

卫生防疫
微生物检验规程



動員起來
講究衛生
減少疾病
提高健康水平
粉碎敵人的細菌戰爭

毛澤東

C0132088



前 言

在批林批孔运动的推动下，革命和生产形势一派大好。为了更好地贯彻伟大领袖毛主席关于“预防为主”的卫生工作方针，逐步作到统一全市卫生防疫微生物检验工作，我们重新编写了北京市“卫生防疫微生物检验规程”。其中包括细菌、病毒、真菌、寄生虫检验，培养基制备和实验动物的饲养管理等部分，供我市从事卫生防疫微生物检验和有关工作的同志参考。

由于我们的政治思想水平和理论、技术水平有限，加以编写时间仓促，其中错误和缺点一定不少，我们衷心地希望同志们批评指正。

北京市卫生防疫站

一九七五年三月

目 录

第一篇 通则	(1)
一、一般微生物实验室注意事项	(1)
二、烈性微生物实验室注意事项	(1)
三、菌毒种保存方法	(2)
第二篇 流行病细菌学检验	(7)
第三篇 卫生细菌学检验	(139)
第四篇 病毒学检验	(189)
第五篇 真菌学检验	(245)
第六篇 寄生虫学检验	(317)
第七篇 培养基制备	(351)
附录:	
附一、血清谷丙酶测定	(426)
附二、麝香草酚混浊度试验	(430)
附三、实验动物的饲养管理	(432)

第一篇 通 则

一、一般微生物实验室注意事项

- (一) 工作人员进入实验室操作时，必须穿工作服、戴工作帽和口罩。
- (二) 在实验室内禁止吸烟和饮食。
- (三) 实验室应经常保持整洁，并常备 3—5% 来苏液，供擦拭工作台面、浸泡纱布和吸管等一般消毒时使用。
- (四) 使用吸管时，要按上橡皮乳头，禁止用嘴吸。
- (五) 用活菌作血清玻片凝集时，应在来苏纱布上进行。接种环、接种针使用前后均应在火焰上烧灼灭菌。
- (六) 实验室用过的吸管、玻片应浸泡在 3—5% 来苏液内过夜，然后洗涤，其它实验物品如培养物、标本等，均应经高压蒸气灭菌后，方可丢弃或洗涤。
- (七) 带有传染性的污物污染工作台或地面时，应以 5% 石炭酸或来苏液浸泡半小时后再擦拭干净。脏污的工作服应经高压蒸气灭菌后再洗涤。
- (八) 工作人员离开实验室前，应做好门、窗、水、电的安全检查工作，然后将工作服、帽挂在指定地点，用 3% 来苏液或 0.2% 过醋酸液泡手 1—2 分钟，再用肥皂洗刷干净后，方可离开。
- (九) 进行食品微生物学检验时，必须注意工作人员的工作服、鞋、帽和手部的消毒以及实验室的空气消毒，以免污染样品，影响检验结果的准确性。真菌实验室常用 5% 石炭酸喷雾消毒。
- (十) 实验室内的显微镜、离心机、温箱、冰箱等各项仪器的使用，均应严格遵守仪器使用规则，如发现故障，应及时报告修理。对于易燃药品如醚类、醇类、苯类等应妥善保管。
- (十一) 实验室应备有记录本，认真进行样品或标本的登记和实验结果的记录。

二、烈性微生物实验室注意事项

凡检验鼠疫、霍乱、炭疽及其他烈性微生物，均应在专用实验室内进行。工作人员除应遵守一般微生物实验室注意事项外，还应严格执行下列规定：

(一) 对实验室的消毒隔离要求：

1. 鼠疫和霍乱实验室应准备 3—5% 来苏或石炭酸液，炭疽实验室应准备 5—10% 氯亚明溶液，供经常性和特殊消毒使用。

2. 门把手、水龙头应用两层以上纱布包裹，并用消毒液经常湿润。入门处应放置用消毒液喷洒的擦脚垫。

3. 实验台上应放置盛有消毒液的消毒缸，分别供盛放用过的载玻片、盖玻片、吸管等。消毒缸内的消毒液面，应不低于浸泡物品的高度，使其全部浸于消毒液内。浸泡过夜后再行高压蒸气灭菌。另备消毒液浸泡的纱布，供操作时使用。消毒液应根据使用情况经常更换，以保证消毒效果。

