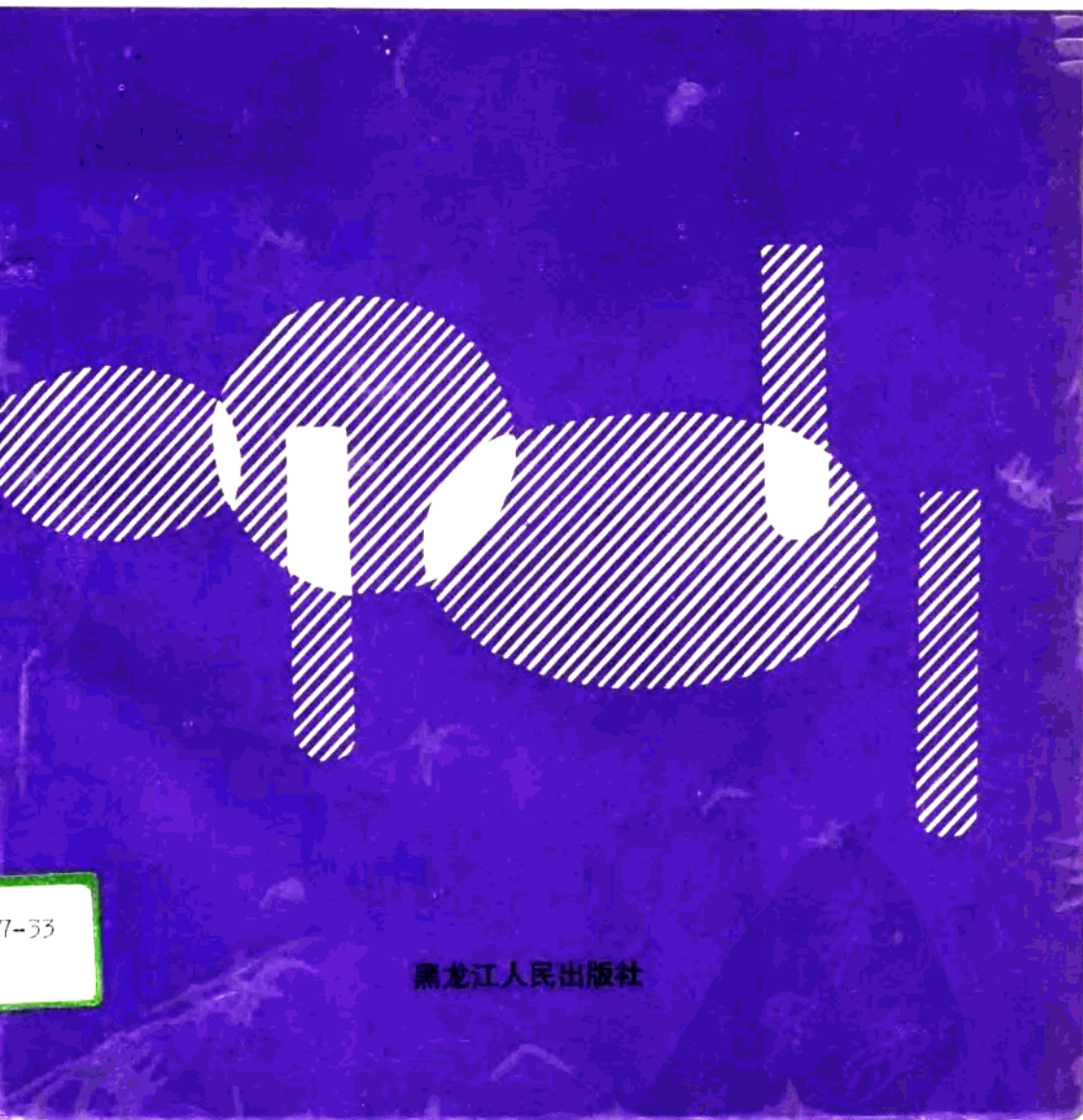


医学微生物学实验

马佳毓 程 志 张凤民 主 编



7-33

黑龙江人民出版社

主 编 马佳毓 程 志 张凤民

主 审 李绍贤

编 者 (按姓氏笔画为序)

