

# SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

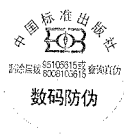
SN/T 2552.6—2010

## 乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第6部分：柠檬酸杆菌检验

Microbiological examination for milk and milk products hygiene—  
Part 6: Detection of *Citrobacter* spp.

2010-05-27 发布

2010-12-01 实施



中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

## 前 言

SN/T 2552《乳及乳制品卫生微生物学检验方法》分为十三个部分：

- 第 1 部分：取样指南；
- 第 2 部分：检验样品的制备与稀释；
- 第 3 部分：酵母、霉菌菌落计数；
- 第 4 部分：嗜冷菌微生物菌落计数；
- 第 5 部分：沙门氏菌检验；
- 第 6 部分：柠檬酸杆菌检验；
- 第 7 部分：阴沟肠杆菌检验；
- 第 8 部分：普通变形杆菌和奇异变形杆菌检验；
- 第 9 部分：克雷伯氏菌检验；
- 第 10 部分：阪崎肠杆菌检验 免疫荧光法；
- 第 11 部分：蜡样芽孢杆菌的分离与计数；
- 第 12 部分：单核细胞增生李斯特氏菌检测与计数；
- 第 13 部分：假单胞菌属的分离与计数。

本部分是 SN/T 2552 的第 6 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位：中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国山西出入境检验检疫局、北京农业生物技术研究中心。

本部分主要起草人：李卫华、张建军、王永勤、罗秀珍、王旭、张敏爱、赵贵明。

# 乳及乳制品卫生微生物学检验方法

## 第6部分:柠檬酸杆菌检验

### 1 范围

SN/T 2552 的本部分规定了乳粉中柠檬酸杆菌的最可能数计数方法。

本部分适用于乳粉中柠檬酸杆菌(属或种)的最可能数检验。

### 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。

SN/T 1538.1 培养基制备指南 第1部分:实验室培养基制备质量保证通则

SN/T 1538.2 培养基制备指南 第2部分:培养基性能测试实用指南

SN/T 2552.1 乳及乳制品卫生微生物学检验方法 第1部分:取样指南

### 3 术语和定义

以下术语和定义适用于本文件。

#### 3.1 柠檬酸杆菌属 *Citrobacter* spp.

柠檬酸杆菌拉丁学名 *Citrobacter*(Werkman 和 Gillen, 1932),革兰氏阴性兼性厌氧菌。直杆菌、直径约  $1.0\ \mu\text{m}$ ,长  $2.0\ \mu\text{m}\sim 6.0\ \mu\text{m}$ 。有呼吸和发酵两种代谢类型。氧化酶阴性。动力试验、ONPG 试验阳性,能利用柠檬酸盐,能够液化明胶,DNA 酶试验和 V-P 试验阴性。根据《伯杰氏细菌学分类手册》,柠檬酸杆菌属分为弗氏柠檬酸杆菌(*C. freundii*)、科氏柠檬酸杆菌(*C. diversus*)和无丙二酸盐柠檬酸杆菌(*C. amalonaticus*)三个种。

### 4 仪器、器具及标准菌株

4.1 水浴箱:  $45\ \text{℃}\pm 1\ \text{℃}$ 。

4.2 培养箱:  $35\ \text{℃}\sim 37\ \text{℃}$ 。

4.3 吸管: 1 mL, 5 mL 和 10 mL。

4.4 接种环: 直径 3 mm。

4.5 天平: 感量 0.1 g。

4.6 样品稀释瓶: 100 mL, 250 mL 和 2 000 mL 三角瓶或其他适宜稀释瓶。

4.7 培养皿: 直径 90 mm。

4.8 柠檬酸杆菌标准菌株: 弗氏柠檬酸杆菌 ATCC 43864, 科氏柠檬酸杆菌 ATCC 27156, 无丙二酸盐柠檬酸杆菌 ATCC 25407(或其他能溯源到上述菌株的标准菌株)。

