



# 中华人民共和国国家标准

GB 4789.7—2013

---

食品安全国家标准

食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验

www.kingsheng.com.cn  
凯恒生

2013-11-29 发布

2014-06-01 实施

中华人民共和国  
国家卫生和计划生育委员会 发布

## 前 言

本标准代替GB/T 4789.7-2008《食品卫生微生物学检验 副溶血性弧菌检验》。

本标准与GB/T 4789.7-2008相比，主要变化如下：

- 修改了标准的中文名称；
- 修改了范围；
- 修改了设备和材料；
- 修改了培养基和试剂；
- 修改了样品制备过程；
- 修改了检验程序。

www.kinghunt.cn  
凯恒生物

# 食品安全国家标准

## 食品微生物学检验 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。  
本标准适用于食品中副溶血性弧菌的检验。

### 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:

- a) 恒温培养箱:  $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- b) 冰箱:  $2\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $7\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- c) 恒温水浴箱:  $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- d) 均质器或无菌乳钵;
- e) 天平: 感量  $0.1\text{ g}$ ;
- f) 无菌试管:  $18\text{ mm} \times 180\text{ mm}$ 、 $15\text{ mm} \times 100\text{ mm}$ ;
- g) 无菌吸管:  $1\text{ mL}$  (具  $0.01\text{ mL}$  刻度)、 $10\text{ mL}$  (具  $0.1\text{ mL}$  刻度) 或微量移液器及吸头;
- h) 无菌锥形瓶: 容量  $250\text{ mL}$ 、 $500\text{ mL}$ 、 $1000\text{ mL}$ ;
- i) 无菌培养皿: 直径  $90\text{ mm}$ ;
- j) 全自动微生物生化鉴定系统;
- k) 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: 见附录 A 中 A.1。
- 3.2 硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖 (TCBS) 琼脂: 见附录 A 中 A.2。
- 3.3 3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂: 见附录 A 中 A.3。
- 3.4 3%氯化钠三糖铁琼脂: 见附录 A 中 A.4。
- 3.5 嗜盐性试验培养基: 见附录 A 中 A.5。
- 3.6 3%氯化钠甘露醇试验培养基: 见附录 A 中 A.6。
- 3.7 3%氯化钠赖氨酸脱羧酶试验培养基: 见附录 A 中 A.7。
- 3.8 3%氯化钠 MR-VP 培养基: 见附录 A 中 A.8。
- 3.9 3%氯化钠溶液: 见附录 A 中 A.9。
- 3.10 我妻氏血琼脂: 见附录 A 中 A.10。
- 3.11 氧化酶试剂: 见附录 A 中 A.11。
- 3.12 革兰氏染色液: 见附录 A 中 A.12。
- 3.13 ONPG 试剂: 见附录 A 中 A.13。
- 3.14 Voges-Proskauer (V-P) 试剂: 见附录 A 中 A.14。
- 3.15 弧菌显色培养基。

