

常用培养基配方

目 录:

- 01 糖发酵管
- 02 ONPG 培养基
- 03 西蒙氏柠檬酸盐培养基
- 04 缓冲葡萄糖蛋白胨水(MR 和 VP 试验用)
- 05 克氏柠檬酸盐培养基
- 06 丙二酸钠培养基
- 07 葡萄糖铵培养基
- 08 Hugh-Leifson 培养基(O/F 试验用)
- 09 马尿酸钠培养基
- 10 营养明胶
- 11 苯丙氨酸培养基
- 12 氨基酸脱羧酶试验培养基
- 13 蛋白胨水(靛基质试验用)
- 14 硫酸亚铁琼脂(硫化氢试验用)
- 15 尿素琼脂
- 16 氰化钾(KCN)培养基
- 17 氧化酶试验
- 18 硝酸盐培养基
- 19 细胞色素氧化酶试验
- 20 过氧化氢酶试验
- 21 过氧化物酶试验
- 22 磷酸盐缓冲液
- 23 明胶磷酸盐缓冲液
- 24 乳酸-苯酚溶液
- 25 肉浸液肉汤
- 26 肉浸液琼脂
- 27 牛肉(或牛心)消化汤
- 28 血消化汤
- 29 豆粉琼脂
- 30 血琼脂
- 31 营养琼脂
- 32 营养肉汤
- 33 乳糖胆盐发酵管
- 34 乳糖发酵管
- 35 EC 肉汤
- 36 缓冲蛋白胨水(BP)
- 37 氯化镁孔雀绿增菌液(MM)
- 38 四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)
- 39 四硫磺酸钠煌绿增菌液(换用方法)
- 40 亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)
- 41 GN 增菌液

- 42 肠道菌增菌肉汤
- 43 亚硫酸铋琼脂(BS)
- 44 DHL 琼脂
- 45 HE 琼脂
- 46 SS 琼脂
- 47 WS 琼脂
- 48 麦康凯琼脂
- 49 伊红美蓝琼脂(EMB)
- 50 三糖铁琼脂(TSI)
- 51 三糖铁琼脂(换用方法)
- 52 克氏双糖铁琼脂(KI)
- 53 克氏双糖铁琼脂(换用方法)
- 54 葡萄糖半固体发酵管
- 55 5%乳糖发酵管
- 56 CAYE 培养基
- 57 Honda 氏产毒肉汤
- 58 Elek 氏培养基(毒素测定用)
- 59 氯化镁孔雀绿羧苄青霉素培养基
- 60 胰蛋白胍水
- 61 Rustigian 氏尿素培养液
- 62 氯化钠结晶紫增菌液
- 63 氯化钠蔗糖琼脂
- 64 嗜盐菌选择性琼脂
- 65 3.5%氯化钠三糖铁琼脂
- 66 氯化钠血琼脂
- 67 3.5%氯化钠生化试验培养基
- 68 改良磷酸盐缓冲液(小肠结肠炎耶尔森氏菌专用)
- 69 CIN-1 培养基
- 70 嗜盐性试验培养基

01 糖发酵管

成分:

牛肉膏 5g

蛋白胨 10g

氯化钠 3g

磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 2g

0.2%溴麝香草酚蓝溶液 12mL

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:

1 葡萄糖发酵管按上述成分配好后,按 0.5%加入葡萄糖,分装于有一个倒置小管的小试管内,121℃高压灭菌 15min.

2 其他各种糖发酵管可按上述成分配好后,分装每瓶 100mL,121℃高压灭菌 15min.另将各种糖类分别配好 10%溶液,同时高压灭菌.将 5mL 糖溶液加入于 100mL 培养基内,以无菌操作分装小试管.

注:蔗糖不纯,加热后会自行水解者,应采用过滤法除菌.

试验方法:从琼脂斜面上挑取少量培养物接种,于 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 培养,一般观察 2~3d.迟缓反应需观察 14~30d.

02 ONPG 培养基

成分:

邻硝基酚 β -D-半乳糖苷(ONPG) 60mg

(O-Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside)

0.01mol/L 磷酸钠缓冲液(pH7.5) 10mL

1%蛋白胨水(pH7.5) 30mL

制法:将 ONPG 溶于缓冲液内,加入蛋白胨水,以过滤法除菌,分装于 10mm×75mm 试管,每管 0.5mL,用橡皮塞塞紧.

试验方法:自琼脂斜面上挑取培养物 1 满环接种,于 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 1~3h 和 24h 观察结果.如果 β -半乳糖苷酶产生,则于 1~3h 变黄色,如无此酶则 24h 不变色.

03 西蒙氏柠檬酸盐培养基

成分:

氯化钠 5g

硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.2g

磷酸二氢铵 1g

磷酸氢二钾 1g

柠檬酸钠 5g

琼脂 20g

蒸馏水 1000mL

0.2%溴麝香草酚蓝溶液 40mL

pH6.8

制法:先将盐类溶解于水内,校正 pH,再加琼脂,加热溶化.然后加入指示剂,混合均匀后分装试管,121℃高压灭菌 15min.放成斜面.

试验方法:挑取少量琼脂培养物接种,于 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 4d,每天观察结果.阳性者斜面上有菌落生长,培养基从绿

色转为蓝色.

04 缓冲葡萄糖蛋白胨水(MR 和 VP 试验用)

成分:

磷酸氢二钾 5g

多胨 7g

葡萄糖 5g

蒸馏水 1000mL

pH7.0

制法:溶化后校正 pH,分装试管,每管 1mL,121℃高压灭菌 15min.

甲基红(MR)试验:自琼脂斜面挑取少量培养物接种本培养基中,于 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 2~5d,哈夫尼亚菌则应在 22~25℃培养.滴加甲基红试剂一滴,立即观察结果.鲜红色为阳性,黄色为阴性.甲基红试剂配法:10mg 甲基红溶于 30mL 95%乙醇中,然后加入 20mL 蒸馏水.

