

3307 杂菌计数和病原性鉴定法（标准草案）

1 杂菌计数及病原性鉴定用培养基

- 1.1 杂菌计数 用含 4% 血清及 0.1% 裂解血细胞全血的马丁琼脂培养基或 GA。
- 1.2 病原性鉴定 用 TG 培养基、马丁肉汤、厌气肉肝汤或其他适宜培养基。

2 杂菌计数方法及判定

每批有杂菌污染的制品至少抽样 3 瓶，用普通肉汤或蛋白胨水分别按头（羽）份数作适当稀释，接种含 4% 血清及 0.1% 裂解血细胞全血的马丁琼脂（或 GA 琼脂）培养基平皿上，每个样品接种平皿 4 个，每个平皿接种 0.1ml（禽苗的接种量不少于 10 羽份，其他产品的接种量按各自的质量标准），置 37℃ 培养 48 小时，再移至 25℃ 放置 24 小时，数杂菌菌落，分别计算杂菌数。如果污染霉菌，亦作为杂菌计算。任何 1 瓶制品每头（羽）份（或每克组织）的杂菌应不超过规定。超过规定时，判该批制品不符合规定。

3 病原性鉴定

3.1 检查需氧性细菌时，将所有污染需氧性杂菌的液体培养管的培养物等量混合后，移植 1 支 TG 管或马丁肉汤，置相同条件下培养 24 小时，取培养物，用蛋白胨水稀释 100 倍，皮下注射体重 18~22g 小鼠 3 只，各 0.2ml，观察 10 日。

3.2 检查厌氧性细菌时，将所有液体杂菌管延长培养时间至 96 小时，取出置 65℃ 水浴 30 分钟后等量混合，移植 TG 管或厌气肉肝汤 1 支，在相同条件下培养 24~72 小时。如有细菌生长，将培养物接种体重 350~450g 豚鼠 2 只，各肌肉注射 1.0ml，观察 10 日。必要时，接种前对 TG 管或厌氧肉肝汤采用隔热水煮沸 15 分钟进行驱氧。

3.3 如发现制品同时污染需氧性及厌氧性细菌，则按上述要求同时注射小鼠及豚鼠。

3.4 判定 小鼠、豚鼠应全部健活。如果有死亡或局部化脓、坏死，则证明有病原菌污染，判该批制品不符合规定。

修订说明：

1. 本标准系在 2020 年版《中国兽药典》附录 3307 的基础上修订而成。
2. 因“杂菌计数方法及判定”条款中出现“GA”培养基，因此，在 1.1 条款增加“或 GA”。
3. 依据 2024 年第 12 次会议审查意见，建议除个别文字修改外，在 3.2 项末尾增加“必要时，接种前对 TG 管或厌氧肉肝汤采用隔热水煮沸 15 分钟进行驱氧。”