

卫生防疫检验

上海市卫生防疫站編著

卫生防疫检验

上海市卫生防疫站 編

編 写 者

(以姓名笔画序)

万文道	尤君靜	尤錫根	田貢銘
叶自儔	刘雪园	严怀曾	张鴻富
陈希声	邱志方	郑思民	竺欽滋
袁亦丞	徐 輝	游寿仙	潘宝德

校 閱 者

徐 輝 陈希声 潘宝德 强苏生

上海科学技术出版社

內 容 提 要

本书是上海市卫生防疫站檢驗工作人員在总结經驗的基础上写成的,內容主要介紹該站現用的檢驗方法,以实用为主。全书共分正篇九篇,附篇六篇。举凡有关卫生防疫檢驗的技术操作,如病原細菌学檢驗、卫生細菌学檢驗、病毒学檢驗、寄生虫学檢驗、医学昆虫檢驗、空气中有害物质的測定、水质化学分析、食品化学檢驗、毒性鉴定以及培养基制造、动物的飼养管理和实验技术等,都根据实用要求,作了扼要而系統的介绍。

本书可供卫生防疫檢驗人員、公共卫生医师等参考之用。

卫 生 防 疫 檢 驗

上海市卫生防疫站 編

上海科学技术出版社出版 (上海瑞金二路 450 号)

上海市书刊出版业营业許可証出 093 号

上海新华印刷厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本 787×1092 1/18 印张 58 插頁 35 排版字数 1,360,000

1964年4月第1版 1964年4月第1次印刷

印数 1—6,500

統一书号 14119·992 定价(十二) 9.50 元

序 言

我国卫生防疫事业,在党的正确领导和关怀下,在总路线、大跃进和人民公社三面红旗的光辉照耀下,和其他各条战线一样,有着迅速的发展,取得巨大的成就。卫生防疫检验是卫生防疫事业的一个重要部分,也随着卫生防疫事业的发展而日益发展。为了进一步提高卫生防疫检验技术质量,使能更好地配合卫生防疫工作的开展,适应当前除害灭病工作蓬勃发展的需要,我站曾于1960年组织检验工作同志,各就其业务范围,将历年来的点滴经验,进行全面而系统的总结,并在总结经验的基础上,参考国内外有关文献资料,编写成书,以便于与各地兄弟单位交流经验,并供本市各区县卫生防疫站基层实验室工作同志的参考。

本书内容主要是介绍我站目前实际采用的检验技术,对于国内外资料,则根据实用原则,择要作了介绍。全书分为九个正篇和六个附篇,系统而扼要地介绍有关卫生防疫的各种微生物学、寄生虫学和化学检验等,重点是叙述操作方法,必要时加以理论的说明。

在集体写作之前,曾组织有关人员进行酝酿和讨论,然后分篇分章起草,再汇总整理,反复讨论修正,最后定稿。在编写过程中,承荷中国科学院华东昆虫研究所、中国医学科学院寄生虫病研究所、上海市血吸虫病防治所、上海市药品检验所、上海市医学化学所、上海市劳动卫生研究所及上海科学技术出版社等单位的热心帮助,提供资料,协助编审;特别是上海科学技术出版社还曾一再就编写的若干具体问题,提出宝贵意见,并不断给我们以鼓励。各区县卫生防疫站还根据基层实验室实际情况,对本书内容是否简明易懂切合实际,曾组织数次会议进行讨论,提出许多宝贵意见。各地兄弟单位不断来函索取这方面的资料,也给我们极大的鼓舞和鞭策。对于上述各有关单位的这些热情帮助和鼓励,我们都表示衷心的感谢。

本书的编写,虽然经过二年来反复的讨论和慎重的审核修改,但由于我们水平有限,缺点一定很多,尚希读者随时批评指正。

上海市卫生防疫站

1963年6月

凡 例

一、度量衡符号

kg = 公斤

g = 克

mg = 毫克

μ g = 微克

l = 公升

ml = 毫升

m = 米(公尺)

cm = 厘米

mm = 毫米

μ = 微米

m μ = 毫微米

$\mu\mu$ = 微微米

二、其他常用略写符号

°C = 摄氏温度

°F = 华氏温度

T° 绝对温度以°C计(-273°C为0点)

t° 常用温度以°C计(0°C为0点)

