

上海第一医学院

SHANGHAI DIYI YIXUEYUAN

医学微生物学实验指导

YIXUE WEISHENGWUXUE SHIYAN ZHIDAO



一九八一年

微生物学实验室规则

一、进实验室必须穿实验服，书包放在挂钩上。

二、实验室内不准吸烟，吃东西。

三、实验用过的带有传染性物质的吸管、玻片等应分别放在指定的消毒筒内。待消毒或废弃物品必须放在指定地点。

四、如有传染性材料污染桌面、地、书和衣物等，应立即报告老师，并用 2 % 来苏儿处理半小时，或其他方法处理后洗净。

五、如有活菌碰到手上应将手浸泡在 2 % 来苏儿溶液中 5—10 分钟，然后用自来水冲洗。

六、实验过程要爱护器材，如有破损必须报告老师，并在破损登记簿上登记。

七、实验完毕，桌面应整理清洁，不可将火柴梗、擦镜纸投入水槽内，用过物品归还原处(如接种环、染色液、擦镜纸、香柏油、火柴等)，实验室打扫干净，关好水、电、煤气和窗。

八、实验材料不得携出实验室。

九、用消毒液浸泡双手，再用自来水冲洗干净，脱去实验服，方得离开实验室。

目 录

微生物学实验室规则

实验一	细菌染色法	1
实验二	常用培养基的制备	4
实验三	细菌的接种法和培养性状的观察	6
实验四	细菌代谢产物的检查	9
实验五	细菌对药物的敏感性试验	10
实验六	细菌的分布	11
实验七	动物实验技术	12
实验八	细菌的致病作用	14
实验九	唾液中溶菌酶测定	16
实验十	血液总补体量的测定	16
实验十一	吞噬作用	17
实验十二	绵羊红细胞花环形成试验	18
实验十三	全血淋巴细胞转化试验	20
实验十四	B淋巴细胞表面膜免疫球蛋白(SmIg)的荧光检测	21
实验十五	凝集试验	22
实验十六	沉淀试验	24
实验十七	血液的细菌学检查	28
实验十八	粪便的细菌学检查	29
实验十九	荧光菌球试验	30
实验二十	结核病人痰标本的细菌学检查	31
实验二十一	脓汁中专性厌氧菌的检查	31
实验二十二	细菌感染后血清中抗体测定	32
实验二十三	噬菌体的噬斑形成	34
实验二十四	鸡胚接种与血凝试验	34
实验二十五	病毒组织培养及病毒对细胞的致病作用	37
实验二十六	病毒感染后血清抗体测定	39
实验二十七	酶联免疫吸附试验	39
实验二十八	病原性真菌	40
附录一		
I	细菌总论	43
一、	显微镜的使用和原理	43
二、	细菌的结构	43
三、	pH 测定及校正法	45

I 免疫学基础	45
一、血脑屏障的作用	45
二、硝基四唑氮兰试验	46
三、白细胞移动抑制试验	47
四、火箭免疫电泳	48
II 细菌各论	49
一、主要致病菌的形态特征	49
二、主要致病菌的菌落特征	50
三、鉴定细菌的特殊试验	50
IV 病毒和其他微生物	51
一、病毒的电镜照片	51
二、病毒包涵体	52
三、中和试验	53
四、补体结合试验	54
五、沙眼衣原体	56
六、立克次氏体	56
七、支原体	56
八、病原性螺旋体	57
附录二	
I 染色液配制	59
一、吕氏美兰染色液	59
二、5%石炭酸复红染色液	59
三、革兰氏染色液	59
四、抗酸染色液	59
五、鞭毛染色液	59
六、芽胞染色液	59
七、奈瑟氏染色液	60
八、冯泰奈氏染色液	60
九、马氏染色液	60
十、棉兰染色液	60
十一、镀银染色液	61
II 常用培养基制备	61
一、艾力克(Elek)平板	61
二、吕氏血清斜面培养基	61
三、曲氏培养基	61
四、心脑血琼脂平板	62
五、沙保弱氏琼脂斜面	62
六、柯索夫培养基	63
III 其他	63

一、破伤风外毒素制备.....	63
二、伤寒杆菌内毒素制备.....	63
三、溶菌酶平板制备.....	63
四、伤寒杆菌“H”及“O”抗原的制备.....	63
五、伤寒杆菌免疫血清的制备.....	64
六、大便保存液.....	64
七、酶联免疫吸附试验用试剂的配制.....	64

