



“十二五”江苏省高等学校重点教材



医学检验技术实验系列教程

丛书主编 邵启祥 许文荣

丛书主审 郑铁生 柴顺根 周天戟

Medical Laboratory Experiments Series of Tutorials

# 临床微生物学检验技术 实验指导

主编 邵世和 杜 鸿

副主编 褚少鹏 段秀杰



“十二五”江苏省高等学校重点教材（编号：2013-2-053）

医学检验技术实验系列教程

# 临床微生物学检验技术 实验指导

丛书主编 邵启祥 许文荣

丛书副主编 鞠少卿 朱雪明 马萍

丛书主审 郑铁生 柴顺根 周天戟

本书编委会

主 编 邵世和 杜 鸿

副主编 褚少鹏 段秀杰

编 者 (按姓氏笔画排序)

王文红 (江苏大学医学院) 邵世和 (江苏大学医学院)

王文凯 (镇江市第一人民医院) 周天戟 (江苏大学医学院)

王 华 (江苏大学医学院) 段秀杰 (江苏大学附属医院)

王晓春 (江苏大学医学院) 倪 斌 (江苏大学医学院)

杜 鸿 (苏州大学附属第二医院) 谢小芳 (苏州大学附属第二医院)

杨世兴 (江苏大学医学院) 褚少鹏 (南通大学附属医院)

沈 权 (江苏大学医学院)

秘 书 王晓春

 江苏大学出版社  
JIANGSU UNIVERSITY PRESS

镇 江

## 图书在版编目(CIP)数据

临床微生物学检验技术实验指导 / 邵世和, 杜鸿主编. —镇江: 江苏大学出版社, 2014. 12  
ISBN 978-7-81130-887-7

I. ①临… II. ①邵… ②杜… III. ①病原微生物—医学检验—医学院校—教学参考资料 IV. ①R446. 5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 308990 号

## 临床微生物学检验技术实验指导

Linchuang Weishengwuxue Jianyan Jishu Shixian Zhidao

丛书主编/邵启祥 许文荣

本书主编/邵世和 杜 鸿

责任编辑/常 钰

出版发行/江苏大学出版社

地 址/江苏省镇江市梦溪园巷 30 号(邮编: 212003)

电 话/0511-84446464(传真)

网 址/<http://press.ujs.edu.cn>

排 版/镇江文苑制版印刷有限责任公司

印 刷/句容市排印厂

经 销/江苏省新华书店

开 本/787 mm×1 092 mm 1/16

印 张/10.75

字 数/257 千字

版 次/2015 年 3 月第 1 版 2015 年 3 月第 1 次印刷

书 号/ISBN 978-7-81130-887-7

定 价/25.00 元

如有印装质量问题请与本社营销部联系(电话: 0511-84440882)

# 序 言

医学检验技术专业的培养目标是培养牢固掌握基础医学和医学检验基本理论知识、基本技能和技术,熟悉临床医学知识,适应社会主义市场经济和社会发展要求的,具有一定创业意识和创新能力的医学检验及医学研究的复合人才。2012年教育部调整了普通高等学校本科专业的设置,将五年制授医学学位的医学检验专业更改成四年制授理学学位的医学检验技术专业,更加突出了对检验技术相关知识的要求。临床检验诊断学是临床医学的重要组成部分,近年来随着生命科学和相关科学的不断发展,临床检验诊断学和相关技术也得到了飞速发展,因此对医学检验教育也提出了更高的要求。实验教学是医学检验技术专业教学的重要组成部分。