Cal = 大卡

cal = 小卡

N = 当量浓度

M = 克分子

pH = 氢离子浓度的反对数

三、水与蒸馏水 本书第六、七、八、九等篇化学检验方法中的“水”除了别有说明外，都是指蒸馏水，其他各篇的“水”字是指一般常水，而蒸馏水均明确指出。

四、试剂纯度 化学检验所用试剂除别有说明外，都是化学纯粹试剂。

五、配制试剂浓度 在配制一定百分浓度试剂时，常以x%来表示，试剂如为固体，则为其重量(g)，如为液体则为其容量(ml)，加水(或其他溶剂)而成100 ml的溶液。

化学纯粹试剂溶液的浓度，除别有说明外，亦常用(1:2)(1:3)……等等表示。括弧中第一个数字是指试剂的体积，第二个数字是指水的体积，例如：盐酸(3:2)就是指以盐酸3份体积容量加水2份体积容量而成的溶液。

六、几种常用试剂的一般浓度 下列试剂除别有说明后，是指其一般浓度而言，其规格如下：

品 名	比 重	含量百分率	当量浓度(约)
硫 酸	1.84	95~98	36
盐 酸	1.18	38	12
硝 酸	1.42	64	16
冰 醋 酸		99	17
氢氧化铵	0.888	32	17

目 录

序 言	
凡 例	
第一篇 病原細菌学檢驗	1
第二篇 卫生細菌学檢驗	149
第三篇 病毒学檢驗	193
第四篇 寄生虫学檢驗	299
第五篇 医学昆虫檢驗	383
第六篇 空气中有毒物质的測定	521
第七篇 水质化学檢驗	597
第八篇 食品化学檢驗	651
第九篇 毒性鉴定	817
附篇一 培养基制造	885
附篇二 实验动物的饲养管理及实验技术	963
附篇三 染色法	1011
附篇四 寄生虫昆虫标本制作法及保存法	1027
附篇五 当量溶液及指示剂的配制	1041
附篇六 有关卫生防疫檢驗的各项卫生标准及质量规格	1045

第一篇 病原細菌学檢驗

第一章 概論 1	[附] 上海地区非典型痢疾診斷血清 的制备和菌种鉴定.....44
一、一般細菌分类..... 1	
二、肠道杆菌分类..... 3	
三、菌种保存法..... 4	
四、實驗室一般注意事項..... 6	
五、采送标本一般注意事項..... 7	
第二章 大肠杆菌及副大肠杆菌 7	
第一节 大肠杆菌..... 7	
〔附〕 大肠杆菌的抗原結構及診斷血 清的制备方法.....11	
第二节 副大肠杆菌.....12	
第三章 志賀氏菌属及沙門氏菌属14	
第一节 抗原分析.....14	
一、沙門氏菌属的抗原分析.....14	
二、志賀氏菌属的抗原分析.....16	
第二节 抗原和免疫血清的制备.....20	
一、志賀氏菌属抗原和免疫血清的制备..... 20	
二、沙門氏菌属抗原与免疫血清的制备..... 21	
三、凝集試驗.....23	
(一)玻片凝集反应(23) (二)試管内 凝集反应(24)	
四、吸收試驗及因子血清的制备.....25	
(一)吸收試驗(25) (二)因子血清的 制备(26)	
第三节 分离用培养基的选择及使用.....30	
(一)增菌培养基(30) (二)鉴别琼脂 平板(31)	
第四节 分离培养及初步鉴定.....31	
(一)标本收集(32) (二)分离培养及 初步鉴定(34)	
第五节 志賀氏菌属分型鉴定.....39	
	第六节 沙門氏菌属分型鉴定.....46
	一、“O”因子血清分型診斷.....46
	二、“H”因子血清分型診斷.....48
	三、沙門氏菌属中某些生化型或生化型 变种的診斷.....50
	四、完全生化反应的鉴别.....51
	第七节 伤寒杆菌噬菌体分型鉴定.....73
	一、伤寒杆菌的分离培养.....74
	二、制备高效价特异性 vi II 型标准 伤寒杆菌分型噬菌体.....74
	(一)鉴定伤寒 vi II 型标准菌种(74)
	(二)标准噬菌体和相应标准菌株肉湯 生长物初次传代繁殖法(75) (三)用 平板法測定噬菌体效价(75) (四)用 半固体传代法获得最高效价的标准噬 菌体(75) (五)平板法交互裂解試 驗(77) (六)多价 vi 噬菌体的制备 (77)
	三、噬菌体分型診斷.....78
	四、未知試驗菌株进行 vi II 型噬菌体 分型鉴定中的注意事項.....80
	第八节 痢疾杆菌对药物敏感性試驗.....81
	一、試驗材料.....81
	二、試驗方法.....82
	(一)試管法(82) (二)紙片法(83)
	第四章 变形杆菌83
	第五章 霍乱弧菌及 El Tor 弧菌85
	第六章 嗜盐性細菌92
	[附] 嗜盐菌与其他一般常見革兰氏

