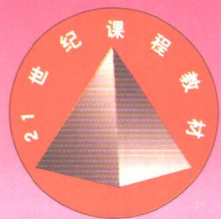


21 世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

全国高等医药院校辅助教材 ● 供《医学微生物学》学习参考用



医学微生物学实验指导

● 主编 刘水平 邬国军

 世界图书出版公司

21 世 纪 课 程 教 材

全 国 高 等 医 药 院 校 辅 助 教 材
供基础、预防、临床、口腔医学类专业

医学微生物学

实验指导

主编 刘水平 邬国军

世界图书出版公司

西安 北京 上海 广州

《医学微生物学实验指导》

主 编

刘水平 邬国军

副主编

夏忠弟 陈利玉 姚梦辉

主 审

陈淑贞 舒明星

编 者

(以姓氏笔画为序)

王莉莉 刘水平 邬国军 陈淑贞 陈利玉
陈 华* 余俊龙 邹明祥 罗映辉 姚梦辉
夏忠弟 舒明星 戴 橄

* 中南大学湘雅医学院长沙三临床学院

前 言

医学微生物学是一门实验学科，其基本技术已广泛地渗透到其他各医学学科。医学微生物实验课是医学生的必修课程之一。

为适应学科的发展和医学模式的转变，加强对学生的三基训练，我们在长期的医学微生物学教学经验积累和我校自编教材《医学微生物学实验指导》的基础上，参阅国内外出版物，编写并出版此书。此书力图在介绍基本实验技术的基础上突出新颖和实用两大特点：一方面，尽量将医学微生物的新技术、新方法介绍给大家；另一方面，又涵盖了医学微生物学诸领域。因此，该书既可作为高等医药院校医学微生物学实验课教材，又可作为临床微生物学及临床免疫学检验工作者的操作指南和参考用书。

本书分为7篇40章，共165个实验，在使用过程中，各院校可根据学生层次、教学目的、实验条件等确定教学内容。

本书编写者均为中南大学湘雅医学院长期从事医学微生物学教学和实验技术研究的教师。在编写和出版的过程中，得到了中南大学教务部门和世界图书出版西安公司的大力支持、帮助和合作，在此，我们表示衷心的感谢。

本书的编写在许多方面都是新的尝试，限于编者的水平和能力，不妥之处，敬请广大同行和读者批评指正。

中南大学湘雅医学院

刘水平 邬国军

2002年4月

微生物学实验室规则

医学微生物学实验的对象大多为病原微生物，具有传染性。因此，要求进入实验室后必须严格遵守以下实验室规则：

一、进入实验室应穿白大衣，离室时脱下，反折放回原处，不必要的物品不得带入实验室，必须带入的书籍和文具等应放在指定的非操作区，以免受到污染。无菌操作时必须戴口罩，并不得开电风扇。

二、实验室内禁止饮食、抽烟，不得高声谈笑或随便走动。

三、各种实验物品应按指定地点存放，用过的器材必须放入消毒缸内，禁止随意放于桌上及冲入水槽。

四、需送温箱培养的物品，应做好标记后送到指定地点。

五、实验过程中发生差错或意外事故时，禁止隐瞒或自作主张不按规定处理，应立即报告老师进行正确的处理。如有传染性的材料污染桌面、地面等，应立即用0.2%~0.5%“84”消毒液浸泡污染部位，作用5~10min后方可抹去。如手被活菌污染也应使用上述消毒液浸泡5~10min后，再以自来水反复冲洗干净。

六、爱护室内仪器设备，严格按操作规则使用。节约使用实验材料，不慎损坏了器材等，应主动报告老师进行处理。

七、实验完毕，应物归原处并将桌面整理清洁，实验室打扫干净。最后以0.2%~0.5%“84”消毒液浸泡手5min，洗净后方可离开实验室。

目 录

第一篇 微生物学实验基本技术

第一章 常用仪器及无菌室简介 (3)

实验 1 常用仪器及无菌室简介 (3)

一、灭菌器 (3)

二、滤菌器 (5)

三、恒温箱(温箱) (6)

四、冰箱 (6)

五、液氮罐 (6)

六、恒温水浴箱(水浴箱) (6)

七、厌氧培养箱 (7)

八、二氧化碳培养箱 (8)

九、离心机 (8)

十、普通光学显微镜(显微镜) (9)

十一、暗视野显微镜 (10)

十二、荧光显微镜 (10)

十三、医用净化工作台(超净工作台) (11)

十四、无菌室 (11)

十五、微量可调移液器 (11)

十六、PCR 仪 (12)

十七、电泳仪和电泳槽 (12)

十八、紫外透射反射仪 (13)

第二章 实验室常用器材的处理与消毒灭菌 (14)

实验 2 常用器材的处理与消毒灭菌 (14)

一、常用玻璃器材的处理方法 (14)

二、橡胶类制品的处理方法 (14)

三、金属器械的处理法 (15)

四、塑料及有机玻璃器械的处理法 (15)

五、无菌室及其他污染物品的处理法 (15)

六、常用器材的包装及灭菌 (16)

第三章 常用细菌的染色技术 (17)

实验 3 细菌涂片的制作 (17)

实验 4 细菌染色的基本步骤 (17)

实验 5 美蓝染色法 (18)