V-P 试验:用琼脂培养物接种本培养基中,于 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 2~4d.哈夫尼亚菌则应在 22~25℃培养.加入 6%α-萘酚-乙醇溶液 0.5mL 和 40%氢氧化钾溶液 0.2mL,充分振摇试管,观察结果.阳性反应立刻或于数分钟内出现红色,如为阴性,应放在 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 下培养 4h 再进行观察.

05 克氏柠檬酸盐培养基

成分:

柠檬酸钠 3g

葡萄糖 0.2g

酵母浸膏 0.5g

单盐酸半胱氨酸 0.1g

磷酸二氢钾 1g

氯化钠 5g

0.2%酚红溶液 6mL

琼脂 15g

蒸馏水 1000mL

制法:加热溶解,分装试管,121℃高压灭菌 15min.放成斜面.

试验方法:用琼脂培养物接种整个斜面,在 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 7d,每天观察结果.阳性者培养基变为红色.

06 丙二酸钠培养基

成分:

酵母浸膏 1g

硫酸铵 2g

磷酸氢二钾 0.6g

磷酸二氢钾 0.4g

氯化钠 2g

丙二酸钠 3g

0.2%溴麝香草酚蓝溶液 12mL

蒸馏水 1000mL

pH6.8

制法:先将酵母浸膏和盐类溶解于水,校正 pH 后再加入指示剂,分装试管,121℃ 高压灭菌 15min.

试验方法:用新鲜的琼脂培养物接种,于 36±1℃ 培养 48h,观察结果.阳性者由绿色变为蓝色.

07 葡萄糖铵培养基

成分:

氯化钠 5g

硫酸镁(MgSO₄·7H₂O) 0.2g

磷酸二氢铵 1g

磷酸氢二钾 1g

葡萄糖 2g

琼脂 20g

蒸馏水 1000mL

0.2%溴麝香草酚蓝溶液 40mL

pH6.8

制法:先将盐类和糖溶解于水内,校正 pH,再加琼脂,加热溶化,然后加入指示剂,混合均匀后分装试管,121℃ 高压灭菌 15min,放成斜面.

试验方法:用接种针轻轻触及培养物的表面,在盐水管内做成极稀的悬液,肉眼观察不见混浊,以每一接种环内含菌数在 20~100 之间为宜.将接种环灭菌后挑取菌液接种,同时再以同法接种普通斜面一支作为对照.于 36±1℃ 培养 24h.阳性者葡萄糖铵斜面上有正常大小的菌落生长;阴性者不生长,但在对照培养基上生长良好.如在葡萄糖铵斜面生长极微小的菌落可视为阴性结果.

注:容器使用前应用清洁液浸泡.再用清水,蒸馏水冲洗干净,并用新棉花做成棉塞,干热灭菌后使用.如果操作时不注意,有杂质污染时,易造成假阳性的结果.

08 Hugh-Leifson 培养基(O/F 试验用)

成分:

蛋白胨 2g

氯化钠 5g

磷酸氢二钾 0.3g

琼脂 4g

葡萄糖 10g

0.2%溴麝香草酚蓝溶液 12mL

蒸馏水 1000mL

pH7.2

制法:将蛋白胨和盐类加水溶解后,校正 pH 至 7.2.加入葡萄糖,琼脂煮沸,溶化琼脂,然后加入指示剂.混匀后,分装试管,121℃ 高压灭菌 15min,直立凝固备用.

试验方法:从斜面上挑取小量培养物作穿刺接种,同时接种两支培养基,其中一支于接种后滴加溶化的 1%琼脂液于表面,高度约 1cm,于 36±1℃ 培养.

09 马尿酸钠培养基

成分:

马尿酸钠 1g

肉浸液 100mL

制法:将马尿酸钠溶解于肉浸液内,分装于小试管内,并于管壁画一横线.以标志管内液面高度,高压灭菌 121℃ 20min.

试剂:三氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)12g,溶于 2%盐酸溶液 100mL 中即成.

试验方法:用纯培养物接种,于 42℃ 培养 48h,观察培养液是否到达试管壁上记号处,如不足时,用蒸馏水补足至原量.经离心沉淀,吸取上清液 0.8mL,加入三氯化铁试剂 0.2mL,立即混合均匀,经 10~15min,观察结果.

结果:出现恒久之沉淀物为阳性.

10 营养明胶

成分:

蛋白胨 5g

牛肉膏 3g

明胶 120g

蒸馏水 1000mL

pH6.8~7.0

制法:加热溶解,校正至 pH7.4~7.6,分装小管,121℃ 高压灭菌 10min,取出后迅速冷却,使其凝固.复查最终 pH 应为 6.8~7.0.

试验方法:用琼脂培养物穿刺接种,放在 22~25℃ 培养,每天观察结果,记录液化时间.或放在 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养,每天取出,放冰箱内 30min 后再观察结果.

11 苯丙氨酸培养基

成分:

酵母浸膏 3g

DL-苯丙氨酸(或 L-苯丙氨酸 1g) 2g

磷酸氢二钠 1g

氯化钠 5g

琼脂 12g

蒸馏水 1000mL

制法:加热溶解后分装试管,121℃ 高压灭菌 15min,使成斜面.

试验方法:自琼脂斜面上挑取大量培养物,移种于苯丙氨酸琼脂,在 $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 4h 或 18~24h.滴加 10%三氯化铁溶液 2~3 滴,自斜面培养物上流下,苯丙氨酸脱氨酶阳性者呈深绿色.

12 氨基酸脱羧酶试验培养基

成分:

蛋白胨 5g

酵母浸膏 3g

葡萄糖 1g

蒸馏水 1000mL

1.6%溴甲酚紫-乙醇溶液 1mL

L-氨基酸或 DL-氨基酸 0.5 或 1g/100mL

pH6.8

制法:除氨基酸以外的成分加热溶解后,分装每瓶 100mL,分别加入各种氨基酸:赖氨酸,精氨酸和鸟氨酸.L-氨基酸按 0.5%加入,DL-氨基酸按 1%加入.再行校正 pH 至 6.8.对照培养基不加氨基酸.分装于灭菌的小试管内,每管 0.5mL,上面滴加一层液体石蜡,115℃ 高压灭菌 10min.