4. 实验室应在每次操作结束后，用紫外线照射或用消毒液喷雾。

5. 所有实验器材，未经灭菌处理，一律不得带出实验室。凡未经处理的任何材料（包括冲片子水），绝对禁止冲入下水道。待处理的一切污染材料或废弃物，均应以严密容器盛放，并以消毒液喷雾处理容器表面，直接送至消毒间高压蒸气灭菌后，方可处理。

(二) 对实验人员的消毒隔离要求：

1. 凡进行烈性微生物操作时，工作人员必须预先接受预防注射，在疫苗保护期内，方能参加实验操作。

2. 进入实验室必须穿戴专用长筒胶靴、帽子、口罩、胶皮手套，以及穿工作服，外套隔离服。进行鼠疫菌检验时，头部需扎三角巾，必要时戴防护眼镜。每次实验后，上述物品都应进行消毒处理。

3. 全部实验操作均需在用消毒液浸湿的纱布上进行。

4. 实验中如发生污染事故，当事人要保持镇静，不要离开污染地点，由邻近人员以消毒液喷洒和浸泡污染的地面、衣物和设备等。如发生人体感染事故时，还应立即给以预防性治疗和必要的隔离观察，同时向负责人报告。

三、菌毒种保存方法

保存菌毒种的方法很多，常用的有一般保存法和冷冻真空干燥保存法。前者适用于一般保存，但易造成微生物变异；后者可以长期保存，并能保持微生物的生物学特性。

(一) 一般保存法

1. 普通培养基保存：将细菌培养物直接放4℃或冷暗处，可保存数天。

2. 鸡蛋斜面保存：将细菌接种于鸡蛋斜面上，37℃培养18小时左右，加灭菌液体石蜡至斜面全部浸没，再超出约1 cm，置4℃保存。此法用于沙门氏菌和志贺氏菌，可保存3—6个月。

3. 普通半固体穿刺保存：将细菌穿刺接种于半固体培养基内，37℃培养18小时左右，加灭菌液体石蜡约0.5—1 cm厚度，放4℃保存。此法用于埃希氏菌、变形杆菌、绿脓杆菌，可保存3—6个月。

4. 血斜面或血高层保存：接种和培养方法同前。常用于革兰氏阳性球菌的保存，加液体石蜡，放4℃可保存三个月左右。

5. 流感病毒保存：将流感病毒鸡胚尿囊液用生理盐水作1:4稀释，用胶塞塞紧管口，在4℃可保存一个月，在-20℃可保存一年。

6. 真菌菌种保存：病原真菌可接种于沙保弱氏琼脂斜面上，于26℃培养1—2周后，用

固体石蜡封闭管口或加入灭菌液体石蜡至浸没全部斜面，置4℃或室温保存。产毒霉菌可接种在察氏琼脂斜面上，按照以上培养程序和处理方法保存。一般半年传代一次。

表1 菌毒种一般保存法一览表

菌毒种名称	保存方法	保存期限	保存温度
沙门氏菌	鸡蛋斜面(加液体石蜡)	3—6个月	4℃
志贺氏菌	鸡蛋斜面(加液体石蜡)	3—6个月	4℃
埃希氏菌	普通半固体(加液体石蜡)	3—6个月	4℃
变形杆菌	普通半固体(加液体石蜡)	3—6个月	4℃
绿脓杆菌	普通半固体(加液体石蜡)	3—6个月	4℃
葡萄球菌	血斜面或血高层(加液体石蜡)	3个月	4℃
链球菌	血斜面或血高层(加液体石蜡)	3个月	4℃
肺炎双球菌	血斜面或血高层(加液体石蜡)	2周—1个月	4℃
脑膜炎双球菌	玉米淀粉半固体(加液体石蜡)	2—3月	25—37℃
白喉杆菌	吕佛氏血清斜面(加液体石蜡)	2周—1个月	4℃
结核分枝杆菌	罗氏培养基(加液体石蜡)	2—3个月	4℃
副溶血性弧菌	3.5%盐半固体(加液体石蜡)	1—2个月	室温
厌氧菌	疱肉培养基	2—3个月	4℃
肠道病毒	组织培养液	1年	低温冰箱
流感病毒	鸡胚尿囊液	1年	低温冰箱
流行性乙型脑炎病毒	50%中性甘油盐水	半年	4℃
病原真菌	沙保弱氏琼脂斜面(加液体石蜡)	半年	4℃或室温
产毒真菌	察氏琼脂斜面(加液体石蜡)	半年	4℃或室温

