

全国卫生院校高职高专教学改革实验教材



微生物学检验技术

(医学检验技术专业用)

主编 刘翠青



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

全国卫生院校高职高专教学改革实验教材

微生物学检验技术

(医学检验技术专业用)

主 编 刘翠青

副主编 张绪利 陈联群

编 者 (以姓氏拼音为序)

阿比代木 伊宁卫生学校

陈联群 邢台医学高等专科学校

陈瑞玲 沧州医学高等专科学校

李 超 温州医学院

刘翠青 邢台医学高等专科学校

瞿耀明 西安卫生学校

王晓晖 河北职工医学院

张绪利 黄冈卫生学校

赵丽君 河北职工医学院



高等教育出版社

HIGHER EDUCATION PRESS

内容提要

本书包括细菌检验技术、病毒及其他微生物检验技术、微生物学综合检验技术三篇共九章内容。以实验格式排布,结合实际情况以必需、够用为度,努力体现实用性、科学性。注意培养学生独立操作、独立思考、分析和解决问题的能力。

本书适合高职高专医学检验技术专业师生教学使用。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学检验技术 / 刘翠青主编. —北京: 高等教育出版社, 2005. 11

(医学检验技术专业用)

ISBN 7-04-017956-3

I. 微... II. 刘... III. 微生物学-医学检验-高等学校: 技术学校-教材 IV. R446.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 113823 号

策划编辑 席 雁 责任编辑 张晓晶 封面设计 于 涛 责任绘图 郝 林
版式设计 王艳红 责任校对 金 辉 责任印制 杨 明

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100011
总 机 010-58581000

购书热线 010-58581118
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>

经 销 北京蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 中国农业出版社印刷厂

网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>

开 本 787×1092 1/16
印 张 14.25
字 数 350 000
插 页 2

版 次 2005 年 11 月第 1 版
印 次 2005 年 11 月第 1 次印刷
定 价 24.50 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 17956-00

前 言

为积极推进高职高专课程和教材改革,开发和编写反映新知识、新技术、新工艺、新方法,具有职业教育特色的课程和教材,针对高职高专培养应用型人才的目标,结合教学实际,高等教育出版社组织有关专家、教师及临床一线人员编写了这套高职高专教学改革实验教材。

本教材包括细菌检验技术、病毒及其他微生物检验技术、微生物学综合检验技术三篇共九章内容。作为高职高专实验配套教材,编写时我们注意结合高职高专的教学特点并结合该层次学校的实验教学情况,尽量选择合适的内容写入教材。每项实验前都有明确的目的与要求;实验后有实验报告,方便学生记录实验结果,并有利于学生对实验内容积极思考和及时总结。教材最后还增加了实验常用培养基和试剂等内容作为附录,便于实验参考。

教材编写的目的方面是使学生通过实验课验证所学专业理论知识,培养学生对该学科的学习兴趣;另一方面,通过实验可以使学生树立无菌观念,掌握无菌操作技术、常见病原微生物的生物学特征、培养鉴定方法和用于病原体检测的一些先进的技术和方法。

教材编写过程中得到各参编单位的大力支持,在此表示感谢。同时,特别感谢邢台医学高等专科学校的杨晨涛老师,为这本教材的编写做了大量工作。限于我们的学术水平和编写能力,教材中难免有缺点和错误,恳请广大师生在使用过程中提出宝贵意见。

刘翠青

郑 重 声 明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010) 58581897/58581896/58581879

