

細菌學及免疫學實習指導

李振翩編

商務印書館發行

細菌學及免疫學實習指導

商務印書館發行

細菌學及免疫學實習指導

◆(52473)

編纂者 李 振 翹

發行者 商務印書館

上海馬路中法二二號

印刷者 商務印書館

發行所 商務印書館

上海及各地

★版權所有★

1941年3月初版
1950年10月3版 基價 8 元

序 言

吾國現在自然科學之研究，日趨發達，醫學方面，從事研究者，亦日益增多。惟在校攻習者，咸感於所閱讀之書籍，均為外國語文，初學之時，不免有望洋之嘆。即在擔任教授之責者，亦感於翻譯之勞，以此而耗費精神時間，其損失不可為細小，其影響於研究工作之進步者自必甚多。

至於實習指導之書籍，在國中尤為稀見。細菌學為醫學中之基本學科，而尤須注重實習，迄今尚乏善本。李振翩博士以多年教學之經驗為基本，參考國外當代載籍之所長，著為細菌學及免疫學實習指導一書，洵能發揮其專攻之所得，而有以解除教授是科及學習者之困難。其裨益於我醫學界者，誠非淺鮮也。

一九四〇年三月顏福慶。

2. 實習指導分實習程序實驗方法兩部，前已說過。每次實習時，須參閱各種有關之實驗方法，不可僅閱程序中所注明之實驗方法。

3. 實習時有以菌爲單位者，有以方法爲單位者，爲時間經濟起見，往往此單位尚未完，而彼單位已起，務宜認清目標，於每個單位完結之後，靜思默想，了解其前後因果。

4. 許多實驗工作，須於下課後行之。例如培養大便時，上午上課時挑選菌落，黃昏時接種於糖發酵管內，翌晨即可閱看其結果。故開始做某個試驗時，須預定計劃，分配時間，庶不致有誤，倘僅於上課時敷衍了事，下課後一概不管，則決無良好成績。

5. 寫報告時須將所見之真事實寫出，不可憑理想空寫，亦不可彼此鈔襲。

6. 每次實習時，工作簡繁不一，遇時間有多時，即可利用之以寫報告。

7. 每個實習單位完結後，最好立將報告寫就交出。如有特別原因，須延至下次方交，須與教員商量。

(三)顯微鏡之使用法

1. 檢查時須左右二目同時睜開，俾便於鏡下繪圖。切忌一睜一閉，日久易患頭痛。

2. 任何鏡面，須用拭鏡紙或軟綢左右或上下拂拭。切忌用硬物在鏡面上來回轉旋拂拭。如此則塵粒不易拭去，鏡面因之而生痕紋。拂拭油鏡。須用賽羅 (Xylol) 溶去柏油 (Cedar oil) 並立用拭鏡紙拭去賽羅。

3. 自然光下用反射鏡之平面。人工光則用凹面。有集光器則用平面，無者用凹面。

4. 普通檢查應用低倍接目鏡，詳細檢查用高倍接目鏡。

5. 檢查時須先用低倍乾鏡，待尋得目的物後，即將其移至視野之中央，然後換用高倍乾鏡詳察之。檢查懸滴，須將懸滴之邊緣移置視野之中央。用高倍乾鏡觀察之。用高倍油鏡須先將柏油一滴注於蓋片上，然後將高倍油鏡引近使與油滴接觸，愈近愈佳。但不可使油鏡與玻片互相撞擊。觀察時將油鏡向上捻轉，至明晰後爲止。

