

實用實驗診斷

黃登弼編譯

文通書局發行

實用實驗診斷

編譯者 黃登弼

文通書局發行

序

考實驗診斷學一科，係對於病症之判別及病原之探索以爲治療或預防之根據，實爲公共衛生及臨床醫學所不可缺少之技術。抗戰以還，我國醫學界，此項人才甚感缺乏，自應提倡訓練大量人材，儲備待用，惟是訓練是項人材，除有設備完全之試驗室充分予以實地試驗外，尚須備有圖書之參考，目下各地圖書，因交通梗阻，來源不易，教者學者均以爲苦，本所同仁黃君登瀛近參加訓練衛生檢驗人員，深感教材缺乏而學習者苦無參考之書籍，結業後，散居各處更難有專門書籍可以借鏡。爰於公餘之暇，參閱斯氏及道氏臨床實驗診斷學及秦氏細菌學各書，搜集其有關於檢驗實用各項方法，編譯成本，以爲檢驗人員之助，書既成出以見示，余忝主持衛生試驗所工作并參加指導訓練事宜，與黃君共感此苦；夙具此志，祇以公務綦繁，未克從事，茲幸校成帙，亟爲付梓，以遂黃君及余之初衷，俾學者畢業後有所遵循，其效用豈淺鮮哉，是爲序。

民國三十一年六月貴州省衛生試驗所長

任宗裕謹序

編者引言

近來作者參與貴州省醫事職業學校及中央衛生實驗院貴陽衛生幹部人員訓練所護產及衛生檢驗人員之訓練，關於實驗診斷一科，教學深感缺乏專書，而學者於卒業後實地執行工作之時，更少參考書籍。爰於公餘在同仁督促之下，搜集有關書籍，編譯成帙，今承文通書局厚意，索以付梓，學者手此一編，或能於實際工作中獲得他山之助，是則作者之初衷也。唯是作者公務忙碌，學識淺陋，匆遽成編，挂漏之處，在所不免，尙望先達不吝指正爲幸。

第一編 臨床檢驗法

血液檢查法

- (A) 取血法
- (B) 沙利氏血色素測定法
- (C) 血小板計算法
- (D) 赤血細胞計算法
- (E) 色度
- (F) 白血球計算法
- (G) 白血球分類計算法
- (H) 出血時間計算法
- (I) 血凝固時間試驗法
- (J) 鈣時間試驗法
- (K) 血蛋白沉澱試驗法
- (L) 血液沉澱試驗法
- (M) 血黃疸指數試驗法
- (N) 血之比重測定法
- (O) 同種凝集反應
- (P) 血原虫檢查法

138031

小便檢查法

- (I) 肉眼檢查法
- (II) 尿之化學檢驗法
- (III) 尿之顯微鏡檢查
- (IV) 腎泌尿能測驗
- (V) 早期妊娠診斷法

糞便普通檢查法

- (I) 肉眼檢查法
- (II) 化學檢查法
- (III) 顯微鏡檢查
- (IV) 附溶液之稀釋法

胃液檢查法

- (I) 肉眼檢查法
- (II) 化學檢查法
- (III) 顯微鏡檢查法

痰液檢查法

- (I) 肉眼檢查法
- (II) 顯微鏡檢查法

第二編 細菌及血清學檢查法

病原菌之分佈部位

檢查法

- (一) 血之檢查
- (二) 膿之檢查
- (三) 腹腔液胸腔液關節液及水囊液之檢查
- (四) 腦脊髓液之檢查
- (五) 痰液之檢查
- (六) 咽液之檢查
- (七) 外生殖器患處檢查
- (八) 尿道分泌液之淋病球菌檢查
- (九) 前列腺分泌物之檢查
- (十) 糞便及小便之檢查
- (十一) 眼之細菌檢查
- (十二) 比克雷氏下疳桿菌之檢查
- (十三) 鼠疫桿菌之檢查
- (十四) 馬鼻疽桿菌之檢查
- (十五) 回歸熱疏螺旋體檢查

(十六) 齒螺旋體及森氏螺旋體之檢查

(十七) 黃疸出血症勾端螺旋體之檢查

(十八) 厭氣菌培養法

(十九) 冰之檢查

(二十) 乳之檢查

(二一) 凝集試驗

(二二) 自家菌毒之製備

(二三) 乏色曼氏反應試驗

(二四) 康氏梅毒反應試驗

(二五) 腦脊髓液之康氏反應試驗

(二六) 細菌之發酵反應及鑑別表

(二七) 附報告表格

第三編 顯微鏡下之細菌研究

(A) 生活狀態下之細菌研究

(B) 經固定細菌染色標本之製備

(C) 染色法

1. 單純染色法

(一) 呂氏蘇性美藍

- (二)石炭酸複紅
- (三)甲苯靛藍溶液
- (四)堝綠派倫定
- (五)石炭酸硫堝
- (六)石炭酸龍胆紫
- (七)沙紅
- (八)奈格羅辛溶液

2. 革蘭氏染色法

- (一)胡氏改良法
- (二)Kopeloff-Beerman 兩氏改良法

3. 抗酸性菌染色法

- (一)斐尼氏法
- (二)加氏法
- (三)巴氏法

4. 極小體染色法

- (一)奈氏法
- (二)Ljubinsky 氏法
- (三)廟氏法

5. 荚膜染色法

-
- (一)Welck 氏法
 - (二)Hiss 氏法
 - (三)Huntoon 氏法
 - (四)Buerger 氏法
 - (五)Wadsworth 氏法
6. 鞭毛染色法
- (一)Casares-Gil 氏法
 - (二)Shunk 氏法
 - (三) Löffler 氏法
 - (四)Vanmengen B 法
7. 芽胞染色法
- (一)唐納氏法
 - (二)慕納氏法
8. 多色染色法
- (一)魏氏法
 - (二)姬氏法
9. 亞色素染色法
10. 螺旋體染色法
- (一)方忒氏法

(二) 土氏法

(三) 野口氏法

11. 百日咳桿菌染色法

12. 鼠疫桿菌染色法

13. 巴沙氏淋病球菌染色法

14. 內基氏小體染色法

15. 切片中內基氏小體之迅顯法

16. 組織中之細菌染色法

(一) 革長氏法 (用於火棉液之切片)

(二) 革長氏法 (用於石碯之切片)

(三) 巴氏法

(四) 革蘭氏陰陽性菌區別法

(五) 馬氏法

(六) 結核桿菌之染色法

(七) 馬氏放線菌屬染色法

17. 卡氏立克次氏小體染色法

第四編 培養基之製備

A. 普通技術

- (1) 玻璃器之預備
- (2) 培養基之成分
- (3) 培養基之測定
 - a. 菌游子濃度之測定
 - b. 緩衝標準液之預備
 - c. PH 之意義
 - d. 試驗法
 - e. 用非惹他夫林測定培養基法
 - 一、反應之滴定法
 - 二、反應之矯正
- (4) 培養基中常用之表示劑
 - (1) 奈氏表示劑
 - (2) 鹽基性複紅
 - (3) 紫色克瑞爾溴
 - (4) 烷紅
- (5) 培養基之清淨法
 - (1) 鷄蛋清淨法
 - (2) 濾紙過濾法
 - (3) 棉花過濾法

(4) 細菌過濾法

(6) 培養基之裝管法

(7) 培養基之消毒法

(B) 培養基之製備法

(一) 基礎培養基

甲、液體培養基

- (1) 肉浸液基
- (2) 激索基
- (3) 百布吞水基
- (4) 無糖肉湯基
- (5) 血凝塊胃素消化基
- (6) 肝湯基

乙、固體培養基

- (1) 瓊脂肉膏基
- (2) 半固體培養基
- (3) 動物膠肉膏基
- (4) 動物膠肉浸液基
- (5) 瓊脂肉浸液基
- (6) 血瓊脂基

(二) 鑑別用培養基

- (1) 馬鈴薯培養基
- (2) 中國藍羧酸基
- (3) 遠藤氏基
- (4) 百布吞丹氏溶液基
- (5) 爲發酵用之血清水基
- (6) 菊糖血清水基
- (7) 糖發酵管培養基
- (8) 含石蕊素或安氏表示劑之乳糖琼脂基
- (9) 試砒化氫反應之醋酸鉛琼脂基
- (10) 盧氏雙糖基
- (11) 含醋酸鉛之盧氏雙糖基
- (12) 培養白喉桿菌用之血鉛基
- (13) 分離傷寒桿菌之煌綠琼脂基
- (14) 伊紅美藍琼脂基
- (15) 乳基

(三) 各菌種專用之培養基

- (1) 馬鈴薯肉湯基
- (2) 煎水琼脂基

- (3) 甘油肉湯基
- (4) 緩衝肉湯基
- (5) 碳酸鈣肉湯基
- (6) 愛氏培養肺炎菌基
- (7) 呂弗硫氏血清基
- (8) 培養白喉桿菌之卵基
- (9) 血液培養
- (10) 培養霍亂弧菌用之鹼性卵基
- (11) 培養霍亂弧菌用之百布吞液
- (12) 由糞便中分離霍亂弧菌用之阿氏培養基
- (13) 由糞便中分離霍亂弧菌用之劉氏基
- (14) 培養腦膜炎球菌用之溶化血葡萄糖琼脂基
- (15) 培養結核桿菌用之魯氏蛋基
- (16) 彼氏結核桿菌培養基
- (17) 盧氏培養結核桿菌之甘油雞蛋基
- (18) 培養淋球菌之白氏基
- (19) 培養杜克雷氏桿菌之兔血基
- (20) 培養流行性感胃桿菌之油酸鈉琼脂基
- (21) 培養流行性感胃桿菌之血胰水基

-
- (22) 培養流行性感冒桿菌之硝酸鹽血胰水基
 - (23) 培養百日咳桿菌之博氏基
 - (24) 培養土拉偏斯桿菌之血葡萄糖膏司廷琼脂基
 - (25) 培養厭氣菌之孢肉培養基
 - (26) 培養螺旋體之培養基
 - (27) 培養螺旋體之野口氏基
 - (28) 培養利什曼原虫之三N基
 - (29) 培養微菌之賽氏基
 - (30) 分離微菌之梅汁基
 - (31) 道氏基
 - (32) 道氏琼脂基
 - (31) 苛安氏胰臟抽出液基

第 壹 編

臨 床 檢 驗 法

血液檢查法

(A) 取血法：

爲一般臨床檢驗用之血液標本，包括血球計算，血色素檢定等，最好由靜脈取得，對於血球分類計算，或細胞原質之計數，血液標本應自耳垂下端邊緣，或指尖取得，若係小兒，則須由足之大指，或足跟採取，臥床之病人，以手指爲宜，然不如耳垂之妙，蓋耳垂之感覺力弱故也，亦腫脹，充血邊，及狀若蠟血之冰冷寒等，切忌取血，取血之部位，應用酒精摩擦，以去皮膚上不潔之物，同時亦可增摩擦部之血液，然後用特製之刺針或普通短而銳之針刺血，刺針未使用以前，應用50%石炭酸溶液，或70%之酒精消毒，皮膚刺破後，將第一滴流出之血液擦去，取其第二滴之血液，以供檢查，刺針處之皮膚表面應乾潔，否則血液流出時必四散分流，終未能得一圓形血滴也，須令其自動流出，或稍施以壓力亦可，但切勿用力擠出之，以免血液之濃度失常也，血標本取得後，



處在針刺處用70%酒精，或消毒之棉花擦淨之。

(B) 沙利氏血色素測定

取 N/10 鹽酸液注入刻度試管至「10」記號處，以吸管吸血液二十立方公厘，注入刻度試管內，與鹽酸混合，靜置數分鐘後，加蒸餾水直至與標準色素相同為止，試管上之度數即百分數。

正常之血色素：

男90%至100%

女80%至90%

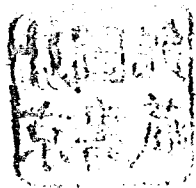
小兒70%至80%

血色素係血液中的一種含鐵之蛋白質。

血色素之增加，普通可於下列各病症發現之：

1. 久居地勢低處忽而遷居高原之人。
2. 心臟衰弱症，
3. 發紺症，
4. 因各種原因而致血液濃度增加者，如霍亂病人，痢疾患者等，
5. 赤血球增多症，

血色素降低如：—



1. 貧血症，
2. 出血過多症
3. 萎黃病(Chlorosis)，
4. 白血病(Leukemia)
5. 被鉤虫或二葉裂頭條虫所侵擾之患者，

(C) 血小板計算法：

用赤血球吸管吸取稀釋液至『1』記號處，然後吸入自針刺處自動流出之血液至『0.5』記號處，再吸稀釋液至『101』記號處，（此時血液之稀釋度為1：200），用力振搖數分鐘，使吸管内之血液與稀釋液十分混合，（即即將此混合液注入計算盤中，十分鐘後令細胞下降），計算之。

用高倍之接物鏡與高倍之接目鏡檢數之，計算法與赤紅球計算法同。

計算血小板時，同時應計算一正常人之血液，作為對照，一切手續均同上述。

茲將常用之稀釋液三種舉之如下：

稀釋液：——

(I) Diluting fluid of Wright and Kinnicutt：

煌焦油藍(Brilliant Cresyl blue)

(1:300) 水溶液.....2份

鉀化鉀 (Potassium Cyanide)

(1:1,400) 水溶液.....3份

此兩種溶液應分裝於玻璃瓶內，用時照上法配合過濾之
 • Cresyl blue溶液可長久保存，但霉類(mold)有生長
 其中之可能，鉀化鉀溶液至多可保存十日之久，血小板
 現圓盤狀(Hiac colored bodies)之染色體，赤血物則
 因被退色而遺留其痕蹟，白血細胞皆着色。

(II) Diluting fluid of Rees and Ecker :

枸橼酸(Sod. citrate)3.8%水溶液——100c.c.

甲醛(Formaldehyde)40%溶液——0.2c.c.

煌焦油藍(Brilliant Cresyl blue)——0.1gm.

此溶液可保留赤血細胞，故若需作赤血細胞計算時
 ，可在同一標本中同時舉行之。

(III) Diluting fluid of Guy and Leake :

蒸餾水(Distilled water).....94c.c.

福爾馬林(Formalin40%).....6c.c.

草酸鈉(Sod. Oxalate).....1.6gms.

結晶紫(Crystal violet).....0.05gm.

將此溶液溫熱，過濾，保存於緊塞之玻璃瓶內，不易變壞，按用此溶液所得之結果特佳，此液亦可不破壞赤血細胞，血小板係由骨髓之巨型細胞所生成者，換言之，骨髓之巨型細胞即血小板之母細胞也。

血小板係無色，或淡藍色之圓，或卵圓形之小體，平常約赤血球直徑之 $\frac{1}{2}$ 至 $\frac{1}{3}$ 大小，有時與赤血球之大小相等，其體積為1—5 μ 。

血小板之功用，現尚未十分明瞭，但一般學者均認為與血之凝固有密切之關係焉。

血小板之數目：——數目不定，每日均有增減之差別，正常人之血小板均於每立方公厘之血液內含250,000至350,000，久居地勢低處忽而遷居高原之人，往往數目增加，冬季亦較夏季為多，因其數目日有增減未有定數，於一次計算時，偶有不正常之數目，不能据此結果而斷定其為病理狀態也，病理狀態下血小板之數目，往往增減極多，骨髓之巨型細胞之活動力增加，可增加血小板之數目，最足引起吾人注意者，即血小板之減少，減少之原因，或由於骨髓巨型細胞之被毀壞，抑血液中

之血小板之直接損壞，血小板之壽命，平均約4—5日。

1. 血小板在急性傳染病時，其數目係正常，或略低。

白喉患者，其數目則降低甚巨，在痊癒之期間，其數目自然漸次增加。

2. 血小板在繼發性貧血症，特別在出血前，其數目增加，雖然，有時或可減少，在惡性貧血症，其數目則大量減少。

3. 慢性淋巴白血病患者(Chronic Lymphatic Leukemia)，數目減少，慢性骨髓白血病(Chronic myelogenous Leukemia)，數目則大為增加，於急性之白血病(Acute Leukemia)，其數目則減低不少。

4. 於肺病者，數目略為增加。

5. 血小板之計算，其最大之價值，即在區別出血性病也，血友病(Hemophilia)之血小板數目正常，然其功用則失常態，因而凝固時間之遲延，出血性紫癍(Purpura hemorrhagica)，血小板功用正常，但數目則大為減低，輕症者，每公撮血液內約含血小板40,000至75,000，重症者，每公撮血液內約含血小板15,000，凝固時間則近正常。

(D) 赤血細胞計算法：**(a) 計算器之保護及其使用法：****1. 保護及清理法：——**

血球計算盤之種類甚多，最新式而常用者為牛鮑耳氏改良血球計算盤 (Improved Neubauer Ruling)，計算盤之清潔，可用擦玻璃紙清理之，切不可用酒精或粗質之紙，或布類擦之，因計算盤中之劃線極為精細，容易被破壞，或完全消滅也，吸血管之管口，須特別小心保護，不得稍為損壞，因稍有破壞，殆無準確結果之可言也。清潔法即先吸蒸餾水三次，繼吸酒精三次，最後吸醚 (Ether) 三次。

2. 用法：——

用赤血球吸管，吸取血液至「0.5」刻度處，然後吸入海敏氏稀釋液 (Hayem's Fluid) 至「101」記號處，(此時血液之稀釋度為1:200)，上下震搖數十次，先將蓋玻片妥蓋於計算盤上，然後由計算盤之測溝吹入此混合液，在顯微鏡下用低倍鏡檢數之。

(b) 計算法：——

計算盤中之大方格劃分為四百小方格，又用雙線將此四百小方格分為二十五組，每組內含十六小方格，計算赤血細胞時，於每角上各數一組，於正中數一組，共數五組，即八十小方格內赤血細胞之總數，簡便算法，即以總數乘以一萬，或於總數後加以四個「0」，即得每立方公厘血內之赤血球細胞總實數。茲將其算式如下：——

1. 一小方格為 $\frac{1}{20}$ 公厘之平方，即 $\left(\frac{1}{20} \times \frac{1}{20}\right)$

2. 計算盤之深度為 $\frac{1}{10}$ 公厘。

3. 血液之稀釋度為 200 倍，因此所查之赤血球，

實為實數之 $\frac{1}{200}$ 。

4. 故每一小方格內之所有數，為一立方公厘內所有數之：——

$$\left(\frac{1}{20} \times \frac{1}{20} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{200}\right) \frac{1}{800,000};$$

5. 今所數者為 80 小方格內之數故須乘以 80：——

$$\frac{1}{800,000} \times 80^{100} = \frac{1}{100,000}$$

又因所乘數為每立方公厘內之實數，故須以10,000乘之。例如：

第一組內之赤血細胞數為98

第二組內之赤血細胞數為100

第三組內之赤血細胞數為99

第四組內之赤血細胞數為101

第五組內之赤血細胞數為 $\frac{102}{500}$

五組內(即八十小方格)之赤血細胞總數有500個，故 $500 \times 10,000 = 5,000,000$ ，即為一立方公厘內赤血細胞之總實數。

每次每組內所數之赤血細胞，不得相差12，如相差12以上，即為混合不勻之現象也。

正常人每立方公厘內之赤血細胞總數：——

男5,000,000 / Cumm.

女4,000,000至4,500,000 / Cumm.

初生小兒7,000,000 / Cumm. 漸長漸少，

直至20歲左右，即臻正常狀態。

體育家5,500,000 / Cu₂mm。

(a) 赤血球增多：——(Polycythemia)：——

1. 久住地勢低處忽而遷居高原之人，因此而增加者，係暫時性而非永久性，數月後即復原。
2. 由血液之濃度增高，因大量之水分由皮膚蒸發所致。
3. 由於血細胞之交互分佈，因存留於內臟血管之血細胞(Reserve Cells in Splanchnic vessels)，放出於於周圍之血循環(Peripheral Circulation)中也。
4. 由於皮膚中毛細管內之血細胞之積聚。
5. 由於新產生新血細胞，或延緩破壞作用所致。
6. 由於血液之濃度增高，係經嚴重性之腹瀉作用。
7. 心臟衰弱症。
8. 先天發紺病 (Congenital Cyanosis)。
9. 由於急性中毒如：——
 - (a) 磷 (Phosphorus)。
 - (b) 斑蝥 (Cantharides)
 - (c) 氧化碳 (Carbon monoxide)等

10. 赤血球增加症 (Erythremia) , 赤血球數目為 7,000,000 至 12,000,000 / Cumm. °

血色素 120% 至 150% °

白血球數目正常。

赤血球增多症患者中，赤血球數目，曾經報告者，其最高之記錄為 15,000,000 / Cumm. °

(b) 赤血球之減少 (Oligocythemia) :

赤血球減少，血色素亦同時減低。

1. 惡性貧血症——1,500,000 / Cumm.

2. 白血症——3,000,000 / Cumm.

2. 萎黃病或綠色貧血——數目減少有限。

海敏氏溶液 (Hayem's Fluid) : —

氯化高汞 (Mercuric chloride) —— 0.5gm

硫酸鈉 (Sodium sulphate) —— 5gms.

氯化鈉 (Sodium chloride) —— gm.

蒸餾水 (Distilled water) —— 20 c.c.

(E) 色度 :

色度者，乃每一赤血球中所含之血色素與正常赤血球內所含之血色素相比較之數也，其計算之方法如下：

$$\text{色度} = \frac{\text{血色素}}{\text{每立方公釐內赤血球總數之首二位} \times 2}$$

例如：某人之檢血結果為：——

血色素100%。

赤血球數5,000,000 / Cu, mm.³

$$\text{依上式：} \frac{100}{50 \times 2} = 10$$

故該人之血度即 = 10

在萎黃症 (Chlorosis) 例中，其血度常係減少。在惡性貧血 (Pernicious anemia) 病例中，其血度減低甚劇。

(F) 白血球計算法：

- (a) 用計算白血球之吸管吸血液至“0.5”刻度處，再吸入溶赤血球液 (百分之一醋酸) 至“11”刻度處 (此時血液即被稀釋二十倍) 搖盪數十次，使吸管内之混合液十分混合，用蓋片將計算盤蓋妥後，即將稀釋之血液由盤之側溝吹入，然後在顯微鏡下用低倍鏡檢數之。

- (b) 計算法：數四平方公厘內白血球之總數 (即四大

方格內之白血球總數) 乘以50, 即每立方公釐內之白血球數。其算式如下:——

1. 大方格爲一平方公釐。
2. 血液之稀釋度爲20倍, 故欲知在每平方公釐中以20乘所得之白血球數。
3. 計算盤之深度爲 $\frac{1}{10}$ 公釐, 故再須以10乘之。
4. 今所數者爲四平方公釐中之白血球數, 故欲知一立方公釐內之數, 應以4除之。簡便算法即用50乘四大方格內之白血球數。

$$(20 \times 10) \div 4 = 50.$$

例如:

第一大方格內有白血球40個

第二大方格內有白血球36個

第三大方格內有白血球44個

第四大方格內有白血球 $\frac{40 \text{ 個}}{160 \text{ 個}}$

共數白血球一百六十個。

按公式: $160 \times 50 = 8000$

每平方公釐內所得之白血球數, 其差不得超過八; 若

超過此數，即為混合不勻，稀釋不準確，手術太慢，血球分佈不勻，及計算盤之深度不準確等現象。

正常人每立方公釐血中所含之白血球數：

成人 7,500—8,000。

小孩 9,000。

初生孩 10,000。

白血球稀釋液：——

冰醋酸 (Gacial acetic acid) —— 1c.c.

1% 龍膽紫水溶液 (1% aqueous sol. of gentian violet) 1c.c.

蒸餾水 (Distilled water) 100c.c.

用時過濾。

病理上白血球數目之變化：

(一) 表示傳染病菌之毒力：

在肺炎球菌或白喉桿菌等入體內而得肺炎或白喉等病時，因原有之白血球數目不足應付，故白血球數目增加，以抵抗侵入之細菌，病菌之毒力愈強，白血球數目之增加亦愈多。

(二) 表示人體之抵抗力：

白血球之數目增加與否所以人體抵抗力之強弱爲斷。如白血球數目逐日增加，一方面表示所侵入之病菌之毒力增加，另一方面則表示人體之抵抗力遂之而增加。人體內之抵抗力不能增加，或者反而減少時，是乃表示抵抗力減少也。據此現象，該患者之豫後即不佳矣。

白血球減少之急性傳染病：

傷寒，副傷寒，流行性感冒，麻疹，流行性腮腺炎，瘧疾，風疹等。

(G) 白血球分類計算。

(a) 血液抹標本製備法應注意之點：

玻璃片宜清潔無塵，用刺針在酒精或5%石炭酸內消毒，不可在火焰上消毒，因火焰能將針尖遲鈍也。針刺時須待消毒處之酒精乾後行之，否則血液必向四周分散，血只可任其自然流出，不可加壓擠迫之。

(b) 血液抹標本製備法

I. 二玻蓋片法：——用潔淨玻蓋片，取血液一滴，置於玻蓋上，用另一玻蓋片覆蓋之，然後將此

兩玻蓋片向左右拖開即成。

2. 二玻片法：——取血液一滴，置玻片之一端，將另一片之邊緣，接觸血液，然後向另一端推去即成，塗片之厚薄，因角度之大小而異。

(c) 染色法：

將已製成之血片標本，用蠟筆在血膜之兩端各劃一線，或一圓，約蓋玻片之大小，注瑞武氏染液 (Wright's stain) 七滴於劃線或圓之範圍內，注滴時勿使染液溢於線圈外，一分鐘後，加十滴之蒸餾水於染液上。經過兩分鐘後，將染液傾去，用蒸餾水慎重洗滌，俟片乾後即可檢查矣。

(d) 血塗片標本染色後之檢查。

(1) 凡檢查赤血球時，應詳察其結構，形狀，顏色，以及細胞之有無黑點，帶核否，有無寄生原蟲之存在，凡病態之赤血球，均須詳為檢查之，茲將病態赤血球舉之如下：血色素缺乏之赤血球，異形赤血球；赤血球大小不均，（血色素之過多，或過少，血球大小），有核赤血球，及彩色伊紅粒胞等。

(2) 凡檢查白血球時，當分類計算之，計算總數以二百個為佳，如有生理上之變化時，當分別其病原，大概凡屬急性病症者，中立性白血球常增加，如屬慢性病候時，則淋巴白血球增多。

正常白血球之百分數如下：——

a. 淋巴球 (Lymphocytes) 20—30%。

b. 單核細胞 mononuclear

leukocytes) 5—10%。

(b) 多形核或中立性細胞 (Polymorphonuclear

leukocytes) 60—75%。

(d) 嗜伊紅性細胞 (Eosinophils) 1—5%。

(e) 嗜藍基性細胞 (Basophils) 0.1%

(H) 出血時間試驗法：

用針刺入耳垂，作一直口小傷，(傷口不宜過小，如傷口過少，血液即不能滴落流出)，血液流出時，即用潔淨之濾紙，或普通之吸水紙拭乾之，其後每隔半分鐘拭血一次，直至血液不再流出為止，數紙上血跡總數之半，即為出血時間之數，(單位為分鐘)，正常人之出血時間為1—3分鐘，雖延遲至八分鐘之久者

，亦非不常見之現象也。

出血時間之延長，可於下列兩情形下發見之：——

1. 由於血小板大量減少者如：

a. 出血性紫癍 (Purpura hemorrhagica)。

b. 急性白血病 (Acute leukemia)。

c. 癩癱性貧血 (Aplastic anemia)。

2. 由於纖維蛋白元 (Fibrinogen content) 之成分極
 量降低者如：

a. 哥羅芳中毒 (Chloroform Poisoning)。

d. 磷中毒 (Phosphorus Poisoning)。

c. 因肝臟之由於某種破壞症而有出血之傾向者。

(I) 血凝固時間試驗法：

血凝固時間者，乃自出血時起，至血凝固時為止，所需之時間也。試驗之方法如下：

取直徑六至八公厘管口，長六至八公分之小玻璃試管三支，排列架上，用五公撮注射器在肘靜脈取血液三公撮，注入小試管內，每小試管內一公撮，自第一滴血液入第一小試管時算起，其後每分鐘將試管輕輕傾斜，視其是否凝固，直至能將小試管顛到而血不

流動爲止，取小試管最後凝固者爲凝固時間，正常人之血凝固時間爲二至六分鐘，平均爲4.6分鐘，血凝固時間可受溫度，血滴之大小，儀器表面之清潔，及光滑度等之影響，飯後取得之血液，其凝固時間較短。

血凝固時間之縮短，對於臨床診斷，除有關於血栓形成可能性之傷寒例外，餘者不甚重視。

血凝固時間之延長，對於臨床方面則頗重要，時間拖延最長者，爲血友病之延長，對於臨床方面則頗重要，時間拖延最長者，爲血友病 (Hemophilia) 是，通常可由一小時至數小時之久，較短而仍顯明者，爲初生兒之黑糞病 (Melena Neonatorum) 梗塞黃疸 (Obstructive jaundice) 等，於臨床上比較次要者，爲數種貧血症，與白血病 (Some anemias and leukemias) 及多數傳染病症如顯明之肺炎症，(Notable pneumonia) 血凝固時間之試驗，於出血性疾病之診斷，頗得有相當的價值，另一方面，則在施行手續由於任何原因而有毛細管滲漏危險之可疑者，如扁桃腺之割除 (Tonsillectomies) 及對於黃疸病患者施行手術 (Operation upon Jaundiced Persons) 等之前，

血凝固時間之試驗，頗關重要，而出血時間之試驗，亦為不容忽畧之手續也。

(J) 鈣時間試驗法：

當患者血凝固時間異常延緩時，尤其對於黃疸病患者為然，欲明其延緩之原因，是否因血中鈣之成分缺乏，內服以鈣製後該患者之血凝固時間是否因之而縮短，茲將其試驗法述之如下：

由患者之靜脈取血，注入兩試管（口徑約八至十公釐）內，每管一公撮，其中一管加入百分之一氯化鈣溶液三滴，（或0.5% calcium Chloride）混合後，視含有氯化鈣之血，其凝固時間是否正常，而不含氯化鈣之血液，其凝固時間是否延緩。

(K) 血蛋白沉澱試驗法：

用潔淨之長七公分，口徑七公釐之小玻璃試管，內置蒸餾水0.6公撮，用沙利氏測血色素用之吸管自病人之耳垂取血二十立方公釐注入小試管內，再吸入試管內之蒸餾水與血液勻和，直立架上，勿使動搖，五分鐘後視其是否有沉

結果之紀錄：——

- a. 若五分鐘後有沉澱者為強陽性(++++)。
- b. 若十五分鐘後有沉澱者為陽性(++++)。
- c. 若卅分鐘至六十分鐘內有沉澱者為弱陽性(++)。
- d. 若一小時後有沉澱者為陰性(-)。

血蛋白沉澱試驗為陽性者乃表示：

日本住血吸虫病 (Schistosomiasis)

黑熱病 (Kala-azar)

(L) 血液沉澱試驗法。

用乾淨之結核菌素注射器(Tuberculin syringe)吸取百分之三枸橼酸鈉0.2公撮，將此注射器由病人之肘靜脈取血0.9公撮，震動混合之，然後將此混合液置於一分血計器(Hematocrit)內，直立架上，此時血球漸漸下沉，每十分鐘紀錄一次，直至六十分鐘為止，或於一小時之末紀錄之亦可。

正常價值 (Normal Values)

男2.5mm。

女3.5mm。

沉澱增加即表示：

1. 傳染性病。
2. 惡性病。
3. 懷孕。
4. 發炎症。

(M) 血黃疸指數試驗法：——

(I) 標準比色管之配簡：

1. 取150×16mm之試管1個，並挑選100×7mm，口徑十分一致，帶有軟木塞之小試管1個。
2. 用精確天秤配製百分之一重鉻酸鉀 (Pot. dichromate) 溶液一百公撮，並加濃硫酸一筒，以防退色。
3. 蒸餾水。
4. 照下表分列，加入重鉻酸鉀溶液，並蒸餾水，依稀釋度而得各種標準比色指數。
5. 由大試管之1——1，每管各取二公撮加入於由1——1各小試管內，緊塞管口，並用石蜡封固之，加標記，存暗處待用。

大 試 管	單 位	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
重 鉻 酸 鉀	cc	10	5	3	2	1.5	1.2	1	0.7	0.5	0.3	0.1

蒸餾水	cc	0	5	7	8	8.5	8.8	9	9.5	9.5	9.7	9.9
搖勻用滴管由11——1管各加二公撮於下列各小管內												
小試管	cc	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
標準色指數	cc	100	50	30	20	15	12	10	7	5	3	1

(II) 試法：

1. 用乾注射器由靜脈取血五公撮，用離心器得其血清。
2. 取與標準比色小試管口徑等大之小試管一支，加血清二公撮，與標準比色管較對，至顏色相同者，即為該血清之黃疸指數，欲血清色超過比色管，應用生理食鹽水稀釋血清，對比得到結果後，再用稀釋倍數乘對比得數即可。

正常人之黃疸指數為4——6，若超過10則為異常，此試驗所用之血清，應透明而不溶化血化素者為佳，故在早飯前取血為最合適。

所用之注射器及玻璃管等，均應乾燥無菌，以免血球破裂。

多食蘿蔔者，其指數高，因此，試驗時在前二日應禁食蘿蔔。

(N) 血之比重測定法：

正常人血之比重為1.058。——1.062。

男人亦比較高1.059。——女人較低1.056

男孩1.052，女孩1.050。

在病狀改變之下，血之比重亦變可自1.025至1.083，
 在腎炎硬化，貧血等，黏病可減至1.031，血之比重增加
 見於熱病，如傷寒1.057——1.063，肺氣腫，霍亂，脂肪
 性心病。阻塞黃疸等1.0262。在腸性發紺 (Enterogenous
 cyanosis) 為最高，1.062——1.083。

由多數學者之考究，除腎炎，血循環紊亂，白血病，流血
 後貧血，及因瘧疾之貧血外，血之比重與血色素，及赤血
 球之體積，成正比例，茲列表於下：

血 比 重 依 法	血 色 素
1.033——1.035	25%——30%
1.035——1.038	30%——35%
1.038——1.040	35%——40%
1.040——1.045	40%——45%

1.045——1.048	45%——55%
1.048——1.050	55%——65%
1.050——1.053	65%——70%
1.053——1.055	70%——75%
1.055——1.057	75%——85%
1.057——1.060	85%——95%

作法：(Hammerschlag's method)：

其原理即用一較重於血之液體如哥羅芳，1.526，及較輕者 (Benzol) 0.889 相混合，得一液體比重為1.050——1.060，作時取一乾量筒約10cm.高，加上二液之混合液，令血一小滴，直由手滴入管內，勿過大，以免分裂，血滴沉下時，應再加哥羅芳，若浮起則加Benzol，直至血滴不沉不浮時，該混合液之比重，即為血之比重矣。混合液之比重，可用比重表測定之。

(O) 同類凝集反應：

同類凝集現象，顯明一種人之血清，其性質能使一同类之人之赤血球凝集。

人類之血，按其交互反應，可以切實分爲四類，現在應用者，計有三種分類法，即韋氏(Jansky)分類法，莫氏(Moss)分類法，及奈氏(Lansteiner)分類法是也。

國際聯盟會建議以奈氏分類法爲國際通用之分類法。

Lansteiner	O	A	B	BA
Jansky	I	II	III	IV
Moss	4	3	2	1

原則：

血清中凝集素 (Agglutinin) 名爲 a, b 。

血球中凝集原 (Agglutinogen) 名爲 A, B 。

四血型之血液各含有不同之凝集原，與不同之凝集素。

(O) 型血族：血清中有 a 與 b 凝集素。

血族中無凝集原。

(A) 型血族：血清中有凝集素 b 。

血球中有凝集原 A 。

(B) 型血族：血清中有凝集素 a 。

血球中有凝集原 B 。

(AB型血族：血清中無凝素。

血球中有凝集原A與B。

由以上四種現象，而有下列的凝集反應：

(O) 其血清與其他三型之血球混合，即起凝集反應，其血球與其他三型之血清混合，即不起凝集反應。

(A) 其血清與(B)型及(AB)型之血球混合，即起凝集反應，其血球與(O)型及(B)型之血清混合，即起凝集反應。

(B) 其血清與(A)型及(AB)型之血球混合，即起凝集反應，其血球與(O)型及(A)型之血清混合，即起凝集反應。

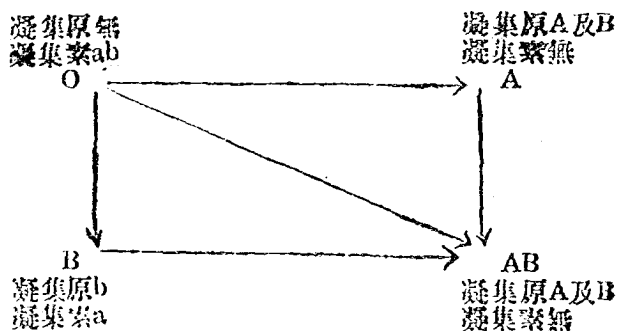
(AB) 其血清與其他三型血球混合，皆不起凝集反應，其血球與其他三型血清混合亦皆不起凝集反應。

血型分類	血型分類	"O"	"A"	"B"	"AB"
	血清凝集素	ab	b	a	-
	血球凝集原	-	-	-	-
"O"	O	-	-	-	-

"A"	A	+	-	+	-
"B"	B	+	+	-	-
"AB"	AB	+	+	+	-

+ = 凝集

- = 不凝集



O = 普通之輸血者 (Donor)

AB = 普通之受血者 (Recipient)

若祇知一人之血型為A或B，則其他血型不難鑑定矣
其法如下：

- (I) 如已知之血型為(A)，則由(A)者取血，亦由未知者取血，二相混合，數分鐘後，視其結果。
(O)未知者血球與(A)型血清不起凝集反應。

未知者血清與(A)型血清起凝集反應

(A)未知者血球與(A)型血清不起凝集反應。

未知者血清與(A)型血球亦不起凝集反應。

(B)未知者血球與(A)型血清起凝集反應，

未知者血清與(A)型血球亦起凝集反應。

(AB)未知者血球與(A)型血球不起凝集反應。

未知者血清與(A)型血清起凝集反應。

(II)如已知之血型爲(B)除(A)(B)相反外，餘者相同。

已知“A”型血清者		未知者 之血型 結果	已知“B”型血清者	
“A”型血清一滴加未知者血球一滴	“A”型血球一滴加未知者血清一滴		“B”型血清一滴加未知者血球一滴	“B”型血球一滴加未知者血清一滴
-	+	O	-	+
-	-	A	+	+
+	+	B	-	-
+	-	AB	+	-

(II)血之直接配合法(Method of Direct Matching)：

(1) 由施血者及受血者採取血球及血清以備配合。

(a) 赤血細胞勻懸液：——用針刺入耳尖或耳垂，取血液一大滴，使其直接滴入一潔淨並含有 1% 枸橼酸鈉溶液之 0.85% 生理食鹽水一公撮之試管內，反覆數次混合之。

(b) 血清：——採取血液數滴，置於小試管內，俟血凝固，將血塊與試管分離，並用遠心器取得其血清。

(2) 於玻璃片上之一端，置施血者血球勻懸液一滴，加入受血者之血清一滴，於片之另一端，則置施血者之血清一滴，加入受血者之血球勻懸液一滴，分別混合之，數分鐘後，置顯微鏡上，用低倍鏡檢查其是否有凝集現象。

(P) 血原虫檢查：

(I) 瘧原虫檢查：

人體血液中常見之瘧原虫，計有三種，即惡性瘧原虫，間日瘧原虫，及三日瘧原虫是也，檢查方法如下：

自病人耳垂或指尖取血一滴，置距玻片之一端約 1.25 公分，另取一邊緣光滑之玻片，與第一玻片上血滴接觸，使成三十至四十五度角，當血滴沿第二玻片

之邊緣敞開時即將第二玻片向第一玻片之另一端推去，如是則可得一極薄之血膜矣，俟血膜乾後，可用魏氏或姬姆沙氏染料染色，在油鏡下檢查之。

(a) 魏氏染液(Wright's stain)

Wright's stain(Powder).....0.1gm.

