

2 18447

細菌檢驗用培養基手冊

宣 卿 華 編 著

人民衛生出版社

細菌檢驗用培養基手冊

人民衛生出版社

一九五五年 • 北京

內 容 提 要

良好而適宜的培養基是細菌學檢驗的先決條件。這本小冊子綜合敘述了現代常用的細菌檢驗用培養基的製作技術，並分敘其原理及用途，計有基礎培養基，鑑別培養基及特殊培養基等共九十餘種。最後並附細菌檢驗中常用的保存液、溶液和試劑的配製法。故本書可供檢驗室工作人員及醫學院學生細菌實習參考之用。

細菌檢驗用培養基手冊

書號: 1867 開本: 787 X 1092/32 印張: 4 字數: 106千字

宣 卿 華 編

人 民 衛 生 出 版 社 出 版

(北京書刊出版業營業許可證出字第〇四六號)

• 北京崇文區錢子胡同三十六號 •

人民衛生出版社印刷 • 新華書店發行
長春印刷廠

1955年12月第1版—第1次印刷

印數: 1—1,600

(長春裝) 定價: (7) 0.47元

前 言

(一) 在細菌學檢驗工作中，必須有良好而又合適的培養基，才能使細菌檢驗工作得着正確的培養結果。如果培養基的酸鹼度不合適或其成分不對，則可直接影響細菌的生長，以致使培養結果不正確。故培養基之製作及預備實為細菌檢驗工作中的首要任務。

(二) 從事製作培養基的技術人員，需要了解培養基的原理、製法及其應用範圍。這樣，才能更精確地掌握製作培養基的各項技術，而所製出的培養基能滿意地適用於細菌檢驗工作。這就是幾年來本書編寫的動機。

(三) 本書的特點除較綜合性地介紹一般培養基的製作法外，對比較重要而常用的培養基，都作了原理的解說及其應用方法和範圍的敘述。其他如與製作培養基有關的玻璃器、滅菌器、滅菌法和滅菌的原理，以及酸鹼度、試劑溶液等都作了詳細的介紹。

(四) 本書力求能適合一般從事細菌檢驗工作者的參考需要，但因本人才疏學淺，手邊參考材料不多，寫作經驗又非常缺乏，內容不免有許多不夠恰當與錯誤的地方，深望同道先進們，多多提出批評與修正，則不勝企盼之至。

(五) 本書在編寫期間，蒙上海第一醫學院細菌科林飛卿教授、鄭子穎教授、第二醫學院細菌科余濱教授及同濟醫學院蔡宏道教授等將原稿詳細校正，並承上海第一醫學院化學科汪適經先生校正有關化學部分，翁珊英同志和張世堯同志協助繪圖，特致無限謝意。

宣 卿 華

1955.上海

目 錄

第一章 玻璃器的種類清潔法及消毒法	1
一、玻璃器的種類	1
(一) 試管	1
(二) 吸管	1
(三) 發酵套管	1
(四) 陪替氏皿	2
(五) 三角燒瓶	2
(六) 白萊克氏與柯萊氏培養瓶	2
二、玻璃器清潔法	2
(一) 用過的玻璃器	2
(二) 新玻璃器	3
(三) 玻璃器上汙跡去除法	3
三、玻璃器滅菌法	4
(一) 一般玻璃器	4
(二) 陪替氏皿	4
(三) 吸管	4
(四) 試管和玻璃瓶	4
第二章 滅菌器及其使用法	5
一、滅菌原理	5
二、乾熱、濕熱滅菌器及血清凝固器	5
(一) 乾熱滅菌器	5
(二) 阿諾氏流動蒸汽滅菌器	6
(三) 高壓蒸汽滅菌器	7
(四) 煮沸滅菌器	9
(五) 血清凝固器	9
三、濾菌器	9
(一) 數種常用的濾菌器	10

