

全国高等医药院校《医学微生物学》实验教学教材

Shiyanyixueweishengwuxue

实验医学微生物学

主 编	邬国军	戴 橄	谭宇蓉
副主编	马琼山	陈利玉	余俊龙
主 审	夏忠弟	姚孟晖	



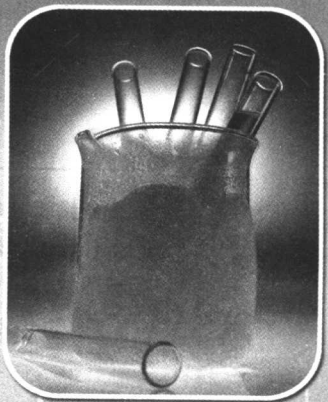
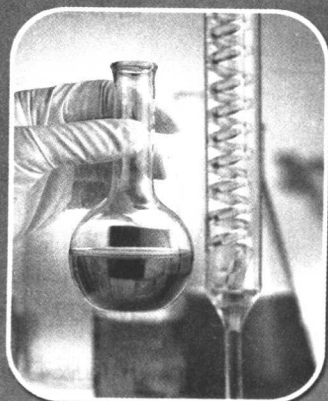
中南大学出版社

全国高等医药院校《医学微生物学》实验教学教材

Shiyanyixueweishengwuxue

实验医学微生物学

主 编 邬国军 戴 橄 谭宇蓉
副主编 马琼山 陈利玉 余俊龙
主 审 夏忠弟 姚孟晖



中南大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

实验医学微生物学/邬国军,戴橄,谭宇蓉主编.
—长沙:中南大学出版社,2006.9
ISBN 7-81105-427-2

I. 实... II. ①邬...②戴...③谭...
III. 病原微生物-微生物学-实验-医学院校-教材
IV. R37-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 097578 号

实验医学微生物学

主编 邬国军 戴 橄 谭宇蓉

☐责任编辑 李 娟 谢新元

☐责任印制 汤庶平

☐出版发行 中南大学出版社

社址:长沙市麓山南路

邮编:410083

发行科电话:0731-8876770

传真:0731-8710482

☐印 装 长沙理工大印刷厂

☐开 本 787×1092 1/16 ☐印张 18.75 ☐字数 462 千字 插页:

☐版 次 2006 年 9 月第 1 版 ☐2006 年 9 月第 1 次印刷

☐书 号 ISBN 7-81105-427-2/R·041

☐定 价 29.00 元

图书出现印装问题,请与经销商调换

《实验医学微生物学》编写人员名单

主 编	邬国军	戴 橄	谭宇蓉
副主编	马琼山	陈利玉	余俊龙
主 审	夏忠弟	姚孟晖	
编 者	(按姓氏笔划为序)		
	马琼山	王莉莉	刘水平
	邬国军	陈利玉	余俊龙
	周毅刚	罗映辉	姚孟晖
	谭宇蓉	戴 橄	

前 言

医学微生物学是一门实验性很强的医学基础学科,也是医学各系列学生的必修主干课程之一,在整个医学教育过程中起着举足轻重的作用,而实验医学微生物学的教学又是医学微生物学教学过程中的重要环节,它对于验证医学微生物学理论知识、加深对医学微生物学知识的理解和掌握、获得医学微生物学实验基本技能和研究方法,以及提高分析问题及解决问题的能力等方面都起着非常重要的作用,同时它也为继续深入开展生物化学、分子生物学、基因工程等实验课程打下坚实的基础。所以,学好实验医学微生物学对医学生今后的学习及从事医学专业相关工作具有十分重要的现实意义。

为适应学科的发展及医学教育模式的转变,加强对学生的三基训练,我们在长期的医学微生物学实验教学经验积累和我校 2002 年出版的《医学微生物学实验指导》的基础上,查阅大量国内外出版物,补充相关内容,编写出版本书。此书力图在介绍医学微生物学基本实验技术的基础上突出新颖和实用两大特点:一方面,尽量将医学微生物学的新技术、新方法介绍给大家;另一方面,又涵盖医学微生物学各领域,如临床微生物学、卫生微生物学及分子微生物学等。因此,该书既可作为高等医药院校医学微生物学实验课辅助教材,又可以作为临床微生物学、卫生微生物学及临床免疫学实验室工作者的操作指南和参考用书。

本书的出版,得到了中南大学教务部门及中南大学出版社的大力支持,在此深表谢意。

由于编者水平有限,加之时间紧迫,书中错误在所难免,敬请各位在使用时多加指正。

邬国军 戴楸 谭宇蓉

2006 年 6 月 4 日

实验室规则

因为医学微生物学实验的对象大多为病原微生物，具有感染性及传染性，为了防止感染和传染病的发生，特制定如下实验室规则，所有进入医学微生物学实验室的人员都必须严格遵守。

