

揭阳职业技术学院

生物工程系

授课教案

2025-- 2026 学年度第一学期

课程名称 微生物学与免疫学

班 级 药学 241

教 研 室 药学教研室

授课教师 郑锐东

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	绪论	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	2 学 时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

- 一、微生物学概论
- 二、微生物学与药学的关系
- 三、免疫学基础

学情分析

1. 知识基础：药学专业的学生已经完成了《有机化学》、《生物化学》课程的学习，具备一定的生物学、化学等基础知识。但是，在微生物与免疫学这一领域，学生的知识储备相对有限，需要从头开始系统学习。
2. 学习兴趣：学生对微生物与免疫学这一课程的内容可能存在一定的兴趣，但由于课程内容的抽象性和复杂性，部分学生可能会在学习过程中感到困惑和挫败。
3. 实践能力：高职药学专业的学生普遍具有较强的动手操作能力，但缺乏实际的实验室操作经验。因此，在实践教学中，需要引导学生逐步掌握实验技能。

教学目标

知识目标	<ol style="list-style-type: none">1.掌握微生物的定义、特点、分类。2.熟悉微生物学与免疫学的发展历程、未来趋势及与医药学的关系。特别注意路易斯·巴斯德和罗伯特·科赫在微生物学和免疫学方面的贡献。3.了解微生物实验室的设计和安全等级。
能力目标	<ol style="list-style-type: none">1.能够建立无菌操作的意识2.学会实验室常用器皿和用具的消毒灭菌方法3.能熟练配制培养基，并进行消毒灭菌处理
素质目标	通过学习路易斯·巴斯德、罗伯特·科赫、沈鼎鸿等学术大家的科研工作经历，建立“善于发现、严谨治学、坚持真理、献身科研”的职业素养。
思政元素	<ol style="list-style-type: none">1. 爱国主义教育：介绍我国微生物与免疫学领域的发展历程和杰出科学家。2. 社会责任感：分析微生物与免疫学在医药卫生的应用，关注社会问题。3. 职业道德教育：强调药师职业操守，培养敬业精神、诚信意识和团队协作能力。

4. 人文关怀：关注微生物与免疫学在临床应用中的患者权益，培养学生的人文素养。
5. 法治观念：强调微生物与免疫学领域的法律法规，培养学生的法治意识。

教学重难点

重难点：

微生物五大共性

教学策略：

1. 结合实际案例和生活中的例子，激发学生的学习兴趣；
2. 采用生动的教学手段，如图片、视频、动画等，帮助学生理解抽象的概念；
3. 强化实验操作，培养学生动手能力和实践技能；
4. 注重理论与实践相结合，提高学生的应用能力；
5. 关注学生的情感变化，及时调整教学方法和策略，以提高教学效果。

教学环节

任务点一	微生物	教材	P2-6
教师讲解	<p>(一) 微生物的概念</p> <p>微生物(microorganism)是一类个体微小、构造简单、肉眼不能看见，需借助显微镜才能看清其外形的微小生物。</p> <p>在大自然中，生活着一类人们看不见的生物，繁华都市、广阔田野、高山之巅、海洋之底，到处都有它们的足迹。它们与植物、动物共同组成了生物大军，使自然界显得生机勃勃。虽然人们对微生物的认识只有几百年的历史，但微生物却是地球上最早居民之一，它们早在 35 亿年前就已存在了而人类发展至今只有几百万年的历史。微生物能延续至今，与其自身的特点有关。</p> <p>(二)微生物的特点</p> <p>1. 个体小、面积大、新陈代谢能力强 微生物的个体极其微小，需借助显微镜放大数十倍、数百倍甚至数万倍才能看清。表示微生物大小的单位是 μm ($1\text{m}=10^6\mu\text{m}$) 或 nm ($1\text{m}=10^9\text{nm}$)。我们知道把一定体积的物体分割得越小，它们的总表面积就越大，因而比面积(表面积与体积之比)就越大，这样微生物就有一个吸收营养、排泄代谢废物的巨大表面，所以新陈代谢能力强。因此，这样一个小体积、大面积的系统是微生物与一切大型生物相区别的关键所在。</p> <p>2. 吸收多、转化快、繁殖速度快 由于微生物新陈代谢能力特别强，它们的“胃口”变得分外庞大，如发酵乳糖的细菌在 1h 内可分解比其自身重 100~1000 倍的乳糖。微生物的这个特性为它们高速增长繁殖提供了充分的物质基础，微生物以惊人的速度“生儿育女”，如大肠埃希菌在合适的条件下约 20min 可繁殖一代，以 2n 的方式一分二、二分为四、四分八……如果按这样计算，一个细菌 10h 可繁殖成 10 亿个!实际上,这种几何级数的繁衍受环境等条件的限制,是不可能实现的,但即使如此也足以使动、植物望尘莫及了。</p> <p>3. 适应能力强、易变异 微生物对环境条件,尤其是对恶劣的极端环境具有惊人的适应力,这是高等动植物无法比拟的。如大多数细菌能耐$-196\sim 0^{\circ}\text{C}$(液氮)的低温;一些嗜盐菌能在接近于饱和盐水(32%)的环境下正常生存:许多微生物尤其是产芽孢的细菌可在干燥条件下保藏几十年。</p>		

由于微生物的个体一般都是单细胞、简单多细胞或非细胞的，通常都是单倍体，加之它们新陈代谢旺盛、繁殖快，并且与外界环境的接触面大的特点，故容易受外界条件的影响而发生性状变化。但微生物却可以在短时间内产生大量变异的后代，在外界环境条件发生剧烈变化时，变异的个体可适应新的环境而生存下来。

4. 种类多、数量大、分布广 微生物种类繁多。迄今为止，人们所知道的微生物约有 10 万种。但由于微生物的发现和研究的较植物迟得多，有人估计目前已知的种类只占地球实际存在的微生物总数的 20%，所以微生物很可能是地球上物种最多的一类。

虽然我们不能看到微生物，但它们却是无处不在、无孔不入的。85km 的高空、11km 深的海底 2km 深的地层、近 100℃ 的温泉、-250℃ 等极端的环境下，均有微生物生存。人类正常生活的地方更是微生物生长的适宜场所，其中土壤是多种微生物的大本营，任意取一把土，就是众多微生物的世界，在 1g 肥沃的土壤中，微生物的数量可达到千百万乃至数亿。除了自然环境，动植物和人体内，如人的肠道中经常居住着 100-400 种不同的微生物，约 100 万亿个；把手放到显微镜下观察，一双普微生物学与免疫学的手上带有细菌 4 万-40 万个，即使刚刚清洗过，上面也有 300 个细菌，当然这些绝大多数不是病菌。

(二) 微生物的分类

1. 微生物在自然界的地位

将整个生物界划分为几个界，有不同的分类系统，除了已确定的动物界和植物界外，其余各界都是随着人类对微生物的深入研究和认识后才发展建立起来的。一百多年来，从两界发展到三界、四界、五界、六界系统，这一个由低到高、由浅到深的认识过程，在此介绍六界系统，如图-1 所示。由图可以看出，将所有的生物分成有细胞结构和无细胞结构松支原体两大类 6 个界：动物界、植物界、原生生物界、真菌界、原核生立克次体衣原体物界和病毒界，微生物分属于除动物界和植物界以外的 4 个界。

2. 微生物的分类 微生物按有无细胞结构分为 3 种类型。

3.

(1) 原核细胞型微生物：原核生物由单细胞组成，仅有原核和裸露的 DNA，无核膜和核仁。此类微生物包括细菌、放线菌、蓝细菌、古菌、支原体、衣原体

(2) 真核细胞型微生物：真核生物大多由多细胞组成，具有高度分化的核，有核膜和核仁，且有多种细胞器，如内质网、核糖体、线粒体等。此类生物包括真菌、藻类和原虫等。

(3) 非细胞型微生物：此类微生物无细胞结构，仅由一种核酸(DNA 或 RNA)和蛋白质组成必须寄生于活细胞。病毒属于此类微生物。

3. 微生物的分类单位 与动植物一样，微生物的分类单位自上而下可依次分为：界(kingdom)门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)属(genus)和种(species)。在微生物分类中常用种和属，而种是最基本的分类单位，在种以下还可分为亚种、菌株和型等。属：生物学性状基本相同、具有密切关系的一些种组成属。种：一大群表型特征高度相似、亲缘关系极其接近、与同属内其他种有着明显差异的菌株的总称在微生物中，一个种只能用该种的一个典型菌株(*type strain*)作为具体标本，该典型菌株就是这个科的模式种(*type species*)。在实际中，有时分离到的纯种具有某个明显而稳定的特征，与典型种不同称为亚种(*subspecies, subsp.*)。

型：曾用于表示细菌种内的细分，但现在已废除，目前尚在使用的是以“型”作后缀，如生物型(*biotype*)、血清型(*serotype*)、噬菌体型(*phagetype*)等。菌株：又称为品系(在病毒中称毒株或株)，表示任何由一个独立分离的单细胞繁殖而成的纯种群体。因此，一种微生物的每一不同来源的纯培养物均可称为该菌种的一个菌株。

4. 细菌的命名 细菌的命名一般采用国际通用的拉丁文双名法。其学名(*scientific name*)

由属名和种名两部分组成，前面为属名，用名词并以大写字母开头；后一个为种名，用形容词表示，全部小写，印刷时用斜体字。常在种名之后加上命名者的姓氏(用正体排字)，也可省略。在少数情况下，当该种是一个亚种时，学名就应按“三名法”构成

(四)微生物的作用

1. 参与自然界的物质循环 整个生物圈生机勃勃，主要依赖太阳的光能，而组成机体的重要生命元素，如 C、N、P、S、Fe 等则主要依赖微生物所推动的物质循环，微生物在自然界物质循环中起着重要作用。以碳素循环为例，绿色植物依靠太阳的能量吸收 CO₂ 和 H₂O 进行光合作用，而大气中所含的 CO₂ 只够供应绿色植物约 20 年，但是微生物可以将有机物质(如动植物的尸体)中的碳元素分解，产生 CO₂ 释放到大气中。据估计，地球上约 90% 的 CO₂ 是靠这种作用形成的，从而使生物界处于一种良好的碳平衡环境中。其他如氮素循环、硫素循环、磷的循环等都离不开微生物的作用。

2. 在工农业生产上的用途 在农业上，通过固氮微生物的生物固氮作用，将环境中游离氮转化为氨而增加了土壤的肥力，满足植物生长所需。这是一种极其温和的生化反应，比人类发明利用铁作催化剂，在高温(300℃)、高压(300 个大气压)下的化学固氮方式优越得多。在我国，种植豆科植物

作绿肥有近 2000 年的历史。在工业上，微生物可应用于食品、酿造、石油化工、皮革以及环境保护等方面。例如，传统上对植物秸秆的利用就是燃烧，能快速取得其中约 10% 的热能及一些肥效较差的草木灰肥料，而采用现代合理的梯级利用方式，即先将秸秆打碎作牲畜的饲料，再以畜粪进行沼气发酵，可利用 90% 的化学能发酵后的残渣还可作为有机肥料，形成饲料-燃料-肥料的良性循环，而关键的沼气发酵则是一种由产甲烷菌作用产生甲烷的过程。

在医药工业上，可利用微生物生产抗生素、维生素、氨基酸、核苷酸、生物碱以及酶制剂等。如目前临床上广泛应用的青霉素，就是由英国人发现的首例抗生素，为人类抗细菌性感染做出了巨大贡献。近年来，随着分子生物学和基因重组技术的发展，很多药物，如胰岛素、干扰素、生长激素等都可通过基因工程这一现代生物技术，利用基因重组的菌株进行生产并应用于临床。

3. 致病作用及其他危害 尽管大多数微生物对人类是有益无害的，但其中有一小部分可引起人类与动植物的疾病，这种具有致病性的微生物称为病原微生物。人类的许多传染病，如传染性很强的肺炎、痢疾、流感等，感染率较高的肝炎，危害性大、死亡率高的艾滋病等，均由病原微生物感染引起。

随着现代微生物学的发展，一些新的病原体不断被发现。例如，羊瘙痒病的病原体经过近两个世纪的研究都未能发现，直到 20 世纪 80 年代初期才证实其病原体是一种比病毒还小，不含任何核酸却有致病能力的蛋白质，称为朊病毒。朊病毒能引起人及动物中枢神经系统疾病，1985 年首次在英国发现的疯牛病也是由它引起的，对养牛业、饮食业以及人的生命安全造成巨大威胁；1997 年发现的禽流感病毒 H5N1 亚型、2013 年发现的 H7N9 亚型不仅造成了人类的伤亡，同时重创了家禽养殖此外，微生物还可引起工农业生产中的原料、产品、药材、木材、食品等的腐败霉变等，造成经济损失和人体伤害。