实验一 细菌染色法

细菌无色半透明，未经染色不易观察其形态和结构，需经染色、显微镜放大后才清晰可见。

染色方法有单染和复染两法，前者应用一种染料使细菌着色，用以观察细菌的大小、形态和排列；后者用两种或两种以上的染料，有助于鉴别细菌，故又称鉴别染色法。常用的单染法有美兰和复红染色，复染色法有革兰氏和抗酸染色。

一、细菌涂片的制作：要进行细菌染色，首先需作涂片。涂片的制作分涂片、干燥和固定三个步骤。

(一)涂片

1. 取清洁无油载玻片一张，在中央加一滴生理盐水。

2. 将接种环用火焰烧红灭菌，待冷后自琼脂斜面上刮取细菌少许混于盐水滴中，轻轻涂抹制成直径约1厘米大小的均匀悬液，然后将接种环烧红灭菌。制作涂片时所取细菌量不宜过多，以免涂抹不均匀使细菌聚集成堆，影响结果观察。若取液体标本（如肉汤培养物、脓液、痰等）作涂片不加生理盐水而直接取标本涂片。

如用一张玻片同时做几种细菌涂片时，可用蜡笔将玻片分为数格，做好标记再进行涂片，以免混淆。

3. 接种环的灭菌和取菌法：

接种环在取菌前、后都必须用火焰烧红灭菌。方法是右手拿接种环，垂直置火焰中，待金属丝烧灼后，斜执接种环将金属柄缓慢通过火焰灭菌。**切记未经灭菌的接种环不能取菌，特别是取菌后的接种环必须灭菌后才能放在实验台上！**

取菌法：用左手拇指与食中指夹住琼脂斜面管下端，斜面朝上，试管倾斜。用右手转动一下管口棉塞，在近火焰处用右手小指与掌面夹住棉塞并拔出棉塞，**已拔出的棉塞不可放在实验台上，也不可触及任何物品。**试管口用火焰灭菌后，用已灭菌且冷却的接种环伸入培养基中，自斜面上轻轻刮取细菌，取菌后将试管口在火上再次灭菌，塞好棉塞，放回原处。

(二)干燥：涂片放室温自然干燥，必要时可将标本涂抹面向上，在离火焰半尺高处微微烘干。**切忌高热。**

(三)固定：常用加热固定法，其目的是杀死细菌，使菌体与玻片粘附牢固，在染色时不致被染液和水冲掉。手执玻片的一端，标本面朝上，来回通过火焰三次，注意温度不可太高，以玻片反面触及皮肤，以觉微烫为宜。

