

高职高专“十二五”规划教材

YAOYONG
WEISHENGWU

药用微生物

韩秋菊 主编 李文君 主审



化学工业出版社

高职高专“十二五”规划教材

YAOYONG
WEISHENGWU

药用微生物

韩秋菊 主编 李文君 主审



化学工业出版社

· 北京 ·

本教材依据“教学做”合一的教育理念,以全新的体例格式取代了传统的篇、章、节,将微生物学内容分为认识微生物检验室,微生物形态观察,微生物染色技术,消毒与灭菌,培养基制备技术,接种、分离纯化与培养,微生物分布测定,药物的体外抗菌技术,血清学检测 9 个项目。每个项目由“必备知识”和“任务”两部分构成,全书根据岗位需要或工作过程共设计了 25 个具体任务,任务内容贴近现代生产实际,与职业资格标准对接,实现了项目导向、课堂与实训一体化。

本教材可供高职院校药学、药物制剂技术、生物制药技术、药品质量检测技术、中药制药技术等专业使用,也可作为医药企业的培训教材。

图书在版编目(CIP)数据

药用微生物/韩秋菊主编. —北京:化学工业出版社,
2011.2

高职高专“十二五”规划教材
ISBN 978-7-122-10363-5

I. 药… II. 韩… III. 药理学:微生物学-高等学校:
技术学校-教材 IV. R915

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 003892 号

责任编辑:李植峰

文字编辑:李 瑾

责任校对:顾淑云

装帧设计:张 辉

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装:三河市延风印装厂

787mm×1092mm 1/16 印张 9 $\frac{3}{4}$ 字数 244 千字 2011 年 2 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:20.00 元

版权所有 违者必究

《药用微生物》编写人员

主 编 韩秋菊

副 主 编 王云庆 温 睿

参编人员 (按姓名汉语拼音排序)

白玲玲 (黑龙江农业经济职业学院)

韩璐冲 (首都医科大学附属北京中医医院)

韩秋菊 (黑龙江农垦职业学院)

洪伟鸣 (江苏畜牧兽医职业技术学院)

王 涛 (黑龙江农业职业技术学院)

王云庆 (黑龙江农垦职业学院)

温 睿 (牡丹江大学)

于玲玲 (黑龙江农业经济职业学院)

主 审 李文君 (黑龙江畜牧兽医职业学院)

前言

微生物是医药类专业重要的专业基础课程。本教材是依据医药职业教育的培养目标，以强化职业素质和职业技能为目的编写的，可供高职院校医药类相关专业使用，也可作为医药企业职工的培训教材和参考用书。

本教材编写坚持就业为导向的高职教育目标，弱化微生物学科体系，本着“必需、够用”的原则，遵循学生职业能力发展的基本规律和教育规律，对内容进行科学组合和序化，学做一体化，突出了实用性、技术性、先进性。教材主要内容包括常见微生物的形态、分类、生理生化特性、代谢、遗传变异及菌种选育、培养、保藏的基本知识，微生物在医药工业和药物检查上的应用。通过学习学生可掌握观察微生物的技术、染色技术、培养基的制备与灭菌技术、微生物生长的测定技术及分离纯化技术，熟悉微生物基因突变、遗传的基本规律，并在此基础上理解微生物菌种保藏的基本原理和技术。教材内容同时注意着力培养学生职业能力、良好的职业素质和态度。

全书共有9个项目，项目由“必备知识”及“任务”两部分构成，设有“技能拓展”、“趣味知识”等栏目，每个项目后均有“自我提高”，便于学生巩固及提高。

本教材由韩秋菊主编，王云庆、温睿副主编，其中项目1、项目9由韩秋菊编写；项目2由温睿与韩璐冲联合编写；项目3由温睿编写；项目4、项目5由王玲玲与洪伟鸣联合编写；项目6、项目8由王涛与白玲玲联合编写；项目7由王云庆编写；附录由韩璐冲编写；李文君对全书进行了审定。编写过程参阅了有关微生物学及微生物实验文献资料，特此表示感谢。

