

137413

實用細菌學檢驗法

陳 少 伯 編 著

龍 門 聯 合 書 局 發 行

實用細菌學檢驗法

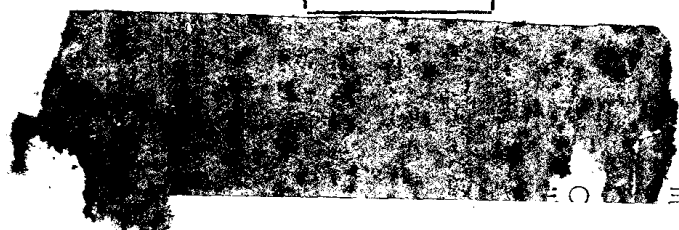
(修訂本)

陳少伯編著

龍門聯合書局發行

實用細菌學檢驗法

全一冊



伯
芝

號

發行

靜安

上海愚園
電話

支店

三一六
號

分售處

龍門聯合書

分局

北京分局

82號

北京南城支店

103號

北京西城支店

市場6號

南京分局

267號

重慶分局

各318號

廣州分局

各204號

漢口分

路3號

瀋陽分

號

西安分

號

天津分

號

長沙分銷處

號

杭州分銷處

平海路102號

台灣分銷處

台北衡陽路12號

基本定價拾貳元正 外埠酌加郵運費

一九四三年七月初版

一九五〇年九月四版

李 序

細菌學之檢驗法，在臨床診斷上之應用，日趨重要。但吾國今日尙缺乏是項專書可供參考，不第一般臨床醫師或檢驗人員極感不便，即教授與學習是課者亦感諸多困難。陳少伯醫師本其數年指導細菌學實習之經驗，復參考國外載籍之所長，編著實用細菌學檢驗法一書以問世。取材宏富，極合實際應用，洵足以發揮其多年研究之所得。而其裨益於吾醫學界者，更非淺眇也。

中華民國三十二年二月李振翩於軍醫學校血清研究所

胡 序

細菌學乃發見傳染病的照妖鏡，亦為預防醫學中的精髓，精確檢驗，其有助於臨床診斷以及防疫措施，如影隨形，如響斯應，如探海燈之照射，如過山砲之瞄準，關係密切，在應用上誠不可須臾脫離。可見在醫院在學校在檢疫所等場所，細菌檢驗方法的應用，應該要有一本條分縷析的紀載，藉備參考，以資便利，實有迫切的需要。今日之醫友，常感書荒，然醫學技術上的日常應用書冊，誠如目前平價米之不可一日或缺，陳同學少伯服務於細菌學教室，教課餘暇，勤於寫作，本其編著「實用微生物學」之宏願，先于去年初版印行本冊，即其計劃中之第四集，茲將又付再版，因社會需要而有此暢銷，其切於實用，名不虛傳，信而可徵。陳君乃好學之士，年來學業上著有猛晉，余觀其四集之再版，不久必能繼以三集付梓，三年內更見一二集全部完成，遂其素志。行見日新又新，努力虛心以赴，百尺竿頭，隨日而上，勉旃勉旃。特欣然鼓勵，并為之敘。

中華民國三十三年秋月胡定安識於中國預防醫學研究所時同客北碚蘇醫村

自序

基礎醫學與臨床關係最密切者，首推細菌學，不僅闡明各種傳染病之病原問題，傳染方式以及治療與預防之方針；而於臨床診斷上裨益尤甚，諸如白喉，傷寒等之細菌培養，梅毒之血清診斷，莫不有賴細菌學以解決之。惟一般臨床醫師，並未專習細菌學，非僅不諳檢驗技術，即採取材料之方法，亦不盡合理。至於細菌學檢驗人員，因缺乏參考書籍，對於檢驗材料之處理，如何鑑定等，每不知適當步驟，一般技術上，恆多缺陷。緣此種種，乃有編著本書之動機。

細菌學工作之範圍甚廣，除臨床之細菌學血清學檢驗外，於公共衛生之防疫事宜及血清疫苗製造等技術，亦多應用。本書對於細菌學之基本技術特別注重，凡從事上述工作人員，均可以此書為範本。

