

醫用細菌真菌學檢查圖解

人民衛生出版社

8939.5
3856

~~268~~

~~8675~~

醫用細菌真菌學檢查圖解

李在連 編

人民衛生出版社

一九五六年·北京

醫用細菌真菌學檢查圖解

開本：787×1092/18 印張：9.2/9

李在蓮編

人民衛生出版社出版

(北京總刊出版登記證：出字第046號)

•北京崇文區紙子胡同三十六號•

中華書局上海印刷廠印刷·新華書店發行

統一書號：14048·0491 1955年9月第1版—第1次印刷
定價：5.90元 1956年8月第1版—第2次印刷
(上冊版) 印數：3,101—5,600

序

過去二年中，在中央衛生部正確領導下，各地醫務工作者對於出版有關細菌學教學方面的書籍有相當的努力，特別是中級細菌學的教材和對檢驗等實際應用的書籍。就是供教學用的圖解，現在常見的已經有三種：魏曉教授所編的細菌學圖譜(1951)，汪美先氏所譯的羅氏細菌學圖解(1952)，杜公振教授所編的大掛圖，這幾種書籍對於講授細菌學，一定可以起很大的幫助作用。但是爲了技術人員實際操作時作爲參考的還沒有見到。現在山東醫學院細菌科李在連同志在丁復新教授指導下，用圖畫來指出操作的步驟，使初學的可以按步操作，而已經有經驗的工作人員也可以供作參考用，使學生和工作人員都可以節省不少時間和精神，而且也可以解除閱讀書本的困難，是值得贊許的。因此，願意略寫幾行作爲本書的介紹。

中國協和醫學院細菌學系

謝少文

1952年11月

細菌學是一門實驗科學，學習細菌學的理論固然重要，但離不開實踐，沒有實踐的細菌學免不了成爲教條。普通細菌學實驗的基本環節有兩個：一個是細菌形態學，第二個是鑑定細菌的程序。關於前者我們已經有了比較完全的圖譜，但是缺少一個集中地以圖解方式來表現細菌檢查過程的手冊。

用圖解來表示一個檢查方法的過程，在細菌學裏是很適用的，它不但節省了很多文字，而且一目了然，便於記憶，許多展覽會採用了這種方式，都收到很大的效果。

李在連同志在學習與工作的過程中，將普通細菌學真菌學檢查方法集中地繪成圖解，包括染色、培養、動物試驗、血清反應等，內容頗切合實際，從而提高了自己的業務水平，另一方面對初學細菌學者及從事檢驗工作的同志們，滿足了一種需要，故樂爲介紹如上。

于復新

1954, 1, 18.

自序

去年春天，我曾開始收集一些有關細菌學與真菌學方面的圖譜，主要目的不過是累積一些材料，希望這些材料有助於教學而已。後來經過同志們的鼓勵，才把它編繪成冊。

首先應當向謝少文、于復新兩位教授致以崇高的敬意，因為他們是本書編寫的熱誠策勵者；同時，在百忙中，謝教授與于教授曾經詳盡地給予批閱與指導，作者表示無限的感激。此外尚得到黃翠芬教授、高恩賜大夫等的指示，也同樣深致謝意。

本書共分細菌學與真菌學檢查法兩個部分，均以圖解方式繪畫出各種標本的診斷步驟及培養結果，使初學的同志得以更容易地瞭解操作程序與鑑別特徵。最初我們便嘗試了如何以圖畫形式來表達一切檢查步驟的進行，而使這些步驟更逼真，更加形象地幫助初學的同志們，但是做得還是不夠完善的。從1950年開始把這種方法應用在細菌學的講授與實驗或示教上。我們首先把收集到的材料繪成大的掛圖，有的時候隨講隨就在黑板上畫成各種圖譜。雖然我們肯定了它是能够發生一定的作用的，特別是有助於技術人員的訓練與獨立工作時的參考；但是，由於收集材料的限制，有的繪畫還不夠十分逼真，這就說明了，這本書還是有許多缺點的。作者學識淺陋，經驗缺乏，謹以誠懇的態度希望專家及讀者們提出嚴正的批評與指教！