1. 伯克非爾氏濾菌器 2. 姜伯朗氏濾菌器 3. 賽氏濾菌器	
(二) 濾燭的選擇	11
(三) 濾燭清潔法	11
(四) 濾過法	12
第三章 培養基綜述	13
一、培養基的定義	13
二、培養基的成分	13
三、培養基的種類及用途	14
(一) 基礎培養基	15
(二) 營養培養基	15
(三) 特殊培養基	15
(四) 選擇培養基	15
(五) 鑑別培養基	16
四、培養基製作及滅菌時應注意事項	16
(一) 製作時應注意事項	16
(二) 滅菌時應注意事項	17
五、氫游子濃度概說	18
(一) 細菌生長、發育與酸鹼度的關係	18
(二) 酸與鹼	18
(三) 酸度與鹼度	18
(四) 水的離解	18
(五) 氫游子濃度表示方法—pH 值	19
(六) 當量與克當量	19
(七) 當量溶液	20
(八) 酸鹼度與游子酸度	20
(九) 緩衝溶液—緩衝劑	20
第四章 反應的測定	21
一、標準比色管的原理	21
二、緩衝液的製備	21
(一) 沙倫生氏法	21

(二) 克拉克-路白斯二氏法	21
(三) 枸橼酸鹽-磷酸鹽緩衝液的配合法	23
三、指示劑的預備	23
四、標準比色管配製法	24
五、培養基酸鹼度測定法	25
第五章 培養基的濾清、分裝及滅菌法	26
一、培養基濾清法	26
(一) 雞蛋白澄清法	26
(二) 棉花過濾法	27
(三) 濾紙過濾法	27
二、培養基的分裝法	27
(一) 分裝法及注意點	27
(二) 斜面培養基製作法	28
(三) 平板培養基製作法	28
三、培養基滅菌法	28
第六章 各種培養基的製造法	29
一、基礎培養基製造法	29
(一) 牛肉浸液培養基	29
(二) 肝消化湯培養基	31
(三) 血消化湯培養基	32
(四) 牛肉膏湯培養基	32
(五) 黃豆粉浸液汁培養基	33
(六) 豆湯培養基	34
(七) 黃豆芽浸液培養基	34
(八) 蛋白陳水培養基	36
(九) 豆餅消化液	36
二、固體、半固體培養基的製造法	37
(一) 瓊脂培養基	37
(二) 明膠培養基(需氧菌用)	38
(三) 明膠培養基(厭氧菌用)	39

(四) 半固體培養基	40
三、鑑別培養基的製造法	40
(一) 中國藍蓋微酸瓊脂平板培養基	41
(二) 遠藤氏培養基	42
(三) 伊紅亞甲藍瓊脂培養基	42
(四) 麥康蓋氏瓊脂培養基	43
(五) 分離傷寒桿菌及副傷寒桿菌的增菌培養基	44
甲、煌綠增菌培養基 乙、四硫磺酸鈉肉浸液	
(六) 去氧膽酸鹽-枸橼酸鹽瓊脂培養基	45
(七) 去氧膽酸鹽瓊脂培養基	47
(八) 亞硫酸鈉瓊脂培養基	48
(九) S S 瓊脂培養基	50
(十) 酒石酸鹽培養基	51
(十一) 雙糖含鐵培養基	52
(十二) 半固體三糖培養基	54
(十三) 克力格拉氏含鐵雙糖培養基 (鑑別腸道桿菌)	56
(十四) 醋酸鉛培養基	57
(十五) 雷-奧二氏醋酸鉛肉湯培養基	58
(十六) 糖發酵管培養基	58
(十七) 葡萄糖蛋白胨水	59
(十八) 雷-奧二氏蛋白胨水	61
(十九) 硝酸鹽培養基	61
(二十) 雷-奧二氏硝酸鹽培養基	62
(二一) 牛乳培養基	63
甲、全乳培養基 乙、紫牛乳培養基 丙、亞甲藍牛乳培養基	
(二二) 枸橼酸鹽瓊脂培養基	65
(二三) 尿素培養基	66
(二四) 希斯氏血清水培養基	67
(二五) 菊糖血清液培養基	68
(二六) 6.5 % 食鹽肉浸液培養基	69

