



医学细菌生化试验 鉴定手册

〔英〕J. F. 麦 克 法 丁 著
林 万 明 译
何 道 生 校

人 民 卫 生 出 版 社

医学细菌生化试验鉴定手册

〔英〕 J. F. 麦克法丁 著
林万明 译
何道生 校

人 民 卫 生 出 版 社

Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria

Second Edition

1980

Jean F. Mac Faddin

Williams & Wilkins

Baltimore/London

2V8/29 10

医学细菌生化试验鉴定手册

〔英〕J. F. 麦克法丁 著

林 万 明 译

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里 10 号)

人民卫生出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092 毫米 16 开本 24印张 4插页 560千字

1985年 8 月第 1 版 1985年 8 月第 1 版第 1 次印刷

印数：00,001—12,400

统一书号：14048·4962 定价：5.45元

〔科技新书目 95—84〕

说 明

《医学细菌生化试验鉴定手册》第二版（1980年）系统、详细、完整地介绍了医学细菌鉴定中最常使用和最近采用的三十四个生化试验方法，并以图表的形式显示细菌鉴定的程序及结果。

本手册对每个试验的步骤、所用的试剂和培养基均作了详尽的描述；特别是对生化反应原理和试剂化学反应阐述得尤为精辟；每个试验末尾还有结果判定和注意事项。除了标准试验方法以外，每个试验后面还介绍了替换试验方法、快速试验方法以及它们与标准试验方法的符合率。多种试验系统也作了介绍。细菌译名是根据《细菌名称》（科学出版社，1980年版）一书，该书未列入的菌名，一般将原文列出。

本手册可供医院和各级防疫部门的细菌检验工作人员使用，对科研人员和教学人员也有参考价值。

由于专业知识和翻译水平所限，在摘译和部分内容的编排删节上以及专业名词的翻译上难免有不妥之处，希望读者批评指正。

译 者

第二版序言

第一版出版以后的四年间，我收到许多请求和建议，要求增加一些生化试验。在第一版中有许多细菌学诊断试验没有包括进去；然而，它们在大多数临床细菌实验室内没有都成为常规试验。为了应付生长要求严格的传染性微生物和经常遇到的肠杆菌科，近几年来设计了或改进了许多新的试验或新近应用的方法。我选定五个应用最广泛的生化鉴定方法加在第二版内，作为五个新的章节。这五个方法在第一版均未包括在内，有几个在你们的实验室内可能还没有应用。这五个试验章节是：环化腺苷酸（cAMP）试验（反应）、脱氧核糖核酸酶（DNase）和热核酸酶联合试验、马尿酸盐水解试验、奈瑟氏菌属糖利用试验和淀粉水解试验。

我没有改变本书的版式，只是在前面的试验章节适当的地方加进了新的方法使之适应当前的需要，但仍然保留目前大多数细菌实验室和教学机构仍在使用的古老的标准方法。加进去五节新的附录，目的是对培养基和接种物的制备有所帮助，并增加索引一章，因为在各章节中大部分内容（课题、化合物、试剂等）是重复的。

唯一争论之处是鉴定图解上的流程图的应用价值问题。许多微生物学家讨厌叫流程图，但它们仍然是有益的，并为许多人，特别是为学生广泛接受。因此，为了那些认为这些表和流程图有益的人，我把它们保留了下来。在表和流程图中所用的属和种的分类法（命名法）是根据 Bergey 氏手册（第八版），但肠杆菌科除外，肠杆菌科是根据应用最广泛的 Edwards 和 Ewing 的分类法。

Jean F. Mac Faddin

1980

目 录

第一章 单个生化试验	1
第一节 碱性磷酸酶耐热试验.....	1
第二节 胆汁七叶苷试验.....	4
第三节 胆汁溶解试验.....	11
第四节 环腺苷酸 (cAMP) 试验 (反应).....	15
第五节 糖发酵试验.....	31
第六节 过氧化氢酶试验.....	40
第七节 柠檬酸盐试验.....	46
第八节 凝固酶试验.....	50
第九节 脱羧酶试验 (赖氨酸, 鸟氨酸, 精氨酸) 和脱氢酶试验 (精氨酸).....	62
第十节 脱氧核糖核酸酶与热核酸酶试验.....	75
第十一节 肠球菌粪肉汤试验.....	90
第十二节 β -半乳糖苷酶 (ONPG和 PNP) 试验.....	94
第十三节 明胶液化试验.....	101
第十四节 葡糖酸盐试验.....	106
第十五节 马尿酸水解试验.....	110
第十六节 硫化氢试验.....	126
第十七节 吲哚试验.....	134
第十八节 克氏铁琼脂和三糖铁琼脂试验.....	141
第十九节 石蕊牛奶试验.....	147
第二十节 丙二酸盐试验.....	152
第二十一节 肠球菌牛奶美蓝还原试验.....	156
第二十二节 甲基红试验.....	159
第二十三节 动力试验.....	162
第二十四节 奈瑟氏菌属糖类利用试验.....	165
第二十五节 硝酸盐还原试验.....	180
第二十六节 奥普托欣纸片试验.....	187
第二十七节 氧化酶试验.....	191
第二十八节 氧化-发酵试验.....	200
第二十九节 苯丙氨酸脱氨酶试验.....	206
第三十节 磷酸酶试验.....	210
第三十一节 氰化钾试验.....	214
第三十二节 淀粉水解试验.....	218
第三十三节 尿素酶试验.....	228
第三十四节 VP 试验.....	236

