



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.10—2008  
代替 GB/T 4789.10—2003

---

## 食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

Microbiological examination of food hygiene—  
Detection of *Staphylococcus aureus*

2008-11-21 发布

2009-03-01 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

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
食 品 卫 生 微 生 物 学 检 验  
金 黄 色 葡 萄 球 菌 检 验  
GB/T 4789.10—2008

\*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行  
北 京 复 兴 门 外 三 里 河 北 街 16 号  
邮 政 编 码 : 100045

网 址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

电 话 : 68523946 68517548

中 国 标 准 出 版 社 秦 皇 岛 印 刷 厂 印 刷  
各 地 新 华 书 店 经 销

\*

开 本 880×1230 1/16 印 张 1 字 数 24 千 字  
2009 年 3 月 第 一 版 2009 年 3 月 第 一 次 印 刷

\*

书 号 : 155066 · 1-36102 定 价 16.00 元

如 有 印 装 差 错 由 本 社 发 行 中 心 调 换  
版 权 专 有 侵 权 必 究  
举 报 电 话 : (010)68533533

## 前 言

本标准对应于国际分析家学会(AOAC INTERNATIONAL)AOAC 987.09《食品中金黄色葡萄球菌分离和计数 MPN法》(1991年)(AOAC Official Method 987.09, *Staphylococcus aureus* in foods most probable number method for isolation and enumeration)和国际标准化组织 ISO 6888-1:1999《食品和动物饲料中血浆凝固酶阳性葡萄球菌、金黄色葡萄球菌和其他葡萄球菌计数方法》(Microbiology of food and animal feeding stuffs—Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive *staphylococci*, *Staphylococcus aureus* and other species—Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium)。本标准与 AOAC Official Method 987.09、ISO 6888-1:1999 的一致性程度为非等效。

本标准代替 GB/T 4789.10—2003《食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》。

本标准与 GB/T 4789.10—2003 相比主要修改如下：

- 规范了样品制备过程；
- 对原标准中血浆凝固酶部分进行了修改。

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准由中华人民共和国卫生部负责解释。

本标准负责起草单位：中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准参与起草单位：上海市疾病预防控制中心、中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局、中华人民共和国内蒙古出入境检验检疫局、江苏省疾病预防控制中心。

本标准主要起草人：刘秀梅、陈敏、刘弘、刘中学、卢行安、袁宝君、田静。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 4789.10—1984、GB/T 4789.10—1994、GB/T 4789.10—2003。

# 食品卫生微生物学检验

## 金黄色葡萄球菌检验

### 1 范围

本标准规定了食品中金黄色葡萄球菌的检验方法。

本标准适用于各类食品和食物中毒样品中金黄色葡萄球菌的检验。

### 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:

- 2.1 恒温培养箱:36℃±1℃。
- 2.2 冰箱:2℃~5℃。
- 2.3 恒温水浴箱:37℃±1℃。
- 2.4 天平:感量0.1g。
- 2.5 均质器。
- 2.6 振荡器。
- 2.7 无菌吸管:1 mL(具0.01 mL刻度)、10 mL(具0.1 mL刻度)或微量移液器及吸头。
- 2.8 无菌锥形瓶:容量100 mL、500 mL。
- 2.9 无菌培养皿:直径90 mm。
- 2.10 注射器:0.5 mL。
- 2.11 pH计或pH比色管或精密pH试纸。

### 3 培养基和试剂

- 3.1 10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤:见第A.1章。
- 3.2 7.5%氯化钠肉汤:见第A.2章。
- 3.3 血琼脂平板:见第A.3章。
- 3.4 Baird-Parker 琼脂平板:见第A.4章。
- 3.5 脑心浸出液(BHI)肉汤:见第A.5章。
- 3.6 兔血浆:见第A.6章。
- 3.7 磷酸盐缓冲液:见第A.7章。
- 3.8 营养琼脂斜面:见第A.8章。
- 3.9 革兰氏染色液:见第A.9章。
- 3.10 无菌生理盐水:称取8.5g氯化钠溶于1 000 mL蒸馏水中,121℃高压灭菌15 min。
- 3.11 1 mol/L 氢氧化钠(NaOH):称取40 g氢氧化钠(NaOH)溶于1 000 mL蒸馏水中。
- 3.12 1 mol/L 盐酸(HCl):37%浓盐酸90 mL,加蒸馏水到1 000 mL。

