

中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.5—2003
代替 GB/T 4789.5—1994

食品卫生微生物学检验 志贺氏菌检验

Microbiological examination of food hygiene—
Examination of *Shigella*

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 4789.5—1994《食品卫生微生物学检验 志贺氏菌检验》进行修订。

本标准与 GB/T 4789.5—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”。

本标准自实施之日起,GB/T 4789.5—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:江西省卫生防疫站、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:何晓青、冉陆、付萍、杨宝兰、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。

食品卫生微生物学检验

志贺氏菌检验

1 范围

本标准规定了食品中志贺氏菌的检验方法。

本标准适用于各类食品和食物中毒样品中志贺氏菌的检验。

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℃,42℃。
- 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 灭菌广口瓶:500 mL。
- 3.7 灭菌锥形瓶:500 mL、250 mL。
- 3.8 灭菌培养皿:直径 90 mm。
- 3.9 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

- 4.1 GN 增菌液:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.17 规定。
- 4.2 HE 琼脂:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.21 规定。
- 4.3 SS 琼脂:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.22 规定。
- 4.4 麦康凯琼脂:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.24 规定。
- 4.5 伊红美蓝琼脂(EMB):按 GB/T 4789.28—2003 中 4.25 规定。
- 4.6 三糖铁琼脂(TSI):按 GB/T 4789.28—2003 中 4.26、4.27 规定。
- 4.7 葡萄糖半固体管:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.31 规定。
- 4.8 半固体管:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.30 规定。
- 4.9 葡萄糖铵琼脂:按 GB/T 4789.28—2003 中 3.8 规定。
- 4.10 尿素琼脂(pH7.2):按 GB/T 4789.28—2003 中 3.15 规定。
- 4.11 西蒙氏柠檬酸盐琼脂:按 GB/T 4789.28—2003 中 3.5 规定。
- 4.12 氰化钾(KCN)培养基:按 GB/T 4789.28—2003 中 3.16 规定。
- 4.13 氨基酸脱羧酶试验培养基:赖氨酸、鸟氨酸及对照培养基,按 GB/T 4789.28—2003 中 3.12