第一篇 病原細菌学檢驗

阴性肠道杆菌的鉴别	96	第十二章 鼠疫杆菌	122
第七章 脑膜炎双球菌	97	第十三章 布鲁氏杆菌	126
第八章 葡萄球菌及链球菌	103	〔附〕 二氧化碳培养环境設置	130
第九章 白喉杆菌	109	第十四章 炭疽杆菌	130
一、病例檢驗	110	第十五章 魏氏梭状杆菌及肉毒杆菌	135
二、带菌檢驗	115	〔附〕 厌气培养环境設置	138
第十章 結核杆菌	116	第十六章 钩端螺旋体	140
第十一章 百日咳杆菌	119		

第一章 概 論

在卫生防疫上,病原細菌檢驗的目的,主要是确定病原,检查带菌者,早期发现传染源,查明传染途径,评价预防措施,为提高传染病防治工作质量,和流行病学调查研究提供科学依据。

病原細菌檢驗在卫生防疫上和临床医疗上具有不同的意义。后者主要是解决个别病人的病原诊断问题,其所涉及的病原微生物的种类较广,除急性传染病外,还包括许多不引起流行的疾病及慢性传染病的病原体及其血清学的诊断;而前者主要是针对能引起流行的致病菌,为了确定病原,往往须作详细的整套的检查,除病人本身外,还须对其周围有过接触的人进行带菌检验,以及对某些感染动物、病媒昆虫、污染物品等必要时也要进行检验,以便作进一步的流行病学调查分析,提出预防的对策。

在卫生防疫工作中,为了贯彻预防为主,还可应用病原細菌檢驗,定期对某些集体人员如饮食行业从业人员、幼儿机构保教人员进行某些肠道传染病(如伤寒、痢疾等)或呼吸道传染病(如白喉等)的带菌检验(普查或抽查),发现带菌者,及时采取措施,进行隔离治疗或转业等。

在传染病防治工作上,为了配合流行病学调查上的需要,也可应用病原細菌檢驗对某些致病菌如沙门氏菌、痢疾杆菌、致病性大肠杆菌等作进一步菌型鉴定,并加以统计分析,以供制订防治对策时的参考。

一、一般細菌分类

細菌的种类很多,不少細菌相互間可有一定的相似点,細菌分类学者就根据它们的相似点和不同点进行分类,这对于細菌的鉴别上,特别是复杂的肠道杆菌的鉴别上有很重要的意义。

Bergey 氏(1948 年)将各种細菌、螺旋体、立克次氏体和病毒等病原体统归纳在裂殖菌綱(Schizomycetes)内,此綱(Class)有七个目(Order)。茲将七个目的名称及其重要致病菌列举如下:

(一) 眞菌目(Eubacteriales): 下詳。

(二) 放綫菌目(Actinomycetales): 其下有分枝杆菌科(Mycobacteriaceae),再下面有分枝杆菌属(Mycobacterium),結核杆菌、麻风杆菌属之。

(三) 衣菌目(Chlamydobacteriales): 此目无致病菌。

2 第一章 概 論

(四) 粘液菌目(Myxobacterales): 此目无致病菌。

(五) 螺旋体目(Spirochaetales): 鈎端螺旋体、梅毒螺旋体、回归热螺旋体均属于此目内的密螺旋体科(Treponemaceae)。

(六) 立克次氏体目(Rickettsiales)。

(七) 病毒目(Virales)。

以上七个目中,真菌目的致病菌最多,与病原細菌檢驗的关系最密切,茲将此目分类摘要如下:

1. 假单胞菌科(Pseudomonadaceae):

(1) 螺菌族(Spirilleae) { 弧菌属(Vibrio): 霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、El Tor弧菌属之。
螺菌属(Spirillum): 鼠咬热螺菌(Spirillum minus)属之。

(2) 假单胞菌族(Pseudomonadeae): 假单胞菌属(Pseudomonas): 綠脓杆菌(Pseudomonas aeruginosa)属之。

2. 微球菌科(Micrococcaceae): 微球菌属(Micrococcus): 葡萄球菌(Staphylococcus)属之。

3. 奈瑟氏菌科(Neisseriaceae): 奈瑟氏菌属(Neisseria): 脑膜炎双球菌(Meningococcus)、淋球菌(Gonococcus)属之。

