



川渝地区医药院校精品实验教材

供临床医学、护理、中医学、中医骨伤、针灸推拿、
口腔、影像、检验、药学等专业使用

病原生物学与免疫学实验与学习指导

第3版

主编 周 灿 李成忠



第四军医大学出版社

川渝地区医药院校精品实验教材

供临床医学、护理、中医学、中医骨伤、针灸推拿、
口腔、影像、检验、药学等专业使用

病原生物学与免疫学实验与学习指导

第3版

主 编 周 灿 李成忠

副主编 阳 莉

编 者 (按姓氏笔画排序)

阳 莉 (四川中医药高等专科学校)

李成忠 (雅安职业技术学院)

李忠琴 (雅安职业技术学院)

周 灿 (重庆三峡医药高等专科学校)

胡艳玲 (重庆三峡医药高等专科学校)

盛晓燕 (雅安职业技术学院)

第四军医大学出版社·西安

图书在版编目 (CIP) 数据

病原生物学与免疫学实验与学习指导/周灿, 李成忠主编. —3 版. —西安: 第四军医大学出版社, 2015. 7

ISBN 978 - 7 - 5662 - 0773 - 9

川渝地区医药院校精品实验教材

I. ①病… II. ①周…②李… III. ①病原微生物 - 实验 - 医学院校 - 教学参考资料
②医学 - 免疫学 - 实验 - 医学院校 - 教学参考资料 IV. ①R37 - 33 ②R392 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 171900 号

bingyuan shengwuxue yu mianyixue shiyan yu xuexizhidao

病原生物学与免疫学实验与学习指导

出版人: 富 明 责任编辑: 张永利

出版发行: 第四军医大学出版社

地址: 西安市长乐西路 17 号 邮编: 710032

电话: 029 - 84776765 传真: 029 - 84776764

网址: <http://press.fmmu.edu.cn>

制版: 绝色设计

印刷: 陕西天意印务有限责任公司

版次: 2015 年 8 月第 3 版 2015 年 8 月第 9 次印刷

开本: 787 × 1092 1/16 印张: 14.75 字数: 340 千字

书号: ISBN 978 - 7 - 5662 - 0773 - 9/R · 1608

定价: 29.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书, 凡有缺、倒、脱页者, 本社负责调换

川渝地区医药院校精品实验教材 建设委员会

主任委员 刘 红 金 虹 谭 工

副主任委员 黄 康 艾继周 伍小飞

委 员 (按姓氏笔画排序)

王 静 史 铀 孙玉锦 孙厚良

杜 斌 李 晶 李成忠 邱 平

沈 力 陈 俊 周 灿 段艮芳

徐 静 郭 兵 黄 琼 彭裕红

曾 萍

前 言

病原生物学和免疫学为面向医学高职高专学校各专业的基础课程，是基础课程中的骨干课程，也是医学生的必修课程。本课程要求学生重点掌握免疫学涉及的所有基本概念与基础理论，重点掌握病原生物（病原微生物、人体寄生虫）与病原生物学涉及的所有基本概念以及各类常见病原生物的致病特性与防治原则。本课程注重理论教学与实验教学并重，要求学生通过本课程的学习，能够重点掌握好病原生物学与免疫学两门学科的基本理论、基本知识和基本技能。

根据国务院对医疗卫生事业和健康服务业发展的意见，紧跟教育部高等职业教育教学改革步伐及职业教育教材发展趋势，培养面向农村、社区医院等服务一线需要的技能型人才，结合教学实践，我们组织编写了第3版《病原生物学与免疫学实验与学习指导》。希望本书能为医学高职高专的师生提供帮助，也恳请专家同行和广大师生提出宝贵意见。

针对医学高职高专的培养目标，我们以“必需、够用”为原则，注重基础与临床相结合，紧跟当代医学技术更新的步伐，在内容上力求“精、简、新”。本书分实验指导和学习指导两篇。上篇是实验指导，包含三个部分（医学微生物学实验、医学免疫学实验、人体寄生虫学实验），共23个实验。我们将传统的实验内容进行了调整，实验项目分为两类——基本实验和拓展性实验。前者是本课程教学传统的基础实验项目，目的是帮助学生掌握本课程的基本技能；后者是与临床检测关系密切的实验项目，目的是拓展学生的视野，激发学生的学习兴趣，缩短基础课程与临床的距离，培养临床思维能力。同时，设置四个附录，给实验教学扩充资源，作为教师备用材料。每个实验由目的要求，实验用品，实验内容、原理及方法，实验结果及思考题组成。内容实用，目的明确，层次分明，描述简明扼要；有的实验还配有结果记录表格，便于学生及时记录；每个实验末有思考题，利于复习；还配有大量的图片，直观形象，便于教学。下篇是学习指导，共分28章，旨在帮助学生复习、理解、掌握病原生物学与免疫学的基本知识和基本理论，以提高学生学习成绩，为学习临床课程奠定牢固的基础。为此，我们全体编者认真研究教材、教学大

