

細菌學及免疫學實驗指導

序

繪圖實驗教材，一般或寫黑板，或用油印謄義，然寫黑板既難詳盡，復費時間，且易錯誤。若用油印謄義，則人力物力均不經濟，而印刷常模糊不清，舛誤亦所難免，教學均多妨礙，為求配合新民主主義教育，節省教學時間起見，乃着手編著本書。又便於初學着想，其中各種操作步驟，均詳加闡述，文字亦力求簡潔，間有不易瞭解之，則或利用圖表，或舉例說明，以期學者費最少之精力，能完全領會其意義。

年來繪圖學頗有進展，國內外出版圖書雜誌上之最新材料，亦均選擇要編入，又與繪圖有關之材料，則分別編入附錄中，以便參閱。

本書各實驗均單獨分開，可就實際需要及其設備現狀，擇要實驗，其餘部分則留待學生自行閱讀，或由教者略加講解，但在到繪圖專門檢量人員時，則按本書所列各項，逐一實習，亦不為多。

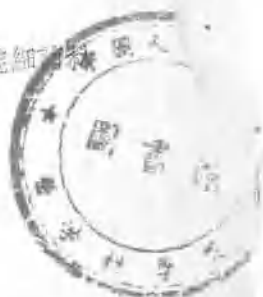
繪圖實驗與教課取得聯繫，並養成學生之思者力計，每一實驗之後，均擬有討論題，但為配合學生程度，教者可酌量刪減，例如中級衛生技術學校採用，則較深之問題均可略去。

荷蒙賈琦教授，呂禮誼師，於浩畧中抽閱校閱全稿，本件江德泉，欽慕涵諸同志予不少幫助與指示，省立杭州高醫何新生，王繼超兩同學則不避炎熱，協助抄寫，謹此致謝。

編者識見有限，內容自難盡如人意，所望海內先進，多賜指教，其他如文字方面，或有舛誤之處，亦希來函指出，以便再版時修正。

羅海波 郭茂福識於杭州浙江醫學院細菌科

一九五一年十二月



細菌學及免疫學實驗指導

目 次

第一章 細菌室內注意事項	1	(一) 培養基試驗	27
第二章 細菌室內常用器械	3	(二) 脫脂血清瓶	28
總 論 部 份		(三) 硝化氣試驗	29
第三章 細菌之培養及染色法		(四) 膽汁溶化試驗	30
實驗一 細菌之形態	10	(五) 牛乳凝固試驗	30
實驗二 不染色標本檢查法	11	(六) 硝酞鹽沉澱試驗	31
(一) 懸液標本檢查法	11	(七) 枸橼酸鈉利用試驗	32
(二) 墨色液包埋法	11	(八) 甲基紅試驗	32
(三) 暗視野顯微鏡檢查法	12	(九) V-P 試驗	33
實驗三 細菌之塗布標本製作法與簡單染色法	13	實驗十二 細菌之變異	34
實驗四 Gram 氏染色法—Hucker 氏改良法	14	第七章 物理與化學滅菌法	
第四章 培養基之製造		實驗十三 物理滅菌法	35
實驗五 液體培養基—肉浸液之製造法	16	實驗十四 化學滅菌法	37
實驗六 固體培養基——瓊脂培養基之製備	19	第八章 磺胺藥與抗生素	
實驗七 斜面、高層與平板培養基之製法	20	實驗十五 細菌對於磺胺藥之敏感性試驗	38
第五章 細菌之培養法與細菌之分佈		實驗十六 細菌對於青黴素之敏感性試驗	40
實驗八 細菌之培養法	21	實驗十七 體液中青黴素含量測定法	43
實驗九 細菌之分佈	24	實驗十八 結核桿菌對於鏈黴素之敏感性試驗	45
第六章 細菌之生物學		實驗十九 體液中鏈黴素含量測定法	47
實驗十 測微法	25	第九章 動物試驗	
實驗十一 細菌之生物化學特性	27	實驗二十 動物之接種	48
		實驗二十一 動物之採血	51