第二章 多种试验系统	248
第三十五节 多种试验系统.....	248
第三章 鉴定图解	267
第三十六节 序言.....	267
第三十七节 革兰氏阳性细菌.....	268
第三十八节 革兰氏阴性细菌.....	288
第三十九节 肠杆菌科及其他肠内细菌.....	345
附录	370
一、在细菌鉴定各节中使用的缩写符号.....	370
二、pH 指示剂.....	371
三、pH 的调整.....	371
四、McFarland 氏浊度计标准管.....	375

第一章 单个生化试验

第一节 碱性磷酸酶耐热试验

一、原 理

测定细菌不耐热碱性磷酸酶的活性。

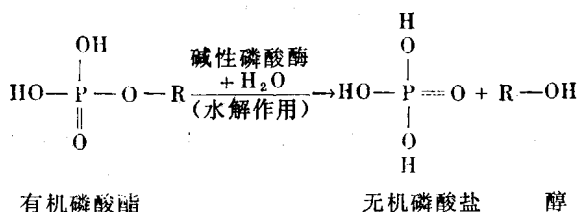
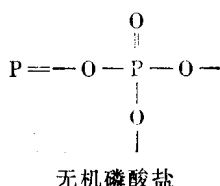
二、目的（参见第三章第三十八节）

待检菌必须预先鉴定是假单胞菌属的细菌。由于许多肠道菌科的细菌是耐热的^[11]，所以本试验不能区别假单胞菌属与其他肠道细菌。

1. 耐热菌^[7] 铜绿假单胞菌（绿脓杆菌）；类鼻疽假单胞菌；北城假单胞菌。
2. 不耐热菌 除前三种外的其他假单胞菌^[7]。

三、生化反应

磷酸酶是一种磷酸单脂酶^[6]，它作用于磷酸单脂^[2,5]。磷酸脂水解，氧和磷之间的键断裂（C—O—P），无机磷酸盐从磷酸单脂释放出来^[5]。碱性磷酸酶在碱性 pH 条件下具有最适催化活性，故称碱性磷酸酶^[8]。70℃保温一定时间，有些碱性磷酸酶耐热，



另一些则被破坏。这种耐热特性是假单胞菌属中一些菌种鉴别的依据。

四、使用的试剂

1. 0.1% p-硝基苯磷酸盐水溶液^[7] 先在刻度容量瓶中用蒸馏水配制 0.1% 的浓度，再倒入棕色玻璃试验瓶内保存，尽量避免曝光。瓶上应有正确的标签。

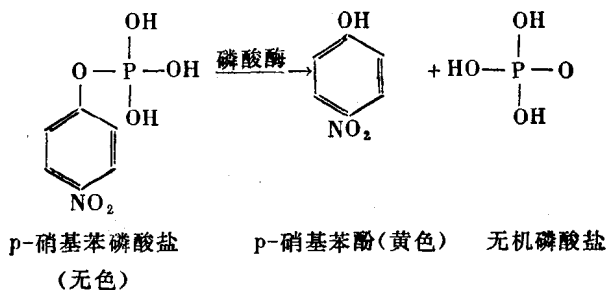
2. 0.025M Tris 缓冲液 (pH 8.0)^[7] 溶解 3.02 克 (分子量 121) Tris^[10] 于 100 毫升蒸馏水中，煮沸排出 CO₂^[4]，倒入 1 立升容量瓶中，加 25 毫升 1N 盐酸，用煮沸过的蒸馏水补到 1000 毫升。校正 pH，在 37℃ 应为 8.0。应该正确地贴上瓶签。

