中华人民共和国国家标准

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

National food safety standard

Food microbiological examination: *Salmonella*

2010-03-26 发布　　2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部　发布

前　言

本标准代替 GB/T 4789.4-2008《食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验》。

本标准与 GB/T 4789.4-2008 相比，主要变化如下：

——修改了标准的中英文名称；

——修改了标准的范围；

——修改了培养基和试剂；

——修改了设备和材料；

——修改了附录 A。

本标准的附录 A、附录 B 为规范性附录。

本标准所代替的历次版本发布情况为：

——GB 4789.4-84、GB 4789.4-1994、GB/T 4789.4-2003、GB/T 4789.4-2008。

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 90 mm。

2.9　无菌试管：3 mm×50 mm、10 mm×75 mm。

2.10　无菌毛细管。

2.11　pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸。

2.12　全自动微生物生化鉴定系统。

3　培养基和试剂

3.1　缓冲蛋白胨水（BPW）：　见附录 A 中 A.1。

3.2　四硫磺酸钠煌绿（TTB）增菌液：见附录 A 中 A.2。

3.3　亚硒酸盐胱氨酸（SC）增菌液：见附录 A 中 A.3。

3.4　亚硫酸铋（BS）琼脂：见附录 A 中 A.4。

3.5　HE 琼脂：见附录 A 中 A.5。

3.6　木糖赖氨酸脱氧胆盐（XLD）琼脂：见附录 A 中 A.6。

3.7 沙门氏菌属显色培养基。

3.8 三糖铁（TSI）琼脂：见附录 A 中 A.7。

3.9 蛋白胨水、靛基质试剂：见附录 A 中 A.8。

3.10 尿素琼脂（pH 7.2）：见附录 A 中 A.9。

3.11 氰化钾 （KCN） 培养基：见附录 A 中 A.10。

3.12 赖氨酸脱羧酶试验培养基：见附录 A 中 A.11。

3.13 糖发酵管：见附录 A 中 A.12。

3.14 邻硝基酚 β-D 半乳糖苷（ONPG）培养基：见附录 A 中 A.13。

3.15 半固体琼脂：见附录 A 中 A.14。

3.16 丙二酸钠培养基：见附录 A 中 A.15。

3.17 沙门氏菌 O 和 H 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。

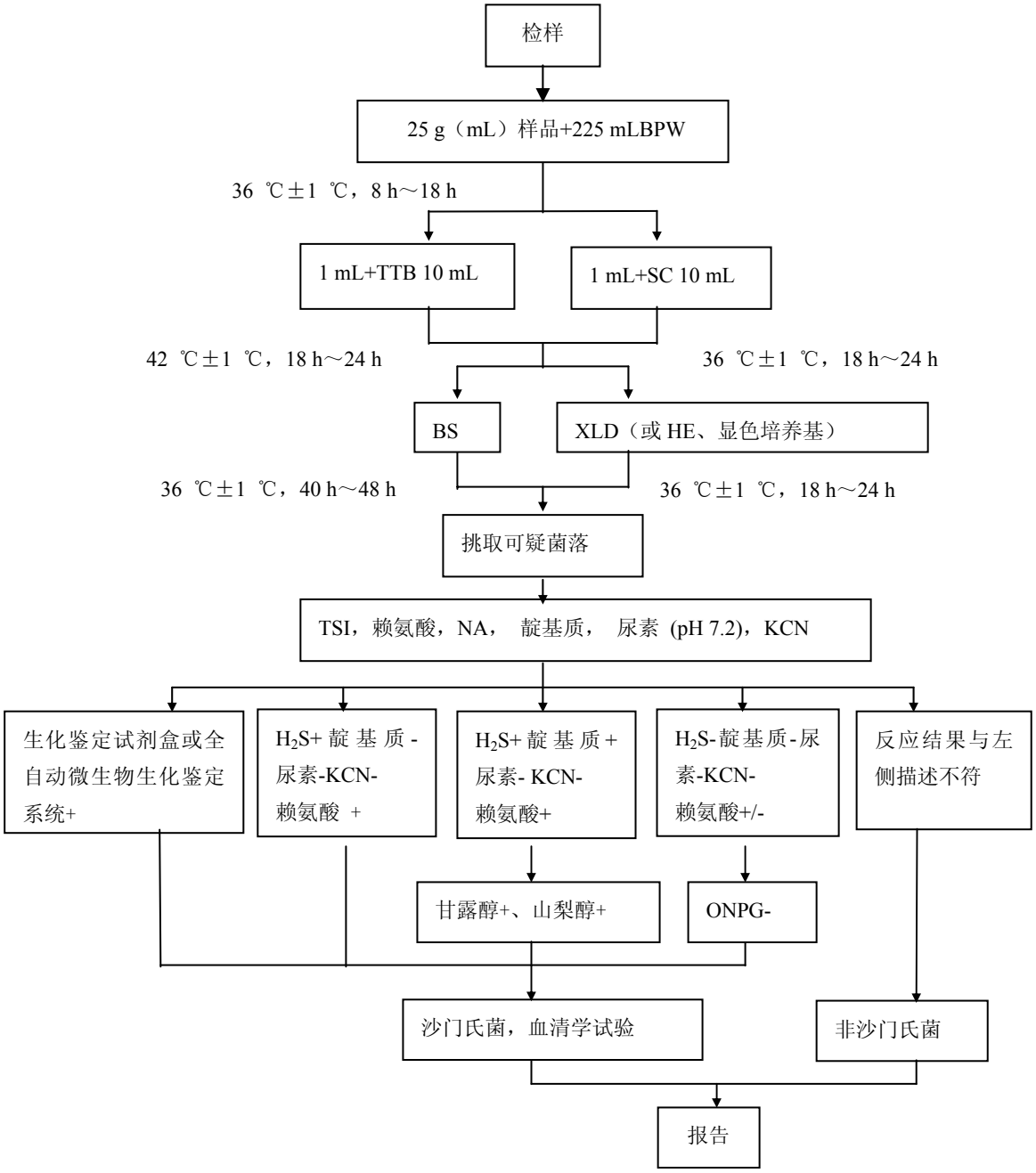


图 1 沙门氏菌检验程序

5 操作步骤