### 4 检验程序

检验程序见图1。

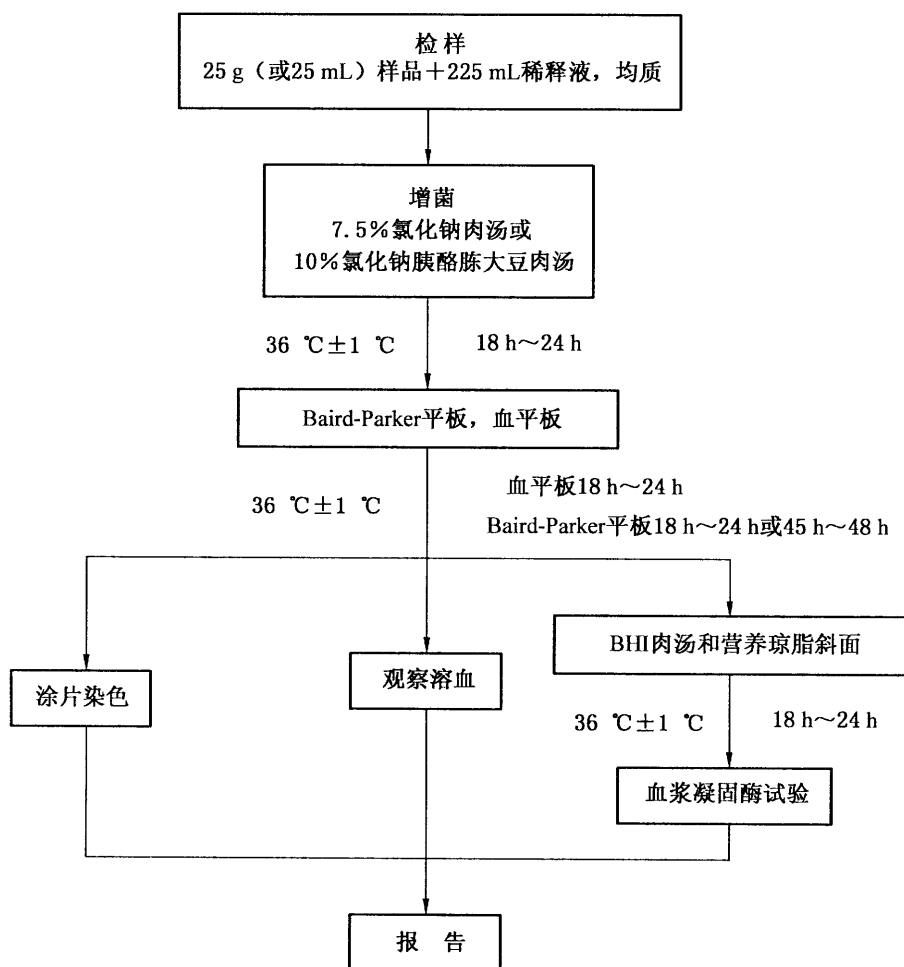


图 1 金黄色葡萄球菌检验程序

## 5 操作步骤

### 5.1 样品的稀释

5.1.1 固体和半固体样品:称取 25 g 样品至盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内, 8 000 r/min~10 000 r/min 均质 1 min~2 min,或放入盛有 225 mL 稀释液的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 1 min~2 min,制成 1:10 的样品匀液。

5.1.2 液体样品:以无菌吸管吸取 25 mL 样品至盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌锥形瓶(瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠)中,充分混匀,制成 1:10 的样品匀液。

### 5.2 增菌和分离培养

5.2.1 增菌培养:吸取 5 mL 上述样品匀液,接种于 50 mL 7.5%氯化钠肉汤或 10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤培养基内,36 °C ± 1 °C 培养 18 h~24 h。金黄色葡萄球菌在 7.5%氯化钠肉汤中呈混浊生长,污染严重时在 10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤内呈混浊生长。

5.2.2 将上述培养物,分别划线接种到 Baird-Parker 平板和血平板,血平板 36 °C ± 1 °C 培养 18 h~24 h。Baird-Parker 平板 36 °C ± 1 °C 培养 18 h~24 h 或 45 h~48 h。

5.2.3 金黄色葡萄球菌在 Baird-Parker 平板上,菌落直径为 2 mm~3 mm,颜色呈灰色到黑色,边缘为淡色,周围为一混浊带,在其外层有一透明圈。用接种针接触菌落有似奶油至树胶样的硬度,偶尔会遇到非脂肪溶解的类似菌落,但无混浊带及透明圈。长期保存的冷冻或干燥食品中所分离的菌落比典型菌落所产生的黑色较淡些,外观可能粗糙并干燥。在血平板上,形成菌落较大,圆形、光滑凸起、湿润、金

黄色(有时为白色),菌落周围可见完全透明溶血圈。挑取上述菌落进行革兰氏染色镜检及血浆凝固酶试验。

5.2.4 形态:金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性球菌,排列呈葡萄球状,无芽胞,无荚膜,直径约为 $0.5\ \mu\text{m}\sim 1\ \mu\text{m}$ 。

