



中华人民共和国国家标准

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

2013-11-29 发布

2014-06-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替GB/T 4789.28—2003《食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂》。

本标准与GB/T 4789.28—2003相比，主要修改如下：

- 删除了培养基和试剂的配方和配制方法。
- 增加了培养基和试剂的质量控制方法和指标。

www.kinghunt.cn
凯恒生物

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 培养基或试剂的批量

培养基或试剂完整的可追溯单位，是指满足产品要求（内部控制）和性能测试，产品型号和质量稳定的一定量的半成品或成品。这些产品在特定的生产周期生产，而且编号相同。

2.3 培养基及试剂的性能

在特定条件下培养基对测试菌株的反应。

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（含或不含某类微生物的抑菌剂）、鉴定或保持其活力的物质。

2.5 纯化学培养基

由已知分子结构和纯度的化学成分配制而成的培养基。

2.6 未定义和部分定义的化学培养基

全部或部分由天然物质、加工过的物质或其他不纯的化学物质构成的培养基。

2.7 固体培养基

在液体培养基中加入一定量固化物（如：琼脂、明胶等），加热至100℃溶解，冷却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之为“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”。

2.8 半固体培养基

在液体培养基中加入极少量固化物（如：琼脂、明胶等），加热至100℃溶解，冷却后凝固成半固体状态的培养基。

2.9 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明显增殖的培养基。

运输培养基中通常不允许包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)。

2.10 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)。

2.11 悬浮培养基

将测试样本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)。

2.12 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。

2.13 增菌培养基

通常为液体培养基，能够给微生物的繁殖提供特定的生长环境。

2.14 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)。

2.15 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)。

2.16 分离培养基

支持微生物生长的固体或半固体培养基。

2.17 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)。

2.18 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)。

2.19 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：麦康凯琼脂)。

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)。

2.20 鉴定培养基

能够产生一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。

2.21 计数培养基

能够对微生物定量的选择性（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。

2.22 确证培养基

在初步复苏、分离和(或)增菌阶段后对微生物进行部分或完全鉴定或鉴别的培养基（如：BGLB肉汤）。

2.23 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）内供应的液体、固体或半固体培养基：

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

2.24 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；
- 不完全培养基，使用的时候需加入添加剂。

2.25 自制培养基

依据完整配方的具体成份配制的培养基。

2.26 试剂

用于食品微生物检验的染色剂和培养基配套试剂。

2.27 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2.29-2.32)可进行进一步定义。

2.28 标准菌株

直接从官方菌种保藏机构获得并至少定义到属或种的水平的菌株。按菌株特性进行分类和描述，最好来源于食品或水的菌株。

2.29 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。

2.30 储备菌株

从标准储备菌株转接一代获得的培养物。

2.31 工作菌株

由标准储备菌株、储备菌株或标准物质（经证明或未经证明）转接一代获得的菌株。

注：标准物质是指在均一固定的浓度中含有具活性的定量化菌种，经证明的标准物是指其浓度已经证明。

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；
- 最终 pH（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；
- 包装的完整性；
- 产品的有效期；
- 文件的提供。

3.2 贮存

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的质量管理和质量控制

脱水合成培养基一般为粉状或颗粒状形式包装于密闭的容器中。用于微生物选择或鉴定的添加成分通常为冻干物或液体。培养基的购买应有计划，以利于存货的周转（即掌握先购先用的原则）。实验室应保存有效的培养基目录清单，清单应包括以下内容：

- 容器密闭性检查；
- 记录首次开封日期；
- 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的变化。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 实验室自制的培养基

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 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存，通常建议平板不超过2周~4周，瓶装及试管装培养基不超过3个月~6个月，除非某些标准或实验结果表明保质期比上述的更长。

建议需在培养基中添加的不稳定的添加剂应即配即用，除非某些标准或实验结果表明保质期更长；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家提供的使用说明。培养基的不正确制备会导致培养基出现质量问题（见附录A）。

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）、配置日期、人员等，以便溯源。

3.3.2 水

实验用水的电导率在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时不应超过 $25\text{ }\mu\text{S}/\text{cm}$ （相当于电阻率 $\geq 0.4\text{ M}\Omega\text{cm}$ ），除非另有规定要求。

水的微生物污染不应超过 $10^3\text{ CFU}/\text{mL}$ 。应按GB 4789.2，采用平板计数琼脂培养基，在 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 $48\text{ h}\pm 2\text{ h}$ 进行定期检查微生物污染。

3.3.3 称重和溶解

小心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，以防吸入含有有毒物质的培养基粉末），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，必要时完全溶解。含琼脂的培养基在加热前应浸泡几分钟。

3.3.4 pH 的测定和调整

用pH计测pH，必要时在灭菌前进行调整，除特殊说明外，培养基灭菌后冷却至 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时，pH应在标准 $\text{pH}\pm 0.2$ 范围内。一般使用浓度约为 $40\text{ g}/\text{L}$ （约 $1\text{ mol}/\text{L}$ ）的氢氧化钠溶液或浓度约为 $36.5\text{ g}/\text{L}$ （约 $1\text{ mol}/\text{L}$ ）的盐酸溶液调整培养基的pH。如需灭菌后进行调整，则使用灭菌或除菌的溶液。

3.3.5 分装

将配好的培养基分装到适当的容器中，容器的体积应比培养基体积最少大20%。

3.3.6 灭菌

3.3.6.1 一般要求

培养基应采用湿热灭菌法（3.3.6.2）或过滤除菌法（见3.3.6.3）。

某些培养基不能或不需要高压灭菌，可采用煮沸灭菌，如SC肉汤等特定的培养基中含有对光和热敏感的物质，煮沸后应迅速冷却，避光保存；有些试剂则不需灭菌，可直接使用（参见相关标准或供应商使用说明）。

3.3.6.2 湿热灭菌

湿热灭菌在高压锅或培养基制备器中进行，高压灭菌一般采用 $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌15 min，具体培养基按食品微生物学检验标准中的规定进行灭菌。培养基体积不应超过1000 mL，否则灭菌时可能会造成过度加热。所有的操作应按照国家或行业标准或使用说明书的规定进行。

灭菌效果的控制是关键问题。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。

3.3.6.3 过滤除菌

过滤除菌可在真空或加压的条件下进行。使用孔径为 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 的无菌设备和滤膜。消毒过滤设备的各个部分或使用预先消毒的设备。一些滤膜上附着有蛋白质或其他物质（如抗生素），为了达到有效过滤，应事先将滤膜用无菌水润湿。

3.3.6.4 检查

应对经湿热灭菌或过滤除菌的培养基进行检查，尤其要对pH、色泽、灭菌效果和均匀度等指标进行检查。

3.3.7 添加成分的制备

制备含有有毒物质的添加成分（尤其是抗生素）时应小心操作（必要时在通风柜中操作），避免因粉尘的扩散造成实验人员过敏或发生其他不良反应；制备溶液时应按产品使用说明操作。

不要使用过期的添加剂；抗生素工作溶液应现用现配；批量配制的抗生素溶液可分装后冷冻贮存，但解冻后的贮存溶液不能再次冷冻；厂商应提供冷冻对抗生素活性影响的有关资料，也可由使用者自行测定。

3.4 培养基的使用

3.4.1 琼脂培养基的融化

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）使之融化。经过高压的培养基应尽量减少重新加热时间，融化后避免过度加热。融化后应短暂置于室温中（如2 min）以避免玻璃瓶破碎。

融化后的培养基放入 $47\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中冷却保温（可根据实际培养基凝固温度适当提高水浴锅温度），直至使用，培养基达到 $47\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的时间与培养基的品种、体积、数量有关。融化后的培养基应尽快使用，放置时间一般不应超过4 h。未用完的培养基不能重新凝固留待下次使用。敏感的培养基尤应注意，融化后保温时间应尽量缩短，如有特定要求可参考指定的标准。

倾注到样品中的培养基温度应控制在约 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右。

3.4.2 培养基的脱氧

必要时，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FT培养基）。

3.4.3 添加成分的加入

对热不稳定的添加成分应在培养基冷却至47℃~50℃时再加入。无菌的添加成分在加入前应先放置到室温，避免冷的液体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

倾注融化的培养基到平皿中，使之在平皿中形成厚度至少为3 mm（直径90 mm的平皿，通常要加入18 mL~20 mL琼脂培养基）。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℃，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）5℃±3℃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。

将倒好的平板放在密封的袋子中冷藏保存可延长储存期限。为了避免冷凝水的产生，平板应冷却后再装入袋中。储存前不要对培养基表面进行干燥处理。

对于采用表面接种形式培养的固体培养基，应先对琼脂表面进行干燥；揭开平皿盖，将平板倒扣于烘箱或培养箱中（温度设为25℃~50℃）；或放在有对流的无菌净化台中，直到培养基表面的水滴消失为止。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的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 质控菌株的保藏及使用

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、利用多孔磁珠在-70℃保藏、使用液氮保藏或其他有效的保藏方法。

4.2 商业来源的质控菌株

对于从标准菌种保藏中心或其他有效的认证的商业机构获得原包装的质控菌株，复苏和使用应参照制造商提供的使用说明进行。

4.3 实验室制备的标准储存菌株

用于性能测试的标准储存菌株（见附录B的图B.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（-70℃）或冻干的形式保存。在较高温度下贮存时间应缩短。