试验方法:从琼脂斜面上挑取培养物接种,于 36±1℃ 培养 18~24h,观察结果.氨基酸脱羧酶阳性者由于产碱,培养基应呈紫色.阴性者无碱性产物,但因葡萄糖产酸而使培养基变为黄色.对照管应为黄色.

13 蛋白胨水(靛基质试验用)

成分:

蛋白胨(或胰蛋白胨) 20g

氯化钠 5g

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:按上述成分配制,分装小试管,121℃ 高压灭菌 15min.

靛基质试剂

柯凡克试剂:将 5g 对二甲氨基苯甲醛溶解于 75mL 戊醇中.然后缓慢加入浓盐酸 25mL.

欧-波试剂:将 1g 对二甲氨基苯甲醛溶解于 95mL95%乙醇内.然后缓慢加入浓盐酸 20mL.

试验方法:挑取少量培养物接种,在 36±1℃ 培养 1~2d,必要时可培养 4~5d.加入柯凡克试剂约 0.5mL,轻摇试管,阳性者于试剂层呈深红色;或加入欧-波试剂约 0.5mL,沿管壁流下,覆盖于培养液表面,阳性者于液面接触处呈玫瑰红色.

注:蛋白胨中应含有丰富的色氨酸.每批蛋白胨买来后,应先用已知菌种鉴定后方可使用.

14 硫酸亚铁琼脂(硫化氢试验用)

成分:

牛肉膏 3g

酵母浸膏 3g

蛋白胨 10g

硫酸亚铁 0.2g

硫代硫酸钠 0.3g

氯化钠 5g

琼脂 12g

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:加热溶解,校正 pH,分装试管,115℃ 高压灭菌 15min,取出直立候其凝固.

试验方法:挑取琼脂培养物,沿管壁穿刺,于 36±1℃ 培养 1~2d,观察结果.产硫化氢者使培养基变为黑色.

注:肠杆菌科细菌测定硫化氢的产生,应采用三糖铁琼脂或本培养基.

15 尿素琼脂

成分:

蛋白胨 1g

氯化钠 5g

葡萄糖 1g

磷酸二氢钾 2g

0.4%酚红溶液 3mL

琼脂 20g

蒸馏水 1000mL

20%尿素溶液 100mL

pH7.2±0.1

制法:将除尿素和琼脂以外的成分配好,并校正 pH,加入琼脂,加热溶化并分装烧瓶.121℃高压灭菌 15min.冷至 50~55℃,加入经除菌过滤的尿素溶液.尿素的最终浓度为 2%,最终 pH 应为 7.2±0.1.分装于灭菌试管内,放成斜面备用.

试验方法:挑取琼脂培养物接种,在 36±1℃培养 24h,观察结果.尿素酶阳性者由于产碱而使培养基变为红色.

16 氰化钾(KCN)培养基

成分:

蛋白胨 10g

氯化钠 5g

磷酸二氢钾 0.225g

磷酸氢二钠 5.64g

蒸馏水 1000mL

0.5%氰化钾溶液 20mL

pH7.6

制法:将除氰化钾以外的成分配好后分装烧瓶,121℃高压灭菌 15min.放在冰箱内使其充分冷却.每 100mL 培养基加入 0.5%氰化钾溶液 2.0mL(最后浓度为 1:10000),分装于 12mm×100mm 灭菌试管,每管约 4mL,立刻用灭菌橡皮塞塞紧,放在 4℃冰箱内,至少可保存两个月.同时,将不加氰化钾的培养基作为对照培养基,分装试管备用.

17 氧化酶试验

试剂:

1%盐酸二甲基对苯二胺溶液:少量新鲜配制,于冰箱内避光保存.

1%α-萘酚-乙醇溶液.

试验方法:取白色洁净滤纸沾取菌落.加盐酸二甲基对苯二胺溶液一滴,阳性者呈现粉红色,并逐渐加深;再加 α-萘酚溶液一滴,阳性者于半分钟内呈现鲜蓝色.阴性于两分钟内不变色.以毛细吸管吸取试剂,直接滴加于菌落上,其显色反应与以上相同.

18 硝酸盐培养基

成分:

硝酸钾 0.2g

蛋白 5g

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:溶解,校正 pH,分装试管,每管约 5mL,121℃高压灭菌 15min.

硝酸盐还原试剂:

甲液:将对氨基苯磺酸 0.8g 溶解于 2.5mol/L 乙酸溶液 100mL 中.

乙液:将甲萘胺 0.5g 溶解于 2.5mol/L 乙酸溶液 100mL 中.

试验方法:接种后在 36±1℃ 培养 1~4d,加入甲液和乙液各一滴,观察结果.硝酸盐还原为亚硝酸盐时于立刻或数分钟内显红色.

注:本试验阴性的原因有三:细菌不能还原硝酸盐;亚硝酸盐继续分解,生成氨和氮;培养基不适于细菌的生长.如欲检查培养基中硝酸盐是否未被分解,可再加入锌粉少许,可使硝酸盐还原为亚硝酸盐而呈现红色.

19 细胞色素氧化酶试验

试剂:

1%盐酸二甲基对苯二胺溶液.

1%α-萘酚-乙醇溶液.

试验方法:取 37℃(或低于 37℃)培养 20h 的斜面培养物一支,将两种试剂各 2~3 滴,从斜面上端滴下,并将斜面略加倾斜,使试剂混合液流经斜面上的培养物.如系平板培养物,则可用试剂混合液滴在菌落上.

结果:于 2min 内呈现蓝色者为阳性.阳性培养物大多数于半分钟内出现强阳性反应,2min 以后出现微弱或可疑反应均作为阴性结果.

