



中华人民共和国国家标准

GB 4789.4—2010

食品安全国家标准

食品微生物学检验 沙门氏菌检验

National food safety standard

Food microbiological examination: *Salmonella*

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准代替 GB/T 4789.4-2008 《食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验》。

本标准与 GB/T 4789.4-2008 相比，主要变化如下：

- 修改了标准的中英文名称；
- 修改了标准的范围；
- 修改了培养基和试剂；
- 修改了设备和材料；
- 修改了附录 A。

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准所代替的历次版本发布情况为：

- GB 4789.4-84、GB 4789.4-1994、GB/T 4789.4-2003、GB/T 4789.4-2008。

食品安全国家标准

食品微生物学检验 沙门氏菌检验

1 范围

本标准规定了食品中沙门氏菌 (*Salmonella*) 的检验方法。

本标准适用于食品中沙门氏菌的检验。

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 冰箱: 2 °C~5 °C。
- 2.2 恒温培养箱: 36 °C±1 °C, 42 °C±1 °C。
- 2.3 均质器。
- 2.4 振荡器。
- 2.5 电子天平: 感量 0.1 g。
- 2.6 无菌锥形瓶: 容量 500 mL, 250 mL。
- 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 无菌培养皿: 直径 90 mm。
- 2.9 无菌试管: 3 mm×50 mm、10 mm×75 mm。
- 2.10 无菌毛细管。
- 2.11 pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸。
- 2.12 全自动微生物生化鉴定系统。

3 培养基和试剂

- 3.1 缓冲蛋白胨水 (BPW): 见附录 A 中 A.1。
- 3.2 四硫磺酸钠煌绿 (TTB) 增菌液: 见附录 A 中 A.2。
- 3.3 亚硒酸盐胱氨酸 (SC) 增菌液: 见附录 A 中 A.3。
- 3.4 亚硫酸铋 (BS) 琼脂: 见附录 A 中 A.4。
- 3.5 HE 琼脂: 见附录 A 中 A.5。
- 3.6 木糖赖氨酸脱氧胆盐 (XLD) 琼脂: 见附录 A 中 A.6。

- 3.7 沙门氏菌属显色培养基。
- 3.8 三糖铁 (TSI) 琼脂: 见附录 A 中 A.7。
- 3.9 蛋白胨水、靛基质试剂: 见附录 A 中 A.8。
- 3.10 尿素琼脂 (pH 7.2): 见附录 A 中 A.9。
- 3.11 氰化钾 (KCN) 培养基: 见附录 A 中 A.10。
- 3.12 赖氨酸脱羧酶试验培养基: 见附录 A 中 A.11。
- 3.13 糖发酵管: 见附录 A 中 A.12。
- 3.14 邻硝基酚 β -D 半乳糖苷 (ONPG) 培养基: 见附录 A 中 A.13。
- 3.15 半固体琼脂: 见附录 A 中 A.14。
- 3.16 丙二酸钠培养基: 见附录 A 中 A.15。
- 3.17 沙门氏菌 O 和 H 诊断血清。
- 3.18 生化鉴定试剂盒。