1. 进入实验室应穿工作服，不必要的物品不得带入实验室，必须带入的书籍和文具等应放在指定的非操作区，以免受到污染。无菌操作时应戴口罩，并不得开启电风扇。

2. 实验室内禁止饮食、抽烟，不得高声谈笑或随便走动；除紧急情况外，不得使用任何通讯设备，也不得使用与课堂内容无关的其他产品如 mp3、mp4、随身听等。

3. 保持实验室安静，实验进行时不允许随意进出。实验室中物品未经许可严禁带出实验室。

4. 各种实验物品应按指定地点存放，用过的器材必须放入消毒缸或指定的污物桶内，禁止随意放于桌上及冲入水槽。

5. 须送温箱培养的物品，应做好标记后送到指定地点。

6. 实验过程中发生差错或意外事故时，禁止隐瞒或自作主张不按规定处理，应立即报告老师进行正确的处理。

7. 爱护室内仪器设备，严格按操作规则使用。节约使用实验材料，不慎损坏了器材等，应立即主动报告老师进行处理。

8. 实验完毕，应物归原处并将桌面整理清洁，实验室打扫干净。最后以 0.2% ~ 0.5% “84” 消毒液浸泡手 5 ~ 10 分钟，洗净后方可离开实验室。

紧急情况的应急处理

医学微生物学实验室较常见的事故是电器着火、乙醇灯着火、实验用细菌污染桌面、地面、手、衣服等，如发生这些情况，应立即按下述方法进行处理：

1. 电器或仪器起火，应立即关机、拔下电源插头、拉下总闸，若为导线绝缘体或电器外壳等可燃材料着火时，可用湿棉被等覆盖物体以封闭窒息灭火；在没有切断电源的情况下，千万不能用水或泡沫灭火剂扑灭电器火灾，否则，扑救人员随时都有触电的危险。

2. 乙醇灯着火，如火势较小时，可立即用湿抹布覆盖灭火；如火势较大时，则需使用干粉灭火器灭火，严禁使用抹布等物拍打灭火。

以上两情况下，在必要时必须果断求助 119。

3. 菌液流洒桌面或地面，倾注 2% ~ 3% 甲酚(来苏儿)或 0.1% 苯扎溴铵(新洁尔灭)于污染面上，30 分钟后抹去，也可倾注 0.2% ~ 0.5% “84”消毒液，作用 5 ~ 10 分钟后抹去。

4. 手上污染活菌，在 2% ~ 3% 甲酚(来苏儿)或 0.1% 苯扎溴铵(新洁尔灭)中浸泡 10 ~ 20 分钟、或在 0.2% ~ 0.5% “84”消毒液浸泡 5 ~ 10 分钟后，再以肥皂水搓洗。

5. 衣服污染活菌时，用 2% ~ 3% 甲酚(来苏儿)或 0.1% 苯扎溴铵(新洁尔灭)消毒液浸泡 30 分钟、或用 0.2% ~ 0.5% “84”消毒液浸泡 5 ~ 10 分钟后以清水冲洗干净，如衣料耐高温，则可煮沸或高压灭菌后清洗干净。

6. 不慎吸入活菌液，应立即吐入消毒容器中，并用 1:1000 高锰酸钾溶液或 3% 过氧化氢溶液(双氧水)漱口，必要时根据菌细的种类不同服用适当的抗生素或就医。

目 录

第 1 篇 实验医学微生物学基本技术

第 1 章 医学微生物实验室常用仪器设备简介及常用器材的消毒灭菌	(2)
第 1 节 常用仪器设备简介	(2)
第 2 节 实验室常用器材的处理与消毒灭菌	(21)
第 2 章 细菌的常用染色技术	(25)
第 1 节 细菌涂片的制作	(25)
第 2 节 细菌染色的基本步骤	(26)
第 3 节 常用的单染色法	(26)
第 4 节 常用的复染色法	(27)
第 5 节 特殊染色法	(30)
第 6 节 螺旋体改良镀银染色法	(32)
第 3 章 细菌形态与结构的观察	(34)
第 1 节 细菌基本形态的观察	(34)
第 2 节 细菌基本结构的观察	(34)
第 3 节 细菌特殊结构的观察	(35)
第 4 章 细菌的人工培养法	(36)
第 1 节 培养液	(36)
第 2 节 细菌接种技术	(36)
第 3 节 细菌的培养技术	(39)
第 4 节 细菌的生长情况观察	(40)
第 5 章 细菌生化鉴定法	(42)
第 1 节 单糖发酵实验	(42)
第 2 节 IMViC 实验	(42)
第 3 节 硫化氢实验	(45)
第 4 节 脲酶实验	(45)
第 5 节 微生物的自动分析	(45)