20 过氧化氢酶试验

试剂:3%过氧化氢溶液:临时配制.

试验方法:挑取固体培养基上菌落一接种环,置于洁净试管内,滴加 3%过氧化氢溶液 2mL,观察结果.

结果:于半分钟内发生气泡者为阳性,不发生气泡者为阴性.

21 过氧化物酶试验

试剂:2%儿茶酚溶液.

3%过氧化氢溶液.

试验方法:挑取固体培养基上菌落一接种环,置于洁净试管内,滴加 2%儿茶酚溶液 1mL 及 3%过氧化氢溶液 1 mL.静置于室温(20℃)中 30~60min,观察结果.

结果:阳性反应,细菌变为黑褐色;阴性反应,细菌不变色.

注:过氧化物酶的作用可受氰化钾的抑制.

22 磷酸盐缓冲液

储存液

磷酸二氢钾 34g

1mol/L 氢氧化钠溶液 175mL

蒸馏水 825mL

pH7.2

制法:先将磷酸盐溶解于 500mL 蒸馏水中,用 1mol/L 氢氧化钠溶液校正 pH 后,再用蒸馏水稀释至 1000mL.

稀释液:取储存液 1.25mL,用蒸馏水稀释至 1000mL.分装每瓶 100mL 或每管 10mL,121℃ 高压灭菌 15min.

23 明胶磷酸盐缓冲液

成分:

明胶 2g

磷酸氢二钠 4g

蒸馏水 1000mL

pH6.2

制法:加热溶解,校正 pH,121℃ 高压灭菌 15min.

24 乳酸-苯酚溶液

成分:

苯酚 10g

乳酸(比重 1.21) 10g

甘油 20g

蒸馏水 10mL

制法:将苯酚在水中加热溶解,然后加入乳酸及甘油.

用途:检验真菌形态时用.

25 肉浸液肉汤

成分:

绞碎牛肉 500g

氯化钠 5g

蛋白胨 10g

磷酸氢二钾 2g

蒸馏水 1000mL

制法:将绞碎之去筋膜无油脂牛肉 500g 加蒸馏水 1000mL,混合后放冰箱过夜,除去液面之浮油,隔水煮沸半小时,使肉渣完全凝结成块,用绒布过滤,并挤压收集全部滤液,加水补足原量.加入蛋白胨,氯化钠和磷酸盐,溶解后校正 pH7.4~7.6 煮沸并过滤,分装烧瓶,121℃ 高压灭菌 30min.

26 肉浸液琼脂

成分:

肉浸液肉汤(PH7.4) 1000mL

琼脂 17~20g

制法:加热溶化琼脂,分装烧瓶或试管,121℃ 高压灭菌 30min.根据需要,倾注平板或放成斜面.

27 牛肉(或牛心)消化汤

成分:

绞碎牛肉(或牛心) 1000g

15%氢氧化钠溶液 27mL

胰蛋白酶 40mL

三氯甲烷 1mL

氯化钠 10g

蒸馏水 2000mL

制法:

- 1 称取碎牛肉,加蒸馏水,隔水加热到 80℃,维持 15min.
- 2 加氢氧化钠溶液,对 pH 试纸呈弱碱性,冷至 40℃.
- 3 加胰蛋白酶,氯仿,在 36±1℃放置 4~5h,每小时摇动一二次.
- 4 4h 后,吸取上层液 5mL 于试管中,加 5%硫酸铜溶液 0.1mL,4%氢氧化钠溶液 5mL,混合之.若呈红色,则不须再消化,可由温箱取出.
- 5 加入 15%乙酸溶液 45mL,对 pH 试纸呈酸性.
- 6 煮沸 15min,使胰蛋白酶破坏,冷后,放冰箱内一夜.
- 7 次日吸取上层清液,加氯化钠 10g,并加水补足原量,煮沸.
- 8 校正 pH7.4~7.6(加 15%氢氧化钠溶液约 10mL),加热,用滤纸过滤,分装烧瓶,121℃高压灭菌 20min.

注:①此培养基可作为琼脂培养基的基础,不需加蛋白胨.

②胰蛋白酶之配制:称取去脂绞碎的猪胰 500g,加入乙醇 500mL,蒸馏水 1500mL,混合之,装入玻塞瓶内.每日摇匀三次.3d 后,用绒布过滤挤出其汁,加盐酸至 0.05%,放冰箱内保存备用.

28 血消化汤

成分:

绞碎猪胃 100g

绞碎猪血块 100g

蒸馏水 1000mL

浓盐酸 10mL

制法:

- 1 洗涤猪胃,除去油脂,保留胃粘膜,用绞肉机绞碎.
- 2 用绞肉机将猪血块绞碎.
- 3 将蒸馏水加热至 55℃,加入猪胃,猪血块和盐酸,置 55℃水浴中 24h,时常加以摇动.
- 4 从水浴内取出,加入 1mol/L 碳酸钠溶液 5mL,煮沸 10min,置于冰箱内一夜.
- 5 吸取上层清液,加磷酸氢二钾 1g,加热至 75℃,加入 1mol/L 碳酸钠溶液 45mL,煮沸,校正 pH7.2~7.4.
- 6 用滤纸过滤,分装烧瓶,121℃高压灭菌 20min.

29 豆粉琼脂

成分:

牛心消化汤(pH7.4~7.6) 1000mL

琼脂 20g

黄豆粉浸液 50mL

制法:将琼脂加在牛心消化汤内,加热溶解,过滤.加入豌豆粉浸液,分装每瓶 100mL,121℃高压灭菌 15min.

豌豆粉浸液制法:取豌豆粉 5g,氯化钠 10g,加入蒸馏水 100mL.置 100℃水浴内加热 1h,放于冰箱中过夜.吸取上清液即为豌豆浸液.

