

卫生部政策法规司 编

# 中华人民共和国 卫生标准汇编

(2008年度)

下



中国标准出版社

中华人民共和国  
卫生标准委员会

(2000年版)



下

# 中华人民共和国卫生标准汇编

## (2008 年度)

下

卫生部政策法规司 编

中国标准出版社  
北京

**图书在版编目(CIP)数据**

中华人民共和国卫生标准汇编. 2008 年度. 下/卫生部政策法规司编. —北京: 中国标准出版社, 2010  
ISBN 978-7-5066-5834-8

I. ①中… II. ①卫… III. ①卫生标准-汇编-中国-2008 IV. ①R194-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 108519 号

中国标准出版社出版发行  
北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码: 100045

网址 [www.spc.net.cn](http://www.spc.net.cn)

电话: 68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

\*

开本 880×1230 1/16 印张 45.25 字数 1 334 千字

2010 年 7 月第一版 2010 年 7 月第一次印刷

\*

定价 235.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话: (010)68533533

## 前　　言

卫生标准是保障健康的基本，它是预防医学和临床医学研究与实践的产物。卫生标准与卫生政策、卫生法规共同构成卫生行政管理和卫生行政执法的基础，是各类卫生行政管理相对人依法执业，规范自身行为的重要技术依据。为推动卫生标准全面、正确实施，满足各有关部门和单位业务管理、执法监督的需要，卫生部政策法规司将于每年上半年出版卫生标准汇编，汇集上一年度颁布的卫生标准。为方便读者查询，汇编的标准将分为下列 20 个专业：食品卫生、环境卫生、职业卫生、放射卫生防护、学校卫生、化妆品、消毒卫生、职业病诊断、放射性疾病诊断、传染病、临床检验、血液、医疗服务、医疗机构管理、医院感染控制、卫生信息、病媒生物控制、寄生虫病、地方病、食品添加剂。

本书汇编了 2008 年颁布的所有卫生标准，分为三册：上册收录了卫生部批准发布的职业卫生国家标准，涉及职业卫生、职业病诊断、放射卫生防护三个专业的标准共 15 项；中册收录了卫生部批准发布的行业卫生标准，涉及传染病、地方病两个专业的标准共 30 项；下册收录了卫生部与国家标准化管理委员会联合发布的食品卫生国家标准 50 项。