二、单染色法：

材料：

球菌、杆菌斜面培养物

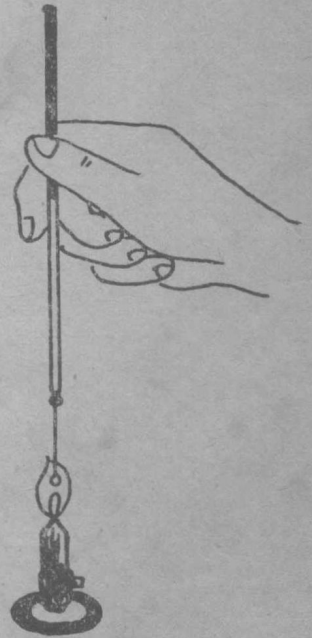


图1 接种环火焰灭菌

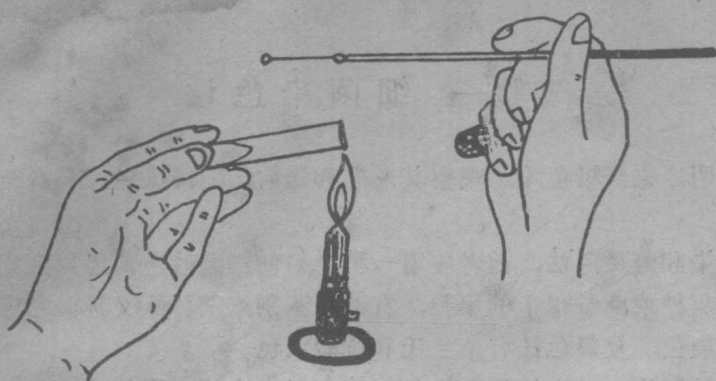


图 2 拔取棉塞，试管口灭菌

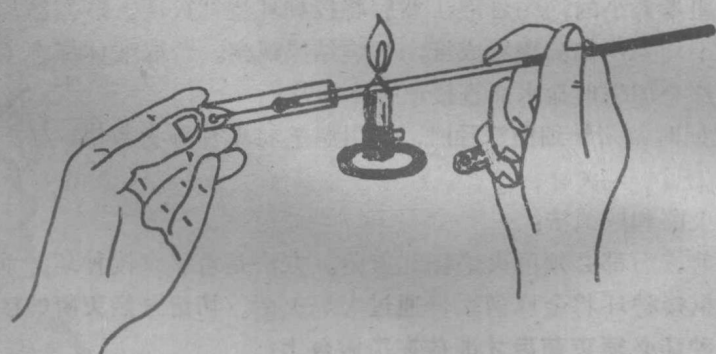


图 3 取 菌

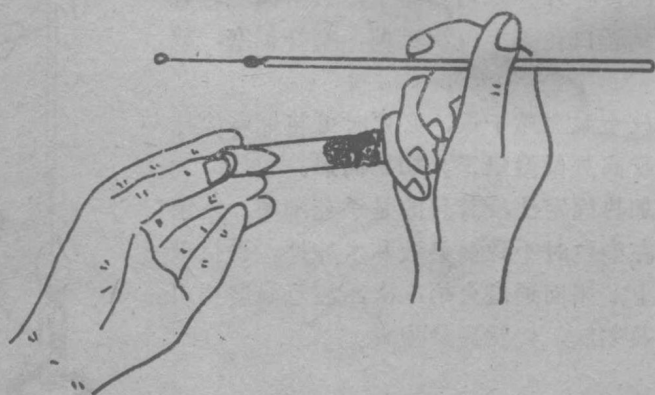


图 4 塞回棉塞

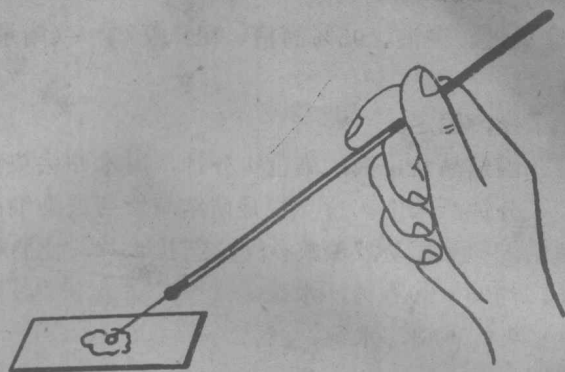


图5 涂 片

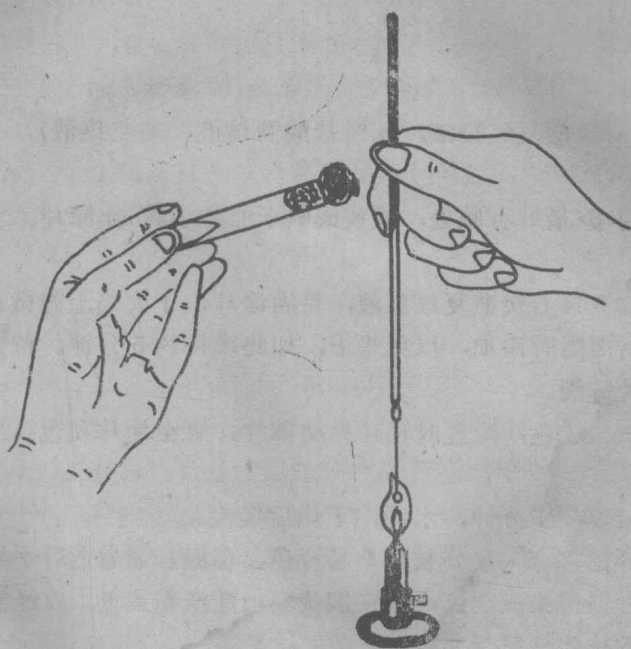


图6 接种环再次灭菌

载玻片，美兰、复红染液

方法：

(一)按上述涂片制作法，分别取球菌和杆菌在一张玻片两处制成涂片，干燥、固定。

(二)在细菌涂片上滴加美兰或复红染液数滴，使染液盖满涂片面为宜，染色2—3分钟，用细水流自涂面上端向下轻轻冲去染液。

(三)放置室温自干或在火焰上方微微烘干。

(四)于染色标本上滴加香柏油一滴，用油镜观察并绘图。

三、革兰氏染色法：

材料

球菌、杆菌斜面培养物

革兰氏染色液(结晶紫染液、碘液、95%酒精、稀释复红)——(附录二)

