

- 全国高等医药院校药学类实验双语教材
- 教育部普通高等教育“十五”国家级规划教材

# 微生物学 实验与指导

EXPERIMENT AND GUIDE  
FOR MICROBIOLOGY

主编 周长林

中国医药科技出版社

全国高等医药院校药学类实验双语教材  
教育部普通高等教育“十五”国家级规划教材

# 微生物学实验与指导

**Experiment and Guide for Microbiology**

主 编 周长林  
副 主 编 徐旭东  
编 者 (按姓氏笔画排列)  
吴 洁 陈向东 周长林  
徐旭东 窦 洁

中国医药科技出版社

登记证号：(京) 075 号

### 内 容 提 要

本书是药学类专业实验双语教材系列。全书共分八个部分，内容主要包括微生物实验基本原理、基本方法，细菌、放线菌、真菌、病毒等的形态结构和培养特征，分子生物学、细胞生物学、免疫学和药学微生物学实验技术。本书供药学类院校微生物学实验教学用，同时可供药物质检人员参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验与指导/周长林主编. —北京: 中国医药科技出版社, 2003. 12

全国高等医药院校药学类实验双语教材. 教育部普通高等教育“十五”国家级规划教材

ISBN 7-5067-2849-4

I. 微... II. 周... III. 微生物学—实验—医学院校—教材  
IV. Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 109447 号

中国医药科技出版社 出版  
(北京市海淀区文慧园北路甲 22 号)  
(邮政编码 100088)

北京市平谷区早立印刷厂 印刷  
全国各地新华书店 经销

\*

开本 787×1092mm  $1/16$  印张 16  $3/4$

字数 387 千字 印数 1-5000

2004 年 1 月第 1 版 2004 年 1 月第 1 次印刷

定价：28.00 元

本社图书如存在印装质量问题，请与本社联系调换（电话：010-62244206）

## 全国高等医药院校药学类教材编委会（第一届）

- 名誉主任委员 吴阶平 蒋正华 卢嘉锡  
名誉副主任委员 郑筱萸 林蕙青  
主任委员 吴晓明（中国药科大学校长）  
副主任委员 吴春福（沈阳药科大学校长）  
黄泰康（中国医药科技出版社社长兼总编）  
彭师奇（北京大学药学院院长）  
叶德泳（复旦大学药学院副院长）  
张志荣（四川大学华西药学院院长）  
委 员（按姓氏笔画排列）  
丁 红（山西医科大学药学院院长）  
王广基（中国药科大学副校长）  
史录文（北京大学医学部副主任）  
朱景申（华中科技大学同济药学院教授）  
朱家勇（广东药学院院长）  
刘永琼（武汉化工学院药学系副主任）  
吴继洲（华中科技大学同济药学院院长）  
杨世民（西安交通大学药学院院长）  
罗向红（沈阳药科大学教务处副处长）  
梁 仁（广东药学院教授）  
娄红祥（山东大学药学院院长）  
姜远英（第二军医大学药学院院长）  
姚文兵（中国药科大学教务处处长）  
曾 苏（浙江大学药学院院长）

### 全国高等医药院校药学类教材编写办公室

- 主 任 姚文兵（中国药科大学教务处处长）  
副 主 任 罗向红（沈阳药科大学教务处副处长）  
程牛亮（山西医科大学教务处处长）  
连建华（广东药学院教务处副处长）

# 编写说明

为适应我国高等医药教育的改革和发展、满足市场竞争和医药管理体制对药学教育的要求，全国高等医药院校药学类教材编委会组织编写了“全国高等医药院校药学类教材”。

本系列教材是在充分向各医药院校调研、总结归纳当前药学教育迫切需要补充一些教学内容的基础上提出编写宗旨的。本系列教材的编写宗旨是：药学特色鲜明、具有前瞻性、能体现现代医药科技水平的高质量的药学教材。也希望通过教材的编写帮助各院校培养和推出一批优秀的中青年业务骨干，促进药学院校之间的校际间的业务交流。