李在蓮

1953年5月於山東醫學院細菌學科

目錄

一、染色法	1	(三)普通瓊脂培養基	11
(一)染料及染色液	1	(四)血瓊脂培養基	11
(二)革蘭氏染色法	2	(五)加熱血瓊脂培養基	12
(三)抗酸染色法	3	(六)半固體的桿菌培養基	12
1. 齊尼二氏染色法	3	(七)鑑別培養基	12
2. 巴氏染色法	3	1. 中國藍培養基	12
(四)稀狀桿菌染色法	4	2. 遠藤氏培養基	12
1. 呂弗流氏鹼性美藍染色法	4	3. 沙門氏志賀氏瓊脂培養基	13
2. 甲紫美藍染色法	4	4. 伊紅美藍瓊脂培養基	13
3. 奈脫氏染色法	4	(八)羅氏雙糖斜面培養基	13
(五)瑞氏染色法	5	(九)發酵試驗用炭水化合物培養基	14
(六)姬氏染色法	5	(十)半固體雙糖培養基	14
(七)乳酸酚棉藍染色法——貫菌	6	(十一)半固體三糖培養基	14
(八)美藍染色法	6	(十二)布德、金戈二氏培養基	16
(九)芽胞染色法	6	(十三)硫化氫培養基製法	16
(十)鞭毛染色法	6	(十四)B-B-L 培養基	16
(十一)方氏螺旋體染色法	7	(十五)邵寧氏培養基	16
(十二)螺旋體 Nigrosin-B 染色法	8	(十六) Petragani 氏培養基	16
(十三)立克次氏體 Machiavello 氏染色法	8	(十七)羅氏培養基	17
二、培養基	9	(十八)牛乳培養基	17
(一)氫游子濃度測定法	9	(十九)烹肉渣培養基	17
(二)基礎培養基肉浸液	11	(二十)硝酸鹽蛋白陳水	17

(二十一) 范保特氏葡萄糖瓊脂	17
(二十二) 玉米瓊脂培養基	18
(二十三) 動物膠(筋膠)培養基	18
(二十四) 硝酸鈉培養基	18
(二十五) 檸檬酸鹽培養基	18
(二十六) 尿素培養基	18
三、細菌學檢查法	19
(一) 細菌之形態	19
(二) 細菌菌落識別	20
(三) 劃線分離法	22
(四) 穿刺和直線培養法	24
(五) 細菌在動物膠培養基發育情況	25
四、葡萄球菌鑑定法	26
葡萄球菌	28
五、鏈球菌鑑定法	30
鏈球菌	32
四聯球菌	33
膿培養	34
痰培養	36
肺炎雙球菌鑑定法	38
白喉桿菌鑑定法	40
白喉桿菌	42
咽喉培養法	44
十一、結核桿菌培養法	46
結核桿菌	48

結核桿菌玻片培養法	49
麻風桿菌	51
十二、腸道桿菌鑑定法(一)	52
腸道桿菌鑑定法(二)	54
腸道桿菌鑑定法(三)	56
(一) 大腸桿菌	58
(二) 傷寒桿菌及副傷寒桿菌	58
(三) 志賀氏菌屬	58
十三、絲膜桿菌、變形桿菌、英膜黏液桿菌培養	60
(一) 絲膜桿菌	62
(二) 變形桿菌	64
(三) 英膜黏液桿菌	66
十四、腸道桿菌生化反應表	68
腸道桿菌生化反應圖解	69
十五、霍亂弧菌培養法	70
霍亂弧菌	72
十六、鼠疫桿菌培養法	74
鼠疫桿菌	76
十七、布氏桿菌屬	78
十八、嗜血桿菌屬培養法	80
(一) 流行性感冒桿菌	82
(二) 百日咳桿菌	82
(三) 郭魏氏氏桿菌	84
(四) 摩拉氏桿菌	84
十九、奈瑟氏菌屬培養法	86

