

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1538.1—2016
代替 SN/T 1538.1—2005

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

Guidelines on preparation and production of culture media—
Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation
of culture media in the laboratory

(ISO/TS 11133-1:2009, Microbiology of food and animal feeding stuffs—
Guidelines on preparation and production of culture media—
Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture
media in the laboratory, MOD)

2016-08-23 发布

2017-03-01 实施



中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 培养基质量控制	4
4.1 证明文件	4
4.2 贮存	5
4.3 培养基的实验室制备	5
4.4 培养基的使用	7
4.5 培养基的弃置	8
5 质控菌株的储存与维护	8
5.1 概述	8
5.2 商业途径获得的质控菌株	8
5.3 实验室制备的标准储备菌株	8
5.4 储备菌株	8
5.5 工作菌株	8
6 最终培养基的性能测试	9
6.1 概述	9
6.2 物理质量控制	9
6.3 微生物质量控制	9
附录 A (资料性附录) 食品和动物饲料的微生物学标准中培养基成分名称	10
附录 B (资料性附录) 培养基的质量保证——疑难解答	11
附录 C (资料性附录) 标准储备菌株和工作菌株的制备	12

前 言

SN/T 1538《培养基制备指南》分为两个部分：

——第1部分：实验室培养基制备质量保证通则；

——第2部分：培养基性能测试实用指南。

本部分为 SN/T 1538 的第1部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 SN/T 1538.1—2005《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》，与 SN/T 1538.1—2005 相比，主要技术变化如下：

——对原标准的范围进行了修订；

——对“规范性引用文件”进行了修订；

——修改和增加了部分术语和定义；

——修改了“4.1.2 产品的交付验收”；

——修改了“4.3 培养基的实验室制备”和“4.4 培养基的使用”中部分内容；

——修改了“5 质控菌株的储存与维护”；

——修改了“6.1 物理指标控制”；

——修改了附录 C。

本部分使用重新起草法修改采用 ISO/TS 11133-1:2009《食品和动物饲料微生物学 培养基制备指南 实验室培养基制备质量保证通则》。

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：中华人民共和国福建出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：郑麟毅、郑铃、陈彬、李卫华、赵贵明、张建军、吴文凡、郑晶、陈舒弈、黄菁菁、黄晓蓉、林杰。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

——SN/T 1538.1—2005。

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

1 范围

SN/T 1538 的本部分规定了培养基制备质量保证有关的通用术语和食品和动物饲料微生物分析的培养基制备的最低要求。

本部分适用于以下四种培养基：

- 商品化即用型培养基；
- 需要重新融化、添加补充物、分装的培养基；
- 商品化脱水合成培养基；
- 各别成分制备的培养基。

本部分同样适用于各种水样中微生物分析所用的培养基。

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 5750.12 生活饮用水标准检验方法 微生物指标

SN/T 1538.2—2016 培养基制备指南 第 2 部分：培养基性能测试实用指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 概述