(二七) 40% 膽汁肉浸液培養基	69
(二八) 膽汁培養基	69
四、特殊培養基的製造法	70
(一) 無蛋白胰牛肉浸液	70
(二) 葡萄糖牛肉浸液	70
(三) 含對氨基苯甲酸肉浸液	71
(四) 含血液肉浸液	71
(五) 含血清肉浸液	72
(六) 培養腦膜炎雙球菌及淋球菌的肉浸液	72
(七) 硫乙醇酸鈉肉浸液培養基	72
(八) 鹼性蛋白胰水	74
(九) 庖肉培養基	74
(十) 沙保勞來氏培養基	75
(十一) 玉蜀黍瓊脂培養基	75
(十二) 愛立克氏白喉桿菌毒力試驗培養基	76
(十三) 亞碲酸鉀培養基	77
(十四) 呂氏血清斜面培養基	78
(十五) 愛弗雷氏培養基	78
(十六) 博德-姜戈二氏培養基	79
(十七) 巧克力培養基	80
(十八) N. N. N. 培養基	81
(十九) 血液瓊脂培養基	81
(二十) 胰液瓊脂培養基	82
(二一) 含硫堇及鹽基性一品紅肉浸液	82
(二二) 丟當氏瓊脂培養基	83
(二三) 赫腳氏培養基	83
(二四) 胱氨酸血液瓊脂培養基(培養土拉倫斯桿菌)	84
(二五) 3% 氯化鈉血瓊脂培養基	84
(二六) 馬尿酸鈉肉湯培養基	85
(二七) 產生色素用培養基	86

(二八) 野口氏鈎端螺旋體培養基	86
(二九) 傑門氏半固體培養基	87
(三十) 甘油肉浸液培養基	87
(三一) 番茄瓊脂培養基	87
(三二) 甘油血清培養基	89
(三三) 黃豆培養基	89
(三四) 配曲拉格耐尼氏培養基	90
(三五) 豌豆培養基	91
(三六) 含青黴素血瓊脂培養基	92
(三七) 濃-培二氏培養基	92
(三八) 凱司納氏培養基	93
(三九) 友門氏培養基	94
(四十) 綜合培養基	94
(四一) 杜布氏液體培養基	95
(四二) 隆氏培養基	96
(四三) 蘇通氏馬鈴薯培養基	97
(四四) 甘油膽汁馬鈴薯培養基	98
(四五) 劉溫斯坦氏培養基	93
(四六) 赫羅氏蛋黃瓊脂培養基	99
(四七) 羅本諾氏雞蛋培養基	100
(四八) 土路豆氏培養基	101
(四九) 杜賽氏培養基	102
(五十) 石竹苷血液培養基	103
第七章 常用保存液、溶液和試劑的配製法	103
一、重要保存液和抗凝管的配製法	103
(一) 甘油緩衝液糞便保存劑	103
(二) 甘油 2.5% 緩衝液病毒防腐劑	104
(三) 枸橼酸鈉抗凝管的配製法	104
(四) 文-臘二氏霍亂弧菌保存液	105
(五) 愛氏羊血球保存液	105

二、常用溶液和試劑的配製法	106
(一) 氫氧化鈉當量溶液的配製法	106
1. 一當量(1N)氫氧化鈉溶液 2. 二當量(2N)氫氧化鈉溶液	
3. $\frac{1}{2}$ 當量(N/10)氫氧化鈉溶液 4. $\frac{1}{20}$ 當量(N/20)氫氧化鈉溶液	
(二) 1%孔雀綠溶液的配製法	106
(三) 1%酸性一品紅水溶液的配製法	106
(四) 1%酚紅水溶液的配製法	107
(五) 吡啶試劑的配製法	107
(六) 1%中國藍水溶液的配製法	107
(七) 1%薔薇酸酒精溶液的配製法	107
(八) 甲基紅試劑配製法及其試驗法	107
(九) 服-潑二氏試劑配製法及其試驗法	107
(十) 硝酸鹽還原試劑的配製法及其試驗法	108
(十一) 膽汁溶解試劑的配製法及其試驗法	108
(十二) 作馬尿酸水解試驗用的三氯化鐵試劑的配製法及其試驗法	108
(十三) 亞甲藍還原試驗用試劑及其試驗法	109
(十四) 霍亂紅試驗試劑及其試驗法	109
(十五) 石蕊指示劑酒精溶液	109
(十六) 中性紅指示劑酒精溶液	109
(十七) 0.5% 溴麝香草酚藍酒精溶液	110
(十八) 生理鹽水	110
(十九) 消毒用碘酒溶液	110
(二十) 70%酒精溶液	110
(二一) 一當量碳酸鈉溶液	110
(二二) 一當量硫酸溶液	110
(二三) 一當量鹽酸溶液	111
(二四) 磷酸鹽緩衝溶液	111
(二五) 緩衝生理鹽水	112
(二六) 粘液素溶液	112
(二七) 膽鹽的製造	112
〔附〕常見有關名詞對照表	115