江苏大学是国内最早开设医学检验本科专业的五所高校之一,在40余年的医学检验教学工作中,针对医学检验人才培养过程中存在的问题,学校一代代医学检验人倾注了毕生的精力,积累了丰富的教学经验,形成了以优质师资队伍、精品课程和特色教材为一体化的多维教学体系;构建了以新生研讨一本、硕、博联动—教学法改革—国际化培养为基础,推动全局、想象、求异和批判的多元思维模式体系;以实验教学示范中心、省重点实验室和优势学科一体化建设促进教学资源的共享,提升学生实践创新能力,先后荣获多项江苏省教学成果奖。在医学检验技术实验教学改革中,构建了通用技术、课程内验证性实验、课程内综合性实验和专业设计性与创新性实验四位一体的模块化体系。在此基础上,为了使我们的教学成果能更好地服务和辐射省内医学检验技术教学,我们申请并获批了“2013年度江苏省高等学校重点教材建设项目”,并联合了我省南通大学、苏州大学、徐州医学院和扬州大学等高校,编写了“医学检验技术实验系列教程”。本教程共分13个分册,覆盖了医学检验技术所有专业课程的实验教学内容。从体例方面充分体现了我们的实验教学改革成果,设置了医学检验通用技术分册和专业课分册。在各个专业课程的实验课程中包含了验证性实验和综合性、设计性实验,最后还设置了医学检验技术专业综合性实验分册和临床案例实验诊断分析分册。通过这个系列教程的教学,学生能在早期较为系统地掌握医学检验专业通用技术,并能将这些技术应用于课程内实验教学。在全面掌握了各个专业课程的技术以后,我们希望经过专业综合性实验训练和临床诊断案例分析,使学生对临床疾病的复杂性有较为全面的整体性认识,以提高临床适应能力,为随后开展临床实践奠定良好的基础。

本教程是教学改革的一次初步尝试，在体例、内容安排上不一定能完全适应现代医学检验教学改革和人才培养的需求，还需要不断完善。希望各位专家、教师、检验界同行和同学在使用本教程过程中多提宝贵意见，以便我们进一步提高教程的质量，为广大师生提供优质的实验教学用书，共享我们教学改革的成果。

在此特别感谢 BD 公司对本系列教程出版的大力支持。

邵启祥 许文荣

2014 年 6 月于江苏大学医学院

# 前　　言

高等医学教育的目标是培养医学理论基础扎实、实践能力强、富有创新精神和高尚品格的高素质医学人才。在创新性医学人才的培养过程中,实验教学是不可缺少的重要环节,如何提高实验教学的质量、实现实验教学目标,作为体现实验内容和教学方法的知识载体——实验教材发挥着重要作用,是搞好实验教学、提高教学质量的重要保证。

2012年教育部调整了普通高等学校本科专业的设置,将五年制授医学学位的医学检验专业更改成四年制授理学学位的医学检验技术专业,更加突出了对检验技术相关知识的要求。为此,我们联合南通大学、苏州大学、徐州医学院和扬州大学医学院等高校教师,编写了《临床微生物学检验技术实验指导》。

本教材共分四篇二十三章,第一篇为常见细菌的检验技术,第二篇为常见致病性病毒的检验技术,第三篇为常见致病性真菌的检验技术,第四篇为临床微生物标本的综合检验技术。主要从技术的基本原理、操作方法和应用等方面进行了全面、系统的阐述。可供教师授课、学生实验及临床检验师检验时参考之用。

本教材在编写过程中借鉴了《病原生物学诊断技术》的编写思路和经验,得到了各位编者的大力支持,还得到了江苏省高等学校重点教材建设项目的资助,在此一并表示感谢。虽然编者尽心尽力完成编写任务,但限于我们的学术水平和编写能力,一定会有很多疏漏和不妥之处,恳请广大读者多提宝贵意见,以便修订和完善。

邵世和

2014年8月



# 目 录

|                              |   |
|------------------------------|---|
| 医学微生物学教学实验室规则及生物安全防护措施 ..... | 1 |
| 一、医学微生物学教学实验室规则 .....        | 1 |
| 二、医学微生物学教学实验室生物安全防护措施 .....  | 2 |
| 三、常见医学微生物学教学实验室意外事故处理 .....  | 3 |

