

052265

卫生防疫微生物学检验

第 3 册

培养基制造部份

湖南省卫生防疫站编

1 9 7 5

第三册 培养基制造

前 言

伟大的无产阶级文化大革命，促进了我国工农业生产的新跃进。随着社会主义革命和建设事业的发展，我省各级卫生防疫机构正逐步得到了调整、充实和提高，新的形势对卫生防疫工作提出了新的任务和要求。

为贯彻毛主席“预防为主”、“把医疗卫生工作的重点放到农村去”的指示，积极配合防病治病，卫生管理和科学研究的需要，进一步提高我省卫生防疫检验工作质量，更好地为工农兵服务，为无产阶级政治服务，特编写了这本《卫生防疫微生物学检验》并分册印发，以供我省卫生防疫检验人员学习参考。

本册汇集了卫生防疫微生物检验工作中常用的培养基，除介绍培养基制造中一些基本知识和技术外，重点介绍了培养基的制造方法。为了查阅方便，在编写顺序上依据我省实用经验分为基础培养基、特殊培养基、生化试验用培养基、专用培养基和卫生细菌学检验用培养基等五章，在培养基的成份和试验方法方面也作了必要的修改和补充。由于我们路线斗争觉悟不高，业务水平和实践经验所限，加之编写时间仓促，难免存在错误和缺点，希望同志们在使用中提出宝贵意见。

一九七四年六月

目 录

第一章	培养基概述	(1)
第二章	培养基制备注意事项	(4)
第三章	常用指示剂及其配制	(6)
第四章	标准比色管的制备及使用	(9)
第五章	基础培养基	(13)
1.	牛肉浸液	(13)
2.	牛肉(牛心)消化液	(14)
3.	血消化液	(15)
4.	胎盘消化液	(15)
6.	肉膏汤	(16)
6.	普通营养琼脂培养基	(17)
7.	普通半固体培养基	(17)
第六章	特殊培养基	(19)
8.	血肉汤	(19)
9.	血清肉汤	(19)
10.	血清半固体	(20)
11.	血琼脂培养基	(20)
12.	巧克力血琼脂培养基	(21)
13.	凝固血清斜面培养基	(21)
14.	鸡蛋斜面培养基	(22)
15.	淀粉斜面琼脂培养基	(23)

16. 游散琼脂.....	(23)
17. 药物抗菌筛选琼脂培养基.....	(25)
第七章 生化试验用培养基.....	
糖发酵反应试验用培养基.....	(26)
18. 双糖含铁半固体.....	(26)
19. 双糖含铁尿素半固体.....	(28)
20. 三糖含铁半固体.....	(29)
21. 蔗糖琼脂复合培养基.....	(30)
22. 普通糖发酵管.....	(31)
附：氧化型发酵用糖发酵管.....	(35)
厌氧菌发酵用糖发酵管.....	(35)
嗜盐菌发酵用糖发酵管.....	(35)
23. 氧化型——发酵型测定培养基.....	(35)
24. 血清糖发酵管.....	(36)
25. 5%乳糖发酵管.....	(37)
26. 布鲁氏菌用糖发酵管.....	(38)
27. 葡萄糖磷酸盐蛋白胨水 (MR及VP试验)	(38)
28. 甘油品红肉汤.....	(39)
有机酸及铵盐利用试验用培养基	
29. 有机酸盐培养基.....	(40)
30. 丙二酸钠 (缩苹果酸钠) 培养基.....	(40)
31. 马尿酸钠肉汤培养基.....	(41)
32. 西蒙氏 (Simmons) 枸橼酸盐培养基.....	(42)
33. 改良枸橼酸盐培养基.....	(43)
34. 葡萄糖铵培养基.....	(43)
蛋白质代谢试验用培养基	