30 血琼脂

成分:

pH7.4~7.6 豆粉琼脂 100mL

脱纤维羊血(或兔血) 5~10mL

制法:加热溶化琼脂,冷至 50℃,以灭菌手续加入脱纤维羊血,摇匀,倾注平板.亦可分装灭菌试管,置成斜面.亦可用其他营养丰富的基础培养基配制血琼脂.

31 营养琼脂

成分:

蛋白胨 10g

牛肉膏 3g

氯化钠 5g

琼脂 15~20g

蒸馏水 1000mL

制法:将除琼脂以外的各成分溶解于蒸馏水内,加入 15%氢氧化钠溶液约 2mL,校正 pH 至 7.2~7.4.加入琼脂,加热煮沸,使琼脂溶化.分装烧瓶,121℃ 高压灭菌 15min.

注:此培养基可供一般细菌培养之用,可倾注平板或制成斜面.如用于菌落计数,琼脂量为 1.5%;如作成平板或斜面,则应为 2%.

32 营养肉汤

成分:

蛋白胨 10g

牛肉膏 3g

氯化钠 5g

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:按上述成分混合,溶解后校正 pH,分装烧瓶,每瓶 225mL,121℃ 高压灭菌 15min.

33 乳糖胆盐发酵管

成分:

蛋白胨 20g

猪胆盐(或牛,羊胆盐) 5g

乳糖 10g

0.04%溴甲酚紫水溶液 25mL

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:将蛋白胨,胆盐及乳糖溶于水中,校正 pH,加入指示剂,分装每管 10mL,并放入一个小倒管,115℃ 高压灭菌 15min.

注:双料乳糖胆盐发酵管除蒸馏水外,其他成分加倍.

34 乳糖发酵管

成分:

蛋白胨 20g

乳糖 10g

0.04%溴甲酚紫水溶液 25mL

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:将蛋白胨及乳糖溶于水中,校正 pH,加入指示剂,按检验要求分装 30mL,10mL 或 3mL,并放入一个小倒管,115℃高压灭菌 15min.

注:①双料乳糖发酵管除蒸馏水外,其他成分加倍.

②30mL 和 10mL 乳糖发酵管专供酱油及酱类检验用,3mL 乳糖发酵管供大肠菌群证实试验用.

35 EC 肉汤

成分:

胰蛋白胨 20g

3 号胆盐(或混合胆盐) 1.5g

乳糖 5g

磷酸氢二钾 4g

磷酸二氢钾 1.5g

氯化钠 5g

蒸馏水 1000mL

制法:将上述成分混合,溶解后,分装有发酵倒管的试管中,121℃高压灭菌 15min,最终 pH 为 6.9±0.2.

36 缓冲蛋白胨水(BP)

成分:

蛋白胨 10g

氯化钠 5g

磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 9g

磷酸二氢钾 1.5g

蒸馏水 1000mL

pH7.2

制法:按上述成分配好后以大烧瓶装,121℃高压灭菌 15min.临用时无菌分装每瓶 225mL.

注:本培养基供沙门氏菌前增菌用.

37 氯化镁孔雀绿增菌液(MM)

甲液

胰蛋白胨 5g

氯化钠 8g

磷酸二氢钾 1.6g

蒸馏水 1000mL

乙液

氯化镁(化学纯) 40g

蒸馏水 100mL

4.13.3 丙液

0.4%孔雀绿水溶液.

制法:分别按上述成分配好后,121℃高压灭菌 15min 备用.临用时取甲液 90mL,乙液 9mL,丙液 0.9mL,以无菌操作混合即可.

注:本培养基亦称 Rappaport 10(R10)增菌液.

38 四硫磺酸钠煌绿增菌液(TTB)

基础培养基

多肽或胨 5g

胆盐 1g

碳酸钙 10g

硫代硫酸钠 30g

蒸馏水 1000mL

碘溶液

碘 6g

碘化钾 5g

蒸馏水 20mL

制法:将基础培养基的各成分加入蒸馏水中,加热溶解,分装每瓶 100mL.分装时应随时振摇,使其中的碳酸钙混匀.121℃高压灭菌 15min 备用.临用时每 100mL 基础培养基中加入碘溶液 2mL,0.1%煌绿溶液 1mL.

39 四硫磺酸钠煌绿增菌液(换用方法)

基础液:

蛋白胨 10g

牛肉膏 5g

氯化钠 3g

碳酸钙 45g

蒸馏水 1000mL

将各成分加入于蒸馏水中,加热至约 70℃溶解,校正 pH 至 7.0±0.1,121℃高压灭菌 20min.

硫代硫酸钠溶液

硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 50g

蒸馏水 加至 100mL

碘溶液

碘片 20g

碘化钾 25g

蒸馏水加至 100mL

将碘化钾充分溶解于少量的蒸馏水中,加入碘片,振摇玻瓶至碘片全部溶解,再加入蒸馏水至规定量.贮于棕色玻瓶内,紧塞瓶盖备用.

煌绿水溶液

煌绿 0.5g

蒸馏水 100mL

存放暗处,不少于 1d,使其自然灭菌.

牛胆盐溶液

干燥的牛胆盐 10g

蒸馏水 100mL

煮沸溶解,121℃高压灭菌 20min.

制备:

基础液 900mL

硫代硫酸钠溶液 100mL

碘液 20mL

煌绿溶液 2mL

牛胆盐溶液 50mL

临用前,按上列顺序,以无菌操作依次加入于基础液中,每加入一种成分,均应摇匀后再加入另一种成分.分装于灭菌瓶中,每瓶 100mL.

40 亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC)

成分:

蛋白胨 5g

乳糖 4g

亚硒酸氢钠 4g

磷酸氢二钠 5.5g

磷酸二氢钾 4.58

L-胱氨酸 0.01g

蒸馏水 1000mL

1%-胱氨酸-氢氧化钠溶液的配法:称取 L-胱氨酸 0.1g(或 DL-胱氨酸 0.2g),加 1mol/L 氢氧化钠 1.5mL,使溶解,再加入蒸馏水 8.5mL 即成.