3.1.1

质量控制 quality control

用于达到质量要求所采取的技术操作和活动。

3.1.2

培养基批量 batch of culture media

培养基完整的可追溯单位。指满足产品要求（内部控制）和质量保证，产品型号和质量稳定的一定量的半成品或成品。这些产品在特定的生产周期生产，而且批号相同。

3.1.3

培养基性能 performance of culture media

在特定条件下培养基对测试菌株的反应。

3.2 培养基术语

3.2.1

培养基 culture medium

用于微生物生长（包括/未包括一些微生物的抑制）、鉴别和保存的天然和/或合成成分的液体、半固

体或固体形式的物质。

注：当与其他词组联用时，这个术语常缩写成“medium”。（如：“enrichment medium”为增菌培养基）。

3.2.2

纯化学培养基 **chemically defined medium**

只含有化学成分的培养基（即分子成分和纯度已知）。

3.2.3

非纯化学培养基或复合培养基 **chemically undefined medium or partially undefined medium**

全部或部分由天然物质、加工过的物质或其他不纯的化学物质构成的培养基。

注：附录 A 中列举了在培养基中使用的各种不纯的化学物质。

3.2.4

液体培养基 **liquid medium**

由一种或多种物质组成的水溶液（如：蛋白胨水，营养肉汤）。

注 1：通常要将固体颗粒添加到液体培养基中。

注 2：试管、三角瓶或瓶子里的液体培养基一般称为“肉汤”。

3.2.5

固体培养基和半固体培养基 **solid medium and semi-solid medium**

包含不同浓度固化剂（如琼脂、明胶）的液体培养基。

注 1：琼脂作为固化物的培养基在各国广泛应用，目前通常用缩略语“琼脂”作为固体培养基的同义词。它可以和其他名词联用，如“平板计数琼脂”。

注 2：倾注到平皿内的固体培养基一般称为“平板”；倒入试管或小瓶子并摆放成斜面的固体培养基，培养基凝固后通常称为“斜面”。

3.2.6

运输培养基 **transport medium**

在取样后至实验室样品处理期间，维持微生物活力并防止微生物明显增殖的培养基。

注：运输培养基通常不允许包含使微生物增殖的物质，但培养基应能保护菌株，确保其性质不变（如：Stuart 运输培养基或 Amies 运输培养基）。

3.2.7

保藏培养基 **preservation medium**

用于在一定期限内维持微生物的活性，防止长期保存对微生物的不利影响，使微生物在长期保存后复苏的培养基（如：Dorset 卵黄培养基，营养琼脂斜面）。

3.2.8

悬浮培养基 **suspension medium**

将微生物从样品中分离至溶液，并防止微生物增殖或受抑制的培养基（如：蛋白胨盐溶液）。

注 1：悬浮培养基也被用于稀释作用。

注 2：悬浮培养基通常也被称为“稀释液”。

3.2.9

复苏培养基 **resuscitation medium**

能够使受损的微生物得到修复并恢复其正常生长能力，但不一定促进微生物繁殖的培养基（如：缓冲蛋白胨水）。

注：复苏培养基也可用作前增菌培养基。

3.2.10

前增菌培养基和增菌培养基 **pre-enrichment medium and enrichment medium**

多为液体培养基，可以为微生物的繁殖提供特定的生长环境。

3.2.11

选择性增菌培养基 selective enrichment medium

允许特定微生物生长同时部分或全部抑制其他微生物生长的增菌培养基(如:Rappaport-Vassiliadis 培养基)。

3.2.12

非选择性增菌培养基 non-selective enrichment medium

允许大多数微生物生长的增菌培养基(如:营养肉汤)。

3.2.13

分离培养基 isolation medium

支持微生物生长的固体或半固体培养基(如:平板计数琼脂)。

3.2.14

选择性分离培养基 selective isolation medium

支持特定微生物生长而抑制其他微生物的分离培养基(如:XLD 琼脂)。

3.2.15

非选择性分离培养基 non-selective isolation medium

对微生物没有选择性抑制的分离培养基(如:平板计数琼脂)。

3.2.16

鉴别培养基 differential medium

能够进行微生物一项或多项生理和(或)生化特性鉴定的培养基(如:麦康凯培养基)。

注:能够用于分离培养的鉴别培养基被称为分离和(或)鉴别培养基(如:XLD 琼脂,TTC 乳糖琼脂)。

3.2.17

鉴定培养基 identification medium

能够产生一个特定的鉴定反应而不需要做进一步确认实验的培养基(如:胆盐七叶苷琼脂,TBX 琼脂)。

注:能够用于分离培养基的鉴定培养基被称为分离和(或)鉴定培养基。

3.2.18

计数培养基 enumeration medium

能够量化微生物的选择性或非选择性培养基。

注:计数培养基可具有复活培养基和(或)增菌培养基的性能。

3.2.19

确证培养基 confirmation medium

能够部分或全部鉴别或鉴定微生物的培养基,确证过程包括初步复苏、分离和(或)增菌(如:Kligler 琼脂)。

3.2.20

多种用途培养基 medium having multiple uses

同时可归为几类不同用途的特定培养基。例如,按 3.2.9 分类,血琼脂是一种复苏培养基;按 3.2.13 分类为分离培养基;按 3.2.16 分类为鉴别培养基,用于溶血的检测。

3.2.21

即用型培养基 ready-to-use medium

置于容器(如:平皿、试管或其他容器)中可马上使用或融化后可马上使用的液体、固体或半固体培养基,可分为以下几种类型:

- 完全即用型培养基;
- 融化后直接使用的培养基;

