

食品衛生細菌檢驗

天津市衛生防疫站

1972年

目 录

病原性球菌.....	1
葡萄球菌 (Staphylococcus)	1
链球菌 (Streptococcus)	6
肠道杆菌.....	6
致病性大肠杆菌.....	13
变形杆菌属 (Proteus)	16
沙门氏菌属 (Salmonella)	19
志贺氏菌属 (Shigella).....	25
致病性嗜盐菌.....	34
厌氧性芽胞杆菌.....	39
韦氏杆菌 (CL welchii).....	40
肉毒杆菌 (CL botulinum)	46
人畜共患传染病菌.....	49
炭疽杆菌 (Bac ₁ anthracis)	49
布鲁氏杆菌 (Brucella)	55
出血性败血病杆菌 (Hemorrhagic Septisemia)	59
猪丹毒杆菌 (Swine Erysipelas).....	62
菌落总数的检验.....	65
大肠杆菌数检验.....	68
镰刀菌属 (Fusarium)	72
拟顶镰刀菌 (F. sporotrichioides)	72
玫瑰色谷类镰刀菌 (F. Graruneorum roseum)	75
植物麦角菌 (Clariccps purpurca)	79
食品卫生细菌学检验.....	83

食物中毒细菌学检验.....	93
附件一：有关培养基的制造.....	95
附件二：常用染色液的配制与染色法	120
附件三：沙门氏菌型抗原构造与生化反应	126

病 原 性 球 菌

对人类致病的球菌有多种，根据其对革兰氏染色的特性，可分为下列两群：

革兰氏阳性：如葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌。

革兰氏阴性：如淋球菌、脑膜炎球菌。

革兰氏阳性病原性球菌，存在于自然界及人体中。革兰氏阴性病原性球菌，抵抗力较弱，在自然界不易存活生长，只能存在于人体中，对儿童食品检验意义不大。病原性球菌皆无鞭毛，亦不形成芽胞。

病原性球菌在机体内引起的主要病变是化脓性炎症，因此也称为化脓性球菌。

葡 萄 球 菌

分 布：

葡萄球菌种类很多，在自然界分布很广，有致病的，有不致病的。常存在于尘埃、空气、水及日用物品等处。在人体内常存在于鼻腔、口腔、胃肠道以及皮肤等处，是化脓性球菌中最常见的一种，也是人类化脓感染的主要致病菌。

形态与染色：

葡萄球菌为圆形或卵圆形，直径约0.4—1.2微米，平均约0.8—0.9微米。致病性的一般较非致病性的菌体小，排列亦较为整齐。

葡萄球菌由多个菌体互相堆聚在一起，呈葡萄状，因而称为葡萄球菌。在固体培养基上生长的菌体形态，一般呈典型葡萄状，在脓汁或液体培养基中生长者，常为双球或短链状，因而有时被误认为链球菌。葡萄球菌不产生芽胞，没有鞭毛，一般不产生荚膜，（但Lyons 1937年报告，在3小时肉汤培养物内发现有荚膜，成长后即消失。）易着色，为革兰氏阳性。

培养特性：

葡萄球菌为需氧与兼性厌氧菌，营养要求不高，在普通肉汤与普通琼脂上均生长良好。在培养基内加入血液或葡萄糖生长更为良好。最适宜生长温度为 37°C ， $\text{pH}7.4-7.6$ 。在各种培养基上生长特点如下：

一、普通琼脂平板：培养24小时形成湿润、光滑、圆形而凸起、边缘整齐的菌落，直径一般为1—2毫米，但也可达4—5毫米。菌落初呈不透明的白色，其后因种别不同而产生不同的颜色，按颜色将葡萄球菌分为三种：产生金黄色素的，为金黄色葡萄球菌；产生白色色素的，为白色葡萄球菌；产生柠檬色素的，为柠檬色葡萄球菌。

影响色素产生的条件：

1、室温：例如在 22°C 下色素产生较 37°C 时多。在 37°C 培养后，再放室温1—2天产生色素更为显著。

2、培养基中含有碳水化合物、血清等，色素产生多。

3、液体培养基中，色素形成不显著。

葡萄球菌的色素属于脂溶性色素，不溶于水，只溶于有机溶剂中，因此在固体培养基上，色素只限于菌落内，不渗透到周围培养基中，产生色素的菌株，经长期人工培养后，色素产生的能力可消失。

