

2015

细菌的常用生化试验

细菌室

23种细菌鉴定常用生化试验

1. 碳水化合物的代谢试验

- ↖ (1) 糖（醇、苷）类发酵试验 (2) 氧化—发酵试验（O / F试验）
- ↖ (3) β -半乳糖苷酶试验（ONPG试验） (4) 七叶苷水解试验
- ↖ (5) 甲基红试验 (6) V-P试验

2. 蛋白质和氨基酸的代谢试验

- ↖ (1) 明胶液化试验 (2) 吲哚（靛基质）试验 (3) 硫化氢试验
- ↖ (4) 尿素分解试验 (5) 苯丙氨酸脱氨酶试验 (6) 氨基酸脱羧酶试验

3. 碳源和氮源利用试验

- ↖ (1) 枸橼酸盐利用试验 (2) 丙二酸盐利用试验

4. 各种酶类试验

- ↖ (1) 氧化酶试验 (2) 过氧化氢酶试验（触酶试验） (3) 硝酸盐还原试验
- ↖ (4) 脂酶试验 (5) 卵磷脂酶试验 (6) DNA酶试验 (7) 凝固酶试验
- ↖ (8) CAMP试验

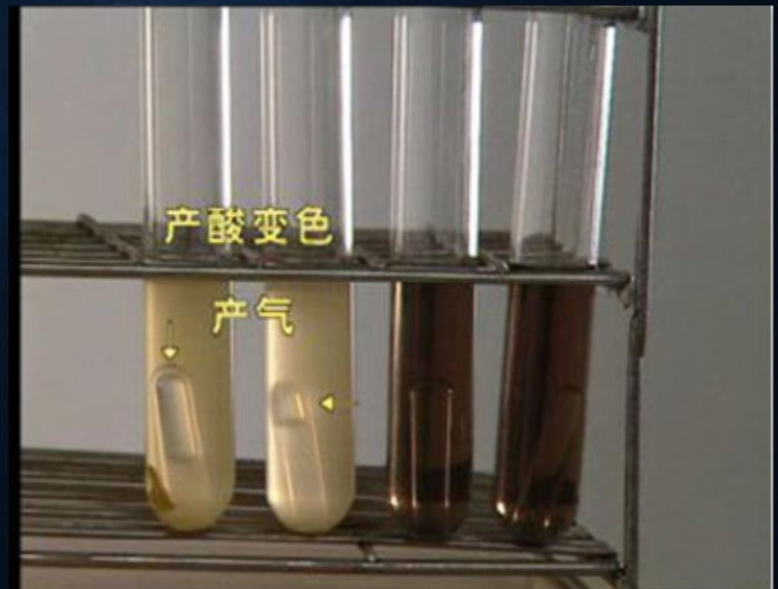
一、碳水化合物的代谢试验

←原理

- ← 由于细菌各自具有不同的酶系统，对糖的分解能力不同，有的能分解某些糖产生酸和气体，有的虽能分解糖产生酸，但不产生气体，有的则不分解糖。据此可对分解产物进行检测从而鉴别细菌。
- ← 具体试验有：①糖类发酵试验；②葡萄糖代谢类型鉴别试验；③七叶苷水解试验；④淀粉水解试验；⑤甲基红试验；⑥V-P试验；⑦ β -半乳糖苷酶试验（ONPG试验）。

1.糖（醇、苷）类发酵试验

- * 原理：由于各种细菌含有发酵不同糖（醇、苷）类的酶，故分解糖类的能力各不相同，细菌分解糖类后的终末产物亦不一致，有的产酸、产气，有的仅产酸，故可利用此特点以鉴别细菌。
- * 方法：将分离的纯种细菌，以无菌操作接种到糖（醇、苷）类发酵培养基中，置培养箱中培养数小时至两周后，观察结果。
- * 结果：若能分解培养基中的糖（醇、苷）类产酸时，培养基中的指示剂呈酸性反应。若产气可使液体培养基中倒管内或半固体培养基内出现气泡，固体培养基内有裂隙等现象。若不分解，培养基中除有细菌生长外，无任何其他变化。
- * 应用：是鉴定细菌最主要和最基本的
- * 试验，特别对肠杆菌科细菌的鉴定尤
- * 为重要。



2.氧化-发酵试验（O/F试验）

- 原理：不同细菌对不同的糖分解能力及代谢产物不同，这种能力因是否有氧气的存在而异，有氧条件下称为氧化，无氧条件下称为发酵。
- 方法：将待检菌同时穿刺接种两支HL培养基，其中一支培养基滴加无菌的液体石蜡（或其他矿物油），高度不少于1cm。将培养基于35℃培养48h或更长。