由于编者水平有限，时间仓促，书中疏漏之处在所难免，欢迎各位同仁、广大师生在使用过程中批评指正。

编 者

2011年1月

目 录

项目一 认识微生物实验室	1
任务一 认识微生物实验室的布局与要求	1
一、微生物实验室规则	1
二、普通实验室布局与要求	2
三、无菌实验室要求	2
四、常用仪器、设备	3
任务二 常用玻璃器皿及用具的清洗和包扎	5
一、玻璃器皿及用具的清洗	5
二、常用洗涤液的配制与使用	6
三、玻璃器皿的干燥	7
四、玻璃器皿的包扎	7
自我提高	9
项目二 微生物形态观察	10
必备知识 微生物分类及形态特征	10
一、微生物概述	10
二、各类微生物的形态特征	12
三、微生物群体的形态特征	20
任务一 光学显微镜的使用	24
任务二 微生物大小测定技术	28
任务三 悬滴法观察细菌的运动	30
任务四 霉菌的载片培养观察	32
技能拓展 玻璃纸透析培养法观察霉菌	33
任务五 放线菌的形态观察	34
自我提高	35
项目三 微生物染色技术	37
必备知识 细菌的结构	37
一、细菌的基本结构	38
二、细菌的特殊结构	41
任务一 细菌涂片及简单染色	43
任务二 革兰染色	46
技能拓展 芽孢染色体	48
技能拓展 鞭毛染色法	48
自我提高	49
项目四 消毒与灭菌	50
必备知识 消毒与灭菌	50
任务一 过滤除菌	54
技能拓展 超净工作台、生物安全柜的工作 原理及使用方法	57
任务二 干热灭菌	60
任务三 高压蒸汽灭菌	62
自我提高	64
项目五 培养基制备技术	66
必备知识 微生物培养基	66
任务一 液体培养基的制备	68
技能拓展 培养基 pH 测定及矫正方法	69
技能拓展 酸度计的使用注意事项	70
任务二 固体培养基的制备	71
任务三 半固体培养基的制备	72
技能拓展 几种常用培养基的配制	73
自我提高	75
项目六 接种、分离纯化与培养	77
必备知识 微生物的遗传和变异	77
一、微生物遗传和变异的物质基础	77
二、微生物变异的类型	78
三、微生物变异的原因	78

四、菌种的选育	79	任务三 琼脂平板划线分离法	89
五、菌种的衰退、复壮和保藏	80	技能拓展 融化培养基的方法	92
技能拓展 液氮罐的使用与保管	82	技能拓展 平板划线的其他方法	93
技能拓展 诱变育种的一般步骤和方法	82	任务四 涂布分离法	93
技能拓展 诱变育种的一般性原则	83	技能拓展 用移液管吸取菌液及接种的 方法	96
任务一 斜面培养基接种法	83	任务五 筛选拮抗性放线菌	96
技能拓展 恒温培养箱的使用及维护	86	自我提高	99
任务二 穿刺接种法	87		
技能拓展 液体培养基接种法	88		
项目七 微生物分布测定技术	100		
必备知识 微生物的分布	100	任务三 水中细菌总数和大肠菌群数的 检测	107
一、药品生产与微生物的生态分布	100	任务四 微生物数目直接计数技术	112
二、洁净度级别	101	技能拓展 平板菌落计数法(间接计数 技术)	115
任务一 空气中微生物分布的检测	102	自我提高	119
任务二 皮肤、口腔中微生物的分布 检测	105		
项目八 药物的体外抗菌技术	121		
必备知识 药物体外抗菌试验	121	任务二 联合抗菌试验	127
一、影响抗菌试验的因素	121	一、纸条试验	127
二、常用体外抑菌试验方法	122	二、梯度平板纸条试验	128
任务一 琼脂扩散法	125	三、棋盘格法	129
一、纸片扩散法	125	自我提高	131
二、平板挖沟法	126		
项目九 血清学试验	133		
必备知识 抗原、抗体与血清学试验	133	任务二 试管凝集反应——抗体效价 滴定	138
一、抗原	133	技能拓展 间接凝集试验	140
二、抗体	134	自我提高	142
三、血清学试验	135		
任务一 玻片凝集试验——未知菌种鉴定	136		
附录	144		
附录 I 微生物实验室常用染料	144	附录 IV 培养基容积与加压灭菌 所需时间	147
附录 II 常用消毒剂名称、浓度及用途	145	附录 V 蒸汽压力与温度的关系	147
附录 III 常用培养基名称、成分及用途	146		
参考文献	149		

项目一 认识微生物实验室

【学习目标】

1. 熟悉微生物实验室规则。
2. 掌握微生物实验实训的安全要求。

【工作任务】

1. 认识微生物实验室的布局与要求。
2. 常用玻璃器皿的清洗和包扎方法。

药学微生物实验室是模拟药品微生物检验室的布局 and 基本要求设计的,微生物检验是药品质量检查的重要环节。药学微生物实验室是训练学生掌握微生物形态观察、染色、灭菌、人工培养、分离纯化等基本操作技能的必要场所。通过微生物实验、实训的开展,可提高学生的实际操作技能,培养学生形成独立观察、提出问题、分析问题和解决问题的能力,使学生养成实事求是、严肃严谨的科学态度,实现高技能型人才的培养目标。