第一章

玻璃器的種類清潔法及消毒法

一般常用的吸管、試管、陪替氏皿及三角燒瓶等器材的質料必須是硬質的，玻璃不能太薄，要能夠經常忍受高溫滅菌而不受損害。玻璃內游離鹼的含量宜少，因玻璃器內含過多游離鹼時會直接影響培養基本身的酸鹼度。

一、玻璃器的種類

(一) 試管 管壁需要較化學試驗用的厚。為便於加塞及貯藏，管口不宜翻口，玻璃質應較厚(圖1)；有翻口而質薄的試管，在細菌實驗室裡不耐應用，常易招致破損。我們實驗室內常用的試管約有三種不同大小的直徑：(1)15×150毫米，用以盛5—10毫升的肉浸液，或作瓊脂斜面等用。(2)10×100毫米，常用作雙糖培養基及糖發酵管等之用。(3)10×75毫米，常用於康氏梅毒血清反應及肥達氏、外斐氏等血清反應試驗。



圖1 無翻口
厚質的試管



圖2 吸管

(二) 吸管 一般細菌血清實驗室中常備有5毫升、10毫升有刻度的吸管及1毫升等各種不同量、有刻度的吸管。其刻度應自吸管之下端開始，才適於一般的應用。其他如毛細吸管亦常需用，不可缺少(圖2)。

(三) 發酵套管(圖3) 一般常用的發酵套管為兌罕(Durham)氏發酵管，即在一中號試管中倒置入另一小套管，以觀察細菌在糖發酵管培養基內產氣的情況。

(四) 陪替氏皿(圖4) 該皿之大小不一定,通常其底面直徑為90毫米的最適合於一般細菌實驗室的應用。皿蓋除原配的玻璃蓋外,可用陶器製成;因其能吸收水分,較易使培養基面乾燥。

(五) 三角燒瓶(圖5) 一般常用三角燒瓶的容量為2,000毫升、1,000毫升、500毫升、250毫升及100毫升等。

(六) 白萊克(Blake)氏與柯萊(Kolle)氏培養瓶 白萊克氏和柯萊氏培養瓶的形狀略有不同,但二者之特點均為面積大;製造大批菌苗或菌懸液時,用該瓶以作大量培養。



圖3 發酵
套管

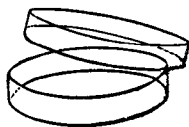


圖4 陪替氏皿

二、玻璃器清潔法

(一) 用過的玻璃器

1. 吸管:

(1) 吸血清、糖溶液及染料溶液等的玻璃吸管,用過後應立即投入清水中,然後沖洗。

(2) 吸過含細菌標本的吸管,應立即投入2%來蘇水溶液的玻璃量筒內,施行滅菌。玻璃量筒的底面應加少許吸水棉花,以免吸管投下時破損。洗滌時,最好將吸管口用橡皮管連接於自來水龍頭上,可以充分沖洗乾淨;洗淨後慢慢將其斜置於鐵絲籃內(鐵絲籃下面需放一層厚棉花,以防吸管漏出籃外,墮地破損)。將吸管放入37°C溫箱中,可促使其加速乾燥。

2. 試管及其他玻璃器:帶有細菌標本或培養物的試管或其他染有細菌的玻璃器,用過後應立即將其浸於含2%來蘇的消毒溶液內,經24小時後始可取出,用清潔流水洗滌乾淨。裝有細菌培養物或細菌標本的試管、玻璃瓶及其他玻璃器等則應置於高壓蒸汽滅菌器內,於15磅30分鐘滅菌後始可將汙物倒去。將汙物倒去後,把試管等浸於溫水中,用肥皂水或去汙粉竭力洗刷,然後再用清水反覆沖洗乾淨後,置於室內或木架上,任其乾燥。

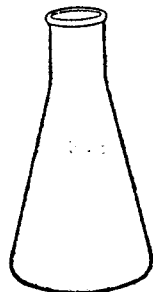


圖5 三角燒瓶

用蠟封口的試管，應另外清洗，先將其置於高壓蒸汽滅菌器內經過適當消毒後取出，乘熱時拔去沾蠟的棉花塞子，立即倒去培養污物，然後即將試管投入溫水內。從溫水中取出再將其浸入 5 % 肥皂水內，煮沸 5 分鐘，以去除試管上之油。若石蠟仍未除去，可將其再浸入新鮮肥皂水內，煮沸後洗淨之。