6. 檢查染色玻片可用較強光線。若檢查無色玻片則光線不可太強，須將集光器降低，或將光圈縮小，至明晰爲止。

7. 除高倍油鏡可與柏油接觸外,其他各鏡切忌與任何液體接觸。
8. 不可將顯微鏡曝露於日光中,因直射光線有害於反射鏡,而反射熱有害於接物鏡也。

目 錄

上卷 細菌學

實習程序.....	1
第一課至第八課 培養基製備.....	1
第九課 細菌之染色.....	2
第十課 革蘭氏染色法.....	2
第十一課 懸滴檢查及平板培養.....	3
第十二課 菌落形態之觀察及純培養之隔離.....	3
第十三課 傾注培養及各種培養法.....	3
第十四課 菌落計算及生物化學反應.....	4
第十五課 細菌之分佈，土中，水中，空氣中之細菌.....	5
第十六課 續.....	5
第十七課 滅菌法.....	5
第十八課 化學殺菌劑試驗.....	6
第十九課 葡萄球菌，鏈球菌及膿培養法.....	7
第二十課 續.....	7
第二十一課 葡萄球菌，鏈球菌，肺炎菌及痰培養法.....	7
第二十二課 續.....	8
第二十三課 續.....	8
第二十四課 續.....	8
第二十五課 白喉桿菌.....	8
第二十六課 續.....	9
第二十七課 白喉桿菌及嗜血菌屬.....	9
第二十八課 續.....	10
第二十九課 嗜血菌屬，淋球菌及腦膜炎菌.....	10

第三十課	續	11
第三十一課	結核桿菌	11
第三十二課	續	11
第三十三課	大腸傷寒痢疾桿菌屬	11
第三十四課	續	12
第三十五課	續	12
第三十六課	續	13
第三十七課	續	13
第三十八課	續	13
第三十九課	霍亂弧菌	14
第四十課	續	14
第四十一課	枯草桿菌,炭疽菌,鼠疫桿菌,馬鼻疽桿菌	14
第四十二課	續	15
第四十三課	厭氣菌	15
第四十四課	續	16
第四十五課	螺旋體及 Ricketts 氏體	16
第四十六課	續	16
第四十七課	黴菌	16
第四十八課	續	17
第四十九課	濾過性毒	17
第五十課	續	17
第五十一課	第五十二課 水及牛乳檢查	17
實驗方法		18
實驗方法一	氫游子濃度測定法	18
實驗方法二	肉浸液	19
實驗方法三	血消化液	20
實驗方法四	中國藍平板基	21
實驗方法五	糖培養基	21
實驗方法六	馬鈴薯基	22
實驗方法七	瓊脂基	22
實驗方法八	普通瓊脂平板及斜面	22

實驗方法九	血液瓊脂平板及斜面	23
實驗方法十	呂夫洛氏血清基	23
實驗方法十一	呂夫洛氏美藍染色法	23
實驗方法十二	萋耳氏石炭酸復紅染色法	24
實驗方法十三	革蘭氏染色法	24
實驗方法十四	抗酸菌染色法	26
實驗方法十五	白喉桿菌奈賽爾氏染色法	26
實驗方法十六	白喉桿菌妥盧亭染色法	27
實驗方法十七	瑞忒氏染色法	27
實驗方法十八	莢膜染色法	27
實驗方法十九	芽胞染色法	28
實驗方法二十	姬母薩氏染色法	28
實驗方法二十一	立克次體染色法	29
實驗方法二十二	懸滴檢查法	29
實驗方法二十三	抹片標本做法	30
實驗方法二十四	劃線平板培養法	30
實驗方法二十五	傾注平板培養方法	30
實驗方法二十六	化學品殺菌力試驗	31
實驗方法二十七	鹼基質試驗	31
實驗方法二十八	硝酸鹽還原試驗	32
實驗方法二十九	霍亂紅試驗法	32
實驗方法三十	膿捲棒或喉捲棒培養法	33
實驗方法三十一	菌落鑑別法	33
實驗方法三十二	細菌溶血試驗法	33
實驗方法三十三	膽汁溶菌試驗法	34
實驗方法三十四	痰培養法	34
實驗方法三十五	肺炎菌直接分型法	34
實驗方法三十六	肺炎菌液沉澱試驗法	35
實驗方法三十七	肺炎菌鼠分型法	35
實驗方法三十八	白喉桿菌毒力試驗法	36
實驗方法三十九	腦膜炎菌培養法	37