## 第一篇 常见细菌的检验技术

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 第一章 球菌 .....                   | 7  |
| 一、葡萄球菌属 .....                  | 7  |
| 二、链球菌属 .....                   | 11 |
| 三、肠球菌属 .....                   | 16 |
| 四、奈瑟菌属和卡他莫拉菌 .....             | 19 |
| 第二章 肠杆菌科细菌 .....               | 22 |
| 一、埃希菌属 .....                   | 22 |
| 二、沙门菌属和志贺菌属 .....              | 26 |
| 三、克雷伯菌属、肠杆菌属、枸橼酸杆菌属和沙雷菌属 ..... | 29 |
| 四、变形杆菌属和摩根菌属 .....             | 32 |
| 五、小肠结肠炎耶尔森菌 .....              | 33 |
| 第三章 弧菌属、弯曲菌属和螺杆菌属 .....        | 35 |
| 一、弧菌属 .....                    | 35 |
| 二、空肠弯曲菌 .....                  | 38 |
| 三、幽门螺杆菌 .....                  | 40 |
| 第四章 非发酵和其他革兰阴性杆菌 .....         | 42 |
| 一、假单胞菌属 .....                  | 42 |
| 二、窄食单胞菌属 .....                 | 45 |
| 三、产碱杆菌属 .....                  | 46 |
| 四、不动杆菌属 .....                  | 48 |
| 五、军团菌属 .....                   | 49 |
| 六、嗜血杆菌属 .....                  | 52 |

|                         |    |
|-------------------------|----|
| <b>第五章 需氧革兰阳性细菌</b>     | 55 |
| 一、白喉棒状杆菌                | 55 |
| 二、蜡样芽胞杆菌                | 58 |
| 三、炭疽芽胞杆菌                | 60 |
| 四、产单核李斯特菌               | 63 |
| <b>第六章 结核分枝杆菌</b>       | 65 |
| <b>第七章 厌氧菌</b>          | 69 |
| 一、破伤风梭菌                 | 69 |
| 二、产气荚膜梭菌                | 71 |
| 三、肉毒梭菌                  | 74 |
| 四、艰难梭菌                  | 76 |
| 五、无芽胞厌氧菌                | 78 |
| <b>第八章 螺旋体</b>          | 82 |
| 一、螺旋体的形态学观察             | 83 |
| 二、钩端螺旋体的培养和凝集-溶解实验      | 85 |
| 三、梅毒螺旋体血清学实验            | 87 |
| <b>第九章 支原体、衣原体和立克次体</b> | 89 |
| 一、支原体                   | 89 |
| 二、衣原体                   | 91 |
| 三、立克次体                  | 93 |

## 第二篇 常见致病性病毒的检验技术

|                  |     |
|------------------|-----|
| <b>第十章 呼吸道病毒</b> | 97  |
| 一、流行性感冒病毒        | 97  |
| 二、呼吸道合胞病毒        | 100 |
| <b>第十一章 肝炎病毒</b> | 102 |
| 一、乙型肝炎病毒         | 102 |
| 二、丙型肝炎病毒         | 104 |



|                     |     |
|---------------------|-----|
| 第十二章 疱疹病毒 .....     | 106 |
| 一、单纯疱疹病毒 .....      | 106 |
| 二、EB 病毒 .....       | 108 |
| 第十三章 人类免疫缺陷病毒 ..... | 110 |

### 第三篇 常见致病性真菌的检验技术

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 第十四章 常见浅部真菌的诊断技术 ..... | 117 |
| 一、毛癣菌属 .....           | 117 |
| 二、小孢子菌属 .....          | 119 |
| 三、表皮癣菌属 .....          | 120 |
| 第十五章 常见深部真菌的诊断技术 ..... | 122 |
| 一、假丝酵母菌属 .....         | 122 |
| 二、隐球菌属 .....           | 124 |