纲及执业医师、护士资格考试大纲，精心梳理知识，明确各章节重点、难点，提纲挈领地总结理论知识，使教材内容语言简明，条理清晰，深入浅出，并尽量使用图表以助记忆。每章内容配有适量精选的习题，包括单选题、多选题、判断题、论述题、病案分析，便于学生检查、巩固、应用所学知识。

本书可供三年制及五年制高职高专临床医学、护理、中医学、中医骨伤、针灸推拿、口腔、影像、检验、药学等专业使用。各专业可根据教学目标和实际情况选用。

本书由重庆三峡医药高等专科学校、雅安职业技术学院、四川中医药高等专科学校的教师联合编写而成。在编写过程中，查阅了包括第2版在内的一系列同类教材及相关书籍，请教临床技术工作者，并融入了多年教学实践经验。希望本书能达到预期的目的。

由于编写时间较为仓促，编委经验及水平有限，教材中的缺陷和不足在所难免，希望使用本教材的院校老师及学生能提出宝贵意见及建议，以便今后修订完善。

周 灿

2015年5月

目 录

上篇 实验指导

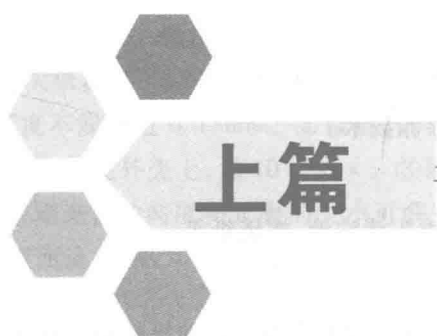
第一部分 医学微生物学实验	(2)
第一章 病原微生物的形态学检查	(2)
实验一 油镜的使用与保护方法 (基本实验)	(2)
实验二 细菌的形态结构观察 (基本实验)	(4)
实验三 革兰染色法 (基本实验)	(5)
第二章 细菌分布与环境影响因素检测	(7)
实验四 微生物的分布检测 (基本实验)	(7)
实验五 消毒灭菌与无菌操作 (基本实验)	(10)
实验六 细菌对抗菌药物的敏感性检测 (拓展性实验)	(13)
第三章 细菌的培养与鉴定技术	(17)
实验七 细菌培养技术 (基本实验)	(17)
实验八 细菌生化鉴定 (拓展性实验)	(21)
实验九 临床标本中病原性球菌的分离与鉴定 (拓展性实验)	(24)
第四章 病毒的培养与检测	(28)
实验十 流行性乙型脑炎病毒的培养技术 (拓展性实验)	(28)
第五章 其他微生物的鉴定	(31)
实验十一 其他微生物形态观察 (拓展性实验)	(31)
实验十二 其他微生物的临床检测方法 (拓展性实验)	(32)
第六章 药品微生物检测	(35)
实验十三 注射剂的无菌检测 (拓展性实验)	(35)
实验十四 药品的微生物学限度检测 (拓展性实验)	(36)
第二部分 医学免疫学实验	(39)
第七章 感染性疾病常用免疫学检测方法	(39)
实验十五 凝集反应 (基本实验)	(39)
实验十六 乙型肝炎病毒表面抗原检测 (拓展性实验)	(43)
第八章 超敏反应性疾病常用检测方法	(45)
实验十七 兔过敏性休克试验 (基本实验)	(45)

实验十八 临床常用超敏反应检测试验 (拓展性实验)	(45)
第九章 优生优育常用检测项目	(48)
实验十九 人绒毛膜促性腺激素 HCG 检测 (拓展性实验)	(48)
实验二十 其他优生优育检测项目 (拓展性实验)	(49)
第三部分 人体寄生虫学实验	(52)
第十章 医学蠕虫形态学鉴定	(52)
实验二十一 医学蠕虫卵鉴定 (基本实验)	(52)
实验二十二 医学蠕虫大体标本鉴定 (基本实验)	(54)
第十一章 医学原虫形态学鉴定	(57)
实验二十三 医学原虫形态观察 (基本实验)	(57)