学生活动

讨论微生物的特点

<p>任务点二</p>	<p>微生物学 P2-6</p>
<p>教师讲解</p>	<p>(一) 微生物学的定义</p> <p>微生物学(microbiology)是研究微生物的形态结构、生理代谢、遗传变异、生态分布以及人类动植物、自然界之间相互关系的一门学科。学习、研究微生物是为了充分利用微生物对人类有益的、面,开发微生物资源并运用到生活、生产中;同时控制其有害的一面,使人类的传染性疾物得到有效微生物学作为基础生物学,研究领域和范围日益广泛和深入,已涉及医学、工业、农业和环境等的预防和治疗。许多方面,从而形成了一些分支学科。按应用领域来分,有工业微生物学、农业微生物学、医学微生物学(二)微生物学的分科物学、药学微生物学、食品微生物学等分支学科;按研究对象来分,有细菌学、真菌学、病毒学等;按微生物所在的生态环境来分,有土壤微生物学、海洋微生物学、环境微生物学等。此外,研究人和药学微生物学作为微生物学的一个分支,其范畴除了研究微生物学的基础理论外,还包括保证药动物对微生物反应的免疫学也成了一门独立的分支学科。品质量,研究、生产微生物药物制剂,开发新药等方面的内容。</p> <p>1. 微生物学的经验时期 在古代,人们虽然没有看到过微生物,但已经将微生物学知识运用到(三)微生物学发展史农业生产和疾病防治当中。如我国北魏《齐民要术》中详细记载了制醋的方法;长期以来民间用盐腌糖渍、烟熏、风干等方法保存食品,实际上都是通过抑制微生物的生长以防止食物的腐烂变质。在医药方面,明朝李时珍在《本草纲目》中就有对患者穿过的衣服应该进行消毒的记载;在 11 世纪(宋代已有种人痘预防天花。此外,我国很早就应用茯苓、灵芝等中草药治疗疾病。</p> <p>2.微生物学的形态学时期 首次观察到微生物的是荷兰人安东尼·列文虎克(Antoni vanLeeuwenhoek),他于 1676 年用自制的世界上第一台显微镜,观察到了雨水、牙垢、粪便中的微生物,并正确描述了他所看到的各种形态的细菌和原虫,为微生物的存在提供了有力的证据,从此揭开了微生物形态学时期的序幕。之后人们使用放大倍数更高的显微镜观察他所描述的“小动物”,并知道它们可以引起人类疾病和产生许多有用的物质时,才真正意识到列文虎克对人类认识世界所做出的伟大贡献。</p> <p>3.微生物学的发展时期 从 1676 年显微镜发明以来在近二百年的时间里,人们对微生物的研究仅停留在形态描述的低级水平上,直到 1857 年,法国科学家路易斯·巴斯德(Louis Pasteur)的发现,这些微小生物的来源及其与疾病的关系才得以阐明,他为微生物学的发展建立了不朽的功勋,被誉为“微生物学之父”。其主要贡献:①否定了自然发生学说,巴斯德用著名的曲颈瓶实验(绪图-2)证明有机物质的腐败变质是由微生物引起,从而彻底推翻了当时盛行的自然发生学说。②证实发酵由微生物引起,而酒类变质是污染了杂菌所致,并发明了巴氏消毒法。③找出了蚕病的病因 19 世纪 60 年代,蚕病的流行使法国的养蚕业面临严重的威胁,巴斯德发现这是由微牛物导致的一种传染病,并告诉人们预防方法,从而遏止了病害的蔓延。④发现免疫现象,进行免疫接种。巴斯德观察到患过某种传染病并得到痊愈的动物,以后对该病有免疫力,他通过减轻病原微生物毒力的方法,用减毒的炭疽、鸡霍乱病原菌分别免疫绵羊和鸡获得成功;并在此基础上,研制出了狂犬疫苗。</p> <p>微生物学的另一位奠基人是德国医生罗伯特·科赫(Robent Koch),他的功绩主要有 3 个方面①创立了周体培养基划线分离纯种法,通过固体培养基可将环境中或患者排泄物中的细菌分离成单个的菌落,从而建立了纯培养技术,他先后分离出炭疽杆菌、结核杆菌和霍乱弧菌等多种导致人类传染病的病原性细菌。②提出了确立病原菌的科赫法则,即病原微生物总是在患传染病的机体中发现,健康机体中不存在;可以在体外获得病原菌的</p>

纯培养物;将病原菌接种于健康动物后能引起同样的疾病,并可从患病动物体内重新分离出相同的病原菌。③发明了用苯胺对细菌进行染色的细菌染色法、带照相机的显微镜直接拍摄细菌的显微摄影技术。

继路易斯·巴斯德和罗伯特·科赫等的研究工作后,微生物学有了迅速的发展。

(1)病毒学:1892年,发现了首例病毒-烟草花叶病毒;1897年,发现牛口蹄疫病毒;1901年,分离出对人致病的黄热病病毒。此后,又相继分离出许多病毒。

(2)免疫学:1796年英国医生爱德华·詹纳(Edward Jenner)发明了接种牛痘预防天花的方法,揭开了免疫学的序幕;路易斯·巴斯德研制鸡霍乱、炭疽以及狂犬病疫苗的成功,为人工免疫在预防医学中的应用开辟了广阔的前景。

(3)化学治疗法和抗生素:1909年,德国科学家保罗·欧立希(Paul Ehrlich)合成了治疗梅毒的化学药物--肿凡钠明和新肿凡钠明,从而开创了化学治疗微生物传染性疾病的新时期。1935年,另一位德国医生格哈德·杜马克(Gerhard Domagk)及其同事发明了能治疗链球菌感染的新化学治疗剂,后来证明它的抑菌有效成分是磺胺,此后就形成了目前使用的磺胺类药物。1929年,英国细菌学家亚历山大·弗莱明(Alexander Fleming)发现了青霉素,其于20世纪40年代应用于临床,随后链霉素、氯霉素等抗生素相继被发现。化学药物和抗生素在疾病的治疗和控制方面起到了重要作用。

4. 现代微生物学时期

近几十年来,随着生物化学、遗传学、细胞生物学、分子生物学等学科的发展,以及电子显微镜,气相、液相色谱技术,免疫学技术,单克隆抗体技术等的发展,可以在分子水平上探讨微生物基因结构的功能、致病的物质基础及诊断方法,一些新的病原微生物,如军团菌、幽门螺杆菌、人类免疫缺陷病毒(HIV)、SARS病毒、新型冠状病毒等相继被发现。同时,微生物学也从一门较为独立的以应用为主的学科,迅速成为一门前沿的基础学科,在生命科学、生物工程等的研究中发挥重要的作用。

对于医药类微生物学工作者而言,今后面临的挑战还很多。在药物生产上,深入开展病原微生物的生物学特性及致病机制的研究,为开发新药提供理论基础,其中重点是对抗病毒药物的研制与开发:加强微生物耐药性机制的研究,解决细菌耐药性问题。在预防方面,研制开发免疫原性好、副作用小的重组疫苗及嵌合疫苗(微生物抗原与佐剂或细胞因子嵌合表达的疫苗)等新型疫苗。在病原微生物诊断方面,要规范微生物学诊断方法,建立快速、特异、简便的早期诊断方法,特别是针对病毒的诊断。加强微生物特异性诊断技术的建立、人员培训及国际合作与信息网络的建立,对突发性的公共卫生传染事件有快速、准确的反应和相应的措施。同时,要加强同相关学科的交流与协作,以推动微生物学的发展。

七、课后反思

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	细菌	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	8学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

1. 细菌的大小与形态
2. 细菌的结构
3. 细菌形态的检查方法
4. 细菌的生长与繁殖
5. 细菌的新陈代谢
6. 细菌的致病性
7. 常见的病原性细菌

学情分析

学生特点

理解能力：学生可能对细菌的生物学特性、分类、生理代谢等理论知识理解较慢，需要通过生动的实例和直观的教学手段来帮助理解。

记忆能力：学生对细菌名称、分类和特点的记忆可能存在困难，需要通过有效的记忆策略来加强。

实践能力：学生对实验室安全规范和生物安全的认识可能不足，需要在实验教学中重点强调。

教学目标

知识目标	1. 认识显微镜的基本构造和种类。 2. 能说出细菌和真菌的形态结构、生长繁殖、菌落特征等知识, 3. 知道微生物的培养与代谢、生长与控制和菌种的选育与保藏等技术方法。
能力目标	1.学会显微镜的使用与镜检基本操作技能 2.能够进行细菌的单染色法与革兰氏染色法操作，无菌室的消毒处理及超净工作台的使用，玻璃器皿的洗涤、干燥、包扎和灭菌等操作。 3.能熟练配制培养基、进行微生物接种、菌种筛选和保藏操作。
素质目标	具备吃苦耐劳、独立思考、团结协作、勇于创新的精神和诚实守信的优良品质;培养学生具有精益求精的工匠精神、良好的职业道德和家国情怀。
思政元素	1. 通过分析细菌感染性疾病对患者和社会的影响，培养学生关爱生命、尊重生命的社会责任感。 2. 讨论抗生素滥用导致的细菌耐药性问题，引导学生关注公共卫生伦理，正确使用抗生素。

教学重难点及解决措施

<p>重点：细菌的形态与结构、细菌生理、细菌的致病性 难点：革兰染色技术 解决措施：多媒体讲授</p>			
教学环节			
导入案例	<p>患者，男，10岁，因左手小指外伤后肿胀、疼痛前来就诊。经检查，其伤口感染病菌已化脓，且脓汁黏稠，炎症部位与周围组织界限清晰。取脓性分泌物涂片，用革兰氏染色法染色后镜检，发现有呈葡萄状排列的革兰氏阳性球菌。</p>		
提出问题	<p>1.初步诊断该患者可能感染了何种细菌？ 2.该细菌具有什么样的生物学性状？</p>		
任务点一	细菌的形态与结构	教材	P7-13
教师讲解	<p>细菌的大小 细菌体积微小，通常以微米(μm)作为测量细菌大小的单位。人的肉眼最小分辨率为0.1mm，所以观察细菌要借助光学显微镜将其放大几百倍到上千倍。</p> <p>基本形态:球状、杆状、螺旋状</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 球菌 2. 杆菌 3. 螺旋菌 4. 特殊形态 <p>一般构造: 一般细菌都有的构造。包括：细胞壁、细胞膜、细胞质和核质</p> <p>特殊构造: 部分细菌具有的或一般细菌在特殊环境下才有的构造。</p> <p>包括：荚膜、鞭毛、菌毛、芽胞</p>		
学生活动	比较革兰氏阴性菌和阳性菌的区别		
任务点二	细菌形态的检查方法（掌握） P13-14		

教师讲解

一、不染色标本的检查法

将细菌直接置于普通光学显微镜或暗视野显微镜下观察，可观察到细菌的生活状态、运动状况以及繁殖方式等，常用悬滴法或压片法。由于细菌是无色半透明体，直接镜下观察其形态很不清楚，一般要用染色法进行检查。

二、染色标本的检查法

细菌染色多用碱性染料，如亚甲蓝、结晶紫、碱性复红等。由于细菌的等电点为 $\text{pH} 2\sim 5$ ，因而在近中性溶液中带有负电荷，易与带正电荷碱性染料的着色基团结合而着色。

(一) 单染色法

细菌只用一种染料着色，染色前要先将细菌制成标本，过程如下：细菌涂片-干燥-固定-染色-显微镜观察。因单染色法只用一种染料，如用结晶紫染料，细菌则被染成紫色；若用亚甲蓝则细菌被染成蓝色。通过该方法，可观察细菌的大小、形态和排列等，但不能鉴别细菌。

(二) 复染色法

复染色法使用两种或两种以上的染料着色，可将不同种的细菌或同种细菌的不同结构染成不同的颜色，不仅可以观

革兰氏染色与细胞壁：C. Gram（革兰）于 1884 年发明的一种鉴别不同类型细菌的染色方法。

1、用碱性染料结晶紫对菌液涂片进行初染；2、用碘溶液进行媒染，其作用是提高染料和细胞间的相互作用从而使二者结合得更牢固；3、用乙醇或丙酮冲洗进行脱色。在经历脱色后仍将结晶紫保留在细胞内的为革兰氏阳性细菌，而革兰氏阴性细菌的结晶紫被洗掉，细胞呈无色；4、用一种与结晶紫具有不同颜色的碱性染料对涂片进行复染。例如沙黄，它使原来无色的革兰氏阴性细菌最后呈现桃红到红色，而革兰氏阳性细菌继续保持深紫色。

革兰氏阳性和阴性细菌的比较革兰氏染色的原理。

<p>任务点三</p>	<p>细菌的生长与繁殖（熟悉） P15-16</p>
<p>教师讲解</p>	<p>(一)细菌生长繁殖的条件</p> <p>1.适当的营养 水、碳源、氮源、能源、无机盐和生长因子等为细菌的新陈代谢、生长繁殖提供必需的原料和足够的能量。</p> <p>2.适宜的温度 不同细菌对温度的要求不同，过高或过低都不利于其生长。根据细菌对温度的适应性，细菌可分为嗜冷菌、嗜温菌和嗜热菌。嗜冷菌的最适生长温度小于 20℃，嗜温菌的最适生长温度为 20~40℃,嗜热菌在高至 56~60℃中生长最好。病原性细菌均为嗜温菌，最适温度为 37℃,与人体体温相近，实验室培养细菌往往在 37℃培养。</p> <p>3.合适的 pH 大多数细菌最适 pH 6.8~7.4,在此范围内细菌的酶活性最强。少数细菌在碱性条件下生长良好，如霍乱弧菌在 pH8.4~9.2 时生长最好。也有的细菌最适 pH 偏酸，如乳酸杆菌最适 pH</p> <p>5.5。人类的血液、组织液 pH 7.4,细菌易生存；胃液偏酸，绝大多数细菌可被杀死。在实验室中培养细菌时，由于细菌代谢过程中分解糖产酸，使 pH 下降而影响菌体生长，所以培养基中应加入缓冲剂以保持 pH 稳定。</p> <p>4.必要的气体环境 主要指 O₂和 CO₂。一般细菌代谢中都需 CO₂,但大多数细菌代谢所产生的 CO₂即可满足自身需要。根据细菌对 O₂的需要不同，细菌可分为：①专性需氧菌，即必须在有氧的环境下才能生长繁殖的细菌，如结核分枝杆菌、枯草芽孢杆菌。②专性厌氧菌，即在无氧环境下才能生长繁殖的细菌，如破伤风梭菌。③兼性厌氧菌，即在有氧或无氧环境下均能生长繁殖，但在有氧时生长更好的细菌，多数病原菌都是兼性厌氧菌。</p> <p>专性厌氧菌在有氧条件下生长受到抑制，其可能原因：①厌氧菌缺乏细胞色素与细胞色素氧化酶，不能氧化那些氧化还原电势较高的氧化型物质。②厌氧菌缺乏过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶(SOD),不能清除有氧环境下所产生的超氧离子(O₂)和过氧化氢(H₂O₂),因而难以存活。③有氧条件下，厌氧菌某些酶的—SH 基被氧化为—S—S—基，导致酶失去活性。</p> <p>(二)细菌的繁殖方式和速度</p>