### 第四篇 临床微生物标本的综合检验技术

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 第十六章 血液及骨髓标本的细菌学检验 ..... | 129 |
| 第十七章 尿液标本的细菌学检验 .....    | 134 |
| 第十八章 生殖道标本的细菌学检验 .....   | 139 |
| 第十九章 肠道标本的细菌学检验 .....    | 142 |
| 第二十章 呼吸道标本的细菌学检验 .....   | 147 |
| 第二十一章 脑脊液标本的细菌学检验 .....  | 153 |
| 第二十二章 脓液及穿刺液的细菌学检验 ..... | 156 |
| 第二十三章 组织标本的细菌学检验 .....   | 159 |



# 医学微生物学教学实验室规则及 生物安全防护措施

## 一、医学微生物学教学实验室规则

医学微生物学实验室涉及正常菌群和病原微生物，进入实验室前，应充分了解微生物的特性及潜在的生物危害；学习生物安全基本知识，加强防范意识；了解实验室的大致布局、流动方向；了解实验仪器和器具的使用方法；熟悉应急处理措施，避免污染和发生实验室感染；遵守实验室有关规定，听从教师安排和指导，并严格遵守以下规则：

1. 课前认真复习相关理论知识并预习当次实验内容，熟悉实验目的、实验内容和基本过程。
2. 衣着整齐、规范。进入实验室应穿好工作服或隔离衣，必要时戴手套、口罩和帽子，鞋子应防滑、防渗、不露脚趾，尽可能不穿高跟鞋和日常拖鞋。
3. 个人物品按规定位置摆放。允许随身携带纸、笔等必需物品，尽量不带个人物品进入实验室，书籍、背包、手机、衣物等应放在规定位置。
4. 认真地进行各项实验，严格无菌操作。每个实验需按实验步骤有序进行，认真记录。不得随意改变、增减操作程序和步骤。
5. 实验室内物品按指定位置存放。用过的吸管、毛细滴管等应放在指定的消毒缸内；用过的注射器放入回收盒内；用过的玻片、“L”形玻棒等放入有消毒液的搪瓷缸内，不可乱放在桌面上或洗手槽中。其余试剂等物品用后随时放回原处。
6. 严禁在实验室内饮食、吸烟以及用嘴湿润标签、铅笔等物品。不可把物品放入口中，操作时最好不戴饰品，长发须扎好或放入帽中。
7. 实验中发生差错或意外事故，应立即报告带教教师进行及时处理，不可擅自处理或隐瞒。
8. 爱护实验室内各种仪器设备，按使用规则操作，并按规定登记使用情况。不得随意拨动电器开关；培养箱等开门后应及时关好；显微镜使用后要擦净，各功能部件复位后放回原处。如不慎损害器材，应报告带教教师。



9. 实验完毕后,将需要培养的材料做好标记(如学号、姓名、标本号等),放入培养箱中培育;观察完结果后将培养物放入污物桶,送消毒室处理。

10. 保持实验室清洁卫生,实验结束后需用消毒剂对台面、地面等进行擦拭,并用紫外灯照射实验室进行空气消毒。

11. 离开实验室前,脱下实验服反折放入指定位置,将手浸泡在消毒液中 5~10min,再用自来水冲洗干净。检查并关好水、电、门、窗后离开实验室。

## 二、医学微生物学教学实验室生物安全防护措施

实验室生物安全防护是指避免生物危险因子,特别是偶然的和有意利用的生物因子,对生物体包括实验室工作者在内的伤害及对环境污染的意识和措施。实验室生物安全防护包括标准化的操作技术和流程、实验室安全设备、个人防护装置和措施,以及实验室设计和建筑要求。

### 1. 实验室生物安全防护水平

一般为 BSL-2 级(少数致病性强的需 BSL-3 级),主要进行对人和环境具有中等潜在危害(少数为高致病性)的微生物相关实验。

### 2. 实验室设为 3 个区域

(1) 清洁区:正常情况下没有生物危险因子污染的区域,此区可存放个人物品,一般位于实验室外。

(2) 半污染区:正常情况下有轻微污染的区域。此区放置低温冰箱,主要进行准备工作,如培养基、细胞、制剂的配制等。在此区操作应做好个人防护,穿工作服或防护服、戴口罩和手套等,禁止带入个人物品。