### 5.3 血浆凝固酶试验

5.3.1 挑取 Baird-Parker 平板或血平板上可疑菌落 1 个或以上,分别接种到 5 mL BHI 和营养琼脂斜面, $36\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$ 培养 18 h~24 h。

5.3.2 取新鲜配制兔血浆 0.5 mL,放入小试管中,再加入 5.3.1 BHI 培养物 0.2 mL~0.3 mL,振荡摇匀,置  $36\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$ 温箱或水浴箱内,每半小时观察一次,观察 6 h,如呈现凝固(即将试管倾斜或倒置时,呈现凝块)或凝固体积大于原体积的一半,被判定为阳性结果。同时以血浆凝固酶试验阳性和阴性葡萄球菌菌株的肉汤培养物作为对照。也可用商品化的试剂,按说明书操作,进行血浆凝固酶试验。

5.3.3 结果如可疑,挑取营养琼脂斜面的菌落到 5 mL BHI, $36\ \text{C}\pm 1\ \text{C}$ 培养 18 h~48 h,重复 5.3.2。

### 5.4 葡萄球菌肠毒素的检测

可疑食物中毒样品或产生葡萄球菌肠毒素的金黄色葡萄球菌菌株的鉴定,应按附录 B 检测葡萄球菌肠毒素。

## 6 结果与报告

6.1 结果判定:符合 5.2.3、5.2.4、血浆凝固酶试验阳性,可判定为金黄色葡萄球菌。

6.2 结果报告:在 25 g(或 25 mL)样品中检出或未检出金黄色葡萄球菌。

附 录 A  
(规范性附录)  
培养基和试剂

A.1 10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤

A.1.1 成分

胰酪胨(或胰蛋白胨)	17 g
植物蛋白胨(或大豆蛋白胨)	3 g
氯化钠	100 g
磷酸氢二钾	2.5 g
丙酮酸钠	10 g
葡萄糖	2.5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.3±0.2	

A.1.2 制法

将上述成分混合,加热,轻轻搅拌并溶解,调节 pH,分装,每瓶 50 mL,121 °C 高压灭菌 15 min。

A.2 7.5%氯化钠肉汤

A.2.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	75 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

A.2.2 制法

将上述成分加热溶解,调节 pH,分装,每瓶 50 mL,121 °C 高压灭菌 15 min。

A.3 血琼脂平板

A.3.1 成分

豆粉琼脂(pH7.4~7.6)	100 mL
脱纤维羊血(或兔血)	5 mL~10 mL

A.3.2 制法

加热溶化琼脂,冷却至 50 °C,以无菌操作加入脱纤维羊血(或兔血),摇匀,倾注平板。

A.4 Baird-Parker 琼脂平板

A.4.1 成分

胰蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
酵母膏	1 g
丙酮酸钠	10 g
甘氨酸	12 g

氯化锂(LiCl·6H <sub>2</sub> O)	5 g
琼脂	20 g
蒸馏水	950 mL
pH7.0±0.2	

#### A.4.2 增菌剂的配法

30%卵黄盐水 50 mL 与经过除菌过滤的 1%亚碲酸钾溶液 10 mL 混合,保存于冰箱内。

#### A.4.3 制法

将各成分加到蒸馏水中,加热煮沸至完全溶解,调节 pH。分装每瓶 95 mL,121 °C 高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50 °C,每 95 mL 加入预热至 50 °C 的卵黄亚碲酸钾增菌剂 5 mL,摇匀后倾注平板。培养基应是致密不透明的。使用前在冰箱储存不得超过 48 h。

### A.5 脑心浸出液(BHI)肉汤

#### A.5.1 成分

胰蛋白质胨	10.0 g
氯化钠	5.0 g
磷酸氢二钠(Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O)	2.5 g
葡萄糖	2.0 g
牛心浸出液	500 mL
pH7.4±0.2	

#### A.5.2 制法

加热溶解,调节 pH,分装 16 mm×160 mm 试管,每管 5 mL,置 121 °C,15 min 灭菌。

### A.6 兔血浆

取柠檬酸钠 3.8 g,加蒸馏水 100 mL,溶解后过滤,装瓶,121 °C 高压灭菌 15 min。

兔血浆制备:取 3.8%柠檬酸钠溶液一份,加兔全血四份,混好静置(或以 3 000 r/min 离心 30 min),使血液细胞下降,即可得血浆。

### A.7 磷酸盐缓冲液

#### A.7.1 成分

磷酸二氢钾(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	34.0 g
蒸馏水	500 mL
pH7.2	