标准储存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。

标准储存菌株不应用来制备标准菌株。

4.4 储存菌株

储存菌株通常从冻干或超低温保存的标准储存菌株进行制备（见附录B的图B.2）。

制备储存菌株应避免导致标准储存菌株的交叉污染和（或）退化。制备储存菌株时，应将标准储存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，应严格按照制造商的说明执行。

储存菌株不应用来制备标准储存菌株或标准菌株。

4.5 工作菌株

工作菌株由储存菌株或标准储存菌株制备。

工作菌株不应用来制作标准菌株、标准储存菌株或储存菌株。

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。

供应商或制备者应确保培养基和试剂的理化特性满足相关标准的要求，以下特性的质量评估结果应符合相应的规定：

- 分装的量和（或）厚度；
- 外观，色泽和均一性；
- 琼脂凝胶的硬度；
- 水分含量；
- 20℃~25℃的pH；
- 缓冲能力；
- 微生物污染。

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。

5.1.2 基础成分

国家标准中提到的培养基通常可以直接使用。但因其中一些培养基成分（见附录C）质量不稳定，可允许对其用量进行适当的调整，如：

- 根据营养需要改变蛋白胨、牛肉浸出物、酵母浸出物的用量；
- 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D质量控制标准的要求，其性能测试方法按6.1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，如需进行验证，可按6.2执行，并应达到附录E质量控制标准要求。

5.2.2 微生物污染的控制

按批量的不同选择适量的培养基在适当条件下培养，测定其微生物污染。生产商应根据每种平板或液体培养基的数量，规定或建立其污染限值，并记录培养基成分、制备要素和包装类型。

分别从初始和最终制备的培养基中抽取或制备至少一个（或1%）平板或试管，置于37℃培养18h或按特定标准中规定的温度时间进行培养。

本条款只适用于即用型培养基。

5.2.3 生长特性

5.2.3.1 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，应使用参考培养基（见附录D）进行对照；采用半定量和定性方法时，使用参考培养基或能得到“阳性”结果的培养基进行对照有助于结果的解释。参考培养基应选择近期批次中质量良好的培养基或是来自其他供应商的具有长期稳定性的批次培养基或即用型培养基。

5.2.3.2 测试菌株

测试菌株是具有其代表种的稳定特性并能有效证明实验室特定培养基最佳性能的一套菌株。测试菌株主要购置于标准菌种保藏中心，也可以是实验室自己分离的具有良好特性的菌株。实验室应检测和记录标准储备菌株的特性；或选择具有典型特性的新菌株，使用时应引起注意；最好使用从食品或水中分离的菌株。

对不含指示剂或选择剂的培养基，只需采用一株阳性菌株进行测试；对含有指示剂或选择剂的培养基或试剂，应使用能证明其指示或选择作用的菌株进行试验；复合培养基（如需要加入添加成分的培养基）需要以下列菌株进行验证：

- 具典型反应特性的生长良好的阳性菌株；
- 弱阳性菌株（对培养基中选择剂等试剂敏感性强的菌株）；
- 不具有该特性的阴性菌株；
- 部分或完全受抑制的菌株。

5.2.3.3 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D、附录E）。

5.2.3.4 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考培养基中，培养基的选择性应达到规定值（见附录D、附录E）。

5.2.3.5 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D、附录E）。

5.2.3.6 性能评价和结果解释

若按照规定的所有测试菌株的性能测试达到标准，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 生产商及实验室自制培养基和试剂的质量控制的测试方法

6.1.1 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

6.1.1.1 平板的制备与保存

倾注融化的培养基到平皿中，使之在平皿中形成一个至少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），需添加试剂的培养基，应使培养基冷却至47℃~50℃后才添加试剂。倾注后将平板放到水平平面，使琼脂冷却凝固。凝固后的培养基应立即使用或存放于暗处和（或）2℃~8℃冰箱的密封袋中，在有效期内使用。使用前应对琼脂表面进行干燥，但应注意不要过度干燥。

6.1.1.2 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方法，制备10倍系列稀释的菌悬液。生长率测试常用每平板的接种水平为20 CFU~200 CFU。

6.1.1.3 接种

选择合适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。可使用螺旋平板法（见附录F）或倾注法进行接种，并按标准规定的培养条件培养平板。

6.1.1.4 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 ——待测培养基平板上得到的菌落总数；

N_0 ——参比培养基平板上获得的菌落总数（该菌落总数应 ≥ 100 CFU）。

参比培养基的选择：一般细菌采用TSA，一般霉菌和酵母采用沙氏葡萄糖琼脂，对营养有特殊要求的微生物采用适合其生长的不含抑菌剂或抗生素的培养基。

6.1.1.5 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。

6.1.2 选择性分离和计数固体培养基的测试方法

6.1.2.1 目标菌生长率定量测试方法

6.1.2.1.1 平板的制备与保存

按照 6.1.1.1 中要求进行。

6.1.2.1.2 工作菌悬液的制备

按照 6.1.1.2 中要求进行。

6.1.2.1.3 接种

按照 6.1.1.3 中要求进行。

6.1.2.1.4 计算

按照 6.1.1.4 中要求进行。

6.1.2.1.5 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不小于0.7。参照附录F培养基质量控制标准。

6.1.2.2 非目标菌(选择性)半定量测试方法

6.1.2.2.1 平板的制备与保存

按照 6.1.1.1 中要求进行。

6.1.2.2.2 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作为工作菌悬液。

6.1.2.2.3 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，按标准规定的培养条件培养平板。

操作时用接种环而不用接种针，接种环应完全浸入培养基中。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 $20^{\circ} \sim 30^{\circ}$ 。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。

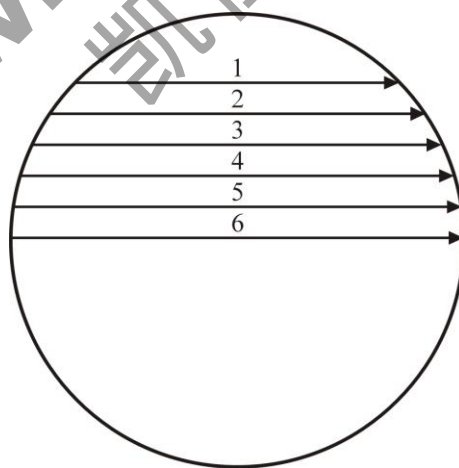


图1 非目标菌半定量划线法接种模式图

6.1.2.2.4 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。同时接种两个平板。

6.1.2.2.5 结果解释

非目标菌的生长指数G一般小于或等于1，至少应达到小于5。

6.1.2.3 非目标菌(特异性)定性测试方法

6.1.2.3.1 平板的制备与保存

按照 6.1.1.1 中要求进行。

6.1.2.3.2 工作菌悬液的制备

按照 6.1.1.2 中要求进行。

6.1.2.3.3 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平行直线。并按标准规定的培养条件培养平板。

6.1.2.3.4 结果解释

非目标菌应有典型的菌落外观、大小和形态。

6.1.3 非选择性增菌培养基的半定量测试方法

6.1.3.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL。

6.1.3.2 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。

6.1.3.3 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）。

6.1.3.4 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 表示很轻微的混浊；
- 2 表示严重的混浊。

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。

6.1.4 选择性增菌培养基的半定量测试方法

6.1.4.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL。

6.1.4.2 工作菌悬液的制备

按照 6.1.3.2 中要求进行。

6.1.4.3 接种

6.1.4.3.1 混合菌的接种

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 D 培养基质量控制标准），并接种 1000 CFU~5000 CFU 的非目标菌，接种总量为 1 mL，同时接种两个平行管，混匀。同时分别将目标菌悬液（与试管接种同一稀释度）和非目标菌悬液（比试管接种小 10~100 倍稀释度）1 mL 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。

6.1.4.3.2 非目标菌的接种

在装有待测培养基的试管中接种 1000 CFU~5000 CFU 的非目标菌，接种量为 1 mL，同时接种两个平行管，混匀。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.1.4.4 培养液的接种

6.1.4.4.1 混合菌培养液的接种

用 10 μ L 接种环取 1 环经培养后的混合菌培养液，划线接种到特定的选择性平板上，同时每管接种一个平板。按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。

6.1.4.4.2 非目标菌培养液的接种

吸取 10 μ L 经培养后的非目标菌培养液，均匀涂布接种到非选择性平板（如 TSA）上。同时每管接种一个平板。可使用倾注法进行接种，并按标准规定的培养条件培养平板。

6.1.4.5 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。

6.1.5 选择性液体计数培养基的半定量测试方法

6.1.5.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管 10 mL。

6.1.5.2 工作菌悬液的制备

按照 6.1.3.2 中要求进行。

6.1.5.3 接种

6.1.5.3.1 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，接种总量为 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。

6.1.5.3.2 非目标菌的接种

在装有待测培养基的试管中接种 1000 CFU~5000 CFU 的非目标菌，接种总量为 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 10~100 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。

6.1.5.4 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 表示很轻微的混浊;
- 2 表示严重的混浊。

