

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1059.1—2002

进出口食品中沙门氏菌 滤膜筛选法

Salmonella in food for import and export—
Membrane filter screening method

2002-01-16 发布

2002-06-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
进出口食品中沙门氏菌
滤膜筛选法

SN/T 1059.1—2002

*

中国标准出版社出版
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
电话:68523946 68517548
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 10 千字
2002年5月第一版 2002年5月第一次印刷
印数 1—2 000

*

书号: 155066·2-14384 定价 8.00 元
网址 www.bzcb.com

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

前 言

本标准是按照 GB/T 1.1—1993《标准化工作导则 第 1 单元:标准的起草与表述规则 第 1 部分:标准编写的基本规定》进行编写的。

本标准中沙门氏菌滤膜筛选法中的培养基、培养温度和滤膜法等内容是参考美国公职分析化学家协会(AOAC)《公定分析方法》(1995 年第 16 版 17.9.09)样品制备,采用 SN 0170—1992《出口食品沙门氏菌属(包括亚利桑那菌)检验方法》,并在实验的基础上编写而成。

本标准的附录 A 是标准的附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准由中华人民共和国天津出入境检验检疫局负责起草。

本标准主要起草人:陈子红、侯丽萍、唐丹舟、张思传、孙俐。

本标准首次发布。

进出口食品中沙门氏菌
滤膜筛选法

SN/T 1059.1—2002

Salmonella in food for import and export—
Membrane filter screening method

1 范围

本标准规定了进出口食品中沙门氏菌滤膜筛选法。

本标准仅适用于进出口方便面、膨化食品、矿泉水、单晶糖、牛奶、饮料、禽肉、椒粒中沙门氏菌筛选。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

SN 0170—1992 出口食品沙门氏菌属(包括亚利桑那菌)检验方法

SN 0330—1994 出口食品中微生物学检验通则

3 抽样

按 SN 0330 规定执行。

4 试验方法

4.1 方法原理

将滤膜放入滤器,过滤样品。由于滤膜的作用而使沙门氏菌保留在膜表面上。将滤膜放在 EF-18 培养基上培养,沙门氏菌形成绿色、蓝绿色、蓝色或黄色菌落。

4.2 设备和材料

4.2.1 滤器:一套,备有预滤器。

4.2.2 真空泵。

4.2.3 滤膜:有机或水相,孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 。

4.2.4 培养箱: $36\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$, $42\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$ 。

4.2.5 水浴箱: $45\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$, $37\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$ 。

4.2.6 吸管:1 mL、10 mL,具刻度。

4.2.7 玻璃三角瓶和广口瓶:250 mL、500 mL。

4.2.8 试管:17 mm×170 mm,玻璃制。

4.2.9 玻璃珠:直径 5 mm。

4.2.10 平皿:直径 90 mm。

4.2.11 天平:感量 0.1 g。

4.2.12 均质器。

4.3 培养基和试剂

4.3.1 蛋白胨-吐温 80(PT)稀释液(见附录 A A1)。

4.3.2 四硫磺酸盐肉汤(加碘和煌绿)(见附录 A A2)。

4.3.3 EF-18 琼脂(见附录 A A3)。

4.4 样品制备及增菌培养

4.4.1 如为冷冻产品,应在 45℃以下不超过 15 min,或在 2℃~5℃不超过 18 h 解冻。若不能及时检验,应置于-15℃左右保存。非冷冻而易腐的食品,置于 4℃冰箱保存。

4.4.2 以无菌操作,称取 25 g(mL)样品,置于灭菌均质杯内,加入 25 mL PT 稀释液,以 8 000~10 000 r/min 均质 1 min,放入装有 200 mL PT 稀释液的 500 mL 灭菌广口瓶,混合均匀,如 pH 低于 6.6,用灭菌 1 mol/L 氢氧化钠溶液,调 pH 至 6.8 ± 0.2 ,放入 37℃水浴培养 4 h(以增菌液达到 37℃时算起),进行前增菌;其后,移取 10 mL 转种于盛有 100 mL 四硫磺酸盐肉汤(加碘和煌绿)的 250 mL 灭菌广口瓶内,摇匀,42℃ \pm 1℃培养 20 h \pm 2 h,进行选择性的增菌。