4 检验程序

沙门氏菌检验程序见图 1。

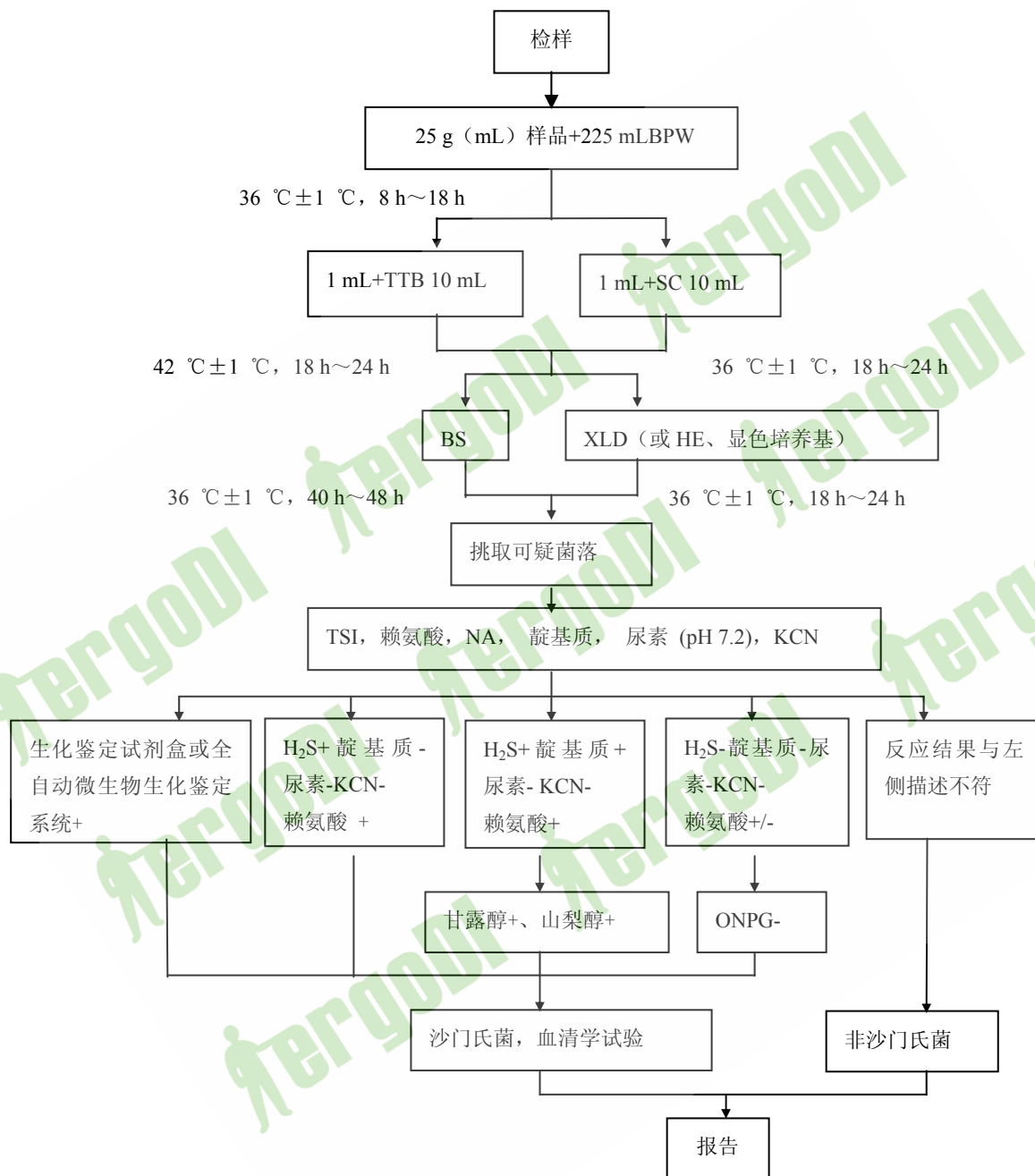


图 1 沙门氏菌检验程序

5 操作步骤

5.1 前增菌

称取 25 g (mL) 样品放入盛有 225 mL BPW 的无菌均质杯中，以 8 000 r/min~10 000 r/min 均质 1 min~2 min，或置于盛有 225 mL BPW 的无菌均质袋中，用拍击式均质器拍打 1 min~2 min。若样品为液态，不需要均质，振荡混匀。如需测定 pH 值，用 1 mol/mL 无菌 NaOH 或 HCl 调 pH 至 6.8±0.2。

无菌操作将样品转至 500 mL 锥形瓶中，如使用均质袋，可直接进行培养，于 36 °C±1 °C 培养 8 h~18 h。

如为冷冻产品，应在 45 °C 以下不超过 15 min，或 2 °C~5 °C 不超过 18 h 解冻。

5.2 增菌

轻轻摇动培养过的样品混合物，移取 1 mL，转种于 10 mL TTB 内，于 42 °C±1 °C 培养 18 h~24 h。同时，另取 1 mL，转种于 10 mL SC 内，于 36 °C±1 °C 培养 18 h~24 h。

5.3 分离

分别用接种环取增菌液 1 环，划线接种于一个 BS 琼脂平板和一个 XLD 琼脂平板（或 HE 琼脂平板或沙门氏菌属显色培养基平板）。于 36 °C±1 °C 分别培养 18 h~24 h（XLD 琼脂平板、HE 琼脂平板、沙门氏菌属显色培养基平板）或 40 h~48 h（BS 琼脂平板），观察各个平板上生长的菌落，各个平板上的菌落特征见表 1。

表 1 沙门氏菌属在不同选择性琼脂平板上的菌落特征

选择性琼脂平板	沙门氏菌
BS 琼脂	菌落为黑色有金属光泽、棕褐色或灰色，菌落周围培养基可呈黑色或棕色；有些菌株形成灰绿色的菌落，周围培养基不变。
HE 琼脂	蓝绿色或蓝色，多数菌落中心黑色或几乎全黑色；有些菌株为黄色，中心黑色或几乎全黑色。
XLD 琼脂	菌落呈粉红色，带或不带黑色中心，有些菌株可呈现大的带光泽的黑色中心，或呈现全部黑色的菌落；有些菌株为黄色菌落，带或不带黑色中心。
沙门氏菌属显色培养基	按照显色培养基的说明进行判定。

5.4 生化试验

5.4.1 自选择性琼脂平板上分别挑取 2 个以上典型或可疑菌落，接种三糖铁琼脂，先在斜面划线，再于底层穿刺；接种针不要灭菌，直接接种赖氨酸脱羧酶试验培养基和营养琼脂平板，于 36 °C±1 °C 培养 18 h~24 h，必要时可延长至 48 h。在三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基内，沙门氏菌属的反应结果见表 2。

表 2 沙门氏菌属在三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基内的反应结果

三糖铁琼脂				赖氨酸脱羧酶试验培养基	初步判断
斜面	底层	产气	硫化氢		
K	A	+ (-)	+ (-)	+	可疑沙门氏菌属
K	A	+ (-)	+ (-)	-	可疑沙门氏菌属
A	A	+ (-)	+ (-)	+	可疑沙门氏菌属
A	A	+/-	+/-	-	非沙门氏菌
K	K	+/-	+/-	+/-	非沙门氏菌

注：K：产碱，A：产酸；+：阳性，-：阴性；+（-）：多数阳性，少数阴性；+/-：阳性或阴性。

5.4.2 接种三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基的同时，可直接接种蛋白胨水（供做靛基质试验）、尿素琼脂（pH7.2）、氰化钾（KCN）培养基，也可在初步判断结果后从营养琼脂平板上挑取可疑菌落接种。于 36 °C±1 °C 培养 18 h~24 h，必要时可延长至 48 h，按表 3 判定结果。将已挑菌落的平板储存于 2 °C~5 °C 或室温至少保留 24 h，以备必要时复查。

表3 沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

反应序号	硫化氢 (H ₂ S)	靛基质	pH 7.2 尿素	氰化钾 (KCN)	赖氨酸脱羧酶
A1	+	-	-	-	+
A2	+	+	-	-	+
A3	-	-	-	-	+/-

注：+表示阳性；-表示阴性；+/-表示阳性或阴性。

5.4.2.1 反应序号 A1：典型反应判定为沙门氏菌属。如尿素、KCN 和赖氨酸脱羧酶 3 项中有 1 项异常，按表 4 可判定为沙门氏菌。如有 2 项异常为非沙门氏菌。

表4 沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

pH 7.2 尿素	氰化钾 (KCN)	赖氨酸 脱羧酶	判定结果
-	-	-	甲型副伤寒沙门氏菌（要求血清学鉴定结果）
-	+	+	沙门氏菌IV或V（要求符合本群生化特性）
+	-	+	沙门氏菌个别变体（要求血清学鉴定结果）

注：+表示阳性；-表示阴性。

5.4.2.2 反应序号 A2：补做甘露醇和山梨醇试验，沙门氏菌靛基质阳性变体两项试验结果均为阳性，但需要结合血清学鉴定结果进行判定。

5.4.2.3 反应序号 A3：补做 ONPG。ONPG 阴性为沙门氏菌，同时赖氨酸脱羧酶阳性，甲型副伤寒沙门氏菌为赖氨酸脱羧酶阴性。

5.4.2.4 必要时按表 5 进行沙门氏菌生化群的鉴别。

表5 沙门氏菌属各生化群的鉴别

项 目	I	II	III	IV	V	VI
卫矛醇	+	+	-	-	+	-
山梨醇	+	+	+	+	+	-
水杨苷	-	-	-	+	-	-
ONPG	-	-	+	-	+	-
丙二酸盐	-	+	+	-	-	-
KCN	-	-	-	+	+	-