Methyl alcohol.....6.0c.c.,

染色法詳前。

(b) 姬姆沙氏染液(Giemsa's stain) :

azur—II—eosin.....3gms

azur II.....0.8gm

Glycerin(Merck,C.P.).....250.C.C

methyl alcohol.....250C.C.

染色法：將已配就之染液一公撮，加八十五公撮蒸餾水內，混合後，將此稀釋染液注入經木醇固定後之血膜上染色半小時，傾去染液，用水洗滌，印乾待檢，或將已固定之標本，直接放入染液中浸染亦可。

附三種瘧原蟲之區別表如下：

三種瘧原虫主要區別表

類 別		惡性瘧原虫	間日瘧原虫	三日瘧原虫
特 性				
裂體增殖循環所經時間		48小時	48小	72小時
活 動 原 虫	小 形	環狀小形活動原虫者血球者1/3含色素狀小虫之普通	環狀小形活動原虫者血球者3/1	環狀小形活動原虫者血球者3/1
	大 形	在周圍血液不能查見	稀薄呈阿分枝狀	不呈阿狀實
發育成熟之增裂原虫		大於正常赤血球	大如正常赤血球	小於正常赤血球
裂體芽胞數目		8——24個	12——24個	8——12個
生殖原虫		新月形	圓形大如增裂體	圓形大如裂體
感染瘧原虫之紅血球		不漲大亦不呈灰色	漲大而呈灰色	大漲大而呈灰色
感染瘧原虫之紅血球點粒		芬勒小點粗而少	許甫納氏小點細而多	無

II. 黑熱病原蟲檢查法：

檢查黑熱病原蟲法，即由患者之肝或脾臟及淋巴腺之穿刺液，作成塗抹標本法，與檢查錐原蟲同

III. 螺旋體檢查法：

檢查螺旋體，法均與錐原蟲同。

IV. 血絲蟲檢查法： (*Mikrofilaria*)

檢查血絲蟲之幼蟲，法即以針刺取指尖或耳垂之血液一大滴，勻塗於玻片上，蓋以玻蓋片，即可以於低倍鏡下觀察之，若有血絲蟲幼蟲，則見血液中之血球時為幼蟲推動不已，刺取血液，須於夜半時舉行之，約至夜間十一時至晨三時為最適宜之時間，惟檢查幼蟲，宜用染色液，法即注血二三滴於極潔淨之玻片上，用細針將血液塗勻長約二三公分，乾後將血片置蒸餾水中，俟血色素退盡(約三至五分鐘)取出晾乾，固定於純酒精中，約廿分鐘，俟酒精蒸發後，用蘇木素染液染色，時間之長短，視染色之濃度而定，如白血球之核體已着色，深而顯明，即可以蒸餾水洗滌之，

若染色過深，則可用百分之二鹽酸將色退淡而成淡藍色，色之深淺，可於低倍鏡下決定之，後置血膜於杯中，滿盛以水，約十分鐘後取出晾乾，即可於油鏡下檢查之。

小便檢查法

(I) 肉眼檢查：——

- (a) 尿量：正常成人每日約1200至1500公撮，日較夜多，其比例，約4：1。
- (b) 尿色：正常人為淡黃色，發熱者、因尿之濃度增加而呈淡黃色，或棕色，若尿中含有病理物質者，則其色變，尿中含有血者為深紅色，或紅棕色，含有膽汁者，為純黃色，含有美藍者為藍色，患絲虫病者，尿色為米乳色。
- (c) 透明度：正常人之尿為透明，病理之尿則否，其透明度因病之輕重及種類而有差別。
- (d) 臭味：正常人之尿具有尿臭，糖尿病則帶甜味。

(e) 反應：在二十四小時排出之混合總量為弱酸性，如擱置過久，則變為弱鹼性，故凡檢查尿之沉渣者，務用新鮮者，否則，在不同之反應中，沉渣物則自行溶解矣。

試驗方法：可用石蕊試紙試驗之，法取紅藍色石蕊紙各一小片，投入尿中，視其反應結果。

紅→藍 = 鹼性反應。

藍→紅 = 酸性反應。

若兩紙均不變色，即係中和性。

(f) 比重：正常尿之比重為1.017至1.020，比重之增減與尿量之多寡成反比例。

試驗方法：可用尿比重器測定之，法將小便傾入量杯內，然後小心將尿比重器放入尿中，待其靜止時，視水平線過比重器刻度之何處，該處即為尿之比重也。

(II) 尿之化學檢驗：——

(a) 蛋白質定性試驗法：

取尿四至五公撮，放入玻璃試管內，以酒精燈

其上部，如有白色雲霧狀物質產生時，可加入數滴百分之一稀酸液，如白霧不能溶化，則為有蛋白存在之證，蛋白質愈多，則雲霧狀物愈濃，加入稀酸液後，如雲霧物即被溶解，是即尿中之磷化物而非蛋白質也。

(b) 糖質之定性試驗法：

取其定性試驗液 (Benedict's solution) 五公撮，放入試管內，加尿半公撮，在火焰上燒沸二分鐘，俟其冷後，如有紅色，黃色或綠色之沉澱物產生時，即表示尿中含有糖質也。

Benedict's solution :

純硫酸銅結晶體 (Pure crystallized copper sulfate) 17.3gms

枸橼酸鈉或枸橼酸鉀 (Sod or Pot citrate)
..... 173.0gms

碳酸鈉結晶體 (crystallized sod carbonate)
..... 200.0gms

蒸餾水 (Distilled water) 加至 1,000c.c.

先將枸橼酸鈉及碳酸鈉置於七百公撮之蒸餾水中

，加熱使其完全溶解，然後過濾，再將硫酸銅溶液徐徐傾入枸橼酸鈉及碳酸鈉之混合液中，混合時，須不斷攪拌，冷後，加入蒸餾水使其量成一千公撮，此試液專為糖質之定性試驗用，定量試液須用另方配製；

(c) 雙醋酸試驗法 (Diacetic acid) :

取十公撮尿放入試管內，加入百分之十之氯化高鐵溶液 (Ferric chloride) 一毫二公撮，勻和之，如混合液呈紅色，即為有雙醋酸之證，但尿中如含有柳酸鹽時，亦可得同樣反應之結果，辨別之法，可將尿燒乾，蒸發若紅色即失，殘紅色即為雙醋酸無疑矣。

(d) 醋酮試驗法：(Acetone bodies) :

取尿五公撮於試管內加入硝基稀鐵精化鈉 (sod Nitroprusside) 或 (sod. Nitroferrocyanide) 結晶體數小粒，再加入冰醋酸數滴，使尿成酸性反應。然後以同量之鹽水，使由管壁徐徐流下，勿使兩液混合，在兩液相接處，如有紫藍色環產生時，即為尿中含有醋酮之證，

(e) 膽斗試驗法(Bile test) :

以半試管尿，用手指緊閉管口，用力振搖，使尿發生泡沫呈純黃色，即係尿中有膽汁之證。

(f) 尿膽素試驗法(Urobilin) :

將六至八公撮之尿放入試管內，加盧戈氏碘溶液數滴，再加入與尿同量之醋酸鉍酒精飽和液，使之調和。然後用濾紙過濾，將濾液移在斜光下檢示，現有綠色，則為尿中含有尿膽素之證。

按本試驗對於急性貧血、瘧疾、猩紅熱，及肺炎等病症之診斷頗為重要。

(g) 重氮反應試驗(Diaz o—reaction) :

(I) 試藥：—

(1) 氨基苯磺酸(Sulphanilic acid) ... 1.0gm.

濃鹽酸(Conc. HCl) 10c.c.

水(Dist. Water) 200c.c.

(2) 亞硝酸鈉(Sod. Nitrite) 0.5gm.

水(Dist. Water) 100c.c.

(3) 強氨(Strong ammonia),

(II) 試法：

將試液(1)一百分，混合試液(2)一份，取等量之尿與試液(1)與(2)之混合液先後放入試管內混合之，繼取氮一至二公撮，徐徐由管壁傾入試管內，使與尿之混合液接觸，若在兩液中呈紅晶色(Garnet ring)之環，震搖後，泡沫係粉紅色者，即為陽性反應，若係純粉紅色，或紅色，或現有微量之黃色，或橙黃色者，即係陰性反應，若結果可疑者亦屬陰性。

按此法對於傷寒，結核，麻疹等病症之診斷為有效，尤以傷寒症為最。

(III)尿之顯微鏡檢查：——

(a) 預備：

尿須新鮮，用離心器沉澱五分鐘，去其上部，取其沉澱物，置於玻璃片上，覆以半蓋片，以免液體與顯微鏡頭接觸，先用低倍鏡觀其大概，然後用高倍鏡詳細檢查之。

(b) 顯微鏡下檢查應注意者：

1. 管型，

2. 血球，
3. 上皮細胞，
4. 細菌檢查，

(c) 管型(Casts)：

1. 透明管型，
 - a. 狹窄透明管型，
 - b. 寬透明管型，
2. 蜡狀管型，
3. 纖維管型，
4. 粒狀管型，
 - a. 細粒狀管型，
 - b. 粗粒狀管型，
5. 脂肪管型，
6. 食物管型，
 - a. 上皮細胞管型，
 - b. 血細胞管型，
 - c. 膿細胞管型，
 - d. 細菌管型，

(IV) 腎泌機能試驗(Kidney Function test)：

(a) 原則：

用染料如苯基紅(Phenolsulphonophthalein)注射於患者體內，然後檢查其小便，視其能於兩小時內排出所注射之染料之百分之幾。

(b) 預備：

先令患者排盡小便，飲以開水二百公撮，即注射苯基紅一公撮(0.006公分)於其靜脈內，分別留取注射後一小時及二小時末之小便，於二潔淨之瓶內，必要時可用導尿管取得之。

- (c) 置小便於一千公撮容量之量杯內，加入百分之二十氫氧化鈉溶液，使其鹼化，再加汽水稀釋至二百公撮，此時如呈深紅色，可再加水至一千公撮，如僅呈淡紅色，稀釋至二百五十公撮為止，然後取其一部，置於試管內，與各級標準百分色比較，至紅色度相同為止，如是可知尿內所含苯基紅之百分數矣，第一小時及第二小時之小便，應分別試驗，兩次試驗所得數之和，即為腎分泌度之總百分數，(試驗時如僅稀釋以二百五十公撮之水，則所得數以四除之，如稀釋以五百公撮之水，則以二除之)。

(附尿檢查與腎炎之關係表於後)

尿檢查與腎炎之關係

病名	肉眼檢查	化學檢查	顯微鏡檢查
急性出血性腎炎 (Acute hemorrhagic nephritis)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 尿量增多 2. 尿色深黃或紅 3. 比重 1.010--1.030 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 蛋白質增加至 1.5% 2. 反應酸性 3. 尿素及氮化物量低 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 沉澱多紅棕紅 2. 粒狀管型，赤血球，上皮細胞 3. 上皮細胞與赤血球極多亦有澱細胞
亞急性水腫性腎炎 (subacute nephritis with edema)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 尿量減少 2. 尿色混濁 3. 比重 1.010-1.020 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 蛋白質增加至 3% 2. 反應酸性 3. 尿素及氮化物量不定 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 沉澱多 2. 管型多，脂肪性尤多 3. 有上皮細胞及膿細胞
慢性腎間質炎 (Chronic interstitial nephritis)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 尿量增加 2. 尿色淡清 3. 比重 1.005-1.015 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 蛋白質或有或無 2. 反應酸性 3. 尿素及氮化物量低 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 沉澱少 2. 管型少係透明或粒狀 3. 無上皮細胞

腎盂腎炎 (Pyelonephritis)	1. 尿量增加 2. 尿色稍混濁 3. 比重正常或低	1. 蛋白質增加極多 2. 反應酸性 3. 尿素及氮化合物量低	1. 沉澱少 2. 膿管型極多 3. 膿細胞極多
腎澱粉樣變性 (Amyloid degeneration of kidney)	1. 尿量增減不定 2. 尿色淡清 3. 比重 1.012-1.018	1. 蛋白質增加 2. 反應不定 3. 尿素及氮化合物量低	1. 稍沉澱 2. 有管型或粒狀管型 3. 均無

(V) 早期妊娠之診斷法 (Methods for the Diagnosis of Early Pregnancy):

原理：凡妊娠之婦女，其小便所含由腦內垂體前葉所分泌之激素 (Anterior Pituitary Hormone) 之分量顯見增加，若將此小便注射於雌性動物，如小白鼠或家兔體內，則該動物之卵巢，即顯有特殊之變化，此試驗若用未懷孕之婦女小便注射上述動物，其卵巢則仍保持正常狀態，未見其變化也，此試驗頗為可靠。

在月經停止十日後，則此反應可見。

(A) Aschheim-Zondek Test :

1. 採取清晨小便，放於潔淨之玻璃瓶內。
2. 若該小便呈鹼性反應時，加酸使其成酸性反應。
3. 用濾紙過濾，或用遠心器沉澱之，用其上層清液。
4. 如用小白鼠，則須選擇幼穉未曾受孕，體重在五至八公分者，用皮下注射法，照下列劑量，共注射小白鼠五隻。

(小白鼠)

(劑量)

NO. 1 0.2c.c.

NO. 2 0.25c.c.

NO. 3 0.3c.c.

NO. 4 0.35c.c.

NO. 5 0.4c.c.

5. 如用大白鼠，則須選擇一隻產後30至45日雌性幼鼠，(體重不宜超過65公分)，用皮下注射法，注射三日，每日兩次，每次半公撮之小便。
6. 5日後，將該動物麻醉，剖視其生殖器，並將其剔出，然後將該動物麻醉或放血至死。

7. 如係陽性，則其卵巢現漲大，充血，或出血現象，其卵點亦顯出血現象，致成紅色，子宮漲大，子宮口開張，若由其陰道作抹片檢查，則可見其細胞之變化，此陰道之變化，基於雌性腺體 (Female sex hormone) 分泌物之增加，如用組織學方法，切片檢查，則更為清晰矣。

(B) The Freidman Test :

1. 採取清晨之小便，置於一潔淨之玻璃內。
2. 過過。
3. 用靜脈注射法，自家兔之耳邊緣靜脈，接種五至七公撮之小便，此家兔之年齡，須在十二至十四星期而未經受孕者為適宜。
4. 注射後二十四至三十小時，將該兔殺斃，並立剖視之。
5. 如係陰性，則其卵巢仍係正常，如係陽性，則其卵巢實質增大，並現出血現象。

糞便普通檢查法

(O) 糞便之肉眼檢查：

(a) 稠度(Consistency) :

正常人係半軟半硬。

病理者：——

1. 腸炎為水樣糞。
2. 霍亂為乳糜糞。
3. 便秘為硬糞。
4. 腸一部份梗阻為軟而粗之糞。
5. 赤痢為粘液及膿糞。
6. 痔瘡及肛門瘤等為血糞。

(b) 糞色(Colour) :

正常人為淡棕色，孩童為黃色。

糞色與飲食之關係；

食乳者黃色，食咖啡者灰黑色，多食菠菜綠色，或棕黑色，內服過多之鐵質，或鉍質者暗棕色，或黑色。

病理之糞色：

因消化不良而膽素未改變者為金黃色，小孩之腸炎因膽綠質未消化之故者為綠色，因大便不含膽汁之故者為灰土色，因脂肪之消化不良者為鹽滷

色，因大量之血液如鼻出血，胃出血，及他種小腸之出血等，均可使糞成血色，或黑棕色，在直腸以下出血者，如痔瘡，直腸病等，可使糞成鮮紅色。

(c) 嗅(odor)：

正常人均有臭味，多食肉類者臭味尤甚，有特異之臭味者如：

1. 癰潰瘍。
2. 梅毒性腸潰瘍。
3. 懷疽性赤痢。

(d) 粘膜(mucus)：

正常人之糞幾無粘膜，若有，則為腸炎之證，若糞內幾全為粘膜者，則為下列諸病之徵候：

1. 末期腸炎，
2. 阿米巴性痢疾，
3. 細菌性痢疾，
4. 腸套疊，

(e) 乳凝塊(Curds)：

因脂肪之消化力減少，或食牛乳過多。

(II) 糞便之化學檢查：**(a) 反應 (Reaction)：**

通常為弱酸性，或弱鹼性，若患阿米巴性痢疾者，則其反應為鹼性。

(b) 隱血試驗 (Occult Blood)：

在糞內疑有血液存在，而肉眼不能見者，可用此法試驗。

試驗法：

預備五十公撮糞水混合液，放入試管內，加入等量之鹼，並用力搖勻之。俟鹼分離至上層時而傾棄之，再加入冰醋酸數公撮，（均等於糞便之三分之一），搖勻之，俟鹼分離至上層時，取出五公撮之酸浸液，置於試管內，加入瘰創樹脂粉 (Gum guaiac powder) 少許，搖勻之，加入數公撮二氧化氫 (Hydrogen Peroxide)，如有紫色，或藍色產生，即為陽性反應。

(III) 顯微鏡檢查：

(a) 細菌檢查 (參考細菌檢查法)。

(b) 腸內原虫檢查法：

檢查痢疾變形虫，應用臨時配製之唐納生氏碘伊紅染劑，

溶液甲：

飽和碘片於碘化鉀5%溶液中。

溶液乙：

飽和伊紅於鹽水溶液中。

溶液甲及乙應分裝瓶中，用時等量混合之即可。

取潔淨之玻片，注唐納生氏染劑一滴於其上，再注入生理食鹽水一滴，以牙籤取糞便少許，先在鹽水適中混合，然後在染劑滴中塗抹，塗抹不宜過多，致礙檢查，塗畢，加以蓋玻片，使鹽液與染劑互相接合於顯微鏡下觀察之，檢查時，向鹽液中尋找寄生痢阿米巴之活動體，而向染劑中尋找胞囊體，如欲觀察活動體之游動，單用唐納氏溶液乙即可，此項檢查，糞標本必須十分新鮮，否則結果必然失敗。

檢查痢疾變形虫，亦可用玻片染色法，以求更精確之檢定，其法如下：

1. 塗糞便少許於玻片上，或先溶糞於生理食鹽水中，然後塗於玻片上。

2. 不待霧便乾燥，即將玻片標本置入蕭定氏劑：

Hg ₂ Cl ₂ 飽和水溶液	2份。
95% alcohol	1份。

每百公撮之混合液，加冰醋酸五至十公撮。
3. 固定二分鐘後，將玻片取出，移置於70%醇液中兩分鐘，（若專為染活動體，則置於50%醇中五十分鐘，專染胞囊蟲，則置於50%醇中十分鐘）。
4. 再置玻片於百分之七十醇中之碘劑中，直至玻片上之標本，呈赭黃色為止，蓋氫化汞至此已變為碘片汞矣；置玻片於70%醇內一小時乃至十二小時，以溶解片上之汞化物。
5. 置玻片於百分之五十醇內五分鐘。
6. 置玻片於流水中緩洗至多十分鐘。
7. 置玻片於40°C.之2%鐵礬 (Iron-alum) 中兩分鐘，（或置活動體於冷鐵礬液內一小時，胞體四至六小時）。
8. 用蒸餾水洗滌，再用流水洗三分鐘。
9. 置玻片於百分之五十蘇木素液，於40°C.中一分鐘（或室溫中，六小時至十二小時）。

10. 用流水沖洗二分鐘。
11. 用 2% 鐵蘇液退色，染色之深淺宜於高倍鏡下觀察之，至細胞核剪斷為止。
12. 用流水沖洗十分鐘至卅分鐘。
13. 經過 50%，70%，90%，及純醇中每種 2——3 分鐘。
14. 置於賽羅 (Xylol) 與純醇各半混合，二至五分鐘。
15. 置於賽羅中 2——5 分鐘。
16. 用樹脂香 (Balsam) 積之，並蓋以蓋片。

蘇木素染液配製法：

溶一份蘇木素於十份之純醇中，加入蒸餾水使成 5% 溶液。將此液曝曬於日光中至五六星期，或置於 37°C 溫箱中三星期，或加二氯化鐵及石炭酸各八滴於一百五十公撮之染液中，煮沸一小時，二三日後可用。

鐵蘇溶液配製法：

將二公分硫酸鐵高鐵溶於一百公撮蒸餾水中。

附細菌痢疾與阿米巴痢疾之區別表

細菌性痢疾	阿米巴性痢疾
排便次數多，量少，無臭	排便次數較少異臭因血球變性故也
致病菌，內含血球，鹼性	莫含血及粘液酸性
顯微鏡檢查，多紅血球，膿細胞極多	顯微鏡檢查，紅血球多（成塊）膿細胞，
大吞噬細胞極多，	有阿米巴及夏科雷梅氏結晶體大吞噬細胞少
培養痢疾桿菌	細菌培養為陰性，

用溶液之稀釋法：——

(1) 凡液體之稀釋可按下列公式行之：

$$\frac{A}{B} - 1 = C.$$

A = 原有濃度，

B = 所欲求之稀釋度，

C = 每公撮之原液中應加入蒸餾水，或其他之稀釋液，

例：

$$A = \frac{95}{100},$$

$$B = \frac{50}{100},$$

$$\text{故} \left(\frac{95}{100} \div \frac{50}{100} \right) - 1 = C = 0.9$$

所以每公撮之95%酒精中應加入蒸餾水0.9公撮方可使成50%之酒精

(II) 簡易稀釋法：

(a) 茲有95%之酒精欲稀釋至50%，法將95%之酒精，傾入量杯內至80c.c.刻度處，然後加蒸餾水至95c.c.刻度處即得。

(b) 以80%者稀釋至50%，

法以80%酒精傾入量杯至50c.c.刻度處，然後加蒸餾水至80c.c.刻度處即得。

原理：65%者每百c.c.中含65c.c.，即每c.c.中含0.65c.c.，今以1c.c.之含量，加至百分之幾量，勢必為百分之一，故百分之六十五者，1c.c.含量0.65，加至65c.c.，則每65c.c.中含百分之65，其數適為百分之一。

$$\frac{65}{0.65} = \frac{65}{65} = \frac{1}{100}$$

(II) 大腸纖毛虫之檢查法：

檢查大腸纖毛虫及染色法，均與痢疾變形虫檢查法同。

(III) 其他無害之腸原虫檢查法：

檢查其他腸原虫與致病性腸原虫，方法均與上述者同。

附致病性腸原虫與其他無害腸原虫之區別表如下
人體糞便中各種發育成熟變形虫活動期之重要區別表

類別 特性	痢疾變形虫	結腸變形虫	黑杜立馬 變形虫	嗜真變形虫
大小	20—40秒	25—30秒	6—12秒	9—13秒
動態	動快	微動	動	動
細胞外 層質	透明折光內 外層有明瞭 之界限	微折光內 外層界限 不分	內外層界 限不甚清	內外層界 限不甚清
包含 食物	血含赤血 球	多含細菌	含細菌不 含赤血球	含細菌不 含赤血球

核	不顯明	明顯	不顯明	不顯明
經蘇木精染色之標本	後染色核其小位核染徑0.5 色見縷內體，大之直 染能粒膜核而居微色約秒	則較列核則疾者旁微色約 後粒縷內形痢虫於其染徑 染色亦膜微，變形位，直 染大核微，變大個體直為	透之色讀，之形而微 而膜染微之體及定為 小核無核有微小其 核必內質內核大式為	來染布樣而中與之粒 後有鏡大於膜體小 色見質膜體位絲微有排 染能色核微圓尖核間一

人體糞便中有種發育成熟變形虫囊胞之重要區別表、

持性	類別	痢疾變形虫	腸胃變形虫	馬蹄形變形虫	嗜真變形虫
	新鮮塗抹標本	核外染色體	通常皆有	無	無
	染體體	如育時佈外 則囊泡	無	無	呈深棕色斷 輪廓
	核體數	4	8	4	1
經伊蘇木精染色之標本	核體染色質	小核於核甚 小核膜微少	小核於核甚 小核膜微少	粗粒集之將體 粗於一核邊 邊微散	粗粒集於邊 核之核體 核將體

約計 小	12秒	17秒	9秒	12秒
---------	-----	-----	----	-----

(D) 內臟寄生蟲卵之檢查：——

I, 玻片檢查法：

此係普通之方法，即用牙籤取糞少許（若一大火柴頭之大小），置於玻片上，加生理食鹽水少許，混合後檢查之，此法頗稱簡便，然宜作三次檢查以求確實。

II, 漂浮法：

取糞一塊，大如粟，置於小杯中，口徑約二公分半，清淨飽和鹽液，與糞塊調和，用玻片蓋於杯上，使與混合液相接觸，約十五分鐘至二十分鐘後，將玻片反置，用玻片上之液體在顯微鏡下檢查之，此法最適合於內臟蟲卵之體積較大者，如吸蟲卵，每易下沉頗不適用。

III, 沉澱法：即呂氏法(Riva's method)：

取一至二公分之糞，置於一大而厚之試管中，注加 3% 硝酸液 1 至 1.5 公撮，（每公分糞加硝酸液五公撮），置於含玻璃珠之試管中，以橡皮塞

塞緊管口，用力振搖約一分鐘，使管內之糞與液體十分勻和，然後將試管靜置於架上，數分鐘後，用細鐵絲篩將粗粒物質濾清，取五公撮濾過液並加入五公撮之醚 (Ether)，調和後，置沉澱器中搖旋之，此混合之液體，遂有四層之液層，最上層為由醚所提出之質，次為餘層層，再次為醋酸液，末層為沉澱物，置於顯微鏡下檢查之，此法應用於檢查各種虫卵，甚易查見，惟多數虫卵之外皮，因醋酸作用，每致變化而成畸形，如對各種虫卵之認識不甚清細，則以不用此法為宜。

IV, 虫卵之保存法：

普通保存虫卵之法，即將糞之沉澱物聚集之，加熱之10%，蟻醛液固定之，如無沉澱器，可將糞與同量之熱蟻醛液調和然後將糞中之粗碎渣滓用細濾清之，置糞與蟻醛液於瓶中，俟其澄清後，將上面之液吸出，換以新之10%蟻醛液，或50%之醇，如用50%之醇時，宜再為以70%之醇，如是則可保存日久而不變壞矣。

胃液檢查法

(1) 胃液之肉眼檢查：

(a) 量(Quantity)：

空腹抽出者，正常為十五至六十公撮，在吞食試驗，或在注射組織毒後，其抽出量為十至九十公撮，如過九十公撮時，則為胃液過量分泌，或胃幽門痙攣，食物不能離胃之徵象。

(b) 色(Color)：

胃液正常為無色而有少數粘液及已消化之食物渣，如飯後六小時之後而仍有食物者，是為胃內有阻塞，或幽門痙攣之表示，因弱弗斯氏(Rehfuss)胃管伸入胃內逆行蠕動而含有膽汁，故胃液中如含有少許膽汁者，亦可謂正常也，如胃液中含少許新鮮之血液，或為通胃管損傷喉部或竇所致，如胃液中含過多之粘液，則為卡他性胃炎之證，如呈咖啡色者，則為鉍鹽及乳酸之故，蓋因發酵過度也，如作膿臭者，則為胃潰瘍或胃癌之證。

(II) 胃液之化學檢查：——

(a) 鹽酸定性法：

用忒浮氏試藥(Topfer's Reagent) 加入胃液內
如有遊離鹽酸時則呈紅色。

Topfer's Reagent：

Dimethylaminoazobenzol

(0.5%酒精飽和溶液)，

過濾之胃液十公撮，加入四滴試藥，——→紅色。

(b) 鹽酸定量法：

用濾紙將胃液過濾，取其濾液十公撮，放入燒瓶
內，加蒸餾水十公撮，再加忒浮氏試藥三滴，如
胃液中有鹽酸，試藥滴入後則立呈紅色，否則呈
黃色，若呈紅色時，即用當量十分之一氫氧化鈉
溶液，逐滴加入。直至中呈而變為黃色為止，計
算所用之氫氧化鈉量，以十乘之。即得每百公撮
之胃液內所含之鹽酸量。

忒氏試藥既已呈黃色，乃加非諾夫他林(Phenol-
phthalein) 百分之一酒精溶液二至四滴，再加當
量十分之一之氫氧化鈉溶液，逐滴加入，直至中

和，而其色由黃色而為淡黃色為上，然後用按用去之氫氧化鈉溶液之公撮數，以十乘之即為胃液中所含酸量之總數，亦即每日每百公撮之胃液中所含之總酸量也。

第一次滴定所得者係遊離鹽酸 (Free hydrochloric acid)，第二次滴定所得者即為混合酸 (Combined acid，兩者之和則為總酸數 (Total acidity))。

(c) 乳酸試驗法：(Lactic acid)：

若胃液中無遊離酸或混合酸時則有作乳酸檢察之必要，試驗法如下：

取一試管，內含蒸溜水半滿，加入百分之十之氯化鐵 (Ferric chloride) 溶液一二滴，使其適成淡黃色，以此試液分裝兩試管內，於一試管中，加入已濾過之胃液數滴，若其色立變為檸檬色，或黃色時，則為乳酸之證，檢查時，須另取一管之試液作對照。

此為喀替氏試驗法 (Kelling's Test for Lactic acid)。

Ⅲ) 顯微鏡檢查：

取未經濾過之胃液，沉澱之，取其沉澱物，作塗抹標本，用革蘭氏法染色，檢查下列菌物：——

- (a) 俄發流皮亞斯氏桿菌(Boas-Oppler bacilli)於胃癌症(Gastric cancer)見之。
- (b) 釀母細胞(Yeast cells)。
- (c) 膿細胞(Pus cells)。
- (d) 血球及上皮細胞(Corpuscles and Epithelial cells)。腦脊髓液檢查(Examination of Cerebrospinal fluid)：

(A) 白血球計算法：

用計算白血球之吸管，先吸取冰醋酸洗滌吸管一次，然後吸取腦脊液（不用稀釋液），用力振搖後，注入血球計算盤中，共計數五大方格內之血球數，以二乘之，或共數十大方格之白血球總數，即為一立方公釐之腦脊液內所有白血球之總數，（一大方格面積為一平方公釐，其體積為0.1立方公釐，今所求者乃一立方公釐中白血球之總數，故應計數十大方格中之白血球總數也），正常人每立方公釐

腦脊髓液內之白血球為 0 至 10。

若數目高於 10，則須作白血球分類計算，如低於 10，則無須多此一舉矣。

(B) 白血球分類計算法：

取二至四公撮之腦脊髓液，用離心器沉澱之，取其沉澱物作抹片標本，用瑞忒氏染色後計算之。

(C) 蛋白質沉澱試驗法：

取腦脊髓液 0.5 公撮於一潔淨之玻璃試管內，另取 0.5 公撮之硫酸銨 (Ammonium Sulphate) 飽和溶液，徐徐引於腦脊髓液下，勿使其混合，候五分鐘後，兩液相接處，若呈混濁色，即為有蛋白之證。

(D) 細菌檢查：

參考細菌檢查法。

正常之腦脊髓液：——

1. 可能取得之量——自數滴乃至一百公撮。
2. 為澄清而透明之液體。
3. 反應為鹼性。
4. 比重為 1.003——1.008。
5. 有時可由因穿刺之不慎而含有少許且新鮮之血。

球

痰液檢查法

(I) 痰之肉眼檢查：

(a) 量：正常人不應有痰，如有，亦為極少量。

(d) 色：因病而不同。

1. 枝氣管炎者為白色或淡灰色。
2. 膿胞或肺壞疽為黃色或淡黃色。
- 肺炎者為鐵銹色。
4. 黃疸症者為綠色。
5. 肺內有舊出血者為棕色或黑色。
6. 肺內新出血者為鮮紅色。
7. 久居都市者或礦工為灰黑色。

(e) 嗅覺：

普通痰液不應有臭。如有，則係腐敗性支氣管炎，肺膿腫，肺壞疽，及肺枝氣管擴張等病症之現象。

(d) 三層痰：

將二十四小時內收集之痰液放入玻璃管內則漸漸分為三層。上層為氣泡，中層為黏液。下層為沉澱

物，及膿，包括壞死之組織等，如有此種現象，則爲上列三種病症之一：——

1. 肺壞疽。
2. 肺膿腫。
3. 枝氣管擴張。

(e) 血痰：

少量血液之痰，即痰中含有血絲。或一二滴血濺者，可爲肺結核，氣管上部出血，肺炎，枝氣管炎，由咳嗽過甚，以至將小血管略破。

多量之痰，能爲肺結核，肺楔狀出血，肺充血，鼻液血，（在夜間之鼻出血，可經喉部，血與痰液混合而成血痰）肺膿腫，肺氣泡擴張，肺瘤腫大，動脈瘤穿通氣管而破裂，肺寄生虫病如肺鉅虫，及螺旋體等。

(II) 顯微鏡檢查：

參考細菌檢查法。

貳 編

血清學檢查法

病原菌之分佈部位

病原菌之寄生部位，與病原菌本體之生活環境，有重要之關係，在檢驗室方面，由檢驗物之來源，大約可以想像其何種細菌，而可用何種試驗何種方法，故病原菌之分佈部位為檢驗室人員所須知，且須熟記之。

病原菌之寄生部位，在同一區域內每可檢出多種細菌，例如咽喉部位，經檢出者有四十餘種之多，至於糞便中之細菌，其種類之多幾不可勝數，但大多數均非關重要，其檢查之亦至繁，如欲知其詳可參閱Bergey's manual of Determinative Bacteriology。

(1) 分佈於皮膚之病原菌及微菌：

葡萄球菌 (Staphylococci) ，

鏈球菌 (Streptococci) 包括猩紅熱鏈球菌 (Streptococcus Scarlatinae) 及丹毒鏈球菌 (Streptococcus erysipelatis) ，

