

卫生防疫 微生物检验操作规程

上 册

北京市卫生防疫站 编

北京出版社

92
R446.5
5
乙·1
XHP83/23

卫生防疫

微生物检验操作规程

上 册

北京市卫生防疫站 编



3 0147 0367 6

北京出版社



B

337353

本书编委会

李仲三 邢玉兰 路文彬

刘以贤 贾珍珍 陈仁声

秘书：曹润九

卫生防疫微生物检验操作规程

Weisheng Fangyi Weishengwu Jianyan

Caozuo Gecheng

北京市卫生防疫站 编

北京出版社出版

(北京市北三环中路6号)

北京通县振兴印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 37.75印张 800千字

1991年6月第1版 1991年6月第1次印刷

印数 1—3000

ISBN 7-200-01552-0/Q·4

(全二册)

定价：14.50元

92
R446.5
5
2·2

卫生防疫

微生物检验操作规程

下册

北京市卫生防疫站 编

XAD8173



3 0147 0371 8

北京出版社



B

637354

前　　言

本书是北京市卫生防疫微生物检验规程的第三版。随着新病原微生物的不断发现和生物医学技术的飞速发展，微生物检验技术在不少方面也取得了新的进展。为了更好地配合《传染病防治法》的贯彻执行，适应首都防病工作需要，不断提高检验技术，统一全市卫生防疫微生物检验工作，并使之规范化，我们重新编写了本规程，由北京出版社正式出版，供从事卫生防疫微生物检验工作的同行们参考。

在编写过程中，坚持科学性和实用性，由多年从事微生物检验有实践经验的同志撰写，并送请中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所刘秉阳研究员、病毒学研究所刘崇柏研究员和卫生部食品卫生监督检验所罗雪云研究员对有关专业内容进行审阅。在此我们对三位专家的大力支持表示衷心的感谢。

由于编写时间仓促和业务水平有限，书中存在的错误和缺点在所难免，敬请读者批评指正。

北京市卫生防疫站站长

张殿余

1990年12月5日

目 录

上 册

第一篇 通 则	(1)
第一章 微生物实验室工作制度	(1)
第一节 一般微生物实验室工作制度.....	(1)
第二节 强传染性微生物实验室工作制度.....	(2)
第二章 菌种保存与玻璃器皿的消毒	(5)
第一节 菌毒种保存方法.....	(5)
第二节 玻璃器皿的洗涤、包装和消毒.....	(8)
第二篇 致流行性感染的微生物检验法	(13)
第三章 球 菌	(13)
第一节 葡萄球菌属.....	(13)
一、检验程序.....	(14)
二、操作步骤.....	(16)
标本 (16) 葡萄球菌种间鉴别	(16)
三、结果报告.....	(18)
第二节 溶血性链球菌.....	(21)
一、检验程序.....	(22)
二、操作步骤.....	(23)

采取标本 (23)	实验动物 (23)	分离培养 (23)
挑选可疑菌落 (23)	鉴定试验 (23)	链球菌主要鉴别要点 (28)
D群链球菌快速鉴别 (28)	各群链球菌主要生物学特性 (28)	
三、结果报告.....(28)		
第三节 肺炎链球菌.....(28)		
一、检验程序.....(29)		
二、操作步骤.....(29)		
采样 (29)	动物标本 (29)	分离培养 (29)
挑选可疑菌落 (29)	鉴定试验 (30)	
三、结果报告.....(32)		
第四节 淋病双球菌.....(32)		
一、检验程序.....(35)		
二、操作步骤.....(36)		
涂片染色检查 (36)	培养 (36)	生化反应 (38)
三、结果报告.....(39)		
第五节 脑膜炎双球菌.....(39)		
一、检验程序.....(39)		
二、采样方法.....(41)		
病人标本 (41)	带菌调查标本 (41)	
三、检验方法.....(41)		
显微镜检查 (41)	分离培养 (42)	血清凝集试验 (42)
生化反应 (43)	生长试验 (44)	诊断标准 (44)
四、血清学试验方法.....(44)		
杀菌力试验原理 (44)	试验方法 (45)	
五、结果报告.....(49)		
第四章 肠杆菌科.....(50)		
第一节 艾希氏菌属.....(50)		
一、检验程序.....(51)		