4. 乳菌科(Lactobacteriaceae): 此科細菌一般不致病。

(1) 鏈球菌族(Streptococceae) { 双球菌属(Diplococcus): 肺炎双球菌(Pneumococcus)属之。
鏈球菌属(Streptococcus): 鏈球菌(Streptococcus)属之。

(2) 乳杆菌族(Lactobacilleae): 乳杆菌属(Lactobacillus): 嗜酸菌类(Acidophilus group)属之。

5. 棒状杆菌科(Corynebacteriaceae): 棒状杆菌属(Corynebacterium): 白喉杆菌(Corynebacterium diphtheriae)属之。

6. 无色菌科(Achromobacteriaceae): 产碱杆菌属之。

7. 肠道杆菌科(Enterobacteriaceae): 下詳。

8. 小杆菌科(Parvobacteriaceae):

(1) 巴氏菌族(Pasteurelleae) { 巴氏菌属(Pasteurella): 鼠疫杆菌(Pasteurella pestis)、土拉热杆菌(Bacterium tularensis)属之。
馬鼻疽分枝菌属(Malleomyces): 馬鼻疽杆菌(Malleomyces mallei)属之。

(2) 布魯氏杆菌族(Brucelleae): 布魯氏杆菌(Brucella)属之。

(3) 嗜血菌族(Hemophileae): 嗜血菌属(Hemophilus): 流行性感胃杆菌(Hemophilus influenzae)、百日咳杆菌(Hemophilus pertussis)属之。

9. 有芽胞杆菌科(Bacillaceae):

(1) 有芽胞杆菌属(Bacillus): 炭疽杆菌(Bacillus anthracis)属之。

(2) 梭状芽胞杆菌属(Clostridium): 破伤风杆菌(Clostridium tetani)、肉毒杆菌(Clostridium botulinum)、产气荚膜杆菌等属之。

二、肠道杆菌分类

肠道細菌种类很多，最主要的菌群是肠道杆菌科。此科細菌都是革兰氏阴性无芽胞杆菌，能迅速发酵葡萄糖产酸产气或仅产酸而不产气；还能还原硝酸盐为亚硝酸盐。多数細菌都有周围鞭毛，能运动，并能在普通培养基上生长。本科菌类中，很多已証明为肠道传染病的病原菌，有的是条件致病菌；当然也有些是非病原菌。非病原菌的生物学特性与病原菌和条件致病菌虽极相似，但迄未証明有致病性。

根据細菌的生化反应和抗原分析，肠道杆菌科可分为五族。但各族細菌之間，还存在一些不能肯定归入一定菌群的中間型。此外，由于細菌为适应自然环境或对抗感染机体的防御因素等影响，各菌类原有的生物学特征也可发生变化，因而产生某些非典型的菌株和新的变种，以致在各菌类之間，不可能严格划分，它們彼此間，仍存在着某些錯綜复杂的联系。这常給檢驗工作者在鉴别诊断中带来困难。现参考 Bergey 氏分类法与 Kauffmann 氏意见分类如下：

- | | | | | | |
|-------------------------------------|--|---|--|---|--------------|
| (一) 埃希氏菌族
(<i>Escherichia</i>) | { | (1) 埃希氏菌属或大肠杆菌属 (<i>Escherichia</i>) | 1) 大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)。 | } | 包括枸橼酸杆菌类一部分。 |
| | | | 2) 大肠杆菌中間型 (<i>Escherichia intermedium</i>)。 | | |
| | { | (2) 产气杆菌属 (<i>Aerobacter</i>) | 1) 产气杆菌 (<i>Aerobacter aerogenes</i>)。 | } | |
| | | | 2) 阴沟杆菌 (<i>Aerobacter cloacae</i>)。 | | |
| | | (3) 克氏杆菌属 (<i>Klebsiella</i>)——肺炎 (克氏) 杆菌 (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)。 | | | |
| | (4) 副大肠杆菌属 (<i>Paracolonobacterium</i>): 此属菌类有的已单独成为一个菌属或菌組，如赫夫尼亚菌組 (<i>Hafnia</i>)。 | | | | |
| | | (5) 阿氏菌属 (<i>Alginobacter</i>)。 | | | |

