

中华人民共和国国家标准

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

2016-12-23 发布 2017-06-23 实施

前 言

本标准代替 GB 4789.4—2010《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》、SN 0170—1992《出口食品沙门氏菌属(包括亚利桑那菌)检验方法》、SN/T 2552.5—2010《乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第5部分:沙门氏菌检验》。

整合后的标准与 GB 4789.4-2010 相比,主要变化如下:

- ——修改了检测流程和血清学检测操作程序;
- ——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 ℃。
- 2.3 均质器。
- 2.4 振荡器。
- 2.5 电子天平:感量 0.1 g。
- 2.6 无菌锥形瓶:容量 500 mL,250 mL。
- 2.7 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度),10 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。
- 2.8 无菌培养皿:直径 60 mm,90 mm。
- 2.9 无菌试管:3 mm×50 mm、10 mm×75 mm。
- 2.10 pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸。
- 2.11 全自动微生物生化鉴定系统。
- 2.12 无菌毛细管。

3 培养基和试剂

- 3.1 缓冲蛋白胨水(BPW):见 A.1。
- 3.2 四硫磺酸钠煌绿(TTB)增菌液:见 A.2。
- 3.3 亚硒酸盐胱氨酸(SC)增菌液:见 A.3。
- 3.4 亚硫酸铋(BS)琼脂:见 A.4。
- 3.5 HE 琼脂:见 A.5。
- 3.6 木糖赖氨酸脱氧胆盐(XLD)琼脂:见 A.6。
- 3.7 沙门氏菌属显色培养基。
- 3.8 三糖铁(TSI)琼脂:见 A.7。
- 3.9 蛋白胨水、靛基质试剂:见 A.8。
- 3.10 尿素琼脂(pH 7.2):见 A.9。
- 3.11 氰化钾 (KCN) 培养基:见 A.10。
- 3.12 赖氨酸脱羧酶试验培养基:见 A.11。
- 3.13 糖发酵管:见 A.12。
- **3.14** 邻硝基酚 β-D 半乳糖苷(ONPG)培养基:见 A.13。
- 3.15 半固体琼脂:见 A.14。