传 真：(010) 82086060

E - mail: dd@hep.com.cn

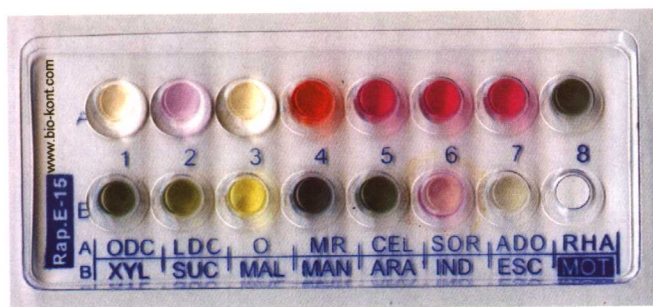
通信地址：北京市西城区德外大街 4 号

高等教育出版社打击盗版办公室

邮 编：100011

购书请拨打电话：(010)58581118

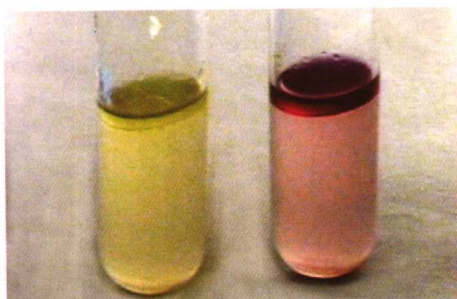
彩图



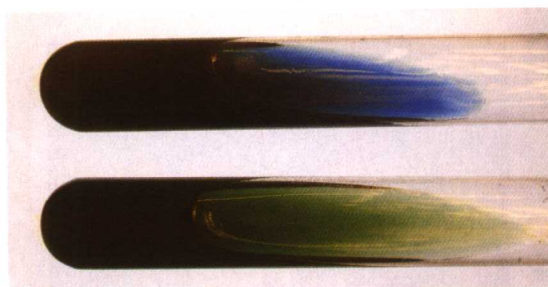
彩图 1-1-1 数字鉴定 1



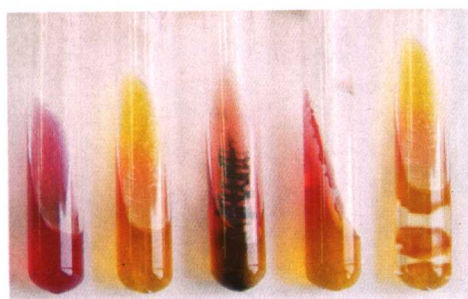
彩图 1-1-2 数字鉴定 2



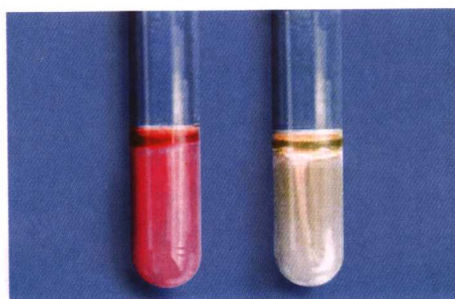
彩图 1-1-3 靛基质试验