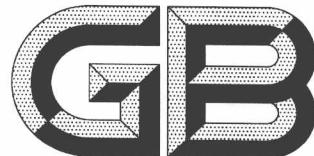
卫生部政策法规司

2010 年 4 月 20 日

## 目 录

|                    |   |     |
|--------------------|---|-----|
| GB/T 4789.7—2008   | 食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验(代替 GB/T 4789.7—2003) .....                | 1   |
| GB/T 4789.8—2008   | 食品卫生微生物学检验 小肠结肠炎耶尔森氏菌检验<br>(代替 GB/T 4789.8—2003) .....        | 15  |
| GB/T 4789.9—2008   | 食品卫生微生物学检验 空肠弯曲菌检验(代替 GB/T 4789.9—2003) .....                 | 25  |
| GB/T 4789.27—2008  | 食品卫生微生物学检验 鲜乳中抗生素残留检验<br>(代替 GB/T 4789.27—2003) .....         | 39  |
| GB/T 4789.34—2008  | 食品卫生微生物学检验 双歧杆菌检验(代替 GB/T 4789.34—2003) .....                 | 49  |
| GB/T 4789.36—2008  | 食品卫生微生物学检验 大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验 .....                         | 61  |
| GB/T 4789.37—2008  | 食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌计数 .....                                    | 77  |
| GB/T 4789.38—2008  | 食品卫生微生物学检验 大肠杆菌计数 .....                                       | 89  |
| GB/T 4789.39—2008  | 食品卫生微生物学检验 粪大肠菌群计数 .....                                      | 103 |
| GB/T 5009.7—2008   | 食品中还原糖的测定(代替 GB/T 5009.7—2003) .....                          | 111 |
| GB/T 5009.8—2008   | 食品中蔗糖的测定(代替 GB/T 5009.8—2003,GB/T 16286—1996) .....           | 123 |
| GB/T 5009.9—2008   | 食品中淀粉的测定(代替 GB/T 5009.9—2003,GB/T 16287—1996) .....           | 131 |
| GB/T 5009.19—2008  | 食品中有机氯农药多组分残留量的测定(代替 GB/T 5009.19—2003) .....                 | 139 |
| GB/T 5009.49—2008  | 发酵酒及其配制酒卫生标准的分析方法(代替 GB/T 5009.49—2003) .....                 | 149 |
| GB/T 5009.69—2008  | 食品罐头内壁环氧酚醛涂料卫生标准的分析方法<br>(代替 GB/T 5009.69—2003) .....         | 157 |
| GB/T 5009.88—2008  | 食品中膳食纤维的测定(代替 GB/T 5009.88—2003) .....                        | 169 |
| GB/T 5009.118—2008 | 谷物中 T-2 毒素的测定(代替 GB/T 5009.118—2003) .....                    | 179 |
| GB/T 5009.146—2008 | 植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯类农药多种残留量的测定<br>(代替 GB/T 5009.146—2003) .....   | 187 |
| GB/T 5009.162—2008 | 动物性食品中有机氯农药和拟除虫菊酯农药多组分残留量的测定<br>(代替 GB/T 5009.162—2003) ..... | 211 |
| GB/T 5009.207—2008 | 糙米中 50 种有机磷农药残留量的测定 .....                                     | 229 |
| GB/T 5009.208—2008 | 食品中生物胺含量的测定 .....   | 247 |
| GB/T 5009.209—2008 | 谷物中玉米赤霉烯酮的测定 .....  | 253 |
| GB/T 5009.210—2008 | 食品中泛酸的测定 .....  | 259 |
| GB/T 5009.211—2008 | 食品中叶酸的测定 .....  | 269 |
| GB/T 5009.212—2008 | 贝类中腹泻性贝类毒素的测定 .....   | 281 |
| GB/T 5009.213—2008 | 贝类中麻痹性贝类毒素的测定 .....   | 287 |
| GB/T 5009.215—2008 | 食品中有机锡含量的测定 .....   | 297 |
| GB/T 5009.218—2008 | 水果和蔬菜中多种农药残留量的测定 .....  | 307 |
| GB/T 5009.219—2008 | 粮谷中矮壮素残留量的测定 .....  | 353 |
| GB/T 5009.220—2008 | 粮谷中敌菌灵残留量的测定 .....  | 359 |
| GB/T 5009.221—2008 | 粮谷中敌草快残留量的测定 .....  | 367 |
| GB/T 5009.222—2008 | 红曲类产品中桔青霉素的测定 .....   | 373 |

|   |     |
|---|-----|
| GB 9685—2008 食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准(代替 GB 9685—2003) ..... | 381 |
| GB/Z 21922—2008 食品营养成分基本术语 .....                        | 577 |
| GB/T 21981—2008 动物源食品中激素多残留检测方法 液相色谱-质谱/质谱法 .....       | 589 |
| GB/T 22243—2008 大米、蔬菜、水果中氯氟吡氧乙酸残留量的测定 .....             | 619 |
| GB/T 22244—2008 保健食品中前花青素的测定 .....                      | 625 |
| GB/T 22245—2008 保健食品中异嗪皮啶的测定 .....                      | 631 |
| GB/T 22246—2008 保健食品中泛酸钙的测定 .....                       | 637 |
| GB/T 22247—2008 保健食品中淫羊藿苷的测定 .....                      | 643 |
| GB/T 22248—2008 保健食品中甘草酸的测定 .....                       | 649 |
| GB/T 22249—2008 保健食品中番茄红素的测定 .....                      | 655 |
| GB/T 22250—2008 保健食品中绿原酸的测定 .....                       | 661 |
| GB/T 22251—2008 保健食品中葛根素的测定 .....                       | 667 |
| GB/T 22252—2008 保健食品中辅酶 Q <sub>10</sub> 的测定 .....       | 673 |
| GB/T 22253—2008 食品中阿力甜的测定 .....                         | 679 |
| GB/T 22254—2008 食品中阿斯巴甜的测定 .....                        | 685 |
| GB/T 22255—2008 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定 .....                   | 691 |
| GB 22556—2008 豆芽卫生标准 .....                              | 697 |
| GB/T 22570—2008 辅食营养补充品通用标准 .....                       | 703 |



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 4789.7—2008  
代替 GB/T 4789.7—2003