GB 4789.4-2016

- 3.16 丙二酸钠培养基:见 A.15。
- 3.17 沙门氏菌 O、H 和 Vi 诊断血清。
- 3.18 生化鉴定试剂盒。

4 检验程序

沙门氏菌检验程序见图 1。

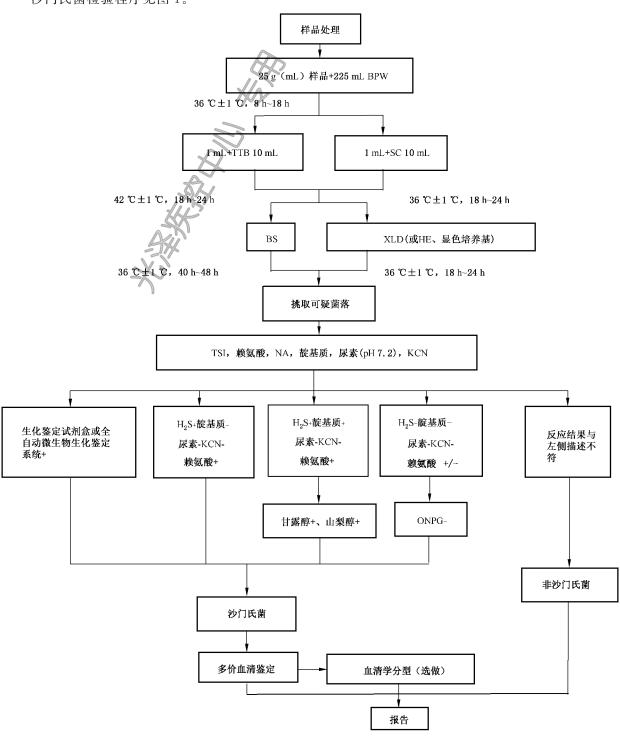


图 1 沙门氏菌检验程序

5 操作步骤

5.1 预增菌

无菌操作称取 25 g(mL)样品,置于盛有 225 mL BPW 的无菌均质杯或合适容器内,以 $8 \text{ 000 r/min}\sim 10 \text{ 000 r/min}$ 均质 $1 \text{ min}\sim 2 \text{ min}$,或置于盛有 225 mL BPW 的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 $1 \text{ min}\sim 2 \text{ min}$ 。若样品为液态,不需要均质,振荡混匀。如需调整 pH,用 1 mol/mL 无菌 NaOH 或 HCl 调 pH 至 6.8 ± 0.2 。无菌操作将样品转至 500 mL 锥形瓶或其他合适容器内(如均质杯本身具有无孔盖,可不转移样品),如使用均质袋,可直接进行培养,于 $36 \text{ \mathbb{C}}\pm 1 \text{ \mathbb{C}}$ 培养 $8 \text{ h}\sim 18 \text{ h}$ 。

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

5.2 增菌

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

5.3 分离

分别用直径 3 mm 的接种环取增菌液 1 环,划线接种于一个 BS 琼脂平板和一个 XLD 琼脂平板(或 HE 琼脂平板或沙门氏菌属显色培养基平板),于 36 $\mathbb{C}\pm 1$ \mathbb{C} 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、沙门氏菌属显色培养基平板),观察各个平板上生长的菌落,各个平板上的菌落特征见表 1。

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

表 1 沙门氏菌属在不同选择性琼脂平板上的菌落特征

5.4 生化试验

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

三糖铁琼脂				赖氨酸脱羧酶试验培养基	> ++ 11+ 361 Nt.	
斜面	底层	产气	硫化氢	炒 	初步判断	
K	A	+(-)	+(-)	+	可疑沙门氏菌属	
K	A	+(-)	+(-)	_	可疑沙门氏菌属	
А	A	+(-)	+(-)	+	可疑沙门氏菌属	
А	A	+/-	+/-	_	非沙门氏菌	
K	K	+/-	+/-	+/-	非沙门氏菌	
头 V 立时 A 立於 阳县 () 人物阳县 小物阳县 / 阳县市阳县						

表 2 沙门氏菌属在三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基内的反应结果

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

5.4.2 接种三糖铁琼脂和赖氨酸脱羧酶试验培养基的同时,可直接接种蛋白胨水(供做靛基质试验)、尿素琼脂(pH 7.2)、氰化钾(KCN)培养基,也可在初步判断结果后从营养琼脂平板上挑取可疑菌落接种。于 36 $\mathbb{C}\pm 1$ \mathbb{C} 培养 18 h \sim 24 h,必要时可延长至 48 h,按表 3 判定结果。将已挑菌落的平板储存于 2 $\mathbb{C}\sim$ 5 \mathbb{C} 或室温至少保留 24 h,以备必要时复查。

表 3	沙门氏菌属生化反应初步鉴别表	
1K J	少门队困局工化及应彻少金刑权	

反应序号	硫化氢 (H ₂ S)	靛基质	pH 7.2 尿素	氰化钾(KCN)	赖氨酸脱羧酶
A1	+	_	_	_	+
A2	+	+	_	_	+
A3	_	- A	_	_	+/-
注: +阳性;-阴性;+/-阳性或阴性。					

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

表 4 沙门氏菌属生化反应初步鉴别表

pH 7.2 尿素	氰化钾(KCN)	赖氨酸脱羧酶	判定结果
_		_	甲型副伤寒沙门氏菌(要 求血清学鉴定结果)
- *	+	+	沙门氏菌 IV 或 V (要求符合本群生化特性)
+	_	+	沙门氏菌个别变体(要求血清学鉴定结果)
注: +表示阳性;-表示	示阴性。		