方法

(一)制作细菌涂片，干燥，固定。

(二)初染：涂片上加几滴结晶紫染液，染色1分钟，用水冲去染液。

(三)媒染：加碘液，1分钟后水洗。这一步是使结晶紫与被染细菌更牢固结合。

(四)脱色：加95%酒精，频频摇动玻片数秒钟，斜执玻片，使酒精流去，再加数滴酒精，至流下酒精无色为止，约20—30秒钟，水洗。

(五)复染：加稀释复红染30秒钟，水洗。

(六)干后，镜检并绘图。

细菌经染色后，有的染成红色，有的染成紫色，前者为革兰氏染色阴性菌，后者为革兰氏染色阳性菌。

四、抗酸染色法：

材料：

结核患者痰标本

抗酸染色液(5%石炭酸复红染液，3%盐酸酒精液，美兰染液)。

方法：

(一)取结核病人的痰(最好有脓处，或痰液中干酪样小粒)作涂片，空气中自然干燥，火焰固定。

(二)于标本上滴加5%石炭酸复红染液，盖满涂片，于火焰上微微加温使染液冒蒸气，切勿煮沸，染液将干时要随时添加，以免烤干，如此维持约5分钟。待标本冷却后水洗。切勿立即冲洗，以免玻片碎裂。

(三)用3%盐酸酒精脱色，脱色时轻轻晃动玻片，直至涂片无色或呈粉红色时为止，水洗。

(四)用美兰染色液复染1分钟，水洗，干燥后镜检。

结果：由于结核杆菌含有大量分枝酸不易着色，但经加温着色后不易被酸酒精脱色，用美兰染液复染，结核杆菌被染成红色，其它细菌易被酸酒精脱色，故经复染后呈兰色。用此染色法可鉴别标本中的抗酸杆菌与非抗酸杆菌。

实验二 常用培养基的制备

人工培养细菌时必须供给细菌需要的营养物质。培养基就是将细菌生长繁殖所需要的营养物人工配制而成的一种混合营养料。培养基的基本成分有蛋白胨、氨基酸、糖类、盐和水份。任何培养基除含有必需的营养物质外，还必须有一定的酸硷度(pH 7.4~7.6)，澄清并保证无菌。

培养基的主要用途是：一、分离并繁殖细菌，二、保存菌种，三、鉴定细菌，四、生产菌苗，抗菌素以及细菌生理学的研究。

以下介绍几种常用的培养基。

一、肉汤培养基：肉汤培养基常用瘦牛肉制成，如无牛肉可用牛肉膏代替。

成分:

新鲜绞碎瘦牛肉	500克
蛋白胨	10克
氯化钠	5克
蒸馏水	1000毫升

制法:

(一)称取去筋膜无油脂的瘦牛肉 500 克,用绞肉机绞碎加水1000毫升,搅匀浸于搪瓷锅内,置冰箱过夜,除去液面上的浮油。过夜的目的是使牛肉中的水溶性养料充分地渗透出来。

(二)次日取出,煮沸半小时(若不经冰箱过夜,可直接煮沸 1 小时)。用绒布过滤,肉渣中液体应尽量挤净。

(三)于1000毫升肉汁中加蛋白胨10克,氯化钠 5 克,搅拌加热使完全溶解。量滤出肉汁,用蒸馏水补足至原量。

(四)冷至40℃—50℃时,用氢氧化钠校正 pH 至 7.8,煮沸10分钟(因肉浸液中部分碳水化合物经加热破坏,分解产酸而影响 pH,加热可使其稳定),然后补充失去水份,用脱脂棉过滤,滤液须澄清。

(五)分装于试管或三角烧瓶塞好棉塞,高压蒸汽15磅(121℃)20分钟灭菌。

注:如用牛肉膏制肉汤培养基,配方如下:

牛肉膏	0.5克
蛋白胨	1克
氯化钠	0.5克
蒸馏水	100毫升

以上各成分混合加热溶解后,即可调节pH,以下步骤同上。

二、普通琼脂培养基:普通琼脂是常用的固体培养基。琼脂本身并无养料,只是用以改变肉汤的物理性状,它是一种赋形剂。在100℃时溶化,40℃左右凝固,通常肉汤中加入2~3%琼脂,溶化后能在室温下凝固形成固体,即为固体培养基。

成分:

琼脂	2—3克
肉汤培养基	100毫升

方法:

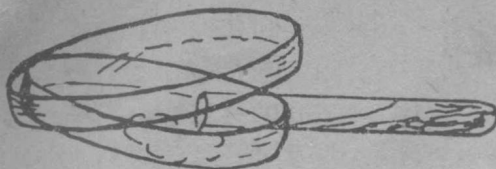
(1)取已制备好的肉汤培养基 100 毫升,置于三角烧瓶中,加琼脂 2—3 克加热溶化。