(3) 污染区:实验操作区,穿工作服或防护服、戴口罩和手套等,严格无菌操作;禁止带入个人物品。

### 3. 实验室安全设备

实验室安全设备包括生物安全柜、高压蒸汽灭菌器、微型加热灭菌器、超声清洗器、护目镜、面(眼)罩、应急喷淋装置、洗眼装置、干手机、酒精灯、紫外灯等。应了解仪器的位置,并严格按照操作方法和正确步骤使用及维护。

### 4. 实验室生物安全基本要求

(1) 配备生物安全柜。根据需要选择合适的型号,并应根据不同型号产品的要求进行安装、使用和维修。常规操作过程中容易产生气溶胶,如混匀、超声雾化和剧烈搅拌等操作应尽量使用生物安全柜。

(2) 配备常用消毒剂及应用指南。血液或其他体液发生泄漏,应及时消毒;被血液或其他体液污染的设备在实验室内或外送商家进行维修之前,应清洗和消毒;无法消毒的设



备须贴上生物危害标签。

- (3) 所有锐利物品在使用后应集中放入专用锐器盒内,用完后拧紧盖子,整体按照医疗废物进行处理。
- (4) 使用机械移液装置时,禁止口吸移液。
- (5) 实验完成后,应使用合适消毒剂对工作台面进行消毒。
- (6) 手或皮肤在接触血液或其他体液后必须立即彻底清洗,实验结束后或取下手套后应立即洗手,离开实验室之前应脱下隔离衣等所有的个人防护装备,并存放在指定地方。

### 三、常见医学微生物学教学实验室意外事故处理

#### 1. 菌(毒)种外溢到操作台面、地面和其他物品表面

遇到菌(毒)种外溢到操作台面、地面及其他物品表面时应戴手套(必要时穿防护服及对脸和眼睛进行防护),立即用布或纸巾覆盖并吸收溢出物;向布或纸巾上倾倒适当消毒剂,并覆盖周围区域,通常可以使用5%次氯酸钠溶液;如有碎玻璃或其他锐器,则要使用簸箕或硬厚纸板进行收集,并将其置于可防刺透的容器中待处理。对溢出区域再次清洁并消毒;将污染材料置于防漏、防穿透的废弃物处理容器中。被污染的防护服用消毒液浸泡后进行高压灭菌处理。

#### 2. 菌(毒)种外溢到皮肤黏膜

如遇菌(毒)种外溢到皮肤黏膜时,应及时停止实验,能用消毒液清洗的部位可直接进行消毒,然后用水冲洗15~20min;若皮肤被刺破视为有极大危险,应对伤口进行挤血,用水冲洗消毒。视情况隔离观察,其间根据条件进行适当的预防治疗。

#### 3. 非封闭离心桶的离心机内盛有潜在感染性物质的离心管发生破裂

这种情况视为发生气溶胶暴露事故,应立即加强个人防护力度,处理方法如下:

(1) 如果机器正在运行时发生破裂或怀疑发生破裂,应关闭机器电源,为使气溶胶沉积,机器停止后密闭离心管至少30min后行消毒处理。

(2) 如果机器停止后发现破裂,应立即将盖子盖上,并密闭至少30min。

发生上述两种情况时都应报告实验室负责人。随后的所有操作都应加强个人呼吸保护并戴厚橡胶手套,必要时可在外面戴一次性手套。清理玻璃碎片时应使用镊子,或用镊子夹着棉花来进行。所有破碎的离心管、玻璃碎片、离心桶、十字轴和转子都应放在无腐蚀性的、已知对相关微生物具有杀灭活性的消毒剂内。未破损的带盖离心管应放在另一个有消毒剂的容器中,消毒后回收。离心机内腔应用适当浓度的消毒剂反复擦拭,然后用水冲洗并干燥。清理时所使用的全部材料都应按感染性废弃物处理。