- 5.4.2.2 反应序号 A2:补做甘露醇和山梨醇试验,沙门氏菌靛基质阳性变体两项试验结果均为阳性,但需要结合血清学鉴定结果进行判定。
- 5.4.2.3 反应序号 A3:补做 ONPG。ONPG 阴性为沙门氏菌,同时赖氨酸脱羧酶阳性,甲型副伤寒沙门氏菌为赖氨酸脱羧酶阴性。
- 5.4.2.4 必要时按表5进行沙门氏菌生化群的鉴别。

项目	I	II	Ш	IV	V	VI
卫矛醇	+	+	_	_	+	_
山梨醇	+	+	+	+	+	_
水杨苷	_	_		+		_
ONPG	_	_	+	_	+	_
丙二酸盐	_	+	+	_	_	_
KCN	_	_	_	+	+	_
注: +表示	注: +表示阳性;—表示阴性。					

表 5 沙门氏菌属各生化群的鉴别

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

5.5 血清学鉴定

5.5.1 检查培养物有无自凝性

一般采用 1.2%~1.5%琼脂培养物作为玻片凝集试验用的抗原。首先排除自凝集反应,在洁净的玻片上滴加一滴生理盐水,将待试培养物混合于生理盐水滴内,使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 1 环待测菌,各放 1/2 环于玻片上的每一区域上部,在其中一个区域下部加 1 滴多价菌体(O)抗血清,在另一区域下部加 1 滴生理盐水,作为对照。再用无菌的接种环或针分别将两个区域内的菌苔研成乳状液。将玻片倾斜摇动混合 1 min,并对着黑暗背景进行观察,任何程度的凝集现象皆为阳性反应。O 血清不凝集时,将菌株接种在琼脂量较高的(如 2%~3%)培养基上再检查;如果是由于 Vi 抗原的存在而阻止了 O 凝集反应时,可挑取菌苔于 1 mL 生理盐水中做成浓菌液,于酒精灯火焰上煮沸后再检查。

5.5.3 多价鞭毛抗原(H)鉴定

操作同 5.5.2。H 抗原发育不良时,将菌株接种在 0.55%~0.65%半固体琼脂平板的中央,待菌落蔓延生长时,在其边缘部分取菌检查;或将菌株通过接种装有 0.3%~0.4%半固体琼脂的小玻管 1 次~ 2 次,自远端取菌培养后再检查。

5.6 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、O10;O7;O8;O9;O2 和 O11 因子血清做凝集试验。根据试验结果,判定 O 群。被 O3、O10 血清凝集的菌株,再用 O10、O15、O34、O19 单因子血清做凝集

GB 4789.4-2016

试验,判定 E1、E4 各亚群,每一个 O 抗原成分的最后确定均应根据 O 单因子血清的检查结果,没有 O 单因子血清的要用两个 O 复合因子血清进行核对。

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

- O 多价 1 A,B,C,D,E,F 群 (并包括 6,14 群)
- 〇多价 2 13,16,17,18,21 群
- 〇多价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
- 〇多价7 55,56,57,58 群
- ○多价 8 59,60,61,62 群
- 〇多价 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 因子血清检查第 1 相和第 2 相的 H 抗原。

〇群 第1相 第2相 Α 无 В g,f,s 无 В 2 i,b,d C1 k,v,r,c 5,**z**15 b,d,r 2,5 D(不产气的) d 无 D(产气的) 无 g,m,p,q 6, w, x E1 h, v E4 g,s,t 无 i

表 6 A~F 群常见菌型 H 抗原表

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

- H多价1 a,b,c,d,i
- H多价2 eh,enx,enz₁₅,fg,gms,gpu,gp,gq,mt,gz₅₁
- H 多价 3 k,r,y,z,z₁₀,lv,lw,lz₁₃,lz₂₈,lz₄₀
- H 多价 4 1,2;1,5;1,6;1,7;z₆
- H 多价 5 $\mathbf{z}_4 \mathbf{z}_{23}$, $\mathbf{z}_4 \mathbf{z}_{24}$, $\mathbf{z}_4 \mathbf{z}_{32}$, \mathbf{z}_{29} , \mathbf{z}_{35} , \mathbf{z}_{36} , \mathbf{z}_{38}
- H 多价 6 z_{39} , z_{41} , z_{42} , z_{44}
- H 多价 7 \mathbf{z}_{52} , \mathbf{z}_{53} , \mathbf{z}_{54} , \mathbf{z}_{55}
- H 多价 8 \mathbf{z}_{56} , \mathbf{z}_{57} , \mathbf{z}_{60} , \mathbf{z}_{61} , \mathbf{z}_{62}