實驗三十二 動物之解剖.....53

第十章 血清學及免疫學試驗

實驗二十三 沉澱反應.....54

實驗二十四 凝集反應.....56

實驗二十五 血型之檢定.....60

實驗二十六 溶菌反應.....63

實驗二十七 吞噬作用及調理素.....65

實驗二十八 Kahn 氏反應.....67

實驗二十九 脊液之 Kahn 氏標準

試驗法.....71

實驗三十 Wassermann 氏反應.....73

實驗三十一 脊液之 Wassermann

氏反應.....83

第十一章 過敏性

實驗三十二 過敏性試驗.....86

各 論 部 份

第十二章 葡萄球菌、鏈球菌及肺炎球菌

實驗三十三 葡萄球菌與鏈球菌.....89

實驗三十四 葡萄球菌致病力測定法.....90

實驗三十五 鏈球菌溶血素試驗及纖維

素溶解試驗.....92

實驗三十六 膿汁中葡萄球菌之檢查.....93

實驗三十七 Dick 氏試驗.....94

實驗三十八 肺炎球菌形態觀察.....95

實驗三十九 痰中肺炎球菌之檢查.....96

實驗四十 痰中肺炎球菌之分型法.....99

實驗四十一 肺炎球菌之確定試驗.....101

第十三章 淋球菌與腦膜炎球菌

實驗四十二 淋球菌與腦膜炎球菌之鑑

定.....102

第十四章 肺炎桿菌

實驗四十三 肺炎桿菌.....106

第十五章 腸道細菌

實驗四十四 腸道細菌檢查程序.....108

實驗四十五 Widal 氏反應.....116

第十六章 霍亂弧菌

實驗四十六 霍亂弧菌之形態觀察及生

化特性試驗.....113

實驗四十七 霍亂弧菌之檢查程序.....121

第十七章 嗜血菌屬

實驗四十八 嗜血性感冒桿菌之形態形

態及檢查法.....123

實驗四十九 百日咳桿菌之形態觀察及

檢查法.....125

第十八章 布魯氏菌屬及巴氏菌屬

實驗五十 布魯氏菌屬之形態觀察及

檢查法.....127

實驗五十一 鼠疫桿菌之形態觀察及檢

查法.....131

第十九章 棒狀菌屬

實驗五十二 白喉桿菌之形態觀察及檢

查法.....134

實驗五十三 白喉桿菌之毒力試驗.....138

實驗五十四 Schick 氏試驗.....143

第二十章 結核桿菌

實驗五十五 結核桿菌之檢查法.....144

(一)痰中結核桿菌之檢查法.....144

(二)痰中結核桿菌之檢查法.....146

(三)尿中結核桿菌之檢查法.....147

(四)血中結核桿菌之檢查法	148	實驗六十八 出血性黃疽螺旋體檢查法	174
(五)胃中結核桿菌之檢查法	149	實驗六十九 霍森氏螺旋體檢查法	176
(六)腦脊諸液中結核桿菌之檢 查法	150	第二十三章 立克氏體及病毒	
(七)胸水及腹水中結核桿菌之 檢查法	151	實驗七十 立克氏體	177
(八)牛乳中結核桿菌之檢查法	151	實驗七十一 Weil-Felix 氏凝集反應	181
實驗五十六 結核桿菌之動物試驗	152	實驗七十二 種痘法	183
實驗五十七 結核桿菌玻片培養法	153	實驗七十三 濾過器之使用	185
實驗五十八 結核桿菌之液體培養法	155	第二十四章 自家疫苗製造法	
實驗五十九 結核菌素反應	157	實驗七十四 自家疫苗製造法	186
實驗六十 卡介苗接種法	159	第二十五章 水與牛乳	
第二十一章 芽胞型		實驗七十五 水中細菌總數之檢查	189
實驗六十一 炭疽桿菌與枯草桿菌	160	實驗七十六 大腸一產氣菌族之檢查	192
實驗六十二 厭氣性菌檢查法	162	實驗七十七 大腸一產氣菌族是否來自 糞便之鑑別	195
實驗六十三 厭氣性菌培養法	165	實驗七十八 牛乳中細菌總數之檢查法	197
實驗六十四 泥土中厭氣菌之檢查法	168	實驗七十九 牛乳中菌數之直接用顯微 鏡檢查法	199
第二十二章 螺旋體		實驗八十 美藍還元試驗—還元酵素試 驗	201
實驗六十五 螺旋體之形態觀察	169	第二十六章 微菌	
實驗六十六 梅毒螺旋體檢查法	170	實驗八十一 微菌檢查法	202
實驗六十七 迴轉熱螺旋體檢查法	173		