#### A.7.2 制法

贮存液:称取 34.0 g 的磷酸二氢钾溶于 500 mL 蒸馏水中,用大约 175 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.2,用蒸馏水稀释至 1 000 mL 后贮存于冰箱。

稀释液:取贮存液 1.25 mL,用蒸馏水稀释至 1 000 mL,分装于适宜容器中,121 °C 高压灭菌 15 min。

### A.8 营养琼脂斜面

#### A.8.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g



琼脂	15 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.2~7.4	

**A.8.2 制法**

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入15%氢氧化钠溶液约2 mL,校正pH至7.2~7.4。加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化,分装13 mm×130 mm管,121℃高压灭菌15 min。

**A.9 革兰氏染色液**

**A.9.1 结晶紫染色液**

**A.9.1.1 成分**

结晶紫	1.0 g
95%乙醇	20.0 mL
1%草酸铵水溶液	80.0 mL

**A.9.1.2 制法**

将结晶紫完全溶解于乙醇中,然后与草酸铵溶液混合。

**A.9.2 革兰氏碘液**

**A.9.2.1 成分**

碘	1.0 g
碘化钾	2.0 g
蒸馏水	300.0 mL

**A.9.2.2 制法**

将碘与碘化钾先行混合,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。

**A.9.3 沙黄复染液**

**A.9.3.1 成分**

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10.0 mL
蒸馏水	90.0 mL

**A.9.3.2 制法**

将沙黄溶解于乙醇中,然后用蒸馏水稀释。

**A.9.4 染色法**

**A.9.4.1** 涂片在火焰上固定,滴加结晶紫染液,染1 min,水洗。

**A.9.4.2** 滴加革兰氏碘液,作用1 min,水洗。

**A.9.4.3** 滴加95%乙醇脱色约15 s~30 s,直至染色液被洗掉,不要过分脱色,水洗。

**A.9.4.4** 滴加复染液,复染1 min,水洗、待干、镜检。

**附录 B**  
(规范性附录)  
**葡萄球菌肠毒素检测方法**

**B.1 设备和材料**

- B.1.1** 冰箱:0℃~4℃。  
**B.1.2** 恒温或振荡培养箱:36℃±1℃。  
**B.1.3** 酶标仪。  
**B.1.4** 离心机:8 000 r/min。  
**B.1.5** 均质器或灭菌乳钵。  
**B.1.6** 层析柱:40 mm×(20 mm~25 mm)。  
**B.1.7** 微量加样器:200 μL、50 μL。  
**B.1.8** 细滴管。  
**B.1.9** 分液漏斗。  
**B.1.10** 透析袋。  
**B.1.11** 洗瓶。  
**B.1.12** 灭菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)。  
**B.1.13** 灭菌培养皿:直径 150 mm。  
**B.1.14** 灭菌锥形瓶:250 mL。  
**B.1.15** 有机玻璃模板。  
**B.1.16** 打孔器:直径 2.5 mm。  
**B.1.17** 载玻片、橡皮圈。  
**B.1.18** 灭菌玻璃纸、L 棒、镊子等。

**B.2 培养基和试剂****B.2.1 肠毒素产毒培养基:****B.2.1.1 成分**

蛋白胨	20 g
胰消化酪蛋白	0.2 g
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
烟酸	0.01 g
蒸馏水	1 000 mL
琼脂	10 g~12 g(固体透析培养用)

**B.2.1.2 制法**

除琼脂外将所有成分混于水中,溶解后调 pH7.2~7.4,如用固体透析培养法再加入琼脂,121℃高压灭菌 30 min。

**B.2.2 营养琼脂:****B.2.2.1 成分**

蛋白胨	10 g
-----	------

牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL

**B.2.2.2 制法**

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入 15%氢氧化钠溶液约 2 mL,校正 pH7.2~7.4。加入琼脂,加热煮沸,121 °C 高压灭菌 15 min。