實驗方法四十	腦膜炎球菌帶菌者之檢查	37
實驗方法四十一	腦膜炎球菌凝集試驗	38
實驗方法四十二	結核菌濃縮檢查法	38
實驗方法四十三	痰中結核桿菌培養法	38
實驗方法四十四	大便培養法	39
實驗方法四十五	凝集試驗法	41
實驗方法四十六	續	41
實驗方法四十七	小便培養法	41
實驗方法四十八	霍亂弧菌檢查法	42
實驗方法四十九	簡易厭氣傾注培養法	42
實驗方法五十	水檢查法	43
實驗方法五十一	牛乳檢查法	44
實驗方法五十二	<i>Leptospira biflexa</i> 培養法	46
實驗方法五十三	皮膚黴菌之顯微鏡檢查法	47
實驗方法五十四	皮膚病黴菌培養法	47
實驗方法五十五	黴菌玻片培養法	48
實驗方法五十六	平板培養基上噬菌體集落表現法	48
實驗方法五十七	斜面培養基上噬菌體表現法	49
實驗方法五十八	液體溶菌試驗法：噬菌體潛力之測定	49
實驗方法五十九	噬菌體之鑑別	50

下卷 免疫血清學

免疫血清學實習程序表	53
實驗方法六十 血清溶菌試驗	54
實驗方法六十一 嗜菌試驗	55
實驗方法六十二 調理素試驗	55
實驗方法六十三 沉澱試驗	56
實驗方法六十四 凝集試驗	57
實驗方法六十五 血族檢查	59
實驗方法六十六 菌苗預備	59

實驗方法六十七	破傷風毒素試驗	61
實驗方法六十八	溶血試驗	62
實驗方法六十九	補體結合試驗(一)	63
實驗方法七十	補體結合試驗(二)	64
實驗方法七十一	補體結合試驗(三)	65
實驗方法七十二	補體結合試驗(四)	67
實驗方法七十三	瓦斯門反應(一)	68
實驗方法七十四	瓦斯門反應(二)	70
實驗方法七十五	康氏反應	71
實驗方法七十六	克氏反應	73
實驗方法七十七	錫克氏反應	74
實驗方法七十八	狄克氏反應	75
實驗方法七十九	結核菌素反應	76
實驗方法八十	種痘法	77

附錄 細菌學教授經驗談

細菌學及免疫學實習指導

上卷 細菌學

實習程序

第一課至第八課 培養基製備

(Preparation of media)

培養基預備在細菌學上爲極重要之工作，若培養基不佳，則種種培養試驗，均不能準確，諸生所製培養基，即留爲自己實習之用，務宜特別慎重。對於氫游子濃度之滴定（實驗方法一）尤須特別小心。

培養基種類甚多，爲時間所限，只能實習較普通者，共計八課，其分配如下：

第一課 依照實驗方法二，製備肉浸液 (Meat infusion) 每四人爲一組。

第二課 續

第三課 依照實驗方法三，製血消化液 (Blood digest broth) 然後用血消化液製成中國藍平板培養基 (China blue rosolic acid plate) (實驗方法四)。

第四課 續

第五課 依照實驗方法六，製馬鈴薯培養基。

第六課 製葡萄糖 (Glucose)，甘露醇 (Mannite)，麥芽糖 (Maltose)，蔗糖 (Sucrose)，乳糖 (Lactose) 等五種糖培養基。如第一組做葡萄糖，第二組做甘露醇，依此類推，做就交換應用 (實驗方法五)。

第七課 製造呂氏培養基 (Loeffler's Serum medium) 每四人爲一組 (實驗方法十)。

第八課 每組做普通瓊脂平板及斜面各二，血液瓊脂平板及斜面各二 (實驗方法七、八、九)。

第九課 細菌之染色 (Staining of bacteria)

1. 取牙籤從牙縫中挑出粘物少許，作成抹片（實驗方法二十三），用沙黃(Safranin) 染色，約一分鐘用水洗滌，以吸水紙吸乾，然後置於浸油鏡下檢查。將所見各物，繪圖表出，何者為細菌，能指出否。

2. 再作同樣標本二個：一用呂氏美藍(Loeffler's methylene blue) 染色（實驗方法十一）；一用石炭酸復紅(Carbol fuchsin) 染色（實驗方法十二）約一分鐘。然後檢查此片與沙黃染色標本所見，有何分別，繪圖。

