



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.28—2003  
代替 GB/T 4789.28—1994

## 食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂

Microbiological examination of food hygiene—  
Staining methods, culture mediums and reagents

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布  
中国国家标准化管理委员会

## 前 言

本标准对 GB/T 4789.28—1994《食品卫生微生物学检验 染色法、培养基和试剂》进行修订。

本标准与 GB/T 4789.28—1994 相比主要修改如下：

——按照 GB/T 1.1—2000 对标准文本的格式进行修改。

——删去 4.78 中的高盐察氏培养基。

本标准自实施之日起,GB/T 4789.28—1994 同时废止。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准主要起草人:周桂莲、刘宏道、罗雪云、李风琴、付萍。

本标准于 1984 年首次发布,1994 年第一次修订,本次为第二次修订。

# 食品卫生微生物学检验

## 染色法、培养基和试剂

### 1 范围

本标准规定了各种染色法、培养基和试剂。

本标准适用于食品和食物中毒样品中各类微生物的检验。

### 2 染色液配制及染色法

#### 2.1 美蓝染色法

##### 2.1.1 吕氏碱性美蓝染色液

美蓝	0.3 g
95%乙醇	30 mL
0.01%氢氧化钾溶液	100 mL

将美蓝溶解于乙醇中,然后与氢氧化钾溶液混合。

##### 2.1.2 染色法

将涂片在火焰上固定,待冷。滴加染液,染 1 min~3 min,水洗,待干,镜检。

##### 2.1.3 结果

菌体呈蓝色。

#### 2.2 革兰氏染色法

##### 2.2.1 结晶紫染色液

结晶紫	1 g
95%乙醇	20 mL
1%草酸铵水溶液	80 mL

将结晶紫溶解于乙醇中,然后与草酸铵溶液混合。

##### 2.2.2 革兰氏碘液

碘	1 g
碘化钾	2 g
蒸馏水	300 mL

将碘与碘化钾先进行混合,加入蒸馏水少许,充分振摇,待完全溶解后,再加蒸馏水至 300 mL。

##### 2.2.3 沙黄复染液

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10 mL
蒸馏水	90 mL

将沙黄溶解于乙醇中,然后用蒸馏水稀释。

##### 2.2.4 染色法

2.2.4.1 将涂片在火焰上固定,滴加结晶紫染色液,染 1 min,水洗。

2.2.4.2 滴加革兰氏碘液,作用 1 min,水洗。

2.2.4.3 滴加 95%乙醇脱色,约 30 s;或将乙醇滴满整个涂片,立即倾去,再用乙醇滴满整个涂片,脱色 10 s。

2.2.4.4 水洗,滴加复染液,复染 1 min。水洗,待干,镜检。

#### 2.2.5 结果

革兰氏阳性菌呈紫色。革兰氏阴性菌呈红色。

注:亦可用 1:10 稀释石炭酸复红染色液作复染液,复染时间仅需 10 s。

### 2.3 耐酸性染色法(萘-倪二氏法)

#### 2.3.1 石炭酸品红染色液

碱性品红	0.3 g
95%乙醇	10 mL
5%酚水溶液	90 mL

将品红溶解于乙醇中,然后与酚溶液混合。

#### 2.3.2 3%盐酸-乙醇

浓盐酸	3 mL
95%乙醇	97 mL

#### 2.3.3 复染液

吕氏碱性美蓝染色液。

#### 2.3.4 染色法

2.3.4.1 将涂片在火焰上加热固定,滴加石炭酸品红染色液,徐徐加热至有蒸气出现,但切不可使沸腾。染液如因蒸发减少时,应随时添加。染 5 min,倾去染液,水洗。

2.3.4.2 滴加盐酸-乙醇脱色,直至无红色脱落为止(所需时间视涂片厚薄而定,一般为 1 min~3 min),水洗。

2.3.4.3 滴加吕氏碱性美蓝染色液。复染 30 s~1 min,水洗,待干,镜检。

2.3.5 结果:耐酸性细菌呈红色,其他细菌、细胞等物质呈蓝色。

### 2.4 柯氏染色法

#### 2.4.1 染色液

2.4.1.1 0.5%沙黄液。

2.4.1.2 0.5%孔雀绿液。

#### 2.4.2 染色法

2.4.2.1 将涂片在火焰上固定,滴加 0.5%沙黄液,并加热至出现气泡,约 2 min~3 min,水洗。

2.4.2.2 滴加 0.5%孔雀绿液,复染 40 s~50 s。水洗,待干,镜检。

#### 2.4.3 结果

布氏杆菌呈红色,其他细菌及细胞呈绿色。

### 2.5 奥尔特氏荚膜染色法

#### 2.5.1 染色液

沙黄	3 g
蒸馏水	100 mL

用乳钵研磨溶解。

#### 2.5.2 染色法

将涂片在火焰上固定,滴加染色液,并加热至产生蒸气后,继续染 3 min。水洗,待干,镜检。

#### 2.5.3 结果

炭疽芽胞杆菌菌体呈赤褐色,荚膜呈黄色。

### 2.6 瑞氏染色法

#### 2.6.1 染色液

瑞氏色素	0.1 g
------	-------

甲醇 60 mL

用乳钵研磨溶解。

## 2.6.2 染色法

2.6.2.1 涂片待自然干燥后,滴加染色液,固定 1 min。

2.6.2.2 加入等量蒸馏水(pH6.5),染色 3 min~5 min。

2.6.2.3 用蒸馏水冲洗,待干,镜检。

## 2.7 鞭毛染色法

### 2.7.1 染色液的配制

2.7.1.1 甲液:称单宁酸 5 g 氯化高铁( $\text{FeCl}_3$ )1.5 g,溶于 100 mL 蒸馏水中,待溶解后加入 1% 的氢氧化钠溶液 1 mL 和 15% 的甲醛溶液 2 mL。

2.7.1.2 乙液:称 2 g 硝酸银溶于 100 mL 蒸馏水中。在 90 mL 乙液中滴加浓氢氧化铵溶液,到出现沉淀后,再滴加使其变为澄清,然后用其余 10 mL 乙液小心滴加至澄清液中,至出现轻微雾状为止(此为关键性操作,应特别小心)。滴加氢氧化铵和用剩余乙液回滴时,要边滴边充分摇荡,染液当天配,当天使用,2 d~3 d 基本无效。

### 2.7.2 染色法

在风干的载玻片上滴加甲液,4 min~6 min 后,用蒸馏水轻轻冲净。再加乙液,缓缓加热至冒汽,维持约半分钟(加热时注意勿使出现干燥面)。在菌体多的部位可呈深褐色到黑色,停止加热,用水冲净,干后镜检,菌体及鞭毛为深褐色到黑色。

## 2.8 碱性复红染色法

将 0.5 g 碱性复红染料溶解于 20 mL 95% 乙醇中,然后用蒸馏水稀释至 100 mL。如有不溶物时,可用滤纸过滤,或静置后取上清液备用。

注:本染色液系用于苏云金芽胞内蛋白质毒素结晶的染色,藉以与蜡样芽胞杆菌相区别。

## 3 生化试验培养基和试剂

### 3.1 Hugh-Leifson 培养基(O/F 试验用)

#### 3.1.1 成分

蛋白胨	2 g
氯化钠	5 g
磷酸氢二钾	0.3 g
琼脂	4 g
葡萄糖	10 g
0.2% 溴麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.2	

#### 3.1.2 制法

将蛋白胨和盐类加水溶解后,校正 pH 至 7.2。加入葡萄糖、琼脂煮沸,溶化琼脂,然后加入指示剂。混匀后,分装试管,121℃ 高压灭菌 15 min,直立凝固备用。

#### 3.1.3 试验方法

从斜面上挑取少量培养物作穿刺接种,同时接种两支培养基,其中一支于接种后滴加溶化的 1% 琼脂液于表面,高度约 1 cm,于 36℃ ± 1℃ 培养。

#### 3.1.4 结果

结果见表 1。

表 1

反应类型	封口的培养基	开口的培养基
发酵型(F)	产酸	产酸
氧化型(O)	不变	产酸
产碱型(A)	不变	不变

### 3.2 糖发酵管

#### 3.2.1 成分

牛肉膏	5 g
蛋白胨	10 g
氯化钠	3 g
磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	2 g
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

#### 3.2.2 制法

3.2.2.1 葡萄糖发酵管按上述成分配好后,按0.5%加入葡萄糖,分装于有一个倒置小管的小试管内,121℃高压灭菌15 min。

3.2.2.2 其他各种糖发酵管可按上述成分配好后,分装每瓶100 mL,121℃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。

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

### 3.3 ONPG培养基

#### 3.3.1 成分

邻硝基酚 $\beta$ -D-半乳糖苷(ONPG) (O-Nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside)	60 mg
0.01mol/L磷酸钠缓冲液(pH7.5)	10 mL
1%蛋白胨水(pH7.5)	30 mL

#### 3.3.2 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10 mm×75 mm试管,每管0.5 mL,用橡皮塞塞紧。

#### 3.3.3 试验方法

自琼脂斜面上挑取培养物一满环接种于 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 培养1 h~3 h和24 h观察结果。如果 $\beta$ -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。

### 3.4 缓冲葡萄糖蛋白胨水(MR和VP试验用)

#### 3.4.1 成分

磷酸氢二钾	5 g
多肽	7 g
葡萄糖	5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.0	

### 3.4.2 制法

溶化后校正 pH,分装试管,每管 1 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。

### 3.4.3 甲基红(MR)试验

自琼脂斜面挑取少量培养物接种本培养基中,于 36℃±1℃ 培养 2 d~5 d,哈夫尼亚菌则应在 22℃~25℃ 培养。滴加甲基红试剂一滴,立即观察结果。鲜红色为阳性,黄色为阴性。甲基红试剂配法:10 mg 甲基红溶于 30 mL 95% 乙醇中,然后加入 20 mL 蒸馏水。

### 3.4.4 V-P 试验

用琼脂培养物接种本培养基中,于 36℃±1℃ 培养 2 d~4 d。哈夫尼亚菌则应在 22℃~25℃ 培养。加入 6%α-萘酚-乙醇溶液 0.5 mL 和 40% 氢氧化钾溶液 0.2 mL,充分振摇试管,观察结果。阳性反应立刻或于数分钟内出现红色,如为阴性,应放在 36℃±1℃ 培养 4 h 再进行观察。