## 3.16 生化鉴定试剂盒。

## 4 检验程序

副溶血性弧菌检验程序见图1。

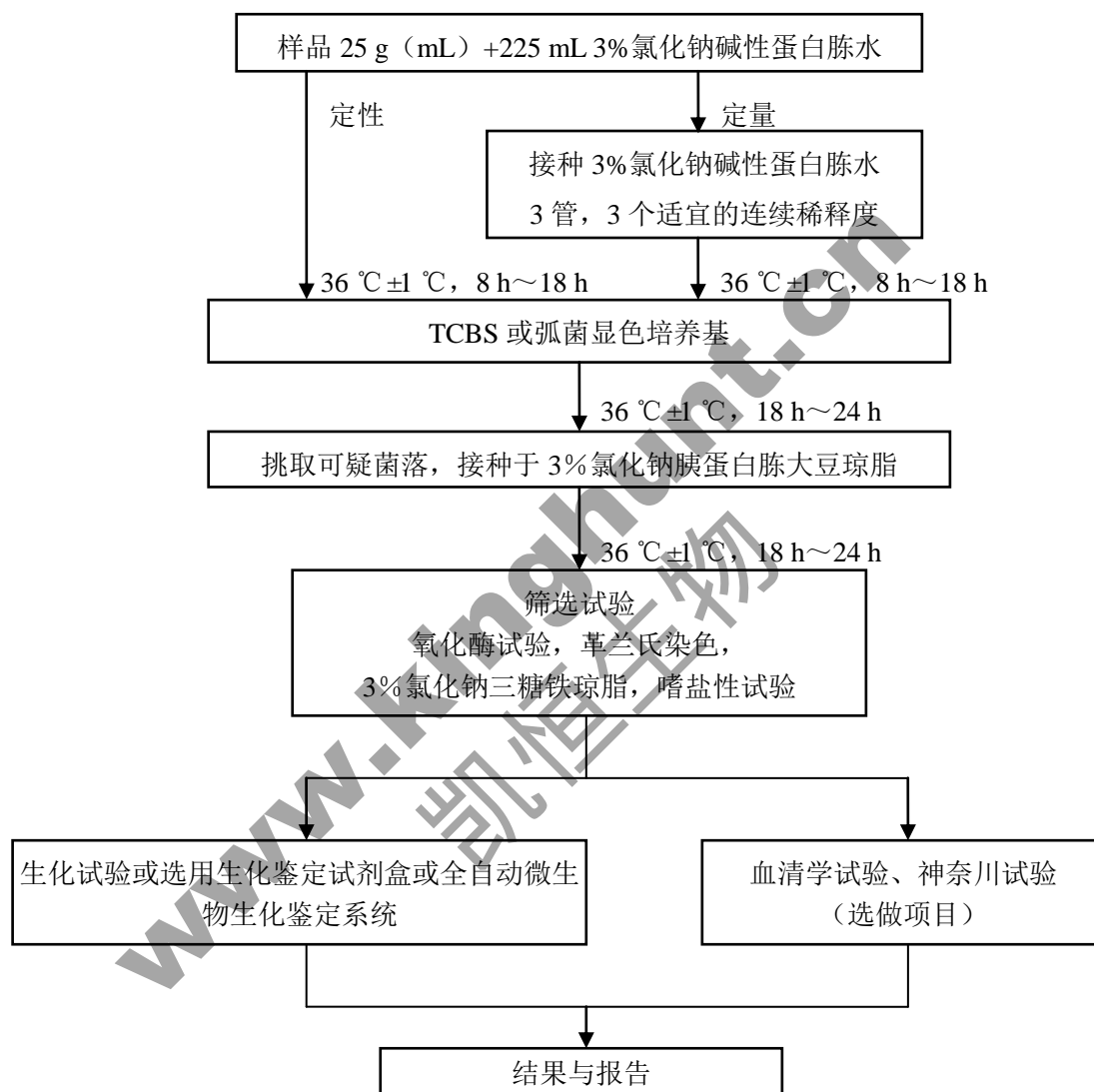


图1 副溶血性弧菌检验程序

## 5 操作步骤

## 5.1 样品制备

5.1.1 非冷冻样品采集后应立即置 7 °C ~ 10 °C 冰箱保存, 尽可能及早检验; 冷冻样品应在 45 °C 以下不超过 15 min 或在 2 °C ~ 5 °C 不超过 18 h 解冻。

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 以无菌操作取样品 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 的样品匀液。如无均质器，则将样品放入无菌乳钵，自 225 mL 3%氯化钠碱性蛋白胨水中取少量稀释液加入无菌乳钵，样品磨碎后放入 500 mL 无菌锥形瓶，再用少量稀释液冲洗乳钵中的残留样品 1~2 次，洗液放入锥形瓶，最后将剩余稀释液全部放入锥形瓶，充分振荡，制备 1:10 的样品匀液。