实验 6 革兰染色法 (18)

实验 7 抗酸染色法 (19)

实验 8 金胺染色法 (20)

实验 9 奈瑟染色法 (20)

实验 10 细菌鞭毛染色法 (21)

实验 11 荚膜染色法 (21)

实验 12 芽胞染色法 (21)

实验 13 细菌核质染色法 (22)

实验 14 细菌细胞壁染色法 (22)

实验 15 螺旋体改良镀银染色法 (22)

第四章 细菌形态与结构的观察 (24)

实验 16 细菌基本形态的观察 (24)

实验 17 细菌基本结构的观察 (24)

实验 18 细菌特殊结构的观察 (24)

第五章 细菌的人工培养法 (25)

实验 19 培养基的制备 (25)

实验 20 细菌接种技术 (25)

一、接种器具 (25)

二、平板划线接种法 (26)

三、斜面培养基接种法 (26)

四、液体培养基接种法 (26)

五、半固体培养基接种法 (27)

实验 21 细菌的培养技术 (28)

一、一般培养法 (28)

二、二氧化碳培养法 (28)

三、厌氧培养法 (28)

实验 22 细菌的生长情况观察 (29)

一、液体培养基中生长情况观察 (29)

二、半固体培养基中生长情况观察 (29)

三、琼脂平板中生长情况观察 (29)

第六章 细菌生化鉴定法 (30)

实验 23 单糖发酵试验 (30)

实验 24 IMViC 实验 (30)

一、靛基质试验 (I) (30)

二、甲基红试验 (M) (31)

三、VP (Voges - Proskauer) 试验 (Vi) (31)

四、枸橼酸盐 (Citrate) 利用试验 (C) (32)

实验 25 硫化氢试验 (32)

实验 26 脲酶试验 (32)

实验 27 数字编码鉴定法	(33)	实验 47 肠杆菌科细菌的形态及染色性观察	… (59)
第七章 细菌血清学试验	(34)	实验 48 肠杆菌科细菌的培养特性	… (59)
实验 28 凝集试验	(34)	实验 49 粪便标本的细菌学检查	… (59)
一、玻片法凝集试验	(34)	实验 50 尿标本的定量培养法	… (61)
二、试管法凝集试验	(35)	实验 51 细菌内毒素的检测(鲎试验)	… (62)
三、塑料板法肥达试验	(36)	第十二章 厌氧性细菌	… (63)
四、SPA 协同凝集试验	(36)	实验 52 厌氧性细菌的形态及染色性观察	… (63)
实验 29 沉淀试验(毛细管法)	(37)	实验 53 厌氧性细菌的培养特性观察	… (63)
实验 30 荚膜肿胀试验	(38)	实验 54 产气荚膜梭菌接种牛乳培养基、葡萄糖 高层琼脂方法	… (64)
第八章 理化及生物因素对细菌的影响	(39)	实验 55 产气荚膜梭菌的动物试验	… (64)
实验 31 紫外线对空气中微生物的杀灭作用	… (39)	第十三章 棒状杆菌属	… (65)
实验 32 煮沸对微生物的影响	… (39)	实验 56 棒状杆菌属的形态及染色性观察	… (65)
实验 33 络合碘对皮肤的消毒作用	… (39)	实验 57 疑似白喉患者咽拭子的细菌学检查	… (65)
实验 34 高压蒸气灭菌法的灭菌效果	… (40)	实验 58 白喉杆菌毒力试验	… (66)
实验 35 常用消毒剂的种类、用法和用途	… (40)	一、琼脂平板毒力试验(Elek 平板毒力试验)	… (66)
实验 36 噬菌体的特异性试验	… (40)	二、动物试验	… (66)
一、痢疾杆菌噬菌体特异性试验	… (40)	第十四章 分枝杆菌属及需氧性放线菌	… (67)
二、金黄色葡萄球菌噬菌体特异性试验	… (41)	实验 59 分枝杆菌属的形态及染色性观察	… (67)
实验 37 细菌对抗菌药物的敏感性试验	… (42)	实验 60 结核杆菌的培养特性观察及与非结核 分枝杆菌的区别	… (68)
一、纸片扩散法	… (42)	实验 61 结核病人痰标本抗酸染色	… (68)
二、稀释法	… (44)	实验 62 ELISA 技术检测结核抗体 - IgM	… (69)
三、E - test 法药敏试验	… (45)	实验 63 ELISA 技术检测结核抗体 - IgG	… (70)
第九章 细菌的遗传与变异	(46)	实验 64 诺卡菌属	… (71)
实验 38 细菌变异现象的观察	… (46)	第十五章 需氧芽胞杆菌	… (72)
一、光滑型与粗糙型菌落变异	… (46)	实验 65 炭疽杆菌与枯草杆菌的形态及染色性 观察	… (72)
二、毒力变异	… (46)	实验 66 炭疽杆菌与枯草杆菌的培养特性观察	… (72)
三、鞭毛变异	… (46)	实验 67 炭疽杆菌串珠试验	… (72)
四、细菌 L 型变异	… (46)	实验 68 蜡样芽胞杆菌食物中毒的细菌学检查	… (73)
实验 39 R 质粒传递试验	… (47)	第十六章 霍乱弧菌、副溶血弧菌	… (75)
实验 40 质粒 DNA 转化试验	… (48)	实验 69 霍乱弧菌的鉴定	… (75)
		实验 70 副溶血性弧菌的鉴定	… (76)
第二篇 临床常见病原菌的培养与鉴定		第十七章 弯曲菌属、幽门螺杆菌、军团菌属	… (79)
第十章 球 菌	… (53)	实验 71 空肠弯曲菌的鉴定	… (79)
实验 41 常见球菌的形态及染色性观察	… (53)	实验 72 幽门螺杆菌的鉴定	… (80)
实验 42 常见球菌的培养特性观察	… (53)	实验 73 军团菌的鉴定	… (81)
实验 43 血标本的细菌学检查	… (53)	实验 74 ELISA 技术检测幽门螺杆菌 IgM	… (83)
实验 44 β - 内酰胺酶的检测	… (55)	第十八章 微生物自动分析	… (84)
一、酸度法	… (55)	实验 75 微生物自动分析的原理	… (84)
二、碘量法	… (56)	一、自动血培养检测及分析系统的工作原理	… (84)
实验 45 抗链球菌溶素“O”的检测	… (56)	二、细菌自动鉴定及药敏系统	… (84)
一、ASO 的溶血法检测	… (56)	实验 76 大肠杆菌的自动分析仪分析	… (85)
二、抗链球菌溶素“O”胶乳法测定	… (57)		
实验 46 荧光抗体染色检测淋球菌	… (57)		
第十一章 肠杆菌科细菌	… (59)		