马佳毓 牛美娟 曲章义

谷鸿喜 张凤民 郭晓奎

钟照华 韩淑兰 程 志

前 言

为了贯彻邓小平同志提出的“教育要面向现代化,面向世界,面向未来”的精神,教学不仅要传授知识,而且更应注意学生能力的培养。基于这种认识,我们在理论课教学中,创用了“学导式”教学法,实行8年获得较好的效果;实验课教学也做了一些改革,但仍须深化。近几年所使用的实验教材过于简单,在科学性、启发性、先进性和实用性几方面也存在一定问题,这样不仅不利于学生的独立操作和独立思考,而且也不适应目前学科发展的需要。因此,我们教研室决定编写这本《医学微生物学实验》。

在编写过程中,既遵循卫生部颁发的“医学微生物学教学大纲”和国家教委关于“全国普通高等院校临床医学主要课程基本要求”,又努力处理好教材思想性、科学性、启发性、先进性和实用性的关系。在原来《实验指导》的基础上,增加了“临床标本厌氧菌的分离鉴定”、“结核病人痰标本的检查法”、“病毒性感染的快速诊断”、“肠道病毒的分离鉴定”等新实验项目。在叙述方面,每项实验操作的前面,均列一段概述或原理,以便使学生不仅知其然,而且知其所以然。

为了使这本《医学微生物学实验》不仅可供不同年制本科生、专科生使用,亦可供研究生、进修生使用,无疑篇幅是相应扩大一些,因之可根据不同对象各取所需选择使用。

本书出版得到学校、学院有关领导的关怀,教材科的大力支持,在此一并表示真诚的谢意。

限于编者的学术水平和编写能力,又因时间仓促,文字上推敲整理加工不够,肯定会有缺点和错误,恳请广大师生给予批评指正,以利再版时使之更趋完善。

编 者

1993年12月

医学微生物学实验室规则

医学微生物学的实验对象大多是病原微生物，如果实验中稍有不慎，就有发生感染的可能。因此，实验时必须认真遵守以下各项规则，以免发生感染。

1. 进实验室必须着实验用服、戴白帽；随身只许带必要的教材、记录本及文具等，但必须放于实验台抽屉中。

2. 要保持室内安静和秩序，不许高声谈笑或随便走动；禁止吸烟、饮食或用嘴湿润铅笔或标鉴等。

3. 吸过菌液的吸管、毛细管要投入盛有消毒液的容器内；用过的载玻片也要放入消毒缸内。

4. 菌液污染桌面、地板、衣服时，应立即用适量2~3%来苏儿或5~6%新洁而灭等涂于污染处，让其浸泡30min后再擦去。

5. 若手上粘有活菌，应浸泡于2~3%来苏儿消毒10~15min，再以自来水及肥皂水洗刷。

6. 爱护公物、节约使用实验器材。器材如有损坏，应立即向指导教师报告，听候处理。

7. 实验完毕，整理桌面；需培养的物品放入温箱；水电关好；脱实验用服，洗手后离去。

实 验 目 录

实验一	微生物学实验室常用仪器和设备	(1)
实验二	细菌在自然界和正常人体的分布	(3)
实验三	培养基制备	(5)
实验四	细菌培养及其生长状态观察	(7)
实验五	细菌的生化反应	(10)
实验六	显微镜油浸镜的使用	(13)
实验七	不染色标本检查法	(15)
实验八	细菌的染色法	(16)
实验九	消毒与灭菌	(22)
实验十	噬菌体的分离鉴定及特异性检查	(25)
实验十一	细菌的药物敏感性试验	(26)
实验十二	细菌的遗传变异	(28)
实验十三	细菌基因工程基础实验	(31)
实验十四	细菌毒力物质的检测	(34)
实验十五	动物实验	(37)
实验十六	细菌的血清学诊断	(40)
实验十七	临床标本化脓性球菌的分离鉴定	(44)
实验十八	致病性肠道杆菌的分离和鉴定	(49)
实验十九	临床标本厌氧菌的分离鉴定	(55)
实验二十	结核病人痰标本的检查法	(60)
实验二十一	其他微生物感染的微生物学检查	(63)
实验二十二	真菌的微生物学检查	(69)
实验二十三	病毒的培养法	(74)
实验二十四	病毒的定量法	(81)
实验二十五	病毒的血清学诊断	(84)
实验二十六	病毒性感染的快速诊断	(91)
实验二十七	流感病毒的分离鉴定	(102)
实验二十八	肠道病毒的分离鉴定	(104)