二、操作步骤.....	(51)	
分离培养(51)	挑选可疑菌落(52)	生化试验 (52)
血清学试验(52)	毒素原性大肠艾希氏菌的鉴定(53)	
试验方法 (54)	ST毒素测定 (54)	
EHEC的鉴定 (55)		
三、结果报告.....	(55)	
第二节 志贺氏菌属.....	(62)	
一、检验程序.....	(63)	
二、操作步骤.....	(64)	
分离培养 (64)	挑选菌落 (64)	生化试验 (64)
血清学分型 (65)	志贺氏菌属各群抗原表 (66)	
三、结果报告.....	(68)	
第三节 沙门氏菌属.....	(68)	
一、检验程序.....	(68)	
二、操作步骤.....	(70)	
患者标本 (70)	增菌和分离培养 (71)	挑选可疑菌 落 (71)
生化试验 (72)	血清学分型 (77)	
三、结果报告.....	(82)	
四、肥达氏反应.....	(82)	
原理 (82)	方法 (83)	结果评价 (83)
第四节 Vi伤寒沙门氏菌噬菌体分型.....	(85)	
一、检验程序.....	(86)	
二、操作步骤.....	(87)	
培养基(87)	用具(87)	伤寒沙门氏菌种的鉴定 (88)
标准噬菌体制剂的制备 (89)	噬菌体效价测定 (91)	
交叉裂解试验 (93)	注意事项 (95)	
第五节 克雷伯氏菌属.....	(96)	
一、检验程序.....	(96)	
二、操作步骤.....	(97)	

粪便或其他病灶标本 (97)	挑选可疑菌落 (97)
生化鉴定和鉴别 (97)	克雷伯氏菌属系统生化鉴定 (98)
血清学分型 (98)	
三、结果报告	(100)
第六节 变形杆菌属、莫根氏菌属、普罗菲登斯菌属	(101)
一、检验程序	(101)
二、操作步骤	(102)
粪便和其他标本 (102)	挑选可疑菌落 (102)
鉴定试验 (103)	变形杆菌属、莫根氏菌属、普罗菲登斯菌属系统生化反应 (103)
普罗菲登斯菌属的生物分群 (103)	普罗菲登斯菌属的鉴别 (103)
生物群 (103)	雷极氏普罗菲登斯菌生物群 (103)
第七节 耶尔森氏菌属	(109)
一、小肠结肠炎耶尔森氏菌 (耶氏菌)	(110)
检验程序 (110)	操作步骤 (111)
结果报告 (117)	
二、假结核耶氏菌	(117)
检验程序 (118)	操作步骤 (118)
结果报告 (120)	
三、鼠疫耶氏菌	(121)
检验程序 (121)	操作步骤 (122)
结果报告 (135)	
第八节 柠檬酸杆菌属	(135)
一、检验程序	(136)
二、操作步骤	(137)
分离培养 (137)	挑选可疑菌落 (137)
柠檬酸杆菌属初步生化反应 (138)	柠檬酸杆菌属系统生化反应 (138)
三、结果报告	(138)
第九节 肠杆菌属	(140)
一、检验程序	(140)
二、操作步骤	(142)
粪便和其他标本 (142)	挑选可疑菌落 (142)

