



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

全国高等医药院校药学类实验双语教材

QUANGUO GAODENG YIYAO YUANXIAO YAOXUELEI

SHIYAN SHUANGYU JIAOCAI

微生物学实验与指导

(第二版)

[主编 周长林]

EXPERIMENT AND
GUIDE FOR
MICROBIOLOGY

(SECOND EDITION)



中国医药科技出版社



教育部高等学校生物类专业教学指导委员会

全国高等学校生物类专业教学指导委员会

全国高等学校生物类专业教学指导委员会

全国高等学校生物类专业教学指导委员会

微生物学实验与指导

第2版

王 健

教育部高等学校生物类专业教学指导委员会
全国高等学校生物类专业教学指导委员会
微生物学实验与指导
第2版



中国农业大学出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材
全国高等医药院校药理学类实验双语教材

微生物学实验与指导

(第二版)

Experiment and Guide for Microbiology

(Second Edition)

主 编 周长林
副主编 陈向东 徐旭东 苏 昕
编 委 (以姓氏笔画为序)
马晓楠 (沈阳药科大学)
张文军 (广东药学院)
苏 昕 (沈阳药科大学)
周长林 (中国药科大学)
陈向东 (中国药科大学)
徐旭东 (东南大学)
窦 洁 (中国药科大学)



中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书是全国高等医药院校药理学类实验双语教材之一。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、免疫学和药理学微生物学实验技术。本书可供高等医药院校药理学类专业微生物学实验教学使用，同时可供药品质量检验人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物学实验与指导/周长林主编. —2版. —北京: 中国医药科技出版社, 2010. 1

全国高等医药院校药理学类实验双语教材. 普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 978 - 7 - 5067 - 4331 - 0

I. 微… II. 周… III. 微生物学 - 实验 - 双语教学 - 医学院校 - 教材 IV. Q93 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 142506 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行: 010 - 62227427 邮购: 010 - 62236938

网址 www: cmstp. com

规格 787 × 1092mm $\frac{1}{16}$

印张 22 $\frac{3}{4}$

字数 493 千字

初版 2004 年 1 月第 1 版

版次 2010 年 1 月第 2 版

印次 2010 年 1 月第 2 版第 4 次印刷

印刷 北京地泰德印刷有限责任公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4331 - 0

定价 42.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校药理学类规划教材常务编委会

名誉主任委员 吴阶平 蒋正华 卢嘉锡
名誉副主任委员 邵明立 林蕙青
主任委员 吴晓明 (中国药科大学)
副主任委员 吴春福 (沈阳药科大学)
姚文兵 (中国药科大学)
吴少楨 (中国医药科技出版社)
刘俊义 (北京大学药学院)
朱依淳 (复旦大学药学院)
张志荣 (四川大学华西药学院)
朱家勇 (广东药学院)

委 员 (按姓氏笔画排列)

王应泉 (中国医药科技出版社)
叶德泳 (复旦大学药学院)
刘红宁 (江西中医学院)
毕开顺 (沈阳药科大学)
吴 勇 (四川大学华西药学院)
李元建 (中南大学药学院)
李 高 (华中科技大学同济药学院)
杨世民 (西安交通大学药学院)
陈思东 (广东药学院)
姜远英 (第二军医大学药学院)
娄红祥 (山东大学药学院)
曾 苏 (浙江大学药学院)
程牛亮 (山西医科大学)
罗向红 (沈阳药科大学)
徐晓媛 (中国药科大学)
浩云涛 (中国医药科技出版社)
高鹏来 (中国医药科技出版社)

秘 书

罗向红 (沈阳药科大学)
徐晓媛 (中国药科大学)
浩云涛 (中国医药科技出版社)
高鹏来 (中国医药科技出版社)

出版说明

全国高等医药院校药学类专业规划教材是目前国内体系最完整、专业覆盖最全面、作者队伍最权威的药学类教材。随着我国药学教育事业的快速发展,药学及相关专业办学规模和水平的不断扩大和提高,课程设置的不断更新,对药学类教材的质量提出了更高的要求。