二、血琼脂平板：18—24小时培养物，生长菌落较大，有的菌株菌落周围形成完全透明的溶血环，也有不溶血者，溶血与否与菌株致病性有关系，溶血菌株多具有致病性。

三、肉汤培养：在肉汤培养基内生长迅速，经24小时孵育后，均匀混浊，管底稍有沉淀，轻轻振摇，沉淀物即上升，并极易消散，此与链球菌在肉汤内呈颗粒沉淀的生长情况不同。

生化反应：

葡萄球菌的生化反应不一致，大多数能分解葡萄糖、乳糖、蔗糖等，不产生胨基质，能使硝酸盐还原成亚硝酸盐，能还原石蕊、美兰等染料。有致病性的葡萄球菌一般分解能力较强。除去能分解上述各种糖类外，还能分解甘露醇，液化明胶，据日本户田1951年报告，对小白鼠具有毒性的143株葡萄球菌中，有138株（92%）能分解甘露醇，对小白鼠无毒性的246株中，甘露醇分解全部阴性。有些学者认为，能液化明胶者大多具致病力，但有些学者反对这种意见，须在今后继续研究。

抵抗力:

葡萄球菌在所有无芽胞的细菌中抵抗力最强。在干燥状态下,如附着于纸、衣服或脓液中,可生存数月。对热的抵抗力亦比较强,经80℃ 30分钟可致死。但对化学药品甚敏感,在1%石炭酸或昇汞中经10—15分钟即死亡,在1:200万的龙胆紫溶液中,可抑制其生长。对青霉素、金霉素、土霉素,高度敏感,对链霉素中度敏感,对氯霉素敏感性较差。目前由于临床上广泛使用抗菌素治疗各种疾病,因此获得性抗药菌株越来越多。对青霉素产生抗药的菌株,但对某些中药仍很敏感,有人试验,160株抗药菌株对30%黄连素浸液均甚敏感。

毒素与酶:

致病性葡萄球菌能产生多种毒素与酶,和致病性有一定的关系。

1、血浆凝固酶:致病性葡萄球菌能产生血浆凝固酶,能使含柠檬酸钠或草酸钠的人及家兔血浆凝固,故常用以与非致病性菌株相鉴别。其作用目前尚不完全明了,有人认为血浆凝固酶是一种类似凝血酶原的物质,它的作用是使菌体周围的血浆蛋白原被凝固成血浆蛋白,附着于菌体表面,因此细菌不易被白血球吞噬,或吞噬后不易被杀死,使细菌得以繁殖,所以在一定程度上有保护细菌作用。另外,由于血浆蛋白被凝固,因此葡萄球菌的感染常常在局部,并且产生浓稠的脓液。

2、溶血素:大多数致病性葡萄球菌均能产生溶血素,在血平板上能溶解红血球,菌落周围形成溶血环。而非致病性葡萄球菌则很少有这种现象。

3、杀白血球素:大多数致病性葡萄球菌,可产生此毒素,它能破坏人或家兔白血球的吞噬作用。

4、肠毒素:有不少葡萄球菌,在含蛋白质或碳水化合物的食品上繁殖很快,产生肠毒素。

影响葡萄球菌产生肠毒素的因素:

(1)食物必须适合葡萄球菌生长,并且是产生肠毒素的良好培养基。肝脏食物、鲜鱼不适于毒素的产生。腌肉、牛乳、鸡蛋,适于葡萄球菌的生长及肠毒素产生,含有淀粉的食物,亦适于肠毒素的产生。

(2)适宜的温度:肠毒素的产生必须先有该菌生长,在37℃只需12小时便有肠毒

产生，18℃需三天，但4—6.7℃，虽经4周亦不产生肠毒素。

（3）其他因素：食盐在腌肉中，能抑制带芽胞及非芽胞杆菌的食盐浓度，并不能抑制葡萄球菌生长，含5—10%食盐的鸡蛋，仍适于葡萄球菌生长。糖类不能抑制葡萄球菌生长。

（4）肠毒素的抵抗力：肠毒素贮存在冰箱内，虽经6—7天不失去毒力，煮沸30分钟仍有毒性，但经长时间煮沸及高压后，其毒力即逐渐消失。

5、皮肤坏死毒素：有几种葡萄球菌株能产生这种毒素。此毒素如接种到家兔皮内，经1—3日皮肤出现坏死。

致病力：

葡萄球菌虽在自然界中分布很广，但大多数无致病力。致病性葡萄球菌以金黄色葡萄球菌较多，具有产生酶与毒素的能力。但也与人体抵抗力有一定的关系，如感冒、糖尿病病人，因机体抵抗力下降，易于致病。