	<p>1. 裂 殖(fission)一个细胞通过分裂而形成两个子细胞的过程。</p> <p>杆状细胞</p> <p>横分裂：分裂时细胞间形成的隔膜与细胞长轴呈垂直状态。 纵分裂：分裂时细胞间形成的隔膜与细胞长轴呈平行状态。</p> <p>(1) 二分裂 (binary fission)</p> <p>对称的二分裂：一个细胞在其对称中心形成隔膜，进而分裂成两个形态、大小和构造完全相同的子细胞。</p> <p>不等二分裂：分裂成两个在外形、构造上有明显差别的子细胞。</p> <p>(2) 三分裂 (trinary fission)</p> <p>部分细胞进行成对的“一分为三”方式的三分裂，形成一对“Y”形细胞，随后仍进行二分裂，其结果就形成了特殊的网眼状菌丝体。</p> <p>2. 芽 殖 (budding) 指在母细胞表面 (尤其在其一端) 先形成一个小突起，待其长 大到与母细胞相仿后再相互分离并独立生活的一种繁殖方式。</p> <p>凡以这类方式繁殖的细菌，通称为芽生细菌 (budding bacteria)。</p>
<p>任务点四</p>	<p>细菌的新陈代谢</p>
<p>教师讲解</p>	<p>一、细菌的分解代谢和生化应</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 细菌对糖的分解 2. 细菌对蛋白质的分解 3. 细菌的生化反应: 通过生化试验的方法检测细菌对各种基质的代谢作用及其代谢产物, 从而鉴别细菌的种属。 <ol style="list-style-type: none"> (1) 糖发酵试验 (2) 靛基质试验 (3) 硫化氢试验 (4) 尿素分解试验 (5) 枸橼酸盐利用试验 <p>(二)合成代谢产物及其临床意义</p> <p>考点：细菌合成代谢产物在药学中的应用</p> <p>细菌通过新陈代谢不但能合成菌体的组成成分，如蛋白质、脂肪、核酸等，还能合成很</p>

	<p>多在医学上具有重要意义的代谢产物。</p> <p>1.热原质(致热原)(pyrogen) 是指通过注射进入人或动物机体引起发热的物质, 热原质主要指细菌体中的脂多糖, 另外酵母菌中的酵母多糖也有热原质的特性。脂多糖多由革兰氏阴性菌产生, 少数革兰氏阳性菌也能生成, 因其进入人或动物体内能引起发热反应, 故称热原质。热原质耐高温, 高压蒸汽灭菌 121℃ 20min 不能使其破坏, 加热 180℃ 4h 或 250℃ 45min 才能使热原质失去作用。热原质可通过一般细菌滤器, 但没有挥发性, 所以, 除去液体中的热原质的最好方法是蒸馏法。药液、水等被细菌污染后, 有热原质存在的可能性, 输入机体后可引起发热反应, 严重的可致死。生物制品或注射液制成后要除去热原质比较困难, 所以在制备和使用过程中必须严格无菌操作、防止细菌污染以确保无热原质存在。</p> <p>临床使用注射剂时, 常有患者发生寒战、发热、头痛、恶心、休克等症状, 严重时甚至死亡, 此为热原反应。为了提高药品质量和用药安全, 人们对热原质进行了广泛研究。</p> <p>2.毒素(toxin) 细菌产生的毒素有内毒素和外毒素两种。内毒素(endotoxin)是革兰氏阴性菌细胞壁的脂多糖, 其毒性成分为类脂 A, 菌体死亡崩解后释放出来。外毒素(exotoxin)是由革兰氏阳性菌和少数革兰氏阴性菌在生长代谢过程中释放至菌体外的蛋白质, 具有抗原性强、毒性强、作用特异性强等特点。</p> <p>□.侵袭性酶 某些细菌可产生具有侵袭性的酶, 能损伤机体组织, 促进细菌在机体中的扩散, 细菌重要的致病因素, 如链球菌的透明质酸酶等。</p> <p>4.色素(pigment) 某些细菌在营养丰富、氧气充足、温度适宜等条件下能产生色素, 可用于细菌的鉴别。细菌色素有两类: ①水溶性色素, 溶于水, 能弥散至培养基或周围组织中, 如铜绿假单胞菌产生的绿脓色素使培养基或脓汁呈绿色。②脂溶性色素, 不溶于水, 仅保持在菌体内使菌落着色而培养基颜色不变, 如金黄色葡萄球菌的金黄色色素。</p> <p>5.抗生素(antibiotic) 由某些微生物在代谢过程中产生的能抑制或杀死其他微生物或癌细胞的物质, 称为抗生素。抗生素多由放线菌和真菌产生, 细菌仅产生少数几种, 如多黏菌素、杆菌肽等。</p>
<p>任务点五</p>	<p>细菌的致病性(熟悉)</p>
	<p>细菌能引起感染的能力称为致病性(pathogenicity)或病原性。</p> <p>(质) 致病菌的致病性强弱程度称为毒力(virulence), 即致病性的强度(量)</p> <p>半数致死量(median lethal dose, LD50)</p> <p>半数感染量(median infective dose, ID50)</p> <p>一、细菌的毒力</p> <p>(一)、侵袭力(invasiveness)</p> <p>致病菌能突破宿主皮肤、粘膜生理屏障, 进入机体并在体内定植、繁殖和扩散的能力</p> <p>荚膜</p> <p>粘附素</p> <p>侵袭性物质</p> <p>(二)、毒素(toxin)</p> <p>1、外毒素(exotoxin) 多数革兰阳性菌和少数革兰阴性菌在生长繁殖过程中释放到菌</p>

	<p>体外的蛋白质</p> <p> 外毒素种类</p> <p> (1) 神经毒素 破伤风痉挛毒素、肉毒毒素</p> <p> (2) 细胞毒素 白喉毒素、葡萄球菌表皮剥脱毒素、葡萄球菌毒性休克综合征毒素、A 群链球菌致热外毒素</p> <p> (3) 肠毒素 霍乱肠毒素、ETEC肠毒素、产气荚膜梭菌肠毒素、葡萄球菌肠毒素</p> <p>2、内毒素 (endotoxin) 革兰阴性菌细胞壁的脂多糖, 菌体死亡崩解时游离出来</p> <p>3、内毒素与外毒素的比较</p>
<p>任务点六</p>	<p>常见病原性细菌 (熟悉)</p>
	<p>一、球菌: 葡萄球菌</p> <p> (一) 生物学性状:</p> <p> 形状与染色</p> <p> 圆形、直径 0.4-1.2um</p> <p> 显微镜下呈葡萄串状排列</p> <p> 革蓝染色阳性, 无鞭毛和芽孢</p> <p> 抵抗力</p> <p> 抵抗力最强</p> <p> 在干燥的脓汁、痰液中存活数月</p> <p> 80℃30-60min 才被杀死</p> <p> 临床上常用 2~4% 的甲紫溶液治疗葡萄球菌引起的化脓症</p> <p> 对青霉素、红霉素、庆大霉素敏感</p> <p> (二) 致病性:</p> <p> 金黄色葡萄球菌可产生多种毒素和酶</p> <p>二、杆菌</p> <p>由于对大多数抗生素有耐药性, 临床上采用联合用药。</p> <p>可使用头孢氨苄、庆大霉素、羧苄西林等。</p> <p>注射多价菌苗、丙种球蛋白可用于免疫治疗。</p>
<p>小结</p>	<p>画出思维导图</p>

随堂练习

一、名词解释

1. 细菌：是一类具有细胞壁的单细胞原核型微生物。
2. 放线菌：放线菌是原核生物中一类能形成分枝菌丝和分生孢子的特殊类群，呈菌丝状生长，主要以孢子繁殖，革兰氏阳性，在分类学上属于细菌类，因菌落呈放射状而得名。
3. 酵母菌：酵母菌是以芽殖为主，结构简单，大多数为单细胞的一类真菌。
4. 霉菌：凡是在营养基质上能形成绒毛状、网状或絮状菌丝体的真菌，统称为霉菌。
5. 螺旋体：是一类细长而柔软、波状或螺旋状、运动活泼的原核单细胞微生物。
6. 支原体：是介于细菌和病毒之间、营独立生活的最小单细胞微生物。

七、课后反思

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	放线菌	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	2 学 时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

第 1 节 放线菌的生物学特性

第 2 节 重要的放线菌属

第 3 节 病原性放线菌

放线菌是一大类有分枝菌丝的单细胞原核细胞型微生物。本章重点介绍放线菌的形态与结构，放线菌的培养条件、菌落特征、繁殖方式及生活周期。简要介绍产生抗生素的常见放线菌以及放线菌的致病作用。通过学习，应掌握放线菌的形态与结构；熟悉放线菌的培养特性、产生抗生素的常见放线菌；了解放线菌的致病作用。

教学目标

知识目标	1.了解放线菌的特点和分类。
能力目标	1. 掌握放线菌的培养方法。 2. 掌握放线菌的鉴定方法和实验操作技巧。
素质目标	1. 培养学生严谨求实的科学态度和精益求精的工匠精神。 2. 增强学生的生物安全意识，树立无菌操作观念。 3. 激发学生对微生物世界的探索兴趣，培养创新意识。
思政元素	1. 引导学生关注我国放线菌资源开发利用现状，树立科技报国的远大理想。 2. 结合放线菌在医药工业中的应用，例如抗生素的生产，强调药品质量安全的重要性，培养学生的社会责任感和职业道德。

教学重难点及解决措施

重点：放线菌生物学特性、致病特点、免疫性及防治原则

难点：放线菌生物学特性、致病特点、免疫性及防治原则

解决措施：采用案例分析、问题导向、小组讨论等教学方法，引导学生主动思考、积极参与。

教学环节

<p style="text-align: center;">导 入</p>	<p>放线菌(actinomycete)是一类具有丝状分枝的原核细胞型微生物，菌落呈放射状生长而得名。大多数放线菌是需氧型腐生菌，广泛分布于自然界，尤其在含水量较低、有机物丰富和呈微碱性土壤环境中数量最多，泥土特有的“泥腥味”主要由放线菌的代谢产物土腥味素所致。由于许多放线菌有极强的分解纤维素、石蜡、角蛋白等的能力，故它们在环境保护、提高土壤肥力以及自然界物质转化中起着重要作用。</p> <p>放线菌与人类关系极为密切，是抗生素的主要产生菌。在已发现的天然抗生素中，70%以上由放线菌产生，如链霉素、土霉素、四环素和红霉素。此外，一些放线菌的次级代谢产物还在临床上作为抗肿瘤药物，如多柔比星、博来霉素和放线菌素 D。放线菌还可用于制造各种酶制剂、维生素和有机酸等重要的医药类产品。也有少数寄生型放线菌可以感染人和动植物，构成危害。</p>		
<p style="text-align: center;">任务点一</p>	<p>放线菌的生物学特性</p>	<p>教材</p>	<p>P35-37</p>
<p style="text-align: center;">教师讲解</p>	<p>一、放线菌的形态和结构</p> <p>放线菌革兰氏染色多为阳性，无荚膜、鞭毛和芽孢。放线菌的结构和化学成分和细菌相似，而形态学上有较大差距，其菌体呈丝状，有分枝，主要以孢子繁殖，这些特征与霉菌相似。因此，放线菌是介于细菌与真菌之间而又接近于细菌的一类丝状原核细胞型微生物。</p> <p>(一) 放线菌的菌丝</p> <p>(二)放线菌的孢子</p> <p>孢子丝发育到一定阶段即分化形成孢子，孢子成熟后可从孢子丝中逸出飞散。放线菌的孢子为无性孢子，是放线菌的繁殖器官。孢子的形状多样，有球形、椭圆形、杆形、梭形等。孢子的颜色十分丰富，呈灰、白、黄、红、蓝、绿等颜色，孢子表面的纹饰因种而异，在电子显微镜下清晰可见，有的光滑，有的呈褶皱状、刺状、毛发状等。放线菌孢子的颜色和其表面结构特征在一定条件下比较稳定，可以作为菌种鉴定的依据之一。</p> <p>二、放线菌的培养</p> <p>(一)放线菌的培养条件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 营养 放线菌对营养要求不高，在普通培养基上即能生长。多数放线菌分解淀粉的能力较强，故培养基中大多含有一定量的淀粉。容易吸收和利用的碳源主要是淀粉、糊精、葡萄糖和麦芽糖，氮源可利用蛋白胨、氨基酸、硝酸盐、铵盐和尿素等，对无机盐的要求较高，一般需加入如钾、钠、硫、磷、铁等多种元素。实验室常用的有高氏一号培养基和淀粉琼脂等培养基。 2. 温度 腐生型放线菌生长的最适温度一般为 28~32℃，寄生型放线菌的温度则为 37℃，高温放线菌在 50~60℃也能生长。 3. 气体 大多为需氧菌，在实验室液体培养时若静置，会见到液面与瓶壁交界处形成菌苔，在抗生素生产过程中一般需要通气搅拌以增加发酵液中溶氧的含量以提高产量。 4. pH 最适 pH 为 7.2~7.6。放线菌对酸敏感，故在酸性条件下生长不良。 <p>放线菌生长缓慢，需 3~7 天才能形成典型的菌落，放线菌菌种保藏可将孢子混入砂土管内，在 4℃下可保存 1~5 年。</p> <p>(二)放线菌的菌落特征</p> <p>放线菌的菌落通常为圆形，略大于或接近普通细菌菌落，但比真菌菌落小得多，主要具有以下一些特征：①表面干燥、坚实、致密牢固；②基内菌丝伸入到培养基中，与培养基结合牢固，不易挑起；③菌落不透明，正、反两面常呈现不同的色泽，从培养基的背面可以观察基内菌丝的颜色，如白、绿、橙红、紫、黑等多种颜色；④普通气生菌丝大</p>		

