

# 镇江食品中产气荚膜梭菌检测机构

产品名称	镇江食品中产气荚膜梭菌检测机构
公司名称	广分检测技术（苏州）有限公司检测部
价格	1300.00/件
规格参数	品牌:GFQT 周期:5-7个工作日 检测范围:全国
公司地址	江苏省昆山市陆家镇星圃路12号智汇新城B区7栋
联系电话	0512-65587132 17312626973

## 产品详情

下食品产气荚膜梭菌的测定方法相关信息。

检测方法标准依据：GB 4789.13-2012 食品安全国家标准 食品微生物学检验 产气荚膜梭菌检验

### 1.范围

本标准规定了食品中产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)的检验方法。

本标准适用于食品中产气荚膜梭菌的检验。

### 2.设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

a) 恒温培养箱: $36 \pm 1$  ;

b) 冰箱: $2 \sim 5$  ;

c) 恒温水浴箱: $50 \pm 1$  , $46 \pm 0.5$  ;

d) 天平:感量0.1g;

e) 均质器;

f) 显微镜: $10 \times \sim 100 \times$  ;

g) 无菌吸管:1mL(具0.01mL刻度)、10mL(具0.1mL刻度)或微量移液器及吸头;

h) 无菌试管:18mmx180mm;

i) 无菌培养皿:直径90mm;

j) pH计或pH比色管或精密pH试纸;

k) 厌氧培养装置。

### 3.培养基和试剂

3.1 胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸(TSC)琼脂:见附录A中A.1。

3.2 液体硫乙醇酸盐培养基(FTG):见附录A中A.2。

3.3 缓冲动力-硝酸盐培养基:见附录A中A.3。

3.4 乳糖-明胶培养基:见附录A中A4。

3.5 含铁牛乳培养基:见附录A中A5。

3.6 0.1%蛋白胨水:见附录A中A.6。

3.7 革兰氏染色液:见附录A中A.7。

3.8 硝酸盐还原试剂:见附录A中A8。

3.9 缓冲甘油-氯化钠溶液:见附录A中A.9。

### 4.检验程序

产气荚膜梭菌检验程序见图1。

## 5.操作步骤

### 5.1 样品制备

5.1.1 样品采集后应尽快检验,若不能及时检验,可在2 ~ 5 保存;如8h内不能进行检验,应以无菌操作称取25g(mL)样品加入等量缓冲甘油-

氯化钠溶液(液体样品应加双料),并尽快至于-60 低温冰箱中冷冻保存或加干冰保存。

5.1.2 以无菌操作称取25g(mL)样品放入含有225mL0.1%蛋白胨水(如为5.1.1中冷冻保存样品,室温解冻后,加入200mL0.1%蛋白胨水)的均质袋中,在拍击式均质器上连续均质1min ~ 2min;或置于盛有225mL0.1%蛋白胨水的均质杯中,8000r/min ~ 10000r/min均质1min ~ 2min,作为1:10稀释液。

5.1.3 以上述1:10稀释液按1mL加0.1%蛋白胨水9mL制备 $10^{-2}$  ~  $10^{-6}$ 的系列稀释液。

### 5.2 培养

5.2.1 吸取各稀释液1mL加入无菌平皿内,每个稀释度做两个平行。每个平皿倾注冷却至50 的TSC琼脂(可放置于 $50 \pm 1$  恒温水浴箱中保温)15mL,缓慢旋转平皿,使稀释液和琼脂充分混匀。

5.2.2 上述琼脂平板凝固后,再加10mL冷却至50 的TSC琼脂(可放置于 $50 \pm 1$  恒温水浴箱中保温)均匀覆盖平板表层。

5.2.3 待琼脂凝固后,正置于厌氧培养装置内, $36 \pm 1$  培养20h ~ 24h。

5.2.4 典型的产气荚膜梭菌在TSC琼脂平板上为黑色菌落。

### 5.3 确证试验

5.3.1 从单个平板上任选5个(小于5个全选)黑色菌落,分别接种到FTG培养基,36 ± 1 培养18h ~ 24h

5.3.2 用上述培养液涂片,革兰氏染色镜检并观察其纯度。产气荚膜梭菌为革兰氏阳性粗短的杆菌,有时可见芽孢体。如果培养液不纯,应划线接种TSC琼脂平板进行分纯,36 ± 1 厌氧培养20h ~ 24h挑取单个典型黑色菌落接种到FTG培养基,36 ± 1 培养18h ~ 24h,用于后续的确证试验。

5.3.3 取生长旺盛的FTG培养液1mL接种于含铁牛乳培养基,在46 ± 0.5 水浴中培养2h后,每小时观察一次有无“暴烈发酵”现象,该现象的特点是乳凝结物破碎后快速形成海绵样物质,通常会上升到培养基表面。5h内不发酵者为阴性。产气荚膜梭菌发酵乳糖,凝固酪蛋白并大量产气,呈“暴烈发酵”现象,但培养基不变黑。

5.3.4 用接种环(针)取FrG培养液穿刺接种缓冲动力-硝酸盐培养基,于36 ± 1 培养24h。在透射光下检查细菌沿穿刺线的生长情况,判定有无动力。有动力的菌株沿穿刺线呈扩散生长,无动力的菌株只沿穿刺线生长。然后滴加0.5mL试剂甲和0.2mL试剂乙以检查亚硝酸盐的存在。15min内出现红色者,表明硝酸盐被还原为亚硝酸盐;如果不出现颜色变化,则加少许锌粉,放置10min,出现红色者,表明该菌株不能还原硝酸盐。产气荚膜梭菌无动力,能将硝酸盐还原为亚硝酸盐。

5.3.5 用接种环(针)取FTG培养液穿刺接种乳糖-明胶培养基,于36 ± 1 培养24h,观察结果如发现产气和培养基由红变黄,表明乳糖被发酵并产酸。将试管于5 左右放置1h,检查明胶液化情况。

如果培养基是固态,于 $36 \pm 1$  再培养24h,重复检查明胶是否液化。产气荚膜梭菌能发酵乳糖,使明胶液化

。