结果：

	开管	封闭管
产碱型	-	-
氧化型	+	-
发酵型	+	+



产碱型

发酵型（产酸）

氧化型

- 应用：主要用于肠杆菌科细菌与非发酵菌的鉴别，前者均为发酵型，而后者通常为氧化型或产碱型。也可用于葡萄球菌与微球菌间的鉴别，前者是发酵型，后者是氧化型。

3.β-半乳糖苷酶试验（ONPG试验）

- 原理 细菌分解乳糖依靠两种酶的作用，一种是β—半乳糖苷透性酶，它位于细胞膜上，可运送乳糖分子渗入细胞。另一种为β-半乳糖苷酶，亦称乳糖酶，位于细胞内，能使乳糖水解成半乳糖和葡萄糖。具有上述两种酶的细菌，能在24—48h发酵乳糖，而缺乏这两种酶的细菌，不能分解乳糖。
- 方法：从克氏双糖铁培养基上取菌，于0.25ml无菌生理盐水中制成菌悬液，加入一滴甲苯并充分振摇，使酶释放。将试管置37℃水浴5min，加入0.25ml ONPG试剂，水浴20min~3h观察结果。
- 结果：菌悬液呈现黄色为阳性反应，一般在20~30min内显色。
- 应用：迅速及迟缓分解乳糖的细菌ONPG
- 试验为阳性，而不发酵乳糖的细菌为阴性。
- 本实验主要用于迟缓发酵乳糖菌株**
- 的快速鉴定。**

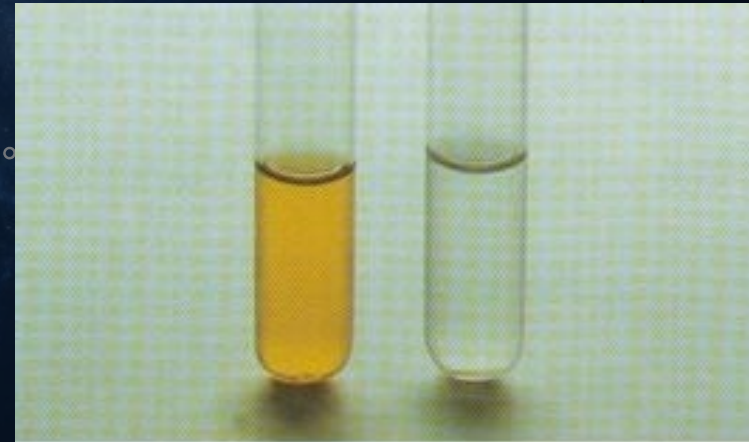


图 3-32 β 半乳糖苷酶试验 (ONPG 试验) 结果
左侧为阳性 (黄色), 右侧为阴性对照。

4.七叶苷水解试验

原理



- 方法：将待检菌接种于七叶苷培养基中，培养后观察结果。
- 结果：培养基变为黑色为阳性，不变色者为阴性。

- 应用：主要用于D群链球菌
- 与其他链球菌的鉴别，
- 前者阳性，后者阴性。



5. 甲基红试验

原理：肠杆菌科各菌属都能发酵葡萄糖，在分解葡萄糖过程中产生丙酮酸，进一步分解中，由于糖代谢的途径不同，可产生乳酸、琥珀酸、醋酸和甲酸等大量酸性产物，可使培养基PH值下降至pH4.5以下，使甲基红指示剂变红。

方法：将待检菌接种于葡萄糖蛋白胨水培养基中，培养2~4d，于培养基内加入甲基红试剂，立即观察结果。

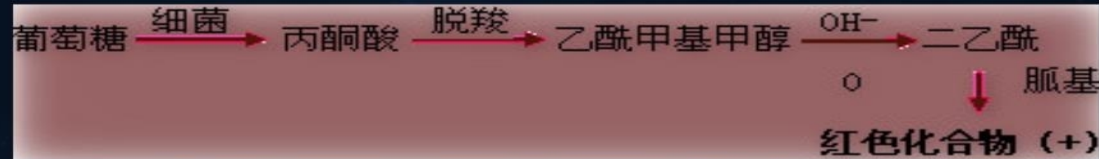
结果：呈现红色为阳性；橘红色为弱阳性；黄色为阴性。



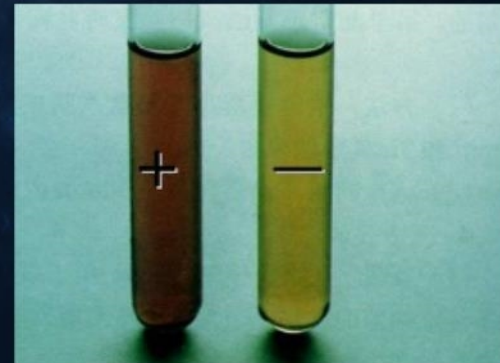
应用：主要用于鉴别大肠埃希菌与产气肠杆菌，前者为阳性，后者为阴性。肠杆菌科中沙门菌属、志贺菌属、枸橼酸杆菌属、变形杆菌属等为阳性，而肠杆菌属、哈夫尼亚菌属则为阴性。