规定。

4.14 糖发酵管:棉子糖、甘露醇、甘油、七叶苷及水杨苷,按 GB/T 4789.28—2003 中 3.2 规定。

4.15 5%乳糖发酵管:按 GB/T 4789.28—2003 中 4.32 规定。

4.16 蛋白胨水、靛基质试剂:按 GB/T 4789.28—2003 中 3.13 规定。

4.17 志贺氏菌属诊断血清。

5 检验程序

志贺氏菌检验程序见图 1。

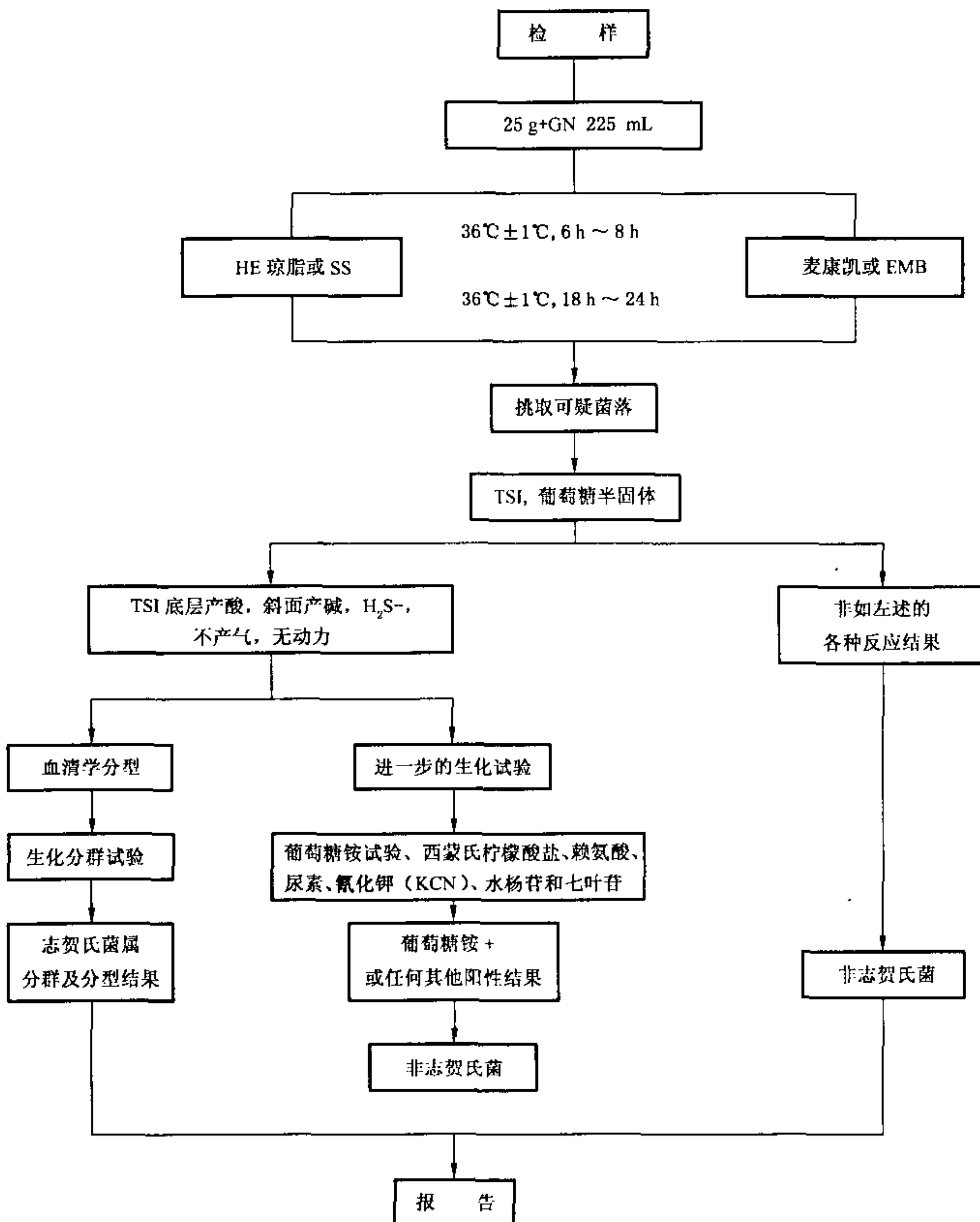


图 1

6 操作步骤

6.1 增菌

以无菌操作取检样 25 g(mL),加入装有 225 mL GN 增菌液的广口瓶内,固体食品用均质器以 8 000 r/min~10 000 r/min打碎 1 min,或用乳钵加灭菌砂磨碎,粉状食品用金属匙或玻璃棒研磨使其乳化,于 36℃培养 6 h~8 h。培养时间视细菌生长情况而定,当培养液出现轻微混浊时即应中止培养。

6.2 分离和初步生化试验

6.2.1 取增菌液 1 环,划线接种于 HE 琼脂平板或 SS 琼脂平板一个;另取 1 环划线接种于麦康凯琼脂平板或伊红美蓝琼脂平板一个,于 36℃培养 18 h~24 h,志贺氏菌在这些培养基上呈现无色透明不发酵乳糖的菌落。

6.2.2 挑取平板上的可疑菌落,接种三糖铁琼脂和葡萄糖半固体各一管。一般应多挑几个菌落,以防遗漏,经 36℃培养 18 h~24 h,分别观察结果。

6.2.3 下述培养物可以弃去:

- a) 在三糖铁琼脂斜面上呈蔓延生长的培养物;
- b) 在 18 h~24 h 内发酵乳糖、蔗糖的培养物;
- c) 不分解葡萄糖和只生长在半固体表面的培养物;
- d) 产气的培养物;
- e) 有动力的培养物;
- f) 产生硫化氢的培养物。