并记录小导管收集气体的体积比。

目标菌的浊度值应为2，产气应为1/3或以上；非目标菌的浊度值应为0或1，无产气现象。

注：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。

6.1.6 悬浮培养基和运输培养基的定量测试方法

6.1.6.1 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)。

6.1.6.2 目标菌工作菌悬液的制备

按照 6.1.3.2 中要求进行。

6.1.6.3 接种

在装有待测培养基的试管中接种100 CFU~1000 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置20℃~25℃放置45min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。

6.1.6.4 结果观察与解释

待测培养基中的菌落数变化应在±50%内。

6.1.7 Mueller-Hinton 血琼脂的纸片扩散测试方法（定性测试方法）

6.1.7.1 平板的制备与保存

倾注融化的培养基到平皿中，使之在平皿中形成一个厚度为4 mm~5 mm的琼脂层。倾注后将平板放到水平平面，使琼脂冷却凝固。凝固后的培养基应立即使用或存放于暗处和（或）5℃±3℃冰箱的密封袋中，在有效期内使用。使用前应可将平板置35℃温箱中或置室温层流橱中对琼脂表面进行干燥，培养基表面应湿润，但不能有水滴，培养皿也不应有水滴。

6.1.7.2 质控菌株的复苏

将质控菌株接种到血平板上，按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。检查纯度合格后，用于质控工作菌悬液的制备。

6.1.7.3 质控菌工作菌悬液的制备

将纯度满意的质控菌株培养物悬浮于TSB肉汤中，并调整浊度为0.5麦氏标准（约 1×10^8 CFU/mL～ 2×10^8 CFU/mL）。

6.1.7.4 接种

用涂布法将质控工作菌悬液接种于MH平板上，并贴上相应的抗生素纸片(每平板最多贴6片)，将平板翻转后按标准方法中规定的培养时间和温度进行培养。调整菌悬液浊度与接种所有平板间的时间间隔不要超过15 min。

6.1.7.5 结果观察与解释

在无反射黑色背景下，观察有无抑菌环。结果解释参照附录D表D.7。

6.1.8 鉴定培养基的测试方法

6.1.8.1 液体培养基

6.1.8.1.1 培养基的制备

将培养基分装试管，再进行灭菌和添加试剂。

6.1.8.1.2 工作菌悬液的制备

将标准储备菌株接种到非选择性肉汤中或采用其他制备方法，制备成5 McFarland浊度（约 10^9 CFU/mL）的菌悬液。

6.1.8.1.3 接种

吸取0.05 mL～0.08 mL（约1～2滴）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。

6.1.8.1.4 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D表D.8。

6.1.8.2 半固体培养基

6.1.8.2.1 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。

6.1.8.2.2 接种

取新鲜质控菌株斜面，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。

6.1.8.2.3 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D表D.8。

6.1.8.3 高层斜面培养基和斜面培养基

6.1.8.3.1 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。

6.1.8.3.2 接种

高层斜面培养基：取新鲜质控菌株斜面，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：取新鲜质控菌株斜面，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。

6.1.8.3.3 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D表D.8。

6.1.8.4 平板培养基

6.1.8.4.1 培养基的制备

倾注灭菌融化的培养基到平皿中，使之在平皿中形成一个至少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）。

6.1.8.4.2 接种

取新鲜质控菌株斜面，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。

6.1.8.4.3 结果观察与解释

参照附录D表D.8。

6.1.9 实验试剂的测试方法

6.1.9.1 实验方法

按试剂说明书进行。

6.1.9.2 结果观察与解释

参照附录D表D.8。

6.2 实验室使用商品化培养基和试剂的质量控制的测试方法

6.2.1 非选择性分离和计数固体培养基的半定量测试方法

6.2.1.1 平板的制备与保存

按照 6.1.1.1 中要求进行。

6.2.1.2 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作为工作菌悬液。

6.2.1.3 接种

用1 μL 接种环进行平板划线（如图2）。A区用接种环按0.5 cm的间隔划4条平行线，按同样的方法在B区和C区划线，最后在D区内划一条连续的曲线。同时接种两个平板，划线时可在培养基下面放一个模板图，并按标准规定的培养条件培养平板。

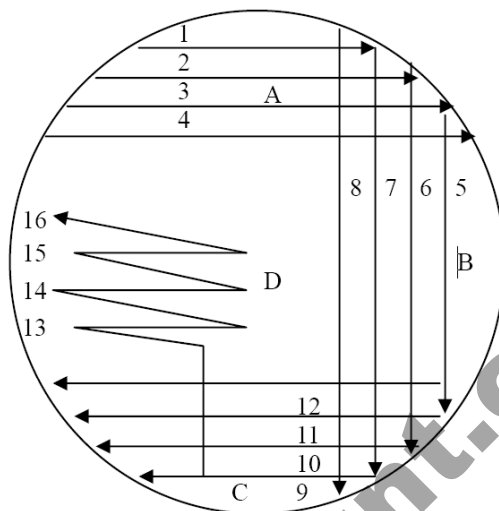


图2 目标菌半定量划线法接种模式图

操作时用接种环而不用接种针，接种环应完全浸入培养基中。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 $20^{\circ} \sim 30^{\circ}$ 。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。

通常用同一个接种环对A~D区进行划线，操作过程不需要对接种环灭菌。但为了得到低生长指数G，在接种不同部分时应更换接种环或对其灭菌。

6.2.1.4 计算

培养后，评价菌落的形状、大小和生长密度，并计算生长指数G。每条有比较稠密菌落生长的划线则G为1，每个培养皿上G最大为16。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。如，菌落在A区和B区全部生长，而在C区有一半线生长，则G为10。

6.2.1.5 结果解释

目标菌在培养基上应呈现典型的生长。目标菌的生长指数G大于或等于6时，培养基可以接受。非选择培养基的G值通常较高。

6.2.2 选择性分离和计数固体培养基的半定量测试方法

6.2.2.1 目标菌半定量测试方法

按照 6.2.1 中要求进行。

6.2.2.2 非目标菌(选择性) 半定量测试方法

按照 6.1.2.2 中要求进行。

6.2.3 非选择性增菌培养基、选择性增菌培养基和选择性液体计数培养基的定性测试方法

6.2.3.1 培养基的制备

将培养基分装试管，每管10 mL。

6.2.3.2 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，进行10倍系列稀释至 10^{-3} ，或采用其他方法，制备成 10^5 CFU/mL~ 10^7 CFU/mL的菌悬液作为工作菌悬液。

6.2.3.3 接种

用1 μ L接种环取一环工作菌悬液直接接种到用于性能测试的液体培养基中，按适合的培养时间和温度进行培养。

6.2.3.4 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 表示很轻微的混浊；

—— 2 表示严重的混浊。

目标菌的浊度值应为2，非目标菌的浊度值应为0或1。

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。选择性液体计数培养基目标菌应有产气现象，非目标菌无产气现象。

6.2.4 悬浮培养基和运输培养基的定性测试方法

6.2.4.1 培养基的制备

按照 6.1.6.1 中要求进行。

6.2.4.2 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作为工作菌悬液。

6.2.4.3 接种

用1 μ L接种环取一环工作菌悬液直接接种到装有待测培养基的试管中，混匀后，立即用10 μ L接种环取一环工作菌培养物划平行线接种平板，按标准方法中规定的培养时间和温度培养；

剩余已接种菌液的待测培养基置20 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C放置45 min后，再用10 μ L接种环取一环工作菌培养物划平行线接种平板，按标准方法中规定的培养时间和温度培养。如保存条件有特殊要求的待测培养基，参照附录G培养基质量控制标准要求放置或培养后再进行划线接种。