3. 再做同樣標本一個，用瑞忒氏法 (Wright's method) 染色（實驗方法十七）過細察看有無特異之微生物，繪圖。

4. 每二人發紙盒一個，置自己或他人大便少許於內，明晨帶至課堂應用。

第十課 革蘭氏染色法 (Gram's stain)

1. 將大便做抹片標本三個：一用姜氏石炭酸復紅染色；一用美藍染色；一用革蘭氏法染色（實驗方法十三），檢查，繪圖。

2. 照昨天所用之方法，從牙縫中挑出粘物少許做一抹片標本，用革蘭氏法染色，述所見細菌之形態及顏色，並繪圖以明之。

3. 將發下之 A. B. C. D. 四個抹片*，分別做革蘭氏染色，看何者為革氏陽性，何者為陰性，立即報告。

問題

1. 述牙縫中粘物所見之微生物。
2. 述大便中所見之細菌。
3. 何謂革氏陽性，革氏陰性。

*此四個抹片，及第十一課中所用之平板及肉浸液培養，均由教員預備，以常見之革氏陽性及革氏陰性菌為宜，例如葡萄球菌，大腸桿菌，枯草桿菌，鏈球菌之類。兩種菌可混在一管內，以供學生分離之用。

第十一課 懸滴檢查及平板培養 (Hanging drop and plate culture)

1. 將發下之大腸菌及鏈球菌，各做一懸滴檢查(實驗方法二十二)，看所見之細菌能行動否。
2. 將發下之 A. B. C. D. 四種菌 (在肉浸液中或斜面上)，分別做懸滴檢查，看何菌有動力。立即報告。並做抹片，試用各種染色法染色，檢查。
3. 從 A. B. 等混合肉浸液培養中，接種一瓊脂平板培養基 (實驗方法二十四)。此為隔離細菌之初步方法。

第十二課 菌落形態之觀察及純培養之隔離 (Morphology of colonies of bacteria and isolation of pure culture)

1. 察看昨日所種之平板培養基，其結果如何，如各菌落彼此分離清晰，則結果很好，如各個集落混合成塊，彼此界限不分，則結果惡劣，須再做。
2. 注意平板培養基上，有幾種集落，每種若干，共有若干(各組互相交換)。
3. 依照實驗方法三十一，詳述各種集落之形態。並繪圖。
4. 將各種集落做一抹片標本(一玻璃片可做許多抹片標本)用革蘭氏法染色，然後觀察之。
5. 取代表集落一或二個，分別接種於肉浸液內，置於孵卵器中約十八至二十四小時，然後取出置於櫃內，或冰箱內，留待下次之用。

問題

1. 如何從許多混雜細菌中隔離一種純細菌。

第十三課 傾注培養及各種培養法 (Pour plate and other culture methods)

1. 將昨日所種之肉浸液，接種於瓊脂斜面培養基及馬鈴薯培養基上面。

2. 將白金耳絲浸於肉浸液培養基內，然後穿刺於瓊脂固體培養基之中央。
3. 用半固體培養基照上法再做一穿刺培養。
4. 將上次留下之肉浸液做一傾注培養(實驗方法二十五)。
5. 檢查肉浸液內中細菌之動力。
6. 將凡士林肉浸液煮沸十分鐘(何故)，置於冷水內使之冷至百度表五十度左右，注意不可使凡士林凝固。將發下之厭氣菌，用一吸管，種於凡士林之下。立將此管置於冰水內，使凡士林凝固，然後孵育。同時將厭氣菌，種一普通肉浸液，以作對照。

第十四課 菌落計算及生物化學反應

(Counting of colonies and biochemical reactions)

1. 察看斜面瓊脂培養基，馬鈴薯培養基上及絕氧培養中之繁殖，注意其異點並繪圖。
2. 察看固體培養基及半固體培養基中之穿刺培養，二者有無分別，比較全班中各人之結果，繪圖。
3. 於傾注平板培養中，選擇一集落，用白金耳取出，接種於肉浸液，消化蛋白質液(Peptone solution)及硝酸鹽肉浸液(Nitrate broth)(實驗方法二十八)內，以爲明天接種糖發酵管及下次試驗靛基(Indole)及硝酸鹽還原試驗之用。(接種後第五天至七天試驗。如有表面集落，可做抹片，用革蘭氏法染色)。
4. 同時將發下之志賀氏桿菌(B. Shiga)及大腸菌，分別接種於消化蛋白質液內，以爲試驗靛基對照之用。
5. 用集落計算器，計算各傾注培養中之集落，太多者不必計算，擇其集落較少而便於計算者計算之(計算法由助教指示)。
6. 將所發之大腸菌接種於肉浸液內。