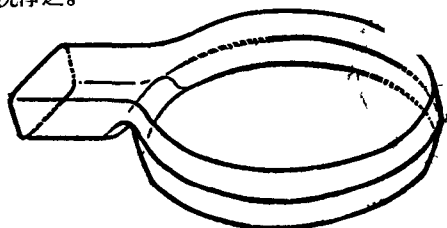


圖 6 柯萊氏培養瓶

(二) 新玻璃器 新置備的玻璃器械，含有游離鹼，故應先將其浸於清潔液或 2 % 鹽酸溶液內數小時後，再用自來水充分沖洗乾淨，俟乾燥後，滅菌以備應用。

(三) 玻璃器上污跡去除法 倘玻璃器上留有污跡而肥皂水洗刷尚不能除去時，可用清潔液浸洗。

清潔液配製法：

成分：重鉻酸鉀	79 克
硫酸	100 毫升
自來水	1,000 毫升

製法：將重鉻酸鉀放於水中，漸漸加溫使達全部溶解為止，然後將硫酸徐徐加入其中，即成清潔液。

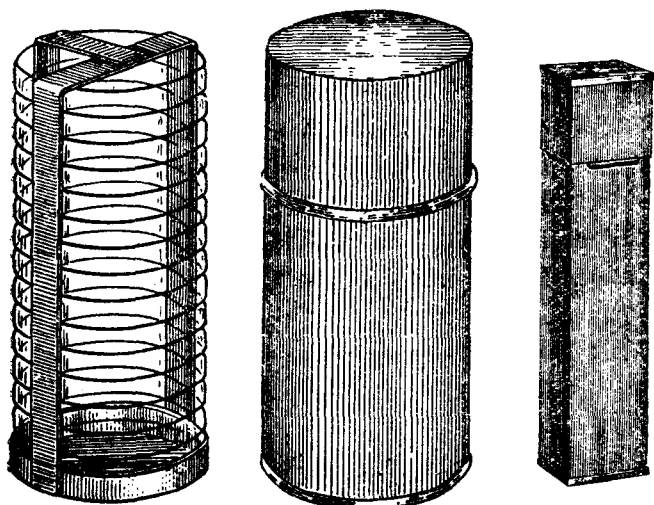
注意點：該清潔液使用日久後，變成墨綠色，已失去其去污之作用，即不能再應用。

該液雖能清洗許多玻璃器上的污跡，但有些污跡仍不能洗去，所以最好先用物理的方法盡量擦洗乾淨，然後再用此液浸洗。該液內之硫酸有腐蝕作用，故不可沾着衣服，以免破爛。玻璃器亦不宜常用此液浸洗，因其能耗損玻璃器使其變質。

三、玻璃器滅菌法

(一) 一般玻璃器 一般常用的玻璃器，洗淨後應俟完全乾燥後，方可施行滅菌。這在乾熱滅菌前更應注意，不然，耗電及時間多而滅菌效果低。

(二) 陪替氏皿 陪替氏皿洗淨乾燥後，裝入特製之銅筒內，或外面用紙密密包好。通常特製裝陪替氏皿之銅筒可裝陪替氏皿 10 只左右(圖 7 甲)。乾熱滅菌時，不可用油紙包裹，一般常用舊報紙包，可依當時之需要，以一對或數對陪替氏皿作一包，然後行乾燥滅菌。



甲

乙

圖 7

甲、裝陪替氏皿的銅筒 乙、裝吸管的銅筒

(三) 吸管 吸管的粗端應先塞少許普通棉花，以避免應用時因不慎而將細菌吸入口中，或將口內物吹入培養基中。然後每支用紙密密包好，或再行裝入特製裝吸管的銅筒內，而行乾燥滅菌(圖 7 乙)。

(四) 試管和玻璃瓶 行滅菌之前，在管口及瓶口均須先塞好棉花塞

子，這是滅菌工作中基本技術之一，不可忽略。棉塞不可塞得過鬆，亦不可過緊；過鬆易於脫落而過緊則不易拔取，塞時務須注意。最後，於棉塞瓶口的外面包二層紙，用線紮好，然後施行滅菌。外面包紙的目的，在於避免在保存期內塵埃之侵入。