全国高等医药院校药学类规划教材编写委员会在调查和总结上轮药学类规划教材质量和使用情况的基础上,经过审议和规划,组织中国药科大学、沈阳药科大学、广东药学院、北京大学药学院、复旦大学药学院、四川大学华西药学院、北京中医药大学、西安交通大学药学院、山东大学药学院、山西医科大学药学院、第二军医大学药学院、山东中医药大学、上海中医药大学和江西中医学院等数十所院校的教师共同进行药学类第三轮规划教材的编写修订工作。

药学类第三轮规划教材的编写修订,坚持紧扣药学类专业本科教育培养目标,参考执业药师资格准入标准,强调药学特色鲜明,体现现代医药科技水平,进一步提高教材水平和质量。同时,针对学生自学、复习、考试等需要,紧扣主干教材内容,新编了相应的学习指导与习题集等配套教材。

本套教材由中国医药科技出版社出版,供全国高等医药院校药学类及相关专业使用。其中包括理论课教材 82 种,实验课教材 38 种,配套教材 10 种,其中有 45 种入选普通高等教育“十一五”国家级规划教材。

全国高等医药院校药学类规划教材

编写委员会

2009年8月1日

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“十一五”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科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。

国家十一五规划教材——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。

吴峻明

(中国药科大学校长、博士、教授、博士生导师)

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 "the Eleventh Five-Year Plan" 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 pre-

scribed 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 "the Eleventh Five-Year Plan" 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

第二版前言

本书是全国高等医药院校药学类实验双语教材之一，供药学专业微生物学实验教学使用。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。其中第一部分由马晓楠老师编写，第二部分由周长林老师编写，第三部分由马晓楠和苏昕老师编写，第四部分由徐旭东老师编写，第五部分由张文军老师编写，第六部分由陈向东老师编写，第七部分由窦洁老师编写，第八部分由苏昕和窦洁老师编写。

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。

本书是编写教师多年教学实践的结晶，具有药学专业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。

编者
2009年8月

Preface to the Second Edition

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 was written by Xiaonan Ma, part two was written by Changlin Zhou, part three was written by Xiaonan Ma and Xin Su, part four was written by Xudong Xu, part five was written by Wenjun Zhang, part six was written by Xiangdong Chen, part seven was written by Jie Dou, and part eight were written by Xin Su and Jie Dou.

Each experiment was organized by purpose, principle, 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 pharmaceutical inspectors.

This is the crystallization of collective wisdom of teachers participating in the work accumulated in their 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.

Editors
Aug, 2009

目 录

Contents

第一部分 显微技术	(1)
PART ONE Microscopic Techniques	
实验一 明视野光学显微镜	(1)
1 Bright - Field Light Microscope	(5)
实验二 暗视野光学显微镜	(10)
2 Dark - Field Light Microscope	(12)
实验三 相差光学显微镜	(14)
3 Phase - Contrast Light Microscope	(16)
实验四 电子显微镜	(18)
4 Electron Microscope	(20)
第二部分 微生物形态学	(22)
PART TWO Microbial Morphology	
实验五 细菌单染色法	(22)
5 Simple Stain	(26)
实验六 细菌革兰染色法	(29)
6 Gram' s Stain	(32)
实验七 芽孢染色法	(34)
7 Spore Stain	(37)
实验八 荚膜染色法	(39)
8 Capsule Stain	(41)
实验九 鞭毛染色法	(43)
9 Flagella Stain	(44)
实验十 螺旋体的染色和形态观察	(46)
10 Spirochetes Morphology	(47)
实验十一 悬滴法观察细菌的动力	(49)
11 Observation of Bacterial Motion with Hanging Drop	(51)
实验十二 酵母菌的形态结构观察	(53)
12 Yeast Morphology	(55)
实验十三 微生物细胞大小测定	(57)
13 Determination of the Size of Microorganisms	(60)
实验十四 放线菌、霉菌的菌丝和孢子形态观察	(63)