每一个 H 抗原成分的最后确定均应根据 H 单因子血清的检查结果,没有 H 单因子血清的要用两个 H 复合因子血清进行核对。

检出第1相 H 抗原而未检出第2相 H 抗原的或检出第2相 H 抗原而未检出第1相 H 抗原的,可

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

位相变异试验方法如下:

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

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

小倒管法:将两端开口的小玻管(下端开口要留一个缺口,不要平齐)放在半固体管内,小玻管的上端应高出于培养基的表面,灭菌后备用。临用时在酒精灯上加热溶化,冷至 50 ℃,挑取因子血清 1 环,加入小套管中的半固体内,略加搅动,使其混匀,待凝固后,将待检菌株接种于小套管中的半固体表层内,每天检查结果,待另一相细菌解离后,可从套管外的半固体表面取菌检查,或转种 1%软琼脂斜面,于 36 ℃培养后再做凝集试验。

5.6.3 Vi 抗原的鉴定

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

5.6.4 菌型的判定

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菌型。

6 结果与报告

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

附 录 A 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,搅混均匀,静置约 10 min,煮沸溶解,调节 pH 至 7.2 ± 0.2 ,高压灭菌 121 ℃, 15 min 。

A.2 四硫磺酸钠煌绿(TTB)增菌液

A.2.1 基础液

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

除碳酸钙外,将各成分加入蒸馏水中,煮沸溶解,再加入碳酸钙,调节 pH 至 7.0 \pm 0.2,高压灭菌 121 $^{\circ}$ 0, 20 min。

A.2.2 硫代硫酸钠溶液

 硫代硫酸钠(含 5 个结晶水)
 50.0 g

 蒸馏水
 加至 100 ml

高压灭菌 121 ℃,20 min。

A.2.3 碘溶液

碘 片20.0 g碘化钾25.0 g蒸馏水加至 100 mL

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

A.2.4 0.5% 煌绿水溶液

煌绿 0.5 g

蒸馏水 100 mL

溶解后,存放暗处,不少于1d,使其自然灭菌。

A.2.5 牛胆盐溶液

 牛胆盐
 10.0 g

 蒸馏水
 100 mL

加热煮沸至完全溶解,高压灭菌 121 ℃,20 min。

A.2.6 制法

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

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

A.3 亚硒酸盐胱氨酸(SC)增菌液

A.3.1 成分

 蛋白胨
 5.0 g

 乳糖
 4.0 g

 磷酸氢二钠
 10.0 g

 亚硒酸氢钠
 4.0 g

 L-胱氨酸
 0.01 g

 蒸馏水
 1 000 mL

A.3.2 制法

除亚硒酸氢钠和 L-胱氨酸外,将各成分加入蒸馏水中,煮沸溶解,冷至 55 °C以下,以无菌操作加入亚硒酸氢钠和 1 g/L L-胱氨酸溶液 10 mL(称取 0.1 gL-胱氨酸,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 15 mL,使溶解,再加无菌蒸馏水至 160 mL 即成,如为 DL-胱氨酸,用量应加倍)。摇匀,调节 pH 至 7.0 ± 0.2 。

