

高等学校教材

微生物学实验

(第三版)

沈 萍 范秀容 李广武 主编

高等教育出版社

高等学校教材

微生物学实验

(第三版)

主 编

沈 萍 范秀容 李广武

编写者 (按姓氏笔划为序)

方呈祥	卢振祖	安志东	沈 萍	李广武
何 方	陈向东	范秀容	郑从义	杨天权
林清华	唐 兵	曹军卫	彭珍荣	

高等教育出版社

内 容 提 要

《微生物学实验》第三版除继续保持第二版的编写特点和基本要求外,着重在如何反映基础课实验教材的先进性、启发性和适应性等方面作了初步的改革尝试;用现代生物科学的观点对原教材中的概念、名词和语言的运用等进行了审视和校正;在内容上删旧增新,与分子生物学接轨,与其他学科交叉。增加了细菌质粒的制备、转化、转导,细菌拟核的体内外观察,工程菌重组质粒的保藏,核酸的电镜制片等分子水平实验以及微生物学的快速、简易和自动化技术。对书中的部分插图进行了重新设计或更新。

此外,为了扩大学生的适应面,还增加了细菌致病力作用的检测、动物病毒毒力的测定、食用真菌的液体培养和固体栽培实验;免疫学方面的实验也进行了内容上的更新,并加强基本技能的训练。为了启发学生的创新和开拓精神,本书特别加强了每一个实验后思考题内容的基础性和启发性,并在实验操作的关键部分用黑体字显示出来,以确保实验的成功。

全书按类归纳成 17 个部分 76 个实验,书后附有详细的附录和参考书,供读者查阅和参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验/沈萍等主编. - 3 版. - 北京:高等教育出版社,1999.6 (2001 重印)

ISBN 7-04-007260-2

I. 微… II. 沈… III. 微生物-实验 IV. Q93-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 30952 号

出版发行 高等教育出版社

社 址 北京市东城区沙滩后街 55 号

电 话 010-64054588

网 址 <http://www.hep.com.cn>

邮政编码 100009

传 真 010-64014048

排 版 高等教育出版社照排中心

经 销 新华书店北京发行所

印 刷 高等教育出版社印刷厂

开 本 787×1092 1/16

印 张 15.25

字 数 378 000

版 次 1981 年 3 月第 1 版

1999 年 6 月第 3 版

印 次 2001 年 5 月第 4 次印刷

定 价 12.60 元

凡购买高等教育出版社图书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请在所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

第三版前言

微生物学实验技术和方法是微生物学建立和发展的基础,也曾为整个生命科学技术的发展做出过积极而重要的贡献。随着分子生物学的诞生及其技术的应用,各学科的交叉和渗透,极大地丰富了微生物学实验技术的内容,并将其推向一个新的发展阶段。而且微生物学实验技术和方法也已广泛地渗透到现代生命科学的各分支领域,不断发挥着它独特的作用,因此,“微生物学实验”是一门十分重要的基础课实验。我们曾分别在1980年和1989年出版了《微生物学实验》第一版和第二版,累计印数达37万多册(第二版为25.4万册),为我国高等院校的微生物学教学和科研以及其他从事微生物工作的科技工作者尽了我们一份力量。自第二版问世以来,至今已有九年了,为了适应学科的迅速发展和教学改革的要求,我们再次进行了第三版的修订工作,并得到了全国高校理科教学指导委员会和高等教育出版社的支持,列入“九五教材修订计划”。

第三版的编写除了继续保持第二版的写作特点和基本要求外,着重在如何反映基础课实验的先进性及对学生的启发性方面作了初步的改革尝试。

一、在注重基础性、可操作性的前提下突出先进性

《微生物学实验》是一本主要用于大学本科生的基础课实验教材,它的主要任务是使学生得到微生物学实验技术的基本操作和技能的训练,同时也要使他们初步了解或掌握先进的技术和方法,与迅速发展的学科前沿接轨。但实验教材不同于理论课教材,它是与实验条件紧密相关的,它必须具有很强的可操作性,否则就失去了实用价值。因此我们在编写第三版时,在如何反映该教材的先进性上采取了下列措施:

1. 用现代生命科学的观点审视原教材中概念的提法、名词的解释和语言的运用等。随着生命科学的迅速发展,新的名词不断出现,许多经典的概念也在发生变化,因此在编写过程中,我们尽力用现代的观点进行审视和统一,使其与现代生命科学的发展息息相通。

2. 在内容上删旧增新,与分子生物学接轨,与其他学科交叉。对原教材上比较陈旧而用得也很少的实验,如删除了细胞壁和质膜的观察、细菌菌落制片、暗视野显微镜观察等;增加了细菌质粒的制备、转化、转导等分子水平实验以及微生物学的快速、简易和自动化技术。同时对原来一些经典实验进行与现代水平打通的尝试。例如,将观察细胞核的经典的“富尔根氏核染色法”与现代的染色体DNA的凝胶电泳观察结合起来;在菌种保藏实验中,除介绍微生物的各种保藏方法外,增加了工程菌重组质粒的保藏;电镜制片中增加了核酸制片等;免疫学方面的实验也进行了内容上的更新,并加强基本技能的训练。