## 3.5 西蒙氏柠檬酸盐培养基

### 3.5.1 成分

氯化钠	5 g
硫酸镁(MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
磷酸二氢铵	1 g
磷酸氢二钾	1 g
柠檬酸钠	5 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL
0.2% 溴麝香草酚蓝溶液	40 mL
pH6.8	

### 3.5.2 制法

先将盐类溶解于水内,校正 pH,再加琼脂,加热溶化。然后加入指示剂,混合均匀后分装试管,121℃ 高压灭菌 15 min。放成斜面。

### 3.5.3 试验方法

挑取少量琼脂培养物接种,于 36℃±1℃ 培养 4 d,每天观察结果。阳性者斜面上有菌落生长,培养基从绿色转为蓝色。

## 3.6 克氏柠檬酸盐培养基

### 3.6.1 成分

柠檬酸钠	3 g
葡萄糖	0.2 g
酵母浸膏	0.5 g
单盐酸半胱氨酸	0.1 g
磷酸二氢钾	1 g
氯化钠	5 g
0.2% 酚红溶液	6 mL
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL

### 3.6.2 制法

加热溶解,分装试管,121℃ 高压灭菌 15 min,放成斜面。

### 3.6.3 试验方法

用琼脂培养物接种整个斜面,在 36℃±1℃ 培养 7 d,每天观察结果。阳性者培养基变为红色。

### 3.7 丙二酸钠培养基

#### 3.7.1 成分

酵母浸膏	1 g
硫酸铵	2 g
磷酸氢二钾	0.6 g
磷酸二氢钾	0.4 g
氯化钠	2 g
丙二酸钠	3 g
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH6.8	

#### 3.7.2 制法

先将酵母浸膏和盐类溶解于水,校正 pH 后再加入指示剂,分装试管,121℃高压灭菌 15 min。

#### 3.7.3 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。

### 3.8 葡萄糖铵培养基

#### 3.8.1 成分

氯化钠	5 g
硫酸镁(MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
磷酸二氢铵	1 g
磷酸氢二钾	1 g
葡萄糖	2 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	40 mL
pH6.8	

#### 3.8.2 制法

先将盐类和糖溶解于水内,校正 pH,再加琼脂,加热溶化,然后加入指示剂,混合均匀后分装试管,121℃高压灭菌 15 min,放成斜面。

#### 3.8.3 试验方法

用接种针轻轻触及培养物的表面,在盐水管内做成极稀的悬液,肉眼观察不见混浊,以每一接种环内含菌数在 20~100 之间为宜。将接种环灭菌后挑取菌液接种,同时再以同法接种普通斜面一支作为对照。于 36℃±1℃培养 24 h。阳性者葡萄糖铵斜面上有正常大小的菌落生长;阴性者不生长,但在对照培养基上生长良好。如在葡萄糖铵斜面生长极微小的菌落可视为阴性结果。

注:容器使用前应用清洁液浸泡。再用清水、蒸馏水冲洗干净,并用新棉花做成棉塞,干热灭菌后使用。如果操作时不注意,有杂质污染时,易造成假阳性的结果。

### 3.9 马尿酸钠培养基

#### 3.9.1 成分

马尿酸钠	1 g
肉浸液	100 mL

#### 3.9.2 制法

将马尿酸钠溶解于肉浸液内,分装于小试管内,并于管壁画一横线。以标志管内液面高度,高压灭菌 121℃20 min。



### 3.9.3 试剂

三氯化铁( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 12 g,溶于2%盐酸溶液 100 mL 中即成。

### 3.9.4 试验方法

用纯培养物接种,于42℃培养48 h,观察培养液是否到达试管壁上记号处,如不足时,用蒸馏水补足至原量。经离心沉淀,吸取上清液0.8 mL,加入三氯化铁试剂0.2 mL,立即混合均匀,经10 min~15 min,观察结果。

### 3.9.5 结果

出现恒久沉淀物为阳性。

## 3.10 营养明胶

### 3.10.1 成分

蛋白胨	5 g
牛肉膏	3 g
明胶	120 g
蒸馏水	1 000 mL
pH6.8~7.0	

### 3.10.2 制法

加热溶解、校正至pH7.4~7.6,分装小管,121℃高压灭菌10 min,取出后迅速冷却,使其凝固。复查最终pH应为6.8~7.0。

### 3.10.3 试验方法

用琼脂培养物穿刺接种,放在22℃~25℃培养,每天观察结果,记录液化时间。或放在36℃±1℃培养,每天取出,放冰箱内30 min后再观察结果。

## 3.11 苯丙氨酸培养基

### 3.11.1 成分

酵母浸膏	3 g
DL-苯丙氨酸(或L-苯丙氨酸1 g)	2 g
磷酸氢二钠	1 g
氯化钠	5 g
琼脂	12 g
蒸馏水	1 000 mL

### 3.11.2 制法

加热溶解后分装试管,121℃高压灭菌15 min,使成斜面。

### 3.11.3 试验方法

自琼脂斜面上挑取大量培养物,移种于苯丙氨酸琼脂,在36℃±1℃培养4 h或18 h~24 h。滴加10%三氯化铁溶液2滴~3滴,自斜面培养物上流下,苯丙氨酸脱氨酶阳性者呈深绿色。

## 3.12 氨基酸脱羧酶试验培养基

### 3.12.1 成分

蛋白胨	5 g
酵母浸膏	3 g
葡萄糖	1 g
蒸馏水	1 000 mL
1.6%溴甲酚紫-乙醇溶液	1 mL
L-氨基酸或DL-氨基酸	0.5或1 g/100 mL
pH6.8	

## 3.12.2 制法

除氨基酸以外的成分加热溶解后,分装每瓶 100 mL,分别加入各种氨基酸:赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸。L-氨基酸按 0.5%加入,DL-氨基酸按 1%加入。再行校正 pH 至 6.8。对照培养基不加氨基酸。分装于灭菌的小试管内,每管 0.5 mL,上面滴加一层液体石蜡,115℃高压灭菌 10 min。

## 3.12.3 试验方法

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

## 3.13 蛋白胨水(靛基质试验用)

## 3.13.1 成分

蛋白胨(或胰蛋白胨)	20 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

## 3.13.2 制法

按上述成分配制,分装小试管,121℃高压灭菌 15 min。

## 3.13.3 靛基质试剂

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

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

## 3.13.4 试验方法

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

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

## 3.14 硫酸亚铁琼脂(硫化氢试验用)

## 3.14.1 成分

牛肉膏	3 g
酵母浸膏	3 g
蛋白胨	10 g
硫酸亚铁	0.2 g
硫代硫酸钠	0.3 g
氯化钠	5 g
琼脂	12 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

## 3.14.2 制法

加热溶解,校正 pH,分装试管,115℃高压灭菌 15 min,取出直立俟其凝固。

## 3.14.3 试验方法

挑取琼脂培养物,沿管壁穿刺,于 36℃±1℃培养 1 d~2 d,观察结果。产硫化氢者使培养基变为黑色。

注:肠杆菌科细菌测定硫化氢的产生,应采用三糖铁琼脂或本培养基。

## 3.15 尿素琼脂

## 3.15.1 成分

蛋白胨	1 g
-----	-----

氯化钠	5 g
葡萄糖	1 g
磷酸二氢钾	2 g
0.4%酚红溶液	3 mL
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL
20%尿素溶液	100 mL
pH7.2±0.1	

### 3.15.2 制法

将除尿素和琼脂以外的成分配好,并校正 pH,加入琼脂,加热溶化并分装烧瓶。121℃ 高压灭菌 15 min。冷至 50℃~55℃,加入经除菌过滤的尿素溶液。尿素的最终浓度为 2%,最终 pH 应为 7.2±0.1。分装于灭菌试管内,放成斜面备用。

### 3.15.3 试验方法

挑取琼脂培养物接种,在 36℃±1℃ 培养 24 h,观察结果。尿素酶阳性者由于产碱而使培养基变为红色。

## 3.16 氰化钾(KCN)培养基

### 3.16.1 成分

蛋白胨	10 g
氯化钠	5 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%氰化钾溶液	20 mL
pH7.6	

### 3.16.2 制法

将除氰化钾以外的成分配好后分装烧瓶,121℃ 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 12 mm×100 mm 灭菌试管,每管约 4 mL,立刻用灭菌橡皮塞塞紧,放在 4℃ 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。

### 3.16.3 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℃±1℃ 培养 1 d~2 d,观察结果。如有细菌生长即为阳性(不抑制),经 2 d 细菌不生长为阴性(抑制)。

注:氰化钾是剧毒药物,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。

## 3.17 硝酸盐培养基

### 3.17.1 成分

硝酸钾	0.2 g
蛋白胨	5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

### 3.17.2 制法

溶解,校正 pH,分装试管,每管约 5 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。

### 3.17.3 硝酸盐还原试剂

3.17.3.1 甲液:将对氨基苯磺酸 0.8 g 溶解于 2.5 mol/L 乙酸溶液 100 mL 中。

3.17.3.2 乙液:将甲萘胺 0.5 g 溶解于 2.5 mol/L 乙酸溶液 100 mL 中。

### 3.17.4 试验方法

接种后在  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  培养 1 d~4 d,加入甲液和乙液各一滴,观察结果。硝酸盐还原为亚硝酸盐时于立刻或数分钟内显红色。

注:本试验阴性的原因有三:细菌不能还原硝酸盐;亚硝酸盐继续分解,生成氨和氮;培养基不适于细菌的生长。如欲检查培养基中硝酸盐是否未被分解,可再加入锌粉少许,可使硝酸盐还原为亚硝酸盐而呈现红色。

### 3.18 氧化酶试验

#### 3.18.1 试剂

3.18.1.1 1%盐酸二甲基对苯二胺溶液:少量新鲜配制,于冰箱内避光保存。

3.18.1.2 1% $\alpha$ -萘酚-乙醇溶液。

#### 3.18.2 试验方法

3.18.2.1 取白色洁净滤纸沾取菌落。加盐酸二甲基对苯二胺溶液一滴,阳性者呈现粉红色,并逐渐加深;再加  $\alpha$ -萘酚溶液一滴,阳性者于半分钟内呈现鲜蓝色。阴性于两分钟内不变色。

