

高职高专工学结合教改规划教材系列


食品药品微生物检验技术

Food and Drug Microbiological
Examination Techniques

主 编 范建奇

0101011011001010101010101010101
0101011011001010101010101010101

0101101100101010101010101010101

 ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

高职高专工学结合教改规划教材系列

食品药品微生物检验技术

范建奇 主编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

内容提要

本书从微生物检验的基础技术、产品中指标菌及常见致病菌的检验技术、微生物检验综合技能实训三个教学情境十一个实用项目出发,介绍了常用仪器设备的准备与消毒灭菌、培养基的配制、微生物形态的观察、微生物的分离纯化培养与保藏、微生物生长的测定、检验样品的采集与处理、菌落总数测定、大肠菌群测定、常见致病菌检测、药品微生物学检验、微生物检验综合技能实训等方面的知识。内容详略深浅适宜,图文并茂,既重视理论性,又突出实践性。每个项目中的任务,十分注重技能训练、应用能力与综合素质的培养。

本书可作为食品类、生物技术类高职高专院校的教学用书,也可供相关专业和领域的师生及实践操作人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

食品药品微生物检验技术 / 范建奇主编. —杭州:
浙江大学出版社, 2013.8
ISBN 978-7-308-12011-1
I. ①食… II. ①范… III. ①食品检验—微生物检定—
—高等职业教育—教材②药品检定—微生物检定—高等职业
教育—教材 IV. ①TS207.4②R927.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 184409 号

食品药品微生物检验技术

范建奇 主编

责任编辑 张凌静(zlj@zju.edu.cn)

封面设计 姚燕鸣

出版发行 浙江大学出版社

(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州中大图文设计有限公司

印 刷 杭州日报报业集团盛元印务有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 13.5

字 数 337 千

版 印 次 2013 年 8 月第 1 版 2013 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-12011-1

定 价 29.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部联系方式: 0571-88925591; <http://zjdxcs.tmall.com>

编委会

主 编：范建奇 嘉兴职业技术学院

编 委：(按姓氏笔画排序)

向天勇 嘉兴职业技术学院

张建群 嘉兴职业技术学院

郁 辉 嘉兴职业技术学院

郑步云 嘉兴市食品卫生监督所

章展辉 嘉兴市药品检验所

董甘霖 浙江嘉善黄酒股份有限公司

前 言

食品药品安全是天大的事。“民以食为天,药以安为先”,这深刻道出了食品药品对人类生存发展的重要性,因为食品药品安全关系到人民群众的身体健康和生命安全,事关经济发展和社会稳定大局,关系国家和地方政府形象。随着经济的发展和社会的进步,人民群众对食品药品有了更高的要求 and 期盼,可以说食品药品安全问题引起了社会各界的广泛关注。当前,我国已进入经济转轨和社会转型的关键时期,食品药品安全问题形势严峻,微生物污染问题突出,每年食品药品事件发生数量、受害人数、死亡人数,以及造成的经济损失都是非常大的。我国如此,发达国家同样也深受其害。掌握好食品药品微生物检验技术是食品药品从业人员和食品药品卫生监督工作者的神圣职责;是贯彻执行卫生法,提高食品药品质量必不可少的技术保证;是保证食品药品安全卫生的重要手段。

高等职业教育面向生产和服务第一线,培养实用型的高级专门人才。因此,本教材的指导思想是突出高职特色,着力体现实用性和实践性,着重培养学生的应用能力,将理论与实践相结合;以典型工作领域的职业能力为培养重点,淡化学科意识,以真实工作任务及工作过程为依据重构教学内容,以典型工作任务及工作过程为载体进行能力本位的项目化教学设计。以“实践技能培训为主导、理论知识够用”的原则,以新的《中华人民共和国食品安全法》和《食品安全国家标准——食品微生物学检验标准汇编 GB4789 系列(2010 版)》为依据,注重微生物学基础实验与专业实验的有机衔接和微生物学检验原理与技能的兼容,学生修完本课程后,可独立完成微生物基础实验和符合相关国家标准要求的微生物检测方案设计、采样与处理、检验与分析、数据记录与报告等。

随着科学技术的发展,食品药品微生物检测新技术、新方法层出不穷,授课教师应及时了解和掌握学科前沿,根据教学内容更新快的特点,及时补充新知识,掌握先进的检测方法,使学生在系统掌握国家标准教学内容的基础上,及时了解微生物检测的发展动向和未来的发展趋势。

本教材由范建奇主编,参编者根据各自的专长承担相关的编写任务,具体分工如下:范建奇(嘉兴职业技术学院)编写绪论,项目三、四、五、六、七、八及项目十一的任务 3,向天勇(嘉兴职业技术学院)编写项目五,张建群(嘉兴职业技术学院)编写项目一,郁辉(嘉兴职业技术学院)编写项目二,郑步云(嘉兴市食品卫生监督所)编写项目九,章展辉(嘉兴市药品检验所)编写项目十,董甘霖(浙江嘉善黄酒股份有限公司)编写项目十一的任务 1、任务 2。范建奇负责全书的统稿。在编写过程中,得到了浙江大学出版社的大力支持

持,在此致以衷心的感谢。

本教材在编写过程中参阅了大量书籍,并得到了各编委及有关专家、同仁的大力支持,在此表示感谢。另外,本教材的出版也得到了嘉兴职业技术学院重点课程建设的经费资助,也表示衷心的感谢。

由于水平有限,时间仓促,书中缺点和不足之处在所难免,敬请广大师生和专家、读者提出宝贵意见,以便完善。

编 者

2013年5月

目 录



CONTENTS

绪 论	1
学习情境一 微生物检验基础技术	6
项目一 常用仪器设备的准备与消毒灭菌	6
任务 1 常用玻璃器皿的清洗、包扎与消毒 /7	
任务 2 干燥箱与高压蒸汽灭菌器的使用 /11	
任务 3 环境的化学试剂消毒 /20	
任务 4 液体样品的过滤除菌 /30	
项目二 培养基的配制	33
任务 微生物营养及培养基的制备 /33	
项目三 微生物形态的观察	42
任务 1 微生物形态特征及普通显微镜的使用 /43	
任务 2 细菌简单染色和革兰氏染色 /62	
任务 3 酵母菌形态观察 /65	
任务 4 霉菌形态观察 /69	
任务 5 病毒的认识 /74	
项目四 微生物的分离、纯化、培养与保藏	82
任务 1 微生物无菌接种 /83	
任务 2 菌种分离、纯化、培养 /88	
任务 3 微生物菌种的常规保藏 /97	



项目五 微生物生长的测定	102
任务 微生物生长的数量测定 /103	
项目六 检验样品的采集与处理	112
任务 取样与检样制备 /112	
学习情境二 产品中指标菌及常见致病菌的检验技术	128
项目七 菌落总数测定	128
任务 菌落总数测定(GB4789.2—2010)/129	
项目八 大肠菌群测定	136
任务 大肠菌群计数(GB4789.3—2010)/136	
项目九 常见致病菌检测	145
任务1 沙门氏菌检验(GB4789.4—2010)/146	
任务2 金黄色葡萄球菌检验(GB4789.10—2010)/159	
项目十 药品微生物学检验	168
任务 0.9%氯化钠注射剂的无菌检验 /169	
学习情境三 微生物检验综合技能实训	176
项目十一 微生物检验综合技能实训	176
任务1 某企业微生物检验实验室建设策划书 /177	
任务2 食品生产环境(空气、工作台)的微生物检测 /187	
任务3 食品生产用水的微生物学检验(GB/T5750.12—2006)/193	
参考文献	208

绪 论

【知识目标】

- 1)了解微生物的主要类群,掌握微生物的主要特点。
- 2)掌握微生物检验的任务及意义。
- 3)了解微生物检验的对象。
- 4)了解微生物检验的发展趋势。

【能力目标】

- 1)能够根据微生物的特点理解自然界中微生物分布的广泛性,并具有认识、分析产品中微生物可能来源的能力。
- 2)建立在产品的原料、生产、包装、运输、储藏、销售等各环节都需要进行微生物控制的产品质量意识。
- 3)能够正确认识微生物检验工作的重要性。

【素质目标】

培养学生对微观事物科学的、实事求是的、认真细致的学习和工作态度。

【案例导入】

微生物是地球上最早出现的生命有机体,生命存在的任何一个角落都有微生物的踪迹,而且其数量比任何动植物的数量都多,可能是地球上生物总量的最大组成部分。微生物与人类社会和文明的发展有着极为密切的关系。中国劳动人民在史前就利用微生物酿酒,积累了极为丰富的酿酒理论与经验,创造了人类利用微生物实践的辉煌。早在2000多年前,祖先就用长在豆腐上的霉菌来治疗疮疖等疾病。荷兰安东尼·万·列文虎克(1632—1723)被称为“显微镜之父”,他的伟大发现缘于他对显微镜的喜爱。列文虎克于1674年用自制的放大系数约为270倍的显微镜观察一滴水时,发现水滴内有一个完全意想不到的富有生命的世界。他看到水滴内有各种各样的不停扭动的“非常小的动物”。这就是偶然发现的“微生物”。1928年,英国的科学家Fleming等人发明了青霉素,从此揭示了微生物产生抗生素的奥秘,其后应用于临床,效果非常显著,开辟了世界医疗史上的新纪元。

一、什么是微生物

1.概念

微生物是一类形体微小、单细胞或个体较为简单的多细胞,甚至无细胞结构的低等生物的总称。简单地说,微生物是人们对肉眼看不见的细小生物的总称。

2.微生物的种类

- 1)原核类:细菌、放线菌等。
- 2)真核类:酵母菌、霉菌。



- 3)非细胞类:病毒、类病毒、拟病毒、朊病毒。
- 4)原生生物类:单细胞藻类、原生动物。

二、微生物特点

微生物虽然个体小,结构简单,但它们具有与高等生物相同的基本生物学特性。遗传信息都是由 DNA 链上的基因所携带的,除少数特例外;微生物的初级代谢途径如蛋白质、核酸、多糖、脂肪酸等大分子物质的合成途径基本相同;微生物的能量代谢都以 ATP 作为能量载体。微生物作为生物的一大类,除了与其他生物共有的特点外,还具有其本身的特点及其独特的生物多样性:种类多、数量大、分布广、繁殖快、代谢能力强等,是自然界中其他任何生物不可比拟的,而且这些特性归根结底与微生物体积小、结构简单有关。

1. 代谢活力强

微生物体积虽小,但有极大的比表面积,如大肠杆菌的比表面积可达 30 万。因而微生物能与环境之间迅速进行物质交换,吸收营养和排泄废物,而且有最大的代谢速率。从单位重量来看,微生物的代谢强度比高等生物大几千倍到几万倍。如在适宜环境下,大肠杆菌每小时可消耗的糖类相当于其自身重量的 2000 倍。以同等体积计,一个细菌在 1h 内所消耗的糖即可相当于人在 500 年内所消耗的粮食。

微生物的这个特性为它们的高速生长繁殖和产生大量代谢产物提供了充分的物质基础,从而使微生物有可能更好地发挥“活的化工厂”的作用。

2. 繁殖快

微生物繁殖快,易培养,是其他生物不能比拟的。如在适宜条件下,大肠杆菌 37℃ 时代时间为 18min,每 24h 可分裂 80 次,每 24h 的增殖数为 1.2×10^{24} 个。枯草芽孢杆菌 30℃ 时的世代时间为 31min,每 24h 可分裂 46 次,增殖数为 7.0×10^{13} 个。

事实上,由于种种客观条件的限制,细菌的指数分裂速度只能维持数小时,因而在液体培养中,细菌的浓度一般仅能达到每毫升 $10^8 \sim 10^9$ 个。

3. 种类多,分布广

微生物在自然界是一个十分庞杂的生物类群。迄今为止,我们所知道的微生物达近 10 万种,现在仍然以每年发现几百至上千个新种的趋势在增加。它们具有各种生活方式和营养类型,大多数是以有机物为营养物质,还有些是寄生类型。微生物的生理代谢类型之多,是动、植物所不及的。分解地球上贮量最丰富的初级有机物——天然气、石油、纤维素、木质素的能力,属微生物专有。

4. 适应性强,易变异

微生物对外界环境适应能力特强,这都是为了保存自己,是生物进化的结果。有些微生物体外附着一层保护层,如荚膜等,这样一是可以营养供给,二是可以抵御吞噬细胞对它的吞噬。细菌的休眠芽孢、放线菌的分子孢子等对外界的抵抗力比其繁殖体要强很多倍。有些极端微生物都有相应特殊结构的蛋白质、酶和其他物质,使之能适应恶劣环境。

由于微生物表面积和体积的比值大,与外界环境的接触面大,因而受环境影响也大。一旦环境变化,不适于微生物生长时,很多的微生物即死亡,少数个体发生变异而存活下来。利用微生物易变异的特性,在微生物工业生产中进行诱变育种,可获得高产优质的菌种,提高产品产量和质量。

三、微生物与食品、药品安全

近年来,食品质量安全问题日益突出,已经成为一大社会问题,有人甚至将食品安全列为资源、环境、人口之后的第四大社会问题。食品安全方面的恶性、突发性事件屡屡发生,食源性疾病造成的死亡人数逐年上升。食品安全问题已经成为国际组织、各国政府和广大消费者关注的焦点。根据世界卫生组织(WHO)的估计,全球每年发生食源性疾病约10亿人次。在食源性疾病危害因素中,微生物性食物中毒仍是首要危害。沙门氏菌是世界上引发食源性疾病最常见的病原菌,也是全球报告最多的、公认食源性疾病的首要病原菌。根据FAO/WHO微生物危险性评估专家组织报告的资料,沙门氏菌在各国发病率分别为:澳大利亚每10万人中38例,德国每10万人中120例,日本每10万人中73例,荷兰每10万人中16例,美国每10万人中14例。而近年来空肠弯曲菌引起疾病的危险性在国际范围内受到广泛关注,很多发达国家,如美国、丹麦、芬兰、爱尔兰、荷兰、瑞典、瑞士、英国等,都有空肠弯曲菌病流行的报道。在我国沿海地区和大部分内地省区,副溶血性弧菌引起的食物中毒已跃居沙门氏菌之上,其次是葡萄球菌肠毒素、变形杆菌、蜡样芽孢杆菌、致病性大肠埃希氏菌等。

药品是特殊商品,药品质量直接关系到用药者的安全和疗效。药品的生物测定是药品质量的重要组成部分,药品污染微生物不仅直接影响药品的有效性,而且更有可能危及用药者的生命安全。近几年我国出现了很多药品安全问题,许多都与微生物安全指标有关。对药品的生物测定可以反映药品生产工艺的科学性、合理性及质量管理水平。

四、微生物检验的目的、意义和任务

1. 微生物检验的定义

微生物检验是基于微生物学的基本理论,利用微生物检验技术,根据各类产品卫生标准的要求,研究产品中微生物的种类、性质、活动规律等,用以判断产品卫生质量的一门应用技术。

2. 微生物检验的目的

微生物检验的目的为生产安全、卫生、合格、符合标准的食品药品提供科学依据。

3. 微生物检验的意义

食品与药品是人类赖以生存所必需的物质之一,是保证人类生存和身体健康的基本要求。随着人们生活水平的提高,食品药品安全逐渐成为政府和民众关注的焦点。食品药品微生物检验是食品安全监测必不可少的重要组成部分,在众多食品药品安全相关项目中,微生物及其产生的各类毒素引发的污染备受重视。在食品药品加工过程中,微生物常常会随原料的生产、成品的加工、包装与制品贮运进入食品药品中,造成食品药品污染,影响消费者与患者的安全。微生物超标,食品会在短期内变质,失去食用价值,严重的还可能产生毒素,对人体造成伤害。药品污染的严重后果,若注射了被微生物污染了的针剂会导致局部感染、菌血症或败血症;使用了受污染的软膏或乳膏会引起皮肤和黏膜感染;服用了受沙门氏菌等致病菌污染的制剂会导致肠道传染病的发生和流行,甚至发生化学和物理化学变化而变质,使药品失效或产生毒害作用。因此,食品药品微生物检验工作就成为保证食品药品安全可靠的重要手段。



1)食品药品微生物检验既是衡量食品和药品卫生质量的重要指标,又是判定被检食品或药品能否使用的科学依据。

2)食品药品微生物检验有助于判断食品和药品加工原料、生产环境卫生情况,以及对成品被污染的程度作出正确的评价,为卫生管理工作提供科学依据。

3)微生物检验贯彻“预防为主”的卫生方针,可以有效地防止或减少食物中毒、药品毒害、人畜共患病的发生,保障人民的身体健康。

4)对原材料、生产过程、产品环境等各个环节进行监测,保证产品的质量,避免经济损失,保证出口等方面具有重要意义。

4.微生物检验的基本任务

1)研究各类产品的样品采集、运送、保存及预处理方法,提高检出率。

2)根据各类产品的卫生标准要求,选择适合不同产品、针对不同检测目标的最佳检测方法,探讨影响产品卫生质量的有关微生物的检测、鉴定程序以及相关质量控制措施;利用微生物检验技术,正确进行各类样品的检验。

3)正确、快速检测影响产品卫生质量的有关微生物,正确使用自动化仪器,并认真分析检验结果,评价试验方法。

4)及时对检验结果进行统计、分析、处理,并及时准确地进行结果报告。

5)对影响产品卫生质量及人类健康的相关环境的微生物进行调查、分析与质量控制。

五、检验对象

1)食品的微生物学检验:

我国前卫生部颁布的食品微生物指标有菌落总数、大肠菌群和致病菌三项。

2)化妆品的微生物学检验:

目前我国对进出口化妆品规定一律按《化妆品卫生规范》进行检验。

3)药品的微生物学检验:

药品的微生物检验包括药品无菌检查、微生物限度检查,采用药典规定的方法进行检测。

4)一次性用品及其他生活用品的微生物学检验:

检测项目包括菌落总数、真菌总数、大肠菌群和致病菌的检测。

5)应实施检疫的出口动物产品的微生物学检验。

6)环境的微生物学检测。

7)有关国际条约或其他法律、法规规定的强制性卫生检验的进出口商品,应按要求进行相关微生物学检验。

六、微生物检验的发展趋势

传统的微生物检验以分离纯化培养为基础,在细胞水平上,从形态特征、生化反应、生态学特征,以及血清学反应、对噬菌体的敏感性等诸方面鉴别微生物。

目前我国食品药品卫生微生物学检验机构所采用的常规检测方法主要是传统的培养法,如平皿培养法、发酵法等,然后进行菌落计数、形态结构观察、生化试验、血清学分型、噬菌体分型、毒性试验、血清凝聚等。这些检测程序存在操作繁琐、费时、手工操作为主、卫生

指导反馈慢等缺点,不能满足产品生产、流通和消费的需求。

现代微生物检验融合了微生物学、生理学、生物化学、免疫学、分子生物学等学科的最新理论和先进技术,把对微生物的鉴别深入到了遗传学特性的测定、细胞组分的精确分析、利用电子计算机进行数值分类研究等新领域,使微生物检验技术向快速、灵敏、特异的方向发展。

近年来,随着分子生物学和微电子技术的发展,快速、准确、特异检测微生物的新技术、新方法不断涌现,微生物检测技术由培养水平向分子水平迈进,并向仪器化、自动化、标准化方向发展,从而提高了微生物检测工作的效率、准确度和可靠性。



学习情境一 微生物检验基础技术

项目一 常用仪器设备的准备与消毒灭菌

【知识目标】

- 1)掌握消毒、灭菌等概念。
- 2)掌握不同消毒灭菌方法的工作原理及适用范围。
- 3)掌握玻璃器皿的洗涤与包扎方法。

【能力目标】

- 1)能进行微生物检验前的玻璃器皿等物品准备。
- 2)能够根据工作目标选择合理的消毒灭菌方法。
- 3)能够熟练掌握几种常用的消毒灭菌技术,完成工作任务。

【素质目标】

能够根据处理对象和处理目的选择合理的消毒灭菌方法,增强实验室安全意识,正确、规范地使用仪器设备。

【案例导入】

1998年4月至5月,××市妇儿医院发生了严重的医院感染暴发事件,给患者带来痛苦和损害,造成重大经济损失,引起社会各界和国内外的强烈反响。现将有关情况通报如下:

该院1998年4月3日至5月27日,共计手术292例,截至8月20日,发生感染166例,切口感染率为56.85%。事件发生后,××市妇儿医院未及时向上级卫生行政部门报告,在自行控制措施未果、感染人数多达30余人的情况下,才于5月25日报告××市卫生局。××市卫生局指示停止手术,查找原因。

经××市卫生局、××省卫生厅组织国内外有关专家的积极治疗,目前大部分患者伤口闭合,对其余患者的治疗和对全部手术病的追踪观察仍在继续进行中。××市卫生局对有关责任人进行了严肃处理,院长××被免去院长职务,直接责任人主管药师××被开除公职,其他有关人员由医院进行处理。

此次感染是以龟型分枝杆菌为主的混合感染,感染原因是浸泡刀片和剪刀的戊二醛因

配制错误未达到灭菌效果。该院长期以来,在医院感染管理和控制方面存在着严重漏洞。这是这次感染人数多、后果严重的医院感染暴发事件发生的根本原因。

任务1 常用玻璃器皿的清洗、包扎与消毒

一、任务目标

- 1)学会玻璃器皿的无害化处理、洗涤、包扎、灭菌等准备工作。
- 2)掌握玻璃器皿的洗涤方法。
- 3)掌握微生物接种所用的接种工具种类。
- 4)熟悉玻璃器皿灭菌的原理及方法。

二、任务相关知识

1.玻璃器皿的循环使用过程(见图 1-1)

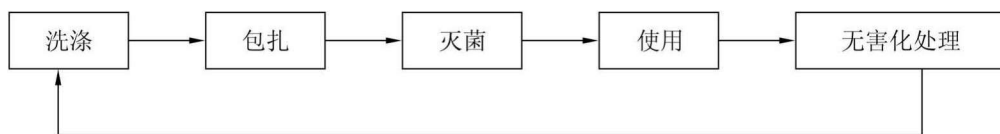


图 1-1 玻璃器皿的循环使用过程

2.玻璃器皿的无害化处理及洗涤

微生物学实验中常用的培养皿、试管和三角瓶等玻璃器皿的洗涤、消毒质量,直接影响实验结果,因此,这项工作不容忽视。

(1)新购置的玻璃器皿的洗涤法

因含有游离碱,一般在 2% 的盐酸溶液中浸泡数小时后再用清水洗净,也可在洗衣粉水中煮 30~60min,取出用清水洗净。

(2)带菌玻璃器皿的洗涤法

经 121℃ 高压蒸汽灭菌 20min 后,趁热倒去内容物,再用洗衣粉水刷洗干净,以水在内壁均匀分布成一薄层而不出现水珠为油污除尽的标准。

(3)含有琼脂培养基的玻璃器皿的洗涤法

先用小刀或铁丝将器皿中的琼脂培养基刮下。如果琼脂培养基已经干燥,可将器皿放在水中蒸煮,使琼脂融化后趁热倒出,用水洗涤,并用刷子蘸肥皂擦洗内壁,然后用自来水洗去肥皂。是否已将油污完全除去,可以这样检查:即将瓶子或试管的外壁擦干,如果水在内壁均匀地分布一薄层,可以认为是将油污除去了。如果经过这样洗涤的器皿,油污还未洗净,就需用洗涤液来清洗。

经过这样洗涤的器皿可盛一般实验的培养基和无菌水等。如果器皿要盛高纯度的化学药品或者做较精确的实验,在自来水洗涤之后,还需用蒸馏水淋洗 3 次,烘干备用。

盛用液体培养物的器皿,应先将培养物倒在废液缸中,然后按上法洗涤。切忌将培养液倒入洗涤槽中,否则会逐渐阻塞下水道。



(4) 载玻片及盖玻片的洗涤法

新的载玻片和盖玻片先在 2% 的盐酸溶液中浸 1h, 然后用自来水冲洗 2~3 次, 最后用蒸馏水换洗 2~3 次。也可用 1% 的洗衣粉洗涤, 新载玻片用洗衣粉洗涤时, 先将洗衣粉液煮沸, 然后将要洗的新载玻片散入煮沸液中, 持续煮沸 15~20min (注意煮沸液一定要浸没玻片, 否则会使玻片钙化变质), 待冷却后用自来水冲洗至中性。新盖玻片用洗衣粉洗涤时, 将盖玻片散入 1% 的洗衣粉液中, 煮沸 1min, 待沸点泡平下后, 再煮沸 1min, 如此 2~3 次 (如煮沸时间过长会使玻片钙化变白且变脆易碎)。待冷却后用自来水冲洗干净。

用过的载玻片和盖玻片, 应用纸擦去油污, 再放在 5% 的肥皂水 (或 1% 的苏打液) 中煮, 10min 后, 立即用自来水冲洗, 然后放在洗涤液 (注意用稀配方洗液) 浸泡 2h, 再用自来水冲洗至无色为止。如用洗衣粉洗涤, 也须先用纸擦去油污, 然后将玻片浸入洗衣粉液中, 方法同新载玻片洗衣粉液洗涤法, 只不过时间要长些 (30min 左右)。

(5) 带油污玻璃器皿的洗涤法

先将倒空的玻璃器皿用 10% 的氢氧化钠溶液中浸泡 0.5h 或放在 5% 的苏打液内煮 2 次, 去掉油污, 再用洗衣粉和热水刷洗。

(6) 吸管的清洗

吸管的洗涤比较困难, 可先用细铁丝将管口的棉塞捅出, 接着将其浸泡于 5% 热肥皂水中, 在细铁丝的一端缠上少许棉花或纱布, 在管中来回移动, 以除去管内的油渍和污垢, 然后用洗耳球一吸一挤反复冲洗数次, 再用清水和蒸馏水反复冲洗数次, 倒立于垫有纱布的金属丝筛中干燥。

经以上处理的玻璃器皿, 可满足一般实验之用。少数实验对玻璃器皿清洁度要求较高, 除用上述方法外, 还应先用 2% 的 HCl 溶液浸泡数十分钟, 再用自来水冲洗, 用蒸馏水淋洗 2~3 次。有的尚需超纯水淋洗然后烘干备用。

此外, 正确掌握棉塞的制作和包装技巧也是从事微生物学实验工作的重要基础。由于微生物分布广泛, 所以在进行环境中的微生物监测时, 必须排除监测工作各环节使用的器皿和溶液所含微生物对监测结果的干扰。

3. 接种工具的使用

接种环, 也叫白金耳或铂耳, 是微生物工作中接种分离或挑取菌落菌液不可缺少的工具。它由金属丝和接种柄两部分组成, 金属丝安插在接种柄上, 最好用铂丝, 因为铂的化学稳定性最好, 且散热和吸热快。铂丝昂贵, 故而也可用市售的镍铬丝或电炉丝代替。金属丝长 60~80mm, 一端制成直径 2~4mm 的圆环, 不可有缺口, 否则不易蘸取液体材料, 另一端装在接种柄上。接种柄多为铝质并装有塑料握套。

在接种柄上安插一根金属丝, 称接种针; 安插一个金属钩, 称接种钩; 在固体培养基表面要将菌液均匀涂布则需要用到涂布棒。接种环、接种针、接种钩、玻璃涂布棒等接种工具如图 1-2 所示。

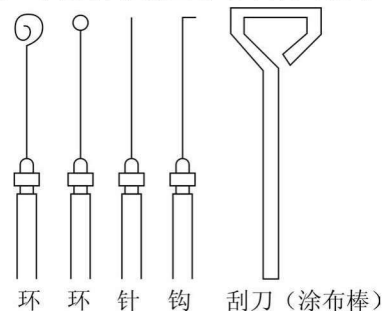


图 1-2 接种工具

三、任务所需器材

1) 仪器: 烘箱、电热鼓风干燥箱。

2) 玻璃器皿: 培养皿($\varnothing 90\text{mm}$)、试管($180\text{mm} \times 18\text{mm}$)、小倒管、移液管(1mL 和 10mL)、锥形瓶(250mL)、广口试剂瓶(250mL)等。

3) 其他物品: 量杯、记号笔、纱布、全脂棉花、棉线、报纸(或牛皮纸)等。

以上器材均是为细菌菌落总数、总大肠菌群、耐热大肠菌群、大肠埃希氏菌等项目的检测作准备,数量根据所测样品数确定。

四、任务技能训练

微生物检验中的各种玻璃器皿常常需要作灭菌处理,为了使其灭菌后仍能保持无菌状态,在灭菌之前必须对需灭菌的器皿进行包扎。

(一) 物品的准备

1. 培养皿的包扎

一套培养皿由一底一盖组成,洗净、干燥后,每 10 套(也可少一些,但不要太多,以免不便放入烘箱或不便包扎)叠放在一起,用报纸(或牛皮纸)包好,如图 1-3 所示。包装后的培养皿须经过灭菌后才能使用,而灭菌后的培养皿,使用时才能打开牛皮纸,以免微生物再次污染。



图 1-3 培养皿的包扎方法

2. 吸管的包扎

用细铁丝将少许棉花塞入吸管的吸端,在距管口 0.5cm 处构成 1~1.5cm 疏松的棉塞(避免外界杂菌吸入管内)。棉塞要塞得松紧适宜,保证通气良好又不会滑入管内。将吸管的尖端,放在 4~5cm 宽的长纸条的一端,使管与纸条成 $20^{\circ} \sim 30^{\circ}$ 的夹角,折叠包装纸包住尖端,左手压紧吸管,在桌面上向前搓转,以螺旋式包扎起来,余下的纸条折叠打结,准备灭菌。根据实验所需,可单支也可多支包扎,如图 1-4 所示。