A.4 亚硫酸铋(BS)琼脂

A.4.1 成分

蛋白胨10.0 g牛肉膏5.0 g葡萄糖5.0 g硫酸亚铁0.3 g磷酸氢二钠4.0 g

煌绿 0.025 g 或 5.0 g/L 水溶液 5.0 mL

柠檬酸铋铵 2.0 g

GB 4789.4-2016

亚硫酸钠 6.0 g

琼脂 18.0 g~20.0 g

蒸馏水 1 000 mL

A.4.2 制法

将前三种成分加入 300 mL 蒸馏水(制作基础液),硫酸亚铁和磷酸氢二钠分别加入 20 mL 和 30 mL 蒸馏水中,柠檬酸铋铵和亚硫酸钠分别加入另一 20 mL 和 30 mL 蒸馏水中,琼脂加入 600 mL 蒸馏水中。然后分别搅拌均匀,煮沸溶解。冷至 80 $\mathbb C$ 左右时,先将硫酸亚铁和磷酸氢二钠混匀,倒入基础液中,混匀。将柠檬酸铋铵和亚硫酸钠混匀,倒入基础液中,再混匀。调节 pH 至 7.5 \pm 0.2,随即倾入琼脂液中,混合均匀,冷至 50 $\mathbb C$ \sim 55 $\mathbb C$ 。加入煌绿溶液,充分混匀后立即倾注平皿。

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

A.5 HE 琼脂(Hektoen Enteric Agar)

A.5.1 成分

蛋白胨 牛肉膏 乳糖 12.0 g 蔗糖 水杨素 2.0 g 胆盐 20.0 g 5.0 g 氯化钠 琼脂 $18.0 \text{ g} \sim 20.0 \text{ g}$ 蒸馏水 1 000 mL 0.4%溴麝香草酚蓝溶液 16.0 mL Andrade 指示剂 20.0 mL 甲液 20.0 mL 乙液 20.0 mL

A.5.2 制法

将前面七种成分溶解于 400 mL 蒸馏水内作为基础液;将琼脂加入于 600 mL 蒸馏水内。然后分别搅拌均匀,煮沸溶解。加入甲液和乙液于基础液内,调节 pH 至 7.5 ± 0.2 。再加入指示剂,并与琼脂液合并,待冷至 $50 \text{ \mathbb{C}} \sim 55 \text{ \mathbb{C}}$ 倾注平皿。

注:①本培养基不需要高压灭菌,在制备过程中不宜过分加热,避免降低其选择性。

②甲液的配制

 硫代硫酸钠
 34.0 g

 柠檬酸铁铵
 4.0 g

 蒸馏水
 100 mL

③乙液的配制

 去氧胆酸钠
 10.0 g

 蒸馏水
 100 mL

④Andrade 指示剂

酸性复红 0.5 g

1 mol/L 氢氧化钠溶液 16.0 mL 蒸馏水 100 mL

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

A.6 木糖赖氨酸脱氧胆盐(XLD)琼脂

A.6.1 成分

酵母膏	3.0 g
L-赖氨酸	5.0 g
木糖	3.75 g
乳糖	7.5 g
蔗糖	7.5 g
去氧胆酸钠	2.5 g
柠檬酸铁铵	0.8 g
硫代硫酸钠	6.8 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g
酚红	0.08 g
蒸馏水	1 000 ml

A.6.2 制法

除酚红和琼脂外,将其他成分加入 400~mL 蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH 至 7.4 ± 0.2 。另将琼脂加入 600~mL 蒸馏水中,煮沸溶解。

将上述两溶液混合均匀后,再加入指示剂,待冷至50℃~55℃倾注平皿。

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

A.7 三糖铁(TSI)琼脂

A.7.1 成分

蛋白胨	20.0 g
牛肉膏	5.0 g
乳糖	10.0 g
蔗 糖	10.0 g
葡萄糖	1.0 g
硫酸亚铁铵(含6个结晶水)	0.2 g
酚红	0.025 g 或 5.0 g/L 溶液 5.0 mL
氯化钠	5.0 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼脂	12.0 g
蒸馏水	1 000 mL

A.7.2 制法

除酚红和琼脂外,将其他成分加入 400~mL 蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH 至 7.4 ± 0.2 。另将琼脂加入 600~mL 蒸馏水中,煮沸溶解。