(一) 淋病雙球菌	88
(二) 腦膜炎雙球菌	88
(三) 卡他爾雙球菌	88
二十、炭疽桿菌培養法	90
炭疽桿菌	92
二十一、厭氧培養法	94
二十二、梭狀芽胞桿菌屬	96
(一) 破傷風桿菌	96
(二) 產氣美膜桿菌	96
(三) 肉毒桿菌	96
二十三、各種體液培養法	98
(一) 血液培養法	98
(二) 尿、腦脊液、各種抽出液(胸水、腹水等)及胃液、十二指腸液培養法	98
二十四、水的培養	100
二十五、乳的檢查法	102
二十六、測定細菌對於各種藥劑之易感性	104
二十七、體液內各種藥物含量測定	106
二十八、動物接種法(一)	108
動物接種法(二)	110
二十九、小白鼠解剖法	111
三十、螺旋體	112
(一) 梅毒螺旋體	112
(二) 鈎端螺旋體	113
(三) 霍森氏螺旋體及梭狀桿菌	114

(四) 回歸熱螺旋體	115
(五) 鼠咬熱小螺旋菌	116
(六) 微螺旋體	117
一、醫用真菌學檢查法	118
二、真菌的孢子及菌絲形態	119
三、放線菌屬培養法	120
(一) 牛型放線菌	122
(二) 星形放線菌	125
四、酵母菌、念珠菌、隱球菌屬鑑別法	126
五、隱球菌屬	128
(一) 新形隱球菌	128
(二) 粉紅色隱球菌	128
六、念珠菌屬	129
(一) 白色念珠菌	129
(二) 念珠菌屬鑑別診斷法	131
七、荚膜組織胞聚菌及芽生菌屬培養法	132
八、荚膜組織胞聚菌	134
九、芽生菌屬	135
(一) 皮炎芽生菌	135
(二) 巴西芽生菌	136
十、申克氏孢子菌	137
十一、地絲菌	138
十二、着色芽生菌	139
(一) 裴氏着色芽生菌	139
(二) 緊密着色芽生菌	139

(三)疣性皮膚菌	139
十三、馬杜拉菌	140
十四、鼻孢子菌	140
十五、厭酷球孢子菌	141
十六、皮膚絲狀菌屬培養法	142
十七、絮狀表皮癬菌	144
十八、小孢子菌屬	145
(一)奧杜盎氏小孢子菌	145
(二)狗小孢子菌	145
(三)右臂樣小孢子菌	145
十九、毛髮癬菌屬	146
(一)髮癬毛菌	146
(二)紅色毛菌	146

(三)斷髮毛菌	147
(四)許蘭氏毛髮癬菌	147
(五)同心性毛菌	147
(六)鐵銹色毛菌	148
(七)革色毛菌	148
(八)疏毛髮癬菌	148
(九)密塊狀髮癬菌	149
(十)麥格氏髮癬菌	149
(十一)禿落髮癬菌	149
二十、毛黴菌	150
二十一、麴菌屬	151
二十二、帚形菌	151
二十三、真菌的菌落形態	152

一、染色法

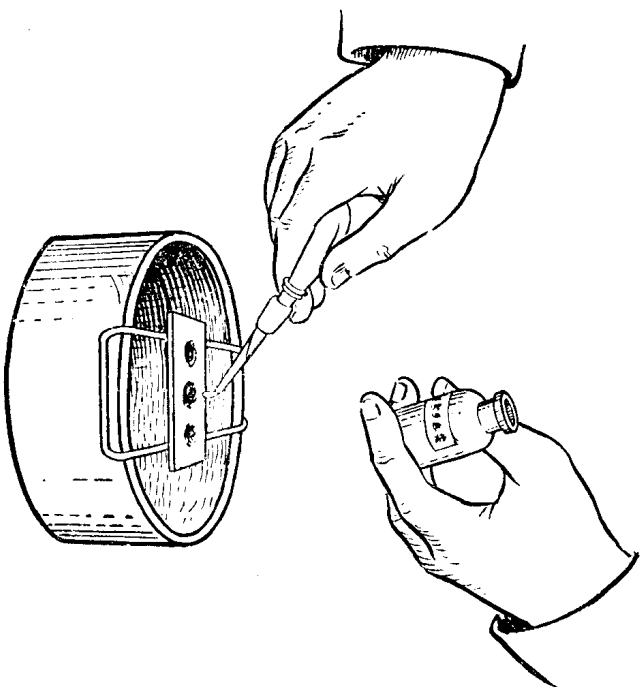
(一) 染料及染色液

染料大別為酸性及鹼性兩種，前者對細胞之親和力大，後者對細胞核之親和力大，故血細胞及原蟲之染色，宜兩者合併用之。
 一般之細菌，因核質彌散於菌體內，所以單用鹼性之染料即可。

