

ICS 65.120  
B 46



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 8381.2—2005

GB/T 8381.2—2005

## 饲料中志贺氏菌的检测方法

Determination of *Shigella* in feed

中华人民共和国  
国家标准  
饲料中志贺氏菌的检测方法  
GB/T 8381.2—2005

\*

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](http://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 23 千字  
2006年2月第一版 2006年2月第一次印刷

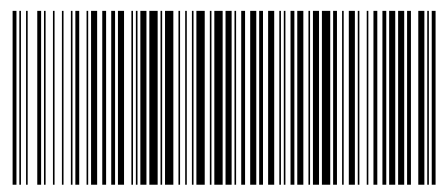
\*

书号:155066·1-26935 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 8381.2—2005

2005-09-05 发布

2006-02-01 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

100 mL 培养基加入 0.5% 氰化钾溶液 2.0 mL(最后浓度为 1:10 000),分装于 12 mm×100 mm 灭菌试管,每管约 4 mL,立刻用灭菌橡皮塞塞紧,放在 4℃ 冰箱内,至少可保存两个月。同时,将不加氰化钾的培养基作为对照培养基,分装试管备用。

### B.12.3 试验方法

将琼脂培养物接种于蛋白胨水内成为稀释菌液,挑取 1 环接种于氰化钾(KCN)培养基。并另挑取 1 环接种于对照培养基。在 36℃±1℃ 培养 1 d~2 d,观察结果。如有细菌生长即为阳性(不抑制),经 2 d 细菌不生长为阴性(抑制)。

**警告:**氰化钾是剧毒药物,使用时应小心,切勿沾染,以免中毒。夏天分装培养基应在冰箱内进行。

试验失败的主要原因是封口不严,氰化钾逐渐分解,产生氢氰酸气体逸出,以致药物浓度降低,细菌生长,因而造成假阳性反应。试验时对每一环节都要特别注意。

## B.13 氨基酸脱羧酶试验培养基

### B.13.1 成分

蛋白胨	5 g
酵母浸膏	3 g
葡萄糖	1 g
蒸馏水	1 000 mL
1.6% 溴甲酚紫-乙醇溶液	1 mL
L-氨基酸或 DL-氨基酸	5 g 或 10 g
pH6.8	

### B.13.2 制法

除氨基酸以外的成分加热溶解后,分装每瓶 100 mL,分别加入各种氨基酸:赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸。L-氨基酸按每瓶 100 mL 中加入 0.5 g 或 DL-氨基酸加入 1 g。再行校正 pH 至 6.8。对照培养基不加氨基酸。分装于灭菌的小试管内,每管 0.5 mL,上面滴加一层液体石蜡,115℃ 高压灭菌 10 min。

### B.13.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取培养物接种,于 36℃±1℃ 培养 18 h~24 h,观察结果。氨基酸脱羧酶阳性者由于产碱,培养基应呈紫色。阴性者无碱性产物,但因葡萄糖产酸而使培养基变为黄色。对照管应为黄色。

## B.14 糖发酵管

### B.14.1 成分

牛肉膏	5 g
蛋白胨	10 g
氯化钠	3 g
磷酸氢二钠(Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O)	2 g
0.2% 溴麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

### B.14.2 制法

**B.14.2.1** 葡萄糖发酵管按上述成分配好后,按 0.5% 加入葡萄糖,分装于有一个倒置小管的小试管内,121℃ 高压灭菌 15 min。

**B.14.2.2** 其他各种糖发酵管可按上述成分配好后,分装每瓶 100 mL,121℃ 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

## 前 言

本标准参照采用 GB/T 4789.5《食品卫生微生物学检验 志贺氏菌检验》的有关内容。

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:国家饲料质量监督检验中心(北京)。

本标准主要起草人:饶正华、李丽蓓、杨曙明、苏晓鸥。

**B.7.2 制法**

将蛋白胨、牛肉膏和氯化钠加入于水中,校正 pH 后加入琼脂加热溶解,再加入指示剂和葡萄糖,分装小试管,121℃灭菌 15 min。

**B.8 半固体管****B.8.1 成分**

蛋白胨	1 g
牛肉膏	0.3 g
氯化钠	0.5 g
琼脂	0.35~0.4 g
蒸馏水	100 mL
pH7.4	

**B.8.2 制法**

按以上成分配好,煮沸使溶解,并校正 pH。分装小试管。121℃高压灭菌 15 min。直立凝固备用。

注:供动力观察、菌种保存、H 抗原位相变异试验等用。

**B.9 葡萄糖铵培养基****B.9.1 成分**

氯化钠	5 g
硫酸镁(MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
磷酸二氢铵	1 g
磷酸氢二钾	1 g
葡萄糖	2 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	40 mL
pH6.8	

**B.9.2 制法**

先将盐类和糖溶解于水内,校正 pH,再加琼脂,加热溶化,然后加入指示剂,混合均匀后分装试管,121℃高压灭菌 15 min,放成斜面。

**B.9.3 试验方法**

用接种针轻轻触及培养物的表面,在盐水管内做成极稀的悬液,肉眼观察不见混浊,以每一接种环内含菌数在 20~100 之间为宜。将接种环灭菌后挑取菌液接种,同时再以同法接种普通斜面一支作为对照。于 36℃±1℃培养 24 h。阳性者葡萄糖铵斜面上有正常大小的菌落生长;阴性者不生长,但在对照培养基上生长良好。如在葡萄糖铵斜面生长极微小的菌落可视为阴性结果。

注:容器使用前应用清洁液浸泡。再用清水、蒸馏水冲洗干净,并用新棉花做成棉塞,干热灭菌后使用。如果操作时不注意,有杂质污染时,易造成假阳性的结果。

**B.10 尿素琼脂(pH7.2)****B.10.1 成分**

蛋白胨	1 g
氯化钠	5 g
葡萄糖	1 g

**饲料中志贺氏菌的检测方法****1 范围**

本标准规定了饲料中志贺氏菌的检测方法。

本标准适用于饲料中志贺氏菌的检测。

**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 14699.1 饲料 采样

**3 设备和材料**

3.1 天平:感量 1 g,最大称量 1 000 g。

3.2 均质器或乳钵。

3.3 恒温培养箱。

3.4 显微镜。

3.5 灭菌广口瓶:500 mL。

3.6 灭菌三角烧瓶:500 mL,250 mL。

3.7 灭菌平皿:皿底直径 90 mm。

3.8 载玻片。

3.9 酒精灯。

3.10 灭菌金属匙或玻璃棒。

3.11 接种棒,镍铬丝。

3.12 试管架。

3.13 硝酸纤维素滤膜:150 mm×50 mm,φ0.45 μm。临用时切成两张,每张 70 mm×50 mm,用铅笔划格,每格 6 mm×6 mm。每行 10 格,分 6 行。灭菌备用。

**4 培养基和试剂**

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水(或去离子水,或相当纯度的水)。

4.1 GN 增菌液:见附录 B 的 B.1 章。

4.2 HE 琼脂:见附录 B 的 B.2 章。

4.3 SS 琼脂:见附录 B 的 B.3 章。

4.4 麦康凯琼脂:见附录 B 的 B.4 章。

4.5 伊红美蓝琼脂(EMB):见附录 B 的 B.5 章。

4.6 三糖铁琼脂(TSI):见附录 B 的 B.6 章。

4.7 葡萄糖半固体管:见附录 B 的 B.7 章。

4.8 半固体管:见附录 B 的 B.8 章。

4.9 葡萄糖铵琼脂:见附录 B 的 B.9 章。

4.10 尿素琼脂(pH7.2):见附录 B 的 B.10 章。