	<p>多呈白色，当孢子丝发育成熟后，形成大量孢子堆覆盖于气生菌丝的表面，使菌落呈现白、粉、淡黄、紫、灰等多种颜色。不同种类的放线菌菌落具有一定的特征，是鉴定的依据。</p> <p>(三)放线菌的繁殖方式和生活史</p> <p>放线菌主要通过无性孢子的方式进行繁殖。在液体培养基中，也可通过菌丝断裂的片段形成新的菌丝体而繁殖，故在工业发酵生产抗生素时，常采用搅拌培养以获得大量菌丝体。下面以链霉菌的生活史为例来说明放线菌的生活周期，如图 2-3 所示。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 孢子萌发 在适宜的环境条件下，孢子吸收水分而萌发，长出 1~3 个芽管。 2. 基内菌丝 芽管继续延长，分枝形成基内菌丝。 3. 气生菌丝 基内菌丝发育到一定阶段，向培养基外部空间生长形成气生菌丝。 4. 孢子丝 气生菌丝发育到一定阶段，在顶端形成孢子丝。 5. 孢子 由孢子丝发育形成孢子。如此反复循环，构成了放线菌的生活史。
<p>学生活动</p>	<p>观察放线菌的菌落特征</p>
<p>任务点二</p>	<p>主要的放线菌属</p>
<p>教师讲解</p>	<p>一、链霉菌属(<i>Streptomyces</i>)</p> <p>是放线菌目中最大的一个属，绝大多数腐生好氧，形态上的突出特点是有发育良好的基内菌丝和气生菌丝，气生菌丝特化形成的孢子丝和孢子所具有的特征在放线菌中最为显著。链霉菌属的孢子丝形态有直的、波浪形、螺旋形等，能形成长的孢子链。</p> <p>链霉菌属的次级代谢产物种类丰富，最重要的就是抗生素。在放线菌产生的抗生素中，有约 90%是由链霉菌属产生的。生产的抗生素主要有链霉素、卡那霉素、土霉素、氯霉素、四环素、金霉素、新霉素、红霉素、两性霉素 B、制菌霉素、万古霉素、丝裂霉素等。有的链霉菌能产生一种以上的抗生素，而不同种的链霉菌也能产生同种抗生素。</p> <p>二、诺卡菌属</p> <p>三、游动放线菌属</p>
<p>任务点三</p>	<p>病原性放线菌</p>
<p>教师讲解</p>	<p>少数放线菌可寄生于人和动物体内，对人致病的主要是厌氧放线菌属的衣氏放线菌(<i>A.israelii</i>)和需氧的诺卡菌属；对牛致病的是牛型放线菌(<i>A.bovis</i>),可引起牛放线菌病，对人无致病能力。</p>

小结	画出思维导图
作业	1、简述放线菌的形态与结构特点。 2、列举产生抗生素的放线菌。 3、简述放线菌的致病作用。

七、课后反思

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	其它原核微生物	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	4 学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

教学内容分析：

第1节 螺旋体

菌体柔软，无鞭毛，用于运动的类似鞭毛的轴丝位于细胞外鞘内。大多数是致病菌。

第2节 支原体

又称类菌质体，是一类无细胞壁、介于独立生活和细胞内寄生生活之间的最小型原核生物。多数为致病菌。

第3节 衣原体

介于立克次氏体与病毒之间，能通过细菌滤器，专性活细胞内寄生的一类原核微生物。

第4节 立克次体

熟悉支原体的生物学特性及主要病原性支原体的致病与传染、了解立克次体的基本特性及致病性。了解衣原体的生物学特性，熟悉沙眼衣原体的致病特点、传染与防治原则。

教学目标

知识目标	1.熟悉螺旋体、支原体、衣原体的特点和分类。了解立克次氏体的特点和分类。
能力目标	3. 掌握支原体、衣原体的培养方法。 4. 掌握支原体和衣原体的鉴定方法。
素质目标	4. 培养学生严谨求实的科学态度和精益求精的工匠精神。 5. 增强学生的生物安全意识，树立无菌操作观念。 6. 激发学生对微生物世界的探索兴趣，培养创新意识。
思政元素	1.引导学生关注我国其它原核微生物资源开发利用现状，树立科技报国的远大理想。 2.结合其它原核微生物在医药工业中的应用，强调药品质量安全的重要性，培养学生的社会责任感和职业道德。

教学重难点及解决措施

重点：支原体的生物学特性及主要病原性支原体的致病与传染；立克次体的基本特性及致病性沙眼衣原体的致病特点、传染与防治原则。

解决措施：采用案例分析、问题导向、小组讨论等教学方法，引导学生主动思考、积极参与。

教学环节

导 入

原核细胞型微生物除了已介绍的细菌、放线菌外，还有古菌、蓝细菌、螺旋体、立克次体、支原体和衣原体。

蓝细菌(cyanobacteria):曾被认为是蓝藻，但后来发现蓝细菌没有细胞核，没有叶绿体，有 70S 核糖体，是原核生物，与属于真核生物的藻类有本质的区别。蓝细菌能进行与高等植物类似的光合作用，但仅有十分简单的光合作用结构装置。含有叶绿素 a，以水作为电子供体并且产生氧气。蓝细菌忍受极端环境的能力极强，分布广泛，在淡水、海洋、极地、森林甚至沙漠岩石的沟壑里也有它们的足迹。其细胞内含有丰富的色素，如藻青素，使得大多数蓝细菌细胞呈蓝绿色，但也有少数由于存在藻红素而呈红棕色。蓝细菌属单细胞生物，但有些经常以丝状的细胞群体存在，我国食用的“发菜”就是蓝细菌的丝状体。

古菌(archaea):原来叫古细菌，现改称为古菌。因某些原核生物的栖息环境类似于早期(原古)的地球环境，故将这些生物统称为古菌。古菌具有一些独特的性状，不同于其他的原核生物:如不具有一般细菌细胞壁所含有的肽聚糖;16SrRNA 序列既不同于一般细菌又不同于真核生物;蛋白质合成起始氨基酸是甲硫氨酸;有数个 RNA 聚合酶及核体又类似于真核生物等。现在人们认为古菌和细菌大约是在 40 亿年以前从它们最近的共同祖先分支进化产生的,而现代的真核生物又是从古菌分支进化而来，这使古菌成为一种引人注目的生命形式，生物工程的学者们希望能获得古菌特殊的抗热、抗冷、抗酸、抗碱等酶类，因而古菌有许多尚未了解的方面等待人们的探索。以上简单介绍了原核微生物中的蓝细菌和古菌，以下主要介绍其他四类原核细胞型微生物。

任务点一

螺旋体

教材

P40-43

教师讲解

螺旋体(spirochele)是一类细长而柔软、弯曲呈螺旋状、运动活泼的原核细胞型微生物，生物学地位介于细菌和原虫之间。其基本结构及生物学性状与细菌类似，有细胞壁、核质，以二分裂方式繁殖，且对抗生素敏感;与原虫相似之处在于细胞壁与外膜之间有鞭毛或称轴丝，能够屈曲与收缩，可使螺旋体自由活泼运动。

螺旋体在自然界和动物体内分布广泛，种类很多。分类主要依据是其抗原性，螺旋体数目、大小与

规则程度以及两螺旋间距离，其中对人类具有致病作用的有 3 个属。

1. 钩端螺旋体属(Leptospira)螺旋非常细密、规则，一端或两端弯曲呈钩状。

2. 密螺旋体属(Treponema)螺旋细密、规则，两端尖细。对人致病的有梅毒螺旋体、品他螺旋体等。

3. 疏螺旋体属(Borrelia)有 3~10 个螺旋，螺旋稀疏、不规则呈波状。对人致病的有回归热螺旋体和伯氏疏螺旋体等。

学生活动

观察螺旋体的菌落特征

任务点二	支原体	教材	P43-44
教师讲解	支原体是一类无细胞壁结构，呈高度多态性、能通过滤菌器、能在无生命的人工培养支原体(mycoplasma)是一类无细胞壁、基中生长繁殖的最小的原核细胞型微生物。支原体在自然界分布广泛，人类、家畜、家禽等体内也能分离到，其中有些株对宿主可造成一定危害。对人致病的主要为肺炎支原体、人型支原体、生殖道支原体、解脲脲原体等。		
任务点三	衣原体	教材	P44-46
教师讲解	衣原体(chlamydia)是一类专性细胞内寄生的原核细胞型微生物，在 1970 年前曾一直被认为是病毒，它与病毒的相同之处有:①具有滤过性，可通过细菌滤器;②专性细胞内寄生;③在活细胞培养后能形成包涵体。但后来发现衣原体具有以下一些与病毒不同的生物学特性:①含有 DNA 和 RNA 两类核酸;②以二分裂方式进行繁殖;③有细胞壁，革兰氏染色阳性;④有核糖体;⑤具有一些代谢活性的酶类，能进行简单的代谢活动;⑥多种抗生素可抑制其生长。因此，衣原体具有与细菌相似的生物学特性，隶属于细菌范畴。		
任务点四	立克次氏体	教材	P46-47
教师讲解	立克次体(rickettsia)是一类专性细胞内寄生的原核细胞型微生物。迄今已知对人致病的立克次体 20 余种,它们大多在嗜血节肢动物和自然界哺乳动物之间保持循环传染。人类感染立克次体可因生产劳动、资源开发、战争等进入自然疫源地区，经嗜血节肢动物叮咬而感染。立克次体是引起斑疹伤寒、恙虫病、Q 热等传染病的病原体。在我国分布的主要致病立克次体:普氏立克次体、莫氏立克次体、恙虫病东方体等。 立克次体的共同特点:①大多为人畜共患病原体。②以节肢动物作传播媒介或储存宿主。③大小介于细菌和病毒之间，革兰氏染色阴性。④多形态性，主要为球杆状。⑤专性细胞内寄生。⑥对多种抗生素敏感。		
小结	画出思维导图		
作业	1、简述常见原核细胞微生物的生物学形状、致病性及防治原则。		
七、课后反思			

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	真菌	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	6 学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

- 第 1 节 酵母菌
- 第 2 节 霉菌
- 第 3 节 常用真菌简介
- 第 4 节 常见真菌性疾病

学情分析

1. 知识基础:

已学习《微生物与免疫学》课程的部分基础知识，如细菌、放线菌的形态结构、繁殖方式、培养特性等。对真菌有一定的感性认识，例如日常生活中常见的霉菌、酵母菌等，但对真菌的系统分类、形态结构、繁殖方式、致病机制等缺乏深入了解。

2. 学习特点:

学习兴趣浓厚，但对理论知识的理解能力有待提高。
喜欢动手实践，但实验操作的规范性和严谨性需要加强。
思维活跃，但缺乏系统性和逻辑性。

教学目标

知识目标	<ul style="list-style-type: none">1. 认识显微镜的基本构造和种类。2. 能说出真菌的形态结构、生长繁殖、菌落特征等知识,3. 知道微生物的培养与代谢、生长与控制和菌种的选育与保藏等技术方法。
能力目标	<ul style="list-style-type: none">1.学会显微镜的使用与镜检基本操作技能2.能够进行细菌的单染色法与革兰氏染色法操作，无菌室的消毒处理及超净工作台的使用，玻璃器皿的洗涤、干燥、包扎和灭菌等操作。3.能熟练配制培养基、进行微生物接种、菌种筛选和保藏操作。

素质目标	具备吃苦耐劳、独立思考、团结协作、勇于创新的精神和诚实守信的优良品质;培养学生具有精益求精的工匠精神、良好的职业道德和家国情怀。		
思政元素	1. 通过分析感染性疾病对患者和社会的影响,培养学生关爱生命、尊重生命的社会责任感。 2. 讨论抗生素滥用导致的细菌耐药性问题,引导学生关注公共卫生伦理,正确使用抗生素。		
教学重难点及解决措施			
<p>重难点:</p> <p>真菌的一般性状、致病特征, 皮肤癣菌、深部感染真菌的致病性与防治原则</p> <p>解决措施:</p> <ol style="list-style-type: none"> 针对学生知识基础薄弱的特点, 采用通俗易懂的语言和生动形象的案例进行讲解, 例如结合日常生活中常见的真菌感染病例, 帮助学生理解和掌握真菌的相关知识。 针对学生喜欢动手实践的特点, 设计丰富的实验项目, 如真菌的形态观察、分离培养等, 提高学生的实验操作技能。 针对学生思维活跃但缺乏系统性的特点, 采用思维导图、表格对比等方法, 例如将真菌与细菌、放线菌进行对比, 帮助学生梳理知识脉络, 构建知识体系。 			
教学环节			
导入案例	黄曲霉毒素中毒		
提出问题			
任务点一	概述	教材	P48

<p>教师讲解</p>	<p>真菌(Fungus)是一大类细胞结构比较完整，有细胞壁，不含叶绿素的真核细胞型微生物。</p> <p>特点：①单细胞/多细胞 ②以孢子和菌丝体存在 ③细胞壁不含肽聚糖，主要由多糖和蛋白质组成 ④细胞膜含胆固醇 真菌不是植物。 真菌不含叶绿素，无根、茎、叶的分化。</p>
<p>学生活动</p>	
<p>任务点二</p>	<p>酵母菌</p>
<p>教师讲解</p>	<p>一、酵母菌的形态和大小</p> <p>酵母菌细胞的形态通常有球形、卵圆形、圆柱、梨形、腊肠形、椭圆形、柠檬形或藕节形等。其细胞直径一般是细菌的10倍左右。酵母菌无鞭毛，不能游动。</p> <p>二、细胞结构</p> <p>1. 荚膜物质</p> <p>有些酵母（例如：隐球酵母菌属）其细胞壁外还有一层类似细菌荚膜的多糖物质。</p> <p>2. 细胞核</p> <p>酵母菌具有由多孔核膜包裹起来的定形细胞核。酵母菌细胞核是其遗传信息的主要贮存库</p> <p>Eg. 啤酒酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) 基因组共有17条染色体，6500个基因。</p> <p>除细胞核含DNA外，在酵母菌线粒体、“2mm质粒”及少数酵母菌线状质粒中也含有DNA。2mm质粒：一个闭合环状超螺旋DNA分子，用于研究基因调控、染色体复制的理想系统，也可作为酵母菌转化的有效载体，并由此组建“工程菌”。</p> <p>3. 微丝 (Fimbriae)</p>

