

高等医学院校教材
(供基础、预防、临床、口腔及药学专业用)

医学微生物学 实习指导

(第一版)

主 编 关显智 王惠艳 孟繁平
副主编 李 凡 邵世和 姚淑娟

吉林科学技术出版社

高等医学院校教材
(供基础、预防、临床、口腔及药学专业用)

医学微生物学 实习指导

(第一版)

主 编 关显智 王惠艳 孟繁平

副主编 李 凡 邵世和 姚淑娟

吉林科学技术出版社

【吉】新登字 03 号

医学微生物学实习指导(第一版)

关显智 王惠艳 孟繁平 主编

责任编辑:赵玉秋

封面设计:关显智

出版
发行

吉林科学技术出版社

787 × 1092 毫米 16 开本

8.75 印张

170,000 字

1999 年 4 月第 1 版

1999 年 4 月第 1 次印刷

定价:13.90 元

印刷 长春市华林印刷厂

ISBN 7-5384-1814-8/R·361

地址:长春市人民大街 124 号 邮编:130021 电话:5635177 传真:5635185

电子信箱:JLKJCBS @ public.cc.jl.cn

主 编:关显智(白求恩医科大学)

王惠艳(齐齐哈尔医学院)

孟繁平(延边大学医学院)

副主编:李 凡(白求恩医科大学)

邵世和(吉林医学院)

姚淑娟(齐齐哈尔医学院)

编者(按姓氏笔划排列)

于 军 王 云 王 放 王惠艳 马 琳 白淑晶

关显智 李 凡 孙延波 李菁华 李依娜 邵世和

肖 洋 周 宏 林昌岫 张庆镐 杨国天 侯芳玉

姚淑娟 郭 焱 盛学成 常 江 黄红兰

前 言

由白求恩医科大学、齐齐哈尔医学院、延边大学医学院和吉林医学院四所院校微生物学教研室联合编写、经吉林科学技术出版社出版发行的《医学微生物学实习指导》(第一版)一书在各位编者的通力合作下终于在本世纪最后一年与广大师生见面了。作为《医学微生物学》(第四版)的配套教材,在编写时我们力求使这本实验教材体现出基础理论与基本技术相结合、内容更新与简明实用相结合,使其既适合本科生的实验课教学要求,又为研究生和青年教师的科研工作提供一些常用实验方法的宗旨,因而具有内容丰富和适用面广的特点。

在篇章结构上,为了与理论课教材保持一致,本书亦分为细菌学总论、细菌学各论、真菌学、病毒学总论和病毒学各论等共5篇。其中细菌学试验占了主要篇幅,同时增加了一些必要的真菌和病毒的试验内容。为了使每次实验课内容便于组合,书中将每个试验内容都小型化、单一化,使每个试验题目都紧紧的限定了所含内容。因而,简明、灵活是本书的另一特点。