2008-05-16 发布

2008-11-01 实施

中华人民共和国卫生部  
中国国家标准化管理委员会发布

## 前　　言

本标准修改采用了美国食品药品管理局(FDA)《细菌学分析手册》第9章:霍乱弧菌、副溶血性弧菌、创伤弧菌和其他弧菌(Bacteriological Analytical Manual, Chapter 9: *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *vibrio* spp.)。

本标准与FDA方法相比主要区别如下:

- 将样品制备时取样量50 g(mL)修改为25 g(mL);
- 将增菌时间16 h~18 h修改为8 h~18 h;
- 增加科玛嘉弧菌选择性平板;
- 增加全自动细菌生化鉴定仪VITEK;
- 抗原表中增加了新的血清型。

本标准代替GB/T 4789.7—2003《食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验》。本标准自实施之日起,GB/T 4789.7—2003同时废止。

本标准与GB/T 4789.7—2003相比主要变化如下:

- 将选择性增菌液由氯化钠结晶紫增菌液改为3%氯化钠碱性蛋白胨水;
- 将选择性分离培养基由氯化钠蔗糖琼脂和嗜盐菌选择性琼脂改为硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂和科玛嘉弧菌显色培养基;
- 增加API 20E诊断试剂条及全自动细菌生化鉴定仪VITEK;
- 增加血清学分型;
- 将动物试验改为神奈川试验;
- 增加最可能数检索表。

本标准的附录A、附录B为规范性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准负责起草单位:中国疾病预防控制中心营养与食品安全所。

本标准参加起草单位:福建省疾病预防控制中心、浙江省疾病预防控制中心、中国检验检疫科学研究院、北京市疾病预防控制中心。

本标准主要起草人:刘秀梅、陈艳、马群飞、程苏云、陈彦长、陈倩。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB 4789.7—1984, GB/T 4789.7—1994, GB/T 4789.7—2003。

# 食品卫生微生物学检验

## 副溶血性弧菌检验

### 1 范围

本标准规定了食品中副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)的检验方法。

本标准适用于水产品及食物中毒样品中副溶血性弧菌的检验,其他食品可参照使用。

### 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 恒温培养箱:36℃±1℃。
- 2.2 冰箱:2℃~5℃。
- 2.3 均质器或无菌乳钵。
- 2.4 天平:感量0.1 g。
- 2.5 无菌试管:18 mm×180 mm,15 mm×100 mm。
- 2.6 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。
- 2.7 无菌锥形瓶:500 mL,250 mL。
- 2.8 无菌培养皿:直径90 mm。
- 2.9 全自动微生物鉴定系统(VITEK)<sup>1)</sup>。
- 2.10 无菌手术剪、镊子。

### 3 培养基和试剂

- 3.1 3%氯化钠碱性蛋白胨水(APW):见第A.1章。
- 3.2 硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖(TCBS)琼脂:见第A.2章。
- 3.3 3%氯化钠胰蛋白胨大豆(TSA)琼脂:见第A.3章。
- 3.4 3%氯化钠三糖铁(TSI)琼脂:见第A.4章。
- 3.5 嗜盐性试验培养基:见第A.5章。
- 3.6 3%氯化钠甘露醇试验培养基:见第A.6章。
- 3.7 3%氯化钠赖氨酸脱羧酶试验培养基:见第A.7章。
- 3.8 3%氯化钠MR-VP培养基:见第A.8章。
- 3.9 我妻氏血琼脂:见第A.9章。
- 3.10 氧化酶试剂:见第A.10章。
- 3.11 革兰氏染色液:见第A.11章。
- 3.12 ONPG试剂:见第A.12章。
- 3.13 Voges-Proskauer(V-P)试剂:见第A.13章。
- 3.14 科玛嘉(CHROMagar)弧菌显色培养基<sup>2)</sup>。
- 3.15 API 20E生化鉴定试剂盒或VITEK NFC生化鉴定卡<sup>1)</sup>。

1) 由法国生物梅里埃公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

2) 由法国科玛嘉公司提供的产品的商品名。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,则可使用这些等效的产品。