#### 4. 在封闭离心桶(安全杯)内离心管发生破裂

所有密封离心桶都应在生物安全柜内装卸。如果怀疑在安全杯内发生离心管破损,应



该松开安全杯盖子并将离心桶高压灭菌,还可以采用化学方法消毒安全杯。

#### 5. 操作者或其所在实验室工作人员出现与被操作病原微生物导致疾病类似的症状

如遇实验有关人员出现实验微生物感染类似症状应被视为可能发生实验室感染,需及时到医院就诊,并如实主诉工作性质和发病情况。

#### 6. 皮肤刺伤、切割伤或擦伤

被实验所用的血液、体液污染的针头或其他锐器刺伤后,应立即用力捏住受伤部位,向离心方向挤出伤口的血液,同时用流动水冲洗伤口;再用75%乙醇或碘伏消毒伤口,并用防水敷料覆盖。如果黏膜破损,应用生理盐水(或清水)反复冲洗,伤口应使用适当的皮肤消毒剂(如70%乙醇、0.2%次氯酸钠、0.2%~0.5%过氧乙酸、0.5%聚维酮碘等)浸泡或涂抹消毒,必要时进行医学处理。意外受伤后必须立即报告。

#### 7. 液体溅入眼睛

当实验液溅入眼睛应立即用洗眼器或生理盐水冲洗至少10min(注意避免揉眼睛),然后再进行相应的医学处理。

#### 8. 菌液或标本污染

当被菌液污染时应倾倒适量消毒液于污染面,浸泡30min后抹去;若手上沾有活菌,亦应于上述消毒液中浸泡10min,再用肥皂及自来水冲洗。

#### 9. 化学药品腐蚀伤

被化学药品污染并腐蚀时先用大量清水冲洗,若为强酸以5%碳酸氢钠或5%氢氧化铵溶液中和;若为强碱则以5%醋酸或5%硼酸洗涤中和;必要时进行医学处理。

#### 10. 实验用书籍、材料、衣物等被污染

实验用书籍、材料、衣物被污染时将原件置于盛放污染性废弃物的容器内,高压灭菌处理。

#### 11. 在生物安全柜以外发生有潜在危害性的气溶胶释放

当遇到有潜在性的气溶胶释放时所有人员必须立即撤离相关区域,并通知实验室负责人,任何暴露人员都应该接受医学咨询。为了使气溶胶排出和较大粒子沉降,在一定时间内(如24h)应在实验室门上张贴“禁止进入”的标志。超过相应时间后,再在相关人员的指导下清除污染。

#### 12. 意外发生火灾

遇意外火情应沉着处理,切勿慌张。如因电源起火,立即关闭电源,再行灭火;如系乙醇、二甲苯、乙醚等起火,切忌用水灭火,应迅速用沾水的布类和沙土覆盖扑火。

#### 13. 感染的实验动物逃跑

被感染的实验动物逃跑时应立即抓回,并对污染区进行处理。

(邵世和)

# 第一篇

## 常见细菌的检验技术





# 第一章 球 菌

## 一、葡萄球菌属

葡萄球菌为触酶阳性、氧化酶阴性、兼性厌氧、革兰染色呈不规则葡萄状排列的阳性球菌,形态学和生化反应是其主要鉴别特征。临床实验室常选择触酶、血浆凝固酶、耐热核酸酶、甘露醇发酵、新生霉素敏感实验,免疫学实验和动物实验等鉴定方法,细菌鉴定所选实验越多,结果越准确。

### 【目的】

1. 掌握葡萄球菌的分离培养与菌落特点。
2. 掌握葡萄球菌的菌体形态、染色特性和鉴定方法。
3. 熟悉葡萄球菌 A 蛋白 (SPA) 免疫学检测和金黄色葡萄球菌肠毒素检测方法。