## 5.2 增菌

### 5.2.1 定性检测

将 5.1.3 制备的 1:10 样品匀液于 36 °C ± 1 °C 培养 8 h~18 h。

### 5.2.2 定量检测

5.2.2.1 用无菌吸管吸取 1:10 样品匀液 1 mL，注入含有 9 mL 3%氯化钠碱性蛋白胨水的试管内，振摇试管混匀，制备 1:100 的样品匀液。

5.2.2.2 另取 1 mL 无菌吸管，按 5.2.2.1 操作程序，依次制备 10 倍系列稀释样品匀液，每递增稀释一次，换用一支 1 mL 无菌吸管。

5.2.2.3 根据对检样污染情况的估计，选择 3 个适宜的连续稀释度，每个稀释度接种 3 支含有 9 mL 3%氯化钠碱性蛋白胨水的试管，每管接种 1 mL。置 36 °C ± 1 °C 恒温箱内，培养 8 h~18 h。

## 5.3 分离

5.3.1 对所有显示生长的增菌液，用接种环在距离液面以下 1 cm 内沾取一环增菌液，于 TCBS 平板或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 °C ± 1 °C 培养 18 h~24 h。

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 2 mm~3 mm。从培养箱取出 TCBS 平板后，应尽快（不超过 1 h）挑取菌落或标记要挑取的菌落。典型的副溶血性弧菌在弧菌显色培养基上的特征按照产品说明进行判定。

## 5.4 纯培养

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

## 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 °C ± 1 °C 培养 24 h 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 0%、6%、8% 和 10% 不同氯化钠浓度的胰胨水，36 °C ± 1 °C 培养 24 h，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 6%氯化钠和 8%氯化钠的胰胨水中生长旺盛。

## 5.6 确定鉴定

取纯培养物分别接种含 3%氯化钠的甘露醇试验培养基、赖氨酸脱羧酶试验培养基、MR-VP 培养基，36℃±1℃培养 24 h~48 h 后观察结果；3%氯化钠三糖铁琼脂隔夜培养物进行 ONPG 试验。可选择生化鉴定试剂盒或全自动微生物生化鉴定系统。

## 6 血清学分型（选做项目）

### 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 6.1 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，并对应加入一滴 K 抗血清。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，混匀制成菌悬液。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。如果仍为阴性，则培养物的 O 抗原属于未知。根据表 1 报告血清学分型结果。

表 1 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（选做项目）

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 培养物点种于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 °C ± 1 °C 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。

## 8 结果与报告

根据检出的可疑菌落生化性状，报告 25 g (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 g (mL) 副溶血性弧菌的 MPN 值。副溶血性弧菌菌落生化性状和与其他弧菌的鉴别情况分别见表 2 和表 3。

表 2 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，无芽胞
氧化酶	+
动力	+
蔗糖	-
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：+表示阳性；-表示阴性。	

表3 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	ONPG	嗜盐性试验 氯化钠含量 %				
																0	3	6	8	10
副溶血性弧菌 <i>V. parahaemolyticus</i>	+	+	-	+	+	V	-	+	-	V	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
创伤弧菌 <i>V. vulnificus</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	V	+	-	+	+	-	-
溶藻弧菌 <i>V. alginolyticus</i>	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+
霍乱弧菌 <i>V. cholerae</i>	+	+	-	+	+	-	V	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
拟态弧菌 <i>V. mimicus</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
河弧菌 <i>V. fluvialis</i>	+	-	+	-	+	-	-	V	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	V	-
弗氏弧菌 <i>V. furnissii</i>	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
梅氏弧菌 <i>V. metschnikovii</i>	-	+	+	-	+	-	+	V	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	V	-
霍利斯弧菌 <i>V. hollisae</i>	+	-	-	-	-	-	-	nd	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-

注：+表示阳性；-表示阴性；nd表示未试验；V表示可变。



## 附录A

## 培养基与试剂

## A.1 3%氯化钠碱性蛋白胨水

## A.1.1 成分

蛋白胨	10.0 g
氯化钠	30.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

## A.1.2 制法

将 A.1.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $8.5 \pm 0.2$ ， $121\text{ }^{\circ}\text{C}$  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

蛋白胨	10.0 g
酵母浸膏	5.0 g
柠檬酸钠 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	10.0 g
硫代硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	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