- 融化后分装使用的培养基(如:倾注平板培养基);
- 融化、添加增补剂后分装使用的培养基(如:TSC培养基,Baird Parker RPF 琼脂)。

3.2.22

商品化脱水合成培养基 medium prepared from commercially dehydrated formulations

使用前要求水化处理的干性培养基(如:粉末、颗粒、冻干产品),可分为以下两种类型:

- 完全培养基;
- 使用前需加入增补剂的不完全培养基。

3.2.23

各别成分培养基 medium prepared from individual components

实验室完全按照已明确成分的完整配方制成的培养基。

3.3 测试菌株术语

3.3.1

测试菌株 test organisms

常用于测试培养基性能的微生物。

注:根据来源进一步定义测试菌株的类型,见 3.3.2~3.3.5。

3.3.2

标准菌株 reference strain

直接由正式的菌种保藏机构获得的菌株,至少定义到属和种水平,按菌株特性进行描述和分类,最好来源于食物或水。

3.3.3

标准储备菌株 reference stock

将实验室分离到或供应商提供的标准菌株转接一代后得到的一套完全相同的独立菌株。

3.3.4

储备菌株 stock culture

由标准储备菌株转接一代获得的菌株。

3.3.5

工作菌株 working culture

由标准储备菌株、储备菌株或标准物质(有证或无证)传代培养得到的菌株。

注:标准物质是一种含有均匀浓度、类型相同的可复活菌株的物质。有证标准物质是浓度被确证的标准物质。

4 培养基质量控制¹⁾

4.1 证明文件

4.1.1 生产企业提供的文件

生产企业应提供下列材料:

- 培养基、独立成分、添加剂的名称及产品编码;
- 批号;
- 培养基的最终 pH;
- 储藏信息和有效期;
- 质控证书和所用的测试菌株;

1) 培养基质量常见问题,参见附录 B。

- 性能测试的结果与验收标准；
- 技术数据清单；
- 必要的安全/危害数据。

4.1.2 产品的交付验收

对每一批产品(成分或培养基),均应检查:

- 产品的标识;
- 包装完整性;
- 产品的有效期;
- 支持性文件。

记录产品的接收日期。

4.2 贮存

4.2.1 总则

应严格按照供应商提供的贮存条件、有效期和使用方法进行培养基的保存和使用。

4.2.2 脱水培养基及其添加剂的质量管理和质量控制

新购买的培养基一般为脱水的粉状或颗粒状,保存在密闭的容器中。用于菌种选择或鉴定的添加成分通常为冻干物或液体。培养基的购买应有计划,以有利于存货的周转(即掌握先购先用的原则)。实验室应保存有效的培养基目录清单,清单应包括以下内容:

- 容器密闭性检查;
- 首次开封日期;
- 内容物的感官评价。

对于新开封的培养基,应对其质量进行检查。通过粉末的流动性、均匀性、结块情况和色泽变化等判断培养基质量的变化。若发现培养基受潮或物理形状发生明显改变则应废弃。

4.2.3 商品化即用型培养基

应严格按照供应商提供的贮存条件、有效期和使用方法进行培养基的保存和使用。

4.2.4 实验室制备的培养基

培养基的保质期各不相同。不同的标准中均有明确规定了保存的条件和保质期。培养基应保存在防止其成分发生变化的环境下,即应避光、干燥保存;如有必要,用保存于 $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,或依据培养基要求的储存条件进行保存。除标准规定或保质期验证实验的结果表明有较长的保质期外,通常平板保存不超过2周~4周,三角瓶和试管的保存不超过3个月~6个月。除标准规定或保质期验证实验的结果表明有较长的保质期外,含有不稳定添加成分的培养基应即配即用。对发生化学反应或含有不稳定物质的固体培养基也应即配即用,不可二次融化。实验室应对贮存培养基的有效期进行规定。观察培养基颜色变化,是否有蒸发/脱水情况,是否有微生物生长。当培养基发生这类变化时,应停止使用。在使用和进一步加热前,应事先将培养基放置到室温。