- 4.9 API 20E 生化鉴定试剂盒<sup>1)</sup>或类似产品。
- 4.10 VITEK 生化鉴定系统<sup>1)</sup>或类似设备。

## 5 试剂和培养基

- 5.1 四硫磺酸盐煌绿增菌肉汤(TTB);见附录 A 第 A.1 章。
- 5.2 沙门氏菌志贺氏菌分离琼脂(SS);见附录 A 第 A.2 章。
- 5.3 亚硫酸铋琼脂(BS);见附录 A 第 A.3 章。
- 5.4 营养琼脂(NA);见附录 A 第 A.4 章。
- 5.5 氧化酶试验试剂;见附录 A 第 A.5 章。
- 5.6 半固体琼脂;见附录 A 第 A.6 章。
- 5.7 ONPG 试验培养基;见附录 A 第 A.7 章。
- 5.8 西蒙氏柠檬酸盐培养基;见附录 A 第 A.8 章。
- 5.9 DNA 酶甲基绿琼脂;见附录 A 第 A.9 章。
- 5.10 营养明胶;见附录 A 第 A.10 章。
- 5.11 V-P 试验培养基及试剂;见附录 A 第 A.11 章。
- 5.12 水杨酸发酵培养基;见附录 A 第 A.12 章。
- 5.13 D-戊糖醇发酵培养基;见附录 A 第 A.13 章。
- 5.14 三糖铁琼脂;见附录 A 第 A.14 章。
- 5.15 鸟氨酸培养基;见附录 A 第 A.15 章。
- 5.16 蛋白胨水(靛基质试验用);见附录 A 第 A.16 章。
- 5.17 丙二酸钠培养基;见附录 A 第 A.17 章。

## 6 取样

按 SN/T 2552.1 执行。本部分采用“三管”增菌法定量检测样品中的柠檬酸杆菌,该方法能检测样品中含量少的目标菌。该方法至少需要 333 g 样品。

## 7 检测步骤

### 7.1 增菌

无菌称取样品 100 g,10 g 和 1 g 各三份分别加入 2 000 mL、250 mL 和 100 mL 样品稀释瓶中,加入 9 倍预热到 45 °C 的灭菌蒸馏水(1:10 稀释),或者将样品直接称量到装有 9 倍预热到 45 °C 的灭菌蒸馏水的样品稀释瓶中,振摇使样品充分混匀,36 °C ± 1 °C 培养 18 h~24 h。

分别移取培养 18 h~24 h 的悬液各 10 mL 加入 90 mL 四硫磺酸盐煌绿增菌肉汤(TTC)中,36 °C ± 1 °C 培养 18 h~24 h。

### 7.2 分离培养

轻轻混匀增菌液,每份增菌液用接种环接种沙门氏菌志贺氏菌分离琼脂(SS)平板、亚硫酸铋琼脂(BS)平板。采用三区法或四区法划线,以获得单个菌落。将平板倒置于 36 °C ± 1 °C,SS 琼脂平板培养

1) API 20E 和 VITEK 生化鉴定系统是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部分的使用者,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,则可使用这些等效产品。

18 h~24 h, BS 琼脂平板培养 40 h~48 h。

从 SS 平板和 BS 平板上分别挑取 3 个~5 个可疑菌落,在营养琼脂斜面上纯化培养。柠檬酸杆菌在 SS 琼脂平板上的可疑菌落为圆形,粉红色、黑色、无色菌落,或粉红色、黑色中心菌落;在 BS 琼脂平板上的可疑菌落为棕绿色或棕黑色菌落。

### 7.3 分离鉴定

#### 7.3.1 方法选择

对挑选的菌体进行革兰氏染色,氧化酶试验初步生化鉴定。革兰氏染色阴性,氧化酶试验阴性按 7.3.2 进行初步生化试验。对于需要鉴定到种的菌体可直接用 API 20E 生化鉴定试剂盒、VITEK 生化鉴定系统或性能相似的产品直接进行生化鉴定。

#### 7.3.2 初步生化鉴定

使用营养琼脂平板或斜面上纯化分离的新鲜培养物(培养时间不超过 24 h)进行动力试验、ONPG 试验、柠檬酸盐试验、DNA 酶试验(或明胶液化试验)和 V-P 试验。动力试验、ONPG 试验和柠檬酸盐试验阳性,DNA 酶试验(或明胶液化试验)和 V-P 试验阴性的菌落为柠檬酸杆菌属细菌。再次用营养琼脂纯化培养 18 h~24 h 后,进行以下生化试验。