酸性染料：伊紅、酸性復紅、胭脂紅等。

鹼性染料：美藍、鹼性復紅、甲烷紫、結晶紫、沙黃、俾士麥棕(褐)、龍胆紫(結晶性甲烷紫與糊精之混合物)、孔雀綠等。

一般之染料在 26°C 溫度下，溶於 100 毫升之水及酒精(95%)內，成為飽和溶液，所能溶之克數如下：



染料名稱	水(克/100)	酒精(克/100)
鹼性復紅 Basic Fuchsin	0.39	8.16
甲烷紫 Methyl Violet	2.93	15.21
結晶紫 Crystal Violet	1.68	13.87
沙黃 Safranin	5.45	3.41
俾士麥棕 Bismarck Brown	1.36	1.08
孔雀綠 Malachite Green	7.60	7.52
伊紅 Eosin Y (Sodium Salt)	44.2	2.18
中性紅 Neutral Red	5.64	2.45
苦味酸 Picric Acid	1.18	8.96
甲苯胺藍 Toluidine Blue	3.82	0.57
美藍 Methylene Blue	3.55	1.48
硫堇 Thionin	0.25	0.25

(二) 革蘭氏染色法

染色液 1. 結晶紫液: (1) 結晶紫

酒精 (95%)

3 克
20 毫升

(2) 草酸銨

0.8 克

蒸餾水

80 毫升

兩液混和即為「結晶紫液」。

2. 革蘭氏碘液:

碘

1 克

碘化鉀

2 克

蒸餾水

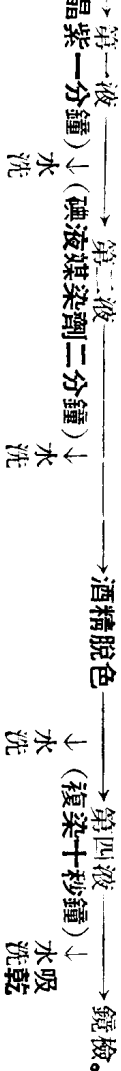
300 毫升

3. 酒精 (95%) 或醋酸, 或醋酸酒精 (1:1)

4. 稀釋之石炭酸復紅液 (1/10)

染色法

鹽水 + 細菌
火焰或酒精固定



結果

- (1) 不被酒精脫色, 菌體呈紫色者為革蘭氏陽性菌。
(2) 可被酒精脫色, 菌體呈紅色者稱為革蘭氏陰性菌。

凡致病之球菌, 除了(奈瑟氏菌屬)外, 都是革蘭氏陽性。
凡致病之桿菌, 除了(白喉棒狀菌屬, 抗酸菌, 產芽胞大桿菌, 梭狀芽胞菌)外, 都是革蘭氏陰性。
所有的螺旋體都是革蘭氏陰性。
所有的立克次氏體都是革蘭氏陰性。
所有的致病性真菌都是革蘭氏陽性。

【註】染色可能之變異:

- (1) 技術上之變異——因片厚, 染色時間, 脫色劑及脫色時間等影響。
(2) 培養之變異——培養之老幼及培养基的不同都可影響。

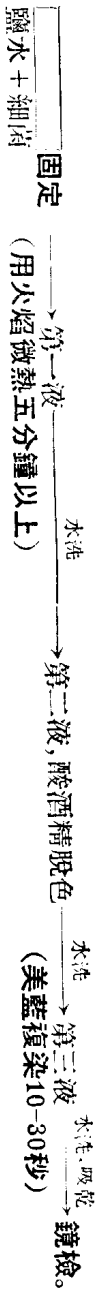
(三) 抗酸染色法

1. 齊倪二氏染色法

染色液

- (1) 鹼性復紅酒精飽和液 10 毫升
- 5% 石炭酸水溶液 90 毫升
- (2) 濃鹽酸 3 毫升 + 95% 酒精 97 毫升——酸酒精
- (3) 美藍 0.3 克
- 酒精 95% 30 毫升
- 溶解後加入蒸餾水 100 毫升