制法:将除亚硒酸氢钠和 L-胱氨酸以外的各成分溶解于 900mL 蒸馏水中,加热煮沸,俟冷备用.另将亚硒酸氢钠溶解于 100mL 蒸馏水中,加热煮沸,候冷,以无菌操作与上液混合.再加入 1%-胱氨酸-氢氧化钠溶液 1mL.分装于灭菌瓶中,每瓶 100mL,pH 应为 7.0±0.1.

41 GN 增菌液

成分:

胰蛋白胨 20g

葡萄糖 1g

甘露醇 2g

柠檬酸钠 5g

去氧胆酸钠 0.5g

磷酸氢二钾 4g

磷酸二氢钾 1.5g

氯化钠 5g

蒸馏水 1000mL

pH7.0

制法:按上述成分配好,加热使溶解,校正 pH.分装每瓶 225mL,115℃高压灭菌 15min.

42 肠道菌增菌肉汤

成分:

蛋白胨 10g

葡萄糖 5g

牛胆盐 20g

磷酸氢二钠 8g

磷酸二氢钾 2g

煌绿 0.015g

蒸馏水 1000mL

pH7.2

制法:按上述成分配好,加热使溶解,校正 pH.分装每瓶 30mL,115℃ 高压灭菌 15min.

43 亚硫酸铋琼脂(BS)

成分:

蛋白胨 10g

牛肉膏 5g

葡萄糖 5g

硫酸亚铁 0.3g

磷酸氢二钠 4g

煌绿 0.025g

柠檬酸铋铵 2g

亚硫酸钠 6g

琼脂 18~20g

蒸馏水 1000mL

pH7.5

制法:

1 将前面 5 种成分溶解于 300mL 蒸馏水中.

2 将柠檬酸铋铵和亚硫酸钠另用 50mL 蒸馏水溶解.

3 将琼脂于 600mL 蒸馏水中煮沸溶解,冷至 80℃

4 将以上三液合并,补充蒸馏水至 1000mL,校正 pH,加 0.5%煌绿水溶液 5mL,摇匀.冷至 50~55℃,倾注平皿.

注:此培养基不需高压灭菌.制备过程不宜过分加热.以免降低其选择性.应在临用前一天制备,贮存于室温暗处.超过 48h 不宜使用.

44 DHL 琼脂

成分:

蛋白胨 20g

牛肉膏 3g

乳糖 10g

蔗糖 10g

去氧胆酸钠 1g

硫代硫酸钠 2.3g

柠檬酸钠 1g
柠檬酸铁铵 1g
中性红 0.03g
琼脂 18~20g
蒸馏水 1000mL
pH7.3

制法:将除中性红和琼脂以外的成分溶解于 400mL 蒸馏水中,校正 pH. 再将琼脂于 600mL 蒸馏水中煮沸溶解,两液合并,并加入 0.5%中性红水溶液 6mL,待冷至 50~55℃,倾注平板.

45 HE 琼脂

成分:

豚豚 12g
牛肉膏 3g
乳糖 12g
蔗糖 12g
水杨素 2g
胆盐 20g
氯化钠 5g
琼脂 18~20g
蒸馏水 1000mL
0.4%溴麝香草酚蓝溶液 16mL
Andrade 指示剂 20mL
甲液 20mL
乙液 20mL

pH7.5

制法:将前面七种成分溶解于 400mL 蒸馏水内作为基础液;将琼脂加入于 600mL 蒸馏水内,加热溶解.加入 甲液和乙液于基础液内,校正 pH.再加入指示剂,并与琼脂液合并,待冷至 50~55℃,倾注平板.

注:①此培养基不可高压灭菌.

②甲液的配制

硫代硫酸钠 34g
柠檬酸铁铵 4g
蒸馏水 100mL

②乙液的配制

去氧胆酸钠 10g
蒸馏水 100mL

②Andrade 指示剂

酸性复红 0.5g
1mol/L 氢氧化钠溶液 16mL
蒸馏水 100mL

将复红溶解于蒸馏水中,加入氢氧化钠溶液.数小时后如复红褪色不全,再加氢氧化钠溶液 1~2mL.

46 SS 琼脂

基础培养基:

牛肉膏 5g
豚豚 5g

三号胆盐 3.5g

琼脂 17g

蒸馏水 1000mL

再将两液混合,121℃ 高压灭菌 15min,保存备用.

完全培养基:

基础培养基 100mL

乳糖 10g

柠檬酸钠 8.5g

硫代硫酸钠 8.5g

10%柠檬酸铁溶液 10mL

1%中性红溶液 2.5mL

0.1%煌绿溶液 0.33mL

加热溶化基础培养基,按比例加入上述染料以外之各成分,充分混合均匀,校正至 pH7.0,加入中性红和煌绿溶液,倾注平板.

注:①制好的培养基宜当日使用,或保存于冰箱内于 48h 内使用.

②煌绿溶液配好后应在 10d 以内使用.

③可以购用 SS 琼脂的干燥培养基.

47 WS 琼脂

成分:

②胨 12g

牛肉膏 3g

氯化钠 5g

乳糖 12g

蔗糖 12g

十二烷基硫酸钠 2g

琼脂 15g

Andrade 指示剂 20mL

0.4%溴麝香草酚蓝溶液 16mL

甲液 20mL

蒸馏水 1000mL

pH7.0

制法:除指示剂和甲液外,将其他成分加热溶解,不需消毒,校正 pH 后加入指示剂和甲液,倾注平板应呈草绿色.

注:①供沙门氏菌分离用.

②Andrade 指示剂和甲液的配制均见 HE 琼脂.

48 麦康凯琼脂

成分:

蛋白胨 17g

胨 3g

猪胆盐(或牛,羊胆盐) 5g

氯化钠 5g

琼脂 17g

蒸馏水 1000mL

乳糖 10g

0.01%结晶紫水溶液 10mL

0.5%中性红水溶液 5mL

制法:

1 将蛋白胨,豚胆盐和氯化钠溶解于 400mL 蒸馏水中,校正 pH7.2.将琼脂加入 600mL

加热溶解.将两液合并,分装于烧瓶内,121℃高压灭菌 15min 备用.

