

## 前 言

本标准对 GB/T 4789.28—1994《食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂》进行修订。

本标准与 GB/T 4789.28—1994 相比主要修改如下：

——按照 GB/T 1.1—2000 对标准文本的格式进行修改。

——删去 4.78 中的高盐察氏培养基。

本标准自实施之日起，GB/T 4789.28—1994 同时废止。

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：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：周桂莲、刘宏道、罗雪云、李风琴、付萍。

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。

# 食品卫生微生物学检验

## 染色法、培养基和试剂

### 1 范围

本标准规定了各种染色法、培养基和试剂。

本标准适用于食品和食物中毒样品中各类微生物的检验。

### 2 染色液配制及染色法

#### 2.1 美蓝染色法

##### 2.1.1 吕氏碱性美蓝染色液

美蓝	0.3 g
95%乙醇	30 mL
0.01%氢氧化钾溶液	100 mL

将美蓝溶解于乙醇中,然后与氢氧化钾溶液混合。

##### 2.1.2 染色法

将涂片在火焰上固定,待冷。滴加染液,染 1 min~3 min,水洗,待干,镜检。

##### 2.1.3 结果

菌体呈蓝色。

#### 2.2 革兰氏染色法

##### 2.2.1 结晶紫染色液

结晶紫	1 g
95%乙醇	20 mL
1%草酸铵水溶液	80 mL

将结晶紫溶解于乙醇中,然后与草酸铵溶液混合。

##### 2.2.2 革兰氏碘液

碘	1 g
碘化钾	2 g
蒸馏水	300 mL

将碘与碘化钾先进行混合,加入蒸馏水少许,充分振摇,待完全溶解后,再加蒸馏水至 300 mL。

##### 2.2.3 沙黄复染液

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10 mL
蒸馏水	90 mL

将沙黄溶解于乙醇中,然后用蒸馏水稀释。

##### 2.2.4 染色法

2.2.4.1 将涂片在火焰上固定,滴加结晶紫染色液,染 1 min,水洗。

2.2.4.2 滴加革兰氏碘液,作用 1 min,水洗。

2.2.4.3 滴加 95%乙醇脱色,约 30 s;或将乙醇滴满整个涂片,立即倾去,再用乙醇滴满整个涂片,脱色 10 s。

2.2.4.4 水洗,滴加复染液,复染 1 min。水洗,待干,镜检。

#### 2.2.5 结果

革兰氏阳性菌呈紫色。革兰氏阴性菌呈红色。

注:亦可用 1:10 稀释石炭酸复红染色液作复染液,复染时间仅需 10 s。

### 2.3 耐酸性染色法(萘-倪二氏法)

#### 2.3.1 石炭酸品红染色液

碱性品红	0.3 g
95%乙醇	10 mL
5%酚水溶液	90 mL

将品红溶解于乙醇中,然后与酚溶液混合。

#### 2.3.2 3%盐酸-乙醇

浓盐酸	3 mL
95%乙醇	97 mL

#### 2.3.3 复染液

吕氏碱性美蓝染色液。

#### 2.3.4 染色法

2.3.4.1 将涂片在火焰上加热固定,滴加石炭酸品红染色液,徐徐加热至有蒸气出现,但切不可使沸腾。染液如因蒸发减少时,应随时添加。染 5 min,倾去染液,水洗。

2.3.4.2 滴加盐酸-乙醇脱色,直至无红色脱落为止(所需时间视涂片厚薄而定,一般为 1 min~3 min),水洗。

2.3.4.3 滴加吕氏碱性美蓝染色液。复染 30 s~1 min,水洗,待干,镜检。

2.3.5 结果:耐酸性细菌呈红色,其他细菌、细胞等物质呈蓝色。

### 2.4 柯氏染色法

#### 2.4.1 染色液

2.4.1.1 0.5%沙黄液。

2.4.1.2 0.5%孔雀绿液。

#### 2.4.2 染色法

2.4.2.1 将涂片在火焰上固定,滴加 0.5%沙黄液,并加热至出现气泡,约 2 min~3 min,水洗。

2.4.2.2 滴加 0.5%孔雀绿液,复染 40 s~50 s。水洗,待干,镜检。

#### 2.4.3 结果

布氏杆菌呈红色,其他细菌及细胞呈绿色。

### 2.5 奥尔特氏荚膜染色法

#### 2.5.1 染色液

沙黄	3 g
蒸馏水	100 mL

用乳钵研磨溶解。

#### 2.5.2 染色法

将涂片在火焰上固定,滴加染色液,并加热至产生蒸气后,继续染 3 min。水洗,待干,镜检。

#### 2.5.3 结果

炭疽芽胞杆菌菌体呈赤褐色,荚膜呈黄色。

### 2.6 瑞氏染色法

#### 2.6.1 染色液

瑞氏色素	0.1 g
------	-------