(2)趁热校正pH至7.4~7.6。

(3)未凝前分装于试管中(可装于大、中不同号的试管,以备作琼脂斜面及平板用),加棉塞,高压蒸汽灭菌。

(4)灭菌后将中号试管(约4~5毫升)斜置待凝后即成普通琼脂斜面。大试管中的培养基(约15毫升左右)称为琼脂高层,在琼脂未凝前以无菌操作注入无菌平皿内(图),凝固后即成普通琼脂平板。倾注平板时必须严格无菌操作,此外,琼脂的温度不可过高,约在50℃左右为宜,如温度过高则平皿内凝固水过多,易引致污染,过低则琼脂凝固使培养基表面不平滑。

(5) 放冰箱保存备用。



倾注平板法

三、半固体培养基:

成分:

琼脂	0.5克
肉汤培养基	100毫升

方法: 于100毫升肉汤中加入0.5克琼脂, 加热溶化后, 校正 pH 7.4~7.6。分装于小试管中(每管约2毫升), 高压蒸汽灭菌。灭菌后将试管直立, 待冷凝后即成半固体培养基。4℃冰箱保存备用。

四、血液琼脂培养基:

成分:

普通琼脂培养基	100毫升
无菌脱纤维兔(或羊)血	10毫升

方法:

(一) 将已灭菌的普通琼脂培养基加热溶化, 并冷至50℃左右。

(二) 以无菌操作加入脱纤维兔血或羊血于琼脂培养基内, 混匀(注意勿产生气泡), 然后分装于灭菌试管或平皿中, 制成血液琼脂斜面或平板, 放4℃冰箱保存备用。

实验三 细菌的接种法和培养性状的观察

一、细菌的接种法: 细菌的接种方法因各种培养基不同而异, 常用的方法有平板, 斜面, 液体和半固体接种。

材料:

琼脂斜面, 琼脂平板, 半固体, 肉汤培养基。

葡萄球菌 大肠杆菌斜面培养物。

方法:

(一) 平板接种法: 细菌在自然界及人体中分布广, 种类多, 因此临床上各种检验标本中, 如粪便、痰、脓液常混有多种细菌。如欲检查病人标本中是否有某种病原菌时, 须先将各种细菌分离, 获得纯菌培养物后才能进一步作细菌的鉴定。琼脂平板培养基因面积大, 接种后可达到分离的目的, 常称分离培养法。平板接种方法有多种, 以下介绍平行划线法及分区划线法。

1. 平行划线法:

(1) 用无菌接种环取细菌培养物少许。

(2) 左手拿出琼脂平板底部，盖留在桌上（一般是将制成的琼脂平板倒放，即带有培养基的底部在上方），使平板直立，以免空气中的细菌落入培养基中，并靠近火焰处。

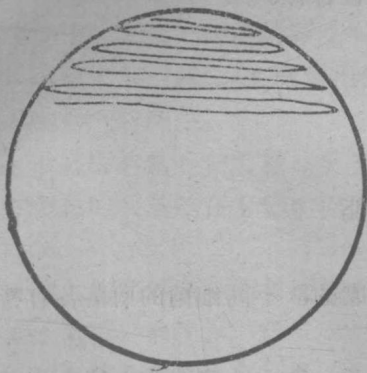
(3) 右手握持沾菌的接种环涂抹在琼脂平板上端，然后连续平行划线于平板的上半部（图1）。将平板转180度，自平板另一端开始再划线于中央为止（图2）。

划线时使接种环与平板表面成 $30\sim 40^\circ$ 角轻轻接触，以腕力在平板表面作轻快的滑移动作。所划线条应致密而均匀，并应达到平板的边缘，充分利用培养基的面积；同时接种环与琼脂面间的角度不宜过大，以免划破琼脂。

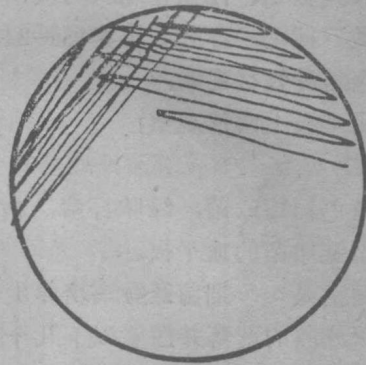
(4) 划线完毕，盖上平板盖，接种环灭菌后放回原处。

(5) 于琼脂底面玻璃上贴标签，注明标本名称，日期，姓名，置 37°C 温箱培养18~24小时。

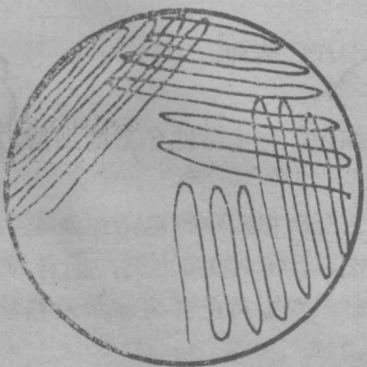
2. 分区划线法：如图所示，取一接种环材料，划线在平板上 $\frac{1}{4}$ 的面积①，转动平板约70度，接种环灭菌，待冷后，以原接种处通过2—3条线，划于另一个 $\frac{1}{4}$ 的面积上②，再次烧灼接种环，冷却后，转70度，照原法直到划满为止③，④。