第 6 章 细菌血清学实验	(50)
第 1 节 凝集实验	(50)
第 2 节 沉淀实验(毛细管法)	(51)
第 3 节 荚膜肿胀实验	(52)
第 7 章 理化及生物因素对微生物的影响	(54)
第 1 节 紫外线对空气中微生物的杀灭作用	(54)
第 2 节 煮沸对微生物的影响	(54)
第 3 节 络合碘对皮肤的消毒作用	(55)
第 4 节 高压蒸汽灭菌法的灭菌效果	(55)
第 5 节 常用消毒剂的种类、用法和用途	(55)
第 6 节 噬菌体的特异性实验	(57)
第 7 节 细菌对抗菌药物的敏感性实验	(58)
第 8 章 细菌的遗传与变异有关实验	(63)
第 1 节 细菌变异现象的观察	(63)
第 2 节 R 质粒传递实验	(64)
第 3 节 质粒 DNA 转化实验	(65)

第 2 篇 临床常见病原菌的培养与鉴定

第 9 章 化脓性细菌	(68)
第 1 节 常见化脓性球菌的形态及染色性观察	(68)
第 2 节 常见化脓性球菌的培养特性观察	(69)
第 3 节 血标本的细菌学检查	(69)
第 4 节 β -内酰胺酶的检测	(71)
第 5 节 血浆凝固酶实验	(72)
第 6 节 耐热脱氧核糖核酸酶实验	(73)
第 7 节 抗链球菌溶素“O”的检测	(73)
第 8 节 荧光抗体染色检测淋病奈瑟菌	(75)
第 9 节 铜绿假单胞菌的分离培养鉴定	(76)
第 10 章 肠道感染细菌	(77)
第 1 节 形态及染色性观察	(77)
第 2 节 培养特性观察	(77)
第 3 节 粪便标本的细菌学检查	(78)
第 4 节 血清学实验	(80)

第5节 尿标本的定量培养法	(83)
第6节 细菌内毒素的检测(鲎实验)	(84)
第7节 弧菌属	(85)
第8节 幽门螺杆菌的鉴定	(88)
第9节 幽门螺杆菌抗体-IgM的检测	(90)
第10节 空肠弯曲菌的鉴定	(91)
第11章 厌氧性细菌	(93)
第1节 形态及染色性观察	(93)
第2节 培养特性观察	(94)
第3节 产气荚膜梭菌汹涌发酵实验	(94)
第4节 产气荚膜梭菌的动物实验	(94)
第12章 呼吸道感染细菌	(95)
第1节 分枝杆菌属的形态及染色性观察	(95)
第2节 分枝杆菌属的培养特性观察	(96)
第3节 结核患者痰标本抗酸染色	(97)
第4节 结核分枝杆菌浓缩集菌法	(98)
第5节 结核分枝杆菌抗体的检测	(99)
第6节 棒状杆菌属的形态及染色性观察	(100)
第7节 疑似白喉患者咽拭子的细菌学检查	(101)
第8节 白喉棒状杆菌毒力实验	(102)
第9节 军团菌的鉴定	(103)
第13章 动物源性细菌	(106)
第1节 炭疽芽胞杆菌与枯草芽胞杆菌的形态及染色性观察	(106)
第2节 炭疽芽胞杆菌与枯草芽胞杆菌的培养特性观察	(106)
第3节 炭疽芽胞杆菌串珠实验	(107)
第14章 诺卡菌属	(108)
第15章 螺旋体	(109)
第1节 病原性螺旋体的形态及染色性观察	(109)
第2节 钩端螺旋体的动力检查——压滴法	(109)
第3节 钩端螺旋体的显微镜凝集(显凝)实验	(110)
第4节 钩端螺旋体的分离培养	(111)
第5节 苍白密螺旋体苍白亚种血清学实验	(111)
第6节 伯氏疏螺旋体的血清学实验	(114)

第 16 章 支原体	(115)
第 1 节 形态及菌落观察	(115)
第 2 节 支原体的分离培养鉴定	(116)
第 3 节 肺炎支原体冷凝集实验	(117)
第 4 节 肺炎支原体 IgM 检测	(118)
第 17 章 立克次体	(120)
第 1 节 恙虫病立克次体的形态观察	(120)
第 2 节 外斐反应	(120)
第 18 章 衣原体	(122)
第 1 节 姬姆萨染色检查沙眼衣原体包涵体	(122)
第 2 节 免疫荧光法检测沙眼衣原体	(122)
第 3 节 金标免疫斑点法检测沙眼衣原体抗体	(123)
第 4 节 细胞培养分离衣原体	(124)