(二) 欧氏菌族 (*Erwineae*)——(6) 欧氏菌属 (*Erwinea*) 是侵犯植物的病原菌，对人无害。

(三) 沙雷氏菌族 (*Serrateae*)——(7) 沙雷氏菌属 (*Serratia*) 菌体甚小，能产生紅色色素，如灵杆菌等，对动植物均无害。

- | | | |
|--|---|---|
| (四) 变形杆菌族 (<i>Proteae</i>)——(8) 变形杆菌属 (<i>Proteus</i>) | { | 1) 普通变形杆菌 (<i>P. vulgaris</i>)。 |
| | | 2) 奇异变形杆菌 (<i>P. mirabilis</i>)。 |
| | | 3) 莫根氏变形杆菌 (<i>P. morganii</i>)。 |
| | | 4) 雷极氏变形杆菌 (<i>P. rettgeri</i>)。 |
| | | 5) 不肯定变形杆菌: 或名 29911, 即普罗菲登斯菌組 (<i>Providencia</i> group)。 |

- | | | | |
|--------------------------------------|---|---|-----------------------------------|
| (五) 沙門氏菌族
(<i>Salmonelleae</i>) | { | (9) 沙門氏菌属 (<i>Salmonella</i>) | 1) 伤寒杆菌 (<i>S. typhi</i>)。 |
| | | | 2) 副伤寒杆菌 (<i>S. paratyphi</i>)。 |
| | | | 3) 其他沙門氏菌。 |
| (10) 志賀氏菌属 (<i>Shigella</i>) | { | 1) 志賀氏痢疾杆菌 (<i>Shigella dysenteriae</i>)。 | |
| | | 2) 副痢疾杆菌 (弗氏) (<i>Shigella flexneri</i>)。 | |
| | | 3) 其他痢疾杆菌: 包括碱性异型菌組 (<i>Alkaliscens-Dispar</i> group)。 | |

本科主要菌类的分类方法,首先是根据生化反应结果,再根据血清反应特性来分属、分組和分型。如在葡萄糖发酵产气类中根据菌株的“O”抗原不同分属(組)(一般可按生化反应的特征先进行鉴别分属),如分为沙門氏菌属、亚利桑那菌組、枸橼酸杆菌組、埃希氏菌属等,然后再进一步按属或組内各菌株所具有的特异性“O”抗原、“K”抗原或“H”抗原的特征进行分組和分型。

某些血清型又可由两个或更多的亚組組成。如在葡萄糖产酸类中的志賀氏菌属是由四个亚組所組成,这四个亚組是由每組内的血清型別所具有的生化特性和血清学反应两方面的特征結合起来加以区别的。其他如克氏杆菌虽有几个“O”抗原組,但仍直接以荚膜抗原的鉴别来分型。变形杆菌虽已有一部分菌株(普通变形杆菌、奇异变形杆菌)建立了抗原表,但一般仍只根据生化反应结果来分型。

本科各菌类的生化特性(表1-1),一般能表现出較稳定且明显的反应结果。这可作为鉴别中的主要依据。但由于反应的结果,往往和所使用的培养基成分和其他因素有密切的关系,故如发现某一反应可疑时,应改用另一种基础培养基进行試驗,如以血消化湯或蛋白胨或牛肉膏为基础的加糖类制成的含糖培养基来作发酵試驗,有时其反应结果可能是互有差别的。如推想細菌发酵緩慢时,含糖类培养基可用沾有融化石蜡的軟木塞将管口密封,以代替棉塞,防止培养过程中所产生的酸(碳酸)挥发。

表1-1 肠道杆菌科各菌类的生化反应
(按各工作室的培养基处方的不同,而可能稍有出入)

生 化 反 应 菌 类	葡 萄 糖	乳 糖	蔗 糖	甘 露	卫 矛	水 杨	侧 金 藻	肌 醇	鼠 李	阿 拉 伯	木 糖	蕃 葡 糖	淀 粉	甲 基 紅 反 应	弗 二 氏 反 应	枸 橼 酸 氨	硫 化 氢	尿 素 酶	明 胶 液 化	精 化 钾 (生 长)	糖 苯 果 酸 盐	苯 丙 氨 酸 脱 氨 酶	动 力	α- 賴 氨 酸 脱 氨 酶
沙門氏菌属 Salmonella	⊕	-	-	⊕	+/-	-	-	V	⊕	V	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+
亚利桑那菌組 Arizona	⊕	⊕	-	⊕	-	-	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
枸橼酸杆菌組 Citrobacter	⊕	V	V	⊕	V	V	-	V	⊕	⊕	⊕	⊕	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
志賀氏菌属 Shigella	-	V	-/+	+/-	V	-	-	-	V	V	V	V	V	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V
碱性-异型菌組 A-D group	-	V	V	+	+	V	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
埃希氏菌属 Escherichia	⊕	⊕	V	⊕	V	V	-	-	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
阴沟杆菌 Cloaca	⊕	⊕	⊕	⊕	V	⊕	V	V	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	+	+	-	-	V	+	V	-	+	V
赫夫尼亚菌組(22°C) Hafnia	⊕	-	V	⊕	-	V	-	-	⊕	⊕	⊕	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
沙雷氏杆菌属 Serratia	⊕	V	⊕	⊕	-	⊕	V	V	-	⊕	⊕	⊕	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	V
变形杆菌属 Proteus	⊕	-	V	-	-	V	-	-	-	-	⊕	-	+/-	+	-/+	V	+	+	+	+	+	+	+	-
雷极氏变形杆菌 Rettgerella	-	-	-	+	-	V	+	+	V	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-
莫根氏变形杆菌 Morganela	⊕	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+
普罗菲登斯菌組 Providence	⊕	-	V	-	-	-	⊕	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
克氏杆菌属 Klebsiella	⊕	⊕	⊕	⊕	V	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+