任务一 认识微生物实验室的布局与要求

一、微生物实验室规则

在微生物检验教学活动中,可能要接触实验标本、培养物、带菌材料或器具,为了防止实验室感染和保证实验实训顺利进行,学生必须遵守以下规则。

- ① 每次实验前必须预习实验内容,工作服穿戴规范,未经许可不能随便进入检验工作区域。实验室需保持安静、整洁,不许高声喧哗及随意走动。
- ② 严禁用口吸移液管;严禁将实验材料置于口内;严禁舔标签。
- ③ 实验完毕后所有材料必须采用化学或物理方法处理后方可丢弃在指定位置;实验室涉及的各种物品(菌种、药品),未经指导教师许可,不得带出实验室。
- ④ 凡接触生物的实验均应小心操作,确保安全,使用后必须用消毒剂消毒手和台面。不准将食物、食具带进实验室,严禁吃零食、饮水、吸烟。
- ⑤ 爱护实验仪器,按规程进行操作,轻拿轻放,对实验室的各种耗材和药品等要节约使用,减少浪费。
- ⑥ 每次实验都需要进行记录,实验记录要认真、详细、及时,尤其对需要连续观察的实验,则需记下每次观察的现象和结果,保证实验结果的连续性,便于分析。
- ⑦ 以实事求是的科学态度详细填写实验报告,认真思考各种实验现象出现的原因。

⑧ 做完实验后需养成良好的习惯，将实验室收拾整齐，打扫干净。对用过的仪器及各种器皿需及时清洗消毒，并归回原位。对受污染的桌面、仪器等，可用 3% 的来苏尔液或 5% 的石炭酸液浸泡后清洗。

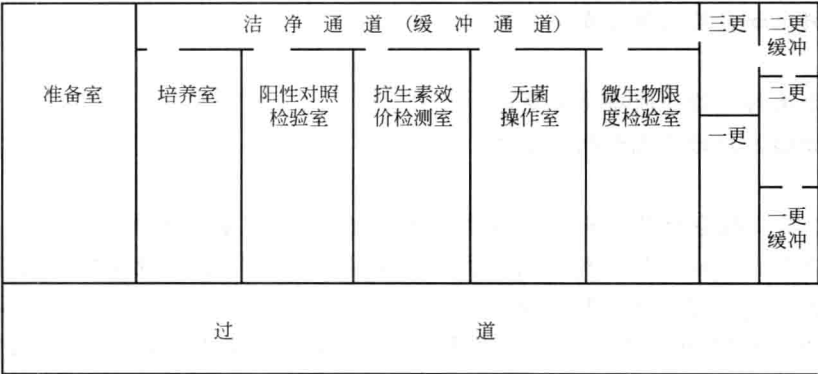
⑨ 实验中如果出现菌液溢出、皮肤受损等意外事故时，应立即报告教师，并及时处理。

⑩ 离开实验室应洗净双手，检查电源、火源、气源、门窗等是否关闭。

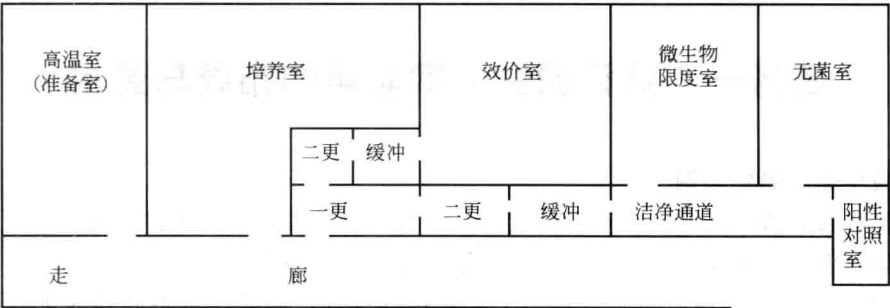
二、普通实验室布局与要求

在医药生产中，有关微生物的检验主要有药品的卫生检验、药品生产中微生物形态检验、药品生产环境中微生物数量检验等。不同工作内容，对环境微生物的要求也不同。

普通微生物实验室应包括准备室、一次更衣室、二次更衣室、缓冲通道、无菌接种室、培养室、阳性对照菌培养室等。图 1-1(a)、(b) 所示为两种普通微生物实验室的格局。



(a)



(b)

图 1-1 常见微生物检验室布置示意图

一更衣室、二更衣室内除有风淋设备外，还配有消毒药品；更衣室、操作间、缓冲通道上均应设置适当数量的紫外线灯进行灭菌，操作间的空气是经过高效微粒空气过滤器处理的层流空气，净化级别要求万级，操作区域的净化级别必须达到百级；操作间应有恒温装置（18~26℃）和除湿装置（相对湿度 45%~65%）。

三、无菌实验室要求

无菌操作室要始终保持清洁，无菌室的清洁工具必须专用，每次使用前用 3%~5% 的甲酚溶液（或 0.2% 的苯扎溴铵溶液或 5% 的甲醛溶液）擦拭台面后，再用 5% 的甲醛溶液（或添加了高锰酸钾的甲醛溶液）喷雾消毒，开启无菌空气过滤器，打开紫外线灯灭菌 1h。每次消毒处理后，需进行尘埃粒子、菌落数检查。超净工作台的左、中、右各放置合格的无

