

肠杆菌科单管生化鉴定法

路文彬

(北京市卫生防疫站)

肠杆菌科致病菌在鉴定过程中,需要双糖、三糖或赖氨酸铁琼脂培养基^[1]。但这类培养基的鉴别范围有限,为了扩大其鉴别范围,经不断改进,研制出肠杆菌科单管生化鉴别培养基。使用效果较好。介绍如下。

材 料 和 方 法

一、肠杆菌科单管生化鉴别培养基(简称综合培养基)

(一) 下层

1. 成分(g): 蛋白胨 0.3, 甘露醇 0.1, 氯化钠 0.5, 尿素 2, 琼脂 0.3, 蒸馏水 100ml, pH6.8—7.0, 1% 酚红溶液 0.1ml, 1% 中国蓝溶液 1ml。

2. 制法: 将蛋白胨、氯化钠、甘露醇加入蒸馏水中,煮沸溶解,调 pH。加琼脂煮沸过滤,再加尿素和指示剂,分装试管内,每管 2ml,灭菌 20 分钟,直立放待凝固。

表 1 肠杆菌科细菌在综合培养基上的反应情况

试验菌株	株数	上 层					下 层					
		乳糖	蔗糖	硫化氢	葡萄糖	斜面颜色	中立段色	甘露醇	尿素	动力	颜色变化	
大肠艾希氏菌	100	⊕	干	干	⊕	黄	黄	⊕	-	±	绿	
志贺氏菌属	痢疾志贺氏菌 I 型	20	-	-	-	+	k	黄	-	-	-	无变化
	痢疾志贺氏菌 II 型	40	-	-	-	+	k	黄	-	-	-	无变化
	福氏志贺氏菌	200	-	-	-	+	k	黄	+	-	-	绿
	鲍氏志贺氏菌	70	-	-	-	+	k	黄	+	-	-	绿
	宋内氏志贺氏菌	100	-	-	-	+	k	黄	+	-	-	绿
沙门氏菌属	伤寒沙门氏菌	250	-	-	±	+	k	黄	+	-	+	绿
	甲型伤寒沙门氏菌	5	-	-	-	⊕	k	黄	⊕	-	+	绿
	乙型伤寒沙门氏菌	80	-	-	+	⊕	k	黄	⊕	-	+	绿
	猪霍乱沙门氏菌	2	-	-	-	⊕	k	黄	⊕	-	+	绿
	其他沙门氏菌	2000	-	-	+	⊕	k	黄	⊕	-	+	绿
	亚利桑那菌	10	-	-	+	⊕	k	黄	⊕	-	+	绿
克雷伯氏菌属	15	⊕	⊕	-	⊕	黄	黄	⊕	-	-	绿	
枸橼酸杆菌	30	-	-	+	⊕	k	黄	⊕	-	+	绿	
肠杆菌属	阴沟杆菌	10	⊕	⊕	-	⊕	黄	黄	⊕	±	+	绿或浅粉
	产气杆菌	10	⊕	⊕	-	⊕	黄	黄	⊕	-	+	绿
	哈夫尼亚	15	d	⊕	-	⊕	黄	黄	⊕	-	+	绿
沙雷氏菌	30	-	+	-	+	黄	黄	+	dw	+	绿或浅粉	
变形杆菌属	普通变形杆菌	100	-	+	+	±	红	红	-	+	+	红
	奇异变形杆菌	40	-	d	+	+	红	红	-	+	+	红
	摩尔根变形杆菌	40	-	-	-	d	红	红	-	+	+	红
	雷极变形杆菌	40	-	d	-	干	红	红	±	+	+	红
	产硷普罗菲登斯	3	-	d	-	±	不变	不变	-	-	+	不变
	司徒氏普罗菲登斯	2	-	d	-	-	不变	不变	d	-	+	不变
硷性-殊异杆菌	4	-	-	-	+	k	黄	+	-	-	绿	
粪产硷杆菌	30	-	-	-	-	k	k	-	-	+	k	
小肠结肠炎耶尔森氏菌	100	-	+	-	+	黄	黄	+	+	+	先绿后红	
假结核耶尔森氏菌	6	-	-	-	+	k	黄	+	+	+	先绿后红	

注: ⊕产酸产气; ±绝大多数菌株阳性,少数阴性; +阳性反应,只产酸不产气; d结果不定; dw弱阳性反应; k硷性反应; 干绝大部分阴性,少数阳性。

(二) 上层

1. 成分(g): 蛋白胨 2, 氯化钠 0.5, 乳糖 1, 蔗糖 1, 葡萄糖 0.1, 琼脂 1.5, H₂S 指示剂^[2]* 0.5ml, 蒸馏水 100ml, pH7.2—7.4, 1% 酚红溶液 0.5ml。