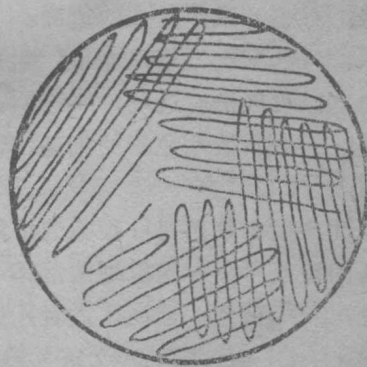
①



②



③



④

一般当接种物中细菌不太多时（如脓汁、标本、液体培养物等）可以选用平行划线法。如接种物中细菌极多时（如固体菌种，粪便等）则必须采用分区划线法始能得到良好结果。

接种后，做好标记， 37°C 培养18—24小时。

(二)琼脂斜面接种法：多用于纯种细菌的增菌和保存菌种。

1. 用灭菌接种环取细菌培养物少许。

2. 拔去琼脂斜面培养基棉塞，管口经火焰灭菌，将沾有细菌的接种环伸入管内，自下而上在琼脂上蜿蜒划线。

3. 接种后，管口在火焰上灭菌，塞回棉塞，接种环灭菌。

4. 在试管壁近管口处做好标记，置37℃培养18~24小时。

(三)肉汤接种法：用于增菌。

1. 用灭菌接种环取细菌培养物少许。

2. 以无菌操作将沾有细菌的接种环伸入肉汤管中，将环上细菌轻轻研磨于接近液面的管壁上，然后将试管稍倾斜，使肉汤碰及细菌即可。

3. 接种后管口灭菌，塞回棉塞，接种环灭菌，并做好标记，置37℃培养18—24小时。

(四)半固体接种法(穿刺接种法)：用以观察细菌有无运动力。

半固体接种是用接种针，无菌操作方法同前。将取有细菌的接种针自培养基的中央刺入，沿原穿刺线拔出，注意在刺入与拔出时不可晃动接种针。

接种后做好标记，置37℃培养18—24小时。

二、细菌培养性状观察：

(一)琼脂平板上菌落观察：

材料：

接种金黄色葡萄球菌，绿脓杆菌，枯草杆菌的琼脂平板。

接种乙型链球菌的血平板。

方法：菌落是一个细菌经分离培养生长繁殖后形成的，不同细菌的菌落各有特点，观察时应选择比较分散的菌落并注意以下几个方面。

1. 大小：以直径毫米表示。1毫米左右为小菌落，2—3毫米为中等大小菌落，3毫米以上为大菌落。

2. 形状：有圆形及不规则形状。

3. 边缘：有整齐或不整齐的边缘。

4. 表面：有凸起，平坦；光滑，粗糙；干燥，湿润之表面。

5. 透明度：可区别有透明，不透明。

6. 颜色：产生脂溶性色素的细菌，菌落本身有颜色，有水溶性色素的细菌，菌落周围的培养基呈现颜色。

7. 溶血性：根据细菌对红细胞的溶解作用，有完全溶血，草绿色溶血及不溶血之分。

根据菌落的特点可分为光滑型菌落(S型)及粗糙型菌落(R型)两大类，前者为圆形，表面光滑，湿润，边缘整齐，透明，后者相反。注意观察识别金黄色葡萄球菌及枯草杆菌各为那一类菌落。

(二)肉汤培养基中生长观察：肉汤在未接种细菌前是澄清的，接种细菌后如有生长，表现有三种形式：

1. 混浊生长：液体变混浊。

2. 菌膜：液体澄清，表面有一薄层菌膜。

3. 沉淀生长：液体澄清，管底有沉淀物。

(三)琼脂斜面上生长观察：细菌在斜面上生长后融合在一起叫菌苔。

(四)半固体中生长观察：半固体培养是观察细菌有无运动，无运动的细菌经培养后仅沿穿刺线部分有菌生长，培养基清亮；而有运动的细菌，沿穿刺线向外散开，故穿刺线模糊不清，培养基变混浊。

