



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1222—2012
代替 SN/T 1222—2003

禽伤寒和鸡白痢检疫技术规范

Quarantine protocol for fowl typhoid and pullorum disease

2012-05-07 发布

2012-11-16 实施

中 华 人 民 共 和 国
国家质量监督检验检疫总局 发布

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
禽伤寒和鸡白痢检疫技术规范

SN/T 1222—2012

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

总编室:(010)64275323

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 25 千字
2012年10月第一版 2012年10月第一次印刷
印数 1—1 600

*

书号: 155066 • 2-24014 定价 18.00 元

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 SN/T 1222—2003《鸡白痢抗体检测方法 全血平板凝集试验》。

本标准与 SN/T 1222—2003 相比,主要技术变化如下:

- 增加了病原分离与鉴定和血清平板凝集试验。
- 修改了“全血平板凝集试验”的试剂部分,将阳性血清细分为强阳性和弱阳性血清;
- 修改了“全血平板凝集试验”的结果判定。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:刘中勇、许如苏、马保华、陈茹、鱼海琼、陈冠武、林彩华、朱道中。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- SN/T 1222—2003。

禽伤寒和鸡白痢检疫技术规范

1 范围

本标准规定了禽伤寒和鸡白痢的病原分离与鉴定、全血平板凝集试验和血清平板凝集试验的技术要求。

本标准适用于鸡禽伤寒和鸡白痢的检疫。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

SN/T 2123 出入境动物检疫实验样品采集、运输和保存规范

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

BPW buffered peptone water:缓冲蛋白胨水

BS bismuth sulfite agar:亚硫酸铋琼脂

HE hektoen enteric agar:HE 琼脂

SC selenite cysteine broth:亚硒酸盐胱氨酸增菌液

TSI triple sugar iron agar:三糖铁琼脂

TTB tetrathionate/brilliant green broth:四硫磺酸钠煌绿增菌液

XLD xylose lysine deoxycholate agar:木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂

4 生物安全措施

样品采集、样品处理及检验过程所涉及的实验操作和防护要求应符合 GB 19489 的规定。

5 病原分离与鉴定

5.1 试剂与材料

5.1.1 培养基

5.1.1.1 非选择性增菌液:BPW。

5.1.1.2 选择性增菌液:SC,TTB。

5.1.1.3 选择性琼脂平板:BS,XLD,HE,沙门氏菌显色培养基。

5.1.1.4 生化鉴定培养基:TSI,赖氨酸脱羧酶培养基、鸟氨酸脱羧酶培养基、尿素酶培养基、半固体培

培养基、糖发酵管、生化鉴定试剂盒或试剂条。

5.1.1.5 培养基的配制:培养基配制方法见附录 A。

5.1.2 蒸馏水

配制培养基的蒸馏水应符合 GB/T 6682 三级水的要求。

5.1.3 革兰氏染色液

购买市售商品或自行配制。配制方法见附录 B。

5.1.4 沙门氏菌诊断血清

A-F 多价 O 血清, O₉ 因子血清, O₁₂ 因子血清, H-a 因子血清, H-d 因子血清, H-g, m 因子血清和 H-g, p 因子血清。

5.2 设备

5.2.1 二级生物安全柜。

5.2.2 生化培养箱。

5.2.3 均质器。

5.2.4 电子天平(感量 0.1 g)。

5.2.5 显微镜。

5.2.6 全自动微生物鉴定系统。

5.3 样品采集

无菌采集病、死鸡的肝、脾、卵巢和输卵管等组织样品。如无病鸡或死鸡,可采集活鸡新鲜粪便或泄殖腔拭子。种鸡还可采集新鲜蛋,雏鸡还可采集孵化过程中出现的死胚。样品采集方法及保存条件应符合 SN/T 2123 的规定。

5.4 病原分离

5.4.1 组织样品或死胚

将组织样品或死胚直接划线接种 XLD 和 BS 或 HE 或沙门氏菌显色培养基平板, 36 °C ± 1 °C 培养 24 h, 挑取可疑菌落进行鉴定。同时, 将剩余组织样品或死胚制成 1 : 10 匀浆, 各取 10 mL 同时接种 90 mL BPW、90 mL SC 和 90 mL TTB, 将 BPW 和 SC 接种物置 36 °C ± 1 °C 培养, TTB 接种物置 42 °C ± 1 °C 培养, 取培养 24 h 的接种物分别划线接种 XLD 和 BS 或 HE 或显色培养基平板, 36 °C ± 1 °C 培养 24 h, 挑取可疑菌落进行鉴定。如无可疑菌落, 取培养 48 h 的上述接种物再划线分离一次。无可疑菌落者, 判为病原分离阴性。