#### 4 检验程序

副溶血性弧菌检验程序见图 1。

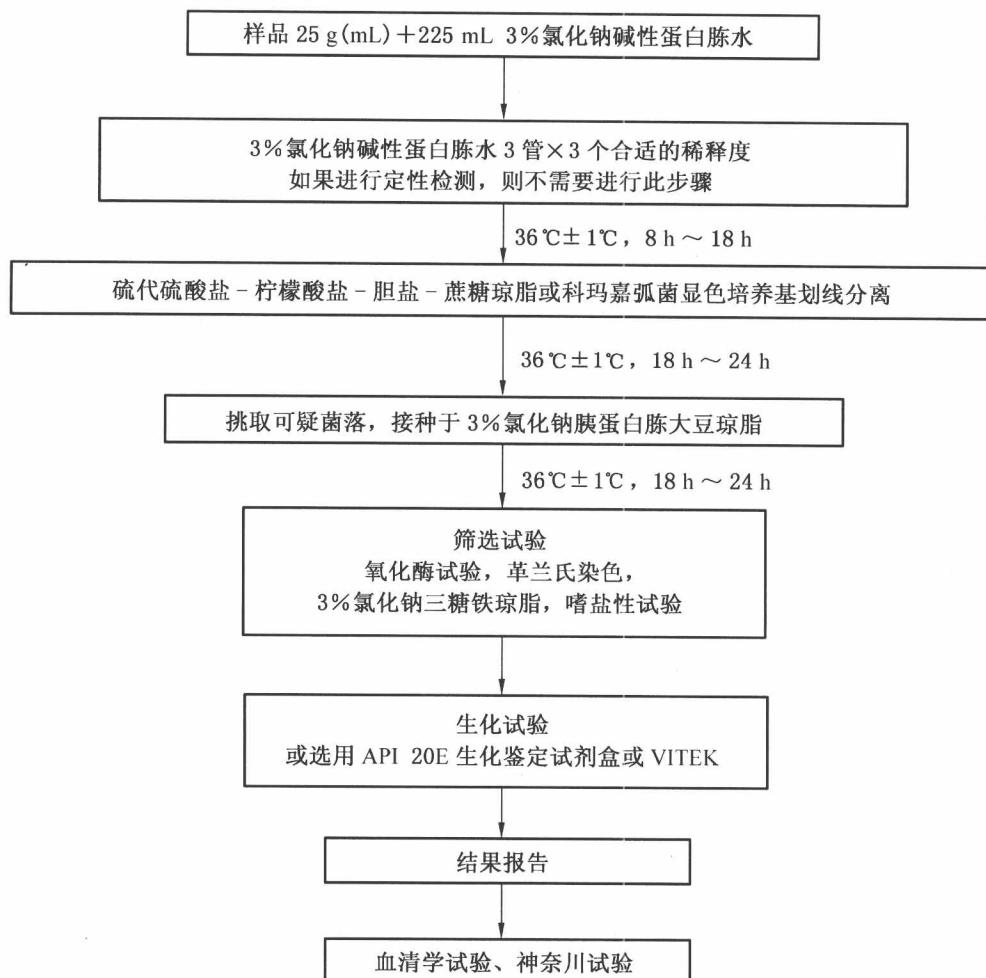


图 1 副溶血性弧菌检验程序

#### 5 操作步骤

##### 5.1 样品制备

5.1.1 冷冻样品应在 45℃以下不超过 15 min 或在 2℃~5℃不超过 18 h 解冻,若不能及时检验,应放于-15℃左右保存;非冷冻而易腐的样品应尽可能及时检验,若不能及时检验,应置 2℃~5℃冰箱保存,在 24 h 内检验。

5.1.2 鱼类和头足类动物取表面组织、肠或鳃。贝类取全部内容物,包括贝肉和体液;甲壳类取整个动物,或者动物的中心部分,包括肠和鳃。如为带壳贝类或甲壳类,则应先在自来水中洗刷外壳并甩干表面水分,然后以无菌操作打开外壳,按上述要求取相应部分。

5.1.3 以无菌操作取检样 25 g(mL),加入 3% 氯化钠碱性蛋白胨水 225 mL,用旋转刀片式均质器以 8 000 r/min 均质 1 min,或拍击式均质器拍击 2 min,制备成 1:10 的均匀稀释液。如无均质器,则将样品放入无菌乳钵中磨碎,然后放在 500 mL 的灭菌容器内,加 225 mL 3% 氯化钠碱性蛋白胨水,并充分振荡。