实验一 微生物学实验室 常用仪器和设备

微生物学实验室是进行微生物学实验的场所，在实验室的设置安排方面应注意与外界有良好的隔离条件、有对空气消毒的设备，和一旦发生污染及时处理的措施。同时还应包括进行实验所需的必要器材和设备，择其主要介绍如下：

一、火焰灯

火焰灯是接种工具灭菌及试管等物品消毒处理的必备器材。

酒精灯、煤气灯是较理想的接种环灭菌器材，火焰的大小可根据需要自行调节。火焰柱可分为两层：外焰和内焰。外焰由于接触氧气丰富、热度很高，所以烧灼接种环或物品时应使用外焰。

近年来，市场上有电热接种环灭菌器，使用比较安全，特别适于结核杆菌实验操作。

二、接种工具

可以分为接种环和接种针两类。接种环用来挑取标本、菌液及划菌落涂平板等，直径一般为2~4mm，也可依需要自定。接种针则用来挑取单个菌落，穿刺高层琼脂等。为了适于不同的需要，接种器可以做成各种形式（见图1—1）。

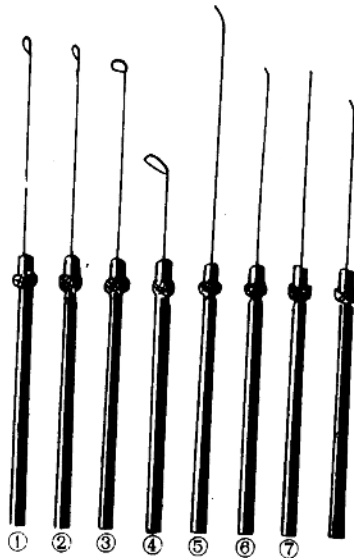


图1—1

三、显微镜

显微镜用于观察细菌菌体形态和病毒包涵体形态。

一般的光学显微镜就可满足常规要求，其目镜常用 $5\times$ 、 $8\times$ 、 $10\times$ ，物镜常有 $10\times$ 、 $40\times$ 和 $100\times$ （油镜），细菌检验常用油镜，应注意保护。

有条件的实验室还可装备暗视野显微镜、荧光显微镜、甚至电子显微镜。

四、温箱

温箱是进行细菌培养的基本设备，可调的温度范围一般在 $20^{\circ}\sim 60^{\circ}\text{C}$ ，温室的内容积可根据实际要求选择，温箱有隔水式和非隔水式两种类型。

培养一般的细菌，温箱的温度应定在 35°C 。温箱应由控温仪进行温度控制，以避免由于温箱偶然升温使细菌死亡，或发育受影响，如有条件，可以加设流点温度计，可保证温度的精确和稳定，另外温箱可依需要、设定其它温度，如 26°C 、 43°C 等。

五、 CO_2 培养设备

用于分离和培养时需要 CO_2 气体才能生长的细菌。

现已有专用的 CO_2 培养箱出售，可以使用。但对于常规实验室， CO_2 培养箱成本太高，而且没有必要专门设置这种设备。一般用蜡烛罐即可满足要求。以真空干燥罐、标本缸、甚至厌氧培养罐作为蜡烛罐。将接种的平板和试管放在罐内，然后放入点燃的蜡烛，将罐盖盖上并密闭，待蜡烛耗尽罐内的氧气，自行熄灭，即达到了所需的 $5\sim 10\%$ 的 CO_2 浓度。将蜡烛罐放入普通温箱孵育便可。