染色法



結果

抗酸性菌菌體染成紅色, 背景及其他細菌呈藍色。

2. 巴 (Pappenheim) 氏染色法

染色液

- 玫瑰色酸 (orallin (Rosolic acid)) 1 克
- 無水酒精 100 毫升
- 美藍, 加至飽和
- 甘油 20 毫升

染色法



結果 結核桿菌呈紅色，背景或其他細菌皆呈藍綠色。

此法可用於結核桿菌與包皮垢桿菌之鑑別，因包皮垢桿菌可被脫色，菌體呈藍色。

(四) 棒狀桿菌染色法

1. 呂弗流氏鹼性美藍染色法

染色液 甲液 美藍

乙醇(95%)

0.3 克

30 毫升

將甲、乙二液混合即成。

乙液 氫氧化鉀(依重量計, 0.01%) 100 毫升

染色法

標本 固定後→加上液染 1 分鐘→水洗吸乾→鏡檢。

結果 白喉桿菌可見極體及異染顆粒着色較深。

2. 甲苯胺藍染色法

染色液 甲苯胺藍(Toluidine blue) 0.25 克

冰醋酸

2 毫升

無水酒精

5 毫升

蒸餾水

100 毫升

染色法 標本固定後→用上液染色一分鐘→水洗，吸乾→鏡檢。

結果 顆粒及極體着色較深。

3. 奈瑟氏染色法

染色液

甲液

美藍液

10 毫升

5%醋酸(新配製)

50 毫升

乙液 俾士麥褐 0.5 克 } 冷却, 過濾備用。
熱開水 100 毫升

染色法 標本固定後→加甲液染 1—3 分鐘→乙液複染一分鐘→**鏡檢**。
結果 白喉桿菌之極體染成藍色菌體染成棕褐色。

(五) 瑞(Wright)氏染色法

染色液 (1) 瑞氏染料粉末 0.3 克 }
甘油 3 毫升 } 將粉末置於乾燥之乳鉢中研磨, 先加甘油後加木精, 貯玻璃瓶中一夜後過濾即可。
純粹無醋酮之木精 97 毫升

(2) 緩衝液
一鹽基磷酸鉀 1.63 克
二鹽基磷酸鈉 3.2 克
蒸餾水 1000 毫升

染色法 標本自乾→加染料染色 $\frac{1}{2}$ —1 分鐘→緩衝液等量, 混勻, 再染 3—5 分鐘→水洗、吸乾**鏡檢**。
(本染色法每因所配的染料、染色時間大有差異, 得按試用後之經驗而定。)
結果 中性顆粒狀細胞呈淡紫紅色, 酸性顆粒呈伊紅色素, 鹼性者呈深藍色。

(六) 姬(Giemsa)氏染色法

染色液 (1) 原液: 姬氏染料粉末 0.5 克
甘油 33 毫升
純粹無醋酮之木精 33 毫升

(2) 稀釋液: 姬氏原液 1 毫升 + 緩衝蒸餾水 10 毫升。(應於臨時配製)
染色法 木精固定 3—5 分鐘→空氣中乾燥→加姬氏稀釋液染色 30 分鐘→水洗、待乾**鏡檢**。

(七) 乳酸酚棉藍染色法——真菌

染色液

結晶石炭酸

乳酸

甘油

蒸餾水

玻片上加染料一滴→置培養物或標本於其中，用針攤勻→覆蓋片微加溫→鏡檢。

20 克	} 加溫溶解後再加棉藍 (Cotton blue) 0.05 克。
20 毫升	
40 毫升	
20 毫升	

(八) 莢膜染色法 (Hiss 氏法)

