中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准

GB 4789.4—xxxx

食品安全国家标准
食品微生物学检验 沙门氏菌检验

（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

前　言

本标准代替 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》。

本标准与 GB 4789.4-2016 相比，主要变化如下：

——修改了设备和材料、培养基和试剂;

——修改了检验程序和操作步骤;

——修改了附录 A 和附录 B。

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 ℃～5 ℃。

2.2 恒温培养箱：36 ℃±1 ℃、42 ℃±1 ℃或水浴锅（42 ℃±1 ℃）。

2.3 均质器。

2.4 振荡器。

2.5 天平：感量 0.1 g。

2.6 无菌锥形瓶：容量 500 mL、250 mL。

2.7 无菌量筒：容量 50 mL。

2.8 无菌均质杯、无菌均质袋。

2.9 无菌广口瓶：容量 500 mL。

2.10 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。

2.11 无菌培养皿：直径 60 mm、90 mm。

2.12 无菌试管：10 mm×75 mm、15 mm×150 mm、18 mm×100 mm。

2.13 无菌小玻管：3 mm×50 mm。

2.14 无菌接种环：10 μL（直径约 3 mm）、1 μL 以及接种针。

2.15 pH 计或精密 pH 试纸。

2.16 全自动微生物生化鉴定系统。

2.17 生物安全柜。

3 培养基和试剂

3.1　缓冲蛋白胨水（BPW）：见附录 A.1。

3.2　四硫磺酸钠煌绿增菌液（TTB）：见附录 A.2。

3.3　氯化镁孔雀绿大豆胨（RVS）增菌液：见附录 A.3。

3.4　亚硫酸铋（BS）琼脂：见附录 A.4。

3.5　HE 琼脂：见附录 A.5。

3.6　木糖赖氨酸脱氧胆盐（XLD）琼脂：见附录 A.6。

3.7　三糖铁（TSI）琼脂：见附录 A.7。

3.8　营养琼脂（NA）：见附录 A.8。

3.9　半固体琼脂：见附录 A.9。

3.10　蛋白胨水、靛基质试剂：见附录 A.10。

3.11　尿素琼脂（pH 7.2）：见附录 A.11。

3.12　氰化钾（KCN）培养基：见附录 A.12。

3.13　赖氨酸脱羧酶试验培养基：见附录 A.13。

3.14　糖发酵培养基：见附录 A.14。

3.15　邻硝基酚 β-D 半乳糖苷（ONPG）培养基：见附录 A.15。

3.16　丙二酸钠培养基：见附录 A.16。

3.17　沙门氏菌显色培养基。

3.18　沙门氏菌诊断血清。

3.19　生化鉴定试剂盒。

4 检验程序

沙门氏菌检验程序见图 1。

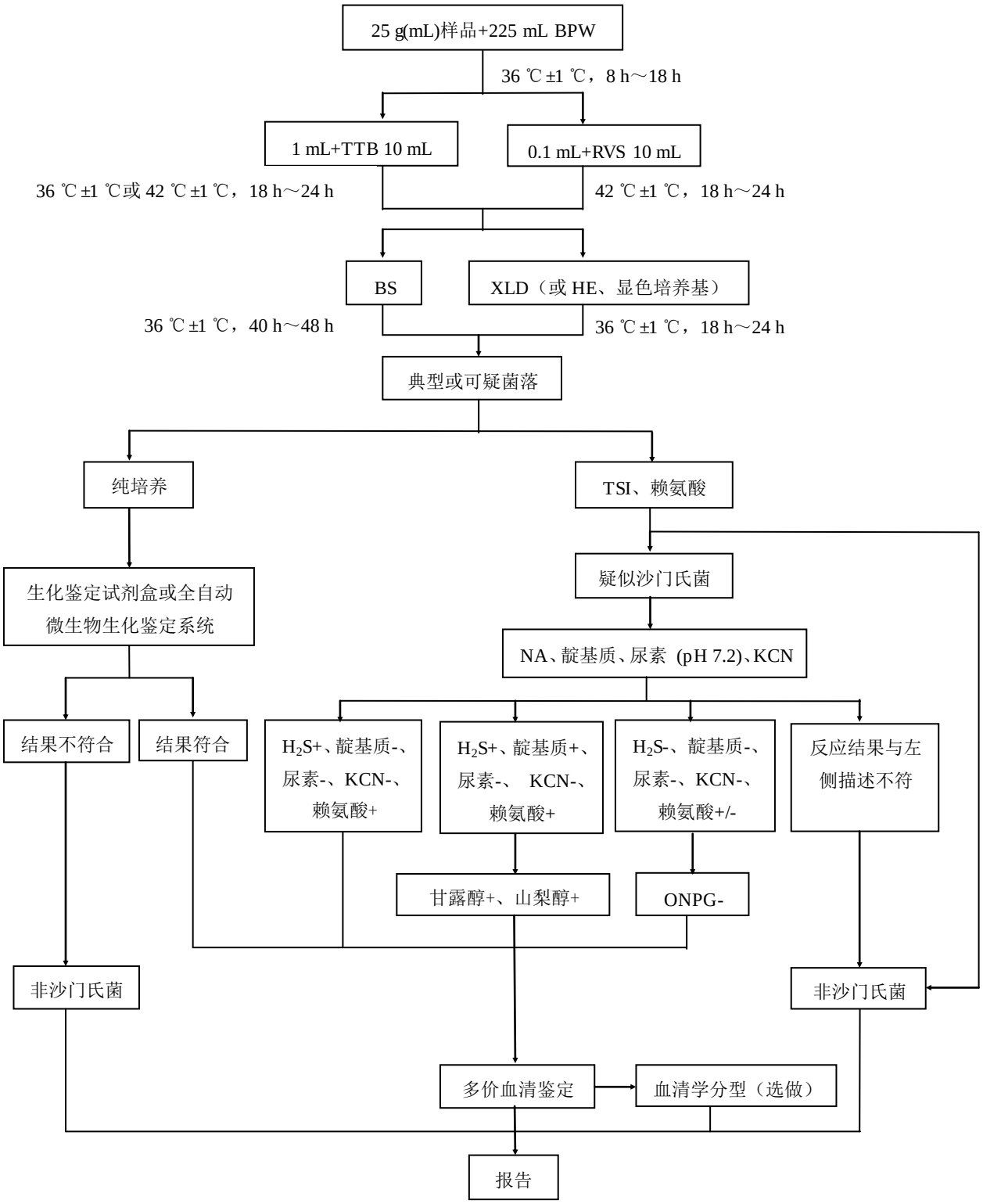

图 1 沙门氏菌检验程序

5 操作步骤

5.1 预增菌

无菌操作取 25 g（mL）样品，置于盛有 225 mL BPW 的无菌均质杯，以 8 000 r/min～10 000 r/min 均质 1 min～2 min，或置于盛有 225 mL BPW 的无菌均质袋内，用拍击式均质器拍打 1 min～2 min。若样品为液态，也可振荡混匀。如需调整 pH 时，用 1 mol/L NaOH 或 HCl 调节 pH 至 6.8±0.2。无菌操作将样品转至 500 mL 锥形瓶或其他合适容器内（如均质杯本身具有无孔盖或使用均质袋时，可不转移样品），置于 36 ℃±1 ℃培养 8 h～18 h。

