



中华人民共和国国家标准

GB 4789.28—xxxx

食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求 (征求意见稿)

xxxx-xx-xx 发布

xxxx-xx-xx 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

目 次

前 言	3
1 范围	4
2 术语和定义	4
2.1 质量控制	4
2.2 培养基和试剂的批次	4
2.3 培养基及试剂的性能	4
2.4 培养基	4
2.5 液体培养基	4
2.6 固体培养基	4
2.7 半固体培养基	4
2.8 运输培养基	4
2.9 保藏培养基	4
2.10 悬浮培养基	5
2.11 复苏培养基	5
2.12 增菌培养基	5
2.13 选择性增菌培养基	5
2.14 非选择性增菌培养基	5
2.15 分离培养基	5
2.16 选择性分离培养基	5
2.17 非选择性分离培养基	5
2.18 鉴别培养基(特异性培养基)	5
2.19 鉴定培养基	5
2.20 计数培养基	5
2.21 参比培养基	5
2.22 商品化即用型培养基	5
2.23 商品化脱水合成培养基	6
2.24 自制培养基	6
2.25 试剂	6
2.26 测试菌株	6
2.27 标准菌株	6
2.28 标准储备菌株	6
2.29 储备菌株	6
2.30 工作菌株	6
3 培养基及试剂质量保证	6
3.1 证明文件	6
3.2 储存	7
3.3 培养基的实验室制备	7
3.4 培养基的使用	8
3.5 培养基的弃置	8
4 测试菌株的保藏及使用	8
4.1 一般要求	9

4.2 商业来源的测试菌株.....	9
4.3 实验室制备的标准储备菌株.....	9
4.4 储备菌株.....	9
4.5 工作菌株.....	9
5 培养基和试剂的质量要求.....	9
5.1 基本要求.....	9
5.2 微生物学要求.....	10
6 培养基和试剂性能测试方法.....	10
6.1 非选择性分离和计数固体培养基的目标菌生长率定量测试方法.....	10
6.2 选择性分离和计数固体培养基的测试方法.....	11
6.3 非选择性增菌培养基的半定量测试方法.....	12
6.4 选择性增菌培养基的半定量测试方法.....	12
6.5 选择性液体计数培养基的半定量测试方法.....	13
6.6 悬浮培养基和运输培养基的定量测试方法.....	13
6.7 鉴定培养基的测试方法.....	14
附录 A.....	16
附录 B.....	20
附录 C.....	21
附录 D.....	23
附录 E.....	24
附录 F.....	28
附录 G.....	50
附录 H.....	54

前 言

本标准代替GB 4789.28-2013《食品安全国家标准 食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求》。

本标准与GB 4789.28-2013相比，主要修改如下：

- 增加了参比培养基的质控标准；
- 增加了性能测试方法流程图；
- 删除了纯化学培养基、未定义和部分定义的化学培养基、确证培养基；
- 修改了部分测试菌株；
- 修改了生产商和实验室使用商品化培养基和试剂的质量控制标准方法；
- 修改了附录 D 的编号和名称。

食品安全国家标准

食品微生物学检验 培养基和试剂的质量要求

1 范围

本标准规定了食品微生物学检验用培养基和试剂的质量要求。
本标准适用于食品微生物学检验用培养基和试剂的质量控制。

2 术语和定义

2.1 质量控制

为满足质量要求所采取的技术操作和活动。

2.2 培养基和试剂的批次

培养基和试剂完整的可追溯单位，是指在特定的生产周期生产，符合生产质量要求的一定数量的产品，这些产品批号相同。

2.3 培养基及试剂的性能

在一定条件下培养基及试剂对测试菌株的反应。

2.4 培养基

液体、半固体或固体形式的，含天然或合成成分，用于保证微生物繁殖、鉴定或保持其活力的物质。

2.5 液体培养基

由含有一种或多种成分的水溶液组成的培养基（如：缓冲蛋白胨水）。

2.6 固体培养基

在液体培养基中加入一定量固化物（如：琼脂），经煮沸或湿热灭菌处理，冷却至室温后凝固成固体状态的培养基。

倾注到平皿内的固体培养基一般称作“平板”；倒入试管并摆放成斜面的固体培养基，当培养基凝固后通常称作“斜面”。

2.7 半固体培养基

在液体培养基中加入极少量固化物（如：琼脂），经煮沸或湿热灭菌处理，冷却后凝固成半固体状态的培养基。

2.8 运输培养基

在取样后和实验室处理前，保护和维持微生物活性，且不允许微生物明显增殖或减少的培养基。

运输培养基中通常不含使微生物增殖的物质，但是培养基应能保护菌株（如：缓冲甘油-氯化钠溶液运输培养基）。

2.9 保藏培养基

用于在一定期限内保护和维持微生物活力，防止长期保存对其的不利影响，或使其在长期保存后容易复苏的培养基(如：营养琼脂斜面)。

2.10 悬浮培养基

将测试样品的微生物分散到液相中，在整个接触过程中不产生增殖或抑制作用(如：磷酸盐缓冲液)。

2.11 复苏培养基

能够使受损或应激的微生物修复，使微生物恢复正常生长能力，但不一定促进微生物繁殖的培养基。

2.12 增菌培养基

通常为液体培养基，能够给微生物繁殖提供特定的生长环境。

2.13 选择性增菌培养基

能够允许特定的微生物在其中繁殖，而部分或全部抑制其他微生物生长的培养基(如：TTB培养基)。

2.14 非选择性增菌培养基

能够保证多种微生物生长的培养基(如：营养肉汤)。

2.15 分离培养基

支持微生物生长的固体或半固体培养基。

2.16 选择性分离培养基

支持特定微生物生长而抑制其他微生物生长的分离培养基(如：XLD琼脂)。

2.17 非选择性分离培养基

对微生物没有选择性抑制的分离培养基(如：营养琼脂)。

2.18 鉴别培养基(特异性培养基)

能够进行一项或多项微生物生理和(或)生化特性鉴定的培养基(如：伊红美蓝琼脂)。

注：能够用于分离培养的鉴别培养基被称作分离(鉴别)培养基(如：XLD琼脂)。

2.19 鉴定培养基

能够产生一个或多个特定的鉴定反应而通常不需要进一步确证实验的培养基(如：乳糖发酵管)。

注：用于分离的鉴定培养基被称为分离(鉴定)培养基。

2.20 计数培养基

能够对微生物进行定量计数的选择性(如：MYP琼脂)或非选择性培养基(如：平板计数琼脂)。

注：计数培养基可包含复苏和(或)增菌培养基的特性。

2.21 参比培养基

依据培养基配方特别制备，质量优良的培养基，用于培养基的质量控制，以保证食品微生物检验用培养基的质量。

参比培养基须由具备相应检验能力，并取得通过国家认证认可资质的检验机构出具的检测报告。

2.22 商品化即用型培养基

以即用形式或融化后即形式置于容器(例如平皿、试管或其他容器)或载体内供应的液体、固体或半固体培养基：

- 完全可即用的培养基及测试片；
- 需重新熔化的培养基(如用于平板倾注技术)；
- 使用前需重新熔化、分装(如倾注到平皿)的培养基；
- 使用前需重新熔化，添加物质并分装的培养基(如：TSC 培养基和 Baird Parker 琼脂)。

注：测试片的测试方法及评定标准参考附录 F。

2.23 商品化脱水合成培养基

使用前需加水和进行处理的干燥培养基，如：粉末、小颗粒、冻干等形式：

- 完全培养基，使用的时候无需加入其它成分；
- 不完全培养基，使用的时候需加入添加剂。

2.24 自制培养基

依据培养基完整配方的具体成分，实验室自行制备的培养基。

2.25 试剂

用于食品微生物检验的试剂和培养基配制的配套试剂。

2.26 测试菌株

通常用于培养基性能测试的微生物。

注：测试菌株根据其来源不同(见2.27-2.30)可进一步定义。

2.27 标准菌株

直接从专业菌种保藏机构获得并至少定义到属或种水平的菌株。按菌株特性进行分类和描述，最好来源于食品、水或其生产环境中的菌株。

2.28 标准储备菌株

将标准菌株在实验室转接一代后得到的一套完全相同的独立菌株。

2.29 储备菌株

从标准储备菌株转接一代获得的培养物。

2.30 工作菌株

由标准物质/标准样品或标准储备菌株、储备菌株转接一代获得的直接用于测试使用的菌株。

注：标准物质/标准样品是指含有一定数量活菌，符合预期用途并足够均匀和稳定的材料。

3 培养基及试剂质量保证

3.1 证明文件

3.1.1 生产企业提供的文件

生产企业应提供以下资料(可提供电子文本)：

- 培养基或试剂的各种成分、添加成分名称及产品编号；
- 批号；
- pH 值(适用于培养基)；
- 储存信息和有效期；
- 标准要求及质控报告；
- 必要的安全和(或)危害数据。

3.1.2 产品的交货验收

对每批产品，应记录接收日期，并检查：

- 产品合格证明材料；
- 包装的完整性；
- 产品的有效期；
- 其他必要的文件材料。

3.2 储存

3.2.1 一般要求

应严格按照供应商提供的贮存条件、有效期和使用方法进行培养基和试剂的保存和使用。

3.2.2 脱水合成培养基及其添加成分

验收应包括以下内容：

- 容器密闭性检查；
- 内容物的感官检查。

开封后的脱水合成培养基，其质量取决于贮存条件。通过观察粉末的流动性、均匀性、结块情况和色泽变化等，判断脱水培养基的质量变化。若发现培养基受潮或物理性状发生明显改变，则不应再使用。

3.2.3 商品化即用型培养基和试剂

应严格按照供应商提供的贮存条件、有效期和使用方法进行保存和使用。

3.2.4 实验室自制培养基

在保证其成分不会改变条件下保存，即避光、干燥保存，必要时在2℃~8℃冰箱中保存，通常建议平板保存期不超过4周，瓶装及试管装培养基保存期不超过6个月。

如需在培养基中添加不稳定的添加剂，应即配即用；含有活性化学物质或不稳定性成分的固体培养基也应即配即用，不可二次融化。

培养基的贮存应建立经验证的有效期。观察培养基是否有颜色变化、蒸发（脱水）或微生物生长的情况，当培养基发生这类变化时，应禁止使用。

培养基使用或再次加热前，应先取出平衡至室温。

3.3 培养基的实验室制备

3.3.1 一般要求

正确制备培养基是微生物检验的最基础步骤之一，使用脱水培养基和其他成分，尤其是含有有毒有害物质（如胆盐或其他选择剂）的成分时，应遵守良好实验室规范和生产厂商提供的使用说明。培养基的不正确制备会导致培养基出现质量问题（见附录B）。

使用商品化脱水合成培养基制备培养基时，应严格按照厂商提供的使用说明配制。如重量（体积）、pH、制备日期、灭菌条件和操作步骤等。

实验室使用各种基础成分制备培养基时，应按照配方准确配制，并记录相关信息，如培养基名称和类型及试剂级别、每个成分物质含量、制造商、批号、pH、培养基体积（分装体积）、无菌措施（包括实施的方式、温度及时间）、配制日期、人员等，以便溯源。

3.3.2 水

实验用水的电导率在25℃时不应超过25 μS/cm（相当于电阻率≥0.04 MΩcm），除非另有规定要求。

实验用水的微生物污染不应超过10² CFU/mL。应按GB 4789.2定期检验微生物污染水平。

3.3.3 称重和溶解

准确称量所需量的脱水合成培养基（必要时佩戴口罩或在通风柜中操作，以防吸入培养基粉末等有害物质），先加入适量的水，充分混合（注意避免培养基结块），然后加水至所需的量后适当加热，并重复或连续搅拌使其快速分散，含琼脂的培养基在加热前应浸泡3-5分钟。

pH的测定和调节：除特殊说明外，pH应在标准pH \pm 0.2范围内。一般使用浓度约为1 mol/L的氢氧化钠溶液或盐酸溶液调节培养基的pH。

3.3.4 分装

将配好的培养基分装到适当容器中，培养基体积不应超过容器容积的2/3。

3.3.5 灭菌/除菌

3.3.5.1 一般要求

培养基应采用湿热灭菌法（见3.3.5.2）或过滤除菌法（见3.3.5.3）。

某些培养基如不适用湿热灭菌或过滤除菌的方式，则可使用煮沸杀菌方式处理。

3.3.5.2 湿热灭菌

具体培养基应按食品微生物学检验标准中的规定或者商品使用说明进行灭菌。

如培养基体积超过1 000 mL，应使用生物指示剂或相应设备进行灭菌效果验证。所有的操作应参照标准或使用说明的规定进行。

加热后采用适当的方式冷却，以防加热过度。这对于大容量和敏感培养基十分重要，例如含有煌绿的培养基。

3.3.5.3 过滤除菌

过滤除菌可使用孔径为0.22 μ m的无菌设备和滤膜过滤去除微生物。

3.4 培养基的使用

3.4.1 琼脂培养基的熔化

将培养基放到沸水浴中或采用有相同效果的方法（如高压锅中的层流蒸汽）使之熔化。经过高压的培养基应尽量减少重新加热时间。熔化后的培养基放入47 $^{\circ}$ C \sim 50 $^{\circ}$ C的恒温装置中冷却保温(可根据实际培养基凝固温度适当提高恒温装置温度)，直至使用，培养基达到47 $^{\circ}$ C \sim 50 $^{\circ}$ C的时间与培养基的品种、体积和数量有关。熔化后的培养基应尽快使用，放置时间不应超过4 h。未用完的培养基不能重新凝固留待下次使用。

3.4.2 培养基的脱氧

将培养基在使用前放到沸水浴或蒸汽浴中加热15 min；加热时松开容器的盖子，加热后盖紧，并迅速冷却至使用温度（如液体硫乙醇酸盐培养基）。

3.4.3 添加成分的加入

待培养基冷却至47 $^{\circ}$ C \sim 50 $^{\circ}$ C时，加入平衡至室温的热不稳定添加成分，避免造成琼脂凝结或形成片状物。将加入添加成分的培养基缓慢充分混匀，尽快分装到待用的容器中。