#### 7.3.3 生化鉴定

使用营养琼脂上的新鲜培养物(培养时间不超过 24 h)按表 1 各项生化试验进行柠檬酸杆菌各种的鉴定,也可使用 API 20E 生化鉴定试剂盒,VITEK 生化鉴定系统或性能相似的产品进行生化鉴定。

表 1 柠檬酸杆菌属生化鉴定表

确证试验	弗氏柠檬酸杆菌 ( <i>C. freundii</i> )	科氏柠檬酸杆菌 ( <i>C. diversus</i> )	无丙二酸柠檬酸杆菌 ( <i>C. amalonaticus</i> )
水杨酸发酵产酸	—	V(—)	V
D-戊糖醇发酵产酸	—	+	—
产硫化氢	V(+)	—	—
鸟氨酸脱羧酶	V(—)	+	+
靛基质	—	+	+
丙二酸盐利用	V(—)	+	—

注: +: ≥90% 阳性; (+): 75%~89% 阳性; d: 不同菌株不定; (—): 75%~89% 阴性; —: ≥90% 阴性。

## 8 结果判定与结果报告

### 8.1 结果判定

#### 8.1.1 柠檬酸杆菌属

革兰氏染色阴性,氧化酶实验阴性,生化反应符合 7.3.2 要求的菌落,判定为柠檬酸杆菌属细菌。

#### 8.1.2 柠檬酸杆菌

革兰氏染色阴性,氧化酶实验阴性,生化反应结果与 7.3.2 和 7.3.3 中表 1 的生化反应结果相符,

或根据生化鉴定试剂盒、生化鉴定系统鉴定到柠檬酸杆菌属各种的结果,可判定为特定的柠檬酸杆菌。

## 8.2 结果报告

生化鉴定结果符合柠檬酸杆菌生化特性,按增菌培养的阳性瓶数,应用 MPN 表(见附录 B),查出每 100 g 样品中的 MPN 值。检测结果报告为每 100 g 样品中柠檬酸杆菌(属或种)的 MPN 值。

附 录 A  
(规范性附录)  
培养基和试剂

为保证培养基的质量,宜按照 SN/T 1538.1 和 SN/T 1538.2 对培养基进行质量控制。也可使用符合 SN/T 1538 质量要求的商品化脱水合成培养基。

#### A.1 四硫磺酸盐煌绿增菌肉汤(TTB)

##### A.1.1 成分

###### A.1.1.1 基础成分

蛋白胨	5.0 g
胆盐	1.0 g
碳酸钙	10.0 g
硫代硫酸钠	30.0 g
蒸馏水	1 000 mL

###### A.1.1.2 碘溶液

碘	6.0 g
碘化钾	5.0 g
蒸馏水	20 mL

##### A.1.2 制备方法

将基础培养基的各成分加入蒸馏水,加热溶解,校正 pH 至 7.0,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。

#### A.2 SS 琼脂

##### A.2.1 成分

###### A.2.1.1 基础成分

牛肉膏	5.0 g
蛋白胨	5.0 g
三号胆盐	3.5 g
琼脂	17.0 g
蒸馏水	1 000 mL

###### A.2.1.2 完全培养基

基础培养基	1 000 mL
乳糖	10.0 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

#### A.2.2 制备方法

加热溶化基础培养基,按比例加入上述除染料外的各成分,充分混匀,校正 pH 至 7.0,加入中性红和煌绿溶液,倾注平板。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:制好的煌绿溶液应在 10 d 内使用。

### A.3 亚硫酸铋琼脂(BS)

#### A.3.1 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
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

#### A.3.2 制备方法

A.3.2.1 将前五种成分加入 300 mL 蒸馏水中。

A.3.2.2 柠檬酸铋铵和亚硫酸钠分别另用 50 mL 蒸馏水溶解。

A.3.2.3 将琼脂于 600 mL 蒸馏水中煮沸溶解,冷至 80 °C 左右。

A.3.2.4 将上述三液合并,补充水至 1 000 mL,校正 pH7.5,加入 5%煌绿溶液,冷却至 50 °C~55 °C。倾注平皿。

注:此培养基不需要高压灭菌。制备过程不宜过分加热,以避免降低选择性。应在临用前一天制备,储存于室温暗处。超过 48 h 不宜使用。

### A.4 营养琼脂(NA)

#### A.4.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉膏	3.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g~20.0 g
蒸馏水	1 000 mL