下篇 学习指导

第一章 医学微生物学概述及细菌的形态结构	(60)
第二章 细菌的生理及遗传变异	(65)
第三章 细菌的分布与环境的影响	(70)
第四章 细菌的感染与免疫	(74)
第五章 免疫学概述及免疫系统	(79)
第六章 抗原	(85)
第七章 免疫球蛋白与抗体	(90)
第八章 补体系统	(95)
第九章 主要组织相容性复合体	(100)
第十章 免疫应答	(105)
第十一章 超敏反应	(111)
第十二章 临床免疫	(118)
第十三章 免疫学应用	(120)
第十四章 球菌	(125)
第十五章 肠道杆菌	(130)
第十六章 厌氧菌	(134)
第十七章 分枝杆菌	(138)
第十八章 其他病原菌	(142)
第十九章 其他微生物	(145)
第二十章 病毒总论	(148)
第二十一章 呼吸道病毒	(153)

第二十二章	肠道病毒	(157)
第二十三章	肝炎病毒	(161)
第二十四章	其他病毒	(166)
第二十五章	人体寄生虫学总论	(171)
第二十六章	医学蠕虫	(174)
第二十七章	医学原虫	(180)
第二十八章	医学节肢动物	(185)
模拟测试卷		(188)
参考答案		(199)
参考文献		(214)
附录		(215)
附录一	微生物实验室规则及生物安全	(215)
附录二	常用培养基的配制及用途	(220)
附录三	微生物实验室玻璃器皿的洗涤和包扎	(223)
附录四	实验考核评定标准	(226)



实验指导

第一部分 医学微生物学实验

第一章 病原微生物的形态学检查

实验一 油镜的使用与保护方法(基本实验)

一、目的要求

1. 认识普通光学显微镜的结构。
2. 初步掌握普通光学显微镜低倍镜和油镜的使用方法。
3. 初步掌握普通光学显微镜油镜的保养技术。

二、实验用品

普通光学显微镜、固定装片、香柏油、镜头清洗液、擦镜纸等。

三、实验内容、原理及方法

1. 实验内容 普通光学显微镜的结构及普通光学显微镜油镜的使用方法。
2. 光学显微镜的基本构造及主要功能 光学显微镜是由机械装置和光学系统两大部分组成(图 1-1-1)。

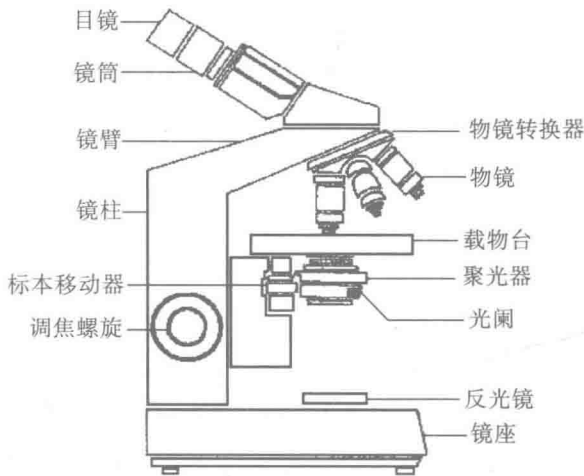


图 1-1-1 光学显微镜的构造

(1)机械部分 ①镜座:位于显微镜底部,呈方形,起稳定显微镜的作用。②镜柱:自镜座后侧向上直伸的部分,起连接镜臂和支持载物台的作用。③镜臂:镜柱上方斜折部

分,主要作用是支持镜筒。④镜筒:镜臂前方的筒状部分,分直立和后倾式两种;后倾式镜筒倾斜 45° ,其上端连接目镜、下端连接转换器。⑤转换器:为两个金属圆盘合成的一个转盘,其上有4个圆孔,可安装不同放大倍数的接物镜,通过镜筒与目镜构成放大系统。⑥载物台:多为方形,位于镜柱前方,用以载放被检物件,其上有通光孔,标本压夹和标尺,其下有标本移动器。⑦调焦装置:是调节物镜和标本之间距离的机件,有粗调焦螺旋和微调焦螺旋,位于镜柱两侧,同轴大小不等的两对调节旋扭,旋转调焦螺旋可使载物台上升或下降,以得到清晰的物像。其中,旋转粗调焦螺旋一周,可使平台上升或下降1cm,旋转微调焦螺旋一周,可使载物台上升或下降1mm。