生化鉴定和鉴别 (142)	
三、结果报告.....(142)	
第十节 哈夫尼亞菌属.....(146)	
一、检验程序.....(146)	
二、操作步骤.....(147)	
分离培养 (147) 挑选可疑菌落 (147)	
TSI反应 (147) 系统生化反应鉴定 (147)	
蜂窝哈夫尼亞与相关细菌的鉴别 (148)	
三、结果报告.....(148)	
第十一节 爱德华氏菌属.....(150)	
一、检验程序.....(150)	
二、操作步骤.....(151)	
分离培养 (151) 挑选可疑菌落 (151)	
在TSI或综合上的反应 (151) 生化反应 (152)	
三、结果报告.....(153)	
第十二节 波雷氏菌属.....(153)	
一、检验程序.....(154)	
二、操作步骤.....(155)	
分离培养 (155) 挑选可疑菌落 (155) 在TSI 或综合上的反应 (155) 初步生化鉴定 (155)	
沙雷氏菌属主要成员系统生化反应 (155)	
三、结果报告.....(155)	
第五章 弧菌科.....(159)	
第一节 霍乱弧菌.....(159)	
一、检验程序.....(162)	
二、操作步骤.....(163)	
标本的采集和运送 (163) 快速实验诊断 (163)	
直接分离与增菌 (164) 菌落形态与菌体形态 (166)	
血清学检查 (166) O ⁻ 群霍乱弧菌与其它弧菌和有关	

细菌的鉴别 (167)	
三、O ⁻¹ 群霍乱弧菌的鉴定.....	(168)
糖发酵试验 (168) 试管定量凝集试验 (168)	
第IV组霍乱噬菌体裂解试验 (170) 氧化酶试	
验 (170) 粘丝试验 (171)	
四、霍乱弧菌两种生物型的鉴别试验.....	(171)
第IV组霍乱噬菌体裂解试验 (172) 多粘菌素B敏感	
试验 (172) 鸡血球凝集试验 (173) 服一泼二氏	
试验 (173) 溶血试验 (174)	
五、ElTor生物型霍乱弧菌噬菌体分型.....	(175)
六、ElTor弧菌的生物分型.....	(177)
溶原性的测定(178) 对溶原噬菌体敏感性的测定(178)	
山梨醇发酵试验 (179) 溶血试验 (179)	
七、噬菌体一生物分型.....	(180)
八、自外环境标本分离霍乱弧菌.....	(181)
水样标本(181) 食品标本(182) 水生动物标	
本(182) 物体表面标本 (182)	
第二节 气单胞菌属.....	(182)
一、检验程序	(183)
二、操作步骤.....	(184)
粪便标本 (184) 挑选可疑菌落 (184) 氧化酶试	
验 (184) 初步生化鉴定 (185) 鉴定试验 (185)	
气单胞菌系统生化特性 (186) 气单胞菌科属的鉴	
别 (187) 气单胞菌属各种和有关细菌的鉴别 (188)	
三、结果报告.....	(188)
第三节 邻单胞菌属 类志贺邻单胞菌	(189)
一、检验程序	(189)
二、操作步骤.....	(190)
粪便标本 (190) 污水和其他标本 (190)	

分离(190)	挑选可疑菌落(190)	氧化酶试验(191)
初步鉴定和鉴别试验(190)	血清学分型(190)	
三、结果报告.....	(190)	
四、生化特性.....	(190)	
第六章 其他革兰氏阴性杆菌	(195)	
第一节 百日咳杆菌.....	(195)	
一、检验程序.....	(195)	
二、操作步骤.....	(195)	
采样方法(195) 检验方法(197)百日咳抗体测定(198)		
第二节 嗜血杆菌属.....	(200)	
一、检验程序.....	(201)	
二、操作步骤.....	(201)	
标本的采取方法(201) 标本处理(202)		
三、结果报告.....	(205)	
第三节 铜绿假单胞菌(绿脓假单胞菌).....	(206)	
一、检验程序.....	(207)	
二、操作步骤.....	(207)	
标本(207) 环境标本(207) 挑选可疑菌落(207)		
氧化酶试验(207) 血清学分型(209)		
三、结果报告.....	(209)	
四、有关问题的解释.....	(209)	
第四节 布鲁氏菌属.....	(210)	
一、检验程序.....	(210)	
二、操作步骤.....	(211)	
细菌检材(211) 血清抗体检测(212)		
乳液中抗体测定(212) 鉴定试验(212)		
有关免疫学试验(213)		
三、结果报告.....	(216)	
第七章 需氧芽孢杆菌属	(223)	