实验四 细菌代谢产物的检查

细菌在新陈代谢过程中，有许多产物形成，其中有的对机体有害，如毒素。有一些产物，特别是分解产物，常作为各种细菌鉴定的重要依据之一。以下介绍最常用的糖发酵试验和蛋白分解试验。

一、糖发酵试验

不同细菌具有不同的酶，可以分解相应的糖类。糖类分解后的终末产物不同，有的产酸(如甲酸、乙酸、乳酸等)，有的细菌能进一步分解酸产生气体(氢、二氧化碳)，借此可协助鉴别细菌，尤其在肠道细菌的鉴定中经常使用。

实验室用来检查糖发酵的培养基叫单糖发酵管，是将1%的各种糖加入无糖的蛋白胨水培养基中，再加入指示剂(本实验室用酚红，硷性时为红色，酸性呈黄色)和倒置小管一个，以观察有无酸和气体产生。

实验室最常用的糖有葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇与蔗糖五种，分别以红、黄、兰、白、黑五种颜色的纸条贴在管壁上以区别各种糖类。

材料：

大肠杆菌和伤寒杆菌琼脂斜面培养物。

葡萄糖、乳糖发酵管。

方法：将伤寒杆菌和大肠杆菌分别接种于两种糖发酵管中，37℃培养18~24小时观察结果。

结果观察：首先确定细菌是否生长，细菌生长则培养基变混浊。糖是否被分解根据以下结果判定：

(一)培养基未变色，小倒管中无气泡，表示不产酸不产气，糖未分解，记录结果以“-”表示。

(二)培养基变黄，小倒管中无气泡，表示产酸不产气，以“+”表示。

(三)培养基变黄，小倒管中有气泡，表示产酸又产气，以“⊕”表示。

二、含氮化合物分解试验：

(一)脲基质(叫脲)产生试验

有些细菌具有色氨酸酶，能分解蛋白胨中的色氨酸形成脲基质。脲基质无色，不能直接察见，如加入柯氏(kovac)试剂，则试剂中的对二甲基氨基苯甲醛与脲基质结合成红色的玫瑰脲基质，易为肉眼识别。

材料：

大肠杆菌及伤寒杆菌琼脂斜面培养物。

蛋白胨水培养基。

柯氏试剂。

方法：将大肠杆菌和伤寒杆菌分别接种于蛋白胨水中，37℃培养18~24小时。于每管中加入柯氏试剂数滴，使成一薄层浮于液面上。轻轻摇动试管，如表层试剂呈现红色为阳性(+)，呈黄色则为阴性(-)。

(二)硫化氢产生试验：

有些细菌能分解培养基中胱氨酸等含硫氨基酸，生成硫化氢。硫化氢遇铅盐(醋酸铅)或铁盐(硫酸亚铁)则形成黑褐色的硫化铅或硫化铁沉淀物。黑色沉淀物越多，表示生成的硫化氢量亦越多。实验室常采用含有醋酸铅的培养基检测硫化氢是否产生。

材料：

大肠杆菌、变形杆菌琼脂斜面培养物。

醋酸铅培养基。

方法：将大肠杆菌和变形杆菌用接种针分别穿刺接种于醋酸铅培养基中，一般穿刺于培养基贴管壁处而不是穿刺于培养基中央。37℃培养18~24小时，穿刺线处呈黑褐色者为阳性(+)，不变色者为阴性(-)。

(三)尿素分解试验：

有些细菌具有尿素分解酶，能分解尿素产生大量氨。氨遇水形成氢氧化铵，使培养基pH上升，硷性增加。实验室采用含尿素的培养基，其中加酚红作指示剂检查尿素分解与否。

材料：

大肠杆菌、变形杆菌琼脂斜面培养物。

尿素培养基。

方法：将大肠杆菌、变形杆菌分别接种于尿素培养基置37℃培养18~24小时，培养基颜色变红为阳性(+)，颜色不变则为阴性(-)。

实验五 细菌对药物的敏感性试验

磺胺、抗菌素是临床上最常用的治疗细菌性感染的药物。因为各种致病菌对抗菌素、磺胺的敏感性不同，在治疗过程中，细菌对药物的敏感性又常会发生改变，即产生耐药性，所以测定细菌对药物的敏感性，在临床治疗中选择用药及时控制感染上有重要意义。

