



# 中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0576—XXXX  
代替 YY/T 0576-2005

## 哥伦比亚血琼脂培养基

(Columbia blood agar medium)

(征求意见稿)

(本草案完成时间：2023-07-31)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家药品监督管理局 发布

## 前言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替YY/T 0576-2005，与YY/T 0576-2005相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 修改标准名称；
- 修改标准范围；
- 修改并增加规范性引用文件（见第 2 章）
- 修改术语“培养基”（见第 3 章）
- 增加“4.1 制法”（见第 4 章）
- 在技术指标方面，增加“哥伦比亚血琼脂培养基（平板）”性能指标要求，包括“5.2.1外观、5.2.2厚度、5.2.3 pH值、5.2.4 微生物限度和5.2.5生长试验”（见 5.2）
- 修改试验方法，与 5 要求相适应（见第 6 章）；
- 删除“7 使用说明”；
- 修改标识、标签和使用说明书（见第 7 章）；
- 修改包装、运输和贮存（见第 8 章）；
- 修改附录A的部分内容（见附录A）；

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会（SAC/TC136）归口。

本文件起草单位：\*\*

本文件主要起草人：\*\*

# 哥伦比亚血琼脂培养基

## 1 范围

本文件规定了哥伦比亚血琼脂培养基的术语和定义、主要成分和制法、要求、试验方法、标签和使用说明书、包装、运输和贮存。

本文件适用于哥伦比亚血琼脂培养基。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 191 包装储运图示标志

GB/T 29791.2 体外诊断医疗器械制造商提供的信息（标示）第2部分：专业用体外诊断试剂

《中华人民共和国药典》

JJF1070 定量包装商品净含量计量检验规则

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 培养基 culture medium

由人工方法配合而成的，含有天然和/或合成成分的，供微生物培养、分离、鉴别、研究和保存使用的液体、半固体或固体混合营养物制品。

### 3.2 质控菌株 quality control strain

通常指用于培养基质量控制和性能测定的微生物。

### 3.3 菌落形成单位 colony forming unit, cfu

在活菌培养计数时，由单个菌体或聚集成团的多个菌体在固体培养基上生长繁殖所形成的集落，以其表达活菌的数量。

## 4 主要成分和制法 [适用基础培养基（干粉）]

### 4.1 主要成分

胰酪胨或胰蛋白胨	10.0 g
牛心浸粉	3.0 g
玉米淀粉	1.0 g
蛋白胨	5.0 g
酵母浸粉	5.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	13.0 g~15.0 g

### 4.2 制法

将4.1中各成分加入1000 mL蒸馏水或纯化水中，搅匀后加热煮沸溶解，121°C高压灭菌15 min，冷至45±5°C时，无菌操作加入5%~10% (v/v) 动物血（脱纤维），混匀后，倾注无菌平皿。亦可根据所需量按比例进行配制。

## 5 要求

### 5.1 哥伦比亚基础培养基（干粉）

#### 5.1.1 外观

应为均一的浅黄色粉末。

#### 5.1.2 装量

应不低于标示量。

#### 5.1.3 pH 值

按照4.2配制培养基，灭菌后，20°C~25°C时，pH值应在7.3±0.2范围内。

#### 5.1.4 干燥失重

应不大于6.0%。

#### 5.1.5 生长试验

按照4.2配制好培养基后，分别接种质控菌株，大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌，均应生长良好，且金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌的菌落周围应产生β溶血，肺炎链球菌的菌落周围应产生α溶血。

### 5.2 哥伦比亚血琼脂培养基（平板）

#### 5.2.1 外观

应质地均匀、湿润，表面平整光滑、无裂痕。

#### 5.2.2 厚度

应不小于3.0 mm。

#### 5.2.3 pH 值

20°C~25°C时，pH值应在7.3±0.2范围内。

#### 5.2.4 微生物限度

在规定使用条件下，可见污染菌生长的培养基（平板）数应不大于5.0%。

#### 5.2.5 生长试验

在培养基（平板）上分别接种质控菌株，大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌，均应生长良好，且金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌的菌落周围应产生β溶血，肺炎链球菌的菌落周围应产生α溶血。

## 6 试验方法

### 6.1 哥伦比亚基础培养基（干粉）

#### 6.1.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查，应符合5.1.1的要求。

#### 6.1.2 装量

按照《定量包装商品净含量计量检验规则》检测，结果应符合5.1.2的要求。

#### 6.1.3 pH值

按照4.2配制培养基，灭菌后，在20℃~25℃时，按照《中华人民共和国药典》pH值测定法检测，或采用其他适宜固体培养基检测的pH计测定，结果应符合5.1.3的要求。