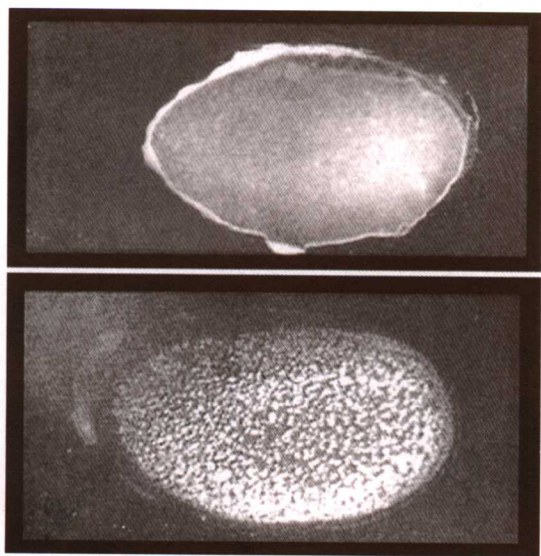
彩图 1-1-4 枸橼酸盐利用试验



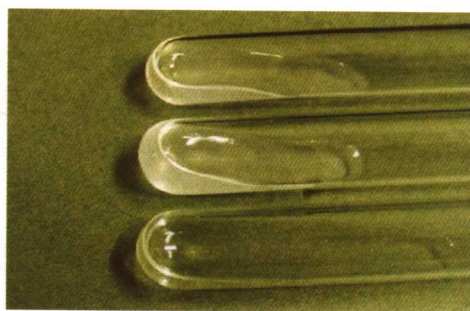
彩图 1-1-5 KIA



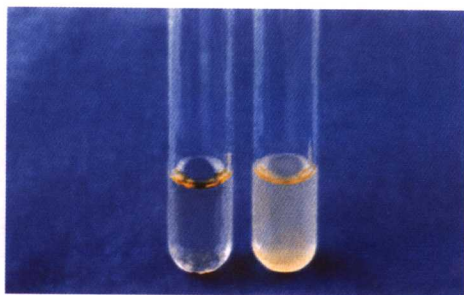
彩图 1-1-6 MIU



彩图 1-1-7 血浆凝固酶试验 1



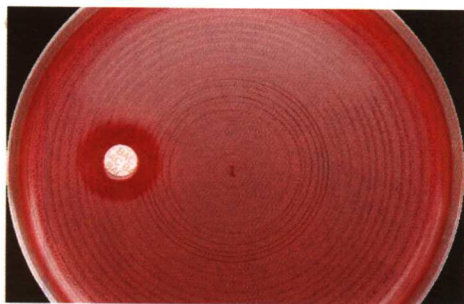
彩图 1-1-8 血浆凝固酶试验 2



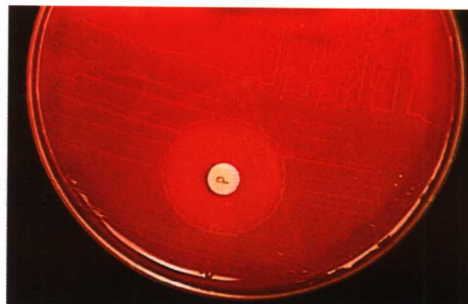
彩图 1-1-9 胆汁溶菌试验 1



彩图 1-1-10 胆汁溶菌试验 2



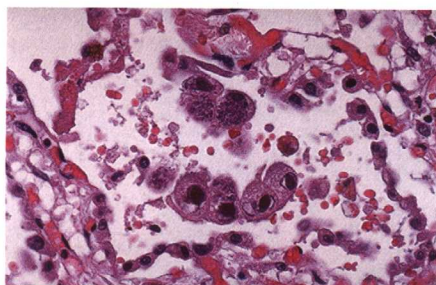