对于乳粉，无菌操作称取 25 g 样品，缓缓倾倒在广口瓶或均质袋内 225 mL BPW 的液体表面，暂不混匀和调节 pH，室温静置 1 h 后再混匀，置于 36 ℃±1 ℃培养 16 h～18 h。

冷冻样品如需解冻，取样前在 45 ℃以下解冻不超过 15 min，或在 2 ℃～5 ℃冰箱缓慢化冻不超过 18 h。

5.2 选择性增菌

轻轻摇动预增菌的培养物，移取 0.1 mL 转种于 10 mL RVS 中，于 42 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。同时，另取 1 mL 转种于 10 mL TTB 中，深加工预包装食品等低背景菌的样品置于 36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h，生鲜食品等高背景菌的样品置于 42 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。

可将预增菌的培养物在 2 ℃～5 ℃冰箱保存不超过 72 h，再进行选择性增菌。

5.3 分离

振荡混匀选择性增菌的培养物后，用直径 3mm 的接种环取每种选择性增菌的培养物各 1 环，分别划线接种于一个 BS 琼脂平板和一个 XLD 琼脂平板（也可使用 HE 琼脂平板、沙门氏菌显色培养基平板或其他合适的分离琼脂平板），于 36 ℃±1 ℃分别培养 40 h～48 h（BS 琼脂平板）或 18 h～24 h（XLD 琼脂平板、HE 琼脂平板、沙门氏菌显色培养基平板），观察各个平板上生长的菌落，是否符合见表 1 的菌落特征。

可将选择性增菌的培养物在 2 ℃～5 ℃冰箱保存不超过 72 h，再进行分离。

表 1 不同分离琼脂平板上沙门氏菌的菌落特征

分离琼脂平板	菌落特征
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。
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。
沙门氏菌显色培养基	符合相应产品说明书的描述。

5.4 生化试验

5.4.1 自分离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；同时接种赖氨酸脱羧酶试验培养基和营养琼脂平板，于 36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。三糖铁和赖氨酸脱羧酶试验的反应结果及初步判断见表 2。

5.4.2 初步判断为非沙门氏菌者，直接报告结果。对疑似沙门氏菌者，从营养琼脂平板上挑取其纯培养物接种蛋白胨水（供做靛基质试验）、尿素琼脂（pH7.2）、氰化钾（KCN）培养基，也可在接种三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基的同时，接种以上三种生化试验培养基，于 36 ℃±1 ℃培养

18 h～24 h，按表 3 判定结果。将已挑菌落的平板于 2 ℃～5 ℃保存，以备必要时复查。

表 2　三糖铁和赖氨酸脱羧酶试验结果及初步判断

三糖铁				赖氨酸脱羧酶	初步判断
斜面	底层	产气	硫化氢		
K	A	＋（－）	＋（－）	＋	疑似沙门氏菌
K	A	＋（－）	＋（－）	－	疑似沙门氏菌
A	A	＋（－）	＋（－）	＋	疑似沙门氏菌
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。					

表 3　生化试验结果鉴别表（一）

序号	硫化氢（H_2S）	靛基质	pH 7.2 尿素	氰化钾（KCN）	赖氨酸脱羧酶
A1	＋	－	－	－	＋
A2	＋	＋	－	－	＋
A3	－	－	－	－	＋/－
注：＋：阳性；－：阴性；＋/－：阳性或阴性。					