3. 处理好可操作性和先进性的关系。我们主要采取了三种方式:(1)对于那些本来源于微生物的分子生物学实验技术(如质粒制备、转化等),进行适量的详细介绍;(2)对于那些经典实验的改良技术酌情进行并列介绍;(3)由于实验条件所限,目前不能(或不必要)开设的实验,但具有开拓性、先进性的方法放在每一部分的综合性说明中简要介绍,以达到使学生了解的目的。同时介绍有关的文献便于学生进一步学习。

4. 对原书的插图进行了修改和更新,部分重新设计制作。

二、运用思考题加强教材的启发性、开拓性和应用性

如何在基础实验教材中做到既要对每一个实验进行严格要求,强调基本技能的训练,又要使学生的思想不受其束缚,启发他们的创新精神,敢于破旧立新,是我们在编写第三版的另一个指导思想。而每一个实验后面的思考题则是一个十分广阔的重要基地。我们通过下列不同类型的提问使学生在“做”和“想”中能达到举一反三,触类旁通。

1. 理解和复习性质的问题,主要是加强学生对基本技能和知识的消化和吸收。

2. 启发性和开拓性的问题,主要在启发学生思维,使学生敢于提出分析和解决问题的新思路和新途径。

3. 与实际应用相联系的问题,主要在于使学生在学习了基础性实验的基础上,能举一反三,用之于实践。

此外,在第三版中还增加了细菌致病力的检测、动物病毒毒力测定、食用真菌的液体培养和固体栽培等实验。主要目的在于扩大学生的适应面。

第三版是由十多位同志参加编写的,所写部分均为自己所熟悉的教学或科研内容,涉及面较广,可供各校根据具体条件酌情选做。但由于水平和时间有限,缺点和错误在所难免,请读者和同行专家提出宝贵意见。

编 者

1998.2.

第二版前言

《微生物学实验》第一版自 1980 年出版以来已有七八年了,在此期间,经过多次印刷,印数已达十余万册。它在微生物学的教学和稳定教学秩序方面起了积极的作用,但是也存在不少缺点,加上近年来微生物学技术发展迅速,因此我们进行了第二版的修订工作。

修订内容和特点如下:

1. 将繁多的实验按类归纳成 15 个部分,以示条理清楚,概念分明。每一部分冠以综合性说明,主要简单介绍该部分的内容,阐述其在整个微生物学工作中的作用等。再在每一部分选择有代表性的重点,列出实验,进行操作。

2. 继续着重微生物学实验的基本操作和技能的训练。

3. 实验内容做如下调整:

(1) 为了加强学生对微生物及其应用和无菌概念重要性的认识,以及对实验工具的质量要求和洗涤方法的了解,增加了“微生物学实验室常用的器皿”、“环境中的微生物”和“食品微生物学”等部分。

(2) 使一些领域的内容更加全面,例如在“显微镜的结构、性能和使用方法”部分增加了相差显微镜和电子显微镜;“微生物的纯培养”部分增加了厌氧培养;微生物的遗传方面增加了药物抗性菌的分离和细菌的接合作用等实验。

(3) 适当增加新技术的介绍,例如生化反应中的微量简易诊检系统;菌种保藏中的液氮冷冻保藏法;水的微生物学检查中增加了滤膜法等。

(4) 此外,在基本操作训练方面集中介绍了动物的几种不同途径的注射方法。

(5) 由于“环境中的微生物”包括了空气中微生物检查,故没有再单独设实验,此外还删去了“巴斯德效应”实验。

第二版的实验内容较多,有些内容由于实验条件和学时的限制,可作为学生日后进一步工作的参考。因此各校可根据具体条件酌情选做。

4. 第二版将实验报告分为实验结果与思考题两部分。实验结果尽量采用绘图和表格形式,并要求在表格内用简单符号和数字填写,以使用时规范化,便于学生记录与教师批改。

5. 增加了部分插图。

第二版主要由范秀容、李广武、沈萍同志编写,彭珍荣同志参加编写了部分实验。

插图除沿用第一版由陈宝联同志绘制的以外,其余大部分插图由熊定荣同志绘制,个别插图由刘启融同志绘制,在此一并致谢。

由于编者的水平有限,本版的缺点和错误在所难免,尚请各位同仁和读者提出宝贵意见。

编 者

1988.6

第一版前言

《微生物学实验》一书是根据 1977 年 10 月成都综合性大学生物类教材会议制定的大纲编写的。在编写过程中,为配合武汉大学、复旦大学编的《微生物学》教材,在内容上有所增加和修改。