菌营养琼脂平板，暴露 30min 后，35~37℃培养 48h，3 个平板上菌落数不超过 1 个。

四、常用仪器、设备

常用仪器设备见表 1-1、表 1-2、图 1-2、图 1-3、图 1-4、图 1-5、图 1-6、图 1-7 所示。

表 1-1 微生物检验室常用仪器及规格

名 称	规 格			
接种环	柄金属杆(220mm)+环丝长(80~90mm)			
接种针	柄金属杆(220mm)+针丝长(80~90mm)			
菌液涂布棒	L 形(玻璃)涂布棒、三角形(玻璃)涂布棒			
试管	12mm×100mm	16mm×160mm	18mm×180mm	
刻度试管	5ml、10ml、15ml、20ml			
烧杯	10ml、50ml	150ml、100ml	250ml、200ml	500ml
锥形瓶	50ml	150ml	200ml	250ml
吸管(移液管)	1ml	2ml	5ml	10ml
移液管筒(盒)	长(360~380mm)/直径(60mm)			
离心管	0.5ml	1ml	5ml	10ml
培养皿	玻璃皿盖 75mm	玻璃皿盖 90mm	陶瓷皿盖 75mm	陶瓷皿盖 90mm
广口瓶	50ml、25ml	100ml	250ml	1000ml、500ml
细口瓶	50ml、25ml	100ml	250ml	1000ml、500ml
微量移液器	0.5~2.5μl	2~10μl	10~100μl	100~1000μl
滴管	0.1 ml	0.5ml		
容量瓶	50ml	100ml	250ml	500ml
量筒	10ml、5ml	25ml	100ml、50ml	500ml
滴瓶	30ml	50ml	30ml(棕色)	50ml(棕色)
称量瓶	70mm×35mm	60mm×30mm	50mm×30mm	40mm×25mm
载玻片	75mm×25mm	凹玻片 75mm×25mm		
盖玻片	18mm×18mm	20mm×20mm		
目镜测微尺				
台镜测微尺				

表 1-2 微生物检验室常用设备

名称	主要用途	注意事项
超净工作台	无菌操作台，在操作区内洁净度可达 100 级，符合无菌操作要求，适用于药品微生物检测	安放在洁净度较高、不受外界风力影响处
高压蒸汽灭菌器	培养基、器械及细菌污染物的灭菌	被灭菌物应能直接接触饱和水蒸气
电热恒温培养箱	微生物的培养	控制好温度，箱内培养物不宜过挤
厌氧培养箱	厌氧菌的培养	按 80%N ₂ 、10%H ₂ 和 10%CO ₂ 进行充气，指针为“0”时关闭输气阀、减压阀、电磁阀
电热干燥箱	用于玻璃器皿、金属器械的干热灭菌	严禁易燃、易爆、易挥发物品放入箱内
薄膜过滤装置	用于除菌过滤、无菌检查	滤膜孔径符合规定，无菌、干燥
离心机	用于固体颗粒与液体或液体与液体的分离	严格遵守平衡原则
普通生物显微镜	微生物的观察与计数分析	注意镜头的清洁，防止污染
暗视野显微镜	观察未染色的细菌、真菌等活体标本	不能让光线直接照射物镜
电冰箱	保存菌种、菌液、培养基、试剂	有毒或有感染性的物品应注明，并置专用储盒内单独存放；菌种必须包扎好以免污染



图 1-2 接种针和接种环

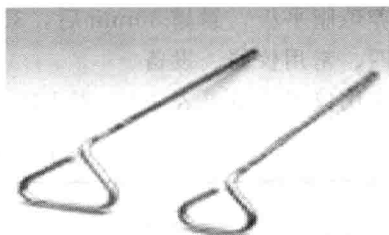


图 1-3 菌液涂布棒

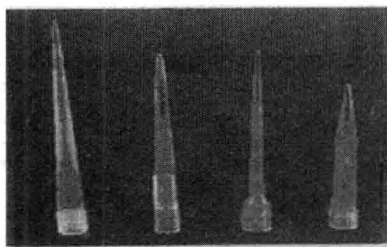


图 1-4 各种移液吸头

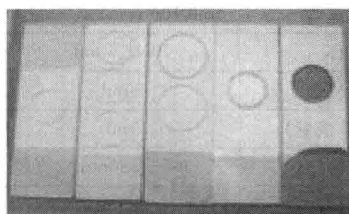
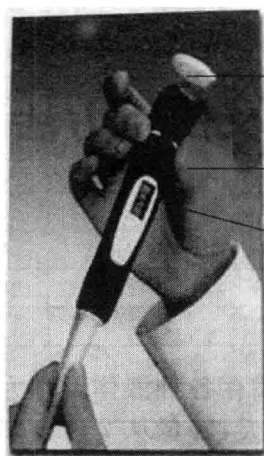