5.4.2.1　符合表 3 中 A1 者，为沙门氏菌典型的生化反应，进行血清学鉴定后报告结果。尿素、氰化钾和赖氨酸脱羧酶中如有 1 项不符合 A1，按表 4 进行结果判断；尿素、氰化钾和赖氨酸脱羧酶中如有 2 项不符合 A1，判断为非沙门氏菌并报告结果。

表 4　生化试验结果鉴别表（二）

pH 7.2 尿素	氰化钾（KCN）	赖氨酸脱羧酶	判断结果
－	－	－	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和血清学鉴定结果）
＋	－	＋	沙门氏菌个别变体（要求血清学鉴定结果）
注：＋：阳性；－：阴性。			

5.4.2.2　生化试验结果符合表 3 中 A2 者，补做甘露醇和山梨醇试验，沙门氏菌（靛基质阳性变体）的甘露醇和山梨醇试验结果均为阳性。生化试验结果符合沙门氏菌者，进行血清学鉴定。

5.4.2.3　生化试验结果符合表 3 中 A3 者，补做 ONPG 试验。沙门氏菌的 ONPG 试验结果为阴性，且赖氨酸脱羧酶试验结果为阳性，但甲型副伤寒沙门氏菌的赖氨酸脱羧酶试验结果为阴性。生化试验结果符合沙门氏菌者，进行血清学鉴定。

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：＋：阳性；－：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，取典型或可疑菌落纯培养物，按生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统的操作说明进行鉴定。

5.5　血清学鉴定

5.5.1　培养物自凝性检查

一般采用琼脂含量为 1.2%～1.5%的纯培养物进行玻片凝集试验。首先进行自凝性检查，在洁净的玻片上滴加一滴生理盐水，取适量待测菌培养物与之混合，成为均一性的混浊悬液，将玻片轻轻摇动 30 s～60 s，在黑色背景下观察反应(必要时用放大镜观察)，若出现可见的菌体凝集，即认为有自凝性，反之无自凝性。对无自凝的培养物参照下面方法进行血清学鉴定。

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，挑取待测菌培养物，各放约 1 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）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将两个区域内的待测菌培养物，分别与血清和生理盐水研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合 1 min，并对着黑暗背景进行观察，与对照相比，出现可见的菌体凝集者为阳性反应。O 血清不凝集时，将菌株接种在琼脂含量较高（如 2%～3%）的培养基上培养后再鉴定，如果是由于 Vi 抗原的存在而阻止了 O 抗原凝集反应时，可挑取待测菌培养物在 1 mL 生理盐水中制成浓菌液，在沸水中水浴 20 min～30 min，冷却后再进行鉴定。

注：不同厂商沙门氏菌诊断血清的组成、鉴定操作及结果判断，可能存在差异。使用商品化的沙门氏菌诊断血清进行血清学鉴定时，应遵循其产品说明。

5.5.3　多价鞭毛抗原（H）鉴定

按 5.5.2 的操作，将多价菌体（O）血清换成多价鞭毛（H）血清，进行多价鞭毛抗原（H）鉴定。H 抗原发育不良时，将菌株接种在半固体琼脂平板的中央，待菌落蔓延生长时，在其边缘部分取菌鉴定；或将菌株接种在装有半固体琼脂的小玻管培养 1 代～2 代，自远端取菌培养后再进行鉴定。

5.6　血清学分型（选做项目）

5.6.1　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型菌株，不能分型。

被 A～F 多价 O 血清凝集者，依次用 O4、O3,10、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 O3,10 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、E4 各亚群。根据 O 单因子血清的鉴定结果，确定每一个 O 抗原成分。没有 O 单因子血清的，用两个 O 复合因子血清进行鉴定。

不被 A～F 多价 O 血清凝集者，先用 9 种多价 O 血清鉴定，如有其中一种血清凝集，则用这种血清所包括的 O 群血清逐一进行鉴定，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(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

5.6.2　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 因子血清鉴定第 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	无

不常见的菌型，先用 8 种多价 H 血清鉴定，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 因子血清逐一进行鉴定，以确定第 1 相和第 2 相的 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：　e,h、e,n,x、e,n,z_{15}、f,g、g,m,s、g,p,u、g,p、g,q、m,t、g,z_{51}

H 多价 3：　k、r、y、z、z_{10}、l,v、l,w、l,z_{13}、l,z_{28}、l,z_{40}

H 多价 4：　1,2、1,5、1,6、1,7、z_6

H 多价 5：　z_4,z_{23}、z_4,z_{24}、z_4,z_{32}、z_{29}、z_{35}、z_{36}、z_{38}

H 多价 6：　z_{39}、z_{41}、z_{42}、z_{44}

H 多价 7：　z_{52}、z_{53}、z_{54}、z_{55}

H 多价 8：　z_{56}、z_{57}、z_{60}、z_{61}、z_{62}

每一个 H 抗原成分的最后确定均应根据 H 单因子血清的鉴定结果，没有 H 单因子血清的要用两个 H 复合因子血清进行鉴定。

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，可在琼脂斜面上转种 1 代～2 代后再进行鉴定。如仍只检出一个相的 H 抗原，要用以下位相变异的方法鉴定其另一个相。单相菌不必做位相变异鉴定。