本书共有实验 40 个,内容较多,其中包括与《微生物学》相配合、印证理论以及进行微生物实验所需的基本操作和技能的训练两大部分。各校可根据具体条件酌情选做。

本书为方便教学,每一实验基本上都按目的要求、基本原理、器材、操作步骤及结果与思考题等五个部分来编写的,各实验所用染料、培养基、溶液与悬液等的配制均列在附录内。

由于编者水平所限,在取材、实验方法和编排等方面肯定有不少缺点与错误,希望读者批评指正。

在编写过程中承武汉大学生物系微生物学教研室基础微生物学教学小组的大力支持,武汉大学生物系陈宝联同志绘制插图,在此一并表示感谢。

范秀容 沈萍

1980.7

责任编辑	邓捷
封面设计	于文燕
责任绘图	吴文信
版式设计	史新薇
责任校对	俞声佳
责任印制	韩刚

目 录

实验须知.....	(1)	实验二十三 微孔滤膜过滤除菌	(67)
I 微生物学实验室常用的器皿	(2)	VII 微生物的纯培养	(69)
II 环境中的微生物	(9)	实验二十四 微生物的分离与纯化	(69)
实验一 实验室环境和人体表面微生物的 检查	(9)	实验二十五 微生物的培养特征	(74)
III 显微镜的构造、性能和使用方法	(15)	实验二十六 厌氧微生物的培养	(77)
实验二 普通光学显微镜的使用	(15)	实验二十七 菌种保藏	(80)
实验三 相差显微镜	(18)	VIII 微生物数量的测定	(90)
实验四 电子显微镜样品的制备	(21)	实验二十八 显微镜直接计数法	(90)
IV 微生物的染色与形态结构的观察	(26)	实验二十九 平板菌落计数法	(92)
实验五 细菌的简单染色法	(26)	实验三十 光电比浊计数法	(95)
实验六 革兰氏染色法	(28)	实验三十一 大肠杆菌生长曲线的测定	(97)
实验七 细菌的芽孢染色法	(31)	IX 环境因素对微生物的影响	(100)
实验八 荚膜染色法	(33)	实验三十二 化学因素对微生物的影响	(100)
实验九 鞭毛染色法及活细菌运动性的 观察	(35)	实验三十三 氧对微生物的影响	(103)
实验十 微生物拟核的体内和体外染色 观察	(38)	实验三十四 温度对微生物的影响	(105)
实验十一 放线菌形态的观察	(40)	实验三十五 渗透压对微生物的影响	(106)
实验十二 酵母菌的形态观察及死活细胞 的鉴别	(42)	实验三十六 pH对微生物的影响	(108)
实验十三 酵母菌子囊孢子的观察	(43)	实验三十七 生物因素对微生物的影响	(109)
实验十四 霉菌的形态观察	(44)	实验三十八 抗生素的效价测定	(111)
实验十五 微生物大小的测定	(46)	实验三十九 用生长谱法测定微生物的 营养要求	(114)
V 培养基的制备	(49)	X 微生物的生理生化反应	(116)
实验十六 牛肉膏蛋白胨培养基的制备	(50)	实验四十 大分子物质的水解试验	(116)
实验十七 高氏 I 号培养基的制备	(54)	实验四十一 糖发酵试验	(119)
实验十八 马丁氏培养基的制备	(56)	实验四十二 IMViC 与硫化氢试验	(120)
实验十九 血液琼脂培养基的制备	(57)	XI 微生物遗传	(124)
VI 消毒与灭菌	(59)	实验四十三 微生物的诱发突变	(124)
实验二十 干热灭菌	(62)	实验四十四 抗药性突变株的分离	(128)
实验二十一 高压蒸气灭菌	(63)	实验四十五 细菌的接合作用	(130)
实验二十二 紫外线灭菌	(66)	实验四十六 P1 噬菌体普遍性转导	(132)
		实验四十七 细菌质粒 DNA 的小量制备	(134)
		实验四十八 质粒 DNA 的转化	(138)

XII 病毒	(141)	实验六十七 水中细菌总数的测定	(182)
实验四十九 从自然环境中分离和纯化噬菌体	(141)	实验六十八 多管发酵法测定水中大肠菌群	(184)
实验五十 噬菌体效价的测定	(143)	实验六十九 滤膜法测定水中大肠菌群 ...	(188)
实验五十一 动物病毒的鸡胚培养	(146)	XVI 食品微生物	(191)
实验五十二 昆虫病毒的培养	(149)	实验七十 牛乳中细菌的检查	(191)
实验五十三 动物病毒毒力测定	(151)	实验七十一 牛乳在自然发酵与酸败过程中细菌的生态演变	(194)
XIII 免疫学技术	(154)	实验七十二 食用真菌的液体培养和固体栽培	(197)
实验五十四 动物实验技术 一、动物的注射方法	(154)	XVII 微生物学的快速、简易和自动化技术	(200)
实验五十五 动物实验技术 二、血液采集方法	(157)	实验七十三 细菌的裂解气相色谱鉴定 ...	(200)
实验五十六 抗原与免疫血清的制备	(160)	实验七十四 微生物传感器测定 BOD ...	(202)
实验五十七 吞噬作用	(162)	实验七十五 多项微量简易鉴别技术	(204)
实验五十八 外周血单个核细胞的分离 ...	(163)	实验七十六 酶联免疫吸附试验 (ELISA)	(207)
实验五十九 凝集反应	(165)	附录 I 染色液的配制	(210)
实验六十 环状沉淀反应	(168)	附录 II 培养基的配制	(214)
实验六十一 双向免疫扩散试验	(169)	附录 III 试剂和溶液的配制	(223)
实验六十二 免疫电泳	(172)	附录 IV 常用的微生物名称	(228)
XIV 细菌致病力的检测	(174)	附录 V 常用的计量单位	(230)
实验六十三 血浆凝固酶试验	(174)	附录 VI 酚的重蒸馏与饱和	(231)
实验六十四 荚膜的致病作用	(176)	附录 VII 洗涤液的配制与使用	(232)
实验六十五 内毒素测定——鲎试验	(177)	主要参考书	(233)
实验六十六 外毒素毒性试验	(179)		
XV 水的细菌学检查	(181)		