3.18.2.2 以毛细吸管吸取试剂,直接滴加于菌落上,其显色反应与以上相同。

### 3.19 细胞色素氧化酶试验

#### 3.19.1 试剂

3.19.1.1 1%盐酸二甲基对苯二胺溶液。

3.19.1.2 1% $\alpha$ -萘酚-乙醇溶液。

#### 3.19.2 试验方法

取  $37^{\circ}\text{C}$  (或低于  $37^{\circ}\text{C}$ ) 培养 20 h 的斜面培养物一支,将两种试剂各 2 滴~3 滴,从斜面上端滴下,并将斜面略加倾斜,使试剂混合液流经斜面上的培养物。如系平板培养物,则可用试剂混合液滴在菌落上。

#### 3.19.3 结果

于 2 min 内呈现蓝色者为阳性。阳性培养物大多数于半分钟内出现强阳性反应,2 min 以后出现微弱或可疑反应均作为阴性结果。

### 3.20 过氧化氢酶试验

#### 3.20.1 试剂

3%过氧化氢溶液:临用时配制。

#### 3.20.2 试验方法

挑取固体培养基上菌落一接种环,置于洁净试管内,滴加 3%过氧化氢溶液 2 mL,观察结果。

#### 3.20.3 结果

于半分钟内发生气泡者为阳性,不发生气泡者为阴性。

### 3.21 过氧化物酶试验

#### 3.21.1 试剂

3.21.1.1 2%儿茶酚溶液。

3.21.1.2 3%过氧化氢溶液。

#### 3.21.2 试验方法

挑取固体培养基上菌落一接种环,置于洁净试管内,滴加 2%儿茶酚溶液 1 mL 及 3%过氧化氢溶液 1 mL。静置于室温( $20^{\circ}\text{C}$ )中 30 min~60 min,观察结果。

#### 3.21.3 结果

阳性反应,细菌变为黑褐色;阴性反应,细菌不变色。

注：过氧化物酶的作用可受氰化钾的抑制。

### 3.22 磷酸盐缓冲液

#### 3.22.1 储存液

磷酸二氢钾	34 g
1 mol/L 氢氧化钠溶液	175 mL
蒸馏水	825 mL
pH7.2	

#### 3.22.2 制法

先将磷酸盐溶解于 500 mL 蒸馏水中，用 1 mol/L 氢氧化钠溶液校正 pH 后，再用蒸馏水稀释至 1 000 mL。

#### 3.22.3 稀释液

取储存液 1.25 mL，用蒸馏水稀释至 1 000 mL。分装每瓶 100 mL 或每管 10 mL，121℃ 高压灭菌 15 min。

### 3.23 明胶磷酸盐缓冲液

#### 3.23.1 成分

明胶	2 g
磷酸氢二钠	4 g
蒸馏水	1 000 mL
pH6.2	

#### 3.23.2 制法

加热溶解，校正 pH，121℃ 高压灭菌 15 min。

### 3.24 乳酸-苯酚溶液

#### 3.24.1 成分

苯酚	10 g
乳酸(密度 1.21kg/m <sup>3</sup> )	10 g
甘油	20 g
蒸馏水	10 mL

#### 3.24.2 制法

将苯酚在水中加热溶解，然后加入乳酸及甘油。

#### 3.24.3 用途

检验真菌形态时用。

## 4 一般培养基和专用培养基

### 4.1 肉浸液肉汤

#### 4.1.1 成分

绞碎牛肉	500 g
氯化钠	5 g
蛋白胨	10 g
磷酸氢二钾	2 g
蒸馏水	1 000 mL

#### 4.1.2 制法

将绞碎之去筋膜无油脂牛肉 500 g 加蒸馏水 1 000 mL，混合后放冰箱过夜，除去液面之浮油，隔水煮沸半小时，使肉渣完全凝结成块，用绒布过滤，并挤压收集全部滤液，加水补足原量。加入蛋白胨、氯

化钠和磷酸盐,溶解后校正 pH7.4~7.6 煮沸并过滤,分装烧瓶,121℃ 高压灭菌 30 min。

#### 4.2 肉浸液琼脂

##### 4.2.1 成分

肉浸液肉汤(pH7.4)	1 000 mL
琼脂	17 g~20 g

##### 4.2.2 制法

加热溶化琼脂,分装烧瓶或试管,121℃ 高压灭菌 30 min。根据需要,倾注平板或放成斜面。

#### 4.3 牛肉(或牛心)消化汤

##### 4.3.1 成分

绞碎牛肉(或牛心)	1 000 g
15%氢氧化钠溶液	27 mL
胰蛋白酶	40 mL
三氯甲烷	1 mL
氯化钠	10 g
蒸馏水	2 000 mL

##### 4.3.2 制法

4.3.2.1 称取碎牛肉,加蒸馏水,隔水加热到 80℃,维持 15 min。

4.3.2.2 加氢氧化钠溶液,对 pH 试纸呈弱碱性,冷至 40℃。

4.3.2.3 加胰蛋白酶、三氯甲烷,在 36℃±1℃ 放置 4 h~5 h,每小时摇动一至二次。

4.3.2.4 4 h 后,吸取上层液 5 mL 于试管中,加 5% 硫酸铜溶液 0.1 mL、4% 氢氧化钠溶液 5 mL,混合之。若呈红色,则不须再消化,可由温箱取出。

4.3.2.5 加入 15% 乙酸溶液 45 mL,对 pH 试纸呈酸性。

4.3.2.6 煮沸 15 min,使胰蛋白酶破坏,冷后,放冰箱内一夜。

4.3.2.7 次日吸取上层清液,加氯化钠 10 g,并加水补足原量,煮沸。

4.3.2.8 校正 pH7.4~7.6(加 15% 氢氧化钠溶液约 10 mL)。加热。用滤纸过滤,分装烧瓶,121℃ 高压灭菌 20 min。

注 1: 此培养基可作为琼脂培养基的基础,不需加蛋白胨。

注 2: 胰蛋白酶之配制:称取去脂绞碎的猪胰 500 g,加入乙醇 500 mL、蒸馏水 1 500 mL,混合之,装入玻塞瓶内。每日摇匀三次。3 d 后,用绒布过滤挤出其汁,加盐酸至 0.05%,放冰箱内保存备用。

#### 4.4 血消化汤

##### 4.4.1 成分

绞碎猪胃	100 g
绞碎猪血块	100 g
蒸馏水	1 000 mL
浓盐酸	10 mL

##### 4.4.2 制法

4.4.2.1 洗涤猪胃,除去油脂,保留胃粘膜,用绞肉机绞碎。

4.4.2.2 用绞肉机将猪血块绞碎。

4.4.2.3 将蒸馏水加热至 55℃,加入猪胃、猪血块和盐酸,置 55℃ 水浴中 24 h,时常加以摇动。

4.4.2.4 从水浴内取出,加入 1 mol/L 碳酸钠溶液 5 mL,煮沸 10 min,置于冰箱内一夜。

4.4.2.5 吸取上层清液,加磷酸氢二钾 1 g,加热至 75℃,加入 1 mol/L 碳酸钠溶液 45 mL,煮沸,校正 pH7.2~7.4。

4.4.2.6 用滤纸过滤,分装烧瓶,121℃高压菌 20 min。

注1:本培养基不含糖可供作鉴别培养基之基础,不需加蛋白胨和氯化钠。

注2:1 mol/L 碳酸钠溶液之配法:无水碳酸钠 10.6 g,溶于 1 000 mL 蒸馏水中。

#### 4.5 豆粉琼脂

##### 4.5.1 成分

牛心消化汤(pH7.4~7.6)	1 000 mL
琼脂	20 g
黄豆粉浸液	50 mL

##### 4.5.2 制法

将琼脂加在牛心消化汤内,加热溶解,过滤加入豌豆粉浸液,分装每瓶 100 mL 121℃高压灭菌15 min。

豌豆粉浸液制法:取豌豆粉 5 g、氯化钠 10 g,加入蒸馏水 100 mL 置 100℃水浴内加热 1 h,放于冰箱中过夜。吸取上清液即为豌豆浸液。

#### 4.6 血琼脂

##### 4.6.1 成分

豆粉琼脂(pH7.4~7.6)	100 mL
脱纤维羊血(或兔血)	5 mL~10 mL

##### 4.6.2 制法

加热溶化琼脂,冷到 50℃,以灭菌手续加入脱纤维羊血,摇匀,倾注平板。亦可分装灭菌试管,置成斜面。亦可用其他营养丰富的基础培养基配制血琼脂。

#### 4.7 营养琼脂

##### 4.7.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL

##### 4.7.2 制法

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入 15%氢氧化钠溶液约 2 mL 校正 pH 至 7.2~7.4。加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化。分装烧瓶,121℃高压灭菌 15 min。

注:此培养基可供一般细菌培养之用,可倾注平板或制成斜面。如用于菌落计数,琼脂量为 1.5%;如作成平板或斜面,则应为 2%。

#### 4.8 营养肉汤

##### 4.8.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

##### 4.8.2 制法

按上述成分混合,溶解后校正 pH,分装烧瓶,每瓶 225 mL,121℃高压灭菌 15 min。

#### 4.9 乳糖胆盐发酵管

##### 4.9.1 成分

蛋白胨	20 g
-----	------

猪胆盐(或牛、羊胆盐)	5 g
乳糖	10 g
0.04%溴甲酚紫水溶液	25 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

#### 4.9.2 制法

将蛋白胨、胆盐及乳糖溶于水中,校正 pH,加入指示剂,分装每管 10 mL,并放入一个小倒管,115 °C 高压灭菌 15 min。

注:双料乳糖胆盐发酵管除蒸馏水外,其他成分加倍。

#### 4.10 乳糖发酵管

##### 4.10.1 成分

蛋白胨	20 g
乳糖	10 g
0.04%溴甲酚紫水溶液	25 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