5.6.2.1　简易平板法

将半固体琼脂平板烘干表面水分，挑取已知相的 H 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鉴定。

5.6.2.2　小玻管法

将 1 mL～2 mL 半固体琼脂熔化后冷却至 50 ℃，加入已知相的 H 因子血清 0.05 mL～0.1 mL，混匀后装入 3 mm×50 mm 两端开口的小玻管内。待琼脂凝固后，用接种针挑取待检菌，接种于小玻管一端的琼脂内。将小玻管平放在平皿内，采取保湿措施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，从小玻管另一端挑取细菌进行鉴定。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。

5.6.2.2　小套管法

在装有配制大约 10 mL 半固体琼脂培养基的试管中，放入 3 mm×50 mm 两端开口的小玻管（下

端开口要留一个缺口，不要平齐），小玻管的上端应高出于培养基的表面，121 ℃高压灭菌 15 min 后备用。临用时加热熔化后冷至 50 ℃，挑取已知相的 H 因子血清 1 环，加入小玻管中的培养基内，略加搅动，使其混匀，待凝固后，将待检菌接种于小玻管中的半固体表层内，于 36 ℃±1 ℃培养，每天检查结果，待另一相细菌解离后，可从小玻管外的半固体表面取菌鉴定，或转种 1%琼脂斜面，于 36 ℃±1 ℃培养后再做凝集试验。

5.6.3 Vi 抗原的鉴定

用 Vi 因子血清进行鉴定。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。

5.6.4 血清型的判定

根据血清学分型鉴定的结果，按照附录 B 或有关沙门氏菌属抗原表判定血清型。

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

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

A.1.2　制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH，121 ℃高压灭菌 15 min。培养基 25 ℃的 pH 为 7.2±0.2。

A.2　四硫磺酸盐煌绿增菌液（**TTB**）

A.2.1　基础液

蛋白胨	9.0 g
牛肉浸粉	4.5 g
氯化钠	2.7 g
碳酸钙	40.5 g
硫代硫酸钠（含 5 个结晶水）	50.0 g
牛胆盐	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解。煮沸，无需高压灭菌。培养基 25 ℃的 pH 为 7.6±0.2。

A.2.2　碘溶液

碘化钾	25.0 g
碘	20.0 g
蒸馏水	100 mL

将碘化钾溶解于少量的蒸馏水中，再加入碘，振摇至碘全部溶解。加蒸馏水至 100 mL，转入棕色瓶内，塞紧瓶塞冷藏贮存。

A.2.3　煌绿溶液

煌绿	0.5 g
蒸馏水	100 mL

将煌绿在蒸馏水中溶解后，存放在冷暗处不少于 1 天。

A.2.4　制法

基础液	1 000 mL
煌绿溶液	2.0 mL
碘溶液	20.0 mL

临用时，在冷却后的基础液中以无菌操作加入煌绿溶液摇匀，加入碘溶液，再摇匀。

A.3　氯化镁孔雀绿大豆胨（**RVS**）增菌液

A.3.1　成分

大豆蛋白胨	4.5 g
氯化钠	7.2 g
磷酸二氢钾	1.26 g
磷酸氢二钾	0.18 g
氯化镁（含 6 个结晶水）	28.6 g
孔雀绿	0.036 g
蒸馏水	1 000 mL

A.3.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH，定量分装于试管中，115 ℃高压灭菌 15 min。培养基 25 ℃的 pH 为 5.2±0.2。

A.4 亚硫酸铋（BS）琼脂

A.4.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉浸粉	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
柠檬酸铋铵	2.0 g
亚硫酸钠	6.0 g
琼脂	18.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.4.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH。煮沸，勿过度加热，勿高压灭菌。冷却至 50 ℃～55 ℃倾注平皿，培养基 25 ℃的 pH 为 7.5±0.2。

注：本培养基应于临用前一天制备并倾注平皿，在室温暗处保存，第二天使用。

A.5 HE 琼脂

A.5.1 成分

蛋白胨	12.0 g
牛肉浸粉	3.0 g
乳糖	12.0 g
蔗糖	12.0 g
水杨苷	2.0 g
胆盐	20.0 g
氯化钠	5.0 g
硫代硫酸钠	6.8 g
柠檬酸铁铵	0.8 g
脱氧胆酸钠	2.0 g
酸性品红	0.1 g
溴麝香草酚蓝	0.064 g
琼脂	18.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.5.2　制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH。煮沸，勿过度加热，勿高压灭菌。冷却至 50 ℃～55 ℃倾注平皿，培养基 25 ℃的 pH 为 7.5±0.2。

A.6　木糖赖氨酸脱氧胆盐（XLD）琼脂

A.6.1　成分

酵母浸粉	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
脱氧胆酸钠	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
酚红	0.08 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.6.2　制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH。煮沸，勿过度加热，勿高压灭菌。冷却至 50 ℃～55 ℃倾注平皿，培养基 25 ℃的 pH 为 7.4±0.2。

A.7　三糖铁（TSI）琼脂

A.7.1　成分

蛋白胨	20.0 g
牛肉浸粉	5.0 g
乳糖	10.0 g
蔗糖	10.0 g
葡萄糖	1.0 g
酚红	0.025 g
氯化钠	5.0 g
硫酸亚铁铵（含 6 个结晶水）	0.2 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼 脂	12.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.7.2　制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH。定量分装于试管中，115 ℃高压灭菌 15 min。灭菌后制成斜面，底层深度不小于 2.5 cm。培养基 25 ℃的 pH 为 7.4±0.2。