3. 使用方法 (上两种试剂)^[7] 用灭菌棉拭子刮取细菌, 用Tris液 (pH 8.0) 稀释, 比浊, 使其浊度相当于 9×10^8 菌体/毫升 (相当于第三管McFarland 比浊计)^[1], 分别加 0.5 毫升菌悬液 (在 Tris 缓冲液中) 于试管A和B中。试管A置 70°C 水浴 20 分钟, 试管B不加热作对照, 然后各加入 0.5 毫升 0.1% p-硝基苯磷酸盐溶液 (无色)。两试管再置 37°C 水浴 1 小时后记录颜色反应, 若为阴性 (两管均无黄色), 继续孵育 24 小时视察。

4. 质量检查 试剂使用前必须用已知阳性和阴性菌做试验。表皮葡萄球菌磷酸酶试验为阴性 (不产生磷酸酶)^[3], 绿脓杆菌磷酸酶试验为阳性, 并耐热。使用这两种细菌为对照菌, 不仅因为它们容易获得, 而且原始培养物保存亦无甚问题。

5. 保存 试剂1 (棕色瓶保存, 避光) 和 2 不用时放于冰箱中保存。试剂稳定性差, 应定期校正, 若用阳性菌证实呈阴性或弱阳性反应时应废弃。

6. 试剂的化学作用 p-硝基苯磷酸盐无色, 当受磷酸酶作用时, 裂解为 p-硝基苯酚 (黄色化合物) 和无机磷酸盐^[7], 并在碱性溶液 (Tris 缓冲液) 形成深黄色 p-硝基苯酚^[9], 它可能是醌型结构盐^[12]。



五、结果判定

1. 耐热菌 绿脓杆菌 (铜绿假单胞菌)、类鼻疽假单胞菌和北城假单胞菌。加热管阳性 (黄色), 未加热对照管阳性 (黄色)。

2. 不耐热菌 除 1 中的三种细菌外的其他假单胞菌。加热管阴性 (无色), 对照管阳性 (黄色)。

3. 非假单胞菌属的细菌 加热管阴性 (无色), 对照管阴性 (无色)。

强阳性反应可在 37°C 保温 1 小时内出现, 弱反应需 24 小时 (过夜)^[7]。

六、注意事项

1. 试验菌必须先被鉴定是假单胞菌, 因肠杆菌科的许多菌种, 如变形菌属、普罗威登斯菌属、沙门氏菌属、志贺氏菌属、克雷伯氏菌属和大肠杆菌^[3]等可产生磷酸酶, 其中许多磷酸酶是耐热的^[11]。本试验仅能区别假单胞菌属内的各种细菌^[7]。所有假单胞菌种均有端鞭毛, 氧化发酵试验中可氧化葡萄糖的特性可排除肠杆菌科的细菌。假单胞菌属细菌的适宜生长对温度要求的范围很大, 其中许多细菌在 37°C 下不能生长, 而所有绿脓杆菌和类鼻疽假单胞菌在 37°C 下均能很好的生长^[7]。

2. 所有假单胞菌都可产生磷酸酶, 但大多数在 70°C 下经 20 分钟即被灭活, 仅有绿脓杆菌、类鼻疽假单胞菌和北城假单胞菌是耐热的, 其他的均不耐热 (敏感)^[7]。目前

还没有能够区别绿脓杆菌和类鼻疽假单胞菌的生化方法^[7], 只能用种特异性的可溶性抗原在血清学上区别它们。

3. 假单胞菌和肠杆菌科的某些细菌^[11]仅在含浓度极低的磷酸盐培养基上才产生磷酸酶^[7], 因此要使用一种不加磷酸盐的培养基, 如用胰胨葡萄糖浸膏琼脂或含蛋白胨不超过 0.2% 和酵母浸膏不超过 0.05% 的培养基^[7]。

4. 在加入 p-硝基苯磷酸盐试剂以前, 细菌缓冲悬液应为无色。不能用肉汤培养液作菌悬液^[7]。许多假单胞菌在含磷酸盐的培养基^[13]中生长, 可产生一种掩盖阴性反应的黄绿色荧光色素^[7]。