#### 6.1.4 干燥失重

按照《中华人民共和国药典》干燥失重测定法，在60℃时压力2.67 kPa（20 mmHg）以下干燥至恒重后检测，结果应符合5.1.4的要求。

#### 6.1.5 生长试验

按照4.2配制培养基，依据附录A检测，结果应符合5.1.5的要求。

### 6.2 哥伦比亚血琼脂培养基（平板）

#### 6.2.1 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查，应符合5.2.1的要求。

#### 6.2.2 厚度

采用通用量具检测，结果应符合5.2.2的要求。

#### 6.2.3 pH值

将培养基（平板）恢复至20℃~25℃，按照《中华人民共和国药典》pH值测定法检测，或采用其他适宜固体培养基检测的pH计测定，结果应符合5.2.3的要求。

#### 6.2.4 微生物限度

随机抽取20块培养基（平板），在35℃~37℃条件下培养48 h，出现污染菌生长的平板数应不超过1块，结果应符合5.2.4的要求。

#### 6.2.5 生长试验

按照附录A检测，结果应符合5.2.5的要求。

## 7 标签和使用说明书

应符合GB/T 29791.2的要求。

## 8 包装、运输和贮存

### 8.1 包装

包装储运图示标志应符合GB/T 191的规定。包装容器应保证密封性良好，完整，无泄露，无破损。

### 8.2 运输

应按制造商的要求运输。在运输过程中，应防潮，应防止重物堆压，避免阳光直射和雨雪浸淋，防止与酸碱物质接触，防止内外包装破损。

### 8.3 贮存

应在制造商规定条件下保存。

## 附录 A（规范性附录） 哥伦比亚血琼脂培养基生长试验

### A.1 质控菌株

大肠埃希菌 (*Escherichia coli*) [ATCC 25922] 或 [CMCC(B) 44113]

金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) [ATCC 25923] 或 [CMCC(B) 26001]

乙型溶血性链球菌 (*Streptococcus hemolyticus-β*) [CMCC(B) 32210] 或化(酿)脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*) [ATCC 19615]

肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) [ATCC6305] 或 [CMCC(B) 31001]

培养基生长试验可采用上述菌株或其他等同或适宜的标准菌株，所用的菌株传代次数不得超过5代（从菌种保存中心获得的冷冻干燥菌种为第0代），并采用适宜的菌种保藏技术，以确保质控菌株的生物学特性。

不应在同一生物安全区内同时操作2个及以上菌株。

### A.2 方法

#### A.2.1 无菌操作要求

应严格遵守无菌操作，防止微生物污染。

稀释液、培养基、实验器具等灭菌时，应按照《中华人民共和国药典》灭菌法的要求，采用验证合格的灭菌程序灭菌。

#### A.2.2 菌株复苏

按照从菌种保存中心获得的冷冻干燥菌种说明书，准备好菌株复苏所需用具、培养基（平板）、斜面等，启开大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌冷冻干燥菌株后，按说明书的步骤进行复苏。

#### A.2.3 菌株传代

刮取上述复苏后的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌新鲜培养物，加至适宜培养基中，35℃~37℃培养18 h~24 h。

#### A.2.4 菌种增菌培养

刮取上述A.2.2或A.2.3中的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌新鲜培养物，加至营养肉汤或营养琼脂等适宜培养基中，35℃~37℃培养18 h~24 h。

#### A.2.5 菌悬液制备

取A.2.3或A.2.4培养后的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、乙型溶血性链球菌和肺炎链球菌新鲜培养物，分别用0.9%无菌氯化钠溶液制成每1 mL含菌量约为100 cfu~1000 cfu的菌悬液。

#### A.2.6 接种和结果记录

选取A.2.5的菌悬液0.1mL（含菌量10 cfu~100 cfu），采用涂布的方式接种至待测培养基（平板），每种质控菌株接种2个培养基（平板），并用1个未接种的培养基（平板）做空白对照，大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌置35℃~37℃培养18 h~24 h；乙型溶血性链球菌、肺炎链球菌置35℃~37℃培养24 h~48 h后，观察菌落生长情况以及有无溶血现象，并记录结果。

### 参考文献

- [1] ISO 11133:2014/Amd 2:2020 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
- [2] GB/T1.1 2020 标准化工作导则第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则
-