細菌學及免疫學實驗指導

總 論

第一章 細菌室內注意事項

(一) 細菌實習材料，多為致病之源，稍不留意，便有感染危險，實習學生必須照規定按步操作，切忌隨意亂動。

(二) 進實驗室時穿白實習衣，離室時脫下。

(三) 實驗室內禁止吸煙及飲食。

(四) 培養基及器具使用後應行滅菌，動物屍體使用後，應火焚或掩埋深處。

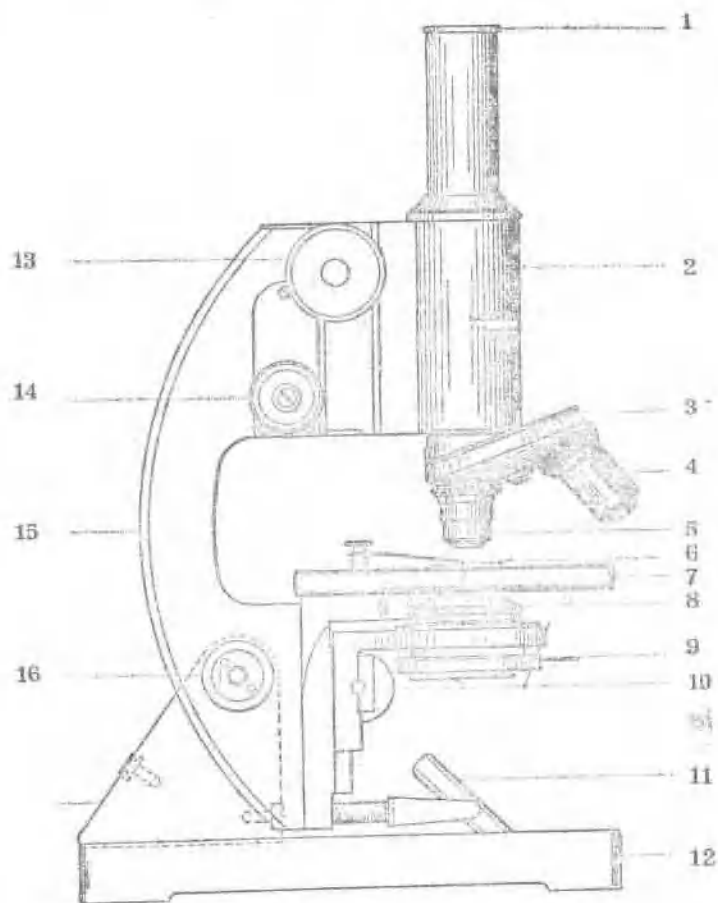
(五) 如致病材料污染於桌面或他物時，應用 2% 來沙兒或 5% 石炭酸噴射。

(六) 萬一起火，應迅用砂土撒蓋或用厚布覆蓋以滅火。

(七) 實習者手上如有創傷，應立即消毒，並以紗布包裹後再行工作，以防傳染。

(八) 每次實習完畢，應將污物投入污物收容器內，用肥皂水洗滌二手，然後浸入 2% 來沙兒或 5% 石炭酸中消毒約 10 分鐘，再用自來水沖洗，方能離開實驗室。

第一圖 顯微鏡構造圖



- | | | |
|----------|------------------|-----------|
| 1. 目鏡 | 2. 鏡筒 | 3. 轉換器 |
| 4, 5. 物鏡 | 6. 鈎板(或於此處裝有移動機) | 7. 載物台 |
| 8. 集光器 | 9. 光源 | 10. 次台調節器 |
| 11. 反射鏡 | 12. 鏡座 | 13. 粗調節器 |
| 14. 細調節器 | 15. 支柱 | 16. 活動調節 |

第二章 細菌室內常用器械

(一) 顯微鏡 (Microscope)

應用：用以檢查染色或不染色之細菌標本。

構造：

(甲) 機械部：

(1) 鏡筒 (Body Tube) 筒長各廠出品不一，大致為 160mm—170mm，Leitz 為 170mm，Bausch-Lomb, Spencer 及 Zeiss 為 160mm，日貨 Olympus 170mm，千代田 160mm。

(2) 轉換器：(Revolving Nosepiece)：其上裝有三種物鏡，即低倍鏡高倍鏡，及油鏡。

(3) 鏡座 (Base)：馬蹄形，在鏡之最下部，用以載荷全部顯微鏡。

(4) 支柱 (Handle)：位於鏡筒與鏡座間。

(5) 粗調節器及細調節器 (Course Adjustment Screw & Fine Adjustment Screw) 位於鏡筒及支柱間，司鏡筒之升降。

(6) 活動關節：(Inclination Joint) 位於支柱與鏡座之間，司鏡前後傾屈。

(7) 載物台 (Stage)：位於活動關節及支柱間，台中央有一圓孔用以透光，台上裝有移動機 (Mechanical Stage) 或二個鉗板 (Stage Forceps)