第十九章 螺旋体(88)	实验 101 病毒的组织培养法.....(117)
实验 77 病原性螺旋体的形态及染色性观察(88)	一、细胞培养法.....(117)
实验 78 钩体的动力检查——压滴法(88)	二、病毒接种法及细胞病变观察.....(118)
实验 79 钩体的显微镜凝集(显凝)试验(88)	第二十六章 病毒数量与感染性的测定(119)
实验 80 梅毒螺旋体血清学试验(89)	实验 102 蚀斑试验.....(119)
实验 81 伯氏螺旋体的血清学试验(91)	实验 103 TCID ₅₀ 测定.....(119)
第二十章 支原体(92)	第二十七章 呼吸道病毒(121)
实验 82 肺炎支原体形态及菌落观察(92)	实验 104 流感病毒的分离与鉴定.....(121)
实验 83 肺炎支原体冷凝集试验(92)	实验 105 ELISA 技术检测流感病毒 IgM.....(123)
实验 84 肺炎支原体 IgM 检测(93)	实验 106 ELISA 技术检测腮腺炎病毒 IgM.....(124)
实验 85 解脲脲原体脲酶试验(94)	实验 107 ELISA 技术检测麻疹病毒 IgM.....(125)
第二十一章 衣原体(95)	实验 108 ELISA 技术检测呼吸道合胞病毒 IgM(126)
实验 86 姬姆萨染色检查沙眼衣原体包涵体(95)	实验 109 ELISA 技术测定风疹病毒 IgM.....(127)
实验 87 荧光抗体法检测沙眼衣原体(95)	第二十八章 肠道病毒(129)
实验 88 金标免疫斑点法检测沙眼衣原体抗体(96)	实验 110 肠道病毒的分离鉴定.....(129)
实验 89 细胞培养分离衣原体(96)	实验 111 轮状病毒的检测.....(130)
第二十二章 立克次体(98)	一、免疫电镜技术.....(130)
实验 90 恙虫病立克次体的形态观察(98)	二、ELISA 间接双抗体夹心法.....(130)
实验 91 外斐反应(98)	三、轮状病毒抗原的快速一步法检测.....(131)
第二十三章 真菌(100)	实验 112 ELISA 检测 CSV ₃ IgM 抗体(131)
实验 92 真菌的基本形态及结构观察(100)	第二十九章 肝炎病毒(133)
实验 93 真菌的培养特性观察(101)	实验 113 ELISA 技术检测甲型肝炎病毒 IgM.....(133)
一、真菌大培养.....(101)	实验 114 反向间接血凝法(RPHA)检测 HBsAg(134)
二、真菌小培养.....(101)	实验 115 ELISA 技术检测 HBsAg(134)
实验 94 真菌的药敏试验(102)	实验 116 ELISA 检测乙型肝炎病毒核心抗体 IgM(135)
实验 95 常见浅部真菌的鉴定(103)	实验 117 ELISA 技术检测 HBeAb.....(136)
一、真菌皮屑的镜检.....(103)	实验 118 ELISA 技术检测 HCV - IgM.....(137)
二、毛发穿孔试验.....(103)	实验 119 ELISA 技术测检 HEV - IgG(138)
实验 96 常见深部真菌的鉴定(104)	实验 120 ELISA 技术快速检测 HEV - IgM.....(139)
一、新生隐球菌的检验.....(104)	实验 121 ELISA 技术检测 HGV - IgG.....(140)
二、念珠菌的检验.....(106)	第三十章 人类免疫缺陷病毒(141)
第三篇 病毒学实验	实验 122 ELISA 技术检测 HIV 抗体.....(141)
第二十四章 病毒形态结构观察(111)	实验 123 斑点免疫法检测 HIV(1/2 型).....(142)
实验 97 病毒包涵体观察(111)	实验 124 HIV 抗体确证试验——WB 法.....(143)
实验 98 病毒学实验中电子显微镜技术(111)	第三十一章 出血热病毒(145)
第二十五章 病毒的分离培养技术(114)	实验 125 免疫荧光法检测汉坦病毒 IgM(145)
实验 99 病毒的动物接种法(114)	实验 126 ELISA 技术检测汉坦病毒特异性 IgM(146)
实验 100 病毒的鸡胚接种法.....(114)	第三十二章 疱疹病毒(147)
一、鸡胚的孵育及检查.....(114)	实验 127 免疫荧光技术检测 HCMV.....(147)
二、病毒的接种途径.....(115)	实验 128 ELISA 检测抗 HSV - 1 IgM(147)
三、培养及观察.....(116)	实验 129 ELISA 技术检测 HCMV IgM.....(148)
四、病毒的收获.....(116)	