	<p>化学成分：蛋 白质 功能：细 胞凝聚</p> <p>三、酵母菌繁殖方式和生活史</p> <p>酵母菌的繁殖方式多样,分为无性繁殖和有性繁殖 假酵母（拟酵母）:只进行无性繁殖的酵母菌 真酵母:具有有性繁殖的酵母菌</p>
<p>任务点三</p>	<p>霉菌（熟悉）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>霉菌是丝状真菌的一个俗称，意即“会引起物品霉变的真菌”，通常指那些菌丝体较发达又不产生大型柔孢子实体结构的真菌。</p> <p>霉菌是丝状真菌的一个俗称，意即“会引起物品霉变的真菌”，通常指那些菌丝体较发达又不产生大型柔孢子实体结构的真菌。</p> <p>一、分布及与人类的关系</p> <p>1. 在自然界分布极广</p> <p>霉菌同人类的生产、生活关系密切，是人类实践活动中最早认识和利用的一类微生物。</p> <p>2. 食物、工农业制品的霉变</p> <p>全世界平均每年由于霉变而不能食(饲)用的谷物约占2%。</p> <p>英国每年由于霉变木材损失3-4亿美元</p> <p>食品、纺织品、皮革、木材、纸张、光学仪器、电工器材和照相材料等发霉。</p> <p>3. 生产的产品</p> <p>风味食品：酱、酱油、腐乳、 酒 抗生素：青霉素、灰黄霉 素 有机酸：柠檬酸、葡萄糖酸、延胡索 酸等 酶制剂：淀粉酶、果胶酶、纤维</p>

素酶等

维生素：甾体激素等

农用产品：饲料添加剂、植物生长刺激素（赤霉素）、杀虫农药（白僵菌剂）等。

引起人和动物疾病；另有少部分霉菌可产生毒性很强的真菌毒素，

Eg. 黄曲霉毒素（aflatoxin）

等。霉菌易引起动物和人体传

染病，

Eg. 皮肤癣症等；3. 基础理论研究中良好的试验材料

Eg. 粗糙脉孢菌（*Neurospora*

crassa） 构巢曲霉

（*Aspergillus nidulans*）

在微生物遗传学研究中的应用等。

二、霉菌的形态结构

1. 霉菌菌丝细胞结构

霉菌菌丝细胞和酵母一样是真核细胞，都由细胞壁、细胞膜、细胞质、细胞核、线粒体、核糖体及内含物、液泡组成。

大多数霉菌细胞壁成分是多糖（多为几丁质，少数低等的水生性较强的真菌则以纤维素为主），可被蜗牛消化酶水解。

2. 菌丝体（*mycelium*）

由许多菌丝相互交织而成的一个菌丝集团称菌丝体（*mycelium*，复数*mycelia*）。

3. 菌丝的特化

营养菌丝和气生菌丝对于不同的真菌来说，在它们的长期进化过程中，对于相应的环境条件已有了高度的适应性，并明显地表现在产生各种形态和功能不同的特化结构上。也称菌丝的变态。

1) 营养菌丝体的特化

形态 菌环

菌网

附枝（匍匐菌丝、假根）

附着枝 附着胞 吸器

菌核 菌索

(1) 菌环：菌丝交织成套状

(2) 菌网：菌丝交织成网状

(3) 匍匐菌丝、假根：功能是固着和吸收营养。

(4) 附着枝：若干寄生真菌由菌丝细胞生出 1-2 个细胞的短枝，以将菌丝附着于宿主上，这种特殊的结构即附着枝。

(5) 附着胞：许多植物寄生真菌在其芽管或老菌丝顶端发生膨大，并分泌粘性物，借以牢固地粘附在宿主的表面，这一结构就是附着胞，附着胞上再形成纤细的针状感染菌丝，以侵入宿主的角质层而吸取营养。

(6) 吸器：吸收细胞内的营养。

(7) 菌核：是一种休眠的菌丝组织。茯苓

(8) 菌索：一般由伞菌等产生，为白色根状菌丝组织，功能为促进菌体蔓延和抵御不良环境。

2) 气生菌丝体的特化形态

气生菌丝体主要特化成各种形态的子实体，即在其里面或上面可产无性或有性孢子，有一定形状和构造的任何菌丝体组织。

B. 产生有性孢子的、结构复杂的子实体，称为子囊果 (ascocarp)。

在子囊和子囊孢子发育过程中，从原来的雌器和雄器下面的细胞上生出许多菌丝，它们有规律地将产囊菌丝包围，形成了由一定结构的子囊果。

3) 菌丝体在液体培养时的特化形态

真菌在液体培养基中进行通气搅拌或振荡培养时，易产生菌丝球 (mycelial bead) 的特殊构造。

菌丝体互相紧密纠缠形成颗粒，均匀的悬浮于培养液中，有利于氧的传递以及营养物质和代谢产物的输送，对菌丝的生长和代谢产物形成有利。

三、霉菌的菌落

四、霉菌的繁殖方式

(1) 节孢子

菌丝生长到一定阶段时出现横隔膜，然后从隔膜处断裂而形成的细胞。

(2) 厚垣孢子

某些霉菌种类在菌丝中间或顶端发生局部的细胞质浓缩和细胞壁加厚，最后形成一些厚壁的休眠孢子。

(3) 孢囊孢子

(4) 分生孢子

是在生殖菌丝顶端或已分化的分生孢子梗上形成的孢子，分生孢子有单生、成链或成簇等排列方式，是子囊菌和半知菌亚门的霉菌产生的一类无性孢子。

2. 有性孢子

经过两性细胞结合而形成的孢子称为有性孢子。经过两性细胞结合产生新个体的过程称为有性繁殖。有性繁殖一般不普遍，特别在人工培养基上不出现。

霉菌的有性繁殖过程十分复杂，一般分为三个阶段，即质配、核配和减数分裂。

a) 质配：两个性细胞结合，细胞质融合，成为双核细胞，每个核均含单倍染色体 ($n+n$)。

b) 核配：两个核融合，成为二倍体接合子核，此时核的染色体数是二倍 ($2n$)。

c) 减数分裂：具有双倍体的细胞核经过减数分裂，核中的染色体数目又恢复到单倍体状态。

(1) 卵孢子：菌丝分化成形状不同的配子囊，小的叫雄器和大的叫藏卵器，雄器与藏卵器结合后所形成的有性孢子叫卵孢子。

(2) 接合孢子：由菌丝分化成两个形状相同、但性别不同的配子囊结合而形成的有性孢子叫接合孢子。

(3) 子囊孢子：菌丝分化成产囊器和雄器，两者结合形成子囊，在子囊内形成的有性孢子即为子囊孢子。

子囊孢子的形成过程：

雄器的细胞质、细胞核经受精管进入产囊器，质配后产囊器生出许多短短的菌丝称产囊丝，+、-成对的核进入产囊丝多次分裂，产囊丝生出许多隔膜成多细胞菌丝，产囊丝顶端细胞有1个“+”核、1个“-”核，该细胞称子囊母细胞，子囊母细胞中两核结合形成 $2n$ 核、一次减数分裂一次有丝分裂，产生8个 n 核，8个 n 核发育成子囊

孢子，此时子囊母细胞即子囊。子囊孢子是在子囊内形成的有性孢子。

(4) 担孢子：菌丝经过特殊的分化和有性结合形成担子，在担子上形成的有性孢子即为担孢子。

霉菌有性孢子繁殖的特点：

a) 霉菌的有性繁殖不常见。

b) 有性繁殖方式因菌种不同而异，有的两条营养菌丝就可以直接结合，有的则由特殊的性细胞（性器官）——配子囊或由配子囊产生的配子来相互交配，形成有性孢子。

c) 核配后一般立即进行减数分裂，因此菌体染色体数目为单倍，双倍体只限于接合子。

d) 霉菌的有性繁殖存在同宗配合和异宗配合两种情况。

3. 生活史

无性繁殖阶段：菌丝体（营养体）在适宜的条件下产生无性孢子，无性孢子萌发形成新的菌丝体，多次重复。

有性繁殖阶段：在发育后期，在一定条件下，在菌丝体上分化出特殊性器官（细胞）质配、核配、减数分裂后形成单倍体孢子，再萌发形成新的菌丝体。

有一些霉菌，至今尚未发现其生活史中有有性繁殖阶段，这类真菌称为半知菌

4. 霉菌孢子与细菌芽孢的比较

第4节 常用真菌简介（熟悉）

（一）毛霉属 (*Mucor Micheli ex Fries*)

毛霉是较为低等的真菌，生长迅速，菌丝发达，在基质上或基质内能广泛蔓延，菌丝不分隔，不产生假根和匍匐枝，是单细胞真菌，在分类上属于接合菌亚门或亚纲。

毛霉以孢囊孢子的形式进行无性繁殖，孢子梗直接由菌丝体生出，顶端有一个球形的孢子囊，囊内有囊轴，囊轴与孢子囊梗直接相连，孢子囊成熟后，囊壁易消失或破裂。

毛霉中有的菌 eg. 总状毛霉能产生厚垣孢子，有性繁殖是异宗配合，产生接合孢子。

毛霉中的许多种分解蛋白质能力很强，豆腐乳、豆豉的制作均用毛霉。

(二) 根霉属 (*Rhizopus Ehrenberg*)

根霉和毛霉很相似，不同的是根霉有假根和匍匐菌丝。匍匐菌丝呈弧形，在培养基表面水平生长。分枝状的假根伸入培养基内，与假根相对处向上生出孢子梗，顶端形成孢子囊，内生孢囊孢子。孢子囊内具囊轴，囊轴茎部与孢子囊梗相连处有囊托。以孢囊孢子的形式进行无性繁殖，有性繁殖形成接合孢子，根霉对酿酒业具有特殊作用，我国用淀粉发酵生产酒、酒精，由于酵母不能直接利用淀粉，所以淀粉的糖化用的就是根霉，根霉具有活力很强的淀粉酶。根霉也是导致瓜果蔬菜腐烂的主要菌。

(三) 红曲霉

红曲霉在麦芽+琼脂上生长良好，菌落为膜状的蔓延生长物，表面有皱纹。菌落开始为白色，成熟后变为红紫色等，能向培养基中分泌红色色素。

菌丝分隔、多核、多分枝，分生孢子在菌丝及其分枝的顶端，2~6个成串，分生孢子大多为梨形，多核。

红曲霉有性繁殖是形成子囊孢子，其子囊果是闭囊壳，闭囊壳是球形的，有柄，闭囊壳内散生十多个子囊，子囊也是球形的，有8个子囊孢子。

红曲霉能产生淀粉酶、麦芽糖酶、蛋白酶、柠檬酸、琥珀酸、乙醇，能提取天然食用色素，用于制作黄酒、醋、红腐乳等。

(四) 曲霉

曲霉菌丝体发达，菌丝分隔，菌丝体产生大量的分生孢子梗，分生孢子梗顶端膨大成为顶囊，顶囊一般是球形的，顶囊表面长满一至二层辐射状的小梗称分生孢子小梗，小梗顶端着生成串的球形分生孢子，分生孢子梗生在足细胞上，并通过足细胞与营养菌丝相连足细胞是一个特化了的细胞，壁很厚。

曲霉属中大多数种只进行无性繁殖，也有极少数中能产生子囊孢子。黑曲霉

淀粉酶用于淀粉的糖化、液化；

酸性蛋白酶用于食品制作、消化剂；

果胶酶用于果汁澄清、植物纤维精制；

柚苷酶和橙皮苷酶，用于桔子汁或桔果酱脱苦；产生多种有机酸eg. 柠檬酸、葡萄糖酸等。

能引起食品等霉变。

	<p>黄曲霉，在食品上能产生大量的黄曲霉毒素。黄曲霉毒素具有很强的致癌性，所以食品中只要测出就不能食用，</p> <p>黄曲霉产生蛋白酶、淀粉酶、果胶酶、有机酸等。</p> <p>黄曲霉的菌落是黄绿色，菌落平坦或有放射状皱纹，顶囊呈烧瓶形或近似球形。</p> <p>(五) 青霉</p> <p>青霉在自然界中分布很广，是水果腐烂、粮食等工农业产品霉变的主要菌。青霉的菌落是绿色的，菌丝有横隔，气生菌丝发达，分生孢子梗顶端不膨大，有扫帚状的分枝，称帚状枝。帚状枝是由单轮、双轮或多论分支构成。最后一级称小梗，着生小梗的细胞称梗基，小梗上产生分生孢子。</p> <p>青霉</p> <p>青霉素、灰黄霉素、柠檬酸、延胡索酸、草酸等纤维素酶，</p> <p>青霉菌有的也能产生致癌的霉菌毒素。青霉和曲霉中绝大多数未发现性过程。所以人们还是喜欢把青霉属和曲霉属归为半知菌，在 Ainsworth 系统中属于半知菌亚门丝孢纲丝孢目丛梗孢科。</p>
<p>小结</p>	<p>画出思维导图</p>
<p>作业</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1、简述真菌的形态结构与菌落特征。 2、真菌的抵抗力有何特点？ 3、简述真菌与医药的关系。 4、最常见污染中药材并造成其霉变的真菌有哪些，怎样预防？ 5、常见的致病性真菌有哪些，分别引起哪些疾病？
<p>七、课后反思</p>	
Empty space for reflection	

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	病毒	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	8 学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

- 第 1 节 病毒的形态结构及化学组成
- 第 2 节 病毒的增殖
- 第 3 节 病毒的干扰现象和干扰素
- 第 4 节 病毒的人工培养
- 第 5 节 噬菌体
- 第 6 节 病毒与人类疾病

学情分析

已学习《微生物与免疫学》课程的部分基础知识，如细菌、放线菌、真菌的形态结构、繁殖方式、培养特性等。对病毒有一定的感性认识，例如日常生活中常见的流感病毒、新冠病毒等，但对病毒的系统分类、形态结构、复制周期、致病机制等缺乏深入了解。