3.4.4 平板的制备和储存

倾注熔化的培养基到平皿中（直径90 mm的平皿，通常要加入18 mL \sim 20 mL琼脂培养基），使之在平皿中的厚度至少为3 mm。将平皿盖好皿盖后放到水平平面，使琼脂冷却凝固。如果平板需储存，或者培养时间超过48 h或培养温度高于40 $^{\circ}$ C，则需要倾注更多的培养基。凝固后的培养基应立即使用或存放于暗处和（或）2 $^{\circ}$ C \sim 8 $^{\circ}$ C冰箱的密封袋中，以防止培养基成分的改变。在平板底部或侧边做好标记，标记的内容包括名称、制备日期和（或）有效期。也可使用适宜的培养基编码系统进行标记。

对于采用表面接种形式培养的固体培养基，应在生物安全柜或洁净工作台先对琼脂表面进行干燥。注意不要过度干燥。商品化的平板琼脂培养基应按照厂商提供的说明使用。

3.5 培养基的弃置

所有污染和未使用的培养基弃置应采用安全的方式，并且要符合相关法律法规的规定。

4 测试菌株的保藏及使用

4.1 一般要求

为成功保藏及使用菌株，不同菌株应采用不同的保藏方法，可选择使用冻干保藏、超低温（不高于-70℃）冷冻保藏、液氮保藏或其他有效的保藏方法。

4.2 商业来源的测试菌株

对于从标准菌种保藏中心或其他有效认证的商业机构获得的原包装测试菌株，复苏和使用应按照国家制造商提供的使用说明进行。

4.3 实验室制备的标准储备菌株

用于性能测试的标准储备菌株（见附录C图C.1），在保存和使用时应注意避免交叉污染，减少菌株突变或发生典型的特性变化；标准储备菌株应制备多份，并采用超低温（不高于-70℃）或冻干的形式保存。在较高温度下贮存时间应缩短。

标准储备菌株用作培养基的测试菌株时应在文件中充分描述其生长特性。

标准储备菌株不能用于制备标准菌株。

4.4 储备菌株

储备菌株通常用冻干或超低温保存的标准储备菌株进行制备（见附录C图C.2）。

制备储备菌株应避免标准储备菌株的交叉污染和(或)退化。制备储备菌株时，应将标准储备菌株制成悬浮液转接到非选择培养基中培养，以获得特性稳定的菌株。

对于商业来源的菌株，必须严格按照制造商的说明执行。

储备菌株不能用于制备标准储备菌株或标准菌株。

4.5 工作菌株

工作菌株由标准储备菌株或储备菌株制备。

工作菌株不能用于制作标准菌株、标准储备菌株或储备菌株。

5 培养基和试剂的质量要求

5.1 基本要求

5.1.1 培养基和试剂

培养基和试剂的质量由基础成分的质量、制备过程的控制、微生物污染的消除及包装和储存条件等因素所决定。

供应商或制备者应对基础成分的质量、制备过程、微生物污染的消除及包装和储存条件进行控制，确保培养基和试剂的理化特性满足相关标准的要求：

培养基和试剂的各种成分、添加剂或选择剂应进行适当的质量评价。

附录F中未描述的培养基和试剂，应根据以下规定进行质量控制：

- 不含指示剂或选择剂的培养基，可根据培养基的使用范围选择菌株进行测试。
- 含有指示剂和选择剂的培养基，应使用能证明指示剂和选择性功能的菌株。
- 使用前需添加添加剂的培养基和鉴定试剂，应使用特征性的菌株进行测试。

5.1.2 基础成分

国家标准中列出的培养基成分通常可以直接使用。因用于制备培养基的部分成分(见附录D)质量不稳定，可允许对其用量进行适当的调整，如：

- 根据营养需要改变胨类、浸粉类的用量；
- 根据所需凝胶作用的效果改变琼脂的用量；
- 根据缓冲要求决定缓冲物质用量；

- 根据选择性要求决定胆盐、胆汁抽提物和脱氧胆酸盐、抗菌染料的用量；
- 根据抗生素的效价决定其用量。

5.2 微生物学要求

5.2.1 概论

培养基和试剂应达到附录 F 质量控制标准的要求，其性能测试方法按 6 执行。实验室使用商品化培养基和试剂时，应保留生产商按 3.1.1 提供的资料，并制定验收程序。如果生产商能提供具备相应检验能力，并取得国家相关认证认可资质的检验机构出具的同批次产品的检验报告，实验室可保留相关证明文件，根据实际需求对该批次培养基的性能进行重复测试。

5.2.2 生长特性

5.2.2.1 一般要求

选择下列方法对每批成品培养基或试剂进行评价：

- 定量方法；
- 半定量方法；
- 定性方法。

采用定量方法时，应使用参比培养基（见附录 E）作为对照；采用半定量和定性方法时，使用能得到“阳性”结果的培养基作为对照有助于结果的解释。

5.2.2.2 生长率

按规定用适当方法将适量测试菌株的工作培养物接种至固体、半固体和液体培养基中。

每种培养基上菌株的生长率应达到所规定的最低限值（见附录 F）。

5.2.2.3 选择性

为定量评估培养基的选择性，应按照规定以适当方法将适量测试菌株的工作培养物接种至选择性培养基和参比培养基中，培养基的选择性应达到规定值（见附录 F）。

5.2.2.4 生理生化特性（特异性）

确定培养基的菌落形态学、鉴别特性和选择性，或试剂的鉴别特性，以获得培养基或试剂的基本特性（见附录 F）。

5.2.2.5 性能评价和结果解释

若使用规定的所有测试菌株，培养基或试剂的性能测试达到标准要求，则该批培养基或试剂的性能测试结果符合规定。若基本要求和微生物学要求均符合规定，则该批培养基或试剂可被接受。

6 培养基和试剂性能测试方法

6.1 非选择性分离和计数固体培养基的目标菌生长率定量测试方法

6.1.1 工作菌悬液的制备

将标准储备菌株或储备菌株接种到非选择性肉汤培养过夜或采用其他方法，制备 10 倍系列稀释的菌悬液。进行生长率测试时，细菌和酵母菌每平板的接种水平为 50 CFU~250 CFU，霉菌每平板的接种水平为 30 CFU~150 CFU。

6.1.2 接种

选择适宜稀释度的工作菌悬液 0.1 mL，均匀涂布接种于待测平板和参比平板。每一稀释度接种两个平板。也可使用螺旋涂布法或倾注法进行接种，并按标准规定的条件培养。

6.1.3 计算

选择菌落数适中的平板进行计数，按下列式（1）计算生长率。

$$P_R = \frac{N_S}{N_0} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

P_R ——生长率；

N_S ——待测培养基平板上的菌落总数；

N_0 ——参比培养基平板上的菌落总数。

6.1.4 结果解释

目标菌在培养基上应呈现典型的生长。非选择性分离和计数固体培养基上目标菌的生长率应不小于0.7。

6.2 选择性分离和计数固体培养基的测试方法

6.2.1 目标菌生长率定量测试方法

6.2.1.1 工作菌悬液的制备

按照 6.1.1 中要求进行。

6.2.1.2 接种

按照 6.1.2 中要求进行。

6.2.1.3 计算

按照 6.1.3 中要求进行。

6.2.1.4 结果解释

目标菌在培养基上应呈现典型的生长。选择性分离固体培养基上目标菌的生长率一般应不小于0.5，最低应为0.1；选择性计数固体培养基上目标菌的生长率一般应不小于0.7。具体要求参照附录F培养基质量控制标准。

6.2.2 非目标菌(选择性)半定量测试方法

6.2.2.1 工作菌悬液的制备

将标准储备菌株接种到非选择性肉汤，培养过夜作为工作菌悬液。

6.2.2.2 接种

用1 μL接种环取选择性测试工作菌悬液1环，在待测培养基表面划六条平行直线（如图1），同时接种两个平板，划线时可在培养基下面放一个模板图，按标准规定的条件培养。

取一满环接种物，将接种环接触容器边缘3次可去除多余的液体。划线时，接种环与琼脂平面的角度应为20°~30°。接种环压在琼脂表面的压力和划线速度前后一致，整个划线应快速连续，移取液体培养物时应将接种环伸入培养液下部分以防止环上产生气泡或泡沫。

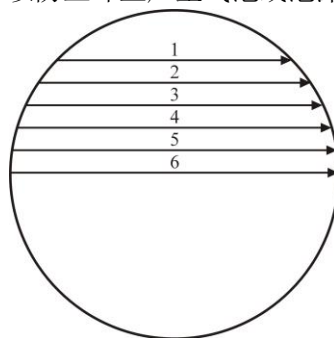


图1 非目标菌半定量划线法接种模式图

6.2.2.3 计算

培养后按以下方法对培养基计算生长指数G。每条有比较稠密菌落连续生长的划线则G为1，每个培养皿上最多为6分。如果仅一半的线有稠密菌落生长，则G为0.5。如果划线上没有菌落生长、生长量少于划线的一半或菌落生长微弱，则G为0。记录每个平板的得分总和便得到G。

6.2.2.4 结果解释

非目标菌的生长指数G一般小于或等于1，至少应小于5。

6.2.3 非目标菌(特异性)定性测试方法

6.2.3.1 工作菌悬液的制备

按照 6.1.1 中要求进行。

6.2.3.2 接种

用1 μ L接种环取测试菌培养物在测试培养基表面划进行分区划线。并按标准规定的培养条件培养平板。

6.2.3.3 结果解释

非目标菌不生长或微弱生长，生长良好的应有典型的菌落外观、大小和形态。

6.3 非选择性增菌培养基的半定量测试方法

6.3.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL。

6.3.2 工作菌悬液的制备

将标准储备菌株接种到非选择性肉汤培养过夜或采用其他制备方法，制备10倍系列稀释的菌悬液。

6.3.3 接种

在装有待测培养基的试管中接种10 CFU~100 CFU的目标菌，每管接种量为1 mL，接种两个平行管。同时将1 mL菌悬液（与试管接种同一稀释度）倾注平板，接种两个平板，作接种量计数用。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养（如增菌时间为8 h以下，需取10 μ L培养后的增菌液倾注到适合的培养基中，再按适合的培养时间和温度进行培养）。

6.3.4 结果解释

用目测的浊度值（如0~2）评估培养基：

- 0 表示无混浊；
- 1 表示轻微的混浊；
- 2 表示明显的混浊。

目标菌的浊度值应为2。

有时可以观察到微生物生长后聚集成细胞团，沉积在试管或瓶子底部，发生这种情况时，小心振荡试管后再进行观察。

如增菌8 h以下，10 μ L增菌液培养计数结果参照附录D培养基质量控制标准。

6.4 选择性增菌培养基的半定量测试方法

6.4.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL。

6.4.2 工作菌悬液的制备

按照 6.1.1 中要求进行。

6.4.3 接种

6.4.3.1 目标菌的接种

在装有待测培养基的试管中接种 10 CFU~100 CFU 的目标菌(特殊接菌量参照附录 F 培养基质量控制标准)，接种体积不超过 1 mL，同时接种两个平行管，混匀。将目标菌菌悬液（与试管接种同一稀释度）1mL 倾注平板，接种两个平板，作接种量计数用。按标准方法中规定的培养时间和温度进行

培养。

6.4.3.2 非目标菌的接种

在装有待测培养基的试管中接种 1 000 CFU~5 000 CFU 的非目标菌，接种体积不超过 1 mL，同时接种两个平行管，混匀。同时将 1 mL 菌悬液(比试管接种小 10 倍~100 倍稀释度)倾注平板，接种两个平板，作接种量计数用。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.4.4 培养液的接种

6.4.4.1 目标菌培养液的接种

吸取 10 μL 经培养后的目标菌培养液，均匀涂布或螺旋涂布接种到特定的选择性平板上（附录 F.4）。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.4.4.2 非目标菌培养液的接种

吸取 10 μL 经培养后的非目标菌培养液，均匀涂布或螺旋涂布接种到非选择性平板（如 TSA）上。并按标准规定的培养条件培养平板。

6.4.5 计算和结果解释

目标菌在选择性平板上的菌落应>10 CFU，则表示待测液体培养基的生长率良好；非目标菌在非选择性平板上的菌落数应<100 CFU，则表示待测液体培养基的选择性为良好。

6.5 选择性液体计数培养基的半定量测试方法

6.5.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL。

6.5.2 工作菌悬液的制备

按照 6.3.2 中要求进行。

6.5.3 接种

6.5.3.1 目标菌的接种

在装有待测培养基的试管中接种 10 CFU~100 CFU 的目标菌，接种体积不超过 1 mL，同时接种两个平行管，混匀。同时将 1 mL 菌悬液(与试管接种同一稀释度)倾注平板，接种两个平板，作接种量计数用。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.5.3.2 非目标菌的接种

在装有待测培养基的试管中接种 1 000 CFU~5 000 CFU 的非目标菌，接种体积不超过 1 mL，同时接种两个平行管，混匀。同时将 1 mL 菌悬液(比试管接种小 10 倍~100 倍稀释度)倾注平板，接种两个平板，作接种量计数用。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.5.4 结果解释

用目测的浊度值(如0~2)评估培养基：

—— 0 表示无混浊；

—— 1 表示轻微的混浊；

—— 2 表示明显的混浊。

并记录小导管收集气体的体积比。

6.6 悬浮培养基和运输培养基的定量测试方法

6.6.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL(有特殊要求的可选用5 mL)。

6.6.2 目标菌工作菌悬液的制备

按照 6.3.2 中要求进行。

6.6.3 接种

在装有待测培养基的试管中接种100 CFU~1 000 CFU的目标菌，同时接种两个平行管，混匀后，立即吸取1 mL待测培养基混合液，参照附录F培养基质量控制标准选用相应的培养基倾注平板，每管待测培养基接种一个平板。按标准方法中规定的培养时间和温度培养后，进行菌落计数。

剩余已接种菌液的待测培养基20 ℃~25 ℃放置45 min后；再吸取1 mL倾注平板，每管培养基接种一个平板，按标准方法中规定的培养时间和温度培养后，进行菌落计数。如保存条件有特殊要求的待测培养基，参照附录F培养基质量控制标准要求放置或培养后再进行菌落计数。

6. 6. 4 结果观察与解释

待测培养基中的菌落数变化应在±50%内。

6. 7 鉴定培养基的测试方法

6. 7. 1 液体培养基

6. 7. 1. 1 培养基的制备

将培养基分装试管，再进行灭菌和添加试剂。

6. 7. 1. 2 工作菌悬液的制备

将标准储备菌株接种到非选择性平板上或采用其他制备方法，制备成约 10^9 CFU/mL的菌悬液。

6. 7. 1. 3 接种

吸取0.05 mL至待测培养基内，按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6. 7. 1. 4 结果观察与解释