4.5 过滤和培养

将灭菌的过滤装置连接于真空抽滤瓶上,以无菌操作将无菌滤膜放在抽滤底座上,用不锈钢夹子固定。以无菌操作加 10 mL~20 mL 无菌蒸馏水于滤器中,用灭菌吸管取选择性增菌液 1 mL 放入滤器中,打开真空泵抽吸液体。再加入 10 mL~15 mL 无菌蒸馏水抽取液体,抽干后关闭真空泵,打开底座夹,以无菌镊子取出滤膜,将滤膜移至预先干燥好 EF-18 琼脂平板表面上,滤膜与琼脂表面之间应无气泡,在 42℃ \pm 1℃培养 18~24 h,无菌落生长则为阴性。

4.6 典型或可疑菌落的鉴定

典型沙门氏菌菌落既不是水滴样又不是粘液状,一般呈绿色、翡翠绿色或蓝绿色,有时呈蓝色(赖氨酸阳性菌和蔗糖阴性菌)和黄色(赖氨酸阴性菌和蔗糖阳性菌)。

从平板上挑选 3 个典型或可疑菌落,按照 SN 0170—1992 中第 4 章进行生化和血清学鉴定。

5 报告结果

5.1 报告阳性结果:“沙门氏菌检出/25 g”。

5.2 报告阴性结果:“沙门氏菌未检出/25 g”。

附 录 A
(标准的附录)
培养基和试剂

A1 蛋白胨-吐温 80(PT)稀释液

- | | |
|----------|----------|
| a) 蛋白胨 | 1.0 g |
| b) 吐温 80 | 10.0 g |
| c) 蒸馏水 | 1 000 mL |

将上述成分加热溶解,于 121℃ 高压灭菌 15 min。

A2 四硫磺酸盐肉汤(加碘和煌绿)

A2.1 基础肉汤制备

- | | |
|------------------|----------|
| a) 多价蛋白胨 | 5.0 g |
| b) 胆盐 | 1.0 g |
| c) 碳酸钙 | 10 g |
| d) 硫代硫酸钠(5 个分子水) | 30 g |
| e) 蒸馏水 | 1 000 mL |

将上述成分混合加热煮沸(沉淀不会完全溶解),冷却至 45℃ 储存于冰箱(5℃~8℃)内备用。

A2.2 碘-碘化钾溶液制备

将 5 g 碘化钾溶解于 5 mL 灭菌蒸馏水中,加入 6 g 碘溶解后,用灭菌蒸馏水稀释至 20 mL 备用。

A2.3 煌绿溶液制备

称取煌绿染料 0.1 g 溶解于灭菌的蒸馏水中并稀释至 100 mL,备用。

A2.4 使用

在使用的当天,将 20 mL 碘-碘化钾溶液,10 mL 煌绿溶液加入 1 000 mL 基础肉汤中,缓慢震荡将沉淀悬浮起来。并以无菌操作以 10 mL 分装于 17 mm×170 mm 灭菌的试管内,不要加热,使用前保持温度在 25℃~35℃。

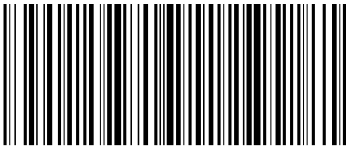
A3 EF-18 琼脂

- | | |
|--------------------------------|----------|
| a) 胨蛋白胨 | 5.0 g |
| b) 酵母浸膏 | 3.0 g |
| c) L-赖氨酸盐酸盐 | 10.0 g |
| d) D-葡萄糖 | 2.5 g |
| e) 蔗糖 | 15 g |
| f) 硫酸镁($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) | 1.5 g |
| g) 胆盐 | 1.5 g |
| h) 磺胺吡啶 | 0.3 g |
| i) 溴麝香草酚蓝钠盐 | 0.03 g |
| j) 琼脂 | 15.0 g |
| k) 蒸馏水 | 1 000 mL |

加热搅拌至煮沸,完全溶解。本培养基不需高压灭菌,冷却至 45℃~50℃。配制新生霉素溶液,溶解 0.15 g 新生霉素于 10 mL 水中,用 0.45 μm 滤膜过滤除菌。于保温的 1 000 mL EF-18 琼脂基础中加入

1.0 mL 除菌的新生霉素溶液,混匀。将培养基倾注于陪替氏皿中,每皿 20 mL,凝固后培养基的最终 pH 应为 6.8 ± 0.1 。未使用的新生霉素于 $4\text{C} \sim 6\text{C}$,贮存备用。

注意:正确调节 pH 是该培养基效能的关键。用平面探头测定固体培养基 pH。也可在倾注陪替氏平皿前,以无菌操作,用灭菌的 1 mol/L 盐酸或氢氧化钠调节 pH 至 6.6 ± 0.1 。



SN/T 1059.1—2002

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-14384

定价: 8.00 元

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com