注：+表示阳性；-表示阴性。

5.4.3 如选择生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统，可根据 5.4.1 的初步判断结果，从营养琼脂平板上挑取可疑菌落，用生理盐水制备成浊度适当的菌悬液，使用生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统进行鉴定。

5.5 血清学鉴定

5.5.1 抗原的准备

一般采用 1.2%~1.5% 琼脂培养物作为玻片凝集试验用的抗原。

O 血清不凝集时，将菌株接种在琼脂量较高的（如 2%~3%）培养基上再检查；如果是由于 Vi 抗原的存在而阻止了 O 凝集反应时，可挑取菌苔于 1 mL 生理盐水中做成浓菌液，于酒精灯火焰

上煮沸后再检查。H 抗原发育不良时，将菌株接种在 0.55%~0.65% 半固体琼脂平板的中央，俟菌落蔓延生长时，在其边缘部分取菌检查；或将菌株通过装有 0.3%~0.4% 半固体琼脂的小玻管 1 次~2 次，自远端取菌培养后再检查。

5.5.2 多价菌体抗原（O）鉴定

在玻片上划出 2 个约 1 cm×2 cm 的区域，挑取 1 环待测菌，各放 1/2 环于玻片上的每一区域上部，在其中一个区域下部加 1 滴多价菌体（O）抗血清，在另一区域下部加入 1 滴生理盐水，作为对照。再用无菌的接种环或针分别将两个区域内的菌落研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合 1 min，并对着黑暗背景进行观察，任何程度的凝集现象皆为阳性反应。

5.5.3 多价鞭毛抗原（H）鉴定

同 5.5.2。

5.5.4 血清学分型（选做项目）

5.5.4.1 O 抗原的鉴定

用 A~F 多价 O 血清做玻片凝集试验，同时用生理盐水做对照。在生理盐水中自凝者为粗糙形菌株，不能分型。

被 A~F 多价 O 血清凝集者，依次用 O4；O3、O10；O7；O8；O9；O2 和 O11 因子血清做凝集试验。根据试验结果，判定 O 群。被 O3、O10 血清凝集的菌株，再用 O10、O15、O34、O19 单因子血清做凝集试验，判定 E1、E2、E3、E4 各亚群，每一个 O 抗原成分的最后确定均应根据 O 单因子血清的检查结果，没有 O 单因子血清的要两个 O 复合因子血清进行核对。

不被 A~F 多价 O 血清凝集者，先用 9 种多价 O 血清检查，如有其中一种血清凝集，则用这种血清所包括的 O 群血清逐一检查，以确定 O 群。每种多价 O 血清所包括的 O 因子如下：

O 多价 1 A, B, C, D, E, F, 群（并包括 6, 14 群）

O 多价 2 13, 16, 17, 18, 21 群

O 多价 3 28, 30, 35, 38, 39 群

O 多价 4 40, 41, 42, 43 群

O 多价 5 44, 45, 47, 48 群

O 多价 6 50, 51, 52, 53 群

O 多价 7 55, 56, 57, 58 群

O 多价 8 59, 60, 61, 62 群

O 多价 9 63, 65, 66, 67 群

5.5.4.2 H 抗原的鉴定

属于 A~F 各 O 群的常见菌型，依次用表 6 所述 H 因子血清检查第 1 相和第 2 相的 H 抗原。

表 6 A~F 群常见菌型 H 抗原表

O 群	第 1 相	第 2 相
A	a	无
B	g,f,s	无
B	i,b,d	2
C1	k,v,r,c	5,Z15
C2	b,d,r	2,5
D（不产气的）	d	无
D（产气的）	g,m,p,q	无
E1	h,v	6,w,x
E4	g,s,t	无
E4	i	

不常见的菌型,先用8种多价H血清检查,如有其中一种或两种血清凝集,则再用这一种或两种血清所包括的各种H因子血清逐一检查,以第1相和第2项的H抗原。8种多价H血清所包括的H因子如下:

- H多价1 a, b, c, d, i
 H多价2 eh, enx, enz₁₅, fg, gms, gpu, gp, gq, mt, gZ₅₁
 H多价3 k, r, y, z, z₁₀, lv, lw, lz₁₃, lz₂₈, lz₄₀
 H多价4 1,2; 1,5; 1,6; 1,7; z₆
 H多价5 z₄z₂₃, z₄z₂₄, z₄z₃₂, z₂₉, z₃₅, z₃₆, z₃₈
 H多价6 z₃₉, z₄₁, z₄₂, z₄₄
 H多价7 z₅₂, z₅₃, z₅₄, z₅₅
 H多价8 z₅₆, z₅₇, z₆₀, z₆₁, z₆₂

每一个H抗原成分的最后确定均应根据H单因子血清的检查结果,没有H单因子血清的要两个H复合因子血清进行核对。

检出第1相H抗原而未检出第2相H抗原的或检出第2相H抗原而未检出第1相H抗原的,可在琼脂斜面上移种1~2代后再检查。如仍只检出一个相的H抗原,要用位相变异的方法检查其另一个相。单相菌不必做位相变异检查。

位相变异试验方法如下:

小玻管法: 将半固体管(每管约1 mL~2 mL)在酒精灯上溶化并冷至50℃,取已知相的H因子血清0.05 mL~0.1 mL,加入于溶化的半固体内,混匀后,用毛细吸管吸取分装于供位相变异试验的小玻管内,俟凝固后,用接种针挑取待检菌,接种于一端。将小玻管平放在平皿内,并在其旁放一团湿棉花,以防琼脂中水分蒸发而干缩,每天检查结果,待另一相细菌解离后,可以从另一端挑取细菌进行检查。培养基内血清的浓度应有适当的比例,过高时细菌不能生长,过低时同一相细菌的动力不能抑制。一般按原血清1:200~1:800的量加入。