35. 蛋白胨水 (胨基质、霍乱红试验用) (45)
 附: 嗜盐菌用蛋白胨水
 厌氧菌用蛋白胨水
36. 醋酸铅培养基 (46)
 附: 厌氧菌用醋酸铅培养基
37. 尿素培养基 (46)
38. 明胶培养基 (47)
 附: 厌氧菌用明胶培养基
39. 苯丙氨酸琼脂培养基 (48)
40. 氨基酸脱羧酶试验培养基 (49)

呼吸酶试验用

41. 硝酸盐培养基 (49)
 附: 厌氧菌用硝酸盐培养基
42. 氰化钾培养基 (50)
 牛乳培养基
43. 石蕊牛乳培养基 (51)
44. 铁石蕊牛乳培养基 (53)

第八章 专用培养基 (54)

肠杆菌科用

45. 革兰氏阴性杆菌增菌培养基 (G·N·增菌液)
 (54)
46. 亚硒酸盐肉汤 (S·F·增菌液) (55)
47. 浓十倍亚硒酸盐肉汤 (56)
48. 氯化镁孔雀绿培养基 (M·M肉汤) (57)
49. 胆盐葡萄糖肉汤 (58)
50. 改良四硫磺酸钠液体培养基 (T·T增菌液) (58)

51. 浓蛋白胨煌绿培养基..... (59)
52. 中国兰蔷薇酸琼脂培养基 (C·B·R琼脂) (60)
53. 远藤氏 (Endo) 琼脂培养基..... (61)
54. 麦康盖氏 (MacConkey) 琼脂培养基..... (62)
55. 伊红美兰琼脂培养基 (E·M·B琼脂) (63)
56. 沙门氏志贺氏琼脂培养基 (S·S) (63)

霍乱弧菌用

57. 硷性蛋白胨水 (A·P) (65)
附: 浓缩十倍硷性蛋白胨水
58. 硷性琼脂培养基 (A·A) (66)
59. 阿罗逊氏 (Aronson) 培养基..... (67)

嗜盐菌用

60. 嗜盐菌增菌培养基..... (67)
61. 嗜盐菌选择琼脂培养基..... (68)
62. B.T.B蔗糖琼脂平皿..... (69)
63. 3.5%、7%、10%氯化钠蛋白胨水 (69)
64. 3.5%氯化钠半固体..... (70)
65. 无盐蛋白胨水..... (70)

病原球菌用

66. 三氯化钠血液琼脂培养基..... (70)
67. 硼酸血琼脂培养基..... (71)
68. 契白曼 (Chapman) 培养基..... (71)
69. 6.5%、7.5%氯化钠肉汤..... (72)
70. pH9.6葡萄糖肉汤..... (73)
71. 40%、10%胆汁肉汤..... (73)
72. 0.1% 美兰牛乳培养基..... (73)

73. 杜尔曼 (Dolman) 培养基	(74)
脑膜炎球菌用	
74. 卵黄双抗培养基 (E·P·V琼脂)	(75)
白喉杆菌用	
75. 亚碲酸钾血琼脂培养基 (K·T)	(76)
布鲁氏菌用	
76. 肝浸液培养基	(76)
77. 肝浸液琼脂培养基	(77)
78. 胰蛋白胍葡萄糖培养基	(77)
79. 硫堇肝浸液琼脂培养基	(78)
80. 硷性复红肝浸液琼脂培养基	(78)
鼠疫杆菌用	
81. 亚硫酸钠琼脂培养基	(79)
82. 溶解血琼脂培养基	(79)
83. 无蛋白陈酸性琼脂培养基(具索洛娃培养基)	(80)
84. 3%氯化钠血琼脂培养基	(80)
炭疽杆菌用	
85. 青霉素琼脂培养基炭疽杆菌串珠试验	(81)
结核杆菌用	
86. 罗氏 (Lowenstein) 培养基	(81)
87. 潘氏 (Petraghani) 培养基	(82)
88. 苏通氏 (sauton) 培养基	(83)
厌氧菌用	
89. 硫乙醇酸钠肉汤	(84)
90. 庖肉培养基	(85)
91. 葡萄糖淀粉庖肉培养基	(86)