编写这部与理论课教材配套的实验课教材是我们的多年愿望和尝试。但由于时间仓促和编者能力有限,书中难免有不妥与疏漏之处,恳请同行指正。

编 者

1999年1月

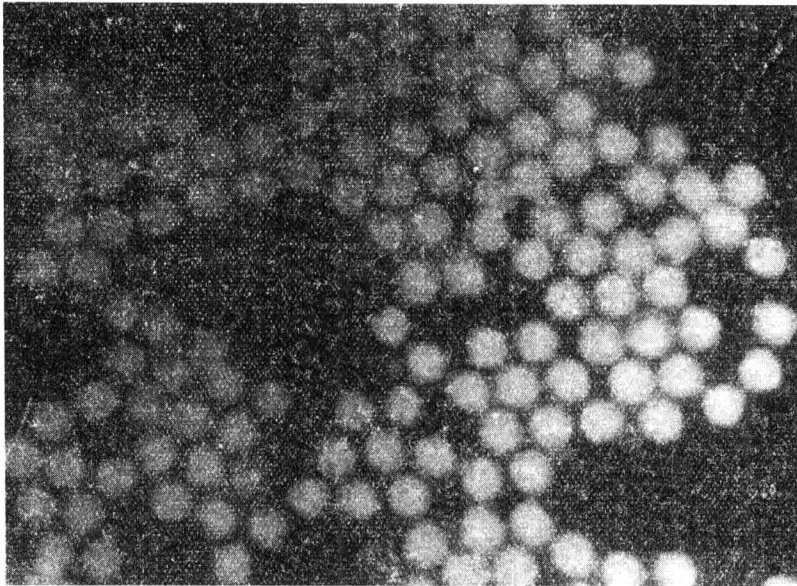


图1 肠道病毒电镜照片

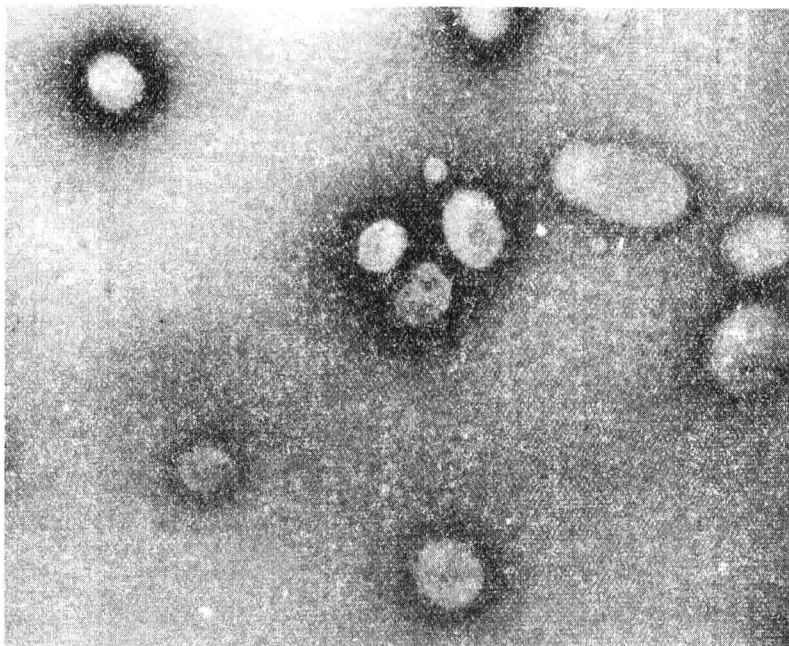


图2 甲型流感病毒电镜照片