图 1-5 凹玻片

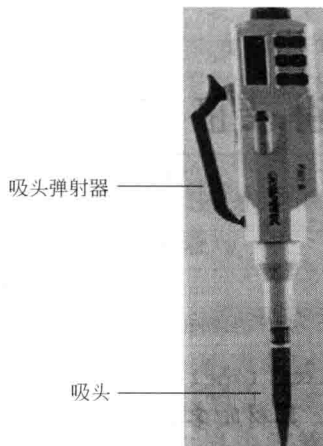


(a) 手动可调式移液器

移液器按钮

吸量调节旋钮

容量显示



(b) 电动可调式移液器

吸头弹射器

吸头

图 1-6 微量移液器构造

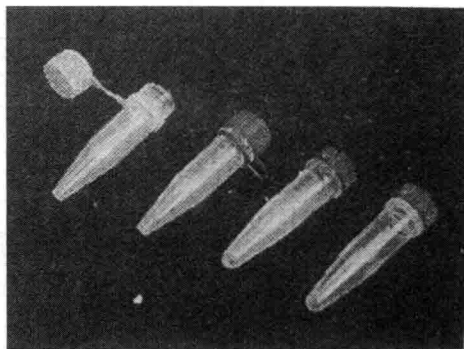
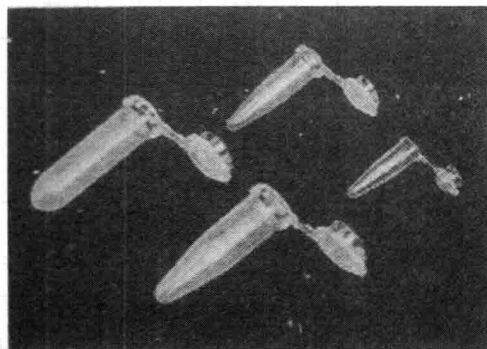


图 1-7 各种微型离心管

【重要提示】

微生物检验安全操作要求

1. 用电安全要求

- ① 离开实验室应检查用电部位，除培养箱、电冰箱保留电源外，其他电源一律切断。
- ② 定期请专业人员检查线路，新增用电设备请专业人员安装。
- ③ 在工作时，不能用湿手触摸正在工作的电器，不用湿手拔、插插头。

2. 高压蒸汽灭菌器使用安全

- ① 操作高压蒸汽灭菌器前要进行专门培训，合格后才能使用。
- ② 每次使用前均需检查安全阀。
- ③ 灭菌工作完成后，必须待温度压力降到常温常压后才能开启门。
- ④ 高压灭菌工作过程中要有人看管温度表及压力表。

3. 微生物检验操作的安全要求

- ① 实验室中一次性使用的污染材料，如手套、口罩、一次性培养皿等可高压灭菌后焚烧或直接焚烧。
- ② 可反复利用的已被污染的材料（玻璃制品等）应先消毒再高压灭菌，灭菌后的材料经洗涤、干燥、包扎、灭菌后再使用。
- ③ 每个实验室的工作台上或角落中均应有盛放实验废弃材料的容器。根据需要，容器中放入规定浓度的新配制的消毒液。
- ④ 实验过程中，如盛菌器皿破损，菌液污染环境或污染皮肤，应立即处理，处理方法：1%~2%来苏尔液用于皮肤消毒，3%~5%来苏尔液用于器械物品消毒，5%~10%来苏尔液用于环境消毒。

任务二 常用玻璃器皿及用具的清洗和包扎

微生物实验所用的器材在灭菌前均需进行清洗、包扎，如玻璃器皿、接种针、注射器、吸管、试管、烧杯、培养基、无菌衣、口罩等。由于微生物培养的特殊性，对器材的清洁度严格要求，因此，玻璃器皿的彻底洗涤是实验前的一项重要准备工作，不容忽视。

一、玻璃器皿及用具的清洗

（一）玻璃器皿的清洗

1. 使用过的玻璃器皿的清洗

玻璃器皿使用后，应在未干燥之前洗涤，尤其是试管、培养皿、锥形瓶、烧杯、试剂瓶等玻璃器皿，如不能立即清洗，也应立即放入洗涤液中浸泡，然后用瓶刷内外清洗，最后用清水或蒸馏水冲洗2~3次，晾干备用。如有油污时可用热碱水（或热肥皂水等）洗涤，再用清水或蒸馏水洗净备用。

接触过菌液的玻璃器皿，使用后应立即投入5%来苏尔或0.25%新洁尔灭或5%石炭酸消毒24h，然后高压蒸汽灭菌，用清水冲洗干净，再用蒸馏水冲洗。

若需要更洁净的器皿，可用铬酸洗涤液浸泡（试管、烧杯、培养皿等浸泡10min，吸管、滴定管则要1~2h），然后用水冲洗干净，最后用蒸馏水清洗，器皿洁净、光亮。

载玻片、盖玻片的洗涤，如滴有香柏油，要先用吸水纸擦拭去或浸在二甲苯内轻摇，再用50g/L肥皂水煮沸5~10min，用清水清洗数次，待干后可保存在95%的酒精中备用。用时可在火焰上烧去酒精。此方法洗涤和保存的载玻片和玻片清洁透亮，没有水珠。若为检查过活菌的载玻片及盖玻片，应先用5%来苏尔或0.25%新洁尔灭消毒24h，然后按上述方法