希望系统学习病毒的基本特征、致病机制、常见病毒性疾病、病毒学检测技术等知识。

渴望了解病毒在医药领域的应用，例如病毒疫苗的研发、病毒载体的应用等。

教学目标

知识目标	知道病毒的形态、特点和结构。 会说出病毒的复制原理 掌握干扰素的概念。
能力目标	能够运用所学知识分析病毒性疾病的流行规律和防治策略。 能够查阅相关文献资料，了解病毒学研究的最新进展。 能够运用批判性思维分析病毒相关问题，并提出自己的见解。
素质目标	具备吃苦耐劳、独立思考、团结协作、勇于创新的精神和诚实守信的优良品质；培养学生具有精益求精的工匠精神、良好的职业道德和家国情怀。
思政元素	介绍我国科学家在病毒学研究领域取得的重大成就，例如新冠病毒疫苗的研发，增强学生的民族自豪感和爱国热情。 引导学生关注我国病毒性疾病的防控现状，树立科技报国的远大理想。

教学重难点及解决措施

重点：病毒的结构和化学组成及干扰现象，病毒的增殖过程

病毒感染的防治原则

难点：病毒感染的方式、致病机理、感染类型

解决措施：

采用案例分析、问题导向、小组讨论等教学方法，引导学生主动思考、积极参与。

利用多媒体技术、虚拟仿真实验等手段，增强教学的直观性和趣味性。

教学环节

导入案例			
提出问题			
任务点一	病毒的形态结构及化学组成（掌握）	教材	P57-60
教师讲解	<p>1. 核心(Core)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 单一核酸DNA/RNA <p>功能：为病毒基因组，含病毒全部遗传信息，控制病毒的一切生命活动。</p> <p>2 衣壳 (Capsid) - 蛋白质</p> <ul style="list-style-type: none"> - 壳粒(capsomere) 按一定排列方式组成的蛋白质外壳 壳粒排列方式 <p>(1)、二十面体立体对称型 (Icosahedral Symmetry)</p> <p>(2)、螺旋对称型 (Helical Symmetry)</p> <p>(3)、复合对称型 (Complex Symmetry) 功能</p> <ul style="list-style-type: none"> - 保护核酸； - 特异吸附宿主细胞表面，决定亲嗜性； 		

	<ul style="list-style-type: none"> - 有抗原性; <p>3、包膜</p> <ul style="list-style-type: none"> - 脂质双层 <p>出芽释放时获得宿主细胞核膜 / 胞膜</p> <ul style="list-style-type: none"> - 包膜子粒 (peplomere) / 刺突 (Spike) - 功能 <p>保护核衣壳; 吸附宿主细胞; 病毒表面抗原, 有抗原性;引起机体发热、中毒;</p>
<p>学生活动</p>	
<p>任务点二</p>	<p>病毒的增殖 (掌握)</p>
<p>教师讲解</p>	<p>一、增殖周期</p> <p>(一)、吸附</p> <p>病毒的配体位点与细胞表面的特异受体结合 (二)、穿入:</p> <p>不同病毒, 穿入方式不同</p> <p>裸露病毒: 病毒胞饮 (virophexis)</p> <p>包膜病毒: 包膜与细胞膜融合;</p> <ul style="list-style-type: none"> - 核衣壳直接进入胞浆内 <p>噬菌体: 注入式</p> <ul style="list-style-type: none"> - 病毒核酸直接进入胞浆内 <p>(三)、脱壳</p> <p>不同病毒脱壳方式不同多数病毒在宿主细胞溶酶体酶作用下脱壳, 少数病毒脱壳过程比较复杂。</p> <p>痘病毒:在溶酶体酶作用下, 先部分脱壳, 暴露部分核酸, 转译病毒脱壳酶后, 再完全脱壳</p> <p>(四)、生物合成 (biosynthesis)</p> <p>宿主细胞内进行的, 在病毒基因控制下的病毒核酸和蛋白质的合成过程先合成一些复制酶、抑制蛋白, 抑制宿主细胞的正常代谢, 使细胞代谢向着有利于病毒合成的方向进行, 再依据病毒基因组的指令, 进行病毒核酸的复制、转录和翻译</p> <p>(五)、组装与释放</p> <p>组装:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 病毒核酸与病毒蛋白→核衣壳 - 组装部位不同:

	<p>DNA 病毒(除痘病毒外): 核内组装(如: ADV) RNA 病毒: 多数在胞浆内组装(如: Polio)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 组装方式不同: <ul style="list-style-type: none"> 以核酸为支架, 壳粒按螺旋对称方式排列 先形成 20 面体衣壳, 核酸进入, 形成核衣壳 释放: - 出芽释放 <ul style="list-style-type: none"> - 细胞膜可被修复, 不直接破坏宿主细胞 - 多见于包膜病毒 - 溶细胞性释放 (细胞崩解) <ul style="list-style-type: none"> - 宿主细胞损伤、崩解, 释放出大量的子代病毒 - 多见于裸露病毒
<p>任务点三</p>	<p>病毒的干扰现象和干扰素 (掌握)</p>
<p>教师讲解</p>	<p>(一)、病毒的异常增殖</p> <p>顿挫感染 (流产性感染) (abortive infection):</p> <p>细胞条件不合适, 病毒进入细胞但不能复制</p> <p>缺陷病毒 (defective virus)</p> <p>基因组不完整的病毒体</p> <p>(二)、病毒的干扰现象</p> <p>当两种病毒同时感染同一细胞时, 可发生一种病毒的增殖抑制了 另一种病毒增殖的现象。</p> <p>范围 - 异种病毒、甚至无亲缘关系的病毒之间;</p> <ul style="list-style-type: none"> - 同种、同型、同株之间; - 活病毒之间、灭活病毒-活病毒之间; <p>意义 - 阻止或终止感染, 宿主不发病或康复</p> <ul style="list-style-type: none"> - 影响疫苗之间的免疫效果 <p>机制 -干扰素 (Interferon, IFN/INF)</p> <ul style="list-style-type: none"> -破坏了宿主细胞的表面受体

	<ul style="list-style-type: none"> - 阻止吸附， 改变了宿主细胞的代谢途径 - 穿入,复制
任务点四	病毒的人工培养
教师讲解	<p>一、细胞培养----临床上确定病原的“黄金标准”</p> <p>二、鸡胚接种----</p> <p>三、动物接种</p> <p>常用动物有：小鼠、大鼠、豚鼠、兔、猴等</p>
任务点五	噬菌体（熟悉）
教师讲解	<p>噬菌体：以细菌、真菌、放线菌及螺旋体等为宿主的病毒。</p> <p>对宿主细胞有高度的特异性。</p> <p>命名：宿主名称+噬菌体，如大肠杆菌噬菌体。</p>
任务点六	病毒与人类疾病
	<p>病毒在个体之间的传播方式：</p> <p>水平传播--通过皮肤、呼吸道、消化道、泌尿生殖道或血液等在个体之间传播 垂直传播（又称母婴传播）--从母亲通过胎盘、分娩、哺乳等传给子代的传播方式</p> <p>病毒的致病机制：</p> <p>①在宿主细胞内复制增殖导致细胞损伤溶解或转化癌变；</p> <p>②由于病毒进入刺激机体发生免疫应答效应，在清除病毒过程中造成机体自身组织器官的免疫病理损伤。</p>
小结	画出思维导图

随堂练习

1. 病毒的基本结构是（ ）
A. 核酸、包膜 B. 衣壳、包膜 C. 核酸、包膜和刺突
D. 核酸和衣壳 E. 核衣壳和包膜
2. 病毒增殖、遗传与变异的物质基础是（ ）
A. 质粒的核酸 B. 衣壳蛋白 C. 病毒核酸
D. 结构基因 E. 脂多糖
3. 构成病毒包膜的成分是（ ）
A. 核酸、蛋白质、糖类 B. 酶类、脂质、核酸 C. 糖类、脂质、核酸
D. 脂质、蛋白质、糖类 E. 蛋白质、脂质、核酸
4. 病毒增殖的方式与下列哪种微生物相似?（ ）
A. 衣原体 B. 支原体 C. 螺旋体 D. 立克次体 E. 噬菌体
5. 关于病毒特性，下列叙述哪项不正确?（ ）
A. 以复制方式增殖 B. 只有一种核酸 C. 属原核细胞型微生物

D. 对抗生素不敏感 E. 对于干扰素敏感

6. 细胞融合有利于病毒的

A. 吸附 B. 脱壳 C. 扩散 D. 复制 E. 释放

7. 病毒感染后不出现明显的临床症状称

A. 潜伏感染 B. 隐性感染 C. 慢发病毒感染 D. 持续性感染 E. 慢性感染

8. 划分流感病毒亚型的依据是()

A. 核蛋白抗原 B. M蛋白 C. 血凝素和神经氨酸酶

D. 核酸类型 E. 培养特性

9. 脊髓灰质炎病毒的传播途径是

A. 空气传播 B. 经血传播 C. 虫媒传播 D. 粪口传播 E. 垂直传播

10. 甲型肝炎病毒的主要传播途径是()

A. 呼吸道传播 B. 粪口传播 C. 血液传播 D. 蚊虫叮咬 E. 性接触

11. HBV 感染的主要标志是()

A. HBsAg B. 抗-HBs C. HBcAg D. HBeAg E. 抗-HBe

12. 下列哪种病毒属缺陷病毒

A. 甲型肝炎病毒 B. 乙型肝炎病毒 C. 丙型肝炎病毒 D. 丁型肝炎病毒

E. 戊型肝炎病毒

13. 肝炎病毒的传播途径不包括()

A. 粪-口途径 B. 血液传播 C. 密切接触传播

D. 呼吸道传播 E. 垂直传播

七、课后反思

模块一：微生物学基础

基本信息

授课题目	微生物的分布与控制	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	4 学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

第 1 节 微生物的分布
第 2 节 微生物的控制

学情分析

已学习《微生物与免疫学》课程的部分基础知识，如细菌、放线菌、真菌、病毒的形态结构、繁殖方式、培养特性等。

对微生物的分布有一定的了解，例如知道微生物广泛存在于自然界中，但对不同环境中微生物的种类、数量、分布规律等缺乏深入了解。

对微生物的控制方法有一定的了解，例如知道高温灭菌、紫外线消毒等方法，但对各种方法的原理、适用范围、优缺点等缺乏系统认识。

教学目标

知识目标	<p>掌握微生物在自然界中的分布规律：包括空气、水、土壤、人体等环境中微生物的种类、数量、分布特点等。</p> <p>理解各种微生物控制方法的原理、适用范围、优缺点：包括物理消毒灭菌法（如高温、紫外线、过滤等）、化学消毒灭菌法（如消毒剂、防腐剂等）、生物消毒灭菌法（如抗生素、噬菌体等）。</p> <p>熟悉微生物控制在医药领域的重要性：包括药品生产过程中的微生物控制、医院感染控制等。</p> <p>掌握常用的微生物检测和控制技术：包括空气中微生物的检测、物体表面微生物的检测、消毒灭菌效果的评估等。</p>
能力目标	<p>能够运用所学知识分析不同环境中微生物的分布特点，并提出相应的控制措施。</p> <p>能够根据不同的需求选择合适的微生物控制方法，并正确操作。</p> <p>能够查阅相关文献资料，了解微生物控制技术的最新进展。</p> <p>能够运用批判性思维分析微生物控制相关问题，并提出自己的见解。</p>

素质目标	培养学生对微生物分布与控制的学习兴趣，激发学生探索微生物世界的热情。 增强学生的生物安全意识，树立无菌操作观念。 培养学生的社会责任感和使命感，引导学生关注微生物控制对公共卫生安全的重要性。 培养学生的团队合作精神和创新意识。		
思政元素	介绍我国在微生物控制领域取得的重大成就，例如在新冠疫情防控中采取的消毒灭菌措施，增强学生的民族自豪感和爱国热情。 引导学生关注我国微生物控制技术的发展现状，树立科技报国的远大理想。		
教学重难点及解决措施			
<p>重点：1、消毒与灭菌 2、常用的理化灭菌法及其使用范围。</p> <p>难点：正常菌群与条件致病菌的概念</p> <p>解决措施： 采用案例分析、问题导向、小组讨论等教学方法，引导学生主动思考、积极参与</p>			
教学环节			
导入案例			
提出问题			
任务点一	微生物的分布	教材	P81-82

<p>教师讲解</p>	<p>一、在自然界的分布</p> <p>(一) 水中的微生物</p> <p>细菌、真菌、病毒等</p> <p>判断水的污染程度的方法以测定水中细菌总数和大肠菌群数为指标</p> <p>大肠菌群：一群在37℃、24h 能发酵乳糖产酸产气，需氧或兼性厌氧的G-</p> <p>我国饮用水卫生标准:1ml 水中细菌总数不超过 100 个，1L 水中大肠菌群数少于3 个</p> <p>水有自净作用。判断自净效果用细菌为</p> <p>指标 (二) 土壤中的微生物</p> <p>条件：营养，pH，T，水</p> <p>分布：地面下 10~30cm，细菌多于放线菌、真菌</p> <p>(三) 空气中的微生物</p> <p>条件：缺乏营养、水，有辐射</p> <p>分布：近地面空气污染严重，随高度上升数量下降。微生物的量随季节变化（夏季多些），室内微生物的量与空气的流通有关</p> <p>二、微生物在人体的分布</p> <p>皮肤以及与外界相通的腔道中均有不同种类的微生物</p> <p>1、正常菌群：正常存在于人体外表和同外界相通的肠道、呼吸道等腔道中，人体免疫功能正常时，对宿主无害，有些还有利的微生物。</p>
<p>学生活动</p>	
<p>任务点二</p>	<p>消毒与灭菌（掌握）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>一、几个基本概念</p> <p>抑制(Inhibition)：生长停止，但不一定死亡；</p> <p>防腐(Antisepsis)：防止或抑制霉腐微生物在食品等物质上的生长；</p> <p>化疗(Chemotherapy)：杀死或抑制宿主体内的病原微生物；</p> <p>死亡(Death)：生长能力不可逆丧失；</p> <p>消毒(Disinfection)：杀死或灭活病原微生物（营养体细胞）；</p> <p>灭菌(Sterilization)：杀死包括芽孢在内的所有微生物；</p> <p>控制有害微生物主要有以下几种措施：</p> <p>理化因子抑菌还是杀菌作用的相关因</p>