将 A.2.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $8.6 \pm 0.2$ ，加热煮沸至完全溶解。冷至  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  左右倾注平板备用。

## A.3 3%氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂

## 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 A.3.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $7.3 \pm 0.2$ ， $121\text{ }^\circ\text{C}$  高压灭菌 15 min。

## A.4 3%氯化钠三糖铁琼脂

### A.4.1 成分

蛋白胨	15.0 g
胰蛋白胨	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
蒸馏水	1 000.0 mL

### A.4.2 制法

将 A.4.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $7.4 \pm 0.2$ 。分装到适当容量的试管中。 $121\text{ }^\circ\text{C}$  高压灭菌 15 min。制成高层斜面，斜面长 4 cm~5 cm，高层深度为 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	1 000.0 mL

### A.5.2 制法

将 A.5.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $7.2 \pm 0.2$ ，共配制 5 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) 8 g；(5) 10 g。分装试管， $121\text{ }^\circ\text{C}$  高压灭菌 15 min。

## 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	30.0 g
磷酸氢二钠 (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O)	2.0 g
甘露醇	5.0g
溴麝香草酚蓝	0.024 g
蒸馏水	1 000.0 mL

#### A. 6.2 制法

将 A.6.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至 7.4±0.2，分装小试管，121 °C 高压灭菌 10 min。

#### A. 6.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取培养物接种，于 36 °C±1 °C 培养不少于 24 h，观察结果。甘露醇阳性者培养物呈黄色，阴性者为绿色或蓝色。

### 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
溴甲酚紫	0.02 g
L-赖氨酸	5.0 g
氯化钠	30.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

#### A. 7.2 制法

除赖氨酸以外的成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至 6.8±0.2。再按 0.5% 的比例加入赖氨酸，对照培养基不加赖氨酸。分装小试管，每管 0.5 mL，121 °C 高压灭菌 15 min。

#### A. 7.3 试验方法

从琼脂斜面上挑取培养物接种，于 36 °C±1 °C 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

## A.8.2 制法

将 A.8.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $6.9 \pm 0.2$ ，分装试管， $121\text{ }^\circ\text{C}$  高压灭菌 15 min。

## A.9 3%氯化钠溶液

## A.9.1 成分

氯化钠	30.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

## A.9.2 制法

将氯化钠溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $7.2 \pm 0.2$ ， $121\text{ }^\circ\text{C}$  高压灭菌 15 min。

## A.10 我妻氏血琼脂

## A.10.1 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 ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )	5.0 g
甘露醇	10.0 g
结晶紫	0.001 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000.0 mL

## A.10.2 制法

将 A.10.1 中成分溶于蒸馏水中，校正 pH 至  $8.0 \pm 0.2$ ，加热至  $100\text{ }^\circ\text{C}$ ，保持 30 min，冷至  $45\text{ }^\circ\text{C} \sim 50\text{ }^\circ\text{C}$ ，与 50 mL 预先洗涤的新鲜人或兔红细胞（含抗凝血剂）混合，倾注平板。干燥平板，尽快使用。

## A.11 氧化酶试剂

## A.11.1 成分

<i>N,N,N,N</i> -四甲基对苯二胺盐酸盐	1.0 g
蒸馏水	100.0 mL

## A.11.2 制法

将 *N,N,N,N*-四甲基对苯二胺盐酸盐溶于蒸馏水中， $2\text{ }^\circ\text{C} \sim 5\text{ }^\circ\text{C}$  冰箱内避光保存，在 7 d 之内使用。

## A.11.3 试验方法

用细玻璃棒或一次性接种针挑取新鲜（24 h）菌落，涂布在氧化酶试剂湿润的滤纸上。如果滤纸在 10 s 之内呈现粉红或紫红色，即为氧化酶试验阳性。不变色为氧化酶试验阴性。