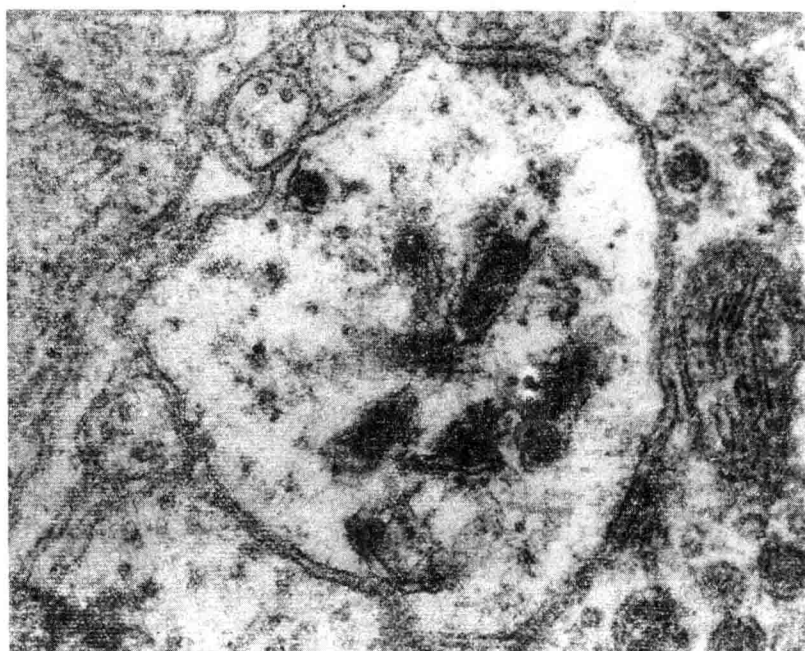


图3 狂犬病毒电镜照片

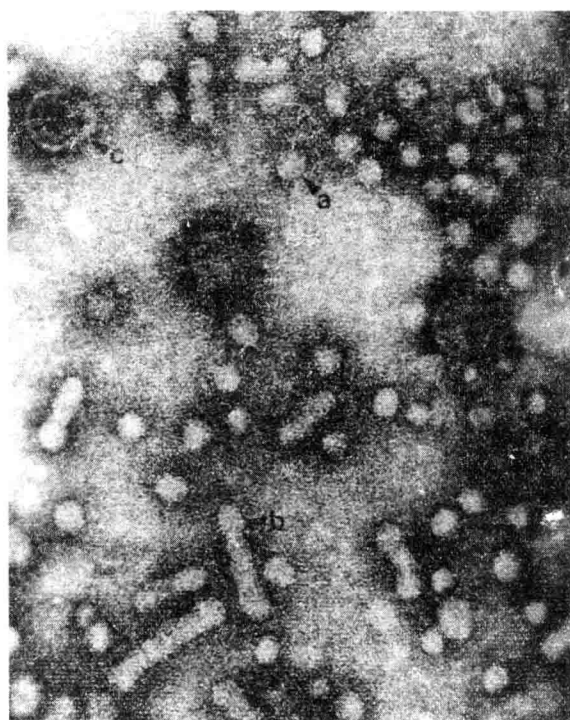


图4 乙型肝炎病毒电镜照片

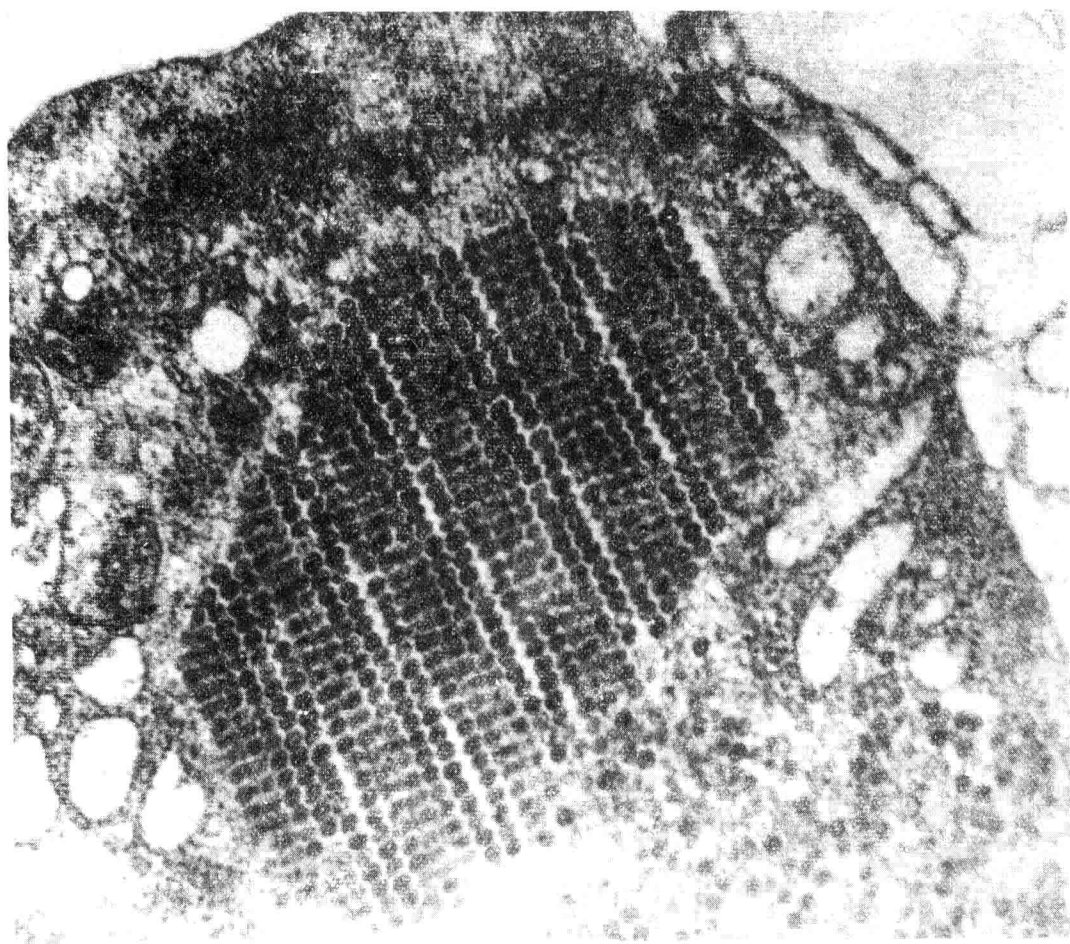


图 5 腺病毒电镜照片

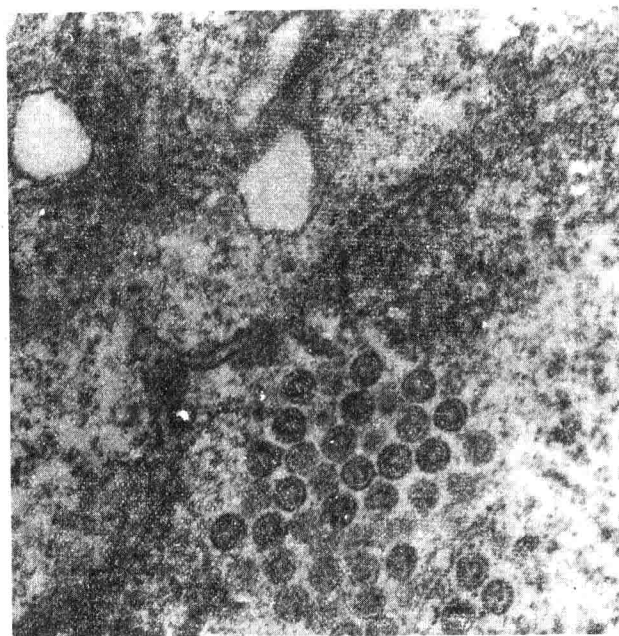