5.4.2 新鲜粪便或泄殖腔拭子

将新鲜粪便或泄殖腔拭子同时接种 90 mL SC 和 90 mL TTB 增菌液, 分别置 36 °C ± 1 °C 和 42 °C ± 1 °C 培养。取 24 h 培养的接种物分别划线接种 XLD 和 BS 或 HE 或显色培养基平板, 36 °C ± 1 °C 培养 24 h, 挑取可疑菌落进行鉴定。如无可疑菌落, 取培养 48 h 的上述接种物再划线分离一次。无可疑菌落者, 判为病原分离阴性。

5.4.3 蛋内容物

无菌采取新鲜鸡蛋的内容物 25 g,加入 225 mL BPW 搅拌均匀浆,36℃±1℃培养,取培养 24 h 的接种物分别划线接种 XLD 和 BS 或 HE 或显色培养基平板,36℃±1℃培养 24 h,挑取可疑菌落进行鉴定。如无可疑菌落,用培养 48 h 的上述接种物再划线分离一次。无可疑菌落者,判为病原分离阴性。

5.5 病原鉴定

5.5.1 菌落特征

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

琼脂平板	沙门氏菌菌落特征
XLD	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。
BS	菌落呈黑色有金属光泽、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	呈蓝绿色或蓝色,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。
显色培养基	按照显色培养基的说明进行判定。

5.5.2 形态与染色特性

从 XLD、BS 或 HE 或显色培养基平板上挑取典型或可疑菌落涂片,革兰氏染色镜检。沙门氏菌为革兰氏染色阴性杆菌。

5.5.3 生化鉴定

从 XLD、BS 或 HE 或显色培养基平板上挑取典型或可疑菌落,分别接种 TSI、赖氨酸脱羧酶培养基或尿素酶培养基。36℃±1℃培养 24 h,观察结果。沙门氏菌在 TSI 和赖氨酸脱羧酶培养基或尿素酶培养基内的反应分别见表 2 和表 3。

表 2 沙门氏菌属在 TSI 和赖氨酸脱羧酶培养基内的反应结果

TSI				赖氨酸脱羧酶培养基	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。

表 3 沙门氏菌属在 TSI 和尿素酶培养基内的反应结果

TSI				尿素酶培养基	初步判断
斜面	底层	产气	硫化氢		
K	A	+(—)	+(—)	—	可疑沙门氏菌属
A	A	+(—)	+(—)	—	可疑沙门氏菌属
K	A	+(—)	+(—)	+	非沙门氏菌
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。

初步判定为可疑沙门氏菌属的，用其 TSI 培养物按表 4 或生化鉴定试剂盒或试剂条或全自动微生物生化鉴定系统作进一步鉴定。

表 4 鸡伤寒沙门氏菌和鸡白痢沙门氏菌生化反应结果

项目	TSI				倒插管葡萄糖产气	尿素酶	鸟氨酸脱羧酶	赖氨酸脱羧酶	麦芽糖	半乳糖醇	半固体动力
	斜面	底层	产气	H ₂ S							
鸡伤寒沙门氏菌	K	A	—	v	—	—	—	+	+	+	—
鸡白痢沙门氏菌	K	A	v	v	+	—	+	+	—或迟缓+	—	—

注：K：产碱；A：产酸；+：1 d~2 d 内 90%（含 90%）以上出现阳性反应；—：1 d~2 d 内 90%（含 90%）以上无反应；v：反应不定。TSI、赖氨酸脱羧酶试验和尿素酶试验结果可利用表 2 或表 3 的结果，无需另做。

符合表 4 反应的，初判为鸡伤寒沙门氏菌和鸡白痢沙门氏菌，需进一步作血清学鉴定；经生化鉴定试剂盒或试剂条，或全自动微生物生化鉴定系统鉴定为沙门氏菌的，也需进一步作血清学鉴定。