参加本系列教材的编写单位有：中国药科大学、沈阳药科大学、北京大学药学院、广东药学院、华西医科大学药学院、山西医科大学、同济医科大学药学院、复旦大学药学院、西安交通大学药学院、山东大学药学院等数十所药学院校。

教材的编写尚存在一些不足，请各院校师生提出指正。

全国高等医药院校药学类  
教材编写办公室

2001.9.3

# 序

实验教学是高等药学院校最基本的教学形式之一，对培养学生科学的思维与方法、创新意识与能力，全面推进素质教育有着重要的作用。飞速发展的科学技术，已成为主导社会进步的重要因素。高等药学院校必须不断更新教学内容，以学科发展的前沿知识充实实验课程内容。

近年来，中国药科大学坚持以研究促教改，通过承担教育部“世行贷款——21世纪初高等教育教学改革项目”及立项校内教改课题等多种方式，调动了广大教师投身教学改革的积极性，将转变教师的教育思想观念与教学内容、教学方法的改革紧密结合起来，取得了实效。此次推出的国家“十五”规划教材——药学专业双语实验教学系列，是广大教师长期钻研实验课程教学体系，改革教学内容，实现教育创新的重要成果。他们站在21世纪教育、科技和社会发展趋势的高度，对药学专业实验课程的教学内容进行了“精选”、“整合”和“创新”，强调对学生的动手能力、创新思维、科学素养等综合素质的全面培养。这套教材具有以下的特点：

1. 教材将各学科的实验内容进行了广泛的“精选”，既体现了高等药学教育“面向世界、面向未来、面向现代化”，也考虑到我国药学教育的现状与实际；既体现了各门实验课程自身的独立性、系统性和科学性，又充分考虑到各门实验课程之间的联系与衔接，有助于学生在教学大纲规定的实验教学学时内掌握基本操作技术，提高动手能力，养成严谨、求实、创新的科学态度。

2. 教材中新增的综合性、设计性实验有利于学生全面了解和综合掌握本门实验课程的教学内容。这一举措既满足了学生个性发展的需要，更注重培养学生分析问题、解决问题的能力 and 创新意识。

3. 教材中适当安排一些反映药学学科发展前沿的实验，有利于学生在掌握实验基本技术的同时，对药学学科的新进展、新技术有所了解，激发他们学习药学知识与相关学科的兴趣。

4. 教材以实践教学为突破口，采用双语体系编写，为实验课程改革构建数字化、信息化和外语教学的平台，有利于提高学生的科技英语水平。通过我校多年的药学专业系列实验课程双语教学实践，证明学生完全能够接受此套教材的教学。

国家十五规划教材——药学专业双语实验教学系列教材的陆续出版，必

将对推动我国高等药学教育的健康发展，产生积极而深远的影响。由于采用双语体系编写药学教学实验丛书尚属首次，缺乏经验，在内容选择及编写方法上的不妥之处，在所难免。欢迎从事药学教育的同行们批评赐教。

吴晓明

(中国药科大学校长、博士、教授、博士生导师)

2003年1月于南京

# Preface

Experimental teaching is one of the most fundamental teaching means in pharmaceutical colleges, playing an important role in training scientific thoughts and methods, creative consciousness and ability of the students as well as in promoting quality - oriented education in all - round way. Fast - advancing science and technology has come to be an important factor in dominating social progress. Teaching materials must be updated continually in pharmaceutical colleges, especially enriching the materials of experimental courses with the most advanced knowledge in the subject.

In recent years, China Pharmaceutical University have been stressing the promotion of teaching reform on the basis of research, succeeding in stimulating teachers' enthusiasm for teaching reform by various means such as undertaking the project of teaching reform in higher education at the beginning of 21st century sponsored financially by World Bank and entrusted by the Ministry of Education as well as approving and ratifying internal programs on teaching reform. Meanwhile, it yields fruits to integrate the transforming of teachers' educational ideology into the reform of teaching materials and methods. This series of textbook of national "Tenth - five" planning - bilingual pharmaceutical experimental teaching series, is an important achievement made through studying teaching system of experimental courses for long, reforming teaching materials and carrying out educational innovation of all the teachers concerned.