##### 4.10.2 制法

将蛋白胨及乳糖溶于水中,校正 pH,加入指示剂,按检验要求分装 30 mL、10 mL 或 3 mL,并放入一个小倒管,115 °C 高压灭菌 15 min。

注 1:双料乳糖发酵管除蒸馏水外,其他成分加倍。

注 2:30 mL 和 10 mL 乳糖发酵管专供酱油及酱类检验用,3 mL 乳糖发酵管供大肠菌群证实试验用。

#### 4.11 EC 肉汤

##### 4.11.1 成分

胰蛋白胨	20 g
3号胆盐(或混合胆盐)	1.5 g
乳糖	5 g
磷酸氢二钾	4 g
磷酸二氢钾	1.5 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL

##### 4.11.2 制法

将上述成分混合,溶解后,分装有发酵倒管的试管中,121 °C 高压灭菌 15 min,最终 pH 为 6.9 ± 0.2。

#### 4.12 缓冲蛋白胨水(BP)

##### 4.12.1 成分

蛋白胨	10 g
氯化钠	5 g
磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	9 g
磷酸二氢钾	1.5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.2	

##### 4.12.2 制法

按上述成分配好后以大烧瓶装,121 °C 高压灭菌 15 min。临用时无菌分装每瓶 225 mL。

注:本培养基供沙门氏菌前增菌用。



## 4.13 氯化镁孔雀绿增菌液(MM)

## 4.13.1 甲液

胰蛋白胨	5 g
氯化钠	8 g
磷酸二氢钾	1.6 g
蒸馏水	1 000 mL

## 4.13.2 乙液

氯化镁(化学纯)	40 g
蒸馏水	100 mL

## 4.13.3 丙液

0.4%孔雀绿水溶液。

## 4.13.4 制法

分别按上述成分配好后,121℃高压灭菌 15 min 备用。临用时取甲液 90 mL、乙液 9 mL、丙液 0.9 mL,以无菌操作混合即可。

注:本培养基亦称 Rappaport 10(R<sub>10</sub>)增菌液。

## 4.14 四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)

## 4.14.1 基础培养基

多肽或胨	5 g
胆盐	1 g
碳酸钙	10 g
硫代硫酸钠	30 g
蒸馏水	1 000 mL

## 4.14.2 碘溶液

碘	6 g
碘化钾	5 g
蒸馏水	20 mL

## 4.14.3 制法

将基础培养基的各成分加入蒸馏水中,加热溶解,分装每瓶 100 mL。分装时应随时振摇,使其中的碳酸钙混匀。121℃高压灭菌 15 min 备用。临用时每 100 mL 基础培养基中加入碘溶液 2 mL、0.1%煌绿溶液 1 mL。

## 4.15 四硫磺酸钠煌绿增菌液(换用方法)

## 4.15.1 基础液

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
氯化钠	3 g
碳酸钙	45 g
蒸馏水	1 000 mL

将各成分加入于蒸馏水中,加热至约 70℃溶解,校正 pH 至 7.0±0.1,121℃高压灭菌 20 min。

## 4.15.2 硫代硫酸钠溶液

硫代硫酸钠(Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	50 g
蒸馏水	加至 100 mL

## 4.15.3 碘溶液

碘片	20 g
----	------

碘化钾	25 g
蒸馏水	加至 100 mL

将碘化钾充分溶解于最少量的蒸馏水中,加入碘片,振摇玻瓶至碘片全部溶解,再加入蒸馏水至规定量。贮于棕色玻瓶内,紧塞瓶盖备用。

#### 4.15.4 煌绿水溶液

煌绿	0.5 g
蒸馏水	100 mL

存放暗处,不少于 1 d,使其自然灭菌。

#### 4.15.5 牛胆盐溶液

干燥的牛胆盐	10 g
蒸馏水	100 mL

煮沸溶解,121℃高压灭菌 20 min。

#### 4.15.6 制备

基础液	900 mL
硫代硫酸钠溶液	100 mL
碘液	20 mL
煌绿溶液	2 mL
牛胆盐溶液	50 mL

临用前,按上列顺序,以无菌操作依次加入于基础液中,每加入一种成分,均应摇匀后再加入另一种成分。分装于灭菌瓶中,每瓶 100 mL。

### 4.16 亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)

#### 4.16.1 成分

蛋白胨	5 g
乳糖	4 g
亚硒酸氢钠	4 g
磷酸氢二钠	5.5 g
磷酸二氢钾	4.5 g
L-胱氨酸	0.01 g
蒸馏水	1 000 mL

#### 4.16.2 1%L-胱氨酸-氢氧化钠溶液的配法

称取 L-胱氨酸 0.1 g(或 DL-胱氨酸 0.2 g),加 1 mol/L 氢氧化钠 1.5 mL,使溶解,再加入蒸馏水 8.5 mL 即成。

#### 4.16.3 制法

将除亚硒酸氢钠和 L-胱氨酸以外的各成分溶解于 900 mL 蒸馏水中,加热煮沸,俟冷备用。另将亚硒酸氢钠溶解于 100 mL 蒸馏水中,加热煮沸,俟冷,以无菌操作与上液混合。再加入 1%L-胱氨酸-氢氧化钠溶液 1 mL。分装于灭菌瓶中,每瓶 100 mL,pH 应为 7.0±0.1。

### 4.17 GN 增菌液

#### 4.17.1 成分

胰蛋白胨	20 g
葡萄糖	1 g
甘露醇	2 g
柠檬酸钠	5 g
去氧胆酸钠	0.5 g

磷酸氢二钾	4 g
磷酸二氢钾	1.5 g
氯化钠	5 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.0	

#### 4.17.2 制法

按上述成分配好,加热使溶解,校正 pH。分装每瓶 225 mL,115℃ 高压灭菌 15 min。

### 4.18 肠道菌增菌肉汤

#### 4.18.1 成分

蛋白胨	10 g
葡萄糖	5 g
牛胆盐	20 g
磷酸氢二钠	8 g
磷酸二氢钾	2 g
煌绿	0.015 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.2	

#### 4.18.2 制法

按上述成分配好,加热使溶解,校正 pH。分装每瓶 30 mL,115℃ 高压灭菌 15 min。

### 4.19 亚硫酸铋琼脂(BS)

#### 4.19.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
葡萄糖	5 g
硫酸亚铁	0.3 g
磷酸氢二钠	4 g
煌绿	0.025 g
柠檬酸铋铵	2 g
亚硫酸钠	6 g
琼脂	18 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.5	

#### 4.19.2 制法

4.19.2.1 将前面五种成分溶解于 300 mL 蒸馏水中。

4.19.2.2 将柠檬酸铋铵和亚硫酸钠另用 50 mL 蒸馏水溶解。

4.19.2.3 将琼脂于 600 mL 蒸馏水中煮沸溶解,冷至 80℃。

4.19.2.4 将以上三液合并,补充蒸馏水至 1 000 mL,校正 pH,加 0.5% 煌绿水溶液 5 mL,摇匀。冷至 50℃~55℃,倾注平皿。

注:此培养基不需高压灭菌。制备过程不宜过分加热,以免降低其选择性。应在临用前一天制备,贮存于室温暗处。超过 48 h 不宜使用。

### 4.20 DHL 琼脂(Deoxycholate Hydrogen sulfide Lactose Agar)

#### 4.20.1 成分

蛋白胨	20 g
-----	------

牛肉膏	3 g
乳糖	10 g
蔗糖	10 g
去氧胆酸钠	1 g
硫代硫酸钠	2.3 g
柠檬酸钠	1 g
柠檬酸铁铵	1 g
中性红	0.03 g
琼脂	18 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.3	

#### 4.20.2 制法

将除中性红和琼脂以外的成分溶解于 400 mL 蒸馏水中,校正 pH,再将琼脂于 600 mL 蒸馏水中煮沸溶解,两液合并,并加入 0.5% 中性红水溶液 6 mL,待冷至 50℃~55℃,倾注平板。

#### 4.21 HE 琼脂(Hektoen Enteric Agar)

##### 4.21.1 成分

胨	12 g
牛肉膏	3 g
乳糖	12 g
蔗糖	12 g
水杨素	2 g
胆盐	20 g
氯化钠	5 g
琼脂	18 g~20 g
蒸馏水	1 000 mL
0.4% 溴麝香草酚蓝溶液	16 mL
Andrade 指示剂	20 mL
甲液	20 mL
乙液	20 mL
pH7.5	

##### 4.21.2 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,加热溶解。加入甲液和乙液于基础液内,校正 pH。再加入指示剂,并与琼脂液合并,待冷至 50℃~55℃,倾注平板。

注 1: 此培养基不可高压灭菌。

注 2: 甲液的配制

硫代硫酸钠	34 g
柠檬酸铁铵	4 g
蒸馏水	100 mL

注 3: 乙液的配制

去氧胆酸钠	10 g
蒸馏水	100 mL

注 4: Andrade 指示剂

酸性复红	0.5 g
------	-------

1 mol/L 氢氧化钠溶液	16 mL
蒸馏水	100 mL

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

#### 4.22 SS 琼脂

##### 4.22.1 基础培养基

牛肉膏	5 g
胨	5 g
三号胆盐	3.5 g
琼脂	17 g
蒸馏水	1 000 mL

将牛肉膏、胨和胆盐溶解于 400 mL 蒸馏水中,将琼脂加入于 600 mL 蒸馏水中,煮沸使其溶解,再将两液,121℃ 高压灭菌 15 min,保存备用。

##### 4.22.2 完全培养基

基础培养基	1 000 mL
乳糖	10 g
柠檬酸钠	8.5 g
硫代硫酸钠	8.5 g
10% 柠檬酸铁溶液	10 mL
1% 中性红溶液	2.5 mL
0.1% 煌绿溶液	0.33 mL

加热溶化基础培养基,按比例加入上述除染料以外之各成分,充分混合均匀,校正至 pH7.0,加入中性红和煌绿溶液,倾注平板。

注 1: 制好的培养基宜当日使用,或保存于冰箱内于 48 h 内使用。

注 2: 煌绿溶液配好后应在 10 d 以内使用。

注 3: 可以购用 SS 琼脂的干燥培养基。

#### 4.23 WS 琼脂

##### 4.23.1 成分

胨	12 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	5 g
乳糖	12 g
蔗糖	12 g
十二烷基硫酸钠	2 g
琼脂	15 g
Andrade 指示剂	20 mL
0.4% 溴麝香草酚蓝溶液	16 mL
甲液	20 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.0	