6.2.4.4 结果观察与解释

接种前后平板上目标菌的生长情况应均为良好。

6.2.5 Mueller-Hinton 血琼脂的测试方法

按照 6.1.7 中要求进行。

6.2.6 鉴定培养基的测试方法

按照 6.1.8 中要求进行。

6.2.7 实验试剂的测试方法

按照6.1.9中要求进行。

7 测试结果的记录

7.1 制造商信息

培养基制造商或供应商应按客户的要求提供培养基常规信息和相关测试菌株生长特性信息。

7.2 溯源性

按照质量体系的要求，对所有培养基性能测试的数据归档，并在有效期内进行适当的保存。建议使用测试结果记录单（见附录G）进行文件记录并评价测试结果。

www.kinghunt.cn
凯恒生物

附录 A

培养基的不正确配制出现的质量问题及原因分析

培养基的不正确配制出现的质量问题及原因分析见表 A.1。

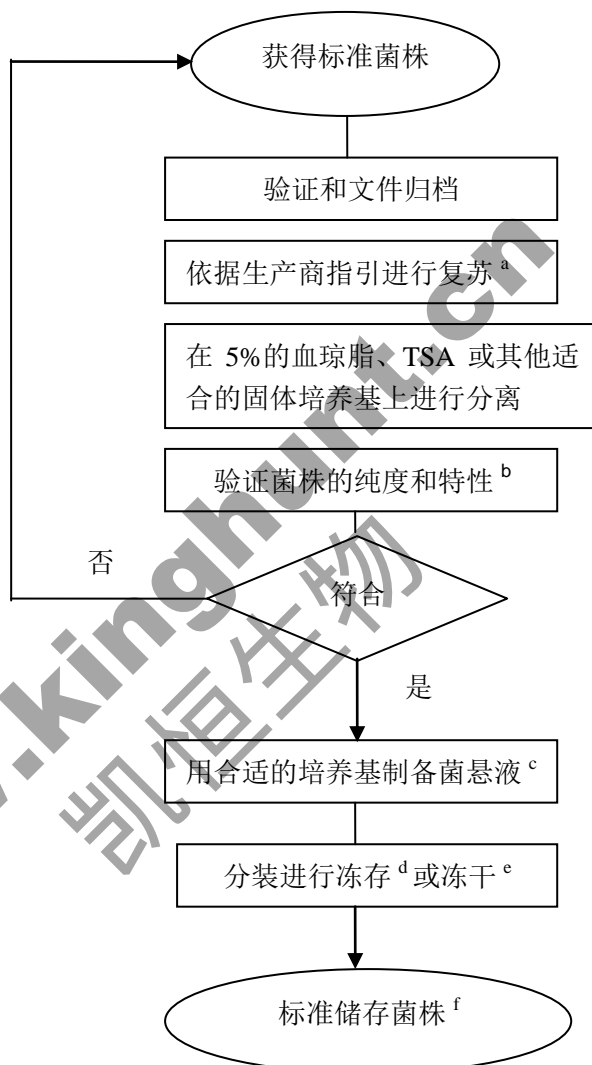
表 A.1 常见质量问题与解答

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 B

标准储存菌株和工作菌株的制备

B.1 图B.1 给出了从标准菌株制备标准储存菌株的流程。



^a 通常悬浮于营养肉汤中适宜时间进行复苏。

^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，TSB 添加 10%~15% 甘油作为冷冻保护培养基。

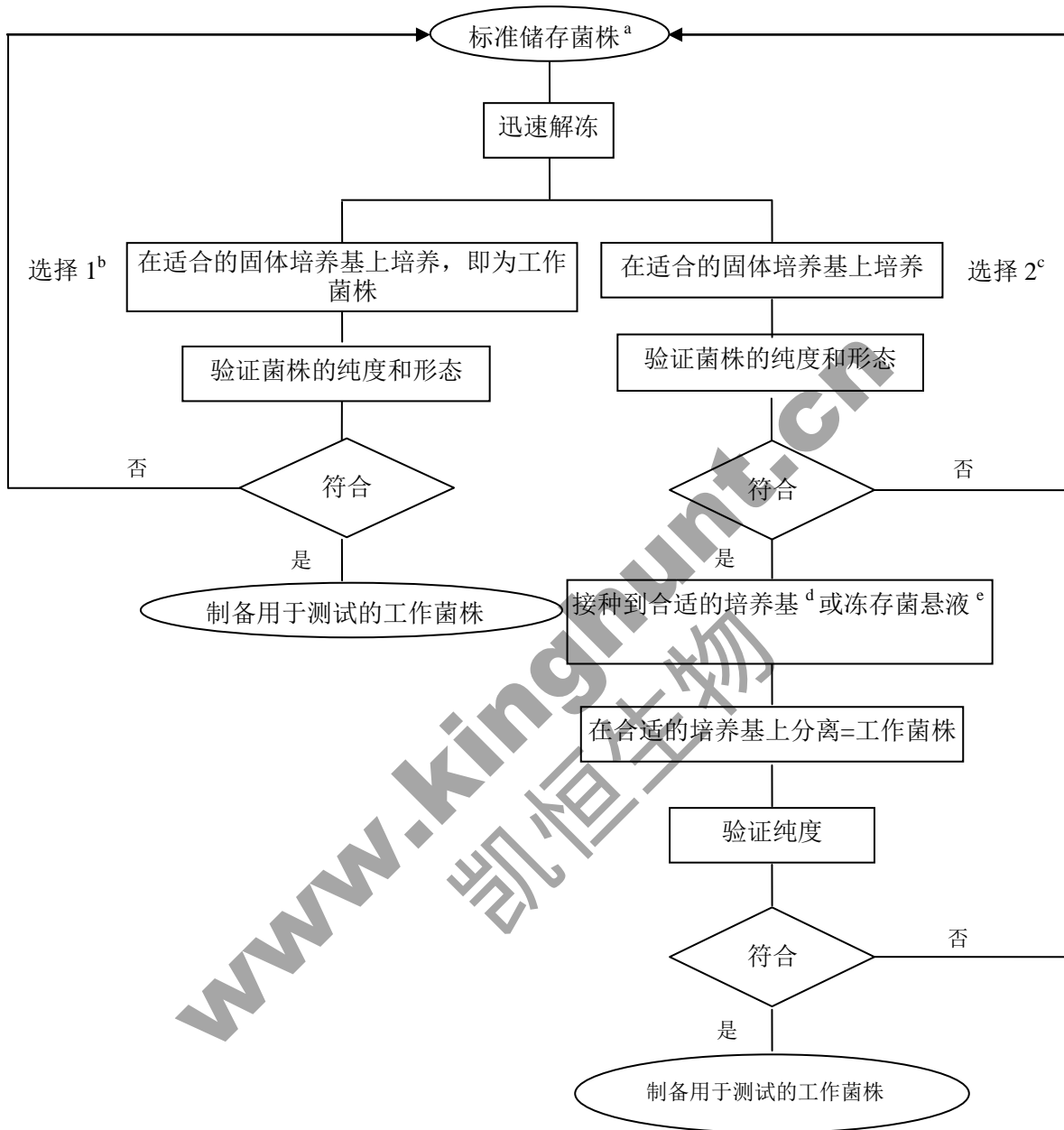
^d 冻存管可含有多孔的小珠子。

^e 在不高于-70℃低温冷冻保存可延长保存的时间。禁止采用较高的温度保存。

^f 可作为工作菌株来使用。

图 B.1 制作标准储存菌株的流程图

B.2 图B.2给出了从标准储存菌株制备工作菌株的流程。



^a 如果标准储存菌株来源于别处, 应加以验证及归档。

^b 此流程更合适。

^c 此流程对某些菌株是必须的, 如定量试验。对所有阶段进行归档。

^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24h, 然后在合适的温度(依据不同微生物在18℃~25℃或2℃~8℃)可存放4周。

^e 例如, TSB添加10%~15%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。禁止采用较高的温度保存。

图 B.2 制作工作菌株的流程图

附录 C

食品安全微生物检验标准中指定的培养基成分

C.1 蛋白胨

酶解酪蛋白：包括胃蛋白酶消化的酪蛋白和胰蛋白酶消化的酪蛋白与胰蛋白胨。

酶解大豆粉。

酶解动物组织：包括肉胨、胃蛋白酶消化的肉组织和胰酶消化的肉组织。

心酶解物。

酶解明胶。

酶解动物组织、植物组织：包括包括蛋白示、胨。

C.2 浸膏

肉浸膏。

脑心浸膏。

酵母浸膏。

细菌学牛胆汁。

胆盐。

3号胆盐。

C.3 琼脂

细菌学琼脂。

C.4 其他

卵黄乳液。

脱脂奶粉。

酸水解酪蛋白。

附录 D

生产商及实验室自制培养基和试剂的质量控制标准

生产商及实验室自制培养基和试剂的质量控制标准见表 D. 1~表 D. 9。

表 D. 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	质控菌株	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℃ 24h±2h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	TSA	定量	PR≥0.7	—
					粪肠球菌 ATCC 29212				—
MC 培养基	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48h±2h	嗜热链球菌 IFFI 6038	MC 培养基	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℃ 48h±2h	德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC6032	MRS 培养基	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 IFFI 6038				圆形凸起, 菌落偏小, 边缘整齐, 无色不透明
					婴儿双歧杆菌 CICC 6069(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℃ 18h~24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.7	无色半透明菌落
					创伤弧菌落 ATCC 27562				
营养琼脂	固体	非选择性分离	生长率	36℃±1℃ 24h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	TSA	定量	PR≥0.7	—
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538				
					枯草芽胞杆菌 ATCC6633				
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℃ 24h~48h	单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC 19115	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℃ 48h±2h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	TSA	定量	PR≥0.7	—
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538				
					枯草芽胞杆菌 ATCC 6633				

表D.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	质控菌株	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	伤寒沙门氏菌 CMCC(B)50071	TSA	定量	PR≥0.5	黑色菌落, 有金属光泽
			选择性		鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028				黑色或灰绿色菌落, 有金属光泽
					大肠埃希氏菌 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC 29212	—	半定量	G≤1	—
HE 琼脂	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	TSA	定量	PR≥0.5	绿-蓝色菌落, 有黑心
			选择性		福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572				绿-蓝色菌落
					大肠埃希氏菌 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC 29212	—	半定量	G<5 G≤1	橙红色菌落, 可有胆酸沉淀 —
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	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	TSA	定量	PR≥0.5	黑色菌落
			选择性		福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572				无色菌落, 无黑心
					大肠埃希氏菌 ATCC 25922 金黄色葡萄球菌 ATCC6538	—	半定量	G<5 G≤1	黄色菌落 —
沙门氏菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922				—
			选择性		奇异变形杆菌 CMCC(B)49005	—	半定量	G≤1	按说明书判定 —
					粪肠球菌 ATCC 29212				
PALCAM 琼脂	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 ATCC19115	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 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC 29212				—
麦康凯琼脂 (MAC)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 20h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	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 ATCC6538	—	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℃±1℃ 24h±2h	阪崎肠杆菌 ATCC29544	TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定
			特异性		普通变形杆菌 CMCC(B)49027				—
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	半定量	G≤1	按说明书判定 —
					粪肠球菌 ATCC 29212				