5. 菌悬液决不能用磷酸盐缓冲液制备, 因它能抑制磷酸酶的活性^[7]。

参 考 文 献

1. Bailey, R. W., and Scott, E. G. *Diagnostic Microbiology*, 2nd ed., St. Louis, C. V. Mosby Company, 1966, p. 329.
2. Cantarow, A., and Schepartz, B. *Biochemistry*, 3rd ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1962, p. 239.
3. Cowan, S. T., and Steel, K. J. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, Cambridge: Cambridge University Press, 1966, pp. 35 and 162.
4. Davidson, I., and Henry, J. B. *Todd-Sanford Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*, 14th ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1969, p. 1259.
5. Fieser, L. F., and Fieser, M. *Organic Chemistry*, 3rd ed., New York, Reinhold Publishing Corporation, 1956, p. 461.
6. Harrow, B., and Mazur, A. *Textbook of Biochemistry*, 9th ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1966, pp. 111 and 144.
7. Liu, P. V. (1966) Differentiation of pathogenic pseudomonads by heat resistance of alkaline phosphatase. *Am. J. Clin. Pathol.*, 5, 639.
8. Lynch, S. S., Mellor, L. D., Spare, P. D., and Inwood, M. J. H. *Medical Laboratory Technology and Clinical Pathology*, 2nd ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1969, p. 307.
9. Noller, C. R. *Chemistry of Organic Compounds*, 3rd ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1965, p. 555.
10. Rice, E. W. *Principles and Methods of Clinical Chemistry for Medical Technologists*, Springfield, Ill.: Charles C Thomas, Publisher, 1960, pp. 38~39.
11. Torriani, A. (1960) Influence of inorganic phosphate in the formation of phosphatases by *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta*, 38, 460.
12. Whitmore, F. C. *Organic Chemistry*, New York, D. Van Nostrand Company, Inc., 1937, p. 782.
13. Wilson, Sir G. S., and Miles, A. A. *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*, Vol. I, 5th ed., Baltimore, Williams and Wilkins, 1964, p. 639.

第二节 胆汁七叶苷试验

一、原理

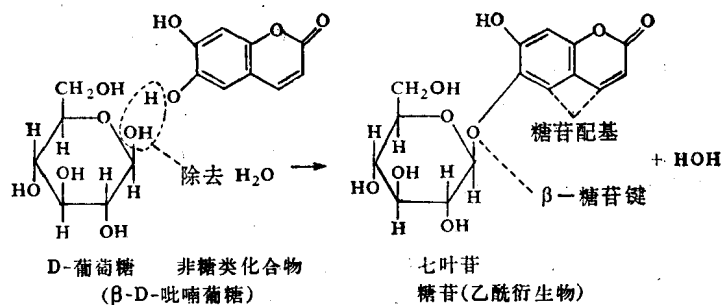
在 10~40% 胆汁存在下，测定细菌水解葡萄糖苷七叶苷为七叶亭和葡萄糖的能力。

二、目的（参见第三章第三十七至三十九节）

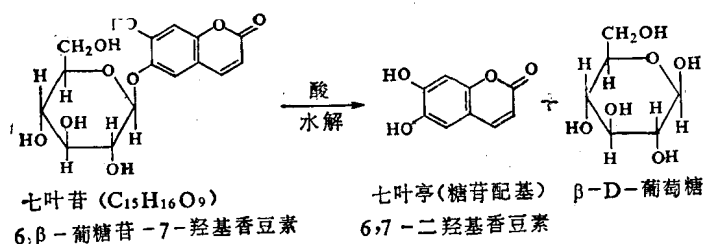
1. 有助于 D 群链球菌与其他非 D 群链球菌的鉴别。
2. 有助于肠杆菌科的鉴定，主要是克雷伯氏菌-肠杆菌-沙雷氏菌族^(8, 15)。
3. 有助于单核细胞增生利斯特氏菌 (+) 的鉴别。
4. 筛选、选择性分离和初步区别脆弱拟杆菌群（脆弱拟杆菌、吉氏拟杆菌、印形拟杆菌、多形拟杆菌和普通拟杆菌）与其他厌氧革兰氏阴性杆菌^(4, 6, 24)。

三、生化反应

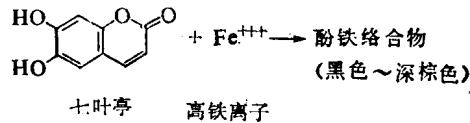
七叶苷是一种葡萄糖苷（一般称糖苷），即简单单糖的乙酰衍生物⁽¹³⁾。当一种非糖类化合物通过乙酰键连接到一种糖上，这样形成的乙酰衍生物称作糖苷，非糖类化合物部分称作糖苷配基⁽¹⁾，糖苷配基是通过氧原子（—O—糖苷键）连接到母体糖上⁽³⁾。



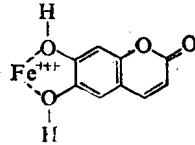
乙酰易被酸水解⁽³⁾，七叶苷试验的依据是七叶苷水解放出葡萄糖分子和七叶亭。七叶苷分解产物可用下面的两种方法之一予以证实^(5, 17)。