**B.2.3** 1%琼脂糖溶液(0.9%生理盐水配制)。

**B.2.4** 0.2 mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液。

**B.2.5** 三氯甲烷。

**B.2.6** 6 mol/L 盐酸溶液。

**B.2.7** 5 mol/L 氢氧化钠。

**B.2.8** 0.85%生理盐水。

**B.2.9** 1%乙酸溶液。

**B.2.10** 0.1%噻嗪红 R 或氨基黑 B。

**B.2.11** 硅胶或凡士林。

**B.2.12** A、B、C、D 型葡萄球菌肠毒素和抗血清。

**B.2.13** 羧甲基纤维素(CM22 或 CM11 Whatman)。

**B.2.14** 0.2 mol/L pH6.8 磷酸盐缓冲液。

**B.2.15** 酶标记 A、B、C、D 肠毒素抗血清或酶联免疫试剂盒。

**B.2.16** 0.1 mol/L pH9.5 碳酸盐缓冲液。

**B.2.17** 0.05%0.02 mol/L pH7.2 吐温-20 缓冲液。

**B.2.18** 邻苯二胺酶底物。

**B.2.19** 2 mol/L 硫酸。

**B.3 检测程序**

**B.3.1** 从分离菌株培养物中检测葡萄球菌肠毒素,检测流程见图 B.1。

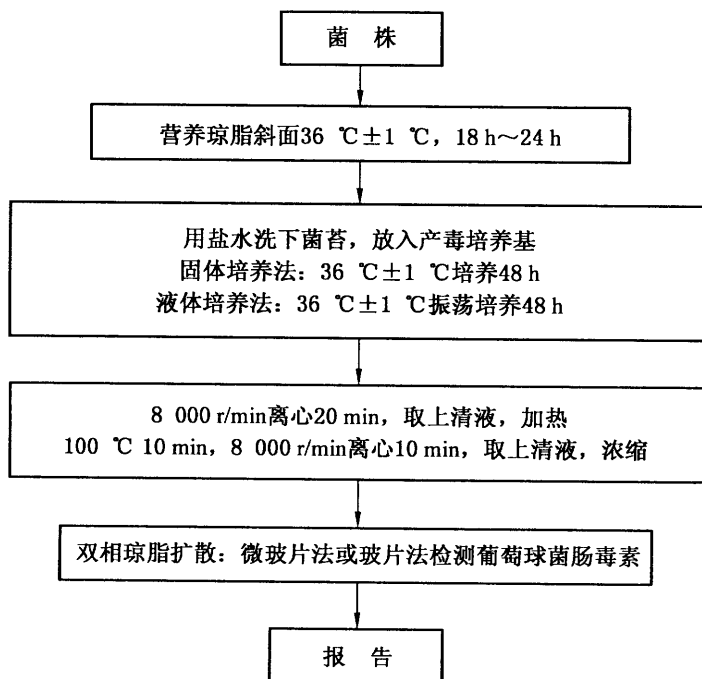


图 B.1 分离菌株培养物中葡萄球菌肠毒素的检测流程图