彩图 1-1-11 杆菌肽敏感试验



彩图 1-1-12 奥普托欣敏感试验



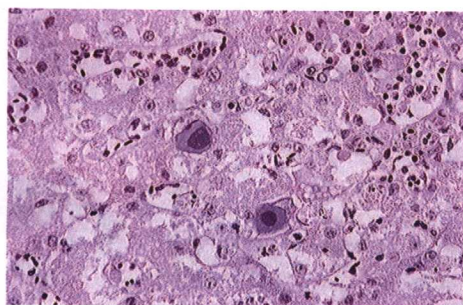
彩图 1-2-1 CAMP



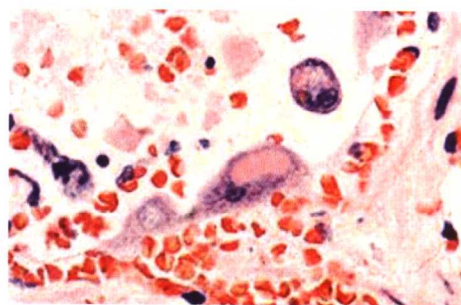
彩图 2-6-1 巨细胞病毒核内包涵体



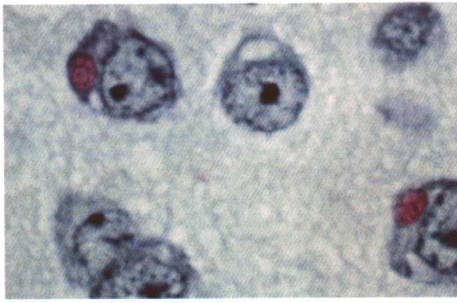
彩图 2-6-2 单纯疱疹病毒核内包涵体



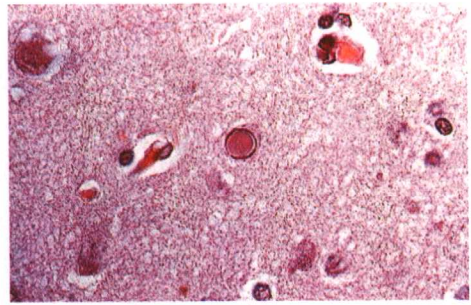
彩图 2-6-3 腺病毒感染两个巨大型的核内包涵体



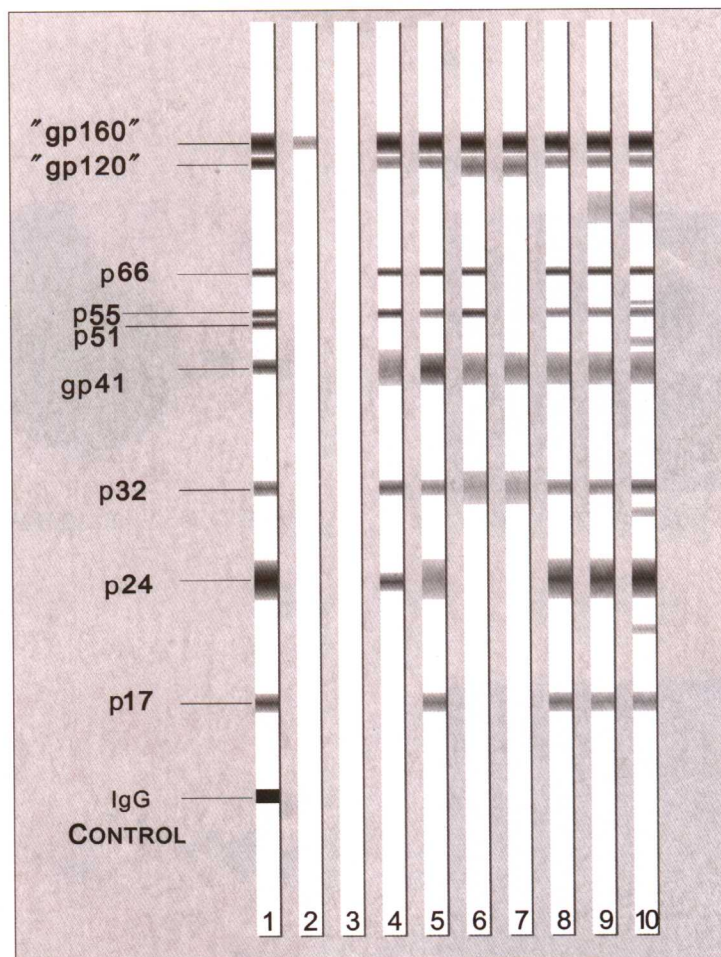
彩图 2-6-4 呼吸道合胞病毒浆内包涵体



彩图 2-6-5 狂犬病毒的浆内嗜酸性包涵体
“内基氏小体”