肺炎球菌 (Pneumococci) ，

白喉桿菌 (B. Diphtheriae) ，

假白喉桿菌 (C. Pseudodiphtheriae) ，

- 炭疽棒狀桿菌 (*C. oenes*) ,
 炭疽桿菌 (*B. Anthracis*) ,
 枯草桿菌 (*B. Subtilis*) ,
 放線菌 (*Actinomyces*) , 包括人放線菌 (*A. Homin-*
 is) 及分枝放線菌 (*A. Maduræ*) 。
 酵母菌 (*Blastomycetes* ,
 蕈菌 (*Finea Trichophyton*) ,
 以上革蘭氏陽性。
- 綠膿桿菌 (*B. pyocyanus*) ,
 馬鼻疽桿菌 (*Pfeifferella mallei*) ,
 大腸桿菌 (*B. Coli*) ,
 鼻硬結病桿菌 (*Klebsiella Rhinoscleromatis*) ,
 卡他球菌 (*Micrococcus Catarrhalis*) ,
 變形桿菌 (*B. proteus Vulgaris*) ,
 雅司密螺旋菌 (*Treponema pertenue*) ,
 梅毒密螺旋體 (*Treponema pallidum*) ,
 軟密螺旋體 (*Treponema Referinges*) ,
 以上革蘭氏陰性。
- 人結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis ho-*

monis

癩菌分枝桿菌 (*Mycobacterium Leprieu*),

包支垢分枝桿菌 (*Mycobacterium Smegmatis*),

以上抗酸性菌

42) 分佈於膿腫蜂窩織炎，及淋巴腺炎之細菌：

金色及白色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus and albus*),

化膿性鏈球菌 (*Streptococcus pyogenus*),

炭疽桿菌

假白喉桿菌

枯草桿菌

以上革蘭氏陽性。

淋病球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*),

變形桿菌

軟下疳桿菌 (*Hemophilus Ducreyil*),

絲狀桿菌

土拉倫斯桿菌 (*Bacillus Tulanensis*),

鼠疫桿菌 (*B. pestis*),

梅毒螺旋體,

以上革蘭氏陰性。

(3) 分佈於傳染性創傷，潰瘍及腐爛創面之細菌：

金色及白色葡萄球菌，

乳酸桿菌

肺炎球菌

• 梭狀桿菌 (*B. Tetanus*)，

• 產氣芽胞桿菌 (*B. Aerogenes capsulatus*)，

• 惡性水腫桿菌 (*Clostridium edematis maligni*)，

• 牙腫桿菌 (*B. Edematis*)，

• 肉毒桿菌 (*B. Botulinus*)，

• 假白喉桿菌

• 炭疽桿菌

• 枯草桿菌

• 霍森氏疏螺旋體 (*Borrelia vincenti*)，

• 放線狀菌

以上革蘭氏陽性

• 齒梭狀桿菌 (*Fusiform dentium*)，

• 鱗片桿菌，

• 大腸桿菌，

變形桿菌，放線狀桿菌 (Actino-bacilli) ，

(4) 分佈於眼，眼皮，結合膜，虹彩及淚道之細菌：

金色及白色葡萄球菌，

鏈球菌，

四聯球菌 (Tetracocci) ，

白喉桿菌，

乾燥桿菌，

炭疽桿菌，

枯草桿菌，

人放線狀菌，

以上革蘭氏陽性。

淋球菌，

卡他球菌，

腦膜炎球菌

摩氏桿菌 (B. Morax) ，

郭衛氏桿菌 (Koch-weeks Bacilli) ，

流行性感冒桿菌 (B. Influenzae) 。

綠膿桿菌。

土伯倫斯桿菌，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

癩菌桿菌，

(5) 分佈於鼻腔上呼吸之細菌：

金色及白色葡萄球菌，

鏈球菌，

肺炎球菌，

白喉桿菌，

假白喉桿菌，

枯草桿菌，

以上革蘭氏陽性。

卡他球菌，

膜膜炎雙球菌，

流行性感冒桿菌，

齒梭狀桿菌，

肺炎桿菌 (*Klebsiella Pneumoniae*)，

喬森氏玻璃螺旋體；變形桿菌，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

癩癩桿菌，

以上抗酸性細菌

(6) 分佈於口腔及唾液之細菌及 菌：

金色及白色葡萄球菌，

鏈球菌，

肺炎球菌，

四聯球菌，

白喉桿菌，

假白喉桿菌，

以上革蘭氏陽性，

卡他球菌，

齒梭狀芽胞桿菌，

大腸桿菌，

流行性感胃桿菌，

喬森氏疏螺旋體，

梅毒密螺旋體，

以上革蘭氏陰性。

(7) 分佈於齒中之細菌：

鏈球菌，

肺炎球菌，

假白喉桿菌，

乳酸桿菌，

紅色馬鈴薯桿菌 (*B. mesentericus Tubus*)，

烈臭桿菌 (*B. mesentericus Vulgatus*)，

馬鈴薯桿菌 (*B. mesentericus fuscus*)，

八聯球菌 (*Sarcina*)

以上革蘭氏陽性。

卡池球菌，

普通變形桿菌，

以上革蘭氏陰性。

(8) 分佈於痰之細菌及真菌：

金色及白色葡萄球菌，

鏈球菌，

肺炎球菌，

四聯球菌，

白喉桿菌，

酵母菌，

人放線狀菌，

星狀放線狀菌，

分枝菌 (Streptothrix)，

頰纖毛菌 (Leptothrix)，

白色絲狀菌，(Oidium albicans)

以上革蘭氏陽性。

卡他球菌，

腦膜炎球菌，

肺炎球菌，

綠膿桿菌，

齒梭狀芽胞桿菌，

百日咳桿菌 (Hemophilus Pertussis)，

流行性感冒桿菌 (Hemophilus influenzae)，

大腸桿菌，

喬森氏疏螺旋體，

大型齒密螺旋體，(Treponema macrodentium)

小型齒密螺旋體 (Treponema microdentium)。

粘膜密螺旋體 (Treponema mucosum)

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

以上抗酸性細菌。

(9) 分佈於腦脊髓液之細菌：

鏈球菌，

肺炎球菌，

葡萄球菌，

以上革蘭氏陽性。

腦膜炎球菌，

流行性感胃桿菌，

傷寒桿菌 (*Eberthella Typhi*)，

鼠疫桿菌，

鼻疽桿菌，

梅毒密螺旋體，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

以上抗酸性細菌。

(10) 分佈於腦腔液及心臟液之細菌：

葡萄球菌，

鏈球菌，

肺炎球菌，

假白喉桿菌，

以上革蘭氏陽性。

卡他球菌，

富氏桿菌(Friedlander's Bacilli)。

流行性感冒桿菌，

綠膿桿菌，

普通變形桿菌，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

以上抗酸性細菌。

(11)分佈於腹水之細菌：

葡萄球菌，

鏈球菌。

肺炎球菌

枯草桿菌，

以上革蘭氏陽性。

大腸桿菌，

綠膿桿菌，

變形桿菌，

傷寒桿菌，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

以上抗酸性細菌。

《12》分佈於膽道之細菌：

葡萄球菌，

肺炎球菌，

以上革蘭氏陽性。

傷寒桿菌，

肺炎桿菌，

變形桿菌，

以上革蘭氏陰性。

《13》分佈於直腸及糞中之細菌：

葡萄球菌，

鏈球菌，

肺炎球菌，

畏氏桿菌 (B. Welchii)，

破傷風桿菌，

銀白喉桿菌，

- 炭疽桿菌，
枯草桿菌，
嗜酸性乳酸桿菌 (*Acidophilus Lactobacillus*)
兩歧桿菌 (*B. Bifidus*)。
以上革蘭氏陽性。
淋病球菌，
卡他球菌，
大腸桿菌，
霍亂弧菌，
傷寒桿菌，
副傷寒桿菌甲型，
副傷寒桿菌乙型，
腸炎桿菌 (*B. Enteritidis*)，
痢疾桿菌，
鹼性糞便桿菌 (*B. Fecalis alkaligenes*)。
普通變形桿菌，
以上革蘭氏陰性。
肺炎桿菌，
癩瘋桿菌，

以上抗酸性細菌。

(14) 分佈於尿中之細菌

葡萄球菌。

鏈球菌，

以上革蘭氏陽性。

淋病球菌，

卡他球菌，

腦膜炎球菌，

普通變形桿菌

傷寒桿菌，

腸傷寒桿菌甲型，

副傷寒桿菌乙型，

大腸桿菌，

流產桿菌 (*Brucella abortus*)，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

包皮垢桿菌，

以上抗酸性細菌。

(15) 分佈於尿道之細菌：

葡萄球菌，

鏈球菌，

肺炎球菌，

枯草桿菌，

以上革蘭氏陽性。

淋病球菌，

卡他球菌，

普通變形桿菌，

軟性下疳桿菌，

大腸桿菌，

乳酸桿菌，

梅毒密螺旋體，

軟疏螺旋體，

以上革蘭氏陰性。

結核桿菌，

包皮垢桿菌，

以上抗酸性細菌。

6) 分佈於血中之細菌：

葡萄球菌，

鏈球菌，
肺炎球菌，
炭疽球菌，
畏氏桿菌，
以上革蘭氏陽性。
腦膜炎球菌，
淋病球菌，
流產桿菌，
傷寒桿菌，
副傷寒桿菌甲型，
副傷寒桿菌乙型，
痢疾桿菌，
肺炎桿菌，
流行性感冒桿菌，
鼠疫桿菌，
梅毒密螺旋體，
回歸熱螺旋體，
以上革蘭氏陰性。
結核桿菌，

癩瘋桿菌，

以上抗酸性細菌。

檢 查 法

(一)血之檢查：

(1) 例行培養法：

(a) 將 PH7.6 肝浸液 200 公撮，放入 250 公撮燒瓶內，於其中接種血液 5 公撮。

(b) 接種血液一公撮於玻璃皿，加入已溶化之肝浸琼脂，(PH7.6 並涼至 45°C - 50°C)，於血內並速混合之。

(2) 培養傷寒桿菌及副傷寒桿菌甲及乙，除上述兩種培養基外，另行接種含有數公撮膽汁之琼脂斜面基上。

(3) 培養腦膜炎球菌：

(a) 接種 5 公撮血液於 200 公撮之燒瓶內，其中含馬血清 10 公撮之 PH7.4 溫肝浸液

(b) 將血液一公撮注入玻璃皿，加入已溶化之肉汁琼脂 (PH7.4)，涼至 45° — 50°C 並速混合之，此琼脂平板應放於蓋口並含有潮濕氣之罐內。

將燒瓶，試管及玻璃皿等器育于 37°C 之孵卵器內，並每日檢查之，分離，鑑別法，全憑所發育之現象，如有發育之現象時，如沉澱內顆粒或濁濁時，應作塗抹標本，及接種於血液琼脂平板基及中國藍柔酸平板基，以後進行，按新生菌落之狀況而定。燒瓶內之培養基至少應保存五日，如疑為流產菌，或其他不明細菌，則應保存五日以上（十日至十四日）平板基經三四日即可棄擲，平板上所生菌落，應鑷出種於肝浸液內，並按以後發育狀況研究之，平板基上所產生之菌落數，應按每公撮血液報告之。

(4) 培養鏈球菌：

將培養物接種於血液琼脂基中培養之，鏈球菌為小而堅實，不透明菌落，菌落之週圍有溶血者，有不溶血者，鏈球菌之種類，乃按菌落週圍溶血與否及現象而定，不溶膿汁

(a) 溶血鏈球菌，菌落周圍有明顯之溶血環。

(b) 綠色鏈球菌，菌落及其周圍皆呈綠色。

(c) 不溶血鏈球菌，既無溶血環又不呈綠色。

(5) 血清凝集反應：

供凝集反應用之血液，應先令其凝固成塊，然後將血塊破壞，用遠心器以低速度沉澱五分鐘，而取得其血清，用鹽水將血清稀釋為1:20 1:40 1:80 1:160 1:320 1:640 1:1280 1:2560。每管可含稀釋血清半或十公撮，每次應作陽性及陰性對照。

按所應行之實驗，加入下列同量之抗原勻液：

肥達(Widal)氏試驗：

傷寒桿菌，副傷寒桿菌甲及乙，傷寒桿菌901(不勃亞類)，外斐(Weil Felix)氏試驗：

變形桿菌X19

痢疾：志賀氏Y及Flexner氏痢疾桿菌

波形熱(Undulant Fever)：釐產桿菌。

將試管孵育於50°C水箱中，經一夜，於次晨檢視其結果，結果紀錄法(一)為陰性，(二)可疑，及按凝集程度，而記為1, 2, 3, 或4。4表示完全凝集，反應(低於2者)在平常診斷上，視為無意義，在高稀釋度呈又十反應者即作為該菌之凝集實。

(6) 血液中之米利他熱桿菌及燒瘧桿菌之檢查：

1. 照常採取血十五公撮

2. 接種於三十公撮PH6.8肉湯基中，共接種五瓶，各瓶按不同之數量如下：
0.1c.c.，0.2c.c.，0.5c.c.，1c.c.及2c.c.。
3. 接種於PH6.8琼脂斜面基數管，血須漫過斜面，然後孵育於37°C，三小時，再吸出其血。
4. 將所餘之血分裝於兩試管內，俟其沉澱其血凝可借作凝集試驗之用，其沉下之血球可接種於五公撮肉湯中孵育之。
5. 兩日後檢視其有無細菌生長，其肉湯培養，可移植於葡萄糖琼脂斜面基中，自此日起，每日檢視，直至第十四日止，如有上項桿菌生長，則見小型之半滴樣集落其肉湯培養物，亦每日移植於葡萄糖琼脂中，以檢視其有無生長。如有生長立作一塗抹標本，用革蘭氏法染色，檢視其是否是革蘭氏陰性短桿菌，若然，用鹽水洗下細菌，使成混懸液，用抗米利他熱桿菌之血清及抗流產桿菌之血清作凝集反應試驗，其對照試驗，可用正常馬血清試驗之。

(二) 膿之檢查

(1) 培養：

接種於兩個血琼脂平板培養基，及中國藍柔酸基中，作劃線培養，於37°C孵箱內培養之。

(2) 直接自膿液作塗片兩個，一個用革蘭氏法染色，另一個用抗酸性法染色檢查之。

(3) 如未能檢出細菌時，可將該膿液標本接種於魯氏(Dorsett's egg Medium)基，及彼氏(Petroff's)培養基，以蠟封密管口，並培育於37°C之孵育器內。

(4) 次日檢視所接種之培養基上所生之集落，其接於魯氏及彼氏之培養基物，於第十二日檢視之。

(5) 在接種中國藍柔酸基中之細菌，如未生長，則生長於血琼脂基者，大多數為革蘭氏陽性細菌。

注意：取膿標本時，應以無菌技術採取之。

(三) 腹腔液，胸腔液，關節液，及水囊液之檢查：

(1) 用遠心器於高速度下沉澱之。

(2) 將沉澱之物接種於葡萄糖肉湯基內。

(3) 培育於37°C，孵育器中，歷時十八至二十四小時。

(4) 如有生長，移植於血琼脂基中，作劃線培養。

(5) 鑑定所生長之細菌。

如有結核病之可疑時，用腹腔內注射法，接種於天竺鼠腹腔內。

(四) 腦脊液之檢查：

- (1) 用遠心器在高速下沉之，約十分鐘，自沉澱物作二塗抹標本，一用革蘭氏法染色，檢查有無種細菌，一用抗酸性法染色，檢查有無抗酸性菌存在。
- (2) 以沉澱物接種於二血液琼脂基(PH7.4而新鮮，並於臨用時加溫者)，孵育37°C，十八至二十四小時後，如有細菌生長，作塗抹標本，用革蘭氏法染色，如為革蘭氏陰性雙球菌時，可按照咽喉之膜炎球菌凝集試驗法確定之，如為革蘭氏陽性雙球菌時，可照肺炎球菌之凝集試驗法試驗之。
- (3) 如須檢查結核桿菌時，可用皮下注射法，接種於天竺鼠之蹠部，一星期後檢視之，再一星期後複檢視之，四星期後可殺死剖視之。

(五) 痰液之檢查：

- (A) 用抗酸性染色法染色：——用鉗絲環鈎取標本中之灰黃色物，作塗抹標本，染色檢查片酸桿菌
- (B) 結核桿菌濃液法：——將等量之痰液與4%氫氧化鈉

溶液混合，於37-5°C，將那器內孵育，1小時，（黏稠之痰液，應多加震搖，孵育時間，亦須延長）。經十分混合後，用離心器，在高速度下沉澱之，棄去清液，留其沉澱物。

加入當量之鹽酸溶液兩三滴於該沉澱物中，使其稍呈酸性（沉澱經酸化後，應由透明而變為不透明狀）。用此沉澱作塗抹標本，然後染色檢查之。

(C) 結核桿菌漂浮法：——取二公撮之痰標本，加入0.5%之氫氧化鈉溶液二公撮，用力振搖，置55°C水箱中，一小時，加入酒精數滴，用力搖勻，靜置十五分鐘，吸取中間層液體，作塗抹標本染色檢查之。

(D) 痰液之分離結核桿菌法——以上法用4%之氫氧化鈉溶液以消化痰液，或其他標本後，沉澱之，傾去上層清液，加入一二滴之當量鹽酸液於沉澱內，中和後，將該沉澱物用無菌之毛細吸管，接種於彼氏龍膽紫蛋基培養之。

(E) 痰液分離結核桿菌(Corper氏法)：——

1. 用十公撮無菌吸管吸取一公撮標本（痰液小便，粗糞等），注入消毒，帶塞之十五公撮離心管內。

2. 加入6%硫酸溶液一公撮(96%比重1.84之硫酸十七公撮，加入五百公撮蒸餾水中即成6%)或5%(以重量計)純草酸溶液一公撮，以代替硫酸，用無菌之玻璃棒攪勻之，然後塞以木塞。
 3. 孵育37°C半小時，並常搖動該混合液。
 4. 加入生理食鹽水十公撮，塞緊管口，反覆該管使十分混合，然後用離心器沉澱五分鐘，若沉澱物不十分下降，應以高速度再行沉澱之。
 5. 棄其上層清液，於除去木塞時，應小心將管上之上部在大火上燒盡。
 6. 小心將沉澱物接種於三至六管之結晶紫馬鈴薯培養基之表面，(見Corper's Medium)。
 7. 用蠟封固管口，並孵育37°C，直至細菌生長為止。(約二至八星期)，若被污染(普通以釀母菌類為最常見)，則孵育二十四小時至四十八小時後，將發現其顯著之繁殖狀態，因此可阻礙結核菌之檢查。
- (F) 痰液之肺炎球菌檢查：——
- (1) 採取痰液標本之前，宜令患者用朵貝爾氏(Dobell's)溶液漱口，然後令其將痰於已消毒之培替氏

皿內，至少須在一公撮以上，攜回實驗室，立刻檢查之，如十分不得已時，可暫置冰箱內，但不宜過宿。

(2) 由標本作一塗抹片，用革蘭氏法染色，以檢視有無革蘭氏陽性雙球菌存在，如未檢出，可接種於 PH 7.8 血琼脂培養基內，培養 37°C 二十四小時。

(3) 如檢出革蘭氏陽性雙球菌時，即採取痰一小塊，用鹽水於培替氏皿中洗滌之，然後用注射器注入小白鼠之腹腔內，次晨該小鼠或即死亡，或陷于重篤之疾病，其已死者固可即時剖檢之，其未死者，亦可於大動脈鉗於頸部絞死之，或用小木錘由枕骨擊斃之。

(4) 將死鼠釘於木板上，使腹部向上，以酒精洗滌之用消毒之剪刀，沿腹部之正中線剪開，以 5 公撮之生理鹽水，用毛細吸管洗滌腹腔，將洗滌液置於十五公撮遠心沉澱管內，再剪開胸部，用白金耳採取心臟血液，接種於 PH 7.8 之血琼脂基中，培養 37°C，十八小時至二十四小時，此培養物

每爲純種者，可供作凝集反應之用。

(5) 以腹腔洗滌液，作塗抹標本，用革蘭氏法染色，以檢查有無革蘭氏陽性細菌之存在，如無，可視作未檢出肺炎球菌。

(6) 檢查第二步，所接種於血琼脂基中所生長之細菌

(7) 如檢出甚多之革蘭氏陽性雙球菌時，則有兩種方法確定之，一爲凝集反應試驗，一爲沉降反應試驗。

(8) 沉降反應：

(a) 沉降原之預備，將由小白鼠腹腔洗出之液，於遠心沉澱器用高速度沉澱數分鐘後，取上層之清晰液於遠心器用高速度再行沉澱十分鐘，上層之清晰液含有沉降原，可供沉降試驗之用，沉渣可入五公撮生理食鹽水，使成菌懸液，可供凝集試驗之用矣。

(b) 沉降試驗：用小玻璃試管四支，排列架上，按下表加入各種試液：

第一管	第二管	第三管	第四管
肺炎第一型診斷血清0.5公撮	肺炎第二型診斷血清0.5公撮	肺炎第三型診斷血清0.5公撮	生理食鹽水0.5公撮
沉降原0.5公撮	沉降原0.5公撮	沉降原0.5公撮	沉降原0.5公撮

在血清與沉降原接觸處呈有白環者，為陽性反應，如無白色環產生，則於37°C，之水箱中培育半小時如仍為陰性者，可報告為肺炎第四型，如同時有兩種呈陽性反應者，則血清或有錯誤，或含有兩種肺炎球菌，如只有一種呈陽性反應者，則該菌為所呈陽性反應血清之型也。

(9) 凝集反應試驗：

用75×7mm，之玻璃試管六只，排列桌上，照下表試驗之，其凝集原，則用上法所製備之菌懸液

試管一	試管二	試管三	試管四	試管五	試管六
肺炎第一型血清0.1公撮	肺炎第二型血清0.1公撮	肺炎第三型血清0.5公撮	肺炎第四型血清0.1公撮	○	○

生理鹽水 0.4公撮	生理鹽水 0.4公撮	○	生理鹽水 0.4公撮	○	生理食鹽 水半公撮
凝 集 原 各 半 公 撮					
○	○	○	○	膽汁半 公撮	○

輕輕搖動後，置於攝氏87度水箱中兩小時，如顯
陰性反應時，可加熱至40°C，繼續半小時。

- 第一管顯凝集現象……………肺炎球菌第一型。
 第二管及第三管顯凝集現象…………肺炎球菌第二型。
 第三管顯凝集現象……………肺炎球菌第二型(亞型)。
 第四管顯凝集現象……………肺炎球菌第三型。
 各管皆無凝集現象……………肺炎球菌第四型。

各型肺炎球菌皆須溶化於膽汁，然如將該細菌加熱至死時，則不顯溶化現象。

人工白鼠法：——

(a) 照上法將痰用鹽水洗滌之。

(b) 接種於 PH7.8 之血琼脂平皿基內，於37°C，置
箱中十八至二十四小時。

- (c) 次晨檢查該培養基，將小暗灰扁平之集落，移植於愛氏(Avery)培養基中於37°C，孵育24小時。
- (d) 用遠心器於低速度沉澱之。
- (e) 將上層之清漸液，照上述之凝集反應試驗法試驗之。

(六)咽喉液之檢查：

- (1) 培養法：直接用消毒之棉花棒自患處採取標本，接種於蛋，呂氏，及血琼脂培養基中孵育之。
- 將取得之標本，同時應作塗抹標本三個，一用革蘭氏法染色，一用奈氏或龐氏染色法，一備用。
- 在顯微鏡下檢查時，應特別注意於奮森氏梭狀桿菌，奮森氏疏螺旋體，白喉桿菌等。
- 次晨檢視蛋，或呂氏培養基中之培養物，並應各作兩塗抹標本，一用革蘭氏法染色，一用奈氏或龐氏法染色，以檢視有無白喉桿菌之存在，如檢出白喉桿菌時，則照下法作毒力試驗。
- 檢查血琼脂基中之培養物，注意鏈球菌及葡萄球菌等。
- (2) 白喉桿菌之毒力試驗：
- 將此菌將四十八小時肉湯或腹水液肉湯基中之培養物兩公

撥注射於一正常之天竺鼠之皮下，該劑量（如係毒性之白喉桿菌），可在三至五日內毒死彼注射之天竺鼠。

- (b) 另選擇一體重相同天竺鼠，於十二至二十四小時前預先注射二百五十單位之白喉抗毒素，然後注射與第一天竺鼠同量之菌懸液，以作對照試驗之用。

比較經濟之試驗法：

- (a) 選擇兩隻體重二百五十公分之天竺鼠，將腹部之毛剃去或拔除。
- (b) 用盧氏培養基中二十四小時之純粹培養物，以廿公撮之一理食鹽水洗出，使成勻懸液。
- (c) 用該混懸液，在該兩入竺鼠腹部除毛處之兩邊，各注射0.15公撮。
- (d) 兩天竺鼠中，其一應於廿四小時前，預先注射二百五十單位之白喉抗毒素於腹腔內，以作對照之用。
- (e) 如係毒性白喉之桿菌，於兩三日內，在注射處可致局部壞死現象，至於對照之天竺鼠，則仍保持

其正常現象，未受任何影響，

該種試驗，在同一天竺鼠之腹部，可同時作六個可疑之培養物之試驗而不致犧牲被試驗之動物也。

(3) 咽喉之腦膜炎球菌檢查：

(1) 培養法：

(a) 直接由患處採得標本後，即刻接種於血凝脂培養基中，該培養基於使用之前，應在孵育器中溫暖之，接種後立即放入孵育器內孵育之。

(b) 次晨檢視可疑或類似之集落（小型灰白色半透明而潮濕之集落）。

(c) 作腦膜炎球菌之鑑定：

(一) 以白金耳鉤取類似之集落，作標本，固定後，以革蘭氏法染色，如係革蘭氏陰性雙菌時，則暫視為腦膜炎球菌；作下列之凝集反應試驗。

(二) 取十分之一鹽水稀釋之馬血清，滴於潔淨之玻片上，以白金耳鉤取革蘭氏陰性雙球菌之集落，與馬血清十分混合之，如顯陽性反

應。(即呈凝集現象)則該集落為非腦膜炎球菌。

(三)取五十分之一鹽水稀釋之多價腦膜炎診斷血清一滴，置於潔淨之玻片上，以上法所試得之革蘭氏陰性雙球菌集落，作混懸標本，如現凝集現象，則確定為腦膜炎無疑，但須與正常馬血清無凝集現象。

如未得多數之類似腦膜炎球菌集落，可鉤取十分類似之單集落，移植於新鮮之血琼脂中，作純種培養，然後依上述試驗法試驗之。如欲得知進一步之結果，可照下法試驗之。

1. 取革蘭氏陰性雙球菌作純種培養。
2. 分植於含下列醣類之血清肉湯基中，培育二十四小時，

右旋糖。

麥芽糖。

蔗糖

果糖

3. 檢視發酵反應

菌名	右旋糖	麥芽糖	蔗糖	果糖
淋病球菌 <i>Neisseria</i> <i>Gonorrhoeae</i>	+	-	-	-
腦膜炎球菌 <i>Neisseria</i> <i>Intracellularis</i>	+	+	-	-
咽乾球菌 <i>Neisseria</i> <i>Sicca</i>	+	+	+	-
卡他球菌 <i>Neisseria</i> <i>Catarrhalis</i>	-	-	-	-
黃色球菌甲 <i>Neisseria</i> <i>perflava</i>	+	+	+	+
黃色球菌乙 <i>Neisseria</i> <i>Flava</i>	+	+	-	+
黃色球菌丙 <i>Neisseria</i> <i>Subflava</i>	+	+	-	-
副腦膜炎球菌 <i>Neisseria</i> <i>parameningitis</i>	+	+	-	-

4. 凝集試驗：

(甲)取十三個 7×75mm. 之小試管，分兩排置於架上，第一排七個，第二排六個，照下表稀釋馬血清及腦膜炎診斷血清。

第一表稀釋腦膜炎診斷血清

第一排 試管	生理食鹽水	多價腦膜炎血清	最後稀釋度
1-7	0	1/20 0.5C.C.	1/20

2	0.5C.C.	1/20 0.5C.C.	1/40
3	0.5C.C.	1/40 0.5C.C.	1/80
4	0.5C.C.	1/80 0.5C.C.	1/160
5	0.5C.C.	1/160 0.5C.C.	1/320
6	0.5C.C.	1/320 0.5C.C.	1/640
7	0.5C.C.	0	0

第二表馬血清稀釋表：

第一排 試管	生理食鹽水	健康馬血清	最後稀釋度
1	0	1/20 0.5C.C.	1/20
2	0. C.C.	1/20 0.5C.C.	1/40
3	0.5C.C.	1/40 0.5C.C.	1/80
4	0.5C.C.	1/80 0.5C.C.	1/160
5	0.5C.C.	1/160 0.5C.C.	1/320
6	0.5C.C.	1/320 0.5C.C.	1/640

(乙) 上法稀釋之各試管，使之各為半公撮，再加入菌
勻液，（以上法之二十四小時純菌培養物，以生

巧
內
(丙)結
如
非
如
現
此

(4) 咽喉中

(七) 外生殖器患處檢查：

- (1) 輕輕洗滌患處以除去膿樣液。
- (2) 採取自患處滲出之滲出液，（於必要時可用刀輕銳刮破患處之表面，令血清及少量血液滲出而採取該混合物）。一滴放於十分潔淨之玻片上，用玻蓋片覆蓋其上。
- (3) 在玻片底及玻蓋片上各滴油一小滴，然後於黑地映光鏡下檢視是否有梅毒螺旋體之存在。如係軟性下疳存在，標本應立刻接種於疑菌之不動性凝固兔血管內依Teague法培養之。

(八)尿道分泌液之淋病球菌檢查：

若非急於檢查，最好於早晨未小便之前，令患者，擠出其分泌物，塗於玻片上，固定後用革蘭氏法染色，檢視有無革蘭氏陰性雙球菌之存在，該菌係居於細胞內，為腎臟形。

在急性淋病者，可照下列方法培養，每得良好之結果。

1. 用無菌之生理食鹽水洗滌陽莖及尿道口。
2. 用白金耳插入尿道約寸許，採取膿樣之分泌物少許。
3. 接種於葡萄糖血瓊脂斜面培養基上，孵育於 37°C 十六至二十四小時。
4. 淋病球菌為灰白色，潮溼，而軟性之集落。
5. 照腦膜炎球菌鑑定法鑑定之，所用之血清為淋球菌血清。

(九)前列腺分泌物之檢查：

此分泌物之採取，概於病室中行之，使滴於玻片上，分作數個塗抹標本，用革蘭氏法染色，以檢視其有無革蘭氏陰性細胞內雙球菌之存在。

(十) 糞便及小便之檢查：

(傷寒菌組，赤痢菌組及腸炎菌組之檢查)

1. 標本之應用無菌技術採取，並須新鮮。
2. 立即接種於中國藍柔酸基中，作畫線法培養之。
3. 接種時，最好用白金耳採取糞便少許，置於五公撮之氣菌鹽水中混和，然後從此混合液以白金耳取出而培養之。

小便則應用離心器沉澱，以其沉澱物作培養。

4. 孵育 37°C ，十八至二十四小時後，用白金耳採取幾似傷寒或痢疾菌之集落(粉紅色集落)，移植於肉湯基中，孵育 37°C ，八至十小時。
5. 接種下列各種醱酵培養基中：
葡萄糖、 甘露糖、
乳糖、 蔗糖、
麥芽糖、 半固體培養基。
6. 孵育 37°C ，二十四小時。
7. 如有傷寒菌組，赤痢菌組，或腸炎菌組等發酵反應相符之細菌，則用凝集反應確定之，發酵反應見後

8. 凝集反應：

(a) 取7×5mm之試管七只，排列架上，照下表稀釋之。

試管	生理食鹽水	診斷血清	最後之稀釋度
1	0.5C.C.	1:40 0.5C.C.	1:80
2	0.5C.C.	1:80 0.5C.C.	1:160
3	0.5C.C.	1:160 0.5C.C.	1:320
4	0.5C.C.	1:320 0.5C.C.	1:640
5	0.5C.C.	1:640 0.5C.C.	1:1280
6	0.5C.C.	1:1280 0.5C.C.	1:2560
7	0.5C.C.	0	對照試驗

(b) 加肉湯基培養物於試管中各半公撮，

(c) 置45°C水浴中二至廿四小時。

所用之診斷血清，係特殊者，例如該發酵反應，為傷寒桿菌之發酵反應，則用傷寒桿菌之診斷血清，赤痢者，則用赤痢桿菌之診斷血清，餘仿此。

(d) 如為陽性反應，則可報告之為檢出某種菌。

小便中之結核桿菌檢查：

(A) 濃縮法：

收集二十四小時之小便標本，加入適量之醋酸，使成輕酸性反應，於每公升之小便中，加入二公撮之5%鞣酸溶液，靜置數小時後，收集其沉渣，以離心器沉澱之，用4%之氫氧化鈉溶液溶化其沉澱物，再以離心器沉澱之，傾去浮液，加入鹽酸一滴混合之，用此沉渣，培養於肥膽糖基，並用抗酸性染色法檢查之。

(B) 漂浮法：

收集二十四小時之小便標本於大燒瓶內，使小便達於瓶頸（如收集者不能達到瓶頸時可用蒸餾水稀釋之），因此可以減少其面積，然後加入二公撮之油，用力搖勻，使油與小便十分混合，靜置數小時，如此則瓶內之液體分為三層，以毛細吸管吸取油與小便之中間層液體，作塗抹標本，用抗酸性染色法染色檢查之。

便中之結核桿菌檢查：

濃縮法：用二至四倍之水將大便標本稀釋，混合

後可用紗布過濾之，將濾液用食鹽（每百公撮濾液加入四十公分食鹽）飽和之，靜置一小時後，取上層液體，加入四倍之2% 氫氧化鈉溶液，移置37°C 孵箱中孵育三小時，用離心器沉澱之，取其沉澱物作塗抹標本，用抗酸性染色法染色檢查之。

糞便中霍亂弧菌之檢查。

- (1) 接種糞便少許於鹼性之白布吞水中，孵育於37°C 六小時。
- (2) 以白金耳鈎取表面之細菌，接種於鹼性卵基，或 PH8.4 之瓊脂平皿中作畫線培養。
- (3) 次晨檢視平皿上有無疑似之集落（透明），並作一抹片標本，用稀釋複紅液單獨染色，或用革蘭氏法染色，檢視是否革蘭氏陰性之弧形菌，並作懸滴檢查視其是否作箭形之運動。
- (4) 若為革蘭氏陰性之弧形菌，並作箭形之運動者，即移植於白布吞水中，再以白金耳鈎取同樣之集落，用顯微鏡檢視法試驗其凝集反應，其法如下

用1/100之霍亂弧菌診斷血清一滴（霍亂弧菌診斷血清0.1c.c生理食鹽水9.9c.c.），置於玻片上，採取上項之集落，於鹽水及稀釋之血清各製成混懸液，立即檢視之，若為陽性反應，即可確定，否則，即孵育於37°C攝箱中半小時，如仍為陰性，則非為霍亂菌矣。

(5) 接種於百布吞水中之細菌，可作下列諸試驗：

(a) 發酵試驗：

接種於葡萄糖，乳糖，甘露糖，麥芽糖，蔗糖，及半固體培養基中，於37°C孵育十八至二十四小時，霍亂弧菌發酵葡萄糖，甘露糖，及麥芽糖。

(b) 凝集試驗：

可照傷寒桿菌之凝集試驗法試驗之。

(c) 霍亂紅反應：

將濃硫酸數滴，直接加入含菌之百布吞水中，如為霍亂菌，則呈紅色。

小便中之米利他熱桿菌及流產桿菌之檢查：

(1) 小便標本，宜用無菌技術採取之。

(2) 接種於數管PH6.8之瓊脂斜面中，接種量以二至三公撮為宜，孵育37°C烤箱中。

(3) 如數日後有集落形成，可按血液培養法確定之。培養該菌時，最好設法增加二羧化碳發力（例如將接種之斜面放入大玻璃罐中，另以枯草桿菌之培養物，同置於大玻璃罐中，將蓋蓋好密封嚴密，然後置於孵卵器中即可）。

(十一) 眼之細菌檢查：

1. 用生理食鹽水輕輕洗滌上眼皮。
2. 以棉花拭子，或白金耳蘸取眼之排出物少許。
3. 接種於含糖1% DEXTROSE之血瓊脂基中，於37°C
孵育十八至廿四小時，如尚未見生長，再繼續孵育一日。
4. 另作塗抹標本兩片，一用革蘭氏法染色，一用奈氏或蘭氏法染色。

5. 檢視培養之細菌集落。

注意：常能檢出者為葡萄球菌，乾燥桿菌(B. Xerosis)，肺炎球菌，淋病球菌，鏈球菌，嗜血性結合膜炎桿菌，及嗜血性亞急性結合膜炎桿菌，此外尚有他種

細菌可致眼疾者，可參見分佈於結合膜及淚道等之細菌條下。

(十二) 杜克雷氏下疳桿菌之檢查法：

- (1) 採取下疳潰瘍深部之膿液，作塗抹標本，用革蘭氏法染色，下疳桿菌為革蘭氏陰性鏈鎖狀球菌。
- (2) 培養方法：此菌於普通培養基中不能生長，且繁殖後易於死亡，法以已凝固之兔血加熱至 55°C ，十五分鐘，或以肉湯琼脂二份，加兔血或人血一份，蒸製成之斜面培養基，接種自橫痃 (Bubo) 抽出之膿少許於培養基之面上，孵育 37°C ，四十八小時，下疳桿菌為光明小灰色之集落，現輕微溶血現象，作塗抹標本，並用革蘭氏法染色，下疳桿菌為革蘭氏陰性，短小，雙極體，無動力之鏈鎖狀桿菌。

(十三) 鼠疫桿菌檢查法：

- (1) 自痰及腫脹之抽出液作塗抹標本，用革蘭氏法染色，鼠疫桿菌為革蘭氏陰性桿菌，菌之兩端染色較深。
- (2) 如患者現敗血症狀，取血培養於 PH7.8 至 8.2 肉湯基中，如有生長，移種於 PH7.8 至 8.2 之血琼脂斜面培養基中。

- (3) 培養於 37°C ，二十四小時後，鼠疫桿菌為灰白色半透明之集落，能在培養基面牽動，另移種單集落於血清肉湯基中，培養於 27.5°C 之箱中。
- (4) 接種於動物膠基中培養 22°C ，於箱中，鼠疫桿菌不溶化動物膠。
- (5) 用皮下注射法接種於天竺鼠之腹部皮下，如為鼠疫桿菌，則該鼠在三至五天內必死亡，於其血，肝脾，及腺體，可覓得大量之鼠疫桿菌。

(十四) 馬鼻疽桿菌之檢查：

- (1) 此菌常居於鼻排泄物，皮之破傷部，及臟器中。
- (2) 將採得之標本，接種於甘油琼脂基，或馬鈴薯培養中，該種培養基須具微酸性。
- (3) 培養 37°C ，二十四小時後，馬鼻疽桿菌為潮溼灰白色且半透明黏稠之集落，在馬鈴薯基上，先為淺黃色，如蜂蜜狀之集落，繼則為棕黃色之集落，染色時，每不能獲得十分滿意，因其每呈變態形也，用革蘭法染色為革蘭氏陰性，微彎之小桿菌。
- (4) 由其培養之純種，可用凝集試驗法確定之。

(十五) 回歸疏螺旋體之檢查：

回歸熱疏螺旋體，可自血片標本，直接用魏氏染劑，或先用木醇固定標本後，用稀釋之石炭酸複紅染色，在油浸鏡檢出之。

(十六) 齒螺旋體，喬森氏疏螺旋體之檢查：

- (A) 溼法：係用暗視野檢查之。
- (B) 乾法：係作塗片標本後，用熱固定之，用石炭酸複紅稀釋液染色，普通牙縫中，每有少數大螺旋體及小螺旋體之存在，健康者之咽喉部間亦有少數之喬森氏螺旋體存在，如發現數目過多，可視為病理現象。