实验须知

普通微生物学实验课的目的是:训练学生掌握微生物学最基本的操作技能;了解微生物学的基本知识;加深理解课堂讲授的某些微生物学理论。同时,通过实验;培养学生观察、思考、分析问题、解决问题和提出问题的能力;养成实事求是、严肃认真的科学态度,以及敢于创新的开拓精神;树立勤俭节约、爱护公物的良好作风。

为了上好微生物学实验课,并保证安全,特提出如下注意事项:

1. 每次实验前必须对实验内容进行充分预习,以了解实验的目的、原理和方法,做到心中有数,思路清楚。
2. 认真、及时做好实验记录,对于当时不能得到结果而需要连续观察的实验,则需记下每次观察的现象和结果,以便分析。
3. 实验室内应保持整洁,勿高声谈话和随便走动,保持室内安静。
4. 实验时小心仔细,全部操作应严格按操作规程进行,万一遇有盛菌试管或瓶不慎打破、皮肤破伤或菌液吸入口中等意外情况发生时,应立即报告指导教师,及时处理,切勿隐瞒。
5. 实验过程中,切勿使乙醇、乙醚、丙酮等易燃药品接近火焰。如遇火险,应先关掉火源,再用湿布或沙土掩盖灭火。必要时用灭火器。
6. 使用显微镜或其他贵重仪器时,要求细心操作,特别爱护。对消耗材料和药品等要力求节约,用毕后仍放回原处。
7. 每次实验完毕后,必须把所用仪器抹净放妥,将实验室收拾整齐,擦净桌面,如有菌液污染桌面或其他地方时,可用3%来苏尔液或5%石炭酸液覆盖0.5h后擦去,如系芽孢杆菌,应适当延长消毒时间。凡带菌之工具(如吸管、玻璃刮棒等)在洗涤前须浸泡在3%来苏尔液中进行消毒。
8. 每次实验需进行培养的材料,应标明自己的组别及处理方法,放于教师指定的地点进行培养。实验室中的菌种和物品等,未经教师许可,不得携出室外。
9. 每次实验的结果,应以实事求是的科学态度填入报告表格中,力求简明准确,认真回答思考题,并及时汇交教师批阅。
10. 离实验室前将手洗净,注意关闭火、煤气、门窗、灯等。

I

微生物学实验室常用的器皿

微生物学实验所用的器皿,大多要进行消毒、灭菌和用来培养微生物,因此对其质量、洗涤和包装方法均有一定的要求。玻璃器皿一般要求硬质玻璃,才能承受高温和短暂烧灼而不致破裂;玻璃器皿的游离碱含量要少,否则会影响培养基的酸碱度;玻璃器皿的形状和包装方法要求能防止污染杂菌为准;洗涤玻璃器皿的方法不当也会影响实验的结果。目前国外微生物学实验室中,有些玻璃器皿(如培养皿、吸管等)已被一次性塑料制品所代替,但玻璃器皿仍是重要的实验室用具。本节将主要对玻璃器皿做详细介绍,同时也对接种或转移微生物的工具等做相应地说明。

一、器皿的种类、要求与应用

1. 试管 (test tube)

微生物学实验室所用玻璃试管,其管壁必须比化学实验室用的厚些,这样在塞棉花塞时,管口才不会破损。试管的形状要求没有翻口(图 I-1, A),不然,微生物容易从棉塞与管口的缝隙间进入试管而造成污染,也不便于盖试管帽。有的实验要求尽量减低蒸发试管内的水分,则需要使用螺口试管,盖以螺口胶木帽或塑料帽(图 I-1, B, C)。培养细菌一般用金属(例如铝)帽或棉塞(图 I-1, D, E)。也有的用泡膜塑料塞。

试管的大小可根据用途的不同,准备下列三种型号:

(1) 大试管(约 $18\text{ mm} \times 180\text{ mm}$),可盛倒平板用的培养基;亦可作制备琼脂斜面用(需要大量菌体时用)和盛液体培养基用于微生物的振荡培养;(2) 中试管(约 $13 \sim 15\text{ mm} \times 100 \sim 150\text{ mm}$),盛液体培养基培养细菌或做琼脂斜面用,亦可用于细菌、病毒等的稀释和血清学试验;(3) 小试管($10 \sim 12\text{ mm} \times 100\text{ mm}$),一般用于糖发酵或血清学试验,和其他需要节省材料的试验。