素： 理化因子的强度或浓度；

同一浓度理化因子作用时间的长

短； 不同种类的微生物；

同种微生物的不同生长时期；

（一）灭菌（sterilization）

采用强烈的理化因素使任何物体内外部的所有微生物永远丧失其生长繁殖能力的措施，称为灭菌。

Eg. 高温灭菌、辐射灭菌等

死亡：微生物永远丧失其生长繁殖能力

消除毒害“毒害”就是指传染源或致病菌

（二）消毒是一种采用较温和的理化因素，仅杀死物体表面或内部一部分对人体或动植物有害的病原菌，而对被消毒的对象基本无害的措施。

Eg. 对皮肤、水果、饮用水进行药剂消毒的方法；

对啤酒、牛奶、果汁和酱油等进行消毒处理的巴氏消毒法，等等。

（三）防腐（antisepsis）

防腐就是利用某种理化因素完全抑制霉菌微生物的生长繁殖，即通过制菌作用防止食品、生物制品等对象发生霉腐的措施。

防腐的措施

（1）低温

（2）缺氧

（3）干燥

（4）高渗

（5）高酸度

（6）高醇度

（7）防腐剂

（四）化疗（chemotherapy）

化疗即化学治疗，指利用具有高度选择毒力（selective toxicity）即对病原菌具有

	<p>高度毒力而对宿主基本无毒的化学物质来抑制宿主体内病原微生物的生长繁殖，借以达到治疗该宿主传染病的一种措施。</p> <p>用于化疗目的的化学物质称化学治疗剂（chemotherapeutant）。最重要的化学治疗剂如磺胺类等化学合成药物、抗生素、生物药物素和若干中草药中的有效成分等。</p>
--	---

小结	画出思维导图
-----------	--------

作业	<ol style="list-style-type: none">1、什么是正常菌群、条件致病菌和菌群失调。2、什么是消毒、灭菌、无菌、无菌操作及防腐。3、常用的物理消毒灭菌法有哪些？
-----------	---

七、课后反思

--

模块二：微生物学与药学的关系

基本信息

授课题目	微生物学在药学领域的应用	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	8 学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

1. 药物的抗菌试验
2. 灭菌制剂的无菌检查
3. 药物的微生物限度检查
4. 微生物在制药工业中的应用

学情分析

学生已学习《微生物与免疫学》课程的部分基础知识，如微生物的形态结构、繁殖方式、培养特性、分布与控制等。

对药物制剂有一定的了解，例如知道药物制剂的种类、生产工艺等，但对药物制剂的微生物污染来源、污染途径、污染危害等缺乏深入了解。

对微生物学检查方法有一定的了解，例如知道无菌检查、微生物限度检查等，但对各种检查方法的原理、操作步骤、结果判断等缺乏系统认识。

教学目标

知识目标	<ol style="list-style-type: none">1.掌握药品生产各环节的微生物污染来源及其控制方法。2.掌握制药工艺用水的种类及其卫生标准。3.掌握生产洁净车间的洁净级别及其评测指标。4.掌握药品无菌检查、微生物限度检查的药品范围、检查标准、检查方法及结果判断。
能力目标	<ol style="list-style-type: none">1.能正确分析并核查药品生产中的微生物来源,采用适当的措施控制生产各环节的微生物污染。2.能有效监测生产各环节的卫生状况3.能胜任药品无菌检查、微生物限度操作,并准确判断检查结果。
素质目标	从业人员需具备敬业守信的职业道德和有担当、有作为的社会责任心;严格过程管理,树立质量源于管理的理念;培养沟通能力和团队协作精神;提高解读法规、分析解决问题、灵活应用知识的能力。

思政元素	通过介绍微生物对人类健康的影响，例如致病微生物和有益微生物，引导学生思考生命的价值和意义，培养学生尊重生命、关爱健康的意识。
-------------	--

教学重难点及解决措施			
-------------------	--	--	--

重点：药物的体外抗菌试验方法（琼脂扩散法和系列稀释法），一般灭菌制剂的无菌检查方法和原理

难点：非灭菌药物的微生物总数测定方法

解决措施：采用案例分析、问题导向、小组讨论等教学方法，引导学生主动思考、积极参与。

教学环节			
-------------	--	--	--

导入案例			
提出问题			
任务点一	药物的抗菌试验（掌握）	教材	P92-96

<p>教师讲解</p>	<p>药物的抗菌试验目的是为了检查药物的抗菌能力，包括药物的抑菌试验和杀菌试验。一般先进行体外抗菌试验，再进行体内抗菌试验。该项试验方法 已广泛应用于新药研究 和指导临床用药。</p> <p>体外抑菌试验</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 连续稀释法 2. 琼脂扩散法 <p>体外杀菌试验</p> <p>联合抗菌试验</p> <p>体内抗菌试验</p>
<p>学生活动</p>	
<p>任务点二</p>	<p>灭菌制剂的无菌检查 P98-99</p>
<p>教师讲解</p>	<p>灭菌制剂与无菌制剂的概念</p> <p>灭菌制剂：系指采用某一物理、化学方法杀灭或除去所有活的微生物繁殖体和芽孢的 一类药物制剂。</p> <p>无菌制剂：系指采用某一无菌操作方法或技术制备的不含任何活的微生物繁殖体和芽 孢的一类药物制剂。</p> <p>无菌制剂包括：注射用制剂，眼用制剂；植入型制剂；创面用制剂；手术用制剂等直 接注射于体内或直接用于创面、黏膜等的一类制剂。</p> <p>这些制剂必须保证不含活的微生物，否则注入人体将会引起严重的事故。因此，在出 厂、上市前都必须按药典规定的方法进无菌检 查。 第 4 节 药物的微生物限度检查（掌握）</p> <p>药物的微生物限度检查，是指非规定灭菌制剂（如口服药及外用药物）及其原、辅料受到 微生物污染程度的一种检查方法。</p> <p>检验项目主要有：细菌数、霉菌数和酵母菌数、控制菌检 查。 微生物限度检查的基本原则：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 严格进行无菌操作 <ul style="list-style-type: none"> 同无菌检查。 2. 建立检查方法的验证

	<p>当建立药品的微生物限度检查法时，应进行细菌、霉菌和酵母菌计数及控制菌各项检查方法的验证，以确认所采用的方法适合于该药品的上述各项的检查。</p> <p>3. 相关试剂及培养条件 同无菌检查。</p> <p>4. 正确采集样品</p> <p>为使检验结果具有代表性，药物采样应有一定的检验量。一般供试品的检验量为10g 或 10ml；中药膜剂为50cm²；贵重药品、微量包装药品的检验量可以酌减。要求检查沙门 菌的供试品，应增加检验量 10g或 10ml。</p> <p>检验时，应从2 个以上最小包装单位中抽取供试品，大蜜丸不得少于4 丸，膜剂还不得少于4 片。一般应随机抽取不少于检验用量（2个以上最小包装单位）的3倍量供试品。</p> <p>5. 供试液制备：</p> <p>①液体供试品，取 10ml、固体及半固体供试品取 10g，分别加 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100ml，混匀，作为 1 : 10 的供试液；②油剂可加入适量的无菌聚山梨酯 80 使供试品分散均匀；③膜剂供试品，取供试品 50cm²，剪碎，加 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液，浸泡，振摇，作作为 1 : 10 的供试液；④具抑菌活性的供试品，应消除供 试液的抑菌活性后再作检查。</p> <p>6. 检查结果判断</p> <p>细菌数、霉菌数和酵母菌数、控制菌各项均符合该品种微生物限度检查项目规定的， 应判供试品合格；其中任何一项不符合者，则判供试品不合格。</p>
<p>任务点三</p>	<p>抗生素（掌握）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>指那些由微生物产生的、能抑制其他微生物生长的物质现代概念:抗生素是生物（包括 微生物、植物和动物）在生命活动过程中所产生的（或由其他方法获得的），能在低微浓 度下有选择地抑制或影响他种生物功能的有机物质。</p> <p>根据抗生素的生物来源分类：细菌、放线菌、真菌、动植物</p> <p>根据抗生素的化学结构分类：β -内酰胺、氨基糖苷、大环内酯、四环素、多肽</p> <p>根据抗生素的作用机制分类：抑制细胞壁、细胞膜、核酸、蛋白、生物能作用</p> <p>医用抗生素的特点：</p> <p>差异毒力较大</p> <p>抗菌活性强</p> <p>有不同的抗菌谱</p> <p>不良反应少和副作用小</p> <p>效价（potency）：指抗生素有效成分的含量，即在同一条件下，比较供试品和标准品的抗菌活性，从而得出供试品的效价。</p> <p>抗生素的制备：</p>

	<p>发酵阶段 细菌生长繁殖、抗生素的合成</p> <p>抗生素生产</p> <p>提取阶段</p> <p>抗生素生产的一般流程:</p> <p>菌种--孢子制备 -种子制备—发酵—发酵液预处理—提起及精制—成品检验—成品包装</p>
任务点四	维生素（了解）
教师讲解	<p>维生素是一类重要的药物，与抗生素、激素一起合称三素。维生素类药物可经化学合成、动植物提起或微生物发酵等方法制成，其中维生素 C 、维生素 B₂ 和维生素 B₁₂ 多采用发酵法制成。</p>
任务点五	氨基酸（了解）
教师讲解	<p>氨基酸是含有氨基和羧基的一类有机化合物的通称，生物功能大分子蛋白质的基本单位。氨基酸的制成从水解蛋白质开始，后用化学法合成，现绝大多数氨基酸是以发酵法或酶法生产。</p>
任务点六	核酸类物质（了解）
任务点七	酶制剂和酶抑制（了解）
任务点八	甾体化合物（了解）
教师讲解	<p>甾体化合物是一类含有环戊烷多氢菲核的化合物。广泛存在于动、植物和微生物中，重要的甾体化合物有胆甾醇、胆酸、肾上腺素等，医疗应用非常广泛。以前的甾体化合物都是从天然物质中提起原料，再经过化学方法改造而得，现采用微生物转化技术，该法具有专一性强、产量高和反应条件温和等优点。</p>
任务点九	微生态制剂（了解）

教师讲解	也称为活菌制剂，是根据现代微生物学的基本原理，利用对人体无害甚至有益的正常微生物菌群中的活菌，经过人工培养等方法制成的制剂。
小结	画出思维导图
随堂练习	<ol style="list-style-type: none"> 1、对某种抗菌药物测定 MIC，请设计合理的实验过程？ 2、有一种眼科手术用注射液，如何对其进行微生物学检查？ 3、现有青霉素钠、硫酸卡那霉素、磺胺嘧啶钠注射液，如何分别对以上药物进行无菌检查？ 4、药厂生产小儿止咳糖浆，如何对该药进行微生物学检查？ 5、什么是抗生素？ 抗生素按其结构可分为哪几类？ 试举例说明。 6、医用抗生素的一般特点是什么？ 7、微生态制品是什么？ 举例说明其用途。
七、课后反思	

模块二：免疫学基础及其在医药领域的应用

基本信息

授课题目	非特异性免疫、 特异性免疫	课程名称	微生物学与免疫学	课程类型	专业核心课
授课学时	10 学时	授课对象	药学 241	授课方式	讲授

教学内容分析

1. 机体的屏障结构
2. 非特异性免疫细胞
3. 非特异性体液免疫分子
4. 非特异性免疫的生物学意义
5. 抗原
6. 免疫球蛋白
7. 细胞因子
8. 免疫器官与免疫细胞
9. 免疫应答
10. 免疫学防治

学情分析

已学习《微生物与免疫学》课程的部分基础知识，如微生物的形态结构、繁殖方式、培养特性、分布与控制等。对免疫学有一定的了解，例如知道免疫系统的基本组成、免疫应答的基本过程等，但对免疫系统的详细结构、免疫应答的分子机制、免疫学在医药领域的应用等缺乏深入了解。思维活跃，但缺乏系统性和逻辑性。

教学目标

知识目标	1.掌握人体免疫系统的基本组成和主要功能 2.掌握抗原、抗体的概念和基本分类。 3.掌握抗原-抗体反应的一般规律,
能力目标	1.能够用人体免疫系统的知识解释常见的疾病免疫反应 2.能够基于抗原和抗体反应规律解释相关体外诊断反应 3.能够基于抗原、抗体等相关知识解释疫苗和治疗性抗体的一般机理
素质目标	培养学生具备类似适应性免疫的学习精神，即勇于实践探索，在实践中进步;增强学生对科技赋能医疗的重视，即对基础科研工作的崇尚意识;引导学生树立免疫细胞和免疫分子在免疫应答中类似的团结协作、争先创优的优良品质。

思政元素	以我国科学家在免疫学领域取得的重大成就为例，例如屠呦呦发现青蒿素、陈薇院士研发新冠病毒疫苗等，展现我国在免疫学研究领域的科技实力，增强学生的民族自豪感和爱国热情。		
教学重难点及解决措施			
<p>重点：非特异性免疫的组成</p> <p>难点：非特异性免疫的组成</p> <p>解决措施：</p> <p>针对学生知识基础薄弱的特点，采用通俗易懂的语言和生动形象的案例进行讲解，例如结合日常生活中常见的免疫现象，帮助学生理解和掌握免疫学的相关知识。</p> <p>针对学生喜欢动手实践的特点，设计丰富的实验项目，如免疫细胞的观察、免疫学检测等，提高学生的实验操作技能。</p> <p>针对学生思维活跃但缺乏系统性的特点，采用思维导图、表格对比等方法，例如将固有免疫和适应性免疫进行对比，帮助学生梳理知识脉络，构建知识体系。</p>			
教学环节			
导入案例			
提出问题			
任务点一	机体的屏障结构（熟悉）	教材	P120-121