92. 刺激芽胞培养基	(86)
-------------	------

钩端螺旋体用

93. 柯索夫氏 (Korthof) 培养基	(87)
------------------------	------

94. 磷酸盐缓冲液培养基	(88)
---------------	------

95. 钩端螺旋体用半固体培养基	(88)
------------------	------

霉菌用

96. 大米培养基	(89)
-----------	------

97. 马铃薯培养基	(89)
------------	------

98. 马铃薯葡萄糖培养基	(89)
---------------	------

99. 查别克氏 (Czapek) 培养基	(90)
-----------------------	------

100. 沙保弱氏 (Sabouraud) 培养基	(90)
---------------------------	------

第九章 卫生细菌学检验用培养基

101. 葡萄糖蛋白胨液 (艾克曼培养基)	(91)
-----------------------	------

102. 克斯列尔氏培养基	(92)
---------------	------

103. 中国兰蔷薇酸培养基 (C·B·R 液体)	(92)
---------------------------	------

104. 麦康盖 (MacConkey) 液体培养基	(93)
----------------------------	------

105. 乳糖胆盐液体培养基 (L·B)	(93)
----------------------	------

106. 胆汁煌绿乳糖发酵管 (B·G·L·B)	(94)
--------------------------	------

107. 龙胆紫 (或洗衣粉) 乳糖发酵管	(95)
-----------------------	------

108. 亚硫酸铁培养基	(96)
--------------	------

109. 30% 胆汁乳糖肉汤	(96)
-----------------	------

附录: 1. 胆盐制备法	(97)
--------------	------

2. 琼脂回收	(100)
---------	-------

第一章 培养基概述

培养基是用人工的方法，按照各种微生物的生长需要，选择不同的原料和通过不同制造程序而配制的人工营养料，它一般含有被微生物利用的氮源、碳源及无机盐类等，培养基主要用于细菌的繁殖、分离鉴定、细菌研究和菌苗制造。培养基依据物态分为固体、半固体及液体培养基三种。根据其作用可分基础、选择、鉴别和特殊培养基四类。其基本组成如下：

(1) 水：所有微生物生长都需要水份，有了水份微生物才能进行胞内外物质交流、体内反应和新陈代谢。蒸馏水不含杂质，比其他的水好，特别是制备合成培养基时，必须用蒸馏水。如无蒸馏水，可用自来水、井水或河水代替，自来水、井水、河水中因含有钙和镁盐，可与蛋白胨或牛肉浸液中的磷酸盐起作用，生成不溶解性的磷酸钙或磷酸镁，加热后会出现很多的沉淀，应煮沸使盐类沉淀，过滤后再用。

(2) 蛋白胨：蛋白质在水解过程中生成的许多中间产物如胨、胨、肽和氨基酸，其中氨基酸和蛋白胨为大多数细菌所利用。蛋白胨的主要用途是供给细菌所需要的氮源。蛋白胨的特点为：易溶于水，受高热而不凝固，能直接被细菌利

用。为两性化合物，具有缓冲作用。在制备培养基时，根据需要对蛋白胨要加以适当选择，如作氮基质时，最好是含色氨酸较多的蛋白胨，有的微生物生长与蛋白胨的牌号有关，故在进行生化及培养时，必要时采用已知菌株进行预试，合格后再大量使用。

(3) 肉浸液：用新鲜牛肉，去脂肪、肌膜及肌腱，绞碎后加二倍水浸泡一夜，细菌生长所需要的可溶性营养物质即溶于水中。煮沸后，将凝固蛋白除去，过滤后即成肉浸汁

(无牛肉也可用兔肉或胎盘等代替)，肉浸液中的浸出物约占肌肉重量的百分之二，其中包括含氮的和非含氮的两类物质，含氮浸出物包括肌酸、黄嘌呤、次黄嘌呤、尿酸、腺苷酸、次黄嘌呤核苷酸、肌肽、肉毒碱、甘氨酸、脯氨酸、谷氨酰胺、B-丙氨酸等；非含氮浸出物包括肝糖、磷酸己糖、乳酸、琥珀酸、肌醇、脂肪、无机盐等。

