

## 前 言

为贯彻执行《公共场所卫生管理条例》和 GB 9663~9673—1996、GB 16153—1996《公共场所卫生标准》，加强对公共场所卫生监督管理，特制定本标准。本标准中的方法是与 GB 9663~9673—1996，GB 16153—1996 相配套的监测检验方法。

本标准为首次发布。

本标准由中华人民共和国卫生部提出。

本标准起草单位：广东省卫生防疫站、江苏省卫生防疫站、中国预防医学科学院环境卫生监测所、天津市卫生防疫站、北京市卫生防疫站。

本标准主要起草人：蔡玫、封幼玲、陈西平、张淑兰、高晖。

# 中华人民共和国国家标准

## 理发用具微生物检验方法 金黄色葡萄球菌测定

GB/T 18204.7—2000

Methods of microbiological examination for barber's tools  
—Determination of *Staphylococcus aureus*

### 1 范围

本标准规定了理发用具金黄色葡萄球菌的检验方法。

本标准适用于公共理发用具的金黄色葡萄球菌的检验,美容用具金黄色葡萄球菌检验可参照使用。

### 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。

GB/T 18204.3—2000 公共场所茶具微生物检验方法 大肠菌群测定

GB/T 18204.6—2000 理发用具微生物检验方法 大肠菌群测定

### 3 定义

本标准采用下列定义。

金黄色葡萄球菌 *staphylococcus aureus*

指在 Baurd Parker 培养基或血平板培养基上生长良好,分解甘露醇产酸,血浆凝固酶阳性的革兰氏阳性葡萄状球菌。

### 4 仪器

- 4.1 显微镜。
- 4.2 培养箱。
- 4.3 离心机。
- 4.4 灭菌吸管。
- 4.5 灭菌试管。
- 4.6 载玻片。
- 4.7 酒精灯。
- 4.8 革兰氏染色用有关器材。

### 5 培养基和试剂

#### 5.1 胰酪胨大豆肉汤

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

国家质量技术监督局 2000-09-30 批准

2001-01-01 实施

氯化钠	100 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:将上述成分混合后,加热溶解,调 pH 为 7.2~7.3,分装,121℃20 min 高压灭菌。

### 5.2 7.5%的氯化钠肉汤

成分:蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	75 g
蒸馏水	1 000 mL

制法:将上述成分加热溶解,调 pH 为 7.4,分装,121℃15 min 高压灭菌。

### 5.3 Baird Parker 平板

成分:胰蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
酵母浸膏	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

增菌剂的配制:30%卵黄盐水 50 mL 与除菌过滤的 1%亚碲酸钾溶液 10 mL 混合,保存于冰箱内。

制法:将各成分加到蒸馏水中,加热煮沸完全溶解,冷至 25℃校正 pH。分每瓶 95 mL,121℃高压灭菌 15 min,临用时加热融化琼脂,每 95 mL 加入预热至 50℃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。

### 5.4 血琼脂培养基

成分:营养琼脂	100 mL
脱纤维羊血(或兔血)	10 mL

制法:将营养琼脂加热溶化,待冷至 50℃左右以无菌方法加入脱纤维羊血,摇匀,制成平板,置冰箱内备用。

### 5.5 甘露醇发酵培养基

成分:蛋白胨	10 g
氯化钠	5 g
甘露醇	10 g
牛肉膏	5 g
0.2%麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL

制法:将蛋白胨、氯化钠、牛肉膏加到蒸馏水中,加热溶解,调 pH7.4,加入甘露醇和指示剂,混匀后分装试管中,115℃20 min 高压灭菌备用。

### 5.6 兔(人)血浆制备

取 3.8%柠檬酸钠溶液,121℃30 min 高压灭菌,1 份加兔(人)全血 4 份,混匀静置,2 000~3 000 r/min 离心 3~5 min,血球下沉,取上面血浆。

### 5.7 革兰氏染色液

见 GB/T 18204.3—2000 中第 4 章第 4 节。

## 6 操作步骤

6.1 采样方法同 GB/T 18204.6—2000, 将大肠菌群检测后剩余的 5 mL 待检样品, 放入 45 mL 7.5% 的氯化钠肉汤或胰酪胨大豆肉汤培养基中, 36℃±1℃ 培养 24 h。

6.2 从培养液中取 1~2 接种环, 划线接种在 Baird Parker 氏培养基(或用血平板), 于 36℃±1℃ 培养 24 h。在 Baird Parker 氏培养基上菌落为圆形, 光滑, 凸起湿润, 颜色呈黑灰色, 边缘整齐、周围混浊, 外层有一透明带, 在血平板上菌落呈圆形、金黄色、凸起、表面光滑、周围有溶血圈。

6.3 挑取典型菌落作涂片染色镜检, 为革兰氏阳性, 成葡萄状排列。

6.4 甘露醇发酵试验: 取上述分纯菌落接种到甘露醇发酵培养基中, 置 36℃±1℃ 培养 24 h, 金黄色葡萄球菌应能发酵甘露醇产酸。

### 6.5 血浆凝固酶试验

6.5.1 玻片法: 取清洁干燥玻片, 一端滴加一滴生理盐水, 另一端滴加一滴血浆, 用接种环挑取待检菌落, 分别在生理盐水及血浆中充分研磨混合。血浆与菌苔混悬液在 5 min 内出现团块或颗粒状凝块时, 而盐水滴仍呈均匀混浊无凝固现象者为阳性, 如两者均无凝固现象则为阴性。凡玻片试验呈阴性反应或盐水滴与血浆均有凝固现象, 再进行试管凝固试验。

6.5.2 试管法: 吸取 1:4 新鲜血浆 0.5 mL 放入灭菌小试管中, 再加入待检菌 24 h 肉汤培养物 0.5 mL。混匀, 放 36℃±1℃ 温箱或水浴中, 每 30 min 观察一次, 24 h 之内如呈现凝块即为阳性。同时以已知血浆凝固酶阳性和阴性菌株肉汤培养物及肉汤培养基各 0.5 mL, 分别加入灭菌小试管内与 0.5 mL 1:4 血浆混匀, 做为对照。

## 7 结果报告

凡在上述选择平板上有可疑菌落生长, 经染色镜检, 证明为革兰氏阳性葡萄球菌, 并能发酵甘露醇产酸, 血浆凝固酶试验阳性, 可报告检出金黄色葡萄球菌。