注: ⊕ 产酸产气; + 产酸或阳性; - 阴性; +/- 大多数为产酸,少数阴性; -/+ 大多数为阴性,少数为产气; V 不定。

本科各菌类都是革兰氏阴性杆菌(图 1-1 ~ 3), 除痢疾杆菌及其他少数細菌外, 大多数有周围鞭毛。

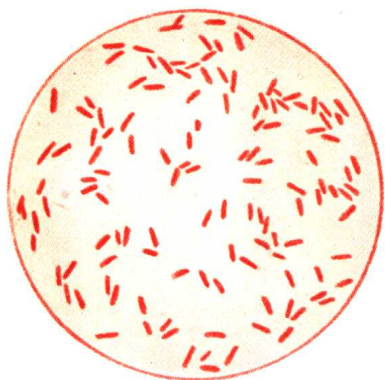


图 1-1 大肠杆菌

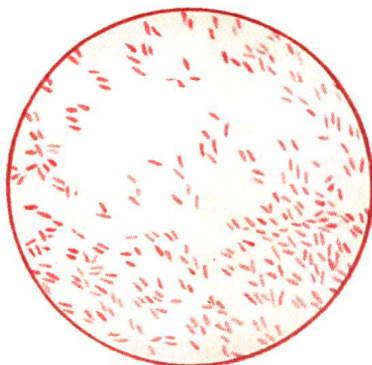


图 1-2 痢疾杆菌



图 1-3 伤寒杆菌

三、菌种保存法

为了鉴定細菌的种类或型別, 必須备有各种标准診斷菌液和診斷血清, 要制备这些菌液和血清, 就必须先有各种有关的标准菌种或菌株。一般較大的实验室都应經常保存一些必要的菌种。

保存菌种的方法很多, 依各种方法或菌种的不同, 可能保存的时间也有长短。现在常用的有以下几种方法:

普通培养基內保存法 即将細菌的普通培养基生长物保存在普通冰箱內或冷暗处室温內。用这种方法保存, 时间不长, 容易发生变化, 一般只作暂时性保存用。

半固体培养基穿刺保存法 即将細菌在半固体培养基(如煮熟血半固体琼脂)中穿刺, 放置 37°C 中培养 18 小时后, 加一层灭菌的流动石蜡至 $0.5\sim 1\text{cm}$ 的厚度, 放置室温中保存。此法可以保存时间較长, 約 2~3 个月須轉种一次。

冷冻干燥保存法 此法保存時間最久,一般可达1~3年以上。

【材料准备】

(1) 脱脂奶: 用新鮮牛奶制成。先将鮮奶放在阿諾(Arnold)氏灭菌器內加热30分钟,取出放置冰箱內1星期左右,以便油脂浮起,然后取出用虹吸法将牛奶吸出(弃去脂肪),分装試管,用10磅高压灭菌15分钟,此时脱脂奶应呈白色。

(2) 干燥菌种管: 此管必須是中性硬质玻璃制成。用清洁液和清水将管洗淨后烘干,管口装上小棉塞,放置灭菌器中15磅20分钟灭菌,取出后放置烘箱內烘干备用。

【方法】 操作步骤如下:

(1) 制备菌液: 选择需要作为保存的菌种的单个光滑菌落,接种斜面放置37°C培养箱中16~18小时,用接种环刮取一环菌苔,放入脱脂奶1 ml內,充分混匀后,加1~2滴在各干燥菌种管內。