##### 5.2 增菌

###### 5.2.1 定性检测

将上述 1:10 稀释液于 36°C ± 1°C 培养 8 h~18 h。

### 5.2.2 定量检测

5.2.2.1 用灭菌吸管吸取1:10稀释液1mL,注入含有9mL3%氯化钠碱性蛋白胨水的试管内,振摇试管混匀,制备1:100的稀释液。

5.2.2.2 另取1mL灭菌吸管,按上条操作依次制备10倍递增稀释液,每递增稀释一次,换用一支1mL灭菌吸管。

5.2.2.3 根据对检样污染情况的估计,选择三个连续的适宜稀释度,每个稀释度接种三支含有9mL3%氯化钠碱性蛋白胨水的试管,每管接种1mL。置36℃±1℃恒温箱内,培养8h~18h。

### 5.3 分离

5.3.1 在所有显示生长的试管或增菌液中用接种环沾取一环,于TCBS平板或科玛嘉弧菌显色培养基平板上划线分离。一支试管划线一块平板,于36℃±1℃培养18h~24h。

5.3.2 典型的副溶血性弧菌在TCBS上呈圆形、半透明、表面光滑的绿色菌落,用接种环轻触,有类似口香糖的质感,直径2mm~3mm。从培养箱取出TCBS平板后,应尽快(不超过1h)挑取菌落或标记要挑取的菌落。典型的副溶血性弧菌在科玛嘉弧菌显色培养基上呈圆形、半透明、表面光滑的粉紫色菌落,直径2mm~3mm。

### 5.4 纯培养

挑取三个或以上可疑菌落,划线3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂平板,36℃±1℃培养18h~24h。

### 5.5 初步鉴定

5.5.1 氧化酶试验:挑选纯培养的单个菌落进行氧化酶试验,副溶血性弧菌为氧化酶阳性。

5.5.2 涂片镜检,将可疑菌落涂片,进行革兰氏染色,镜检观察形态。副溶血性弧菌为革兰氏阴性,呈棒状、弧状、卵圆状等多形态,无芽胞,有鞭毛。

5.5.3 挑取纯培养的单个可疑菌落,转种3%氯化钠三糖铁琼脂斜面并穿刺底层,36℃±1℃培养24h观察结果。副溶血性弧菌在3%氯化钠三糖铁琼脂中的反应为底层变黄不变黑,无气泡,斜面颜色不变或红色加深,有动力。

5.5.4 嗜盐性试验:挑取纯培养的单个可疑菌落,分别接种于不同氯化钠浓度的胰胨水,36℃±1℃培养24h,观察液体混浊情况。副溶血性弧菌在无氯化钠和10%氯化钠的胰胨水中不生长或微弱生长,在7%氯化钠的胰胨水中生长旺盛。

### 5.6 确定鉴定

5.6.1 生化试验:取纯培养物分别接种含3%氯化钠的甘露醇、赖氨酸、MR-VP培养基,36℃±1℃培养24h~48h后观察结果。隔夜培养物进行ONPG试验。

5.6.2 API 20E生化鉴定试剂盒或VITEK:刮取3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂平板上的单个菌落,用生理盐水制成浓度适当的细胞悬浮液,使用API 20E生化鉴定试剂盒或VITEK鉴定。

### 5.7 报告

当检出的可疑菌落生化性状符合表1要求时,报告25g(mL)样品中检出副溶血性弧菌。如果进行定量检测,根据证实为副溶血性弧菌阳性的试管管数,查最可能数(MPN)检索表,报告每克(毫升)副溶血性弧菌的MPN值。副溶血性弧菌主要性状与其他弧菌的鉴别见表2。

表1 副溶血性弧菌的生化性状

| 试验项目    | 结 果    |
|---------|--------|
| 革兰氏染色镜检 | 阴性,无芽孢 |
| 氧化酶     | +      |
| 动力      | +      |
| 蔗糖      | -      |