#### A.4.2 制备方法

将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水中,加入 15% 氢氧化钠溶液约 2 mL,调节 pH 至  $7.3 \pm 0.1$ ,加入琼脂,加热煮沸,使琼脂融化。分装烧瓶,121 °C 高压灭菌 15 min。

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

#### A.5 氧化酶试验试剂

##### A.5.1 成分

A.5.1.1 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。

A.5.1.2 1%  $\alpha$ -萘酚-乙醇溶液。

##### A.5.2 试验方法

A.5.2.1 取白色洁净滤纸沾取菌落,加一滴盐酸二甲基对苯二胺试剂,阳性者呈现粉红色,并逐渐加深;再加  $\alpha$ -萘酚-乙醇溶液一滴,阳性者于 0.5 min 内呈现鲜蓝色。阴性于 2 min 内不变色。

A.5.2.2 用毛细吸管吸取试剂,直接滴加于菌落上,阳性反应与以上试验相同。

#### A.6 半固体琼脂

##### A.6.1 成分

蛋白胨	1.0 g
牛肉膏	0.3 g
氯化钠	0.5 g
琼脂	0.35 g~0.40 g
蒸馏水	100 mL

##### A.6.2 制备方法

将各成分加入蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH 至 7.4,分装 15 mm × 100 mm 试管,121 °C 高压灭菌 15 min,直立凝固后备用。

注:供动力观察、菌种保存、H 抗原位相变异试验等用。

##### A.6.3 试验方法

穿刺接种新鲜菌株培养物(培养不超过 24 h),36 °C  $\pm$  1 °C 培养 18 h~24 h 观察结果。穿刺线周围呈现弥散的混浊状生长时,为阳性反应;若菌株只沿穿刺线生长,则为阴性反应。

#### A.7 ONPG 试验培养基

##### A.7.1 成分

邻硝基酚 $\beta$ -D-半乳糖苷(ONPG)	0.06 g
0.01 mol/L 磷酸氢二钠缓冲液	10 mL
1% 蛋白胨水(pH7.5)	30 mL

### A.7.2 制备方法

将 ONPG 溶于磷酸氢二钠缓冲液中,过滤除菌,加于 121 °C 高压灭菌 15 min 的蛋白胨水中,混匀,分装 15 mm×100 mm 试管,每管约 2 mL,橡皮塞塞紧。避光保存于 2 °C~8 °C 冰箱,可供 1 个月使用,如变黄应弃去。

### A.7.3 试验方法

在琼脂斜面上挑取一满环培养物,36 °C±1 °C 培养 1 h~3 h 和 24 h,观察结果。若产生 β-半乳糖苷酶,则培养物于 1 h~3 h 变黄色,如无此酶则 24 h 不变色。

## A.8 西蒙氏柠檬酸盐培养基

### A.8.1 成分

氯化钠	5.0 g
七水合硫酸镁(MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O)	0.2 g
磷酸氢二铵	1.0 g
磷酸二氢钾	1.0 g
柠檬酸钠	5.0 g
0.2%溴百里酚蓝溶液	40 mL
琼脂	20.0 g
蒸馏水	1 000 mL

### A.8.2 制备方法

先将盐类物质加入蒸馏水中,pH 调至 6.8,加入琼脂,加热溶解,加入溴百里酚蓝溶液,混匀,分装 15 mm×100 mm 试管,使试管底部高约为 3 cm,121 °C 高压灭菌 15 min,摆成斜面备用。

### A.8.3 试验方法

接种一环新鲜菌株培养物(培养时间小于 24 h)到培养基中,36 °C±1 °C 培养 18 h~24 h。培养基颜色变为蓝色为阳性反应,绿色为阴性反应。

## A.9 DNA 酶甲基绿琼脂(DTA)

### A.9.1 成分

#### A.9.1.1 基础成分

胰蛋白胨	15.0 g
植物胨	5.0 g
DNA	2.0 g
氯化钠	5.0 g
氯化钙	0.02 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL

### A.9.1.2 甲基绿溶液

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

### A.9.2 制备方法

将各基础成分加水徐加热,避免形成饼溶性丝状物,校正 pH 至 7.3,121℃ 高压灭菌 15 min。每 100 mL 灭菌基础培养基中加入 1 mL 甲基绿溶液,使甲基绿终浓度为 0.005%。