- 实验 130. ELISA 技术检测 EB 病毒核抗原(EB - NA)IgM(149)

第四篇 微生物学动物实验

第三十三章 动物实验的基本知识和技术.....(153)

- 实验 131 实验动物的管理、选择及其抓取固定方法.....(153)

- 一、实验动物的管理.....(153)
二、实验动物的选择.....(153)
三、实验动物的抓取固定方法.....(153)

- 实验 132 动物接种与采血技术.....(155)

- 一、动物接种技术.....(155)
二、动物采血技术.....(156)

第三十四章 微生物学动物实验.....(157)

- 实验 133 免疫血清的制备.....(157)

- 一、动物的选择与准备.....(157)
二、抗原的制备.....(157)
三、注射方法及免疫血清的采取.....(157)
四、血清的处理与保存.....(158)

- 实验 134 感染动物尸体解剖观察及细菌学检查法.....(158)

- 实验 135 体内法细菌外毒素的检测.....(158)

- 一、破伤风痉挛毒素的检测.....(158)
二、大肠杆菌耐热肠毒素(ST)的检测.....(159)
三、白喉杆菌毒力试验.....(159)

- 实验 136 检测细菌致病性的动物实验.....(160)

- 一、产气荚膜梭菌的动物试验.....(160)
二、副溶血性弧菌的毒力试验.....(160)
三、蜡样芽胞杆菌毒力试验.....(161)

- 实验 137 细菌的毒力变异.....(161)

第五篇 分子微生物学试验

第三十五章 分子微生物学实验基本技术.....(165)

- 实验 138 DNA 的提取(165)

- 一、酚-氯仿-异戊醇法.....(165)
二、快速法.....(166)

- 实验 139 RNA 的提取(166)

- 实验 140 DNA 凝胶电泳.....(167)

第三十六章 部分病原微生物的分子生物学检测.....(169)

- 实验 141 PCR 技术检测耐甲氧西林葡萄球菌(MRS)mesA 基因(169)

- 实验 142 PCR 技术检测淋球菌(170)

- 实验 143 PCR 法检测 HBV(170)

- 实验 144 斑点杂交法检测 HBV - DNA.....(171)

- 实验 145 RT - PCR 技术检测 HCV RNA.....(173)

- 实验 146 PCR 法检测 HCMV.....(174)

- 实验 147 PCR 微板核酸杂交 ELISA 检测沙眼衣原体 DNA(175)

- 实验 148 PCR 微板核酸杂交 ELISA 检测 TB.....(176)

第六篇 医院内感染的微生物学检测

第三十七章 医院感染的微生物学检测.....(181)

- 实验 149 物体表面的检测.....(181)

- 实验 150 医护人员手检测.....(181)

- 一、经典方法.....(181)
二、细菌定量采样皿法.....(182)

- 实验 151 空气监测.....(182)

- 实验 152 血透液的监测.....(183)

- 实验 153 消毒液监测.....(183)

- 实验 154 无菌器材、一次性注射用品监测.....(184)

- 实验 155 输注用液中细菌内毒素的监测.....(184)

第七篇 卫生细菌学检查

第三十八章 饮用水的卫生细菌学检测.....(187)

- 实验 156 水卫生细菌学检测的水样采集.....(187)

- 实验 157 细菌总数的测定.....(187)

- 一、生活饮用水的检验.....(187)
二、水源水的检验.....(188)

- 实验 158 大肠菌群的测定.....(189)

- 一、发酵法.....(189)
二、滤膜法.....(190)

- 实验 159 大肠菌群的一步法测定.....(192)

第三十九章 食品卫生细菌学检测.....(193)

- 实验 160 细菌总数的测定.....(193)

- 实验 161 大肠菌群的检验.....(193)

- 实验 162 粪大肠菌群的检验.....(195)

- 实验 163 奶粉中金黄色葡萄球菌的检验.....(195)

第四十章 空气的卫生细菌学检验.....(198)

- 实验 164 细菌总数的测定.....(198)

- 一、沉降法.....(198)
二、滤过法.....(198)

- 实验 165 空气中链球菌检查法.....(199)

- 附录 1: 常用试剂的配制(201)

- 附录 2: 常用培养基的配制(205)

- 参考书目.....(213)