2. 德汉氏小管 (Durham tube)

观察细菌在糖发酵培养基内产气情况时,一般在小试管内再套一倒置的小套管(约 $6\text{ mm} \times 36\text{ mm}$), (图 I-2, A)。此小套管即为德汉氏小管,又称发酵小套管。

3. 小塑料离心管, 又称 Eppendorf 管(图 I-2, B)。有 1.5 ml 和 0.5 ml 二种型号,主要用于微生物分子生物学

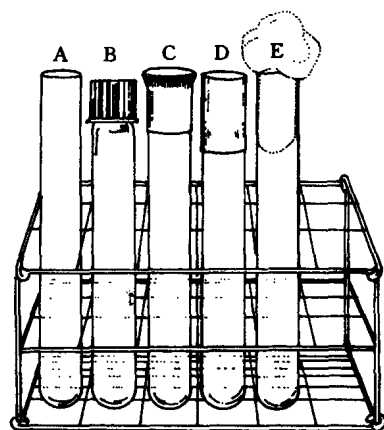


图 I-1 试管与试管帽(塞)

A. 细菌学试管; B. 螺帽; C. 塑料帽;
D. 金属帽; E. 棉塞

实验中,小量菌体的离心、DNA(或RNA)分子的检测、提取等。

4. 吸管 (pipette)

(1) 玻璃吸管 (glass pipette) 和吸气器 (aspirator)

① 玻璃吸管

微生物学实验室一般要准备 1、5、10 ml 的刻度玻璃吸管。这种吸管一般有二种类型,一种是称之为血清学吸管 (serological pipette), 这种吸管刻度指示的容量包括管尖的液体体积,使用时要将所吸液体吹尽 (图 I-3, A); 另一种类型称之为测量吸管 (measuring pipette), 这种吸管刻度指示的容量不包括管尖的液体体积,使用时不能将所吸液体吹尽,而是到达所设计的刻度为止 (图 I-3, B)。

除有刻度的吸管外,有时需用不计量的毛细吸管,又称滴管 (图 I-3, C) 来吸取动物体液和离心上清液以及滴加少量抗原、抗体等。

② 吸气器

在使用刻度玻璃吸管时,一般可采用几种不同的吸气器。图 I-4 中的三种类型目前都有市售。使用时,将吸管插入吸气器下端,通过旋动转盘键 (图 I-4, A 中的 a), 或按压图 I-4, B 中的不同部分 (b, c, s), 或按图 I-4, C 中的 d, e 键来吸取或释放液体。如果用嘴吸,则一定要在吸管上端塞有棉花。

用刻度吸管量取液体的体积时,以液体的凹面为准 (图 I-3, D)。

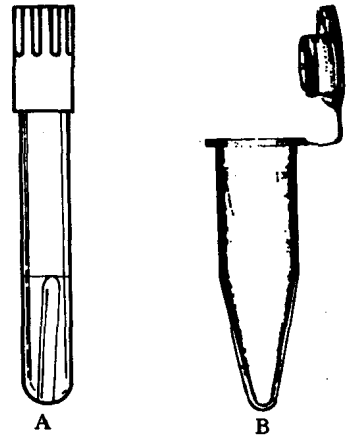


图 I-2 德汉氏小管 (A) 和小塑料离心管 (B)

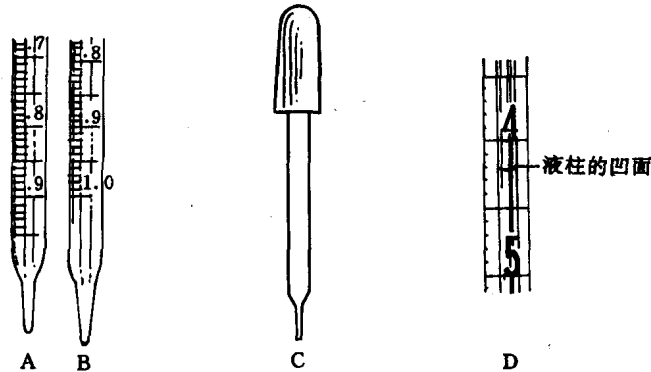


图 I-3 玻璃吸管

A. 血清学吸管; B. 测量吸管; C. 滴管; D. 正确量取液体体积

(2) 微量吸管 (micropipette) 微量吸管又称微量加样器,主要用来吸取微量液体,规格型号很多,图 I-5 表示其中的一种型号。* 每个微量吸管在一定范围内可调节几个体积,并都标有使用范围,例如: 0.5~10 μ l, 2~10 μ l, 10~100 μ l, 100~1 000 μ l 等。使用时: ① 将合适大小的塑料嘴 (tip) 牢固地套在微量吸管的下端; ② 旋动调节键 (图 I-5, A), 使数字显示器上 (图 I-5, B) 显示出所需要吸取的体积; ③ 用大拇指按下调节键 (图 I-5, C), 并将吸嘴插入液体中; ④ 缓慢放松