A.8　营养琼脂(NA)

A.8.1　成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉浸粉	3.0 g
氯化钠	5.0 g

琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL

A.8.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH，121 ℃高压灭菌 15 min。培养基 25 ℃的 pH 为 7.3±0.2。

A.9 半固体琼脂

A.9.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉浸粉	3.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	3.0 g～6.5 g
蒸馏水	1 000 mL

A.9.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH，121 ℃高压灭菌 15 min。冷却至 50 ℃～55 ℃倾注平皿，或分装小玻管。培养基 25 ℃的 pH 为 7.4±0.2。

A.10 蛋白胨水、靛基质试剂

A.10.1 蛋白胨水

A.10.1.1 成分

蛋白胨	10.0 g
氯化钠	5.0 g
DL-色氨酸	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.10.1.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH。分装小试管，121 ℃高压灭菌 15 min。培养基 25 ℃的 pH 为 7.4±0.2。

A.10.2 靛基质试剂

A.10.2.1 柯凡克试剂：将 5.0 g 对二甲氨基苯甲醛溶解于 75 mL 戊醇中，然后缓慢加入浓盐酸 25 mL。

A.10.2.2 欧-波试剂：将 1.0 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.10.3 试验方法

挑取少量培养物接种在蛋白胨水中，36 ℃±1 ℃培养 24 h～48 h。加入柯凡克试剂约 0.5 mL，轻摇试管，试剂层呈深红色者为阳性。或取欧-波试剂约 0.5 mL，沿管壁流下，覆盖于培养液表面，液面接触处呈玫瑰红色者为阳性。

A.11 尿素（**pH** 7.2）琼脂

A.11.1 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
酚红	0.012 g

琼脂	20.0 g
蒸馏水	900 mL
20%尿素溶液	100 mL

A.11.2 制法

除尿素外，将其他成分加入 900 mL 蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH。121 ℃高压灭菌 15 min。冷至 50 ℃～55 ℃，加入 100 mL 经除菌过滤的 20%尿素溶液，分装于无菌试管内制成斜面。培养基 25 ℃的 pH 为 7.2±0.2。

A.11.3 试验方法

挑取培养物接种在尿素琼脂斜面上，36 ℃±1 ℃培养 24 h，观察结果。尿素琼脂斜面变为玫瑰红色者为尿素酶阳性。

注：也可采用不含琼脂的尿素（pH 7.2）培养基。

A.12 氰化钾（KCN）培养基

A.12.1 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.12.2 制法

将除氰化钾以外的成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，121 ℃高压灭菌 15 min。充分冷却后，在每 100 mL 培养基加入 2.0 mL 新制备的 0.5％氰化钾溶液（最后浓度为 1:10 000），分装于无菌试管内，立刻用无菌管塞塞紧。同时，将不加氰化钾的培养基作为对照培养基，分装后备用。

A.12.3 试验方法

将待测菌的纯培养物用生理盐水配制成 0.5 麦氏浊度的菌悬液，滴加 2 滴～3 滴菌悬液于氰化钾（KCN）培养基，混匀后滴加一层无菌液体石蜡进行密封。另外滴加 2 滴～3 滴菌悬液于对照培养基。在 36 ℃±1 ℃培养 24 h～48 h，观察结果。氰化钾（KCN）培养基内有细菌生长者为阳性（不抑制），培养 48 h 无细菌生长者为阴性（抑制）。

注：氰化钾是剧毒药，操作时应戴手套，避免沾染。试验失败的主要原因是密封不严而造成假阳性反应。

A.13 赖氨酸脱羧酶试验培养基

A.13.1 成分

蛋白胨	5.0 g
酵母浸粉	3.0 g
葡萄糖	1.0 g
溴甲酚紫	0.02 g
蒸馏水	1 000 mL
L-赖氨酸或 DL-赖氨酸	5.0 g 或 10. 0 g

A.13.2 制法

除赖氨酸以外的成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，加入 L-赖氨酸或 DL-赖氨酸，对照培养基不加赖氨酸。必要时调节 pH。分装后 115 ℃高压灭菌 15 min。培养基 25 ℃的 pH 为 6.8±0.2。

A.13.3 试验方法

挑取培养物接种于赖氨酸脱羧酶试验培养基，混匀后滴加一层无菌液体石蜡进行密封。

36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h，观察结果。培养基呈紫色者为赖氨酸脱羧酶阳性，培养基呈黄色者为赖氨酸脱羧酶阴性。对照管应为黄色。

A.14 糖发酵培养基

A.14.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉浸粉	5.0 g
氯化钠	3.0 g
磷酸氢二钠（含 12 个结晶水）	2.0 g
溴麝香草酚蓝	0.025 g
蒸馏水	1 000 mL

A.14.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH，121 ℃高压灭菌 15 min。冷却后，加入终浓度为 0.5%～1%的无菌糖溶液，分装。培养基 25 ℃的 pH 为 7.4±0.2。

A.14.3 试验方法

挑取少量培养物接种于糖发酵管，36 ℃±1 ℃培养 24 h～48 h，观察结果。培养基变为黄色者为阳性。对于培养 48 h 后，怀疑为乳糖迟缓发酵者，可继续培养至 3 d～5 d 再观察结果。