問題

1. 在平板培養上和傾注培養中，所生長之集落有何不同？
2. 平板培養及傾注培養之最大用處爲何。
3. 半固體穿刺培養有何用處？

第十五課 細菌之分佈，土中，水中，空氣中之細菌
(Distribution of bacteria in earth, water and air)

1. 將昨天從傾注平板培養上取下集落所種之肉浸液(記明A)，及發下之大腸菌液所接種之肉浸液(記明B)，分別接種於各種糖發酵管內——右旋糖(Glucose)，甘露醇(Mannite)，蔗糖(Sucrose)及乳糖(Lactose)。
2. 於教室外草地上取土約一公分接種於肉浸液內。
3. 取瓊脂平板培養基一，打開其蓋，置於試驗桌上十分鐘，然後蓋住，書姓名於其底，置於孵卵器內。
4. 取醬油少許做懸滴及染色檢查，並用白金耳取少許置於平板培養基上，然後照平板培養法培養之。
5. 於附近污水中取水少許，做懸滴及染色檢查，接種一平板培養基。

第十六課 續

1. 記錄上次所種之糖發酵反應。
2. 檢查種土之肉浸液管內，有無生長，如有，用懸滴檢查，及染色法，檢查之，繪出所見細菌之形態。注意有無芽胞(Spore)。
3. 種醬油之平板培養基上，有何菌落。染色並檢查其動力。
4. 用同樣方法，檢查種污水之平板。
5. 受空氣污染之平板有何生長，用同樣方法檢查之。

問題

1. 將空氣中，土中，水中，所見之細菌，簡單敘述之。
2. 何謂純培養。
3. 種土之肉浸液，係純培養否，如欲得純培養當用何法。
4. 何謂污染，有何害處。

第十七課 滅菌法
(Sterilization)

1. 將手指畫一「十」字在平板培養基上，將平板培養基置於孵卵器內，留到明天看有何生長。

2. 將手用肥皂、熱水及刷子洗淨，再請他人淋火酒（70%）於手上，待其乾後，再如上法培養看有何生長。

3. 於草地上取土少許，置於玻璃管內，用生理食鹽水調勻之併同發下之活大腸菌（*B. coli*）液置於小煮鍋中，煮至百度表六十度一小時，然後分別接種於肉浸液內，看有無生長。

4. 用同樣之方法預備土乳及大腸菌液，置於蒸汽滅菌器（Autoclave）內，蒸至十磅十五分鐘然後取出培養。

5. 取乾土少許置於玻璃管內，用乾燥滅菌器（Dry sterilizer）消毒至 170°C. 兩小時，待其冷後，取出培養。

6. 過細察看乾燥滅菌器及蒸汽滅菌器之構造，了解其用法，並繪圖。

第十八課 化學殺菌劑試驗

(Testing of chemical germicides)

1. 今天實習之目的，在試驗各種防腐劑殺菌之效力，看若干分鐘內，能將細菌殺死。

2. 全班中分為若干組，每組三人共同試驗一種防腐劑，茲將所預備之防腐劑列下。

- (1) 酒精 (Alcohol) 20%
- (2) 酒精 30%
- (3) 酒精 40%
- (4) 酒精 50%
- (5) 石炭酸 (Carbolic acid) 1:60
- (6) 石炭酸 1:70
- (7) 石炭酸 1:80
- (8) 石炭酸 1:90
- (9) 石炭酸 1:100
- (10) 昇汞 (Bichloride of mercury) 1:1,000
- (11) 昇汞 1:5,000

如第一組試驗(1)第二組試驗(2)第三組試驗(3)。

3. 依照實驗方法二十六，進行試驗