第 3 篇 医学病毒学常用实验

第 19 章 病毒形态结构观察	(126)
第 1 节 电子显微镜下病毒形态观察	(126)
第 2 节 病毒包涵体观察	(128)
第 20 章 病毒培养法	(130)
第 1 节 病毒的动物接种法	(130)
第 2 节 病毒的鸡胚接种法	(130)
第 3 节 病毒的组织培养法	(134)
第 21 章 病毒数量与感染性的测定	(137)
第 1 节 TCID ₅₀ 测定	(137)
第 2 节 空(蚀)斑形成实验	(138)
第 22 章 呼吸道感染病毒	(140)
第 1 节 流感病毒的分离与鉴定	(140)
第 2 节 SARS 冠状病毒的快速检测	(144)
第 3 节 其他常见呼吸道病毒的快速检测	(146)

第23章 肠道感染病毒	(150)
第1节 肠道病毒的分离鉴定	(150)
第2节 轮状病毒的检测	(151)
第3节 ELISA 检测 CSV3 IgM 抗体	(153)
第24章 肝炎病毒	(155)
第1节 ELISA 技术检测甲型肝炎病毒 IgM	(155)
第2节 乙型肝炎病毒的血清学检测	(156)
第3节 其他肝炎病毒的血清学检测	(159)
第25章 出血热病毒	(164)
第1节 免疫荧光法检测汉坦病毒 IgM	(164)
第2节 ELISA 技术检测汉坦病毒特异性 IgM	(164)
第26章 疱疹病毒	(166)
第1节 免疫荧光技术检测 HCMV	(166)
第2节 ELISA 技术检测抗 HSV - 1 IgM	(166)
第3节 ELISA 技术检测 HCMV IgM	(167)
第4节 ELISA 技术检测 EB 病毒核抗原(EBNA) IgM	(168)
第27章 人类免疫缺陷病毒	(170)
第1节 ELISA 技术检测 HIV 抗体	(170)
第2节 斑点免疫法检测 HIV(1/2 型)	(171)
第3节 免疫层析法检测 HIV(1/2 型)抗体	(172)
第4节 HIV 抗体确证实验——免疫印迹法	(173)

第4篇 医学真菌学相关实验

第28章 真菌的生物学性状	(177)
第1节 真菌的基本形态及结构观察	(177)
第2节 真菌的培养特性观察	(179)
第29章 真菌的药敏实验	(183)
第1节 琼脂斜面法	(183)
第2节 E-test 法	(183)

第 30 章 常见浅部真菌的鉴定	(184)
第 1 节 真菌皮屑的镜检	(184)
第 2 节 毛发穿孔实验	(185)
第 31 章 常见深部真菌的鉴定	(186)
第 1 节 新生隐球菌的检验	(186)
第 2 节 假丝酵母菌的检验	(188)

第 5 篇 微生物学动物实验

第 32 章 动物实验的基本知识和技术	(192)
第 1 节 实验动物的管理、选择及其抓取固定方法	(192)
第 2 节 实验动物的接种、麻醉及采血技术	(195)
第 33 章 微生物学动物实验	(199)
第 1 节 动物实验在微生物学中的应用	(199)
第 2 节 免疫血清的制备	(199)
第 3 节 感染动物尸体解剖观察及细菌学检查法	(201)
第 4 节 体内法细菌外毒素的检测	(201)
第 5 节 检测细菌致病性的动物实验	(203)

第 6 篇 分子微生物学实验

第 34 章 分子微生物学实验基本技术	(207)
第 1 节 DNA 的提取	(207)
第 2 节 RNA 的提取	(209)
第 3 节 临床标本中核酸的快速提取	(210)
第 4 节 真菌 DNA 的抽提	(213)
第 5 节 聚合酶链式反应	(214)
第 6 节 逆转录 - 聚合酶链反应	(216)
第 7 节 实时荧光定量 PCR 技术	(218)
第 8 节 DNA 琼脂糖凝胶电泳	(221)
第 35 章 部分病原微生物的分子生物学检测	(223)
第 1 节 PCR 技术检测耐甲氧西林葡萄球菌(MRS) mecA 基因	(223)
第 2 节 PCR 技术检测淋病奈瑟菌	(224)