也可用化学试剂产气法：每升体积需枸橼酸（ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ） 0.33g ， Na_2HCO_3 0.37g ，两试剂混合置一小烧杯中然后置罐内。向烧杯中加入 10ml 蒸馏水，立即将罐封闭，如此产生的 CO_2 环境也比较理想。

六、高压灭菌设备

高压灭菌器是细菌室必备的设备，用于培养基及其它物品的灭菌，一般用高压锅。高压锅有立式、卧式之分。也有比较小型的手提式高压锅，适用于小型实验室，由于热源不同，又可分为蒸汽式和电热式，不同的实验室可根据具体情况选用。

七、冰箱

冰箱是微生物实验室用于储存制备好的培养基、菌种、药物等的必需设备。

冰箱的种类很多，家用和医用的皆可。用于储存培养基，可选用 $0^{\circ}\text{C}\sim 4^{\circ}\text{C}$ 范围的冰箱；放置药品、菌种最好选用 -20°C 或更低的温度。

（郭晓奎）

实验二 细菌在自然界和正常人体的分布

细菌的种类繁多，分布极广。在空气、土壤、水等自然界以及人类体表和粘膜与外界相通的腔道都有微生物存在。其中以细菌、真菌、放线菌最多。因此，在微生物学实验操作过程中，应树立无菌操作观念，时时警惕被这些杂菌污染的可能性。

一、空气中的细菌

空气中的细菌大多数为非致病菌，是实验操作污染杂菌的重要来源。

〔材料〕

普通琼脂平板。

〔方法〕

1. 取琼脂平板，打开盖子，分别放在桌上、桌下或走廊等地方，启开平皿盖，暴露于空气中15~30mm，盖好。

2. 置37℃，培养18~24h。取出观察结果。

〔结果〕

观察平板琼脂表面菌落生长情况，一般可见有或多或少不同性状的菌落出现。

二、土壤中的细菌

土壤呈颗粒状结构，容易吸收水分，通气良好，且含有各种无机物和有机物，因之是细菌的良好生存场所。土壤中多数为需氧菌，主要存在于离地面10~20cm的土壤中。

〔材料〕

1. 土壤。

2. 空平皿，生理盐水、普通琼脂等。

〔方法〕

1. 取地表下10cm深处的泥土1g，置10ml灭菌生理盐水中，混匀制成 10^{-1} 的泥土悬液；再以生理盐水连续稀释至 10^{-1} ~ 10^{-5} 稀释度的泥土悬液。

2. 用无菌吸管吸取各稀释度泥土悬液分别注入空平皿内，再以适量溶化且冷却至45℃左右的琼脂倾入混匀，静置待凝固。

3. 置20~22℃温箱中，培养48h取出观察。

〔结果〕

一般在培养基表面及深部都有菌落生长，并随稀释度增高而数量减少。

三、水中的细菌

江河水、湖水、池水等都会有许多细菌，主要来自土壤、空气，人畜排泄物等。居民区附近水源一般含菌较多；自来水经过沉淀，过滤和氯气消毒，按国家规定，1ml水中的细菌总数不得超过100个，大肠菌指数不应大于3。

〔材料〕

1. 自来水。
2. 空培养皿、普通琼脂、无菌吸管等。

〔方法〕

1. 用无菌吸管取1ml自来水，置于无菌空平皿中。
2. 取适量溶化且已冷却至45℃左右琼脂注入空平皿内，混匀后静置待凝。
3. 置37℃，培养24h后观察结果。

〔结果〕

用细菌菌落计数器计数每ml自来水中含有的活菌数。

四、人体皮肤及咽喉腔中的细菌

人类体表以及与外界相通的腔道，经常寄居不同种类的细菌，称之为正常菌群。正常情况下不引起疾病，只有当机体抵抗力降低，或寄生部位改变或菌群失调情况下，才有可能引起疾病。

