

微生物常规鉴定技术

易 莺

(青神县疾病预防控制中心,四川 眉山 620460)

近年来,科学技术快速更新与发展的同时,生物科学技术被广泛应用各个领域当中,与人们的生活密切相关。人们的生活水平大幅度提升的同时,也越来越注重生活品质,使得生物技术的应用范围进一步扩大,微生物常规鉴定技术对临床试验分析有着重要的影响,也是常规鉴定技术之一。

1 形态结构与培养特性

①微生物形态结构观察过程中,主要通过显微镜,进一步观察其大小、形状以及细胞结构、排列方式、细胞核、细胞膜等部分,并且直观全面的分析与了解细菌的结构特性,并针对不同微生物形态结构的不同点,从而进一步鉴定、区别微生物。

②不同类型微生物在培养基中不断地生长繁殖,其形成的菌落具有较大的差异性,相同的细菌在一定条件下,且培养特性稳定性相对较高,因此,要对不同微生物进行区别鉴定。在微生物常规鉴定过程中,微生物培养特性观察也是非常重要的内容之一。

细菌培养特性主要包含以下方面内容:观察固体培养基中菌落的形态、颜色以及大小、透明度、光泽度以及质地等方面。在液体培养基中,其发育程度、浑浊度、液体表面性状等方面。以霉菌酵母菌的培养特点为例:通常情况下,大部分的酵母菌是没有丝状体的,其在固体培养基中所形成的菌落与细菌比较相似,但是菌落相对较大且比较厚。液体培养也与细菌大致相似,且均匀生长、沉淀在液面,逐渐形成菌膜,霉菌的菌丝比较粗长,且有分支的丝状体,有明显的折光性,在环境条件相对适宜的培养基中,菌丝会无限的延伸,并且会逐渐蔓延到培养基表面,霉菌基内菌丝、孢子丝的颜色都有所不同,所以,菌落的中心以及边缘、不同层面的颜色往往有着很大的不同,霉菌在固体培养表面会逐渐形成絮状、蜘蛛网状菌落。

2 生化试验

微生物生化反应主要是通过化学反应,从而进一步对微生物的代谢产物进行测定,其能够有效鉴定在形态等方面不容易进行区分的微生物,所以微生物化学反应是微生物鉴定过程中的重要依据。简单介绍以下几种生化试验:

2.1 糖(醇)发酵试验

不同的微生物,对糖类的利用能力存在较大的差异性,且并非所有的都能够充分利用,以及能够被利用的,是否会产酸产气,可通过发酵管进行检验。

试验方法:要保障无菌操作,采用接种针取适当纯培养物,在发酵管中进行接种,如果是半固体培养基,则应当进行穿刺接种。在完成接种之后,按各类细菌所要求温度(通常为37℃)环境下进行培养,并每天定时观察实际结果,查看培养基的颜色是否发生变化,在小导管中是否有气泡,如果是半固体培养基,应当检查沿穿刺线以及管壁是否有小气泡、断开等现象,在半固体发酵管中还能够观察出接种菌是否有动力,若

为有鞭毛的细菌,则沿接种线向周围扩散生长。此次试验过程中主要是对细菌中的糖发酵能力进行全面检查,并对不同类型的细菌进行有效鉴别,所以在每次实验中,一般都需要同时接种多管。

2.2 淀粉水解试验

部分细菌能够产生分解淀粉的酶,将淀粉水解成为麦芽糖或者葡萄糖,淀粉在水解之后,遇到碘不会变成蓝色。

试验方法:将18-24h的纯培养物,接种于平板或者是淀粉肉汤当中,并放置在36℃左右的环境中培养24-48h,或者是在20℃环境下培养5天,之后再将其碘试剂滴在培养表面,如果是液体培养物,还需在试管中加上数滴碘试剂,并检查结果,如果是阳性反应,琼脂培养基为深蓝色,菌落以及培养物周围会出现无色透明环,肉汤没有明显的颜色变化,如果是阴性反应,则肉汤呈深蓝色。淀粉水解是逐步发展的过程中,所以,试验结果和菌种会产生淀粉酶的能力,培养时间、淀粉量与pH值有很大的关系。培养基PH一定要是中性或者微酸性,淀粉琼脂平板不适合放置在冰箱之中,所以要在临用的时候制备为佳。

2.3 V-P 试验

部分细菌在葡萄糖蛋白培养基当中能够分解葡萄糖,并产生丙酮酸,丙酮酸是糖酵解的关键性中间产物,细菌利用丙酮酸有多种途径,产生乙酰甲基甲醇是细菌分解可进一步脱羧后生成乙酰甲基甲醇,乙酰甲基甲醇在碱性溶液中被空气中分子氧所氧化,生成二乙酰,二乙酰与培养基内蛋白胨的氨基酸所含的胍基发生反应,生成红色化合物,即V-P试验阳性。

试验方法:将试验菌接种在培养基中,并放置在37℃左右的环境中培养48小时,培养液1mL加40%的氢氧化钠水溶液,并摇动试管大约2分钟左右,放置在温室或者37℃的恒温箱之中,如果在4小时之内不会出现伊红,则为阴性,也可以在50℃的水中放置大约2小时之后判定结果。

快速法:将0.5的肌酸溶液滴2滴与试管当中,选取三糖铁琼脂斜面,并进行接种,加入40%的氢氧化钠水溶液3滴左右,振动之后放置大约5分钟,之后再判定结果,不产酸的培养物是不能使用的。该试验通常用于肠杆菌等各类菌种的鉴别,在芽孢杆菌以及葡萄球菌等相关细菌鉴定过程中,通用培养基中的磷酸盐会对乙酰甲基醇产生一定的阻碍,因此可以通过氯化钠代替。

补体结合反应是在补体参与的情况下,以溶血素以及红细胞为指示系统的抗原抗体反应,可与任何一组抗原抗体复合物发生反应。补体和红细胞、溶血素的复合物结合,便会出现溶血现象,如果和细菌以及抗体复合物结合,便会出现溶菌现象,其试验原理是补体不单独与抗原及抗体结合。如果出现溶菌,是补体与待检系统相结合的结果,说明其抗原体是相对应的,如果出现溶血,则说明抗原抗体不相对应。