## B.3.2 从食物样品中提取和检测葡萄球菌肠毒素

## B.3.2.1 微玻片法检测食品中葡萄球菌肠毒素(浓缩法和层析法)流程,见图 B.2。

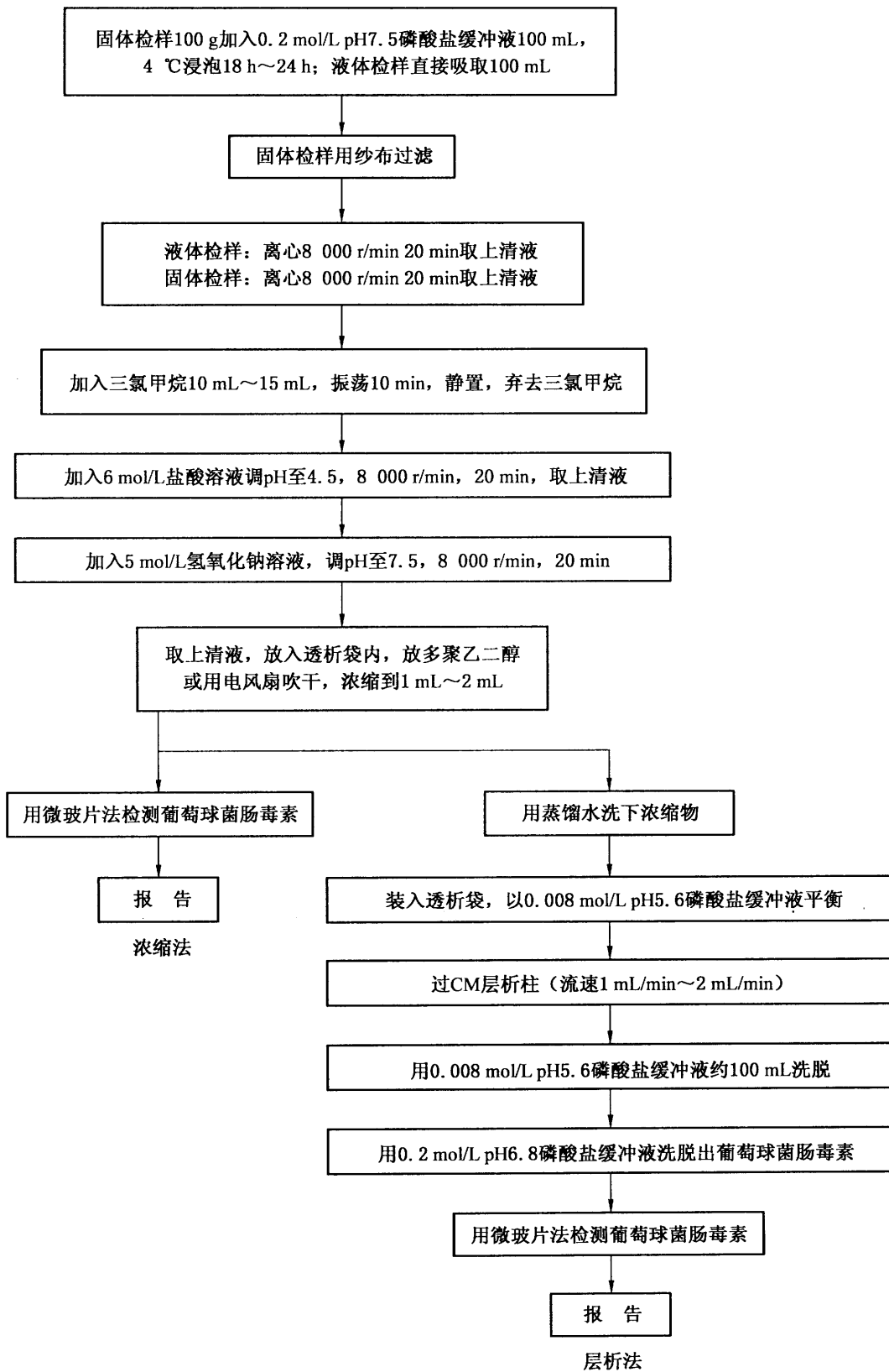


图 B.2 微玻片法检测葡萄球菌肠毒素(浓缩法和层析法)流程图

B.3.2.2 酶联免疫法检测食品中葡萄球菌肠毒素的流程,见图 B.3。

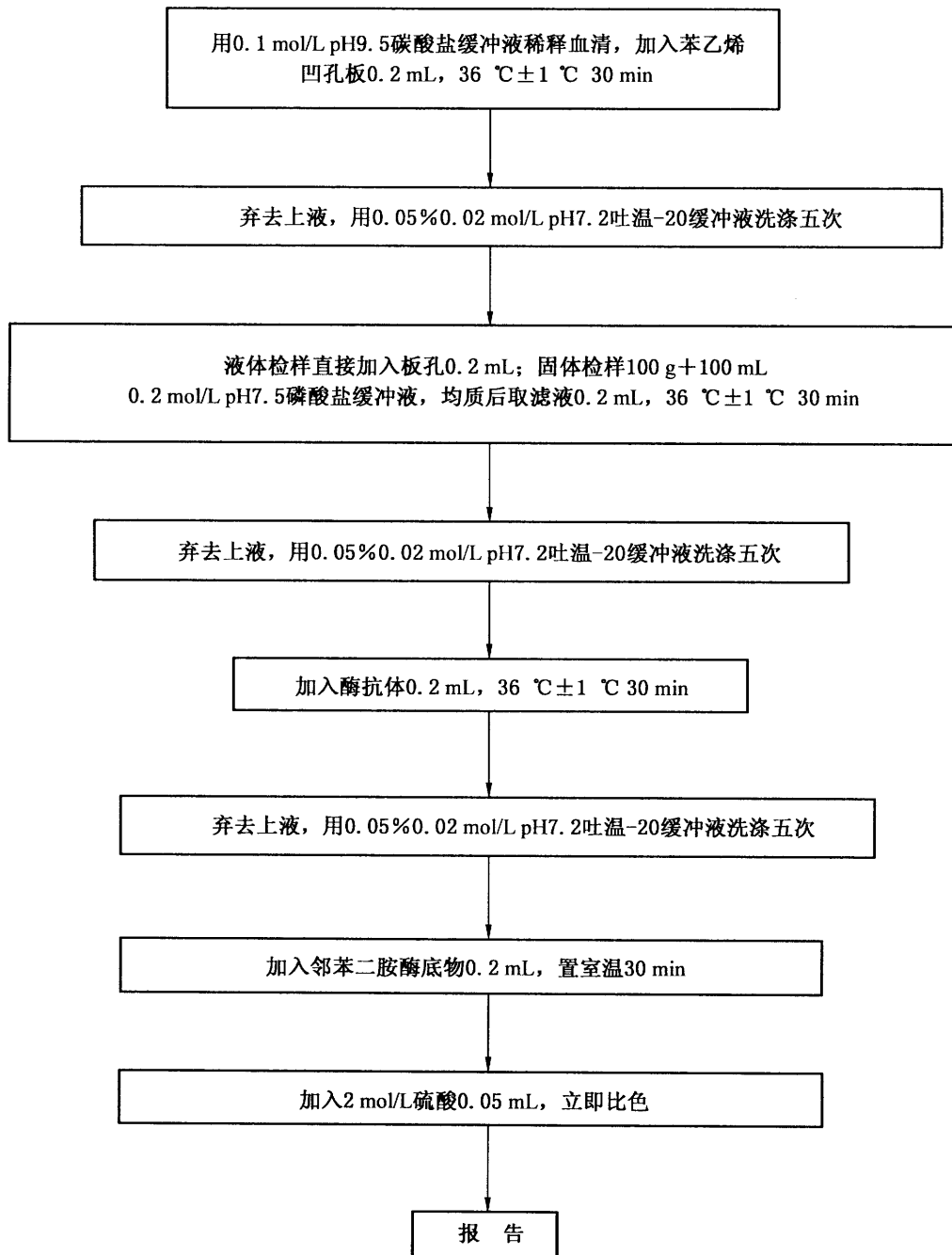


图 B.3 酶联免疫法检测食品中葡萄球菌肠毒素的流程图

B.4 操作步骤

B.4.1 从分离菌株培养物中提取和检测葡萄球菌肠毒素的方法

B.4.1.1 液体透析培养法:将待测菌株接种营养琼脂斜面,37 °C 培养 24 h。用宽 2.5 cm、长 80 cm 的透析袋装入 60 mL 产毒培养基,两端扎紧,将透析袋装入 250 mL 锥形瓶内,加入 15 mL 生理盐水,透析袋两端留在瓶口,用棉塞塞好,121 °C 高压灭菌 30 min。用 5 mL 生理盐水洗下待测菌株菌苔,倾入上述培养瓶中,每个菌株接种一瓶,37 °C 振荡培养 48 h,振速为 100 次/min。吸出菌液,8 000 r/min 离心 20 min,加热 100 °C,10 min,取上清液做双相琼脂扩散。如为阴性,装入透析袋内,用热风吹,或用多聚

乙二醇,浓缩至 1 mL~2 mL 后,做琼脂扩散实验。