(2)光学系统 ①物镜:安装在镜筒下端的转换器上,其作用是将被观察物体做第一次放大,常见的放大倍数有 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$ 、 $100\times$ 等,其中 $4\times$ 、 $10\times$ 的接物镜为低倍镜, $40\times$ 的接物镜为高倍镜, $100\times$ 的接物镜为油浸镜,物镜上通常标有数值孔径、放大倍数、光学筒长等主要参数。例如: $40\times$ 的接物镜上标的 $40/0.65$ 和 $160/0.17$ 两对参数,其中“40”表示放大倍数,“0.65”表示数值孔径(NA);“160/0.17”表示光学筒长为160mm,所需盖玻片厚度不能超过0.17mm。②目镜:位于镜筒上端,可将被观察物体做第二次放大,其放大倍数标在外壳上,如 $10\times$ 、 $6\times$ 。③聚光器:位于载物台下,由聚光镜和可变光阑构成,调节聚光器的高度和光阑的大小可获得适当的照明强度。④反光镜:位于镜座上,呈圆形双面镜,一面为平面镜,一面为凹面镜,凹面镜有集光作用;可在光线较弱时和高倍镜使用。

(3)主要光学参数 ①显微镜的分辨率:是指显微镜分辨被检物体细微结构的能力,它与“分辨距离”成反比,所谓分辨距离是指显微镜能够分辨物像两点之间最小距离的能力,它与物镜的数值孔径成正比,与光源波长成反比,可用公式 $d = \lambda/2NA$ 。②显微镜的数值孔径:与介质折射率和镜口角正弦值成正比。由公式 $NA = N\sin\alpha/2$ 。③显微镜的工作距离:是指显微镜物镜的下表面至盖玻片上表面之间的距离,物镜的放大倍数愈高,其工作距离越短。如: $10\times$ 物镜以下的工作距离一般为 $5\sim 7\text{mm}$, $40\times$ 物镜的工作距离为0.5mm左右,而 $100\times$ 物镜的工作距离为0.19mm左右。

3. 显微镜的使用方法 安放→对光→放片→调焦。

(1)低倍镜的使用 观察任何标本都必须做到先用低倍镜观察的习惯。①位置:右手握镜臂,左手托镜座,将显微镜放在自己的左前方,距实验桌边缘约5cm的位置。②对光:将 $10\times$ 物镜旋入光轴,聚光器上升至距平台 $2/3$ 位置并打开光阑,用手转动反光镜,同时用左眼观察视野,出现明亮的光区,即对光完成。③放片:将被观察标本平放于载物台上,用标本夹固定好,推动标本移动器将需观察部分正对通光孔的中央(此时应注意载玻片的正反面,盖玻片向上)。④调焦:双手调节粗螺旋,将载物台上升至距接物镜0.5cm左右,用左眼观察视野,转动粗调焦器,至物像出现,再用微调焦器将物像调至清晰。

(2)高倍镜的使用 在低倍镜找到清晰的物像后,采用“等高转换”的方法直接将高倍镜旋入光柱,缓缓调节细调焦螺旋,使物像清晰,找到需观察的部位并移至视野的中央进行观察。

(3)油镜的使用 油镜的使用应是在高倍镜调到清晰的物像的前提下旋开高倍镜,在盖玻片上滴少许香柏油,再转动物镜转换器,将油镜旋入光柱对准标本,使油镜头浸入油中,此时应将聚光器升至最高位置,并完全打开光阑,缓缓调节细调焦螺旋至物像清晰为止。油镜使用完毕后应先转动物镜转换器将油镜转开,再用粗调焦器将载物台缓缓下降,以拉开镜头与载物台的距离,再清洗油镜。

清洗油镜的方法:①用干净的擦镜纸擦拭镜头,擦去镜头上多数香柏油。②用干净的擦镜纸蘸少许清洗液,擦拭镜头,以溶解镜头上残余的香柏油。③用干净的擦镜纸擦拭镜头,以擦尽镜头上残余的清洗液。上述步骤均可重复,目的是彻底清洗干净镜头。如果镜头上的香柏油没有彻底清洗掉,时间一长会滋生霉菌,镜头就损毁了。

四、实验报告

绘制镜下标本图。

五、思考题

1. 普通光学显微镜的操作步骤有哪些?
2. 油镜如何保养?