(8) 次台 (Sub-Stage) 位於載物台下，其上裝集光器用。

(乙) 光學部

(1) 物鏡 (Objective) 裝於轉換器上，由許多晶片組成，擴大倍數不等，均有號碼註明，檢查時如鏡頭與玻片間不需借助其他液體則為乾燥物鏡，須借助洋杉油方能檢查時為油浸物鏡，因油鏡頭晶片太小，自載玻片透過光線常在空氣中折光，不易射入鏡頭，故必用油，常用者為洋杉油 (Cedar oil)，其密度與載物玻片相仿 (折光率 1.52)

接物鏡因構造不同，可分為三種。

a) 避色 Achromatic Objective.

b) 減色 Apochromatic Objective.

c) 螢光 Fluorit Objective

其中以 a) 最普通，b) 最佳。

(1) 目鏡 (Ocular, Eyepiece)：裝於鏡筒上端，自身擴大力弱，僅補助物鏡作用，擴大倍數不同，約有下列數種：6×, 10×, 15× 等。

(3) 集光器 (Condenser)：裝於次台上，用以聚光於物鏡上。

(4) 反射鏡 (Mirror)：裝於反射鏡架上，有平面及凹面，採集光線用之。

(5) 光圈 (Iris)：裝於集光器下，可自由收縮，功用如同照相機內光圈。

使用法：

(甲) 白天檢查：白天採用朝北方向日光，避免直接光線照射，檢查染色標本時用平面反射鏡，將光圈放開，集光器上升，不染色標本檢查時將光圈結小，必要時將集光器下降。

(乙) 人工光源：夜間或暗室採用人工光源（100 Watts 之鎢絲燈泡）應將藍玻璃片裝入光圈中或使光線透過含有硫酸銅及阿摩尼亞混合液之瓶中也可。應用凹面反射鏡。

(丙) 檢查時兩眼並開，不可閉一眼，用油鏡檢查時，可用低倍目鏡(6X)為佳，若用 10X, 15X, 有時反不清楚也。

(丁) 細菌檢查時主要用油鏡，將標本置於載物台上，先用低倍物鏡找尋目標，俟找到相當視野後，在玻片上滴加洋杉油，改用油鏡頭，旋轉粗調節器，使鏡頭與油相接，再向上旋轉，待尋得物體時，用細調節器調整至最清晰之點為止，此時千萬不可將粗調節器向下旋轉，以免損傷鏡頭及標本。

注意：

(甲) 目鏡及物鏡使用前後，應用擦鏡紙或軟綢拭乾淨，油鏡使用後應用擦鏡紙或綢布蘸二甲苯 (XyloI) 拭之，然後用乾綢布輕輕拭之。

(乙) 顯微鏡用後，務必置於乾燥處，以免鏡片上生長黴菌，致損鏡頭。

(丙) 不可將顯微鏡各部份任意拆卸，以免損壞。

顯微鏡之擴大力及解像力：

(甲) 擴大力 (Magnification)：

如目鏡為 6X (單獨擴大倍數)，物鏡為 44X (單獨擴大倍數)，

則擴大力為 $6 \times 44 = 264$ 倍。

單獨擴大倍數來源：

$$\text{擴大倍數} = \frac{\Delta}{f_1} \cdot \frac{X}{f_2}$$

f_1 = 物鏡焦點距離 f_2 = 目鏡焦點距離

Δ = 光學筒長 X = 清晰距離，平常為 250mm。

$$\frac{\Delta}{f_1} = \text{物鏡擴大倍數} \quad \frac{X}{f_2} = \text{目鏡擴大倍數}$$

(乙) 解像力 (Resolving Power) (R.P)

$$R.P. = \frac{\lambda}{n \sin \alpha} = \frac{\lambda}{N.A.}$$

λ = 波長，普通光線波長為 0.546 μ

n = 標本與物鏡間媒介物曲折力 1.52

$\sin \alpha$ = 開角一半之正弦，最大不超過 70° $\sin \alpha = 0.94$

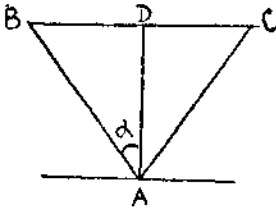
$N.A.$ = 開數 (Numerical Aperture)

$$N.A. = n \sin \alpha = 1.52 \times 0.94 = 1.4$$

N.A. 數字越大，或波長越短，則解像力越大。

$$\text{用集光器之解像力} = \frac{\lambda}{2NA.} = \frac{0.546\mu}{2 \times 1.4} = 0.195\mu \approx 0.2\mu$$

第二圖



欲R.P大，“入”應小，N.A. 應大，紫外光線波長為 $2750\text{\AA}$ (Angstlöm Unit = 10^{-8}cm.) 故利用紫外光顯微鏡照相，能看到更小物體。