A.15 邻硝基酚 β-D 半乳糖苷（ONPG）培养基

A.15.1 成分

邻硝基酚 β-D 半乳糖苷（ONPG）	60.0 mg
0.01mol/L 磷酸钠缓冲液（pH 7.5）	10.0 mL
1%蛋白胨水（pH 7.5）	30.0 mL

A.15.2 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，塞紧管塞。

A.15.3 试验方法

挑取培养物接种于 ONPG 培养基，36 ℃±1 ℃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.16 丙二酸钠培养基

A.16.1 成分

酵母浸粉	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
溴麝香草酚蓝	0.025 g
蒸馏水	1 000 mL

A.16.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，搅匀后加热溶解，必要时调节 pH，分装后 121 ℃高压灭菌 15 min。培养基 25 ℃的 pH 为 6.8±0.2。

A.16.3 试验方法

用新鲜培养物接种于丙二酸钠培养基，36 ℃±1 ℃培养 48 h，观察结果。培养基变蓝色者为阳性。

附 录 B

常见沙门氏菌抗原表

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	*S.* Paratyphi A	1,2,12	a	[1,5]
B 群				
基桑加尼沙门氏菌	*S.* Kisangani	1,4,[5],12	a	1,2
阿雷查瓦莱塔沙门氏菌	*S.* Arechavaleta	4,[5],12	a	1,7
马流产沙门氏菌	*S.* Abortusequi	4,12	-	e,n,x
乙型副伤寒沙门氏菌 [a]	*S.* Paratyphi B	1,4,[5],12	b	1,2
利密特沙门氏菌	*S.* Limete	1,4,12,[27]	b	1,5
阿邦尼沙门氏菌	*S.* Abony	1,4,[5],12,[27]	b	e,n,x
维也纳沙门氏菌	*S.* Wien	1,4,12, [27]	b	l,w
伯里沙门氏菌	*S.* Bury	4,12, [27]	c	z6
斯坦利沙门氏菌	*S.* Stanley	1,4,[5],12, [27]	d	1,2
圣保罗沙门氏菌	*S.* Saintpaul	1,4,[5],12	e,h	1,2
里定沙门氏菌	*S.* Reading	1,4,[5],12	e,h	1,5
彻斯特沙门氏菌	*S.* Chester	1,4,[5],12	e,h	e,n,x
德尔卑沙门氏菌	*S.* Derby	1,4,[5],12	f,g	[1,2]
阿贡纳沙门氏菌	*S.* Agona	1,4,[5],12	f,g,s	[1,2]
埃森沙门氏菌	*S.* Essen	4,12	g,m	-
加利福尼亚沙门氏菌	*S.* California	4,12	g,m,t	[z_{67}]
金斯敦沙门氏菌	*S.* Kingston	1,4,[5],12, [27]	g,s,t	[1,2]
布达佩斯沙门氏菌	*S.* Budapest	1,4,12, [27]	g,t	-
鼠伤寒沙门氏菌	*S.* Typhimurium	1,4,[5],12	i	1,2
拉古什沙门氏菌	*S.* Lagos	1,4,[5],12	i	1,5
布雷登尼沙门氏菌	*S.* Bredeney	1,4,12, [27]	l,v	1,7
基尔瓦沙门氏菌 II	*S.* Kilwa II	4,12	l,w	e,n,x
海德尔堡沙门氏菌	*S.* Heidelberg	1,4,[15],12	r	1,2
印地安纳沙门氏菌	*S.* Indiana	1,4,12	z	1,7
斯坦利维尔沙门氏菌	*S.* Stanleyville	1,4,[5],12, [27]	z_4,z_{23}	[1,2]
伊图里沙门氏菌	*S.* Ituri	1,4,12	z_{10}	1,5
C1 群				
奥斯陆沙门氏菌	*S.* Oslo	6,7,14	a	e,n,x
爱丁保沙门氏菌	*S.* Edinburg	6,7, 14	b	1,5
布隆方丹沙门氏菌 II	*S.* Bloemfontein II	6,7	b	[e,n,x]:z_{42}
丙型副伤寒沙门氏菌	*S.* Paratyphi C	6,7,[Vi]	c	1,5
猪霍乱沙门氏菌	*S.* Choleraesuis	6,7	c	1,5
猪伤寒沙门氏菌	*S.* Typhisuis	6,7	c	1,5
罗米他沙门氏菌	*S.* Lomita	6,7	e,h	1,5