5.1 前增菌

称取 25 g（mL）样品放入盛有 225 mL BPW 的无菌均质杯中，以 8 000 r/min～10 000 r/min 均质 1 min～2 min，或置于盛有 225 mL BPW 的无菌均质袋中，用拍击式均质器拍打 1 min～2 min。若样品为液态，不需要均质，振荡混匀。如需测定 pH 值，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 锥形瓶中，如使用均质袋，可直接进行培养，于 36 ℃±1 ℃培养 8 h～18h。

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 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。同时，另取 1 mL，转种于 10 mL SC 内，于 36 ℃±1 ℃培养 18 h～24 h。

5.3 分离

分别用接种环取增菌液 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 ℃±1 ℃分别培养 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） 或 40 h～48 h （BS 琼脂平板），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。

表 1 沙门氏菌属在不同选择性琼脂平板上的菌落特征

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。

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 ℃±1 ℃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。

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

三糖铁琼脂				赖氨酸脱羧酶试验培养基	初步判断
斜面	底层	产气	硫化氢		
K	A	＋（－）	＋（－）	＋	可疑沙门氏菌属
K	A	＋（－）	＋（－）	－	可疑沙门氏菌属
A	A	＋（－）	＋（－）	＋	可疑沙门氏菌属
A	A	＋/－	＋/－	－	非沙门氏菌
K	K	＋/－	＋/－	＋/－	非沙门氏菌
注：K：产碱，A：产酸；＋：阳性，－：阴性；＋（－）：多数阳性，少数阴性；＋/－：阳性或阴性。					

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 （pH7.2）、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 ℃±1 ℃培养 18 h～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 ℃～5 ℃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