第一篇

微生物学实验

基本技术

第一章 常用仪器及无菌室简介

实验记录

实验 1 常用仪器及无菌室简介

微生物学是一门实验性很强的医学基础学科，微生物学实验教学在整个微生物学的教学过程中占有很大的比重。所以有必要加强微生物学的实验教学工作。而要搞好微生物学的实验教学，必须具备一些基本实验条件。本部分简要介绍微生物学实验的一些常用仪器和其他基本实验条件。

一、灭菌器

(一) 高压蒸气灭菌器

1. 构造及原理：此种灭菌器为一个双层的金属圆筒，两层之间盛水。外层为坚厚的金属板，其上有金属厚盖，盖旁有螺旋，借以扣紧厚盖，厚盖与锅体之间为密封圈，使蒸气不能外溢。加热后，随着锅内蒸气压力的升高，其温度也相应增高，从而达到使待灭菌物品灭菌的目的。锅内蒸气压力与锅内温度的关系见表 1-1。

表 1-1 不同蒸气压力所能达到的温度

蒸气压力			温度(℃)
磅/平方厘米	公斤/平方厘米	kPa	
5	0.35	33.78	108.8
8	0.57	54.04	113.0
10	0.70	67.55	115.6
15	1.0	101.33	121.3
20	1.46	135.10	126.2
25	1.77	168.88	130.4
30	2.10	202.66	134.6

高压蒸气灭菌器盖上装有排气阀、安全阀，以调节灭菌器内蒸气压力。有温度计及压力表，以指示灭菌器内部的温度和压力。灭菌器内装有带孔的金属搁板，用以放置需灭菌的物品。

高压蒸气灭菌器的外形结构见图 1-1。

2. 使用方法：

(1) 在外层锅内加适量的水，将需要灭菌的物品放入内层锅，盖好锅盖并对称地扭紧螺旋。

(2) 加热使锅内产生蒸气，当压力表指针达到 33.78kPa 时，打开排气阀，将冷空气排出，此时压力表指针下降，当指针下降至零时，即将排气阀关好。

(3) 继续加热，锅内蒸气增加，压力表指针又上升，当锅内压力增加到所需压力时，将火力减小，按所灭菌物品的特点，使蒸气压力维持所需压力一定时间，然后将灭菌器断电或断火，让其自然冷却后再慢慢打开排气阀以排除余



图 1-1 高压蒸气灭菌器

实验记录

气, 然后才能开盖取物。

3. 注意事项:

- (1) 待灭菌的物品放置不宜过紧。
- (2) 必须将冷空气充分排除, 否则锅内温度达不到规定温度, 影响灭菌效果。
- (3) 灭菌完毕后, 不可放气减压, 否则瓶内液体会剧烈沸腾, 冲掉瓶塞而外溢甚至导致容器爆裂。需待灭菌器内压力降至与大气压相等后才可开盖。
- (4) 装培养基的试管或瓶子的棉塞上, 应包油纸或牛皮纸, 以防冷凝水入内。
- (5) 为了确保灭菌效果, 应定期检查灭菌情况, 常用的方法是将硫磺粉末 (熔点为 115°C) 或安息香酸 (熔点为 120°C) 置于试管内, 然后进行灭菌试验。如上述物质熔化, 则说明高压蒸气灭菌器内的温度已达要求, 灭菌的效果是可靠的。也可将检测灭菌器效果的胶纸 (其上有温度敏感指示剂) 贴于待灭菌的物品外包装上, 如胶纸上指示剂变色, 亦说明灭菌效果是可靠的。
- (6) 现在已有微电脑自动控制的高压蒸气灭菌器, 只需放去冷气后, 仪器即可自动恒压定时, 时间一到则自动切断电源并鸣笛, 使用起来很方便。

4. 应用: 为最常用的灭菌方法, 一般以 101.33kPa 处理 $15\sim 20\text{min}$, 可达到对物品进行灭菌的目的。凡耐高温和潮湿的物品, 如常用培养基、生理盐水、衣服、纱布、玻璃器材等都可用本法灭菌。

(二) 电热恒温干燥箱 (烤箱)

1. 构造及原理: 电热恒温干燥箱俗称烘箱或烤箱, 主要由箱体、电热器和温度控制器三部分组成, 其外形见图 1-2。

(1) 箱体: 箱体由箱壳、箱门、恒温室、进气孔、排气孔和侧室组成。箱壳用薄铁 (钢) 板制成, 箱壁一般分为三层, 三层板之间形成内外两个夹层。外夹层中大多填充玻璃纤维或石棉等隔热材料; 内夹层作为空气对流层。烤箱的箱门均为双层门, 内门为玻璃门, 用于在减少热量散失的情况下观察所烘烤物品。外门用于隔热保温。最内层铁 (钢) 板所围绕成的室叫作恒温室, 室内一般有 $2\sim 3$ 层网状搁架, 用于放置物品。温度控制器的感温部分从左侧壁的上部伸入恒温室内, 底部夹层中装有电热丝, 在箱体的底部或侧面和顶部各有一进、排气孔, 在排气孔中央插入一支温度计, 用以指示箱内的温度。侧室