表 B.1（续）

菌　　名	拉丁菌名	O　抗　原	H 抗原	
			第 1 相	第 2 相
布伦登卢普沙门氏菌	*S.* Braenderup	6,7,14	e,h	e,n,z_{15}
里森沙门氏菌	*S.* Rissen	6,7,14	f,g	-
蒙得维的亚沙门氏菌	*S.* Montevideo	6,7,14	g,m,[p],s	[1,2,7]
里吉尔沙门氏菌	*S.* Riggil	6,7	g,[t]	-
奥雷宁堡沙门氏菌	*S.* Oranienburg	6,7,14	m,t	[z_{57}]
奥里塔蔓林沙门氏菌	*S.* Oritamerin	6,7	i	1,5
汤卜逊沙门氏菌	*S.* Thompson	6,7,14	k	1,5
康科德沙门氏菌	*S.* Concord	6,7	l,v	1,2
伊鲁木沙门氏菌	*S.* Irumu	6,7	l,v	1,5
姆卡巴沙门氏菌	*S.* Mkamba	6,7	l,v	1,6
波恩沙门氏菌	*S.* Bonn	6,7	l,v	e,n,x
波茨坦沙门氏菌	*S.* Potsdam	6,7,14	l,v	e,n,z_{15}
格但斯克沙门氏菌	*S.* Gdansk	6,7,14	l,v	z_6
维尔肖沙门氏菌	*S.* Virchow	6,7,14	r	1,2
婴儿沙门氏菌	*S.* Infantis	6,7,14	r	1,5
巴布亚沙门氏菌	*S.* Papuana	6,7	r	e,n,z_{15}
巴雷利沙门氏菌	*S.* Bareilly	6,7,14	y	1,5
哈特福德沙门氏菌	*S.* Hartford	6,7	y	e,n,x
三河岛沙门氏菌	*S.* Mikawasima	6,7,14	y	e,n,z_{15}
姆班达卡沙门氏菌	*S.* Mbandaka	6,7,14	z_{10}	e,n,z_{15}
耶路撒冷沙门氏菌	*S.* Jerusalem	6,7,14	z_{10}	l,w
田纳西沙门氏菌	*S.* Tennessee	6,7,14	z_{29}	[1,2,7]
C2　　群				
习志野沙门氏菌	*S.*Narashino	6,8	a	e,n,x
名古屋沙门氏菌	*S.*Nagoya	6,8	b	1,5
加瓦尼沙门氏菌	*S.*Gatuni	6,8	b	e,n,x
慕尼黑沙门氏菌	*S.*Muenchen	6,8	d	1,2
曼哈顿沙门氏菌	*S.*Manhattan	6,8	d	1,5
纽波特沙门氏菌	*S.*Newport	6,8,20	e,h	1,2
科特布斯沙门氏菌	*S.*Kottbus	6,8	e,h	1,5
茨昂威沙门氏菌	*S.*Tshiongwe	6,8	e,h	e,n,z_{15}
林登堡沙门氏菌	*S.*Lindenburg	6,8	i	1,2
塔科拉迪沙门氏菌	*S.*Takoradi	6,8	i	1,5
波那雷恩沙门氏菌	*S.*Bonariensis	6,8	i	e,n,x
利奇菲尔德沙门氏菌	*S.*Litchfield	6,8	l,v	1,2
病牛沙门氏菌	*S.*Bovismorbificans	6,8,20	r,[i]	1,5
查理沙门氏菌	*S.*Chailey	6,8	z_4,z_{23}	e,n,z_{15}
哈达尔沙门氏菌	*S.*Hadar	6,8	Z_{10}	e,n,x
C3　　群				
巴尔多沙门氏菌	*S.* Bardo	8	e,h	1,2
依麦克沙门氏菌	*S.* Emek	8,20	g,m,s	-
肯塔基沙门氏菌	*S.* Kentucky	8,20	i	z_6
科瓦利斯沙门氏菌	*S.* Corvallis	8,20	z_4,z_{23}	[z_6]

表 B.1（续）

菌　　名	拉丁菌名	O　抗　原	H 抗原	
			第 1 相	第 2 相
D　　群				
仙台沙门氏菌	*S.* Sendai	1,9,12	a	1,5
伤寒沙门氏菌	*S.* Typhi	9,12,[Vi]	d	-
塔西沙门氏菌	*S.* Tarshyne	9,12	d	1,6
伊斯特本沙门氏菌	*S.* Eastbourne	1,9,12	e,h	1,5
以色列沙门氏菌	*S.* Israel	9,12	e,h	e,n,z_{15}
肠炎沙门氏菌	*S.* Enteritidis	1,9,12	g,m	[1,7]
布利丹沙门氏菌	*S.* Blegdam	9,12	g,m,q	-
沙门氏菌 II	*Salmonella* II	1,9,12	g,m,[s],t	[1,5,7]
都柏林沙门氏菌	*S.* Dublin	1,9,12,[Vi]	g,p	-
芙蓉沙门氏菌	*S.* Seremban	9,12	i	1,5
巴拿马沙门氏菌	*S.* Panama	1,9,12	l,v	1,5
戈丁根沙门氏菌	*S.* Goettingen	9,12	l,v	e,n,z_{15}
爪哇安纳沙门氏菌	*S.* Javiana	1,9,12	l,z_{28}	1,5
鸡沙门氏菌	*S.* Gallinarum	1,9,12	-	-
E1　　群				
奥凯福科沙门氏菌	*S.* Okefoko	3,10	c	z_6
瓦伊勒沙门氏菌	*S.* Vejle	3,{10}{15}	e,h	1,2
明斯特沙门氏菌	*S.* Muenster	3,{10}{15}{15,34}	e,h	1,5
鸭沙门氏菌	*S.* Anatum	3, {10}{15}{15,34}	e,h	1,6
纽兰沙门氏菌	*S.* Newlands	3,{10}{15,34}	e,h	e,n,x
火鸡沙门氏菌	*S.* Meleagridis	3, {10}{15}{15,34}	e,h	l,w
雷根特沙门氏菌	*S.* Regent	3,10	f,g,[s]	[1,6]
西翰普顿沙门氏菌	*S.* Westhampton	3,{10}{15}{15,34}	g,s,t	-
阿姆德尔尼斯沙门氏菌	*S.* Amounderness	3,10	i	1,5
新罗歇尔沙门氏菌	*S.* Newrochelle	3,10	k	l,w
恩昌加沙门氏菌	*S.* Nchanga	3,{10}{15}	l,v	1,2
新斯托夫沙门氏菌	*S.* Sinstorf	3,10	l,v	1,5
伦敦沙门氏菌	*S.* London	3,{10}{15}	l,v	1,6
吉韦沙门氏菌	*S.* Give	3,{10}{15}{15,34}	l,v	1,7
鲁齐齐沙门氏菌	*S.* Ruzizi	3,10	l,v	e,n,z_{15}
乌干达沙门氏菌	*S.* Uganda	3,{10}{15}	l,z_{13}	1,5
乌盖利沙门氏菌	*S.* Ughelli	3,10	r	1,5
韦太夫雷登沙门氏菌	*S.* Weltevreden	3,{10}{15}	r	z_6
克勒肯威尔沙门氏菌	*S.* Clerkenwell	3,10	z	l,w
列克星敦沙门氏菌	*S.* Lexington	3,{10}{15}{15,34}	z_{10}	1,5
E4　　群				
萨奥沙门氏菌	*S.* Sao	1,3,19	e,h	e,n,z_{15}
卡拉巴尔沙门氏菌	*S.* Calabar	1,3,19	e,h	l,w
山夫登堡沙门氏菌	*S.* Senftenberg	1,3,19	g,[s],t	-
斯特拉特福沙门氏菌	*S.* Stratford	1,3,19	i	1,2
塔克松尼沙门氏菌	*S.* Taksony	1,3,19	i	z_6
索恩堡沙门氏菌	*S.* Schoeneberg	1,3,19	z	e,n,z_{15}