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

5.4.2.1　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。

表 5　沙门氏菌属各生化群的鉴别

项　目	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ
卫矛醇	＋	＋	－	－	＋	－
山梨醇	＋	＋	＋	＋	＋	－
水杨苷	－	－	－	＋	－	－
ONPG	－	－	＋	－	＋	－
丙二酸盐	－	＋	＋	－	－	－
KCN	－	－	－	＋	＋	－
注：＋表示阳性；－表示阴性。						

5.4.3　如选择生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统，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　抗原的准备

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。

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。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，俟菌落蔓延生长时，在其边缘部分取菌检查；或将菌株通过装有 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。

5.5.2 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，在另一区域下部加入 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落研成乳状液。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。

5.5.3 多价鞭毛抗原（H）鉴定

同 5.5.2。

5.5.4 血清学分型（选做项目）

5.5.4.1 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形菌株，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 单因子血清做凝集试验，判定 E1、E2、E3、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～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）

O 多价 2　13，16，17，18，21 群

O 多价 3　28，30，35，38，39 群

O 多价 4　40，41，42，43 群

O 多价 5　44，45，47，48 群

O 多价 6　50，51，52，53 群

O 多价 7　55，56，57，58 群

O 多价 8　59，60，61，62 群

O 多价 9　63，65，66，67 群

5.5.4.2 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。

表 6　A～F 群常见菌型 H 抗原表

O 群	第 1 相	第 2 相
A	a	无
B	g,f,s	无
B	i,b,d	2
C1	k,v,r,c	5,z15
C2	b,d,r	2,5
D（ 不产气的）	d	无
D（产气的）	g,m,p,q	无
E1	h,v	6,w,x
E4	g,s,t	无
E4	i	

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，enz$_{15}$，fg，gms，gpu，gp，gq，mt，gz$_{51}$

H 多价 3　k，r，y，z，z$_{10}$，lv，lw，lz$_{13}$，lz$_{28}$，lz$_{40}$

H 多价 4　1,2；1,5；1,6；1,7；z$_6$

H 多价 5　z$_4$z$_{23}$，z$_4$z$_{24}$，z$_4$z$_{32}$，z$_{29}$，z$_{35}$，z$_{36}$，z$_{38}$

H 多价 6　z$_{39}$，z$_{41}$，z$_{42}$，z$_{44}$

H 多价 7　z$_{52}$，z$_{53}$，z$_{54}$，z$_{55}$

H 多价 8　z$_{56}$，z$_{57}$，z$_{60}$，z$_{61}$，z$_{62}$

每一个 H 抗原成分的最后确定均应根据 H 单因子血清的检查结果，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 1～2 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：

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 ℃，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，俟凝固后，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，俟凝固后，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 37 ℃培养后再做凝集试验。

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。

5.5.4.3　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。

5.5.4.4　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
（规范性附录）
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

pH 7.2±0.2

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，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

pH 7.0±0.2

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，高压灭菌 121 ℃，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

pH 7.0±0.2

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 ℃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 g L-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 100 mL 即成，如为 DL-胱氨酸，用量应加倍）。摇匀，调节 pH。

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 5.0g / L 水溶液 5.0mL
柠檬酸铋铵	2.0 g
亚硫酸钠	6.0 g
琼 脂	18.0 g～20 g
蒸馏水	1 000 mL

pH 7.5±0.2

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 ℃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，随即倾入琼脂液中，混合均匀，冷至 50 ℃～55 ℃。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	12.0 g
牛肉膏	3.0 g
乳糖	12.0 g
蔗糖	12.0 g
水杨素	2 .0 g
胆盐	20.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	18.0 g～20.0 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
pH 7.5±0.2	

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。再加入指示剂,并与琼脂液合并,待冷至 50 ℃～55 ℃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

④ Andrade 指示剂

酸性复红	0.5 g
1mol/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 mL～2 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

pH 7.4±0.2

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。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

pH 7.4±0.2

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。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 ℃ 10 min 或 115 ℃ 15 min，灭菌后置成高层斜面，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

pH 7.4±0.2

将上述成分加入蒸馏水中，煮沸溶解，调节 pH，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 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。

A.8.2.2 欧-波试剂：将 1 g 对二甲氨基苯甲醛溶解于 95 mL95%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 ℃±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
pH7.2±0.2	

