

CETTIC 职业培训指定教材

顾问 田光哲 主编 宋争辉

走向职业生涯

——课程体系与岗位对接

(生物专业)

中国就业培训技术指导中心
河南省南阳师范学院
组织编写

菌种师
动物检疫师
植物检疫师
植物组培师
园林植物配置师
保健品和药品营销员

河南大学出版社

CETTIC 职业培训指定教材

图书在馆目录(CIP)数据

走向职业生涯——课程体系与岗位对接

河南大学出版社 2007.4

CETTIC职业培训指定教材

ISBN 978-7-81091-297-7

顾问 田光哲 主编 宋争辉

主 编 宋 争 辉

中国版本图书馆CIP数据(2007)第04683号

走向职业生涯

——课程体系与岗位对接

中国就业培训技术指导中心
河南省南阳师范学院
组织编写

责任编辑

封面设计

(生物专业)

河南大学出版社

地址 河南开封

电话 0378-2864863 (发行部) 0378-2852001 (编辑部)

网址 www.hnupress.com

主 编 王庆林

副主编 惠丰立

河南大学出版社

编 委 杨建伟 刘宗才 张彩莹

行 装

册 数

版 次

印 次

次 数

次 数

本 开

卷 印

数 字

册 印

分 宝

张二芹 田 龙

2007年4月第1版

2007年4月第1次印刷

787mm×1095mm 1/16

14.5

317千字

1-2000册

河南大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

走向职业生涯:课程体系与岗位技能.生物专业/宋争辉主编.

—开封:河南大学出版社,2007.4

CETTIC职业培训指定教材

ISBN 978-7-81091-597-7

I.走... II.宋... III.高等教育:技术教育—教材 IV.G718.5

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第047683号

责任编辑 余建国

装帧设计 王四朋

出 版 河南大学出版社

地址:河南省开封市明伦街85号 邮编:475001

电话:0378-2864669(行管部) 0378-2825001(营销部)

网址:www.hupress.com E-mail:bangong@hupress.com

发 行 河南大学出版社

经 销 新华书店

制 版 河南大学出版社印务公司

印 刷 河南第一新华印刷厂

版 次 2007年4月第1版

印 次 2007年4月第1次印刷

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 14.5

字 数 317千字

印 数 1-2000册

定 价 26.10元

前 言

大学生专业课程体系与就业岗位技能对接培训是劳动和社会保障部和我院为适应新形势下大学生就业工作的要求,满足社会对高素质技能劳动者的迫切需求,促进技能劳动者就业而推出的重要举措。这种培训的特点是:以就业为导向,强化课程专业体系与岗位技能之间的联系,面向社会急需岗位有目的地开展专项技能培训,从而使大学生及有关人员掌握必需的岗位技能,实现就业和再就业。

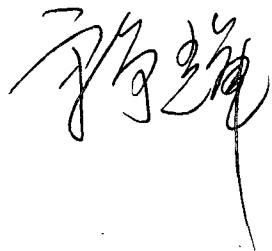
当前影响大学毕业生就业的首要因素是大学学生的学科专业体系和从业岗位技能之间有脱节,存在空白地带,所学知识不能很好地适应就业岗位的需求,因而缺乏就业竞争力。对此,南阳师范学院领导未雨绸缪,在中国就业培训技术指导中心的大力支持下,对大学生开展专业课程体系与就业岗位技能之间的对接培训。我们编写这套教材目的在于帮助大学生通过有针对性的训练,尽快实现学科专业体系的理论向岗位技能的拓展,达到岗位技能的要求,实现学科专业与岗位技能的对接,给大学毕业生一把就业的“金钥匙”。

本套教材是建立在大学生修完高等教育专业课程的基础上,以岗位——岗位技能——岗位核心技能——岗位核心技能点为主线,通过总操作程序——操作步骤——达到标准——注意事项——相关知识五个环节呈现技能培训内容,力求使教学训练更加简便易行,功能配套,加强针对性,体现技能培训的特点。