(十七) 黃疸出血症勾端螺旋體之檢查：

- (1) 標本為尿及血。
- (2) 尿標本可用遠心器沉澱之，取其沉澱物，用暗視野檢查之。
- (3) 如用導管放出之尿，其沉澱物可接種於野口氏培養基中，用厭氣菌培養法培養之，同時注入於一天竺鼠之腹腔中。
- (4) 血標本（經加入枸橼酸鈉，而於患者得病後一星期後所採取者），可接種半公撮於天竺鼠之腹腔中。
- (5) 接種半公撮至一公撮於兔血清培養基中，以厭氣菌培

養法培養之。

- (6) 孵育 25°C ，之孵箱中，每星期用暗視野檢查方法檢查之，至少須檢查四星期。
- (7) 檢查天竺鼠之健康狀態，每日量其體溫，並稱其體重，檢查眼之結合膜及皮膚，有無發紅及出血，如有發紅及出血等症狀，自心臟取血二公撮，加入等量 1% 之枸橼酸鈉溶液，用暗視野方法檢查之，如檢出勾端螺旋體，將天竺鼠殺斃，檢視其內臟出血情形，特別注意肺臟及腺體。

(十八) 厭氣菌培養法：

厭氣菌之培養，方法頗多，茲將最實用而簡便者之方法舉之如次：

(A) 魏氏法(Wright)：

- (1) 將葡萄糖原脂基溶化，並涼至 $45-50^{\circ}\text{C}$ 。
- (2) 以白金耳蘸取培養物。用深穿刺液種法，接種之。
- (3) 用棉塞塞好，推入管內，約離管口二寸許。
- (4) 於棉塞上加 $1/4$ 寸之焦性沒食子酸。
- (5) 加百分之十氫氧化鈉二至三公撮。
- (6) 立以橡皮塞塞好。

(7) 於攝氏三十七度潯育之。

(B) 布氏法(Buchner)：

(1) 取帶緊塞之大口瓶一個。

(2) 按每百立方公分，置焦性沒食子酸，(Pyrogall-cacid)一公分。

(3) 將培養物之試管置瓶內。

(4) 按每一公分焦性沒食子酸加10%之氫氧化鈉十公撮。

(5) 將蓋蓋嚴。

(6) 置於孵卵器內潯育之。

C) 於肉湯上，置凡士林一層，以培養厭氣菌，其結果甚佳。

D) 以氫除氧法：此法可使培養環境絕對無氧，須用特製

之Novy氏罐，將培養物置於罐中，將氫放入而空氣換出，以試管倒置之，使接取罐之氫然後檢之，視其係藍色火焰否，如係藍色火焰，即知罐內之空氣已被氫換出矣。

氫之製備法：用長頸錐形瓶，內置鋅粒，以長柄漏斗傾入稀硫酸，將其放出之氣體，使之通過硝酸銀溶液(除去神經化 AsH_3)，醋酸鉛(除去 H_2S)，及焦性沒食

子酸，與氫氯化鈉之混合液（除去過剩之氫），然後引入至Novy罐中即可。

(十九)水之檢查法：

據歐美各國，衛生局所頒佈飲用水之規定，其細菌數目，每公撮不得超過一百，不得含有大腸桿菌組之細菌，其發酵試驗，在十公撮之發酵管，須用五管，而只限其中之一管呈酸性反應，且不得產氣過百分之二十。

(A)取水法：

(1) 取水瓶，瓶之容量須能容五十至二百公撮者。以布包裹，用高壓蒸氣滅菌器消毒，於十五磅壓力下歷時廿分鐘，或裹之以紙，用乾熱消毒器消毒，於攝氏一百五十度繼續一小時。

(2) 自來水管取水法：

先以酒精滌拭龍頭之出水部，俟乾後放水繼續五分鐘，然移放入瓶中，切不可使之觸及瓶口，以免污染。

(3) 自井及池沼中取水法：

用特製之鐵架及鐵鏟蘸酒精少許，以火焰灼之，使之消毒，將瓶設架上，擲入井中，至淺須離水面

一二尺，然後扯繩啓蓋使水流入瓶內，俟湧提出之，凡所取之水樣，較清潔者，自採取之時起至試驗時間，不得逾十二小時，較污者不得逾六小時。

(B) 細菌計算法：

- (1) 取無菌之生理食鹽水，以消毒之吸管，量取九公撮，注入已消毒之試管中，共備四管置於架上。
- (2) 取八管琼脂，或乳糖石蕊素琼脂，於沸水中溶化之，俟冷至 45°C ，並保持此溫度於溫水中。
- (3) 取陪替氏皿八套，分爲四對，上書明水之來源，及稀釋度，計一公撮兩個，十分之一公撮兩個，百分之一公撮者兩個，千分之一公撮者兩個。
- (4) 用吸管吸水各置一公撮於第一對之陪替氏皿內，再吸水一公撮置於試管之含有九公撮之生理食鹽水者，十分混合之，吸取此十分之一之稀釋液，置於第二對之陪替氏皿內，各一公撮，再吸十分之一稀釋液一公撮，置於第二試管之含有九公撮之生理食鹽水內，十分混合後，此液爲百分之一稀釋液度，吸取此液置於第三對之陪替氏皿內各一公撮，再吸取此液，一公撮置於第三試管內之

含有九公撮之生理食鹽水者，十分混合後，吸取此液於第四對之培養氏皿內各一公撮。

- (5) 將溶化之琼脂加入培養氏皿中，十分混合後，俟其凝固後，取一組(計無套，即含有一公撮，十分之一公撮，百分之一公撮，及千分之一公撮)，於37°C，孵箱中孵育之，另一組靜置於室溫下。
- (6) 在孵卵器中孵育之際培養氏皿，應孵育二十至小時，其在室溫者，則須四十八小時後，將計算其集落計算法：

如一公撮之平皿內，含菌過多，不可勝數，可數百分之一者，數時應分畫散佈於皿之表面，數其每格含集落若干，然後相加，並以稀釋度乘之，即得每公撮水中之含菌數矣。若菌數過多，可以細菌計算器計算之，計算器之面，係畫有一立方公分之格若干，可將培養氏皿置於畫格之玻璃下面計算之，數培養氏皿近透處四立方公釐所含之集落若干，如用普通之100×15公釐，則以四立方公釐所計得之集落，除4×68.61再乘稀釋度，即得每公撮水樣之含菌數矣。

(C) 發酵試驗：

(1) 取乳糖發酵管七支，照下列數量接種之，並孵育於
磨卵器中

十公撮者……………接種五試管。

一公撮者……………接種一試管。

十分之一公撮者……………接種一試管。

培養基之數量須兩倍於水樣。

(2) 推測試驗：

孵育二十四小時，各管皆無氣體產生，或只有一管產生少量之氣體，然不及百分之十時，再孵育二十四小時，如各管仍皆無氣體產生，或只有一管產生氣體，然不及百分之十時，則為陰性。該水樣可視為無大腸桿菌之存在。

如有氣體之產生，可紀錄氣體之數量，並須作以下之證實試驗：

(3) 大概證明試驗：

取含氣最少，而有氣體產生之試管，接種於中國藍柔酸基，及遠藤氏培養基，或伊紅美藍培養基中，孵育於三十七度二十四小時，如在中國藍柔酸基中發現藍

色集落，或在遠藤氏培養基中發現紅色集落時，則大概可以證明其為大腸桿菌屬，如未生長集落，或只生長類似之集落，則按下列各步試驗之：

(4) 完成試驗：

(a) 擇取單個集落，移植於肉湯中，孵育 37°C 六至八小時。

(b) 接種於乳糖發酵管，及斜面琼脂，暨半固體培養基中。

(c) 孵育 37°C 二十四小時，如乳糖發酵管未產氣，或產氣甚少，則孵育二十四小時。

(d) 自斜面琼脂中作抹片標本，用革蘭氏法染色，大腸桿菌為革蘭氏陰性，無芽胞之桿菌，並檢視半固體基，有無動力，如未能明視，可自琼脂斜面作一懸滴標本。

在顯微鏡檢視其動力，如在乳糖發酵管內產氣甚多。且為革蘭氏陰性，無芽胞之桿菌，而有動力者，則為陽性結果，可斷其為大腸菌屬，如仍未能確定其為陽性結果時，可另採取一十分類似大腸菌之集落，接種於肉湯中，孵育 37°C 六至八小時，自肉湯中接

種於乳石蕊素基，葡萄糖，乳糖，蔗糖，麥芽糖，卽
除糖等發酵管，雙糖基，丹漢氏百步吞水基等在一試
管中，孵育 37°C 二十四小時後，檢視其結果，可與後
列之表對照之，以其結果可斷定其爲大腸桿菌與否
，但不知其係自糞便中或非自糞便中而來也，其分別
之方法如下：

(D) 糞便大腸桿菌及非糞便大腸桿菌之辨識法：

- (1) 自水中分離出大腸桿菌(菌種)接種於下列之培養
基中，孵育於 37°C 。之孵卵器中四日。
 - (a) 丹漢氏百步吞水，
 - (b) 含2% 葡萄糖之丹漢氏百步吞水。
 - (c) 供甲基紅試驗之培養基。
 - (b) 斯密斯葡萄糖發酵管。
 - (e) 動物腦培養基。
 - (f) 蔗糖發酵管。
 - (g) Adonite 發酵管。
 - (h) 枸橼酸肉湯。
 - (i) 尿酵素培養基。
- (2) 四日後，自上項培養基作下列試驗：

(a) 靛基質反應試驗 (Indol test) :

取培養於丹漢氏培養基中四日後之培養物五公撮，加入五公撮萬尼林 (V. millin 五克，百分之九五酒精一百公撮)，再加入一公撮純硫酸，如顯紅色，即為陽性反應。

(b) 照格氏反應 (Voges Proskauer reaction) :

取含 2% 葡萄糖之丹漢氏百布吞培養基之三日培養物，加一公撮之 50% 氫氧化鉀，於室溫中二十四小時，如係陽性反應，則在面上現紅色，此乃產生 Acetyl-methyl-CarbiNol 之故也。

(c) 甲燒基紅試驗 (Methyl red test) :

取五公撮之三日培養物 (培養基同上)，加五千分之一之甲燒基紅，如現紅色，即為陽性反應，如顯黃色，則係陰性反應。

(d) 取 2% 氫氧化鈉，加入氣泡之中，以橡皮塞塞緊管口，檢視其剩餘之氣為幾何，未加入氫氧化鈉之前，須量其產生氣體之總量，其所吸收之氣體為二氧化碳。

(e) 如動物膠為液體狀物，則置於冰箱內，以檢視其

能凝固否，如未能凝固，則該動物膠已被溶解，最佳之法，乃將育此培養基於低溫孵卵器內，（ $20^{\circ}\text{C}.$ ），而另以不接種任何細菌之動物膠培養基，作為對照試驗之用。

- (f) 觀察其產酸及產氣否。
- (g) 觀察其產酸及產氣否。
- (h) 觀察其能生長否。
- (i) 觀察其能生長否。

附：

(1) 枸橼酸培養基：

磷酸銨鈉(Sod. Ammo. Phosphate).....	1.5gms.
磷酸二氫鉀(Pot. Dihydrogen phosphate)....	1.0gm.
硫酸鎂(mag. sulfate)	0.2gm.
枸橼酸鈉(Sod. citrate)	3.0gms.
蒸餾水(Dist. water)	1.000c.c.

(2) 尿酸試驗用之培養基：

氯化鈉(sod. chloride)	5.0gms.
硫酸鎂(mag. sulfate)	0.2gms.
氯化鈣(calcium chloride)	0.1gm.

磷酸氫二鉀(Pot. hydrogen phosphate)1.0gm.
 甘油(Glycerine).....50.gms.
 尿酸(uric acid)..... 0.5gm.
 無錫蒸餾水(Dist. water.
 Ammonia-Free)1.000c.c.

(3) 將上列各項結果記錄，其不潔之水，有為土壤植物種子，腐敗之果實，樹葉，及其他非糞便所污，而其細菌為非糞便之細菌，如為糞便所污，則可據上項記載而斷定其細菌為自糞便而來，或非自糞便而來者。

(a) 普通大腸桿菌，係自糞便而來，其試驗之結果，為不溶解動物膠，AdoNite發酵管，及蔗糖管，係陰性，甲烷基紅試驗陽性，服桔氏反應陰性，酪基質反應陽性。

(b) 產氣桿菌之非自糞便來者，其試驗之結果，為不溶解動物膠，AdoNite發酵管，及蔗糖發酵管，陽性；甲烷基紅試驗陰性，服桔氏反應陽性，酪基質反應陰性，於枸橼酸基中能生長。

(c) 陰溝桿菌，溶解動物膠，AdoNite，及蔗糖發酵管，陽性；甲烷基紅試驗陰性，服桔氏反應陽

性，靛基質陰性。

(二十)乳之檢查法：

(1) 細菌計算法：

(a) 取細菌試管六支排列架上。

(b) 每管注入消毒生理食鹽水九公撮。

(c) 取牛乳一撮置於第一試管內，十分混合後，此試管即含乳十分之一。

(d) 自第一試管取出一公撮置第二試管內，十分混合之，此試管即含乳百分之一。

(e) 照以上稀釋直至第六管。

試管一，每公撮含乳0.1公撮。

試管二，每公撮含乳0.01公撮。

試管三，每公撮含乳0.001公撮。

試管四，每公撮含乳0.0001公撮。

試管五，每公撮含乳0.00001公撮。

試管六，每公撮含乳0.000001公撮。

(f) 將肉湯琼脂及動物膠培養基溶化後，置 45°C. 水櫃中待用。

(g) 取無菌之培替氏皿七套，取上列試管內之稀釋乳

各一公撮，置於各皿內。

(h) 取已溶化之肉湯琼脂，傾入皿內，每皿一試管，輕輕搖動混合之，俟凝固後，移入孵箱中 37°C。

二十四小時孵育之，計算其集落數。

(i) 另取陪替氏皿七套，照上法接種之，於室溫中孵育四十八小時後，計算其集落。

據美國衛生部所規定之標準如下：

優等乳：每公撮含菌在一萬以下。

甲級乳：每公撮含菌不得過五萬。

乙級乳：每公撮含菌不得過廿萬。

丙級乳：每公撮含菌不得過一百萬。

丁級乳：每公撮含菌不得過五百萬。

甲級巴氏消毒乳：每公撮含菌不得過一萬。

乙級巴氏消毒乳：每公撮含菌數不得過十萬。

丙級巴氏消毒乳：每公撮含菌數不得過五十萬。

第三級乳不可生飲，只可用以烹調。

(2) 還原薄試驗：

此法係根據美藍少許，加入乳中後，則失其色澤，其失色之迅速，大抵對於細菌數目多寡而定，細菌數目

多者，失色速，少者失色慢，法以純美藍 1.1 公分，溶於五百公撮之蒸餾水中，臨用時取此。

1. 柯達公司出品之美藍液一公撮，加蒸餾水四十公撮，則得二萬分之美藍溶液，並煮沸數分鐘。

試法：取牛乳十公撮，加二萬分之一之美藍溶液於試管內混合之，置於 37°C . 水槽中，每十分鐘檢查一次，宜至退色而後已，優等之乳在五小時半後不退色，其菌數每公撮約含五十萬分以下，中等乳，可保留兩小時之久而不退色，但不能保留五小時半之久，此等乳之細菌數目，每公撮約含五十萬至四百萬。

劣等乳，可保留二十分鐘，但不能保留至二小時半之久。此等乳，每公撮約含菌四百萬至二千萬。

最劣等之乳，在二十分鐘內則退色，此等乳，每公撮約含菌二千萬以上。

此法雖不甚確實，然在實際上，頗為迅速，且有時乳中之不在普通培養基中生長之細菌，及不能直接染色之細菌，無法釐定其數量，但此等細菌，對於此項試驗法，頗有關係，故在氣試驗室設備之場合

中，此法頗稱便利，如細菌過多，則與培養計算法大抵同樣準確。

(廿一)凝集試驗：

(A) 抗原勻液之製備：

- (1) 將培養物接種於肉湯基中，並孵育 37°C 經18—24小時。
- (2) 於是將此培養物，塗佈於中國藍柔酸平板基，或血琼脂基上，並孵育於 37°C ，經18—24小時。
- (3) 分離一菌落移種於肉湯基中，並孵育於 37°C ，經18—24小時。
- (4) 移種於右旋糖，麥芽糖，甘露糖，蔗糖等發尿管，及醋酸基中，並孵育 37°C ，經18—24小時。
- (5) 假使培養反應正確，則用此菌之特殊免疫血清，行肉眼凝集反應。
- (6) 用有高凝集價之培養物，接種於PH7.6肉湯琼脂之Kolle氏燒瓶，並孵育於 37°C ，經24小時。
- (7) 用消毒鹽水洗下琼脂表面之菌落，並用鹽水稀釋，使成24小時培養之肉湯。
- (8) 於每公升菌勻液內，加入福爾馬林一公撮，放冰箱

內五至七日。

(9) 移植此菌液二公撮於含肉湯十五公撮之管內三管，並用白金耳移種於兩血琼脂平板上。

(10) 假使培養四十八小時後，仍無菌發育，則用其特殊之免疫血清試驗其凝集力，並用其類似菌之免疫血清試驗其交叉凝集力。

(11) 假使對於其特殊血清之凝集價甚高，並且不現交叉凝集現象，則將其分裝於無菌之一百公撮瓶內，每瓶蓋以橡皮塞，並貼簽註明為何型，量及製成日期。

(12) 此菌液每兩月應更換一次。

(B) 凝集試驗用之診斷血清之製備：

爲診斷用之凝集血清，如肺炎菌型，腦膜炎球菌，痢疾桿菌，霍亂弧菌，傷寒桿菌，副傷寒桿菌甲及乙等，可由各處購買，然設備比較完備之實驗室，均可自行製備之，茲舉例如下：

培養物：

(1) 取傷寒桿菌，副傷寒桿菌，或其他種之標準培養物。

(2) 鈎取一白金耳培養物，在兩中國藍柔酸平板基上，

行血線培養，對其他培養物，可用特殊之培養基培養之，溫度 37°C ，經24小時。

(3) 檢示發育，並標出兩正式不同之菌落，每種接種用肉湯管培養於 37°C ，於6-8小時後，移置於右旋糖，乳糖；麥芽糖，甘露糖，及蔗糖，丹漢管，並培養於 37°C ，經一夜。

(4) 移置有正鐵發酵反應之培養物於琼脂斜面，（一為兔免應用，一為再行接種），培養於 37°C ，經18小時。

(5) 於鏡下檢查一琼脂斜面如純淨，加生理食鹽水四公撮，並用無菌之玻璃棒攪拌之，將其移於無菌試管

(5) 如需用死培養物，則加熱至 60°C ，半小時。

(7) 稀釋此勻液，使每公撮含所需量。

(8) 在末製備第二次劑量前18小時，由第二培養物，接種二琼脂斜面，一為兔免應用，一為將來養重耳兔免疫法：

(1) 選擇重1800-2000公分之正常家兔兩隻。

- (2) 由兔耳取血二公撮，用血清其菌液行凝集反應試驗，檢其有無正常凝集素。

注射：

- (1) 第一日注射已死之24小時琼脂斜面培養物1/10c.c. 於腹腔內。
- (2) 第三日注射已死之24小時琼脂斜面培養物1/10c.c. 於靜脈內。
- (3) 第五、七及九日注射生活之24小時琼脂斜面培養物於靜脈內。

取血：

- (1) 第十四日先自耳取血1—2c.c.，用原來用以免疫之網膜，及共同類菌，作凝集試驗，假使效價已高(1:5,000—1:10,000)，及與異型或共同族亞類，不發生交叉凝集現象，則可於一日前不予其任何食物，以便取血。
- (2) 第十五日自頸動脈或心臟出血，令其凝集，必需時可用無菌玻璃棒搗碎凝集塊，放之於試管或燒瓶內，貯留於冰箱內一夜。
- (3) 第十六日按仿舊法，採集此血清，放於無菌之試

管內。

正式試驗：

- (1) 按八管一列，將試管放於架上。
- (2) 前八管內依次放入下列稀釋血清1c.c.：

1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160, 1 : 320
1 : 640, 1 : 1280, 1 : 2,560。
- 於第九管注入鹽水1c.c.作為對照。
- (3) 每管加入細菌勻液一公撮，其血清確實稀釋度，恰為上記之倍。
- (4) 搖動試管，孵育於50°C.水箱中18小時。
- (5) 其結果紀錄為“+”，“-”，並按其凝集程度為1, 2, 3, 4, 或c.作凝集試驗之血清稀釋法。極為不同，但一般皆採取上法。

(廿二)自家菌液之製備：

凡屬急性，或慢性疾病，皆可自病人直接採取菌種，製造菌液，以行治療，其法如下：

(甲)分離培養：

- (1) 凡欲製成疫苗之檢查物，亦先作分離培養，法由標本之培養物，選擇三種可疑菌落，各接種於適

宜之培養基內。

- (2) 放於 37°C 。孵育廿四小時。
- (3) 將所生各種菌落，各作一菌片標本，於染後檢查。
- (4) 用劃線法，接種於血琼脂平板基上，並移種於宜之琼脂斜面基上。
- (5) 放於 37°C 。孵卵器中，如培養葡萄球菌，則經十八小時，如鏈菌，或肺炎雙球菌，則須至十六至廿四小時。
- (6) 假使血琼脂平板不見任何污染菌落，復於鏡下檢查亦甚純淨時，則可按下列法製成乳劑。
若仍有雜菌污染，則由此平板再行分離培養可也。

(乙)乳劑製備：

- (1) 用吸管吸取消毒鹽水三公撮，注入試管內，靜置十分鐘，隨加入菌落，搖動試管，使成勻液。
- (2) 將此勻液用遠心器低速度沈澱五分鐘，使琼脂片沈落管底。
- (3) 吸出上層乳液，注入於含玻璃珠已消毒之較厚燒

瓶內，放於搖動機 (Shake Machine) 上搖盪之，使菌塊破壞而成乳液。

- (4) 將乳液之一部注入於小試管內，以備計算細菌數目，其餘注入於消毒瓶內，加以橡皮栓，以備消毒。

(丙) 標準規定法：

計算細菌數目之多寡，用計算血球法計算之，茲述之如下：

- (1) 用白血球吸管 (White Counting Pipette)，吸取乳液至 0.5 記號處，再吸凱利生氏液 (Callison's Solution) 至 11 記號處以稀釋之。

凱利生氏液：

鹽酸 (Hydrochloric acid).....2c.c.
 昇汞 (Bichloride of mercury,
 1 : 500 aqueous Sol).....100c.c.
 酸性複紅 (Acid fuchsin, 1%
 aqueous Solution).....適量

充分滴加酸性複紅液，使成櫻紅色而後已，加好則過濾之。

(2) 於吸管內竭力搖盪混合之，隨滴加於計算室(Counting Chamber) 上一滴，然後將特製之厚玻璃片覆於其上。

(3) 俟細菌在計算室內存留半小時後，始可實行計算

(4) 先數多數小方格內之細菌總數，再用小方格數除之，即得每小方格之平均菌數，隨用四千乘之，再用廿乘之，即得每 Cu m.m. 之菌數，再用一千乘之，即得每 c.c. 之菌數，設若菌液極濃厚，則用赤血球吸管(Red Cell Pipette)，吸取直接法計算之，另外有一種代替法，即用一製得之不透明標準計，(Burroughs Welcome)公司所製者，頗便於用，其中含有多數標準不透明管，各管皆精量勻液乾重，以預知其所含菌數，取粗製菌液與各管比較其不透明度。

手續：將細菌液注入與標準管同大之試管內，將管放於光線充足印刷清晰之管上，將各管逐次與含菌液比較，至不透明度相同，並記載之，於是用鹽水稀釋至所用之量。

(丁)消毒法：

- (1) 將乳液瓶用橡皮塞嚴密封好，放於 56—60°C 水箱內經一小時，然後取此乳液試行培養，以視其有無菌落發育。
- (2) 接種三白金耳乳液於兩個 PH7.6 之肉浸液管 (meat infusion bouillon)，及兩個血環脂平板之內，並應特別注意。勿使已熱之菌液污染。
- (3) 放於 37°C 孵卵器中 48 小時，如無任何菌落發育，則可將此菌液稀釋應用。

(戊)稀釋法及加入防腐劑法：

- (1) 菌液用瀉水稀釋，使每公撮含有菌數，適合於用，不致過濃，例如菌液每公撮含有黃色葡萄球菌廿萬萬，如欲使每公撮含有十萬萬，並欲製備十公撮，則可吸菌液五公撮，注入於消毒瓶內，再加入五公撮消毒生理食鹽水即可。
- (2) 隨即竭力混合之，並於每公撮加入 5% 石炭酸溶液 0.1 公撮，如此則上列十公撮即應加 5% 石炭酸溶液一公撮，然後塞以消毒橡皮栓，貼以紙簽，注明號數，日期，菌名，及每公撮中含菌數目。

(3) 普通菌液含有之菌數：

鏈球菌.....	5—50 Million
肺炎雙球菌.....	5—50 "
大腸桿菌.....	5—50 "
淋病雙球菌.....	50—500 "
傷寒桿菌.....	100—1,000 "
米利他熱桿菌.....	50—1,000 "
葡萄球菌.....	100—1,000 "

(廿三) 乏色曼氏反應試驗 (補體結合試驗)。

(一) 玻璃器之預備：

- (1) 玻璃管及瓶用自流水洗沖，復用胰皂水洗刷，然後再用自流水沖洗數次。倒置於鐵絲籃內，放於 160°C . 熱氣爐中消毒乾燥之。
- (2) 吸管用畢放之於瓶底有棉墊之含水廣口瓶內，並用流水洗滌，洗畢放於鐵筒內，亦於熱氣爐中消毒。
- (3) 燒瓶塞以棉栓後，於 160°C . 消毒二小時。
- (4) 粗玻璃器，則放於重鉻酸鹽液 (bichromate) 二十四小時浸洗 (重鉻酸鉀二份，硫酸三分，水二十

五份)，後用自流水洗之如1條。

(二)必需器材：

(1) 吸管	1c.c.	每度	0.01c.c.
	5c.c.	每度	0.1c.c.
	10c.c.	每度	0.5c.c.
	14.4c.c.	每度	1.2c.c.

(2) 試管：85mm. × 14mm. 無層者。

(3) 量杯，即附有玻璃塞，且刻度之100c.c. 量杯。

(4) 洗羊血用之濾心沉澱器及沉澱用瓶。

(5) 注射器5c.c.，10c.c.，20c.c.，及針各一具（針

頭直徑及長度如下 $20 \times 1 \frac{1}{4}$ ， $19 \times 1 \frac{1}{4}$ ，

$19 \times 1 \frac{3}{4}$ ， $17 \times 2 \frac{1}{2}$ ）。

(6) 試管架，用電鍍鐵所製有12—20列，每列可容六個試管。

(7) 水浴55°c. 及38°c. 者各一。

(8) 冰箱1保持6°—8°c. 溫者為宜。

(三)試品：

- (1) 生理鹽水：用化學上乾結食鹽 8.5 公分，溶於一公升蒸餾水內，放於阿諾氏滅菌器內加熱一小時。
- (2) 2% 綿羊血球勻液 (Sheep corpuscle sus— Pension 2Per sent) :
 - (a) 用無菌法由綿羊外頸靜脈取血，注入於已消毒內含玻璃珠之燒瓶內，搖動十五至二十分鐘，破壞纖維素，以防止其凝固。
 - (b) 按所需量將羊血注入於沉澱管內，加三至四倍食鹽水，置於遠心沉澱器內，用中等速度旋轉五分鐘。
 - (c) 用毛細管吸取上層液，復用同量食鹽水，倒轉數次，使其混合，再用遠心沉澱器如上述法沉澱之。
 - (d) 第三次洗滌時，其沉澱之時間宜長，約十分鐘，總以血球平均密集管底為止，（每次血球洗滌，須俟其上層液完全清淨而後已，如洗滌四次以上，則血球易碎不適於用。）
 - (e) 將洗滌之密集血球 2c. c. , 加 98c. c. 鹽水，復

成百分之二勻液。每次預備勻液，最好一次即行製備足供全試驗之用，血球勻液，不用時應存於冰箱內。

(6) 每使用之前，應微加搖動，方為妥善，因勻液中各分子（血球）均有下沉傾向故也。

(8) 抗羊血球溶解素：(Antisheep Hemolysin) 。

同時至少注射兩家兔，每家兔的靜脈注射法如下：

：

第一日 10%密集棉羊血球勻液 1c.c.

第二日 ,, ,, ,, ,, ,, ,, 2c.c.

第三日 ,, ,, ,, ,, ,, ,, 2c.c.

第四日至七日停止注射

第八日 10%密集棉羊血球勻液 1c.c.

第九日 ,, ,, ,, ,, ,, 2c.c.

第十日 ,, ,, ,, ,, ,, 3c.c.

於第十一日由兔之耳靜脈取血2c.c.，凝固後取出血清，並滴其溶解血球之單位。若溶化之力量甚弱，不適於用，再按前法於第十五，十六，十七日連續注射密集血球三日，第十八日取血清定之。

普通於注射後第十二或第十三日已可得最高效價血清，平均約為 1 : 2000。此時吸盡兔心之血，注入平碟內，於室頂中放置片時，俟血凝結，再將血塊敲碎，放置數小時施行沉澱。

用吸管吸出清晰血清，注入無菌試管，並沉澱之。將此清晰血清注入壺腹並封閉之。如溶血素無菌，不加防腐藥即可保存，如果不敢說當製造時必無菌，最好加入等量之純甘油然後加熱。放於 56°C。水箱內半小時，便成不動性，然後保存於冰箱內。

適宜之溶血素，也可將棉羊血注於猴身得之，由此動物所製之溶血素，主要優點，便是効價固定。然小試驗室多不蓄猴，故僅於大試驗室用之，令猴免疫，據一般經驗，須經一月以上，注射時宜按序間隔，並漸加注射量，起始用 10% 棉羊血球勻液 10c.c.，最後用密集血球。

(4) 補體 (Complement) : 先將 10c.c. 注射器及針

(Gauge 19 × 1 $\frac{1}{4}$)，煮沸消毒。並預令三未凝

之大天竺鼠，於十二小時前禁絕飲食，然後由其心臟取血。

用下法自天竺鼠心臟取血，須有經驗始可。即先使其仰臥，固定板上，剃去左胸壁之毛，並行消毒，隨用針迅速刺入心臟搏動最強處，如已刺入心室，微加吸引，血即流入針內。每天竺鼠約可取5—10c.c. 血，注入培替氏皿內，使其凝固。如再取天竺鼠之血，須令其休息四星期後始可。需用玻璃棒將凝固血破碎，放於37°C. 溫箱內，經一小時，用離心沉澱器沉澱後，再用吸管吸出血清。

由此分離之清晰血清，即作補體之用，如暫不用時，應放入冰箱內保存。經二十四小時以上之補體，即不可用。

(5) 抗原 (Antigen) : kolmer's 之抗原，由牛心肌膽脂素 (Cholesterol) 而成。其製法如下：

(a) 醚浸漬 (Ether Extraction) : 取牛心肌粉25公分與100c.c. 混合，裝入於附有嚴密塞子之瓶內，於室溫中放置五日，每日搖動

數次，（如待用甚急，可用 100c.c. 藥與 15 公分牛心肌粉混合，置于 Soxhlet 氏消毒器內，經十八小時即可），第五日將此浸漬液濾過，保存於嚴密塞子瓶內，此即為第一次醇浸漬物“Primary ether extract”。

(b) 醋酮不溶性浸漬 (Aceton Insoluble Extract) :

1. 95% 酒精浸漬法：先將醇所浸漬之牛心肌粉，攤佈于玻璃板上，乾燥之，然後放入瓶中，加 95% 酒精 200c.c. 放置 37°C. 馬卵箱中四日，每日搖盪數次，至第九日濾過之，將牛心肌粉貯藏於瓶內，以備第 3 條浸漬之用。另將濾過液注入于淺玻璃皿內，用電扇搗之使乾，或置於溫箱中使乾。

俟乾後，即將其殘渣加藥 30—50c.c. 溶化之。約經二小時，然後吸取上層清液，加入於第一次醇浸漬液內。

2. 醋酮沉澱法 (Aceton Precipitation) : 將

上所成之浸漬液，即兩次腐浸漬液，用電扇風之，使波去全量 $\frac{1}{4}$ 約餘25—30c.c.

之濃厚液即可。于此加入六倍 (150c.c.) 純醋酐。結果成爲白沉澱，放置數小時或經一夜，然後將醋酐不溶部拋棄。次日吸出上層醋酐，將所賸殘渣，放於廣口瓶內，並覆以新鮮醋酐。此即爲醋酐不溶性脂質 (Aceton insoluble lipid portion)。

3. 純酒精浸漬：將前「2」[a]所貯藏之已腐浸漬之牛心肌粉，加無醋酐酒精100c.c. (Absolute acetone-free ethyl alcohol)，即放置於 37°c. 孵卵器中六日，不使蒸發，時加搖盪，並可放於搖動機內搖動一日，然後用脫脂濾紙過濾，是爲酒精浸漬物 (Alcohol extract)。

4. 加膽脂素法 (Cholesterol added)：溶解 0.2 公分純膽脂素，及所有醋酐不溶性脂質於10或20c.c. 純醚內，更慢加絮狀糖

色液，於酒精浸漬物內。振盪之，置於孵卵器中一夜，然後在室溫中貯藏一二日，並時加搖盪之。

5. 用濾紙過濾所有沉澱，此濾過液即爲抗原。

於檢定單位後，宜注入於嚴口褐色瓶，貯存於室溫中，並於瓶上貼一紙簽，記載抗原號數，及其確定單位。

- (6) 試驗血清 (Serum for test)：用無菌法採取病人血液5c.c. 放於消毒管內，俟其凝固，置於冰箱中一夜，取其已分離之血清，注入於消毒試管內，如血塊仍黏附於管壁，則用玻璃棒使血塊與管壁分離，用遠心沉澱器，分離其血清。若貯存及郵寄，最好用全凝集血，因如此則血清不易起抗補體質。於試驗之前，應放血清於55°—56°水浴箱中十五分鐘，使成不動性。

(四) 効價滴定法 (Titrations)：

血球溶解素，及補體之單位，每當試驗之前，皆以滴定。抗原之單位每月檢一次即可。

(1) 血球溶解素之滴定：

按下表比例，將各試管振盪混合均勻，再行放於
37°C，冰箱內一小時，然後視其結果。

血球溶解素之稀釋

試管	血球溶解素量	鹽 水	稀釋倍數
1	0.5C.C. 1:100	1.0 C.C.	1:300
2	,, 1:100	1.5 C.C.	1:400
3	,, 1:100	2.0 C.C.	1:500
4	,, 1:300	0.5 C.C.	1:600
5	,, 1:400	,,	1:800
6	,, 1:500	,,	1:1,000
7	,, 1:600	,,	1:1,200
8	,, 1:800	,,	1:1,600
9	,, 1:1,000	,,	1:2,000
10	,, 1:1,200	,,	1:2,400
11	,, 1:1,600	,,	1:8,200
12	,, 1:2,000	,,	1:4,000

13	,, 1:2,400	,,	1:4,800
14	,, 1:3,200	,,	1:6,400

凡最高稀釋溶解素，具有完全溶血力者，即為 1 單位 [Unit]。

但在實際試驗時，皆用兩單位，故每 0.5c.c. 之稀釋血球溶解素，須含兩單位。

第二表 血球溶解素滴定表

試管	血球溶解素	佛體 1:30	鹽水	2% 羊赤 血球勻液	於 三 十 度 溫 箱 內 放 置 一 小 時	結 果
1	0.5CC 1:300	0.3 C.C.	1.7 C.C.	0.5 C.C.		完全溶解
2	1:400	,,	,,	,,		,,
3	1:500	,,	,,	,,		,,
4	1:600	,,	,,	,,		,,
5	1:800	,,	,,	,,		,,
6	1:1,000	,,	,,	,,		,,
7	1:1,200	,,	,,	,,		,,
8	1:1,600	,,	,,	,,		,,
9	1:2,000	,,	,,	,,		,,

10	1 : 2,400	,,	,,	,,	微有不溶化血球，大部份未溶化，輕微溶化，完全不溶化。
11	1 : 3,200	,,	,,	,,	
12	1 : 4,000	,,	,,	,,	
13	1 : 4,800	,,	,,	,,	
14	1 : 6,400	,,	,,	,,	

按上列血球溶解素之單位，可檢定爲第十管，即 1 : 2400 之 0.5c.c. 爲一單位，若兩單位則爲 1 : 1200 之 0.5c.c. 故 1% 血球溶解素之每 1c.c. 加 1c.c. 食鹽水，即成爲每 0.5c.c. 含兩單位之溶解素。

(2) 補體滴定 (Titration of Complement)

試管	三十倍稀釋之補體	十單位抗原	食鹽水	於三十八度溫水箱內一小時	單位之溶血	2% 羊血球	放於三十七度溫水箱中一小	結果
1	0.1 C.C.	0.5 CC	1.4 C.C.	0.5 CC	0.5 CC			不溶
2	0.15 CC	,,	1.35 C.C.	,,	,,			,,
3	0.2 CC	,,	1.3 CC	,,	,,			微溶
4	0.25 CC	,,	1.25 CC	,,	,,			輕微痕跡
5	0.3 CC	,,	1.2 CC	,,	,,			全溶

6	0.85 CC	..	1.15 CC	時	..
7	0.4 CC	..	1.1 C.C.
8	0.45 CC	..	1.05 CC
9	0.5 CC	..	1.0 CC
10	—	—	2.5 CC

凡補體最小量，能使一定量血球完全溶解者，謂之爲一確定補體單位 (Exact unit)。其次管即謂之爲最高單位 (Full unit)。

於實際試驗時，須用兩最高單位補體，即將補體稀釋爲每 1c.c.，內含兩單位是也。

由上表檢定單位如下：

補體確定單位 0.30c.c.