14 Morphology of Mycelia and Spore for Actinomycetes and Molds	(65)
实验十五 细菌、放线菌、酵母菌和霉菌的菌落特征观察	(67)
15 Colony Characteristics of Bacteria, Actinomycetes, Yeast and Molds	(69)
第三部分 基本实验操作与培养技术	(71)
PART THREE Basic Laboratory and Culture Techniques	
实验十六 培养基的配制与灭菌	(71)
16 Culture Media Preparation and Sterilization	(73)
实验十七 接种技术与微生物的分离纯化	(76)
17 Culture Transfer Techniques and Isolation of Pure Cultures	(81)
实验十八 常用的消毒灭菌方法	(85)
18 Commonly Used Sterilization and Disinfection Methods	(87)
实验十九 菌种保藏	(90)
19 Preservation of Pure Cultures	(95)
实验二十 微生物计数法	(101)
20 Counting of Microorganisms	(106)
实验二十一 细菌的生长曲线测定	(110)
21 Bacterial Growth Curve	(112)
第四部分 细菌的生理生化反应	(115)
PART FOUR Biochemical Tests of Bacteria	
实验二十二 淀粉水解和明胶液化试验	(115)
22 Hydrolysis of Starch and Protein	(117)
实验二十三 糖发酵试验	(120)
23 Utilization of Carbohydrates	(122)
实验二十四 IMViC 试验	(124)
24 IMViC Series	(127)
实验二十五 硫化氢产生试验和触酶试验	(131)
25 Hydrogen Sulfide Production and Catalase Test	(133)
实验二十六 淀粉酶和脲酶试验	(135)
26 Amylase and Urease Test	(137)
实验二十七 硝酸盐还原试验	(139)
27 Nitrate Reduction Test	(141)
实验二十八 石蕊牛乳试验	(143)
28 Litmus Milk Test	(144)
第五部分 病毒学实验	(145)
PART FIVE Experiments for Virology	
实验二十九 流感病毒的培养与检测	(145)
29 Culture and Detection of Influenza Virus	(148)
实验三十 噬菌体分离和效价测定	(151)
30 Isolation and Titer Detection of Bacteriophage	(154)

实验三十一 噬菌体的一步生长曲线	(157)
31 One - Step Growth Curve of Bacteriophage	(159)
第六部分 微生物遗传学实验	(161)
PART SIX Experiments for Microbial Genetics	
实验三十二 微生物的遗传与变异现象	(161)
32 Heredity and Variation of Microorganism	(164)
实验三十三 微生物的抗药性变异	(168)
33 Drug Resistant Variation	(171)
实验三十四 营养缺陷型菌株的诱变和筛选	(174)
34 Mutagenesis and Isolation of Auxotroph	(178)
实验三十五 Ames 试验检测化学诱变剂	(183)
35 Ames Test: A Bacterial Test System for Detecting Mutagens and Carcinogens	(186)
实验三十六 抗药质粒接合传递实验	(191)
36 Bacterial Conjugation: The Transfer of Antibiotic - Resistant Plasmids	(193)
实验三十七 抗药质粒 DNA 的分离及检测和细菌转化	(196)
37 Isolation and Characterization of Plasmid DNA and Bacterial Transformation ...	(199)
实验三十八 细菌转导 (局限性转导)	(204)
38 Bacterial Transduction	(207)
实验三十九 枯草芽孢杆菌原生质体形成和再生	(211)
39 Formation and Regeneration of <i>Bacillus subtilis</i> Protoplast	(213)
第七部分 免疫实验	(216)
PART SEVEN Experiments for Immunology	
实验四十 抗原与免疫血清的制备	(216)
40 Preparation of Antigen and Antiserum	(219)
实验四十一 吞噬细胞功能的测定	(222)
41 Assay of the Function of Phagocytes	(225)
实验四十二 体液因子的免疫功能测定	(228)
42 Assay of the Function of Humoral Immune Factor	(230)
实验四十三 适应性体液免疫检测——凝集反应和沉淀反应	(233)
43 Humoral Acquired Immune——Agglutination Reaction, Precipitation Reaction	(238)
实验四十四 体液免疫——免疫标记技术	(243)
44 Humoral Immune——Immunolabelling Technique	(245)
实验四十五 细胞免疫检测——体外试验	(248)
45 Cellular Immune Test—— <i>in vitro</i>	(251)
实验四十六 细胞免疫——体内实验	(254)
46 Cellular Immune —— <i>in vivo</i>	(256)
实验四十七 细胞因子检测	(258)

47	Detection of Cytokines Levels	(260)
实验四十八	免疫调节药物的研究	(262)
48	The Research of Immunomodulatory Drugs	(265)
第八部分	药学微生物学实验	(269)
PART EIGHT General Microbial Experiments in Pharmaceutics		
实验四十九	土壤中抗生素产生菌的分离	(269)
49	Isolation of Antibiotic - Producing Actinomycetes from Soil	(273)
实验五十	药物的体外抗菌试验	(277)
50	Determination of Antimicrobial Activity <i>in vitro</i>	(282)
实验五十一	抗生素效价测定	(288)
51	Biological Assay of Antibiotics	(292)
实验五十二	药物无菌检查法	(296)
52	Sterility Test of Drugs	(300)
实验五十三	微生物限度检查法	(304)
53	Microbial Limit Test	(309)
实验五十四	药物对流感病毒抑制作用的研究	(314)
54	Drugs Inhibition to Influenza Virus	(316)
附录	(319)
I.	常用无菌玻璃仪器的准备和废品处理.....	(319)
II.	教学用菌种.....	(319)
III.	培养基.....	(320)
IV.	染色液的配制.....	(326)
V.	试剂及缓冲液配制	(327)
APPENDIX	(328)
I.	Sterilization of Glass Apparatus and Treatment of Waste	(328)
II.	Microorganisms	(328)
III.	Culture Media	(329)
IV.	Staining Solutions	(336)
V.	Solutions and Buffers	(337)
Words and Vocabulary	(338)
参考文献 (References)	(350)

第一部分 显微技术

微生物学的研究对象是肉眼无法直接分辨的微小生物，正是由于微生物的这个特性，使得显微镜成为这个学科中最为重要的工具之一。相应的，显微镜的工作原理和如何制备标本也是必须掌握的实验技能。第一部分将重点讲述前者，从最常用的明视野光学显微镜入手，讲述了光学显微镜的构造、原理及其使用方法，这其中也涵盖了暗视野光学显微镜和相差光学显微镜。在第一部分的最后又简单介绍了比光学显微镜更为有效的电子显微镜，这种显微镜主要用于观察微生物的详细内部结构和病毒的结构。

实验一 明视野光学显微镜

【实验目的】

1. 熟悉明视野光学显微镜的结构和工作原理。
2. 掌握明视野光学显微镜的使用方法，尤其是油镜的使用方法。
3. 观察几种微生物染色标本。

【实验原理】

明视野光学显微镜（以下简称“明视野显微镜”）是最常用的光学显微镜。之所以叫它“明视野”，是因为它就像你现在所看到的本页书上的文字一样，能够在较亮的背景下形成一个比较暗的图像。

1. 明视野显微镜的结构

明视野显微镜的基本结构如图 1-1 所示。

- (1) 镜座是显微镜的底座，是支撑显微镜全部重量的部件。
- (2) 镜臂用以支撑载物台和光学镜筒。需要注意的是在搬运显微镜时，需要一手握住镜臂，一手支撑底座。
- (3) 光源位于显微镜的基座上，由开关控制并对其亮度进行调节。显微镜不使用的情况下应将光源关掉。
- (4) 载物台用以放置被检标本，在载物台的中央有一小孔，可以使光线穿过。
- (5) 光圈和聚光器位于载物台下方。聚光器将穿过标本的光线进行汇聚，而光圈则用于调节穿过标本的光线强弱。
- (6) 载物台上装有一对玻片夹，镜检时用来固定标本。
- (7) 较大的粗调节旋钮位于镜壁两侧，用于快速升降载物台，进行粗略调焦，使用时应记住升高或降低载物台的旋钮旋转方向。
- (8) 较小的细调结旋钮用于载物台高度的细微调节，位于粗调节旋钮的中间。