Meeting the new demands for education, science and technology and social growth, they select, integrate and innovate the teaching materials of pharmaceutical experimental courses, stressing the overall cultivation of comprehensive qualities, including experimental ability, creative thought and scientific attainments. This set of textbook possesses the following features:

1. These textbooks make an extensive "selection" of the experimental materials of each subject, reflecting the goal of facing the world, facing the future and facing the modernization in higher pharmaceutical education, and taking into account the status quota and reality of our pharmaceutical education; meanwhile embodying the individuality, systematicness and scientificness of each experimental courses, which helps the students to grasp basic techniques of operation within the class hours of experimental teaching prescribed by teaching syllabus and to improve their experimental ability and finally to cultivate a scientific approach of precision, practicality and creation.



2. The comprehensive designing experiments newly supplemented in the textbooks help the students to learn totally and grasp comprehensively the teaching materials of the experimental courses, which not only meets the students' needs for individual development but also trains their ability to analyze and solve problems and cultivates their creative consciousness.

3. Some experiments representing the latest development in pharmacy are properly included in the textbooks, which helps the students to learn about new advance and technology in pharmacy and to further arouse their interests in studying pharmacy and relevant subjects while grasping some basic techniques of experiment.

4. The textbooks take experimental teaching as starting point and are compiled in a system of bilingualism and aim to set up a platform of digitalization, information and foreign language teaching for the purpose of reforming experimental courses, which serves to enhance the students' level of technological English. It has been proved that the students have no difficulty being adapted to the teaching of this set of textbook through many years of bilingual teaching practice carried out in a series of pharmaceutical experimental courses of our university.

The successive publishing of the series of textbooks used for bilingual pharmaceutical experimental teaching – the national “Tenth—five” planning textbooks, will surely produce good and far – reaching influence in promoting the sound development of higher pharmaceutical education of our country. Since it is the first time that we have compiled this series of textbook of pharmaceutical teaching experiment in a bilingual system, we lack experience and thus some defects in choice of materials and way of compilation are inevitable. Experts engaged in pharmaceutical education are welcome to give any criticisms and advice.

**Wu Xiaoming**

Ph. D, prof. , and supervisor of doctoral candidates

President of China Pharmaceutical University

Nanjing

Jan, 2003

# 前 言

本书是药学类专业实验教材丛书系列。全书共分八个部分，内容主要包括微生物学实验基本原理、基本方法，细菌、放线菌、真菌、病毒等的形态结构和培养特征，微生物遗传学、免疫学和药学微生物学实验技术。其中第一部分和第七部分由窦洁老师编写，第二部分和第八部分由周长林老师编写，第三部分由吴洁老师编写，第四部分和第五部分由徐旭东老师编写，第六部分由陈向东老师编写。

实验编排一般包括实验目的、实验原理、实验材料、实验方法、结果与讨论五部分，力求使学生在实验中有明确的实验思路。结果和讨论部分旨在培养学生分析问题和全面总结实验结果的能力，培养独立思考的习惯，以期进一步消化和巩固所学的理论知识。实验所需的染料、培养基配方、试剂及缓冲液配制和微生物学实验的英文词汇列于附录中。

本书供药学类院校微生物学实验教学使用，实验内容可根据教学需要适当选做，同时可供药物质检人员参考。

本书是教研室同仁多年教学实践的结晶，具有药学微生物学实验教学的显著特色，期望在药学生的素质教育方面能尽微薄之力。由于编者水平有限，在实验内容编排和中英文表述方面定有欠妥之处，恳请指正。

周长林

中国药科大学微生物学教研室

2003年8月18日于南京

## Preface

This text is a part of the series of pharmaceutical textbooks and designed to be an effective teaching tool for pharmaceutical university students. It is divided into eight parts, which are organized by the principles of microbiological experiment and primary methods, the morphology and culture characteristics of bacteria, actinomycetes, fungi and virus, as well as the experimental technology of immunology and pharmaceutical microbiology. In the text, part one and part seven were written by Dou Jie, part two and part eight were written by Zhou Changlin, part three was written by Wu Jie, part four and part five were written by Xu Xudong, and part six was written by Chen Xiangdong.