需加指示剂的试验在微生物生长良好的情况下，按顺序加入指示剂，再观察结果。结果解释参照附录F表。

6. 7. 2 半固体培养基

6. 7. 2. 1 培养基的制备

将培养基分装试管。灭菌后竖立放置，冷却后备用。

6. 7. 2. 2 接种

取新鲜测试菌株，用接种针挑取菌苔穿刺接种至待测培养基内。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6. 7. 2. 3 结果观察与解释

需加指示剂的试验在微生物生长良好的情况下，按顺序加入指示剂，再观察结果。结果解释参照附录F表。

6. 7. 3 高层斜面培养基和斜面培养基

6. 7. 3. 1 培养基的制备

将培养基分装试管。灭菌后摆放成高层斜面（斜面与底层高度约为2:3）和普通斜面（斜面与底层高度约为3:2），冷却后备用。

6. 7. 3. 2 接种

高层斜面培养基：取新鲜测试菌株斜面，用接种针挑取菌苔，穿刺接种至琼脂高层，穿刺接种完毕后，再在斜面上划“之”字形接种；斜面培养基：取新鲜测试菌株斜面，用接种环挑取菌苔，在斜面上划“之”字形接种。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6. 7. 3. 3 结果观察与解释

需加指示剂的试验，在微生物生长良好的情况下，按顺序加入指示剂，再观察结果。结果解释参照附录F表。

6. 7. 4 平板培养基

6. 7. 4. 1 培养基的制备

倾注灭菌熔化的培养基至平皿中，使之在平皿中形成至少3 mm厚的琼脂层（直径90 mm的平皿通常要加入18 mL~20 mL琼脂培养基）。

6.7.4.2 接种

取新鲜测试菌株，用接种环挑取菌苔，在平板上划“之”字形接种，或用接种针挑取菌苔，在平板上点种接种。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.7.4.3 结果观察与解释