致病性葡萄球菌引起疾病如下：

1、婴儿疾患：婴儿抵抗力低，所以葡萄球菌感染是一个很重要的问题，如新生儿天疱疮、脓疱病，以及麻疹与流行性感音继发感染肺炎、支气管肺炎等。

2、皮肤伤口感染：是本菌最常引起的疾病，如疔、毛囊炎、脓疱等，这是由于葡萄球菌自损伤的皮肤处侵入毛囊或者皮脂腺内的关系，严重感染可以导致败血症与脓血症。

3、食物中毒：致病性葡萄球菌能引起食物中毒，由肠毒素所致。通常人食用被污染并产生足量肠毒素的食物后，1—6小时出现症状为恶心、呕吐、腹泻、腹痛、虚脱、初期常有发热、头痛、晕眩，但也有体温降低者。多数病例症状消失较快，少数病例可延至数日之久。

4、败血症及脓血症：当患者身体抵抗力极度降低时，细菌则由局部病灶进入血流，而引起败血症或脓血症，并可以使身体其它部发生脓肿。

检 验 方 法

一、增菌培养：根据检验样品的特点，经过必要的处理（如取样、消毒、研磨等）后，接种于0.5%葡萄糖肉汤中，于37℃孵育24小时，转种于血平皿进行分离。

二、直接分离培养：将处理过的样品或其他检验材料，用白金耳以划线的方法直接种

于血琼脂平皿，37°C孵育24小时后，取出观察菌落特点，致病性葡萄球菌菌落为圆形、凸起、直径1~2毫米、不透明、边缘整齐、能产生金黄色素、在菌落周围有透明的溶血环。

将可疑菌落涂片做革兰氏染色，镜检。如为革兰氏阳性，呈葡萄状排列的球菌，再将此菌落转种于肉汤中以及血琼脂斜面上，37°C孵育24小时后，得纯培养，进行鉴定。

三、鉴定：

（1）血浆凝固酶试验：

玻片法：用无菌毛吸管或滴管（用白金耳也可）取兔血浆置于清洁玻璃片上，然后用白金耳挑取纯培养物与兔血浆混合，如出现块状或颗粒状凝固即为阳性，同时用肉汤作阴性对照试验。

试管法：取0.25毫升兔血浆，加0.25毫升生理盐水混合，刮取24小时葡萄球菌的培养物，接种入血浆管内混合。另一管按上述方法制备的血浆盐水混合液，不加葡萄球菌的培养物作对照。然后将两管均放入37°C水浴箱内（或37°C孵箱），每隔半小时观察一次，有毒菌株一般在2—6小时便能使血浆凝固，如24小时仍不凝固者为阴性。