大学生专业课程体系与就业岗位技能培训将采用案例教学、实践教学、情景教学、师生互动等方式,让大学生多体验、多实践、多动手、多操作,采用“直接下水学游泳”的培训方式,让大学生在实践和体验中学到技能。

为了最大程度满足各类学生就业需要,在编写过程中,既考虑到高等院校和各类培训机构的需要,也考虑到中等职业学校教学的实际需要。我们希望本套教材能为促进高等教育教学改革,提高大学生从业技能,起到积极的推动作用。

由于对开展大学生学科专业体系与专业岗位对接培训是一个新事物,教材内容也有不完善的地方,诚请广大同仁指正!



2007年3月

目 录

岗位 1 菌种师.....	(1)
单元 1 无菌操作技术	(1)
模块 1 灭菌技术	(1)
模块 2 无菌操作技术	(9)
单元 2 菌种的扩大培养	(15)
模块 1 培养基的制备	(15)
模块 2 菌种的扩大培养	(18)
单元 3 菌种复壮与保藏	(24)
模块 1 菌种的复壮	(24)
模块 2 菌种的保藏	(28)
 岗位 2 动物检疫师	(40)
单元 1 操作前的准备、观察和取材	(40)
单元 2 动物法定通用检测方法	(40)
模块 1 依据临床症状与病理变化、流行特点可作出初步诊断	(40)
模块 2 镜检观察	(41)
模块 3 血清学检测	(41)
模块 4 分子生物学检测	(49)
单元 3 中国进境动物检疫传染病、寄生虫病	(52)
模块 1 共患病	(52)
模块 2 家禽病	(56)
模块 3 猪病	(61)
模块 4 反刍动物病	(64)
模块 5 马病	(70)
模块 6 兔病	(72)
模块 7 鱼、虾病	(73)
模块 8 蜜蜂病	(74)
单元 4 动物一、二类疫病附录	(76)

岗位 3 植物检疫师	(79)
单元 1 操作前的准备、观察和取材	(79)
单元 2 植物法定通用检测方法	(79)
模块 1 植物病原物的室内检验方法	(79)
模块 2 植物害虫的检验方法	(86)
模块 3 杂草的检验方法	(87)
模块 4 分子生物学技术在植物检疫中的应用	(88)
单元 3 中国进境植物检疫危险性病、虫、杂草	(91)
模块 1 检疫性病原真菌	(91)
模块 2 检疫性病原细菌	(92)
模块 3 检疫性病原病毒	(94)
模块 4 检疫性病原线虫	(95)
模块 5 检疫性实蝇	(96)
模块 6 检疫性甲虫	(97)
模块 7 检疫性蛾类	(100)
模块 8 其他检疫性害虫	(101)
模块 9 检疫性杂草	(102)
单元 4 植物一、二类疫病附录	(104)
 岗位 4 植物组培师	(108)
单元 1 消毒与灭菌技术	(108)
模块 1 接种室、缓冲间和培养室的灭菌	(108)
模块 2 培养基和培养用具的灭菌	(109)
模块 3 对植物材料和操作人员的消毒	(111)
单元 2 植物组织培养技术	(113)
模块 1 外植体的选择与接种	(113)
模块 2 诱导外植体的脱分化和再分化	(115)
模块 3 试管苗驯化和移栽	(118)
单元 3 植物茎尖脱毒培养技术	(120)
模块 1 脱毒技术	(120)
模块 2 脱毒苗检测	(123)
 岗位 5 园林植物配置师	(126)
单元 1 园林植物识别及园林植物特点	(126)
模块 1 常见园林植物识别	(126)