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

A.8 蛋白胨水、靛基质试剂

A.8.1 蛋白胨水

 蛋白胨(或胰蛋白胨)
 20.0 g

 氯化钠
 5.0 g

 蒸馏水
 1 000 mL

将上述成分加入蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH 至 7.4±0.2,分装小试管,121 ℃高压灭菌 15 min。

A.8.2 靛基质试剂

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

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

A.8.3 试验方法

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

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

A.9 尿素琼脂(pH 7.2)

A.9.1 成分

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

A.9.2 制法

除尿素、琼脂和酚红外,将其他成分加入 400~mL 蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH 至 7.2 ± 0.2 。另将琼脂加入 600~mL 蒸馏水中,煮沸溶解。

将上述两溶液混合均匀后,再加入指示剂后分装,121 $^{\circ}$ ©高压灭菌 15 min。冷至 50 $^{\circ}$ $^{\circ}$ ○ $^{\circ}$ 12

入经除菌过滤的尿素溶液。尿素的最终浓度为2%。分装于无菌试管内,放成斜面备用。

A.9.3 试验方法

A.10 氰化钾(KCN)培养基

A.10.1 成分

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

A.10.2 制法

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

A.10.3 试验方法

将琼脂培养物接种于蛋白胨水内成为稀释菌液,挑取 1 环接种于氰化钾(KCN)培养基。并另挑取 1 环接种于对照培养基。在 36 $\mathbb{C}\pm 1$ \mathbb{C} 培养 1 d \mathbb{C} 2 d,观察结果。如有细菌生长即为阳性(不抑制),经 2 d 细菌不生长为阴性(抑制)。

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

A.11 赖氨酸脱羧酶试验培养基

A.11.1 成分

蛋白胨	5.0 g
酵母浸膏	3.0 g
葡萄糖	1.0 g
蒸馏水	1 000 mL
1.6%溴甲酚紫-乙醇溶液	1.0 mL

L-赖氨酸或 DL-赖氨酸 0.5 g/100 mL 或 1.0 g/100 mL

A.11.2 制法

除赖氨酸以外的成分加热溶解后,分装每瓶 100 mL,分别加入赖氨酸。L-赖氨酸按 0.5%加入,

GB 4789.4-2016

DL-赖氨酸按 1%加入。调节 pH 至 6.8 ± 0.2 。对照培养基不加赖氨酸。分装于无菌的小试管内,每管 0.5 mL,上面滴加一层液体石蜡,115 $^{\circ}$ 高压灭菌 10 min。

A.11.3 试验方法

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

A.12 糖发酵管

A.12.1 成分

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

A.12.2 制法

A.12.2.1 葡萄糖发酵管按上述成分配好后,调节 pH 至 7.4 ± 0.2 。按 0.5%加入葡萄糖,分装于有一个倒置小管的小试管内,121 $^{\circ}$ 高压灭菌 15 min。

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

注: 蔗糖不纯,加热后会自行水解者,应采用过滤法除菌。

A.12.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取小量培养物接种,于 36 ℃±1 ℃培养,一般 2 d~3 d。迟缓反应需观察 14 d~ 30 d。