1. 常规方法 七叶亭与铁盐反应形成一种深棕色或黑色络合物。在胆汁七叶苷培养基中加 0.05% 浓度的柠檬酸铁作为七叶苷水解生成七叶亭的指示剂。



确切的反应机制还不清楚，但可假定为：



2. 替换方法 如在七叶苷水解产物中的葡萄糖部分产酸，不论有无气体 (CO₂和 H₂) 形成，均可表明有七叶苷的分解^[5, 18]。

四、胆汁七叶苷培养基(pH7.0)

1. 成分 蛋白胨 5 克，牛肉浸膏 3 克，牛胆汁 (胆汁) 40 克，七叶苷 1 克，柠檬酸铁 0.5 克，琼脂 15 克，蒸馏水 1000 毫升。2% 的牛胆汁系 10 倍浓缩的胆汁，相当于 20% 的胆汁。

培养基中胆汁浓度可为 40% (Difco) 或 10% (BBL)；有的加叠氮化钠 0.25 克/立升 (BBL)，有的不加 (Difco)；有的含马血清 (Difco)；有的不含。

2. 制备方法 一般使用市售的培养基制品，各厂的制品有少许不同。准确称取干燥培养基，加入蒸馏水或无离子水，缓慢加热使之溶解为溶液，分装在有螺丝帽的试管内，每支试管分装 5 毫升。高压灭菌 121°C 15 磅 15 分钟，做成斜面，在冰箱中 (4~8°C) 保存。

3. 链球菌试验 用吸管或接种环取已孵育 24 小时的 Todd-Hewitt 肉汤纯培养物 2 滴接种在斜面上^[10]。

4. 肠杆菌科试验 用直径 4 毫米接种环从心浸液琼脂 (HIA)、赖氨酸铁琼脂 (LIA) 或三糖铁琼脂 (TSI) 上取纯培养物大量接种，但试验大肠杆菌时只需少量接种^[7, 14, 26]。35°C 孵育。

5. 链球菌属 孵育 48 小时，可以定时检查试管，若阳性可报告结果；阴性者需孵育至 72 小时后报告。

6. 肠杆菌科 孵育 18~24 小时即可。

五、结果判定

1. 试验阳性 斜面的一半或大部分变为黑色到暗棕色，在观察的时间内均如此^[10]。

2. 试验阴性 斜面不变黑；孵育 72 小时斜面变黑不到一半 (+/- 反应)^[10]。有生长物时，并不表示七叶苷裂解，仅表示胆汁浓度不能抑制除 D 群链球菌外的细菌生长。

六、快速试验

1. 试剂浸泡的胆汁七叶苷滤纸条试验 用于检查结构酶^[8]，孵育 1~4 小时观察结

果。与标准试验的符合率：1973年研究结果为88%^[19]，75%^[1]；1975年研究结果为85%^[21]。偶尔出现假阳性的细菌：大肠杆菌、柠檬酸细菌属、摩氏摩根氏菌（摩氏变形菌）。偶尔出现假阴性的细菌^[19,21]；克雷伯氏菌属、肠杆菌属、沙雷氏菌属。本法对颜色的解释有一定困难^[1]。

2. 七叶苷斑点试验^[7] 在基础培养基不生长。用366毫微米紫外线发生器观察荧光的丧失来测定是否水解。把0.02%七叶苷溶液吸在显微镜载玻片上的滤纸上，将分离的细菌菌落擦到试验滤纸上，35℃下孵育30分钟。结果判定：①水解：变黑，荧光消失；②无水解：不变黑，荧光不消失。

七、替换试验

（一）厌氧菌用的七叶苷肉汤^[12]

使用含0.1%七叶苷和0.1%琼脂的心浸液肉汤（HIB）培养基，接种厌氧菌，35℃下孵育24~48小时或直到生长良好为止。每支试管加几滴0.1%柠檬酸铁铵溶液，阳性者整个培养基呈黑色。另一种方法是把试管放在长波紫外线（365毫微米）下观察，阳性试验结果者，不显荧光。

（二）脆弱拟杆菌群的筛选试验

1. 采用Draper^[6] 由Vargo等人^[24]做了改进的方法 胆汁和抗生素滤纸片是用2%胆汁（浓度为25毫克）和卡那霉素（浓度为1,000微克）浸泡制成的。生长培养基是用硫乙醇酸盐肉汤，浊度相当于McFarland 0.5的标准管。纸片试验用培养基采用布鲁氏菌的血琼脂平板。在厌氧条件下，35℃孵育24~48小时观察结果，孵育24小时后，脆弱拟杆菌群细菌全部呈现阳性。