醫學生於讀細菌學時，雖有實習指導之專書可供參考，而實習指導僅述其概要，對於各種器械之構造使用法及各項技術均不詳盡，作者管理學生細菌學實習，數年以來，深感學生之苦衷。同時，當教員者，往往於實習前因某一問題而有東翻西閱之勞。用編是書，聊供各醫學院教學之助。

本書取材，以完全切合實際應用為主，至於簡易之新穎方法，如謝少文氏改良羅氏雙糖培養基及結核桿菌之 Pooman 氏染色法等，亦均採納。惟編印倉卒，掛一漏萬，在所難免，如荷海內外專家不吝指正，無任感禱。

中華民國三十二年元月常熟陳少伯序於軍醫學校血清研究所

再 版 序

去歲在安順軍醫學校血清研究所，承業師李振翩博士之贊助，本書得以初版問世。其時以經濟力量有限，未克大量印刷，孰料出版後不及兩月，已銷去十之八九。十月間著者來北碚任事，僅帶同此書百冊左右，及至今春已悉數售罄。諸友好均鼓勵再版，惟目下公教人員薪津所入尙不敷所出，安有餘力以印刷書籍？雖承教育部發給本書之甲種獎助金，而爲數極微，何補於事。時至今夏，著者鑑於各地紛紛來函詢購，深感我國醫學書籍之匱乏，實有再版之必要。適此次中國預防醫學研究所製造疫苗有所盈餘，適商得胡總幹事之許可，先撥借五萬元作爲印刷費用，本書之所以能再版者，全賴此借款周轉耳。

本書初版，以印刷關係，魯魚豕亥之誤，不一而足。再版時已一一修正，遺漏之處亦加增補。內容方面則與初版無大出入。

著者有編輯『醫用微生物學』之計劃，擬分爲四集，先後出版。暫定第一集爲『細菌與螺旋體』；第二集爲『免疫學概論』；第三集爲『濾過毒與立氏體概論』；第四集爲『實用細菌學檢驗法』。是以本書作爲第四集先行出版，第三集即將付梓。第一第二兩集期於兩年之內絡續與讀者見面。至於寄生蟲學當亦屬微生物學範疇以內，擬洽請擅長斯學者另編寄生蟲學爲第五集。改日昇平，再彙訂成冊，以完成整個計劃。

此書再版，承軍事委員會政治部印刷所之協助並提前排印，感荷良深，用特附筆誌謝。

卅三年七月著者識於北碚國立江蘇醫學院

三 版 序

本書問世以來已將屆四載，荷承各地醫界同道之推許，得由初版而再版。此次復員來鎮，本擬擴充內容，略加更改，祇以本人即將負笈西渡，無暇握管整理，而四方來函詢購者，尙不乏人。茲爲應目前需要起見，特商得龍門聯合書局之同意，排印發行，材料方面，未及增損，則與此次再版之初衷不克盡合，良用歉然。但願一二年後重行改版，增添照片及重要圖像，俾有助於瞭解，諒吾細菌界諸同道及先進，必能贊助而有所指正也。

三十六年二月編者識於鎮江國立江蘇醫學院

謹以此書奉獻

家嚴亮孫先生家慈孫氏

——少伯——

目次

第一章 器械.....	1
一 顯微鏡.....	1
二 滅菌器械.....	5
三 濾菌器.....	7
•四 孵育箱.....	9
五 遠心沉澱器.....	10
六 玻璃器械.....	10
七 白金線與白金耳.....	13
第二章 培養基	14
一 培養基總說.....	14
二 培養基 PH 之測定.....	14
三 培養基之澄清及濾滌法.....	18
四 培養基之分裝法.....	19
五 培養基滅菌法.....	20
六 培養基之組成及製備法.....	20
第三章 染料及染色法.....	40
一 染料.....	40
二 標本製作法.....	41
三 染色法.....	43
第四章 實驗動物	59