補體最高單位 0.35c.c.

補體兩最高單位 0.70c.c.

欲計算補體須如何稀釋，始能使每 cc 補體含兩個單位

，即用補體兩最高單位，除其原稀釋度即得，如 $\frac{30}{0.7}$

42.86 是也。

所以1c.c.，不稀釋補體加41,86食鹽水，則每c.c.內含兩單位，此外凡稀釋補體，須足一次試驗之用，普通每一病人之血清試驗，須用稀釋之補體600°。

上表所用補體為1:30倍稀釋，但有時補體濃度過低，此種稀釋，不適用於用。此可因用蒸餾水製成之鹽水，含有抗補體質之故。此時如加6.01%硫酸鎂(Magnesium sulphate)，或氯化物(Chlorid)，於水內，則可改善其濃度。用生水製之鹽水，有時可改正補體之濃度。

假使此法仍無效，只可用1:20倍稀釋之抗補體矣，水實驗室中補體之貯藏：欲貯藏補體，可用下法：自天竺鼠內取血清，一如上法所述，每1c.c.，補體加入化學上純氯化鈉(Sodium chloride)0.3公分，此種補體可分裝於琥珀色壺腹內，或貯於黑色嚴密玻璃瓶內，放於冰箱中，用時每1c.c.補體加蒸餾水29c.c.，此種無菌之補體，其効力約可持三星期。

(3) 抗原滴定(Titration of Antigen)：

抗原稀釋

試管	抗	原	食鹽水	稀釋度
----	---	---	-----	-----

1	不稀釋者	0.5C.C.	1.5C.C.	1:4
2	,,	0.5C.C.	2.0C.C.	1:5
3	,,	0.5C.C.	2.5C.C.	1:6
4	1:4稀釋者	1.0C.C.	1.0C.C.	1:8
5	1:5	,, 1.5C.C.	1.5C.C.	1:10
6	1:6	,, 1.0C.C.	1.0C.C.	1:12
7	1:8	,, 1.0C.C.	1.0C.C.	1:16
8	1:10	,, 1.0C.C.	1.0C.C.	1:20
9	1:12	,, 1.0C.C.	1.0C.C.	1:24
10	1:16	,, 1.0C.C.	1.0C.C.	1:32

(1) 抗原溶解血球力之測定

(Hemolytic titration of Antigen)

試管	抗 原	不動性正 常人血清 1:10	食鹽水	振盪之 2. % 羊赤 血球溶液 之放 六至 八度	於三 十八 度水 箱內 經	溶解赤 血球力
1	1:4 0.5C.C.	0.5C.C.	1.5C.C.	0.5C.C.		輕微溶
2	1:5 ,,	,,	,,	,,		不溶解
3	1:6 ,,	,,	,,	,,		,,

4	1:3	試管內 十六至 十八小時	..	一小時	..
5	1:10
6	1:12
7	1:16
8	1:20
9	1:24
10	1:32

由上表檢查，可知此抗原稀釋至四分之一半c.c.，始微顯溶解赤血球之現象。如若稀釋高過四分之一，則無溶解之力，故此四分之一稀釋，即抗原能溶解赤血球之最小量。

(2) 抗原之抗補體滴定法

(Anticomplementary Titration of Antigen)

試管	抗原 0.5 CC	會加熱正 常血清 1:10	兩最其 單位之 補體	內經五至十分鐘 微加振盪放於六至	兩單血 位球溶 液素	2%羊赤 血球液	置於三十八度水 箱	結果
1	1:4	0.5 C.C.	1.0 C.C.	至	0.5	0.5 C.C.		不溶
2	1:5	至		微溶

3	1:6	,,	,,	度冰箱內經十六至十八小時復入三十八度冰箱	,,	,,	箱內經一小時	單位)全溶
4	1:8	,,	,,		,,	,,		,,
5	1:10	,,	,,		,,	,,		,,
6	1:12	,,	,,		,,	,,		,,
7	1:16	,,	,,		,,	,,		,,
8	1:20	,,	,,		,,	,,		,,
9	1:24	,,	,,		,,	,,		,,
10	1:32	,,	,,		,,	,,		,,
11	0.5C.C. 鹽水	,,	,,		,,	,,		,,
12	1.0C.C. 鹽水	—	,,		,,	,,		,,

此抗補體單位，即能阻止溶血的最小量抗體，此抗原1:6倍稀釋常發生抗補體。表中第11管為血清對照，第十二管為溶血對照。

可不用血清而代以鹽水。

(3) 抗原摘定：抗原稀釋法

試管	抗	原	食鹽水	稀釋度
1	1:10	0.1C.C.	2.9C.C.	1:300

2	1:10	0.1C.C.	3.9C.C.	1:400
3	1:10	0.1C.C.	4.9C.C.	1:500
4	1:300	1C.C.	1.0C.C.	1:600
5	1:400	10C.C.	1.0C.C.	1:800
6	1:500	10C.C.	1.0C.C.	1:1,000
7	1:600	10C.C.	1.0C.C.	1:1,200
8	1:800	10C.C.	1.0C.C.	1:1,600
9	1:1,000	10C.C.	1.0C.C.	1:2,000
10	1:1,200	10C.C.	1.0C.C.	1:2,400
11	1:1,600	10C.C.	1.0C.C.	1:3,200
12	1:2,000	10C.C.	1.0C.C.	1:4,000

用上列抗原稀釋液，於已知之梅毒血清，行抗原檢定如下表：

此抗原之一單位，即用最小量之抗原，能發生阻止溶血現象者，如下表第九試管 1:2,000 之 0.5c.c.，即為抗原之一單位是也。第十三管為血清對照管，第十四為溶血對照管。

在實際試驗上用十個單位抗原，故稀釋抗原應使每 0.

5c.c.含有十個單位。由下表單位之檢定：

滴定抗原之單位表

試管	抗原 0.5CC	加熱梅毒 血清1:10	最高之 單位補體	微箱內，經 加度，經五至 十分鐘。置於 六至八度冰箱 內。經十六至 十八小時然後 置於三十八度 水	單位 溶解素	2%羊 赤血球 液勻	置於三十八度 水箱內管一小時	結果
1	1:200	0.5 C.C.	1.0 C.C.	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水	0.5 C.C.	0.5 C.C.		不溶
2	1:400	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
3	1:500	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
4	1:600	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
5	1:800	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
6	1:1,000	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
7	1:1,200	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
8	1:1,600	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
9	1:2,000	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水		單位
10	1:2,400	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水		微溶
11	1:3,200	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水		痕跡
12	1:4,000	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水		全溶
13	0.5 C.C. 鹽水	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水
14	1.0 C.C. 鹽水	置於六至八度冰箱內。經十六至十八小時然後置於三十八度水

舉例如下：——

—抗原單位爲1：2,000稀釋之0.5c.c.。

劑量(十抗原單位)，則爲1：200稀釋之0.5c.c.。

十抗原單位，普通皆較抗原的抗補體，或溶血單位小30—60倍，抗原於室溫中，可保存一年以上。

(五)定量的補體結合試驗：(The Quantitative complement Fixation Test)：

(1)病人血清之稀釋法：

(a) 將各個血清皆使成不動性，並預備六管。

(b) 按下列之鹽水量注入於六管中。

1.2c.c.，0.5c.c.，0.5c.c.，2.0c.c.，
0.5c.c.，0.5c.c.，

(c) 吸取0.3c.c.，清晰且不動性血清，注於第一管中混合之。

(d) 由此管吸出0.5c.c.，移入第二管，另吸0.5c.c.，移入第六管。

(e) 將第二管混合後吸取0.5c.c.，移入第三管。

(f) 將第三管混合後吸取0.5c.c.，移入第四管。

(g) 將第四管混合後吸取1.0c.c.，拋棄餘液。

復將所吸出之 $1.0c.c.$ ，留存 $0.5c.c.$ 於第四管，移法 $0.5c.c.$ 於第五管。

(h) 第五管混合後棄去 $0.5c.c.$ 。

(i) 第六管含 $1c.c.$ 作對照用。

此時各試管俱含 $0.5c.c.$ 液體，但所含血清量各管不同，前五管所含量為 $0.1c.c.$ ， $0.05cc$ ， $0.025cc$ ， 0.005 ， $0.0025cc$ ，其第六管內則含有 $0.1cc$ ，用為血清對照管。

(2) 脊髓液稀釋法：

(a) 每脊髓液亦預備六個試管。

(b) 第二，三，四，五，及六管內，加入 $0.5c.c.$ 鹽水。

(c) 第一，二，及第六管內，加入 $0.5c.c.$ 新鮮脊髓液。

(d) 將第二管混合之，吸取 $0.5c.c.$ ，注入第三管。

(e) 第三管混合後，吸取 $0.5c.c.$ 注入第四管。

(f) 第四管混合後，吸取 $0.5c.c.$ ，注入第五管。

(g) 將第五管混合後，吸取 $0.5c.c.$ 棄之。

此時每管含 $0.5c.c.$ 液體，但所含脊髓液量不同，即 $0.$

5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125, 另第六管加入鹽水0.5cc, 以與脊髓液混合作爲對照之用。

對照管：於實際試驗時，除下表所列抗原，血球溶解素，及羊赤血球等，對照管外，復作梅毒及無傷素血清對照管，其法與試驗各血清之手續相同。

試驗式

試管	0.5C.C. 病人血清*		抗原 (10單位)	補 體 (兩單位) (單位)	經 五至十分鐘 於六至八度水箱內經十五至十八小時然後放入冰箱中	血球溶 解素 (兩單位)	% 血球
	血	清					
1	0.1C.C.	0.1C.C.	0.5C.C.	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
2	0.05C.C.	0.05C.C.	0.5C.C.	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
3	0.025C.C.	0.025C.C.	0.5C.C.	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
4	0.005C.C.	0.005C.C.	0.5C.C.	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
5	0.0025C.C.	0.0025C.C.	0.5C.C.	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
6	0.1C.C. (對照)		—	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
7**	抗原對照 0.5C.C. 鹽水		0.5C.C.	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
8**	血球溶劑對照 1.0C.C. 鹽水		—	1.0C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.	0.5C.C.
9**	羊赤血球對照		—	2.5C.C. 鹽水	—	—	0.5C.C.

放於三十八度水箱中經一小時

骨髓液量： 0.5， 0.25， 0.125， 0.0625，

0.03125及0.5c.c. (對照)。

一日之中，無論若干試驗，只作一對照即可，如上表

之**，**，***。

結果之記錄

(Interpretation of Results)

反應號	血清					結果
	試管一	試管二	試管三	試管四	試管五	
	0.1 C.C.	0.05 C.C.	0.025 C.C.	0.0125 C.C.	0.0025 C.C.	
1	++++	++++	++++	+++	++	最陽性
	++++	++++	++++	++	+	
	++++	++++	+++	+	-	
2	++++	++++	++++	++	-	強陽性
	+++	+++	++	-	-	
	++	+	+	-	-	
3	++++	+++	+	-	-	中等陽性
	+++	++	-	-	-	
	++	+	-	-	-	
4	+++	+	-	-	-	弱陽性
	++	-	-	-	-	
	+	-	-	-	-	
5	+	+	+	-	-	可疑
	+	+	-	-	-	
	+	-	-	-	-	
6	-	-	-	-	-	陰性

1. 最強陽性反應：即前四管或五管之補體全行結合，或一部份結合。
2. 弱陽性反應：即前三管之補體一部份或全行結合。
3. 中等陽性反應：即前二管之補體一部份或全體結合。
4. 弱陽性反應：只第一管之補體一部份或全體結合。
5. 可疑反應：只有輕微之補體結合呈現於第一第二等管，更弱於弱陽性。
6. 陰性反應：所有試管皆呈溶血現象。
7. 抗補體：假使對照管一部分或全部分呈不溶現象時，即為抗補體。

(廿四) 康氏梅毒反應試驗

(Kahn test for syphilis)

(甲) 抗體原之滴定法：(Antigen titration)

(a) 將抗體原照下表稀釋之：

試管	甲	乙	丙	丁	戊	己
抗體原	1.C.C.	1.C.C.	1.C.C.	1.C.C.	1.C.C.	1.C.C.
生理鹽水	0.9C.C.	0.9C.C.	1.0C.C.	1.1C.C.	1.2C.C.	1.3C.C.

- (b) 稀釋時將鹽水之試管傾鹽水於抗體原之試管內，往返傾覆約十二次，使十分混合，靜置卅分鐘
- (c) 按下表滴定之：

稀抗體原液	抗體原	每試管各加生理鹽水 0.5 公撮振盪三分鐘。	每管各加生理鹽水 0.5 公撮振盪混合之。	結果
甲	0.05			+
	0.025			+
	0.0125			+
乙	0.05			+
	0.025			+
	0.0125			+
丙	0.05			±
	0.025			±
	0.0125			±
丁	0.05			-
	0.025			-
	0.0125			-
戊	0.05	-		
	0.025	-		
	0.0125	-		
己	0.05	-		
	0.025	-		
	0.0125	-		

+ = 不溶解， - = 溶解。

- (d) 依上表之滴定。丁管之抗體原為適宜之濃度，即

每公撮之抗體原須加生理鹽水 1.1 公撮。

(乙)血清之採取：

試驗用之血清，係用普通方法，以無菌手續由肘靜脈取血約五公撮，置遠心器中沉澱管內，使血凝固，即用玻棒將血塊與管壁分離，然後沉澱之，取出血清後，置於56°C水箱中歷時三十分鐘。

(丙)抗體原之稀釋：

照滴定之稀釋度，稀釋抗體原，並照下列之手續稀釋之。

- (1) 置適量之生理鹽水於甲管(5.5Cm×1.5Cm,)，例如適宜之稀釋度為每公撮抗體原加生理鹽水 1.1 公撮，則取生理鹽水 1.1 公撮於甲管。
- (2) 置一公撮抗體原於乙管。
- (3) 將甲管之鹽水傾入抗體原管內，往返傾覆約十二次。
- (4) 靜置十分鐘，此稀釋抗體原，須於半小時內用完，此量足供二十個試驗之用。

(丁)實際試驗：

- (1) 將稀釋並在室溫下靜置十分鐘後之抗原搖勻後，

用康氏抗原吸管取0.05，0.025，0.0125公撮，分置於三凝集試管內。

- (2) 每管加入試驗而經滅能之血清0.15公撮。
- (3) 用力震搖或置於特製之搖動樹上震搖三分鐘，每分鐘約搖250次。
- (4) 第一試管(含抗原0.05公撮者)，加生理鹽水一公撮，餘加半公撮。
- (5) 搖動之，使混合靜置五分鐘後檢示其結果。

(戊) 對照試驗：

- (1) 抗原對照試驗，只加鹽水不加血清。
- (2) 陰性對照試驗，一如實際試驗法，用已知之陰性血清作試驗。
- (3) 陽性對照試驗，一如實際試驗，用已知陽性血清作試驗。

試 管 號	1	2	3
血清與抗體原之比例	3 : 1	6 : 1	12 : 1
稀釋之抗體原量	0.05	0.025	0.0125
已滅能之血清	0.15	0.15	0.15

搖動三分鐘後加生理鹽水	1.0	0.5	0.5
陰性對照試驗試管號	1	2	3
稀釋之抗體原	0.05	0.025	0.0125
已知陰性之已滅能血清	0.15	0.15	0.15
搖動三分鐘後加生理鹽水	1.0	0.5	0.5
陽性對照試驗試管號	1	2	3
稀釋之抗體原	0.05	0.025	0.0125
已知陽性之已滅能血清	0.15	0.15	0.15
搖動三分鐘後加生理鹽水	1.0	0.5	0.5
抗原對照試驗試管號	1	2	3
稀釋之抗體原	0.05	0.025	0.0125
生理鹽水	0.15	0.15	0.15
搖動三分鐘後加生理鹽水	1.0	0.5	0.5

(己)檢視結果：

檢視結果，須持管向窗與目同一水平線，沉澱最顯明而作塊狀者(++++)為強陽性，沉澱較弱而作大粒

狀者(++)爲陽性，沉澱再弱而作少量小粒狀者(+),及沉澱極弱而少量之粒狀者(±)均屬弱陽性，最較微之絮狀者(±)爲可疑性，無沉澱者爲(-)陰性。

(廿五)腦脊髓液之康氏反應試驗法：

(1) 取腦脊髓液三公撮加硫酸銨飽和水溶液(Ammonium sulfate saturated aqueous solution)二公撮，置 56°C 之水箱中歷十五分鐘，以遠心沉澱器沉澱之，將上層之清晰液完全吸出，加生理食鹽水 0.3 公撮，使沉澱物完全溶化，(此爲濃縮十倍之脊髓液)。

(2) 將抗鼠稀釋液稀釋，(一如血清試驗備用之鹽水畧多，例如用於血清稀釋之抗體原用 1.1 公撮鹽水者，此須用 1.4 公撮)。

(3) 照下表作試驗：

試 管	1	2
稀釋之抗體原	0.01 C.C.	0.01 C.C.
濃縮之脊髓液	0.15 C.C.	0.15 C.C.
搖三分鐘後加生理鹽水	0.5 C.C.	0.5 C.C.

(4) 照血清試驗法檢視結果

(廿六) 細菌之發酵反應及鑒別表

菌名	葡萄糖	乳糖	麥芽糖	甘露糖	蔗糖	糖質	輕二硫	動力	革蘭氏染色	凝結反應
志賀氏型痢疾桿菌 (B. Dysenteriae Shiga)	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
福氏型痢疾桿菌 (B. Dysenteriae Flexner)	A	-	A	A	-	±	-	-	-	-
Y型痢疾桿菌 (B. Dysenteriae Y)	A	-	-	A	-	-	-	-	-	-
斯氏型痢疾桿菌 (B. Dysenteriae Strong)	A	-	-	A	\	-	-	-	-	-
產氣族痢疾桿菌 (Gas forming dysenteriae)	AG	-	AG	AG	AG	-	-	-	-	-
甘露糖發酵族痢菌 (B. Dysenteriae M. F. G.)	A	-	A	-	-	-	-	-	-	-
普通大腸桿菌 (B. Coli Communis)	AG	AG	AG	AG	AG	-	+	+	+	-
副大腸桿菌 (B. Coli Communior)	AG	AG	AG	AG	AG	AG	+	+	+	-
傷寒桿菌 (B. Typhosus)	A	-	A	A	-	-	?	+	-	-
副傷寒桿菌甲 (B. Paratyphosus A)	AG	-	AG	AG	-	-	-	+	-	-
副傷寒桿菌乙 (B. Paratyphosus B)	AG	-	AG	AG	-	-	+	+	-	-

嗜鹼性糞便桿菌 (<i>B. Alkaligenes</i>)	-	-	-	-	-	+	-	-
乳酸桿菌 (<i>B. Acid Lactici</i>)	AG	AG	AG	AG	AG	-	-	-
陰溝桿菌 (<i>B. Cloacae</i>)	AG	AG	AG	AG	AG	-	-	+
變形桿菌 \times_{10} (<i>B. Proteus x_{10}</i>)	AG	-	AG	-	AG	+	-	-
變形桿菌 \times_2 (<i>B. Proteus x_2</i>)	AG	-	-	-	AG	+	-	-
靈桿菌 (<i>B. Prodigiosus</i>)	A	-	A	A	-	+	-	-
霍亂弧菌 (<i>Vibrio Cholerae</i>)	A	-	A	A	A	+	-	-
豬霍亂弧菌 (<i>Hog Cholera</i>)	AG	-	AG	AG	-	-	+	-
腸炎桿菌 (<i>B. Entoritidis</i>)	AG	-	AG	AG	-	-	+	-
嗜酸桿菌 (<i>B. Acidophilus</i>)	A	A	A	A	A	-	-	+
黏液莢膜桿菌 (<i>B. Mucosus capsulates</i>)	AG	AG	AG	AG	AG	-	-	-
炭疽桿菌 (<i>B. Anthracis</i>)	A	-	-	-	A	-	-	+
芽胞桿菌 (<i>B. Sporagenes</i>)	A	-	-	-	-	+	+	+
枯草桿菌 (<i>B. Subtilis</i>)	A	-	-	-	A	+	+	+

棒狀桿菌之分類表

菌名	毒素	葡萄糖	糊精	蔗糖
白喉桿菌 (<i>B. Diptheriae</i> , Virulent)	+	+	+	-
假白喉桿菌 (<i>B. Diptheriae</i> , Non-virulent)	-	+	+	-
類白喉桿菌 (<i>B. Hoffmani</i>)	-	-	-	-
乾燥桿菌 (<i>B. Xerosis</i>)	-	+	-	+

(廿七)附表一 檢驗報告單

檢 驗 單	
臨床檢驗次序	姓名 _____ 住院號 _____ 臨床檢驗次序號 _____
發 數 _____	年齡 _____ 性別 _____ 籍貫 _____ 檢驗結果 _____
姓 名 _____	臨床診斷 _____
住院號 _____	檢 驗 物 _____
門診號 _____	檢 驗 目 的 _____
檢驗物 _____	送 檢 日 期 _____
檢驗目的 _____	送 驗 者 _____
日 期 _____	細菌屬，血清屬，寄 報告日期 _____
收到者 _____	生虫屬，臨床屬，病 報告者 _____
	理屬，生理化學屬，

臨床檢驗次序號

此檢驗單原長十英寸半，寬四寸 4/1

附表三 乏氏及康氏反應表

住院號 _____		門診號 _____							
姓名 _____		年齡 _____		性別 _____		籍貫 _____			
臨床診斷 _____									
日期	檢驗室號	乏氏反應					康氏反應		
		0.1	0.05	0.025	0.005	0.0025	0.05	0.025	0.0125

此卡片原寬七寸長四寸

第 三 編

染色液及染色法

顯微鏡下之細菌研究

Microscopic Study of Bacteria

細菌可在顯微鏡下研究之；無論生活而未經染色者，或已施以染料而經染色者，均可在顯微鏡下觀察之，爲此目的所應用之各種式樣之玻片及玻蓋片應十分潔淨，否則，意外之失敗自必難免。

玻片於用前應十分潔淨，清潔之法繁多，其中最簡單而合乎普通應用者舉之如下：

- (1) 將玻片或玻蓋片置於水中煮沸半小時。
- (2) 用百分之廿五硫酸洗滌之。
- (3) 以蒸餾水淨滌之。
- (4) 用百分之九十五酒精洗滌之。
- (5) 以潔淨之布拭乾。

另一法(於例行工作上頗爲適用者)，即將玻片或蓋玻片以皂水洗淨後，浸於百分之九十五酒精中待用。

(A) 生活狀態下之細菌研究——In the Living state——

生活之細菌，可用懸滴法(Hanging drop)，研究之，因此，可用一凹式玻片即片之中央有壹直徑約 3/4公

分至一公分之圓形凹洞者，標本可用下法處理之：

若細菌係生長於液體培養基中者，可將一滴之培養物，移置於一蓋玻片之中央；若細菌係生長於固體培養基中者，即宜先將培養物於肉湯中或生理食鹽水中製成乳狀液，然後移置一滴於玻蓋片之中央，或者細菌可以直接用一滴肉湯或生理食鹽水，在玻蓋中混成乳狀體，玻片中之凹形邊緣，先用一小玻璃棒，或火柴枝，黏凡士林 (Vaseline)，或礦物油 (Mineral oil) 小許，塗佈之，然後將玻蓋片反覆此凹處之上，如是該菌液滴則懸掛於玻片之凹洞中，以待鏡檢矣。

另一法：即所謂懸塊法 (Hanging Block Method) 是也，此法係 Hill 氏發明者，用於研究固體培養基中生活細菌也，其法如下：

將營養琼脂 (Nutrient agar) 傾入一培替氏皿 (Petridish) 內，俟其凝固後，切取一約 $\frac{1}{4}$ 吋方之小塊，將此小塊移置於消毒之玻片上，塊之表面按表面塗佈法接種以細菌，然後用一消毒之皿覆蓋於其上，移置孵卵器

數分鐘，以乾燥之，再用一消毒之玻蓋片覆於該琼脂塊之上面，片之邊緣以琼脂封固，然後與玻片分開，將琼脂塊與玻蓋片用石炭酸固定於一濕筒中，置於顯微鏡之鏡台上觀察之，按此法係專為研究細胞分裂之用也。

黑地映光法(Dark field illumination)，此為對於生活細菌之研究法中最為重要者，同時對於標本中不易染色，或因受熱及染液固定後，而失其形態上之特性者之螺旋體，亦頗有用焉，至於該儀器之構造及其使用法之詳細論述，可參考他書。

運動顯微攝影術(Motion photomicrography)，運動顯微攝影術，供給吾人對於生活之細菌以聯繫之動力紀錄，如細菌形狀，大小之連續變化，胞肉黏狀體之移動，芽胞之形成，細胞之分裂，以及未經染色細菌之其他可目及之各種現象。

生活之細菌亦可應用納氏之活動體內染色法(Intravital Method of Nakanishi)之染色製備而研究之，將玻片透徹清潔後，以美藍飽和水溶液著於玻片上，法將美藍液平均散佈於玻片上，使成一片薄膜而令其乾，乾後玻片上顯現透明之天藍色，備檢之微生物，須先

製成乳狀液，或自液體培養基中直接取得，置於一玻璃蓋片上，將此片反覆於藍地之玻片上，如此細菌可無直接受熱，或化學藥品等固定手續中所破壞之慮。同時亦可着色也。

據納氏觀察之結果：

細胞漿藍色。

核體質呈淺紅(Redish)，或藍彩色(RePurplish blue)。

(B) 經固定細菌染色標本之製備，以玻片處理者為最佳。製備之手續包含以下諸步驟：

- a. 塗於玻片上。
- b. 在空氣中乾之。
- c. 固定。
- d. 染色。
- e. 用水洗之。
- f. 印乾。
- • g. 封膜。

1. 將由液體培養基中取得之細菌以鉗絲圈移置一小滴於玻片上，小心攤開，使成一薄片，若自固定培養基中取得者，則須先將一小滴之消毒鹽水，置於玻蓋片上，然後

將極小量之培養物，以鉗絲圈小心與水滴混和，使成乳狀液，自此乳狀液中，以鉗絲圈鈎取小許，在玻片上作一極薄之塗片。

2. 令玻片標本在空氣中自乾。

3. 乾透後固定之，固定法，可將玻片標本按鐘擺之速率來回在火焰通過三四次，此熱固定法，在例行工作中為最合宜者，但非最精細之辦法，蓋熱力之施用度未能準確管制故也，另一法，即將標本浸於木醇福兒馬林，升汞飽和水溶液，錢氏溶液，或醋酸中，若採用化學之固定劑時，於染色前必將固定劑在水中完全洗淨，若標本係在玻片上，而非在蓋玻片上製備者，在火焰上須往返通過八九次。

4. 細菌染色用之染料，多係鹽基性的安尼林染料。

(Basic Aniline Dyes)，如美藍，龍膽紫，復紅，等是也。此等染料，可應用單純染色，（配製法即將經過濾之酒精飽和溶液製備各種混合染色液，茲舉之如下：

染色液在普通例行工作中，係將已經固定之細菌標本薄片染色，時間因各種染料之功能而異，約在半分鐘以至分半鐘，美藍係上舉三種染料中之最弱者，龍膽紫則最强者。

5. 多餘之染液可用水洗去。

6. 用吸水紙吸乾之。

7. 玻片上之薄片標本，通常均不需覆以蓋玻片，直接檢查之即可。

染料之溶解度(solubilities of dyes)，細菌學上常用染料，在攝氏表廿六度下，其溶解度列表於后。

至於染料在染色步驟下之化學基本原則，目下仍未獲得相當滿意之解釋，在此可能解釋者，即現在細菌學家及病理學家所用之一般普通染料，係屬於芳香族，(Aromatic series)之煤膠衍化物(Coal-tar derivatives)，該各衍化物中，至少均含有一苯環(Benzol ring)，而該苯環係與色素族(Chromophore group)相聯合者，總之其組織中，最主要者，為硝族(Nitro-group, No₂)，亞硝族(Nitroso-group, No)與氮族，(Azo-group, N=N)等，據一般專家之意見，彼等相信染料，染色之諸現象純係化學性質，蓋細胞中之細胞漿，與染料化合，而鹽類(Salt)產生焉，反之，染料與細胞漿化合後而無鹽類生成者，即純係物理性也，但不盡然，因某種物質如植物纖維素，(Cellulose)，可以染色而未見其有鹽類之產生。同時，

該染色常可完成，而於染料本身，亦未見有任何化學上分裂之現象也，美氏(Michaelis)綜彼個人之觀見，謂以上兩種程序中之現象或係確實，蓋一切染料質可因組織或細胞之內吸收力，(Insorption) 作用以深入而附着於其上，在此情形之下，染色質隨後可由任何化學上特指之溶媒(Indifferent Solvent) 而提出，另一方面言之，凡染料一經附着於細胞上或細胞內，即可與細胞漿因鹽類之產生，而形成化學上之結合，在此情形下其色澤只可被富有分解鹽類力之物，如遊離酸(Free acid)類者所去除。

任何染色液，可於染色時加熱，或延長其染色時間，或因加入鹼質酸質，安尼林油，或其他物質而增強其染色力也。

色標 號數	染 色 名 稱	百分率*溶解於	
		水	百分之九 十五醇
381	Bismark brown Y	1.36	1.08
382	Bismark brown R	1.10	0.98
20	Chrysoidin Y	0.86	2.21
21	Chrysoidin R	0.23	0.99

370	Congo red	—	0.19
681	Crystal Violet (Chloride)	1.68	13.87
768	Eosin Y. (Na Salt)	44.20	2.18
678	Fuchsin, basic, New	1.13	3.20
	Fuchsin, acid	—	—
	Gentian violet <small>參見Methyl與 Crystal Violet</small>	—	—
133	Janus Green	5.18	1.12
657	Malachite green (Oxalate)	7.60	7.52
680	Methyl Violet	2.93	15.21
922	Methylene blue (Chloride)	3.55	1.48
825	Neutral red (Chloride)	5.64	2.45
7	Picric Acid	1.18	8.96
739	Pyronin G	8.76	0.65
676	Rosanilin	0.89	8.16
	Pararosanilin	0.26	5.93
779	Rose bengal (Na Salt)	36.25	7.53

841	Safranin	5.45	3.41
248	Sudan III	0	0.15
920	Thionin	0.25	0.25
925	Toluidin	3.82	0.57

米此係指每百公撮中所含之公分數。

(C) 染色法：

1. 單純染色：在細菌學之例行工作中最常用之染液舉之如下：

(一) 呂氏鹼性美藍 (Löffler's Alkaline Methylene blue)

原 式

Original Statement

美藍酒精濃溶液 (Conc. sol. Methylene blue in alcohol) 30c.c. 萬分之一之氫氧化鉀水溶液 (1:10,000 Sol. KOH in distilled water) 100c.c.

修 改 式

Emended Statement

第一液 (Solution A) :

美藍含染料百分之九十 (Menthylene blue 90%
 dye content) 0.3 gm
 酒精百分之九十五 (ethyl alcohol 95%) 30 c.c.

第二液 (Solution B) :

稀釋氫氧化鉀百分之0.01以重計 (Dilute KOH 0.01
 % by Weight) 100 c.c.

將第一液與第二液完全混合備用。

(二) 碳酸複紅 (Carbol Fuchsin) :

鹽基性複紅 (Basic Fuchsin) 1 gm.
 純酒精 (Absolute alcohol) 10 c.c.
 百分之五之石炭酸水溶液 (5% Aqua. carbolic acid)
 id) 90 c.c.

此染劑之製備，係十公撮之百分之五石炭酸水溶液，
 與十公撮之鹽基性複紅酒精飽和溶液混合即得，此染
 劑亦可以大量配製之。

鹽基性複紅 (Basic Fuchsin) 1 gm.
 石炭酸 (Carbolic acid) 5 gms.

以蒸餾水溶解後過濾，將濾過液九十公撮，加入十公撮之純酒精中即得。

(三) 甲苯胺藍溶液 (Toluidine blue solution) :

此液為細菌學工作及白喉桿菌之染色常用並具相異之價值者：

甲苯胺藍 (Toluidine blue) 0.25gm.

冰醋酸 (Glacial acetic acid) 2.0c.c.

純酒精 (absolute alcohol) 5.0c.c.

汽水 (Distilled water) 100.0c.c.

此液可以單獨使用，染色結果與呂氏美藍同，但比較清晰，或同時採用卑士麥褐色 (Bismark brown) 為複染劑亦可。

(四) Pappenheim - saathof 氏之烷綠派倫定

(Methyl - Green - Pyronine) :

烷綠 (Methyl Green) 0.15gm.

派倫定 (Pyronine) 0.5gm.

百分之九十五酒精 (95% alcohol) 5.0c.c.

甘油 (Glycerine) 20.0c.c.

百分之二石炭酸水溶液 (2% Carbonic acid in water)

or up to) 增至.....1000.c.c.

染色技術：

以此染液染色一至二分鐘，

洗滌，吸乾，

在一般細菌之染色，以爲頗負顯明之染色法尤以含有細菌之吞噬細胞，如淋球菌抹片，以及噬菌工作中之染色最顯其特點。

(五)石炭酸硫堇 (Carbol thionin)：

硫堇 (thionine)1gm.

蒸餾水 (Distilled water).....1,200c.c.

溶解後過濾，然後加入：

冰醋酸 (Glacial acetic acid)1.0c.c.

(六)石炭酸龍膽紫 (Carbol Gentian violet)

方式 (由 Eyre 第二版第九十二頁)

(Formula from Eyre 2nd.ed.P.92)

龍膽紫酒精飽和溶液 (Sat.alc.gentian Violet 10
c.c.

百分之一石炭酸水溶液 (Aqua.sol.Phenol) 100c.c.

修正式 (Emended statement)

第一液 (Solution A) :

結晶紫含染料百分之八十五 (Crystal Violet 85% dye content) 2gms.

百分之九十五酒精 (95% Ethylalcohol) 10c.c.

第二液 (solution B) :

石炭酸 (Phenol) 1g. ml

汽水 (Distilled water) 100. c. c.

將第一及第二混合即得

七) 沙紅 (Safranine)

沙紅酒精飽和溶液 (Safranine sat. alc. solution) 10. c.

百分之九十五酒精 (95% alcohol) 90. c.

染色法：以此染液至少須染色一分鐘，水洗印乾。

八) Dörner 氏奈格羅辛溶液 (Dörner's nigrosin sol.)

奈格羅辛 (Nigrosin) 10gms

汽水 (Distilled water) 100. c. c.

於三角燒瓶 (Erlenmeyer flask) 中煮沸三十分鐘，然後加入防腐劑：

福爾馬林 (Formalin 40%) 0.5c.c.

以雙層濾紙濾過兩次後，貯存於血清學用之試管內，每管約五公撮。

此項染色液係用以反顯細菌 (Negative demonstration) 可代替百利之印度墨水 (Burri India Ink)，將菌懸液一鉤絲圈與等量之奈格羅辛溶液在玻片上混合，乾後，此玻片可以直接檢查，不需覆以蓋玻片，如係由固體培養基中取得之培養物，可用少量之菌懸液。

革蘭氏染色法 (Gram's stain)

鹽基性三苯甲烷化合物 (Triphenyl Methane comp) 係在此染色法中最著功用之染料也，此項染色法於區別細菌時，最為重要，細菌因此可分為兩大類，凡細菌能保持其初着之染色液者，名為革蘭氏陽性細菌，反之，凡未能保持其初着染色液，隨後被退色而着複染色液者，名為革蘭氏陰細菌。

革蘭氏染色之機構，至今尚未完全明瞭，曾經建議之理論，或係物理學上，化學上，抑或是物理化學之結果，據 Churchman 氏指明某種革蘭氏陽性之細菌，(炭疽桿菌 *B. Anthracis* 者，僅在細胞之皮膚質耳，

凡水溶性之染料，均可侵入革蘭氏屬性之細胞內，碘之作用，或將細胞之滲透性，改變而成爲對蕃薇苯胺化合物(Pararosaniline compound)，抑或在細胞中變成一種不溶於酒精溶液中之染色化合物，該問題曾經多數學者之研究，但至今惜未能完全明瞭個中之迷。

應用於革蘭氏染色法及染液之配製方法甚多，舊式稱爲安尼林龍膽紫(Aniline gentian violet)，舊法現多被棄，蓋安尼林龍膽紫，容易變質故也，況且龍膽紫係一種不穩定的結晶，紫與一烷紫之化合物，結果比較可靠者，乃以結晶紫代替龍膽紫，目下常用而結果最稱滿意之革蘭氏染液者，有兩種，一爲 Hucker 氏所改良者，一爲 Kopeloff 與 Beerman 兩氏所改良者，其處理如下：

(一)胡氏改良法 (Hucker)

草酸銨結晶紫 (Ammonium oxalate crystal violet)

:

第一液 (Solution A):

結晶紫染料百分之八十五

(Crystal violet 85% dye content) ...4gms

酒精百分之九十五

(Ethyl alcohol 95%)

第二液 (Solution B) :

草酸銨 (Ammonium Oxalate) 0.8gm.

水 (water) 80c.c.

將此等量之第一及第二液混合，此混合液，或嫌過濃，因有時革蘭氏陰性菌如淋病雙球菌，一經染色後，並不能完全退色，為避免此種弊病起見，可將第一液稀釋十倍，然後以十二公撮之稀釋液，與等重之第二液混合即可。

盧戈氏碘溶液 (Lugol's iodine solution) :

碘片 (Iodine) 1gms.

碘化鉀 (Potassu iodide) 2gms.

水 (Water) 300.c.c.

覆染劑 (Counterstain) :

沙紅百分之2.5於百分之九十五酒精中

(Safranin 2.5% sol. in 95% alcohol) 10c.c.