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。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 ℃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%。分装于无菌试管内，放成斜面备用。

A.9.3 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。

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 ℃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 ℃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 ℃±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,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
pH 6.8±0.2	

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，DL-赖氨酸按 1%加入。调节 pH。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 ℃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 ℃±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。

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
pH 7.4±0.2	

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。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。

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 ℃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 ONPG 培养基

A.13.1 成分

邻硝基酚 β-D 半乳糖苷（ONPG）（O-Nitrophenyl-β-D-galactopyranoside）	60.0 mg
0.01mol/L 磷酸钠缓冲液（pH7.5）	10.0 mL
1%蛋白胨水（pH7.5）	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 ℃±1 ℃培养 1 h～3 h 和 24 h 观察结果。如果 β-半乳糖苷酶产生，则于 1 h～3 h 变黄色，如无此酶则 24 h 不变色。

A.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	0.35g～0.4 g
蒸馏水	100 mL
pH 7.4±0.2	

A.14.2 制法

按以上成分配好,煮沸溶解,调节 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。

A.15 丙二酸钠培养基

A.15.1 成分

酵母浸膏	1.0 g
硫酸铵	2.0 g
磷酸氢二钾	0.6 g
磷酸二氢钾	0.4 g
氯化钠	2.0 g
丙二酸钠	3.0 g
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	12.0 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH 6.8±0.2	

A.15.2 制法

除指示剂以外的成分溶解于水，调节 pH，再加入指示剂，分装试管，121 ℃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
（规范性附录）
常见沙门氏菌抗原

B.1 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	O 抗　原	H 抗原	
			第 1 相	第 2 相
A　　群				
甲型副伤寒沙门氏菌	*S. paratyphi A*	1，2，12	a	[1,5]
B　　群				
基桑加尼沙门氏菌	*S .kisangani*	1,4,[5],12	a	1,2
阿雷查瓦莱塔沙门氏菌	*S. arechavaleta*	4,[5],12	a	1,7
马流产沙门氏菌	*S. abortusequi*	4,12	-	e,n,x,
乙型副伤寒沙门氏菌	*S. paratyphi B*	1,4,[5],12	b	1,2
利密特沙门氏菌	*S. limete*	1,4,12,[27]	b	1,5
阿邦尼沙门氏菌	*S. abony*	1,4,[5],12,27	b	e,n,x
维也钠沙门氏菌	*S. wien*	1,4,12,[27]	b	l,w
伯里沙门氏菌	*S .bury*	4,12,[27]	c	z6
斯坦利沙门氏菌	*S. stanley*	1,4,[5],12,[27]	d	1,2
圣保罗沙门氏菌	*S. saintpaul*	1,4,[5],12	e,h	1,2
里定沙门氏菌	*S .reading*	1,4,[5],12	e,h	1,5
彻斯特沙门氏菌	*S. chester*	1,4,[5],12	e,h	e,n,x
德尔卑沙门氏菌	*S. derby*	1,4,[5],12	f,g	[1,2]
阿贡纳沙门氏菌	*S. agona*	1,4,[5],12	f,g,s	[1,2]
埃森沙门氏菌	*S. essen*	4,12	g,m	-
加利福尼亚沙门氏菌	*S. california*	4,12	g,m,t	[z_{67}]
金斯敦沙门氏菌	*S. kingston*	1,4,[5],12,[27]	g,s,t	[1,2]
布达佩斯沙门氏菌	*S. budapest*	1,4,12,[27]	g,t	-
鼠伤寒沙门氏菌	*S. typhimurium*	1,4,[5],12	i	1,2