一 動物之養護	59
二 動物接種	61
三 動物解剖	63
四 採血	65
五 動物正常體溫	66
第五章 培養法	67
一 培養罩	67
二 移種法	67
三 分離培養法	69
四 孵育法	71
五 培養物之處置	73
六 細菌室工作人員警戒事項	74
第六章 鑑定法	75
第七章 重要致病菌之檢驗法	80
一 肺炎球菌	81
二 鏈球菌	82
三 葡萄狀球菌	84
四 淋球菌	84
五 腦膜炎球菌	85
六 白喉桿菌	86
七 結核桿菌	88
八 癩瘋桿菌	89
九 傷寒桿菌	89
十 沙門氏菌族	91
十一 痢疾桿菌族	91
十二 霍亂弧菌	93

十三 鼠疫桿菌·····	93
十四 破傷風桿菌·····	94
十五 WELCH 氏桿菌·····	94
十六 梅毒螺旋體·····	95
十七 回歸熱螺旋體·····	95
 第八章 臨床血清診斷·····	96
一 肥達氏反應·····	96
二 外斐二氏反應·····	98
三 痢疾凝集反應·····	99
四 霍亂凝集反應·····	99
五 康氏反應·····	100
六 克萊氏試驗·····	107
七 乏色曼氏反應·····	109
八 血型檢定·····	118
 第九章 診斷血清與自家菌苗之製造法·····	120
一 診斷血清·····	120
二 自家菌苗·····	121
 第十章 水與牛乳檢查·····	124
一 水檢查·····	124
二 牛乳檢查·····	125
 第十一章 菌種保存法·····	128

第一章 器 械

一 顯微鏡 (MICROSCOPE)

甲 顯微鏡之裝置

(一)機械部——(1)顯微鏡之前方有一直立之空心圓筒，曰鏡筒(Body Tube)；(2)鏡筒之上端有一可抽動之圓筒，曰抽移筒(Draw Tube)；其上刻有度數，可任意調節，有許多顯微鏡則無此裝置；(3)在鏡筒下裝有可以轉動之迴轉板(Nose Piece)，其上有三或四圓孔，備裝物鏡之用；(4)鏡之最下部，有馬蹄形之鏡座(Base)，用以載荷全部顯微鏡者；(5)鏡座與鏡筒之間有弓形鏡柱(Handle)以支持之；(6)鏡柱與鏡座之間有活動關節(Inclination Joint)相連接，以司鏡之前後傾屈；(7)鏡筒與鏡柱之間有兩個螺旋，一曰粗螺旋(Pinion Screw)，一曰微螺旋(Micrometer Screw)，以司鏡筒之升降；(8)在鏡柱下端裝有圓形或方形之載物台(Stage)，台中央有一圓孔，用以透光，台上裝有兩個鉗板(Stage Forceps)，可以固定載物玻片，為檢驗血液標本便利起見，在載物台上裝有推進機(Mechanical Stage)，具有刻度，可以前後左右移動。

(二)光學部——光學部為顯微鏡之主要部份，由於物鏡，目鏡，聚光器，光圈及反射鏡所組成。

1. 物鏡(Objectives)，係主要之光學裝置，由許多之晶片組合而成，此鏡裝於迴轉板上，其下端接近被檢物體，是以名曰物鏡。物鏡之擴大倍數不等，均有號碼註明。低倍擴大之物鏡，鏡明與載物玻片之間，不必借助其他液體，是以曰乾燥物鏡(Dry Objectives)，而高於倍擴大之物鏡，因其鏡頭之晶片太小，則自載物玻片透過之光線往往在空氣中折光而不易射入鏡頭，致物體觀察不清，乃用一種洋杉油(Cedar Oil)介於鏡頭與載物片間，取其密度與載物玻片相彷彿(折光率為1.52)，不使透過之光線有所損失，物體

即可觀察清晰。細菌體甚微，觀察時最宜應用高倍物鏡。此物鏡名曰油浸物鏡 (Oil-immersion Objectives)。其上註有 HI, 或 Oil-immersion 字樣，初學者務加注意。

2. 目鏡 (Eyepiece or Ocular)，裝於抽移筒上端，與觀察者之目相接近，故名曰目鏡，因其擴大倍數之不同而註有各種號碼，如 $3\times$, $6\times$, $12\times$, $15\times$ 等。為便利指示物像起見，目鏡中裝有細黑絲一根，為指針。