(4) 牛肉膏：系将肉浸液经70℃真空蒸发而制成，肉汤内原有的糖类，动物蛋白及其他不耐热的营养物质在制作过程中因受热力作用而破坏，故营养价值略逊于肉浸液。

(5) 无机盐类：一般在培养基中加入一定量的钠、钾、镁、氯化物、硫酸盐、磷酸盐等，其主要作用维持细菌细胞内的适当胶体状态及渗透压，有缓冲作用，维持培养液内酸碱度平衡，参于细菌新陈代谢，作为细菌酶的一部分或为酶反应的促进者。

(6) 碳水化合物：通常在培养基中加入糖类、醇类等。碳水化合物，其作用供给热能及碳源，促进细菌生长。不同细菌利用糖发酵反应不同，用以鉴定细菌。

(7) 琼脂：是从海藻类提取的胶浆物质，是一种复合

多糖类，多数细菌不利用，故常用作细菌培养基的赋形物质。琼脂的凝固力随温度的变化而不同，而每批琼脂的凝固力也有差异，一般在液体培养基中加入1.5—3.0%的琼脂，即成固体培养基，加入0.3—0.5%的琼脂，即成半固体培养基，夏季所需琼脂浓度较高，冬季可适当降低。

(8) 血液或体液：血液、血清或腹水中含有大量蛋白质和生长因素，有利于营养要求较高的细菌，如：肺炎球菌、脑膜炎球菌等的生长繁殖。

(9) 选择性抑菌剂：根据培养微生物生理特点及实验要求，于培养基中加入某些化学药物，能选择性地抑制某些杂菌的生长，以利于病原菌的生长和分离。如：胆盐、蔷薇酸、亚硫酸铋、煌绿等能抑制革兰氏阳性菌的生长，故常用于革兰氏阴性杆菌之分离；煌绿、孔雀绿和亚硒酸钠能抑制大肠杆菌，适用于沙门氏菌属的分离；适量的龙胆紫对腐生杂菌有抑制作用，故常用于污水标本分离链球菌及大肠杆菌。

第二章 培养基制备注意事项

一、制备培养基时，所用化学药品，均须是化学纯的，且各种成分的量，必须准确称取。

二、制备和盛置培养基之容器须洁净，不宜用铜或铁器，以免容器微量金属离子妨碍细菌的生长，或影响毒素的产生。

三、培养基的PH，必须准确校正，培养基冷热对PH影响很大，校正时以冷培养基PH为准。酸硷度校准后，需行过滤，除去沉淀，液体培养基要求保持清亮。

四、校正培养基PH时，一般培养基宜稍高，因高压灭菌后，往往约下降0.2；而消化液培养基PH宜稍低，因高压后PH往往升高。

五、在配制培养基时，加热煮沸后所蒸发掉的水份，必须补足。

六、培养基制成后，应立即灭菌，一般培养基置15磅15分钟高压灭菌，糖类置8磅15分钟灭菌，（作营养用之糖类可置15磅灭菌），其他如含血清、蛋白质类等不耐热物质宜低温（70—80℃或100℃）间歇灭菌。灭菌时容器不宜过大，包扎试管时，每扎不宜过多，以免热力不易穿透。

七、灭菌时间不宜过长，否则会使培养基变质，琼脂培养基产生沉淀，PH在4.8以下，还可以破坏琼脂的凝固力。

八、培养基制就灭菌后，应将其置于37℃培养24—48小

时，无细菌生长后始可使用，大批培养基应保存冰箱内待用。

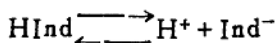
九、培养基一次不宜配制过多，最好及时用完，不宜保存过久，以免影响培养基成份含量，减低营养价值，或污染细菌造成浪费。