第一节 炭疽芽胞杆菌	(223)
一、检验程序.....	(224)
二、操作步骤.....	(225)
标本的采集和运送 (225) 标本处理 (225)	
鉴定试验 (226) Ascoli试验 (231)	
三、结果报告.....	(231)
第二节 蜡样芽胞杆菌	(231)
一、检验程序.....	(232)
二、操作步骤.....	(232)
菌数测定 (233) 分纯培养 (233) 鉴定试验 (233)	
三、结果报告.....	(233)
第八章 棒状杆菌属	(237)
第一节 白喉棒状杆菌.....	(237)
一、检验程序.....	(237)
二、操作步骤.....	(240)
病人标本 (240) 带菌者标本 (240) 标本的运 送 (240) 检验方法 (240) 毒力试验 (240)	
三、白喉血清抗毒素测定.....	(243)
材料 (244) 致敏血球制备 (245) 效价测定 (247)	
第二节 棒状杆菌属细菌的鉴定.....	(249)
第九章 军团病菌属	(251)
一、检验程序.....	(251)
二、操作步骤.....	(252)
标本处理 (252) 检验方法 (253)	
三、血清学试验.....	(256)
微量凝集反应 (256) 试管凝集反应 (256)	
酶联免疫吸附试验 (257) 免疫荧光方法 (257)	
四、军团菌的结果判断.....	(259)
五、已命名的23个军团菌种的中英文对照.....	(259)

第十章 弯曲菌属	(268)
空肠/大肠弯曲菌	(268)
一、检验程序	(268)
二、操作步骤	(269)
标本的采集与运送 (269) 鉴定方法 (270)	
三、空肠弯曲菌抗原构造及血清学分型	(272)
抗原构造 (272) 血清学分型 (272)	
四、结果报告	(273)
五、弯曲菌的分类及生化鉴别	(273)
六、弯曲菌的生物分型	(275)
七、弯曲菌的菌种保存	(276)
八、产生微需氧环境的几种方法	(277)
第十一章 曲杆菌属	(288)
幽门弯曲菌	(288)
一、检验程序	(288)
二、操作步骤	(289)
标本 (289) 标本处理 (289) 标本接种 (289)	
挑选可疑菌落 (289) 鉴定试验 (290) 幽门弯曲	
菌的生化反应 (290)	
三、结果报告	(290)
第十二章 钩端螺旋体	(292)
第一节 检验程序和操作步骤	(292)
一、检验程序	(292)
二、操作步骤	(292)
采样及标本处理 (292) 检验方法 (293)	
动物培养 (295) 污染的水和土壤检验 (296)	
血清学试验 (297) 钩体鉴定 (298) 菌株致病性	
的鉴定 (298) 培养问题 (300)	
第二节 培养基和试剂	(301)

第十三章 厌氧菌	(304)
第一节 专性厌氧菌与其他厌氧菌	(304)
一、专性厌氧菌	(304)
二、其他厌氧菌	(305)
三、人体正常菌群中厌氧菌的种类和分布	(305)
第二节 厌氧菌检验程序和步骤	(305)
一、检验程序	(305)
二、操作步骤	(308)
标本的采集 (308) 标本运送 (308)		
三、标本处理	(309)
镜检 (309) 初代培养 (310) 标本接种 (310)		
标本的培养方法(310) 催化剂和氧化还原指示剂(311)		
次代培养和厌氧菌的确定 (312) 厌氧菌的鉴定 (312)		
第十四章 梅毒的实验室诊断	(319)
第一节 非特异性血清试验	(320)
一、USR试验	(320)
USR定性试验 (320) USR定量试验 (321)		
注意事项 (321)		
二、RPR试验	(321)
RPR定性试验 (321) RPR定量试验 (322)		
注意事项 (322)		
第二节 特异性血清试验	(322)
一、国产TPHA试验	(322)
试剂准备 (322) TPHA定性试验 (322)		
TPHA定量试验 (323)		
二、进口TPHA试验	(323)
TPHA定性试验 (323) TPHA定量试验 (324)		
三、FTA-AbS试验	(325)
试验所需试剂 (325) 试验步骤 (32)		