（2）甘露醇发酵试验：

取纯培养物，接种于甘露醇发酵管内，37°C孵育24小时，观察其是否产酸（紫色→黄色）。致病性葡萄球菌甘露醇发酵阳性。

（3）皮肤坏死毒素试验：

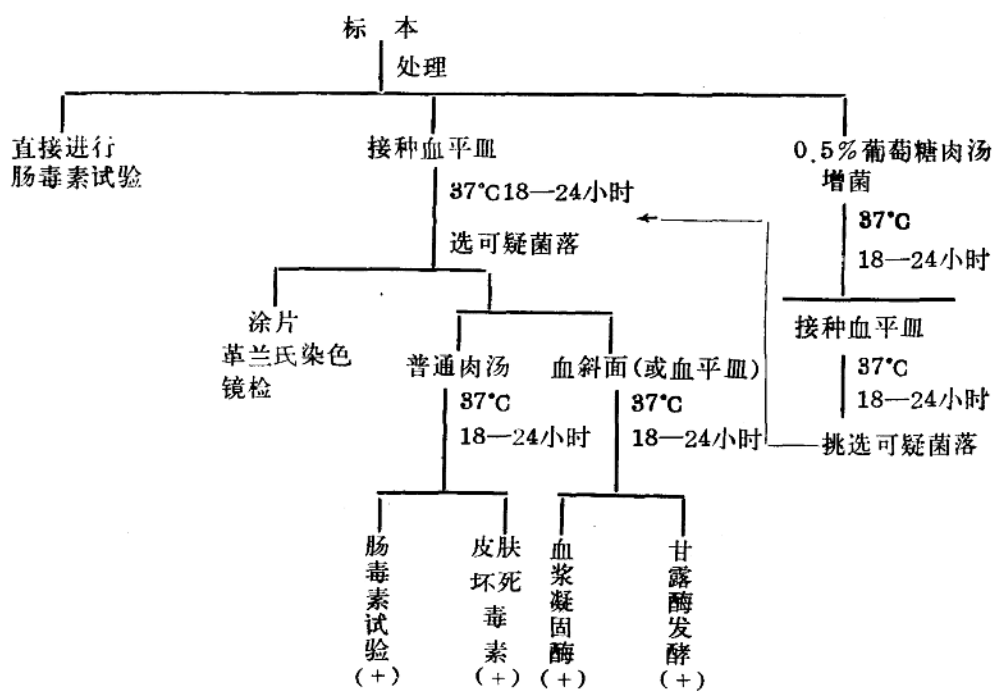
取18—24小时肉汤纯培养物0.5—1毫升，注射于小白鼠背部皮内（背部需先进行脱毛），24—48小时后观察注射部位皮肤反应。致病性葡萄球菌可使皮肤坏死，非致病性葡萄球菌无反应。

（4）肠毒素试验：

吸取葡萄球菌24小时肉汤培养物（或者样品的肉汤培养物）约0.5毫升，用弯玻璃棒将肉汤培养物铺匀在0.7%琼脂平皿或者杜尔曼琼脂平皿表面，然后将平皿置入密闭的含10% CO₂缸内，37°C培养72小时后，将平皿取出加入10毫升生理盐水，用玻璃棒将琼脂捣碎，呈糜粥样，在室温静置2小时后，3000转/分离心1小时，取出上清液，在沸水浴内加热半小时，灭菌。同时破坏不耐热毒素。然后吸取5毫升注射于3个月至6个月的乳猫腹腔内。

如果接种的样品内含有葡萄球菌肠毒素，试验乳猫在30分钟—60分钟内发生呕吐和腹泻，甚至虚脱等症状。

檢 驗 程 序



鏈 球 菌

分 布

链球菌是化脓性球菌的一大族，广泛存在于自然界中，如在健康人的鼻咽部、人与畜的粪便中，以及牛乳、水等处。

因其所致的疾病甚多，所以在传染病中占很重要的位置。

形态与染色：

菌体为球形或卵圆形，直径约0.5—1微米，菌体紧紧相联成链状，故得此名。链的长短因菌种不同而不同，与培养条件亦有关系，在液体培养基中形成的链长，在固体培养基

中形成的链则比较短，链球菌不产生荚膜，无鞭毛，无芽胞，革兰氏染色阳性。

培养特性：

营养要求较高，在普通平板上生长极差，培养基内必须含有血液、血清或者腹水，如果在培养基内加入0.5%葡萄糖，则可促进细菌的发育。多数为需氧菌或兼性厌氧菌，但也有少数菌株为厌氧菌，最适宜温度37℃，PH7.4~7.6。

在不同培养基上生长情况如下：

一、血琼脂平板：37℃培养24小时后，形成灰白色、半透明或不透明、表面光滑、微凸起、细小的菌落，在菌落的周围可形成不同程度的溶血环，根据其其对红血球的溶血现象，可将链球菌分成三类：

（一）甲型溶血性链球菌（ α 型），在菌落周围有不完全溶血的较窄的草绿色的溶血环，因此又名绿色溶血性链球菌。如果用低倍显微镜观察此溶血环时，仍可看到红血球的存在。草绿色环发生的原因，目前不完全清楚，有些学者认为与它产生的过氧化物有关系，可能是高铁血红素氧化的产物。致病力较弱。当机体抵抗力弱时，能引起继发感染。为食物中毒的条件性致病菌。