小倒管法: 将两端开口的小玻管(下端开口要留一个缺口,不要平齐)放在半固体管内,小玻管的上端应高出培养基的表面,灭菌后备用。临用时在酒精灯上加热溶化,冷至50℃,挑取因子血清1环,加入小套管中的半固体内,略加搅动,使其混匀,俟凝固后,将待检菌株接种于小套管中的半固体表层内,每天检查结果,待另一相细菌解离后,可从套管外的半固体表面取菌检查,或转种1%软琼脂斜面,于37℃培养后再做凝集试验。

简易平板法: 将0.35%~0.4%半固体琼脂平板烘干表面水分,挑取因子血清1环,滴在半固体平板表面,放置片刻,待血清吸收到琼脂内,在血清部位的中央点种待检菌株,培养后,在形成蔓延生长的菌苔边缘取菌检查。

5.5.4.3 Vi 抗原的鉴定

用Vi因子血清检查。已知具有Vi抗原的菌型有: 伤寒沙门氏菌, 丙型副伤寒沙门氏菌, 都柏林沙门氏菌。

5.5.4.4 菌型的判定

根据血清学分型鉴定的结果,按照附录A或有关沙门氏菌属抗原表判定菌型。

6 结果与报告

综合以上生化试验和血清学鉴定的结果,报告25 g (mL) 样品中检出或未检出沙门氏菌。

附录A
(规范性附录)
培养基和试剂

A.1 缓冲蛋白胨水 (BPW)

A.1.1 成分

蛋白胨	10.0 g
氯化钠	5.0 g
磷酸氢二钠 (含 12 个结晶水)	9.0 g
磷酸二氢钾	1.5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH	7.2±0.2

A.1.2 制法

将各成分加入蒸馏水中, 搅混均匀, 静置约 10 min, 煮沸溶解, 调节 pH, 高压灭菌 121 °C, 15 min。

A.2 四硫磺酸钠煌绿 (TTB) 增菌液

A.2.1 基础液

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	5.0 g
氯化钠	3.0 g
碳酸钙	45.0 g
蒸馏水	1 000 mL
pH	7.0±0.2

除碳酸钙外, 将各成分加入蒸馏水中, 煮沸溶解, 再加入碳酸钙, 调节 pH, 高压灭菌 121 °C, 20 min。

A.2.2 硫代硫酸钠溶液

硫代硫酸钠 (含 5 个结晶水)	50.0 g
蒸馏水	加至 100 mL
高压灭菌	121 °C, 20 min。

A.2.3 碘溶液

碘片	20.0 g
碘化钾	25.0 g
蒸馏水	加至 100 mL

将碘化钾充分溶解于少量的蒸馏水中, 再投入碘片, 振摇玻瓶至碘片全部溶解为止, 然后加蒸馏水至规定的总量, 贮存于棕色瓶内, 塞紧瓶盖备用。

A.2.4 0.5% 煌绿水溶液

煌绿	0.5 g
蒸馏水	100 mL

溶解后, 存放暗处, 不少于 1d, 使其自然灭菌。

A.2.5 牛胆盐溶液

牛胆盐	10.0 g
-----	--------

蒸馏水	100 mL
-----	--------

加热煮沸至完全溶解，高压灭菌 121 °C，20 min。

A. 2.6 制法

基础液	900 mL
硫代硫酸钠溶液	100 mL
碘溶液	20.0 mL
煌绿水溶液	2.0 mL
牛胆盐溶液	50.0 mL

临用前，按上列顺序，以无菌操作依次加入基础液中，每加入一种成分，均应摇匀后再加入另一种成分。

A. 3 亚硒酸盐胱氨酸（SC）增菌液

A. 3.1 成分

蛋白胨	5.0 g
乳糖	4.0 g
磷酸氢二钠	10.0 g
亚硒酸氢钠	4.0 g
L-胱氨酸	0.01 g
蒸馏水	1 000 mL
pH 7.0±0.2	

A. 3.2 制法

除亚硒酸氢钠和 L-胱氨酸外，将各成分加入蒸馏水中，煮沸溶解，冷至 55 °C 以下，以无菌操作加入亚硒酸氢钠和 1 g/L L-胱氨酸溶液溶液 10 mL（称取 0.1 g L-胱氨酸，加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 15 mL，使溶解，再加无菌蒸馏水至 100 mL 即成，如为 DL-胱氨酸，用量应加倍）。摇匀，调节 pH。

A. 4 亚硫酸铋（BS）琼脂

A. 4.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	5.0 g
葡萄糖	5.0 g
硫酸亚铁	0.3 g
磷酸氢二钠	4.0 g
煌绿	0.025 g 或 5.0g / L 水溶液 5.0mL
柠檬酸铋铵	2.0 g
亚硫酸钠	6.0 g
琼脂	18.0 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL
pH 7.5±0.2	

A. 4.2 制法

将前三种成分加入 300 mL 蒸馏水（制作基础液），硫酸亚铁和磷酸氢二钠分别加入 20 mL 和 30 mL 蒸馏水中，柠檬酸铋铵和亚硫酸钠分别加入另一 20 mL 和 30 mL 蒸馏水中，琼脂加入 600 mL 蒸馏水中。然后分别搅拌均匀，煮沸溶解。冷至 80 °C 左右时，先将硫酸亚铁和磷酸氢二钠混匀，倒入基础液中，混匀。将柠檬酸铋铵和亚硫酸钠混匀，倒入基础液中，再混匀。调节 pH，随即倾入琼脂液中，混合均匀，冷至 50 °C~55 °C。加入煌绿溶液，充分混匀后立即倾注平皿。

注：本培养基不需要高压灭菌，在制备过程中不宜过分加热，避免降低其选择性，贮于室温暗处，超过 48 h 会降低其选择性，本培养基宜于当天制备，第二天使用。

A.5 HE 琼脂 (Hektoen Enteric Agar)

A.5.1 成分

蛋白胨	12.0 g
牛肉膏	3.0 g
乳糖	12.0 g
蔗糖	12.0 g
水杨素	2.0 g
胆盐	20.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	18.0 g~20.0 g
蒸馏水	1 000 mL
0.4% 溴麝香草酚蓝溶液	16.0 mL
Andrade 指示剂	20.0 mL
甲液	20.0 mL
乙液	20.0 mL
pH	7.5±0.2

A.5.2 制法

将前面七种成分溶解于 400 mL 蒸馏水内作为基础液；将琼脂加入于 600 mL 蒸馏水内。然后分别搅拌均匀，煮沸溶解。加入甲液和乙液于基础液内，调节 pH。再加入指示剂，并与琼脂液合并，待冷至 50℃~55℃ 倾注平皿。