3. 聚光器 (Condenser)，裝於載物台下，可以上下移動，其目的在聚集光線於物體上，以增強照射之光線。

4. 反射鏡 (Mirror)，裝於鏡之最下方，具平凹兩面，可以自由翻轉，用以採取光線及調節焦點。

5. 光圈 (Iris)，裝於聚光器下，可以自由收放，其作用，宛如眼內之虹彩。

乙 顯微鏡之使用法：

顯微鏡為研究細菌之重要工具，細菌工作人員務必明瞭其構造，能靈活運用，更應善自保護，弗使此貴重器械有所損傷。

(一)採光法——顯微鏡不能受直接光線照射，以其不易觀察清晰圖像，且有損光學之裝置也。實驗室內使用顯微鏡，以北向窗下為宜，取其光線平等而無直接光線之射入。晚間可用人工光源 (燈)，惟燈光色紅黃，不合於用，乃於聚光器下裝一藍色玻片，或燈光與顯微鏡間裝一藍色液之圓形玻璃瓶。

(二)焦點之決定——使用油浸物鏡時，於焦點之決定甚感重要，在用油浸鏡前，先用乾燥物鏡，觀察者目對向目鏡，右手把持粗螺旋，左手翻動反射鏡，以見到窗外遠處物體 (如樹)，清晰投入為止，然後再換油浸物鏡。此係初學者必需之手續，老練者不在此例。

(三)觀察者之目——觀察顯微鏡時，以用左眼為宜，兩眼務必同時睜開，如果右眼閉合，則易疲勞，不久即覺頭眩。同時，右眼睜開可以繪圖。

(四)油浸物鏡之使用——在觀察標本時，先用弱倍擴大之乾燥物鏡，尋得相當視野後，再在載物玻片上滴加洋杉油，然後將鏡筒下沉，使油浸物鏡頭與油相接觸 (在側方仔細觀察)，乃將眼移至目鏡上，細心旋動粗螺旋，下

降鏡筒，至模糊見到物像時，再旋動微螺旋，至物像清晰為止。初學者為謹慎起見，先將鏡頭儘量下降，以幾接載物片為度（實際上不能接觸，恐有傷物鏡之晶片），然後上移鏡筒，先得模糊物像後，再用微螺旋以調節之。最好在右手旋轉微螺旋時，同時以左手移動標本，如有障礙，即示物鏡已與載物片接觸，不可再向下旋轉。觀察畢，上旋鏡筒，然後取去標本，用擦鏡紙浸以賽羅油（Xylol）或汽油拭去洋杉油，立即換用乾燥鏡紙，拭去鏡頭上餘剩之賽羅油，因鏡頭晶片之周圍用膠質固定，賽羅油有溶化此膠之力，若不注意，日久後，晶片可以脫落。若用汽油，則少此弊。

（五）微螺旋之使用——在使用顯微鏡前，先注意微螺旋之位置，普通在微螺旋旁上下移動之兩側，一側刻有二劃線，一側刻有一劃線，務使一側之一線在他側二線之中間，方可運用自如。較精細之顯微鏡，在微螺旋之周圍附有刻度，鏡檢前務使零度向上。

（六）反射鏡——於日光下，用平面；人工光下用凹面。檢視染色標本多用平面，檢視本色標本，多用凹面。

（七）聚光器之位置——光源遠時，將聚光器儘量上升；光源甚近時，將聚光器稍稍下降。

（八）光圈——檢視染色標本時，光圈放大；檢視本色標本時，光圈縮小。

（九）接目鏡——初學者往往愛用強擴大目鏡（ $12\times$ 或 $15\times$ ），但通常用弱擴大者（ $6\times$ ）已足，有時弱擴大者反較強擴大者為清晰，如有特殊情形必須詳細觀察時，乃換用強擴大。

（十）推進機——在檢驗血片時，如欲計算血像，非推進機不能精確。耐檢查之細菌，推進機之有無，不足輕重，有時反以手移動標本為方便。

丙 顯微鏡之保護：

（一）顯微鏡使用畢後，用軟綢或擦鏡紙拭淨目鏡與物鏡，以及其他各部。將物鏡成八字式再向下旋，切勿將物鏡垂直放置，惟恐物鏡與聚光器相撞而損壞。最好在載物台上鋪以厚層紗布，庶可避免強力接觸。