### 【主要试剂、器材和动物】

1. 菌种:金黄色葡萄球菌,表皮葡萄球菌,腐生葡萄球菌。
2. 培养基:普通琼脂平板,血琼脂平板,MH 琼脂平板,甘露醇发酵管,甲苯胺蓝核酸琼脂,液体培养基。
3. 试剂:革兰染液,新配 3%  $H_2O_2$  溶液,新鲜的 EDTA 抗凝兔血浆(或人血浆),致敏胶乳试剂,金黄色葡萄球菌肠毒素 ELISA 检测试剂盒。
4. 其他:酒精灯,生理盐水,接种环,载玻片,小试管,新生霉素纸片( $5\mu g/片$ ),幼猫,一次性卡片和普通光学显微镜。

### 【方法与结果判读】

#### 1. 形态观察

接种环灭菌后,取普通琼脂平板或血琼脂平板上葡萄球菌菌落少许,在载玻片上与适量生理盐水研磨,革兰染色后镜检,记录油镜下菌体染色、形态及排列特征。三种葡萄球



菌的菌体形态均为革兰阳性球菌,呈散在或不规则葡萄状排列。

## 2. 菌落观察

将金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌及腐生葡萄球菌分别接种在普通琼脂和血琼脂平板上,35℃培养18~24h,观察和记录细菌菌落特征。普通琼脂平板上,三种葡萄球菌均形成湿润、光滑、圆形凸起、边缘整齐、中等大小的菌落,菌落颜色随细菌产生的脂溶性色素不同而不同(金黄色葡萄球菌呈金黄色、表皮葡萄球菌大多呈白色、腐生葡萄球菌大多呈柠檬色)。血琼脂平板上,金黄色葡萄球菌菌落周围有 $\beta$ 溶血环,腐生葡萄球菌和大多数表皮葡萄球菌菌落周围无溶血环,其他菌落特征与其在普通琼脂平板上的菌落基本相同。

## 3. 生化反应

### (1) 触酶实验

① 原理:葡萄球菌产生的过氧化氢酶(触酶),能催化 $H_2O_2$ 分解成水和新生态氧,继而形成分子氧出现气泡。

② 方法:挑取普通琼脂平板上的葡萄球菌,置于洁净载玻片上,滴加1~2滴3% $H_2O_2$ ,立即观察结果。

③ 结果判读:30s内产生大量气泡为阳性,无气泡者为阴性。本实验常用于革兰阳性球菌的初步分类,葡萄球菌属和微球菌属为阳性,链球菌属和肠球菌属为阴性。

### (2) 血浆凝固酶和凝聚因子实验

① 原理:葡萄球菌可产生两种凝固酶,一种为结合型血浆凝固酶(凝聚因子),可使血浆中纤维蛋白原变为纤维蛋白,附着于细菌表面,在玻片上形成凝块;另一种为分泌至菌体外的游离型血浆凝固酶,它在血浆中的协同因子激活下变成凝血酶样物质,可使试管中血浆发生凝固。

### ② 方法

玻片法(凝聚因子实验):取1滴生理盐水滴于载玻片上,用接种环挑取少许葡萄球菌菌落,与生理盐水研磨成浓的悬菌液,若无自凝现象则加1滴兔血浆混合,10s内观察结果。此法用于结合型凝固酶的测定。

试管法(凝固酶实验):取3支小试管,各加0.5mL新鲜兔血浆,一支试管中加3~5个待检菌菌落,充分研磨混匀,另两支试管中分别加凝固酶阳性的金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性的表皮葡萄球菌作对照,三管均置37℃水浴中3~4h,观察结果。此法用于游离型凝固酶的测定。

### ③ 结果判读

玻片法:细菌在生理盐水中无凝集而在血浆中出现明显凝块为阳性;细菌在血浆中呈均匀混浊为阴性;若细菌在生理盐水中有自凝现象,则不适合采用玻片法测定血浆凝固酶。

试管法:细菌使试管内血浆凝固呈胶冻状为阳性;试管内血浆不凝固仍呈流动状为阴性;若阴性,继续放置24h观察,仍无凝固者为阴性。

血浆凝固酶实验是鉴别葡萄球菌的常用实验之一,除金黄色葡萄球菌呈阳性外,中间