注:平板培养基保存的具体规定见4.4.4。

4.3 培养基的实验室制备

4.3.1 总则

正确制备培养基是微生物检验的最基础步骤之一。使用脱水培养基和其他成分,尤其是含有有毒

物质(如胆盐或其他选择剂)的成分时,应遵守良好实验室规范和生产厂商提供的使用说明。培养基的不正确制备会导致培养基出现质量问题。

使用商品化脱水合成培养基制备培养基时,应严格按照厂商提供的使用说明配置。记录所有相关数据,如质量/体积、pH、制备日期、灭菌条件和制备人员等。

使用各别成分制备培养基时,应按照配方准确配制,记录所有细节信息,如:培养基名称和类型及试剂级别、每个成分物质含量、制造商、批号、pH、培养基体积(分装体积)、无菌措施(包括实施的方式、温度及时间)、配置日期、人员等,以便溯源。

4.3.2 水

除特定要求,实验室用水的电导率在 25 °C 下应不高于 25 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (相当于电阻率 $\geq 0.4 \text{ M}\Omega\text{cm}$)。

微生物污染应不超过 $10^3 \text{ CFU}/\text{mL}$,最好低于 $10^2 \text{ CFU}/\text{mL}$ 。应根据 GB/T 5750.12 或其他有效方法,定期检验微生物的污染。

4.3.3 称量和复水

称量所需量的脱水培养基(注意防止吸入粉末,尤其是含有有害物质的培养基粉末),先加入少量水,充分混合(注意避免培养基结块)后再加水至所需的量。

4.3.4 溶解和分装

脱水培养基加水后适当加热,并不停搅拌使其快速溶解,必要时,重新溶解。含琼脂的培养基在加热溶解前应浸泡几分钟。

4.3.5 pH 的测定和调整

用 pH 计测定 pH,必要时在灭菌前调节 pH,除特殊说明外,培养基灭菌后冷却至 25 °C 时,要求 pH 的变化不超过 0.2 pH 单位。通常使用浓度约为 40 g/L(约 1 mol/L)的氢氧化钠溶液或浓度约为 36.5 g/L(约 1 mol/L)的盐酸溶液调节 pH。如果灭菌后调节 pH,溶液需灭菌。

注:商品化培养基在高压灭菌前后 pH 可能发生明显变化,但使用蒸馏水或去离子水时,灭菌前无需调节 pH。

4.3.6 分装

将配置好的培养基分装到适当的容器中,容器的体积至少为培养基体积的 1.2 倍。

4.3.7 灭菌

4.3.7.1 概述

培养基和试剂的灭菌通常采用湿热灭菌(4.3.7.2)或过滤灭菌(4.3.7.3)。

有些培养基无需高压灭菌,可煮沸灭菌。如,含亮绿的肠道菌培养基对光和热特别敏感,应在煮沸后快速冷却,避光保存。同样,一些试剂则不需灭菌,直接使用(参见相关标准或生产厂商的使用说明)。

4.3.7.2 湿热灭菌

湿热灭菌在高压锅或培养基制备器中进行。高压灭菌一般采用 $121 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ 灭菌 15 min。如果培养基的体积超过 1 000 mL,要对灭菌条件进行适当的调整。所有操作均要按照标准和使用说明的规定进行。

注:大容量培养基($>1 \text{ 000 mL}$)灭菌时可能会造成过度加热。

加热后应采取适当的方式冷却,防止沸溢。这对大容量培养基和敏感性培养基(如含亮绿的培养基)是非常重要的。

4.3.7.3 过滤灭菌

过滤灭菌可以在真空负压或正压条件下进行。使用无菌设备和 0.2 μm 孔径的滤膜。将过滤装置的各个部分消毒灭菌,或使用预消毒设备。

一些滤膜上附着蛋白质或其他物质(如抗生素)。为达到有效过滤,应事先将滤膜用无菌水润湿。

4.3.7.4 监测

应对经湿热或过滤灭菌的培养基进行监测,尤其要对 pH、色泽、灭菌效果和均匀度等指标进行监测。

4.3.8 添加剂的制备

制备含有有毒物质(特别是抗生素)的添加成分时,应小心操作,避免因粉末的扩散造成实验人员过敏或发生其他不良反应。采用适当的预防措施并小心按照产品使用说明操作。不要使用过期的试剂;抗生素工作溶液现配现用;批量配置的抗生素溶液分装后可冷冻保存,但解冻后的贮存溶液不可再次冷冻;厂商应提供冷冻对抗生素活性影响的相关资料,也可由使用者自行测定。