〔材料〕

1. 琼脂平板、血平板等。
2. 无菌棉拭子，生理盐水等。

〔方法〕

1. 用无菌棉拭子沾取少量生理盐水，擦拭皮肤后，涂于琼脂平板一端，再以接种环划线分离。

2. 将血平板盖子打开，置距离口腔约10cm处，面对培养基用力连续咳嗽3~5次，盖好平皿盖。

3. 将两平板置37℃，培养18~24h后，观察结果。

〔结果〕

一般培养基表面都有菌落出现，表示皮肤、咽喉有正常菌群存在。

(郭晓奎)

思 考 题

1. 在微生物学实验中，为什么要进行无菌操作？
2. 何为正常菌群？

实验三 培养基制备

培养基是用人工方法将多种营养物质按各类微生物生长需要配制而成的营养基质。常用培养基有基础培养基、营养培养基、选择培养基和鉴别培养基等。

制备培养基的基本流程为：按一定配方称取原料、加水溶解、修正 pH、分装、灭菌。使用的器材有量筒、烧杯、三角瓶、试管等。现在大多数实验室都使用合成半成品培养基，称量后加蒸馏水溶解、分装、灭菌即可。

一、蛋白胨水培养基

〔材料〕

蛋白胨	1.5g
蒸馏水	100ml

〔方法〕

将材料混合、加热搅拌溶解，分装小试管，每管约2~3ml，15磅高压灭菌 15 min 备用。

〔用途〕

可供一般生化反应及制备糖发酵管用。

二、营养琼脂培养基

〔材料〕

合成营养琼脂	4.8g
蒸馏水	100ml

〔方法〕

称量后混合、加热搅拌溶解，分装于中试管内，每管约5ml，剩余部分装于三角瓶内，一并高压灭菌(15磅15min)。

灭菌后，将试管倾斜放置，使斜面长度约为试管的1/2。冷却凝固后即成斜面培养基。三角瓶内的培养基待冷却至50~55℃时，按无菌操作方法将培养基倒入无菌培养皿内，每皿15~20ml，冷却后即成琼脂平板。

〔用途〕

琼脂平板用于分离细菌等，琼脂斜面用于细菌纯培养及短期菌种保存等。

三、半固体培养基

〔材料〕

合成半固体琼脂	1.0g
蒸馏水	100ml

〔方法〕

混合，加热溶解，分装于小试管中，每管约3ml，15磅高压灭菌15min后，使试管直立冷却凝成高层。

〔用途〕

供测定细菌动力和保存菌种用。

四、血液琼脂培养基

〔材料〕

营养琼脂培养基	100ml
脱纤维鲜羊血或兔血	5~10ml

〔方法〕

待灭菌后的营养琼脂冷却至约50℃时，无菌操作将羊血或兔血加入，混匀，分别倒入无菌的试管或培养皿内，制成血斜面或血平板。

〔用途〕

供培养营养要求较高的细菌用。

〔附录〕

脱纤维血液的制备：无菌采血，放入盛有小玻璃珠的无菌容器中，振摇5~10min，使纤维蛋白析于玻璃珠表面，即得脱纤维血液。

(曲章义)

思 考 题

1. 什么是培养基？如何进行分类？
2. 配制培养基的原则是什么？

实验四 细菌培养及其生长状态观察

欲观察和研究细菌的各种生物学特性，必须进行人工培养细菌。培养细菌成功与否，除适宜的培养基、温度和必要气体环境外，还取决于培养法。因之，必须很好地学习和掌握细菌培养法。

一、分离培养法和菌落观察

细菌在自然界分布广、种类多，临床检验标本，如粪便、痰、脓汁中也常混有多种细菌。若欲从标本中查出某种病原菌时，必须先进行细菌分离，以获得纯培养物，再做进一步鉴定。分离培养方法有多种，但常用平板划线法。有些菌必要时尚可用动物接种分离法，如肺炎链球菌。划线方式很多，要求借划线而将混杂的细菌在琼脂表面分散开来，使单个菌能固定在一点上生长繁殖形成菌落，从而达到获得纯种的目的。