6.V-P试验

* 原理



- * 方法：将待检菌接种于**葡萄糖蛋白胨水**培养基中，于35°C培养48h后加入甲液（6%α-萘酚酒精溶液）和乙液（40%KOH溶液），振摇。
- * 结果：在数分钟内出现红色为阳性；如无红色出现且于35°C4h后仍如故者即为阴性。
- * 应用：**本试验常与甲基红试验一起使用，因为前者阳性的细菌，后者通常为阴性。**

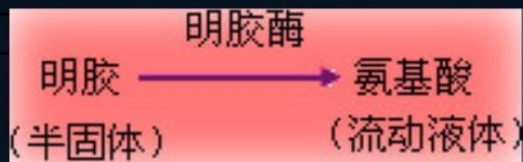


二、蛋白质和氨基酸的代谢试验

- ◀原理：不同种类的细菌分解蛋白质的能力不同。细菌对蛋白质的分解，一般先由胞外酶将复杂的蛋白质分解为短肽（或氨基酸），渗入菌体内，然后再由胞内酶将肽类分解为氨基酸。
- ◀具体试验有：①明胶液化试验；②吲哚试验（靛基质试验）；③硫化氢试验；④尿素酶试验；⑤苯丙氨酸脱氨酶试验；⑥氨基酸脱羧酶试验。

1.明胶液化试验

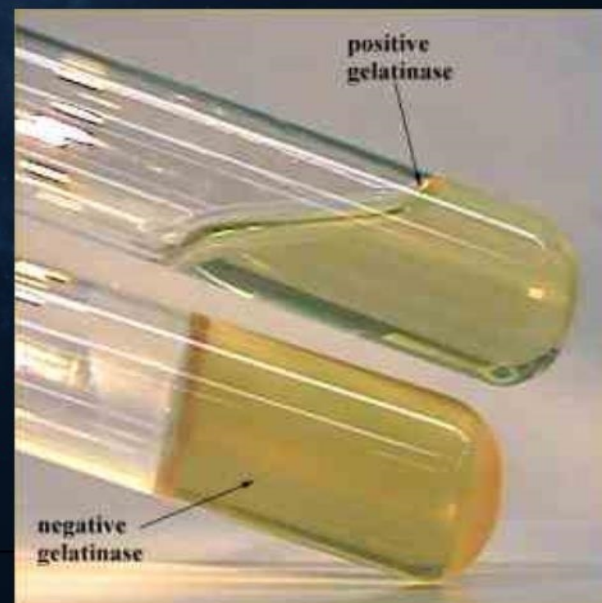
* 原理



* 方法：将被检菌穿刺接种于明胶培养基，于22℃培养7d，逐日观察结果。

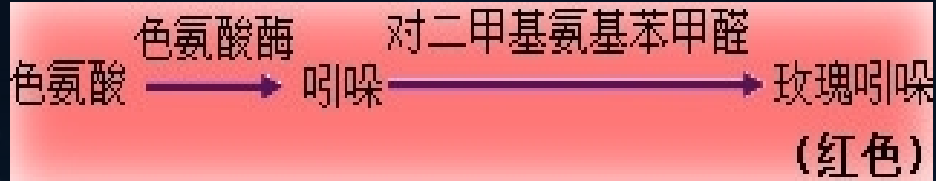
* 结果：培养基呈液化状态为阳性。

* 应用：肠杆菌科细菌的鉴别，如沙雷菌、普通变形杆菌、奇异变形杆菌、阴沟杆菌等可液化明胶，而其他细菌很少液化明胶。有些厌氧菌如产气荚膜梭菌、脆弱类杆菌等也能液化明胶。另外多数假单胞菌也能液化明胶。