Each experiment was organized by purpose, principles, materials and apparatus, results and discussion, designed to let students think clearly. Especially, the part of results and discussion devote students to have the ability of summarizing the experiment and thinking by themselves, then understanding the theoretical knowledge further. In the experiments, stained solutions, culture media, reagents and buffers, words and vocabularies are referenced to appendix.

It will be decided by the teachers of microbiological experiments which parts or experiments should be used in their teaching program. This text is also designed to be reference for pharmaceutic inspectors.

This is a crystallization of collective wisdom of our teaching and research group accumulated in teaching program for many years and possessed pharmaceutical characteristics. We hope to devote some effort to the pharmaceutical education.

It is very kind of you to correct it if there is any mistake in the text.

# 目 录

## 第一部分 显微镜的构造和使用方法

实验一 明视野显微镜 .....	( 1 )
1 Bright-Field Microscope .....	( 5 )
实验二 暗视野光学显微镜 .....	( 9 )
2 Dark-Field Microscope .....	(10)
实验三 相差显微镜 .....	(12)
3 Phase-Contrast Microscope .....	(14)
实验四 电子显微镜 .....	(16)
4 Electron Microscope .....	(18)

## 第二部分 微生物形态学

实验五 细菌单染色法 .....	(20)
5 Simple Stain .....	(23)
实验六 细菌革兰染色法 .....	(25)
6 Gram Stain .....	(28)
实验七 芽胞染色法 .....	(30)
7 Spore Stain .....	(32)
实验八 荚膜染色法 .....	(34)
8 Capsule Stain .....	(35)
实验九 鞭毛染色法 .....	(37)
9 Flagella Stain .....	(38)
实验十 螺旋体的染色和形态观察 .....	(40)
10 Spirochetes Morphology .....	(41)
实验十一 悬滴法观察细菌的动力 .....	(42)
11 Observation of Bacterial Motion with Hanging Drop .....	(44)
实验十二 酵母菌的形态结构观察 .....	(46)
12 Yeast Morphology .....	(48)
实验十三 放线菌、霉菌的菌丝和孢子形态观察 .....	(50)
13 Morphology of Mycelia and Spore for Actinomycetes and Molds .....	(52)
实验十四 细菌、放线菌、酵母菌和霉菌的菌落特征观察 .....	(54)
14 Colony Characteristics of Bacteria, Actinomycetes, Yeast and Molds .....	(56)

### 第三部分 培养基、消毒灭菌、接种技术和细菌生长状况观察

实验十五 培养基的配制和灭菌	(58)
15 Types of Media and Sterilization	(61)
实验十六 各种接种技术和细菌生长状况观察	(64)
16 Inoculation and Cultural Characteristics of Bacteria	(69)
实验十七 消毒、紫外线灭菌和干热灭菌	(73)
17 Disinfection, Ultraviolet Light and Dry Heat Sterilization	(75)
实验十八 菌种保藏	(77)
18 Preservation of Cultures	(80)
实验十九 微生物计数法	(84)
19 Counting of Microorganisms	(88)
实验二十 细菌的生长曲线测定	(91)
20 Bacterial Growth Curve	(93)

### 第四部分 细菌的生理生化反应

实验二十一 淀粉水解和明胶液化试验	(95)
21 Hydrolysis of Starch and Protein	(97)
实验二十二 糖发酵试验	(100)
22 Utilization of Carbohydrates	(102)
实验二十三 IMViC 试验	(104)
23 IMViC Series	(107)
实验二十四 硫化氢产生试验和触酶试验	(111)
24 Hydrogen sulfide Production and Catalase Test	(113)
实验二十五 淀粉酶和脲酶试验	(115)
25 Amylase and Urease Test	(117)