图 1-2 电热恒温干燥箱

一般设在箱体的左边, 与恒温室隔热隔开, 除了电热丝外的所有电器元件, 如开关、指示灯、温度控制器、鼓风机等均安装在侧室内, 打开侧室门可以很方便地检修电路。

(2) 电热丝: 电热恒温干燥箱的电热丝通常由四根并联而成, 与普通电炉相似, 电热丝均匀地盘绕在耐火材料烧成的绝缘板上, 电热丝的总功率一般在 $1\sim 8\text{KW}$ 之间。

(3) 温度控制器: 干燥箱内的温度是由温度控制器控制的, 其基本原理是当恒温箱内的温度超过所需温度时, 温度调节器就使电路中断, 加热自动停止; 当温度低于所需温度时, 电路又恢复, 温度即上升。

2. 使用方法: 待灭菌的物品充分干燥, 包装好后, 将其置烤箱内, 闭门通电, 待温度上升至 $160\sim 180^{\circ}\text{C}$ 后, 保持 2h 即可。

3. 注意事项:

- (1) 待灭菌的玻璃器材必须充分干燥, 否则耗电过多, 灭菌时间长, 且玻璃器材有破裂的

危险。

(2) 灭菌温度不要超过 180°C ，否则棉花及纸将被烧焦。

(3) 灭菌后必须等箱内温度下降至与外界温度差不多时，方可打开箱门，否则冷空气突然进入，玻璃器材极易破裂，且有引起纸和棉花起火的危险。另外，箱内的热空气溢出，易导致操作者皮肤灼伤。

(4) 箱内物品放置不宜过紧，否则灭菌效果下降，且易引起危险。

4. 应用：凡耐高温而且需要干燥的物品如玻璃器材、金属器械等（手术器械及针头例外），可用此法灭菌。

二、滤菌器

1. 构造及种类：滤菌器由孔径极小且能阻挡细菌通过的陶瓷、硅藻土、石棉或玻璃沙等制成。种类很多，常用的有下列几种：

(1) 赛氏 (Seitz) 滤菌器 (见图 1-3A)：由三部分组成。上部为金属圆筒，用以盛装需要过滤除菌的液体，下部为金属托盘及漏斗，用以接受滤出的液体；上下两部分中间放石棉制的滤板，滤板孔径大小可分三种：K 滤孔最大，供澄清液体之用；EK 滤孔较小，供滤过除菌；EK-S 滤孔更小，可阻止一部分较大的病毒通过。滤板依靠侧面附带的紧固螺旋拧紧固定。

(2) 贝克菲滤菌器 (见图 1-3B)：用硅藻土加压制成的空心圆柱体，底部连接金属托盘，托盘中央有金属导管，金属导管插入橡胶塞，以便装在抽气瓶上，在圆柱体外，有玻璃套筒，用