实验二 细菌的形态结构观察(基本实验)

一、目的要求

1. 镜下识别细菌的基本形态和特殊结构。
2. 初步掌握油镜的使用方法。
3. 了解活菌的两种运动状态。

二、实验用品

香柏油、酒精乙醚、擦镜纸、细菌的基本形态标本片(革兰染色标本片)、细菌特殊结构标本片(特殊染色标本片)、变形杆菌培养物、葡萄球菌培养物、载玻片、盖玻片、镊子、生理盐水。

三、实验内容、原理及方法

(一)不染色标本检查(活菌观察)

1. 实验内容 压滴法。
2. 实验原理 细菌未染色时无色透明,在显微镜下为有折光性的小点,不能判断细菌的形态和结构。因此,不染色标本检查法用于观察细菌的动力。有鞭毛的细菌运动活泼,运动有明显位移,无鞭毛的细菌则呈不规则布朗运动。

3. 实验方法

- (1)取干净载玻片两张,用无菌吸管滴一滴生理盐水于载玻片中央。
- (2)用无菌接种环取变形杆菌菌液1环,置于一载玻片的生理盐水中;用无菌接种环取葡萄球菌菌液1环,置于另一载玻片的生理盐水中。
- (3)用镊子夹一盖玻片,先用盖玻片一边接触菌液,然后缓缓放下,覆盖于菌液上,避

免菌液中产生气泡。

(4) 观察 先用低倍镜找到观察部位,再换高倍镜观察细菌的运动状态。

(二) 染色标本检查(固定装片观察)

1. 实验内容 在油镜下观察细菌标本片,观察细菌的形态、大小、排列方式、染色性和特殊结构。

(1) 细菌基本形态的观察

球菌标本片:葡萄球菌、链球菌、双球菌、四联球菌。

杆菌标本片:大肠杆菌、变形杆菌、枯草杆菌。

弧菌标本片:霍乱弧菌。

(2) 细菌特殊结构的观察

鞭毛标本片:变形杆菌或大肠杆菌、绿脓杆菌(注意鞭毛和菌体的颜色及鞭毛的位置与数目)。

荚膜标本片:肺炎双球菌(注意荚膜与菌体的颜色及荚膜的厚度)。

芽胞标本片:破伤风梭菌、枯草杆菌或炭疽杆菌(注意菌体与芽胞的颜色以及芽胞的大小、形态与位置)。

2. 实验原理 用油镜将细菌放大1000倍,可观察到染色标本中细菌的形态、排列方式、芽胞、鞭毛、荚膜。

3. 实验方法 使用油镜观察,步骤如下:

(1) 用低倍镜观察。

(2) 用油镜观察。

四、实验报告

1. 记录压滴法的观察结果。
2. 画出在显微镜下观察到的细菌形态。

五、思考题

细菌的基本形态和特殊结构有哪些?

实验三 革兰染色法(基本实验)

一、目的要求

1. 掌握革兰染色的操作方法。
2. 熟练掌握油镜的使用方法。

二、实验用品

1. 大肠埃希菌,葡萄球菌18~24h培养物。
2. 结晶紫染液,卢戈碘液,95%酒精,稀释石炭酸复红。
3. 载玻片,接种环,生理盐水,酒精灯,染色架,冲洗用具。
4. 显微镜,香柏油,擦镜纸。



三、实验内容、原理及方法

1. 实验内容 细菌的革兰染色。

2. 实验原理 革兰染色法的原理,目前主要倾向于细胞壁学说。该学说认为:革兰阳性菌细胞壁结构比较致密,肽聚糖层厚,脂质含量少,乙醇不宜透入,反而可使细胞壁脱水而形成一道屏障,阻止染料向细胞外渗出,细胞仍保留结晶紫初染的紫色。革兰阴性菌细胞壁疏松,肽聚层很薄,而外膜、脂蛋白、脂多糖均含有大量脂质,易被乙醇溶解,增加了细胞的通透性,使初染的结晶紫和碘的复合物易于渗出,细胞脱色后经复染,着上复染液的红色。