注：①本培养基不需要高压灭菌，在制备过程中不宜过分加热，避免降低其选择性。

②甲液的配制

硫代硫酸钠	34.0 g
柠檬酸铁铵	4.0 g
蒸馏水	100 mL

③乙液的配制

去氧胆酸钠	10.0 g
蒸馏水	100 mL

④Andrade 指示剂

酸性复红	0.5 g
1mol/L 氢氧化钠溶液	16.0 mL
蒸馏水	100 mL

将复红溶解于蒸馏水中，加入氢氧化钠溶液。数小时后如复红褪色不全，再加氢氧化钠溶液 1 mL~2 mL。

A.6 木糖赖氨酸脱氧胆盐 (XLD) 琼脂

A.6.1 成分

酵母膏	3.0 g
L-赖氨酸	5.0 g
木糖	3.75 g
乳糖	7.5 g

蔗糖	7.5 g
去氧胆酸钠	2.5 g
柠檬酸铁铵	0.8 g
硫代硫酸钠	6.8 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g
酚红	0.08 g
蒸馏水	1 000 mL

pH 7.4±0.2

A. 6.2 制法

除酚红和琼脂外,将其他成分加入 400 mL 蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH。另将琼脂加入 600 mL 蒸馏水中,煮沸溶解。

将上述两溶液混合均匀后,再加入指示剂,待冷至 50℃~55℃倾注平皿。

注:本培养基不需要高压灭菌,在制备过程中不宜过分加热,避免降低其选择性,贮于室温暗处。本培养基宜于当天制备,第二天使用。

A. 7 三糖铁(TSI)琼脂

A. 7.1 成分

蛋白胨	20.0 g
牛肉膏	5.0 g
乳糖	10.0 g
蔗糖	10.0 g
葡萄糖	1.0 g
硫酸亚铁铵(含 6 个结晶水)	0.2 g
酚红	0.25 g 或 5.0 g/L 溶液 5.0 mL
氯化钠	5.0 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼脂	12.0 g
蒸馏水	1 000 mL

pH 7.4±0.2

A. 7.2 制法

除酚红和琼脂外,将其他成分加入 400 mL 蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH。另将琼脂加入 600 mL 蒸馏水中,煮沸溶解。

将上述两溶液混合均匀后,再加入指示剂,混匀,分装试管,每管约 2 mL~4 mL,高压灭菌 121℃ 10 min 或 115℃ 15 min,灭菌后置成高层斜面,呈桔红色。

A. 8 蛋白胨水、靛基质试剂

A. 8.1 蛋白胨水

蛋白胨(或胰蛋白胨)	20.0 g
氯化钠	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

pH 7.4±0.2

将上述成分加入蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH,分装小试管,121℃ 高压灭菌 15 min。

A. 8.2 靛基质试剂

A. 8.2.1 柯凡克试剂：将 5 g 对二甲氨基甲醛溶解于 75 mL 戊醇中，然后缓慢加入浓盐酸 25 mL。

A. 8.2.2 欧-波试剂：将 1 g 对二甲氨基苯甲醛溶解于 95 mL 95% 乙醇内。然后缓慢加入浓盐酸 20 mL。

A. 8.3 试验方法

挑取小量培养物接种，在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 1 d~2 d，必要时可培养 4 d~5 d。加入柯凡克试剂约 0.5 mL，轻摇试管，阳性者于试剂层呈深红色；或加入欧-波试剂约 0.5 mL，沿管壁流下，覆盖于培养液表面，阳性者于液面接触处呈玫瑰红色。

注：蛋白胨中应含有丰富的色氨酸。每批蛋白胨买来后，应先用已知菌种鉴定后方可使用。

A. 9 尿素琼脂 (pH 7.2)

A. 9.1 成分

蛋白胨	1.0 g
氯化钠	5.0 g
葡萄糖	1.0 g
磷酸二氢钾	2.0 g
0.4% 酚红	3.0 mL
琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL
20% 尿素溶液	100 mL
pH7.2±0.2	

A. 9.2 制法

除尿素、琼脂和酚红外，将其他成分加入 400 mL 蒸馏水中，煮沸溶解，调节 pH。另将琼脂加入 600 mL 蒸馏水中，煮沸溶解。

将上述两溶液混合均匀后，再加入指示剂后分装， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。冷至 $50\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，加入经除菌过滤的尿素溶液。尿素的最终浓度为 2%。分装于无菌试管内，放成斜面备用。

A. 9.3 试验方法

挑取琼脂培养物接种，在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h，观察结果。尿素酶阳性者由于产碱而使培养基变为红色。

A. 10 氰化钾 (KCN) 培养基

A. 10.1 成分

蛋白胨	10.0 g
氯化钠	5.0 g
磷酸二氢钾	0.225 g
磷酸氢二钠	5.64 g
蒸馏水	1 000 mL
0.5% 氰化钾	20.0 mL

A. 10.2 制法

将除氰化钾以外的成分加入蒸馏水中，煮沸溶解，分装后 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。放在冰箱内使其充分冷却。每 100 mL 培养基加入 0.5% 氰化钾溶液 2.0 mL (最后浓度为 1:10 000)，分装于无菌试管内，每管约 4 mL，立刻用无菌橡皮塞塞紧，放在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内，至少可保存两个月。同时，将不加氰化钾的培养基作为对照培养基，分装试管备用。

A. 10.3 试验方法

将琼脂培养物接种于蛋白胨水内成为稀释菌液，挑取 1 环接种于氰化钾 (KCN) 培养基。并另

挑取 1 环接种于对照培养基。在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 1 d~2 d, 观察结果。如有细菌生长即为阳性(不抑制), 经 2 d 细菌不生长为阴性(抑制)。

注:氰化钾是剧毒药,使用时应小心,切勿沾染,以免中毒。夏天分装培养基应在冰箱内进行。试验失败的主要原因是封口不严,氰化钾逐渐分解,产生氢氰酸气体逸出,以致药物浓度降低,细菌生长,因而造成假阳性反应。试验时对每一环节都要特别注意。