彩图 2-6-6 麻疹病毒浆内、核内包涵体



彩图 2-6-7 HIV 的免疫印迹试验 WB

1:强阳性对照 2:弱阳性对照 3:阴性对照

4,5,6,7,8,9,10:阳性检测标本

目 录

第一篇 细菌检验技术

第一章 细菌检验的基本技术	3	实验 21 葡萄球菌属检验技术	48
第一节 细菌形态学检查	3	实验 22 链球菌属检验技术	51
实验 1 显微镜的使用	3	实验 23 奈瑟菌属的检验技术	54
实验 2 不染色标本检查法	5	第二节 肠杆菌科检验技术	56
实验 3 细菌的染色标本检查法(革兰染色法)	6	实验 24 肠杆菌科细菌常用培养基的制备	56
实验 4 细菌的特殊结构染色法	8	实验 25 埃希菌属检验	57
第二节 细菌的人工培养与分离技术	9	实验 26 志贺菌属检验	59
实验 5 常用玻璃器材的准备	9	实验 27 沙门菌属检验	61
实验 6 基础培养基的制备	11	实验 28 肥达试验	64
实验 7 细菌的分离培养及接种技术	14	实验 29 其他肠道杆菌检验	66
实验 8 细菌的培养法	18	第三节 弧菌科检验技术	68
实验 9 细菌生长现象	21	实验 30 弧菌属	68
第三节 细菌的生物化学试验	22	第四节 弯曲菌、幽门螺杆菌检验技术	71
实验 10 数字化细菌编码鉴定	22	实验 31 空肠弯曲菌和幽门螺杆菌	71
实验 11 细菌的生物化学鉴定(一)	24	第五节 非发酵菌检验技术	73
实验 12 细菌的生物化学鉴定(二)	32	实验 32 铜绿假单胞菌、不动杆菌和产碱杆菌	73
第四节 血清学试验	35	第六节 其他革兰阴性杆菌检验技术	76
实验 13 玻片法凝集试验	35	实验 33 流感嗜血杆菌、百日咳鲍特菌、军团菌和布鲁杆菌	76
实验 14 荚膜肿胀试验	36	第七节 分枝杆菌属检验技术	80
实验 15 荧光抗体染色试验	37	实验 34 结核分枝杆菌	80
实验 16 SPA 协同凝集试验	38	第八节 需氧革兰阳性杆菌检验技术	83
实验 17 沉淀试验(毛细管法)	40	实验 35 白喉棒状杆菌、炭疽芽孢杆菌	83
第五节 动物实验	41	实验 36 阴道加特纳菌	86
实验 18 实验动物接种技术	41	第九节 厌氧性细菌检验技术	88
实验 19 实验动物采血技术	44	实验 37 厌氧芽孢梭菌检验	88
第二章 细菌各论检验技术	47	实验 38 无芽孢厌氧菌检验	91
第一节 病原性球菌检验技术	47		
实验 20 病原性球菌培养基制备	47		

第二篇 病毒及其他微生物检验技术

第三章 螺旋体检验技术	97	实验 53 表皮癣菌属的培养和鉴定	115
第一节 钩端螺旋体检验技术	97	第三节 常见深部真菌的培养和鉴定	116
实验 39 钩端螺旋体形态及培养物观察	97	实验 54 假丝酵母菌属的培养和鉴定	116
实验 40 显微镜凝集试验(凝集溶解		实验 55 隐球菌属的培养和鉴定	117
试验)	98	第六章 病毒学检验技术	119
第二节 其他螺旋体检验技术	100	第一节 病毒形态学检查	119
实验 41 梅毒螺旋体检验技术	100	实验 56 病毒包涵体检验	119
第四章 支原体、衣原体、立克次体		第二节 乙型肝炎病毒检验技术	121
检验技术	102	实验 57 ELISA 法检测乙型肝炎病毒	
实验 42 支原体、衣原体检验	102	表面抗原 HBsAg	121
实验 43 立克次体检验	104	实验 58 反向间接血凝法(RPHA)检测	
第五章 真菌检验技术	106	HBsAg	122
第一节 真菌的基本检验技术	106	实验 59 PCR 法检测 HBV-DNA	124
实验 44 真菌的形态结构观察	106	实验 60 斑点杂交法检测 HBV-DNA	125
实验 45 真菌的不染色标本检验法	107	第三节 丙型肝炎病毒检验技术	127
实验 46 真菌的棉蓝染色法	107	实验 61 ELISA 法检测 HCV-IgM	
实验 47 墨汁负染色法	108	抗体	127
实验 48 真菌小培养	109	实验 62 套式 PCR 法检测 HCV-RNA	129
实验 49 真菌的药敏试验	110	第四节 人类免疫缺陷病毒检验技术	131
实验 50 毛发穿孔试验	111	实验 63 ELISA 法检测 HIV 抗体筛选	
第二节 常见浅部真菌的培养和鉴定	112	试验	131
实验 51 毛癣菌属的培养和鉴定	112	实验 64 蛋白印迹法(Western blot,	
实验 52 小孢子菌属的培养和鉴定	114	WB)检测 HIV 抗体	132