6.2.4 凡是乳糖、蔗糖不发酵,葡萄糖产酸不产气(福氏志贺氏菌 6 型可产生少量气体),无动力的菌株,可做血清学分型和进一步的生化试验。

6.3 血清学分型和进一步的生化试验

6.3.1 血清学分型

挑取三糖铁琼脂上的培养物,做玻片凝集试验。先用四种志贺氏菌多价血清检查,如果由于 K 抗原的存在而不出现凝集,应将菌液煮沸后再检查;如果呈现凝集,则用 A1、A2、B 群多价和 D 群血清分别试验。如系 B 群福氏志贺氏菌,则用群和型因子血清分别检查。福氏志贺氏菌各型和亚型的型和群抗原见表 1。可先用群因子血清检查,再根据群因子血清出现凝集的结果,依次选用型因子血清检查。

4 种志贺氏菌多价血清不凝集的菌株,可用鲍氏多价 1、2、3 分别检查,并进一步用 1~15 各型因子血清检查。如果鲍氏多价血清不凝集,可用痢疾志贺氏菌 3~12 型多价血清及各型因子血清检查。

表 1 福氏志贺氏菌各型和亚型的型抗原和群抗原

型和亚型	型抗原	群抗原	在群因子血清中的凝集		
			3,4	6	7,8
1a	I	1,2,4,5,9.....	+	-	-
1b	I	1,2,4,5,9.....	+	+	-
2a	II	1,3,4.....	+	-	-
2b	II	1,7,8,9.....	-	-	+
3a	III	1,6,7,8,9.....	-	+	+
3b	III	1,3,4,6.....	+	+	-
4a	IV	1,(3,4).....	(+)	-	-
4b	IV	1,3,4,6.....	+	+	-
5a	V	1,3,4.....	+	-	-
5b	V	1,5,7,9.....	-	-	+
6	VI	1,2,(4).....	(+)	-	-
X 变体	-	1,7,8,9.....	-	-	+
Y 变体	-	1,3,4.....	+	-	-

注: +凝集; -不凝集; ()有或无。

6.3.2 进一步的生化试验

在做血清学分型的同时,应做进一步的生化试验,即:葡萄糖铵,西蒙氏柠檬酸盐,赖氨酸和鸟氨酸脱羧酶,pH7.2 尿素,氰化钾(KCN)生长,以及水杨苷和七叶苷的分解。除宋内氏菌和鲍氏 13 型为鸟氨酸阳性外,志贺氏菌属的培养物均为阴性结果。必要时还应做革兰氏染色检查和氧化酶试验,应为氧化酶阴性的革兰氏阴性杆菌。生化反应不符合的菌株,即使能与某种志贺氏菌分型血清发生凝集,仍不得判定为志贺氏菌属的培养物。

已判定为志贺氏菌属的培养物,应进一步做 5%乳糖发酵,甘露醇、棉子糖和甘油的发酵和淀粉试验。志贺氏菌属四个生化群的培养物,应符合该群的生化特性。但福氏 6 型的生化特性与 A 群或 C 群相似,见表 2。

表 2 志贺氏菌属四个群的生化特性

生 化 群	5%乳糖	甘露醇	棉子糖	甘油	淀粉
A 群:痢疾志贺氏菌	—	—	—	(+)	-/+
B 群:福氏志贺氏菌	—	+	+	—	(+)
C 群:鲍氏志贺氏菌	—	+	—	(+)	-/+
D 群:宋内氏志贺氏菌	+/(+)	+	+	d	—

注: + 阳性; - 阴性; -/+ 多数阴性,少数阳性; (+) 迟缓阳性; d 有不同生化型。

6.4 结果报告

综合生化和血清学的试验结果判定菌型并作出报告。