4.4 培养基的使用

4.4.1 琼脂培养基的融化

将培养基放到沸水浴中或采用其他有相同效果的方法(如高压锅中的蒸汽)融化。经过高压灭菌的培养基尽量减少重新加热的时间,避免过度加热。培养基融化后立即移开,室温静置片刻(约 2 min),以免玻璃容器发生破裂。

融化后的培养基放入 47 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中保温,冷却到 47 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$ 所需的时间取决于培养基的类型、体积和在水浴锅里的分装量。融化后的培养基应尽快使用,放置时间一般不超过 4 h。剩余的培养基凝固后不得再次融化使用。特别是灵敏性培养基,应根据相关标准,缩短融化后放置的时间。

将琼脂培养基倒入类似检测培养基使用的独立容器中,插入温度计,记录并保存琼脂的融化温度。

加入样品的培养基应将温度调节到 44 $^{\circ}\text{C}$ ~47 $^{\circ}\text{C}$,或按照相关标准调节温度。

4.4.2 培养基的脱气

必要时,在使用前将培养基放到沸水浴或蒸汽浴中加热 15 min,加热时松开容器盖子;加热后盖紧盖子,并迅速冷却至使用温度。

4.4.3 添加成分的加入

对热不稳定的添加成分应在培养基冷却至 47 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$ 时加入。灭菌的添加成分加入前应冷却至室温,避免冷的液体会造成琼脂凝胶或形成片状物。将添加成分缓慢加入培养基并充分混匀,尽快分装到待用的容器中。

4.4.4 平板的制备和储存

倾注融化后的培养基到平皿中,使之在乎皿中形成一个至少 3 mm 厚度的琼脂层(直径 90 mm 的平皿通常要加入 18 mL~20 mL 琼脂培养基),或根据相关标准要求制备平皿。将平皿盖好皿盖后放置在水平平面使琼脂冷却凝固。如果平板要储存、培养时间超过 48 h 或培养温度超过 40 $^{\circ}\text{C}$,要增加培养基的倾注量。

注：在培养过程中，琼脂培养基会损失水分，在某些环境条件下会影响微生物的生长。造成培养基水分损失的因素很多，如培养基的成分、平皿中培养基的量、培养箱的类型（如使用带风扇的培养箱）、培养箱里的空气湿度、平皿在培养箱中放置的位置和数量以及培养温度等。

凝固后的培养基应立即使用或存放在防止其成分发生变化的条件下，如存放于暗处和（或） $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱的密封袋中（见 4.2）。在平板的底部或侧面做好标记，标记的内容包括培养基名称、制备日期和（或）有效期。也可使用适宜的培养基编码系统进行标记。

将倾注好的平板放在密封袋中冷藏可延长储存期限。为了避免冷凝水的产生，平板应冷却后再装入密封袋中。贮存前不要对培养基表面进行干燥处理。

对于采用表面接种的固体培养基，应先对琼脂表面进行干燥：揭开平皿盖，将平板倒扣于烘箱/培养箱中（温度设置为 $25\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）；或放在有对流风的无菌净化台中，直到培养基表面的水滴消失为止。注意不要过度干燥。商业化的平板琼脂培养基应按照厂商提供的说明使用。

4.5 培养基的弃置

所有污染和未使用的培养基的弃置应采用安全的方式，并符合相关法律法规的规定。

5 质控菌株的储存与维护

5.1 概述

可使用多种方法对涉及食品和水质微生物进行储存和维护，如冻干法、 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 玻璃珠保存法、液氮保存法，这些方法不可能适用于所有菌株，应采用适宜的方法对不同的菌株进行保藏。

菌株的维护 and 制备的流程图参见附录 C。

5.2 商业途径获得的质控菌株

对于从标准菌株保藏中心或通过 ISO 9000 认证（或其他相应的认证）的商业机构购买的质控菌株，要以原始的包装形式进行保藏，复苏和使用应按照厂商提供的使用说明进行。

5.3 实验室制备的标准储备菌株

来源于标准菌株的标准储备菌株（参见 C.1）性能测试的目的是保持菌株的特性，避免交叉污染、减少菌株变异或发生典型的性能变化。标准储备菌株应制备多份，通常超低温冷藏（ $\leq -70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）或冻干法保藏。温度越高，保藏时间应相应缩短。