第三篇 微生物学综合检验技术

第七章 临床常见标本的细菌学		菌学检验	160
检验	139	第八章 药物敏感试验	163
实验 65 粪便标本的细菌学检验	139	实验 73 纸片扩散法	163
实验 66 尿液标本的细菌学检验	143	实验 74 琼脂稀释法	165
实验 67 血液及骨髓标本的细菌学检验	146	实验 75 微量稀释法	167
实验 68 脓液及创伤感染分泌物的细菌学		实验 76 淋病奈瑟菌的药物敏感试验	168
检验	149	实验 77 结核分枝杆菌的药物敏感试验	169
实验 69 生殖道标本的细菌学检验	152	第九章 卫生微生物学检验技术	172
实验 70 呼吸道标本的细菌学检验	154	第一节 水的卫生微生物学检验	172
实验 71 脑脊液标本的细菌学检验	157	实验 78 细菌总数测定	172
实验 72 眼、耳、口腔等分泌物标本的细		实验 79 总大肠菌群的检测	175

实验 80 水的粪链球菌检验	179	实验 85 空气中链球菌检测(自然沉降 法)	187
第二节 食品的卫生微生物学检验	181	第四节 化妆品的卫生微生物学检验	189
实验 81 菌落总数测定	181	实验 86 细菌总数测定	189
实验 82 大肠菌群数测定	183	实验 87 粪大肠菌群检测	192
实验 83 细菌性食物中毒的检验(以沙门 菌属为例)	184	实验 88 铜绿假单胞菌检测	193
第三节 空气的卫生微生物学检验	186	实验 89 金黄色葡萄球菌检测	195
实验 84 细菌总数测定	186		
附录 1 培养基	197		
附录 2 试剂和染液	209		
附录 3 表格	212		
主要参考文献	218		
医学微生物学实验室规则	219		

第一篇

细菌检验技术

第一章 细菌检验的基本技术

第一节 细菌形态学检查

实验 1 显微镜的使用

[目的与要求]

1. 掌握显微镜油镜的使用方法。
2. 熟悉显微镜结构及各部分的功能。
3. 学会显微镜的保护。

[材料和试剂]

显微镜,香柏油,擦镜纸,二甲苯等。

[步骤和方法]

一、普通显微镜的构造

普通显微镜分光学和机械两大部分。

(一) 光学部分

物镜,目镜,聚光器,光圈,反光镜。

1. 目镜

因与观察者眼睛接近,故又称接目镜。目镜上标有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等放大倍数,一般采用 $10\times$ 目镜。

2. 物镜

因为镜头接近观察的标本,又称为接物镜。物镜能起到将标本放大的作用。可分为低倍镜、高倍镜和油镜 3 种。一般将放大倍数为 10 倍以下的物镜称为低倍镜,放大倍数为 40 倍左右的称为高倍镜。油镜放大倍数一般在 100 倍左右。因为微生物一般体积微小,故多用油镜观察。若目镜用 $10\times$,物镜用油镜时,则显微镜的放大倍数为 1 000 倍。油镜一般有以下标志:① 油镜头的下缘有 1 圈黑线或 2 圈红线。② 有放大倍数 $100\times$ 的标记。③ 有“oil”等字样。④ 油镜头要长于低倍镜或高倍镜。⑤ 油镜直径最小。