### 第五部分 病毒学实验

实验二十六 噬菌体的分离	(119)
26 Isolation of Bacteriophage	(121)
实验二十七 噬菌体的效价测定	(123)
27 Detection of Bacteriophage Titer	(125)
实验二十八 噬菌体一步生长曲线的测定	(127)
28 One-Step Growth Curve	(129)

## 第六部分 微生物遗传学实验

实验二十九 微生物的遗传与变异·····	(131)
29 Heredity and Variation of Microorganism ·····	(134)
实验三十 营养缺陷型菌株的诱变和筛选·····	(138)
30 Mutagenesis and Isolation of Auxotroph ·····	(141)
实验三十一 鼠伤寒沙门菌/微粒系统检测化学诱变剂的方法·····	(146)
31 Ames Test: A Bacterial Test System for Detecting Mutagens and Carcinogens ·····	(149)
实验三十二 抗药质粒接合传递实验·····	(154)
32 Bacterial Conjugation: The Transfer of Antibiotic-Resistant Plasmids ·····	(156)
实验三十三 抗药质粒 DNA 的分离及检测和细菌转化·····	(158)
33 Isolation and Characterization of Plasmid DNA and Transformation ·····	(161)
实验三十四 细菌转导(局限性转导)·····	(166)
34 Bacterial Transduction ·····	(169)

## 第七部分 免疫学实验

实验三十五 固有性免疫·····	(173)
35 Innate Immunity ·····	(176)
实验三十六 抗原与免疫血清的制备·····	(179)
36 Preparation of Antigen and Antiserum ·····	(181)
实验三十七 凝集反应·····	(184)
37 Agglutination Reactions ·····	(186)
实验三十八 沉淀反应·····	(188)
38 Precipitation Reactions ·····	(191)
实验三十九 酶联免疫吸附试验·····	(194)
39 Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay ·····	(196)

## 第八部分 药学微生物学实验技术

实验四十 土壤中抗生素产生菌的分离·····	(198)
40 Isolation of Antibiotic-Producing Actinomycetes From Soil ·····	(200)
实验四十一 药物的体外抗菌试验·····	(202)
41 Determination of Antimicrobial Activity ·····	(204)
实验四十二 抗生素效价测定·····	(206)

42 Biological Assay of Antibiotics .....	(209)
实验四十三 药物无菌检查法.....	(212)
43 Test for Sterility .....	(215)
实验四十四 微生物限度检查法.....	(217)
44 Microbial Quality of Pharmaceutical Preparations and Tests for Microbial Contamination .....	(224)
<b>附录</b> .....	(228)
I . 常用无菌玻璃仪器的准备和废品处理 .....	(228)
II . 教学用菌种 .....	(228)
III . 培养基 .....	(229)
IV . 染色液的配制 .....	(234)
V . 试剂及缓冲液配制 .....	(235)
<b>Appendix</b> .....	(236)
I . Sterilization of Glass Apparatus and Treatment of Waste .....	(236)
II . Microorganisms .....	(236)
III . Culture Media .....	(237)
IV . Staining Solutions .....	(243)
V . Solutions and Buffers .....	(245)
Words and Vocabulary .....	(245)
<b>参考文献</b> .....	(251)

# 第一部分 显微镜的构造和使用方法

微生物体积微小，必须用微米或纳米来计量。因此显微镜成为研究微生物形态结构的最基本工具。显微镜的种类较多，本实验主要介绍明视野显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜和电子显微镜。

## 实验一 明视野显微镜

### 【实验目的】

1. 熟悉明视野显微镜的结构和原理。
2. 掌握明视野显微镜的使用方法，尤其是油镜的使用方法。
3. 观察各种染色标本。

### 【实验原理】

#### 1. 明视野显微镜结构

明视野显微镜由机械部分和光学部分组成（图 1-1）。

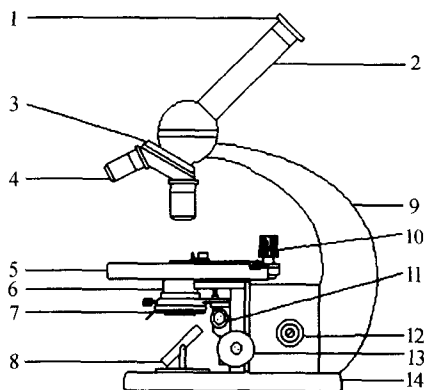


图 1-1 明视野显微镜示意图

1. 目镜； 2. 镜筒； 3. 镜头回转器； 4. 物镜； 5. 载物台； 6. 聚光器；  
7. 光圈； 8. 反光镜； 9. 镜臂； 10. 标本推动器； 11. 聚光器调节器；  
12. 细调节旋钮； 13. 粗调节旋钮； 14. 镜座