表 D.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应
CIN-1 培养基	固体	选择性分离	生长率	26℃ ±1℃ 48h ±2h	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 ATCC 25922	—	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 ATCC6538	—	半定量	G ≤1	—
改良 Y 培养基	固体	选择性分离	生长率	26℃ ±1℃ 48h ±2h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	TSA	定量	PR ≥0.5	无色透明不黏稠菌落
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	定性	—	粉红色菌落
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	—	半定量	G ≤1	—
伊红美蓝琼脂(EMB)	固体	选择性分离	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	TSA	定量	PR ≥0.5	黑色菌落，具金属光泽
			特异性		鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	—	定性	—	菌落呈无色、半透明
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	—	半定量	G <5	—
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 NCTC12900	TSA	定量	PR ≥0.5	无色菌落
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	—	定性	—	粉红色菌落，周围有胆盐沉淀
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	—	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: H7NCTC12900	TSA	定量	PR ≥0.5	按说明书判定
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	—	定性	—	按说明书判定
			选择性		粪肠球菌 ATCC 29212	—	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 ATCC19115	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 ATCC33090	—	定性	—	蓝绿色菌落，无白色晕环
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	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
			特异性		痢疾志贺氏菌 CMCC(B)51105	—	定性	—	白色，突起，有清晰环，无色素沉淀圈
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	半定量	G ≤1	黄色，有清晰环，无色素沉淀圈
			选择性		产气肠杆菌 ATCC13048	—	半定量	G ≤1	绿色菌落，无环和沉淀圈
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—	半定量	G ≤1	—

表 D.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应		
改良 CCD (mCCD) 琼脂	固体	选择性分离	生长率	42℃±1℃ 24h~48h 微需氧	空肠弯曲菌 ATCC33291	无抗生素的 CCD	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 ATCC 25922 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—	半定量	G≤1	—		
Skirrow 琼脂	固体	选择性分离	生长率	42℃±1℃ 24h~48h, 微 需氧	空肠弯曲菌 ATCC33291	无抗生素的 CCD	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 ATCC25922 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—	半定量	G≤1	—		
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 ATCC27562	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 VBO		定性		—	紫色菌落	
			选择性		副溶血性弧菌 ATCC17802		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 ATCC27562	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 VbO		定性		—	紫色菌落	
			选择性		副溶血性弧菌 ATCC17802		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 ATCC17802	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.2	绿色菌落		
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922		—		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 ATCC17802	3%氯化钠 TSA	定量	PR≥0.5	按说明书判定		
			特异性		霍乱弧菌 VbO		—		定性	—	按说明书判定
					溶藻弧菌 ATCC33787		—		定性	—	按说明书判定
选择性	大肠埃希氏菌 ATCC25922	—	半定量	G≤1	—						
Baird-Parker 琼脂	固体	选择性计数	生长率	36℃±1℃ 18h~24h 或 45h~48h	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	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 ATCC 25922		—		半定量	G≤1	—

表 D.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	参比培养基	方法	质控评定标准	特征性反应				
结晶紫中性红胆盐琼脂 (VRBA)	固体	选择性计数	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	TSA	定量	PR ≥0.7	有或无沉淀环的紫红色或红色菌落				
			选择性		弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864					粪肠球菌 ATCC 29212	—	半定量	G <5
VRB-MUG 琼脂	固体	选择性计数	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	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		弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864					—	定性	—	可带有沉淀环的红色菌落，无荧光
			选择性		粪肠球菌 ATCC 29212					—	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℃ ±1℃ 5d	酿酒酵母 ATCC 9763	沙氏葡萄糖琼脂	定量	PR ≥0.7	奶油色菌落				
			选择性		黑曲霉 ATCC 16404				—	半定量	G ≤1	白色菌丝，黑色孢子	
								大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—		—		
孟加拉培养基	固体	选择性计数	生长率	28℃ ±1℃ 5d	酿酒酵母 ATCC 9763	沙氏葡萄糖琼脂	定量	PR ≥0.7	奶油色菌落				
			选择性		黑曲霉 ATCC 16404				—	半定量	G ≤1	白色菌丝，黑色孢子	
								大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—		—		
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℃ ±1℃ 48h ±2h 厌氧培养	婴儿双歧杆菌 CICC 6069	MRS 培养基	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 IFFI 6038	—							
甘露醇卵黄多粘菌素琼脂 (MYP)	固体	选择性计数	生长率	30℃ ±2℃ 24h~48h	蜡样芽胞杆菌 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		枯草芽胞杆菌 ATCC6633				—	定性	—	黄色菌落，无沉淀环	
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	—	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℃ ±1℃ 20h~24h 厌氧培养	产气荚膜梭菌 ATCC13124	TSC	定量	PR ≥0.7	黑色菌落				
			选择性		艰难梭菌 ATCC43593				—	半定量	G ≤1	—	

表 D.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	质控菌株	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℃ ±1℃ 24h~48h	单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC 19115	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℃ ±1℃ 18h~24h	产气荚膜梭菌 ATCC13124	哥伦比亚琼脂	半定量	混浊度 2
缓冲蛋白胨水(BP)	液体	非选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 8h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	TSA	半定量	取 10μL 增菌液倾注 TSA 平板 36℃ ±1℃ 培养 18h~24h, 在 TSA 上 >100CFU
脑心浸出液肉汤(BHI)	液体	非选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	金黄色葡萄球菌 ATCC6538	TSA	半定量	混浊度 2
布氏肉汤	液体	非选择性增菌	生长率	42℃ ±1℃ 48h ±2 h, 微需氧	空肠弯曲菌 ATCC33291	无抗生素的 CCD	半定量	混浊度 1~2

表 D.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	质控菌株	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℃ 24h	单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC 19115 +大肠埃希氏菌 ATCC 25922 +粪肠球菌 ATCC 29212	TSA	半定量 (LB2 目标菌接种量为 300 CFU~500CFU)	在 PALCAM 上 > 10CFU, 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 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC29212			在 TSA 上 <100CFU	—
Bolton 肉汤	液体	选择性增菌	生长率	42℃ ±1℃ 24h~48h 微需氧培养	空肠弯曲菌 ATCC33291 +金黄色葡萄球菌 ATCC6538 +大肠埃希氏菌 ATCC25922	无抗生素的 CCD	半定量	空肠弯曲菌在改良 CCD 平板上 > 10CFU	菌落呈灰白色
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538 大肠埃希氏菌 ATCC25922			TSA	在 TSA 上 <100CFU

表D.4 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	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℃ 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028 +大肠埃希氏菌 ATCC25922 +铜绿假单胞菌 ATCC 27853	TSA	半定量	在 XLD 上>10CFU	菌落无色半透明, 有黑心
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC29212			在 TSA 上<100CFU	—
亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)	液体	选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028 +大肠埃希氏菌 ATCC25922 +铜绿假单胞菌 ATCC 27853	TSA	半定量	在 XLD 上>10CFU	菌落无色半透明, 有黑心
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC 29212			在 TSA 上<100CFU	—
10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 +大肠埃希氏菌 ATCC 25922	TSA	半定量	在 Baird-Parker 上>10CFU	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		大肠埃希氏菌 ATCC 25922			在 TSA 上<100CFU	—
7.5%氯化钠胰酪胨大豆肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 +大肠埃希氏菌 ATCC 25922	TSA	半定量	在 Baird-Parker 上>10CFU	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		大肠埃希氏菌 ATCC 25922			在 TSA 上<100CFU	—
改良磷酸盐缓冲液	液体	选择性增菌	生长率	26℃ ±1℃ 48h~72h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B) 52204 +粪肠球菌 ATCC29212 +铜绿假单胞菌 ATCC27853	TSA	半定量	在改良 Y 平板上>10CFU	菌落圆形、无色透明, 不黏稠
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 粪肠球菌 ATCC29212			在 TSA 上<100CFU	—