洗涤保存。

【实验常识】

如何判断玻璃器皿的洗涤效果？如何能使玻璃器皿更加光洁？

将洗后的玻璃器皿倒置，若内壁的水均匀分布成一薄层，表示油污完全洗净；若挂有水珠，则说明洗涤不够彻底。

如果将玻璃器皿在铬酸洗液中浸泡 10min，然后用清水冲洗，再用蒸馏水洗涤，玻璃器皿会更加光洁。

2. 新购置的玻璃器皿的清洗

新购置的玻璃器皿常含有较多游离碱，最好用 1%~2% 的盐酸溶液浸泡 2~6h，再用清水洗涤，也可浸在肥皂水中 12h，再用清水洗涤。

(二) 橡胶类物品的清洗

未接触有害微生物的，可用自来水洗干净，再用蒸馏水浸泡并煮沸、晾干、包装。

接触了有害微生物的，应先用自来水煮 15~20min 或高压蒸汽灭菌后，再按上述方法处理。

(三) 金属器械的清洗

未接触有害微生物的，可直接清洗、擦干。接触了有害微生物的，应高压蒸汽灭菌 121℃ 20min，急用时可灼烧灭菌。

二、常用洗涤液的配制与使用

1. 铬酸洗涤液

(1) 洗涤液配方

浓配方：重铬酸钾（工业用）	60g	稀配方：重铬酸钾（工业用）	60g
浓硫酸	60ml	浓硫酸	60ml
自来水	300ml	自来水	1000ml

(2) 配制方法 将重铬酸钾溶解在自来水中，慢慢加入浓硫酸，边加边搅拌，配好的溶液呈深红色，并且可见均匀的红色小结晶，配好后，贮存于广口的玻璃瓶内，盖紧塞子备用。此液可多次使用，用后倒回原瓶中。应用此液时，器皿必须干燥，切忌把大量还原物带入，直到溶液呈青褐色，才失去作用。

2. 碱性洗液

碱性洗液用于洗涤有油污物的仪器，用此洗液是采用长时间（24h 以上）浸泡法，或者浸煮法。从碱性洗液中捞取仪器时，要戴乳胶手套，以免烧伤皮肤。

常用的碱性洗液有：碳酸钠液（即纯碱）、碳酸氢钠液（小苏打）、磷酸钠液、磷酸氢二钠液、肥皂、合成洗涤剂，浓度范围为 5%~40%，可根据需要配制。

3. 酸性洗液

若器皿上沾有焦油和树脂等物质时，可用浓硫酸浸泡 5~10min，如清洗不净可延长时间。还可用 30% 的硝酸溶液洗涤。使用酸碱洗涤液时要注意防止溅到皮肤或衣物上。

4. 有机溶剂洗液

移液管尖头、滴定管尖头、滴定管活塞孔、滴管、小瓶等特殊形状的仪器，若沾有脂肪性污物，可用汽油、甲苯、二甲苯、丙酮、酒精、三氯甲烷、乙醚等有机溶剂擦洗或浸泡洗涤。

【重要提示】

使用铬酸洗涤液的注意事项

重铬酸钾是强酸氧化剂洗液，有很强的氧化能力，对玻璃仪器又极少有侵蚀作用，所以这种洗液在实

验室内使用最广泛。新配制的洗液为红褐色，氧化能力很强。当洗液用久后变为黑绿色，即说明洗液无氧化洗涤作用。使用铬酸洗涤液进行洗涤时，应尽量避免稀释。欲加快作用速度，可将洗涤液加热至 40~50℃ 进行洗涤。当器皿上带有大量有机质时（如沾有油渍、凡士林和石蜡等），不可直接用洗涤液来洗涤，应尽量先行清除后再用，否则洗涤液很快会失效。金属器皿不能用此洗涤液洗涤。洗涤液有强腐蚀性，如溅到桌椅上，应立即用水冲洗或用湿布擦拭。皮肤或衣服上粘有洗涤液，应立即用水冲洗，然后再用碳酸钠溶液或氨水洗。

三、玻璃器皿的干燥

洗净的玻璃器皿，一般是在室温下自然干燥，若需要高温干燥或急需，可使用电热干燥箱干燥，温度一般在 80~120℃ 为宜，使用干燥箱时应注意，要在温度下降到 60℃ 以下再打开箱门，取出器材使用。

四、玻璃器皿的包扎

包扎是灭菌前的一项重要工作，可使灭菌后的器材在一定时间内保持无菌状态。

1. 培养皿的包扎

将洗净干燥的培养皿，每 5~10 套叠在一起，用牛皮纸或报纸滚卷包裹成圆筒状，将其两端的纸折叠成底与盖，再用棉纱线捆扎好，以免散开。然后进行干热灭菌。使用时在无菌室中打开取出培养皿。