图 6 疱疹病毒电镜照片

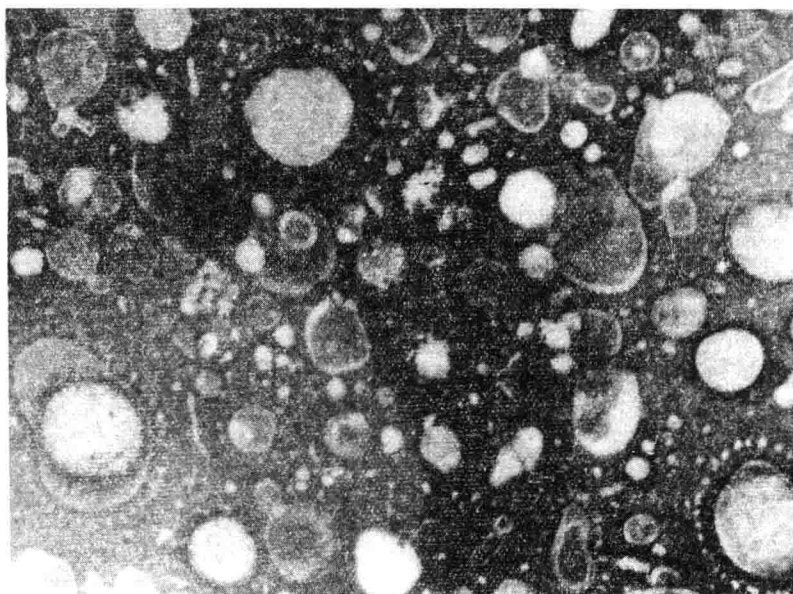


图7 冠状病毒电镜照片

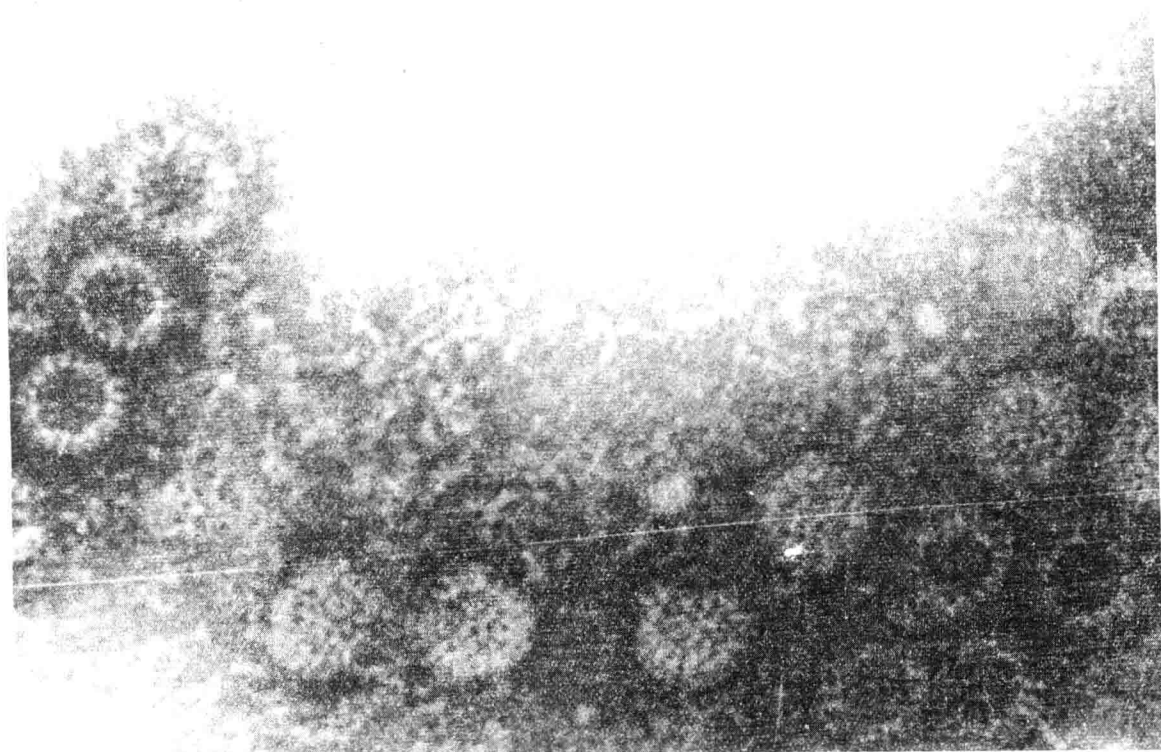
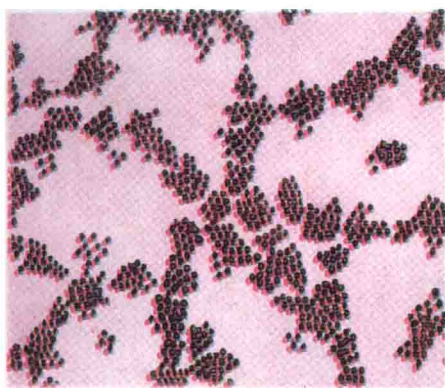
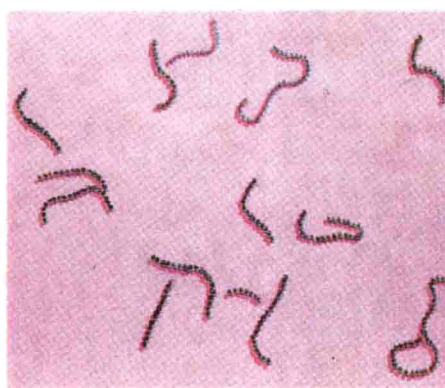