2. 吲哚（靛基质）试验

原理



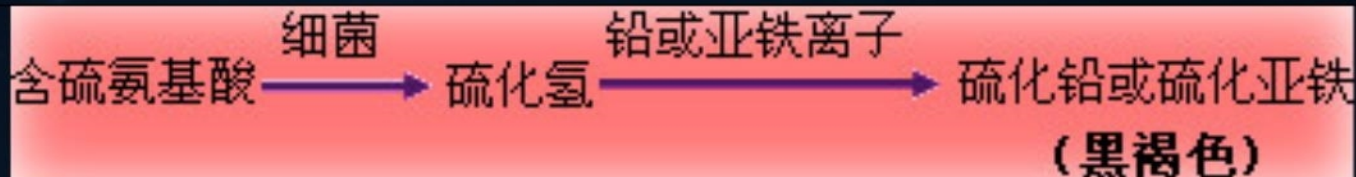
- 方法：将待检菌接种于**蛋白胨水培养基**中，于35℃培养24~48h，沿试管壁慢慢加入吲哚试剂。
- 结果：于两者液面接触处出现红色为阳性，无色为阴性。

- 应用：**主要用于肠杆菌科细菌的鉴定。**

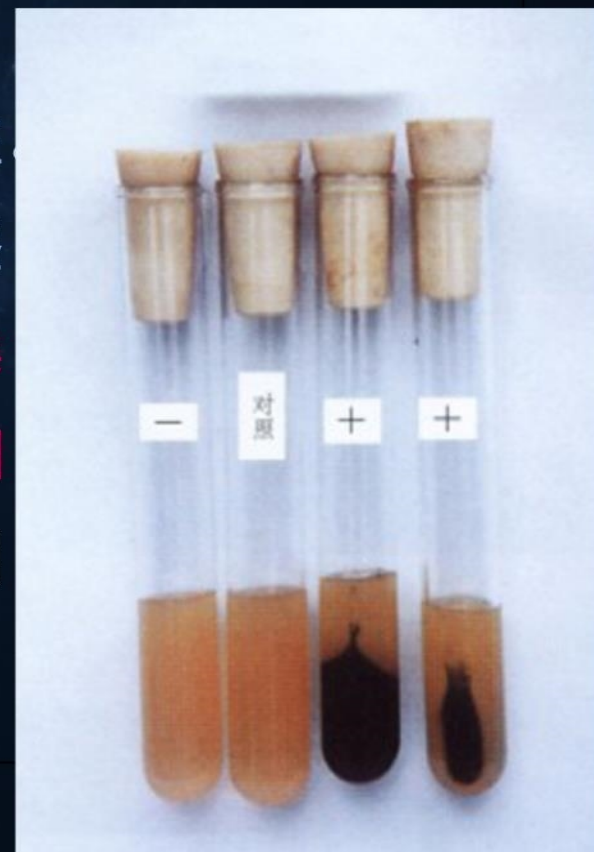


3.硫化氢试验

* 原理



- * 方法：将待检菌穿刺接种于醋酸铅培养基，于35℃培养24~48h观察结果。
- * 结果：培养基变黑为阳性，不变为阴性
- * 应用：主要用于肠杆菌科中属及种的鉴别。如沙门菌属、爱德华菌属、亚利桑那菌属、枸橼酸杆菌属、变形杆菌属细菌，绝大多数硫化氢阳性，其他菌属阴性。沙门菌属中也有硫化氢阴性菌种。

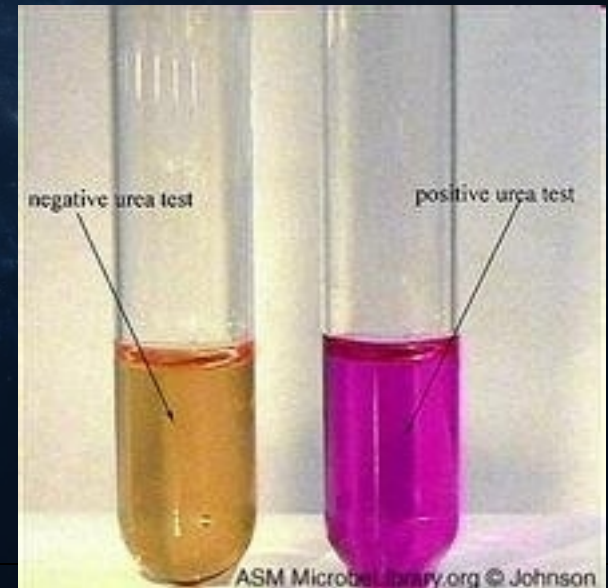


4.尿素分解试验

原理



- 方法：将待检菌接种于尿素培养基，于35℃培养18~24h观察结果。
- 结果：培养基呈碱性，使酚红指示剂变红为阳性，不变为阴性。
- 应用：主要用于肠杆菌科中变形杆菌属细菌的鉴定。奇异变形杆菌和普通变形杆菌脲酶阳性。另外雷氏普罗威登菌和摩根菌为阳性，而斯氏和产碱普罗威登菌阴性



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/026143003053010232>