材料：

对青霉素敏感和抗药的金黄色葡萄球菌液体培养物。

对氯霉素敏感和抗药的痢疾杆菌液体培养物。

含青霉素、氯霉素、链霉素、四环素、庆大霉素等抗菌素的滤纸片。每种滤纸片所含药物浓度为青霉素1单位，其他抗菌素各为10微克。

普通琼脂平板。

无菌镊子、无菌棉签。

方法：

一、用无菌棉签沾取6—8小时金黄色葡萄球菌及痢疾杆菌培养物，分别浓密地涂布于琼脂平板表面(注意棉签不可过湿，涂布要均匀、致密)，待稍干，

二、用无菌镊子将含有各种药品的滤纸片按一定间隔贴在平板的不同区域。

三、37℃培养18~24小时后观察结果，量取各种抗菌素滤纸片周围抑菌环大小，按下表

确定其对药物的敏感情况。注意对比(1)两种细菌对各抗菌素敏感性的差异，(2)同种不同株的细菌对同一种抗菌素敏感性的差异。

各种抗菌素的抑菌圈与敏感标准

抗 菌 素	纸片法抑菌圈(毫米)	敏 感 标 准
青 霉 素	<10	抗 药
	10~20	中 度 敏 感
	>20	极 度 敏 感
金 霉 素 土 霉 素 四 环 素	<10	抗 药
	10~14	中 度 敏 感
	>15	极 度 敏 感
氯 霉 素 合 霉 素 红 霉 素	<10	抗 药
	10~17	中 度 敏 感
	>17	极 度 敏 感
庆 大 霉 素	<10	抗 药
	15~18	中 度 敏 感
	>19	极 度 敏 感
链 霉 素	<10	抗 药
	10~14	中 度 敏 感
	>15	极 度 敏 感
磺 胺	<10	抗 药
	10~15	中 度 敏 感
	>15	极 度 敏 感

实验六 细菌的分布

细菌种类繁多，繁殖迅速，分布广泛。不论空气、土壤、水、食物、各种物体和器械的表面，以及动物与人类与外界相通的腔道中都有细菌存在。因此，了解细菌在自然界及正常人体中的分布，对于在医疗实践与某些科学实验中树立无菌观念有着重要的意义。

一、空气中细菌的检查

材料：普通琼脂平板。

方法：

(一)将琼脂平板置于室内不同处，打开盖子暴露于空气中10分钟，然后盖好，置37℃培养24小时。

(二)观察平板上菌落数及菌落特点。

二、土壤中细菌检查：

材料:

地面深处土壤。

肉汤培养基, 庖肉培养基。

方法: 取少量泥土接种肉汤培养基及庖肉培养基各 1 支, 37℃ 培养。肉汤培养 24 小时, 庖肉培养基培养 2~3 天。观察细菌生长情况。

三、手指的细菌检查

材料: 普通琼脂平板

方法: 用手指直接涂抹于琼脂平板上, 37℃ 培养 18~24 小时, 观察菌落数及特征。实验时可将琼脂平板划分为 4~6 格, 每人一格供试。

四、咽喉部的细菌检查:

材料:

血琼脂平板。

无菌棉拭子。

方法: 用无菌棉拭子自咽喉部(近扁桃体处)取材。取材时检查者背对光线站立, 被检者面对光线坐好。将取好的材料接种于血琼脂平板上 $\frac{1}{2}$ 处, 弃棉拭子于消毒玻璃缸中, 再换用无菌接种环于接种处涂抹, 沾取材料, 然后连续划线分离。接种后置 37℃ 18~24 小时, 观察各菌落特征。

实验七 动物实验技术

实验动物常用作病原微生物的分离和鉴定, 此外, 还可用以制备免疫血清。进行动物实验应选择易感性高、健康的动物。最常用的动物有家兔、豚鼠; 注射途径有皮下、皮内、肌肉、腹腔、静脉等。感染动物死亡后, 必要时进行尸体解剖并作细菌学检查。

一、实验动物接种法

(一) 小白鼠接种法:

材料:

小白鼠。

无菌注射器(1 毫升)及针头。

碘酒、75% 酒精、无菌生理盐水。

接种方法:

1. 皮下注射法: 一般注射于腹部。

(1) 用注射器吸取生理盐水。

(2) 小白鼠固定法: 用镊子夹住小白鼠尾部自笼中取出, 右手牵其尾, 使它在桌上向前爬行, 再用左手食指及拇指捉住其两耳及颈部皮肤, 将手反转, 使小白鼠腹部向上, 把小白鼠尾巴和左腿夹于左手小指和手掌之间。

(3) 用碘酒及酒精消毒腹部皮肤。将针头稍平刺入皮下, 注入盐水 0.2~0.3 毫升, 如局部有隆起表示注入, 注射后局部再次消毒。

2. 腹腔注射法: 常注射于下腹部。固定方法同上。注射时先将针头平刺于皮下, 然后稍抬起针头斜刺入腹腔中, 注射盐水 0.5 毫升。