5.5.4 血清学鉴定

在洁净的玻璃片上划出 2 个 1 cm×2 cm 的区域，一个区域加 1 滴生理盐水作为对照，另一个区域加 1 滴 A-F 多价 O 血清。从培养 18 h~24 h 的 TSI 上挑取少量待鉴定菌苔，分别与生理盐水和血清混匀，并研成乳状液。轻轻摇动玻片 1 min~2 min，置黑色背景下观察。如对照试验出现凝集反应，判定菌株自凝，不能进行血清分型；如对照试验不出现凝集反应，多价血清试验出现凝集反应的，用单因子血清 O₉、O₁₂、H-a、H-d、H-g. m 和 H-g. p 分别代替 A-F 多价 O 血清进行凝集试验。

培养物与 O₉、O₁₂ 和 H-d 因子血清作用出现凝集反应，与 H-a、H-g. m 和 H-g. p 因子血清作用不出现凝集反应的，判定为鸡伤寒沙门氏菌；培养物与 O₉、O₁₂ 因子血清作用出现凝集反应，与 H-a、H-d、H-g. m 和 H-g. p 因子血清作用不出现凝集反应的，判定为鸡白痢沙门氏菌。

6 全血平板凝集试验

6.1 试剂与器材

6.1.1 禽伤寒和鸡白痢多价染色平板抗原、强阳性血清（500 IU/mL）、弱阳性血清（10 IU/mL）、阴性

血清。

6.1.2 玻璃板或白瓷板、可调移液器(20 μL ~200 μL)、一次性吸头、消毒针头、消毒盘和酒精棉等。

6.2 试验操作

在洁净的玻璃板或白瓷板上,用标记笔划出 3 cm \times 3 cm 的方格。将抗原摇匀后,在每一方格内垂直滴加抗原 1 滴。用针头刺破鸡的翅静脉或冠尖,用移液器吸取与抗原等量的血液,滴加在方格内,与抗原充分混合均匀,轻轻摇动玻璃板或白瓷板,2 min 内判定结果,同时设立强阳性血清、弱阳性血清和阴性血清对照。

6.3 凝集反应判定标准

凝集反应判定标准如下:

- 100%凝集(>):紫色凝集块大而明显,混合液较清;
- 75%凝集(+++):紫色凝集块较明显,混合液有轻度浑浊;
- 50%凝集(++):出现明显的紫色凝集颗粒,混合液较为浑浊;
- 25%凝集(+):仅出现少量的细小颗粒,混合液浑浊;
- 不凝集(-):无凝集颗粒出现,混合液浑浊。

6.4 试验成立条件

在 2 min 内,抗原与强阳性血清出现 100%凝集(,),与弱阳性血清出现 50%凝集(++),与阴性血清不凝集(-)时,试验成立,可进行结果判定。否则,应重新试验。

6.5 结果判定

结果判定如下:

- 在 2 min 内,被检全血与抗原出现 50%(++)以上凝集的,判为禽伤寒和鸡白痢抗体阳性;
- 在 2 min 内,被检全血与抗原不发生凝集的,判为禽伤寒和鸡白痢抗体阴性;
- 在 2 min 内,被检全血与抗原出现 50%(++)以下凝集,判为可疑反应。需将可疑鸡隔离饲养 1 个月后,再检验,若仍为可疑反应,则按阳性反应判定。

7 血清平板凝集试验

本试验所用试剂、材料、试验操作和结果判定与全血平板凝集试验相同,所不同的是用血清代替全血进行试验。试验所用血清宜在血清采集后 72 h 内完成试验。未能及时进行试验的,血清应保存在 -18 $^{\circ}\text{C}$ 以下。

附录 A
(规范性附录)
培养基的配制

A.1 缓冲蛋白胨水(BPW)

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

将各成分加入蒸馏水中,搅拌均匀,静置约 10 min,煮沸溶解,调节 pH 为 7.2 ± 0.2 ,分装后高压灭菌 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min。

A.2 亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)

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

除亚硒酸氢钠和 L-胱氨酸外,将各成分加入蒸馏水中,搅拌均匀,煮沸溶解,冷至 $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 g L-胱氨酸,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 15 mL,使溶解,再加灭菌蒸馏水至 100 mL 即成,如为 DL-胱氨酸,用量应加倍)。摇匀,调节 pH 为 7.0 ± 0.2 。

A.3 四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)