## A.12 革兰氏染色液

## A. 12.1 结晶紫染色液

## A. 12.1.1 成分

结晶紫	1.0 g
95%乙醇	20.0 mL
1%草酸铵水溶液	80.0 mL

## A. 12.1.2 制法

将结晶紫完全溶解于乙醇中，然后与草酸铵溶液混合。

## A. 12.2 革兰氏碘液

## A. 12.2.1 成分

碘	1.0 g
碘化钾	2.0 g
蒸馏水	300.0 mL

## A. 12.2.2 制法

将碘与碘化钾先进行混合，加入蒸馏水少许充分振摇，待完全溶解后，再加蒸馏水至 300 mL。

## A. 12.3 沙黄复染液

## A. 12.3.1 成分

沙黄	0.25 g
95%乙醇	10.0 mL
蒸馏水	90.0 mL

## A. 12.3.2 制法

将沙黄溶解于乙醇中，然后用蒸馏水稀释。

## A. 12.4 染色法

A. 12.4.1 将涂片在酒精灯火焰上固定，滴加结晶紫染色液，染 1 min，水洗。

A. 12.4.2 滴加革兰氏碘液，作用 1 min，水洗。

A. 12.4.3 滴加 95%乙醇脱色，约 15 s~30 s，直至染色液被洗掉，不要过分脱色，水洗。

A. 12.4.4 滴加复染液，复染 1 min。水洗、待干、镜检。

## A. 13 ONPG试剂

## A. 13.1 缓冲液

## A. 13.1.1 成分

磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )	6.9 g
蒸馏水加至	50.0 mL

## A. 13.1.2 制法

将磷酸二氢钠溶于蒸馏水中，校正pH至7.0。缓冲液置2℃~5℃冰箱保存。

### A. 13.2 ONPG溶液

#### A. 13.2.1 成分

邻硝基酚-β-D-半乳糖苷 (ONPG)	0.08 g
蒸馏水	15.0 mL
缓冲液	5.0 mL

#### A. 13.2.2 制法

将 ONPG 在 37℃ 的蒸馏水中溶解，加入缓冲液。ONPG 溶液置 2℃~5℃ 冰箱保存。试验前，将所需用量的 ONPG 溶液加热至 37℃。

### A. 13.3 试验方法

将待检培养物接种 3% 氯化钠三糖铁琼脂，36℃±1℃ 培养 18 h。挑取 1 满环新鲜培养物接种于 0.25 mL 3% 氯化钠溶液，在通风橱中，滴加 1 滴甲苯，摇匀后置 37℃ 水浴 5 min。加 0.25 mL ONPG 溶液，36℃±1℃ 培养观察 24 h。阳性结果呈黄色。阴性结果则 24 h 不变色。

### A. 14 Voges-Proskauer (V-P) 试剂

#### A. 14.1 成分

甲液	
α-萘酚	5.0 g
无水乙醇	100.0 mL
乙液	
氢氧化钾	40.0 g
用蒸馏水加至	100.0 mL

#### A. 14.2 试验方法

将 3% 氯化钠胰蛋白胨大豆琼脂生长物接种 3% 氯化钠 MR-VP 培养基，36℃±1℃ 培养 48 h。取 1 mL 培养物，转放到一个试管内，加 0.6 mL 甲液，摇动。加 0.2 mL 乙液，摇动。加入 3 mg 肌酸结晶，4 h 后观察结果。阳性结果呈现伊红的粉红色。

## 附录 B

## 副溶血性弧菌最可能数 (MPN) 检索表

每g (mL) 检样中副溶血性弧菌最可能数 (MPN) 的检索见表B.1。

表B.1 副溶血性弧菌最可能数 (MPN) 检索表

阳性管数			MPN	95%可信限		阳性管数			MPN	95%可信限	
0.10	0.01	0.001		下限	上限	0.10	0.01	0.001		下限	上限
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	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	—

注 1: 本表采用 3 个稀释度[0.1 g(mL)、0.01 g(mL)和 0.001 g(mL)], 每个稀释度接种 3 管。

注 2: 表内所列检样量如改用 1 g(mL)、0.1 g(mL)和 0.01 g(mL)时, 表内数字应相应降低 10 倍; 如改用 0.01 g(mL)、0.001 g(mL)、0.0001 g(mL)时, 则表内数字应相应增加 10 倍, 其余类推。