参照附录F表。

6.8 实验试剂的测试方法

6.8.1 实验方法

按试剂说明书进行。

6.8.2 结果观察与解释

参照附录F表。

附录 A

培养基性能测试方法流程图

固体培养基目标菌生长率定量测试方法见图A.1。

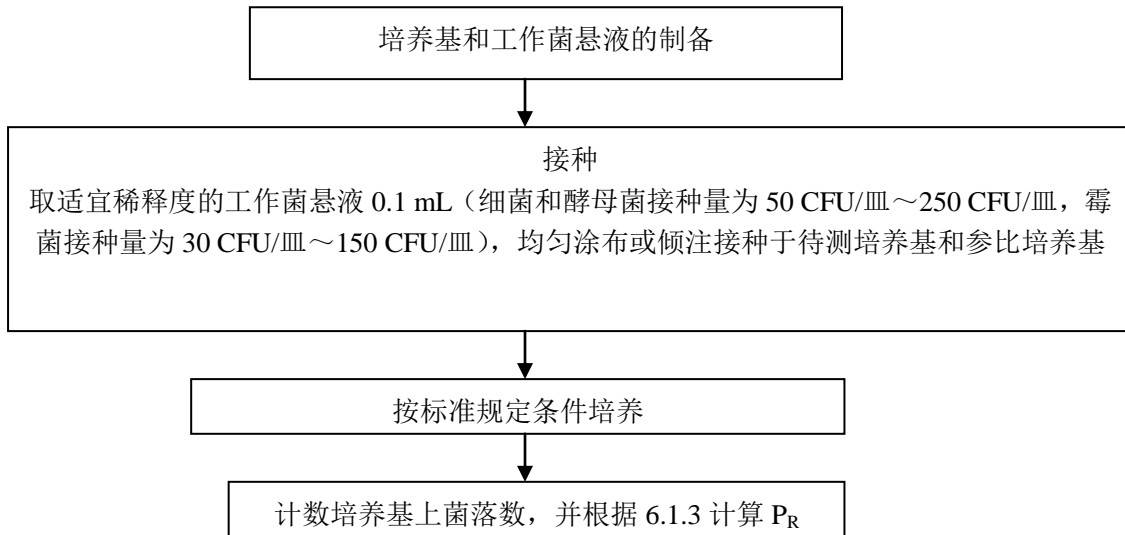


图 A.1 固体培养基目标菌生长率定量测定方法流程图

固体培养基非目标菌（选择性）半定量测试方法见图 A.2。

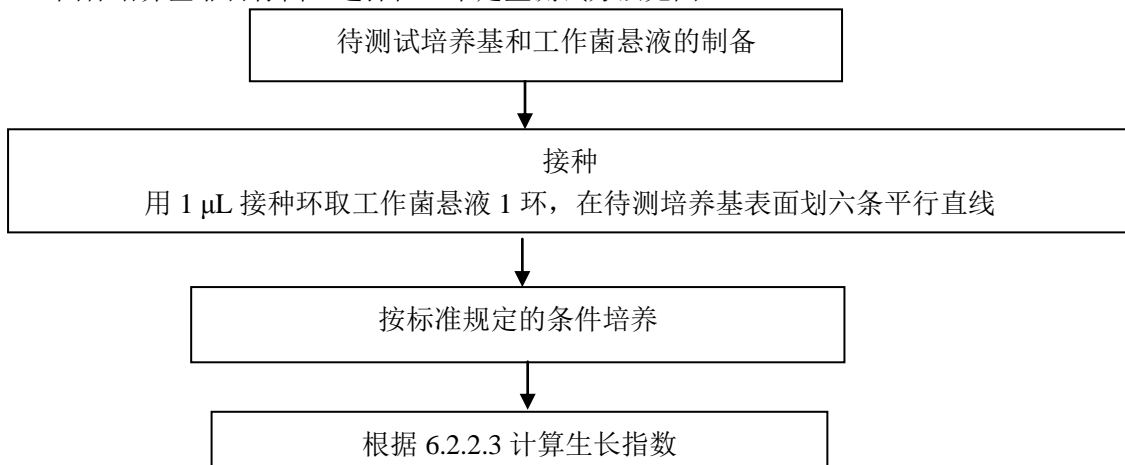


图 A.2 固体培养基非目标菌（选择性）半定量测定方法流程图

固体培养基非目标菌（特异性）定性测试方法见图A.3。

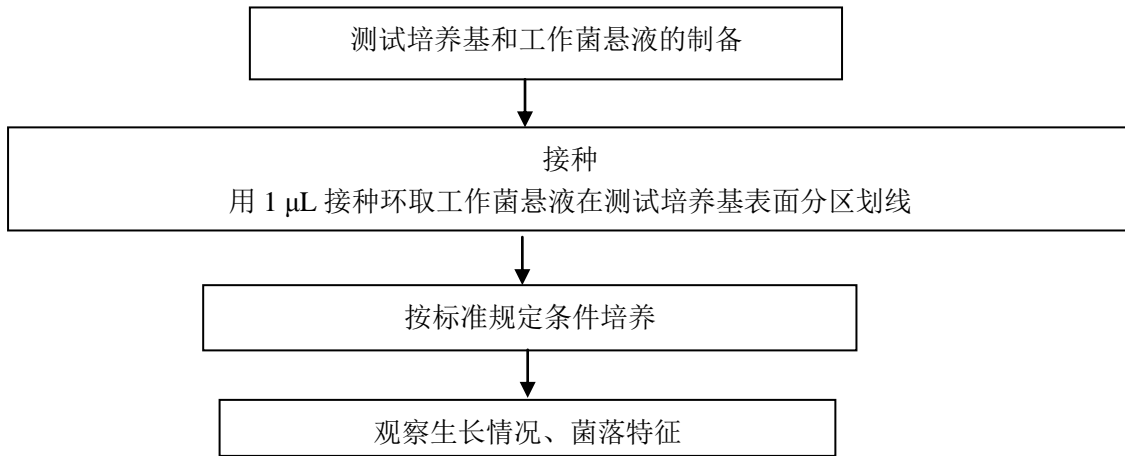


图 A.3 固体培养基非目标菌（特异性）定性测定方法流程图

非选择性增菌培养基半定量测试方法见图A.4。

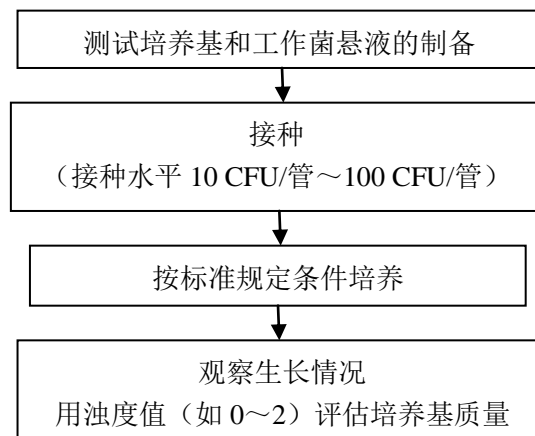


图 A.4 非选择性增菌培养基半定量测定方法流程图

选择性增菌培养基的半定量测试方法见图A.5。

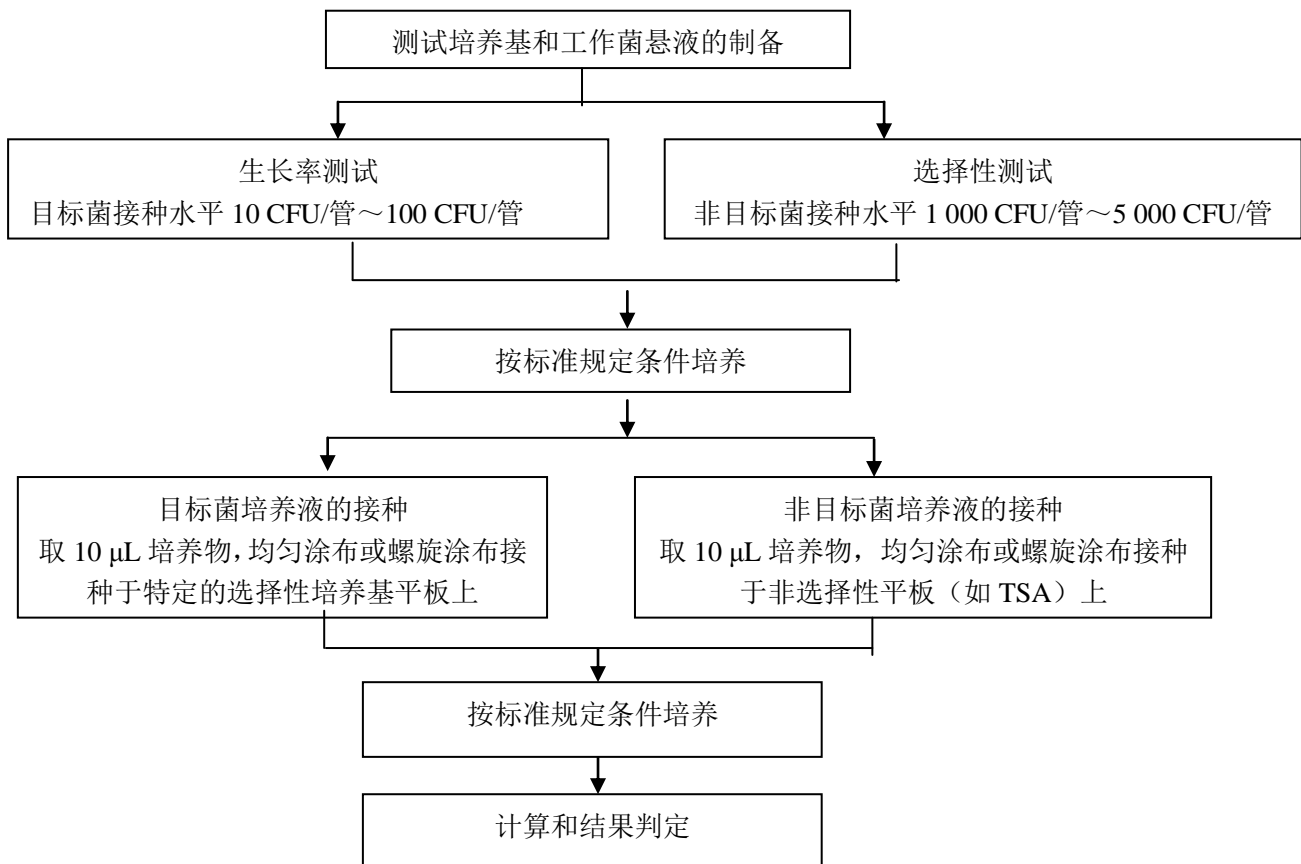


图 A.5 选择性增菌培养基的半定量测定方法流程图

选择性液体计数培养基的半定量测试方法见图A.6。

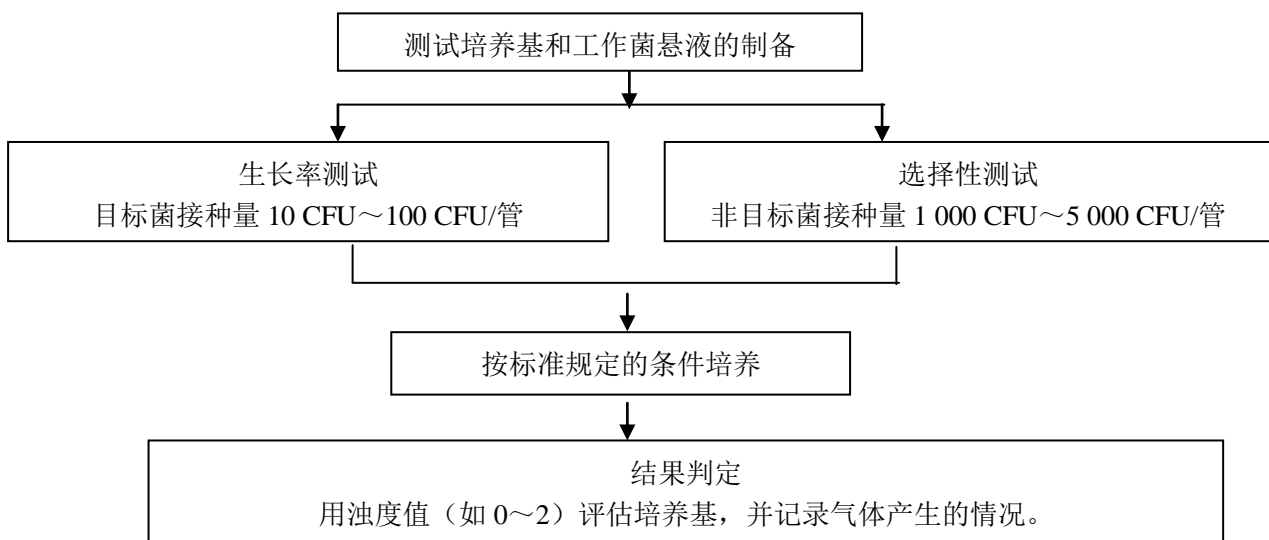


图 A.6 选择性液体计数培养基的半定量测定方法流程图

悬浮培养基和运输培养基的定量测试方法见图A.7。

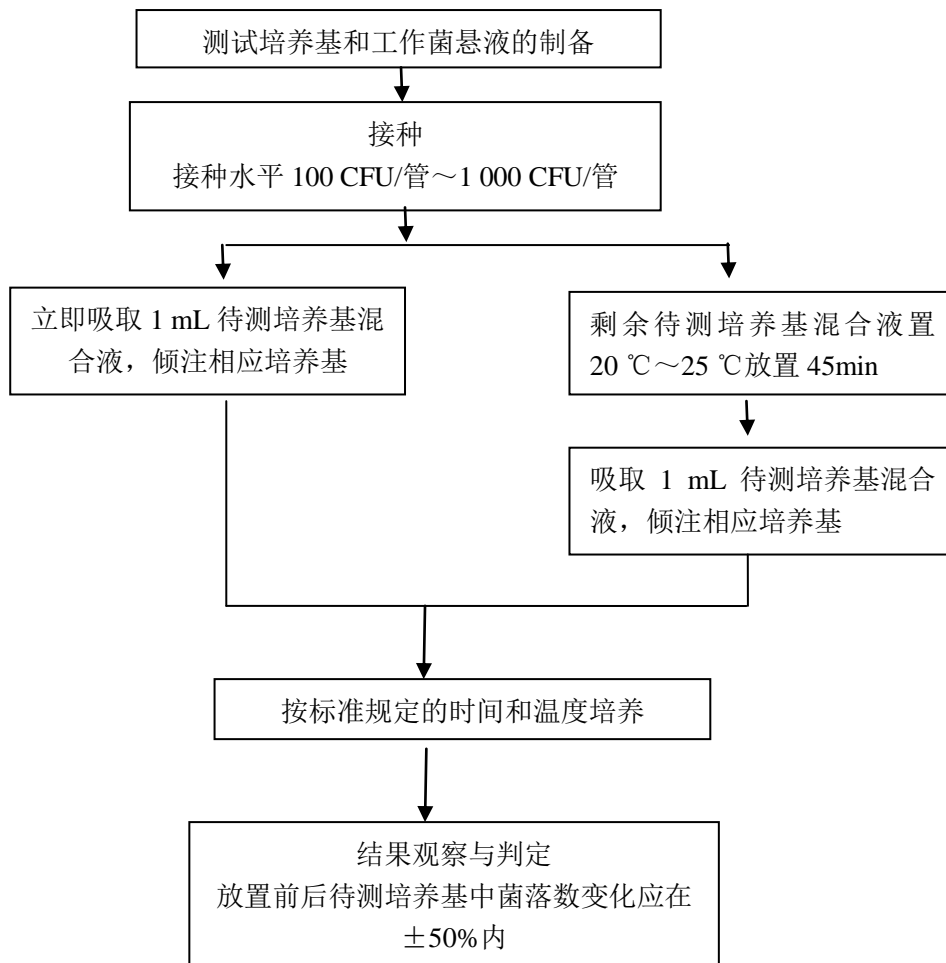


图 A.7 悬浮培养基和运输培养基的定量测定方法流程图

附录 B

培养基不正确配制出现的质量问题及原因分析

培养基不正确配制出现的质量问题及原因分析见表 B.1。

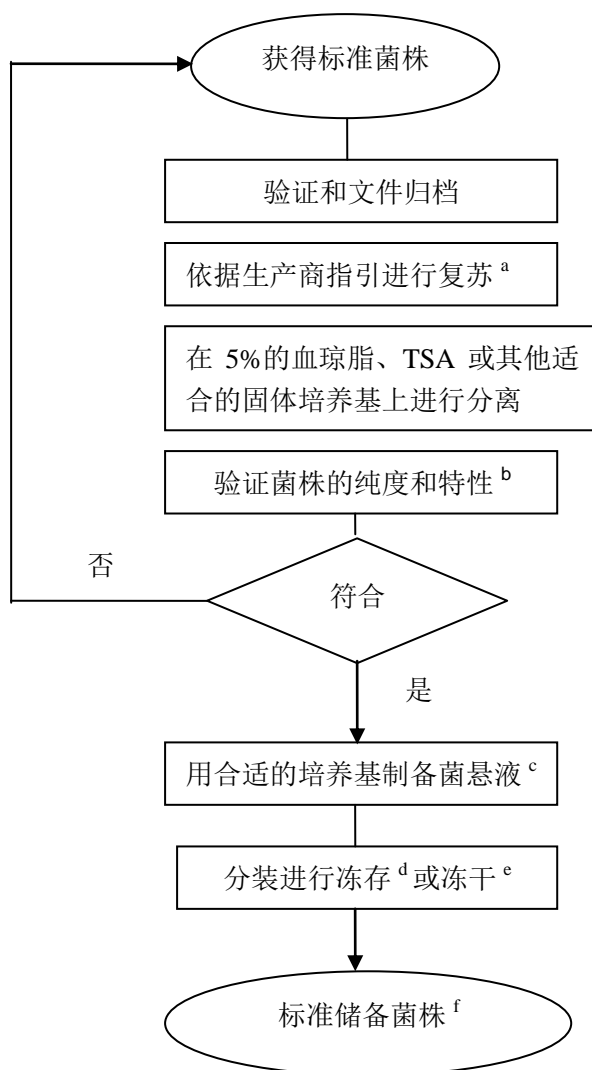
表 B.1 常见质量问题与解答

异常现象	可能原因
培养基不能凝固	制备过程中过度加热 低pH造成培养基酸解 称量不正确 琼脂未完全溶解 培养基成分未充分混匀
pH不正确	制备过程中过度加热 水质不佳 外部化学物质污染 测定pH时温度不正确 pH计未正确校准 脱水培养基质量差
颜色异常	制备过程中过度加热 水质不佳 pH不正确 外来污染 脱水培养基质量差
产生沉淀	制备过程中过度加热 水质不佳 脱水培养基质量差 pH未正确控制 原料中的杂质
培养基出现抑制/低的生长率	制备过程中过度加热 脱水培养基质量差 水质不佳 使用成分不正确，如，成分称量不准，添加剂浓度不正确 制备容器或水中的有毒残留物
选择性差	制备过程中过度加热 脱水培养基质量差 配方使用不对 添加成分的加入不正确，例如加入添加成分时培养基过热或添加浓度错误 添加剂污染
污染	不适当的灭菌 无菌操作技术存在问题 添加剂污染

附录 C

标准储备菌株和工作菌株的制备

标准菌株制备标准储备菌株的流程见图C.1。



^a 通常悬浮于营养肉汤中，培养适宜时间进行复苏。

^b 验证菌落形态和革兰氏染色，或用生化试验进行鉴定。

^c 例如，BHI 添加 40%~60% 甘油作为冷冻保护培养基。

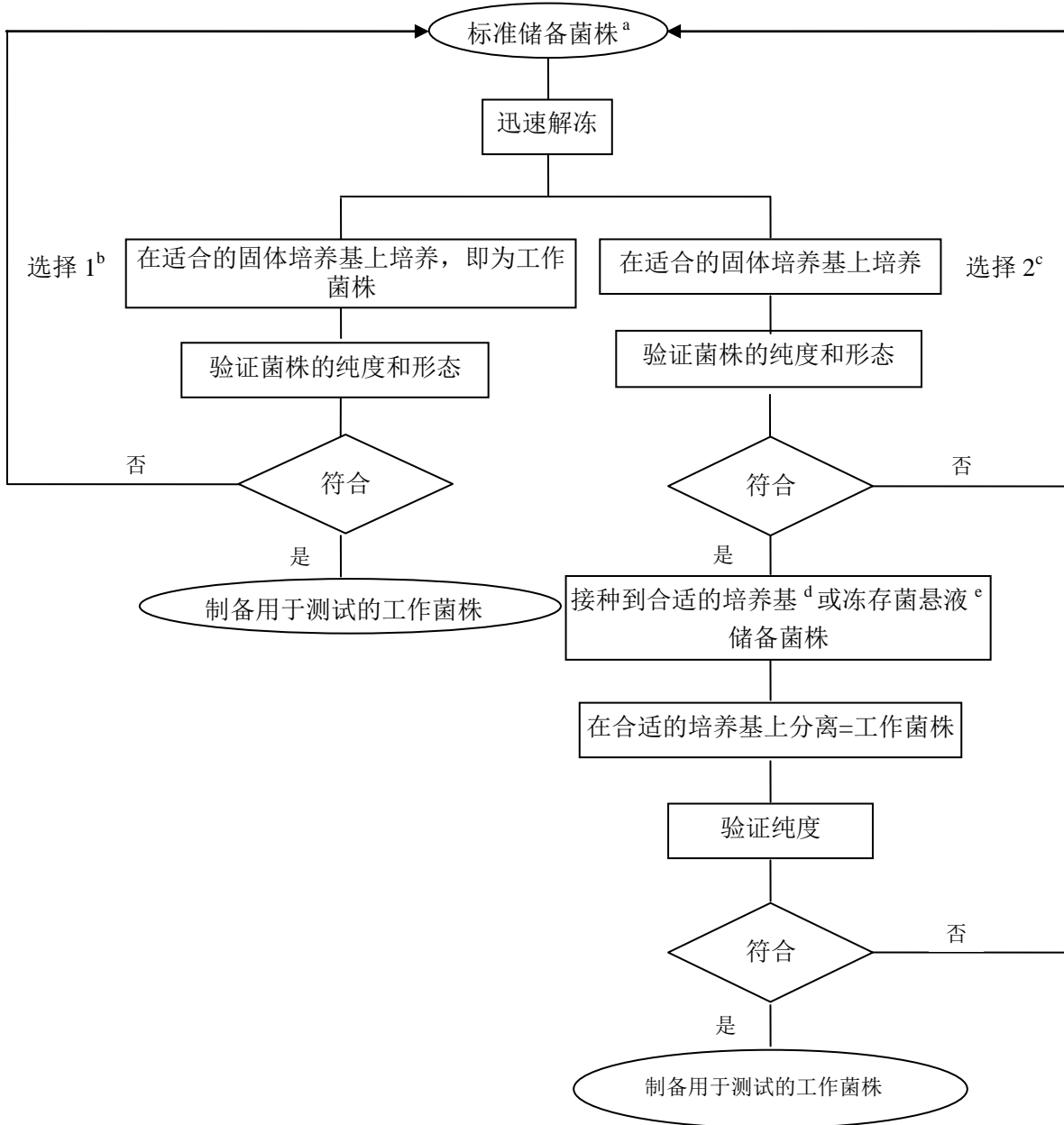
^d 冻存管可含有多孔的小珠子。

^e 在不高于-70 °C 低温冷冻保存可延长保存的时间，在较高温度下保存时间将缩短。

^f 可作为工作菌株来使用。

图 C.1 制作标准储备菌株的流程图

标准储备菌株制备工作菌株的流程见图C.2。



^a 如果标准储备菌株来源于别处，应加以验证及归档，包括核查能否溯源至标准菌株及相关特性。

^b 此流程适用于一般试验。

^c 此流程对某些菌株是必须的，如定量试验。应对所有阶段资料进行归档。

^d 例如，可接种到TSA斜面、TSA血琼脂斜面或其他合适的培养基，培养22 h~24 h，然后在适宜的温度(依据不同微生物在18℃~25℃或2℃~8℃)可存放4周。

^e 例如，BHI添加40%~60%甘油作为冷冻保护培养基。在不高于-70℃低温冷冻保存可延长保存的时间，在较高温度下保存时间将缩短。

图 C.2 制作工作菌株的流程图

附录 D

食品安全微生物检验标准中指定的培养基成分

D.1 胨类

蛋白胨：胃蛋白酶或胰酶消化动物组织水解物。

酪蛋白胨(或胰蛋白胨、胰酪胨)：酪蛋白胰酶水解物。

豚蛋白胨：胰酶低程度消化酪蛋白水解物。

多价蛋白胨：酪蛋白胨和蛋白胨等量混合物。

明胶蛋白胨：胰酶消化明胶水解物。

大豆蛋白胨：木瓜蛋白酶消化大豆粉水解物。

酸水解酪蛋白：盐酸消化酪蛋白水解物。

D.2 浸粉类

大部分浸粉是将植物或动物组织切开研碎，去除杂质，洗干净后，加适量纯化水后放置 2℃~10℃ 浸泡，然后加热或煮沸适当时间，调整 pH 值，过滤，喷雾干燥而成。浸粉中富含生长促进因子、维生素或高碳水化合物，能促进微生物快速生长发育。而酵母浸粉是以高蛋白面包酵母或啤酒酵母为原料，经自溶、酶解、浓缩、干燥等工艺制成的一种富含蛋白质、氨基酸、肽、多肽、核酸、维生素及微量元素等的营养成分。