(二) 冷冻真空干燥保存法:

1. 器材:

- (1) 真空泵(真空度达到 10^{-2} — 10^{-4})。
- (2) 高频火花真空测验器。
- (3) 真空用耐压橡皮管。
- (4) 铜制多头枝管。
- (5) 带盖搪瓷缸。
- (6) 封腊: 凡士林 450 g、石蜡 200 g、松香 75 g, 充分熔化混合冷却后备用。
- (7) 吸水剂: 氯化钙。
- (8) 保护剂——灭菌脱脂牛奶: 将新鲜牛奶置水浴中煮沸, 冷却后去表面脂肪, 同法进

行三次，最后用脱脂棉过滤，分装试管，8磅30分灭菌备用。

(9) 菌种管：长约12 cm，直径为0.8—0.9 cm，下端呈稍膨大球形的玻璃管。洗净待干，然后干热灭菌备用。

2. 方法：

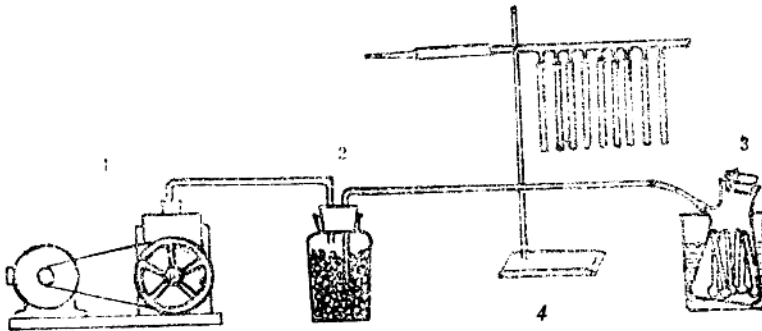
(1) 制备菌液：将待干燥的新鲜纯培养物，小心磨于灭菌脱脂牛奶中，制成浓菌液，然后分装于灭菌菌种管内，一般以不超过下端球部的1/2为宜。在菌种管上标明菌号。

流感病毒尿液与pH 7.0—7.4脱脂牛奶等量混合，然后分装于菌种管内。

(2) 冷冻：将装好液体的菌种管放入干燥瓶（大口玻璃瓶）内，置-25℃过夜。同时取适量95%酒精倒入带盖搪瓷缸内，一并冷冻。

(3) 真空干燥：翌日取出干燥瓶，立即放入酒精缸内。将装有氯化钙的干燥器一端连接干燥瓶，另一端连接真空泵（见图1），进行抽气，用真空测验器测定*，如已达到所需真空

图1、菌种冷冻真空干燥装置示意图



1、真空泵 2、氯化钙 3、抽滤瓶 4、多头枝管

度时，将干燥瓶从酒精缸内取出，在室温下继续抽至干燥，当看到菌种管内的液体已干燥成蜂窝状，摇动时能脱离管壁，即可停止抽气，一般约需四小时左右。然后取下干燥瓶，将干燥的菌种管取出，装到多头枝管上。

(4) 封口：将多头枝管连接到真空泵上抽气，待菌种管抽成真空后，在酒精喷灯或煤气灯火焰上封口。封口时不能停止抽气，以保持菌种管内一定的真空度。

(5) 感观检查和鉴定：合格的干燥菌种，外观呈蜂窝状乳白色，基本上保持原来的体积；加入溶剂后能立即溶解。对干燥菌种还应进行细菌培养，检查存活情况。必要时进行详细鉴定，包括形态学、培养特性、生化特性、抗原性、毒力、活菌率和水分的测定等。

(6) 保存：置4℃保存，一般可保存一年以上。

(7) 启用：在酒精灯火焰上将菌种管封口端1—2 cm处烧红，滴上一滴无菌生理盐水，使管壁炸裂，用拧干来苏纱布包裹，将其折断，然后用毛细吸管吸取生理盐水或肉汤少许，加入菌种管内，反复吹吸数次，使菌块溶解后，即可移种。