结果判定：

（1）阳性（+）：抑菌圈直径小于10毫米表示对卡那霉素有抗性（R），而对胆汁有抗性（R）时，纸片边缘就有细菌生长。

（2）阴性（-）：抑菌圈直径大于12毫米表示对卡那霉素敏感（S），而对胆汁敏感（S）时，抑菌圈直径为17~30毫米。

胆汁纸片周围有一个大的溶血圈，在这个圈内生长的细菌在琼脂上常产生云雾状沉淀。这个现象使生长物特别明显，结果显而易见^[6]。

2. 卡那霉素-七叶苷-胆汁培养基（KEB） Chan等^[4]的选择性分离培养基。试验培养基用胰酶消化大豆琼脂，内含①卡那霉素1,000微克/毫升，高压灭菌后加入；②七叶苷5%；③柠檬酸铁铵（柠檬酸铁（ $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ）和柠檬酸铵〔 $(\text{NH}_4)_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 〕50:50混合物）；④胆汁20%。

在35℃下厌氧孵育24小时，如果出现阴性反应，可将平板再孵育24小时。

很多研究者^[2,4,6,12,23,24]指出，脆弱拟杆菌群是唯一的最经常遇到的这样一种革兰氏阴性厌氧杆菌，即这种细菌不被胆汁所抑制，对高浓度的卡那霉素有抗性。Chan等^[4]的研究结果表明，在KEB培养基上100%的脆弱拟杆菌能生长并水解97~100%的七叶苷。而其他革兰氏阴性厌氧菌以及大多数兼性厌氧菌的生长则受到选择性抑制生长的作用，因此无水解作用。

八、注意 事 项

1. 本试验最初用来鉴定肠球菌^[16],但其他D群链球菌,有时非D群链球菌和其他菌属,如:气球菌属^[11]、利斯特氏菌属等都能耐受这种胆汁浓度和裂解七叶苷。在40%胆汁培养基上生长和使七叶苷水解产酸的特性不是D群链球菌独有的,而是大多数D群菌株的共同特征^[9]。

因此,本试验不能鉴定肠球菌^[16],但是阳性结果与其他试验联合应用时可初步鉴定D群链球菌。可参见第三章第三十七节关于D群鉴定的详细的鉴定图表。血清学试验是确定D群链球菌唯一的方法^[9]。

2. 不应该依赖单一的试验来鉴定D群链球菌、肠球菌或非肠球菌。有人推荐^[9,11]把本试验结合盐的耐受性试验(在6.5%氯化钠中生长)来进行(表2.1)。

表 2.1^[10,11]

SEM·BEM 或 MBEM*	6.5% NaCl	鉴 定	可 能 性
+	生长	D群肠球菌	-
+	不生长	D群非肠球菌	-
-	不生长	非肠球菌	若是 α 或不溶血,可能是绿色链球菌
-	不生长	非D群	若是 β 溶血,可能为A群
-	生长	?	若是 β 溶血,进一步试验可能是B群,若是 α 或不溶血,可从盐类肉汤转种到SBA*上,重新分离纯培养

* SBA: 绵羊血琼脂平板; SEM: 肠球菌选择性培养基; BEM: 胆汁七叶苷培养基; MBEM: 改良的胆汁七叶苷培养基。

3. 在本试验培养基中的区别说明细菌的不同反应^[10]。叠氮化钠能抑制革兰氏阴性菌,使培养基对链球菌有选择性。低浓度的胆汁对非D群链球菌较少抑制作用^[9]。某些绿色链球菌,如血链球菌、突变链球菌(*S. mutans*)和咽峡炎链球菌能够裂解七叶苷,但它们通常不能耐受40%的高浓度胆汁和水解七叶苷的联合作用。Sabbij等^[20]证明,突变链球菌(绿色菌群)能水解七叶苷,有的菌株偶尔能在40%胆汁培养基上生长,但不能在6.5%盐培养基上生长;另外,绿色菌群的血链球菌偶尔能水解七叶苷和在高浓度培养基上生长^[20]。

含叠氮化物培养基作为一种初步选择培养基是较好的,但是用高浓度胆汁(40%)和不加叠氮化物的培养基做鉴定是较好的。Facklam^[10]研究证明,用SEM培养基准确区别D群和非D群链球菌是不能令人满意的。

4. 关于肠杆菌科水解七叶苷的问题,各研究者的结果有很大的分歧。Levine等^[13]和Vaughn等^[25]重新研究了七叶苷水解试验在鉴别肠杆菌科细菌的价值。Wasilaukas^[26]和Lindell等^[14]指出,肠杆菌科在胆汁-七叶苷生长培养基[例如Vaughn-Levine(VL),BEM,MBEM]上可以生长,但仅有某些细菌能水解七叶苷,同时与铁盐反应产生特殊的黑色。Edbeg等^[8]指出,克雷伯氏菌-肠杆菌-沙雷氏菌各属和普