(二) 孵育箱 (Incubator)

應用：孵育箱為培養細菌重要工具，大多數致病菌在 37°C 發育最好。

構造：孵育箱由雙層銅質製成，外殼用柚木或石棉以防熱之放散，門內尚有有一層玻璃門，雙層銅質間貯水，如係電孵育箱其溫度由特製之自動調節器調整維持 37°C 上下，或其他所需溫度，此外尚有用煤油燈者，亦有調節器裝置惟不能如電之正確。

注意：培養物取出及送進時，均應立即將門關閉以免孵育箱溫度下降。

(三) 乾熱滅菌器 (Hot-Air Sterilizer)

應用：玻璃儀器如平皿，試管，燒瓶，吸管等滅菌用所需溫度約 $150-160^{\circ}\text{C}$ ，二小時。

構造：乾熱滅菌器係鉄或銅製之箱，有開關門及腳柱，分內外兩層，內層係銅質或鉄質，外層除底面外，均包有厚石棉，當加溫後，乾熱空氣自底向內外層間空處上升，於外層頂上一小孔洩出，如係電乾熱滅菌器，可藉溫度調節器調節之。

注意：

(甲) 欲消毒之玻璃儀器，必須絕對乾燥。

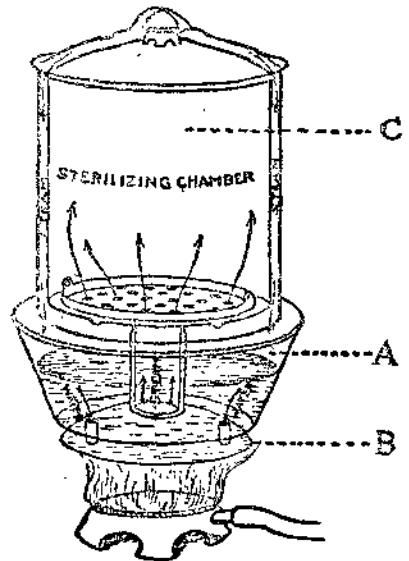
(乙) 滅菌溫度不可過高，否則可使棉花燒焦，又滅菌後須待溫度降至 60°C 左右，始可將滅菌物取出。

(四) Arnold 氏滅菌器 (Arnold's Steam Sterilizer.)

應用：用於消毒不能抵抗高於 100°C 以上之物體，如明膠培養基，糖培養基，牛乳培養基等，可用 Arnold 氏滅菌器行開敷滅菌，滅菌時間為每天 100°C 半小時，連續三天。

構造：係一銅質之圓柱形盛物器，底層盛水，器之頂部有一圓銅蓋，器底加溫，待達 100°C 時蒸氣上升，循流

第三圖



Arnold 氏滅菌器

A. 容水器 B. 由兩層底構成之容水器與 A. 有小孔相通 C. 滅菌室

於器內，其位置在於下面小部分水質沸後即可發生蒸汽。

注意：滅菌後開門時應加注意，以免蒸汽灼傷手部。

(五) 增壓滅菌器 (Autoclave)

應用：玻璃器皿，培養基，藥水，工作衣，手套，口罩，棉球，棉布等之滅菌時用之，滅菌時間 15 磅 20 分鐘足可殺死各種細菌及芽胞。

構造：增壓滅菌器係一雙層金屬圓筒柱，水自旁邊加入，而於其二處之間，內壁沿口周圍有許多小孔，蒸汽即由口緣小孔入內，筒柱上有裝置，壁上或旁邊附有氣壓表，以察氣之漲退及放水開頭，另有一保險器，當壓力至相當高時，能自行放氣，不使內部壓力過高，故其取出當程度又能自動停止。

注意：

(甲) 在使用前，滅菌器內應加入充分之水，以免蒸乾。

(乙) 滅菌之物置入器內，將蓋蓋緊閉後，應先加熱使冷空氣放出，再將龍頭關閉。

(丙) 當壓力升至極高時，不可猝然放出蒸汽，否則壓力突降，液體湧出，極生危險。

(丁) 壓力與溫度對照表

壓力	溫度
5 磅壓力	107.7°C
10 磅壓力	115.5°C
15 磅壓力	121.6°C
20 磅壓力	126.6°C
25 磅壓力	130.5°C
30 磅壓力	134.4°C

(六) 血清凝固器 (Inspissator)

應用：血清培養基，雞胚培養基，菌苗等滅菌用，滅菌時間為每日 75°C—80°C 二小時，連續三天。

構造：血清凝固器係一雙層銅質方形箱，上有二層蓋，一層為玻璃，一層為銅質，器之四周及底層盛水。器有四足，前二足由活動螺旋固定，視需要斜度而伸縮，如用電氣者可藉自動調節器調節溫度。