水 (Water) 100c.c.

染色技術：

以龍膽紫染色一分鐘，

水洗，

以碘溶液碘化一分鐘，

水洗並吸乾，

以百分之九十五酒精退色半分鐘，退色時須徐徐搖動
玻片，

水洗，

蓋覆以複染劑十秒鐘

水洗，吸乾，於油浸鏡檢查之，

(二) Kopeloff 與 Beerman 丙氏改良法：——

鹼性龍膽紫 (Alkaline gentian violet)：

第一液 (solution A)：

龍膽紫或結晶紫 (Gentian or crystal violet).....
.....1gm.

汽水 (distilled water).....100c.c.

第二液 (Solution B)：

重碳酸鈉 (Sodium Bicarbonate).....1gm.

汽水 (distilled water)20c.c.

臨用時以第一液三十滴，加入第二液八滴，混合之即可。

碘溶液 (Iodine solution) ..

碘 (Iodine).....2gms.

當量氫氧化鈉溶液

(Normal solution sodium hydroxide).....10c.c.

俟碘溶化後，加水至 100 公撮。

複染劑 (Counterstain) :

鹽基性複紅 (Basic fuchsin).....0.1gm.

沸水 (distilled water).....100c.c.

染色技術：

以鹼性龍膽紫染色約五分鐘。

以碘溶液輕滌之。

增加碘溶液少許，聽其存留二三分鐘。

傾去碘溶液，不加洗滌，吸乾之。

以百分之百醋酮 (100% acetone) 退色，滴注於片上，並繼續振動玻片，直至完全退色為止，(約十秒鐘左右)。

在空氣中乾之。

以複染劑複染十至三十秒鐘。

水洗，乾後以油鏡檢查。

(百分之五十醋酐酒精溶液亦可用爲此法之退色劑)。

3. 抗酸性菌染色法 (Stains for Acid Salt bacteria) :

結核桿菌之顯現，惟抗酸性染色法是奈，因該菌之細胞膜，係蜡狀組織，雖最強烈之染料，亦難使其着色，但一經着色後，即可保持該染項色質，雖用酸類劇烈將其脫色，亦徒勞無效，因而名之爲抗酸性細菌，雖然，亦有在某形式上，並不在各種情形下，僅具有抗酸之特性也。

(一) 石炭酸複紅(斐尼氏法) — (Carbol fuchsin…… Ziehl-naelsen, method) :

第一液 (Solution A) :

鹽基性複紅酒精飽和液 (Basic fuchsin Sat. alc. Solution) 10c.c.

百分之五石炭酸水溶液 (5% Carbolic acid aqueous Sol.) 90c.c.

第二液 (Solution B.) :

退色用之酸性酒精 :

濃鹽酸 (Conc. Hydrochloric acid) 3c.c.

百分之九十五酒精(95% alcohol) 97c.c.

處理法：

1. 於玻片標本上覆蓋以石炭酸複紅液，加熱至發出蒸氣，保持此狀態，約五分鐘，重複加入染液，以防片上染液蒸乾。
2. 以水洗之。
3. 以鹽酸酒精退色之，直至標本之較薄部份褪色為止。
4. 以水洗之。
5. 以美藍染色十至三十秒鐘。
6. 水洗，吸乾，鏡檢。

抗酸性菌現紅色，由藍色之背景頗易辨認，非抗酸性菌則全部呈藍色。

二) 加氏法(Gabbot/s method)：

此法較為簡易，因所用之退色劑及複染劑係製成一液，標本製成後，即以石炭酸複紅染色，法同前，然後直接浸入下列溶液一分鐘，

美藍(methylene blue) 2gms.

比重1.018之百分之二十五硫酸，

(25% H₂SO₄ Sp. gr. 1.018) 100c. c.

然後以水洗滌，乾後裱之。

按此法雖簡而易舉，但不及前法（斐尼氏法）之可靠。

(三) 巴氏法 (Pappenheim's method) :

此法係專為鑑別包皮垢桿菌 (*Smegma bacillus*) 及結核桿菌 (*Tubercle bacillus*) 之用，此兩種細菌在檢查工作中，常時發生混亂，尤以小便檢查為然，因小便標本，若未經合法之手術採集，常被寄存於生殖器中之包皮垢桿菌所污染，至於痰液之檢查，包皮垢桿菌亦可由痰液而混入咽喉部之分泌物內，雖然，此種現象並不常發生也。

按常法製備標本，加熱以固定之，以石炭酸復紅液染色二分鐘。

傾去染液，不加洗滌。

用下列溶液蓋覆之。

番茜色酸 (Rosolic acid or Corallin) 1gm.

純酒精 (absolute alcohol) 100c. c.

美藍加至飽和為止 (Methylene blue added to

Saturation)

甘油(glycerine)..... 20c.c.

染色技術：

將上列配成之混合溶液，傾於標本上，然後徐徐傾去，如此反覆四五次，最後以水洗滌之，酒精與番莖色酸之混合液，可將包皮垢桿菌退色，而存留紅色之結核桿菌，因結核桿菌不被退色也。

④極小體染色法：

白喉桿菌染色法(Stain for Diphtheria bacillus)：
白喉桿菌之染色，主要者係將菌之兩極體及其異染顆粒之表現也。例行工作中最常用者為：——

1. 呂氏鹼性美藍液(Löffler's Alkaline methylene blue Sol.) 染液之配製法詳前。
2. 甲苯胺藍液(Toluidine blue) 配備法詳前。
3. 鑒別染色法(Differential Stain)，係用以顯明菌之兩極體及其異染顆粒之深染，與菌體之淺染也。

染液之配製及其染色之技術舉之如下：——

一) 奈氏法(Neisser's Stain)：

第一液 (Solution No.1) :

美藍 (methylene blue) 1gm.

百分之九十五酒精 (95% Alcohol) 20c.c.

冰醋酸 (Glacial acetic acid) 50c.c.

蒸餾水 (distilled water) 950c.c.

先將染料溶於酒精，然後將其餘混入。

第二液 (Solution No.2) :

結晶紫 (Crystal violet) 1gm.

百分之九十五酒精 (95% alcohol) 10c.c.

蒸餾水 (distilled water) 300c.c.

第三液 (Solution No.3.) :

克立鎖伊林 (Chrysoidine) 1或2gms.

蒸餾水 (distilled water) 300c.c.

(1) 抹片標本乾後，用第一液兩份，混合第二液一份。

之混合液染色十秒鐘。

(2) 以第三液洗滌十秒鐘。

(3) 水洗，或不水洗，印乾，檢查。

(二) Ljubinsky's 染法 (Ljubinsky's stain) :

第一液：(一烷紫B) :

(solution A.....Methyl violet) ..

一號紫B(methyl violet B).....2.5gms.

冰醋酸 (glacial acetic acid)50c.c.

蒸餾水 (distilled water).....950c.c.

第二液 (克立鑽伊林) :

(Solution B—Chrysoidin)

克立鑽伊林 (Chrysoidin).....5.6gms.

蒸餾水 (distilled water).....1,000c.c.

不必過溫。

染色步驟：——

1. 標本片先用第一液染色一分鐘。

2. 以水洗之。

3. 再染以第二液半分鐘。

4. 水洗吸乾，或在空氣中乾之。

此係用於鑑別白喉桿菌之粒狀體之特別染色法，然對於他種菌之粒狀體，亦可得良好之結果，染色結果，粒狀體着深藍色或黑色，菌之其餘部份則着淺紅或淡黃色。

關於兩液於染色時所需時間之久暫，全視其染液之新

看而有所伸縮，欲知其究竟，只可由試驗證明之。

(三) Ponder's stain (龐氏染色法)：

妥立定藍 [Toluidine blue] 0.1gm.

第一號天青 (Azur 1) 0.1gm.

酒精 95% (95% Alcohol) 5c.c.

美藍 Methylene blue 0.1gm.

冰醋酸 Glacial acetic acid 1c.c.

蒸餾水 (Distilled water) 120c.

依常法製備抹片標本，以熱固定，用龐氏染料染兩分鐘，水洗，印乾。

5. 莢膜染色法 (Capsule stain)：

(一) Welch 氏法：依常法製備玻蓋片標本，勿加熱而聽其自然乾，以冰醋酸 (glacial acetic acid) 蓋覆其上約數秒鐘，傾去醋酸，以安尼林水 (aniline water) 龍膽紫 (gentian violet) 蓋覆其上，重新反覆染色，直至酸性全部除去為止，此乃將染料反覆三四次，最後將染料保留三分鐘，然後傾去，以百分之二鹽液洗之，然後在溶液中檢查之。

(二) Hiss 法 (硫酸銅法) 1. 玻蓋片標本之製法，乃將

微生物塗佈於一滴之動物血清中，以牛血清爲佳，在空氣中以熱固定之。

2. 用五公撮之複紅酒精飽和溶液，或龍膽紫於九十五公撮之蒸餾水中染色數秒鐘
3. 將染料蓋於此玻片標本上，在火焰上徐徐加熱，直至氣體發出爲止。
4. 用百分之二十硫化物水溶液洗去染料。
5. 吸乾，標之。

以此法製備之標本，可長久保存，莢膜着色係淺藍環圍一暗紫色之胞體。

(三) Hantoon's 法：此法應用於培養物之染色頗佳，但自動物體所得之滲出物則不妙。——本法奈乎乳酸(Lactic acid)於鈉鎂蛋白(Nutrose)之沉澱作用，此項作用，需要兩種溶液。

1. 稀釋劑(Diluent)：——百分之三之鈉鎂蛋白水(蒸溜水)溶液，置於阿諾氏蒸汽器(Arnold Steamer)一小時，加入少量之石炭酸，以防腐之，令其沉下。
2. 染料及固定劑(Stain and Fixative)：——

百分之二石炭酸溶液…… 100c.c.

濃乳酸…… 0.5c.c.

醋酸…… 1.0c.c.

鹽基性復紅酒精飽和溶液 1.0c.c.

石炭酸復紅…… 1.0c.c.

對於染料，如美替藍 (methylene blue)，或傅士麥褐色 (Bismark brown)，均可應用，一號紫 (methyl violet)，可得極佳之結果，但不能長久保存，據經驗，以用前所述之混合溶液為最適合於課室中之工作也。

預備一薄之抹片，應用第一液為稀釋劑，在空氣中乾之，不必固定，覆以染料約三十秒鐘，水洗，吸乾，待檢。

(四) Buerger 氏法——標本之製備同 Hiss 法。

抹片之邊緣開始乾時，以錢氏液 (Zenker's Fluid) (不含醋酸)，傾覆其上，在火焰上溫熱三秒鐘。

錢氏溶液含：

Potassu bichromate 2.5公分	} 以昇汞(Bi-chloride of mercury) 飽和之。
(重鉻酸鉀)	
Sodu sulfate1公分	
(硫酸鈉)	
水100公撮	

以百分之九十五酒精忽流之。

以碘酒 (Tinture of Iodine U.S.P.) 蓋覆一至三分鐘。

以百分之九十五酒精洗之。

在空氣中乾之。

以安尼林水龍膽紫 (Aniline water gentian violet) 染色二至五秒鐘。

以百分之二鹽液洗之。

拭之，在鹽液中檢查之。

(五) Wadsworth 氏法：——此法係奈平福爾馬林 (Formalin) 於抹片標本之固定力，標本一經固定後，裝版可以單純之染色法 (Simple stain)，或用革蘭氏法 (Gram's method) 染色而表現也，染色技術如下：一按常法製備抹片標本後，用下列兩法處理之：

單純染色法：

1. 百分之四十福爾馬林二至五分鐘。
2. 水洗五秒鐘。
3. 百分之十之龍膽紫水溶液。
4. 水洗五分鐘。
5. 乾後以樹香脂染之。

革蘭氏法染色：

1. 百分之四十之福爾馬林二至五分鐘。
2. 水洗五秒鐘。
3. 安尼休龍膽紫 (aniline gentian violet) 二分鐘。
4. 革蘭氏碘液二分鐘。
5. 以百分之九十五酒精退色。
6. 以稀釋複紅水溶液複染。
7. 水洗二秒鐘。
8. 乾後以樹香脂染之。

要者，福爾馬林須新鮮，同時暴露於水中之時間，亦以短促為佳。在革蘭氏法中退色之酒精，宜採用強者，Wadsworth 氏謂用火棉液 (Colloidin)，可由經福爾馬林硬化之肺炎之損害處表面附有莢膜之肺炎球菌，被損

管之肺組織，須以福爾馬林伸張之，或將損害處切成極薄之小片，經硬化，去水，並安置後，按常法截切之。火棉液之切片，可固定於玻片上，係將火棉液半溶於酒精與醚，然後速置於水中，在未染色之前行之，至於由該切片中，未能獲得附有莢膜之肺炎球菌者。其失敗之原因，乃係在福爾馬林中固定時之不當，或不足故也。

Wadsworth 氏應用於組織之區別染色法如下：

1. 在百分之四十福爾馬林固定二至五分鐘。
 2. 水洗。
 3. 安尼林龍膽紫二分鐘。
 4. 碘液二分鐘。
 5. 百分之九十五酒精退色。
 6. 伊紅酒精 (Eosin alcohol) 複染。
 7. 在俄立干油 (Origanum oil) 中清淨之。
 8. 以樹香脂佳之。
6. 鞭毛染色法 Flagellar stains :

各種鞭毛染色法，主要者，必須使玻片十分潔淨，否則，不能得良好之結果，標本以乳融於消毒鹽水

中之新鮮幼稚之瓊脂培養物為最佳，對於應用之玻璃器具，亦須十分謹慎，從事處理，以期達到十分清潔之目的，較毛染色法中，據經驗所得，以(Casares—Gil氏及 Shunk氏之染色法較之其他諸法為佳。

(一) Casares—Gil's 法：

第一液：媒染劑 (Mordant)：——

鞣酸 (Tannic acid)	10公分
氯化鋁 (Aluminum chloride, $Al_2Cl_6 \cdot 12H_2O$)	18公分
氯化鋅 (Zinc chloride)	10公分
鹽酸薔薇苯胺 (Rosaniline Hydrochloride)	10公分
百分之六十酒精 (60% alcohol)	40公撮

將固體物置於研鉢中，以酒精研製溶解之，先加入酒精十公撮，其餘之酒精緩緩加入，此酒精溶液，可保持數年之久。

1. 用時以兩份之蒸餾水稀釋之，然後過濾，收集其濾過液於含有細菌之塗抹片上，聽其存留一至二分鐘，此時，應有沉澱物及閃光之金屬物產生，然後以蒸餾水洗之。

2. 以石炭酸復紅蓋覆其上，聽其存留一至二分鐘

，後以蒸餾水洗之，令其自乾。

3. 玻片及蓋玻片須十分潔淨，而無油脂者。

4. 細菌之預備法，將在瓊脂斜面生長之十八小時細菌培養物一鉗絲圈，移置於二公撮之消毒水中，將此勻器液移於攝氏三十七度之孵卵器中十至十五分鐘，小心移置一鉗絲圈於一絕對潔淨之玻片上，傾斜玻片，使滴下流，或以紙片小心將滴下引，而成一薄，膜，在空氣中聽其自乾。

(二) Shuck 氏法：

I. 媒染劑(Mordant)：

第一液：(Solution A)：鞣酸飽和水溶液 (Sat. aq. Sol. of Tannic acid) 30c.c.

百分之五氯化高鐵水溶液 (Sol. of ferric chloride 5% in water) 10c.c.

第二液：(Solution B)：

安氏林 (Aniline) 1cc.

百分之九十五酒精 (alc 95%) 4c.c.

第一液最好在一星期以前預先配備，於臨用前過濾之，用時先以第一液約八滴置於玻片上，繼之用第

二液一滴滴於第一液之上，此時在玻片上產生有沉澱物，小心將多餘之媒染劑移去，然後應用染色液，未應用染色液前，不必洗滌。

I. 染液 (Stain) :

石炭酸複紅 (Carbol Fuchsin) : 百分之一沙紅於百分之五十酒精內 (1% Safranin in 50% alcohol)，安尼林龍膽紫 (Aniline gentian Violet)，或呂氏美藍 (Löffler's methylene blue)，亦可用之，Shuuk氏所舉者如下：

呂氏美藍溶液 (Löffler's methylene blue solution) 30c.c. Shuuk氏媒染劑第二液 (Solution B of Shuuk's mordant) 3c.c.

此液係備為立即應用者，須小心保存之。

(三) Löffler's法：

將標本在空氣中乾燥後，以熱固定之，然後以下列媒染劑處理之。

百分之二十之鞣酸水溶液。

(20% aqueous Tannic acid) 10份

在室溫下飽和之硫酸亞鐵水溶液 (Ferrous Sulfate

aqua, Sol, Saturated room temp,)..... 5份
 復紅酒精飽和溶液(Saturated alcoholic
 Fuchsin Solution).....1份

此溶液須新鮮，於臨用前過濾之，用時將濾液傾於
 蓋玻片上，使其存留半分鐘，在此時間中，須同時徐
 徐加熱，但勿使至沸點。

以水透徹洗淨。

以百分之五安尼林水復紅(5% Aniline water Fuc
 hsin)，或安尼林水龍膽紫(Aniline water gentian
 Violet) 染色。加入千分之一氫氧化鈉溶液(0.1%
 Sodium hydroxide)使成微鹼性。

染液須過濾，並須直接濾於玻片上，染色時應徐徐
 加熱、靜置一至二分鐘後，以水洗之，繼以樹脂香
 裱之。

(四) Van Ermengen氏法：

此法須用三種溶液：

1. 百分之二十之鞣酸溶液 (20% Tannic acid, Solu-
 tion) 60c.c.

百分之二溴酸溶液 (2% Osmic acid solution) 80

0.0.

冰醋酸(Glacial acetic acid)..... 4—5滴

將已固定於玻片上之標本，放於溶液中，在室溫
溫度一小時，或以攝氏表一百度(沸度)五分鐘。
以水洗之。

再以純酒精洗之。

然後將該玻片浸於(2)溶液中一至三秒鐘。

2. 百分之0.25至0.5 硝酸銀溶液。

不加洗滌，再將該玻片移放於(3)溶液中。

3. 沒食子酸(Gallic acid)..... 5gms

鞣酸 (Tannic acid)..... 5gms

溶融醋酸鉀(Fused Potassu acetate)..... 10gms

汽水(Distilled water)..... 350c.c.

將該玻片於溶液中數分鐘，同時不斷搖動玻片，
然後再將該玻片移回硝酸銀溶液中，直至標本
變黑色為止。

以水透澈洗淨之，吸乾之。

7. 芽胞染色法(Spore stains) :

(一)唐納氏法(Dorner's method) :

溶液(Solution)：

A. 新鮮過濾之石炭酸靛紅

(Carbol Fuchsin freshly filtered)。

B. 奈格羅辛飽和水溶液。

(Saturated aqueous solution of nigrosin)。

手續(Procedure)：

1. 在一小試管內，製備一液重之菌懸液於二至三滴蒸餾水中，此乳狀液之原料，可得自瓊脂斜面培養長成之飯本菌。
 2. 加大等量之過濾之石炭酸靛紅液。
 3. 將此混合物置於沸點之水箱內十至十二分鐘。
 4. 於玻片混合一鉛絲圈之已着色之標本，與一鉛絲圈之奈格羅辛飽和水溶液。
 5. 以可能之薄度，製成抹片後速乾之。
- 芽胞呈紅色，菌體幾乎無色，而顯現於奈格羅辛之暗灰色之背景之前。

(二) 慕納氏法(Moeller's Method)：

- 依常法預備玻片標本，以夾端固定之。
- 於哥羅仿(Chloroform)液中洗滌二分鐘。

用水洗之。

以百分之五鉻酸液(Chromic acid)覆蓋半至三分鐘。

再用水洗之。

反置玻片於含有石炭酸複紅液之小瓷皿(Porcelain dish)內，緩緩加熱，直至蒸氣昇騰為止，保持此狀態三至五分鐘之久，(此步手續可以玻蓋片覆以石炭酸複紅液，於火焰上加熱而代之)。

以百分之五澱酸液退色五至十秒鐘。以水洗滌。

以美藍水溶液染色半至一分鐘。

依此法染色後，芽胞呈紅色，菌體呈藍色。

8. 多色染色法，(Polychrome stains)：

各種多色染色法於細菌學上頗具價值，其主要之應用即於膿及滲出液等之染色，以顯現膿及滲出液內與細菌有關之細胞成份(Cellular elements)或要素也，該染色法，對於原生動物寄生蟲(Protozoan Parasites)固定標本之研究，亦占極重要地位，關於此類之配製法甚多，在此未能盡錄，只舉其重要而常用者數個於後，此類染色液，原理上係奈孚伊紅(rosin)與美藍(Methylene blue)聯合而成，於染色時，分別單獨

施行，同時亦為聯帶從事，在同一溶液中，至少含有三種不同之原素，由諸不同之原素各施其不同之選擇反應，而將標本上之各種不同之組織着色也。

(一)魏氏染色法(Wright's stain)：

鹽酸美藍(Methylene blue hydrochloride

90% Dye Content)..... 0.9gm

碳酸鈉百分之 0.5水溶液(Sodium carbonate

0.5% Aqueous solution).....100c.c.

將此混合液置於攝氏一百度之蒸氣消毒器中加熱一小時。(溶液於盛器中勿使超過六公分之深度)，涼之，過濾於濾液中加入：

伊紅(Y) (Eosin (Y) Dye content about 85%)

1.0gm

蒸餾水(Distilled water).....500c.c.

完全混合後過濾之，保留其沉澱物。

用時溶化如下：

魏氏染料(Wright's staindry).....0.1gm

木 醇(Methyl alcohol, absolute,

Neutral, acetone free)

60c.c.

令此染色靜置二十四至四十八小時過飽，每次用時必先重新過飽之。

染色時，將乾修之標本 蓋以該酒精液之染料一分鐘，繼以等量蒸餾水，滴入以稀釋之，此時可發現一種金屬質之薄膜生成於表面，令此稀釋之染液存留三至十五分鐘，以蒸餾水洗滌之，但須小心將該金屬膜洗去，以防沉澱物附著於片上。

(二) 姬氏染色法 (Giemsa's stain) :

1. 血染色用 (For blood) :

第二號天青伊紅 (Azure—II—Eosin)	3gm
第二號天青 (Azure II)	0.8gm
純甘油 (Glycerol C. P.)	250c.c.
純木醇 (Methyl alcohol, Neutral, acetone free)	250c.c.

2. 組織染色用 (For Tissue) :

第二號天青伊紅 (Azure-II, Eosin)	3gms
第二號天青 (Azure II)	0.8gm
純甘油 (Glycerol C.P.)	125c.c.
純木醇 (Methyl alcohol, neutral, acetone Free)	

.....85 c.c.

用時以水稀釋至一比十之比例，然後置標本於此稀釋液之姬氏染液內，以便標本在染液中致木醇固定，令標本與染液發生反應由6——18小時之久。

9. 四色素染色法：(Tetrachrome, MacNeal)：

伊紅(Y) (Eosin (Y), Dye content 80——85%)
..... 1gm

鹽酸美藍 (Methylene blue hydrochloride)

Dye content about 90%..... (0.6gm

天青(A) (Azure(A)..... 0.6gm

美紫(Methylene Violet, berntsen) 0.2gm

純木醇(Methyl Alcohol, Neutral,

Acetone free) 1000c.c.

加熱至攝氏五十度，透澈振搖，然後令其在攝氏37度二十四或四十八小時，過濾之，收集濾液待用，此染料，可由溶液中獲得乾燥者。

染色技術與魏氏法同。

10. 螺旋體染色法 (Stain for spirochetes)：

(一) 方忒氏法 (Fontana-Tribondeau Method)

按方忒氏法 (Fontana-Tribondeau Method) ，對於螺旋體之染色，全奈乎銀鹽物 (Silver salt) ，對於菌體之滲積力，及福爾馬林 (Formalin) ，對於此化合物之還原也。

第一液：福爾馬林 (Solution A, Formalin) :

冰醋酸 (Glacial acetic acid) 1c.c.

百分之四十福爾馬林 (40% Formalin)

10c.c.

蒸餾水 (Distilled water) 100c.c.

第二液：鞣酸 (Solution B, Tannic acid) :

鞣酸 (Tannic acid) 5gm.

百分之一石炭酸 (1% Carbolic acid) 100c.c.

第三液：硝酸銀 (Solution C, Silver Nitrate) :

百分之五硝酸銀溶液。

(5% Silver Nitrate Solution) 50c.c.

留存數公撮之硝酸銀溶液，於剩餘者，以濃亞母尼亞溶液 (Conc. ammonia solution) ，滴滴加入，直至所生之黑色沉澱物 (Sepia Precipitate) ，復為溶解，於加入亞母尼亞溶液時須不斷搖動，並攪勻，然後

滴滴加入前所留存硝酸銀溶液，直至輕薄之雲霧狀物生成，而不因搖動而溶化爲止，此溶液可用數月之久，而不失其功效。有時裝入於一潔淨之盛品內，該溶液或許變清，若然，可再加入數滴之百分之五硝酸銀溶液，以保持其厚狀。

處理手續：

1. 由下疳(Chancre) 患處之液體，或含有螺旋體之其他材料，在潔淨之玻片上，作一薄片標本，將其空氣中乾之。
2. 以第一液覆蓋其上約一分鐘。
3. 以蒸餾水透徹洗滌。
4. 以第二液覆蓋其上，並加熱至蒸氣上升。
5. 以蒸餾水洗之。
6. 以第三液覆蓋其上，並加熱至蒸氣上升，保持半分鐘。
7. 以水洗之，令其自乾。

標本一經此法染色後，片中物質必爲暗黑色，(Dark Maroon Color)，黑色(Black Color)。

(二) 土氏法(Tunncliff's stain)：

此法係革蘭氏法修改者，(即刪去酒精退色一節，此法亦可用於革蘭氏陰性菌之染色，改良法中最合用者如下)：

1. 製薄塗抹標本於玻片上，以熱固定之。

2. 以石炭酸結晶紫液蓋覆標本上半分鐘。

石炭酸結晶紫液 (Crbolocrystal Violet)

結晶紫酒精飽和液

(Sat. alc. sol. crystal Violet) 100.0.0.

百分之五石炭酸水溶液

(5% Aqueous phenol solution) 900.0.0.

3. 洗之以水。

4. 以盧氏碘溶液蓋覆半分鐘 (Lugol's iodine solution)。

5. 洗之以水。

6. 以沙紅蓋覆半分鐘 (Safranin)。

7. 洗之以水。

標本一經染色後，螺旋體及梭狀桿菌 (Fusiform bacilli)，呈紫黑色 (Purple black，菌之大形者以常作粒狀體，莢膜有時亦可於此染色法中顯見)。

(三)野口氏法(Noguchi's stain) :

脫醛緩衝溶液 (Formaldehyde buffer solution) :

M/15 Na_2HPO_4 88Parts.

M/15 KH_2PO_4 12Parts.

此溶液PH爲7.6.

將九份之緩衝溶液，加入一份百分之四十福爾馬林。

處理手續：

由下疳損害處(Chancro Lesion)取得之液體一滴，與脫醛緩衝液一滴滴於玻片上混和，靜置五分鐘，然後將此混合液，在玻片上展開之，在空氣中令其自乾。

染色：用鹽基性複紅，或龍膽紫之酒精飽和液，汎濺標本片上，經一至五分鐘後，以水洗去染液，在空氣中乾後，小心印乾，待檢。

11. 百日咳桿菌染色法——Stain for Bordet-Gengou bacillus (B. Pertussis)

土立定藍(Toluidin blue) 5gms.

酒精 (Alcohol) 100c.c.

水 (Water) 500c.c.

待其溶化後，加入五百公撮之 5% 石炭酸水溶液
令此混合液靜置一至二日，過濾。

該日該桿菌為革蘭氏陰性菌。

12. 鼠疫桿菌染色法 (Stain for B. Pestis) :

用純酒精固定標本，(不加熱)。

用普通之安尼林染料染色，(以稀釋之複紅液，或美
藍液為最常用者)。極體部份着深色。

該菌用革蘭氏染色為陰性菌。

13. 巴沙氏淋病球菌染色法 (Papacahaim-Saathof Stain
for gonococcus) :

堝綠 (Methyl green) 0.15gm

派羅林 (Pyronine) 0.05gm

96%酒精 (96% Alcohol) 5 c.c.

甘油 (Glycerine) 20c.c.

百分之二石炭酸水溶液加至

(2% Carbolic acid in water, add to 100c.c.

14. 內基氏小體染色法 (Stain for Negri Bodies) :

此法係應用頤氏 (Van Gieson's stain) 染色法。

以顯明腦組織抹片中之內基氏小體，以爲診斷瘋咬病 (Rabies) 之用，其處理法如下：

1. 解剖狗或其他動物之腦，獲取其中央溝區 (Roian-
dic area)，海馬 (Hippocampus or Ammon's ho-
rn)，及小腦 (Cerebellum) 等物竅。
2. 取腦組織一小片，製備抹片標本，置一塊之神經組
織於一潔淨之玻片上，以另一玻片作展開器，施以
平均而堅定之手術，壓下該組織，直至該組織幾占
有玻片之全寬度爲止，然後保持平均之壓力，將該
壓玻片徐徐向對端拖去。
3. 將該製就之薄片，立刻浸入下列之固定劑十秒鐘

：
中和性木醇 (Methyl alcohol, C. P. neutral)
.....1,000c. c.

百分之十苦味酸於中性木醇溶液 (Picric acid
10% Sol. in neutral methyl alcohol)1c. c.

將醇以百分之0.5 碳酸鈉中和之，振搖，使多餘者
沉下，用前加入苦味酸，十秒鐘後，取出標本，即
乾。

4. 用改良姬氏染液 (Modified Van Gieson's stain)

染色，並加熱至水沸發出。

用流水洗滌之，吸

改良姬氏染液如下

鹽基性複紅酒精飽和溶液 (Basic Fuchsin sat.

alc. sol.) 0.5--1c.c.

美藍飽和酒精溶液 (methylene blue sat.

alc. sol.) 1c.c.

蒸餾水 (Distilled water) 30c.c.

臨用前新鮮配備，保存於冰上。

15. 切片中內基氏小體之速顯法

(Rapid Demonstration of Negri Bodies in sections)

處理技術：取海馬 (hippocampus) 及小腦 (Cerebellum)

，之新鮮組織各一小塊、其厚度不可過於

三釐 (3mm.)，於假氏溶液 (Zenker's solution)

中。

Zenker's solution :

重鉻酸鉀 (Pot Dichromate) 25gms.

硫酸鈉 (Sod. Sulphata) 10gms.

昇汞 (Bichloride of Mercury).....	50gms.
蒸餾水 (Distilled water)	,000c. c.

(用時須加冰醋酸百分之五)。

在攝氏表 37 度下固定四小時，用流水洗滌三十分鐘，或將該組織放置流水中過夜，備一玻璃瓶（須帶有精磨而緊密之玻塞，以防蒸汽 (Vapor) 之外洩）中，置該組織之氯化鈣約一公分深 (1cm, depth)，以為除去標本中汞屑之用，加入約八十公撮，含有數片碘之 Dioxan，（碘片之作用，可助除去組織中之汞沉澱物）。

置該組織塊於 Dioxan 內，並妥為支持於氯化鈣層之上（可用一非腐蝕性之金屬三腳架，並且有一組網眼之遮蔽物者，一 Fine mesh screen），將瓶塞塞緊，移置於攝氏三十七度環境下一小時。

移置該組織小塊於等份之 Dioxan 及 Paraffin 之混合液上，於攝氏表五十六度一小時，須小心處置該組織小塊，使高出瓶底約數公分，蓋 Dioxan 有下降之傾向也，置該組織塊於攝氏五十六度溫之石臘浴 (Paraffin bath) 中一小時，然後包埋於石臘內，切

成約四秒。(40) 厚之薄片，然後用美氏蛋白質固定劑 (Mayer's albumin fixative) 固定之。

蛋白 (Egg's white).....	50c.c.
甘油 (Glycerol)	50c.c.
柳酸鈉 (Sod. salicylate) ...	1gm.

碎細後，用絨布過濾之。

附着於玻片上，將玻片於火焰上徐徐加熱，直至石臘開始溶化時爲止，此時水份已被蒸發矣，可將玻片放入賽羅 (xylol) 內。按常法除去石臘，染色前將玻片置於蒸溜水中。

染色法：(Staining Method)

Ⅰ. 製就溶液 (Stock solution)：

番徵茶胺 (Rosanilin, Grabler)	1.80gms.
美藍 (Methylene blue, Nat. col.)	1.00gm.
甘油 (Glycerol alcohol, T. P.)	100.00c.c.

搖動數分鐘，可將此溶液長久保存。

Ⅱ、溶液 (Solution)：

1：40,000之氫氟化鉀水溶液。

染色時，將一滴之溶液“Ⅰ”加入兩公撮之溶液“Ⅱ”此

混合液必須於臨用時配成之，因需其新鮮也。

將玻片由水中取出，移置於電板之上，用新鮮配製之染液染色，並加熱使氣體升騰五分鐘，涼之，並速置於流水洗滌之。

將各切片退色，并區別分開之，此係將玻片在盛有百分之九十酒精之缸內，徐徐搖動，直至切片成淺紫色為止，此乃特別重要之步驟也。

將該切片迅速通過百分之九十五酒精，而純酒精，而裝羅，然後以加拿大樹脂香漬之。

標本之着色：——

內基氏小體呈品紅色 (Magenta Red)，而於高倍之擴大鏡下，粒狀包含 (Granular inclusions)，則呈深藍色 (Dark blue)，核小體 (Nucleoli)，顯藍黑色 (bluish black)，細胞漿 (Cytoplasm)，呈藍紫色 (bluish violet)，赤血球呈銅色 (Copper color)。

18. 組織中之細菌染色法：

為細菌染色用之組織標本之製備法，普遍均與組織學中，從事於細胞之研究為目的者同，為細菌學之研究

，最主要而常用之固定劑，爲酒精，與錢氏液 (Zenker's fluid)，關於福爾馬林，或毛氏 (Mueller's Fluid) 液之固定，

Mueller's fluid :

重鉻酸鉀 (Pot. Bichromate)	2.5gms
硫酸鈉 (Sod. Sulfate)	1grn.
蒸餾水 (Distilled water)	100c. c.

結果不甚圓滿，至於去水法 (Dehydration)，及色埋法 (Embedding) 等手續，均與組織學上 (Histological Studies) 所用者同，但於必需時，對於組織標本之處理手續，應較之平常病理學 (Pathological work) 工作上之手術，倍加謹慎，小心施行爲佳，同時對於通過酒精由淡而濃之。

手續，亦應以減少唐突爲要。(詳論論述，可參考病理學技術課本，按以馬氏 (Mallory)，與魏氏 (Wright) 法爲最精密。

安置標本可採用火棉液 (Colloidin)，以代石臘 (Paraffin) 火棉液法固非於謹慎處理下，不得良果也。火棉液法之主要缺點，即其能保持其本身色質。

因而於鑒別時，有不清晰之現象，同時標本經色埋後，火棉液法較之石臘法不易將標本薄切。

爲細菌染色之組織切片標本，以採用切片附着玻璃片法最爲適宜，若係火棉液之切片，可用醚氣 (Ether Vapor) 完成之；若係石臘切片，則應在玻璃片上，塗以一层極薄而曾經過濾之混合液，該混合液係以等量之蛋白 (Egg-albumin)，與甘油，并含有一小粒麝香之樟腦 (Camphor) 結晶體，或一二滴之石炭酸配成之。若知是該切片標本，則浮於玻璃片上矣，然後將其置於水浴於自調溫度器 (thermostat) 中四至五小時。

(4) 革脫氏法 (用於火棉液之切片)：

革脫氏法 (Gram-Weigert method for colloidine sections)：

在下列新過濾之溶液中染色半小時。

洋紅 (Carbifin)	3.5gms/l
碳酸鋰飽和水溶液 (Sat. aqueous Solution of lithium carbonate)	100c.c.
	100c.c.

在百分之九十五酒精內脫水。

以醚氣 (Ether Vapor) 將切片黏於玻璃片上。

以安尼林水龍紫 (Aniline water gentian Violet)

染色五至十分鐘

以生理食鹽水 (Physiological salt solution) 洗滌。

以革蘭氏藥液蓋覆一至兩分鐘。

水洗并印乾之。

以安尼林油 (Aniline Oil) 退色，直至多數色澤脫落。

(Aniline Oil 不但可以退色并且可以去油)。

以賽羅 (xylol) 處理之後，繼續塗之以樹脂香 (Balsam)

。

(二) 革畏氏法 (用於石臘之切片)：

(Gram-Weigert (Method for Paraffin Sections)：

1. 將切片在明礬蘇木紫 (Alum-haematoxylin) 中輕捷染色。
2. 在流水中洗滌之。
3. 染以百分之四伊紅水溶液，五分鐘至半小時。
4. 用水洗之。
5. 染以安尼林—堇紫 (Aniline-methyl-violet)，半至一小時。
6. 洗之以水。
7. 用盧氏溶液 (Lugol's solution) 蓋覆十五至三分鐘。

8. 洗之以水。
9. 以濾紙印乾。
10. 用安尼林油退色及去水，(或用安尼林與賽羅之等量混合液亦可，但於處理時，必須數次將混合液換新)。
11. 以賽羅洗之。
12. 在賽羅透明松香(xylol-colophonium)中浸之。

(三) 巴氏於組織中革蘭氏陽性與陰性菌之染色法：

(Pappenheimer's Method for Gram Positive and Negative organisms in Tissues) :

用福爾馬林或酒精固定。

石蠟切片以五秒(u)，或小於五秒為佳。

染色：——

1. 斯氏龍膽紫 (Stirling's Anilino gentiana violet) 五分鐘。
2. 革蘭氏碘溶液一分鐘。
3. 安尼林油，或安尼林油賽羅，退色至淡紫色。
4. 用酒精數秒鐘。

6. 0.5%沙紅水溶液半分鐘。

7. 蒸餾水。

8. 印乾。

9. 純酒精數秒鐘。

10. 透明之以賽羅。

Stirling's Aniline gentian violet :

龍膽紫(gentian violet) 5gms.