表 1(续)

| 试验项目    |  |  |  |  |  |  |  |  |  | 结果 |  |  |  |  |  |  |
|---------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|----|--|--|--|--|--|--|
| 葡萄糖     |  |  |  |  |  |  |  |  |  | +  |  |  |  |  |  |  |
| 甘露醇     |  |  |  |  |  |  |  |  |  | +  |  |  |  |  |  |  |
| 分解葡萄糖产气 |  |  |  |  |  |  |  |  |  | -  |  |  |  |  |  |  |
| 乳糖      |  |  |  |  |  |  |  |  |  | -  |  |  |  |  |  |  |
| 硫化氢     |  |  |  |  |  |  |  |  |  | -  |  |  |  |  |  |  |
| 赖氨酸脱羧酶  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | +  |  |  |  |  |  |  |
| V-P     |  |  |  |  |  |  |  |  |  | -  |  |  |  |  |  |  |
| ONPG    |  |  |  |  |  |  |  |  |  | -  |  |  |  |  |  |  |

注: +阳性; -阴性。

表 2 副溶血性弧菌主要性状与其他弧菌的鉴别

| 名称                                   | 氧化酶 | 赖氨酸 | 精氨酸 | 鸟氨酸 | 明胶 | 脲酶 | V-P | 42℃生长 | 蔗糖 | D-纤维二糖 | 乳糖 | 阿拉伯糖 | D-甘露糖 | D-甘露醇 | O | N | 嗜盐性试验<br>氯化钠含量/% |   |   |   |    |
|--------------------------------------|-----|-----|-----|-----|----|----|-----|-------|----|--------|----|------|-------|-------|---|---|------------------|---|---|---|----|
|                                      |     |     |     |     |    |    |     |       |    |        |    |      |       |       | P | G | 0                | 3 | 6 | 8 | 10 |
| 副溶血性弧菌<br><i>V. parahaemolyticus</i> | +   | +   | -   | +   | +  | V  | -   | +     | -  | V      | -  | +    | +     | +     | - | - | +                | + | + | + | -  |
| 创伤弧菌<br><i>V. vulnificus</i>         | +   | +   | -   | +   | +  | -  | -   | +     | -  | +      | +  | -    | +     | V     | + | - | +                | + | + | - | -  |
| 溶藻弧菌<br><i>V. alginolyticus</i>      | +   | +   | -   | +   | +  | -  | +   | +     | +  | -      | -  | -    | +     | +     | - | - | +                | + | + | + | +  |
| 霍乱弧菌<br><i>V. cholerae</i>           | +   | +   | -   | +   | +  | -  | V   | +     | +  | -      | -  | -    | -     | +     | + | + | +                | + | - | - | -  |
| 拟态弧菌<br><i>V. mimicus</i>            | +   | +   | -   | +   | +  | -  | -   | +     | -  | -      | -  | -    | +     | +     | + | + | +                | + | - | - | -  |
| 河弧菌<br><i>V. fluvialis</i>           | +   | -   | +   | -   | +  | -  | -   | V     | +  | +      | -  | +    | +     | +     | + | - | +                | + | V | - |    |
| 弗氏弧菌<br><i>V. furnissii</i>          | +   | -   | +   | -   | +  | -  | -   | -     | +  | -      | -  | +    | +     | +     | + | - | +                | + | + | + | -  |
| 梅氏弧菌<br><i>V. metschnikovii</i>      | -   | +   | +   | -   | +  | -  | +   | V     | +  | -      | -  | -    | +     | +     | + | - | +                | + | V | - |    |
| 霍利斯弧菌<br><i>V. hollisae</i>          | +   | -   | -   | -   | -  | -  | -   | nd    | -  | -      | -  | +    | +     | -     | - | - | +                | + | - | - | -  |

注: nd 表示未试验; V 表示可变。

## 6 血清学分型(可选择)

6.1 制备:接种两管 3% 氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂试管斜面,36℃±1℃培养 18 h~24 h。用含 3% 氯化钠的 5% 甘油溶液冲洗 3% 氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂斜面培养物,获得浓厚的菌悬液。

6.2 K 抗原的鉴定:取一管上述制备好的菌悬液,首先用多价 K 抗血清进行检测,出现凝集反应时再

用单个的抗血清进行检测。用蜡笔在一张玻片上划出适当数量的间隔和一个对照间隔。在每个间隔内各滴加一滴菌悬液，并加一滴相当的 K 血清。在对照间隔内加一滴 3% 氯化钠溶液。轻微倾斜玻片，使各成分相混合，再前后倾动玻片 1 min。阳性凝集反应应可以立即观察到。