注意：培養基放入器內，其斜度不可過高或過低，過高時則成結晶呈斜面太厚，過低時則水份被棉塞吸收。

(七) 煮沸消毒器

應用：注射器，解剖器械，橡皮手套等消毒用，消毒時間自煮沸後計算約需十分鐘。

構造：係銅質製成，構造簡單，一底一蓋。

注意：水中如加少許碳酸鈉，可防止器械生銹，且增高沸點以增強殺菌力。

(八) 遠心沉澱器 (Centrifuge)

應用：血液，血清，脊髓液，小便等沉澱之用，速度每分鐘自 1000—4000 迴轉或以上。

構造：係一鉛質或鐵質構成之杯狀物，普通內有金錫片四個，可容沉澱管，通電後可藉調節器調節速度。

注意：(甲)兩邊沉澱管重量應平衡。

(乙)旋轉速度應慢慢增加亦慢慢減低。

(九)玻璃器械 (Glass Ware)

(甲)試管：以不翻口為原則，其大小按用途不同而有下列數種：

(1) 盛肉浸液或斜面瓊脂培養基用 $100 \times 13\text{mm}$ 。

(2) 作高層瓊脂培養基用 $120 \times 16\text{mm}$ 。

(3) 糖發酵管，醋酸鉛培養基用 $60 \times 10\text{mm}$ 。

(4) Wassermann 氏反應，Kahn 氏反應，Widal 氏反應用另有規定之大小。

(乙) Petri 氏平皿：普通應用者直徑有 9cm 、 6cm 。等數種

(丙) 三角瓶：(Erlenmeyer 氏瓶)有 25c.c. 、 50c.c. 、 250c.c. 、 500c.c. 、 1000c.c. 等種。

(丁) 發酵管：Smith 氏發酵管及 Durham 氏發酵管

(戊) 吸管： 0.1c.c. 、 0.2

c.c. 等 1cc. 、 10cc. 等數種另有毛細吸管，應用頗廣，可自製。

(己) Blake 氏瓶與 Kolle 氏瓶，製造疫苗時應用之。

(庚) 載物玻片，蓋玻片，凹玻片。

附一：玻璃器械清洗

藥品：

(1) 取重鉻酸鉀 60gm. 及自來水 300c.c.

稍加熱使其溶解，不待加

以攪動，待冷後徐徐加入：

(2) 硫酸 460c.c.

附二：污染結核菌之玻璃器械清潔液 (Acid-Permanganate Mixture)

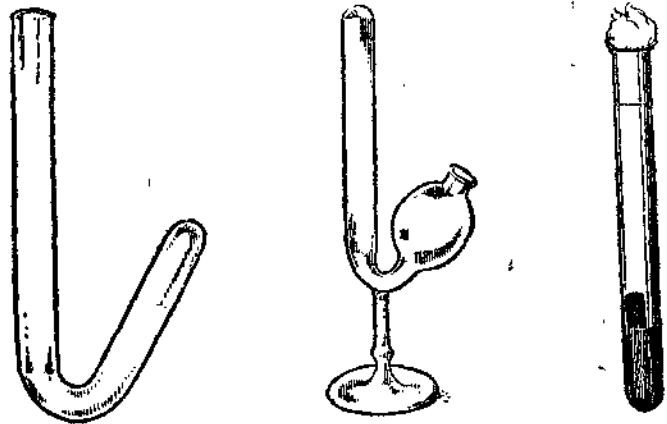
(1) 取過錳酸鉀 (Pot. Permanganate) 50gm. 加水 5000c.c. 溶解，然後徐徐加入普通硫酸 (Commercial Hydrochloric acid) 50c.c. —A 液

(2) 取草酸 (Oxalic Acid) 120gm. 溶於沸水 5000c.c. 中—B 液

(3) 使用法 (i) 將玻璃器械置 A 液中一夜。

(ii) 移 B 液中放置一夜。

第 四 圖



各 式 酸 酵 管

(1) 實驗室中用試管

(2) Smith 氏

(3) Durham 氏

自製之發酵管

發酵管

發酵管

(iii) 次日用自來水沖洗半小時。

(十) 白金耳與白金線 (Platinum Loops & Needles)