百分之九十五酒精(95% Alcohol) 10c.c.

安尼林油 (Aniline Oil) 2c.c.

蒸餾水(Distilled water) 88c.c.

1. 先將龍膽紫與酒精在研鉢內磨勻五分鐘。

2. 繼加入安尼林油研之。

3. 再加入汽水研之。

4. 繼續研磨一二分鐘後，將此混合液，移置於潔淨三角燒瓶內過一夜，瓶口須緊塞，以防液體之蒸發，及灰塵之污染。

5. 過濾後裝入試藥瓶內，按此溶液可保存數日而不至變壞也。

(四) 組織切片中之革蘭氏陽性菌革蘭氏陰性菌之區別染色

法：

(Differential staining of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria in Tissue sections)

按常法製備石蠟切片標本。

染色：

1. 用新過濾之明礬蘇木素染色二至五分鐘。
2. 用百分之三鹽酸酒精洗滌至呈淺粉紅色。
3. 在銨水 (Ammoniacal water; 10 g. aqua ammonia in 100 c.c. water) 中洗滌至現藍色。
4. 在水中洗之。
5. 以五滴之百分之五重碳酸鈉水溶液 (內含有 0.5% 石炭酸，以爲防腐劑) 與約 0.75 c.c. 之百分之一 (以重量計) 龍膽紫水溶液，在一小瓶內混和之，即刻將此混合液傾於玻片上染色兩分鐘。
6. 速用水洗滌。
7. 用盧戈氏碘液蓋覆一分鐘。
8. 水洗去碘液。
9. 以一份之酒精與三分之醋酐，滴於玻片上，以退色之，直至完全退色爲止。

10. 印乾。

11. 用鹽基性複紅液(每百公撮水內含複紅 0.005 公分) 染色五分鐘。

12. 用水洗之，稍吸出片上之水，但勿令切片乾燥。

13. 將標本通過醋酐。

14. 片內含 0.1 公分之苦味酸之一百公撮醋酐溶液，滴於片上，以退色，並鑑別之，直至切片現桃紅色 (Yellowish Pink) 為止，此係本法中最重要者之一步也，進行此步手續時，可將玻片標本，擱於色板或白色皿之上，組織標本中之大部份菌質，應於此時被退去，但革蘭氏陰性菌應保留紅白色。

15. 通過醋酐如上，繼以等份之醋酐與賽羅，然後賽羅。

16. 紅透明於賽羅後，裱之以樹脂香，(從第五步起以每次一片處理為最佳)

細胞裱着暗紅褐色 (Dark reddish-brown)。

細胞顯淺黃色 (Yellowish)

革蘭氏陽性菌為深紫色 (Deep Violet) 或黑色 (black)

k)。

革蘭氏陰性菌呈亮紅色 (Bright red)，白血細胞則顯現其暗黃色之原漿，嗜鹽基性細胞之粒狀體着紅色，赤血球細胞或着黃色，或着紅色，此係奈乎在苦味酸液中退色時之程度可定也。

軟骨組織 (Cartilage) 着粉紅色，紋狀肌及纖維素，普通着黃色，但多少亦可保留之染色。

(五) 馬氏伊紅及美藍染色法 (Mallory's Eosin and methylene blue stain) :

凡石蠟切片，只限經茲克氏 (Zaoker's fixation) 溶液固定者：

1. 將石蠟切片染以百分之五伊紅水溶液，歷時二十分鐘，或二十分鐘以上。

2. 用水洗之，以去過多之伊紅

3. 用安氏鹼性美藍液 (Unna's alkaline methylene blue solution) :

碳酸鉀 (Potass. Carbonate) 1gm.

美藍 (Methylene blue) 1gm.

新鮮重蒸餾水 (Freshly redistilled) 100c.c.

在室溫度下靜置數月，使其成熟，按 1:5
之，染色歷時十至十五分鐘。

4. 用水洗之。

5. 分別將切片置於盛有百分之九十酒精之皿內去水。
(酒精內須含有溶化純酒精中之百分之十之透明
松香) 退色時須將切片不斷動盪，以便將其均勻
退色，(欲知其退色之結果，須在顯微鏡下詳細
觀察之)，若切片呈粉紅色，而核乃為深藍色時
，須速用純酒精，以完成去水之步驟。

6. 先移置於賽羅，然後於賽羅樹脂香。

(六) 切片中結核桿菌之染色法(Method of staining for
Tubercle Bacillus in sections):

(a) 石蠟切片

1. 在熱之石炭酸複紅液中染色五分鐘，或用冷之石
炭酸複紅液染色二十四小時。

2. 用水洗之。

3. 用加氏美藍硫酸混合液(gabbet's methylene blue
sulfuric acid mixture):

美藍(Methylene blue)

2gms.

硫酸25% (H_2SO_4 25%. SP. gr. 1.018)

100c.c.

4. 用水洗之。
5. 用純酒精去水。
6. 在玻羅透明之。
7. 裱之以樹脂香。

(b) 石棉液切片 (Celloidin sections) :

1. 在明礬蘇木素 (Alum hematoxylin) 中淡染之。
2. 用水洗之。
3. 置於百分之九十五酒精中去水。
4. 用醚氣 (Ether Vapor), 將其附着於玻片上。
5. 用蒸騰之石炭酸複紅液 (Steaming carbol Fuchsin) 染色二至五分鐘。
6. 用水洗之。
7. 以奧氏鹽酸酒精 (Orth's acid alcohol), 即係九十公撮之百分之九十酒精, 與一公撮濃鹽酸配成者 (洗染半至一分鐘)。
8. 用水反覆數次洗滌之。
9. 用百分之九十五酒精處理之, 直至將紅色質全部

除去為止。

10. 印乾後，用賽羅覆於其上，直至透明，然後覆以樹脂香。

(七) 馬氏切片之放線菌屬染色法 (Mallory's method for staining actinomycetes in sections):

1. 用伊紅飽和水溶液 (Sat. aqueous Eosin) 深染十分鐘。
 2. 用水洗之。
 3. 安尼林龍膽紫五分鐘。
 4. 用生理食鹽水洗滌之。
 5. 畏氏碘溶液 (Weigert's Iodine solution) 一分鐘
- | | |
|-------------------|---------|
| 碘 (Iodine) | 1gm. |
| 碘化鉀 (Pot. Iodide) | 2gm. |
| 水 (Water) | 100c.c. |
6. 水洗後印乾之。
 7. 用安尼林油透明之。
 8. 數換賽羅以滌之。
 9. 覆之以樹脂香。

17. 卡氏立克次氏小體染色法 (Castaneda stain for

Rickottsia) :

I•染液(Stain) :

(a) 緩衝溶液(Buffer solution) :

磷酸鉀(Potassium Phosphate KH_2PO_4)

一公分溶於一百公撮蒸餾水內。

磷酸鈉(Sodium phosphate $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)

二十五公分溶於一百公撮蒸餾水內。

(混合之其PH值為7.5)。

加入防腐劑福爾馬林一公撮。

(b) 木醇(Methyl alcohol) 100c.c.

美藍(Methylene blue) 1gm.

取二十公撮之緩衝溶液(a)，加入一公撮福爾馬林，並0.15公撮之溶液(b)。

II•複染劑(Counterstain) :

沙紅(O) (Safranin(O)) 0.2% 溶液 1份

醋酸(Acetic acid) 0.1% 3份

用潔淨之玻片而製極薄之塗片，將此塗片置本染色三分鐘，傾去染液不加洗滌。

用複染劑染色一至四秒鐘(切勿超過五秒鐘)，用水洗

澱後，印乾待檢。由組織培養之立克次氏小體之染色法：製備一0.25%之鹽基性複紅溶液：可用磷酸配成，使其PH達7.4，或用蒸餾水與氫氧化鈉(Sodium hydroxide)，或與碳酸鈉(Sodium Carbonate)配成，使其PH達7.2至7.4。

標本之製備法：

係將一小塊之組織，塗佈一玻片上，慢慢於空氣中令其自乾，然後用已過濾之複紅液，(用粗濾紙在漏斗中過濾)，染色四分鐘，速用枸橼酸液反覆數次洗滌。然後速用水洗之，再用百分之一美藍水溶液染色約十秒鐘，按此法，只要小心處理，即可得良好之結果，立克次氏小體之細胞內外質均着紅色，其細胞原漿則着藍色，此法固可自組織培養之塗佈標本獲良好之結果，然對於感染斑疹傷寒病動物之組織切片，似無滿意之可言，目下對於感染斑疹傷寒動物切片之染色法，以姬氏(Giemsa's method)法為最可靠。

第 肆 編

培 養 基 之 製 造

培養基之製備

(A) 普通技術：

用人工培養基，培養細菌，結果之成功與否，全乎培養基中所含而適合於細菌生活條件者之成份而定，主要者，如各種營養料，溫度，以及滲透力等，同時對於特種之細菌培養，培養基中所含之物質，亦當因其特殊之需要，而有所伸縮也，若需要單獨研究細菌之某種型時，必須設法除去雜類，而存留其單純者，並保存其純粹培物，以供進一步之研究，或備必要之需。

培養細菌所需之儀器，大部均係玻璃質者，式樣固多，然常被採用者不外玻管，燒瓶及培替氏皿等，所需之儀器，於使用之前必須十分清潔以免發生意外之失敗。

- (1) 玻璃器之預備：玻璃器之清潔法甚多，新之玻璃器未使用之前應浸入於 1% 之鹽酸或硝酸溶液中，以去其臘質，繼移入 1% 之氫氧化鈉溶液中靜置數小時，然後以溫水洗滌之。

如係舊玻璃器，並含有培養基者，則先用高壓蒸汽滅菌器消毒，繼用 5% 蘇打或肥皂片煮沸，然後用清水洗淨之。

若已清潔之玻璃管或燒瓶，用不吸水之棉花塞妥，棉塞不宜過鬆或過緊，若過鬆，細菌極易侵入而致污染，過緊則不便取出，而礙工作，棉塞之預備，可將約二寸方之棉花一片，捲成，倒摺其一端，然後塞入管或瓶口即成，在培養基未裝入試管或燒瓶內之前，應將塞妥之試管或燒瓶，放入乾烤箱內，於攝氏表一百五十度溫度消毒一小時，玻璃器皿亦應按此溫度及時間消毒。

(2) 培養基之成份：

培養基中所含之成分，普通皆由下列各物所組成，如肉汁、氨基酸，多係培養基，(Polypeptides) 百希吞，維生素，及糖類 (Carbohydrates) 等，於上述基礎培養基 (Basic media) 中加入瓊脂，或動物膠，則可成為固體基，或於其中再加入血清，動物組織，植物提自物 (Plant extracts) 等，以豐富其營養力也。

(3) 培養基之測定：

專科各種細菌用之培養基，應有特殊之反應，蓋細菌種類繁多，性質各異，此則嗜酸性，彼則嗜鹼性，各有特性，故選擇培養基，首在檢查其氫游子(Hydrogen-ion)之準確濃度，檢查方法最簡便者，首推比色計法(Colorimetric method)，其標準液應用電解法(Electrometric method)時時試驗，因含表示劑之稀釋標準液，每易退色，苟有不慎，即成大錯。

若小之檢驗室，設備不周，可採用菲耶夫他林滴定法(Phenolphthalein method)，手續簡單，用之甚便，但於可能範圍內，應用比色法為佳。茲將兩法分述如下：

(a) 氫游子濃度之測定：

檢查培養基之反應，不外兩端，一為液體之氫游子濃度，一即緩衝指數(Buffer Index)，前者謂之為反應，(Reaction)，後者謂之為檢定酸度或鹼度(Titrable acidity or alkalinity)，反應之檢定，或用氫電極(Hydrogen electrode)以測定電度，或用表示劑，以測定色度，若測定酸度者，乃用滴定法(titration)，以測知中和性點，或酸性起點，與

液體效價之異點，故檢定培養基之反應，使其適合於細菌之滋生，及檢定培養物之氫游子濃度，最為重要，至於檢定酸度法，有兩種作用，一為測定液體之緩衝量(Buffer content)，一為檢定菌類產酸或鹼之數量，普通皆應檢定的二要素，以察知任何培養物之狀況，氫游子濃度之比色檢查法，乃利用某種微酸或鹼性色素，溶於液體後之反應不同，所起之變化以檢定之。

表示劑之氫游子感應界

表示劑名稱	製備之溶液濃度 (%)	酸性	鹼性	pH 感應界
Thymol blue	0.04	紅	黃	1.2—2.8
Bromphenol blue	0.4	黃	藍	3.0—4.6
methyl red	0.02	紅	黃	4.4—6.0
Bromcresol green	0.04	黃	藍	3.8—5.4
Bromcresol purple	0.04	黃	紫	5.2—6.8
Bromthymol blue	0.04	黃	藍	6.0—7.6

Phenol red	0.02	黃	紅	6.8—8.4
Cresol red	0.02	黃	紅	7.2—8.8
Thymol blue	0.04	黃	藍	8.0—9.6
Cresolphthalein	0.02	藍色	紅	8.2—9.8
Phenolphthalein	0.02	藍色	紅	8.5—10.5
Alizarine yellow	—	藍色	黃	10.0—12.0
Litmus	—	紅	藍	4.5—8.3

(b) 緩衝標準液之預備，(Preparation of Buffer Standard)：

欲正確測定氫游子濃度，只能用比色計精細比色，此比色計乃用已知氫游子濃度之表示劑液製成，至於緩衝液，宜按克魯呂氏(Clark and Lubs)法配合，如下表所示，為混合液之組成，在攝氏二十度下每隔0.2之PH值

磷酸二氫鉀及氫氧化鈉混合液

P. H	M/5KH ₂ PO ₄ (c.c.)	M/5NaOH(c.c.)	稀釋率 (c.c.)
5.8	50	3.72	200
6.0	50	5.70	200
6.2	50	8.60	200
6.4	50	12.60	200
6.6	50	17.80	200
6.8	50	23.65	200
7.0	50	29.63	200
7.2	50	35.0	200
7.4	50	39.50	200
7.6	50	42.80	200
7.8	50	45.20	200
8.0	50	46.80	200

(c) PH之意義： 每公升之純水其氫游子濃度為0.0000

001，或 1×10^{-7} ，因水之氫游子濃度，係等於氫氣

游子濃度，故氫氧游子之濃度亦為 1×10^{-7} ，即所為中和點是也。

凡溶液中之氫游子濃度小於 1×10^{-7} ，或其氫氧游子濃度大於 1×10^{-7} 者，該溶液則為鹼性。反之亦然，以上用以表明之數字過繁，不切實用，對於作曲線表格時，尤感不便，為欲避免種種困難計，蘇氏 (Sørensen) 即發明一極簡便之方法，係用對數表行出之數以代之。PH 乃氫游子濃度倒數之對數也即：

$$\text{PH} = \log \text{ of } \frac{1}{[\text{H}]} \text{。}$$

下表係表示氫游子濃度與 PH 值之關係：

氫游子濃度	pH 值
1×10^{-1}	1
1×10^{-2}	2
1×10^{-3}	3
1×10^{-4}	4
1×10^{-5}	5
1×10^{-6}	6
1×10^{-7}	7
1×10^{-8}	8

1×10^{-9} 9

1×10^{-10} 10

用Brom.thymol blue 0.02% 水溶液為表示劑所配備
之氫游子濃度標準色澤組成表

細別管	試管 N/20 氫 氧化鈉	表示劑	試管	0.1% 鹽酸	表示劑	顏色	PH	
1	1	10C.C.	0.1C.C.	2	10C.C.	0.7C.C.	黃色	6.4
2	1	10C.C.	0.2C.C.	2	10C.C.	0.6C.C.	淡黃色	6.6
3	1	10C.C.	0.3C.C.	2	10C.C.	0.5C.C.	黃綠色	6.8
4	1	10C.C.	0.4C.C.	2	10C.C.	0.4C.C.	綠色	7.0
5	1	10C.C.	0.5C.C.	2	10C.C.	0.3C.C.	藍綠色	7.2
6	1	10C.C.	0.6C.C.	2	10C.C.	0.2C.C.	綠藍色	7.4
7	1	10C.C.	0.7C.C.	2	10C.C.	0.1C.C.	藍色	7.6

用Phenol red 0.4%水溶液為表示劑所配備之氫游子
濃度標準色澤組成表：

細別管	試管 N/20 氫 氧化鈉	表示劑	試管	鹽酸 0.1%	表示劑	顏色	PH	
1	1	10C.C.	0.1C.C.	2	10C.C.	0.7C.C.	黃色	7.0

2	1	10C.C.	0.2C.C.	2	10C.C.	0.6C.C.	淡黃色	7.2
3	1	10C.C.	0.5C.C.	2	10C.C.	0.5C.C.	粉黃色	7.4
4	1	10C.C.	0.4C.C.	2	10C.C.	0.4C.C.	紺藍色	7.6
5	1	10C.C.	0.5C.C.	2	10C.C.	0.3C.C.	黃紅色	7.8
6	1	10C.C.	0.6C.C.	2	10C.C.	0.2C.C.	淡紅色	8.0
7	1	10C.C.	0.7C.C.	2	10C.C.	0.1C.C.	紅色	8.2

(d) 試驗法(Procedure of Test) :

1. 於兩試管中，每管裝入欲試驗之培養基五公撮，及廿公撮之重蒸餾水，更加入比色計之標準液所用之表示劑量。

2. 在比色架中(Comparator block) 與標準液比較色澤其法如下：

第一管：水。

第二管：有表示劑之培養基(Medium solution with Indicator)。

第三管：有表示劑之標準液 (Standard solution with Indicator)。

第四管：無表示劑之培養基 (Medium solution without indicator)。

此時應用比色架較其反應，將第一管置於第二管之前，將第三管置於第四管之前，在有光處較其顏色相符合否，如已相符，則反應可知。

3. 加 N/20 氫氧化鈉或 N/20 鹽酸，直至與所欲求得之氫游子濃度標準液之顏色相合。

4. 計算所有之培養基須用 N/1 鹼若干，始成所欲得 P H 之反應，其法如下：

如五公撮培養基需用 N/20 氫氧化鈉三公撮，始至 PH7.4，則一公升培養基所需之 N/20 氫氧化鈉 $\frac{3}{5} \times 1,000$ ，或 600 公撮 N/20 氫氧化鈉，如是則需 30 公撮 N/1 氫氧化鈉。

(e) 用菲惹夫他林滴定培養基法：(Titration Media with Phenolphthalein)：

培養基之反應，在此法乃用中和 100 公撮所需之當量鹼溶液或酸溶液之量以表示，亦即用鹼度或酸度之百分數，其當量酸或鹼是也。

波號 (-) 指明鹼度 (alkalinity)，加號 (+) 指明

酸度 (acidity) ，培養基一經高壓蒸汽消毒後，即行增加其酸度，至於增加數，則因培養基之種類而不同，如發酵肉湯基 (Fermented bouillon) ，所增加之數甚少，普通肉湯及瓊脂 (Plain bouillon and agar) ，增加0.1——0.2% ，而動物膠則增加0.3——0.4% ，凡裝瓶備用之培養基，最後反應，當在0.5—1.2% 之間，故保存大量培養基時，其反應不可低過上述之百分數。

(一)反應之滴定法：(The determination of Reaction)：

1. 用吸管吸取培養基五公撮，注入內含四十五公撮蒸餾水之潔淨蒸發皿內。
2. 於汽燈上煮沸一分鐘。
3. 涼至攝氏五十度。
4. 加百分之一菲惹他夫林醇溶液一公撮。
5. 此時用玻璃棒攪之，徐徐滴加 N/20 氫氧化鈉，至呈淺紅色而後已。

此種色澤當混合液涼後，每變為稍深之色。

(二)反應之矯正 (The adjustment of the reaction)：

由滴定管之數，即可求出培養基酸度之百分率，因中

和 100 公撮所需之 N/1 鹼量，與五公撮所需之 N/20 鹼量相同。

當培養基偏於酸性時，若欲使其成為所需之反應，則加鹼性溶液於其內，鹼性液普通用當量碳酸鈉溶液，若已知液體培養基之容積及反應，而計算須用若干鹼性溶液，方使培養基之反應變為所需之反應，其法如下：

1. 從已知之反應，減去所求之反應，所求之不同處，即為應加入 100 公撮液體內之當量鹼溶液 (N/1 alkali) 之數目。
2. 計算培養基全部所需之當量鹼溶液，即用 100 公撮所需之當量鹼溶液數，乘培養基液體之總數，然後以一百除之即得。

例如：

茲有 1,560 公撮培養基，其反應為 2.3%，今欲使其反應成為 0.5% 其算法如下：

$2.3 - 0.5 = 1.8$ 即 100 公撮液體培養基需當量鹼溶液。 $\frac{1.560 \times 1.8}{100} = 28.08 \text{ c.c.}$ 當量碳酸鈉溶液，即液體總數應用之當量鹼溶液。

凡培養基加入鹼溶液後，須煮沸於兩重釜（雙層鍋

Double boiler) 內至少十五分鐘，再比較其反應，若適合，然後過濾。為確切工作計，須知培養基之緩衝質量，以便選取適當指數之培養基行特殊培養。為醱酵試驗用者，最好用指數較低之培基，貯存菌種用者，最好用指數高者之培養基，因緩衝液可中和由菌所生之酸度，於是反應之變異極微。

④培養基中常用之表示劑 (Indicators used in culture media) :

為欲查知細菌在培養基中生長時之產酸與否，最趨宜而常用之方法，即於製備培養基時，用表示劑加入培養基中，為此目的，其常用之表示劑溶液，舉之如次：

1. 安氏表示劑 (Andrade's Indicators) :

百分之 0.5 酸性複紅水溶液。

(0.5% aqueous sol. of 'acid' fuchsin) 100 c. c.

N/1 氫氧化鈉 (N/1 NaOH) 100 c. c.

1. 混合氫氧化鈉與複紅液。

2. 在十五磅壓力之高壓蒸汽滅菌器內消毒十五分鐘，於每百公撮之培養基中，加入上述表示劑溶液一

公撮，培養基熱時現粉紅色，冷後即無色。

含有表示劑之培養基，在鹼性時為無色，或淡黃色，在酸性時，則為粉紅色。

該表示劑在 PH7.2 時係無色。

2. 鹽基性複紅可被亞硫酸鈉退色 (Basic fuchsin decolorized with sod Sulfite) :

此表示劑係應用於遠藤氏培養基 (Endo's medium)，於醛類 (aldehydes)，或酸類 (acids)，存在時，該表示劑則由無色而變為深紅色，此成分通常係直接加入於醱類瓊脂 (Agar-carbohydrates medium) 培養基中。

鹽基性複紅 (百分之十溶液於百分之九十五酒精中)
(Basic fuchsin 10% sol, in 95% alcohol)

0.3c.c.

亞硫酸鈉 (Sodium sulfite) 5—10c.c.

鹽基性複紅為亞硫酸鈉所退色之快慢，可因標本種類之不同而異。

3. 紫色克瑞瑣溴 (Bromocresol purple)

製備溶液係百分之1.6酒精溶液

紫色克瑞瓊溴(Bromocresol purple) 1.6gms

酒精 (95% ethyl alcohol) 100c.c.

由經驗所得之結果，凡以前曾各種不同之目的而必須應用石蕊素 (Litmus) 者，而今均可以紫色克瑞瓊溴代之，在乳及各種糖培養基（為發酵試驗用者）中，可用紫色克瑞瓊溴以代石蕊素，常用之份量，則每千公撮之培養基中，加入紫色克瑞瓊溴之製備溶液五至十公撮。

4. 燒紅 (Methyl red) :

此表示劑係為燒紅試驗 (Methyl red test) 用者，製備法係取燒紅 0.1 公分溶解於三百公撮之百分之九十五酒精中，然後以五百公撮之蒸餾水稀釋之即得。

⑤ 培養基之潔淨法：(Methods of clearing media) :

1. 雞蛋清淨法 (Clearing with Eggs) :

凡培養基之由於含有凝固性物質之材料而製備者，必清淨之，以免混濁，清淨法可先加蛋白，然後置於阿諾氏滅菌器 (Arnold Sterilizer) 中蒸之，歷時十五分鐘，清淨之手續詳述如次：

將雞蛋之蛋白，每千公撮之培養約須一或兩個雞蛋之蛋白，混合約二十公撮之水，在一含有玻璃珠之燒瓶中碎勻之，然後傾入培養基中，（培養基須冷至攝氏五十度左右），將該混合物震搖使十分混合，然後置於阿諾氏滅菌器中蒸之，歷時十五分鐘，取出，再加震搖，以完全破碎其所產生之凝固物，重新放入阿諾氏滅菌器內，汽蒸十五分鐘，此時沉澱物即下降，上層即為極清晰之液體矣，取出並用棉花過濾之。

2. 濾紙過濾法：(Filtering media through paper)
：多種培養基，不必預先加入凝固物，而直接可用濾紙過濾以清淨之。
3. 棉花過濾法：(Filtering through cotton)，培養基中，原有之凝固性蛋白質，經凝固或經加入蛋白而清淨後，可用吸水棉花，數次過濾之，先將上層濾過，繼濾其沉澱物。
4. 細菌過濾法 (Bacterial filtration)：此係對於除淨液體培養基中之細菌最要者也，如毒素之製備，培養基腹水液，與血清等之無菌，均宜應用此法

以清淨之，常用之濾器，以麥氏 (Berkefeld)，曼氏 (mandler)，張氏 (Chamberland) 等所發明者為佳。

⑥培養基之裝管法 (Tubing of media) :

將製就之培養基，傾入于一大漏斗內，該漏斗之柄應接連以橡皮管，橡皮管之另一端則連接一玻璃導管，並近於導管與橡皮管之連接處，附一夾器，為欲避免培養基之附着於塞棉花處之管口計，於裝管時，應將玻璃導管深插於試管內，然後開放夾器，使培養基流入試管內，每管約裝入培養基七至八公撮。

⑦培養基之消毒 (Sterilization of media) :

多數培養基，應用高壓蒸汽滅菌器 (Autoclave)，在十五磅壓力下，歷時十五分鐘至一小時消毒之，但凡受高熱而易毀壞之培養基，如血清，血液，蛋白質，或其他物質等，應用間歇滅菌法 (Fractional Sterilization) 消毒之，即將消毒物質在蒸汽箱中消毒三次，每日一次，每次二十分鐘，用此法消毒者，於每次消毒後，須將消毒物質，置於室溫度或三十七

厚之膠箱內，使存在於培養基內之芽胞狀菌，發芽為繁殖狀菌。而易於殺滅也。

凡含有動物血清，或其他蛋白質之培養基者：應在水箱內 (Water bath) 內，或熱氣箱 (Hot air chamber) 中，用間歇法，以攝氏表六十至七十度溫消毒五至六次，每日一次，每次一小時，血清培養基，在蒸厚器 (Inspissator) 內，凝固後，亦可在高壓滅菌器中消毒之。

(B) 培養基之製備法：

(Preparation of Culture media)：

培養細菌用之培養基，種類繁多，據統計，約七千餘種，分為二千五百餘類，本章所述者，係對於醫學細菌學上最常用者也。

(一) 基礎培養基：

(甲) 液體培養基：——

① 肉浸液 (meat infusion Broth)：

1. 將牛肉中之脂肪完全除去，然後研碎或切碎之。
2. 每五百公分之淨肉，加入一千公撮之汽水。
3. 置冰箱內12——18小時。

4. 盡去浮起之脂肪。
5. 煮沸半小時。
6. 加蒸餾水以補蒸發之水份。
7. 用紗布過濾，以除去其肉渣。
8. 再用濾紙過濾之。
9. 加蒸餾水以補損失。
10. 每千公撮中加入以下成分：——
百布吞(Peptone).....20gms.
食 鹽(Sod. Chloride).....5gms.
11. 加熱以溶化百布吞。
12. 檢定反應使成PH7.6——7.8。
13. 煮沸半小時。
14. 冷至30°C.左右，以濾紙過濾之。
15. 裝管或瓶，然後在15磅壓力下，消毒十五分鐘。

② 激素基(Hormone medium)：

培養基一經過濾，可將培養基中之某種物質去除，該種物質，名為激素，其對於細菌之營養，占有極重要之地位也，用普通之培養基培養細菌，其收效，據經驗所得，遠不如含有激素之培養基佳良，因之而有激

霧基發明焉。

茲將其製備法述之如下：

1. 將新鮮牛心上之脂肪及大血管除去。

2. 用研肉機研碎之。

3. 稱其重量。

4. 每百公撮直接加入：

a. 蒸餾水.....1,000c. c.

b. 百布吞.....10gms.

c. 食 鹽.....5gms.

d. 雞 蛋.....一整粒

e. 經切碎之琼脂.....30gms.

若為肉湯之用者，可加入百分之一動物膠，若該液係為琼脂基之原料者，則不必加入動物膠也。

5. 將各成分混合後，加熱至70°c.

6. 每千公撮中，加當量之氫氧化鈉二十五公撮。

7. 將該混合物移置阿諾氏滅菌器中，歷時二小時之久。

8. 將液體徐徐傾出，並檢定其反應。

9. 分配裝置後，用間歇消毒法，或於十五磅壓力下，

十五分鐘消毒之。

注意：切勿過濃，若未能得極清之液體，可於第一次消毒後，傾出其上層，給以第二次消毒，但每次消毒後，其PH每低0.2，故於第八步手續中，比按欲消毒之次數，而定其反應也。

③百布吞水基(Dunham's Peptone water)：

1.量取下列成份混合之：——

百布吞 (peptone)10gms.

食鹽(Sod. Chloride).....5gms.)

蒸餾水60°C(Dist. water at 60°C.).....250c.c.

2.將此乳劑注入一公升燒瓶內，然後加蒸餾水使成

1.000c.c.。

3.放於蒸氣殺菌器，於攝氏百度溫，經卅分鐘消毒。

4.用濾紙過濾之。

5.每管裝入五至十公撮。

6.於高壓蒸汽滅菌器中消毒，在十五磅壓力下，經卅

五分鐘。

④無糖肉湯基：(Sugar-free Broth)：

1.按常法製備一公升之肉浸液。

2. 接種新純之大腸桿菌培養物。

3. 孵育二十四小時至十八小時。

(大腸桿菌能將肉湯內所含之各單糖類，發酵而破壞之，因此，該肉湯則成爲酸性無糖之肉湯矣)。

4. 放入阿諾氏滅菌器內，壹小時，以殺滅大腸桿菌。

5. 檢定反應。

6. 再放入阿諾氏滅菌器內半小時。

7. 用濾紙過濾數次。直至清淅爲止。

(此無糖肉湯係專爲發酵作用試驗之用，可於製備各種糖發酵管時，按法加百分之一糖類，然後以間歇消毒法三次消毒之，因在高壓或高溫消毒，有分解糖類之虞，故忌採用高壓蒸汽滅菌器消毒)。

⑤ 血凝塊胃素消化基(Blood Clot Pepsin Digest)：

1. 將血塊二千公撮與新鮮之豬胃六只，混合研碎之。

2. 取此混合物三份加水二份。

3. 加入濃鹽酸，約百分之四，使其反應爲PH2至3。

4. 孵育三十八小時後，用紗布過濾之。

5. 取此消化溶液一份，加水三至四份。

6. 加熱至85°C，——100°C，

7, 加入濃氫氧化鈉使其反應成PH6。

8, 過濾, 加入0.5%葡萄糖。

9, 檢查反應。

10 按所需量加入琼脂。

④ 肝湯基(Liver digest broth) :

1, 洗滌豬胃約七個, 並切碎之。

2, 將同重量之豬或牛肝洗淨切碎之。

3, 照下列成分混和之。

切碎胃.....400gms,

切碎肝.....400gms,

鹽酸.....40c.c.,

蒸餾水50°c,4000c.c.,

將此混合液裝入玻璃器內, 置於50°c, 之水箱中

(Water bath), 經18——24小時。

4, 每十公升(Liter)混合液, 加2N氫碘鈉約50c.c., 并

煮沸十分鐘, 置於冰箱中一夜。

5, 取出其清液並量之, 加熱至70°c, 然後用N/2氫碘

鈉滴定其反應, 使成PHenolphthalein之+0.8%酸

度即可。

- 6, 加0.2% 雙磷酸鉀(Dibasic Potassium Phosphate, K_2HPO_4)，稱之，記載其重量，並於二兩重釜內加蒸的10——15分鐘。
 - 7, 再秤之。加蒸餾水以補足其所失量。
 - 8, 測定其反應。加2N 羧酸鈣，使成 pH7.6，然後於兩重釜內加蒸的15分鐘。
 - 9, 放於蒸筒內一夜，或用濕紙濕過之，裝入一發酵管，及一15c. c. 試管內，供最後滴定之用。
 - 10, 分裝於燒瓶中，置於高壓蒸汽滅菌器內消毒，在15磅壓力下，蒸20分鐘。
 - 11, 同時將培養基全量亦行置於高壓蒸汽滅菌器消毒，然後自管內取出5c. c. 而檢定之，隨記載其確實反應，並寫明於每燒瓶之上。
 - 12, 種大腸桿菌於發酵瓶內，經五日之發育，然後記載其產生氣體之多寡，及玻璃球部與枝部之反應，多致細菌種於此培養基中，皆發育極良，但不適於貯藏菌種之用，或因含糖過多之故，此外用心肌或他種肉類替代肝臟，所製造之培養基，雖屬昂貴，但甚便於用也。
- (乙) 固體培養基：——

① 肉膏基 (Meat extract agar) :

琼脂 (agar).....	20gms.
肉膏 (meat extract).....	3gms.
食鹽 (Sod. Chloride).....	5grs.
百布谷 (Peptone).....	20gms.
蒸餾水 (Dist. Water).....	1,000c.c.

1. 將以上各成分混合蒸沸之，不斷攪拌，直至琼脂完全溶化爲止。

2. 加入蒸餾水，以補足被蒸發之水分。

3. 檢定反應至 PH 7.6—7.8。

4. 用吸水棉花及紗布過濾之。

5. 裝入瓶或試管內，如係斜面 (Slants)，每管約裝入八公撮。

6. 在十五磅高壓蒸汽滅菌器內，消毒十五分鐘。

7. 如係斜面，應將試管斜置，俟琼脂硬化後使用之。

② 半固體培養基 (Semi-solid medium) :

此種培養基，對於糞便之培養，頗爲適用，因其不但可察知細菌之動力 (motility)，並可加入糖類，可見其發酵，但此種培養基製成後，用目視之，須全透明。

而後可用。

1. 配合數如下：

琼脂(agar).....5gms.

筋膠(gelatin).....80gms.

無糖肉湯 (Sugar-Free bouillon).....1,000c.c.

2. 秤其重量，並記載之。

3. 熱至琼脂溶化，加筋膠，再秤之，將其蒸發量用水補足之。

4. 蓋正反應為PH7.4. 放入高壓蒸汽滅菌器內，於7——8磅之壓力下蒸廿分鐘。

5. 於蒸厚器內澄清之，或於濾心器沉澱之。

6. 分裝於試管內，每管約五公撮。

7. 放於阿諾氏殺菌器內三日，每日半小時，或置於高壓蒸汽滅菌器內，於七至八磅壓力下，經廿分鐘。

動物膠肉膏基(meat extract gelatin)：

動物膠(gelatin).....150gms.

百布吞(Peptone).....20gms.

肉膏(meat extract).....3gms.

食鹽(Sodium Chloride).....5gms.

蒸餾水(Dist. water)1,000g.

1. 將上之成份(除去動物膠外)，混合並於兩重鍋(Double boiler)中，煮沸之，移去火焰。
2. 加入動物膠，並加攪拌，俟動物膠幾乎完全溶化，繼續加熱，並攪拌，直至動物膠完全溶化為止。
3. 加入蒸餾水以補蒸發之損失。
4. 檢定反應，使成 PH7.6-7.8。
5. 保持培養基在溫熱時，用吸水棉花過濾之。
6. 裝入試管內，每管約八至十公撮。
7. 移入高壓蒸汽滅菌器中，加壓十五磅，歷時十五分鐘。
8. 將管直立架上，使動物膠凝固待用。

④動物膠肉浸液 (Meat infusion gelatin) :

動物膠肉浸液培養基之製備法，除用新鮮之肉浸液代替肉膏外，餘者均與上法同。

⑤瓊脂肉浸液 (Meat infusion agar)

瓊脂.....

肉浸液.....1,000g

1. 將瓊脂加入肉浸液內，煮沸，並不斷攪動，至瓊脂

完全溶化爲止。

2. 加蒸餾水以補所損失之水份。

3. 用吸水棉花過濾之。

4. 按所需量裝入試管或燒瓶內。

5. 在十五磅壓力下，消毒十五分鐘。

6. 若需用斜面，可將管斜放，至瓊脂凝固爲止。

⑥血瓊脂基 (Blood agar) :

1. 於燒瓶中溶化 PH7.4—7.8之道氏或肉浸液瓊脂一
青公撮。

2. 涼至45°—50°c

3. 加入無菌經去纖維，或枸橼酸化之兔血五公撮，
入血可阻流行性感冒桿菌之生長)。

4. 混合後，分配裝入管內，以爲製備斜面之用，或注
入皿內，以爲製備平板之用。

5. 孵育三十六度二十四小時，以試驗其是否受污染。

(二)鑑別培養基：

①馬鈴薯培養基 (Potato media)

1. 選擇大馬鈴薯若干，用滾沸水洗滌之。

2. 裁去兩端，用穿孔器穿成圓柱形，速放於涼流水中

3. 洗滌，以免其變黑。

5. 用消毒刀及案板，將圓柱縱切為兩等分。

4. 馬鈴薯本係酸性，故必須將切成之小塊，浸於百分之一炭酸鈉溶液半小時，以矯正其反應。

6. 於六英寸長之試管底，放置少許溫潤之脫脂棉花，或於管底放置約一公撮之水，及玻璃珠數粒，以免其變乾。

6. 於該試管內，放入圓柱狀馬鈴薯一塊，並令大器面向上。

7. 於阿諾氏滅菌器中消毒十五分鐘，以後持續三日，逐漸增加殺菌之時間，即二十五，三十五，四十五分鐘是也。

②中國藍柔酸基(China blue Rosalic acid medium)：

1. 製備 2% 無糖瓊脂，並使其為 PH7.4 反應。

2. 貯存於 100 至 200 公撮燒瓶內。

3. 用時加入 1% 乳糖，並於高壓蒸汽滅菌器內，在沸騰力下溶化瓊脂。

4. 將瓊脂冷至 60°C，然後每百公撮加入下列各物：

0.5% 中國藍水溶液(0.5% China blue aqueous

sol.).....1c.c.

