

碳水化合物的代谢试验实践技能考试 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

https://www.100test.com/kao_ti2020/643/2021_2022__E7_A2_B3_E6_B0_B4_E5_8C_96_E5_c22_643326.htm 其原理为：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。具体试验方法有：糖类发酵试验是鉴定细菌最常用的生化反应，特别是对肠杆菌的鉴定尤为重要；葡萄糖代谢类型鉴别试验；七叶苷水解试验；淀粉水解试验；甲基红试验；V-P试验；-半乳糖苷酶试验（ONPG试验）。1.糖（醇、苷）类发酵试验（1）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，有的能分解多种糖类，有的仅能分解1~2种糖类，还有的不能分解。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。（2）培养基：在培养基中加入0.5%~1%的糖类（单糖、双糖或多糖）、醇类（甘露醇、肌醇等）、苷类（水杨苷等）。培养基可为液体、半固体、固体或微量生化管几种类型。（3）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。若用微量发酵管，或要求培养时间较长时，应保持湿度，以免培养基干燥。（4）结果：接种的细菌，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。（5）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）

（1）原理：细菌在分解葡萄糖的过程中，必须有分子氧参加的，称为氧化型。氧化型细菌在无氧环境中不能分解葡萄糖。细菌在分解葡萄糖的过程中，可以进行无氧降解的，称为发酵型。发酵型细菌无论在有氧或无氧的环境中都能分解葡萄糖。不分解葡萄糖的细菌称为产碱型。利用此试验可区分细菌的代谢类型。

（2）培养基HL：Hugh-Leifson培养基。（3）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。（4）结果：两支培养基均无变化为产碱型或不分解糖型；两支培养基均产酸为发酵型；若仅不加石蜡的培养基产酸为氧化型。（5）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。

3. α -半乳糖苷酶试验（ONPG试验）

（1）原理：有的细菌可产生 α -半乳糖苷酶，能分解邻-硝基酚- α -D-半乳糖苷（ONPG），而生成黄色的邻-硝基酚，在很低浓度下也可检出。（2）试剂：0.75M ONPG溶液：取80mg溶于15ml蒸馏水中，在加入缓冲液（6.9g NaH_2P_04 溶于45ml蒸馏水中，用30% NaOH调整pH为7.0，再加水至50ml）5ml，置4℃冰箱中保存。ONPG溶液为无色，如出现黄色，则不应再用。（3）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。

(4) 结果：菌悬液呈现黄色为阳性反应，一般在20~30min内显色。(5) 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。

4. 七叶苷水解试验 (1) 原理：有的细菌可将七叶苷分解成葡萄糖和七叶素，七叶素与培养基中枸橼酸铁的二价铁离子反应，生成黑色的化合物，使培养基呈黑色。(2) 培养基：七叶苷培养基、胆汁七叶苷培养基。(3) 方法：将待检菌接种于七叶苷培养基中，培养后观察结果。(4) 结果：培养基变为黑色为阳性，不变色者为阴性。(5) 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。也可用于革兰阴性杆菌及厌氧菌的鉴别。

5. 甲基红试验 (1) 原理：某些细菌在糖代谢过程中，分解葡萄糖产生丙酮酸，丙酮酸可进一步分解，产生甲酸、乙酸、乳酸等，使培养基的pH降至4.5以下，当加入甲基红试剂则呈红色，为甲基红试验阳性。若细菌分解葡萄糖产酸量少，或产生的酸进一步转化为其他物质（如醇、酮、醚、气体和水等），则培养基的酸度仍在pH6.2以上，故加入甲基红指示剂呈黄色，是为阴性。(2) 培养基：葡萄糖蛋白胨水培养基。(3) 方法：将待检菌接种于上述培养基中，培养2~4d，于培养基内加入甲基红试剂，立即观察结果。(4) 结果：呈现红色为阳性；橘红色为弱阳性；黄色为阴性。(5) 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。此外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 (1) 原理：某些细菌在糖代谢过程中，分解葡萄糖产生丙酮酸，丙酮酸脱羧产生乙酰甲基

甲醇，乙酰甲基甲醇在碱性环境中，被空气中的氧氧化为二乙酰，进而与培养基内蛋白胨中精氨酸所含的胍基起作用，生成红色化合物，则为V-P试验阳性。若培养基中胍基含量较少，则可加入少量含胍基化合物，如肌酸或肌酐等。试验时加入 α -萘酚可加速此反应。（2）培养基：葡萄糖蛋白胨水培养基。（3）方法：将待检菌接种于上述培养基中，于35℃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。（4）结果：在数分钟内出现红色为阳性；如无红色出现且于35℃ 4h后仍如故者即为阴性。（5）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。更多信息请访问：百考试题医师网校 医师论坛 医师在线题库 百考试题执业医师加入收藏 100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问

www.100test.com