2. 试管、锥形瓶的包扎

试管和锥形瓶灭菌，都需要制作合适的棉塞，棉塞可起到过滤作用，避免空气中的微生物进入容器。制作棉塞时，要求棉花（脱脂棉易吸水，勿用）紧贴玻璃壁，没有皱纹和缝隙，松紧适宜。过紧易挤破管口和不易塞入；过松易掉落和污染。制作棉塞时，应选用大小、厚薄适中的普通棉花一块，铺展于左手拇指和食指扣成的圆孔上，用右手食指将棉花从中央压入圆孔中制成棉塞，然后直接压入试管或锥形瓶口。也可借用玻璃棒塞入，也可以用折叠卷塞法制作棉塞（如图 1-8 所示）。棉塞的长度不小于管口直径的 2 倍，约 2/3 塞进管口（如图 1-9 所示）。若干支试管用绳扎在一起，在棉花部分外包裹油纸或牛皮纸，再用绳打一个活结。三角瓶加棉塞后单个用油纸或牛皮纸包扎，进行干热或湿热灭菌。若试管和三角瓶中装有培养基，包扎后应用笔标记培养基的名称、制备时间等。为了节省棉花或节省时间，在配置实验临时所用的无菌水和培养基时，也可以用金属试管帽代替棉塞。装液体培养基的锥形瓶口，可包扎 6~8 层纱布以代替棉花。

其他如无菌抽滤瓶和细菌滤器等的灭菌可采用同样的方法进行包扎。

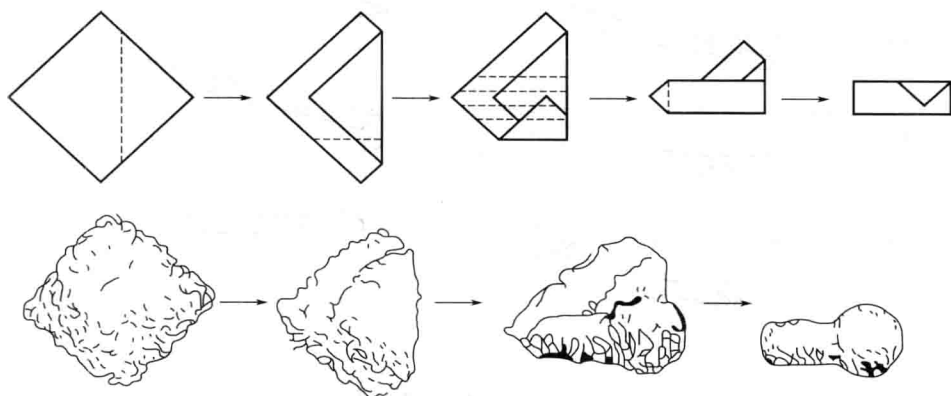


图 1-8 棉塞的制作过程

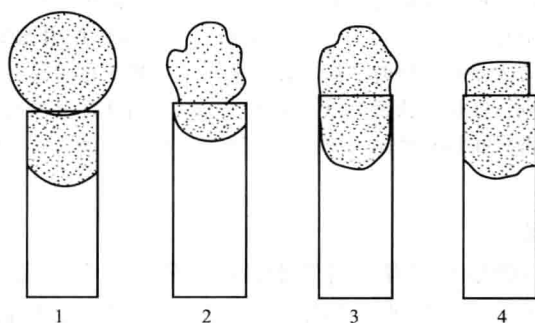


图 1-9 试管棉塞

1—正确；2—管内太短，外部太大；3—棉塞太松；

4—管内太大，外部太小

3. 吸管的包扎

吸管的包扎方法如图 1-10 所示。洗涤干净且烘干后的吸管，在口吸的一端用尖头镊子或针塞入少许脱脂棉花（距管口 0.5~1cm 处），以防止使用时将外界的杂菌吹入管中或将管内的菌液吸出管外，塞入棉花的量要适宜（1~2cm 长），松紧要合适，使吹吸气体流畅且棉花不易滑落。管口有棉絮纤维外露时可用火焰烤去。每支吸管用一条宽约 4~5cm 的纸条（旧报纸或牛皮纸），吸管的尖端在头部，将纸条一端折叠成 3~4cm 的双层区，以 30° ~ 40° 左右的夹角折叠纸条包住尖端（夹角太小，纸条易松开，夹角太大则纸条长度要求长），然后用手压紧吸管在桌面上向前搓转，吸管以螺旋形包扎起来，吸管的尾部用剩余纸条打结，防止纸卷松开，并在结上标注吸管的规格。常常是若干支吸管扎成一束放入移液管筒中，进行干热或湿热灭菌，或将多支包扎好的吸管用报纸或牛皮纸总包裹后再扎好，进行干热灭菌或湿热灭菌，备用。要在使用时才从吸管中间拧断纸条抽去吸管，切忌从头部打开，禁止手指接触吸管尖部至吸管的三分之一处。