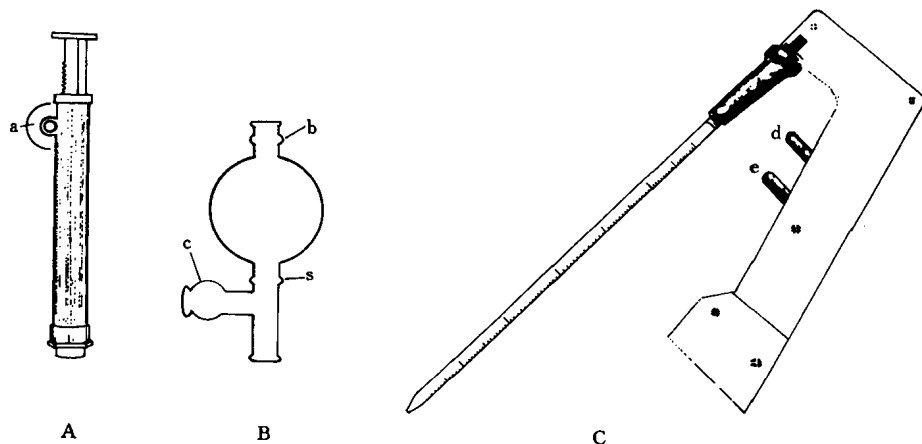


图 1-4 吸气器

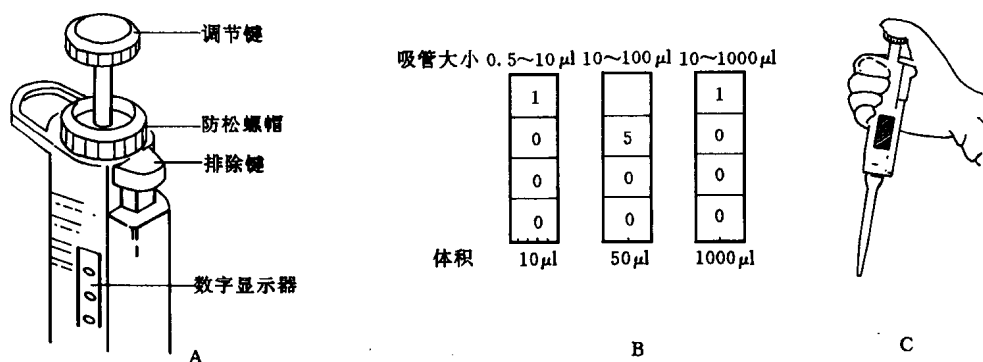


图 1-5 微量吸管

A. 结构; B. 数字显示器; C. 按调节键

调节键,使液体进入吸嘴,并将其移至接收试管中;⑤按下调节键,使液体进入接收管;⑥按下排除键,以去掉用过的空吸嘴或直接用手取下吸嘴。

除了可调的微量吸管外,也有不可调的,即一个吸管只固定一种体积。因应用范围受到限制,所以一般用得较少。

5. 培养皿 (petri dish)

常用的培养皿 (图 I-6),皿底直径 90 mm,高 15 mm,皿底皿盖均为玻璃制成,但有特殊需要时,可使用陶器皿盖,因其能吸收水分,使培养基表面干燥。例如测定抗生素生物效价时,培养皿不能倒置培养,则用陶器皿盖为好。

在培养皿内倒入适量固体培养基制成平板,可用于分离、纯化、鉴定菌种,活菌计数以及测定抗生素、噬菌体的效价等。

6. 三角烧瓶 (erlenmeyer flask) 与烧杯 (beaker)

三角烧瓶有 100、250、500 和 1 000 ml 等不同的大小,常用来盛无菌水、培养基和振荡培养微生物等。常用的烧杯有 50、100、250、500 和 1 000 ml 等,用来配制培养基与各种溶液等。

7. 注射器 (injector)

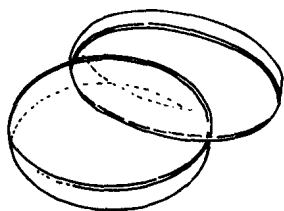


图 I-6 培养皿

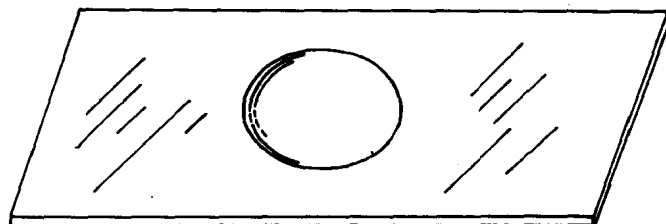


图 I-7 凹玻片

一般有 1、2、5、10、20、25 ml 不同容量的注射器。注射抗原于动物体内可根据需要使用 1、2 和 5 ml 的；抽取动物心脏血或绵羊静脉血可采用 10、20、50 ml 的。

微量注射器有 10、20、50、100 μ l 等不同的型号。一般在免疫学或纸层析、电泳等实验中滴加微量样品时应用。

8. 载玻片 (slide) 与盖玻片 (coverslip)