（二）光學部份之晶片及反射鏡，若經強烈日光照射，均易損傷，是以對於直接光應竭力避免。

（三）顯微鏡置於冷濕處，易生黴菌，苟晶片上滋生黴菌，則無法除去，是

以顯微鏡務必藏於乾燥處。

丁 顯微鏡之附帶裝置：

(一)測微計(Micrometer)——在顯微鏡下欲知物體之大小，乃利用測微計以測定之。此不特應用於細菌學，於血液學及寄生蟲學亦多用之。測微計所用之單位，為 Micron (μ)，1 Micron 等於千分之一 Millimeter。至於測定濾過性毒所用之單位為 Millimicron ($=1/1000$ Micron)，寫作 $m\mu$ 或 $\mu\mu$ ，此種測定，另有方法，不能以測微計測定之。

測微計主要用目測微計(Ocular Micrometer)以測定之，此計係一圓形玻片，中央刻有五十等分或一百等分小格，每五小等分有一長線相隔。此每小等分之長度不定，隨目鏡與物鏡倍數之不同以及鏡筒之長短而變動。是以在計測前必先以物測微計(Objective Micrometer)以確定其每小格之長度。物測微計係一厚載物玻片，中央有一圓形覆蓋玻片，其中有一百等分刻度，每等分小格之長度為 $1/100$ Millimeter 即 (10μ)

使用時，先將目測微計裝入目鏡內之橫隔上，載物台上裝載物測微計，與平常觀察標本同樣方法，先覓得物測微計之劃線，再移動物測微計與目測微計，使兩者之第一線相合，然後計算每物測微計之小格內有目測微計之小格若干，計算時務必多數幾格，方期準確。如果一物測微計之小格內有五個目測微計之小格者，則目測微計在此種條件下，其每格之長度適等於 2μ 。

實際測定物體時，如仍在上述情況下，物體之長適為目測微計之兩小格，而其闊為半小格，則知此物體之大小為 $4 \times 1\mu$ 也。

如無測微計，可以 Thoma-Zeiss, Tuerck 或 Neubauer 血球計數器代之。因其中每小格之長度為 $1/20mm$ (即 50μ)，亦可為確定目測微計每小格長度之用。

(二)暗視野映光(Dark-field Illumination)——暗視野映光法，能從微細物體在暗黑之境地明耀顯現。於檢覓生活螺旋體，觀察生活菌鞭毛運動情況時，殊稱便利，近來用者極廣。

其原理，即使光線為聚光器下方中央之圓形黑盤所遮，僅由周緣進入之光線集合於載物玻片上，斜照被檢物。物體在暗視野放光顯現。

暗視野聚光器有多種，其中以拋物線聚光器(Paraboid Condenser)為

最常應用。於油浸鏡檢時，非此特殊之聚光器不可。若於弱擴大之乾燥物鏡下檢視物體時，可於普通聚光器下面晶片中央粘附一圓形黑紙，恰遮直接光線射入為度。

採用之光源，以小弧光燈 (Small Arc Lamp) 為最合用。在燈與顯微鏡之反射鏡間，可置一盛有阿摩尼亞銅液之圓瓶，以為聚光器，目的在光線均得平行射入聚光器。燈與顯微鏡間之距離約為 30—50cm。務求光線照滿平面反射鏡，否則被檢物體將不能被光線之平均照映，圖像於以不克確實。最新之暗視野聚光器，在聚光器下裝有燈，使用便利，無上述之煩瑣，良堪推薦。

使用時，在聚光器之表面，滴加洋杉油一滴，或有用甘油者，亦可以煮沸後不含氣體之水代之。然後安置載物片於載物台上。上旋聚光器，使油與載物片相接觸。注意不使油中容留氣泡。被檢驗物須置於水或油中。再覆以蓋玻片。蓋玻片與載物玻片間之水或油中，亦不容有氣泡留存。如有，可以灼熱之白金線接觸蓋玻片以消除之。