##### 4.23.2 制法

除指示剂和甲液外,将其他成分加热溶解,不需消毒,校正 pH 后加入指示剂和甲液,倾注平板应呈草绿色。

注 1: 供沙门氏菌分离用。

注 2: Andrade 指示剂和甲液的配制均见 HE 琼脂。

4.24 麦康凯琼脂

4.24.1 成分

蛋白胨	17 g
胨	3 g
猪胆盐(或牛、羊胆盐)	5 g
氯化钠	5 g
琼脂	17 g
蒸馏水	1 000 mL
乳糖	10 g
0.01%结晶紫水溶液	10 mL
0.5%中性红水溶液	5 mL

4.24.2 制法

4.24.2.1 将蛋白胨、胨、胆盐和氯化钠溶解于400 mL蒸馏水中,校正pH7.2。将琼脂加入600 mL蒸馏水中,加热溶解。将两液合并,分装于烧瓶内,121℃高压灭菌15 min备用。

4.24.2.2 临用时加热溶化琼脂,趁热加入乳糖,冷至50℃~55℃时,加入结晶紫和中性红水溶液,摇匀后倾注平板。

注:结晶紫及中性红水溶液配好后须经高压灭菌。

4.25 伊红美蓝琼脂(EMB)

4.25.1 成分

蛋白胨	10 g
乳糖	10 g
磷酸氢二钾	2 g
琼脂	17 g
2%伊红Y溶液	20 mL
0.65%美蓝溶液	10 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.1	

4.25.2 制法

将蛋白胨、磷酸盐和琼脂溶解于蒸馏水中,校正pH,分装于烧瓶内,121℃高压灭菌15 min备用。临用时加入乳糖并加热溶化琼脂,冷至50℃~55℃,加入伊红和美蓝溶液,摇匀,倾注平板。

4.26 三糖铁琼脂(TSI)

4.26.1 成分

蛋白胨	20 g
牛肉膏	5 g
乳糖	10 g
蔗糖	10 g
葡萄糖	1 g
氯化钠	5 g
硫酸亚铁铵 $[\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$	0.2 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼脂	12 g
酚红	0.025 g
蒸馏水	1 000 mL

pH7.4

## 4.26.2 制法

将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH。加入琼脂,加热煮沸,以溶化琼脂。加入 0.2% 酚红水溶液 12.5 mL,摇匀。分装试管,装量宜多些,以便得到较高的底层。121℃ 高压灭菌 15 min,放置高层斜面备用。

## 4.27 三糖铁琼脂(换用方法)

## 4.27.1 成分

蛋白胨	15 g
胨	5 g
牛肉膏	3 g
酵母膏	3 g
乳糖	10 g
蔗糖	10 g
葡萄糖	1 g
氯化钠	5 g
硫酸亚铁	0.2 g
硫代硫酸钠	0.3 g
琼脂	12 g
酚红	0.025 g
蒸馏水	1 000 mL

pH7.4

## 4.27.2 制法

将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH。加入琼脂,加热煮沸,以溶化琼脂。加入 0.2% 酚红水溶液 12.5 mL,摇匀。分装试管,装量宜多些,以便得到较高的底层。121℃ 高压灭菌 15 min,放置高层斜面备用。

## 4.28 克氏双糖铁琼脂(KI)

## 4.28.1 上层培养基成分

血消化汤(pH7.6)	500 mL
琼脂	6.5 g
硫代硫酸钠	0.1 g
硫酸亚铁铵	0.1 g
乳糖	5 g
0.2% 酚红溶液	5 mL

## 4.28.2 下层培养基成分

血消化汤(pH7.6)	500 mL
琼脂	2 g
葡萄糖	1 g
0.2% 酚红溶液	5 mL

## 4.28.3 制法

4.28.3.1 取血消化汤按上层和下层的琼脂用量,分别加入琼脂,加热溶解。

4.28.3.2 分别加入其他各种成分。将上层培养基分装于烧瓶内;将下层培养基分装于灭菌 12 mm×100 mm 试管内,每管约 2 mL。115℃ 高压灭菌 10 min。

4.28.3.3 将上层培养基放在 56℃ 水浴箱内保温;将下层培养基直立放在室温内,使其凝固。

4.28.3.4 俟下层培养基凝固后,以无菌手续将上层培养基分装于下层培养基的上面,每管约 1.5 mL,放成斜面。

#### 4.29 克氏双糖铁琼脂(换用方法)

##### 4.29.1 成分

蛋白胨	20 g
牛肉膏	3 g
酵母膏	3 g
乳糖	10 g
葡萄糖	1 g
氯化钠	5 g
柠檬酸铁铵	0.5 g
硫代硫酸钠	0.5 g
琼脂	12 g
酚红	0.025 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

##### 4.29.2 制法

将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH。加入琼脂,加热煮沸,以溶化琼脂。加入 0.2% 酚红水溶液 12.5 mL,摇匀。分装试管,装量宜多些,以便得到比较高的底层。121℃ 高压灭菌 15 min,放置高层斜面备用。

#### 4.30 半固体琼脂

##### 4.30.1 成分

蛋白胨	1 g
牛肉膏	0.3 g
氯化钠	0.5 g
琼脂	0.35 g~0.4 g
蒸馏水	100 mL
pH7.4	

##### 4.30.2 制法

按以上成分配好,煮沸使溶解,并校正 pH。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。

#### 4.31 葡萄糖半固体发酵管

##### 4.31.1 成分

蛋白胨	1 g
牛肉膏	0.3 g
氯化钠	0.5 g
1.6% 溴甲酚紫酒精溶液	0.1 mL
葡萄糖	1 g
琼脂	0.3 g
蒸馏水	100 mL
pH7.4	

##### 4.31.2 制法

将蛋白胨、牛肉膏和氯化钠加入于水中,校正 pH 后加入琼脂加热溶解,再加入指示剂和葡萄糖,分



装小试管,灭菌 121℃ 15 min。

#### 4.32 5%乳糖发酵管

##### 4.32.1 成分

蛋白胨	0.2 g
氯化钠	0.5 g
乳糖	5 g
2%溴麝香草酚蓝水溶液	1.2 mL
蒸馏水	100 mL
pH7.4	

##### 4.32.2 制法

除乳糖以外的各成分溶解于 50 mL 蒸馏水内,校正 pH。将乳糖溶解于另外 50 mL 蒸馏水内,分别灭菌 121℃ 15 min,将两液混合,以无菌操作分装于灭菌小试管内。

注:在此培养基内,大部分乳糖迟缓发酵的细菌可于 1 d 内发酵。

#### 4.33 CAYE 培养基

此培养基附在肠毒素诊断试剂盒内,如无此培养基,亦可用 Honda 氏产毒肉汤。

#### 4.34 Honda 氏产毒肉汤

##### 4.34.1 成分

水解酪蛋白	20 g
酵母浸膏粉	10 g
氯化钠	2.5 g
磷酸氢二钠	15 g
葡萄糖	5 g
微量元素	0.5 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.5	

##### 4.34.2 制法

溶解后校正 pH,高压灭菌 121℃ 15 min,待冷至 45℃~50℃时,加入林可霉素溶液,每毫升培养基内含 90 μg。

##### 4.34.3 微量元素配方

硫酸镁	5 g
氯化铁	0.5 g
氯化钴	2 g
蒸馏水	100 mL

#### 4.35 Elek 氏培养基(毒素测定用)

##### 4.35.1 成分

胨	20 g
麦芽糖	3 g
乳糖	0.7 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g
40%氢氧化钠溶液	1.5 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.8	

## 4.35.2 制法

用 500 mL 蒸馏水溶解琼脂以外的成分,煮沸,并用滤纸过滤。用 1 mol/L 氢氧化钠校正 pH。用另外 500 mL 蒸馏水加热溶解琼脂。将两液混合,分装试管 10 mL 或 20 mL,121°C 高压灭菌 15 min,临用时加热溶化琼脂倾注平板。

## 4.36 氯化镁孔雀绿羧苄青霉素培养基

## 4.36.1 成分

甲液:	胰蛋白胨	10 g
	蒸馏水	1 000 mL
乙液:	磷酸氢二钠	9.5 g
	蒸馏水	1 000 mL
丙液:	氯化镁( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ )	40 g
	蒸馏水	400 mL
以上分别在 121°C 灭菌 15 min。		
丁液:	孔雀绿	0.2 g
	蒸馏水	100 mL
戊液:	羧苄青霉素	1 mg/mL

## 4.36.2 制法

取甲液 620 mL、乙液 160 mL、丙液 212 mL 混合,再加入丁液 6.4 mL 和戊液 2.4 mL,即为 1 000 mL 培养基。分装灭菌烧瓶,每瓶 100 mL,或灭菌试管 10 mL。

## 4.37 胰蛋白胨水

## 4.37.1 成分

胰蛋白胨	10 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.0	

## 4.37.2 制法

将上述成分溶解,校正 pH。分装试管,121°C 高压灭菌 15 min。

## 4.38 Rustigian 氏尿素培养液

## 4.38.1 成分

尿素	20.0 g
酵母浸膏	0.1 g
磷酸二氢钾( $KH_2PO_4$ )	0.091 g
磷酸氢二钠( $Na_2HPO_4$ )	0.095 g
酚红	0.01 g
蒸馏水	1 000 mL

## 4.38.2 制法

将上述成分于蒸馏水中溶解,校正 pH 为  $6.8 \pm 0.2$ 。不要加热,过滤除菌,无菌分装于灭菌小试管中,每管为约 3 mL。

## 4.38.3 用途

尿素酶试验用。

## 4.39 氯化钠结晶紫增菌液

## 4.39.1 成分

蛋白胨	20 g
氯化钠	40 g

0.01%结晶紫溶液	5 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH9.0	

#### 4.39.2 制法

除结晶紫外,其他按上述成分配好,加热溶解。约加30%氢氧化钾溶液4.5 mL校正pH。加热煮沸,过滤,再加入结晶紫溶液混合后分装试管。121℃高压灭菌15 min。