### A.9.3 试验方法

将新鲜菌株培养物(培养时间小于 24 h)在 DTA 琼脂平板上划线或点穿接种,36℃±1℃ 培养 18 h~24 h 后观察结果。阳性反应在平板上能观察到清晰的 DNA 降解区带;阴性反应为雾状区带,表示 DNA 未降解。

## A.10 营养明胶

### A.10.1 成分

蛋白胨	5.0 g
牛肉浸粉	3.0 g
明胶	120.0 g
蒸馏水	1 000 mL
pH6.8~7.0	

### A.10.2 制备方法

将各成分加入蒸馏水中,加热溶解,分装 15 mm×100 mm,调节 pH 至 7.4~7.6。121℃ 高压灭菌 10 min,取出后迅速冷却,使其凝固。复查最终 pH 为 6.8~7.0。

### A.10.3 试验方法

用接种针穿刺接种新鲜菌株培养物(培养时间小于 24 h),36℃±1℃ 培养 24 h~72 h 后观察。若 72 h 内明胶水解,且在 4℃ 或冷水浴放置 30 min 后,明胶仍不凝固,为阳性反应。否则为阴性反应。

## A.11 V-P(Voges-Proskauer)试验培养基及试剂

### A.11.1 缓冲葡萄糖蛋白胨水

#### A.11.1.1 成分

多胨	7.0 g
磷酸氢二钾	5.0 g
葡萄糖	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

#### A.11.1.2 制备方法

将各成分加入蒸馏水中,加热溶解,调节 pH 至 7.0,分装 15 mm×100 mm 试管,每管 1 mL,121℃

高压灭菌 15 min。

#### A. 11.2 V-P 试剂(Voges-Proskauer)

##### A. 11.2.1 成分

甲液: $\alpha$ -萘酚	6.0 g
95%乙醇	100.0 mL
乙液: 氢氧化钾	10.0 g
肌酸	0.3 g
蒸馏水	100.0 mL

##### A. 11.2.2 制备方法

将  $\alpha$ -萘酚溶于 95%乙醇中,完全溶解配制成甲液;氢氧化钾、肌酸溶于蒸馏水中完全溶解制成乙液。保存于 2℃~8℃冰箱备用。

##### A. 11.3 试验方法

接种新鲜菌株培养物(培养时间小于 24 h),36℃±1℃培养 24 h~48 h,加入 V-P 甲乙液试剂后 36℃±1℃培养,阳性反应立刻或于数分钟内出现红色,如为阴性反应,应在 36℃±1℃培养 4 h 再进行观察。

#### A. 12 水杨酸发酵培养基

##### 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( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	2.0 g
0.2%溴麝香草酚蓝溶液	12.0 mL
蒸馏水	1 000 mL
pH7.4	

##### A. 12.2 制备方法

将上述成分充分溶解。同时配制 10%的水杨酸溶液,与基础培养基同时于 121℃高压灭菌 15 min。使用时按 5%的量将水杨酸溶液加入基础培养基,无菌操作分装 15 mm×100 mm 试管。

##### A. 12.3 试验方法

挑取少量培养物接种水杨酸培养基试管 36℃±1℃培养 48 h,并随时观察颜色变化。溶液变为黄色为阳性反应,蓝色为阴性反应。

#### A. 13 D-戊糖醇发酵培养基

##### A. 13.1 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 mL
pH7.4	

#### A. 13.2 制备方法

将上述成分充分溶解,校正 pH 至 7.4。同时配制 10%的 D-戊糖醇溶液,与基础培养基同时于 121 °C 高压灭菌 15 min。使用时按 5%的量将 D-戊糖醇溶液加入基础培养基,无菌操作分装 15 mm×100 mm 试管备用。

#### A. 13.3 试验方法

挑取少量培养物接种 D-戊糖醇培养基试管 36 °C±1 °C 培养 48 h,并随时观察颜色变化。溶液变为黄色为阳性反应,蓝色为阴性反应。

### A. 14 三糖铁琼脂

#### A. 14.1 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
氯化钠	5.0 g
硫酸亚铁胺	0.2 g
硫代硫酸钠	0.2 g
琼脂	12.0 g
0.2%酚红溶液	12.5 mL
蒸馏水	1 000 mL