**B. 4. 1. 2 固体透析培养法:**待测菌株接种在营养琼脂平板,37 °C 培养 24 h。向直径 150 mm 的灭菌平皿中倾入灭菌产毒培养基约 100 mL~120 mL,凝固后表面铺一灭菌玻璃纸。用 3 mL 生理盐水洗下待测菌株菌苔,倾注在玻璃纸上,用灭菌 L 棒涂匀平皿,37 °C 培养 48 h 后,加入 10 mL~20 mL 灭菌生理盐水,用灭菌 L 棒刮取菌苔,吸取菌液离心。以下步骤同 B. 4. 1. 1。

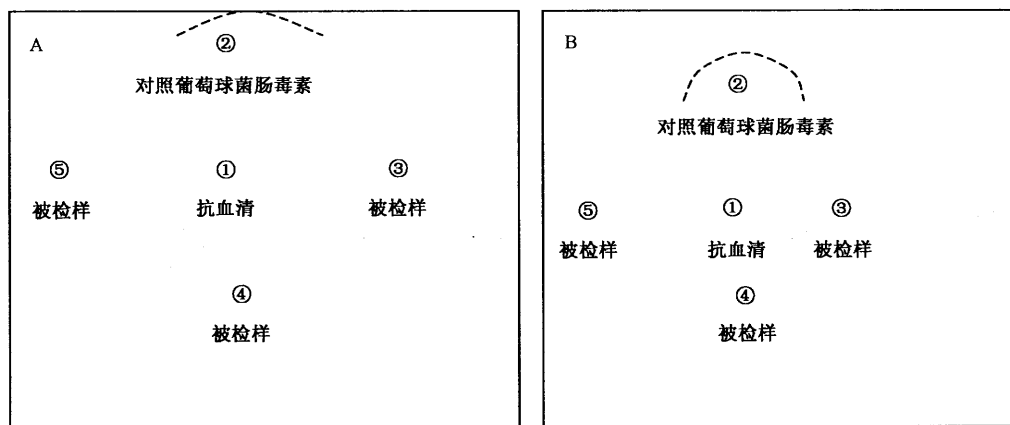
#### B. 4. 2 从食品中提取和检测葡萄球菌肠毒素的方法

**B. 4. 2. 1 直接浓缩法:**取食品样品 100 g,加入无菌 0.2 mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液,均质成匀浆,置 4 °C 浸泡 18 h~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,振摇 10 min,静置,将底层三氯甲烷弃去(如不分层,可 8 000 r/min 离心 20 min)。加入 6 mol/L 盐酸溶液,调 pH 至 4.5,8 000 r/min 离心 20 min。取上清液,加 5 mol/L 氢氧化钠溶液,调 pH 至 7.5,离心取上清液,装入透析袋或玻璃纸,用热风吹,或用多聚乙二醇浓缩至 1 mL~2 mL,做微玻片双向琼脂扩散。