所用之載物玻片與蓋玻片，均應絕對清淨，而無裂紋。載物玻片之厚約為 1.45 至 1.55 mm，蓋玻片之厚度為 0.1 mm。兩者均有影響於焦點距離，蓋玻片之厚度如有出入，可伸縮鏡筒之長短以糾正之。

二 滅菌器械 (STERILIZERS)

甲 乾熱滅菌器 (HOT-AIR STERILIZER)

乾熱滅菌器常用於玻璃器具，如 Petri 氏皿、試管，吸管及玻瓶等之滅菌。其構造甚簡單。最好用電氣發熱者，亦有用煤氣加熱者。國難期間，前二者均不易得，著者曾改用木炭以加熱，成績尚佳，而以溫度不易調節為憾，偶一不慎，即有溫度過高之虞。用於玻璃器等之滅菌時，加熱至 150° — 160° C. 二小時即足，不能超過 180° C.。如溫度過高，可使內部之棉塞或包裹之紙張燒焦，且棉花內之油脂燒焦後，即沾污試管，甚不雅觀，有時甚至在器內焚燬，則更不堪設想。通常，經適宜之溫度滅菌後，棉花與紙張均呈淡黃色。滅菌畢，應俟冷卻至 60° C. 左右，方可開門取出滅菌器具。若立即開門，器械驟遇冷空氣有炸裂之危險。此種滅菌方法，今已少用，大多用增壓滅菌器

以代之。如須器皿絕對乾燥者，則非用此滅菌器不可。

乙 阿魯氏滅菌器 (ARNOLD'S STERILIZER)

阿氏滅菌器係利用蒸汽之滅菌，功用與 Koch 氏蒸氣滅菌器完全相同。其底層盛水，器頂加蓋，蓋中央插有溫度計。器底用火加溫，水蒸汽之溫度達 100°C ，蒸汽循流器內，促進滅菌能力，且底層之水無乾涸之虞。

滅菌時，第一日需 100°C 半小時，此時僅殺滅細菌之生育體，而不殺滅芽胞，所以將培養基取出孵育 24 小時，使其中芽胞發育為生育體，第二日再經 100°C 半小時之滅菌，其中生育體又被殺滅；惟恐其中仍有芽胞存留，乃於第三日再經 100°C 半小時以殺滅之。此種滅菌方法，曰間歇滅菌法 (Fractional Sterilization)。

通常，有許多培養基，如明膠培養基，含糖培養基及牛乳培養基等不能耐高熱，乃用阿魯滅菌器以滅菌。

丙 增壓滅菌器 (AUTOCLAVE)：

增壓滅菌器之用途最廣，乃利用蒸汽在器內之壓力增高而益增高其溫度。器內之壓力可增高至二氣壓，三氣壓，四氣壓不等。此種壓力可用磅數表示之。壓力愈大溫度亦愈高，殺菌力因之增強，不特細菌生育體，即芽胞於短時間內亦可殺滅。

構造較複雜者，係雙層金屬壁之圓筒，底層盛水，內壁沿口周圍有許多小孔，底下用打氣爐或木炭爐加熱，水沸後蒸汽由口緣小孔入內。頂上有厚鐵蓋，蓋之周圍由螺旋固定，使蒸汽不致外逸。器外套有鐵壳，其旁附有磅表，可表示內部之壓力。小型者僅裝有溫度計。更附有保險器，至相當壓力即自行放汽，不使內部壓力過高。

增壓滅菌器有兩種型式：一為直立型，一為橫臥型。前者較小，用木炭或打氣爐加熱；後者較大，大多另行通入蒸汽，不直接加熱，此種用於大規模之製造所最稱便利。

凡玻璃器械，培養基，鹽水，衣服，棉棒等，均可用此滅菌器以滅菌。玻璃器械等行 20 磅 20 分鐘以滅菌。盛於試管內之培養基僅 15 磅 15—20 分鐘即可，盛於大瓶內之鹽水或培養基，應 15 磅半小時方可。至於含糖培養基於 8 磅下滅菌 15 分鐘即可。