6.3 O 抗原的鉴定：将另外一管的菌悬液转移到离心管内，121℃ 灭菌 1 h。灭菌后 4 000 r/min 离心 15 min，弃去上层液体，沉淀用生理盐水洗三次，每次 4 000 r/min 离心 15 min，最后一次离心后留少许上层液体，将细胞浆弹起制成菌悬液。用蜡笔将玻片划分成相等的间隔。在每个间隔内加入一滴菌悬液，将 O 群血清分别加一滴到间隔内，最后一个间隔加一滴生理盐水作为自凝对照。轻微倾斜玻片，使各成分相混合，再前后倾动玻片 1 min。阳性凝集反应应可以立即观察到。如果未见到与 O 群血清的凝集反应，将菌悬液 121℃ 再次高压 1 h 后，重新检测。如果仍旧为阴性，则培养物的 O 抗原属于未知。根据表 3 报告血清学分型结果。

表 3 副溶血性弧菌的抗原

| O 群 | K 型   |
|-----|---|
| 1   | 1,5,20,25,26,32,38,41,56,58,60,64,69                    |
| 2   | 3,28  |
| 3   | 4,5,6,7,25,29,30,31,33,37,43,45,48,54,56,57,58,59,72,75 |
| 4   | 4,8,9,10,11,12,13,34,42,49,53,55,63,67,68,73            |
| 5   | 15,17,30,47,60,61,68                                    |
| 6   | 18,46   |
| 7   | 19  |
| 8   | 20,21,22,39,41,70,74                                    |
| 9   | 23,44   |
| 10  | 24,71   |
| 11  | 19,36,40,46,50,51,61                                    |
| 12  | 19,52,61,66   |
| 13  | 65  |

## 7 神奈川试验

神奈川试验是在我妻氏琼脂上测试是否存在特定溶血素。神奈川试验阳性结果与副溶血性弧菌分离株的致病性显著相关。

用接种环将测试菌株的 3% 氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂 18 h 培养物点种表面干燥的我妻氏血琼脂平板。每个平板上可以环状点种几个菌。36℃ ± 1℃ 培养不超过 24 h，并立即观察。阳性结果为菌落周围呈半透明环的 β 溶血。

附录 A  
(规范性附录)  
培养基和试剂

**A. 1 3%氯化钠碱性蛋白胨水(APW)****A. 1.1 成分**

|            |            |
|------------|------------|
| 蛋白胨        | 10.0 g     |
| 氯化钠        | 30.0 g     |
| 蒸馏水        | 1 000.0 mL |
| pH 8.5±0.2 |            |

**A. 1.2 制法**

将上述成分混合,121℃高压灭菌10 min。

**A. 2 硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖(TCBS)琼脂****A. 2.1 成分**

|                                     |            |
|-------------------------------------|------------|
| 多价蛋白胨                               | 10.0 g     |
| 酵母浸膏                                | 5.0 g      |
| 柠檬酸钠( $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ ) | 10.0 g     |
| 硫代硫酸钠( $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ )   | 10.0 g     |
| 氯化钠                                 | 10.0 g     |
| 牛胆汁粉                                | 5.0 g      |
| 柠檬酸铁                                | 1.0 g      |
| 胆酸钠                                 | 3.0 g      |
| 蔗糖                                  | 20.0 g     |
| 溴麝香草酚蓝                              | 0.04 g     |
| 麝香草酚蓝                               | 0.04 g     |
| 琼脂                                  | 15.0 g     |
| 蒸馏水                                 | 1 000.0 mL |

**A. 2.2 制法**

加热煮沸至完全溶解,最终的pH应为8.6±0.2。冷至50℃倾注平板备用。

**A. 3 3%氯化钠胰蛋白胨大豆(TSA)琼脂****A. 3.1 成分**

|       |            |
|-------|------------|
| 胰蛋白胨  | 15.0 g     |
| 大豆蛋白胨 | 5.0 g      |
| 氯化钠   | 30.0 g     |
| 琼脂    | 15.0 g     |
| 蒸馏水   | 1 000.0 mL |