A.13 邻硝基酚 β-D 半乳糖苷(ONPG)培养基

A.13.1 成分

60.0 mg
10.0 mL
30.0 mL

A.13.2 制法

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

A.13.3 试验方法

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

A.14 半固体琼脂

A.14.1 成分

牛肉膏	0.3 g
蛋白胨	1.0 g
氯化钠	0.5 g
琼脂	$0.35 \text{ g} \sim 0.4 \text{ g}$
蒸馏水	100 mL

A.14.2 制法

按以上成分配好,煮沸溶解,调节 pH 至 7.4±0.2。分装小试管。121 ℃高压灭菌 15 min。直立凝固备用。

注:供动力观察、菌种保存、H 抗原位相变异试验等用。

A.15 丙二酸钠培养基

A.15.1 成分

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

A.15.2 制法

除指示剂以外的成分溶解于水,调节 pH 至 6.8±0.2,再加入指示剂,分装试管,121 $^{\circ}$ 高压灭菌 15 min。

A.15.3 试验方法

用新鲜的琼脂培养物接种,于 36 ℃±1 ℃培养 48 h,观察结果。阳性者由绿色变为蓝色。



附 录 B 常见沙门氏菌抗原

常见沙门氏菌抗原见表 B.1。

表 B.1 常见沙门氏菌抗原表

菌名	拉丁菌名	A 共區	H 抗原	
	1年1 困石	O 抗原	第1相	第2相
	A	群		
甲型副伤寒沙门氏菌	S .ParatyphiA	1,2,12	a	[1,5]
	В	群		
基桑加尼沙门氏菌	S.Kisangani	<u>1</u> ,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	S.Paratyphi B	<u>1</u> ,4,[5],12	b	1,2
利密特沙门氏菌	S.Limete	<u>1</u> ,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	<u>1</u> ,4,12,[27]	b	l,w
伯里沙门氏菌	S.Bury	4,12,[27]	С	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	<u>1</u> ,4,[5],12	e,h	1,2
里定沙门氏菌	S.Reading	<u>1</u> ,4,[5],12	e,h	1,5
彻斯特沙门氏菌	S.Chester	<u>1</u> ,4,[5],12	e,h	e,n,x
德尔卑沙门氏菌	S.Derby	<u>1</u> ,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	<u>1</u> ,4,12,[27]	g,t	_
鼠伤寒沙门氏菌	S.Typhimurium	<u>1</u> ,4,[5],12	i	1,2
拉古什沙门氏菌	S.Lagos	<u>1</u> ,4,[5],12	i	1,5
布雷登尼沙门氏菌	S.Bredeney	<u>1</u> ,4,12,[27]	1, 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

表 B.1 (续)

菌名	拉丁菌名	O抗原	Н	元 原
困名	24.1 困名	U	第1相	第2相
斯坦利维尔沙门氏菌	S.Stanleyville	1,4,[5],12,[27]	\mathbf{z}_4 , \mathbf{z}_{23}	[1,2]
伊图里沙门氏菌	S.Ituri	1,4,12	\mathbf{z}_{10}	1,5
	C1	群		
奥斯陆沙门氏菌	S.Oslo	6,7, <u>14</u>	a	e,n,x
爱丁保沙门氏菌	S.Edinburg	6,7, <u>14</u>	b	1,5
布隆方丹沙门氏菌Ⅱ	$S.$ Bloemfontein $ lap{I}$	6,7	b	[e,n,x]:z ₄₂
丙型副伤寒沙门氏菌	S.Paratyphi C	6,7,[Vi]	С	1,5
猪霍乱沙门氏菌	S.Choleraesuis	6,7	С	1,5
猪伤寒沙门氏菌	S. Typhisuis	6,7	С	1,5
罗米他沙门氏菌	S.Lomita	6,7	e,h	1,5
布伦登卢普沙门氏菌	S.Braenderup	6,7, <u>14</u>	e,h	e,n,z ₁₅
里森沙门氏菌	S.Rissen	6,7, <u>14</u>	f,g	_
蒙得维的亚沙门氏菌	S.Montevideo	6,7, <u>14</u>	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.Oranieburg	6,7, <u>14</u>	m,t	[2,5,7]
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, <u>14</u>	*//	1,5
康科德沙门氏菌	S.Concord	6,7	1, 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	1, v	1,6
波恩沙门氏菌	S.Bonn	6,7	1, v	e,n,x
波茨坦沙门氏菌	S.Potsdam	6,7,14	1, v	e, n, z ₁₅
格但斯克沙门氏菌	S.Gdansk	6,7,14	1, v	\mathbf{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
巴累利沙门氏菌	S.Bareilly	6,7, <u>14</u>	у	1,5
哈特福德沙门氏菌	S. Hartford	6,7	у	e,n,x
三河岛沙门氏菌	S.Mikawasima	6,7, <u>14</u>	у	e,n,z ₁₅
姆班达卡沙门氏菌	S.Mbandaka	6,7, <u>14</u>	\mathbf{z}_{10}	e,n,z ₁₅
田纳西沙门氏菌	S.Tennessee	6,7, <u>14</u>	\mathbf{z}_{29}	[1,2,7]
布伦登卢普沙门氏菌	S.Braenderup	6,7, <u>14</u>	e,h	e,n,z ₁₅
耶路撒冷沙门氏菌	S.Jerusalem	6,7,14	z ₁₀	1, w