拉古什沙门氏菌	*S. Lagos*	1,4,[5],12	i	1,5
布雷登尼沙门氏菌	*S.bredeney*	1,4,12,[27]	l,v	1,7
基尔瓦沙门氏菌Ⅱ	*S.kilwa Ⅱ*	4,12	l,w	e,n,x
海德尔堡沙门氏菌	*S.heidelberg*	1,4,[15],12	r	1,2
印地安纳沙门氏菌	*S.indiana*	1,4,12	z	1,7
斯坦利维尔沙门氏菌	*S.stanleyville*	1,4,[5],12.[27]	z_4,z_{23}	[1,2]
伊图里沙门氏菌	*S.ituri*	1,4,12	z_{10}	1,5
C1 群				
奥斯陆沙门氏菌	*S.oslo*	6,7,14	a	e,n,x
爱丁保沙门氏菌	*S.edinburg*	6,7, 14	b	1,5
布隆方丹沙门氏菌Ⅱ	*S.bloemfontein Ⅱ*	6,7	b	[e,n,x]：z_{42}
丙型副伤寒沙门氏菌	*S.paratyphi C*	6,7,[Vi]	c	1,5
猪霍乱沙门氏菌	*S.choleraesuis*	6,7	c	1,5
猪伤寒沙门氏菌	*S.typhisuis*	6,7	c	1,5
罗米他沙门氏菌	*S.lomita*	6,7	e,h	1,5
布伦登卢普沙门氏菌	*S.braenderup*	6,7, 14	e,h	e,n,z_{15}
里森沙门氏菌	*S.rissen*	6,7, 14	f,g	-
蒙得维的亚沙门氏菌	*S.montevideo*	6,7, 14	g,m,[p],s	[1,2,7]
里吉尔沙门氏菌	*S.*riggil	6,7	g,[t]	-
奥雷宁堡沙门氏菌	*S.oranieburg*	6,7, 14	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, 14	k	1,5
康科德沙门氏菌	*S.concord*	6,7	l,v	1,2
伊鲁木沙门氏菌	*S.irumu*	6,7	l,v	1,5
姆卡巴沙门氏菌	*S.mkamba*	6,7	l,v	1,6
波恩沙门氏菌	*S.bonn*	6,7	l,v	e,n,x
波茨坦沙门氏菌	*S.potsdam*	6,7, 14	l,v	e,n,z_{15}
格但斯克沙门氏菌	*S.gdansk*	6,7, 14	l,v	z_6
维尔肖沙门氏菌	*S.virchow*	6,7, 14	r	1,2

婴儿沙门氏菌	*S.infantis*	6,7,14	r	1,5
巴布亚沙门氏菌	*S.papuana*	6,7	r	e,n,z_{15}
巴累利沙门氏菌	*S.bareilly*	6,7,14	y	1,5
哈特福德沙门氏菌	*S.hartford*	6,7	y	e,n,x
三河岛沙门氏菌	*S.mikawasima*	6,7,14	y	e,n,z_{15}
姆班达卡沙门氏菌	*S.mbandaka*	6,7,14	z_{10}	e,n,z_{15}
田纳西沙门氏菌	*S.tennessee*	6,7,14	z_{29}	[1,2,7]
布伦登卢普沙门氏菌	*S.braenderup*	6,7,14	e,h	e,n,z_{15}
耶路撒冷沙门氏菌	*S.jerusalem*	6,7,14	z_{10}	l,w
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
蔓哈顿沙门氏菌	*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				
仙台沙门氏菌	*S.sendai*	1,9,12	a	1,5
伤寒沙门氏菌	*S.typhi*	9,12,[Vi]	d	-
塔西沙门氏菌	*S.tarshyne*	9,12	d	1,6
伊斯特本沙门氏菌	*S.eastbourne*	1,9,12	e,h	1,5
以色列沙门氏菌	*S.israel*	9,12	e,h	e,n,z_{15}
肠炎沙门氏菌	*S.enteritidis*	1,9,12	g,m	[1,7]
布利丹沙门氏菌	*S.blegdam*	9,12	g,m,q	-
沙门氏菌 II	*Salmonella II*	1,9,12	g,m,[s],t	[1,5,7]
都柏林沙门氏菌	*S.dublin*	1,9,12,[Vi]	g,p	-
芙蓉沙门氏菌	*S.seremban*	9,12	i	1,5
巴拿马沙门氏菌	*S.panama*	1,9,12	l,v	1,5
戈丁根沙门氏菌	*S.goettingen*	9,12	l,v	e,n,z_{15}
爪哇安纳沙门氏菌	*S.javiana*	1,9,12	L,z_{28}	1,5
鸡-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	c	z_6
瓦伊勒沙门氏菌	*S.vejle*	3,{10}，{15}	e,h	1,2
明斯特沙门氏菌	*S.muenster*	3,{10}{15}{15,34}	e,h	1，5
鸭沙门氏菌	S.anatum	3, {10}{15}{15,34}	e,h	1,6
纽兰沙门氏菌	*S.newlands*	3,{10}，{15,34}	e,h	e,n,x
火鸡沙门氏菌	*S.meleagridis*	3, {10}{15}{15,34}	e,h	l,w
雷根特沙门氏菌	*S.regent*	3,10	f,g,[s]	[1,6]
西翰普顿沙门氏菌	*S.westhampton*	3,{10}{15}{15,34}	g,s,t	-
阿姆德尔尼斯沙门氏菌	*S.amounderness*	3,10	i	1,5
新罗歇尔沙门氏菌	*S.new-rochelle*	3,10	k	l,w
恩昌加沙门氏菌	*S.nchanga*	3,{10}{15}	l,v	1,2
新斯托夫沙门氏菌	*S.sinstorf*	3,10	l,v	1,5