**B. 4. 2. 2 层析法:**如需提取较纯肠毒素,可将上述浓缩液用蒸馏水洗下,装入透析袋,以 0.008 mol/L pH5.6 磷酸盐缓冲液洗脱,再用 0.2 mol/L pH6.8 磷酸盐缓冲液洗脱出葡萄球菌肠毒素。洗脱液装入透析袋内,用热风吹或用多聚乙二醇浓缩至 1 mL,做微玻片双向琼脂扩散,检测葡萄球菌肠毒素。

#### B. 4. 3 双向琼脂扩散检测葡萄球菌肠毒素的方法

**B. 4. 3. 1 微玻片法:**将在 95%乙醇中浸泡的载玻片用洁净纱布擦干,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,放在无尘的环境中干燥。先将一层薄塑料板放在载玻片上,然后将带孔的有机玻璃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,立即从模板上中间孔加入载玻片和模板之间,直至充满琼脂糖。凝固后再将孔中琼脂糖用注射器针头挑去,在中间孔滴加抗血清,四周滴加菌株产毒液或食品提取液,放入加有湿棉球的容器内,25 °C~30 °C、18 h~24 h 观察结果。在抗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(见图 B. 4)。



A——被检样无肠毒素,为阴性;

B——被检样 3、5 含肠毒素,为阳性;4 无肠毒素,为阴性。

图 B. 4 双向琼脂扩散检测葡萄球菌肠毒素的示意图

**B. 4. 3. 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,周围六个孔加入待测菌株或食品的肠毒素提取液,放入有滴加 2/10 000 三氯化钠湿棉球的容器内,以保持湿度。置 25 °C~30 °C、18 h~20 h 观察结果,在抗血清的提取物之间有明显沉淀线即为阳性。

**B. 4. 3. 3 染色法:**用微玻片法取下胶带和有机玻璃模板,玻片法可直接将玻片放入蒸馏水中浸泡 4 h~8 h,中间换水 2 次~3 次,在下述各液中依次分别浸泡 10 min:10%乙酸含 1%噻嗪红 R(或氨基黑);

## GB/T 4789.10—2008

1%乙酸;1%乙酸含1%甘油,如脱色不净,可继续浸泡。取出后盖一滤纸,吸去多余液体,在室温或35℃烘干。阳性者沉淀被染上颜色,可长期保存。

**B.4.4 酶联免疫法检测葡萄球菌肠毒素的方法(双抗体法)**

**B.4.4.1 包被抗体:**用0.1 mol/L pH9.5 碳酸盐缓冲液稀释肠毒素抗血清使成5 μg/mL,加入洗净的苯乙烯凹孔板内,每孔0.2 mL,置36℃±1℃ 30 min,弃去上液。

**B.4.4.2 洗涤:**用0.05% 0.02 mol/L pH7.2 吐温-20 缓冲液洗涤五次。

**B.4.4.3 加入检样:**如为液体,可直接加入0.2 mL;固体样品取100 g,加入0.2 mol/L pH7.5 磷酸盐缓冲液,均质后取滤液0.2 mL。

**B.4.4.4 洗涤:**同B.4.4.2。

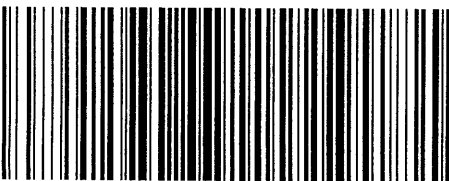
**B.4.4.5 每孔加入酶抗体 0.2 mL,**置36℃±1℃ 30 min,同时做阳性和阴性对照,弃去上液。

**B.4.4.6 洗涤:**同B.4.4.2。

**B.4.4.7 每孔加入邻苯二胺底物溶液 0.2 mL,**室温放置30 min。

**B.4.4.8 每孔加入 2 mol/L 硫酸 0.05 mL,**立即放酶标仪比色。

**B.4.4.9 结果判定:**样品 OD 值比阴性对照,比值大于2为阳性,小于2为阴性。



GB/T 4789.10-2008

版权专有 侵权必究

\*

书号:155066·1-36102

定价: 16.00 元