#### 4.40 氯化钠蔗糖琼脂

##### 4.40.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	10 g
氯化钠	50 g
蔗糖	10 g
琼脂	18 g
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	20 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.8	

##### 4.40.2 制法

将牛肉膏、蛋白胨及氯化钠溶解于蒸馏水中,校正pH。加入琼脂,加热溶解,过滤。加入指示剂,分装烧瓶100 mL。121℃高压灭菌15 min备用。临用前在100 mL培养基内加入蔗糖1 g,加热溶化并冷至50℃,倾注平板。

#### 4.41 嗜盐菌选择性琼脂

##### 4.41.1 成分

蛋白胨	20 g
氯化钠	40 g
琼脂	17 g
0.01%结晶紫溶液	5 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH8.7	

##### 4.41.2 制法

除结晶紫和琼脂外,其他按上述成分配好,校正pH。加入琼脂,加热溶解,再加入结晶紫溶液,分装烧瓶,每瓶100 mL。

#### 4.42 3.5%氯化钠三糖铁琼脂

##### 4.42.1 成分

三糖铁琼脂	1 000 mL
氯化钠	30 g

##### 4.42.2 制法

按4.26或4.27配制三糖铁琼脂,再加入氯化钠30 g,分装试管,121℃高压灭菌15 min。放置高层斜面备用。

#### 4.43 氯化钠血琼脂

##### 4.43.1 成分

酵母膏	3 g
蛋白胨	10 g
氯化钠	70 g

磷酸氢二钠	5 g
甘露醇	10 g
结晶紫	0.001 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL

4.43.2 制法

调 pH8.0 加热 30 min(不必高压),待冷至 45℃左右时,加入新鲜人或兔血(5%~10%)混合均匀,倾注平皿。

4.44 嗜盐性试验培养基

4.44.1 成分

蛋白胨	2 g
氯化钠	按不同量加
蒸馏水	100 mL
pH7.7	

4.44.2 制法

配制 2%蛋白胨水,校正 pH,共配制五瓶,每瓶 100 mL。每瓶分别加入不同量的氯化钠:(1)不加;(2)3 g;(3)7 g;(4)9 g;(5)11 g。待溶解后分装试管。121℃高压灭菌 15 min。

4.45 3.5%氯化钠生化试验培养基

4.45.1 成分及制法

根据所需糖的种类按 3.2 配制。只是将氯化钠含量改为 3.5%,pH 为 7.7。

4.46 改良磷酸盐缓冲液(小肠结肠炎耶尔森氏菌专用)

4.46.1 成分

磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	8.23 g
磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	1.2 g
氯化钠( $\text{NaCl}$ )	5.0 g
三号胆盐	1.5 g
山梨醇	20 g

4.46.2 制法

将磷酸盐及氯化钠溶于蒸馏水中,再加入三号胆盐及山梨醇,溶解后校正 pH 为 7.6,分装试管,于 121℃高压灭菌 15 min,备用。

4.47 CIN-1 培养基

4.47.1 基础培养基

胰胨	20.0 g
酵母浸膏	2.0 g
甘露醇	20.0 g
氯化钠	1.0 g
去氧胆酸钠	2.0 g
硫酸镁( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	0.01 g
琼脂	12.0 g
蒸馏水	950 mL
pH7.5±0.1	

将基础培养基高压灭菌。

4.47.2 Irgasan:以 95%的乙醇作溶剂,溶解二苯醚,配成 0.4%的溶液,待基础液冷至 80℃时,加入

1 mL混匀。

#### 4.47.3 冷至 50℃时,加入:

中性红(3 mg/mL)	10.0 mL
结晶紫(0.1 mg/mL)	10.0 mL
头孢菌素(1.5 mg/mL)	10.0 mL
新生霉素(0.25 mg/mL)	10.0 mL

最后不断搅拌着加入 10.0 mL 的 10%氯化铯,倒平皿。

#### 4.48 改良 Y 培养基

##### 4.48.1 成分

蛋白胨	15.0 g
氯化钠	5.0 g
乳糖	10.0 g
草酸钠	2.0 g
去氧胆酸钠	6.0 g
三号胆盐	5.0 g
丙酮酸钠	2.0 g
孟加拉红	40 mg
水解酪蛋白	5.0 g
琼脂	17.0 g
蒸馏水	1 000 mL

##### 4.48.2 制法

将上述成分混合,于 121℃高压灭菌 15 min,待冷至 45℃左右时,倾注平皿。最终 pH7.4±0.1。

#### 4.49 改良克氏双糖

##### 4.49.1 成分

蛋白胨	20 g
牛肉膏	3 g
酵母膏	3 g
山梨醇	20 g
葡萄糖	1 g
氯化钠	5 g
柠檬酸铁铵	0.5 g
硫代硫酸钠	0.5 g
琼脂	12 g
酚红	0.025 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

##### 4.49.2 制法

将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH。加入 0.02%酚红水溶液 12.5 mL,摇匀。分装试管,装量宜多些,以便得到比较高的底层。121℃高压灭菌 15 min,放置高层斜面备用。

#### 4.50 快速硫化氢(H<sub>2</sub>S)试验琼脂

##### 4.50.1 制法

A 液:布氏杆菌肉汤	970 mL
无水磷酸氢二钠	1.18 g

无水磷酸二氢钾 0.23 g  
琼脂 2 g

加热溶解,高压灭菌,121℃ 15 min。加入 B 液 10%硫酸亚铁(含 7H<sub>2</sub>O),C 液 10%偏亚硫酸氢钠, D 液 10%丙酮酸钠。

4.50.2 上述 B、C、D 溶液均新鲜配制,用除菌滤膜过滤。将此除菌溶液各 1 mL 混合后再入 A 液中, 无菌调 pH 到 7.3,无菌分装,每管 3 mL,塞紧备用。

#### 4.51 DNA 酶甲基绿琼脂(DTA)

##### 4.51.1 成分

DNA	2.0 g
植物蛋白胨	5.0 g
胰蛋白胨	15.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂(1.5%)	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.3	

##### 4.51.2 制法

称取各成分后,加水徐徐加热,避免形成饼溶性丝状物,121℃ 15 min 高压。

##### 4.51.3 甲基绿配制(MG)

配制 0.5%的甲基绿水溶液。用等体积三氯甲烷作 5 次~7 次抽提,直到三氯甲烷层无色为止。过滤除菌,置 4℃ 保存。

4.51.4 每 100 mL 灭菌溶化的 DTA 培养基加 1 mL(MG)染料液,甲基绿最终浓度为 0.005%。

#### 4.52 Cary-Blair 氏运送培养基

##### 4.52.1 成分

硫乙醇酸钠	1.5 g
磷酸氢二钠	1.1 g
氯化钠	5 g
琼脂	5 g
蒸馏水	1 000 mL
1%氯化钙溶液	9 mL
pH8.4	

##### 4.52.2 制法

除氯化钙外,其他均按上述成分配制,加热溶解。冷至 50℃,加入氯化钙溶液,校正 pH 至 8.4。分装试管,每支 5 mL,或注入具有胶塞的瓶内。121℃ 高压灭菌 15 min。

##### 4.52.3 用途

作空肠弯曲杆菌、霍乱弧菌、沙门氏菌、志贺氏菌采样时用。

注:在该采样管中的标本,只能保存 72 h。

#### 4.53 改良 Camp-BAP 培养基

##### 4.53.1 成分

胰蛋白胨	10.0 g
蛋白胨	10.0 g
葡萄糖	1.0 g
酵母浸膏	2.0 g
氯化钠	5.0 g

焦亚硫酸钠	0.1 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL
硫乙醇酸钠	1.5 g
万古霉素	10 mg
多粘菌素 B	2 500 国际单位
两性霉素 B(Amphotericin B)	2 mg
头孢霉素(Cephalosporin,亦可用 ceporan)	15 mg
脱纤维羊血	50 mL

#### 4.53.2 制法

4.53.2.1 除抗生素和羊血外,将其他成分混合,加热溶解,校正 pH 至  $7.0 \pm 0.2$ 。装瓶,每瓶 100 mL。  
121℃ 高压灭菌 15 min,备用。此为布氏琼脂基础培养基。

4.53.2.2 临用前,加热溶解基础脂肪,冷至 60℃。每 100 mL 基础琼脂中,加入脱纤维羊血 5 mL、抗生素混合液 0.5 mL 及两性霉素 B。头孢霉素混合液 0.5 mL,摇匀,倾注平板。

#### 4.53.3 说明

4.53.3.1 两性霉素 B、头孢霉素混合液配法:称两性霉素 B 2mg 和头孢霉素 15 mg 与无菌蒸馏水 5 mL 混合即成。

4.53.3.2 称量抗生素必须正确,操作必须小心慎重。

#### 4.54 Skirrow 氏培养基

##### 4.54.1 成分

蛋白胨	15.0 g
胰蛋白胨(tryptone)	2.5 g
酵母浸膏	5.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL
甲氧苄氨嘧啶(trimethoprim, TMP)	5.0 mg
万古霉素(vancomycin)	10.0 mg
多粘菌素 B(polymyxin)	2 500.0 国际单位
冻溶马血	70.0 mL

##### 4.54.2 制法

4.54.2.1 除甲氧苄氨嘧啶、抗生素和冻溶马血外,将其他成分混合溶解。校正 pH 7.4,装瓶 100 mL。  
121℃ 高压灭菌 15 min,备用。此即血琼脂基础培养基。

4.54.2.2 临用前,加热溶解基础培养基,冷至 60℃。每 100 mL 基础培养基中,加入冻溶两次的马血 7 mL 及 TMP 抗生素混合液 0.5 mL,摇匀,倾注无菌平板。