#### (1) 机械部分

**镜筒** 位于显微镜上方。上接目镜，下接转换器。镜筒有单筒和双筒两种，多为斜筒式。



镜臂 为弓形金属柱，支持镜筒。

镜头回转器 装于镜筒下端，用于安装物镜和转换物镜。

载物台 物镜下的平台，用以载放被检标本。中央有通光孔，供入射光通过。载物台上，以片夹固定标本，或以标本推动器将标本固定后，前后左右推动，找寻不同观察视野。

调节器 为调节焦距的装置，有粗调节器和细调节器两种。利用它们使镜筒或载物台上下移动，调节物镜与标本间距离，使物像更清晰。有的显微镜还有专司聚光器升降的调节器。

镜座 位于显微镜底部，支持全镜。

## (2) 光学部分

目镜 可将物镜所成实像进一步放大，但不增加分辨率。目镜上标有  $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$  等，各代表其放大倍数。

物镜 是显微镜中决定成像质量和分辨能力的重要部件，其作用是将标本放大。物镜上常标有放大倍数、数值口径等参数。物镜根据使用条件不同，一般可分为干燥物镜（包括低、高倍镜）和浸油物镜（ $100\times$ ）。

聚光器 位于载物台下方。其作用为将入射光聚集于标本之上。聚光器位置升降可影响视野的明亮度。

光圈 安装于聚光器下方。由十几张金属薄片组成，可通过放大和缩小调整透进光强弱，调节对比度。

光源 分为两种。一种为反光镜，可采集外来光线并送入聚光器。有平、凹两面之分。通常用平面镜，在照明条件较弱或用油镜时，采用凹面镜。另一种为安装在镜座内的内置光源，亮度可调。

## 2. 油镜的基本原理

微生物标本的检查，常用显微镜进行。其中细菌体积微小，以  $\mu\text{m}$  计，必须用油镜才能分辨清楚。

显微镜的分辨力，即其分辨两点之间最小距离 ( $R$ ) 的能力，由作用光波长 ( $\lambda$ ) 和物镜的数值口径 ( $N.A.$ ) 决定。

$$R = 0.61 \frac{\lambda}{N.A.}$$

明视野显微镜以可见光为光源，波长平均值固定在  $550\text{nm}$  左右。所以只能通过增加物镜的数值口径 ( $N.A.$ ) 来提高显微镜分辨力。 $N.A.$  表示由聚光镜而来的锥形光柱照射在观察标本上被物镜聚集的量。

$$N.A. = n \cdot \sin(\theta/2)$$

$\theta$  为镜口角 (图 1-2)，指通过标本的光线投射到物镜的角度。其理论限度在  $180^\circ$ ，一般最大角度为  $120^\circ$ ，所以  $\sin(\theta/2)$  总小于 1。 $n$  指物镜与标本间介质的折射率。干燥物镜所用介质为空气 ( $n \approx 1$ )，入射光通过标本玻璃 ( $n = 1.55$ ) 后，在空气中发生折射，部分光线散失。故  $N.A.$  不超过 1。而油镜以香柏油为介质 ( $n = 1.56$ ，与玻璃相近)，镜头工作时浸入油内，可消除光线通过玻璃与物

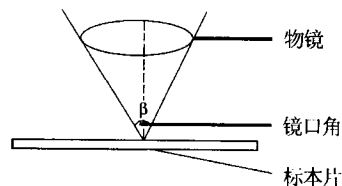


图 1-2 镜口角示意图