主要的浸粉：

牛肉浸粉、牛心浸粉、牛脑浸粉、脑心浸粉、牛肝浸粉、酵母浸粉、马铃薯浸粉、麦芽浸粉、豌豆浸粉、玉米浸粉。

D.3 胆盐及胆汁类

牛胆盐、猪胆盐、3号胆盐、去氧胆酸钠、牛胆汁粉、猪胆汁粉。

D.4 凝固剂类

琼脂、明胶。

D.5 其他

亚碲酸盐卵黄乳液、卵黄乳液、脱脂奶粉、兔血浆、兔血球、脱纤维羊血。

附录 E

食品安全微生物检验标准中参比培养基的质控标准

E.1 沙氏葡萄糖琼脂 (Sabouraud Dextrose Agar Medium, SDA) 参比培养基质控标准

E.1.1 成分

蛋白胨	5.0 g
酪蛋白胨	5.0 g
葡萄糖	40.0 g
琼脂	15.0 g

E.1.2 原理

葡萄糖提供碳源；蛋白胨和胰蛋白胨提供氮源；琼脂是培养基的凝固剂。

E.1.3 制法

将上述成分加热溶解于 1 000 mL 蒸馏水中，121 °C 高压灭菌 15 min 备用。

E.1.4 质控标准

见表E.1。

表E.1 SDA参比培养基质控标准

项目	质控指标	质控条件	质控评定标准
理化	外观	/	淡黄色粉末，灭菌后为淡黄色透明胶体
	pH 值	121 °C 高压灭菌 15 min 后，倾 倒平板，待室温凝固后测定	5.6±0.2
促生长能力	测试菌株	培养温度与培养时间	菌落形态
	黑曲霉 CMCC(F)98003	28 °C ±1 °C, 72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，白色菌丝，黑色孢子
	白假丝酵母 CMCC(F)98001	28 °C ±1 °C, 72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，白色圆形菌落
	酿酒酵母 CMCC(F)98018	28 °C ±1 °C, 72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，奶油色圆形菌落
	桔青霉 CMCC(F)98028	28 °C ±1 °C, 72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，白色菌丝，绿色孢子
	产黄青霉 CMCC(F)98801	28 °C ±1 °C, 72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，白色菌丝，绿色孢子

E.2 MRS琼脂 (MRS AGAR) 参比培养基质控标准

E.2.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉浸粉	5.0 g
酵母浸粉	4.0 g
葡萄糖	20.0 g
吐温 80	1.0 mL
七水合磷酸氢二钾 ($K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$)	2.0 g
三水合醋酸钠 ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$)	5.0 g
柠檬酸三铵 ($C_6H_5O_7(NH_4)_3$)	2.0 g
七水合硫酸镁 ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.2 g
四水合硫酸锰 ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$)	0.05 g
琼脂	15.0 g

E.2.2 原理

蛋白胨、牛肉浸粉、酵母浸粉提供氮源、维生素、生长因子；葡萄糖为可发酵糖类；七水合磷酸氢二钾为酸碱缓冲剂；柠檬酸三铵、七水合硫酸镁、四水合硫酸锰、吐温 80 和三水合醋酸钠为培养各种乳酸菌提供生长因子，其成分还能抑制某些杂菌；琼脂是培养基的凝固剂。

E.2.3 制法

加热溶解于 1 000 mL 蒸馏水中，121 °C 高压灭菌 15 min 备用。

E.2.4 质控标准

见表E.2。

表E.2 MRS琼脂参比培养基质控标准

项目	质控指标	质控条件	质控评定标准
理化	外观	/	为淡黄色均匀粉末。加入水中混悬均匀，灭菌后为琥珀色透明胶体。
	pH 值	121 °C 高压灭菌 15 min 后，倾 倒平板，待室温凝固后测定	6.2±0.2
微生物	测试菌株	培养温度与培养时间	菌落形态
	德氏乳杆菌保加利亚亚种 CMCC(B)34131	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，浅灰色，边缘不规则
	嗜热链球菌 CMCC(B)32483	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，白色圆形
	长双歧杆菌婴儿亚种 CMCC(B)93905	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h，厌氧	生长良好，白色圆形
	瑞士乳杆菌 CICC6032	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，白色圆形
	戊糖乳杆菌 CICC22707	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，白色圆形
	植物乳杆菌 CMCC(B)34134	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，白色圆形
	干酪乳酪杆菌 CMCC(B)34135	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，白色圆形

E.3 胰蛋白胨大豆琼脂（TSA）参比培养基质控标准

E.3.1 成分

胰蛋白胨	15.0 g
大豆蛋白胨	5.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g

E.3.2 原理

胰蛋白胨、大豆蛋白胨提供氮源、维生素和生长因子；氯化钠维持均衡的渗透压；琼脂是培养基的凝固剂。

E.2.3 制法

取上述成分，加热溶解于 1 000 mL 蒸馏水中，121 °C 高压灭菌 15 min 备用。TSA+5% 裂解羊血为在 TSA 基础上添加 5% 裂解羊血，3% 氯化钠 TSA 为在 TSA 基础上添加 2.5% 氯化钠。

E.2.4 质控标准

见表 E.3。

表 E.3 TSA 参比培养基质控标准

项目	质控指标	质控条件	质控评定标准
理化	外观	/	为淡黄色粉末，灭菌后为淡黄色透明胶体。
	pH 值	121 °C 高压灭菌 15 min 后，倾倒在平板，待室温凝固后测定	7.3±0.2
微生物	测试菌株	培养温度与培养时间	菌落形态
	阪崎克罗诺杆菌 CMCC(B)45401	25 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，菌落黄色，圆形，表面光滑，湿润
	大肠埃希氏菌 CMCC(B)44102	36 °C ±1 °C，24 h ±2 h	生长良好，菌落灰白色，圆形，表面光滑，湿润
	金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26003	36 °C ±1 °C，24 h ±2 h	生长良好，菌落淡黄色，圆形
	枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63501	36 °C ±1 °C，24 h ±2 h	生长良好，菌落灰白色，圆形，干燥
	白假丝酵母 CMCC(F)98001	28 °C ±1 °C，72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，菌落白色，圆形，表面光滑，湿润
	黑曲霉 CMCC(F)98003	28 °C ±1 °C，72 h ±2 h ~ 96 h ±2 h	生长良好，产黑色孢子
	粪肠球菌 CMCC(B)32480	36 °C ±1 °C，24 h ±2 h	生长良好，菌落白色，圆形
	人参土芽孢杆菌 CMCC(B)63612	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，菌落灰白色，圆形
	藤黄微球菌 CMCC(B)28001	36 °C ±1 °C，48 h ±2 h	生长良好，菌落浅黄色，圆形
	嗜热脂肪芽孢杆菌 CMCC(B)63509	56 °C ±1 °C，24 h ±2 h	灰白色，圆形，表面光滑，湿润

E.4 推荐测试菌株一览表

序号 ^a	测试菌株中文名	测试菌株学名	CMCC 编号 ^b	CICC 编号 ^c	GDMCC 编号 ^d
1	白假丝酵母	<i>Candida albicans</i>	CMCC(F)98001	CICC 1965	GDMCC 2.178
2	阪崎克罗诺杆菌	<i>Cronobacter sakazakii</i>	CMCC(B)45401	CICC 25036	GDMCC 1.296
3	产黄青霉	<i>Penicillium chrysogenum</i>	CMCC(F)98801	CICC 41780	GDMCC 3.710
4	大肠埃希氏菌	<i>Escherichia coli</i>	CMCC(B)44102	CICC 10389	GDMCC 1.223
5	德氏乳杆菌保加利亚亚种	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>subsp. bulgaricus</i>	CMCC(B)34131	CICC 25031	GDMCC 1.2783
6	粪肠球菌	<i>Enterococcus faecalis</i>	CMCC(B)32480	CICC 25037	GDMCC 1.2902
7	干酪乳酪杆菌	<i>Lactobacillus casei</i>	CMCC(B)34135	CICC 25035	GDMCC 1.2885
8	黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>	CMCC(F)98003	CICC 2487	GDMCC 3.516
9	金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	CMCC(B)26003	CICC 10384	GDMCC 1.221
10	桔青霉	<i>Penicillium citrinum</i>	CMCC(F)98028	CICC 41779	GDMCC 3.693
11	枯草芽孢杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>	CMCC(B)63501	CICC 10275	GDMCC 1.222
12	酿酒酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CMCC(F)98018	CICC 33482	GDMCC 2.243
13	人参土芽孢杆菌	<i>Bacillus ginsengihumi</i>	CMCC(B)63612	CICC 25038	GDMCC 1.2919
14	瑞士乳杆菌	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CMCC(B)34132	CICC 6032	-
15	嗜根考克氏菌（藤黄微球菌）	<i>Kocuria rhizophila</i> (<i>Micrococcus luteus</i>)	CMCC(B)28001	CICC 10445	GDMCC 1.226
16	嗜热链球菌	<i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	CMCC(B)32483	CICC 25032	GDMCC 1.2800
17	嗜热脂肪芽孢杆菌	<i>Bacillus</i> <i>stearothermophilus</i>	CMCC(B)63509	CICC 25039	GDMCC 1.301
18	戊糖乳杆菌	<i>Lactobacillus pentosus</i>	CMCC(B)34133	CICC 22707	GDMCC 1.2851
19	长双歧杆菌婴儿亚种	<i>Bifidobacterium longum</i> <i>subsp. infantis</i>	CMCC(B)93905	CICC 25033	GDMCC 1.2817
20	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>subsp. plantarum</i>	CMCC(B)34134	CICC 25034	GDMCC 1.2868

a: 为方便检验实验室菌种获取，同一序号菌种如出现不同菌种编号，全部为同一株菌在三家菌种保藏管理中心同时注册获得；

b: CMCC 代表中国医学细菌保藏管理中心；

c: CICC 代表中国工业微生物菌种保藏管理中心；

d: GDMCC 代表广东省微生物菌种保藏管理中心。

附录 F

食品微生物实验室使用培养基和试剂的质量控制标准

食品微生物实验室使用培养基和试剂的质量控制标准见表 F.1~F.8。

表 F.1 非选择性分离和计数固体培养基质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
胰蛋白胨大豆琼脂	固体	非选择性分离	生长率	36℃±1℃ 24 h±2 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.7	—
					粪肠球菌 CMCC(B)32482				—
MC 培养基	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48 h±2 h	嗜热链球菌 CICC6038	MRS	定量	PR≥0.7	中等偏小,边缘光滑的红色菌落,可有淡淡的晕
MRS 培养基	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48 h±2 h	瑞士乳杆菌 CMCC(B)34132	MRS	定量	PR≥0.7	圆形凸起,中等大小,边缘整齐,无色不透明
					嗜热链球菌 CICC6038				圆形凸起,菌落偏小,边缘整齐,无色不透明
					长双歧杆菌婴儿亚种 CICC6069(厌氧培养)				圆形,中等大小,边缘整齐,瓷白色
3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂 (TSA)	固体	非选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18 h~24 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.7	无色半透明菌落
					创伤弧菌落 CMCC(B)17244				
营养琼脂	固体	非选择性分离	生长率	36℃±1℃ 24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.7	—
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305				
					枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63542				
含 0.6%酵母浸膏的胰酪胨大豆琼脂 (TSA-YE)	固体	非选择性分离	生长率	30℃±1℃ 24 h~48 h	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	TSA	定量	PR≥0.7	—
平板计数琼脂 (PCA)	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48 h±2 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.7	—
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305				
					枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63542				

表 F.1 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
双歧杆菌琼脂培养基	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48h~72h, 厌氧	长双歧杆菌婴儿亚种 CICC6069	MRS	定量	PR≥0.7	白色圆形凸起菌落
沙氏葡萄糖琼脂	固体	非选择性计数	生长率	30℃±1℃ 72h~120h	酿酒酵母 CMCC(F)98017	SDA	定量	PR≥0.7	白色圆形菌落
					黑曲霉 CICC2089				白色菌丝, 黑色孢子

表F.2 选择性分离和计数固体培养基质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
亚硫酸铋琼脂(BS)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 40h~48h	肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071	TSA	定量	PR≥0.5	黑色菌落, 有金属光泽
					肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976				黑色或灰绿色菌落, 有金属光泽
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 粪肠球菌 CMCC(B)32482	—	半定量	G≤1	—
HE 琼脂	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	TSA	定量	PR≥0.5	绿-蓝色菌落, 有黑心
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572				绿-蓝色菌落
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482	—	半定量	G≤1	—
木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂(XLD)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	TSA	定量	PR≥0.5	黑色菌落
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572				无色菌落, 无黑心
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	—	半定量	G≤1	—
沙门氏菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201				—
			特异性		奇异变形杆菌 CMCC(B)49005	—	定性	—	按说明书判定
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482				半定量

表 F.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应	
PALCAM 琼脂	固体	选择性分离	生长率	36 °C ±1 °C 24 h~48 h	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	TSA	定量	PR≥0.5	灰绿色菌落，中心凹陷黑色，周围有黑色	
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—	
					粪肠球菌 CMCC(B)32482					
麦康凯琼脂 (MAC)	固体	选择性分离	生长率	36 °C ±1 °C 20 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.5	鲜桃红色或粉红色，可有胆酸沉淀	
			选择性		福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572				无色至浅粉红色，半透明棕色或绿色菌落	
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	—	半定量	G≤1	—	
阪崎肠杆菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36 °C ±1 °C 24 h±2 h	阪崎肠杆菌 CICC21645	TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定	
			特异性		普通变形杆菌 CMCC(B)49027	—		定性	—	按说明书判定
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201				—	按说明书判定
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482		半定量	G≤1	—	
CIN-1 培养基	固体	选择性分离	生长率	26 °C ±1 °C 48 h±2 h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	TSA	定量	PR≥0.5	红色牛眼状菌落	
			特异性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—		定性	—	圆形、粉红色菌，边缘有胆汁沉淀环
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305				半定量	G≤1
改良 Y 培养基	固体	选择性分离	生长率	26 °C ±1 °C 48 h±2 h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	TSA	定量	PR≥0.5	红色透明不黏稠菌落	
			特异性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—		定性	—	粉红色菌落
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305				半定量	G≤1
伊红美蓝琼脂(EMB)	固体	选择性分离	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.5	黑色菌落，具金属光泽	
			特异性		肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血 清型 CMCC(B)50976	—		定性	—	菌落呈无色、半透明
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	—		半定量	G<5	—