(2) 冷冻: 将盛有酒精的广口保温瓶放入低温(-25°C以下)冰箱內,使酒精冷却。将干燥菌种管浸入酒精中,再在低温冰箱內繼續冷冻約1~2小时。

(3) 真空抽气: 等管內菌液完全冻结后,連同广口保温瓶一同取出,将菌种管連接于含有五氧化二磷的干燥器上,干燥器的另一端玻璃管連接于真空抽气机上进行真空抽气,約需6~8小时。抽气过程中应随时注意,如见菌种管內脱脂奶已抽干成干燥块状物,則移去广口保温瓶,再抽气1~2小时,随后一面抽气一面用火焰封口。

(4) 真空测定: 将封口的菌种管尖端接触真空测定器的金属小棒,如真空度足够,則菌种管中有螢光出现。

(5) 保存: 貼上标签,注明菌名和干燥日期,放置普通冰箱內备用。

(6) 启用: 需要开用时,将菌种管距熔封尖端約1½~2cm处,用火焰烧紅,以毛細吸管吸取少量生理盐水,滴一滴在烧紅的管壁上,此处立即发生裂痕,随后用鑷子将此端敲断,再用毛細吸管吸取灭菌生理盐水加入小管內約0.5 ml,吹打数次使菌块完全溶化后,即可供移种用。

四、实驗室一般注意事項

(1) 实驗室应經常保持清洁。

(2) 实驗操作时必须着工作衣,无菌操作要求严格时,应在无菌室(經紫外綫消毒)中进行。

(3) 所有的檢驗标本、培养物以及污染的玻璃器皿等,应放入消毒药水桶內过夜,再用高压蒸汽灭菌消毒,或用水煮沸后,再清洗。如培养标本須暂时保留的,必須罩好。注意严格防止污染下水道。

(4) 接种环或接种絲每次使用前后,必須通过火焰烧紅灭菌,待冷却后,方可接种培养物,以免将待检的細菌杀灭,影响結果。使用后,亦須烧灼灭菌;含菌量多时,須先浸入消毒药水中洗一下,再行烧灼灭菌,以免爆散。

(5) 吸取菌液时,必須用加有橡皮吸头的吸管,切勿直接用口吸取。吸管下端使用前亦須通过火焰灭菌,这样较为可靠。

(6) 如有传染性細菌撒布在桌上或地上,应立即用5%石炭酸或来沙儿,倒在被污染处至少10分钟以上,方可用布或棉花拭淨。

(7) 工作完毕,两手应用肥皂和水洗淨,必要时先用来沙儿(浓度不低于3%)消毒,然后用水冲洗。

(8) 在进行霍乱、鼠疫、布魯氏杆菌、炭疽等細菌檢驗时,工作人員应严格注意避免自身感染和传播与他人的危险。凡标本、容器、培养物及其他有可疑污染的器械物品都要尽可能用高压蒸汽灭菌或焚化。关于鼠疫杆菌檢驗应注意的条件要求更高,将在鼠疫杆菌章內詳述。

五、采送标本一般注意事項

(1) 采样人应着隔离衣,戴口罩,并注意手的消毒,以防自身传染或传播于他人。

(2) 在采取血液或穿刺液时,应严格注意无菌操作,避免杂菌污染。

(3) 采取粪便、肛拭和鼻咽拭等,虽无须严格无菌手續,但也要尽可能避免不必要的杂菌混入。

(4) 盛标本容器应注意安全,避免傾倒或敲碎,以免有传播的危险。必要时容器外应加一层妥善的包装。

(5) 标本容器标签上,必須填明采样日期及病人或带菌者姓名及號碼。

(6) 送驗单上应注明受驗人姓名、年龄、性别、采样日期、标本来源及檢驗目的,必要时还須注明主要临床症状或重要病史以及送驗人姓名、单位等。

(7) 标本应及早送达實驗室,因擱置時間过长,常易影响檢驗結果。某些标本(如流行性脑脊髓膜炎)送驗途中須保存在37°C中。

第二章 大肠杆菌及副大肠杆菌

第一节 大肠杆菌

此属細菌主要寄居于人及动物的肠道內,随粪便排出而分布于自然界中。在一般情况下,本菌对人无害,但如窜入人体本无此菌寄居的部位,就可能引起感染,如胆囊胆管炎、膀胱炎、肾盂炎、盲肠炎、腹膜炎等。因此,它也属于条件致病菌。近年来,由于有关大肠杆菌的研究資料日益丰富,明确了某些血清型的大肠杆菌有引起食物中毒的可能性,和某些血清型的大肠杆菌是两岁內婴儿中毒性消化不良症的重要病原菌,故在习惯称呼上,又将大肠杆菌分为普通大肠杆菌和致病性大肠杆