1% 柔酸酒精溶液 (1% rosolic acid in 90% alcohol).....1c.c.

5. 加後混合之，隨注入无蓋陪替氏玻璃皿內，作平板培養基。

6. 俟其凝固始可使用。

附註：培育二十四小時後，各種乳糖發酵菌皆發綠色菌落 (B. Coli Chiefly)，每菌落中心常見深綠色之核，各種乳糖不發酵菌 (Typhoid or dysentery) 之菌落，仍為培養基本色 (紅) 且半透明。

③ 遠藤氏基 (Endo's medium) :

1. 將百分之三無糖琼脂溶化，此種琼脂由肉膏 (meat extract)，或無糖肉湯配製，使其反應為 PH7.4 並加 1% 乳糖。

2. 取純淨無水亞硫酸鈉 (Sodium Sulphite) 一克，裝於試管內，加蒸餾水十公撮。

3. 置於沸水內，俟將亞硫酸鈉溶化，再加鹽基性複紅醇液 (Alc. sol of Basic fuchsin) 一公撮。

4. 每百公撮琼脂，加亞硫酸鈉複紅液 (Sulphite fuo-

hsin) 一公撮，俟混合後，製為平板，令其凝固，所用培替氏皿，以瓦蓋者為適宜，因其可使培養基之表面乾燥也。

凡乳糖發酵菌之菌落，均呈紅色，不發酵菌則無色。

注意：此項培養基之反應，必須特別準確，其亞硫酸鈉對於複紅之特異比例，於每種製劑購到之時，必須重新測定，且此培養基加熱時，琼脂須呈紅色，冷後須為無色。

④ 百布吞水丹氏溶液 (Peptone water Dunham's solution) :

百布吞 (Peptone).....20gms.

食 鹽 (Sod. chloride)..... 5gms.

蒸餾水 (Dist. water).....1,000c.c.

1. 將以上各成分混合，煮沸五分鐘。
2. 加蒸餾水以補足蒸發之損失。
3. 檢定反應，使成PH7.6—7.8。
4. 冷至43°—50°c.。
5. 用濾紙過濾。

8. 裝入試管或燒瓶內。

7. 於十五磅壓力之蒸汽滅菌器內，消毒十五分鐘。

- (a) 此百布吞溶液為各種培養基中之基本材料。
- (b) 肉膏湯 (Meat extract broth)，含有百布吞水者，加入0.3%肉膏。
- (c) 爲大腸，傷寒痢疾 (Colon-Typhoid-dysentery group) 桿菌族發酵試驗用之醱發酵管者，於百布吞水中加入百分之一至二之各種糖類即可。
- (d) 硝酸鹽肉湯 (nitrate Broth 用以試驗由硝酸鹽類因還原作用而成爲亞硝酸鹽類 (Reduction of nitrates to nitrites) 者，乃百布吞水中加入0.1%或0.02%之硝酸鉀 (Potassium nitrate) 是也。

⑤ 爲發酵試驗用之血清水基 (Serum-water media for Fermentation tests) :

爲欲檢定並區別各種細菌之發酵力計，Hisó 氏始發明此培養基，該培養基不但可表明微生物在糖類中之產酸反應，並可在血清蛋白之凝固現象，而鑑別之也。

1. 由牛，羊或豬之血液中取得其血清 (法同前)。

2. 按一份之血清與三份或四份之蒸餾水稀釋之。

3. 將混合液放入一百度之阿諾氏滅菌器中消毒十五分鐘，以破壞存在血清中之澱粉發酵素 (Diastatic ferments)。
4. 加入一公撮之 1.6% 紫色克盧濱溴酒精溶液，或百分之一安氏表示劑 (Andrade's indicator)。
5. 加入各種糖類百分之一。
6. 其餘手續均與糖發酵管之製備同。

⑥ 菊糖血清水基 (Inulin Serum-Water) :

菊糖 (Inulin)	5gms.
血清 (Serum)	100c. .
百布吞 (Peptone)	2.5gms.
蒸餾水 (Dist. water)	400c. c.

1. 將百布吞放入廿五公撮蒸餾水內，徐徐加熱，直至百布吞完全溶化爲止。
2. 檢定其反應，使成 PH7.4 至 7.8。
3. 將菊糖放入廿五公撮蒸餾水內，徐徐加熱，直至糖完全溶化爲止。
4. 於一百公撮之血清中，加入三百五十公撮蒸餾水。
5. 將百布吞溶液與菊糖溶液及稀釋之血清混合。

6. 加入等量之 1.6% 紫色克瑞瑣酒精溶液。
7. 分裝於血清學用之試管內，每管約三公撮。
8. 用阿諾氏滅菌器消毒三天，每天一次，每次卅分鐘。

⑦糖發酵管培養基 (Carbohydrates media for Fermentation tests) :

百布吞 (Peptone).....5gms.

肉 膏 (Beef extract).....3gms.

蒸餾水 (Dist water).....1.000c.c.

1. 混合上列成分，煮沸兩分鐘
2. 加蒸餾水以復原其容積。
3. 滴定反應，使成 PH7.4—7.8。
4. 每千公撮內，加入一公撮之 1.6% 紫色克瑞瑣酒精溶液。
5. 冷至 50°C. 後以濾紙過濾之。
6. 加入十公分糖類：

葡萄糖 (Glucose).....標以藍色、

乳 糖 (Lactose).....標以紅色、

蔗 糖 (Sucrose).....標以白色、

甘露糖 (Mannite) ………標以黃色、

7.每管中含五至八公撮、管內附一倒置之小玻管。

8.在十五磅壓力下消毒十五分鐘。

註：如果糖類在十五磅壓力下消毒十五分鐘後被破壞者

可將糖類先配成溶液，經麥氏濾器 (Berkefeld

ilter) 過濾，然後加入已消毒之管內。

⑧含石蕊素或安氏表示劑之乳糖瓊脂基。

(Lactose agar with Litmus or Andrade's indicator):

用 PH7.5至7.8肉湯瓊脂，加入百分之一乳糖，及適量之石蕊素，使於冷時呈藍紫色，或用百分之一安氏表示劑代替石蕊素亦可。若用安氏表示劑時，培養基之 PH 應為 7.2，如果反應準確：則含有百分之一表示劑之培養基，應於冷時呈紅色，熱時則為無色，糖與標示劑加入後，應採用間歇消毒法消毒之，即消毒三次：每日一次，每次二十分鐘。

⑨試硫化氫反應之醋酸鉛瓊脂基 (Lead acetate agar for H₂S Reaction):

1.溶解 1.5% 肉湯瓊脂 (Meat infusion agar) 一公

升，令其涼至60°

2. 加入0.25% 硫磺酸鈉 (Sodium thiosulfate)。

3. 校正反應成爲PH7.2。

4. 裝入試管內，每管約六公撮，然後於高壓蒸汽滅菌器消毒。

5. 待其冷至48°C.，每管滴入已消毒之10% 醋酸鉛液各三滴。

注意：當培養已放入試管後，宜同時配合醋酸鉛液，待其配就，隨即與培養基同放於高壓蒸汽滅菌器內消毒。

試驗：試行穿刺培養，培育二十四小時後，如沿穿刺線有黑色紋，即爲硫化氫 (Hydrogen sulfide) 發生之證矣。

⑩ 盧氏雙糖基 (Russell's Double Sugar Medium) :

百布吞 (Peptone)20gms.

瓊 脂 (Agar)20gms.

食 鹽 (Sod. chloride)5gms.

乳 糖 (Lactose)10gms.

葡萄糖 (Glucose)1gms.

蒸餾水 (Dist. water) 1,000c.c.

安氏表示劑 (Andrade's indicator 10c.c.,

1. 混合上列各成份後，加熱至瓊脂溶化。
2. 補充所損失之水份。
3. 檢定反應，使成PH7.6—7.8。
4. 用吸水棉花過濾之。
5. 裝管，每管約十公撮。
6. 放入十五磅壓力之高壓蒸汽滅菌器內，消毒十五分鐘。
7. 斜置，使瓊脂凝固後成斜面。

(11) 含醋酸鉛之盧氏雙糖基 (Russell Double sugarith

Lead acetate)

1. 於PH7.4之無糖肉浸液瓊脂基內，加入百分之一安氏表示劑。
2. 每管裝入五公撮消毒之。
製備20%乳糖，20%葡萄糖，及0.25%鹽基性醋酸鉛等溶液，並分別消毒之。
3. 於每管瓊脂基內，加入雙糖液0.25公撮，及一公撮之醋酸鉛液。

(加入該兩種溶液時，應以無菌技術並於 60°C. 下行之)。

4. 斜置，使成斜面基。

傷寒菌使培養基成棕色，近乎表面，副傷寒甲，及痢疾菌不成棕色。

(12) 培養白喉桿菌用之血鎘基 (Blood Tellurite Medium for B. Diphtheriae) :

1. 預將 100c.c. 肉浸瓊脂溶化，俟其涼至 45—50°C. 加 2% 鎘化鉀十公撮，及去纖維之馬或兔血十公撮。

2. 充分混合，並製成平板基。

白喉及白喉類菌，在此培養基內，皆發育甚佳，白喉桿菌可呈退行形，用蘭氏法染色，其菌體不着色。

(13) 分離傷寒桿菌用之煌綠瓊脂基 (Brilliant Green Agar for Typhoid isolation) :

肉膏 (Beef extract)	0.3%
食鹽 (Sod. chloride)	0.5%
百布吞 (Peptone)	1.0%
瓊脂 (Agar)	1.5%

1. 混合並溶化以上各成分，過濾，以澄清之。
2. 檢定其反應至PH7.4。
3. 分配裝入瓶內，每瓶一百公撮。
4. 放入高壓蒸汽滅菌器內消毒之。
5. 臨用前將瓶內之琼脂溶化，然後於每百公撮瓊脂中加入：

(a) 1%安氏表示劑 (Andrade's indicator) :

安氏表示劑：

0.5%酸性複紅水溶液	100c.c
當量之氫氧化鈉	16c.c

(b) 加酸，使對安氏表示劑呈中性反應。

(c) 1%乳酸。

(d) 0.1%葡萄糖水溶液。

6. 十分混合後，每瓶傾平皿六只，(平皿之蓋以瓦質為佳) 琼脂則以厚為宜，因傷寒桿菌之集落，可在厚琼脂上現其特點也)

傷寒桿菌在此種培養基中生長固佳，這雖不但可阻止各種革蘭氏陽性菌，及多數革蘭氏陰性菌之生長，同時亦可顯現大腸，傷寒族菌之作用。

副傷寒桿菌乙，乳糖發酵菌，及痢疾桿菌等，均不易生長其間，但寒桿菌之集落，現大而薄，並因其發酵乳糖而產酸，故稍受染色。

(14) 伊紅美藍琼脂基 (Eosin-methylene blue agar) :

琼脂 (Agar)	15gms.
百布吞 (Peptone)	10gms.
磷酸氫二鉀 (Dipotassium phosphate)	2gms.
蒸餾水 (Dist. water)	1,000c.c.

1. 加熱使成分完全溶化後，用蒸餾水補足，因蒸發所損失之水份。

2. 無須檢定反應，約在PH6.2至7.0之間即可。

3. 用吸水棉花過濾之。

4. 裝入瓶內，每瓶約100至200公撮 (c)

臨用前，加入以下各成份：——

a. 經消毒之20%乳糖	50c.c.
b. 伊紅 (淺黃色) 百分之三水溶液	20c.c.
c. 美藍0.5%水溶液	20c.c.

5. 十分混合後，傾皿作平板菌。

6. 俟其凝固後應用。

7. 各種成份亦可於製備時同時加入瓊脂內，裝入瓶中或試管中消毒之，消毒時，培養基係無色，冷後則色質復原。

(15) 乳基 (Milk media) :

1. 將新鮮之牛乳，傾入於瓶內，在阿氏器中消毒十五分鐘，然後移置冰箱內十二小時，使其乳酪 (Cream) 浮升。
2. 將乳及乳酪用虹吸法 (Siphoning) 分離之。
3. 不必檢定其 PH，(乳係常呈輕酸性反應，如果酸性過強，可即傾棄，另行製備)。
4. 分裝裝入試管內，用間接消毒法消毒之。

(三) 各種特殊用之培養基：——

① 馬鈴薯肉湯基 (Potato Broth) :

1. 每五百公分之切碎馬鈴薯，浸於一千公撮之蒸餾水中，歷時十二至二十四小時。
2. 溫熱過濾之。

此濾液可按普通肉湯基；或瓊脂基之製備，加入甘油，或不加甘油，抑或加百布魯及食鹽，而為一獨立之培養基也。

②腹水琼脂基 (Ascitic Fluid Agar) :

1. 將一百公撮經消毒PH7.4至7.8之道氏瓊脂 (Douglas's agar) 溶化。
2. 涼至約48°C.至50°C.。
3. 用消毒吸管吸取消毒而無膽汁之腹水液廿公撮，加入道氏瓊脂液。
4. 用另一消毒吸管，吸取五公撮百分之二十無菌糖類水溶液，加入道氏瓊脂內。
5. 另用一消毒吸管，吸取經消毒之安氏表示劑 (Andrade's indicator) 溶液一公撮，加入以上混合液內。
6. 用無菌技術小心分配裝入試管內，斜置，令其凝固。
7. 孵育 37°C. 孵箱內，歷廿四小時後，棄其污染者。
8. 製備此種培養常用之糖類，如葡萄糖，麥芽糖，蔗糖，與乳糖等，用上述諸糖類，各用蒸餾水配成百分之二十溶液，然後在十五磅壓力下消毒十五分鐘，為預防雙糖類在消毒時水解計，可採用賽氏濾器 (Berkefeld filter) 過濾之。

③甘油肉湯 (Glycerine broth) :

於平常製備之肉浸液，或稍爲酸性，或中性之肉湯內，加入百分之六純甘油即得。

用間歇消毒法消毒之。

④緩衝肉湯 (Buffer broth) :

此項培養基，係爲鏈球菌之凝集反應之用。

1. 秤重一斤重切碎之無脂肪牛肉，浸於一千公釐水中，置冰箱內過夜。
2. 傾出浸液，煮沸半小時。
3. 用濾紙過濾之。
4. 加水以補足原量。
5. 加入百分之一百布魯，及 0.2% 磷酸鈉 (Sod phosphate, Na_2HPO_4)。
6. 煮沸此混合液二十分鐘。
7. 檢定反應，使PH爲0.2以防消毒之改變。
8. 在阿諾氏滅菌器中消毒三次，每次二十分鐘。

註：適宜之PH值：——

肺炎球菌應爲PH7.8。

鏈球菌應爲PH7.4。

⑤碳酸鈣肉湯 (Calcium carbonate broth) :

此種培養基，係專為獲得大量之肺炎球菌，或鏈球菌之培養物，以為凝集反應之用也。

製備法如下：

1. 用一小燒瓶，內裝一百公撮之肉浸液 (Meat infusion broth)。
2. 加入百分之一碳酸鈣粉，及百分之一葡萄糖。
3. 依常法消毒之。

⑥ 愛氏培養肺炎菌基 (Avery's medium for Pneumococci)：

PH7.4至7.8肉浸液，或道氏肉湯(Douglas's broth)，	90c.c.
消毒之百分之二十葡萄糖溶液.....	5c.c.
無菌之兔血.....	5c.c.

1. 小心將以上各成分十分混合，勿被污染。
2. 用無菌吸管吸取混合液，分裝於小試管內，每管四公撮。

⑦ 呂弗硫氏血清基 (Löffler's Serum Media)：

1. 用消毒之有蓋大瓶，由屠宰場採取牛，羊，或豬之血液，採取時應小心，以防污染。

俟血凝固後，攪回，用消毒之玻璃棒，輕沿瓶壁攪之，使血塊與瓶壁分離，靜置冰箱內二十四小時，或二十六小時，然後將上層之血清小心用消毒之一百公撮吸管，或無菌之虹吸管吸出，裝入一無菌之燒瓶內，按三份血清與一份之葡萄糖肉湯混合之。

Serum (血清) 3Parts.

Beef extract broth

with glucose (葡萄糖肉湯) 1Parts.

3. 葡萄糖肉湯之製備：

肉膏 (Beef extract) 3gms.

葡萄糖 (Glucose) 10gms.

百布谷 (Peptone) 10gms.

食鹽 (Sod. chloride) 5gms.

蒸餾水 (Dist. water) 1,000c.c.

(a) 將以上各成分混合，加熱使溶化，不必檢定其反應。

(b) 用濾紙過濾之。

(c) 俟涼後，按比例加入上述血清。

4. 移注於漏斗內，分裝試管，每管約五至七公撮。

將此管斜放於濃厚器(Inspissator)中，加熱至70°c. 一小時，移置冰箱，次日仍加熱至75°c. 一小時，移至孵箱內，繁殖二十四小時，檢出污染者，餘存儲於冰箱中備用。

④培養白喉桿菌之卵基 (Egg medium for cultivation of B. Diphtheriae) :

1. 先用水洗滌十二個鷄卵之外殼，繼用百分之五石炭酸溶液洗滌之。
2. 打破鷄卵之兩端，由有凹端，將卵內容吸入刻度之量杯內，量其總量，然後傾入有玻璃珠之燒瓶內。
3. 按一與八之比加入消毒鹽水，並十分混合之，用消毒粗布濾過之，裝管，並於80°c. 下蒸一小時，使其濃厚，如此繼續施行二日。

⑤血液培養基用之膽汁基 (Bile medium for Blood cultures) :

牛膽汁 (Ox bile)..... 900c.c.

甘 油 (Glycerine)..... 100c.c.

百布吞 (Peptone)..... 20gms.

將以上各成分完全混合後，分配裝入小燒瓶內 每瓶

約一百公撮，然後用間歇消毒法消毒之。

⑩培養霍亂弧菌用之鹼性卵基 (Alkaline Egg medium for *Vibrio cholerae*) :

1. 將鷄卵與水等量混合。
2. 用薄層脫脂棉過濾之。
3. 加入等量之6.5% 無水碳酸鈉液 (Sodium carbonate anhydrous)。
4. 充分混合後，入於阿諾氏殺菌器內消毒二十分鐘。
5. 使用法詳後 (糞便培養法)。

(11) 培養霍亂弧菌用之百布吞液 :

(Peptone water for *Vibrio cholerae*) :

1. 混合下列各成份 :

硝酸鉀 (Pot. nitrate)	1gm.
碳酸鈉 (Sod. carbonate)	2gms.
食鹽 (Sod. chloride)	100gms.
百布吞 (Peptone)	100gms.
蒸餾水 (Dist. water)	1,000c.c.

2. 加熱溶化之。
3. 用濾紙濾過之。

4. 每燒瓶內裝入 100 公撮。
 5. 於高壓蒸汽滅菌器內，在十五磅壓力下，蒸二十分鐘消毒之。
 6. 使用法，詳見糞便培養法。
- (12) 由糞便中分離霍亂弧菌用之阿氏培養基。

(Aronson's medium for cholera stool isolation)

:

1. 將卅五公分瓊脂浸入一公升水內經宿。
 2. 加入下列各物：

肉膏 (Meat extract)	10gms.
百布吞 (Peptone)	10gms.
食鹽 (Sod. chloride)	5gms.
 3. 移至蒸氣消毒器內四至五小時。
 4. 俟沉渣下沉後，將上層液傾入燒瓶內，每瓶一百公撮。
- 預先製備下列溶液，並在阿諾氏滅菌器內消毒半小時。
1. 10% 碳酸鈉溶液 (Sod. Carbonate)。
 2. 20% 蔗糖溶液 (Sucrose)。

3. 20%糊精溶液(Dextrin)。
4. 鹼基性飽和溶液(Basic Fuchsin)。
5. 10%亞硫酸鈉溶液(Sod. Sulfito)
5. 按每百公撮瓊脂中，加入10%炭酸鈉溶液六公撮，並加熱100°C。歷時十五分鐘。
6. 趁熱加入20%蔗糖溶液五公撮，20%糊精溶液五公撮，鹼基性復紅飽和溶液9.4公撮，及10%亞硫酸鈉溶液二公撮。
7. 充分混合後，靜置片刻，俟較粗之沉澱下降後，將上層清液傾作平板。

原則上因霍亂弧菌適宜在極鹼性之培養基中生長，並能將其所產生之酸及醱類，而分解多糖類(Polysaccharidos)。

(13) 劉氏(Dieudonné)基(為由糞便中分離霍亂弧菌之用)：

1. 按七份之普通3%瓊脂(對石蕊素呈中和性)，加入十五份經去纖維之輪菌牛血，及十五份量消滯之等量氫氧化鈉。
2. 混合後，傾入平皿，然後置37°C數日，或移置60°

C.，五分鐘，使乾待用。

霍亂弧菌在此培養基中生長尤良，大腸桿菌屬發育稀薄，甚至不生長，球菌類發育成小如針尖之集落，餘者如變形菌屬發育之程度，則較大腸桿菌屬者畧佳。

(14) 培養腦膜炎球菌用之溶化血葡萄糖瓊脂基(Hemolyzed blood glucose agar for meningococci)：

1. 用十五公撮之無菌蒸餾水，或數滴之醚，將三公撮經去纖維之兔血溶化。
2. 在燒瓶內溶化一百公撮PH7.4—7.8 之肉湯瓊脂，或道氏瓊脂(Douglas's agar)。
3. 涼至45°——50°C。
4. 將溶化之血加入瓊脂。
5. 再加入五公撮百分之廿純消毒之葡萄糖水溶液，使瓊脂中含葡萄糖百分之一。
6. 混合後，作平板基。

(15) 培養結核桿菌之魯氏蛋基(Dorsett's Egg medium for Tubercle bacilli)：

1. 小心將雞卵打破，使其內容物直接入於燒瓶內，用銀菌之鉗絲，破其蛋黃，然後用力搖搖，使蛋黃與

蛋白十分混合。

2. 按每粒雞蛋量，加入廿五公撮蒸餾水，混合後，將此混合液通過無菌之紗布。
3. 分裝試管內，每管約十公撮。
4. 斜置試管於濃厚器 (Inspissator) 內，在 37°C ，下消毒兩次，每日一次，每次四至五小時。
5. 第三日再消毒一次，但溫度須高至 76°C 。
6. 消毒手續，簡便方法，可在 100°C ，之阿諾氏蒸餾器中，消毒十五分鐘，一次足矣。
7. 未接種前，每管須加入二三滴之無菌。

(16) 彼氏結核桿菌培養基 (Petroff's medium) :

1. 肉湯：

將牛肉 (Beef or veal) 五百公分，浸入五百公撮之 15% 甘油水溶液內，靜置冷處，廿小時後，用消毒之擠器擠出肉液，收集全部之甘油肉浸液於一無菌燒瓶內。

雞蛋：

將雞蛋浸入百分之七十酒精溶液內十分鐘，以消毒其外殼，然後打破之於燒杯中，十分混合後，用無

菌之紗布過濾，按一份量之肉湯，加入兩份量之雞蛋。

8. 龍膽紫：

按1：10000量之比例，加入百分之一龍膽紫酒精溶液。

將以上三種成份，十分混合，然後分配裝入試管並按常法消毒之。

(17) 盧氏培養結核桿菌之甘油雞蛋基(Lubeneu's glycerine - egg)：

1. 於每公升之肉湯中，加入百分之二百布吞，與百分之五甘油。
2. 檢定其反應，(對於石蕊氏素係中性者)。
3. 每二百公撮加入新鮮之雞蛋十粒。
4. 將此混合物攪動，直至完全混合後，分配裝管，斜置消毒之。

(18) 培養淋球菌之白氏基(Bradford's medium for Gonococcus)：

1. 溶化PH7.6——7.8之20%道氏瓊脂 (Gouglar's agar)一百公撮，俟其冷至45°C後，加入下列成份：

- (a) 無菌之膜水液，或學凡膜水腫液(Hydrocele fluid)25c.c.
- (b) 無菌之20%葡萄糖溶液5c.c.
- (c) 無菌而經去纖維之兔血 10c.c.

2. 將以上混合物十分混合後，分裝於每層之一百公撮容量之沉澱管內，每管二十公撮，及普通試管數管，每管五公撮。

3. 斜置各管令其凝固。

4. 培養基凝固後用經煮沸五分鐘消毒之橡皮塞代替原用之棉花塞，然後孵育二十四小時，以視是否被污染。

5. 用橡皮塞之原則，即為避免培養基中水份蒸發，同時亦可幫助保持培養基於孵育後管內之低氣壓。(Reduced oxygen tension)管內氣壓之低落，可於管之上部，在火焰上加熱，然後將橡皮塞緊塞試管，但須小心，勿熱及管內之培養基。

(19) 培養杜克雷氏桿菌之兔血基(Rabbit's Blood for Ducrey Bacillus cultivation) :

1. 用消毒之注射器，從兔心取血，注入消毒之小試管

內，每管約 1.5公撮至 2公撮。

2. 俟血凝固後置 56°C ，溫水箱中半小時，使成不動性，此項培養基，於杜克雷氏桿菌成績極佳，對於鏈球菌之培養，亦極滿意，對於保持鏈球菌及肺炎球菌之毒性結果亦極優良。

(20) 培養流行性感胃桿菌之油酸鈉瓊脂基，(Sodium Oleate agar for Influenza Bacilli)：

據費氏試驗結果，油酸鈉能提高流行性感胃桿菌之繁殖力，同時對於痰液中常見之革蘭氏陽性菌並可制遏其生長。

1. 先配備中和性之油酸鈉水溶液，並於高壓蒸汽滅菌器中消毒之。
2. 取經去纖維之人或兔之血，用離心器沉澱之，去其血清，然後加入肉湯以恢復原來之量。
3. 將一公撮之赤血球勻懸液，與五公撮百分之二之油酸鈉溶液，加入於九十四公撮之瓊脂中，於 80° 至 90°C .時行之，(瓊脂以百分之二，反應 PH7.4為佳)。

(21) 培養流行性感胃桿菌之血胰水基(Hemopapton-w

ater for B. Influenzae) :

1. 加熱溶化二十公分百布吞與五公分之食鹽於一千公
克蒸餾水中。
2. 檢定其反應至PH7.0。
3. 加入二十公撮之去纖維血。
4. 加熱至95°C，或至沸點。
5. 用濾紙過濾之。
6. 用麥氏濾器過濾之。
7. 分裝無菌試管內。
8. 靜育四十八小時，以證明其是否無菌。

(22) 培養流行性感胃桿菌之硝酸鹽血漿水基。

(Nitrate Hemopeptone-water for B. Influenzae)

:

1. 此項培養基之製備，除於每千公撮中多加入0.02公
分之KNO₃外，餘者均與血漿水基同。
2. 硝酸鹽應於培養基未消解之前加入。
3. 該基之應用，即於區別流行性感胃桿菌，與百日咳
時頗為重要，前者能將硝酸鹽還原，而成亞硝酸鹽
，後者則否。

(23) 培養百日咳桿菌之博氏基 (Bordet-gengou medium for B. Pertussis) :

1. 研碎五百公分之馬鈴薯，放入一千公撮蒸餾水中，加入甘油四十公撮。
2. 在燒瓶內十分混合後，置阿諾氏滅菌器中一小時。
3. 用絨布壓取其液汁。
4. 每五百公撮之抽出液，加入一千五百公撮，0.6% 之鹽水，及五十公分之瓊脂。
5. 在阿諾氏滅菌器中，消毒三次，每日一次，每次一小時。
6. 於第三次消毒完畢後，令培養基涼至 42°C，然後加入百分之五至十之新鮮枸橼酸化之馬血或兔血。
7. 末加血前 PH 係 5.8——6.4，加血後則為 6.3——7.8，故無需重行檢定其反應也。

(24) 培養土拉伯斯桿菌之血葡萄糖甘司廷瓊脂基 (Blood Glucose cystine agar for B. Tulavense) :

1. 用新鮮之肉浸液瓊脂內含：

百布吞 (peptone) 1%。

瓊脂 (Agar) 1.5%。

食鹽(Sod chloride) 0.5%。

用時加入0.1% Cystine 及1% 葡萄糖，混合後加熱至足以溶化瓊脂及消毒Cystine 及葡萄糖為止，然後冷至50°C，再加入百分之A之經去纖維，或未去纖維之兔血。

2. 加入Cystine後，對於培養基之PH值並不改變，但若以Cystine hydrochloride代替Cystine時，因其可增加培養基之酸性反應，故應重新檢定。又因Cystine不易溶解於該培養基中，故應先行研細然後加入，雖然在培養基中亦可發現其不溶解之小顆粒也，故應于阿諾氏滅菌器中消毒，時常將瓶搖動，或於消毒後，將瓶移置55°C. 水浴箱內經過，如是則可完全溶解矣。
3. 兔血之採取，可先將兔用醚麻醉後，由心取血，血液取得後，可立即注入50°C. 之昔司廷瓊脂基內混合之。
4. 該項培養基可放入水箱內保持80°C，經兩小時，若溫度高，必有沉渣產生，經消毒後，應用無菌技術裝入管內，並作斜面，然後磨育之以證明是否消毒

完全。

5. 管內凝結之水分，以蒸發之爲佳，蓋士拉倫斯菌在水份過多之環境下，生長不良故也，水份去除法，可將製成之斜面基，令其斜置於 37°C ，烤箱內經七日，然後直立架上，以軟木塞代替棉花塞，木塞應先浸入熱之等量石礫與凡士林之混合液內，然後將緊塞之斜面管移於處待用。

6. 菌種應保存於冷暗處，每兩月移植一次，溫度以 5°C ，爲宜。

移植時，須以一大鉗絲圈之培養物，接種新管，對照管，(Plan agar tube) 隨其所生長。

(25) 培養厭氣菌之庖肉培養基(Cooked meat medium for the Cultivation of Anaerobes)：

1. 碎研牛心二百五十公分，加入二百五十公撮水。
2. 徐徐加熱至煮透爲止。
3. 用氫氧化鈉中和之。
4. 裝入試管內，在高壓蒸汽滅菌器中消毒之。

簡便製備法如下：

1. 將切碎之牛肉(可不必用牛心)少許，放入試管底，

加入適量清晰PH7.8肉湯，(約高出肉渣上三公撮)

。

2. 在十五磅壓力下消毒十五分鐘。

(26) 培養螺旋體之培養基 (Media for the Cultivation of Spirochetes) :

無菌之牛或馬血.....100c.c.

達氏肉湯PH7.4——7.8.....400c.c.

1. 將此混合液用消毒吸管分裝試管內，每管十公撮。

2. 每管並加入無菌之兔腎一小塊，及消毒液化之凡士林三公撮。

3. 徐徐加熱至80°C，然後保持此溫度歷半小時。

4. 直立架上，涼後使用。

(27) 培養螺旋體之野口氏基 (Noguchi's medium for Leptospira) :

新鮮之兔血清.....10c.c.

食鹽水(0.9%).....80c.c.

百分之二之滋養瓊脂 (PH6.5——7.0) ... 10c.c.

兔血色素溶液(Hemoglobin).....10c.c.

製備手續，應以無菌手續處理之。

1. 放入八十公撮0.09%之消毒食鹽水於一無菌之燒瓶，加熱至50°C。
2. 用消毒吸管吸取十公撮之兔血清，加入鹽水中。
3. 繼加入十公撮PH6.5——7.0之2%滋養瓊脂，（先將瓶內經消毒之瓊脂溶化，俟涼至50°C時，用無菌吸管取之）。
4. 再加入十公撮無菌之兔血色素溶液，（兔血色素溶液之製備，係將三公撮無菌之兔血，混合九公撮無菌蒸餾水即得），用無菌吸管量取加入之。
5. 混合後，分別裝入試管或燒瓶內。
6. 立刻移置冰箱內，使其速涼，否則，不能獲得均勻之結果也。
7. 孵育於37°C，經二十四小時後，棄其染污者。

(28) 培養利什曼原蟲之三N基。

(N, N, N; medium for cultivation of Leishman-fa Bodies) :

1. 量好下列各成份並混合之。

蒸餾水(Distilled water)..... 900c.c.

食鹽(Sodium chloride)..... 8gms.

瓊脂(Agar)..... 14gms.

雙價基磷酸鉀(Potassium phosphate).....2gms.

2. 加熱使此混合物溶化。

3. 蓋定反應為PH7.6。

4. 用沉澱法澄清之。

5. 每管裝入六公撮，置於高壓蒸汽滅菌器內，在二十四磅壓力下經二十分鐘消毒之。

6. 使用時將瓊脂溶化，冷至四十五度，然後於每管內加入消毒去纖維之微溫兔血二公撮，斜置冷之，即成爲斜面。

7. 每管內加入陸氏(Locke)溶液一至二公撮。

陸氏溶液(Locke's solution)：

食鹽(Sod, chlorido).....8.5gms.

氯化鉀(Pot. chlorido).....0.42gm.

氯化鈣(Calcium chlorido).....0.24gm.

重曹(Sod. Bicarbonate).....0.2gm.

右旋糖(Dextrose).....1.0gm.

蒸餾水(Dist. water).....1000c.c.

(29) 培養真菌之賽氏基(Sabouraud's medium) for

Fungi) :

葡萄糖(Déxtrose).....	40gms•
百布吞(Peptone).....	10gms•
琼脂(Agar).....	18gms•
蒸餾水 (Dist. water).....	1000c.c•

1•加熱溶化琼脂。

2•用吸水棉花過濾。

3•檢定反應，使成PH5.5——6.0。

4•裝管後，於高壓蒸汽滅菌器內，在十五磅壓力下十五分鐘消毒。

(30) 分離霉菌之梅汁基 (Prune Juice for Isolation of

Fungi) :

乾梅(Whole dried prunes).....	150gms•
琼脂(Agar).....	20gms•
蒸餾水(Dist. water).....	1000c.c•

1•將乾梅破碎，混合各成份。

2•用消毒棉花過濾。

3•分別裝入消毒之試管或燒瓶內待用，(此培養基每瓶重行滅菌手續)。

(31) 道氏基(哈氏肉湯) — Douglas's medium (Hartley Broth) :

1. 取一百五十克切碎之牛或馬肉，與二百五十公撮之蒸餾水混和。
2. 熱至 80°C 。
3. 加入 0.8% 無水碳酸鈉 (Anhydrous Sodium carbonate) 溶液二百五十公撮。
4. 涼至 45°C 。
5. 加入十五公撮之哥安氏胰臟抽出液 (Cole and Onslow's pancreatic extract) ，及五公撮之哥羅芳 (chloroform) 。
6. 孵育於 37°C ，孵箱內六小時，孵育時，隨時常攪拌之。
7. 加入四十公撮之 $\text{N}/1$ 鹽酸。
8. 煮沸一小時。
9. 涼後用濾紙過濾之。
10. 檢定反應，使成 $\text{PH}7.6$ —— 7.9 。
11. 煮沸一小時。
12. 涼至約 45°C ，用濾紙過濾之。

19. 在十五磅壓力下消毒十五分鐘，或用間歇消毒法消毒之。

(32) 道氏琼脂基(Douglas agar)：

1. 取 PH7.6——7.8 之道氏肉湯一千公撮，加入二十公分琼脂。
2. 煮沸至琼脂完全溶化。
3. 用吸水棉花過濾之。
4. 按所需之分量，裝入試管或燒瓶內，在十五磅壓力下消毒十五分鐘。

(33) 哥安氏胰臟抽出液基(Pancreatic extract, Cole and Onslow)：

為製備道氏肉湯用之胰臟抽出液之製備法如下：

百分之九十五酒精.....1000c.c.

蒸餾水.....3000c.c.

2. 裝入大瓶中，反覆振搖，然後於室溫下靜置三日。
3. 先通過紗布，然後用濾紙過濾。
4. 收集並量其緩緩濾出之濾液。
5. 加入一公撮之濃鹽酸，於每千公撮之濾液內，此時必有混濁之沉澱物產生，該沉澱物將於數日後沉降。

6. 濾出清液，棄其沉澱物。

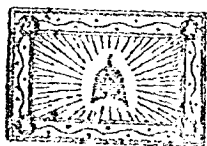
此溶液裝入塞緊之瓶內，日久不壞，無須再行加入任何之防腐劑也。

斷 診 驗 實 用

(一 冊)

中 華 民 國 三 十 一 年 十 一 月 初 版

有 所 總 版



九 心 印 部

每 部 賦 時 售 價 國 幣 十 八 元

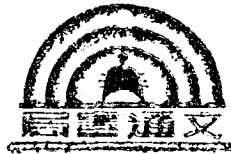
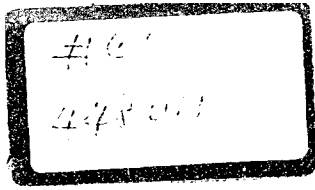
著 者 黃 登 弼

發 行 人 華 閣 渠

印 刷 所 文 通 書 局
貴 陽 松 山 路 七 十 一 號

發 行 所 文 通 書 局
貴 陽 中 華 路 五 一 二 號

貴州省圖書館雜誌審查處審查證圖字第一三四號



(B0077)
18.00