第二章 滅菌器及其使用法

一、滅菌原理

所謂滅菌，即指殺滅一切致病性或非致病性細菌的增殖體及芽胞，使物體上或溶液中無任何細菌存在。滅菌的方法主要有物理的、化學的二種。此外，可用特殊濾菌器過濾而獲得無菌的濾液。一切物體上、培養基或其他溶液內，經過滅菌手續而無任何細菌存在時，皆稱為無菌。凡在操作時能防止外來細菌的侵入，不致發生污染者，稱為無菌操作法。在製造培養基或其他有關物時均須嚴格掌握無菌法。

應用物理的加熱以滅菌的方法有乾熱和濕熱二種，可殺滅物體上或溶液中及培養基內的一切細菌。此種已滅菌的物件即可供細菌及病毒的檢驗及研究工作之用。但濾過法僅適用於不能通過濾菌器的細菌，藉以獲得無菌之濾液。

二、乾熱、濕熱滅菌器及血清凝固器

(一) 乾熱滅菌器(圖8) 乾熱滅菌器常用於玻璃器具，如陪替氏皿、吸管、試管及玻璃瓶等的滅菌。應注意，膠皮的物品、液體以及培養基不能行乾熱滅菌。乾熱滅菌器的構造簡單，用電或煤氣發熱。滅菌時將門關緊，接上電源或燃着煤氣，加熱至 170°C ，維持 1—2 小時即可。溫度切不可超過 180°C ，如過高會使內部之滅菌物如棉花塞或紙張燒焦，務須注意。棉花內的油脂燒焦後，沾污試管，能使試管變成焦黃色，且不容易洗掉，而此油脂又有抑制細菌生長的作用。溫度過高，又可損及玻璃器。通常經適宜溫度滅菌後，棉花及紙張均呈淡黃色。滅菌時間到後，應立即停電或火，俟溫度冷至 60°C 左右時方可開啓烤箱之門，取

出滅菌物品。若滅菌時間一到，不等溫度下降而立即打開烤箱門取物，則因內部玻璃器具的熱度尚很高，驟遇冷空氣，由於玻璃各部收縮不均勻，常有破裂之危險，此點也應該特別加以注意。此外，每次消毒時物件不宜過多；如緊密塞滿箱內，可影響滅菌的效果。

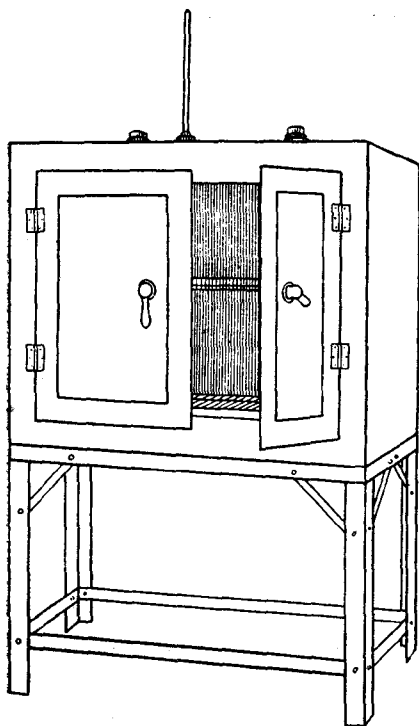


圖8 乾熱滅菌器

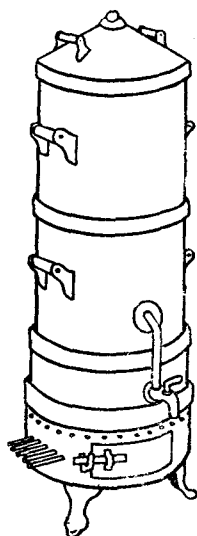


圖9 阿諾氏流動蒸汽滅菌器

(二) 阿諾氏流動蒸汽滅菌器 該器利用流動蒸汽，常用於間歇滅菌。其底層盛水，器頂加蓋，蓋的中央插一溫度表。器底用火加熱，水蒸汽溫度達 100°C 時，即循流於器內，以達滅菌之目的。底層的水，因水