第3节	PCR法检测HBV-DNA	(225)
第4节	斑点杂交法检测HBV-DNA	(226)
第5节	RT-PCR技术检测HCV-RNA	(227)
第6节	PCR法检测HCMV	(229)
第7节	PCR微板核酸杂交ELISA检测沙眼衣原体DNA	(230)
第8节	PCR微板核酸杂交-ELISA检测结核分枝杆菌	(231)
第9节	PCR法检测大肠埃希菌O157	(233)
第10节	荧光RT-PCR技术检测SARS病毒核酸	(234)
第11节	PCR技术检测部分细菌及DNA病毒的引物及其扩增条件	(236)

第7篇 医院感染的微生物学检测

第36章	医院感染的微生物学检测	(240)
第1节	物体表面的细菌学监测	(240)
第2节	医护人员手细菌学监测	(240)
第3节	空气的细菌学监测	(242)
第4节	血透液的细菌学监测	(243)
第5节	消毒液细菌学监测	(243)
第6节	无菌器材、一次性注射用品细菌学监测及输注用液中细菌内毒素的监测	(244)
第7节	紫外线灯消毒效果监测	(245)

第8篇 卫生微生物学检查

第37章	水的卫生微生物学检验	(247)
第1节	水卫生细菌学检测的水样采集	(247)
第2节	水中细菌总数的测定	(248)
第3节	大肠菌群的测定	(250)
第4节	大肠菌群的一步法测定	(253)
第5节	水的病毒学检验	(254)
第38章	食品卫生细菌学检测	(256)
第1节	样品的采取、送检和处理原则	(256)
第2节	细菌总数的测定	(258)
第3节	大肠菌群的检验	(259)
第4节	粪大肠菌群的检验	(261)

第5节 奶粉中金黄色葡萄球菌的检验	(262)
第6节 副溶血性弧菌食物中毒的检验	(263)
第7节 蜡样芽胞杆菌食物中毒的细菌学检查	(263)
第39章 空气的卫生细菌学检验	(265)
第1节 细菌总数的测定	(265)
第2节 空气中链球菌检查法	(266)
第3节 空气的卫生标准	(267)
附录1: 常用试剂的配制	(268)
附录2: 常用培养液的配制	(273)
参考书目	(284)

第1篇 实验医学微生物学基本技术

医学微生物学是一门实验性很强的医学基础主干学科,随着科学技术的不断发展,越来越多的仪器设备进入了医学微生物学实验室,医学微生物学实验已由过去的纯手工操作时代进入了仪器化和自动化的时代。要学好医学微生物学,做好医学微生物学实验,必须对医学微生物学实验室常用实验仪器及设备有一个大致的了解,熟悉常用仪器的工作原理,掌握仪器的使用方法,对微生物学实验的基本实验技术有一个初步的了解和认识。本篇内容主要介绍医学微生物学实验室常用仪器设备实验的基本技术。

第1章 医学微生物实验室常用仪器设备简介 及常用器材的消毒灭菌

第1节 常用仪器设备简介

医学微生物学是一门实验性很强的医学基础学科,医学微生物学实验教学在医学微生物学教学过程中占有很大的比重,所以必须加强医学微生物学的实验教学工作。搞好医学微生物学实验教学的基础是必须具备某些基本实验条件。本章简要介绍医学微生物学实验的一些常用仪器的构造、原理、操作方法及注意事项。

灭菌器

(一) 高压蒸汽灭菌器

1. 构造及原理 高压蒸汽灭菌器是利用压力饱和蒸汽对物品(如医疗器械、敷料、玻璃器皿、溶液培养液)进行迅速而可靠的消毒灭菌设备。此种灭菌器为一个双层的金属圆筒,两层之间盛水,外层为坚厚的金属板,其上有金属厚盖,盖旁有螺旋,借以扣紧厚盖,厚盖与锅体之间为密封圈,使蒸汽不能外溢。灭菌器内装有带孔的金属搁板,用以放置待灭菌的物品。加热后,随着锅内蒸汽压力的升高,其温度也相应增高,从而达到使得待灭菌物品灭菌的目的。锅内蒸汽压力与锅内温度的关系如表1-1。

表1-1 不同蒸汽压力所能达到的温度

磅/cm ²	蒸汽压力		温度(℃)
	kg/cm ²	kPa	
5	0.35	33.78	108.8
8	0.57	54.04	113.0
10	0.70	67.55	115.6
15	1.0	101.33	121.3
20	1.46	135.10	126.2
25	1.77	168.88	130.4
30	2.10	202.66	134.6

高压蒸汽灭菌器盖上装有排气阀、安全阀,以调节灭菌器内蒸汽压力。有温度计及压力