表D.4 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	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℃±0.5℃ 24h±2h	阪崎肠杆菌 ATCC29544 +大肠埃希氏菌 ATCC25922 +粪肠球菌 ATCC 29212	TSA	半定量	在阪崎肠杆菌显色培养基上 >10CFU	绿-蓝色菌落或按说明书判定
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922 粪肠球菌 ATCC 29212			在 TSA 上 <100CFU	—
胰酪胨大豆多粘菌素肉汤	液体	选择性增菌	生长率	30℃±1℃ 24h~48h	蜡样芽胞杆菌 CMCC(B)63303 +大肠埃希氏菌 ATCC 25922	TSA	半定量	在 MYP 上 >10CFU	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 ATCC 25922			在 TSA 上 <100CFU	—
志贺氏菌增菌肉汤 (shigella broth)	液体	选择性增菌	生长率	41.5℃±0.5℃ 18h±2h 厌氧培养	福氏志贺氏菌 CMCC (B) 51572 +金黄色葡萄球菌 ATCC6538	TSA	半定量	在 XLD 上 >10CFU	无色至粉红色，半透明菌落
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538			在 TSA 上 <100CFU	—
GN 增菌液	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 8h	福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572 +粪肠球菌 ATCC29212	TSA	半定量	在 HE 琼脂上 >10CFU	菌落呈绿-蓝色
			选择性		粪肠球菌 ATCC29212			在 TSA 上 <100CFU	—
3%氯化钠碱性蛋白胨水	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 8h	副溶血性弧菌 ATCC17802 +大肠埃希氏菌 ATCC25922	3%TSA	半定量	在弧菌显色培养基平板上 >10CFU	品红色菌落或按说明书判定
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC25922			TSA	在 TSA 上 <100CFU
改良 EC 肉汤(mEC+n)	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	大肠杆菌 O157: H7 NCTC12900 +粪肠球菌 ATCC29212	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 ATCC29212			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℃±1℃ 17h~19h	大肠杆菌 O157: H7 NCTC12900 +大肠埃希氏菌 ATCC25922 +金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	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 ATCC25922 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538			在 TSA 上 <100 CFU	—

表 D.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	质控菌株	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 ATCC 25922	TSA	半定量	混浊度 2，且气体充满管内 1/3
			选择性		弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864			混浊度 0（不生长）
					粪肠球菌 ATCC 29212			
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 ATCC 25922	TSA	半定量	混浊度 2，且气体充满管内 1/3
			选择性		弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864			混浊度 0（不生长）或混浊度 1（微弱生长），不产气
					粪肠球菌 ATCC 29212			
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 ATCC25922	TSA	半定量	混浊度 2，且气体充满管内 1/3
			选择性		粪肠球菌 ATCC 29212			混浊度 0（不生长）

表 D.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	质控菌株	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℃ 45min	大肠埃希氏菌 ATCC 25922 金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	TSA	定量	接种前后菌落数变化在±50%
3%氯化钠溶液	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃ 45min	副溶血性弧菌 ATCC17802	3%TSA	定量	接种前后菌落数变化在±50%
0.1%蛋白胨水	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃ 45min	产气荚膜梭菌 ATCC 13124	哥伦比亚琼脂	定量	接种前后菌落数变化在±50%
缓冲甘油-氯化钠溶液	液体	运输培养基	生长率	-60℃ 24h	产气荚膜梭菌 ATCC 13124	哥伦比亚琼脂	定量	接种前后菌落数变化在±50%

表 D.7 Mueller Hinton 血琼脂质量控制标准

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	方法	质控评定标准
Mueller Hinton 血琼脂	固体	药敏试验培养基	生化特性	36℃±1℃ 22h±2h，微需氧培养	空肠弯曲菌 ATCC33291	定性	头孢唑林钠纸片无抑菌圈，萘啶酮酸纸片有抑菌圈

表D.8 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	质控菌株	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℃ 24h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	定性	生长良好, A/A; 产气; 不产硫化氢 ^a
					肠炎沙门氏菌 CMCC(B)50335		生长良好, K/A; 产气; 产硫化氢 ^{a,b}
					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 ATCC 27853		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℃ 24h ±2h	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℃ 24h	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 ATCC 25922		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℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	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℃ 18h~24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	定性	生长良好, 斜面变红, 底部变黄
					溶藻弧菌 ATCC33787		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℃ 24h	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 ATCC14028		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 ^{a,b}
					粪产碱杆菌 CMCC(B)40001		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℃ 24h	肺炎克雷伯氏菌 CMCC 46117	定性	阳性, 培养基变深黄色
					伤寒沙门氏菌 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℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	定性	阳性, 滴加靛基质试剂, 显红色
					产气肠杆菌 ATCC13048		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℃ 24h	普通变形杆菌 CMCC(B)49027	定性	生长良好, 培养基混浊
					伤寒沙门氏菌 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℃ 24h	普通变形杆菌 CMCC(B)49027	定性	生长良好, 培养基混浊
					伤寒沙门氏菌 CMCC(B)50071		生长良好, 培养基混浊

表D.8 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	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	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	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 ATCC 25922	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 ATCC13048		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 ATCC 19115	定性	阳性, 培养基变黄
					伤寒沙门氏菌 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 GIM1.140	定性	阳性, 培养基变黄
德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC6032					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	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	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	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	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质控菌株对应	定性	生长良好, 培养基呈黄色

表 D. 8 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	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	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	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	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	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	蜡样芽胞杆菌 CMCC(B)63303	定性	阳性, 滴加硝酸盐还原试剂甲、乙液各 2~3 滴, 培养基变红棕色
					硝酸盐阴性不动杆菌 CMCC(B)25001		阴性, 滴加硝酸盐还原试剂甲、乙液各 2~3 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 ATCC25922	定性	阳性, 培养基变黄
					粪产碱杆菌 CMCC(B)40001		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 ATCC25922	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 ATCC 19115		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
					鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028		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 ATCC25922		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	伤寒沙门氏菌 CMCC(B)50071	定性	阳性, 培养基呈黄色
					铜绿假单胞菌 ATCC9027		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
					伤寒沙门氏菌 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 D.8 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	方法	质控评定标准
棉籽糖	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
					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℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	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℃ 2h 与 5h 均观察	产气荚膜梭菌 ATCC 13124	定性(接种生长旺盛 的 FT 培养液 1mL)	暴烈发酵
					大肠埃希氏菌 ATCC 25922		不发酵
无盐胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	霍乱弧菌 VbO	定性	生长良好, 混浊
					副溶血性弧菌 ATCC17802		不生长, 澄清
3%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	定性	生长良好, 混浊
					创伤弧菌 ATCC27562		生长良好, 混浊
6%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	定性	生长良好, 混浊
					嗜水气单胞菌 As1.172		不生长, 澄清
8%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	定性	生长良好, 混浊
					创伤弧菌 ATCC27562		不生长, 澄清
10%氯化钠胨水	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	溶藻弧菌 ATCC33787	定性	生长良好, 混浊
					副溶血性弧菌 ATCC17802		不生长, 澄清
3.0%氯化钠甘露醇	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h~48h	副溶血性弧菌 ATCC17802	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℃, 24h~48h 以灭菌液体石蜡覆盖培养基表面	副溶血性弧菌 ATCC17802	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℃ 24h~48h	副溶血性弧菌 ATCC17802	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D.8 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	方法	质控评定标准
七叶苷发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	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℃ 48h	产气肠杆菌 ATCC13048	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 ATCC17802		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 0.6mL 甲液及 0.2mL 乙液, 培养基不变色
					溶藻弧菌 ATCC33787		V-P 试验阳性, 滴加 0.6mL 甲液及 0.2mL 乙液, 培养基呈红色
乳糖发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	定性	阳性, 培养基变黄色
					伤寒沙门氏菌 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℃ 18h~96h	弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864	定性	生长良好, 培养基混浊
					大肠埃希氏菌 ATCC25922		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℃ 24h~48h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	定性	硫化氢- 动力+/- 靛基质+
					伤寒沙门氏菌 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℃ 24h~48h	蜡样芽胞杆菌 CMCC(B)63303	定性	阳性, 扩散生长
					蕈状芽胞杆菌 ATCC10206		阴性, 沿穿刺线生长
明胶培养基	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 72h	铜绿假单胞菌 ATCC9027	定性	2℃~8℃呈液态
					大肠埃希氏菌 ATCC25922		2℃~8℃呈固态
兔血浆	固体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 4h~6h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	定性(接种培养 18h~24h 的 新鲜质控菌株肉汤 1mL)	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	30℃±1℃ 24h	蜡样芽胞杆菌 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 ATCC 25922		菌落周围没有透明圈, 培养基由绿变蓝

表D.8 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	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℃ 24h	产气荚膜梭菌 ATCC13124	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
					硝酸盐阴性不动杆菌 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 ATCC 25922		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℃ 24h	副溶血性弧菌 ATCC33847	定性 (点种接种)	菌落周围有半透明β溶血环
					副溶血性弧菌 ATCC17802		无溶血
血琼脂平板 哥伦比亚血琼脂	固体	鉴定	特异性	36℃±1℃ 24h±2h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	定性 (划线接种)	菌落周围有β溶血环
					蜡样芽胞杆菌 CMCC(B)63303		菌落周围有α溶血环
蜜二糖	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	阪崎肠杆菌 ATCC29544	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℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 O157: H7NCTC12900	定性	阴性,无荧光
					大肠埃希氏菌 ATCC25922		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 ATCC6538	定性	革兰氏阳性,紫色球状菌体
					大肠埃希氏菌 ATCC25922		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 ATCC19115	定性	阳性,产生气泡
					粪肠球菌 ATCC29212		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 ATCC9027	定性	阳性,出现紫红色至紫黑色
					大肠埃希氏菌 ATCC25922		阴性,不变色
卫矛醇发酵管	液体	鉴定	生化特性	36℃±1℃ 24h	鼠伤寒沙门氏菌 CMCC(B)50115	定性	阳性,培养基变黄
					伤寒沙门氏菌 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℃ 48h	产气肠杆菌 ATCC13048	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