2 临用时加热溶化琼脂,趁热加入乳糖,冷至 50~55℃时,加入结晶紫和中性红水溶液,摇匀后倾注平板.

注:结晶紫及中性红水溶液配好后须经高压灭菌.

49 伊红美蓝琼脂(EMB)

成分:

蛋白胨 10g

乳糖 10g

磷酸氢二钾 2g

琼脂 17g

2%伊红 Y 溶液 20mL

0.65%美蓝溶液 10mL

蒸馏水 1000mL

pH7.1

制法:将蛋白胨,磷酸盐和琼脂溶解于蒸馏水中,校正 pH,分装于烧瓶内,121℃高压灭菌 15min 备用.临用时加入乳糖并加热溶化琼脂,冷至 50~55℃,加入伊红和美蓝溶液,摇匀,倾注平板.

50 三糖铁琼脂(TSI)

成分:

蛋白胨 20g

牛肉膏 5g

乳糖 10g

蔗糖 10g

葡萄糖 1g

氯化钠 5g

硫酸亚铁铵〔Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O〕 0.2g

硫代硫酸钠 0.2g

琼脂 12g

酚红 0.025g

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH.加入琼脂,加热煮沸,以溶化琼脂.加入 0.2%酚红水溶液 12.5mL,摇匀.分装试管,装量宜多些,以便得到较高的底层.121℃高压灭菌 15min.放置高层斜面备用.

51 三糖铁琼脂(换用方法)

成分:

蛋白胨 15g

胨 5g

牛肉膏 3g

酵母膏 3g

乳糖 10g

蔗糖 10g

葡萄糖 1g

氯化钠 5g

硫酸亚铁 0.2g

硫代硫酸钠 0.3g

琼脂 12g

酚红 0.025g

蒸馏水 1000mL

pH7.4

制法:将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH.加入琼脂,加热煮沸,以溶化琼脂.加入 0.2%酚红水溶液 12.5mL,摇匀.分装试管,装量宜多些,以便得到较高的底层.121℃ 高压灭菌 15min,放置高层斜面备用.

52 克氏双糖铁琼脂(KI)

上层培养基成分

血消化汤(pH7.6) 500mL

琼脂 6.5g

硫代硫酸钠 0.1g

硫酸亚铁铵 0.1g

乳糖 5g

0.2%酚红溶液 5mL

下层培养基成分

血消化汤(pH7.6) 500mL

琼脂 2g

葡萄糖 1g

0.2%酚红溶液 5mL

制法:

- 1 取血消化汤按上层和下层的琼脂用量,分别加入琼脂,加热溶解.
- 2 分别加入其他各种成分.将上层培养基分装于烧瓶内;将下层培养基分装于灭菌 12mm×100mm 试管内,每管约 2mL.115℃ 高压灭菌 10min.
- 3 将上层培养基放在 56℃ 水浴箱内保温;将下层培养基直立放在室温内,使其凝固.
- 4 当下层培养基凝固后,以无菌手续将上层培养基分装于下层培养基的上面,每管约 1.5mL,放成斜面.

53 克氏双糖铁琼脂(换用方法)

成分:

蛋白胨 20g

牛肉膏 3g
酵母膏 3g
乳糖 10g
葡萄糖 1g
氯化钠 5g
柠檬酸铁铵 0.5g
硫代硫酸钠 0.5g
琼脂 12g
酚红 0.025g
蒸馏水 1000mL
pH7.4

制法:将除琼脂和酚红以外的各成分溶解于蒸馏水中,校正 pH.加入琼脂,加热煮沸,以溶化琼脂.加入 0.2%酚红水溶液 12.5mL,摇匀.分装试管,装量宜多些,以便得到比较高的底层.121℃ 高压灭菌 15min.放置高层斜面备用.

54 葡萄糖半固体发酵管

成分:

蛋白胨 1g
牛肉膏 0.3g
氯化钠 0.5g
1.6%溴甲酚紫酒精溶液 0.1mL
葡萄糖 1g
琼脂 0.3g
蒸馏水 100mL
pH7.4

制法:将蛋白胨,牛肉膏和氯化钠加入于水中,校正 pH 后加入琼脂加热溶解,再加入指示剂和葡萄糖,分装小试管,灭菌 121℃ 15 min.

55 5%乳糖发酵管

成分:

蛋白胨 0.2g
氯化钠 0.5g
乳糖 5g
2%溴麝香草酚蓝水溶液 1.2mL
蒸馏水 100mL
pH7.4

制法:除乳糖以外的各成分:溶解于 50mL 蒸馏水内,校正 pH.将乳糖溶解于另外 50mL 蒸馏水内,分别灭菌 121℃ 15min,将两液混合,以无菌操作分装于灭菌小试管内.

注:在此培养基内,大部分乳糖迟缓发酵的细菌可于 1d 内发酵.

56 CAYE 培养基

此培养基附在肠毒素诊断试剂盒内,如无此培养基,亦可用 Honda 氏产毒肉汤.

57 Honda 氏产毒肉汤

成分:

水解酪蛋白 20g

酵母浸膏粉 10g

氯化钠 2.5g

磷酸氢二钠 15g

葡萄糖 5g

微量元素 0.5mL

蒸馏水 1000mL

pH7.5

制法:溶解后校正 pH,高压灭菌 121℃ 15min,待冷至 45~50℃时,加入林可霉素溶液,每毫升培养基内含 90μg.