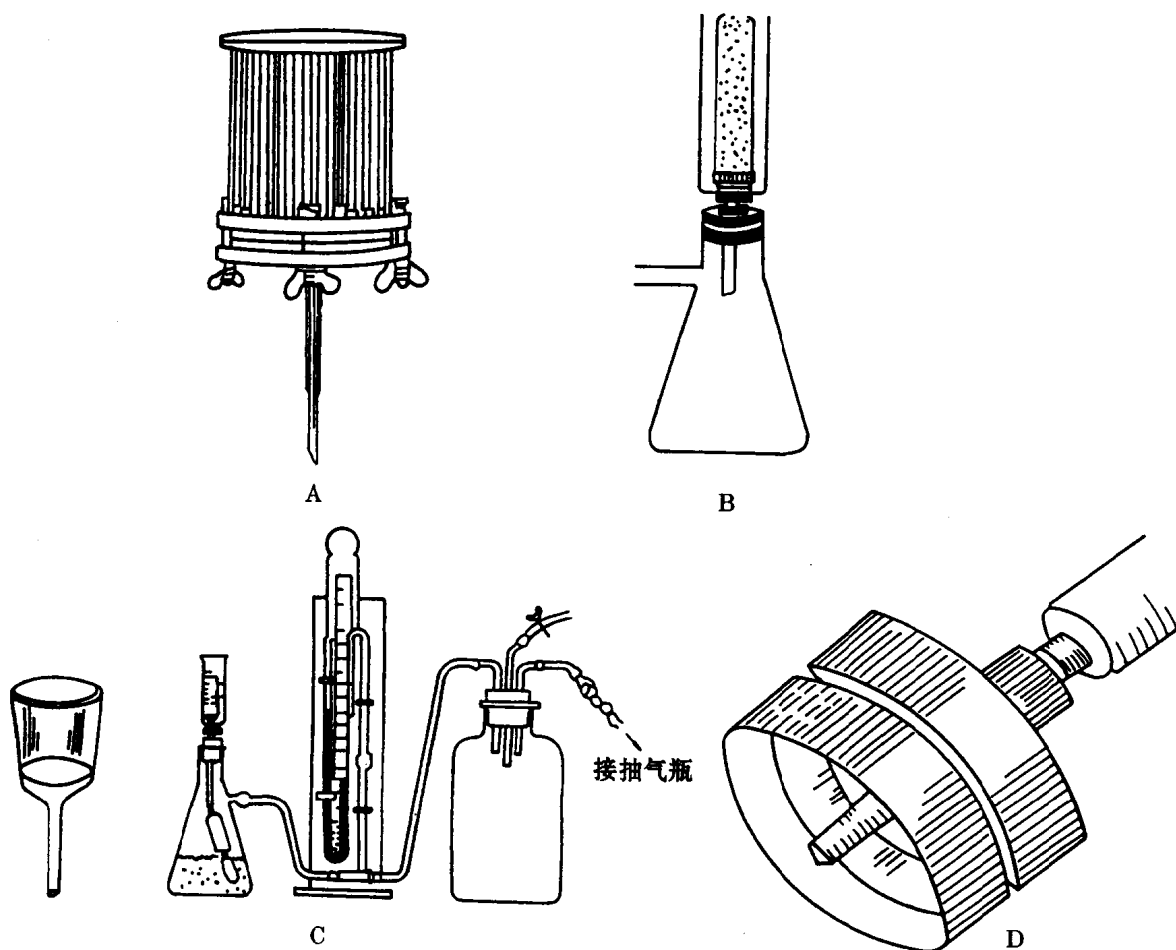


图 1-3 各种滤菌器

实验记录

以盛放被滤液体。根据滤孔孔径大小可分为三型：V 型，只除去大部分细菌；N 型，能除去所有细菌，但病毒能通过；W 型，能除去一部分大病毒；一般除菌使用 N 型。

(3) 玻璃滤菌器（见图 1-3C）：由玻璃制成。滤板采用细玻璃砂在高温下加压制成。孔径由 $0.15 \sim 250\mu\text{m}$ 不等，分为 G1、G2、G3、G4、G5、G6 六种规格，后二种能阻挡细菌通过。

(4) 薄膜滤菌器（见图 1-3D）：由塑料制成。滤菌器薄膜采用优质纤维滤纸，用一定工艺加压制成。孔径 200nm 。能阻挡细菌通过。

2. 用法：将清洁的滤菌器（赛氏滤菌器、薄膜滤菌器需先将石棉板或滤菌薄膜放好，螺旋拧紧）、滤瓶分别用纸或布包装好，高压蒸气灭菌。再以无菌操作把滤菌器与滤瓶装好，并使滤瓶的侧管与缓冲瓶相连，再使缓冲瓶与抽气机相连。将待过滤液体倒入滤菌器中，开动抽气机使滤瓶中压力减低，滤液则徐徐流入滤瓶中（量少时可事先在滤瓶中放试管接收滤液）。滤毕，迅速按无菌操作将滤瓶中的滤液放到无菌容器内保存。滤器经高压蒸气灭菌后，洗净备用。

3. 用途：用于除去血清、腹水、溶液、某些药物等不耐热液体中污染的细菌。

三、恒温箱（温箱）

1. 构造及原理：结构因种类不同而异，有的是以热空气加温，也有的以水浴加温，温度是依靠温度调节器来维持的。温度调节器有各种类型，如定温膨胀温度调节器、双合金式温度调节器和水银式温度调节器。其基本原理同电热恒温干燥箱。在大型实验室可设恒温室。

2. 应用：常用于人工培养细菌。一般病原微生物以 $36 \sim 37^\circ\text{C}$ 为最适宜。

四、冰箱

根据冰箱温度的高低，分为普通冰箱（家用冰箱）及低温冰箱。前者维持温度一般在 $0 \sim 5^\circ\text{C}$ 之间，其冷藏室内可达零下 20°C ；后者的温度可达零下 $50 \sim 90^\circ\text{C}$ 。

冰箱主要用于保藏菌种、血清、培养基及其他生物制品。

五、液氮罐

即储存液氮的容器。液氮罐具有良好的隔热性能，可避免液氮在短时间内气化，从而使罐内较长时间地保持在低温状态（ -196°C ）（见图 1-4）。

主要用于组织细胞、菌种、病毒及生物制品等的长期保藏。

六、恒温水浴箱（水浴箱）

一般为金属制的长方形箱，箱体为两层壁结构，外壳用薄钢板，内壁用铜皮制成，夹层中充以隔热材料以防散热。箱内盛水，用电热维持温度，通常可自 37°C 调节至 65°C （有的可至 100°C ），温度控制器通常采用螺旋管式。侧室一般位于其右边。箱盖呈斜面，以便于水蒸气所凝成的水滴沿斜面流下，避免落入箱内的物品中（见图 1-5）。

此仪器一般用作血清学反应及分子微生物学实验时加温及恒温用。



图 1-4 液氮罐

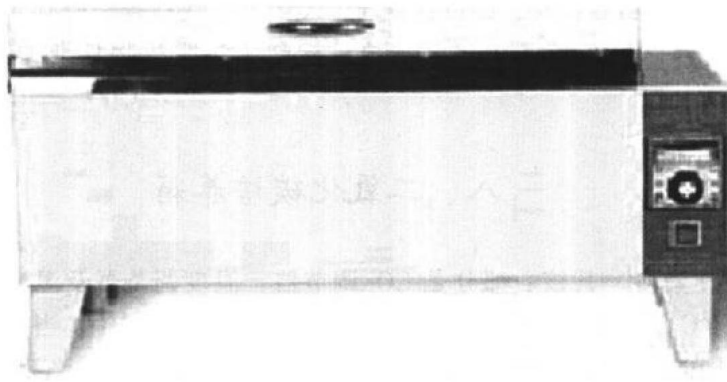


图 1-5 电热恒温水浴箱

七、厌氧培养箱

1. 构造及原理：厌氧培养箱主要是利用密封、抽气、换气及化学除氧方法造成厌氧状态，有利于厌氧菌的生长繁殖。厌氧培养箱装有真空表、真空泵气阀、温度控制器、总电源指示灯、六个培养罐气阀。箱内装有远红外线加热器、需氧培养槽以及六个培养罐体(见图 1-6)。