表D.8 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	方法	质控评定标准
伦比亚琼脂	平板	鉴定	生化特性	36℃±1℃, 44h±4h, 微需氧培养	空肠弯曲菌 ATCC33291	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	空肠弯曲菌 ATCC33291	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
					结肠弯曲菌 ATCC43478		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 ATCC33291	定性	阳性, 5min~10min 内出现深蓝色
^a A 表示产酸, 培养基变黄。 ^b K 表示产碱, 培养基变红。							

表 D.9 质控菌株中文名和学名一览表

质控菌株中文名	质控菌株学名	质控菌株中文名	质控菌株学名
大肠埃希氏菌	<i>Escherichia coli</i>	单核细胞增生李斯特氏菌	<i>Listeria monocytogenes</i>
福氏志贺氏菌	<i>Shigella flexneri</i>	英诺克李斯特氏菌	<i>Listeria innocua</i>
痢疾志贺氏菌	<i>Shigella dysenteriae</i>	小肠结肠炎耶尔森氏菌	<i>Yersinia enterocolitica</i>
宋内志贺氏菌	<i>Shigella sonnei</i>	弗氏柠檬酸杆菌	<i>Citrobacter freundii</i>
阪崎肠杆菌	<i>Enterobacter sakazakii</i>	婴儿双歧杆菌	<i>Bifidobacterium infantis</i>
产气肠杆菌	<i>Enterobacter aerogenes</i>	德氏乳杆菌保加利亚亚种	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
肺炎克雷伯氏菌	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	粪产碱杆菌	<i>Alcaligenes faecalis</i>
伤寒沙门氏菌	<i>Salmonella typhi</i>	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>
鼠伤寒沙门氏菌	<i>Salmonella typhimurium</i>	硝酸盐阴性不动杆菌	<i>Acinetobacter anitratum</i>
肠炎沙门氏菌	<i>Salmonella enteritidis</i>	创伤弧菌	<i>Vibrio vulnificus</i>
奇异变形杆菌	<i>Proteus mirabilis</i>	霍乱弧菌	<i>Vibrio cholerae</i>
普通变形杆菌	<i>Proteus vulgaris</i>	副溶血性弧菌	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
空肠弯曲菌	<i>Campylobacter jejuni</i>	溶藻弧菌	<i>Vibrio alginolyticus</i>
结肠弯曲菌	<i>Campylobacter coli</i>	铜绿假单胞菌	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
嗜水气单胞菌	<i>Aeromonas hydrophila</i>	枯草芽胞杆菌	<i>Bacillus subtilis</i>
粪肠球菌	<i>Enterococcus faecalis</i>	蕈状芽胞杆菌	<i>Bacillus mycoides</i>
金黄色葡萄球菌	<i>Staphylococcus aureus</i>	产气荚膜梭菌	<i>Clostridium perfringens</i>
表皮葡萄球菌	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	艰难梭菌	<i>Clostridium difficile</i>
嗜热链球菌	<i>Streptococcus thermophilus</i>	酿酒酵母	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
蜡样芽胞杆菌	<i>Bacillus cereus</i>	黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>

附录 E

实验室使用商品化培养基和试剂的质量控制标准

实验室使用商品化培养基和试剂的质量控制标准见表 E. 1~表 E. 6。

表 E. 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	质控菌株	半定量质控 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℃ 24h±2h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≥6	—
					粪肠球菌 ATCC 29212		—
MC 培养基	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48h±2h	嗜热链球菌 IFFI 6038	G≥6	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℃ 48h±2h	德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC6032	G≥6	圆形凸起, 中等大小, 边缘整齐, 无色不透明
					嗜热链球菌 IFFI 6038		圆形凸起, 菌落偏小, 边缘整齐, 无色不透明
					婴儿双歧杆菌 CICC 6069(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℃ 18h~24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	G≥6	无色半透明菌落
					创伤弧菌落 ATCC 27562		
营养琼脂	固体	非选择性分离	生长率	36℃±1℃ 24h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≥6	—
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538		
					枯草芽胞杆菌 ATCC6633		
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℃ 24h~48h	单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC 19115	G≥6	—
平板计数琼脂(PCA)	固体	非选择性计数	生长率	36℃±1℃ 48h±2h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≥6	—
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538		
					枯草芽胞杆菌 ATCC 6633		

表E.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	质控菌株	半定量质控评定标准	特征性反应
亚硫酸铋琼脂(BS)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃	伤寒沙门氏菌 CMCC(B)50071	G≥6	黑色菌落, 有金属光泽
			选择性		40h~48h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	G≥6
						大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≤1
					粪肠球菌 ATCC 29212		
HE 琼脂	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	G≥6	绿-蓝色菌落, 有黑心
			选择性		18h~24h		福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572
						大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≤1
					粪肠球菌 ATCC 29212		—
木糖赖氨酸脱氧胆盐琼脂(XLD)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	G≥6	黑色菌落
			选择性		18h~24h		福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572
						大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≤1
					金黄色葡萄球菌 ATCC6538		—
沙门氏菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	G≥6	按说明书判定
			特异性		18h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—
			选择性			奇异变形杆菌 CMCC(B)49005	—
					粪肠球菌 ATCC 29212	G≤1	—
PALCAM 琼脂	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃	单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC19115	G≥6	灰绿色菌落, 中心凹陷黑色, 周围有黑色
			选择性		24h~48h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≤1
						粪肠球菌 ATCC 29212	
麦康凯琼脂 (MAC)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃	大肠埃希氏菌 ATCC25922	G≥6	鲜桃红色或粉红色, 可有胆酸沉淀
			选择性		20h~24h		福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572
						金黄色葡萄球菌 ATCC6538	

表E. 2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	半定量质控评定标准	特征性反应
阪崎肠杆菌显色培养基	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 24h±2h	阪崎肠杆菌 ATCC29544	G≥6	按说明书判定
			特异性		普通变形杆菌 CMCC(B)49027	—	按说明书判定
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	按说明书判定
					粪肠球菌 ATCC 29212	G≤1	—
CIN-1 培养基	固体	选择性分离	生长率	26℃±1℃ 48h±2h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	G≥6	红色牛眼状菌落
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	圆形、粉红色菌，边缘有胆汁沉淀环
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	G≤1	—
改良 Y 培养基	固体	选择性分离	生长率	26℃±1℃ 48h±2h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B)52204	G≥6	无色透明不黏稠菌落
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	粉红色菌落
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	G≤1	—
伊红美蓝琼脂(EMB)	固体	选择性分离	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	大肠埃希氏菌 ATCC25922	G≥6	黑色菌落，具金属光泽
			特异性		鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	—	菌落呈无色、半透明
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	G<5	—
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 NCTC12900	G≥6	无色菌落
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	—	粉红色菌落，周围有胆盐沉淀
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	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: H7NCTC12900	G≥6	按说明书判定
			特异性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	—	按说明书判定
			选择性		粪肠球菌 ATCC 29212	G≤1	—
					奇异变形杆菌 CMCC(B)49005		—
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 ATCC19115	G≥6	蓝绿色菌落，带白色晕环
			特异性		英诺克李斯特氏菌 ATCC33090	—	蓝绿色菌落，无白色晕环
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≤1	—
					粪肠球菌 ATCC 29212		

表E. 2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	半定量质控评定标准	特征性反应
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	G≥6	白色, 突起, 无色素沉淀圈
			特异性		痢疾志贺氏菌 CMCC(B)51105	—	白色, 突起, 有清晰环, 无色素沉淀圈
					大肠埃希氏菌 ATCC 25922	—	黄色, 有清晰环, 无色素沉淀圈
					产气肠杆菌 ATCC13048	—	绿色菌落, 无环和沉淀圈
选择性	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	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	空肠弯曲菌 ATCC33291	G≥6	菌落有光泽、潮湿、扁平, 呈扩散生长倾向
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G≤1	—
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—	按说明书判定
Skirrow 琼脂	固体	选择性分离	生长率	42℃±1℃/24h~ 48h, 微需氧	空肠弯曲菌 ATCC33291	G≥6	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		大肠埃希氏菌 ATCC25922	G≤1	—
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—	按说明书判定
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 ATCC27562	G≥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 VBO	—	紫色菌落
			选择性		副溶血性弧菌 ATCC17802	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 ATCC27562	G≥6	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 VbO	—	紫色菌落
			选择性		副溶血性弧菌 ATCC17802	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 ATCC17802	G≥1	绿色菌落
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	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 ATCC17802	G≥6	按说明书判定
			特异性		霍乱弧菌 VbO	—	按说明书判定
					溶藻弧菌 ATCC33787	—	按说明书判定
					选择性	大肠埃希氏菌 ATCC25922	G≤1