图8 人类轮状病毒电镜照片



彩图1 葡萄球菌（革兰染色）



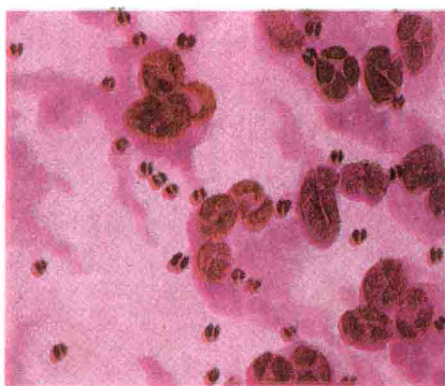
彩图2 链球菌（革兰染色）



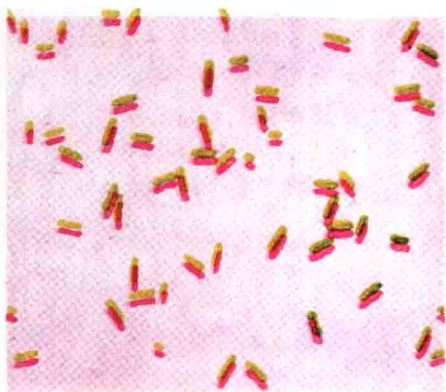
彩图3 肺炎链球菌（革兰染色）



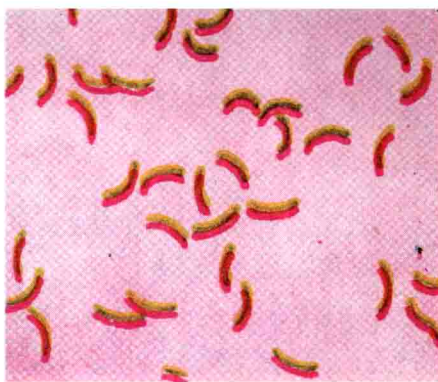
彩图4 肺炎链球菌（荚膜染色）
（小鼠腹腔液涂片）



彩图5 脑膜炎奈瑟菌（革兰染色）



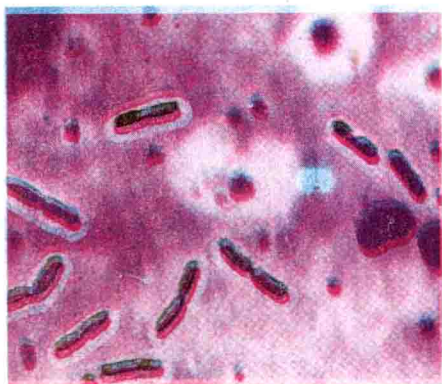
彩图6 痢疾志贺菌（革兰染色）



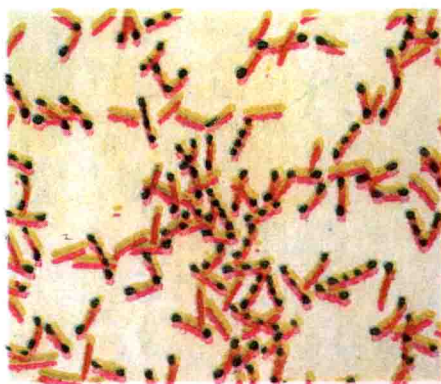
彩图7 霍乱弧菌（革兰染色）



彩图8 破伤风梭菌（革兰染色）



彩图9 产气荚膜梭菌（荚膜染色）
(小鼠肝涂片)