通变形杆菌, 雷氏普罗威登斯菌(雷氏变形杆菌)和 *diversus* 柠檬酸细菌能在 24 小时内水解七叶苷; 而 Martin 的研究结果表明^[15], 水解作用仅限于克雷伯氏菌-肠杆菌-沙雷氏菌族。Lindell 等^[14]的研究结果如下: 肺炎克雷伯氏菌、产气肠杆菌和沙雷氏菌属的全部三个菌种在 4 小时内 100% 能水解七叶苷; 宋内氏痢疾杆菌、沙门氏菌属菌种、*hinshawii* 亚利桑那菌、奇异变形杆菌、摩氏摩根氏菌(摩氏变形菌)、*alcalifaciens* 普罗威登斯菌和司徒氏普罗威登斯菌在 4 小时内 100% 不水解七叶苷; 大肠杆菌、弗氏柠檬酸细菌、*diversus* 柠檬酸细菌、蜂房哈夫尼菌(哈夫尼肠杆菌)和普通变形杆菌在 18 小时内 70% 水解阴性; 而阴沟肠杆菌、凝聚肠杆菌和雷氏普罗威登斯菌的结果为可疑(+/-)。

除大肠杆菌外, 所有肠杆菌科细菌水解七叶苷的葡萄糖苷酶都是结构酶, 都能用能生长和不能生长的两种七叶苷快速试验很容易检出^[8]。

Edberg 等^[8]推荐 BEM 可选为肠杆菌科常规试验的精选培养基; 它在辅助克雷伯氏菌-肠杆菌-沙雷氏菌属各菌种的鉴别上是受限制的。

5. 大肠杆菌的 β -葡萄糖苷酶是一种诱导酶, 该菌不产生结构酶^[17], 因此在没有细菌生长的试验(例如 PathoTec 和斑点试验)中就没有水解作用^[7,8,17], 因为在这样短时间的孵育期内不能出现诱导作用^[7]。

大肠杆菌的 β -葡萄糖苷酶不是菌细胞的正常成份, 它是根据需要而产生的, 例如: 当细菌利用乳糖或其它双糖或其它有关的化合物作为碳源时, 便产生这种酶。乳糖在大肠杆菌结构基因指导合成有效的 β -葡萄糖苷酶中起着诱导剂的作用。

因此, 用生长试验培养基(BEM, MBEM)试验大肠杆菌时, 应接种少量菌。用接种针(不用接种环)接触菌落的顶部即可获得少量接种物。在孵育 18~24 小时内判定结果^[8,17]。Wasilauskas^[26]认为, 培养物产生水解所需要的时间直接与接种量的多少成比例关系。大量接种将出现更多的能诱导水解七叶苷的 β -葡萄糖苷酶的细胞; 孵育时间超过 24 小时也可产生更多的能诱导 β -葡萄糖苷酶的细胞, 时间和温度或其中之一都可增加阳性率^[17]。在这个族中没有其他菌种象大肠杆菌那样, 水解作用随着时间延长而显著增加。然而诱导成功之后, 如果在不含 β -葡萄糖苷的培养基中传代, 水解的能力可消失^[17]。

由于大肠杆菌的 β -葡萄糖苷酶是诱导出来的, 因此, 利用生长培养基孵育 18~24 小时少量接种, 或进行快速不生长纸条试验或斑点试验^[17]。由于除大肠杆菌外, 在测定肠杆菌科七叶苷水解作用时, 肠杆菌科的所有细菌在快速纸条上都为阳性, 所以, PathoTec 分类法似乎比生长培养基法更好^[17]。

6. 拟杆菌属筛选纸片试验的可靠性取决于接种浓度的标准化, 如果太浓, 区带将小得多, 更不明显^[6]。Draper 等^[6]通过调整肉汤生长浊度相当于 McFarland 0.5 标准管, 标化了此方法。Sutter 等^[22,23]推荐敏感区应大于 10, 抗性区应小于 10; Vargo 等^[24]提出敏感区应大于 12, 抗性区应小于 12; Draper 等^[6]统一了判定结果的标准: 敏感区应大于 12, 抗性区应小于 10。