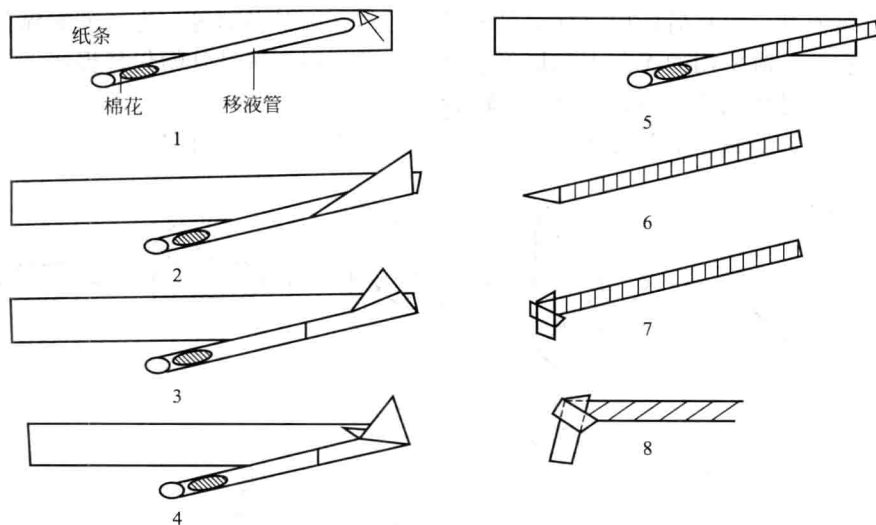


图 1-10 吸管的包扎方法

图中 1~8 为包扎顺序

自我提高

一、单项选择题

1. 微生物学的奠基人是（ ）
A. 弗莱明 B. 柯赫 C. 巴斯德 D. 李斯特
2. 带菌的器皿在洗涤前应先用（ ）消毒 24h，或用水煮沸 0.5h 后，再洗涤。
A. 1% 的来苏尔 B. 2% 的来苏尔 C. 3% 的来苏尔 D. 5% 的来苏尔
3. 包扎是灭菌前的一项重要工作，可使灭菌后的器材（ ）保持无菌状态。
A. 始终 B. 长久 C. 在一定时间内 D. 均不正确

二、多项选择题

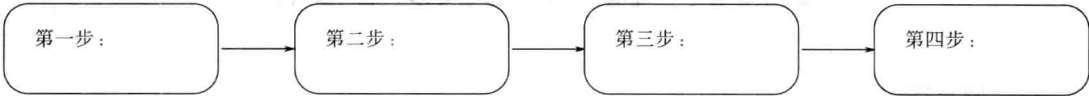
1. 常用的洗涤液包括（ ）
A. 30% 的硝酸 B. 10% 磷酸钠液 C. 重铬酸洗涤液
D. 5% 来苏尔 E. 95% 酒精 F. 3% 来苏尔
2. 一般微生物实验室应包括（ ）
A. 准备室 B. 一次更衣室 C. 缓冲通道
D. 无菌接种室 E. 培养室 F. 阳性对照菌培养室

三、实训练习

1. 填写如下微生物实验室安全意识检测表。

微生物实验室规则(不少于三个主要内容)	
实验废弃物的处置方法	
操作安全要求	

2. 填写如下清洗带菌试管的基本操作步骤示意图。



3. 用废报纸练习包扎培养皿、试管、移液管。

项目二 微生物形态观察

【学习目标】

1. 熟悉微生物的概念。
2. 了解微生物与药学的关系。
3. 掌握细菌、霉菌、酵母菌、放线菌的形态特征。
4. 熟悉微生物群体菌落特征。

【工作任务】

1. 光学显微镜的使用。
2. 微生物大小测定技术。
3. 悬滴法观察细菌的运动。
4. 霉菌的载片培养观察。
5. 放线菌的形态观察。

必备知识 微生物分类及形态特征

一、微生物概述

1. 微生物的概念

微生物不是生物分类学中的名词，而是所有形体微小，具有单细胞或简单多细胞结构，或没有细胞结构的一群低等生物的总称。微生物个体微小，小到必须用微米级（ μm ， 10^{-6}m ）甚至纳米级（ nm ， 10^{-9}m ）来作计量单位。大多数需借助光学显微镜或电子显微镜才能观察到。只有少数微生物如地衣、低等藻类、大型食用真菌用普通肉眼能观察到。

2. 微生物的特点

- ① 种类繁多，分布广泛。
- ② 个体体积微小，结构简单。
- ③ 代谢能力强，繁殖速度快。
- ④ 适应强。
- ⑤ 受环境影响大，变异快。

3. 微生物的分类

根据微生物的大小、结构和组成不同可分为三大类型（见表 2-1）：非细胞型微生物、原核细胞型微生物、真核细胞型微生物。

4. 微生物的分类单位

微生物的分类单位（见表 2-2）和其他生物的分类单位一样，都是门、纲、目、科、