*高频火花真空测验器使用方法：测验器尖端距检查的玻璃管道0.5—1 cm处，顺次移动检查。（不要于一处停留过久）当真空度在200 μ汞柱时，火花由紫色变为淡兰色；10⁻¹真空度时，变为兰白色；10⁻²—10⁻³时变为白亮光。注意该仪器只适用于玻璃管道，不宜用于金属管道。

第二篇 流行病细菌学检验

目 录

第一章	白喉棒状杆菌	(7)
第二章	百日咳嗜血杆菌	(8)
第三章	脑膜炎奈瑟氏菌	(10)
第四章	志贺氏菌和沙门氏菌	(12)
第五章	肥达氏反应	(84)
第六章	伤寒杆菌噬菌体分型鉴定	(95)
第七章	伤寒杆菌噬菌体增殖试验	(99)
第八章	痢疾杆菌噬菌体增殖试验	(101)
第九章	霍乱弧菌和 El-Tor 弧菌	(103)
第十章	鼠疫巴斯德氏菌	(106)
第十一章	炭疽杆菌	(110)
第十二章	布鲁氏杆菌	(114)
第十三章	细菌对抗菌药物的敏感性测定(纸片法)	(117)
第十四章	消毒效果检查	(122)
第十五章	钩端螺旋体	(123)

流行病细菌学检验

第一章 白喉棒状杆菌

一、采样方法：

(一) 用灭菌棉拭子，蘸吸新鲜配制的亚硝酸钾甘油盐水保存液，并在管壁挤去多余液体，然后采取咽喉分泌物。

采样时，患者或可疑带菌者头部向后倾斜，将口尽量张大，以压舌板压住舌根部，然后用棉拭子在伪膜边缘涂抹，如无一定局限部位，可在咽部和扁桃体粘膜上涂抹。

(二) 采样时，避免棉拭子与口腔其它部位接触。

(三) 受检者在饭后采样时，应间隔一小时；如咽喉部涂用消毒剂或使用含漱剂时，则应间隔12小时。

二、检验方法：

(一) 分离培养：将棉拭子检体接种于亚硝酸钾血清琼脂平板上，37℃培养18—24小时。挑取黑色、光滑、边缘整齐的菌落，制成涂片作庞德氏或奈瑟氏染色后镜检。发现有菌体细长、两端有异染颗粒、排列成X、Y、L状的棒状杆菌时，即分别移种于亚硝酸钾血清琼脂平板或吕佛氏血清斜面进行分纯培养，进一步鉴定。

(二) 生化反应：将纯培养物接种于葡萄糖、蔗糖、淀粉等半固体发酵管内，37℃培养24小时，观察结果。(表2)

白喉杆菌能发酵葡萄糖产酸、不发酵蔗糖(偶有轻型菌株能发酵)，对淀粉的发酵能力不同，一般只有重型菌株能发酵。

(三) 毒力试验：白喉杆菌为棒状杆菌属中唯一具有高度致病力的细菌，有产生强烈外毒素的能力。利用动物试验或爱立克氏平板法可以鉴定白喉杆菌是否具有毒力，由此可与无毒的菌株或类白喉杆菌相区别。

毒力试验常用下列三种方法，可根据实验室具体情况选用。

1. 动物皮下试验法：

(1) 取体重约250g豚鼠2只，将腹部一侧的毛剃去，分别做好标记，放入饲养笼内。

(2) 取其中一只，在腹部皮下注射250—500单位的白喉抗毒素作为对照。

(3) 次日将吕佛氏血清斜面纯培养物，于灭菌生理盐水中研磨，制成5亿/ml菌悬液，分别注射于上述两只豚鼠的剃毛部位皮下，各0.5ml。

(4) 注射后观察4天，注意局部有无红肿和坏死灶，有无全身症状，甚至死亡，并将观察结果详细记录。

(5) 结果判断：如纯培养物有毒力时，则未经注射抗毒素的豚鼠，在 3—4 天内发生病变或死亡。死后剖检可见注射局部水肿、肾上腺肿大充血、胸腔内有渗出液。对照动物则无反应。