A.3.1 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 为 7.0 ± 0.2 ,高压灭菌 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 20 min。

A.3.2 硫代硫酸钠溶液

硫代硫酸钠(含 5 个结晶水)	50.0 g
-----------------	--------

蒸馏水
高压灭菌 121 ℃, 20 min。 加至 100 mL

A.3.3 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.3.4 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 1 d,使其自然灭菌。

A.3.5 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.3.6 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.4 木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂(XLD)

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
0.5%酚红 16 mL
蒸馏水 1 000 mL

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 为 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,再加入酚红指示剂,待冷至 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时倾注平皿。

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.5 亚硫酸铋琼脂(BS)

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
0.5%煌绿	5.0 mL
柠檬酸铋铵	2.0 g
亚硫酸钠	6.0 g
琼脂	18.0 g~20.0 g
蒸馏水	1 000 mL

将前三种成分加入 300 mL 蒸馏水(制作基础液),将硫酸亚铁和磷酸氢二钠分别加入 20 mL 和 30 mL 蒸馏水,将柠檬酸铋铵和亚硫酸钠分别加入 20 mL 和 30 mL 蒸馏水,将琼脂加入 600 mL 蒸馏水中。然后分别搅拌均匀,煮沸溶解。冷至 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 为 7.5 ± 0.2 ,随即倾入琼脂液中,混合均匀,冷至 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。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。储于室温暗处,超过 48 h 会降低其选择性,本培养基宜于当天配制,第二天使用。

A.6 HE 琼脂

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

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。将甲液和乙液加入基础液内,调节 pH 为 7.5 ± 0.2 。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。

注 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

注 3: 乙液的配制

去氧胆酸钠	10.0 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	16.0 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.7 沙门氏菌显色培养基

按使用说明称取干粉培养基,加适量蒸馏水,加热溶解后,待冷至 50℃~55℃时倾注平皿。

A.8 三糖铁琼脂(TSI)

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
0.5% 酚红	5 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

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 为 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 3 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.9 赖氨酸脱羧酶培养基

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

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,或 DL-赖氨酸按 1%加入。调节 pH 为 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,高压灭菌 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$,10 min。

A. 10 鸟氨酸脱羧酶培养基

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-鸟氨酸或 DL-鸟氨酸	0.5 g/100 mL 或 1.0 g/100 mL

除鸟氨酸以外的成分加热溶解后,分装,每瓶 100 mL,分别加入鸟氨酸。L-鸟氨酸按 0.5%加入,或 DL-鸟氨酸按 1%加入。调节 pH 为 6.8 ± 0.2 。对照培养基不加鸟氨酸。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,高压灭菌 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$,10 min。

A. 11 尿素酶培养基

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

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 为 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,再加入指示剂后分装,高压灭菌 $115\text{ }^{\circ}\text{C}$,15 min。冷至 $50\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时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. 12 半固体琼脂

牛肉膏	0.3 g
蛋白胨	1.0 g
氯化钠	0.5 g
琼脂	0.35 g~0.4 g
蒸馏水	100 mL

按以上成分配好,煮沸溶解,调节 pH 为 7.4 ± 0.2 。分装小试管。高压灭菌 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$,15 min。直立凝固,备用。

A.13 糖发酵管

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

按上述成分配好后,调节 pH7.4±0.2。按 0.5%加入各种糖,分装于试管。如配制葡萄糖发酵管,需于试管内倒置一小管,高压灭菌 115 ℃,15 min。

附 录 B
(规范性附录)
革兰氏染色液配制

B.1 结晶紫染色液

结晶紫	1.0 g
95%乙醇	20 mL
1%草酸铵溶液	80 mL

将结晶紫溶于乙醇中,然后与草酸铵溶液混合。

B.2 革兰氏碘液

碘片	1.0 g
碘化钾	2.0 g
蒸馏水	300 mL

将碘片和碘化钾混合,加入少量蒸馏水,充分振摇,待完全溶解后,再加蒸馏水至 300 mL。

B.3 革兰氏脱色液

无水乙醇	95 mL
蒸馏水	5 mL

将水加入乙醇中,摇匀。

B.4 沙黄复染液

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10 mL
蒸馏水	90 mL

将沙黄溶于乙醇中,再加入蒸馏水。



SN/T 1222-2012

书号:155066·2-24014

定价: 18.00 元