

WS

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 80—1996

葡萄球菌食物中毒 诊断标准及处理原则

**Diagnostic criteria and principles of management
for food poisoning of *Staphylococcus aureus***

1997-01-11 发布

1997-09-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

订单号: 0100190118034991 防伪编号: 2019-0118-0352-4216-7687 购买单位: 光泽疾控中心

版权声明

中国标准在线服务网(www.spc.org.cn)是中国质检出版社委托北京标科网络技术有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

中国标准在线服务网
<http://www.spc.org.cn>

标准号: WS/T 80-1996
购买者: 光泽疾控中心
订单号: 0100190118034991
防伪号: 2019-0118-0352-4216-7687
时 间: 2019-01-18
定 价: 19元

中华人民共和国卫生
行 业 标 准
葡 萄 球 菌 食 物 中 毒
诊 断 标 准 及 处 理 原 则
WS/T 80—1996

*

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:68522112

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售
版权专有 不得翻印

*

开本 880×1230 1/16 印张 1/2 字数 12千字
1997年6月第一版 1997年6月第一次印刷
印数 1—800

*

书号: 155066·2-11501

*

标 目 312—094

中华人民共和国卫生行业标准

葡萄球菌食物中毒 诊断标准及处理原则

WS/T 80—1996

Diagnostic criteria and principles of management
for food poisoning of *Staphylococcus aureus*

1 主题内容与适用范围

本标准规定了葡萄球菌食物中毒的诊断标准、判定原则和处理原则。
本标准适用于葡萄球菌食物中毒。

2 引用标准

GB 4789.10—94 食品卫生微生物学检验 葡萄球菌检验
GB 14938—94 食物中毒诊断标准及技术处理总则

3 诊断标准

3.1 流行病学特点

3.1.1 国内最常见的中毒食品为乳及乳制品,蛋及蛋制品,各类熟肉制品,其次为含有乳制品的冷冻食品,个别也有含淀粉类食品。

3.1.2 其流行病学特征为起病急,潜伏期一般在2~4 h。

3.2 临床表现

主要症状为恶心,剧烈地反复呕吐、腹痛、腹泻等胃肠道症状。

3.3 实验室诊断

3.3.1 从中毒食品中直接检测肠毒素(肠毒素检测方法见附录A),并确定其型别。

3.3.2 从中毒食品、患者呕吐物、粪便中经培养分离出金黄色葡萄球菌,菌株再检测肠毒素,证实为同一型别。

3.3.3 金黄色葡萄球菌检测方法见GB 4789.10。

4 判定原则

4.1 符合本标准流行病学特点及临床表现。

4.2 实验室诊断

4.2.1 中毒食品中检出肠毒素。

4.2.2 从中毒食品、患者吐泻物中经培养检出金黄色葡萄球菌,菌株经肠毒素检测证实不同样品中检出同一型别肠毒素。

4.2.3 从不同患者吐泻物中检出金黄色葡萄球菌,其肠毒素为同一型别。

4.2.4 凡符合其中一项者即可判断葡萄球菌食物中毒。

中华人民共和国卫生部1997-01-11批准

1997-09-01实施

5 处理原则

按 GB 14938 执行。

附录 A

葡萄球菌肠毒素检测方法 (补充件)

A1 设备和材料

- A1.1 均质器。
- A1.2 冰箱。
- A1.3 离心机。
- A1.4 分液漏斗。
- A1.5 透析袋。
- A1.6 振荡培养箱。
- A1.7 10 mL、1 mL 吸管。
- A1.8 电扇。
- A1.9 载玻片。
- A1.10 三角瓶:250 mL。
- A1.11 150 mm 直径大平皿。
- A1.12 玻璃纸。
- A1.13 镊子。
- A1.14 三角棒。
- A1.15 直径 2.5 mm 金属打孔器。
- A1.16 塑料模板。

A2 培养基和试剂

A2.1 产毒培养基

蛋白胨	10 g
多价蛋白胨	10 g
胰消化酪蛋白	200 mg(氨基氮)
氯化钠	5 g
磷酸氢二钾	1 g
磷酸二氢钾	1 g
氯化钙	0.1 g
硫酸镁	0.2 g
菸酸	0.01 g
蒸馏水	加至 1 000 mL
琼脂	10~12 g(固体透析培养用)
pH7.2~7.4, 103.43 kPa(15 lb)高压灭菌 30 min。	