表 B.1（续）

菌　　名	拉丁菌名	O　抗　原	H 抗原	
			第 1 相	第 2 相
F　　群				
昌丹斯沙门氏菌	*S.* Chandans	11	d	[e,n,x]
阿柏丁沙门氏菌	*S.* Aberdeen	11	i	1,2
布里赫姆沙门氏菌	*S.* Brijbhumi	11	i	1,5
威尼斯沙门氏菌	*S.* Veneziana	11	i	e,n,x
阿巴特图巴沙门氏菌	*S.* Abaetetuba	11	k	1,5
鲁比斯劳沙门氏菌	*S.* Rubislaw	11	r	e,n,x
其 他 群				
密西西比沙门氏菌	*S.*Mississippi	1,13,23	b	1,5
浦那沙门氏菌	*S.*Poona	1,13,22	z	1,6
里特沙门氏菌	*S.*Ried	1,13,22	z_4,z_{23}	[e,n,z_{15}]
古巴沙门氏菌	*S.*Cubana	1,13,23	z_{29}	-
苏拉特沙门氏菌	*S.*Surat	[1],6,14,[25]	r,[i]	e,n,z_{15}
松兹瓦尔沙门氏菌	*S.*Sundsvall	[1],6,14,[25]	z	e,n,x
非丁伏斯沙门氏菌	*S.*Hvittingfoss	16	b	e,n,x
威斯敦沙门氏菌	*S.*Weston	16	e,h	z_6
上海沙门氏菌	*S.*Shanghai	16	l,v	1,6
自贡沙门氏菌	*S.*Zigong	16	l,w	1,5
巴圭达沙门氏菌	*S.*Baguida	21	z_4,z_{23}	-
迪尤波尔沙门氏菌	*S.*Dieuppeul	28	i	1,7
卢肯瓦尔德沙门氏菌	*S.*Luckenwalde	28	z_{10}	e,n,z_{15}
拉马特根沙门氏菌	*S.*Ramatgan	30	k	1,5
阿德莱德沙门氏菌	*S.*Adelaide	35	f,g	-
旺兹沃思沙门氏菌	*S.*Wandsworth	39	b	1,2
里奥格兰德沙门氏菌	*S.*Riogrande	40	b	1,5
莱瑟沙门氏菌 II	*S.*Lethe II	41	g,t	-
达莱姆沙门氏菌	*S.*Dahlem	48	k	e,n,z_{15}
沙门氏菌 IIIb	*Salmonella* IIIb	61	l,v	1,5,7

注：抗原表中符号的说明。

_：带下划线的 O 因子是由噬菌体溶原化产生的（如 1,2,12），只有菌株被相应的转换噬菌体溶原化时，带下划线的因子才会出现。

[]：中括号内的 O 因子（无下划线）或 H 因子可能存在，也可能不存在，且与噬菌体转化无关。例如，大多数甲型副伤寒沙门氏菌 H 抗原只有一个位相（a），罕见第 2 相（1,5），其抗原式为：1,2,12:a:[1,5]。

{}：大括号内的 O 因子是排他性的。在一个血清型中，大括号内的因子不能与另一大括号内其他因子共存。例如在 O:3,10 群中，若存在 O:15 或 O:15,34 因子，则取代 O:10，其 O 抗原表示为：3,{10}{15}{15,34}。

[a] 酒石酸盐（*d*-tartrate）阳性者为爪哇沙门氏菌（*S.*Java）。