3. 实验方法 首先制作涂片标本,再进行染色。

(1)细菌涂片标本的制作(涂片→干燥→固定) ①涂片:取清洁玻片一张,再取1~2环生理盐水在玻片上。接种环灭菌后,取少许菌苔于盐水中碾磨成乳浊状,并涂成直径1cm左右的菌膜。若用液体培养物涂片,可直接取材涂片,不加生理盐水。②干燥:最好自然干燥涂片,必要时也可将标本面向上,小心在离酒精灯火焰高空处烘干,但切勿靠近火焰外层,以免烤焦。③固定:手持玻片一端,标本面向上,在外层火焰上以钟摆速度来回通过3次。目的是使菌体与玻片黏附更牢些,并使染料容易进入菌体。

(2)革兰染色 ①初染:滴加结晶紫染液1~2滴于标本菌膜上,使其覆盖菌膜。1min后,细水冲洗,甩去积水。②媒染:加卢戈碘液1~2滴于菌膜上,1min后,细水冲洗,甩去积水。③脱色:加95%酒精1~2滴于菌膜上,轻轻晃动玻片,直到不再有紫色脱出为止,约0.5min,细水冲洗,甩去积水。④复染:加稀释石炭酸复红1~2滴于菌膜上,1min后,细水冲洗,甩去积水。自然干燥或用吸水纸轻轻吸干。待标本干燥后,用油镜观察。

4. 注意事项 ①玻片一定要清洁无油。②加生理盐水切莫贪多。涂片要均匀且薄。③固定标本时切勿过热,以免使细菌变形。④要掌握好染色的时间,尤其是酒精脱色的时间,不宜过长或过短,以脱色至涂片为灰色为宜。⑤水洗时要以细流水自上而下徐缓冲洗,不可直接冲于标本上,否则会将玻片上的标本冲掉。

四、实验报告

1. 写出细菌涂片的方法及革兰染色的步骤。
2. 记录革兰染色的结果,并进行分析。

五、思考题

1. 革兰染色时若脱色时间过长,会出现什么后果?
2. 在制作标本片时,若菌膜过厚会对染色结果有什么影响?
3. 革兰染色有何实际意义?

(李成忠)

第二章 细菌分布与环境影响因素检测

实验四 微生物的分布检测(基本实验)

一、目的要求

1. 了解周围环境中微生物的分布情况,认识微生物分布的广泛性,树立有菌意识。
2. 懂得无菌操作在微生物实验中的重要性。
3. 了解四大类微生物的菌落特征。

二、实验用品

1. 器材 恒温培养箱、无菌平皿、吸管、无菌试管、电炉、酒精灯、无菌棉签和记号笔等。
2. 培养基 普通琼脂平板、酵母膏葡萄糖琼脂平板、高氏一号培养基和查氏培养基。
3. 标本 人体体表、口腔中的微生物,空气中的微生物,土壤中的微生物,桌面的微生物等。

三、实验内容、原理及方法

(一)实验内容

人体口腔、皮肤表面、泥土、空气、桌面、水中的微生物检查。

(二)实验原理

在我们周围的环境中存在着种类繁多、数量庞大的微生物,而且分布广泛。自然界只要有微生物可以利用的物质和环境条件,微生物就可以在其上生长繁殖。据此,我们在实验室里就可以用培养基来培养微生物。

培养基是用人工配制的、适合微生物生长繁殖和产生代谢产物用的混合养料。在配制培养基时还需用酸液或碱液调节至适宜的 pH。配制好的培养基必须进行灭菌。经过灭菌后的物体是无菌的。微生物的接种技术是微生物学研究中的一项最基本操作技术。为了确保纯种不被杂菌污染,在整个接种过程中,必须进行严格的无菌操作。在实验过程中必须牢固树立无菌概念,经常保持实验台及周围环境的清洁,严格无菌操作,避免杂菌的污染,这是保证实验成功的必要条件。