〔材料〕

1. 大肠杆菌，金黄色葡萄球菌混合培养物。
2. 普通琼脂平板。

〔方法〕

1. 右手持灭菌的接种环（冷却3~5s），取一接种环混合菌液。
2. 平板培养基一般是平皿底在上，平皿盖在下放置。划线时，左手抓握平板（平皿盖留在实验台上），尽量使之直立，以免空气中杂菌落入，并靠近酒精灯周围。
3. 将接种环上菌液涂于平板面的Ⅰ区，来回划线，涂成一薄膜。划线时使接种环面与平板表面成30~40度角，且轻轻接触，以腕力在平板表面滑移，接种环不应嵌入培养基内。
4. 接种环反复火焰灭菌，待冷，按图4—1于Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ区划线。
5. 划线结束后，将平板培养基放回平皿盖内，灭菌接种环，放回接种环架上，于平皿底上用玻璃笔作标记。
6. 放37℃恒温箱培养18~24h，观察平板表面生长的菌落状态。

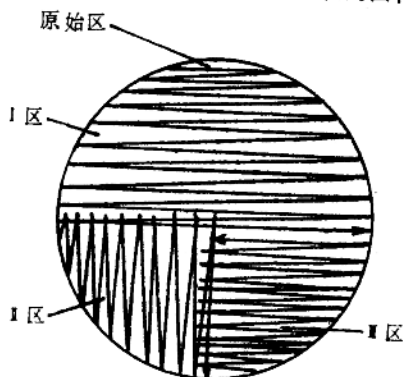


图4—1 平板接种法

〔结果〕

单个细菌在平板培养基上繁殖成一个肉眼可见的细菌集团，称为菌落 (colony)，由于细菌种类不同，以及培养基的成分不同，菌落特点也不尽相同，这有助于鉴别细菌、因此，应当对菌落进行认真观察，选出目的菌落进一步检查，观察要点如下：

1. 大小：以直径 (mm) 表示。1mm左右为小菌落，2~3mm为中等菌落，3mm以上为大菌落。

2. 形状：圆形、卵圆形及不规则形。

3. 边缘：整齐或不整齐、锯齿状、毛发状等。

4. 表面：光滑、湿润、皱纹、干燥等。

5. 隆起度：扁平、凸起、中心凹陷等。

6. 透明度：透明、不透明、半透明。

7. 颜色：无色、白色、黄色、绿色等。

8. 溶血性：在血平板上产生溶血毒素的细菌，可以使培养基中的红细胞破坏溶解。可分为完全溶血、草绿色溶血及不溶血。

二、纯种细菌接种法

平板分离培养获得目的菌纯种后，常需接种至各有关培养基，以进一步测试菌的其它生物学特性。根据培养基的物理性状，纯种细菌培养法有斜面培养基接种法、液体培养基接种法和穿刺接种法三类。