**A. 3.2 制法**

将上述成分混合,加热并轻轻搅拌至溶解,121℃高压灭菌15 min,调节pH至7.3±0.2。

#### A.4 3%氯化钠三糖铁(TSI)琼脂

##### A.4.1 成分

|  |            |
|--|------------|
| 蛋白胨  | 15.0 g     |
| 月示蛋白胨                                      | 5.0 g      |
| 牛肉膏  | 3.0 g      |
| 酵母浸膏                                       | 3.0 g      |
| 氯化钠  | 30.0 g     |
| 乳糖   | 10.0 g     |
| 蔗糖   | 10.0 g     |
| 葡萄糖  | 1.0 g      |
| 硫酸亚铁( $\text{FeSO}_4$ )                    | 0.2 g      |
| 苯酚红  | 0.024 g    |
| 硫代硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) | 0.3 g      |
| 琼脂   | 12.0 g     |
| 水  | 1 000.0 mL |

##### A.4.2 制法

调节 pH, 使灭菌后为  $7.4 \pm 0.2$ 。分装到适当容量的试管中。121℃高压灭菌 15 min, 制成斜面, 斜面长 4 cm~5 cm, 底部深度为 2 cm~3 cm。

#### A.5 嗜盐性试验培养基

##### A.5.1 成分

|              |            |
|--------------|------------|
| 胰蛋白胨         | 10.0 g     |
| 氯化钠          | 按不同量加入     |
| 蒸馏水          |            |
| pH 7.2 ± 0.2 | 1 000.0 mL |

##### A.5.2 制法

配置胰蛋白胨水, 校正 pH, 共配制四瓶, 每瓶 100 mL。每瓶分别加入不同量的氯化钠:(1) 不加; (2) 3 g; (3) 6 g; (4) 10 g。121℃高压灭菌 15 min, 在无菌条件下分装试管。

#### A.6 3%氯化钠甘露醇试验培养基

##### A.6.1 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( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) | 2.0 g      |
| 0.2%溴麝香草酚蓝溶液  | 12.0 mL    |
| 蒸馏水   | 1 000.0 mL |
| pH 7.4  |            |

##### A.6.2 制法

将上述成分配好后, 分装每瓶 100 mL, 121℃高压灭菌 15 min。另配 10%甘露醇溶液, 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。

**A.6.3 试验方法**

从琼脂斜面上挑取培养物接种,于36℃±1℃培养不少于24 h,观察结果。甘露醇阳性者培养物呈黄色,阴性者为紫色。

**A.7 3%氯化钠赖氨酸脱羧酶试验培养基****A.7.1 成分**

|               |                             |
|---------------|-----------------------------|
| 蛋白胨           | 5.0 g                       |
| 酵母浸膏          | 3.0 g                       |
| 葡萄糖           | 1.0 g                       |
| 蒸馏水           | 1 000.0 mL                  |
| 1.6%溴甲酚紫-乙醇溶液 | 1.0 mL                      |
| L-赖氨酸         | 0.5 g/100 mL 或 1.0 g/100 mL |
| 氯化钠           | 30.0 g                      |
| 水             | 1 000.0 mL                  |

**A.7.2 制法**

除赖氨酸以外的成分加热溶解后,分装每瓶100 mL,校正pH至6.8。再按0.5%的比例加入赖氨酸,对照培养基不加赖氨酸。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。

**A.7.3 试验方法**

从琼脂斜面上挑取培养物接种,于36℃±1℃培养不少于24 h,观察结果。赖氨酸脱羧酶阳性者由于产碱中和葡萄糖产酸,故培养基仍应呈紫色。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.8 3%氯化钠MR-VP培养基****A.8.1 成分**

|   |            |
|---|------------|
| 多胨                                      | 7.0 g      |
| 葡萄糖                                     | 5.0 g      |
| 磷酸氢二钾(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) | 5.0 g      |
| 氯化钠                                     | 30.0 g     |
| 蒸馏水                                     | 1 000.0 mL |
| pH 6.9±0.2                              |            |

**A.8.2 制法**

将各成分溶于蒸馏水中,分装试管,121℃高压灭菌15 min。

**A.9 我妻氏血琼脂****A.9.1 成分**

|   |         |
|---|---------|
| 酵母浸膏                                    | 3.0 g   |
| 蛋白胨                                     | 10.0 g  |
| 氯化钠                                     | 70.0 g  |
| 磷酸氢二钾(K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) | 5.0 g   |
| 甘露醇                                     | 10.0 g  |
| 结晶紫                                     | 0.001 g |
| 琼脂                                      | 15.0 g  |