A2.2 营养琼脂。

A2.3 1%琼脂糖

在注射生理盐水 100 mL 中,加 1 g 琼脂糖,68.95 kPa(10 lb)10 min 高压灭菌。

A2.4 0.2%琼脂糖(蒸馏水配制)。

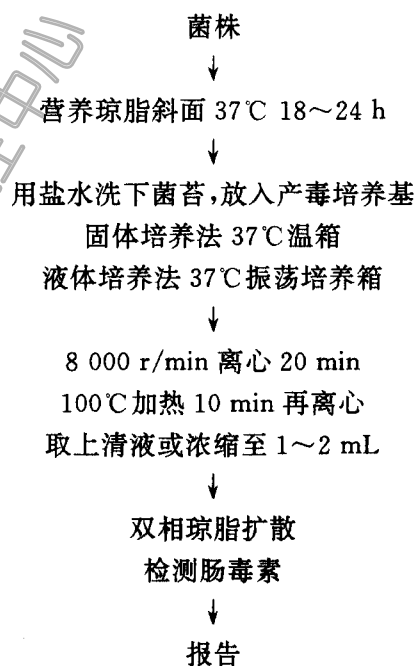
A2.5 0.2 mol/L pH7.5 盐水。

- A2.6 三氯甲烷。
 A2.7 6 mol/L 盐酸。
 A2.8 5 mol/L 氢氧化钠。
 A2.9 生理盐水。
 A2.10 1%(V/V)乙酸。
 A2.11 0.1%噻嗪红 R〔用 1%(V/V)乙酸配制〕。
 A2.12 硅胶或凡士林。
 A2.13 A、B、C、D 型葡萄球菌肠毒素和抗血清。

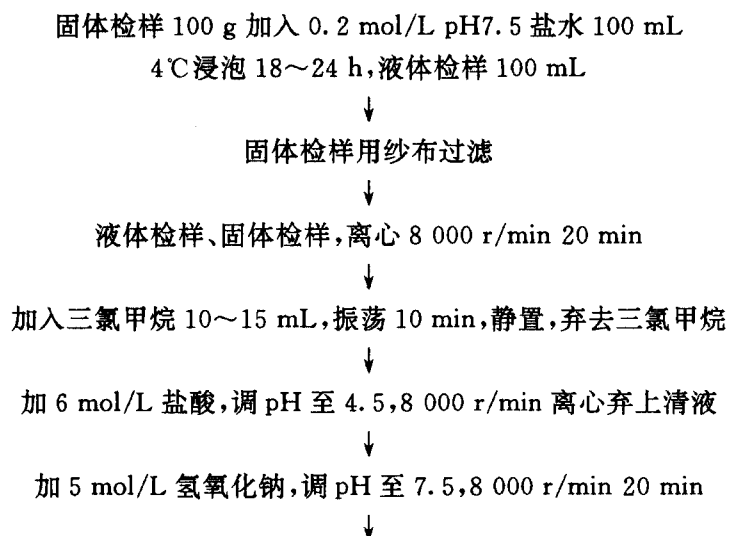
A3 检验程序

从食物中检验肠毒素检验程序如下。

A3.1 从菌株检测肠毒素



A3.2 从食物检样中提取肠毒素



取上清液放入透析袋内,浓缩至 1~2 mL



用微玻片法检测肠毒素



报告

A4 中毒食品提取肠毒素方法

取食品样品 100 g,加入灭菌 0.2 mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液,均质成匀浆,放冰箱(4℃)浸泡 18~24 h。用纱布过滤,将滤液离心 8 000 r/min 20 min,取上清液放入分液漏斗中,加入 10 mL 三氯甲烷,振荡,静置 10 min,将底层三氯甲烷弃去(如不分层可 8 000 r/min 离心 20 min)。加 6 mol/L 盐酸调 pH 至 4.5,8 000 r/min 离心 20 min,取上清液,加 5 mol/L 氢氧化钠,调 pH 至 7.5,离心,取上清液,装入透析袋或玻璃纸内,用电扇吹干或放多聚乙二醇浓缩至 1~2 mL。做微玻片双向琼脂扩散(如用灵敏度高的其他免疫学方法也可不浓缩直接检测),检测肠毒素。