十、固体培养基不得在火上直接加热溶解，应隔水煮沸溶解之。

第三章 常用指示剂及其配制

指示剂为有机化合物，多为弱酸，但也偶为弱碱类，在不同酸硷度溶液中有着不同程度的游离，因其电离的阴离子（或阳离子）与未游离之分子颜色不同，故可用作溶液PH值的测定。

溴麝香草酚兰，其离解方式：



(黄色) (黄色)(兰色)

$$K (\text{离解常数}) = \frac{[\text{H}^+][\text{Ind}^-]}{[\text{HInd}]}$$

溴麝香草酚兰的分子呈黄色，阴离子呈兰色，离子与分子浓度相等时呈绿色。其变色方式：

离子多

离子 = 分子

分子多

PH > PK

PH = PK

PH < PK

兰色

绿色

黄色

溴麝香草酚兰的变色范围：PH 6—7.6，PH 6 以下呈黄色，7.6 以上呈兰色，6~7.6 呈不同色调的绿色，故可用以测定培养基中的PH值。

一、常用指示剂的配制：

兹以酚红指示剂之配制为例介绍如下：

(1) 称取酚红末 0.1 克，置于一玻璃研钵中，按下表所示，随研随加所需 0.01N 氢氧化钠溶液，使 0.1 克之酚

红恰可完全转变成为其钠盐，若氢氧化钠用量不足，则酚红很难溶解于水中，过多将影响PH的校正。

(2) 加入蒸馏水，使其总量为 500 毫升，即成 0.02% 酚红水溶液，上法较准确，但不易保存，通常亦可采用下述方法制备：

1. 称取酚红 0.1 克，加入 95% 酒精 210 毫升使溶。

2. 补充蒸馏水使其总量为 500 毫升 (含酒精 60%)，即成 0.02% 酚红酒精溶液。

常用指示剂的配制表

指示剂名称	每 0.1 克指示剂配成 0.01N NaOH 液所需毫升数	如以 60% 酒精配制时指示剂之百分浓度	敏感范围 (PH)	色 改 变 (酸色—硷色)	5 毫升培养基所加指示剂之毫升数
甲 基 红 (Methyl red)	—	0.02	4.4—6.0	红→黄	0.10
溴 甲 酚 紫 (Brom—cresol purple)	18.5	0.04	5.2—6.8	黄→紫	0.25
溴麝香草酚兰 (Brom—thymol blue)	16.0	0.04	6.0—7.6	绿→黄兰	0.25
中 性 红 (Neutrol red)	—	0.02	6.8—8.0	红→黄	0.25
酚 红 (Phenol red)	28.2	0.02	6.8—8.4	黄→红	0.25
麝香草酚兰 (Thymol blue alkaline)	21.5	0.04	8.0—9.6	黄→兰	0.25

二、安氏 (Andrade) 指示剂的配制: 此指示剂在PH 7.2时为无色, 用时每 100毫升培养基加指示剂0.5—1毫升。

(1) 称取酸性复红 0.2克溶于 100毫升蒸馏水中。

(2) 滴加 1 N氢氧化钠约10—17毫升至无色或草黄色为止即成。

三、培养基所用指示剂含量

指示剂名称	浓度	每100毫升培养基中用量(毫升)	色择改变 (硷色→酸色)
安氏指示剂		0.5—1.0	无色→红色
酚 红	0.2%	0.4—1.2	红色→黄色
溴麝香草酚兰	0.2%	0.4—1.2	兰色→黄色
溴甲酚紫	1.6%	0.05—0.1	紫色→黄色
中 性 红	0.1%	0.4—0.8	黄色→红色
酸性复红	0.2%	0.5—1.0	无色→红色