3. 聚光器和光圈

聚光器位于载物台下方,有聚集光线的作用。上下调节可调整视野的亮度。上升时亮度增

强,下降时则减弱。聚光器的下方有可调节光束的光圈,通过放大或缩小光圈也可控制视野的亮度。使用油镜观察标本时,通常是将光圈开到最大,聚光器上升到最高。

4. 反光镜

一面是平面镜,另一面是凹面镜。反光镜的作用是采聚光线并传送到聚光器下。采用天然光源时用平面镜,采用人工光源时用凹面镜。注意,应用天然光源时要用间接天然光源,否则,直接照射会对镜头造成损害。

(二) 机械部分

镜筒,镜臂,调节器,载物台,镜座,倾斜关节。

1. 镜筒

镜筒是一个空心圆筒,上端与目镜相连,下端与物镜相连。

2. 镜臂

镜臂呈弓形,位于镜筒后面,为显微镜的握持部。

3. 镜座

镜座呈马蹄形,位于显微镜的底部,用以支撑全镜。

4. 载物台

载物台多呈方形,在镜筒的下方,用以放置被检标本。

5. 调节器

调节器有粗细两种,粗调节器用于镜筒较大距离的升降,细调节器用于小距离的升降。一般用粗调节器调至看到模糊的物像时,再用细调节器调节,直至物像清晰为止。

二、显微镜油镜的使用方法

1. 将显微镜平稳放于实验台的适宜处。注意用油镜时勿使镜臂和载物台倾斜,以免镜油流出,影响观察。

2. 将光圈开到最大,聚光器升到最高位置。

3. 在标本上滴1滴香柏油,并将标本固定于载物台上。先用低倍镜对好光线,然后换油镜。

4. 眼睛从侧面观察物镜,慢慢转动粗调节器,使物镜镜头浸入镜油内,但不要与标本接触。然后眼睛移到目镜,缓慢转动粗调节器,当看到模糊物像时,再轻轻转动细调节器直到物像清晰为止。若未看到物像,可重复进行上述操作过程。

三、显微镜的保护

1. 显微镜属精密光学仪器,使用时要注意精心爱护,不得随意拆卸碰撞各部分结构。

2. 取送显微镜时要轻拿轻放,右手持镜臂,左手托镜座,平端于胸前。

3. 显微镜油镜头使用完毕,应立即用擦镜纸拭去镜头上的镜油,擦不净时可滴加少许二甲苯或乙醚擦拭。

4. 显微镜用完后,应下调聚光器,将物镜转成“八”字形,使其不正对聚光器,并降低物镜头。擦拭各部位后,套上镜套,放回原位。

[实验报告]

1. 列出显微镜的基本构造。

2. 说出显微镜油镜的使用方法。

实验2 不染色标本检查法

不染色标本检查法有悬滴法和压滴法2种,主要用于观察细菌的形态与动力。

[目的与要求]

1. 熟悉不染色标本检查法的操作步骤。
2. 了解不染色标本检查法的临床意义。

[材料和试剂]

1. 菌种

金黄色葡萄球菌及变形杆菌8~12 h的肉汤培养物。

2. 其他

载玻片,盖玻片,凹玻片,生理盐水等。

[步骤和方法]

一、压滴法

1. 用接种环分别取金黄色葡萄球菌、变形杆菌肉汤培养物2~3环,置于载玻片中央。
2. 用镊子夹取盖玻片,覆盖于菌液上。放置时,应先使盖玻片一侧接触菌液,缓缓放下,避免产生气泡。
3. 先用低倍镜找好位置,再换高倍镜观察细菌的运动情况。

二、悬滴法

1. 取1张洁净的凹玻片,在凹窝四周涂抹少许凡士林。
2. 于盖玻片中央放1环金黄色葡萄球菌或变形杆菌菌液。
3. 将凹玻片倒置于盖玻片上,使凹窝对准盖玻片中央菌液,反转盖玻片,用镊子轻压盖玻片,使盖玻片与凹窝边缘黏紧。
4. 先用低倍镜找到菌悬液,下调聚光器,缩小光圈,再换高倍镜观察。金黄色葡萄球菌无鞭毛,只能做分子布朗运动,位置移动不明显;变形杆菌有鞭毛,运动活泼,可向不同方向运动,位置