A5 菌株提取肠毒素方法

A5.1 液体透析培养法

将宽 2.5 cm、长 80 cm 的透析袋内装入 60 mL 产毒培养基,两端系紧,将透析袋装入 250 mL 三角瓶内,加入 15 mL 灭菌生理盐水。透析袋两端留在瓶口,用棉塞塞好,高压灭菌 103.43 kPa 30 min。待测的菌株接种营养琼脂斜面(试管 18 mm×180 mm),37℃培养 24 h,用生理盐水 5 mL 洗下菌苔,倾入上述培养瓶中,每个菌株种一瓶,37℃振荡培养 48 h,转速 100 次/min。吸出菌液离心 8 000 r/min 30 min。取上清液加热 100℃ 10 min,再离心,8 000 r/min 15 min。取上清液做双相琼脂扩散。如为阴性,再装入透析袋内,用电风扇吹,或用多聚乙二醇浓缩至 1~2 mL,再做琼脂扩散。

A5.2 固体透析培养法

直径 150 mm 的灭菌平皿倾入灭菌产毒培养基,约 100~120 mL,凝固后表面铺一灭菌玻璃纸。接种在营养琼脂菌株,放 37℃培养 24 h,用约 3 mL 灭菌盐水,洗下菌苔,倾在玻璃纸上,用灭菌三角棒涂满灭菌平皿,37℃培养 48 h,加 10~20 mL 灭菌生理盐水,用三角棒刮取菌苔,吸出菌液 8 000 r/min 30 min 离心,取上清液做双相琼脂扩散,如为阴性,将培养液再装入透析袋内浓缩后再做琼脂扩散。

A6 双相琼脂扩散检测肠毒素

A6.1 微玻片法

将在 95%酒精中浸泡的载玻片,用洁净的纱布擦干,吸取溶化的 0.2%琼脂糖(蒸馏水配制)滴在载玻片上,使剩余的琼脂糖流下,放入无尘的环境中干燥。先将一层薄塑料板放在载玻片上,然后将袋孔的塑料膜板边缘涂一层薄的硅胶或凡士林,放在塑料板上,两边用橡皮圈系紧固定,吸取 1%琼脂糖,立即从模板中间孔加入载玻片和膜板之间,直至充满琼脂糖。凝固后在中间孔滴加抗血清,四周滴加菌株产毒液或食品提取液,放入加有湿棉球的平皿内,放 25~30℃、18~24 h 观察结果。可在灯光上,并对着暗的背景观察,在抗体血清和提取液之间呈现明显沉淀线。如沉淀线只能微弱可见时,可进行染色。

A6.2 玻片法

吸取溶化的 1%琼脂糖 2.5 mL,铺在洁净载玻片上,凝固后用直径 2.5 mm 的金属打孔器打成辐射型,孔距为 2.5 mm,中心孔加入肠毒素抗血清,周围六个加入菌株或食品的提取液,放平皿内,再放一块滴有 2/万三氯化钠的湿棉球以保持平皿内湿度,置 25~30℃、18~20 h 观察结果,在血清和提取物之间有明显沉淀线即为阳性。

染色方法:取下胶带和塑料模板,将玻片放在蒸馏水中浸泡约 4~8 h,在 100 mL 1%乙酸中加入 100 mg 噻嗪红 R(或氨基黑 B)、1%乙酸、1%甘油+1%乙酸三种溶液依次浸泡 10 min,如脱色不净,可

继续浸泡。排除多余液体,在室温或 35℃温箱烘干,沉淀线被染成染料颜色。

A7 动物试验检测肠毒素

A7.1 肠毒素的制备

将分离菌株的肉汤培养物 1~2 mL,加入杜尔曼培养基上,使菌液平铺于培养基表面(平皿不能倒置),置 37℃ 10%二氧化碳环境(可用密闭缸燃烛法产生二氧化碳)中培养 72 h,于培养基中加入无菌生理盐水 10 mL,捣碎琼脂使成糜粥状,离心 8 000 r/min 30 min,取上清液置沸水浴中煮沸 30 min。

A7.2 注射前准备

先给幼猫喂少量食物,以便观察呕吐反应。

A7.3 动物接种和观察

取上清液按幼猫体重(生后约 6~8 周)1 mL/100 g 量,注射于腹腔内,在注射后 4 h 如有恶心、呕吐、腹泻体温上升或死亡等现象,同时以未接种菌的培养基上清液接种幼猫作为对照。若对照猫阴性,而实验猫出现反应,即为肠毒素阳性。

A8 判断标准

如发生争执时以微玻片法为依据。

附加说明:

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准由北京市食品卫生监督检验所负责起草。

本标准主要起草人刘以贤。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部食品卫生监督检验所负责解释。



WS/T 80-1996

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·2-11501