2. 气体纯度与气体分配：

(1) 纯度要求：厌氧菌培养所用气体纯度需达 99.99% 以上。

(2) 气体分配：

表 1-2 厌氧培养气体分配表

	N ₂	H ₂	CO ₂
厌氧菌气体分配率(%)	80	10	10
微需氧菌气体分配率(%)	80	15	5
需 CO ₂ 菌气体分配率(%)	10	普通大气 90	

3. 干燥剂与脱氧剂：

(1) 高效干燥剂分子筛 3A。

(2) 105 型脱氧催化剂(钯粒)。

4. 指示剂：

(1) 厌氧环境指示剂：美蓝溶液。

(2) CO₂ 环境指示剂：溴麝香草酚兰。

5. 操作方法：

(1) 首先将所有气阀全部关闭。开启真空泵阀，再开启 A 罐体阀，将 A 罐体门敞开。

(2) 迅速将已接种细菌的培养基放入罐内，同时将 105 型脱氧催化剂约 50g 与高效干燥剂分子筛 3A 约 15g 混合后放入 2 只不加盖玻璃皿内，而后放入 A 罐内。

(3) 将预先备好的厌氧环境指示剂放入罐门真空玻璃前(以利于观察颜色变化)，迅速关闭罐门、扭紧。

(4) 开动真空泵，当真空达到 700mmHg 时，将泵阀门关闭后，再关停真空泵电源。

(5) 开启输气总阀(即输 N₂、H₂、CO₂)，开启气体盘铜阀(N₂ 阀)，用 N₂ 冲洗罐床及管路，轻轻开启 N₂ 瓶阀及减压器阀。

(6) 当真空表针由 700mmHg 回复到 0 位时，关闭 N₂ 铜阀，再开启真空泵阀，按上述操作重复一次，以除去残余氧气。

(7) 再按“4、5”操作，按需要比例通入 N₂、H₂、CO₂。

实验记录

(8)真空表指针回复到0位时,即将铜瓶阀门关闭,再次检查,所有气阀需一律关闭。

(9)在已放有接种之培养基的罐门上,挂一标牌,注明放物日期,并在化验单上也注明罐体号。

八、二氧化碳培养箱

CO₂培养箱种类繁多,其核心部分是CO₂调节器、温度调节器及湿度调节装置,一般温度调节范围为室温至50℃,湿度在95%以上,CO₂控制范围为0~20%,当空气进入箱内后,通过能产生潮湿的含水托盘,用CO₂调节装置调节CO₂的张力,或者将空气和CO₂按比例混合来调节CO₂的张力,CO₂调节装置可以减少CO₂的消耗并且在打开培养箱门后能很好地控制和恢复CO₂的含量,能将气体由培养箱灌到样品小室内,空气在培养箱内循环流动,这样既能保持CO₂水平,又能使空气分布均匀。由于CO₂箱内湿度较高,必须经常处理以避免霉菌生长。其基本外形见图1-6。

主要用于组织细胞培养以及奈瑟菌、布鲁菌等的初次分离培养。



图1-6 二氧化碳培养箱

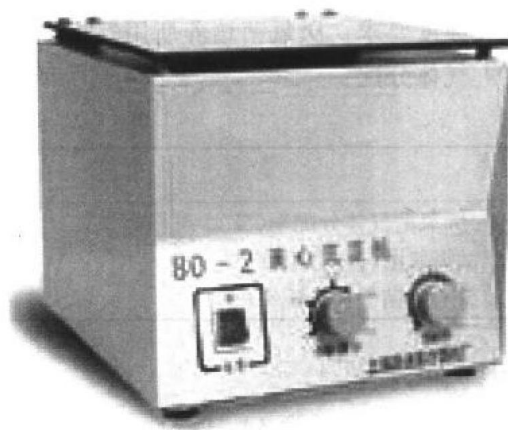


图1-7 离心机

九、离心机

1. 构造及原理: 主要由底座和容器室组成。底座内有电动机和转速调节器,后者可通过旋钮或手柄调节电阻值控制电动机转速;容器室内有转盘,它是固定在电动机上用于放置离心套管的装置,一般吊有4~6个金属环,离心时,可甩成水平(俗称水平离心机)(见图1-7)。

2. 操作方法:

(1) 将离心机置于平稳坚固的台面上。平衡离心的对称重量(包括离心管及套管)后,放入离心机转盘内,并盖紧离心机容器室盖。

(2) 离心前检查电源开关是否处于“关”位置,调速旋钮是否置于最低速度位置。

(3) 接通电源后,将开关拨向“开”位置,再平稳移动调速旋钮,视转速表指示,调到所需转速位置。1~2min后转速稳定则开始计时。

(4) 离心完毕,将调速器旋钮缓慢退回原位,再将开关拨向“关”位置。