标准储备菌株在每种培养基上的生长特性应全部文件化。

标准储备菌株不能用于制备标准菌株。

5.4 储备菌株

储备菌株通常由冻干的或冷冻的标准储备菌株制备（参见 C.2）。转接操作时要注意避免标准储备菌株可能发生的交叉污染和菌株的退化。储备菌株应由在非选择性培养基上生长的一定量的标准储备菌株悬浮液制成，同时培养至生长稳定期。

商业化的保藏菌株应严格按照厂商的说明制备储备菌株。

储备菌株不能用于制备标准菌株或标准储备菌株。

5.5 工作菌株

工作菌株是由储备菌株或标准储备菌株制备得到。

工作菌株不能用于制备标准菌株、标准储备菌株或储备菌株。

6 最终培养基的性能测试

6.1 概述

SN/T 1538.2—2016 详细说明了性能测试程序。

最低标准参见 6.2 和 6.3;实际上,食物和水中可能含有应激微生物。培养基对应激微生物复苏的反应的适应性应考虑在内。

6.2 物理质量控制

见 SN/T 1538.2—2016。

6.3 微生物质量控制

6.3.1 污染的控制

从每批制备好的培养基中选取适量进行污染测试。

6.3.2 测试菌株

测试菌株是具有其代表种的稳定特性并能有效证明实验室特定培养基最佳性能的一套菌株。测试菌株主要购置于标准菌株保藏中心,也可是实验室自己分离的具有良好特性的菌株。实验室应检测和记录标准储备菌株的菌株特性,新复苏的菌株可能会有非特异性反应,使用时应引起注意;最好使用从食物或水中分离得到的菌株。

每种培养基的测试菌株应包括:

- 具有典型反应特性的强阳性菌株;
- 弱阳性菌株(如对培养基中选择剂等试剂敏感性强的菌株);
- 显示阴性特性的菌株;
- 部分或完全抑制菌株。

SN/T 1538.2—2016 的附录 B 中列出了适合的测试菌株。

6.3.3 即用型培养基和试剂

商业化即用型培养基的生产商如果通过 ISO 9000 体系认证,应在适当位置有质量声明并提供培养基的品质证书。这样,使用者无需进行大量的培养基测试工作,但应确保贮存条件与厂商推荐的一致。即用型培养基至少要求进行定性测试。

6.3.4 商品化脱水合成培养基制备的培养基

对分离和计数培养基而言,至少应进行半定量测试。对于鉴别培养基而言,只需进行定性测试。定量测试对培养基的质量有更高的保证。

不含指示剂和选择剂的培养基,只需用阳性测试菌株进行检测。含有指示剂和选择剂的培养基,应使用能证明其指示和选择功能的菌株进行检测。复合培养基(即加入添加成分的培养基)应用具有 6.3.2 列举的特性的菌株逐批进行验证。

6.3.5 各别成分制备的培养基

建议除了按照 6.3.4 中进行定性测试外,还应进行定量测试以监控基础材料的质量,培养基的生长率和实验室内部的配制规范。

附 录 A

(资料性附录)

食品和动物饲料的微生物学标准中培养基成分名称

A.1 概述

统一描述了微生物标准方法中培养基的各种成分,详见 A.2~A.5。

A.2 蛋白胨

- 酶解酪蛋白¹⁾;
- 酶解大豆粉;
- 酶解动物组织²⁾;
- 心酶解物;
- 酶解明胶;
- 酶解动、植物组织³⁾。



A.3 浸膏

- 肉浸膏
- 脑心浸膏;
- 酵母浸膏;
- 细菌学牛胆盐;
- 胆盐;
- 3号胆盐。



A.4 琼脂

- 细菌学琼脂。

A.5 其他

- 卵黄乳液;
- 脱脂奶粉;
- 酸解酪蛋白。

1) 包括胃蛋白酶消化酪蛋白、胰蛋白酶消化的酪蛋白和胰蛋白胨。

2) 包括肉蛋白胨、胃蛋白酶消化的肉和胰酶消化的肉。

3) 包括胰蛋白水。

附录 B
(资料性附录)