模块 2 常见园林植物特点	(129)
单元 2 园林植物配置技术	(140)
模块 1 园林植物配置原则和原理	(140)
模块 2 园林植物配置的基本形式	(145)
模块 3 小环境的植物配置	(170)
单元 3 园林绿化常用法规及标准	(184)
模块 1 园林绿化国家级法规条例	(184)
模块 2 园林绿化国家级行业标准	(184)
 岗位 6 保健品和药品营销员	 (186)
模块 1 安利保健品的营销	(186)
模块 2 常见生物保健品营销技能	(190)
模块 3 生物药品营销技能	(206)
参考文献	(221)

岗位 1 菌种师

单元 1 无菌操作技术

模块 1 灭菌技术

●干热灭菌

一、灼烧灭菌

【总操作程序】

主要分 2 个步骤:点燃火源→灼烧 2~3 次。具体操作如下:

1. 点燃火源

■ 一般使用酒精灯或煤气灯,点燃酒精灯或煤气灯。

2. 灼烧 2~3 次

■ 一般右手持待灭菌的器具,在火焰的外焰上来回灼烧 2~3 次。

【达标标准】

■ 灭菌后的器具干燥,所有的微生物被杀死。

【注意事项】

■ 正确使用火源,防止失火。

■ 主要用于实验室接种针、接种环、试管口和玻璃棒等的灭菌。涂布平板用的玻璃棒也可在蘸有乙醇后进行灼烧灭菌。

【相关知识】

干热灭菌的原理。

二、干热灭菌

【总操作程序】

主要分五个步骤:装入待灭菌物品→升温→恒温→降温→开箱取物。具体操作如下:

1. 装入待灭菌物品

■ 将包好的待灭菌物品(培养皿、试管、吸管等)放入电热干燥箱内,关好箱门。

2. 升温

■ 接通电源,拨动开关,打开电热干燥箱排气孔,旋动恒温调节器至绿灯亮,让温度逐渐上升,当温度升至 100°C 时,关闭排气孔。在升温过程中,如果红灯熄灭,绿灯亮,表示箱内停止加温;此时如果还未达到所需的 $160\sim 170^{\circ}\text{C}$ 温度,则需转动调节器使红灯再亮。如此反复调节,直至达到所需温度。