##### 4.54.3 用途

分离空肠弯曲菌之用。

##### 4.54.4 说明

###### 4.54.4.1 TMP、抗生素混合液配法

先配成乳酸 TMP 溶液,以乳酸 62 mg(约 1 滴~2 滴)混合于 100 mL 灭菌蒸馏水中,然后再加入 TMP 溶液。

取乳酸 TMP 溶液 5 mL,再加入万古霉素及多粘菌素 B,摇匀后,即成 TMP 抗生素混合液。

4.54.4.2 TMP、抗生索的作用

4.54.4.2.1 TMP(甲氧苄氨嘧啶,双称磺胺增效剂或抗菌增效剂):为广谱抗菌剂,其抗菌谱与磺胺嘧啶相似,但对链球菌及大多数革兰氏阴性菌的抗菌作用较磺胺嘧啶强,与抗生索合用有协同作用,能增加杀菌和抑菌作用。

4.54.4.2.2 万古霉素:是窄谱抗菌素,仅对革兰氏阳性菌有较强的杀菌和抑菌作用,如溶血性链球菌,草绿色链球菌、肠球菌、金黄色葡萄球菌等。

4.54.4.2.3 多粘菌素 B:仅限于对革兰氏阴性菌,如对产气杆菌、流感杆菌、痢疾杆菌等。

4.54.4.2.4 TMP 和抗生索称量必须正确,操作必须慎重小心。

4.55 TTC 琼脂

4.55.1 成分

胰蛋白胨(tryptone)	17.0 g
大豆胨	3.0 g
葡萄糖	6.0 g
氯化钠	2.5 g
硫乙醇酸钠	0.5 g
琼脂	15.0 g
L-胱氨酸-盐酸(L-Cys · HCl)	0.25 g
亚硫酸钠	0.1 g
1%氯化血红素溶液	0.5 mL
1%维生素 K <sub>1</sub> 溶液	0.1 mL
2,3,5-氯化三苯四氮唑(TTC)	0.4 g
蒸馏水	1 000 mL

4.55.2 制法

4.55.2.1 除 1%氯化血红素、维生素 K<sub>1</sub> 和 TTC 外,将其他成分混合,加热溶解。L-胱氨酸先用少量氢氧化钠溶解后加入,校正 pH7.2,然后加入预先配成的氯化血红素和维生素 K<sub>1</sub>,充分摇匀。装瓶,每瓶 100 mL。121℃高压灭菌 15 min,备用。

4.55.2.2 临用前,溶解基础琼脂,每 100 mL 基础培养基中,加入 TTC 40 mg,充分摇匀,倾注无菌平板。

4.55.3 说明

4.55.3.1 将可疑空肠弯曲菌接种于平板上,在微氧环境下,于 43℃培养 48 h。阳性菌落呈紫红色,空肠弯曲菌呈阳性反应;胎儿和肠道弯曲菌呈阴性反应。

4.55.3.2 1%氯化血红素溶液和 1%维生素 K<sub>1</sub> 溶液配法:称取氯化血红素 1 g 和 1 mol/L 氢氧化钠 5 mL 混合。再用蒸馏水稀释到 100 mL,即为 1%氯化血红素溶液。

称取维生素 K<sub>1</sub> 1 g 和纯乙醇 99 mL 混合,或用维生素 K<sub>1</sub> 针剂。

4.56 甘氨酸培养基

4.56.1 成分

布氏(Brucella)肉汤	1 000 mL
琼脂	1.6 g
甘氨酸(glycine)(又称氨基乙酸 aminoacetic acid)	10.0 g

4.56.2 制法

将以上成分混合,加热溶解,校正 pH7.0±0.2,分装 13 mm×100 mm 试管,每支约 4 mL 左右,121℃高压灭菌 15 min,备用。



## 4.56.3 说明

空肠弯曲菌对甘氨酸有耐受性,穿刺接种于甘氨酸培养基中,置于微需氧环境下,在43℃培养48 h。在培养基表面出现云雾状现象为阳性,胎儿弯曲菌空肠亚种为阳性结果。

## 4.57 改良磷酸盐缓冲液

## 4.57.1 成分

磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )	8.23 g
磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	1.20 g
氯化钠	5.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL
山梨醇	10.0 g
胆盐	1.5 g

## 4.57.2 制法

将磷酸盐及氯化钠溶于蒸馏水中,再加入山梨醇及胆盐,溶解后,校正pH为7.6,分装试管。于121℃高压灭菌15 min,备用。

## 4.58 氯化镁孔雀绿肉汤

## 4.58.1 成分

1%胰胨水(高压灭菌)	156 mL
1/15 mol/L 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )溶液(高压灭菌)	40 mL
40%(质量浓度)氯化镁( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )水溶液(100℃煮沸数分钟)	53 mL
0.2%孔雀绿溶液	1.6 mL

## 4.58.2 制法

将上述几种溶液按列出的容量混合,即成氯化镁孔雀绿肉汤。分装试管,每管100 mL,于4℃可保存10个月。如若配氯化镁孔雀绿羧苄青霉素肉汤,除上述几种溶液外,再配制羧苄青霉素(carpenicillin)溶液(溶解1 mg于1 mL水中),将此溶液与其他溶液混合,即成。

## 4.59 胰酪胨大豆肉汤

## 4.59.1 成分

胰酪胨(或胰蛋白胨)	17 g
植物蛋白胨(或大豆蛋白胨)	3 g
氯化钠	100 g
磷酸氢二钾	2.5 g
葡萄糖	2.5 g
蒸馏水	1 000 mL

## 4.59.2 制法

将上述成分混合,加热并轻轻搅拌并溶解,分装后,121℃高压灭菌15 min,最终pH7.3±0.2。

## 4.60 Baird-Parker 氏培养基

## 4.60.1 成分

胰蛋白胨	10 g
牛肉膏	5 g
酵母膏	1 g
丙酮酸钠	10 g
甘氨酸	12 g
氯化锂( $\text{LiCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	5 g
琼脂	20 g

蒸馏水 950 mL

4.60.2 增菌剂的配法

30%卵黄盐水 50 mL 与除菌过滤的 1%亚碲酸钾溶液 10 mL 混合,保存于冰箱内。

4.60.3 制法

将各成分加到蒸馏水中,加热煮沸至完全溶解。冷至 25℃,校正 pH。分装每瓶 95 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50℃,每 95 mL 加入预热至 50℃的卵黄亚碲酸钾增菌剂 5 mL 摇匀后倾注平板。培养基应是致密不透明的。使用前在冰箱储存不得超过 48 h。

4.61 7.5%氯化钠肉汤

4.61.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	3 g
氯化钠	75 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

4.61.2 制法

将上述成分加热溶解,校正 pH,分装试管,121℃ 高压灭菌 15 min。

4.62 匹克氏肉汤

4.62.1 成分

含 1%胰蛋白胨的牛心浸液	200 mL
1:25 000 结晶紫盐水溶液	10 mL
1:800 三氯化钠溶液	10 mL
脱纤维兔血(或羊血)	10 mL

4.62.2 制法

将上述已灭菌的各种成分,用无菌手续依次混合,分装于无菌试管内,每管内约 2 mL,保存于冰箱内备用。

4.63 3.8%柠檬酸钠溶液

4.63.1 成分

柠檬酸钠	3.8 g
蒸馏水	100 mL

4.63.2 制法

取柠檬酸钠 3.8 g,加蒸馏水到 100 mL,溶解后过滤,装瓶,121℃ 高压灭菌 15 min。

注:兔(人)血浆制备:取 3.8%柠檬酸钠溶液一份加兔(人)全血四份,混好静置之,则血球下降,即可得血浆进行试验。

4.64 甘露醇卵黄多粘菌素琼脂

4.64.1 成分

蛋白胨	10 g
牛肉膏	1 g
甘露醇	10 g
氯化钠	10 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL
0.2%酚红溶液	13 mL
50%卵黄液	50 mL

多粘菌素 B 100 国际单位/ mL

pH7.4

#### 4.64.2 制法

将前面五种成分加入于蒸馏水中,加热溶解,校正 pH,加入酚红溶液。分装烧瓶,每瓶 100 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50℃,每瓶加入 50% 卵黄液 5 mL 及多粘菌素 B10000IU,混匀后倾注平板。

#### 4.65 酪蛋白琼脂

##### 4.65.1 成分

酪蛋白	10 g
牛肉膏	3 g
磷酸氢二钠	2 g
氯化钠	5 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL
0.4% 溴麝香草酚蓝溶液	12.5 mL

pH7.4

##### 4.65.2 制法

将除指示剂外的各成分混合,加热溶解(但酪蛋白不溶解),校正 pH。加入指示剂,分装烧瓶,121℃ 高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50℃,倾注平板。

注:将菌株划线接种于平板上,如沿菌落周围有透明圈形成,即为能水解酪蛋白。

#### 4.66 木糖-明胶培养基

##### 4.66.1 成分

胰胨	10 g
酵母膏	10 g
木糖	10 g
磷酸氢二钠	5 g
明胶	120 g
蒸馏水	1 000 mL
0.2% 酚红溶液	25 mL

pH7.6

##### 4.66.2 制法

将除酚红以外的各成分混合,加热溶解,校正 pH。加入酚红溶液,分装试管,121℃ 高压灭菌 15 min,迅速冷却。

#### 4.67 庖肉培养基

##### 4.67.1 成分

牛肉浸液	1 000 mL
蛋白胨	30 g
酵母膏	5 g
磷酸二氢钠	5 g
葡萄糖	3 g
可溶性淀粉	2 g
碎肉渣	适量

pH7.8

4.67.2 制法

4.67.2.1 称取新鲜除脂肪和筋膜的碎牛肉 500 g,加蒸馏水 1 000 mL 和 1 mol/L 氢氧化钠溶液 25 mL,搅拌煮沸 15 min,充分冷却,除去表层脂肪,澄清,过滤,加水补足至 1 000 mL。加入除碎肉渣外的各种成分,校正 pH。

4.67.2.2 碎肉渣经水洗后晾至半干,分装 15 mm×150 mm 试管约 2 cm~3 cm 高,每管加入还原铁粉 0.1 g~0.2 g 或铁屑少许。将上述液体培养基分装至每管内超过肉渣表面约 1 cm。上面覆盖溶化的凡士林或液体石蜡 0.3 cm~0.4 cm。121℃ 高压灭菌 15 min。