表 F.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
改良山梨醇麦康凯琼脂 (CT-SMAC)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 O157:H7 CMCC(B)44939	TSA	定量	PR≥0.5	无色菌落
			特异性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	定性	—	粉红色菌落, 周围有胆盐沉淀
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	—	半定量	G≤1	—
O157 显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 O157:H7 CMCC(B)44939	TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定
			特异性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	定性	—	按说明书判定
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482	—	半定量	G≤1	—
李斯特氏菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 24h~48h	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	TSA	定量	PR≥0.5	蓝绿色菌落, 带白色晕环
			特异性		英诺克李斯特氏菌 CMCC(B)54103	—	定性	—	蓝绿色菌落, 无白色晕环
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 粪肠球菌 CMCC(B)32482		半定量	G≤1	—
志贺氏菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 20h~24h	福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572	TSA	定量	PR≥0.5	白色, 突起, 无色素沉淀圈
			痢疾志贺氏菌 CMCC(B)51105		白色, 突起, 有清晰环, 无色素沉淀圈				
			特异性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	定性	—	黄色, 有清晰环, 无色素沉淀圈
			选择性		产气肠杆菌 CMCC(B)45108 金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305		半定量	G≤1	—
改良 CCD (mCCD) 琼脂	固体	选择性分离	生长率	42℃±1℃ 24h~48h 微需氧	空肠弯曲杆菌 CMCC(B)22073	TSA 添加 5%裂解羊 血	定量	PR≥0.5	菌落有光泽、潮湿、扁平, 呈扩散生长倾向
			选择性	42℃±1℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	—	半定量	G≤1	—

表 F.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
Skirrow 琼脂	固体	选择性分离	生长率	42℃±1℃ 24h~48h, 微需氧	空肠弯曲杆菌 CMCC(B)22073	TSA 添加 5%裂解羊血	定量	PR≥0.5	菌落灰色、扁平、湿润有光泽, 呈沿接种线向外扩散倾向
			选择性	42℃±1℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305				
改良纤维二糖-多黏菌素 B-多黏菌素 E (mCPC) 琼脂	固体	选择性分离	生长率	39.5℃±0.5℃ 或 36℃±1℃ 18h~24h	创伤弧菌 CMCC(B)17244	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.1	圆型扁平,中心不透明,边缘透明的黄色菌落
			特异性		霍乱弧菌 CICC23794	—	定性	—	紫色菌落
			选择性		副溶血性弧菌 CMCC(B)20033		半定量	G≤1	—
纤维二糖-多黏菌素 E (CC) 琼脂	固体	选择性分离	生长率	39℃~40℃ 或 36℃±1℃ 18h~24h	创伤弧菌 CMCC(B)17244	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.5	圆型扁平,中心不透明,边缘透明的黄色菌落
			特异性		霍乱弧菌 CICC23794	—	定性	—	紫色菌落
			选择性		副溶血性弧菌 CMCC(B)20033		半定量	G≤1	—
硫代硫酸钠-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂(TCBS)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.2	绿色菌落
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—
弧菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定
			特异性		霍乱弧菌 CICC23794	—	定性	—	按说明书判定
					溶藻弧菌 CMCC(B)20100				按说明书判定
选择性	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—				
哥伦比亚 CNA 血琼脂	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h 厌氧培养	酿脓链球菌 CMCC(B)32210	TSA+5%裂解羊血	定量	PR≥0.5	灰白色圆形表面凸起边缘整齐的光滑半透明菌落, 周围有 β 溶血环
					肺炎链球菌 CMCC(B)33412				白色圆形凸起菌落, 菌落周围有 α 溶血环
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—

表 F.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
mPDA	固体	选择性分离	生长率	36 °C ±1 °C 24 h~48 h	唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 CMCC(B)10802	PDA	定量	PR≥0.5	紫色,光滑、湿润、边缘整齐;部分菌落中心可有呈草帽状凸起
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—
			选择性		白假丝酵母 CMCC(F)98001				
PCFA	固体	选择性分离	生长率	36 °C ±1 °C 24 h~48 h	唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 CMCC(B)10802	PDA	定量	PR≥0.5	灰白色,光滑、湿润、边缘整齐
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482	—	半定量	G≤1	—
Baird-Parker 琼脂	固体	选择性计数	生长率	36 °C ±1 °C 24 h~48 h	金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	TSA	定量	PR≥0.7	菌落黑色凸起,周围有一混浊带,在其外层有一透明圈
			特异性		表皮葡萄球菌 CMCC(B)26069	—	定性	—	黑色菌落,无混浊带和透明圈
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—
结晶紫中性红胆盐琼脂(VRBA)	固体	选择性计数	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.7	有或无沉淀环的紫红色或红色菌落
			选择性		福氏柠檬酸杆菌 CMCC(B)48098				
VRBA-MUG 琼脂	固体	选择性计数	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.7	带有沉淀环的紫红色或红色菌落,有荧光
			特异性		福氏柠檬酸杆菌 CMCC(B)48098	—	定性	—	可带有沉淀环的红色菌落,无荧光
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482	—	半定量	G<5	—
马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)	固体	选择性计数	生长率	28 °C ±1 °C 5 d	酿酒酵母 CMCC(F)98017	SDA	定量	PR≥0.7	奶油色菌落
			选择性		黑曲霉 CMCC(F)98029				—
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—
孟加拉红琼脂	固体	选择性计数	生长率	28 °C ±1 °C 5 d	酿酒酵母 CMCC(F)98017	SDA	定量	PR≥0.7	奶油色菌落
			选择性		黑曲霉 CMCC(F)98029				—
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—

表 F.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
莫匹罗星锂盐和半胱氨酸盐酸盐改良 MRS 培养基/莫匹罗星锂盐 (Li-Mupirocin) 改良 MRS 培养基	固体	选择性计数	生长率	36 °C ±1 °C 48 h ±2 h 厌氧培养	婴儿双歧杆菌 CICC6069	MRS	定量	PR≥0.7	圆形凸起, 边缘整齐, 无色不透明
			选择性		德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC6032	—	半定量	G≤1	—
					嗜热链球菌 CICC6038				
甘露醇卵黄多粘菌素琼脂 (MYP)	固体	选择性计数	生长率	30 °C ±2 °C 24 h~48 h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	TSA	定量	PR≥0.7	菌落为微粉红色, 周围有淡粉红色沉淀环
			特异性		枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63542	—	定性	—	黄色菌落, 无沉淀环
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—	半定量	G≤1	—
胰酪-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂 (TSC)	固体	选择性计数	生长率	36 °C ±1 °C 20 h~24 h 厌氧培养	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	TSA 添加 5%裂解羊血	定量	PR≥0.7	黑色菌落
			选择性		艰难梭菌 CMCC(B)64967	—	半定量	G≤1	—
结晶紫中性红葡萄糖胆盐琼脂 (VRBGA)	固体	选择性计数	生长率	36 °C ±1 °C 24 h ±2 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	定量	PR≥0.7	紫红色菌落, 周围有胆盐沉淀环
					福氏柠檬酸杆菌 CMCC(B)48098				
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	—	半定量	G≤1	—

表 F.3 非选择性增菌培养基质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准
含 0.6%酵母浸膏的胰酪胨大豆肉汤(TSB-YE)	液体	非选择性增菌	生长率	30 °C ±1 °C 24 h~48 h	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	TSA	半定量	混浊度 2
液体硫乙醇酸盐培养基(FTG)	液体	非选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	TSA 加 5%羊血	半定量	混浊度 2
缓冲蛋白胨水(BPW)	液体	非选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 8 h	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	TSA	半定量	取 10μL 增菌液倾注 TSA 平板 36 °C ±1 °C 培养 18 h~24 h, 在 TSA 上 >100 CFU 混浊度 2
				36 °C ±1 °C 18 h±2 h	阪崎克罗诺杆菌 CICC21645			
脑心浸出液肉汤(BHI)	液体	非选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305	TSA	半定量	混浊度 2
布氏肉汤	液体	非选择性增菌	生长率	42 °C ±1 °C 48 h±2 h, 微需氧	空肠弯曲菌 CMCC(B)22073	TSA 添加 5%裂解羊血	半定量	混浊度 1~2
营养肉汤 (NB)	液体	非选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	半定量	混浊度 2 或菌成片状生长
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305			
					枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63542			
3%氯化钠碱性蛋白胨水	液体	非选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 8 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	3%TSA	半定量	混浊度 2
胰蛋白胨大豆肉汤 (TSB)	液体	非选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	半定量	混浊度 2 或菌成片状生长
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305			
					枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63542			

表 F.3 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准
庖肉培养基	液体	非选择性增菌	生长率	35 °C ±1 °C 24 h~120 h, 厌氧	生孢梭菌 CMCC(B)64942	TSA 添加 5% 裂解 羊血	半定量	混浊度 1~2
胰蛋白酶胰蛋白胨葡萄糖 酵母膏肉汤 (TPGYT)	液体	非选择性增菌	生长率	28 °C ±1 °C 120 h, 厌氧	生孢梭菌 CMCC(B)64942	TSA 添加 5% 裂解 羊血	半定量	混浊度 1~2
麦芽浸膏汤	液体	非选择性增菌	生长率	30 °C ±1 °C 96h	酿酒酵母 CMCC(F)98017	SDA	半定量	混浊度 2
PYG 液体培养基	液体	非选择性增加	生长率	36 °C ±1 °C 24 h~48 h, 厌氧	长双歧杆菌婴儿亚种 CICC 6069	MRS	半定量	混浊度 2

表 F.4 选择性增菌培养基质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
李氏增菌肉汤 (LB1, LB2)	液体	选择性增菌	生长率	30℃±1℃ 24 h	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	TSA	半定量 (LB2 目标 菌接种量为 300 CFU~500 CFU)	在 PALCAM 上>10 CFU, 培养基变黑	灰色至黑色菌落, 带有黑色晕环
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201			在 TSA 上<100 CFU	—
					粪肠球菌 CMCC(B)32482				
Bolton 肉汤	液体	选择性增菌	生长率	42℃±1℃ 24 h~48 h 微需氧培养	空肠弯曲菌 CMCC(B)22073	TSA 添加 5%裂 解羊血	半定量	空肠弯曲菌在改良 CCD 平板上>10 CFU	菌落呈灰白色
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482	TSA		在 TSA 上<100 CFU	—
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201				
改良胰蛋白胍 大豆肉汤 (mTSB)	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 18 h~24 h	酿脓链球菌 CMCC(F)32210	TSA 添加 5%裂 解羊血	半定量	在哥伦比亚 CNA 血 琼脂上>10 CFU	灰白色圆形表面凸 起边缘整齐的光滑 半透明菌落, 周围 有 β 溶血环
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	—		在 TSA 上<100 CFU	—
缓冲葡萄糖煌 绿胆盐肉汤(EE 肉汤)	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 24 h±2 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	半定量	在 VRBGA 上>10 CFU	红色菌落, 周围有 胆盐沉淀环
			选择性		肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976				
					金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305				

表F.4 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)	液体	选择性增菌	生长率	42℃±1℃	肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50976	TSA	半定量	在 XLD 上>10 CFU	菌落无色半透明, 有黑心
			选择性	18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 粪肠球菌 CMCC(B)32482			在 TSA 上<100 CFU	—
亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	TSA	半定量	在 XLD 上>10 CFU	菌落无色半透明, 有黑心
			选择性	18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 粪肠球菌 CMCC(B)32482			在 TSA 上<100 CFU	—
7.5% 氯化钠胰酪胨大豆肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃	金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305	TSA	半定量	在 Baird-Parker 上>10 CFU	菌落黑色凸起, 周围有一混浊带, 在其外层有一透明圈
			选择性	18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201			在 TSA 上<100 CFU	—
改良磷酸盐缓冲液	液体	选择性增菌	生长率	26℃±1℃	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	TSA	半定量	在改良 Y 平板上>10 CFU	菌落圆形、无色透明, 不黏稠
			选择性	48 h~72 h	金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305 粪肠球菌 CMCC(B)32482			在 TSA 上<100 CFU	—

表F.4 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
改良月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤-万古霉素	液体	选择性增菌	生长率	44 °C ±0.5 °C 24 h±2 h	阪崎肠杆菌 CICC21645	TSA	半定量	在阪崎肠杆菌显色培养基上 >10 CFU	绿-蓝色菌落或按说明书判定
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482			在 TSA 上 <100 CFU	—
胰酪胨大豆多粘菌素肉汤	液体	选择性增菌	生长率	30 °C ±1 °C 24 h~48 h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	TSA	半定量	在 MYP 上 >10 CFU	菌落为微粉红色，周围有淡粉红色沉淀环
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201			在 TSA 上 <100 CFU	—
志贺氏菌增菌肉汤 (shigella broth)	液体	选择性增菌	生长率	41.5 °C ±0.5 °C 18 h±2 h 厌氧培养	福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572	TSA	半定量	在 XLD 上 >10 CFU	无色至粉红色，半透明菌落
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305			在 TSA 上 <100 CFU	—
改良 EC 肉汤(mEC+n)	液体	选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 18 h~24 h	大肠杆菌 O157: H7 CMCC(B)44939	TSA	半定量	在 CT-SMAC 上 >10 CFU	菌落无色，中心灰褐色
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482			在 TSA 上 <100 CFU	—
改良麦康凯(CT-MAC)肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 17 h~19 h	大肠杆菌 O157: H7 CMCC(B)44939	TSA	半定量	在 CT-SMAC 上 >10 CFU	菌落无色，中心灰褐色
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305			在 TSA 上 <100 CFU	—
志贺氏菌增菌液 (BCT)	液体	选择性增菌	生长率	41.5 °C ±1 °C 18 h±2 h	福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572	TSA	半定量	在 XLD 上 >10 CFU	无色透明菌落
			选择性		金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26305			在 TSA 上 <10 CFU	—
GVC 增菌液	液体	选择性增菌	生长率	36 °C ±1 °C 20 h~24 h	唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 CMCC(B)10802	PDA	半定量	在 PDA 上 >10 CFU	灰白或乳白色，中心凸起，草帽状 (不明显)
			选择性		大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA		在 TSA 上 <100 CFU	—

表 F.5 选择性液体计数培养基质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准
月桂基硫酸盐胰蛋白胨肉汤(LST)	液体	选择性液体计数	生长率	36℃±1℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	半定量	混浊度 2, 且气体充满管内 1/3
			选择性		福氏柠檬酸杆菌 CMCC(B)48098			混浊度 0 (不生长)
					粪肠球菌 CMCC(B)32482			
煌绿乳糖胆盐肉汤(BGLB)	液体	选择性液体计数	生长率	36℃±1℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	半定量	混浊度 2, 且气体充满管内 1/3
			选择性		福氏柠檬酸杆菌 CMCC(B)48098			浑浊度 0 (不生长) 或浑浊度 1 (微弱生长), 不产气
					粪肠球菌 CMCC(B)32482			
EC 肉汤	液体	选择性液体计数	生长率	44.5℃±0.2℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	TSA	半定量	混浊度 2, 且气体充满管内 1/3
			选择性		粪肠球菌 CMCC(B)32482			浑浊度 0 (不生长)