A. 11 赖氨酸脱羧酶试验培养基

A. 11.1 成分

蛋白胨	5.0 g
酵母浸膏	3.0 g
葡萄糖	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL
1.6% 溴甲酚紫-乙醇溶液	1.0 mL
L-赖氨酸或 DL-赖氨酸	0.5 g/100 mL 或 1.0 g/100 mL
pH	6.8 ± 0.2

A. 11.2 制法

除赖氨酸以外的成分加热溶解后,分装每瓶 100 mL, 分别加入赖氨酸。L-赖氨酸按 0.5% 加入, DL-赖氨酸按 1% 加入。调节 pH。对照培养基不加赖氨酸。分装于无菌的小试管内, 每管 0.5 mL, 上面滴加一层液体石蜡, $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 10 min。

A. 11.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取培养物接种, 于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 18 h~24 h, 观察结果。氨基酸脱羧酶阳性者由于产碱, 培养基应呈紫色。阴性者无碱性产物, 但因葡萄糖产酸而使培养基变为黄色。对照管应为黄色。

A. 12 糖发酵管

A. 12.1 成分

牛肉膏	5.0 g
蛋白胨	10.0 g
氯化钠	3.0 g
磷酸氢二钠(含 12 个结晶水)	2.0 g
0.2% 溴麝香草酚蓝溶液	12.0 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH	7.4 ± 0.2

A. 12.2 制法

A. 12.2.1 葡萄糖发酵管按上述成分配好后, 调节 pH。按 0.5% 加入葡萄糖, 分装于有一个倒置小管的小试管内, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

A. 12.2.2 其他各种糖发酵管可按上述成分配好后, 分装每瓶 100 mL, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。另将各种糖类分别配好 10% 溶液, 同时高压灭菌。将 5 mL 糖溶液加入于 100 mL 培养基内, 以无菌操作分装小试管。

注:蔗糖不纯,加热后会自行水解者, 应采用过滤法除菌。

A. 12.3 试验方法:从琼脂斜面上挑取少量培养物接种, 于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养, 一般 2 d~3 d。迟缓反应需观察 14 d~30 d。

A. 13 ONPG 培养基

A. 13.1 成分

邻硝基酚 β -D 半乳糖苷 (ONPG) (O-Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside)	60.0 mg
0.01mol/L 磷酸钠缓冲液 (pH7.5)	10.0 mL
1%蛋白胨水 (pH7.5)	30.0 mL

A. 13.2 制法

将 ONPG 溶于缓冲液内, 加入蛋白胨水, 以过滤法除菌, 分装于无菌的小试管内, 每管 0.5 mL, 用橡皮塞塞紧。

A. 13.3 试验方法

自琼脂斜面上挑取培养物 1 满环接种于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 1 h~3 h 和 24 h 观察结果。如果 β -半乳糖苷酶产生, 则于 1 h~3 h 变黄色, 如无此酶则 24 h 不变色。

A. 14 半固体琼脂

A. 14.1 成分

牛肉膏	0.3 g
蛋白胨	1.0 g
氯化钠	0.5 g
琼脂	0.35g~0.4 g
蒸馏水	100 mL
pH 7.4 \pm 0.2	

A. 14.2 制法

按以上成分配好, 煮沸溶解, 调节 pH。分装小试管。121 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。直立凝固备用。

注: 供动力观察、菌种保存、H 抗原位相变异试验等用。

A. 15 丙二酸钠培养基

A. 15.1 成分

酵母浸膏	1.0 g
硫酸铵	2.0 g
磷酸氢二钾	0.6 g
磷酸二氢钾	0.4 g
氯化钠	2.0 g
丙二酸钠	3.0 g
0.2% 溴麝香草酚蓝溶液	12.0 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH 6.8 \pm 0.2	

A. 15.2 制法

除指示剂以外的成分溶解于水, 调节 pH, 再加入指示剂, 分装试管, 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

A. 15.3 试验方法

用新鲜的琼脂培养物接种, 于 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 观察结果。阳性者由绿色变为蓝色。

附录 B
(规范性附录)
常见沙门氏菌抗原

B.1 常见沙门氏菌抗原

常见沙门氏菌抗原见表 B.1。

表 B.1 常见沙门氏菌抗原表

菌名	拉丁菌名	O 抗原	H 抗原	
			第 1 相	第 2 相
A 群				
甲型副伤寒沙门氏菌	<i>S. paratyphi A</i>	1, 2, 12	a	[1,5]
B 群				
基桑加尼沙门氏菌	<i>S. kisangani</i>	1,4,[5],12	a	1,2
阿雷查瓦莱塔沙门氏菌	<i>S. arechavaleta</i>	4,[5],12	a	1,7
马流产沙门氏菌	<i>S. abortusequi</i>	4,12	-	e,n,x
乙型副伤寒沙门氏菌	<i>S. paratyphi B</i>	1,4,[5],12	b	1,2
利密特沙门氏菌	<i>S. limete</i>	1,4,12,[27]	b	1,5
阿邦尼沙门氏菌	<i>S. abony</i>	1,4,[5],12,27	b	e,n,x
维也纳沙门氏菌	<i>S. wien</i>	1,4,12,[27]	b	1,w
伯里沙门氏菌	<i>S. bury</i>	4,12,[27]	c	z6
斯坦利沙门氏菌	<i>S. stanley</i>	1,4,[5],12,[27]	d	1,2
圣保罗沙门氏菌	<i>S. saintpaul</i>	1,4,[5],12	e,h	1,2
里定沙门氏菌	<i>S. reading</i>	1,4,[5],12	e,h	1,5
彻斯特沙门氏菌	<i>S. chester</i>	1,4,[5],12	e,h	e,n,x
德尔卑沙门氏菌	<i>S. derby</i>	1,4,[5],12	f,g	[1,2]
阿贡纳沙门氏菌	<i>S. agona</i>	1,4,[5],12	f,g,s	[1,2]
埃森沙门氏菌	<i>S. essen</i>	4,12	g,m	-
加利福尼亚沙门氏菌	<i>S. californica</i>	4,12	g,m,t	[z ₆₇]
金斯敦沙门氏菌	<i>S. kingston</i>	1,4,[5],12,[27]	g,s,t	[1,2]
布达佩斯沙门氏菌	<i>S. budapest</i>	1,4,12,[27]	g,t	-
鼠伤寒沙门氏菌	<i>S. typhimurium</i>	1,4,[5],12	i	1,2