表 B.1 (续)

本 <i>b</i>	拉丁菌名	O抗原	Η į	H 抗原	
菌名			第1相	第2相	
	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	
利齐菲尔德沙门氏菌	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	
	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	
	D	群		1	
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	<u>1</u> ,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	
	S.Javiana	1,9,12	L, z ₂₈	1,5	

表 B.1 (续)

古 夕	拉丁 带 <i>切</i>	O抗原	Η ž	亢原
菌名	拉丁菌名	0 机原	第1相	第2相
鸡-雏沙门氏菌	S.Gallinarum-Pullorum	1,9,12	_	_
	E1	群		
奥凯福科沙门氏菌	S.Okefoko	3,10	С	\mathbf{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	8,10	i	1,5
新罗歇尔沙门氏菌	S.New-Rochelle	3,10	k	1, 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}	1, 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	\mathbf{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}	\mathbf{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
索恩保沙门氏菌	S.Schoeneberg	1,3,19	z	e,n,z ₁₅
	F	 群		I.
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
	S.Brijbhumi	11	i	1,5

表 B.1 (续)

菌名	拉丁蓝点	0 47 15	H 抗原	
函名	拉丁菌名	O抗原	第1相	第2相
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	~	
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	Z4 • Z23	[e,n,z ₁₅]
密西西比沙门氏菌	S.Mississippi	<u>1</u> ,13,23	b	1,5
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	\mathbf{z}_6
上海沙门氏菌	S.Shanghai	16	1, 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	Z4 , Z23	_
迪尤波尔沙门氏菌	S.Dieuoppeul	28	i	1,7
卢肯瓦尔德沙门氏菌	S.Luckenwalde	28	\mathbf{z}_{10}	e,n,z ₁₅
拉马特根沙门氏菌	S.Ramatgan	30	k	1,5
阿德莱沙门氏菌	S.Adelaide	35	f,g	_
旺兹沃思沙门氏菌	S.Wandsworth	39	b	1,2
雷俄格伦德沙门氏菌	S.Riogrande	40	b	1,5
莱瑟沙门氏菌	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 ∭ b	61	1, v	1,5,7

注:关于表内符号的说明:

- $\{\}=\{\}$ 内 O 因子具有排他性。在血清型中 $\{\}$ 内的因子不能与其他 $\{\}$ 内的因子同时存在,例如在 O:3,10 群中当菌株产生 O:15 或 O:15,34 因子时它替代了 O:10 因子。
- _=下划线时表示该 O 因子是由噬菌体溶原化产生的。



⚠ 版权声明

中国标准在线服务网(www.spc.org.cn)是中国质检出版社委托北京标科网络技术有限公司负责运营销售正版标准资源的网络服务平台,本网站所有标准资源均已获得国内外相关版权方的合法授权。未经授权,严禁任何单位、组织及个人对标准文本进行复制、发行、销售、传播和翻译出版等违法行为。版权所有,违者必究!

中国标准在线服务网 http://www.spc.org.cn

标准号: GB 4789.4-2016 购买者: 光泽疾控中心 订单号: 0100190108034308

防伪号: 2019-0108-0942-0723-2617

时 间: 2019-01-08

定 价: 36元



GB 4789. 4-2016

中 华 人 民 共 和 国 国 家 标 准 **食品安全国家标准**

食品微生物学检验 沙门氏菌检验

GB 4789.4—2016

中国标准出版社出版发行 北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029) 北京市西城区三里河北街16号(100045)

> 网址:www.spc.org.cn 服务热线:400-168-0010 2017 年 8 月第一版

书号: 155066 • 1-53835

版权专有 侵权必究