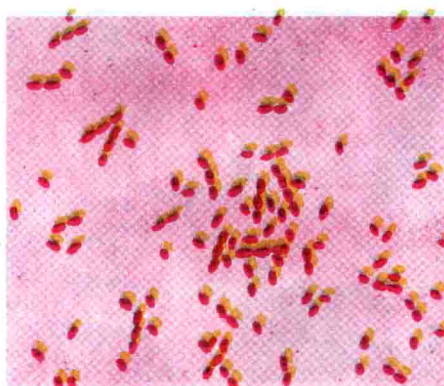
彩图10 白喉棒状杆菌（奈瑟染色）



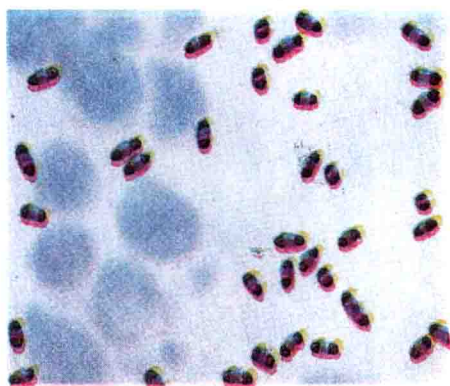
彩图 11 结核分枝杆菌 (抗酸染色)
(痰涂片)



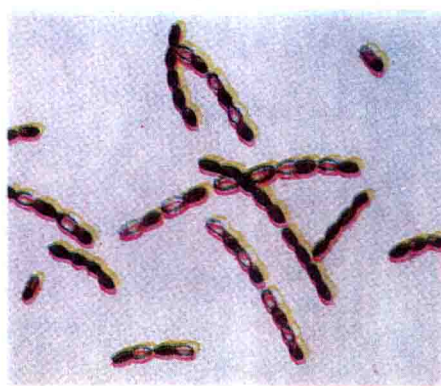
彩图 12 麻风分枝杆菌 (抗酸染色)
(皮肤病灶涂片)



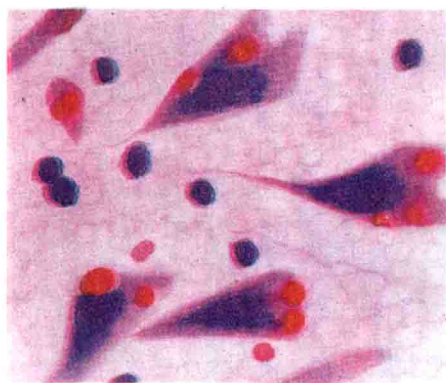
彩图 13 羊布鲁斯菌 (革兰染色)



彩图 14 鼠疫耶尔森菌 (美蓝染色)



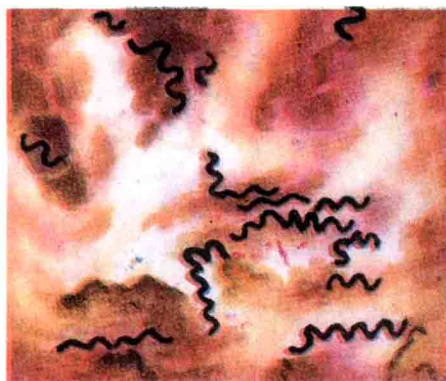
彩图 15 炭疽芽胞杆菌 (革兰染色)



彩图 16 狂犬病毒包涵体 (HE 染色)
(脑印片)



彩图 17 钩端螺旋体 (镀银染色)



彩图 18 梅毒螺旋体 (镀银染色)



彩图 19 白色念珠菌 (革兰染色)
(鹅口疮假膜涂片)



彩图 20 曲霉菌 (棉兰染色)