4.68 卵黄琼脂培养基

4.68.1 成分

4.68.1.1 基础培养基

肉浸液	1 000 mL
蛋白胨	15 g
氯化钠	5 g
琼脂	25 g~30 g
pH7.5	

4.68.1.2 50% 葡萄糖水溶液。

4.68.1.3 50% 卵黄盐水悬液。

4.68.2 制法

制备基础培养基,分装每瓶 100 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50℃,每瓶内加入 50% 葡萄糖水溶液 2 mL 和 50% 卵黄盐水悬液 10 mL~15 mL,摇匀,倾注平板。

4.69 亚硫酸盐-多粘菌素-磺胺嘧啶琼脂(SPS)

4.69.1 成分

胰酶消化酪蛋白胨	15 g
酵母膏	10 g
柠檬酸铁铵	0.7 g~1.0 g
琼脂	15 g
蒸馏水	1 000 mL
10% 亚硫酸钠水溶液(新配)	5 mL
0.12% 多粘菌素 B 硫酸盐水溶液	10 mL
1.2% 磺胺嘧啶钠水溶液	10 mL

4.69.2 制法

前面五种成分配合后加热溶解,校正 pH 分装每瓶 1 000 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。临用时加热溶化琼脂,冷至 50℃。按比例加入后三种溶液,摇匀,倾注平板。

4.70 液体硫乙醇酸盐培养基(FT)

4.70.1 成分

胰酶消化酪蛋白胨	15 g
L-胱氨酸	0.5 g
葡萄糖	5 g
酵母膏	5 g
氯化钠	2.5 g
硫乙醇酸钠	0.5 g
刃天青(Resazurin)	0.001 g
琼脂	0.75 g

蒸馏水	1 000 mL
pH7.1	

## 4.70.2 制法

煮沸溶解,冷却后校正 pH,分装试管,每管 10 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。临用前隔水煮沸 10 min,以驱除培养基中溶解的氧气,迅速冷却。

## 4.71 含铁牛奶培养基

## 4.71.1 成分

新鲜全脂牛奶	1 000 mL
硫酸亚铁	1 g
蒸馏水	50 mL

## 4.71.2 制法

将硫酸亚铁溶解于蒸馏水中,不断搅拌,缓慢地加入于 1 000 mL 牛奶中,混匀。分装试管,每管 10 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。本培养基必须新鲜制备。

## 4.72 动力-硝酸盐培养基(A 法)

## 4.72.1 成分

蛋白胨	5 g
牛肉膏	3 g
硝酸钾	1 g
琼脂	3 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.0	

## 4.72.2 制法

加热溶解,校正 pH。分装试管,每管 10 mL,121℃ 高压灭菌 15 min。

## 4.73 动力-硝酸盐培养基(B 法)

## 4.73.1 成分

蛋白胨	5 g
牛肉膏	3 g
硝酸钾	5 g
磷酸氢二钠	2.5 g
半乳糖	5 g
甘油	5 g
琼脂	3 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

## 4.73.2 制法

将以上各成分混合,加热溶解,校正 pH。分装试管,121℃ 高压灭菌 15 min。

## 4.74 血清肉汤

在肉浸液肉汤(3.1)中按 10 : 1 以无菌操作加马(或羊、兔)血清即为血清肉汤。

## 4.75 马丁氏肉汤

## 4.75.1 成分

蛋白胨液	500 mL
肉浸液	500 mL
冰乙酸	6 g

葡萄糖 10 g

4.75.2 制法

4.75.2.1 将蛋白胨液 500 mL 与肉浸液 500 mL 混合,加热至 80℃,加冰乙酸 1 mL,摇匀,再煮沸 5 min。

4.75.2.2 加 15%氢氧化钠溶液约 20 mL,校正 pH7.2。

4.75.2.3 加乙酸钠 6 g,再校正 pH 至 7.2。

4.75.2.4 继续煮沸 10 min,用滤纸过滤。在每 1 000 mL 肉汤内,再加葡萄糖 10 g,然后装瓶,每瓶 500 mL。放置高压灭菌器内经 121℃灭菌 15 min,备用。

注:蛋白胨液的制备:取新鲜猪胃,去脂绞碎。称取 350 g 加 50℃左右蒸馏水 1 000 mL,充分摇匀。再加盐酸(化学纯,比重 1.19)10 mL,经充分混合后,置 56℃温箱中消化 24 h(每小时搅拌 1 次~2 次),消化完毕后,加热,用滤纸过滤,备用。

4.76 明胶培养基

4.76.1 成分

蛋白胨	5 g
牛肉膏	3 g
明胶	120 g
蒸馏水	1 000 mL

4.76.2 制法

将上述成分混合,置流动蒸气灭菌器内,加热溶解,校正 pH 至 7.0~7.2,用绒布过滤。分装试管,121℃灭菌 15 min,备用。

4.77 察氏培养基

4.77.1 成分

硝酸钠	3 g
磷酸氢二钾	1 g
硫酸镁(MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O)	0.5 g
氯化钾	0.5 g
硫酸亚铁	0.01 g
蔗糖	30 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

4.77.2 制法

加热溶解,分装后 121℃灭菌 20 min。

4.77.3 用途

青霉、曲霉鉴定及保存菌种用。

4.78 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)

4.78.1 成分

马铃薯(去皮切块)	300 g
葡萄糖	20 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

4.78.2 制法

将马铃薯去皮切块,加 1 000 mL 蒸馏水,煮沸 10 min~20 min。用纱布过滤,补加蒸馏水至 1 000 mL。加入葡萄糖和琼脂,加热溶化,分装,121℃高压灭菌 20 min。

## 4.78.3 用途

分离培养霉菌。

## 4.79 马铃薯琼脂

## 4.79.1 成分

马铃薯(去皮切块)	200 g
琼脂	20 g
蒸馏水	1 000 mL

## 4.79.2 制法

同马铃薯葡萄糖琼脂。

## 4.79.3 用途

鉴定霉菌用。

## 4.80 孟加拉红培养基

## 4.80.1 成分

蛋白胨	5 g
葡萄糖	10 g
磷酸二氢钾	1 g
硫酸镁( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.5 g
琼脂	20 g
1/3 000 孟加拉红溶液	100 mL
蒸馏水	1 000 mL
氯霉素	0.1 g

## 4.80.2 制法

上述各成分加入蒸馏水中溶解后,再加孟加拉红溶液。另用少量乙醇溶解氯霉素加入培养基中,分装后,121℃灭菌 20 min。

## 4.80.3 用途

分离霉菌及酵母。

## 4.81 玉米粉琼脂

## 4.81.1 成分

玉米粉	60 g
琼脂	15 g~18 g
蒸馏水	1 000 mL

## 4.81.2 制法

将玉米粉加入蒸馏水中,搅匀,文火煮沸 1 h,纱布过滤,加琼脂后加热溶化,补足水量至 1 000 mL。分装,121℃灭菌 20 min。

## 4.81.3 用途

鉴定假丝酵母及霉菌。

## 4.82 大米粉培养基

## 4.82.1 制法

将不含荧光物质的籼米挑去杂质和变质米粒,磨成粗粉,分装后 121℃高压灭菌 20 min。

## 4.82.2 用途

霉菌产毒用。

4.83 亚硒酸盐煌绿增菌液

4.83.1 成分

蛋白胨	5 g
酵母浸膏	5 g
甘露醇	5 g
牛磺胆酸钠	1 g
20%亚硒酸氢钠溶液	20 mL
0.25 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.0)	100 mL
2%煌绿溶液	0.25 mL
蒸馏水	900 mL

4.83.2 制法

4.83.2.1 将前面四种成分溶解于蒸馏水中。

4.83.2.2 校正 pH,当用于干鸡蛋白样品时,pH8.2±0.1;用于其他干蛋品时,pH7.2±0.1;用于冰蛋品时,pH7.0±0.1;121℃高压灭菌 15 min,放冷备用。

4.83.2.3 临用前加入灭菌的 20%亚硒酸氢钠溶液及磷酸盐缓冲液,复查混合液的 pH,必要时进行校正。

4.83.2.4 加入煌绿溶液定量分装于灭菌的烧瓶内,每瓶 150 mL,于 1 d~5 d 内使用。

注 1: 20%亚硒酸氢钠溶液 121℃高压灭菌 15 min。

注 2: 0.25 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH7.0)配法;

磷酸氢二钾(无水)	21.8 g
磷酸二氢钾(无水)	17.1 g
蒸馏水	1 000 mL

121℃高压灭菌 15 min 后备用。

4.84 煌绿肉汤增菌液

4.84.1 成分

肉浸液肉汤(或牛肉膏汤)	1 000 mL
磷酸氢二钾	1 g
2%煌绿溶液	0.5 mL~10 mL

4.84.2 制法

4.84.2.1 将肉浸液肉汤加入磷酸氢二钾(原有磷酸氢二钾者可不加),校正 pH,分装烧瓶,每瓶 100 mL,121℃高压灭菌 20 min。

4.84.2.2 2%煌绿水溶液于临用前配制。

4.84.2.3 按比例[见 GB/T 4789.19—2003]于肉汤内加入煌绿溶液,摇匀,备用。

注 1: 加入煌绿溶液时,肉汤温度不宜过高,一般以放冷为宜。

注 2: 煌绿的纯度不应低于 93%。

4.85 0.1%蛋白胨水稀释液

4.85.1 成分

蛋白胨	1 g
蒸馏水	1 000 mL

4.85.2 制法

溶解蛋白胨于蒸馏水中,校正 pH 至 7.0,121℃灭菌 15 min。

4.86 肠毒素产毒培养基

4.86.1 成分

蛋白胨	20 g
-----	------



胰消化酪蛋白	200 mg(氨基酸)
氯化钠	5 g
磷酸氢二钾	1 g
磷酸二氢钾	1 g
氯化钙	0.1 g
硫酸镁	0.2 g
菸酸	0.01 g
蒸馏水	1 000 mL
琼脂	10 g~12 g(固体透析培养用)
pH7.2~7.4	

#### 4.86.2 制法

除琼脂外将所有成分混于水中,溶解后调 pH7.2~7.4,如用固体透析培养法再加入琼脂,121℃高压灭菌 30 min。

---