（二）乙型溶血性链球菌（ β 型），此菌能产生强烈的溶血素，因此在菌落周围有较宽的、完全的、透明的溶血环，因此又称之谓溶血性链球菌，这个溶血环在显微镜下，看不见红血球的存在，此菌致病力颇强，可致丹毒、猩红热等症。

（三）丙型链球菌（ γ 型），此菌为不溶血性链球菌，没有溶血作用，在菌落周围无溶血环，这型细菌一般没有致病力，通常来自粪便，在乳及乳制品中亦可发现。

二、在液体培养基内生长情况：在培养基内必须加入血清、腹水或者葡萄糖后，方能迅速生长，生长时产生颗粒状沉淀，液体多为清亮透明，可与肺炎球菌相区别。

生化反应：

链球菌能发酵简单的糖类、产酸不产气，但不能发酵菊糖，不能被胆汁与胆盐溶解，区别于肺炎球菌。

抵抗力：

此菌的抵抗力较葡萄球菌为弱，60℃30分钟即能被杀死，为此常常用巴氏消毒法消毒牛乳、对化学药品如磺胺及青霉素均很敏感。

毒素与酶:

一、红斑毒素: Dick (狄克) 氏等在1924、1925研究猩红热病因时发现的一种外毒素, 因此又称为狄克氏毒素, 是一种可溶性的耐热性毒素, (60°C数小时, 100°C1小时), 多数溶血性链球菌均能产生此毒素, 如将此毒素注入易感人的皮肤, 能使皮肤血管扩张, 根据注射量的大小而引起局部皮肤出现红斑, 甚至发生全身性皮炎, 这是猩红热及其他链球菌感染时出现红斑的原因, 此毒素具有抗原性, 能被相对应的抗毒素所中和。

二、溶血素: 链球菌的溶血作用即由此毒素而引起的。

三、溶纤维蛋白酶: 此酶能溶解人的纤维蛋白, 当链球菌从破伤口侵入后, 组织的最先反应是形成血块, 阻止细菌的扩散。但是纤维蛋白酶能溶解人的纤维蛋白, 从而破坏了血块的形成, 使细菌扩散, 所以用此酶来测定细菌的致病性。

四、透明质酸酶: 可以分解组织, 特别是结缔组织的透明质酸, 给细菌的扩散开辟了道路。

致病性:

致病性链球菌主要来源是人的上呼吸道, 所以飞沫传染是此菌的主要传播方式, 另方面通过手指及用具等接触感染也很重要。人类对于链球菌传染很敏感, 因此所引起的疾病范围也很广泛, 例举如下:

一、在食物上污染了甲型 (A型) 链球菌常可造成食物中毒, 潜伏期为 5—18小时, 症状为恶心、腹痛、腹泻、有时呕吐, 但在24小时多可恢复。

二、皮肤感染: 由皮肤损伤而引起的感染, 有伤口化脓、蜂窝组织炎、丹毒等。

三、呼吸道感染:

猩红热: 主要感染对象为儿童, 多流行于冬春两季, 细菌由呼吸道侵入后, 首先引起咽喉炎, 发高烧, 全身出现红疹, 杨梅舌 (舌乳头红肿)。另外有急性咽峡炎, 急慢性扁桃腺炎以及感冒、百日咳、麻疹等症的继发感染, 肺炎, 支气管性肺炎。

检 验 方 法

一、增菌培养: 将处理过的样品及其他被检材料直接种到5%血清肉汤或0.5%葡萄糖肉汤内, 37°C24小时后即出现颗粒状沉淀生长, 转种血平皿。

二、直接分离培养：将处理过的样品及其他被检材料用划线方法接种到血平皿上，37℃24小时（或48小时）后取出，菌落呈圆形、细小、凸起、灰白呈乳光、湿润、透明状如小水滴（但亦有粘液型与干燥型），菌落周围有不同程度溶血环，选可疑菌落转血斜面与血清肉汤。

甲型（ α 型）：在菌落周围有草绿色溶血环。

乙型（ β 型）：在菌落周围有透明溶血环。

丙型（ γ 型）：在菌落周围没有溶血环。

根据溶血情况进行鉴定：

三、鉴定：

（一）溶血试验：采用试管法，取2支小试管，各加入2%羊血球0.5毫升，然后于其中一管内加入乙型溶血性链球菌肉汤培养物0.5毫升，另一支管内加入生理盐水0.5毫升为阴性对照，将两管均放37℃水浴内2小时，取出观察结果，如羊血球完全被溶解为阳性（此试验一般不做，只根据血平板溶血情况）。