目 录

前言

第一篇 细菌学总论	(1)
实验 1 油浸显微镜的使用	(1)
实验 2 细菌的基本形态和特殊结构示教	(2)
实验 3 细菌的革兰染色法	(3)
实验 4 细菌荚膜染色法 (Hiss 法)	(5)
实验 5 细菌鞭毛染色法 (魏曦 - 张颖梧改良法)	(5)
实验 6 细菌芽胞染色法	(6)
实验 7 细菌运动的观察	(7)
实验 8 常用培养基制备	(8)
实验 9 细菌培养技术和生长现象示教	(11)
实验 10 细菌的生化反应检查法	(17)
实验 11 噬菌体的分离及其对细菌的裂解试验	(22)
实验 12 细菌的变异现象示教	(24)
实验 13 质粒的提取、纯化与鉴定技术	(27)
实验 14 接合试验	(31)
实验 15 转化试验	(32)
实验 16 鼠伤寒沙门菌营养缺陷型回复突变 (Ame's) 试验	(33)
实验 17 干热(干烤箱)灭菌试验	(34)
实验 18 高压蒸汽灭菌试验	(35)
实验 19 紫外线(UV)杀菌试验	(36)
实验 20 滤过除菌试验	(36)
实验 21 化学消毒灭菌试验	(38)
实验 22 抗生素体外抑菌试验(MIC 及 MBC 测定)	(41)
实验 23 抗生素体内抑菌试验(ED ₅₀ 测定)	(42)
实验 24 人体正常菌群的检测	(43)
实验 25 细菌或细菌毒素半数致死量(LD ₅₀)的测定	(44)
实验 26 鲎试验	(45)
第二篇 细菌学各论	(46)
实验 27 葡萄球菌形态和培养物示教	(46)
实验 28 血浆凝固酶试验	(46)
实验 29 链球菌形态和培养物示教	(47)
实验 30 抗链球菌溶血毒素“O”(ASO)试验	(48)
实验 31 肺炎链球菌形态及培养物示教	(49)

实验 32	肺炎链球菌的分离与鉴定	(49)
实验 33	奈瑟菌形态及培养物示教	(51)
实验 34	奈瑟菌氧化酶试验	(52)
实验 35	奈瑟菌 SPA 协同凝集试验	(52)
实验 36	脓汁中病原菌的分离与鉴定	(53)
实验 37	肠道杆菌形态及培养物示教	(54)
实验 38	粪便中肠道病原菌的分离与鉴定	(56)
实验 39	肥达反应 (Widal reaction)	(60)
实验 40	霍乱弧菌的形态及培养物示教	(62)
实验 41	霍乱弧菌的分离与鉴定	(63)
实验 42	梭菌及拟杆菌形态及培养物示教	(66)
实验 43	小白鼠破伤风痉挛毒素作用及抗毒素的中和试验	(66)
实验 44	卵磷脂酶试验	(67)
✓实验 45	汹涌发酵试验	(67)
实验 46	厌氧菌的分离鉴定	(68)
实验 47	气相色谱分析在厌氧菌鉴定中的应用	(69)
实验 48	棒状杆菌的形态及培养物示教	(70)
实验 49	奈瑟染色法	(71)
实验 50	白喉棒状杆菌产毒性鉴定 (Elek 平板毒力试验)	(71)
实验 51	白喉棒状杆菌的分离与鉴定	(73)
实验 52	分枝杆菌形态及培养物示教	(73)
✓实验 53	抗酸染色法	(74)
实验 54	结核分枝杆菌的分离与鉴定	(75)
实验 55	结核菌素试验	(77)
实验 56	布氏菌形态及培养物示教	(78)
实验 57	芽胞杆菌形态及培养物示教	(79)
实验 58	鼠疫耶尔森菌形态及培养物示教	(79)
实验 59	铜绿假单胞菌形态及培养物示教	(80)
实验 60	流感嗜血杆菌的形态示教	(80)
实验 61	卫星现象示教	(80)
实验 62	军团菌形态及培养物示教	(81)
实验 63	幽门螺杆菌形态及培养物示教	(81)
实验 64	百日咳鲍特菌的形态及培养物示教	(82)
实验 65	肺炎支原体“油煎蛋”样菌落示教	(82)
实验 66	肺炎支原体冷凝集试验	(83)
实验 67	沙眼 - 包涵体结膜炎包涵体的检查	(84)
实验 68	沙眼衣原体的分离培养	(85)
实验 69	立克次体形态及染色性示教	(86)
实验 70	钩端螺旋体形态及染色性示教	(86)