普通载玻片大小为 75 mm $\times$ 25 mm，用于微生物涂片、染色、做形态观察等。盖玻片为 18 mm $\times$ 18 mm。

凹玻片是在一块较厚玻片的当中有一圆形凹窝 (图 I-7)，做悬滴观察活细菌以及微室培养用。

9. 双层瓶 (double bottle)

由内外两个玻璃瓶组成 (图 I-8)，内层小锥形瓶放香柏油，供油镜头观察微生物时使用，外层瓶盛放二甲苯，用以擦净油镜头。

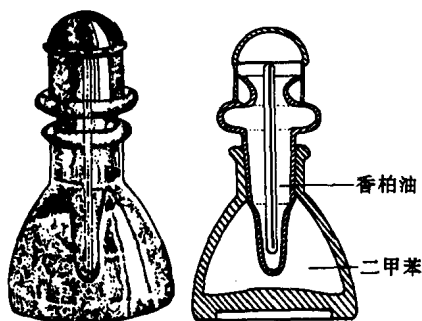


图 I-8 双层瓶



图 I-9 滴瓶

10. 滴瓶 (dropper bottle)

用来装各种染料、生理盐水等 (图 I-9)。

11. 接种工具

接种工具有接种环 (inoculating loop)、接种针 (inoculating needle)、接种钩 (inoculating hook)、接种铲 (inoculating shovel)、玻璃涂布器 (glass spreader) 等 (图 I-10)。制造环、针、钩、铲的金属可用铂或镍，原则是软硬适度，能经受火焰反复烧灼，又易冷却。接种细菌和酵母菌用接种环和接种针，其铂丝或镍丝的直径以 0.5 mm 为适当，环的内径约 2~4 mm，环面应平整。

图 I-11 表示一个简易地制作接种环的方法。接种某些不易和培养基分离的放线菌和真菌，有时用接种钩或接种铲，其丝的直径要粗一些，约 1 mm。用涂布法在琼脂平板上分离单个菌落

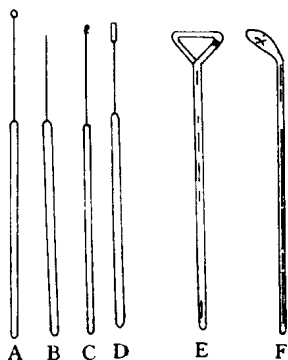


图 1-10 接种工具

A. 接种环; B. 接种针; C. 接种钩;
D. 接种铲; E. F. 玻璃涂布器

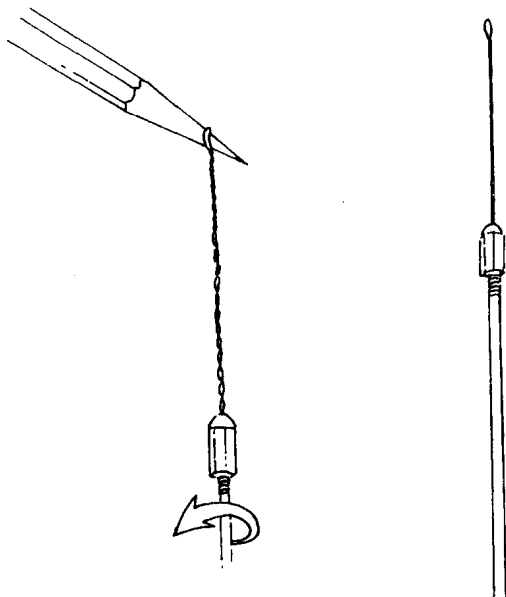


图 1-11 制作接种环的一种简易方法

时需用玻璃涂布器,是将玻棒弯曲(图 1-12)或将玻棒一端烧红后压扁而成。

二、玻璃器皿的清洗方法

清洁的玻璃器皿是实验得到正确结果的先决条件,因此,玻璃器皿的清洗是实验前的一项重要准备工作。清洗方法根据实验目的、器皿的种类、所盛的物品、洗涤剂的类别和沾污程度等的不同而有所不同。现分述如下:

1. 新玻璃器皿的洗涤方法

新购置的玻璃器皿含游离碱较多,应在酸溶液内先浸泡数小时。酸溶液一般用 2% 的盐酸或洗涤液(见附录 VII)。浸泡后用自来水冲洗干净。

2. 使用过的玻璃器皿的洗涤方法

(1) 试管、培养皿、三角烧瓶、烧杯等可用瓶刷或海绵沾上肥皂或洗衣粉或去污粉等洗涤剂刷洗,然后用自来水充分冲洗干净。热的肥皂水去污能力更强,可有效地洗去器皿上的油污。洗衣粉和去污粉较难冲洗干净而常在器壁上附有一层微小粒子,故要用水多次甚至 10 次以上充分冲洗,或可用稀盐酸摇洗一次,再用水冲洗,然后倒置于铁丝框内或有空心格子的木架上,在室内晾干。急用时可盛于框内或搪瓷盘上,放烘箱内烘干。