（二）溶纤维蛋白试验：

取人的血浆（或兔血浆）0.2毫升放入无菌小试管内，加入乙型溶血性链球菌24小时肉汤培养物0.5毫升，再加入生理盐水0.8毫升以及0.25%氯化钙0.25毫升，混合后放入37℃水浴内，先血浆出现凝固，继而逐渐开始溶化，约30—60分钟将血浆完全溶化为阳性。

（三）甲型（ α 型）溶血性链球菌与肺炎球菌的鉴别：

（1）肉汤管内生长情况：

肺炎球菌：呈均匀混浊生长。

甲链：呈颗粒状沉淀生长。

（2）菊糖发酵试验：

肺炎球菌：发酵。

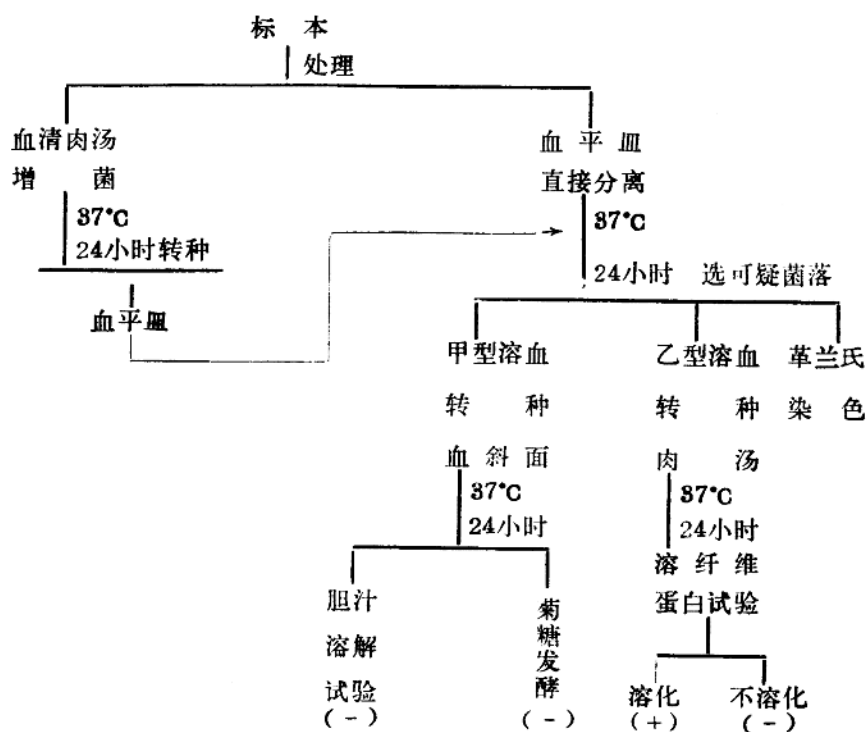
甲链：不发酵。

（3）胆汁溶解试验：

肺炎球菌：+

甲链：-

檢 驗 程 序



肠道杆菌

肠道杆菌是一大群革兰氏阴性无芽胞的杆菌，主要寄居在人和动物的肠道内，从宿主摄取营养而繁殖，并随粪便排出体外。对不侵害人体、不具有致病力者称肠道非致病菌，但是在一定的条件下，仍能引起某些疾病，则称为条件性致病菌。另外有些能引起人的疾病如伤寒杆菌、付伤寒杆菌、痢疾杆菌等，称肠道致病菌。

这群细菌对营养要求不高，为需氧或兼性厌氧菌。有的具有鞭毛有动力，有的没有鞭毛不能运动，有的产生荚膜，有的无荚膜。为两端钝圆的短杆菌。生长适宜的温度为37℃，PH6.8—7.8之间。能分解多种碳水化合物，产酸或产酸产气。一般而言，生化分解能力强的则致病力弱，生化分解能力弱则致病力强。它们的抗原构造很复杂。