实验 71	钩端螺旋体暗视野显微镜检查法	(87)
实验 72	钩端螺旋体的分离与鉴定	(88)
实验 73	钩端螺旋体凝集溶解试验	(89)
实验 74	梅毒螺旋体形态学检查	(90)
实验 75	梅毒螺旋体动物接种试验	(91)
实验 76	诊断梅毒的血清学试验	(92)
实验 77	回归热螺旋体形态示教	(94)
实验 78	放线菌“硫磺颗粒”示教	(94)
第三篇 真菌学		(96)
实验 79	真菌的形态结构示教	(96)
实验 80	真菌的培养物示教	(98)
实验 81	真菌的分离培养	(99)
实验 82	皮肤癣菌的临床标本检查	(100)
实验 83	白色念珠菌的形态及培养物示教	(101)
实验 84	白色念珠菌的分离与鉴定	(101)
实验 85	新形隐球菌的形态及染色性示教	(102)
实验 86	新形隐球菌的分离与鉴定	(103)
第四篇 病毒学总论		(104)
实验 87	病毒形态电镜照片及包涵体示教	(104)
实验 88	病毒的动物体内分离培养	(104)
实验 89	病毒的鸡胚分离与鉴定	(106)
实验 90	病毒的组织细胞培养法	(109)
实验 91	50%组织细胞感染量(TCID ₅₀)试验	(115)
实验 92	空(蚀)斑形成试验	(117)
实验 93	中和试验	(118)
第五篇 病毒学各论		(120)
实验 94	肠道病毒的分离与鉴定	(120)
实验 95	流感病毒的血凝及血凝抑制试验	(123)
实验 96	呼吸道合胞病毒(RSV)抗原的检测	(126)
实验 97	HIV 的分离与鉴定	(127)
实验 98	HIV 抗体的检测试验	(128)
实验 99	HBsAg 的检测试验	(130)
实验 100	HBV 的核酸检测试验	(133)
实验 101	HCV 抗体的检测试验	(134)
实验 102	HPV 基因克隆及鉴定	(135)
主要参考书		(138)

第一篇 细菌学总论

实验 1 油浸显微镜的使用

一、原理与应用

细菌是无色半透明的微小生物,肉眼看不见,必须借助于显微镜进行观察。检查细菌可用不染色或染色标本。不染色标本适用于观察细菌的动力或其他生活状态。染色标本适用于观察细菌的形态、大小、排列、结构和染色性。

当光线从标本玻片经空气进入镜头时,由于玻璃和空气二者介质密度不同而发生折射现象。故进入物镜中的光线很少,视野很暗,物象不清晰。若在玻片上加上折光率和玻璃($n = 1.52$)相近的香柏油($n = 1.515$),则可避免光线的折射,加强视野的亮度,获得清晰的物像。

临床标本经涂片、染色镜检后对某些细菌具有重要的诊断价值;如从痰或脓汁中检出抗酸的分枝杆菌,可怀疑为结核分枝杆菌;从脑脊液(CSF)中检出典型 G^- 双球菌可疑为脑膜炎奈瑟菌;如从男性病人泌尿生殖道脓性分泌物中,尤其在中性粒细胞内检出典型成双排列的 G^- 球菌可怀疑为淋病奈瑟菌。另外一些细菌经标本涂片、染色后镜检亦具有一定诊断意义,这些细菌包括:葡萄球菌、链球菌、白喉棒状杆菌等。

二、材料

显微镜、镜油、二甲苯、擦镜纸、细菌染色标本片。

三、方法

显微镜的使用方法与保养法同以前学习的规则要求。用显微镜观察细菌和以前看组织标本的不同点,在于前者需使用油镜头进行观察,使放大倍数达到一千倍左右。因为油镜头的透镜最小,因而就要设法使尽可能多的光线进入透镜,才能看清物像。为此,须在镜头和载玻片之间滴加镜油(香柏油),以满足观察物像的需要(见图 1)。

- 1、使用显微镜油镜时,必须端坐。镜体取垂直位置,不要使载物台倾斜,以免镜油流掉影响观察。
- 2、认清油镜头:一般油镜头上多刻有一道黑圈,或刻有 90X、100X 及 Oel 或 Oil 等字样。认清后把它转到正中。

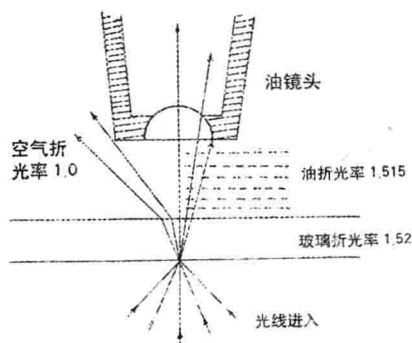


图 1 油浸镜的使用原理