

细菌生化反应简易快速检验法

张颖悟

(遵义医学院微生物学教研组, 遵义)

为了便于基层开展细菌检验工作, 我们参考有关资料, 设计了一种多用途的培养基和含各种不同糖(醇)类以及尿素、醋酸铅和吲哚的干滤纸片(以下简称试纸片)。在一个平皿内用一种培养基就可以得出 7—8 种或更多的生化反应结果。各种试纸片在保存 14 年后, 除吲哚试纸片失效外, 其余试纸片均与制备时的效果相同。现将试验结果作一初步报道。

材 料 和 方 法

一、材 料

(一) 酚红琼脂粉

制法: 1. 将 50 克氯化钠、100 克琼脂粉和 25 克磷酸氢二钾分别磨细、混匀。再将 1 克酚红及适量无水碳酸钠*磨细, 与前述粉末混匀。

2. 最后将 100 克粉状蛋白胨(未受潮的)迅速与上述混匀的粉末再混匀, 装入瓶内, 塞紧瓶口, 保存备用。

(二) 试纸片

制法:

1. 用乙醇配制苏丹 III (红)、姜黄素(黄)、醇溶性苯胺蓝(蓝)和苏丹黑(黑)等的饱和溶液。取姜黄素饱和溶液 25 毫升加入醇溶性苯胺蓝饱和溶液 5 毫升配成绿色混合液。

2. 将上述不同颜色的饱和溶液分别放入磁盘内, 取 60×10 厘米的新华一号滤纸放入盘内、浸湿染色, 染色的滤纸条贴在玻璃棒上风干即成带色滤纸。

3. 配制葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇和蔗糖的水溶液, 浓度均为 20%。配制 5% 醋酸铅、10% 尿素的水溶液。配制吲哚试剂: 用对位二

甲氨基苯甲醛 5 克加甲醇 50 毫升加正磷酸 10 毫升。

4. 将上述各种溶液分别放入清洁的磁盘内, 按下列顺序分别浸泡带色滤纸, 红色滤纸浸葡萄糖, 黄色滤纸浸乳糖, 白色(滤纸本色)滤纸浸甘露醇, 蓝色滤纸浸麦芽糖, 黑色滤纸浸蔗糖, 绿色滤纸浸尿素, 醋酸铅及吲哚试剂用未染色的滤纸浸泡。如此可以根据颜色的不同识别其试纸的种类。

5. 将浸湿的滤纸悬于玻璃棒上风干, 即制成各种试纸。然后将前五种试纸用直径 6 毫米的打孔器打成圆形纸片, 醋酸铅试纸制成长条形, 吲哚试纸制成正方形, 使用时可根据纸片的形状区别其种类。制成的试纸片装小瓶内, 置室温下避光保存备用。