3. 恒温

■ 当温度升到 $160\sim 170^{\circ}\text{C}$ 时,借恒温调节器的自动控制,保持此温度 2h。

4. 降温

■ 切断电源,自然降温。

5. 开箱取物

■ 待电热干燥箱内温度降到 70°C 以后,打开箱门,取出灭菌物品。

【达标标准】

■ 灭菌后的器具经无菌检测结果符合要求。

【注意事项】

■ 一般用于培养皿、试管、枪头、吸管等的灭菌。

■ 预先将各种器皿用纸包好,培养皿可直接装入金属制的培养皿筒内,移液管可以放入移液管筒中。

■ 灭菌期间,要专人看管,切勿同时干其他事情,以免发生事故。

■ 物品不要摆得太挤,以免妨碍空气流通,灭菌物品不要接触电热干燥箱内壁的铁板,以防包装纸烤焦起火。

■ 干热灭菌过程中,严防恒温调节的自动控制失灵而造成安全隐患事故。

■ 干热灭菌温度不能超过 180°C ,否则包器皿的纸和棉塞就会烧焦,甚至引起燃烧。

■ 电烘箱内温度未降到 70°C 以前,切勿自行打开箱门,以免骤然降温导致玻璃器皿炸裂。

■ 灭菌后的器皿,在使用前勿打开包装纸,以免被空气中的杂菌污染。

【相关知识】

■ 干热灭菌的原理。

■ 电热干燥箱的使用操作方法。

■ 各种器皿的清洗方法。

■ 灭菌前各种器皿的包装方法。

● 湿热灭菌

一、常压间歇灭菌

【总操作程序】

主要分 4 个步骤:装入待灭菌物品→灭菌→灭菌后的物品放置于室温下→连续 3d。

具体操作如下：

1. 装入待灭菌物品

■ 需要灭菌的物品包好后放置于蒸汽灭菌器或蒸笼中。

2. 灭菌

■ 加热 100℃, 保持 30min。

3. 灭菌后的物品放置于室温下

■ 取出灭菌后的物品放置于室温下 18~24h。

4. 连续 3d

■ 第二天再加热 100℃, 灭菌 30min, 灭菌后的物品取出放置于室温下, 第三天再同样处理一遍, 可达到完全灭菌的目的。

【达标标准】

■ 物品应达到完全灭菌, 如果是灭菌培养基放在 37℃ 温箱培养 24h, 无杂菌生长, 即可待用。

【注意事项】

■ 不能用于怕受潮物品的灭菌。

■ 对于不易用高压蒸汽灭菌的培养基如明胶培养基、牛乳培养基、含糖培养基等可采用。

■ 灭菌后的器皿, 在使用前勿打开包装纸, 以免被空气中的杂菌污染。

【相关知识】

■ 湿热灭菌的原理。

■ 根据情况, 湿热灭菌也可以采用煮沸灭菌, 时间为 10~15min, 这样可以杀死细菌所有营养细胞和部分芽孢。如延长煮沸时间, 并在水中加入 1% 碳酸氢钠或 2% 石炭酸, 效果更好。

■ 灭菌一次 30min, 只能杀死微生物的繁殖体、真菌的孢子和细菌的部分芽孢, 而不能杀死所有芽孢。当把第一次灭菌后的物品放置室温下时, 物品上残存的芽孢即可萌发, 变成繁殖体, 繁殖体对热力的抵抗力远远弱于芽孢的抵抗力。因此, 当第二次灭菌时, 又可杀死芽孢形成的繁殖体。这样进行三次, 即可达到完全灭菌的目的。

二、高压蒸汽灭菌

【总操作程序】

主要分 8 个步骤: 加水→装料→加盖→排气→升压→保压→降压→灭菌后的处理。
具体操作如下:

1. 加水

■ 首先将内层锅取出, 再向外层锅内加适量的水, 使水面与三角搁架相平为宜。

2. 装料

■ 放回内层锅, 待灭菌物品包好后放入灭菌锅内。

3. 加盖

■ 将盖上的排气软管插入内层锅的排气槽内,旋紧锅盖,打开排气阀。

4. 排气

■ 用电炉或煤气加热,或用自动高压蒸汽灭菌锅,使水沸腾以排除锅内冷空气,冷空气排完,关闭排气阀。

5. 升压

■ 冷空气排完,关闭排气阀,压力即上升。

6. 保压

■ 当锅内压力升到所需压力时,控制热源,维持压力至所需时间。

7. 降压

■ 灭菌所需时间达到后,切断电源,让灭菌锅内温度自然下降,待压力降到零位时,打开盖子,取出灭菌物品。

8. 灭菌后的处理

■ 每次灭菌完毕,必须倒掉锅内剩水,按原样放置。

■ 灭菌培养基在 37℃ 条件下,放置 24h,无杂菌生长,即可待用。

【达标准】

■ 灭菌物品经无菌检查合格后即可烘干备用,灭菌培养基在 37℃ 条件下,放置 24h,无杂菌生长,即可待用。

【注意事项】

■ 灭菌时,要有专人负责。每次灭菌前,应检查安全阀的性能是否良好,以防锅内压力过高,发生爆炸。

■ 使用灭菌锅应严格按操作程序进行,避免发生事故。

■ 一般灭菌条件为 121.5℃,30min。

■ 各种培养基、溶液、玻璃器皿、金属器械、工作服、橡胶用品等均可用高压灭菌器灭菌。

■ 瓶装液体灭菌时,要用玻璃纸和纱布包扎瓶口,如用橡皮塞的,应插入针头排气。

■ 灭菌物品不要装得太拥挤,以免妨碍蒸汽流通而影响灭菌效果,三角瓶和试管口端均不要与锅壁接触,以免冷凝水淋湿包口的纸而透入棉塞。

■ 需要灭菌的各种包裹不应过大、过紧,一般应小于 55cm×33cm×22cm。

■ 有些灭菌包,包内和包外可以各贴一条灭菌指示带(长约 6cm~8cm),如压力达到 15min 时,指示带上即出现黑色条纹,表示已达灭菌的要求。

■ 灭菌时高压锅内冷空气要排除干净。

■ 务必待压力下降到零后,才可打开锅盖,否则因锅内压力突然下降,使培养基或其他液体发生再次沸腾,液体冲上瓶口沾湿棉塞。

■ 已灭菌的物品应做记号,以便识别,并需与未灭菌的物品分开放置,以免弄错。

■ 灭菌后的器皿,在使用前勿打开包装纸,以免被空气中的杂菌污染。

【相关知识】

- 灭菌的方法。
- 微生物的生长。
- 高压蒸汽灭菌的原理。

■ 灭菌前玻璃器皿的包装：(1)移液管、滴管的包装：先在离移液管或滴管上端开口约 0.5cm 处塞一段长约 1~1.5cm 的普通棉花(不可用脱脂棉)，松紧要合适，既要吹气通畅，又不至于下滑，其目的是防止菌液吸入口中或口腔中的菌吹入移液管，引起污染。其包装方法有两种：将多支移液管或滴管装入铜制或玻璃制的圆筒中(移液管或滴管的尖端朝里)，再加移液管筒盖或在玻璃筒口塞上外包纱布的棉塞，待包上牛皮纸后进行加压灭菌(121℃ 条件下灭菌 20min)或干热灭菌。单支移液管纸带包扎法：截一条 4~5cm 宽的长纸条，将其一端折进约 3cm 宽使成双层，让移液管的尖端包进双层纸内(移液管与纸条的夹角成 30°为宜，夹角太小，纸条易松开，夹角太大则纸条不够长)，然后不停地转动移液管，使纸条成螺旋状包裹在移液管外面，最后将多余的纸条打个结，以防松开。(2)培养皿的包装：将洗净且干燥的培养皿装入铜制培养皿筒中，或将 10 套培养皿叠在一起用报纸包裹。为防止松开，可再用棉纱绳扎紧。(3)空试管、三角瓶的包扎：将洗净的三角瓶或试管口塞上棉塞，外包一层牛皮纸，用纱绳扎紧瓶口后进行加压蒸汽灭菌(121℃ 条件下灭菌 20min)。

- 不同蒸汽灭菌锅的使用方法不同，可参考厂家说明书。

● 过滤除菌

【总操作程序】

主要有 5 个步骤：组装、灭菌→连接→压滤→无菌检查→清洗。具体操作如下：

1. 组装、灭菌

- 微孔滤膜过滤除菌时，首先将滤膜与滤器组装好，包装灭菌后待用。
- 其他过滤装置：过滤前应将过滤器和收集滤液的试管组装好，抽滤瓶口应塞一段棉塞以阻止空气中细菌进入滤瓶中，用纸包好进行加压灭菌，在 121℃ 下灭菌 20min。

2. 连接

- 将灭菌滤器的入口在无菌条件下，以无菌操作方式连接于装有待滤液的注射器上，将针头与出口连接并插入带有橡皮管的无菌试管中。

3. 压滤

- 将注射器中的待滤液加压缓缓挤压过滤到无菌试管中，滤毕，将针头拔出。

4. 无菌检查

- 无菌操作吸取除菌滤液 0.1mL 于肉汤蛋白胨平板上，涂布均匀，置 37℃ 室温中培养 24h，检查是否有菌生长。

5. 清洗

- 弃去滤膜，清洗干净滤器，换上新的滤膜组装好灭菌待用。

【达标标准】

■ 无菌操作吸取除菌滤液 0.1mL 于肉汤蛋白胨平板上,涂布均匀,置 37°C 室温中培养 24h,没有菌生长即可。

【注意事项】

■ 许多材料,例如血清、抗生素及糖溶液等原料,用加热消毒灭菌方法,均会被破坏,因此通常采用过滤除菌的方法。

■ 压滤时,用力要适当,不可太猛太快,以免细菌被挤压通过滤膜。

■ 过滤时应避免各连接处出现渗透现象。

■ 过滤除菌时每次过滤必须用一张新滤板。

■ 发酵工业上可以利用过滤的方法制备大量的无菌空气。

【相关知识】

■ 过滤除菌的原理。

■ 应用最广泛的过滤器有:(1)蔡氏(Seitz)过滤器,该滤器是由石棉制成的圆形滤板和一个特制的金属(银或铝)漏斗组成,分上下两节。根据其孔径大小滤板分为三种型号。K 型最大,作一般澄清用,EK 型滤孔较小,用来除去一般细菌;EK-S 型滤孔最小,可阻止大病毒通过,使用时可根据需要选用。(2)微孔滤膜过滤器,这是一种新型滤器,其滤膜是用醋酸纤维素酯和硝酸纤维素酯的混合物制成的薄膜。

■ 微生物的大小。

■ 滤膜孔径大小的选择。

●化学药品灭菌

【总操作程序】

主要分 2 个步骤:配制溶液→喷洒或浸泡、气体熏蒸、擦拭等。具体操作如下:

1. 配制溶液

■ 根据需要配制不同浓度的化学药品灭菌剂。

2. 喷洒或浸泡、气体熏蒸、擦拭

■ 根据灭菌对象的不同,选择不同的方式灭菌。

【达标标准】

■ 环境或手上检测无菌。

【注意事项】

■ 通常用于生产环境灭菌,接种操作前双手的灭菌。

■ 注意各种化学灭菌剂的用途、使用浓度及使用方法。

【相关知识】

■ 化学药品灭菌的原理:重金属盐类对微生物均有毒害作用,这是由于金属离子容易与微生物的蛋白质结合而发生变性或沉淀,或与某些酶的巯基结合使酶失活。氧化剂作用于微生物的蛋白质结构中的氨基、羟基或其他化学基团,造成代谢机能障碍而死亡。

酚的杀菌可能是对菌体细胞膜有损害作用和促使菌体蛋白质凝固所造成。醇的杀菌作用主要是由于它具有脱水作用,使菌体蛋白质脱水而变性。醛的杀菌作用在于它具有还原作用,能与蛋白质的氨基酸结合而使蛋白质变性。表面活性剂的杀菌作用在于它能吸附在微生物细胞的表面,使细胞壁的通透性改变,促使细胞内的物质排出。

■ 环境灭菌时,常用的化学药剂有甲醛、乙醇、来苏尔、新洁尔灭、漂白粉、过氧乙酸等。

■ 环境中微生物的分布状况。

■ 环境中微生物的检测。

■ 甲醛(37%):将此溶液直接加热,产生气态甲醛用于无菌室的灭菌。

■ 环氧乙烷:可用于物料灭菌和受热易破坏的培养基灭菌。把所需灭菌的物料置于不透气的囊袋中,充入环氧乙烷-二氧化碳,密闭进行灭菌。将培养基温度降至 10℃ 以下,加入 1%(V/V)环氧乙烷,将容器密闭 1~2h 灭菌后,升温至 37~45℃,保温数小时或过夜,使环氧乙烷气化逸出。

■ 新洁尔灭:可用于擦拭工作台,或浸泡手 5min。溶液可反复使用 40 次。

■ 漂白粉(0.3%~0.5%):杀灭空气中的微生物。

■ 过氧乙酸:喷雾或蒸汽灭菌(0.1~0.2mg/L),浸泡器具灭菌(5%,20min)。

■ 乙醇(75%~80%):浸泡或擦拭,可用于皮肤表面、操作台面及有关器具的灭菌。

● 射线灭菌

一、单用射线照射

【总操作程序】

主要分 3 个步骤:灭菌前的准备→灭菌→检查。具体操作如下:

1. 灭菌前的准备

■ 在无菌室内或在接种室内(如果用于培养基的灭菌,应提前把盛有培养基的培养皿放进来)打开射线电源开关。

2. 灭菌

■ 照射 30min,将开关关闭。

3. 检查

■ 将盛有培养基的平皿盖打开 15min,然后盖上皿盖。置 37℃ 培养 24h,共做三套。

■ 检查每个平皿生长的菌落数。如果不超过 4 个,说明灭菌效果良好;否则,需延长照射时间或同时加强其他措施。

【达标标准】

■ 无菌室检查,一般培养基无菌检查时,菌落不超过 4 个。

【注意事项】

■ 由于紫外线对眼结膜及视神经有损伤作用,对皮肤有刺激作用,所以,不能直视紫

外线灯光,更不能在紫外线灯光下工作。

■ 紫外线的穿透力低,只能用于表面灭菌,对固体物料灭菌不彻底,不能用于液体物料灭菌,一般用于无菌室、接种箱、培养间等空间灭菌。

【相关知识】

■ 射线灭菌的原理。

■ 可以利用的有紫外线、高能电磁波或放射性物质产生的高能粒子。

■ 环境中微生物的分布状况。

■ 紫外线波长在 200~300nm,具有杀菌作用,其中以 265~266nm 杀菌力最强。此波长的紫外线易被细胞中核酸吸收,造成细胞损伤而杀菌,紫外线灭菌在微生物工作及生产实践中应用较广,无菌室或无菌接种箱空气可用紫外线灯照射灭菌。

■ 采用⁶⁰Co 射线灭菌,已广泛用于不能进行加热灭菌的纸、塑料薄膜,各种积层材料制作的容器以及医用生物敷料皮等的灭菌。 γ 射线灭菌最大优点是穿透力强,可在厚包装完好条件下灭菌。

二、化学药剂与紫外线照射结合使用

【总操作程序】

主要分 3 个步骤:灭菌前的准备→灭菌→检查。具体操作如下:

1. 灭菌前的准备

■ 在无菌室内或在接种室内(如果用于培养基的灭菌,应提前把盛有培养基的培养皿放进去)先喷洒 3%~5% 的石炭酸溶液,无菌室内的桌面、凳子用 2%~3% 来苏尔擦洗,打开射线电源开关。

2. 灭菌

■ 用紫外灯照射 15min,将电源开关关闭。

3. 检查

■ 将盛有培养基的平皿盖打开 15min,然后盖上皿盖。置 37°C 条件下培养 24h,共做三套。

■ 检查每个平皿生长的菌落数。如果不超过 4 个,说明灭菌效果良好;否则,需延长照射时间或同时加强其他措施。

【达标准】

■ 无菌室检查,培养基中无菌检查时,菌落不超过 4 个。

【注意事项】

■ 紫外线灭菌的正确操作。

■ 人身安全。

【相关知识】

■ 紫外线灭菌的原理。

■ 化学药剂灭菌的原理。

■ 环境中微生物的分布状况。

■ 无菌室中无菌程度的测定:一般常用的有平板法、吸气法、毛细管法。

模块 2 无菌操作技术

● 斜面试种

【总操作程序】

主要分 3 个步骤:接种前的准备→接种→接种后的处理。具体操作如下:

1. 接种前的准备

■ 操作前,先用 75% 的酒精擦手,待酒精挥发后才能点燃酒精灯。

■ 贴标签或标注:将注有菌名、接种日期和接种者姓名的标签贴在试管培养基斜面的正上方离管口约 3~4cm 处,或接种前用记号笔在距试管口 2~3cm 位置上注明菌名、接种日期等。

■ 旋松棉塞或试管塞:先将菌种和斜面的棉塞旋转一下,以便接种时便于拔出。

■ 点燃酒精灯或煤气灯,并将火焰调至适中。

2. 接种

■ 左手持试管:将菌种管及待接种的斜面试管并排放于左手的食指、中指和无名指之间,试管一般宜保持水平位置,两个试管口要平齐,斜面朝上,用拇指按住试管的基部(不要使拇指遮住整个斜面)。

■ 灼烧接种环:右手握住接种环的胶木柄,将镍铬丝环口和其余部分用火焰烧红,然后将接种环来回通过火焰两三次。

■ 拔棉塞或试管塞:用右手小指、无名指和手掌拔下棉塞或试管塞,并持于手中。将试管口在火焰上微烧一周。然后让试管稍离火焰,应保持水平状态,以防杂菌落入管内。

■ 接种:将烧过的接种环伸入菌种管内,先将环接触一下没有长菌的培养基部分,使其冷却,以免烫死菌体,然后用环在菌苔上轻轻地接触,刮下少许培养物,并将接种环慢慢地从试管中抽出,并迅速地伸入另一试管中,自基部开始向上在斜面上划线(波浪或直线),使菌体沾附在培养基上。接种完毕,移出接种环,同时将两支试管口依次过火,最后塞上棉塞或试管塞,并将试管插在试管架上。

■ 杀灭环上残菌:接种完毕应立即灼烧接种环,以杀死残留的菌体。

3. 接种后的处理

■ 清洗:废弃的菌种管应先拔去棉塞再置于水浴中煮沸 20min,立即刷洗干净。

■ 清理桌面。

【达标标准】

■ 接种斜面培养后无杂菌污染,菌种长势良好,符合实验或生产要求。

【注意事项】

- 接种要在无菌的或不被杂菌污染的条件下进行。
- 在无菌室内工作时,切记要关闭紫外灯,以防紫外线对人体的危害。
- 接种前务必核对标签上的菌名与菌种管上的菌名是否一致,以防接错菌种。
- 接种环自菌种管移出时,不可通过火焰和触及其他物品。
- 接种时只须将环的前沿与斜面培养基轻触,划线时动作要轻巧,以防划破培养基。
- 试管棉塞必须塞得松紧适宜。
- 所有使用器皿均需严格灭菌。
- 接种工具用后须经火焰灼烧灭菌后,才能放在桌子上。
- 斜面接种一般用于菌种的活化或扩增。
- 将生长好的菌种用牛皮纸包好,可置 4℃ 冰箱中保存。

【相关知识】

- 无菌室的灭菌。
- 一般小规模的操作用接种箱或超净工作台。
- 无菌室内应设有照明、电热和动力用的电源。工作台面应抗热、抗腐蚀,便于洗刷,可采用橡胶板或塑料板铺敷台面。
- 培养基的灭菌。
- 菌种好坏的分辨。
- 缓冲间内应悬挂隔离用的工作服、鞋、帽、口罩,消毒用的药物、手持式喷雾器等。
- 无菌室(箱)内应备有接种用的常用器具,如酒精灯、接种环、剪子、镊子、酒精棉球、玻璃铅笔或记号笔等。

■ 接种工具及其制备。接种针:长度为 8cm 左右,呈直线状,固定在长约 20 厘米的金属柄上。接种环:在接种针的一端卷成一圆环,直径 2mm 左右,密封,圆环平面与环柄成 160~170°角。接种钩:在接种针的一端弯成一个直角,顶边长约 3mm,常用于放线菌和霉菌的接种。接种圈:将接种针的末端卷起数圈成为盘形,专用于从砂土管中移植菌种。接种锄:将接种针的末端弯曲成双折并紧如接种钩,双折部分再弯成 90°直角,最后把里侧砸薄磨成刀刃,即成扁锄形,用于刮取真菌菌丝和孢子。

● 液体接种

一、由斜面菌种接入液体培养基

【总操作程序】

主要分 3 个步骤:接种前的准备→接种→接种后的处理。具体操作基本上与斜面接种相同,但使试管口向上以免培养液流出。接入菌体后,使接种环与管壁轻轻研磨,使菌体擦下。