菌。致病性大肠杆菌除其中 O_{111} 型当在平皿上有大量菌落出现时可有精液的特殊气味外,其他各型的菌落很难与普通大肠杆菌区别。在生化反应方面,根据国外及国内上海地区的调查,致病性大肠杆菌有 90% 以上能发酵薔薇醇,此外也有些菌株发酵乳糖比较缓慢。血清凝集试验是判断普通大肠杆菌和致病性大肠杆菌最重要的依据。

致病性大肠杆菌能引起食物中毒和婴儿腹泻,从病人粪便、饮水、各种食品(包括蔬菜、未消毒牛奶、酸奶、肉类等)、病牛、羊脏器、鸡类都有人分离出本菌。由于本菌所引起的婴儿腹泻传染性很大,病死率也高,尤其在新生儿中可能高达 50%。所以如何早期发现本菌,以确定诊断,及时采取消毒和隔离治疗等措施,是非常重要的。

根据现今国内外资料,与婴儿腹泻及食物中毒有关的致病性大肠杆菌,大都包括在以下 16 个组中,即 O_{11} 、 O_{25} 、 O_{26} 、 O_{44} 、 O_{55} 、 O_{75} 、 O_{86} 、 O_{102} 、 O_{111} 、 O_{114} 、 O_{119} 、 O_{124} 、 O_{125} 、 O_{126} 、 O_{127} 、 O_{128} 等,其中又以 O_{26} 、 O_{55} 、 O_{86} 、 O_{111} 四组最常见。例如上海和北京两地,在婴儿腹泻流行季节中,检出的致病性大肠杆菌即以 O_{111} : B_4 为主。上海现用的诊断血清有以下 12 种,即 $O_{13a\ 13c}$: B_{21} , O_{28} : L_{11} , O_{28} : B_6 , O_{44} : L_{74} , O_{55} : B_5 , O_{86} : B_7 , O_{111} : B_4 , O_{119} : B_{14} , O_{125} : B_{15} , O_{126} : B_{16} , O_{127} : B_8 , O_{128} : B_{12} 。

由于各种大肠杆菌对人体的致病性有所不同,有些学者如小酒井望氏(1955),曾根据大肠杆菌的致病性、固着性及传播性,将其分成以下四类:

- 第一类: 不仅能在肠内固着和传播,并具有高度的致病性。
- 第二类: 能在肠内固着和传播,但不能引起疾病。
- 第三类: 只能在肠内固着,不能引起发病和传播。
- 第四类: 既无传播和发病能力,也不能在肠道内固着。

根据上述分类来看,第一类属于致病性大肠杆菌,第四类属于非致病性大肠杆菌,而第二、三类则介于这两者之间。关于大肠杆菌的上述性能,并非固定不变,当机体条件改变时,此菌的性能也可改变。如 1955 年小张-峰氏曾指出,当口服非致病性大肠杆菌 O_{32} 后,若过度饮酒,就可使该菌固着于肠道内。又如已被确认为是致病性大肠杆菌的 O_{111} 、 O_{55} 也偶然可从健康人体内分离出来,而未引起发病。又如同为第一类大肠杆菌造成感染时,但患者表现的征候也可有不同。所以有时在普通大肠杆菌与致病性大肠杆菌之间,就很难严格划分。因此,对这个问题应当结合具体情况,如机体状态,菌株型别,毒力有无和感染菌量等来加以考虑。

除上述某些血清型的致病性大肠杆菌,因可引起食物中毒及婴儿腹泻,所以在病原学上,有其一定的地位外,由于普通大肠杆菌是肠道内的常居菌,并随粪便不断排出体外,故体外出现的大肠杆菌(包括在饮水、环境和食品中所出现的等)均可认为是来源于粪便。因此,对水质卫生状况的判断标准,常以水中所含的大肠杆菌指数为依据,即水中所含的大肠菌数愈多,表明该水受粪便沾污的情况愈严重,也就是该水中有肠道病原菌随粪便侵入的可能性较多,危害性也较大,所以大肠菌

类也常利用作为卫生细菌学检验的指标。关于这方面将在卫生细菌学检验篇内详述,以下主要只就致病性大肠杆菌的检验加以叙述,检验程序见表1-2。

表1-2 致病性大肠杆菌检验程序