〔材料〕

1. 琼脂斜面培养基。

2. 半固体培养基。

3. 蛋白胨水或肉汤培养基。

4. 大肠杆菌培养物。

〔方法〕

1. 斜面培养基接种法 琼脂斜面，尿素、枸橼酸盐等凡具有斜面外形的固体培养基均用本法接种细菌。

(1)用火焰灭菌后冷却的接种环，挑取欲检查的目的菌落少许。

(2)左手拇指、食指、中指及无名指握持培养管，斜面向上，勿成水平，以免管底凝结水浸湿培养基表面或沾湿棉塞。

(3)以右手手掌、小指与无名指拨取并挟持培养管棉塞，将管口迅速通过火焰灭菌2~3次。

(4)将沾有菌的接种环伸进待接种培养基等，触及管底凝结水，自下而上划一直线，然后再蛇形样划线，如图4—2。

(5)接种完毕，重新进行火焰灭菌接种环放回架上，管口迅速通过火焰2~3次，塞回棉塞，并转进原来位置。

(6)用玻璃笔在试管上写好日期和姓名等，置37℃，培养18~24h后，观察结果。

2. 液体培养基接种法 凡肉汤、蛋白胨水等液体培养基均可用本法接种细菌。

(1)如斜面培养基接种法握持菌种管及待接种的肉汤管及握持棉塞。

(2)右手持接种环灭菌冷却后，伸入菌种管挑取少量菌落，再伸入肉汤管中，在稍

离于液面的管壁上，轻轻研磨，使细菌落入肉汤中。

(3)接种完毕，将管口迅速在火焰上灭菌，塞好棉塞；接种环重新灭菌后放架上。

(4)在试管上注明菌名、接种日期等。

(5)置37℃温箱培养18~24h，观察结果。

3. 穿刺接种法 凡培养基呈高层者，如半固体培养基、醋酸铅培养基等均用此法接种。

(1)如斜面培养基接种法握持菌种管和待接种高层培养基及拔持棉塞。

(2)右手持接种针，灭菌冷却后，以针挑取菌苔，垂直刺入高层培养基中心，但不及管底、然后，循原路拔出。

(3)塞好棉塞，在试管上注明日期、姓名等。

(4)置37℃温箱培养18~24h，观察结果。

[结果]

1. 斜面培养基 斜面有均匀一致湿润的菌苔，如有不同的菌落出现，则表明菌种不纯。

2. 液体培养基 大肠杆菌呈均匀混浊生长；有的菌呈沉淀生长(如乙型链球菌)，有的表面形成菌膜，如枯草杆菌。

3. 半固体培养基 有鞭毛的细菌，自原接种部位向四周扩散生长，培养基呈现浑浊状态，无鞭毛的细菌仅在接种部位生长，培养基不出现浑浊。

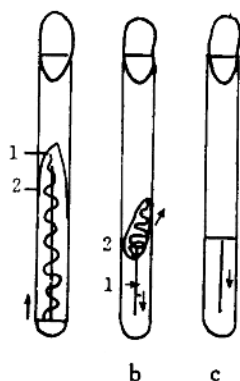


图4—2 固体培养基接种法

a. 斜面培养基 b. 高层斜面培养基 c. 高层培养基

(郭晓奎)

思考题

1. 各种培养法有何用途？
2. 什么是菌落，在鉴别细菌上有何意义？

实验五 细菌的生化反应

各种细菌具有各自独特的酶系统，对营养物质的分解能力不同，代谢产物也各异，因而可借此对细菌进行区别和鉴定。利用生化方法检测细菌对各种基质的代谢作用及其代谢产物的试验称为细菌的生化反应。实验室常用的生化反应有：

一、糖发酵试验

〔材料〕

葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖等糖发酵管，供试菌种等。

〔方法〕

将细菌接种于每种微量糖发酵管中，贴好标签，37℃倒立培养18~24h，观察结果。

〔结果观察〕

首先观察细菌是否生长，其次观察产酸、产气情况。细菌生长，指示剂溴甲酚紫由紫变黄，表明发酵该种糖产酸，记录为“+”；细菌生长，指示剂变色，同时微量管中有气泡，表明发酵该种糖产酸、产气，记录为“⊕”；细菌生长，指示剂不变色，表示细菌不分解该种糖，记录为“-”。

二、IMViC试验

吲哚(I)、甲基红(M)、V-P(Vi)及枸橼酸盐利用(C)4种试验，常用于鉴定肠道杆菌，合称为IMViC试验。

(一) 吲哚试验(Indole production)

某些细菌如大肠杆菌(*E. coli*)能分解蛋白胨中的色氨酸生成吲哚。吲哚可与检测试剂中的对二甲苯甲醛反应生成玫瑰吲哚，呈玫瑰红色，产气杆菌则无此反应。

〔材料〕

蛋白胨水、柯氏试剂，大肠杆菌和产气杆菌菌种等。

〔方法〕

1. 将*E. coli*和产气杆菌分别接种于蛋白胨水培养基中，37℃培养18~24h。
2. 滴加数滴柯氏试剂于培养基表面，轻轻摇动试管，几分钟后观察。如液面出现玫瑰红色则为阳性，记录为“+”；若不出现红色则为阴性，记录为“-”。