7. 用胆汁和抗生素纸片方法试验脆弱拟杆菌时, 对一种纸片敏感, 或对两种纸片皆敏感的细菌需要进一步做生化试验^[6], 因本试验仅是一种粗筛的方法。

参 考 文 献

1. Blazevic, D. J., Schrenckenberger, P. C., and Matsen, J. M. (1973) Evaluation of the Patho Tec "Rapid I-D system." *Appl. Microbiol.*, **26**, 886.
2. Bittner, J. (1975). A simple method for rapid isolation and identification of *Bacteroides fragilis*. *Arch. Roum. Pathol. Exp. Microbiol.*, **34**, 231.
3. Cantarow, A., and Schepartz, B. *Biochemistry*, 3rd ed., Philadelphia, W. B. Saunders Company, 1962, pp. 10~11.
4. Chan, P. C. K., and Porschen, R. K. (1977) Evaluation of kanamycin-esculin-bile agar for isolation and presumptive identification of *Bacteroides fragilis* group. *J. Clin. Microbiol.*, **6**, 528.
5. Cowan, S. T., and Steel, K. J. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, Cambridge, Cambridge University Press, 1966, p. 24.
6. Draper, D. L., and Barry, A. L. (1977) Rapid identification of *Bacteroides fragilis* with bile and antibiotic disks. *J. Clin. Microbiol.*, **5**, 439.
7. Edberg, S. C., Gam, K., Bottenbley, C. J., and Singer, J. M. (1976) Rapid spot test for the determination of esculin hydrolysis. *J. Clin. Microbiol.*, **4**, 180.
8. Edberg, S. C., Pittman, S., and Singer, J. M. (1977) Esculin hydrolysis by *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.*, **6**, 111.
9. Facklam, R. (1972) Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. *Appl. Microbiol.*, **23**, 1131.
10. Facklam, R. R. (1973) Comparison of several laboratory media for presumptive identification of enterococci and group D streptococci. *Appl. Microbiol.*, **26**, 138.
11. Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C., and Sconyers, B. J. (1974) Presumptive identification of group A, B, and D streptococci. *Appl. Microbiol.*, **27**, 107.
12. Finegold, S. M., Martin, W. J., and Scott, E. G. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*, 5th ed., St. Louis, The C. V. Mosby Company, 1978, p. 484.
13. Levine, M., Vaughn, R., Epstein, S. S., and Anderson, D. (1932) Some differential reactions in the colon-aerogenes group of bacteria. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **29**, 1022.
14. Lindell, S. S., and Quinn, P. (1975) Use of bile-esculin agar for rapid differentiation of *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.*, **1**, 440.
15. Martin, W. J. *Enterobacteriaceae*. In J. E. Blair, E. H. Lennette, and J. P. Truant (eds.) *Manual of Clinical Microbiology*, Bethesda, Md., American Society for Microbiology, 1970, pp. 151-174.
16. Meyer, K., and Schöenfeld, H. (1926) Über die Unterscheidung des Enterococcus vom Streptococcus viridans und die Beziehung beider zum Streptococcus lactis. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1 Orig.*, **99**, 402.
17. Miskin, A., and Edberg, S. C. (1978) Esculin hydrolysis reaction by *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, **7**, 251.
18. Norris, J. R., and Ribbons, D. W. *Methods in Microbiology*, Vol. 6A, New York, Academic Press, 1971, p. 11.

19. Rosner, R. (1973) Evaluation of the Pathotec "Rapid I-D system" and two additional experimental reagent-impregnated paper strips. *Appl. Microbiol.*, 26, 890.
20. Sabbaj, J., Sutter, V. L., and Finegold, S. M. (1971) Comparison of selective media for isolation of presumptive group D streptococci from human feces. *Appl. Microbiol.*, 22, 1008.
21. Smith, P. B., Rhoden, D. L., and Tomforde, K. M. (1975) Evaluation of the PathoTec Rapid I-D System for identification of *Enterobacteriaceae*. *J. Clin. Microbiol.*, 1, 359.
22. Sutter, V. L., Atteberry, H. W., Rosenblatt, J. E., Bricknell, K. S., and Finegold, S. M. (1972) *Anaerobic Bacteriology*, UCLA Extension Division, Los Angeles, Calif.
23. Sutter, V. L., and Finegold, S. M. (1971) Antibiotic disc susceptibility tests for rapid presumptive identification of gramnegative anaerobic bacilli. *Appl. Microbiol.*, 21, 13.
24. Vargo, V., Korzeniowski, M., and Spaulding, E. H. (1974) Tryptic soy bile-kanamycin test for the identification of *Bacteroides fragilis*. *Appl. Microbiol.*, 27, 480.
25. Vaughn, R. H., and Levine, M. (1942) Differentiation of the "intermediate" colilike bacteria. *J. Bacteriol.*, 44, 487.
26. Wasilauskas, B. L. (1971) Preliminary observations on the rapid differentiation of the *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group on bile-esculin agar. *Appl. Microbiol.*, 21, 162.