拉古什沙门氏菌	<i>S. Lagos</i>	1,4,[5],12	i	1,5
布雷登尼沙门氏菌	<i>S.bredeney</i>	1,4,12,[27]	l,v	1,7
基尔瓦沙门氏菌 II	<i>S.kilwa II</i>	4,12	l,w	e,n,x
海德尔堡沙门氏菌	<i>S.heidelberg</i>	1,4,[15],12	r	1,2
印地安纳沙门氏菌	<i>S.indiana</i>	1,4,12	z	1,7
斯坦利维尔沙门氏菌	<i>S.stanleyville</i>	1,4,[5],12,[27]	z ₄ ,z ₂₃	[1,2]
伊图里沙门氏菌	<i>S.ituri</i>	1,4,12	z ₁₀	1,5
C1 群				
奥斯陆沙门氏菌	<i>S.oslo</i>	6,7,14	a	e,n,x
爱丁堡沙门氏菌	<i>S.edinburg</i>	6,7,14	b	1,5
布隆方丹沙门氏菌 II	<i>S.bloemfontein II</i>	6,7	b	[e,n,x]: z ₄₂
丙型副伤寒沙门氏菌	<i>S.paratyphi C</i>	6,7,[Vi]	c	1,5
猪霍乱沙门氏菌	<i>S.choleraesuis</i>	6,7	c	1,5
猪伤寒沙门氏菌	<i>S.typhisuis</i>	6,7	c	1,5
罗米他沙门氏菌	<i>S.lomita</i>	6,7	e,h	1,5
布伦登卢普沙门氏菌	<i>S.braenderup</i>	6,7,14	e,h	e,n,z ₁₅
里森沙门氏菌	<i>S.rissen</i>	6,7,14	f,g	-
蒙得维的亚沙门氏菌	<i>S.montevideo</i>	6,7,14	g,m,[p],s	[1,2,7]
里吉尔沙门氏菌	<i>S.riggil</i>	6,7	g,[t]	-
奥雷宁堡沙门氏菌	<i>S.oranieburg</i>	6,7,14	m,t	[2,5,7]
奥里塔曼林沙门氏菌	<i>S.oritamerin</i>	6,7	i	1,5
汤卜逊沙门氏菌	<i>S.thompson</i>	6,7,14	k	1,5
康科德沙门氏菌	<i>S.concord</i>	6,7	l,v	1,2
伊鲁木沙门氏菌	<i>S.irumu</i>	6,7	l,v	1,5
姆卡巴沙门氏菌	<i>S.mkamba</i>	6,7	l,v	1,6
波恩沙门氏菌	<i>S.bonn</i>	6,7	l,v	e,n,x
波茨坦沙门氏菌	<i>S.potsdam</i>	6,7,14	l,v	e,n,z ₁₅
格但斯克沙门氏菌	<i>S.gdansk</i>	6,7,14	l,v	z ₆
维尔肖沙门氏菌	<i>S.virchow</i>	6,7,14	r	1,2

婴儿沙门氏菌	<i>S.infantis</i>	6,7, <u>14</u>	r	1,5
巴布亚沙门氏菌	<i>S.papuana</i>	6,7	r	e,n,z ₁₅
巴累利沙门氏菌	<i>S.bareilly</i>	6,7, <u>14</u>	y	1,5
哈特福德沙门氏菌	<i>S.hartford</i>	6,7	y	e,n,x
三河岛沙门氏菌	<i>S.mikawasima</i>	6,7, <u>14</u>	y	e,n,z ₁₅
姆班达卡沙门氏菌	<i>S.mbandaka</i>	6,7, <u>14</u>	z ₁₀	e,n,z ₁₅
田纳西沙门氏菌	<i>S.tennessee</i>	6,7, <u>14</u>	z ₂₉	[1,2,7]
布伦登卢普沙门氏菌	<i>S.braenderup</i>	6,7, <u>14</u>	e,h	e,n,z ₁₅
耶路撒冷沙门氏菌	<i>S.jerusalem</i>	6,7, <u>14</u>	z ₁₀	l,w
C2 群				
习志野沙门氏菌	<i>S.narashino</i>	6,8	a	e,n,x
名古屋沙门氏菌	<i>S.nagoya</i>	6,8	b	1,5
加瓦尼沙门氏菌	<i>S.gatuni</i>	6,8	b	e,n,x
慕尼黑沙门氏菌	<i>S.muenchen</i>	6,8	d	1,2
曼哈顿沙门氏菌	<i>S.manhattan</i>	6,8	d	1,5
纽波特沙门氏菌	<i>S.newport</i>	6,8, <u>20</u>	e,h	1,2
科特布斯沙门氏菌	<i>S.kottbus</i>	6,8	e,h	1,5
茨昂威沙门氏菌	<i>S.tshiongwe</i>	6,8	e,h	e,n,z ₁₅
林登堡沙门氏菌	<i>S.lindenburg</i>	6,8	i	1,2
塔科拉迪沙门氏菌	<i>S.takoradi</i>	6,8	i	1,5
波那雷恩沙门氏菌	<i>S.bonariensis</i>	6,8	i	e,n,x
利齐菲尔德沙门氏菌	<i>S.litchfield</i>	6,8	l,v	1,2
病牛沙门氏菌	<i>S.bovismorbificans</i>	6,8, <u>20</u>	r,[i]	1,5
查理沙门氏菌	<i>S.chailey</i>	6,8	z ₄ ,z ₂₃	e,n,z ₁₅
C3 群				
巴尔多沙门氏菌	<i>S.bardo</i>	8	e,h	1,2
依麦克沙门氏菌	<i>S.emek</i>	8, <u>20</u>	g,m,s	-
肯塔基沙门氏菌	<i>S.kentucky</i>	8, <u>20</u>	i	z ₆