表 F.6 悬浮培养基和运输培养基培养基质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	接种计数培养基	方法	质控评定标准
磷酸盐缓冲液(PBS)	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃ 45 min	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201 金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305	TSA	定量	放置培养前后菌落数变化在±50%
3%氯化钠溶液	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃ 45 min	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	3%TSA	定量	放置培养前后菌落数变化在±50%
0.1%蛋白胨水	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃ 45 min	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	TSA 添加 5% 裂解羊血	定量	放置培养前后菌落数变化在±50%
缓冲甘油-氯化钠溶液	液体	运输培养基	生长率	-60℃ 24 h	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	TSA 添加 5% 裂解羊血	定量	放置培养前后菌落数变化在±50%

表F.7 鉴定培养基和实验试剂质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
三糖铁琼脂(TSI)	高层斜面	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	生长良好, A/A; 产气; 不产硫化氢 ^a
					肠沙门氏菌肠亚种 CMCC(B)50335		生长良好, K/A; 产气; 产硫化氢 ^{ab}
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572		生长良好, K/A; 不产气; 不产硫化氢
					铜绿假单胞菌 CMCC(B)10901		生长良好, K/K; 不产气; 不产硫化氢
西蒙氏柠檬酸盐培养基	斜面	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h±2 h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	生长良好, 培养基变蓝
					宋内志贺氏菌 CMCC(B)51592		生长不良或不长, 培养基不变色
尿素琼脂(pH7.2)	斜面	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	普通变形杆菌 CMCC(B)49027	定性	生长良好, 培养基变桃红色
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		生长良好, 培养基变黄色
醋酸盐利用试验	斜面	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h~48 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 培养基变蓝色
					宋内志贺氏菌 CMCC(B)51592		阴性, 培养基不变色(绿色)
3%氯化钠三糖铁琼脂(TSI)	高层斜面	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 18 h~24 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	生长良好, 斜面变红, 底部变黄
					溶藻弧菌 CMCC(B)20100		生长良好, 斜面和底部均变黄
改良克氏双糖	高层斜面	鉴定	生化特性	26℃±1℃ 24 h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	定性	生长良好, A/A; 不产气; 不产硫化氢 ^a
					鼠伤寒沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50976		生长良好, A/A; 产气, 产硫化氢
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572		生长良好, K/A; 不产气, 不产硫化氢 ^{ab}
					粪产碱杆菌 CICC 20142		生长良好, K/K; 不产气, 不产硫化氢
邻硝基酚β-D半乳糖苷培养基(ONPG)	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基变深黄色
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		阴性, 培养基无色或浅黄色
蛋白胨水(靛基质试验)	液体	鉴定 实验试剂	生化特性	36℃±1℃ 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 滴加靛基质试剂, 显红色
					产气肠杆菌 CMCC(B)45108		阴性, 滴加靛基质试剂, 黄色
氰化钾培养基(KCN)	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	普通变形杆菌 CMCC(B)49027	定性	生长良好, 培养基混浊
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		不生长, 澄清
氰化钾对照培养基(KCN)	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	普通变形杆菌 CMCC(B)49027	定性	生长良好, 培养基混浊
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		生长良好, 培养基混浊

注：^aA表示产酸，培养基变黄。^bK表示产碱，培养基变红。

表F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
葡萄糖铵培养基	斜面	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 20h~24h	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	定性	生长良好, 培养基变黄
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572		不生长, 培养基不变色
缓冲葡萄糖蛋白胨水 [甲基红(MR)和V-P试验]	液体	鉴定 实验试剂	生化特性	36℃±1℃ 48h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	生长良好,滴加MR试剂1滴, 培养基变红。滴加VP 甲液0.5mL和乙液0.2mL, 20min内液面不显红色
					产气肠杆菌 CMCC(B)45108		生长良好,滴加MR试剂1滴, 培养基不变色。滴加P 甲液0.5mL和乙液0.2mL, 20min内液面显红色
鼠李糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h±2h	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	定性	阳性, 培养基变黄
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		阴性, 培养基颜色不变
0.5%蔗糖发酵管 0.5%纤维二糖发酵管 0.5%麦芽糖发酵管 0.5%甘露醇发酵管 0.5%水杨苷发酵管 0.5%山梨醇发酵管 0.5%棉子糖发酵管 七叶苷发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	植物乳杆菌 CMCC(B)34130	定性	阳性, 培养基变黄
德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC 6032					阴性, 培养基紫色不变		
L-赖氨酸脱羧酶培养基	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 24h±2h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	定性	阳性, 培养基呈紫色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基呈黄色
L-鸟氨酸脱羧酶试验培 培养基	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 24h±2h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	定性	阳性, 培养基呈紫色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基呈黄色
氨基酸脱羧酶对照	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 24h±2h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	与各种氨基酸脱羧酶的阳性和 阴性测试菌株对应	定性	生长良好, 培养基呈黄色

表 F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
L-精氨酸双水解酶培养基	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 24h±2h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	定性	阳性, 培养基呈紫色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基呈黄色
精氨酸双水解酶对照	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 24h±2h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	定性	生长良好, 培养基呈黄色
硝酸盐肉汤	液体	鉴定	生化特性	30℃±1℃ 24h~48h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	定性	阳性, 滴加硝酸盐还原试剂甲、乙液各2滴~3滴, 培养基变红棕色
					鲍氏不动杆菌 CMCC(B)25001		阴性, 滴加硝酸盐还原试剂甲、乙液各2滴~3滴, 培养基不变色
葡萄糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 培养基变黄
					粪产碱杆菌 CICC 20142		阴性, 培养基不变色
甘露醇发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 培养基变黄色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基颜色不变
木糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基变黄色
					单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012		阴性, 培养基颜色不变
蔗糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	普通变形杆菌 CMCC(B)49027	定性	阳性, 培养基呈黄色
					肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976		阴性, 培养基颜色不变
纤维二糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基呈黄色
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		阴性, 培养基颜色不变
麦芽糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071	定性	阳性, 培养基呈黄色
					铜绿假单胞菌 CMCC(B)10901		阴性, 培养基颜色不变
水杨苷发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基变黄
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		阴性, 培养基不变色
山梨醇发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基变黄色
					宋内志贺氏菌 CMCC(B)51592		阴性, 培养基颜色不变

表 F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
棉籽糖	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基呈黄色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基颜色不变
黏液酸利用试验	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h~48 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 培养基呈黄色
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572		阴性, 培养基颜色不变
含铁牛乳培养基	液体	鉴定	生化特性	46℃±0.5℃ 2 h 与 5 h 均观察	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	定性(接种生长旺盛的 FT 培养液 1 mL)	暴烈发酵
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		不发酵
无盐胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	霍乱弧菌 CICC 23794	定性	生长良好, 混浊
					副溶血性弧菌 CMCC(B)20033		不生长, 澄清
3%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	生长良好, 混浊
					创伤弧菌 CMCC(B)17244		生长良好, 混浊
6%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	生长良好, 混浊
					嗜水气单胞菌 CMCC(B)10506		不生长, 澄清
8%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	生长良好, 混浊
					创伤弧菌 CMCC(B)17244		不生长, 澄清
10%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	溶藻弧菌 CMCC(B)20100	定性	生长良好, 混浊
					副溶血性弧菌 CMCC(B)20033		不生长, 澄清
3.0%氯化钠甘露醇	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h~48 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	阳性, 培养基变黄色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基颜色不变
3.0%氯化钠赖氨酸脱羧酶	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 24 h~48 h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	阳性, 培养基变紫色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性, 培养基变黄色
3.0%氯化钠氨基酸脱羧酶对照	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h~48 h	副溶血性弧菌 CMCC(B)20033	定性	生长良好, 培养基变黄色
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		生长良好, 培养基变黄色

表F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
七叶苷发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC(B)46117	定性	阳性, 培养基变棕黑色
					奇异变形杆菌 CMCC(B)49005		阴性, 培养基颜色不变
3.0%氯化钠 MR-VP 培养基	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 48 h	产气肠杆菌 CMCC(B)45108	定性	MR 试验阴性, 滴加MR 试剂1 滴培养基呈黄色
					副溶血性弧菌 CMCC(B)20033		MR 试验阳性, 滴加MR 试剂1 滴培养基呈红色; V-P 试验阴性, 滴加 0.6 mL 甲液及 0.2 mL 乙液, 培养 4 h 培养基不变色
					溶藻弧菌 CMCC(B)20100		V-P 试验阳性, 滴加 0.6 mL 甲液及 0.2 mL 乙液, 培养 4 h 培养基呈红色
乳糖发酵培养基	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 培养基变黄色
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		阴性, 培养基颜色不变
Koser 氏柠檬酸盐肉汤	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 18 h~96 h	福氏柠檬酸杆菌 CMCC(B)48098	定性	生长良好, 培养基混浊
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		不生长, 培养基澄清
SIM 动力培养基	半固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h~48 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	硫化氢— 动力+/- 靛基质+
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		硫化氢+/- 动力+ 靛基质—
动力培养基	半固体	鉴定	生化特性	30℃±1℃ 24 h~48 h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	定性	阳性, 扩散生长
					蕈状芽孢杆菌 CICC 24780		阴性, 沿穿刺线生长
明胶培养基	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 72 h	铜绿假单胞菌 CMCC(B)10901	定性	2℃~8℃呈液态
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		2℃~8℃呈固态
兔血浆	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 4 h~6 h	金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305	定性(接种培养 18 h~24 h 的 新鲜测试菌株肉汤 1 mL)	血浆凝固
					表皮葡萄球菌 CMCC(B) 26069		血浆不凝固
酪蛋白琼脂	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	定性	菌落周围有透明圈, 培养基颜色由绿变蓝
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		菌落周围没有透明圈, 培养基由绿变蓝

表F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
缓冲动力-硝酸盐培养基	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	定性	沿穿刺线生长,加硝酸盐还原试剂甲乙液各2滴变红色
					鲍氏不动杆菌 CMCC(B)25001		沿穿刺线生长,加硝酸盐还原试剂甲乙液各2滴不变色
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		扩散生长,加硝酸盐还原试剂甲乙液各2滴变红色
我妻氏血琼脂	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	副溶血性弧菌 GDMCC 1.2936	定性 (点种接种)	菌落周围有半透明β溶血环
					副溶血性弧菌 CMCC(B)20033		无溶血
血琼脂平板 哥伦比亚血琼脂 胰酪胨大豆羊血琼脂(TSSB)	固体	鉴定	特异性	36℃±1℃ 24 h±2 h	金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305	定性 (划线接种)	菌落周围有β溶血环
					肺炎链球菌 CMCC(B)33412		菌落周围有α溶血环
蜜二糖	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	阪崎克罗诺杆菌 CICC 21645	定性	阳性,培养基变黄
					小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204		阴性,培养基不变色
MUG-LST	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 18 h~24 h	大肠埃希氏菌 O157:H7CMCC(B)44939	定性	阴性,无荧光
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		阳性,有荧光
革兰氏染色液	液体	实验试剂	生化特性	—	金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26305	定性	革兰氏阳性,紫色球状菌体
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		革兰氏阴性,红色杆状菌体
过氧化氢试剂	液体	实验试剂	生化特性	—	单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC(B)54012	定性	阳性,产生气泡
					粪肠球菌 CMCC(B)32482		阴性,无气泡产生
氧化酶试剂	纸片	实验试剂	生化特性	—	铜绿假单胞菌 CMCC(B)10901	定性	阳性,出现紫红色至紫黑色
					大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201		阴性,不变色
卫矛醇发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24 h	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型 CMCC(B)50976	定性	阳性,培养基变黄
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		阴性,培养基不变色
丙二酸钠培养基	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 48 h	产气肠杆菌 CMCC(B)45108	定性	阳性,培养基变蓝
					普通变形杆菌 CMCC(B)49027		阴性,培养基不变色

F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
哥伦比亚琼脂	平板	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 44h±4h, 微需氧培养	空肠弯曲杆菌 CMCC(B)22073	定性 (划线接种)	生长良好
				25℃±1℃, 44h±4h, 微需氧培养			不生长
				42℃±1℃, 44h±4h, 需氧培养			不生长
马尿酸钠溶液(茚三酮试剂)	液体	鉴定 实验试剂	生化特性	36℃±1℃, 水浴2h或36℃±1℃培养箱4h	空肠弯曲杆菌 CMCC(B)22073	定性	阳性, 滴加茚三酮试剂0.2mL在36℃±1℃水浴锅或培养箱10min, 出现深紫色
					大肠弯曲杆菌 CMCC(B)22103		阴性, 滴加茚三酮试剂0.2mL在36℃±1℃水浴锅或培养箱10min, 黄色
吡啶乙酸酯纸片	纸片	实验试剂	生化特性	—	空肠弯曲菌 CMCC(B)22073	定性	阳性, 5min~10min内出现深蓝色
查氏培养基	固体	鉴定	生化特性	25℃±1℃培养7d	黑曲霉 CMCC(F)98029	定性	生长良好, 白色菌丝, 黑色孢子
麦芽汁琼脂	固体	鉴定	生化特性	25℃±1℃培养72h-120h	黑曲霉 CMCC(F)98029	定性	生长良好, 白色菌丝, 黑色孢子
马铃薯葡萄糖琼脂	固体	鉴定	生化特性	25℃±1℃培养72h-120h	黑曲霉 CMCC(F)98029	定性	生长良好, 白色菌丝, 黑色孢子
半固体琼脂	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃培养18h~24h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	有动力, 扩散生长
					福氏志贺氏菌 CMCC51572		无动力, 沿穿刺线生长
				26℃±1℃及36℃±1℃培养18h~24h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204		25℃有动力, 扩散生长, 36℃无动力, 沿接种线生长
乳糖—明胶培养基	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃培养18h~24h	产气荚膜梭菌 CMCC(B)64724	定性	乳糖阳性, 培养基变黄; 明胶阳性, 培养基4℃呈液态
					肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型 CMCC(B)50071		乳糖阴性, 培养基红色不变; 明胶阴性, 培养基4℃呈固态
硫酸锰营养琼脂	固体	鉴定	生化特性	30℃培养24h, 然后室温放置3d~4d	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	定性	生长良好, 镜检有芽孢, 无伴胞晶体