培养基的质量保证——疑难解答

培养基的质量保证——疑难解答见表 B.1。

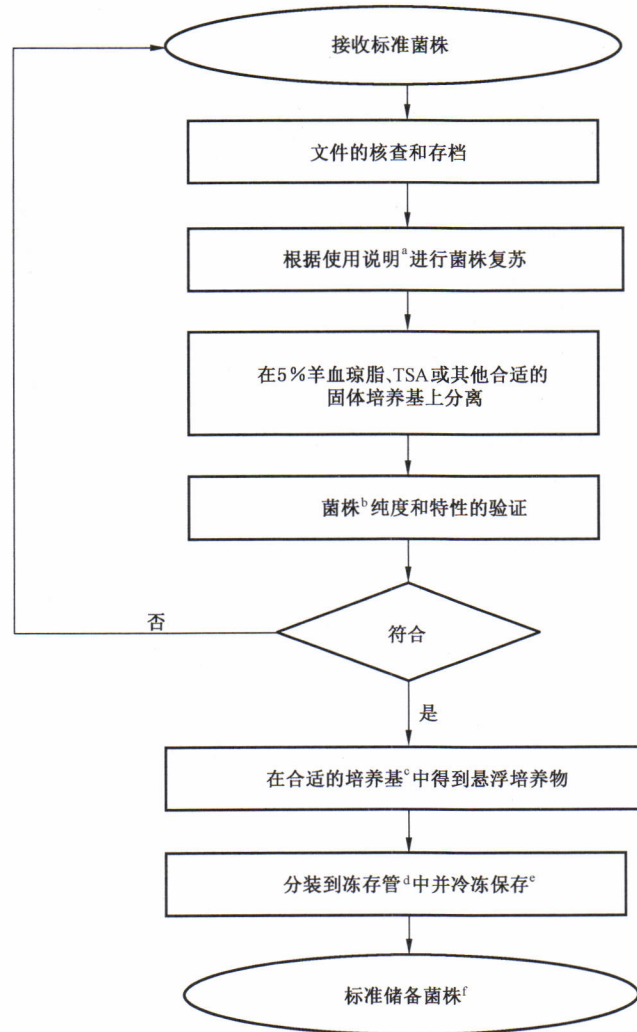
表 B.1 培养基的质量保证——疑难解答

异常现象	可能原因
培养基不能凝固	培养基制备过程中过度加热 低 pH 值造成培养基酸解 琼脂使用量不正确 琼脂未完全溶解 培养基成分未充分混匀
pH 值不正确	培养基制备过程中过度加热 水质不佳 外部化学物质污染 在不正确温度下测量 pH 值 pH 计未正确校准 脱水培养基质量差
颜色异常	培养基制备过程中过度加热 水质不佳 脱水培养基质量差 pH 值不正确 外来污染
产生沉淀	培养基制备过程中过度加热 水质不佳 脱水培养基质量差 pH 未正确控制 如果是各别成分制备的培养基——原材料不纯
培养基出现抑制/生长率低	培养基制备过程中过度加热 脱水培养基质量差 水质不佳 配方使用不对,如,培养基成分称量不准确,添加物浓度不正确 容器或水中含有害残留物
选择性差	培养基制备过程中过度加热 脱水培养基质量差 配方使用不对 添加成分不正确,如加入添加成分时培养基过热或添加浓度错误 添加物被污染
污染	灭菌不充分 无菌操作有误 添加物被污染

附录 C
(资料性附录)

