

5.6 计数

5.6.1 如果样品经试验确定单核细胞增生李斯特氏菌阳性,则将另一份集菌滤膜用于计数。

5.6.2 以无菌操作取集菌滤膜加入 10 mL 蛋白胨缓冲液,充分洗涤后于 20℃±1℃复苏 1 h,移取 0.1 mL 涂布 ALOA 平板,36℃±1℃培养 24 h,计数周围有不透明晕环的圆形蓝绿色小菌落数,平行计数两个平板,取平均值 a 。

5.6.3 每升水样中单核细胞增生李斯特氏菌估算数为 100 a 。

5.7 结果报告

综合以上检测试验结果,报告每升水样中未检出或报出每升水样中单核细胞增生李斯特氏菌估算数。

入出境船舶压舱水中单核细胞 增生李斯特氏菌的检验方法

1 范围

本标准规定了入出境船舶压舱水中单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)的检测程序和方法。

本标准适用于入出境船舶压舱水中单核细胞增生李斯特氏菌的检测。

2 设备和材料

- 2.1 冰箱:2℃~8℃。
- 2.2 恒温培养箱:30℃±1℃,36℃±1℃。
- 2.3 显微镜:10×~100×。
- 2.4 无菌移液管或无菌量筒:1 mL,25 mL,精确到 0.1 mL。
- 2.5 锥形瓶:500 mL。
- 2.6 无菌培养皿:直径 90 mm。
- 2.7 无菌试管:16 mm×125 mm。
- 2.8 接种环。
- 2.9 接种针。
- 2.10 金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)。
- 2.11 马红球菌(*Rhodococcus equi*)。
- 2.12 伊氏李斯特氏菌。
- 2.13 单核细胞增生李斯特氏菌。
- 2.14 英诺克李斯特氏菌。

3 培养基和试剂

- 3.1 李斯特氏菌缓冲增菌肉汤(BLEB):见 A.1。
- 3.2 PALCAM 琼脂:见 A.2。
- 3.3 ALOA 显色培养基¹⁾。
- 3.4 含 0.6% 酵母浸膏的胰酪胨大豆琼脂(TSAye):见 A.3。
- 3.5 SIM 动力培养基:见 A.4。
- 3.6 5% 羊血琼脂:见 A.5。
- 3.7 革兰氏染色液。
- 3.8 3% 过氧化氢溶液:用于过氧化氢酶试验。
- 3.9 生化反应管²⁾:鼠李糖、木糖、葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、MR/VP 试验。

1) 由法国 AES 公司提供的产品的商品名,给出这一信息仅为方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可,如果其他产品具有相同效果,则可使用这些等效产品。

2) 建议使用商品化的生化反应管以保证质量稳定,也可使用自动微生物生化鉴定仪完成。