表F.7 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	测试菌株	方法	质控评定标准
溶菌酶营养肉汤	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃培养 24 h~48 h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	定性	阳性, 浑浊
					枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63542	定性	阴性, 澄清
葡萄糖琼脂	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃培养 24 h±2 h	大肠埃希氏菌 CMCC(B)43201	定性	阳性, 变黄
					粪产碱杆菌 CMCC(B)40001		阴性, 紫色
卵黄琼脂	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃培养 24 h±2 h	蜡样芽孢杆菌 CMCC(B)63303	定性	阳性, 菌落周围有晕环
					枯草芽孢杆菌 CMCC63542		阴性, 菌落周围无晕环
β半乳糖苷酶培养基	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃培养 18 h~24 h	宋内氏志贺氏菌 CMCC(B) 51592	定性	阳性, 培养基呈深黄色
					福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572		阴性, 培养基呈无色

表 F.8 分子生物学检验实验试剂质量控制标准

试剂	功能分类	测试菌(毒)株	方法	质控评定标准
致泻大肠埃希氏菌 PCR 检测试剂	鉴定	肠道致病性大肠埃希氏菌 CMCC(B)43206 (EPEC)	定性	<i>uidA</i> (+)、 <i>escV</i> (+)、 <i>eae</i> (+)、 <i>bfpB</i> (+)
		产志贺毒素大肠埃希氏菌 CMCC(B)43207 (EHEC)	定性	<i>uidA</i> (+)、 <i>escV</i> (+)、 <i>eae</i> (+)、 <i>stx1</i> (+)、 <i>stx2</i> (+)
		肠道侵袭性大肠埃希氏菌 CMCC(B)44840 (EIEC)	定性	<i>invE</i> (+)、 <i>ipaH</i> (+)
		产肠毒素大肠埃希氏菌 CMCC(B)43208 (ETEC)	定性	<i>lt</i> (+)、 <i>stx</i> (+)、 <i>stx2</i> (+)
		肠道集聚性大肠埃希氏菌 CMCC(B)44841 (EAEC)	定性	<i>astA</i> (+)、 <i>aggR</i> (+)、 <i>pic</i> (+)
肉毒梭菌毒素基因 PCR 检测试剂	检测	生孢梭菌 CMCC(B)64942 (阴性对照)	定性	相关毒素基因阴性
		阳性对照试剂 (携带目的毒素基因片段的质粒或 DNA)	定性	相关毒素基因阳性
诺如病毒 RT-PCR 检测试剂	检测	门哥病毒 CMCC(V)07000 或采用其他等效的过程控制病毒	定性	提取效率 > 1%。
		外加扩增控制 RNA	定性	阳性, 抑制指数 < 2
创伤弧菌 PCR 检测 试剂	检测	溶藻弧菌 CMCC(B)20100	定性	<i>vvhA</i> (+)
		创伤弧菌 CMCC(B)17244	定性	<i>vvhA</i> (-)

附录 G

测试菌株

表 G. 1 测试菌株中文名、拉丁名及编号一览表

序号 ^a	中文名	拉丁名	CMCC 编号 ^b	CICC 编号 ^c	GDMCC 编号 ^d
1	阪崎克罗诺杆菌	<i>Cronobactersakazakii</i>	CMCC(B)45417	CICC21645	GDMCC 1.2510
2	鲍氏不动杆菌	<i>Acinetobacter baumannii</i>	CMCC(B)25001	—	—
3	表皮葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CMCC(B)26069	—	—
4	产肠毒素大肠埃希氏菌 <i>ETEC</i>	<i>Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)</i>	CMCC(B)43208	CICC 25101	GDMCC 1.2970
5	产气荚膜梭菌	<i>Clostridium perfringens</i>	CMCC(B)64724	CICC 25011	GDMCC 1.2357
6	产气肠杆菌	<i>Klebsiella aerogenes (Enterobacter aerogenes)</i>	CMCC(B)45108	CICC 25014	GDMCC 1.2340
7	肠道出血性大肠埃希氏菌 <i>EHEC</i>	<i>Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC)</i>	CMCC(B)43207	CICC 25043	GDMCC 1.2953
8	肠道集聚性大肠埃希氏菌 <i>EAEC</i>	<i>Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC)</i>	CMCC(B)44841	CICC 25044	GDMCC 1.3004
9	肠道侵袭性大肠埃希氏菌 <i>EIEC</i>	<i>Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)</i>	CMCC(B)44840	CICC 25100	GDMCC 1.2987
10	肠道致病性大肠埃希氏菌 <i>EPEC</i>	<i>Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)</i>	CMCC(B)43206	CICC 25042	GDMCC 1.2834
11	肠沙门氏菌肠亚种	<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i>	CMCC(B)50335	—	—
12	肠沙门氏菌肠亚种伤寒血清型	<i>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhi</i>	CMCC(B)50071	—	—
13	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型	<i>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium</i>	CMCC(B)50976	CICC 25045	GDMCC 1.237
14	创伤弧菌	<i>Vibrio vulnificus</i>	CMCC(B)17244	CICC 25009	GDMCC 1.2459
15	大肠埃希氏菌	<i>Escherichia coli</i>	CMCC(B)43201	CICC 25012	GDMCC 1.2425
16	大肠埃希氏菌 <i>O157: H7</i>	<i>Escherichia coli O157:H7</i>	CMCC(B)44939	CICC 25013	GDMCC 1.2702
17	大肠弯曲杆菌	<i>Campylobacter coli</i>	CMCC(B)22103	CICC 25027	GDMCC 1.2585
18	单核细胞增生李斯特氏菌	<i>Listeria monocytogenes</i>	CMCC(B)54012	CICC 25021	GDMCC 1.2408

表 G.1 (续)

序号	中文名	拉丁名	CMCC 编号 ^a	CICC 编号 ^b	GDMCC 编号 ^c
19	肺炎克雷伯氏菌	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	CMCC(B)46117	—	—
20	肺炎链球菌	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CMCC(B)33412	CICC 25030	GDMCC 1.2749
21	粪产碱菌	<i>Alcaligenes faecalis</i>	CMCC(B)40007	—	—
22	粪肠球菌	<i>Enterococcus faecalis</i>	CMCC(B)32482	CICC 25019	GDMCC 1.2493
23	福氏柠檬酸杆菌	<i>Citrobacter freundii</i>	CMCC(B)48098	CICC 25015	GDMCC 1.2619
24	福氏志贺氏菌	<i>Shigella flexneri</i>	CMCC(B)51572	—	—
25	副溶血性弧菌	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	CMCC(B)20033	CICC 25008	GDMCC 1.2391
26	副溶血性弧菌 ^e	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	CMCC(B)20035	CICC 25029	GDMCC 1.2936
27	黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>	CMCC(F)98029	CICC 2089	GDMCC 1.2374
28	霍乱弧菌	<i>Vibrio cholerae</i>	CMCC(B)17247	CICC 23794	GDMCC 1.2719
29	艰难梭菌	<i>Clostridium difficile</i>	CMCC(B)64967	CICC 25028	GDMCC 1.2602
30	溶藻弧菌	<i>Vibrio alginolyticus</i>	CMCC(B)20100	CICC 25007	GDMCC 1.2561
31	金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	CMCC(B)26305	CICC 25018	GDMCC 1.2442
32	空肠弯曲杆菌	<i>Campylobacter jejuni</i>	CMCC(B)22073	CICC 25010	GDMCC 1.2544
33	枯草芽孢杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>	CMCC(B)63542	CICC 25023	GDMCC 1.2653
34	蜡样芽孢杆菌	<i>Bacillus cereus</i>	CMCC(B)63303	—	—
35	痢疾志贺氏菌	<i>Shigella dysenteriae</i>	CMCC(B)51105	—	—
36	酿酒酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CMCC(F)98017	CICC 33471	GDMCC 2.258
37	酿脓链球菌	<i>Streptococcus pyogenes</i>	CMCC(B)32210	CICC 10373	GDMCC 1.245
38	普通变形杆菌	<i>Proteus vulgaris</i>	CMCC(B)49027	—	—
39	奇异变形杆菌	<i>Proteus mirabilis</i>	CMCC(B)49005	—	—
40	瑞士乳杆菌	<i>Lactobacillus helveticus</i>	—	CICC 6032	—
41	生孢梭菌	<i>Clostridium sporogenes</i>	CMCC(B)64942	CICC 25026	GDMCC 1.2734

表 G.1 (续)

序号	中文名	拉丁名	CMCC 编号 ^a	CICC 编号 ^b	GDMCC 编号 ^c
42	嗜热链球菌	<i>Streptococcus thermophilus</i>	—	CICC 6038	—
43	嗜水气单胞菌	<i>Aeromonas hydrophila</i>	CMCC(B)10506	CICC 25017	GDMCC 1.2306
44	宋内氏志贺氏菌	<i>Shigella sonnei</i>	CMCC(B)51592	—	—
45	铜绿假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CMCC(B)10901	CICC 25016	GDMCC 1.2476
46	英诺克李斯特氏菌	<i>Listeria innocua</i>	CMCC(B)54103	CICC 25020	GDMCC 1.2527
47	小肠结肠炎耶尔森氏菌	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CMCC(B)52204	—	—
48	蕈状芽孢杆菌	<i>Bacillus mycoides</i>	CMCC(B)63549	CICC 24780	GDMCC 1.2323
49	长双歧杆菌婴儿亚种	<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>infantis</i> (<i>Bifidobacterium</i> <i>infantis</i>)	—	CICC 6069	—
50	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i> (<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>)	CMCC(B)34130	CICC 25024	GDMCC 1.2685
51	门哥病毒	<i>Mengovirus</i>	CMCC(V)07000	CICC 80005	GDMCC 90001
52	唐菖蒲伯克霍尔德氏菌 (椰毒假单胞菌酵米面亚种)	(<i>Pseudomonas cocovenenans</i> subsp. <i>farino fermentans</i>)	CMCC(B)10802	CICC25108	GDMCC1.2670

a: 为方便检验实验室菌种获取, 同一序号菌种如出现不同菌种编号, 全部为同一菌株在三家菌种保藏管理中心同时注册获得。

b: CMCC 代表中国医学细菌保藏管理中心;

c: CICC 代表中国工业微生物菌种保藏管理中心;

d: GDMCC 代表广东省微生物菌种保藏管理中心;

e: 该菌株为我妻氏平板溶血阳性测试用菌株。

表 G.2 测试菌株中文名、拉丁名及编号一览表

序号	中文名	拉丁名	菌株编号 ^a
1	阪崎克罗诺杆菌	<i>Cronobactersakazakii</i>	ATCC29544
2	产气荚膜梭菌	<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC13124
3	产气肠杆菌	<i>Klebsiella aerogenes (Enterobacter aerogenes)</i>	ATCC13048
4	肠沙门氏菌肠亚种鼠伤寒血清型	<i>Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium</i>	ATCC14028
5	创伤弧菌	<i>Vibrio vulnificus</i>	ATCC27562
6	大肠埃希氏菌	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922
7	大肠埃希氏菌 O157: H7	<i>Escherichia coli O157:H7</i>	NCTC12900
8	大肠弯曲杆菌	<i>Campylobacter coli</i>	ATCC43478
9	单核细胞增生李斯特氏菌	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19115
10	粪肠球菌	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC29212
11	弗氏柠檬酸杆菌	<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC43864
12	副溶血性弧菌	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC17802
13	黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>	ATCC16404
14	霍乱弧菌	<i>Vibrio cholerae</i>	VBO
15	艰难梭菌	<i>Clostridium difficile</i>	ATCC43593
16	溶藻弧菌	<i>Vibrio alginolyticus</i>	ATCC33787
17	金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538
18	空肠弯曲杆菌	<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC33291
19	枯草芽孢杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633
20	酿酒酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC9763
21	嗜水气单胞菌	<i>Aeromonas hydrophila</i>	As1.172
22	铜绿假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027
23	英诺克李斯特氏菌	<i>Listeria innocua</i>	ATCC33090
24	蕈状芽孢杆菌	<i>Bacillus mycoides</i>	ATCC10206
25	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum (Lactiplantibacillus plantarum)</i>	GIM1.140

a: 该菌株编号为 GB4789.28-2013 使用菌株, 实验室可继续用于培养基验收检验, 结果判断参考附录 F。如使用附录 G 表 G.1 中菌种和表 G.2 中菌种进行培养基检验, 结果不一致时, 以使用附录 G 表 G.1 中菌种的检验结果为最终结果。

附录 H

螺旋平板法

H. 1 一般要求

使用螺旋接种仪将样品接种在平板上。样品接种后，菌落即分布在螺旋轨迹上，随半径的增加分布得越来越稀。采用特殊的计数栅格，自平板外周向中央对平皿上的菌落进行计数，即可得到样品中微生物的数量。

H. 2 实验步骤

取制备好的适宜稀释度的样品稀释液，以选定的模式接种于实验所用平板，每个稀释度接种两块平板，接种每一个样品前后均按仪器设定程序对螺旋接种仪进行清洗消毒。

按相同接种模式接种悬浮液作为空白对照。

将平板按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养后，计数每个平板菌落数，并记录下来。

H. 3 菌落总数的计算和记录

平板上菌落数符合菌落计数仪规定计数范围的为合适范围。如果两个稀释度的四个平板菌落数均在合适范围内，则将四个平板菌落数的平均值作为每克（毫升）样品中的菌落数；如果只有一个稀释度的两个平板菌落数在合适范围内，则将这两个平板菌落数的平均值作为每克（毫升）样品中的菌落数。

当低稀释度的两个平板菌落数都少于合适范围的下限时，计算这一稀释度两个平板菌落数的平均值作为每克（毫升）样品中的菌落数。给这个数注上星号（*），表明该数是从菌落数在计数范围之外的平板估计所得。当所有平板上的菌落数都超过合适范围的上限时，计算高稀释度两个平板菌落数的平均值作为每克（毫升）样品中的菌落数，给这个数注上星号（*）。如果所有稀释度的平板都没有菌落，则以小于 1 乘以稀释倍数和接种体积作为每克（毫升）样品中的菌落数，给这个数注上星号（*）。

记录时，只有在换算到每克（毫升）样品中的菌落数时，才能定下两位有效数字，第三位数字采用四舍五入的方法记录。也可将样品的菌落数记录为 10 的指数形式。

H. 4 结果的表述

根据 H.3 归档计算出每克（毫升）样品的菌落数，固体样品以 CFU/g 为单位，液体样品以 CFU/mL 为单位。