2. 动物皮内试验法：

(1) 取一接种环吕佛氏血清斜面纯培养物分别混合于 1、10、100 ml 无菌生理盐水中，制成不同浓度的菌悬液。

(2) 取豚鼠一只剃去其腹部一侧的毛，将三种不同浓度的菌悬液，皮内注射于该侧的三个不同部位。

(3) 另取一只豚鼠剃毛，皮内注射菌液抗毒素混合液 0.1 ml (菌液 0.05 ml 加 50 单位白喉抗毒素 0.05 ml)，作为对照。

(4) 结果判断：观察三天。如菌株有毒力时，试验动物在三个部位，呈强弱不同的反应，主要为红肿和坏死。若毒力较强时，动物亦可死亡。对照动物注射部位应无反应或仅有轻度红肿。

3. 体外毒力试验—爱立克 (Elek) 氏平板法：

(1) 以每 10 ml 爱立克氏培养基加入 2 ml 无菌兔血清 (或马、牛血清)，倾注于灭菌平皿中。

(2) 在培养基凝固前，放入白喉抗毒素滤纸一条 (60×15 mm，事先吸附有 1000 单位/ml 浓度的白喉抗毒素)。待琼脂凝固后，放 37℃ 45 分钟，使平板表面水分蒸发。

(3) 以划线法接种纯培养物，划线要密而窄，不可中断，与滤纸成直角方向。同时设阳性对照。37℃ 培养 24—48 小时观察结果。阳性者，在滤纸条和接种线之间有白色沉淀线形成。

表 2 棒状杆菌属细菌的鉴别

菌 名		葡 萄 糖	蔗 糖	淀 粉	毒 力
白喉杆菌	轻 型	+	±	-	+
	中 间 型	+	-	-	+
	重 型	+	-	+	+
何夫曼氏棒状杆菌		-	-	-	-
结合膜干燥棒状杆菌		+	+	-	-
溃疡棒状杆菌		-	-	+	-
化脓棒状杆菌		+	+	+	-

第二章 百日咳嗜血杆菌

一、采样方法：

(一) 咳碟法：将青霉素包姜二氏平板放在患者口腔前 10—20 cm 处，让患者咳嗽数次，使飞沫喷射于平板上。

(二) 咽喉涂抹法：用一端弯曲的灭菌棉拭子(用金属丝制成、距末端约 2 cm 处作 45° 弯曲),采集咽喉分泌物。

二、检验方法：

(一) 分离培养：将棉拭子检体，接种于青霉素包姜二氏平板上，置于玻璃缸中(玻璃缸底部盛水，将缸盖盖好，保证缸内一定湿度)，于 37℃ 培养 3—5 天，观察菌落形态。用咳嗽法采集的标本可直接放入玻璃缸中，37℃ 培养。

百日咳杆菌菌落呈灰白色，细小珠状，周围有不明显的溶血环。涂片镜检时，菌体呈革兰氏阴性球杆菌，大小均一，着色均匀，单个或成双排列，偶有呈短链状者。挑取可疑菌落进行分纯培养，进一步作生化反应及血清学鉴定。

(二) 生化反应：百日咳杆菌不发酵常用的糖类，在石蕊牛乳中经 10—14 天培养后，出现牛乳凝固现象。(表 3)

表 3 百日咳杆菌生化反应

百 日 咳 嗜血杆菌	淀 基 质	硝酸盐还原	糖类分解	石蕊牛乳
	—	—	—	凝固(10—14天)

(三) 血清玻片凝集试验：于玻片一端加一接种环 10 倍稀释的百日咳杆菌第一相血清，另一端加正常兔血清作对照。然后分别加入纯培养物混悬液各一滴，随即混匀。将玻片摇动数次，阳性者，1—2 分钟内出现凝集。

新分离的百日咳杆菌多属第一相，经多次传代后则多属第二、三、四相。副百日咳杆菌、支气管败血性杆菌与百日咳杆菌有共同的耐热性抗原，可与百日咳杆菌第一相血清发生凝集。但是可以通过形态、培养特性、生化反应等进行鉴别(表 4)。