染色液 (1) 龍胆紫酒精飽和液 5 毫升 (或用稀復紅液) (以復紅酒精液代替龍胆紫，配法同前)

蒸餾水 9.5 毫升

(2) 20% 硫酸銅液

標本製就後，自乾，酒精固定→第一液，加熱蒸騰 1 分鐘→硫酸銅沖洗，(不可用本法)吸乾→鏡檢。
結果 菌體呈紫色或紅色，莢膜呈鮮藍色。

(九) 芽胞染色法 (Huntton 氏法)

染色液 (1) 酸性復紅 4 克溶於 2% 冰醋酸 50 毫升中 } 二液混合，過濾備用。

美藍 2 克溶於 2% 冰醋酸 50 毫升中

(2) $\frac{1}{200}$ 碘酸鉀溶液

標本上滴加第一液，加熱蒸騰 $\xrightarrow{5 \text{ 分鐘後}}$ 以第二液脫色至微呈藍色為止， $\xrightarrow{\text{水洗，吸乾}}$ 鏡檢。
結果 芽胞呈紅色，菌體呈藍色。

(十) 鞭毛染色法

染色液 1. 媒染劑：——

鉍明礬飽和水溶液 (Ammonium Alum) 20 毫升

20 % 鞣酸水溶液

蒸餾水

95 % 酒精

鹼性復紅酒精飽和液

10 毫升
10 毫升
15 毫升
3 毫升

配製畢，靜置一日後使用。可保存一星期。

2. 美藍

硼砂

蒸餾水

0.1 克
1.0 克
100 毫升

標本製法

培養於瓊脂斜面歷 18 小時之菌種 + 蒸餾水 (37°C) 在玻片上勿攪動，使鞭毛自展。→ 在 37°C 孵箱內俟乾。

染色法

媒染劑染 10 分鐘 → 水洗 → 第二液染 5—10 分鐘 → 水洗，待乾 → 鏡檢。

結果

菌體呈藍色，鞭毛呈紅色。

(註：亦可用 18 小時的肉湯培養物加等量蒸餾水，洗滌 3—4 次後取沉渣塗片，染色)。

(十一) 方 (Fontana) 氏螺旋體染色法

染色液 (1) Ruge 氏溶液：

冰醋酸

1 毫升

蟻醛 40 %

2 毫升

蒸餾水

100 毫升

(2) 鞣酸媒染劑：

5 % 鞣酸水溶液

(3) 硝酸銀 4 克

蒸餾水 200 毫升

取硝酸銀原液 25 毫升，滴加稀氨液 (Ammonia)，先有黃色沉澱，復溶。再滴加硝酸銀，至微發稠濁為止。此液即“方氏溶液”。

染色法

(1) 將 Ruge 氏液加於已乾而未固定之標本一分鐘 → 水洗 → 95 % 酒精並火焰固定。

(2) 於固定之標本上加鞣酸媒染劑染 30 秒鐘 (微溫) → 水洗 → 加方氏液加溫染色 30 秒 → 水洗鏡檢。

結果 背景呈淺棕黃色,螺旋體呈棕黑色或黑色。

(十二) 螺旋體 Nigrosin-B 染色法

染色液 稱取 Nigrosin-B 10 克,溶於 90 毫升蒸餾水中,煮沸 30 分鐘,加 40% 之蟻醛 0.5 毫升,過濾備用。

染色法 標本一滴 + 染料一滴,混勻推一薄膜,待乾,油鏡檢視。

結果 螺旋體呈透亮,不着色,背景呈黑色。

(十三) 立克次氏體 Machiavello 氏染色法

染色液 (1) 鹼性復紅 0.25% 液

(2) 枸橼酸 0.5% 溶液

(3) 美藍水溶液 1%

染色法 固定標本 第一液染 4 分鐘 $\xrightarrow{\text{水洗}}$ 第二液脫色數秒鐘 $\xrightarrow{\text{水洗}}$ 第三液複染 10 秒鐘 $\xrightarrow{\text{水洗吸乾}}$ 鏡檢。
結果 立克次氏體及大型微子染成紅色,細胞及其他細菌均呈藍色。