(二) 甲基红试验(Methyl red test)

主要用于鉴别*E. coli*和产气杆菌，前者分解葡萄糖产生丙酮酸，不转变为乙酰甲基甲醇，故培养液酸性较强，pH在4.5或4.5以下；后者分解葡萄糖产生的丙酮酸脱羧，生成中性乙醇甲基甲醇，培养液pH较高，在4.5或4.5以上。

〔材料〕

葡萄糖蛋白胨水、甲基红试剂，大肠杆菌和产气杆菌种等。

〔方法〕

1. 将E.coli和产气杆菌接种于葡萄糖蛋白胨水中, 37°C培养48h。
2. 滴加甲基红试剂3~5滴, 培养液呈红色, 表示pH值在4.5或以下, 记录为“+”, 呈黄色则表示pH值在4.5以上, 反应为阴性, 记录为“-”。

(三) V—P试验 (Voges—Proskauer test)

某些细菌发酵葡萄糖产生乙酰甲基甲醇, 此化合物在碱性环境下可被空气中的氧气氧化生成二乙酰。二乙酰与蛋白胨中精氨酸的胍基反应, 生成红色化合物, 此为V—P反应阳性。甲基红试验阴性的菌大多数为V—P反应阳性。

〔材料〕

葡萄糖蛋白胨水、40%KOH, 大肠杆菌和产气杆菌菌种。

〔方法〕

1. 将大肠杆菌与产气杆菌接种于葡萄糖蛋白胨水中, 37°C培养48h。
2. 将培养液摇匀, 于每毫升培养液中滴加0.1ml40%KOH (含0.3%肌酸) 溶液, 振荡混匀, 室温或37°C放置15min或稍加热, 观察结果。培养液呈红色为V—P反应阳性, 记录为“+”; 培养液不变色为V—P试验阴性, 记录为“-”。

(四) 枸橼酸盐利用试验 (Utilization of citrate)

当细菌以铵盐作唯一氮源, 并能利用枸橼酸盐作唯一碳源时, 可在枸橼酸盐培养基上生长, 分解枸橼酸钠, 使培养基变为碱性, 培养基中指示剂由淡绿色变为深兰色, 此为枸橼酸盐利用阳性, 不能利用枸橼酸盐时, 则培养基颜色不变, 此为阴性。

〔材料〕

枸橼酸盐培养基, 大肠杆菌及产气杆菌菌种等。

〔方法〕

1. 分别将E.coli和产气杆菌接种于枸橼酸盐培养基上, 37°C培养48h。
2. 观察培养基的颜色, 深兰色为阳性, 记录为“+”, 浅绿色为阴性, 记录为“-”。

IMViC结果: 大肠杆菌为“++--”, 产气杆菌为“--++”。

三、硫化氢产生试验

检查细菌能否分解胱氨酸等含硫氨基酸产生硫化氢。产生的硫化氢遇醋酸铅或硫酸亚铁, 形成黑褐色的沉淀物。

〔材料〕

醋酸铅培养基, 菌种。

〔方法〕

将供试菌穿刺接种于醋酸铅培养基中, 37°C培养18~24h后观察结果。沿穿刺线呈黑褐色则为阳性, 记录为“+”; 若无变化, 则为阴性, 记录为“-”。

附录

1. 柯氏试剂的制备:

对二甲基氨基苯甲醛	5g	} 混合溶解。
戊醇 (或丁醇)	75ml	
浓盐酸	25ml	

2. 醋酸铅培养基的制备:

取营养琼脂100ml溶化，加硫代硫酸钠0.25g，校正pH为7.2，煮沸滤过，10 磅 20 min高压灭菌，取出后无菌操作加入已灭菌的10%醋酸铅溶液1ml，混合后分装于无菌小试管中，直立使之凝成高层备用。

(曲章义)

思 考 题

1. 根据生化反应结果，能否将不同的两种菌区别开来？为什么？
2. IMViC是指哪几个试验？其原理各为何？