表 E.2 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	半定量质控评定标准	特征性反应
Baird-Parker 琼脂	固体	选择性计数	生长率	36℃ ±1℃	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	G ≥ 6	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	18h~24h 或	表皮葡萄球菌 CMCC(B)26069	—	黑色菌落, 无混浊带和透明圈
			选择性	45h~48h	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G ≤ 1	—
结晶紫中性红胆盐琼脂 (VRBA)	固体	选择性计数	生长率	36℃ ±1℃	大肠埃希氏菌 ATCC25922	G ≥ 6	有或无沉淀环的紫红色或红色菌落
			选择性	18h~24h	弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864		—
					粪肠球菌 ATCC 29212	G < 5	—
VRB-MUG 琼脂	固体	选择性计数	生长率	36℃ ±1℃	大肠埃希氏菌 ATCC25922	G ≥ 6	带有沉淀环的紫红色或红色菌落, 有荧光
			特异性	18h~24h	弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864	—	可带有沉淀环的红色菌落, 无荧光
			选择性		粪肠球菌 ATCC 29212	G < 5	—
马铃薯葡萄糖琼脂 (PDA)	固体	选择性计数	生长率	28℃ ±1℃	酿酒酵母 ATCC 9763	G ≥ 6	奶油色菌落
					黑曲霉 ATCC 16404		白色菌丝, 黑色孢子
			选择性	5d	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G ≤ 1	—
		金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—				
孟加拉培养基	固体	选择性计数	生长率	28℃ ±1℃	酿酒酵母 ATCC 9763	G ≥ 6	奶油色菌落
					黑曲霉 ATCC 16404		白色菌丝, 黑色孢子
			选择性	5d	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	G ≤ 1	—
		金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	—				
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℃ ±1℃	婴儿双歧杆菌 CICC 6069	G ≥ 6	圆形凸起, 边缘整齐, 无色不透明
			选择性	48h ±2h	德氏乳杆菌保加利亚亚种 CICC6032	G ≤ 1	—
				厌氧培养	嗜热链球菌 IFFI 6038		—
甘露醇卵黄多黏菌素琼脂 (MYP)	固体	选择性计数	生长率	30℃ ±2℃	蜡样芽胞杆菌 CMCC(B)63303	G ≥ 6	菌落为微粉红色, 周围有淡粉红色沉淀环
			特异性	24h~48h	枯草芽胞杆菌 ATCC6633	—	黄色菌落, 无沉淀环
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	G ≤ 1	—
胰胨-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂 (TSC)	固体	选择性计数	生长率	36℃ ±1℃	产气荚膜梭菌 ATCC13124	G ≥ 6	黑色菌落
			选择性	20h~24h 厌氧培养	艰难梭菌 ATCC43593	G ≤ 1	—

表 E.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	质控菌株	定性质控评定标准
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℃ ±1℃, 24h~48h	单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC 19115	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℃ ±1℃, 18h~24h	产气荚膜梭菌 ATCC13124	混浊度 2
缓冲蛋白胨水(BP)	液体	非选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃, 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	混浊度 2
脑心浸出液肉汤(BHI)	液体	非选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃, 18h~24h	金黄色葡萄球菌 ATCC6538	混浊度 2
布氏肉汤	液体	非选择性增菌	生长率	42℃ ±1℃, 48h±2h, 微需氧	空肠弯曲菌 ATCC33291	混浊度 1~2

表 E.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	质控菌株	定性质控评定标准
四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)	液体	选择性增菌	生长率	42℃ ±1℃ 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)
亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)	液体	选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	鼠伤寒沙门氏菌 ATCC14028	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)或浊度 1 (微弱生长)
10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)
7.5%氯化钠胰酪胨大豆肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36℃ ±1℃ 18h~24h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)
改良磷酸盐缓冲液	液体	选择性增菌	生长率	26℃ ±1℃ 48h~72h	小肠结肠炎耶尔森氏菌 CMCC(B) 52204	浊度 2
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	浊度 0 (不生长)
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℃ ±0.5℃ 24h ±2h	阪崎肠杆菌 ATCC29544	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)
胰酪胨大豆多黏菌素肉汤	液体	选择性增菌	生长率	30℃ ±1℃ 24h~48h	蜡样芽胞杆菌 CMCC(B)63303	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)

表 E. 4 (续)

培养基	状态	功能分类	质控指标	培养条件	质控菌株	定性质控评定标准
志贺氏菌增菌肉汤 (shigella broth)	液体	选择性增菌	生长率	41.5℃±0.5℃, 18h±2h, 厌氧培养	福氏志贺氏菌 CMCC (B) 51572	浊度 2
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	浊度 0 (不生长)
GN 增菌液	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	福氏志贺氏菌 CMCC(B)51572	浊度 2
			选择性		粪肠球菌 ATCC29212	浊度 0 (不生长)或浊度 1 (微弱生长)
3%氯化钠碱性蛋白胨水	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	副溶血性弧菌 ATCC17802	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	浊度 0 (不生长)或浊度 1 (微弱生长)
改良 EC 肉汤(mEC+n)	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 18h~24h	大肠杆菌 O157: H7 NCTC12900	浊度 2
			选择性		粪肠球菌 ATCC29212	浊度 0 (不生长)
改良麦康凯(CT-MAC)肉汤	液体	选择性增菌	生长率	36℃±1℃ 17h~19h	大肠杆菌 O157: H7 NCTC12900	浊度 2
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC25922	浊度 0 (不生长)或浊度 1 (微弱生长)
李氏增菌肉汤(LB1, LB2)	液体	选择性增菌	生长率	30℃±1℃ 24h	金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	
			选择性		单核细胞增生李斯特氏菌 ATCC 19115	
			选择性		大肠埃希氏菌 ATCC 25922	浊度 0 (不生长)
Bolton 肉汤	液体	选择性增菌	生长率	42℃±1℃ 24h~48h 微需氧培养	粪肠球菌 ATCC29212	浊度 2
			选择性		空肠弯曲菌 ATCC33291	
			选择性		金黄色葡萄球菌 ATCC6538	浊度 0 (不生长)
选择性	大肠埃希氏菌 ATCC25922					

表E.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	质控菌株	定性质控评定标准
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 ATCC 25922	混浊度 2，且管内有气体
			选择性		弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864	
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 ATCC 25922	混浊度 2，且管内有气体
			选择性		弗氏柠檬酸杆菌 ATCC43864	
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 ATCC25922	混浊度 2，且管内有气体
			选择性		粪肠球菌 ATCC 29212	
					粪肠球菌 ATCC 29212	浊度 0(不生长)
					粪肠球菌 ATCC 29212	浊度 0（不生长）或浊度 1(微弱生长)，不产气

表 E.6 悬浮培养基和运输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	质控菌株	定性质控评定标准
磷酸盐缓冲液(PBS)	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃, 45min	大肠埃希氏菌 ATCC 25922	混浊度 2，接种后平板上目标菌生长良好
					金黄色葡萄球菌 ATCC 6538	
3%氯化钠溶液	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃, 45min	副溶血性弧菌 ATCC17802	混浊度 2，接种后平板上目标菌生长良好
0.1%蛋白胨水	液体	悬浮培养基	生长率	20℃~25℃, 45min	产气荚膜梭菌 ATCC 13124	混浊度 2，接种后平板上目标菌生长良好
缓冲甘油-氯化钠溶液	液体	运输培养基	生长率	-60℃, 24h	产气荚膜梭菌 ATCC 13124	混浊度 2，接种后平板上目标菌生长良好

附录 F

螺旋平板法

F.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板上的菌落进行计数，即可得到样品中微生物的数量。

F.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。

F.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。

F.4 结果的表述

根据F.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。

附录 G

用于实验室自制或使用商品化培养基的测试结果记录

表 G.1 给出用于实验室自制或使用商品化培养基的测试结果记录单样本。

表 G.1 培养基测试结果记录单样本

培养基内部质量测试控制卡				
培养基:		制备体积:	倾倒日期:	内部批号:
脱水培养基(批号):	供应商:	批:	总量:	日期/签名:
添加剂:	供应商:	批:	总量:	日期/签名:
制备详情:				
物理质量控制:				
预期 pH:	测定 pH:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	缺陷:	日期/签名:
预期质量:	观察:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	缺陷:	日期/签名:
预期颜色:	观察:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	缺陷:	日期/签名:
预期透明度/可见杂质:	观察:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	缺陷:	日期/签名:
预期凝胶稳定性/粘稠度/ 湿度:	观察:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	缺陷:	日期/签名:
微生物污染				
测试平板或试管编号: 培养:	结果:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	污染平板或试管编号:	日期/签名:
微生物生长——生长率		控制方法: 定量 <input type="checkbox"/> 定性 <input type="checkbox"/>		
菌株: 培养: 参考培养基:	判定标准:	结果:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	日期/签名:
微生物生长——选择性		控制方法: 定量 <input type="checkbox"/> 定性 <input type="checkbox"/>		
菌株: 培养: 参考培养基:	判定标准:	结果:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	日期/签名:
微生物生长——特异性		控制方法: 定量 <input type="checkbox"/> 定性 <input type="checkbox"/>		
菌株: 培养: 参考培养基:	判定标准:	结果:	质量确认: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>	日期/签名:
本批发放:				
储存详情:		本批发放: 是 <input type="checkbox"/> 否 <input type="checkbox"/>		日期/签名: