

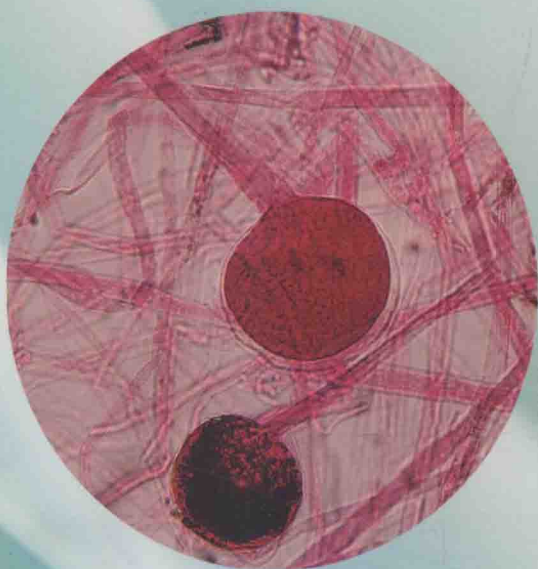
安徽省“十二五”规划教材

高职高专药学类专业实训教材

微生物学与免疫学实训

WEISHENGWUXUE YU MIANYIXUE SHIXUN

曹元应 宇芙蓉 主编



东南大学出版社
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

高职高专药学类专业实训教材

微生物学与 免疫学实训



主 编 曹元应 宇芙蓉

编 者(以姓氏笔画为序)

宇芙蓉(安徽医学高等专科学校)

张文霞(滁州城市职业技术学院)

苏 琰(合肥职业技术学院)

曹元应(安徽医学高等专科学校)

雷 红(皖西卫生职业学院)

楼 研(安徽医学高等专科学校)



东南大学出版社

SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

微生物学与免疫学实训 / 曹元应, 宇芙蓉主编. —
南京: 东南大学出版社, 2014. 2

高职高专药学类专业实训教材 / 王润霞主编

ISBN 978-7-5641-2707-7

I. ①微… II. ①曹… ②宇… III. ①医学微生物学-
-高等教育-教材 ②医学-免疫学-高等教育-
教材 IV. ①R37 ②R392

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 021095 号

微生物学与免疫学实训

出版发行	东南大学出版社
出版人	江建中
社址	南京市四牌楼2号
邮编	210096
经销	江苏省新华书店
印刷	南京工大印务有限公司
开本	787 mm×1 092 mm 1/16
印张	6.25
字数	150 千字
版次	2014 年 2 月第 1 版 2014 年 2 月第 1 次印刷
书号	ISBN 978-7-5641-2707-7
定价	15.00 元

* 本社图书若有印装质量问题, 请直接与营销部联系, 电话: 025—83791830。

高职高专药学类专业实训教材编审委员会

成员名单

主任委员:陈命家

副主任委员:方成武 王润霞 余建华 程双幸

张伟群 曹元应 韦加庆 张又良

王 平 甘心红 朱道林

编委会成员:(以姓氏笔画为序)

王万荣 王甫成 刘 丽 刘 玮

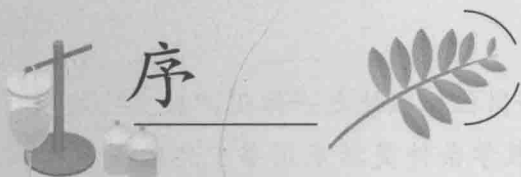
刘修树 闫 波 江 勇 杨冬梅

宋海南 张宝成 范高福 邾枝花

周建庆 俞晨秀 夏成凯 徐 蓉

訾少峰 褚世居

秘 书 组:周建庆 胡中正



《教育部关于“十二五”职业教育教材建设的若干意见》(教职成[2012]9号)文中指出:“加强教材建设是提高职业教育人才培养质量的关键环节,职业教育教材是全面实施素质教育,按照德育为先、能力为重、全面发展、系统培养的要求,培养学生职业道德、职业技能、就业创业和继续学习能力的重要载体。加强教材建设是深化职业教育教学改革的有效途径,推进人才培养模式改革的重要条件,推动中高职协调发展的基础工程,对促进现代化职业教育体系建设、切实提高职业教育人才培养质量具有十分重要的作用。”按照教育部的指示精神,在安徽省教育厅的领导下,安徽省示范性高等职业技术学院合作委员会(A联盟)医药卫生类专业协作组组织全省10余所有关院校编写了《高职高专药学类实训系列教材》(共16本)和《高职高专护理类实训系列教材》(13本),旨在改革高职高专药学类专业和护理类专业人才培养模式,加强对学生实践能力和职业技能的培养,使学生毕业后能够很快地适应生产岗位和护理岗位的工作。

这两套实训教材的共同特点是:

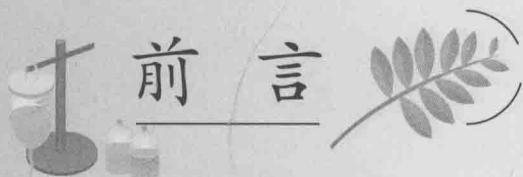
1. 吸收了相关行业企业人员参加编写,体现行业发展要求,与职业标准和岗位要求对接,行业特点鲜明。
2. 根据生产企业典型产品的生产流程设计实验项目。每个项目的选取严格参照职业岗位标准,每个项目在实施过程中模拟职场化。护理专业实训分基础护理和专业护理,每项护理操作严格按照护理操作规程进行。
3. 每个项目以某一操作技术为核心,以基础技能和拓展技能为依托,整合教学内容,使内容编排有利于实施以项目导向为引领的实训教学改革,从而强化了学生的职业能力和自主学习能力。
4. 每本书在编写过程中,为了实现理论与实践有效地结合,使之更具有实践性,还邀请深度合作的制药公司、药物研究所、药物试验基地和具有丰富临床护理经验的行业专家参加指导和编写。

5. 这两套实训教材融合实训要求和岗位标准使之一体化,“教、学、做”相结合。在具体安排实训时,可根据各个学校的教学条件灵活采用书中体验式教学模式组织实训教学,使学生在“做中学”,在“学中做”;也可按照实训操作任务,以案例式教学模式组织教学。

成功组织出版这两套教材是我们通过编写教材促进高职教育改革、提高教学质量的一次尝试,也是安徽省高职教育分类管理和抱团发展的一项改革成果。我们相信通过这次教材的出版将会大大推动高职教育改革,提高实训质量,提高教师的实训水平。由于编写成套的实训教材是我们的首次尝试,一定存在许多不足之处,希望使用这两套实训教材的广大师生和读者给予批评指正,我们会根据读者的意见和行业发展的需要及时组织修订,不断提高教材质量。

在教材编写过程中,安徽省教育厅的领导给予了具体指导和帮助,A联盟成员各学校及其他兄弟院校、东南大学出版社都给予大力支持,在此一并表示诚挚的谢意。

安徽省示范性高等职业院校合作委员会
医药卫生协作组



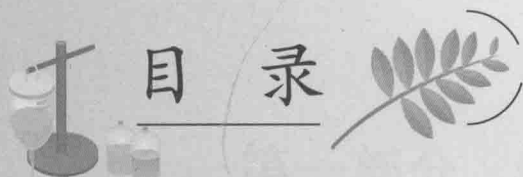
《微生物学与免疫学实训》为药学类专业实训配套教材之一,该书分为微生物学实训与免疫学实训两部分,共 19 个实训。本书在编写上以就业为导向,以学生为主体,注重学生的职业生涯发展,特别是职业素养的培养。教材的编写要为学生终身教育考虑,不仅要注意基础理论、基础知识的传授,更要注重职业素养的培养,包括通用素养,例如良好的工作、劳动习惯的灌输,还有专业素养的培养,即利用专业技能解决实际问题的能力。

全书的 19 个实训内容是按照“课程标准”选择教材内容,根据《微生物学与免疫学》课程在整个“药学专业教学”中的地位、目标,考虑到学生已经具备了前承课程的一些知识与技能,也考虑到后续课程知识与技能的需要,合理确定教材的内容,避免课程相互之间过多的重复和断档,另外对教材内容也及时更新,与职业标准对接,体现出“新知识”、“新技术”、“新工艺”、“新方法”。本书的特点是教材的呈现形式新颖多样、直观明显、交互性强,内容步骤化、图形化、表格化,还增加了“知识拓展”、“思考题”和实训项目的“评分标准”,构思新颖,图文并茂,内容丰富,理论联系实际,提高了学生的学习兴趣和理解能力,是一本好用、实用的实训教科书。

本书是全体编委共同努力、通力合作的结果。鉴于我们学术水平和写作能力有限,书中难免有不足之处,恳切希望广大教师和同学们提出宝贵意见,使其更趋完善。

编者

2014 年 1 月



第一部分 微生物学	(1)
实训一 微生物实训室基础知识及安全防范	(1)
实训二 显微镜的使用	(2)
实训三 细菌的形态及特殊结构的观察	(6)
实训四 细菌的涂片标本制作及革兰染色	(10)
实训五 微生物的分布实验	(14)
实训六 细菌的接种方法及生长现象的观察	(18)
实训七 物理消毒灭菌法	(26)
实训八 化学消毒灭菌法	(32)
实训九 药物敏感试验	(35)
实训十 病原性球菌	(39)
实训十一 肠道杆菌	(45)
实训十二 弧菌	(53)
实训十三 厌氧性细菌	(56)
实训十四 结核分枝杆菌与其他细菌	(61)
实训十五 真菌	(67)
第二部分 免疫学	
实训十六 直接凝集试验(肥达试验)	(71)
实训十七 间接凝集试验	(75)
实训十八 酶联免疫吸附试验(检测 HBsAg)	(80)
实训十九 免疫细胞的检测	(85)



第一部分 微生物学



实训一 微生物实训室基础知识及安全防范



实训目标

实训是本课程的重要组成部分,其目的在于使学生通过实训,验证有关理论,加深对基本理论知识的理解;通过实训操作,学会有关的基本操作技能,树立无菌观念和掌握无菌技术;通过正确地观察和分析实训结果,使学生养成实事求是、严肃认真的科学态度,培养学生独立工作和分析解决问题的能力,为今后学习其他课程和参加临床工作打下良好的基础。



实训室规章

由于本门课的实验材料大多是病原微生物,如操作不慎发生意外,可能造成自身感染或污染环境,因此,必须严格遵守以下规则:

1. 进实训室要穿工作服,离室前脱下并反折,工作服须经常清洗,保持清洁。
2. 非实训用品不准带入实训室,必需的教材和文具带入后要远离操作部位。
3. 实训室内绝对禁止饮食、吸烟,不要用手抚摸头、面部等。
4. 实训室内要保持肃静,禁止高声说话和乱动物品。
5. 实训中一旦发生意外,如划破皮肤,细菌污染桌面、地面、手及衣物时,应立即报告老师及时处理,切勿隐瞒。
6. 凡实训用过的污染物品及器械,如带菌吸管、试管、玻片、培养物等,应放入指定容器内,不得直接清洗或放在桌上。
7. 使用显微镜或其他贵重仪器时,要求细心操作,特别爱护,节约使用实训材料,如损坏实训器材,应向老师报告,酌情处理。
8. 实训完毕,按要求整理实训物品和桌面,打扫卫生,检查水电和门窗。
9. 每次实训的结果,应以实事求是的科学态度填入实训报告中,并连同思考题及时上交教师批阅。
10. 离开实训室前,用肥皂洗手,必要时用消毒液泡手,然后离开实训室。

(宇芙蓉)

实训二 显微镜的使用

实训目标

1. 掌握普通光学显微镜油镜的使用和保护。
2. 了解普通光学显微镜的结构和使用方法。

实训内容

一、实训原理

普通光学显微镜的结构由机械系统和光学系统两部分组成(图 2-1)。机械系统包括镜臂、镜筒、物镜转换器、镜台、调节装置等;光学系统包括目镜、物镜、聚光器、光源等。物镜是光学系统中重要的部件之一,有低倍镜、高倍镜和油镜三种。由于细菌的体积小,必须用油镜头放大才能观察到。

油镜的原理:油镜放大的倍数高,而油镜的透镜小,进入的光线不足,且载玻片和空气的折光率不同,光线经过载玻片和空气的折射后,会发生散射现象,使进入物镜的光线较少,物像不清晰。在载玻片和油镜之间滴加与玻璃折光率($n=1.52$)相近的香柏油($n=1.514$),可减少折射,光照强度增大,视野亮度增强,物像清晰(图 2-2)。

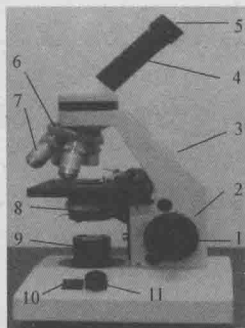


图 2-1 普通光学显微镜结构示意图

1. 细调节器 2. 粗调节器 3. 镜臂 4. 镜筒 5. 目镜 6. 物镜转换器 7. 物镜 8. 聚光器 9. 光源 10. 电源 11. 亮度调节器

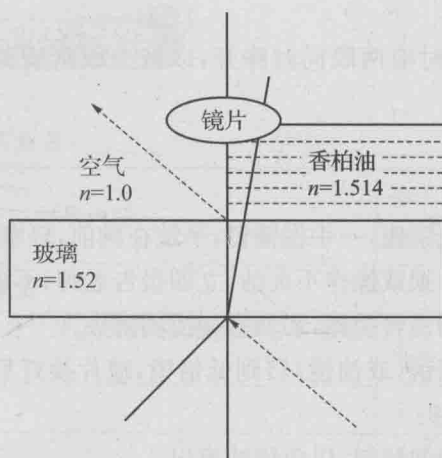


图 2-2 油镜原理示意图

二、实训用物

1. 标本 细菌玻片标本。
2. 仪器 普通光学显微镜。
3. 其他 香柏油、二甲苯、擦镜纸。

三、实训操作

1. 低倍镜、高倍镜的使用

(1) 放置显微镜:将显微镜轻放在平稳的试验桌上,镜座距实验桌边缘几厘米处,目镜对着观察者。调节座位高低,端坐。

(2) 调节光亮:打开电源,将低倍物镜转到工作位置,缩小光圈,下降聚光器,调节光量,至视野内亮度适宜。

(3) 放置标本片:将玻片标本正面朝上放置于载物台上,用固定夹或标本移动器固定,将观察部位移动至低倍镜下。

(4) 调节焦距:缓慢转动粗调节器,发现物像时,改用细调节器调节至物像清楚。

(5) 高倍镜使用:将低倍镜下看清的物像移至视野中央,转换高倍镜至工作位置,调节亮度后,再略微转动细调节器,使看到的物像更加清晰。

2. 油镜的使用

(1) 选定目标:用低倍镜确定观察部位,并移至视野中央。

(2) 转换油镜:在观察区滴加香柏油一滴,转换油镜头。从侧面观察油镜头,缓慢转动粗调节器,待油镜头浸入油滴内为止。

(3) 调节光亮:聚光器上升到最高位,光圈完全打开。

(4) 调节焦距:观察目镜,缓慢转动粗调节器,待看到模糊物像时,再用细调节器调节至物

像清晰。

(5) 观察方法:观察标本时应两眼同时睁开,以减少眼睛疲劳。练习左眼窥镜,右眼记录绘图。

四、实施要点

1. 取送显微镜时,一手托镜座,一手握镜臂,平端在胸前,轻拿轻放。
2. 使用前要检查,发现缺损或操作不灵活,立即报告老师,不可擅自拆卸修理。
3. 转换物镜时,应转动物镜转换器,切勿直接扳动镜头。
4. 更换玻片时,先将高倍镜(或油镜)转到低倍镜,玻片换好后再按标准程序重新对焦,切勿直接抽换标本,以免刮伤镜头。
5. 使用油镜时,载物台切勿倾斜,以免镜油流出。
6. 保持镜头清洁,用擦镜纸擦拭镜头,勿用其他东西擦拭镜头,以免磨损镜面。
7. 油镜使用后,立即用擦镜纸擦去香柏油,若油镜头上的油渍未擦干净,可将少许二甲苯滴在擦镜纸上擦拭镜头,最后再用干净的擦镜纸擦去残留的二甲苯。
8. 显微镜使用擦净后,将物镜转为“八”字形并降低,下降聚光器,送至显微镜室。



思考题

1. 使用油镜时有哪些注意事项?
2. 用油镜观察标本时,为何在载玻片和油镜头之间滴加香柏油?
3. 镜检标本时,为何先用低倍镜观察,不直接用高倍镜或油镜观察?



知识拓展

显微镜的发明:公元 1680 年,一个在荷兰德夫特的市政厅门房干了几十年门卫工作的半老头子,却被当时欧洲乃至世界科技界颇具权威的英国皇家学会吸收为正式会员。接着,英国女王亲笔给他写来了贺信。一时,他从一个最普通、最平凡的人霎时间变成了震惊世界的名人。他的主要业绩,就是经过自己几十年坚韧不拔的努力和探索,发明了世界医学史上第一架帮助人类认识自然、驾驭自然、打开微观世界大门的显微镜,从此,他的这一业绩时时深刻地影响着人类的生命和生活。这个令世界震惊的小人物就是 1632 年出生于荷兰德夫特一个普通工匠家庭而后成为荷兰著名微生物学家的列文虎克。

显微镜的使用评分标准

班级: _____ 姓名: _____ 学号: _____ 得分: _____

项 目	评价内容	分 值	评分等级及分值			扣分依据
			A	B	C	
实验素质	仪表端庄,工作服整洁	5	5	4~3	2~0	
	安静有序提前 5 分钟进入实验室,不携带与实验无关物品	5	5	4~3	2~0	
实验态度	认真听讲	3	3	2	1~0	
	细心观察示教过程	3	3	2	1~0	
	操作认真,规范	4	4	3	2~0	
操作过程	操作前 搬移显微镜时手法正确,认真检查显微镜	5	5	4~3	1~0	
	操作前 操作台准备:台面清洁、无杂物、光线充足	2	2	1	0	
	操作前 物品准备:备齐用物(少备一种扣 1 分)	3	3	2	1~0	
	操作中 端坐,观察标本时左眼窥镜,右眼记录绘图	3	3	2	1~0	
	操作中 根据需要缩放光圈,升降聚光器,调节光量	7	7	6~4	3~0	
	操作中 通过转动物镜转换器来转换物镜	10	10	9~5	4~0	
	操作中 转换油镜时,侧面观察油镜头,缓慢转动粗调节器,待油镜头浸入油滴内	10	10	9~5	4~0	
	操作中 使用油镜时,聚光器上升到最高位,光圈完全打开	5	5	4~3	2~0	
	操作中 油镜使用后,正确处理油镜头	5	5	4~3	2~0	
	操作中 显微镜擦净后,物镜转为“八”字形并降低,下降聚光器	5	5	4~3	2~0	
	操作中 操作过程井然有序,安静	5	5	4~3	2~0	
	操作后 整理操作台、实验器材物归原处、摆放整齐	3	3	2	1~0	
	操作后 使用后的废物分类处置,放入指定地方	2	2	2	1~0	
	操作后 认真检查显微镜,搬移手法正确,送至显微镜室	3	3	2	1~0	
	操作后 清扫地面,整理实验室	2	2	1	0	
评 价	态度端正,操作规范,认真练习	5	5	4~3	2~0	
完成实验报告	认真完成实训结果	5	5	4~3	2~0	
总 分		100				

实验教师签名:

实训时间:

(雷红)

实训三 细菌的形态及特殊结构的观察

实训目标

1. 掌握细菌的特殊结构及其意义。
2. 认识细菌的基本形态。

实训用物

1. 标本 细菌基本形态示教标本、细菌特殊结构示教标本。
2. 仪器 普通光学显微镜。
3. 其他 香柏油、二甲苯、擦镜纸。

实训内容

一、细菌基本形态的观察

(一) 球菌

1. 双球菌 脑膜炎奈瑟菌:革兰染色阴性,红色。菌体呈肾形,凹面相对,成双排列。
2. 链球菌 革兰染色阳性,紫色。菌体呈球形,链状排列,链的长短不一。
3. 葡萄球菌 革兰染色阳性,紫色。菌体呈球形,排列不规则,堆积如葡萄串。

(二) 杆菌

1. 链杆菌 炭疽芽孢杆菌:革兰染色阳性,紫色。菌体呈杆状粗大,两端平齐,排列呈竹节状。
2. 棒状杆菌 白喉棒状杆菌:美兰染色。菌体呈棒状,一端或两端膨大,排列不规则,菌体内可见异染颗粒。
3. 分支杆菌 结核分枝杆菌:抗酸染色阳性,红色。菌体细长微弯,单个或分枝状排列。

(三) 螺形菌

- 弧菌 霍乱弧菌:革兰染色阴性,红色。油镜下菌体微弯,呈弧形或逗点状。



二、细菌特殊结构的观察

1. 荚膜 肺炎链球菌:荚膜染色。菌体呈紫色,菌体周围的荚膜呈淡紫色或无色。视野中可见成双排列或短链状排列。

2. 鞭毛 伤寒沙门菌:鞭毛染色。菌体周围有鞭毛,菌体着色比鞭毛深。视野中可见脱落的鞭毛。

3. 芽孢 破伤风芽孢梭菌:革兰染色阳性。菌体呈鼓槌状,紫色。芽孢为无色透光区,位于菌体的顶端,圆形,直径大于菌体的宽度。



实施要点

一、正确使用油镜观察细菌的形态和特殊结构

二、细菌基本形态的观察

1. 球菌 应注意细菌的染色性、大小、形态、排列方式。

2. 杆菌 应注意细菌的染色性、大小、形态、菌端的形态、排列方式。

3. 弧菌 应注意细菌的染色性、大小、形态、排列方式。

三、细菌特殊结构的观察

1. 荚膜 应注意荚膜的染色、形状、大小、位置。

2. 鞭毛 应注意鞭毛的染色、形态、长度、大小、数目、位置。

3. 芽孢 应注意芽孢的染色、形状、直径大小、位置。



思考题

1. 简述细菌的特殊结构及其意义。
2. 记录镜下观察细菌的基本形态(见表 3-1)。

表 3-1 细菌的基本形态

细菌	染色性	镜下形态	镜下排列方式
脑膜炎奈瑟菌			
链球菌			
葡萄球菌			
炭疽芽孢杆菌			



续表 3-1

细菌	染色性	镜下形态	镜下排列方式
白喉棒状杆菌			
结核分枝杆菌			
霍乱弧菌			

- 3. 绘出细菌的基本形态示意图。
- 4. 绘出细菌的特殊结构示意图。



知识拓展

细菌的特殊结构包括荚膜、鞭毛、菌毛和芽孢。

荚膜的作用:保护细菌免受宿主吞噬细胞的吞噬,减少或避免体内溶菌酶、补体、抗菌抗体及抗菌药物等杀菌物质对细菌的损伤,因而是构成细菌致病力的重要因素。荚膜成分具有较强的抗原特异性,据此可对细菌进行鉴别和分型。

鞭毛的功能:鞭毛是细菌的运动器官,也可据此对细菌进行鉴别。根据菌毛的功能,可将菌毛分为普通菌毛和性菌毛。普通菌毛是细菌的黏附结构,细菌可借普通菌毛牢固黏附于易感细胞上,与细菌的致病性密切相关;性菌毛与某些细菌遗传物质的传递有关。

芽孢的功能与作用:芽孢的形状、大小及其在菌体中的位置随菌种不同而异,可用以鉴别细菌;芽孢对各种理化因素都有很强的抵抗力;由于芽孢的抵抗力强,灭菌时,均要以杀灭芽孢为标准。



细菌的形态及特殊结构的观察

班级: _____ 姓名: _____ 学号: _____ 得分: _____

项 目	评价内容	分值	评分等级及分值			扣分依据
			A	B	C	
实验素质	仪表端庄,工作服整洁	5	5	4~3	2~0	
	安静有秩序提前 5 分钟进入实验室,不携带与实验无关物品	5	5	4~3	2~0	
实验态度	认真听讲	3	3	2	1~0	
	细心观察标本	3	3	2	1~0	
	正确使用油镜	4	4	3	2~0	

续表

项 目		评价内容	分 值	评分等级及分值			扣分依据
				A	B	C	
操作过程	操作前 准备	搬移显微镜手法正确,认真检查显微镜	5	5	4	3~0	
		操作台准备:台面清洁、无杂物、光线充足	2	2	1	0	
		准备玻片标本,少备一种扣0.5分	3	3	2	1~0	
	操作中	端坐,观察标本时左眼窥镜,右眼记录绘图	3	3	2	1~0	
		用低倍镜确定观察部位,移至视野中央	7	7	6	5~0	
		通过转动物镜转换器来转换油镜	10	10	9~5	6~0	
		转换油镜时,侧面观察油镜头,缓慢转动粗调节器,待油镜头浸入油滴内	10	10	9~5	4~0	
		使用油镜时,聚光器上升到最高位,光圈完全打开	5	5	4~3	2~0	
		油镜使用后,正确处理油镜头	5	5	4~3	2~0	
		显微镜擦净后,物镜转为“八”字形并降低,下降聚光器	5	5	4~3	2~0	
		观察过程井然有序,安静	5	5	4~3	2~0	
操作后 整理	正确处理玻片标本、实验器材物归原处	3	3	2	1~0		
	使用后的废物分类处置,放入指定地方	2	2	1	0		
	认真检查显微镜,搬移手法正确,送至显微镜室	3	3	2	1~0		
	清扫地面,整理实验室	2	2	1	0		
评 价	态度端正,操作规范,认真练习	5	5	4~2	1~0		
完成实验报告	认真完成实训结果	5	5	4	3~0		
总 分		100					

实验教师签名:

实训时间:

(雷红)