二、方 法

1. 取酚红琼脂粉 2.7 克加水 100 毫升, 在水浴内煮沸 10 分钟, 使之溶解。置 56℃ 水浴中可随时使用。

2. 将待鉴定的细菌从双糖或琼脂斜面上用 1 毫升盐水洗下, 制成 10—100 亿/毫升浓菌液。

3. 取菌液 0.5—1.0 毫升和已溶化的酚红琼脂倾入平皿内 (直径 6—7 厘米的平皿约加 12 毫升), 立即摇匀培养。

4. 待平皿琼脂凝固后, 在琼脂面上可按下图(图 1)次序排列各种试纸片, 醋酸铅及吲哚试纸片可放于平皿盖内壁(图 2)。

5. 将琼脂平板倒扣在平皿盖内, 于 38℃(或

* 无水碳酸钠的用量是按吴振国著《临床检验杂志》三卷 5 期第 38 页, 1959 年的方法计算的。

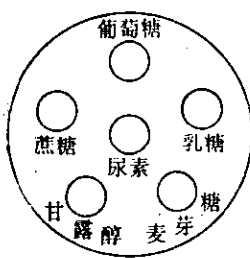


图1 琼脂表面排列
试纸片的顺序

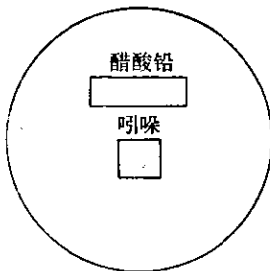


图2 平皿盖内壁

③硫化氢的产生：醋酸铅试纸片变黑褐色为阳性，不变色或试纸片边缘略带棕色者为阴性。

④吡啶的产生：吡啶试纸片变红色者为阳性。

试验结果

我们用伤寒杆菌，甲、乙、丙型副伤寒杆菌，痢疾杆菌，变形杆菌，大肠杆菌，产气杆菌，绿脓杆菌和葡萄球菌的保存株及新分离菌株，经多次试验证实与常规法(试管法)的结果相同(见表1)。

从表1的结果可以看出，试纸法与常规法的结果基本一致。但变形杆菌有时产气不显著；绿脓杆菌对葡萄糖产酸的结果不明显或仅出现淡黄色环。

表1 试纸片法检验细菌与常规法比较(1977年复试结果)

菌 种	试验株数	试 纸 片 法								常 规 法
		葡 萄 糖 发 酵	乳 糖 发 酵	麦 芽 糖 发 酵	甘 露 醇 发 酵	蔗 糖 发 酵	尿 素 分 解	吡 啶 产 生	硫 化 氢 产 生	
大肠杆菌	7	⊕	+	+	+	-	-	+	-	符合
产气杆菌	1	⊕	+	+	+	+	-	-	-	符合
伤寒杆菌 (0901W)	1	+	-	+	+	-	-	-	-	符合
伤寒杆菌 (H901W)	1	+	-	+	+	-	-	-	-	符合
伤寒杆菌(新分株)	5	+	-	+	+	-	-	-	-	符合
甲型副伤寒杆菌	1	⊕	-	+	+	-	-	-	-	符合
乙型副伤寒杆菌	1	⊕	-	+	+	-	-	-	+	符合
丙型副伤寒杆菌	1	⊕	-	+	+	-	-	-	+	符合
奇异变形杆菌	2	+	-	-	-	+	+	+	+	符合, 葡萄糖产气不定
摩根变形杆菌	1	+	-	-	-	-	+	+	-	符合, 葡萄糖产气不定
普通变形杆菌	1	+	-	+	-	+	+	+	+	符合, 葡萄糖产气不定
志贺氏痢疾杆菌	1	+	-	-	-	-	-	-	-	符合
史米斯痢疾杆菌	1	+	-	-	-	-	-	+	-	符合
福氏痢疾杆菌	1	+	-	-	+	-	-	+	-	符合
苏耐氏痢疾杆菌	1	+	-	+	+	-	-	-	-	乳糖和蔗糖试纸片法阴性
绿脓杆菌	1	±	-	-	-	-	-	-	-	葡萄糖产酸弱
金黄色葡萄球菌	2	+	+	+	+	+	-	-	-	符合

注：⊕产酸产气；+产酸不产气；-阴性。

讨论和小结

目前沿用的常规法鉴定细菌，虽有优点，但

在材料和人力上浪费很大，又不能在短时间内得出结果。我们采用的在一种培养基上作多种检测的试纸片法，既简便又快速，效果比较显著。如：

1. 酚红琼脂培养基内含指示剂，可在其表面贴上各种试纸片，并同时观察各种糖类的产酸和产气情况。酚红琼脂粉可长期保存。临时用使其融化即可，不用灭菌。这种方法节省了制备各种培养基的手续。

2. 试纸片因是干的纸片，便于长期保存。用保存14年之久的试纸片作试验仍然有效（除吲哚试纸外）。各试纸片因有不同颜色及形状易于区别其种类，所以试验时勿需一一作标记。

3. 在作肠道杆菌检验时，菌液浓度越大，出现结果越快。培养时间一般在 37—38℃ 温箱中培养 3—4 小时即出现明显的结果。

4. 检验细菌分解糖类是否产气，主要看葡萄糖试纸片底部有无气泡或裂隙（其他糖类产气不稳定）。

5. 醋酸铅及吲哚试纸片应放在平皿盖干燥处，且勿受湿，便于观察结果。