2. 制法: 上述成分(除琼脂、酚红及 H₂S 指示剂外)加热溶解, 调 pH7.4。加琼脂煮沸过滤, 加酚红指示剂, 10 磅 20 分钟灭菌, 加 H₂S

指示剂, 混匀, 加到下层培养基上, 每管约 2—3ml, 制成斜面。

二、实验菌株

从临床分离到肠杆菌科细菌 3294 株。

三、方法

从分离平板上挑选可疑菌落, 接种综合培

* H₂S 指示剂: 硫代硫酸钠 34g, 枸橼酸铁铵 4g, 蒸馏水 100ml。

培养基上,先划线后穿刺。置 37℃ 培养过夜,根据综合培养基上生化反应情况,做血清学分型。

结果和讨论

肠杆菌科各属细菌在综合培养基上通过乳糖、蔗糖、葡萄糖及甘露醇的产酸产气反应,硫化氢、尿素和动力反应,对常见的肠杆菌科致病菌达到初步鉴定和鉴别的目的,对一些菌达属、种的鉴定程度(见表 1)。

1. 志贺氏菌属中, A 群痢疾志贺氏菌只发酵葡萄糖,产酸,不产气,无动力,使上层中立段下 1/3 至 1/2 变成黄色,其余部分保持不变。

2. B 群福氏志贺氏菌、C 群鲍氏志贺氏菌、D 群宋内氏志贺氏菌和碱性一殊异杆菌在综合培养基上的反应情况基本相同,均分解葡萄糖和甘露醇,使上层中立段下 1/2 变为黄色,下层变为绿色。可通过血清学进行鉴别。只有 F₁ 型可见沿穿刺线产生几个微小气泡。

3. 沙门氏菌属中,伤寒沙门氏菌,发酵葡萄糖,使上层中立段下 1/2 变成黄色,同时 90% 以上新分离的菌株,沿穿刺线产生微量的肉眼可见的硫化氢阳性反应。下层发酵甘露醇变成绿色,不产气,有动力。

甲型付伤寒沙门氏菌和猪霍乱沙门氏菌,一般均发酵葡萄糖和甘露醇,产气,有动力。因而上层中立段下 1/2 变为黄色,下层变为绿色,并产生许多小气泡。

其他沙门氏菌一般均发酵葡萄糖和甘露醇,产生 H₂S,使上层中立段变黄色部分,有黑色沉淀物出现。下层变成绿色,有动力和气泡。根据血清学试验,再进一步鉴别。

4. 克雷伯氏杆菌、阴沟杆菌、产气杆菌、哈夫尼亚杆菌和沙雷氏菌,一般均分解乳糖、蔗糖

或仅分解蔗糖,使上层产酸,全部变成黄色,下层绿色,产生气体,除克雷伯氏杆菌外,其他菌的动力阳性。

5. 大肠艾希氏菌,对乳糖、葡萄糖和甘露醇都能发酵,有些菌株也能发酵蔗糖,产生大量的酸和气体,有时能将上层和下层冲开。使整个培养基变成黄绿色,动力阳性,有时也见 H₂S 阳性变种。

6. 变形杆菌均分解尿素产氨,不仅能中和对糖类发酵产生的酸,而且使培养基的 pH 值增高,上下层变成桃红色。硫化氢阳性者,在上层中立段产生黑色沉淀。

7. 小肠结肠炎耶尔森氏菌,能分解蔗糖、葡萄糖、利用尿素、有动力。在综合培养基上培养 24 小时,上层变为黄色,下层变为绿色。22℃ 培养时有动力。培养 48 至 72 小时后,由于尿素的利用,上下层均变为桃红色。

假结核耶尔森氏菌,分解葡萄糖、甘露醇,有动力,不能分解蔗糖和乳糖,所以在综合培养基上培养过夜后,仅上层中立段 1/2 变为黄色,下层变为绿色,有动力。尿素反应情况与小肠结肠炎耶尔森氏菌相同。

8. 其他非肠杆菌科常见的细菌,如粪产碱杆菌,不发酵任何糖类,其他生化反应阴性,仅动力阳性。绿脓杆菌在斜面上生长时,一般呈融合生长,产生灰褐色菌苔,与其他肠杆菌容易辨认。

参 考 文 献

- [1] Edwards, P. R. and W. H. Ewing: Identification of Enterobacteriaceae, 3rd ed. 1972.
- [2] King, S. et al.: *Appl. Microbiol.*, 16: 577, 579, 1968.