标准储备菌株和工作菌株的制备

C.1 由标准菌株制备标准储备菌株



说明：

^a 一般来说，在营养肉汤中进行悬浮培养，完成菌株的复苏。

^b 验证菌落形态，革兰氏染色或生化鉴定。

^c 如，含 10%~15%甘油的 TSB 培养基之类的防冻培养基。

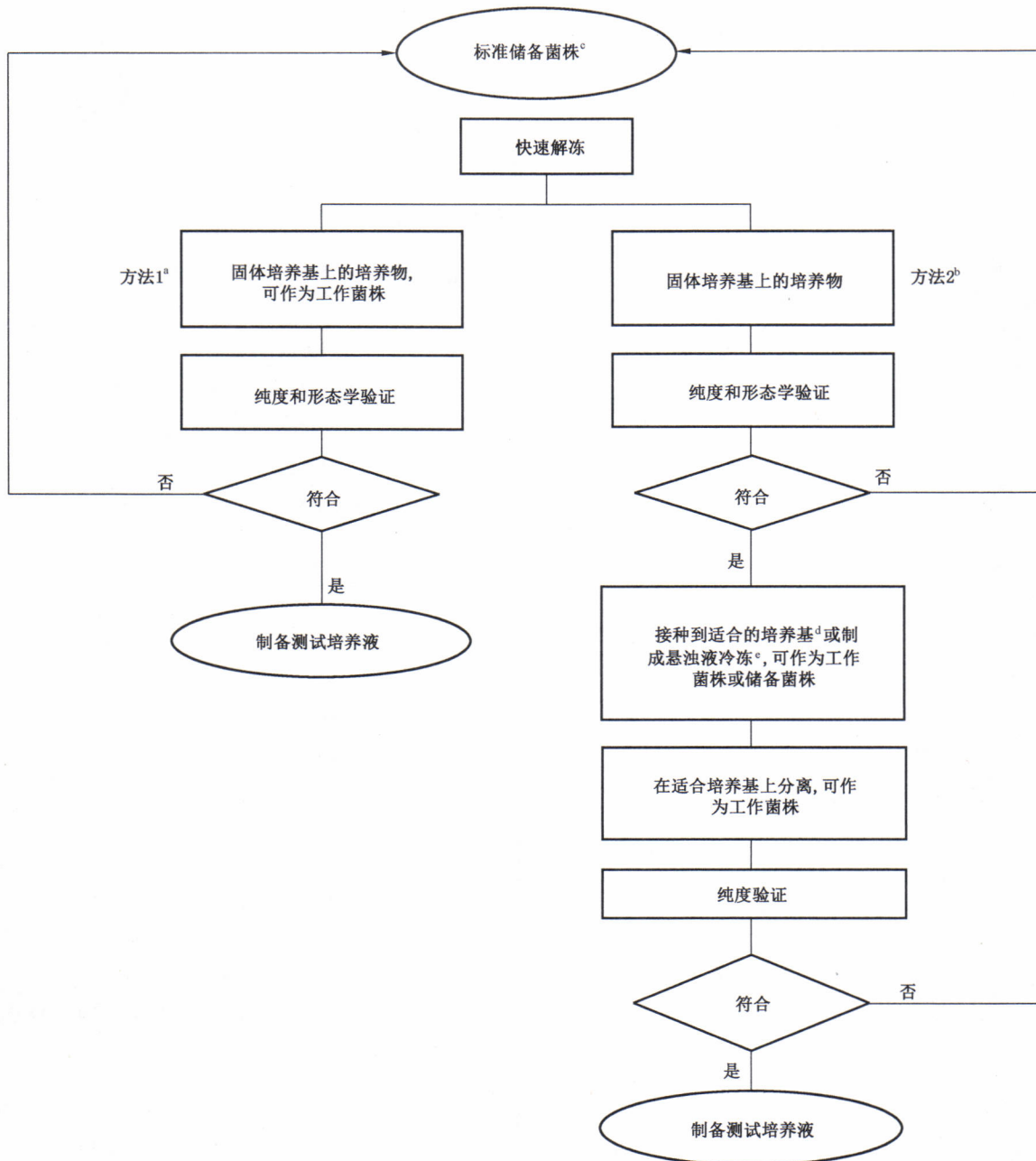
^d 含有磁珠的冻存管。

^e ≤-70℃ 温度冷冻保存可延长保存时间，相反，高于-70℃ 保存将缩短保存周期。

^f 可作为工作菌株使用。

图 C.1 标准储备菌株的制备方案

C.2 由标准储备菌株制备工作菌株



说明:

^a 这个方法更可取。

^b 对一些菌种必须使用这个方法,如,定量试验。记录每个阶段的情况。

^c 如果标准储备菌株是从实验室外部获得,需核查相关文件并归档。

^d 如,接种到 TSA 试管中或羊血 TSA 或其他适合的培养基,培养 24 h,适温(根据微生物特性选择 18 °C~25 °C 或 2 °C~8 °C)下保存 4 周。

^e 如,含 10%~15%甘油的 TSB 培养基之类的防冻培养基。≤-70 °C 温度冷冻保存可延长保存时间,相反,高于 -70 °C 保存将缩短保存周期。

图 C.2 工作菌株的制备方案

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
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 1538.1—2016

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)
总编室:(010)68533533
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 1.25 字数 30 千字
2017 年 11 月第一版 2017 年 11 月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066·2-32168 定价 21.00 元



SN/T 1538.1—2016