玻璃器皿经洗涤后,若内壁的水均匀分布成一薄层,表示油垢完全洗净,若挂有水珠,则还需用洗涤液浸泡数小时,然后再用自来水充分冲洗。

装有固体培养基的器皿应先将其刮去,然后洗涤。带菌的器皿在洗涤前先浸在 2% 煤酚皂溶液(来苏尔)或 0.25% 新洁尔灭消毒液内 24 h 或煮沸 0.5 h,再用上法洗涤。带病原菌的培养物应

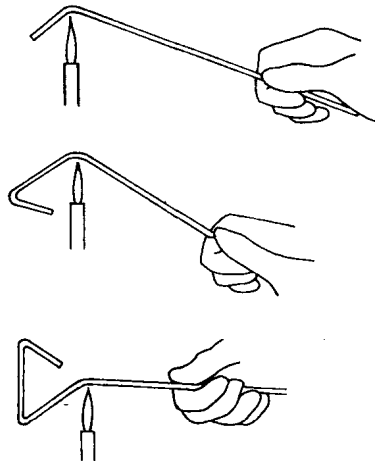


图 1-12 玻璃涂棒的制作

先行高压蒸汽灭菌,然后将培养物倒去,再进行洗涤。

盛放一般培养基用的器皿经上法洗涤后,即可使用,若需精确配制化学药品,或做科研用的精确实验,要求自来水冲洗干净后,再用蒸馏水淋洗三次,晾干或烘干后备用。

(2) 玻璃吸管 吸过血液、血清、糖溶液或染料溶液等的玻璃吸管(包括毛细吸管),使用后应立即投入盛有自来水的量筒或标本瓶内(量筒或标本瓶底部应垫以脱脂棉花,否则吸管投入时容易破损),免得干燥后难以冲洗干净,待实验完毕,再集中冲洗。若吸管顶部塞有棉花,则冲洗前先将吸管尖端与装在水龙头上的橡皮管连接,用水将棉花冲出,然后再装入吸管自动洗涤器内冲洗,没有吸管自动洗涤器的实验室可用冲出棉花的方法多冲洗片刻。必要时再用蒸馏水淋洗。洗净后,放搪瓷盘中晾干,若要加速干燥,可放烘箱内烘干。

吸过含有微生物培养物的吸管亦应立即投入盛有 2% 煤酚皂溶液或 0.25% 新洁尔灭消毒液的量筒或标本瓶内,24 h 后方可取出冲洗。

吸管的内壁如果有油垢,同样应先在洗涤液内浸泡数小时,然后再行冲洗。

(3) 载玻片与盖玻片 用过的载玻片与盖玻片如滴有香柏油,要先用皱纹纸擦去或浸在二甲苯内摇晃几次,使油垢溶解,再在肥皂水中煮沸 5~10 min,用软布或脱脂棉花擦试,立即用自来水冲洗,然后在稀洗涤液中浸泡 0.5~2 h,自来水冲去洗涤液,最后用蒸馏水换洗数次,待干后浸于 95% 乙醇中保存备用。使用时在火焰上烧去乙醇。用此法洗涤和保存的载玻片和盖玻片清洁透亮,没有水珠。

检查过活菌的载玻片或盖玻片应先在 2% 煤酚皂溶液或 0.25% 新洁尔灭溶液中浸泡 24 h,然后按上述洗涤与保存。

三、空玻璃器皿的包装

1. 培养皿的包装

培养皿常用旧报纸密密包紧,一般以 5~8 套培养皿作一包,少于 5 套工作量太大,多于 8 套不易操作。包好后行干热或湿热灭菌。如将培养皿放入金属(不锈钢)筒内进行干热灭菌,则不必用纸包,金属筒有一圆筒形的带盖外筒,里面放一装培养皿的带底框架(图 I-13),此框架可自圆筒内提出,以便装取培养皿。

2. 吸管的包装

准备好干燥的吸管,在距其粗头顶端约 0.5 cm 处,塞一小段约 1.5 cm 长的棉花,以免使用时将杂菌吹入其中,或不慎将微生物吸出管外。棉花要塞得松紧恰当(过紧,吹吸液体太费力;过松,吹气时棉花会下滑),然后分别将每支吸管尖端斜放在旧报纸条的近左端,与报纸约呈 45°角(图 I-14),并将左端多余的一段纸覆折在吸管上,再将整根吸管卷入报纸,右端多余的报纸打一小结。如此包好的很多吸管可再用一张大报纸包好,进行干热灭菌。

如果有装吸管的铜或不锈钢筒(图 I-15),亦可将分别包好的吸管一起装入筒内,进行灭菌;若预计一筒灭菌的吸管可一次用完,亦可不用报纸包而直接装入筒内灭菌,但要

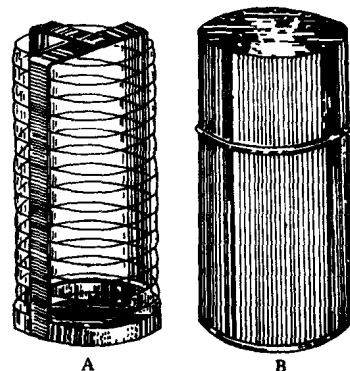


图 I-13 装培养皿的金属筒
A. 内部框架; B. 带盖外筒