根据生化反应，抗原构造和致病力可分成四大类：

一、大肠菌类：

包括大肠杆菌，付大肠杆菌，产气杆菌，阴沟菌等。它们绝大多数能分解乳糖，产酸或产酸产气，为肠道中的正常寄生菌丛。

二、变形桿菌属：

包括普通变形杆菌，奇异变形杆菌，雷极氏变形杆菌，摩根氏变形杆菌。为腐物寄生菌，广泛分布于自然界中，肠道内也有分布。致病力弱。不发酵乳糖，能分解尿素，运动活泼。

三、沙門氏菌属：

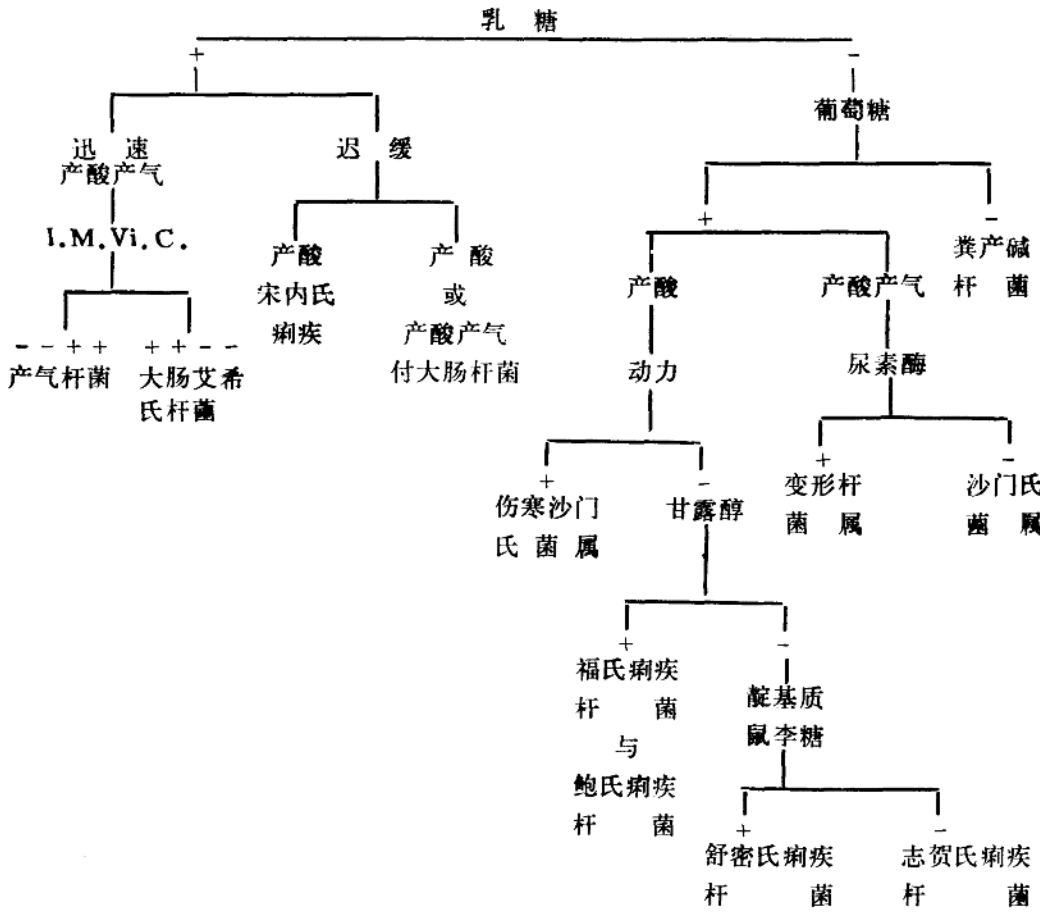
包括伤寒，付伤寒和一部分食物中毒的病原菌，到目前已发现有300余种。能引起人、动物、家禽的疾病。不发酵乳糖，有动力。

四、志賀氏桿菌属：

包括志贺氏痢疾杆菌，舒密氏痢疾杆菌，鲍氏痢疾杆菌，宋内氏痢疾杆菌。能引起细菌性痢疾，多不发酵乳糖，不能运动。

肠道杆菌各菌在形态，生化反应，抗原构造以及致病性上都有相当的关联，但同时又各有特性，根据这些特性而被应用于对各菌的鉴别诊断。按生化反应不同可将各菌区分如下表：

腸道杆菌的生化反应



另外，又根据抗原构造的不同，可用凝集反应，以标准诊断血清来鉴别细菌，或者用标准菌液来检查病人血清中的特异抗体。

此外，在自然界或人体中经常发现某些非典型的菌株，这可认为是一种变异。

致病性大肠杆菌

分布:

大肠杆菌主要寄生于人和动物的肠道中,是人和动物肠道内的正常菌丛,随粪便排出而分布于自然界中。在人体肠道中一般对人无害,如侵入人体的其他部位,就可能引起感染,因此也属于条件性致病菌。

近年来,发现某些血清型的大肠杆菌可引起食物中毒与婴儿腹泻及肠胃炎,因此在称呼上又将大肠杆菌分为普通大肠杆菌与致病性大肠杆菌。

目前已经发现的致病性大肠杆菌有以下血清型:

O₁₁、O₂₅、O₂₆、O₄₄、O₅₅、O₇₅、O₈₆、O₁₀₂、O₁₁₁、O₁₁₄、O₁₁₉、O₁₂₄、O₁₂₅、O₁₂₆、O₁₂₇、O₁₂₈,其中以O₁₁₁致病力最强。

致病性大肠杆菌能引起食物中毒以及婴儿腹泻和肠胃炎。

形态与染色:

为革兰氏阴性,无芽胞,有周鞭毛,有动力的短杆菌。

培养与生化特性:

对营养要求简单,在普通肉汤琼脂上生长良好,培养物具有粪臭味。在37°C培养24小时后,菌落直径约2—3毫米,光滑,湿润,稍不透明,边缘整齐,中间稍凸起,在血琼脂平皿上有的菌株可产生乙型溶血现象,在肉汤培养基内呈均匀混浊,一般不形成菌膜。

能发酵葡萄糖、麦芽糖、甘露醇等多种糖类,产酸产气。能分解乳糖,是它与其他肠道致病菌的不同之处,所以在肠道菌的鉴别培养基内均含有乳糖和指示剂,因大肠杆菌的生长而分解乳糖产酸,使指示剂出现颜色,因此菌落带有颜色,借以与致病菌相区别。靛基质、甲基红反应阳性,V.P反应阴性,不能利用枸橼酸盐,不液化明胶。致病性大肠杆菌有90%以上能发酵山梨醇。

抵抗力:

大肠杆菌的抵抗力较强，培养物在室温中能生存数星期，在水与土壤中可活数月，加热60°C，30分钟即可杀死。

检 验 方 法

一、增菌培养：

将样品处理后接种到普通肉汤管内，37°C24小时后呈均匀混浊，转中国兰平皿。

二、直接分离培养：

将样品处理后，直接接种到中国兰平皿上，37°C24小时后，挑选边缘整齐、光滑、兰色中间带有深兰色核心的菌落5个与O B 1、2、3组多价血清分别做玻片凝集试验，如呈现强阳性凝集，再以生理盐水作对照试验，观察有无自凝现象。然后将剩余的菌落（3—5个）接种到双糖铁培养基上，于37°C18—24小时后，观察双糖铁琼脂培养基发酵情况，如符合肠道致病性大肠杆菌的特征，即分解葡萄糖，乳糖，产酸产气，有动力（少数菌无动力），再进一步做全面生化反应与血清学鉴定。

三、血清学检验：

将上述双糖铁培养物再与多价O B血清做玻片凝集试验，如阳性再以多价血清所包含的单价O B血清作玻片凝集试验，仍呈阳性时，再进一步做试管凝集试验。

方法：取0.5毫升生理盐水管一支，从双糖铁培养基上刮取菌苔制成浓厚菌液，置100°C水浴中处理30分钟后破坏K抗原，冷却后用此菌悬液再与单价O B血清或相应的单价O血清作玻片凝集反应，如仍为阳性，将此菌悬液稀释成10亿/毫升按肥达氏反应方法与O血清做试管凝集反应，如果凝集效价达到原血清效价1/2（或者1：320以上），同时生化反应符合者，即可定型。

四、生化反应：

取双糖铁培养基上的培养物接种葡萄糖，乳糖、蔗糖、硫化氢以及尿素培养基，并做靛基质、甲基红、V.P、西蒙氏枸橼酸盐以及氯化钾试验。