應用：白金耳白金線為接種細菌及塗布標本重要工具。

構造：以長 7cm 左右之白金線附於木柄之金屬桿或玻璃桿而成，白金耳耳環直徑約 1.5—2mm。

注意：(甲) 白金耳必須做成一完整之環，否則不易沾取液體材料。

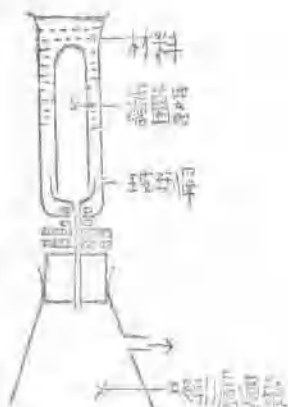
(乙) 每次用後應加燒灼，然後置於試管架上。

(十一) 濾菌器 (Filter)

應用：除去液體材料中之細菌，而濾過性病菌則能濾過此器。

第五圖

構造：濾菌器構造主要包括濾菌器，濾過瓶（盛濾液用）及橡皮管（連接用）



Berkefeld 氏濾菌器

(甲) Berkefeld 氏濾菌器 (Berkefeld Filter) 係砂質土製成之空心圓錐，其錐外有玻璃罩，罩內為濾液之液體，底部接於金屬板上，金屬板四孔之大小可分下列三種：

(1) V (Viel)：孔最大，8—12 μ ，普通腸內細菌均能通過。

(2) N (Normal)：孔中等大，5—7 μ ，普通細菌不能通過。

(3) W (Wenig)：孔最小，3—4 μ ，一切細菌不能通過。

(乙) Chamberland 氏濾菌器 (Chamberland filter)：係提自陶土及硅藻，加熱而使之空以成細孔，按其製造過程，似為一陶器濾過器。

因孔大小可分下列幾種。

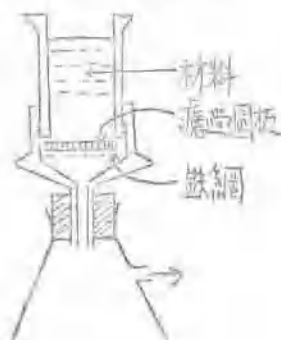
(1) L₁，孔最大，不能阻留細菌。

(2) L₁ 至 L₂ 孔中等大，可使環菌等較小細菌通過。

(3) L₃, L₅, L₇, L₉, L₁₁, L₁₃，等孔較小，細菌不能通過。

(丙) Seitz 氏濾菌器 (Seitz Filter) 係石棉製之圓形濾板（直徑 3cm, 6cm, 14cm）有 K (Kear-Schichten) 及 EK (Entkeimung-Schi-

第七圖



Seitz 氏濾菌器

第六圖



Chamberland 氏濾菌器

chten) 兩種，常用者為後者。

注意：(甲) 每次使用前應檢查濾菌器有無裂隙。

(乙)過濾時宜迅速，如時間過長，則本來不能濾過之細菌亦有濾過可能，陰壓不能超過 35—50cmHg。

(丙)加入濾器中之液量不宜過多，尤以 Seitz 濾器。

(丁)新購濾器應先用蒸餾水吸引洗滌後再用。

(戊)濾菌器用後立刻滅菌清洗，不可任其自然乾燥，否則濾孔堵塞不能再用，普通常用生理食鹽水清洗，再用下法使其再生（Seitz 濾菌器則一次用後不能再用）。

(1) 碳酸鈉法：

- a) 管表面用軟毛刷刷洗。
- b) 以生理食鹽水逆吸引洗滌之。
- c) 用 2% 碳酸鈉煮沸 30 分鐘。
- d) 用蒸餾水再煮一小時。
- e) 用大量蒸餾水吸引洗滌。
- f) 置於孵育箱中乾燥之。

(2) Antiformin 法：

- a) b) 與上同。
- c) 用 25% Antiformin 反覆吸引洗滌。
- d) 通過 1N 鹽酸 500—1000c.c.
- e) 用大量水洗滌（使反應成中性）。
- f) 乾燥之。

(3) 加熱法：Chamberland 氏濾菌器除可用上方處理外，也可放入氣體爐內燒紅，使其再生，惟此法需特別設備，而溫度調節亦困難。

(己)每次使用前，應檢查濾菌器有無扣留細菌性能（可用靈菌試驗）

實驗 一

細菌之形態

(Morphology of Bacteria)

目的：識別各種細菌之形態

材料：細菌標本：

- | | |
|---|-----------------------------------|
| (1) 葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i> | (2) 鏈球菌 <i>Streptococcus</i> |
| (3) 雙球菌 <i>Diplococcus</i> | (4) 四聯球菌 <i>M. Tetragnus</i> |
| (5) 球桿菌 <i>Cocco-Bacillus</i> | (6) 梭形桿菌 <i>B. fusiformis</i> |
| (7) 大桿菌 <i>Bacillus</i> | (8) 小桿菌 <i>Bacterium</i> |
| (9) 弧菌 <i>Vibrio</i> | (10) 螺旋體 <i>Spirochaetes</i> |
| (11) 莢膜 <i>Capsule</i> | (12) 鞭毛 <i>Flagella</i> |
| (13) 芽胞 <i>Spore</i> | (14) 兩端濃染 <i>Bipolar Staining</i> |
| (15) 異染顆粒 <i>Metachromatic Granules</i> | |