第十五章 肠毒素测定方法.....(328)

- 第一节 肠毒素实验动物测定法.....(329)
 - 一、家兔小肠肠段结扎试验.....(329)
 - 二、乳鼠测定法.....(329)
 - 三、皮肤通透性试验.....(330)
 - 第二节 细胞测定毒素的方法.....(330)
 - 一、Y-1细胞测定毒素的方法.....(331)
 - 二、CHO细胞测定法.....(332)
 - 三、被动免疫溶血试验.....(332)
 - 四、酶联免疫吸附试验 (ELISA)(334)
- 检验程序 (334) 操作步骤 (335)

第十六章 细菌质粒指纹图测定法.....(337)

- 第一节 细菌质粒.....(337)
 - 第二节 质粒提取方法.....(338)
 - 一、大量提取质粒法.....(338)
- 检验程序 (338) 操作步骤 (340)
- 二、质粒微量提取法.....(342)
- 检验程序 (342) 操作步骤 (343)

第十七章 药物敏感试验方法.....(346)

- 第一节 纸片扩散法.....(346)
- 第二节 试管法.....(348)
- 第三节 肉汤稀释法.....(349)
- 第四节 琼脂稀释法.....(350)
- 第五节 血清中抗生素水平的测定.....(350)

第十八章 L型细菌检验法.....(359)

 检验程序 (359) 操作步骤 (360)

 结果报告 (362)

第十九章 卫生细菌学检验及消毒效果鉴定.....(364)

- 第一节 食品卫生细菌学检验.....(364)

一、葡萄球菌肠毒素检验方法.....	(364)
中毒食品提取肠毒素方法 (364) 菌株提取肠毒素方 法 (365) 双相琼脂扩散检验肠毒素方法 (366)	
二、葡萄球菌肠毒素提纯及其血清制备.....	(368)
肠毒素提纯 (368) 抗血清制备 (369)	
第二节 环境卫生细菌学检验.....	(370)
第三节 消毒效果鉴定.....	(371)
第三篇 病毒学检验.....	(373)
第二十章 常用实验室器材的准备.....	(373)
第二十一章 常用试剂的配制.....	(376)
第一节 细胞培养试剂	(376)
Hanks溶液 (376) 青、链霉素 (377)	
卡那霉素 (377) 5.6% NaHCO ₃ (377)	
3% L-Glutamine (谷氨酰胺) 溶液 (377) 1% 胰蛋 白酶 (377) Versene (乙二胺四乙二酸) 溶液 (378)	
磷酸盐缓冲溶液 (PBS) (378) 细胞冻存保护液 (397)	
Eagle氏液 (379) 营养液(生长液) (379) 维持液 (380)	
0.5% 乳蛋白水解物 (380)	
第二节 组织学和细胞学试剂	(380)
固定液 (380) 染色液 (381)	
第三节 血清学试剂	(386)
Alsever氏液 (386) 磷酸二氢钠—磷酸氢二钠缓 冲液 (386) 钙镁盐水 (387) pH7.2磷酸盐缓冲 溶液 (387) 碳酸盐缓冲液 (388) pH7.4磷酸盐 —吐温缓冲液 (388) Tris-HCl-Tween 缓冲液(388)	
HRP的底物溶液 (388)	
2M H ₂ SO ₄ 终止液 (389) 饱和硫酸铵 (NH ₄) ₂ SO ₄ (389) 奈氏试剂(389) 免疫佐剂 (390)	