#### A. 14.2 制备方法

将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH7.4。加入琼脂,加热煮沸,将琼脂融化。加入 0.2%酚红溶液 12.5 mL,摇匀。分装 15 mm×100 mm 试管,分装量以能制成高层斜面为宜。121 °C 灭菌 15 min。制成高层斜面备用。

#### A. 14.3 试验方法

用接种针穿刺并划线,36 °C±1 °C 培养 18 h~24 h。培养基变黑色表明有  $\text{H}_2\text{S}$  产生。

### A. 15 鸟氨酸培养基

#### A. 15.1 成分

蛋白胨	5.0 g
-----	-------

酵母粉	3.0 g
葡萄糖	1.0 g
1.6%溴甲酚紫-乙醇溶液	1.0 mL
蒸馏水	1 000 mL
L-鸟氨酸	5.0 g/100 mL

#### A. 15.2 制备方法

将除氨基酸外的其他成分加热溶解于蒸馏水中,分装每瓶 100 mL,加入 L-鸟氨酸,校正 pH 至 6.8,加入指示剂。分装于 15 mm×100 mm 试管,每管约 2 mL,115 °C 灭菌 10 min。

注:对照培养基不包括 L-鸟氨酸的其他所有成分。

#### A. 15.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取培养物接种,接种后用石蜡油密封。36 °C±1 °C 培养 18 h~24 h,观察结果。鸟氨酸脱羧酶阳性者由于产碱,培养基颜色变为紫色,阴性无碱产生,但因葡萄糖产酸使培养基变为黄色。对照试管为黄色。

### A. 16 蛋白胨水(靛基质试验用)

#### A. 16.1 成分

蛋白胨(或胰蛋白胨)	20.0 g
氯化钠	5.0 g
蒸馏水	1 000 mL

#### A. 16.2 制备方法

按上述成分配制,调节 pH 至 7.4±0.1,分装小试管,121 °C 高压灭菌 15 min。

#### A. 16.3 靛基质试剂

A. 16.3.1 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。

A. 16.3.2 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。

#### A. 16.4 试验方法

挑取少量培养物接种,在 36 °C±1 °C 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。

### A. 17 丙二酸钠培养基

#### A. 17.1 成分

酵母浸膏	1.0 g
硫酸胺	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%麝香草酚蓝溶液	12 mL
蒸馏水	1 000 mL

#### A. 17.2 制备方法

先将除指示剂外的其他成分溶于水中,加热溶解,校正 pH6.8,分装 15 mm×100 mm 试管,121 °C 高压灭菌 15 min。

#### A. 17.3 试验方法

接种新鲜培养物,36 °C±1 °C 培养 48 h,观察结果。阳性反应由绿色变为蓝色。

附录 B  
(规范性附录)

最可能数(MPN)表(95%置信区间)

表 B.1 最可能数(MPN)表(95%置信区间)

使用三管法,接种量分别为 10.0 g,1.0 g 和 0.1 g。

阳性管数			MPN/100 g	可信限		阳性管数			MPN/100 g	可信限	
10	1	0.1		低	高	10	1	0.1		低	高
0	0	0	<3.0	—	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1 000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1 000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2 000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1 100	180	4 100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1 100	420	—

注:如果接种量扩大 10 倍,分别为 100.0 g,10.0 g 和 1 g 时,表中的数字相应缩小 10 倍。如果接种量缩小 10 倍,分别为 1.0 g,0.1 g 和 0.01 g 时,表中的数字相应扩大 10 倍,其余类推。



中华人民共和国出入境检验检疫  
行 业 标 准  
乳及乳制品卫生微生物学检验方法  
第 6 部分：柠檬酸杆菌检验  
SN/T 2552.6—2010

\*

中国标准出版社出版  
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

\*

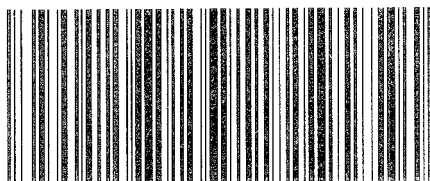
开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 28 千字

2010 年 10 月第一版 2010 年 10 月第一次印刷

印数 1—1 600

\*

书号：155066·2-21208 定价 21.00 元



SN/T 2552.6—2010