D 群				
仙台沙门氏菌	<i>S.sendai</i>	1,9,12	a	1,5
伤寒沙门氏菌	<i>S.typhi</i>	9,12,[Vi]	d	-
塔西沙门氏菌	<i>S.tarshyne</i>	9,12	d	1,6
伊斯特本沙门氏菌	<i>S.eastbourne</i>	1,9,12	e,h	1,5
以色列沙门氏菌	<i>S.israel</i>	9,12	e,h	e,n,z ₁₅
肠炎沙门氏菌	<i>S.enteritidis</i>	1,9,12	g,m	[1,7]
布利丹沙门氏菌	<i>S.blegdam</i>	9,12	g,m,q	-
沙门氏菌 II	<i>Salmonella II</i>	1,9,12	g,m,[s],t	[1,5,7]
都柏林沙门氏菌	<i>S.dublin</i>	1,9,12,[Vi]	g,p	-
芙蓉沙门氏菌	<i>S.seremban</i>	9,12	i	1,5
巴拿马沙门氏菌	<i>S.panama</i>	1,9,12	l,v	1,5
戈丁根沙门氏菌	<i>S.goettingen</i>	9,12	l,v	e,n,z ₁₅
爪哇安纳沙门氏菌	<i>S.javiana</i>	1,9,12	L,z ₂₈	1,5
鸡-雏沙门氏菌	<i>S.gallinarum-pullorum</i>	1,9,12	-	-
E1 群				
奥凯福科沙门氏菌	<i>S.okefoko</i>	3,10	c	z ₆
瓦伊勒沙门氏菌	<i>S.vejle</i>	3,{10}, {15}	e,h	1,2
明斯特沙门氏菌	<i>S.muenster</i>	3,{10}{15}{15,34}	e,h	1, 5
鸭沙门氏菌	<i>S.anatum</i>	3, {10}{15}{15,34}	e,h	1,6
纽兰沙门氏菌	<i>S.newlands</i>	3,{10}, {15,34}	e,h	e,n,x
火鸡沙门氏菌	<i>S.meleagridis</i>	3, {10}{15}{15,34}	e,h	1,w
雷根特沙门氏菌	<i>S.regent</i>	3,10	f,g,[s]	[1,6]
西翰普顿沙门氏菌	<i>S.westhampton</i>	3,{10}{15}{15,34}	g,s,t	-
阿姆德尔尼斯沙门氏菌	<i>S.amouderness</i>	3,10	i	1,5
新罗歇尔沙门氏菌	<i>S.new-rochelle</i>	3,10	k	1,w
恩昌加沙门氏菌	<i>S.nchanga</i>	3,{10}{15}	l,v	1,2
新斯托夫沙门氏菌	<i>S.sinstorf</i>	3,10	l,v	1,5

伦敦沙门氏菌	<i>S.london</i>	3,{10}{15}	l,v	1,6
吉韦沙门氏菌	<i>S.give</i>	3,{10}{15}{15,34}	l,v	1,7
鲁齐齐沙门氏菌	<i>S.ruzizi</i>	3,10	l,v	e,n,z ₁₅
乌干达沙门氏菌	<i>S.uganda</i>	3,{10}{15}	l,z ₁₃	1,5
乌盖利沙门氏菌	<i>S.ughelli</i>	3,10	r	1,5
韦太夫雷登沙门氏菌	<i>S.weltevreden</i>	3,{10}{15}	r	z ₆
克勒肯威尔沙门氏菌	<i>S.clerkenwell</i>	3,10	z	1,w
列克星敦沙门氏菌	<i>S.lexington</i>	3,{10}{15}{15,34}	z ₁₀	1,5
E4 群				
萨奥沙门氏菌	<i>S.sao</i>	1,3,19	e,h	e,n,z ₁₅
卡拉巴尔沙门氏菌	<i>S.calabar</i>	1,3,19	e,h	1,w
山夫登堡沙门氏菌	<i>S.senftenberg</i>	1,3,19	g,[s],t	-
斯特拉特福沙门氏菌	<i>S.stratford</i>	1,3,19	i	1,2
塔克松尼沙门氏菌	<i>S.taksony</i>	1,3,19	i	z ₆
索恩保沙门氏菌	<i>S.schoeneberg</i>	1,3,19	z	e,n,z ₁₅
F 群				
昌丹斯沙门氏菌	<i>S.chandans</i>	11	d	[e,n,x]
阿柏丁沙门氏菌	<i>S.aberdeen</i>	11	i	1,2
布里赫姆沙门氏菌	<i>S.brijbhumi</i>	11	i	1,5
威尼斯沙门氏菌	<i>S.veneziana</i>	11	i	e,n,x
阿帕特图巴沙门氏菌	<i>S.abaetetuba</i>	11	k	1,5
鲁比斯劳沙门氏菌	<i>S.rubislaw</i>	11	r	e,n,x
其他群				
浦那沙门氏菌	<i>S.poona</i>	1,13,22	z	1,6
里特沙门氏菌	<i>S.ried</i>	1,13,22	z ₄ ,z ₂₃	[e,n,z ₁₅]
密西西比沙门氏菌	<i>S.mississippi</i>	1,13,23	b	1,5
古巴沙门氏菌	<i>S.cubana</i>	1,13,23	z ₂₉	-
苏拉特沙门氏菌	<i>S.surat</i>	[1],6,14,[25]	r,[i]	e,n,z ₁₅

松兹瓦尔沙门氏菌	<i>S.sundsvall</i>	[1],6,14,[25]	z	e,n,x
非丁伏斯沙门氏菌	<i>S.hvittingfoss</i>	16	b	e,n,x
威斯敦沙门氏菌	<i>S.weston</i>	16	e,h	z ₆
上海沙门氏菌	<i>S.shanghai</i>	16	l,v	1,6
自贡沙门氏菌	<i>S.zigong</i>	16	l,w	1,5
巴圭达沙门氏菌	<i>S.baguida</i>	21	z ₄ ,z ₂₃	-
迪尤波尔沙门氏菌	<i>S.dieuoppeul</i>	28	i	1,7
卢肯瓦尔德沙门氏菌	<i>S.luckenwalde</i>	28	z ₁₀	e,n,z ₁₅
拉马特根沙门氏菌	<i>S.ramatgan</i>	30	k	1,5
阿德莱沙门氏菌	<i>S.adelaide</i>	35	f,g	-
旺兹沃思沙门氏菌	<i>S.wandsworth</i>	39	b	1,2
雷俄格伦德沙门氏菌	<i>S.riogrande</i>	40	b	1,5
莱瑟沙门氏菌	<i>S.lethe II</i>	41	g,t	-
达莱姆沙门氏菌	<i>S.dahlem</i>	48	k	e,n,z ₁₅
沙门氏菌 IIIb	<i>Salmonella IIIb</i>	61	l,v	1,5,7