伦敦沙门氏菌	*S.london*	3,{10}{15}	l,v	1,6
吉韦沙门氏菌	*S.give*	3,{10}{15}{15,34}	l,v	1,7
鲁齐齐沙门氏菌	*S.ruzizi*	3,10	l,v	e,n,z_{15}
乌干达沙门氏菌	*S.uganda*	3,{10}{15}	l,z_{13}	1,5
乌盖利沙门氏菌	*S.ughelli*	3,10	r	1,5
韦太夫雷登沙门氏菌	*S.weltevreden*	3,{10}{15}	r	z_6
克勒肯威尔沙门氏菌	*S.clerkenwell*	3,10	z	l,w
列克星敦沙门氏菌	*S.lexington*	3,{10}{15}{15,34}	z_{10}	1,5
E4 群				
萨奥沙门氏菌	*S.sao*	1,3,19	e,h	e,n,z_{15}
卡拉巴尔沙门氏菌	*S.calabar*	1,3,19	e,h	l,w
山夫登堡沙门氏菌	*S.senftenberg*	1,3,19	g,[s],t	-
斯特拉特福沙门氏菌	*S.stratford*	1,3,19	i	1,2
塔克松尼沙门氏菌	*S.taksony*	1,3,19	i	z_6
索恩保沙门氏菌	*S.schoeneberg*	1,3,19	z	e,n,z_{15}
F 群				
昌丹斯沙门氏菌	S.*chandans*	11	d	[e,n,x]
阿柏丁沙门氏菌	*S.aberdeen*	11	i	1,2
布里赫姆沙门氏菌	*S.brijbhumi*	11	i	1,5
威尼斯沙门氏菌	*S.veneziana*	11	i	e,n,x
阿巴特图巴沙门氏菌	*S.abaetetuba*	11	k	1,5
鲁比斯劳沙门氏菌	*S.rubislaw*	11	r	e,n,x
其 他 群				
浦那沙门氏菌	*S.poona*	1,13,22	z	1,6
里特沙门氏菌	*S.ried*	1,13,22	z_4,z_{23}	[e,n,z_{15}]
密西西比沙门氏菌	*S.mississippi*	1,13,23	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	z_6
上海沙门氏菌	*S.*shanghai	16	l,v	1,6
自贡沙门氏菌	*S.zigong*	16	l,w	1,5
巴圭达沙门氏菌	*S.baguida*	21	z_4,z_{23}	-
迪尤波尔沙门氏菌	*S.dieuoppeul*	28	i	1,7
卢肯瓦尔德沙门氏菌	*S.luckenwalde*	28	z_{10}	e,n,z_{15}
拉马特根沙门氏菌	*S.ramatgan*	30	k	1,5
阿德莱沙门氏菌	*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 IIIb*	61	l,v	1,5,7