如将微生物接种到适合其生长的固体培养基表面,在适宜的温度下(一般细菌 37℃,霉菌等 28℃),培养一段时间(一般 24~48h)后,形成菌落和菌苔。不同种的微生物可形成大小、形态各异的菌落,根据微生物菌落形态的不同,可初步鉴别出四大类微生物:细菌、放线菌、酵母菌和霉菌。细菌的菌落呈圆形、较小而薄、透明或不透明、质地“细腻”,有的具有色泽,有的边缘不整齐,有的表面湿润、光滑,有的表面干燥有褶皱。此外,细菌常因分解含氮化合物而产生臭味。酵母菌的菌落通常比细菌菌落大,圆形、厚、不透明、色素单一,多为乳白色,少数为橙色或红色。酵母菌因普遍能发酵含碳有机物产醇,故菌落多伴有酒香味。放线菌菌落小而致密,或坚硬、或呈粉状。不少放线菌还产生特殊的



土腥味。霉菌菌落大而疏松、或大而紧密。气生菌丝会发育形成一定形状、构造和色泽的子实器官,所以,菌落表面往往有肉眼可见的构造和颜色。

(三)实验方法

1. 融化培养基 将装有灭菌培养基的三角瓶置水浴中煮沸,待培养基融化后取出,当冷至 $50^{\circ}\text{C} \sim 60^{\circ}\text{C}$ 时,进行下一步。

2. 倒平板 有持皿法和叠皿法,操作要点如下:

(1)持皿法 ①将无菌培养皿叠放在酒精灯左侧,以便拿取。②点燃酒精灯。③酒精灯旁,左手握三角瓶底部,倾斜三角瓶,右手旋松棉塞,用右手小指与小尾鱼际(即小指边缘)夹住棉塞并将其拔出(切勿将棉塞放在桌上),随之将瓶口在火焰上过一下(不可灼烧,以防爆裂),以杀死可能沾在瓶口的杂菌。然后将三角瓶从左手换至右手(用拇指、示指和中指拿住三角瓶的底部)。操作中瓶口应保持在火焰上 $2 \sim 3\text{cm}$,瓶口始终向着火焰,以防空气中微生物的污染。左手拿起一套平皿,用环指和小指托住皿底,用中指和拇指夹住皿盖,示指于皿盖上为支点,在火焰旁,打开皿盖,让三角瓶伸入,随后倒入培养基。一般倒入 15ml 左右培养基即可铺满整个皿底。盖上皿盖,置水平位置待凝。然后将三角瓶移至左手,瓶口再次过火并塞紧瓶盖。

(2)叠皿法 此法适于在超净台上操作,基本步骤同持皿法。不同之处是左手不必持皿,而是将瓶皿叠放在酒精灯的左侧并靠近火焰。按上述方法用右手拿三角瓶,左手打开最上面的皿盖,倒入培养基,盖上皿盖后即移至水平位置待凝。再依次倒下面的平皿。操作中瓶口始终向着火焰,以防空气中微生物的污染。

3. 贴标签 待培养基完全凝固后,在皿底贴上标签,注明检测类型、组别及日期(也可用记号笔书写在皿底)。

4. 检测方法 环境中微生物种类多样,检测方法也各异。

(1)空气中微生物检测 检测实验室空气中的微生物时,只要打开无菌平板的皿盖,让其暴露在空气中一段时间($5 \sim 10\text{min}$),然后将皿盖盖上即可。

(2)桌面微生物检测 检测实验台桌面微生物,可用一根无菌棉签,先在普通琼脂平板的一个区域内湿润和试划几下,然后用其擦抹桌面等物体表面,再以此棉签在平板的另一区域做来回划线接种。本操作应以无菌操作要求进行,即在火焰旁用左手拿起平板,用中指、环指和小指托住皿底部,用示指和拇指夹住皿盖并开成一缝,右手持棉签在培养基表面划线接种,无菌棉签湿润和试剂区可作为无菌对照。

(3)手指皮肤的微生物检测 可用未洗的手指先在普通琼脂平板的一侧(约 $1/3$ 的面积)表面轻轻按一个指印,并在皿底做好标记。然后用肥皂、流水洗手,用洗净的手指于平板培养基的另一侧表面轻轻按一个指印,并在皿底做好标记,盖好皿盖。待培养后比较两杂菌生长的情况。

(4)口腔微生物检测 打开无菌平板培养基的皿盖,使口对着平板培养基的表面,以咳嗽的方式接种,然后盖上皿盖,做好标记。用普通琼脂平板、酵母膏葡萄糖琼脂平板各一。

(5)水中的微生物检测 用无菌吸管吸取自来水和污水各 1ml 分别置于2个无菌试