步驟：使用油鏡按次觀察各種細菌形態，並繪圖說明。

討論：(1) 使用油鏡檢查應注意那些問題？油鏡之原理何在？

(2) 球菌可形成雙球菌葡萄球菌等種種形態，其原因何在？

結果：

實驗二

不染色標本檢查法

(Microscopic Examination With Unstained Preparation)

目的：不加染色液，觀察細菌之形態及運動。

(一) 懸滴標本檢查法 (Hanging Drop Examination)

材料：(1) 大腸桿菌及葡萄球菌之幼稚培養 (2) Cornet 氏鐵子

(3) 凹玻片，蓋玻片

(4) 牙籤，凡士林

步驟：(1) 清拭凹玻片及蓋玻片

(2) 以 Cornet 氏鐵子夾起蓋玻片，其中

夾一滴一白金耳肉湯培養物。

(3) 以牙籤取凡士林少許在凹玻片之凹窩周圍塗以薄層。

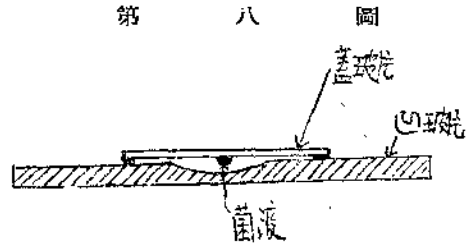
(4) 將蓋玻片翻轉，使水滴向下覆於凹窩

上，以白金桿稍稍加壓使蓋玻片與凹窩邊緣密接粘着。

(5) 鏡檢時先使用低倍鏡，俟看到懸滴邊緣後，將集光器向下移，光圈縮小，再用高倍鏡或油浸鏡觀察，記載此二種細菌運動有何不同。

討論：真正運動與分子運動有何區別？那幾種因素可影響細菌之運動力？

結果：



(二) 黑色素包埋法 (Nigrosin Embedding Method)

材料：(1) 牙垢 (2) 黑色素 (10% Nigrosin) (3) 載物玻片 (4) 牙籤

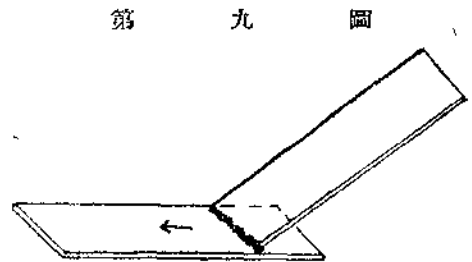
步驟：(1) 清拭玻片

(2) 於載物玻片之近端處，放黑色素數白金耳，以牙籤取齒垢少許，與黑色素混合之。

(3) 另取一載物片（邊緣須光滑，最好截去一角），以其邊緣接於檢材成一45°之角度，向前推移，塗成薄層（與做血液塗抹標本法同）。

(4) 空氣中自然乾燥之，加油鏡檢，記載所見細菌。

討論：(1) 黑色素包埋法最常用於何種細菌檢查？



(2) 如無黑色素可用什麼代替？

結果：

(三) 暗視野顯微鏡檢查法 (Dark Field Examination)

材料：(1) 暗視野集光器。

(2) 漏斗狀遮光器。

(3) 載物玻片 (厚度 1.0—1.2mm)，蓋玻片 (厚度 0.1mm 以下)。

(4) 光源：次台下裝有小燈泡。

(5) 檢查材料。

步驟：(1) 將檢材 (齒垢，菌液，腹腔液等) 放於載物玻片上，如用菌苔則用鹽水稀釋，用蓋玻片蓋起避免發生氣泡。

(2) 將暗視野集光器上升，滴加洋杉油於集光器表面。

(3) 標本置於載物台上，使集光器表面之油與載物玻片接觸，自反射鏡平面而來之光環，完全映入集光器之開口部，此時用低倍鏡觀察，視野中有一光環時，應轉動集光器上之附件，將光環移置於視野中心。

(4) 另加洋杉油一滴於蓋玻片上，油浸鏡檢。

討論：(1) 暗視野顯微鏡檢查法原理何在？

(2) 暗視野顯微鏡之主要用途如何？

結果：