微量元素配方:硫酸镁 5g,氯化铁 0.5g,氯化钴 2g,蒸馏水 100mL

58 Elek 氏培养基(毒素测定用)

成分:

胨 20g

麦芽糖 3g

乳糖 0.7g

氯化钠 5g

琼脂 15g

40%氢氧化钠溶液 1.5mL

蒸馏水 1000mL

pH7.8

制法:用 500mL 蒸馏水溶解琼脂以外的成分,煮沸,并用滤纸过滤.用 1mol/L 氢氧化钠校正 pH.用另外 500mL 蒸馏水加热溶解琼脂.将两液混合,分装试管 10mL 或 20mL.121℃ 高压灭菌 15min.临用时加热溶化琼脂倾注平板.

59 氯化镁孔雀绿羧苄青霉素培养基

成分:

甲液:胰蛋白胨 10g

蒸馏水 1000mL

乙液:磷酸氢二钠 9.5g

蒸馏水 1000mL

丙液:氯化镁(MgCl₂·6H₂O) 40g

蒸馏水 400mL

以上分别在 121℃ 灭菌 15min.

丁液:孔雀绿 0.2g

蒸馏水 100mL

戊液:羧苄青霉素 1mg/mL

制法:取甲液 620mL,乙液 160mL,丙液 212mL 混合,再加入丁液 6.4mL 和戊液 2.4mL,即为 1000mL 培养基.分装灭菌烧瓶,每瓶 100mL,或灭菌试管 10mL.

60 胰蛋白胨水

成分:

胰蛋白胨 10g

蒸馏水 1000mL

pH7.0

制法:将上述成分溶解,校正 pH.分装试管,121℃ 高压灭菌 15min.

61 Rustigian 氏尿素培养液

成分:

尿素 20.0g

酵母浸膏 0.1g

磷酸二氢钾(KH₂PO₄) 0.091g

磷酸氢二钠(Na₂HPO₄) 0.095g

酚红 0.01g

蒸馏水 1000mL

制法:将上述成分:于蒸馏水中溶解,校正 pH 为 6.8±0.2. 不要加热,过滤除菌,无菌分装于灭菌小试管 中,每管为约 3mL.

用途:尿素酶试验用.

62 氯化钠结晶紫增菌液

成分:

蛋白胨 20g

氯化钠 40g

0.01%结晶紫溶液 5mL

蒸馏水 1000mL

pH9.0

制法:

除结晶紫外,其他按上述成分:配好,加热溶解.约加 30%氢氧化钾溶液 4.5mL,校正 pH.加热煮沸,过滤.再加入结晶紫溶液,混合后分装试管.121℃ 高压灭菌 15min.

63 氯化钠蔗糖琼脂

成分:

蛋白胨 10g

牛肉膏 10g

氯化钠 50g

蔗糖 10g

琼脂 18g

0.2%溴麝香草酚蓝溶液 20mL

蒸馏水 1000mL

pH7.8

制法:将牛肉膏,蛋白胨及氯化钠溶解于蒸馏水中,校正 pH.加入琼脂,加热溶解,过滤.加入指示剂,分装烧瓶 100 mL.121℃ 高压灭菌 15min 备用.临用前在 100mL 培养基内加入蔗糖 1g,加热溶化并冷至 50℃,倾注平板.

64 嗜盐菌选择性琼脂

成分:

蛋白胨 20g

氯化钠 40g

琼脂 17g

0.01%结晶紫溶液 5mL

蒸馏水 1000mL

pH8.7

制法:除结晶紫和琼脂外,其他按上述成分配好,校正 pH.加入琼脂,加热溶解.再加入结晶紫溶液,分装烧瓶,每瓶 100mL.

65 3.5%氯化钠三糖铁琼脂

成分:

三糖铁琼脂 1000mL

氯化钠 30g

制法:按前面三糖铁琼脂,再加入氯化钠 30g,分装试管,121℃ 高压灭菌 15min.放置高层斜面备用.

66 氯化钠血琼脂

成分:

酵母膏 3g

蛋白胨 10g

氯化钠 70g

磷酸氢二钠 5g

甘露醇 10g

结晶紫 0.001g

琼脂 15g

蒸馏水 1000mL

制法:调 pH8.0 加热 30min(不必高压),待冷至 45℃ 左右时,加入新鲜人或兔血(5%~10%)混合均匀,倾注平皿.

67 3.5%氯化钠生化试验培养基

成分及制法:根据所需糖的种类按 3.2 配制.只是将氯化钠含量改为 3.5%,pH 为 7.7.

68 改良磷酸盐缓冲液(小肠结肠炎耶尔森氏菌专用)

成分:

磷酸氢二钠(Na_2HPO_4) 8.23g

磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 1.2g

氯化钠(NaCl) 5.0g

三号胆盐 1.5g

山梨醇 20g

制法:将磷酸盐及氯化钠溶于蒸馏水中,再加入三号胆盐及山梨醇,溶解后校正 pH 为 7.6,分装试管,于 121℃ 高压灭菌 15min,备用.

69 CIN-1 培养基

基础培养基

胰酶 20.0g

酵母浸膏 2.0g

甘露醇 20.0g

氯化钠 1.0g

去氧胆酸钠 2.0g

硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.01g

琼脂 12.0g

蒸馏水 950mL

pH7.5±0.1

将基础培养基高压灭菌.

Irgasan

以 95%的乙醇作溶剂,溶解二苯醚,配成 0.4%的溶液,待基础液冷至 80℃时,加入 1mL 混匀.

冷至 50℃时,加入:

中性红(3mg/mL) 10.0mL

结晶紫(0.1mg/mL) 10.0mL

头孢菌素(1.5mg/mL) 10.0mL

新生霉素(0.25mg/mL) 10.0mL

最后不断搅拌着加入 10.0mL 的 10%氯化锶,倒平皿.

70 嗜盐性试验培养基

成分:

蛋白胨 2g

氯化钠 按不同量加

蒸馏水 100mL

pH7.7

制法:配制 2%蛋白胨水,校正 pH,共配制 5 瓶,每瓶 100mL.每瓶分别加入不同量的氯化钠:(1)不加;(2)3g;(3)7g;(4)9g;(5)11g.待溶解后分装试管.121℃ 高压灭菌 15min.