表 4 嗜血杆菌属细菌的鉴别

鉴 别 要 点		百日咳杆菌	副百日咳杆菌	支气管败血性杆菌	流行性感胃杆菌
在青霉素包姜二氏平板上的生长特性	生长速度	慢	较快	较快	较快
	菌落大小	较小	较大	较大	较小
	颜色	灰白色	深棕色	灰色	无色
	透明度	不透明	不透明	不透明	透明
	溶血环	有	极显	不定	无
5%血液内浸液琼脂平板生长		—	+	+	+
动力(悬滴法)		—	—	+	—
百日咳杆菌 1 相血清凝集		+	+	+	—

第三章 脑膜炎奈瑟氏菌

一、采样方法：

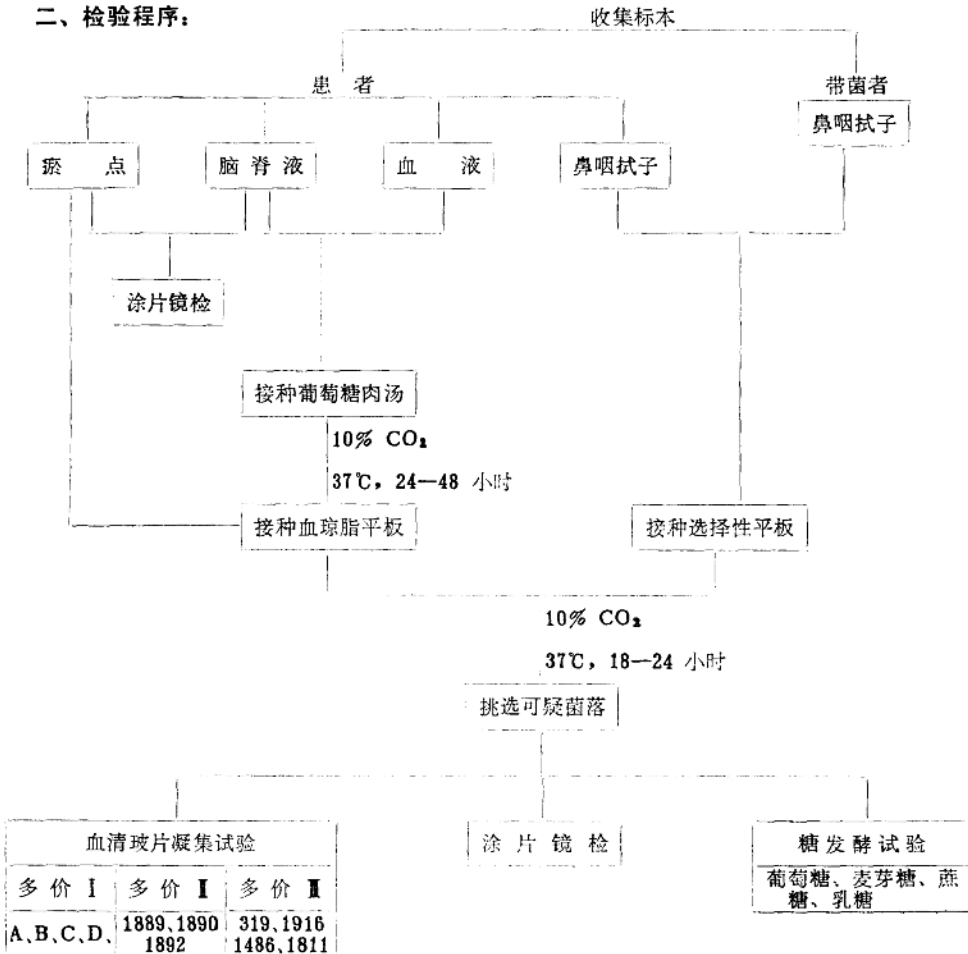
(一) 鼻咽分泌物：同百日咳杆菌采样方法。用一端作 45° 弯曲的灭菌棉拭子，于鼻咽部采集分泌物。最好尽快接种，如不可能，应将棉拭子放入保温瓶内，尽早送往实验室。

(二) 瘀点：用酒精棉球消毒瘀点表面，用消毒针从边缘刺破，用手轻轻压挤出组织液，作涂片或培养。

(三) 患者血液：按常规方法，从菌血症脑膜炎患者肘静脉取血 5—10 ml 进行培养。

(四) 脑脊液：必要时按常规方法取脑脊液作涂片和培养。

二、检验程序：



三、检验方法:

(一) 镜检: 取瘀点标本或混浊的脑脊液直接作涂片, 不很混浊的脑脊液以 3000 转/分离心 30 分钟后, 取沉淀物作涂片。脑膜炎奈瑟氏菌为革兰氏阴性双球菌, 肾形, 成对排列。脑脊液涂片中双球菌存在于多核细胞内外, 瘀点中的细菌较少, 需仔细检查。

(二) 分离培养: 将鼻咽分泌物接种于 37℃ 预温的 PV 选择性平板上。混浊的脑脊液可接种于血琼脂平板或巧克力色琼脂平板。不很混浊的脑脊液和患者血液先接种于葡萄糖肉汤, 俟细菌生长后, 用血琼脂平板分离。脑膜炎双球菌要求在 10% 二氧化碳环境中培养, 此点对于初代分离培养尤为必要。培养时将平板放入密闭玻璃缸内, 其中点燃一支蜡烛, 俟其熄灭后, 将缸移入 37℃, 培养 18—24 小时。

脑膜炎双球菌的菌落呈圆形、湿润、表面光滑、略凸起、灰白色、半透明、易乳化、不溶血。

(三) 血清玻片凝集试验: 取纯培养物或可疑菌落, 与脑膜炎双球菌多价血清作玻片凝集, 同时用盐水和正常兔血清作对照。阳性者用分群血清确定群别。

必要时做试管凝集试验, 方法同一般定量凝集法。

(四) 糖发酵试验: 将纯培养物接种于葡萄糖、麦芽糖、蔗糖、乳糖发酵平板上(点种量要大), 37℃ (不需二氧化碳环境) 6—8 小时后观察结果。脑膜炎双球菌发酵葡萄糖、麦芽糖, 菌苔及其周围培养基呈金黄色; 不发酵蔗糖、乳糖, 菌苔颜色不变, 其周围培养基仍为蓝紫色, 但比原来颜色稍深。

如有个别菌株反应不明显, 可培养至 18—24 小时后再观察一次, 或接种半固体糖发酵管。

(五) 结果判断: 菌落典型, 不产生色素, 涂片镜检为革兰氏阴性双球菌, 血清凝集试验和生化反应符合脑膜炎双球菌者可报告为脑膜炎双球菌。如血清凝集阴性、生化反应符合, 或生化反应不全符合而血清凝集阳性者, 应作进一步研究。

表 5 奈瑟氏菌属的鉴别

细菌种类	菌落形态	葡萄糖	麦芽糖	果糖	蔗糖	乳糖	琼脂平板生长	于 22℃ 生长
淋病奈瑟氏菌	细小、圆、凸	+	-	-	-	-	-	-
脑膜炎奈瑟氏菌	圆、带兰灰色	+	+	-	-	-	±	-
粘膜炎奈瑟氏菌	较大、灰白色	-	-	-	-	-	+	+
咽干燥奈瑟氏菌	较大皱起, 不易混悬于液体中	+	+	+	+	-	+	+
深黄奈瑟氏菌	黄绿色, 粘附于培养基上	+	+	+	+	-	+	-
黄色奈瑟氏菌	黄色	+	+	+	-	-	-	-
淡黄色奈瑟氏菌	黄绿色, 粘附于培养基上	+	+	-	-	-	±	±
浅黄色奈瑟氏菌	金黄色	-	-	-	-	-	?	?
乳糖发酵奈瑟氏菌	圆、带兰灰色	+	+	-	-	+	+/-	-/+

第四章 志贺氏菌和沙门氏菌

一、采样方法:

(一) 便盒留便: 取新鲜大便约 5 g 放便盒内送检。

(二) 直肠采便: 将带有甘油保存液的采便管, 缓缓插入肛门, 约 4—5 cm 深(不同年龄的儿童, 可适当缩短插入的深度), 加以旋转, 然后取出放回原试管内送检。

(三) 标本采集后, 应尽快送检, 一般以不超过四小时为宜, 必要时可放冰箱或加甘油保存液保存。

二、检验方法:

(一) 分离培养:

1. 粪便标本直接种于 S S 平板和伊红美兰平板, 37℃ 培养 18—24 小时。

2. 作带菌检查时, 常先增菌。志贺氏菌用 GN 增菌液, 37℃ 培养 6—8 小时后转种, 沙门氏菌用亚硒酸盐增菌液或四硫磺酸盐增菌液, 37℃ 培养 18—24 小时后转种。

表 6 几种肠系杆菌在肠系杆菌综合鉴别培养基上的生化反应

菌 名			底 层				上 层					
			甘露醇	尿素	动力	产气	培养基变化	葡萄糖	乳糖	H ₂ S	培养基变化	
											下 ¹ / ₃ 直立段	上 ² / ₃ 斜面
志贺氏菌	A群	志贺氏	-	-	-	-	无变化	+	-	-	变黄	红色
		史密斯	-	-	-	-	无变化	+	-	-	变黄	红色
	B群	福氏	+	-	-	-	变蓝或绿	+	-	-	变黄	红色
		鲍氏	+	-	-	-	变蓝或绿	+	-	-	变黄	红色
D群	宋内氏	+	-	-	-	变蓝或绿	+	√	-	变黄	红色或变黄	
沙门氏菌	伤寒		+	-	+	-	穿刺线周围有扩散生长	+	-	+	有黑色H ₂ S产生	红色
	副伤寒甲		+	-	+	+	同上,产气	+	-	-	变黄产气	红色
	副伤寒乙		+	-	+	+	同上,产气	+	-	+	变黄产气有黑色H ₂ S产生	红色
	副伤寒丙		+	-	+	+	同上,产气	+	-	+	变黄产气有黑色H ₂ S产生	红色
大肠杆菌			+	-	+	+	同上,大量产气	+	+	-	变黄,产气	变黄
变形杆菌			干	+	+	-	同上,变红	+	-	±	变黄部分菌株产生H ₂ S	红色

* 福氏 6 型沿穿刺线有微量气泡。

干 大部分菌株不能分解, 雷极氏变形杆菌能分解。

√ 迟缓发酵。

± 大部分菌株能产生, 雷极氏及部分莫根氏变形杆菌不产生。

(二) 分纯培养及初步生化反应:

挑取平板上无色、透明或半透明、光滑湿润、边缘整齐的圆形凸起菌落, 穿刺并划线接种于肠系杆菌综合鉴别培养基, 或克列格改良双糖培养基上, 37℃培养 18—24 小时, 观察初步生化反应(表 6)。凡疑为志贺氏菌或沙门氏菌的培养物, 经涂片镜检为革兰氏阴性杆菌者, 作进一步鉴定及分型。

(三) 志贺氏菌的鉴定与分型:

1. 血清学分型鉴定: 志贺氏菌一般只含 O 抗原(菌体抗原), 根据 O 抗原的不同, 本菌属

表 7 志贺氏菌属血清分群分型

群 别	定 名	型、亚型	旧 名 称
A	痢疾志贺氏菌 (<i>Shigella dysenteriae</i>)	1	Sh. shigae, Shiga—Krusse bacillus
		2	Sh. schmitzii, Sh. ambigua
		3	Q 771
		4	Q 1167
		5	Q 1030
		6	Q 454
		7	Q 902
		8	血清型 599—52
		9	血清型 58
		10	血清型 2950
B	福氏志贺氏菌 (<i>Shigella flexneri</i>)	1 1a	V
		1b	Vz
		2 2a	W
		2b	WX
		3 3a	
		3b	
		3c	
		4	Sh. saigonensis, Sh. rio
		4a	103 (Boydii)
		4b	Lentz Yz
		5	P119 (Bordii) Newcastle Bac.
6	88 (Boydii) Manchester Bac.		
X 变种	X		
Y 变种	Y Miss—Russell		
C	鲍爱德氏志贺氏菌 (<i>Shigella boydii</i>)	1	170
		2	P 288
		3	D 1
		4	P 274
		5	P 143
		6	D 19
		7	Lavington, Type T.S. etousae
		8	血清型 112
		9	血清型 1296/7
		10	血清型 430
		11	血清型 34
		12	血清型 123
		13	血清型 425
		14	血清型 2770—51
		15	血清型 703
D	宋内氏志贺氏菌 (<i>Shigella sonnei</i>)		Sonnei—Duval Bac. Ceylenensis A. Kruse E型