<p>教师讲解</p>	<p>一、皮肤与粘膜屏障 二、血脑屏障 三、胎盘屏障</p>
<p>学生活动</p>	
<p>任务点二</p>	<p>非特异性免疫细胞（熟悉）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>包括：吞噬细胞、自然杀伤细胞、$\gamma\delta$T 细胞、B1 细胞。</p>
<p>任务点三</p>	<p>非特异性体液免疫分子（熟悉）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>补体：complement, C）是存在于人和动物血清中的一组与免疫相关的具有酶活性的球蛋白，具有辅助抗体溶菌溶细胞的作用。</p>
<p>任务点四</p>	<p>抗原（掌握）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>是一类能刺激机体的免疫系统启动特异性免疫应答，并能与相应的免疫应答产物（抗体和效应淋巴细胞）在体内或体外发生特异性结合发生免疫反应的物质。 抗原具有两种性能：①免疫原性 ②免疫反应性</p>

	<p>免疫原性:即能刺激机体的免疫系统产生抗体和效应淋巴细胞的性能</p> <p>免疫反应性:即能与相应的抗体和效应淋巴细胞特异性结合的性能</p>
任务点五	免疫球蛋白（熟悉）
教师讲解	<p>两个基本概念:</p> <p>抗体 (antibody,Ab)是B 细胞受抗原刺激后活化、增殖分化为浆细胞产生的, 能与相应抗原特异性结合的球蛋白。</p> <p>免疫球蛋白(immunoglobulin,Ig) 是指具有抗体活性或化学结构与抗体相似的球蛋白。 Ab 与Ig 的区别:</p> <p>Ab 是生物学功能的概念, 而 Ig 是化学结构的概念。 Ig 存在方式:</p> <p>体液中的Ig 称为分泌型Ig(sIg)</p> <p>存在于B 细胞膜上的Ig 为抗原受体, 又称为膜型Ig (mIg)</p> <p>人类Ig 的分类:</p> <p>五类 IgG 、IgM 、IgA 、IgD 和IgE。</p> <p>细胞因子（熟悉）</p> <p>概念</p> <p>细胞因子 (cytokine, CK) 是由活化的免疫细胞和非免疫细胞合成分泌的, 具有抗感染、抗肿瘤、免疫调节、参与炎症反应、促进细胞生长等多种生物学效应的小分子多肽或蛋白质。</p> <p>(一)细胞因子的种类(结构功能不同)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.白细胞介素 (interleukin, IL-1~29) 2.干扰素 (interferon, IFN,a、 β、 γ) 3.肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF , a、 β) 4.集落刺激因子 (colony stimulating factor, CSF) 5.趋化因子 (chemokine) 6.生长因子 (growth factor, GF)
任务点六	免疫器官与免疫细胞（熟悉）
教师讲解	<p>机体行使免疫功能的物质基础是免疫系统。免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成。免疫分子包括抗体、补体及细胞因子等。</p>

<p>任务点七</p>	<p>免疫应答（掌握）</p>
<p>教师讲解</p>	<p>定义： 是机体受抗原刺激后，免疫细胞对抗原分子的识别、活化、增殖、分化，产生效应分子和形成效应细胞发挥特异性免疫效应的过程。</p> <p>生物学意义： 及时清除抗原性异物，维持内环境的相对稳定，但在某些情况下也可对机体造成损伤。</p> <p>免疫应答过程（三个阶段） 感应阶段 — 抗原提呈与识别阶段 反应阶段 — T、B 细胞活化、增殖、分化 阶段 效应阶段 — 免疫效应阶段</p> <p>抗体产生的一般规律 1.初次应答特点： ①潜伏期长（约 1~2 周） ②产生的抗体滴度低； ③在体内持续时间短，主要为IgM； ④抗体与抗原的亲合力低。</p> <p>2.再次应答 特点： ①潜伏期短，（约1~3天）； ②产生的抗体滴度高； ③在体内持续时间长，以 IgG 为主； ④抗体亲合力高。</p> <p>在半定量或定量测定中，将标本作一系列稀释后进行试验，呈阳性反应的最高稀释度即为滴度。根据滴度的高低，可以判断标本反应性的强弱。滴度(抗体的多少)越高，受 传染的机会就越小。</p> <p>抗体产生规律的医学意义： ①制定适宜的免疫方案，用于制备免疫血清和预防接种； ②检测特异性IgM 作为病原体感染的早期诊断和子宫内感染的诊断； ③检测抗体含量变化，了解病程发展，评估疾病转归（预后良好,预后稳定,预后不良。</p>
<p>小结</p>	<p>画出思维导图</p>
<p>随堂练习</p>	<p>1、解释下列名词：抗原、完全抗原、半抗原、共同抗原、异嗜性抗原、TD-Ag、TI - Ag。</p> <p>2、完全抗原应具备哪些条件？试举出两种医学上重要的完全抗原。</p>

- | | |
|--|--|
| | <p>3、什么是抗原的特异性？抗原的特异性是由什么决定的？</p> <p>4、不同的抗原之间为什么会发生交叉反应？有何实际意义？</p> |
|--|--|

七、课后反思

微生物学与免疫学实验 教案

实验课学时数：24

适用专业：药学

考核方式：实操+实验报告

修订人：郑锐东

修订日期：2025年9月5日

实训项目教学设计

项目一：微生物实验基础知识与安全教育

项目名称	微生物实验基础知识与安全教育		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学实验			
教学目的	1.掌握微生物学实验室规则及实验室意外处理方法； 2.了解生物安全防护知识。 3.熟悉微生物实验室规则并自觉遵守。 4. 课程思政 ：增强安全意识与责任担当、严谨的科学态度、环保意识。			
教学学时	3 学时			
教学设计	教学要点	训练要点与要求	训练方法	备注
	微生物学实验前的准备	微生物学实验室规则； 实验室意外的紧急处理方法； 生物安全防护知识简介。	实物观察与操作、演练。	
	无菌操作要求	详见“实验教学设计”	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	无菌间使用要求	详见“实验教学设计”	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	消毒灭菌要求	详见“实验教学设计”	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	有毒有菌污物处理要求	详见“实验教学设计”	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		课后完成
考核方法	实践考核。			
考核标准	1、实践操作（50分）； 2、实训报告（40分）； 3、实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。			
分组要求	独立操作。			
其它要求				

《微生物实验基础知识与安全教育》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

- 1、掌握微生物学实验室规则及实验室意外处理方法；
- 2、了解生物安全防护知识。
- 3、熟悉微生物实验室规则并自觉遵守。
- 4、**课程思政：**增强安全意识与责任担当、严谨的科学态度、环保意识。

二、实训环境：

微生物实训室、高压蒸汽灭菌器、超净工作台、生物安全柜等

三、实训步骤：

（一）微生物学实验前的准备

1. 微生物学实验室规则

由于微生物学实验是以病原微生物为研究对象，在实验过程中任何疏忽大意都有可能引起实验人员的自身感染或实验室和周围环境的污染。因此，实验中应严格遵守实验规则，建立无菌观念，严格无菌操作，防止实验过程中出现意外情况，并确保实验结果的准确。

（1）试验前须预习实验内容，了解实验目的、方法和注意事项，做到心中有数，避免发生错误，提高实验效率。

（2）进入实验室必须穿工作服，必要时还须戴口罩、帽子和手套，并做好实验前的各项准备工作。

（3）非必需物品禁止带入实验室，带入实验室的物品应远离操作区，放在指定的区域。

（4）实验室内不准大声喧哗、嬉戏，应保持实验室的安静、整洁和有序。不准在实验室内吸烟、饮水和进食，尽量避免用手触摸头、面部，防止感染，尽量减少室内活动，以免引起风动。

（5）实验中注意**节约试剂，爱护仪器**，避免有菌材料的污染，如有传染性材料污染桌面、地面、手、衣服或发生其他意外情况，应立即报告老师及时作适当处理。

（6）**用过的污染物品应放到指定的地点，经专人消毒灭菌之后再行清洗，切勿乱丢或冲入水池中。禁止将本实验室的物品带出实验室外。**需送温箱培养的物品，应标记清楚后送到指定地点。

（7）实验完毕后应将桌面整理清洁，试剂、仪器放回原处，并用浸有消毒液的抹布将操作台擦拭干净，打扫卫生，**关好水、电、门窗。**

（8）离室前脱下工作服，反折放在指定的地方；**双手在 2% 来苏液中浸泡 5min 左右，**

再用肥皂、清水洗净，方可离开实验室。

2. 实验室意外的紧急处理方法

(1) 发生皮肤破损或刺伤：首先用肥皂和水冲洗伤口，尽量挤出损伤处的血液，并用70%乙醇或其他皮肤消毒剂进行消毒，立即进行医疗处理。

(2) 化学药品腐蚀伤：若为强酸，用大量清水冲洗后再以5%碳酸氢钠溶液中和；若为强碱，用大量清水冲洗后再以5%醋酸或5%硼酸溶液中和；若受伤处是眼部，经上述方法处理后，再滴入橄榄油或液体石蜡1~2滴。

(3) 烧伤：局部涂凡士林、5%鞣酸或2%苦味酸。

(4) 菌液误入口中：立即将菌液吐入消毒容器中，再用1:1000高锰酸钾或3%过氧化氢漱口，根据菌种服用适当抗生素预防感染。

(5) 菌液污染环境：将适量2~3%来苏或0.1%新洁尔灭浸泡污染面半小时后除去，如手上有菌污染，也可浸泡于上述消毒液中3~5min，之后用肥皂和清水洗净。

3. 生物安全防护知识简介

微生物检验工作人员长期接触有潜在传染性的血液、粪便、体液等标本，这些标本往往是各种细菌、病毒等病原微生物的传播载体，无论是**实验人员感染**，还是**造成实验室和周围环境的污染**，都将导致严重的后果。因此实验室工作人员在实验过程中必须高度重视实验室生物安全防护，**强化生物安全意识，熟悉生物安全防护有关知识，严格无菌操作。**

(1) 微生物的分类等级

根据世界卫生组织（WHO）出版的《实验室生物安全手册》，将微生物分为四个不同危险度等级：

- a) 危险度 1 级是指不能引起人或动物致病的微生物，此类微生物无或仅具有极低的个体和群体危险；
- b) 危险度 2 级的病原体具有中度个体危险，低度群体危险，能引起人或动物致病，但对实验室工作人员、社区、家畜或环境不易导致严重危害，所引起的感染具有有效的预防和治疗措施，并且疾病传播的危险有限；
- c) 危险度 3 级的病原体具有高度个体危险，低度群体危险，通常能引起人或动物的严重疾病，但一般不会发生感染的播散，并且对感染具有有效的预防和治疗措施；
- d) 危险度 4 级的病原体具有高度的个体危险和群体危险，通常能引起人或生物体的严重疾病，并且很容易发生个体之间的直接或间接传播，对感染一般没有有效的预防和治疗措施。

- e) 由于各种病原微生物的危险度等级不同，因此实验室必须达到相应的生物防护等级才能开展有关实验。根据 WHO《实验室生物安全手册》和我国卫生部 2002 年颁布的《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》，实验室从生物安全防护的角度共分为四级：
- f) 一级生物安全防护实验室（BSL-1）为实验室结构设施、安全操作规程、安全设备适用于危险度 1 级的微生物，依据标准操作程序可进行开放性操作，如用于教学的普通微生物实验室即属此类。
- g) 二级生物安全防护实验室（BSL-2）适用于对人或环境具有中等潜在危害的微生物，即危险度 2 级的病原体，该级别实验室应具备生物安全柜和密封的离心管，以免发生泄漏和产生气溶胶。
- h) 三级生物安全防护实验室（BSL-3）适用于有明显危害、可以通过空气传播的病原微生物（如结核杆菌、伯氏立克次体等），通常已有预防传染的疫苗，该级别实验室除了有严格的一级和二级安全设施要求外，还需具备合适的空气净化系统。
- i) 四级生物安全防护实验室（BSL-4）适用于对人体具有高度的危险性，通过气溶胶途径传播或传播途径不明，目前尚无有效的疫苗或治疗方法的致病微生物及其毒素。BSL-4 实验室必须与其他实验室隔离，并具备特殊的空气和废物处理系统，实验操作须在 III 级生物安全柜内或全身穿戴特制的正压防护服。

（2）生物安全实验室分级与要求

由于各种病原微生物的危险度等级不同，因此实验室必须达到相应的生物防护等级才能开展有关实验。根据 WHO《实验室生物安全手册》和我国卫生部 2002 年颁布的《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》，实验室从生物安全防护的角度共分为四级：

一级生物安全防护实验室（BSL-1）为实验室结构设施、安全操作规程、安全设备适用于危险度 1 级的微生物，依据标准操作程序可进行开放性操作，如用于教学的普通微生物实验室即属此类。

二级生物安全防护实验室（BSL-2）适用于对人或环境具有中等潜在危害的微生物，即危险度 2 级的病原体，该级别实验室应具备生物安全柜和密封的离心管，以免发生泄漏和产生气溶胶。

三级生物安全防护实验室（BSL-3）适用于有明显危害、可以通过空气传播的病原微生物（如结核杆菌、伯氏立克次体等），通常已有预防传染的疫苗，该级别实验室除了有严格的一级和二级安全设施要求外，还需具备合适的空气净化系统。

四级生物安全防护实验室（BSL-4）适用于对人体具有高度的危险性，通过气溶胶途径传播或传播途径不明，目前尚无有效的疫苗或治疗方法的致病微生物及其毒素。BSL-4 实验室必须与其他实验室隔离，并具备特殊的空气和废物处理系统，实验操作须在Ⅲ级生物安全柜内或全身穿戴特制的正压防护服。

（3） 实验室生物安全管理制度

实验室生物安全管理制度应包括：实验室准入制度、生物安全培训制度、生物安全责任制和责任追究制度、生物防护与安全制度、安全检查制度、个人防护制度、实验室管理制度、清洁消毒制度、安全计划审核制度、废弃物处理制度、事故报告制度、生物安全防护应急预案、标准操作程序等。

建立健全了各项生物安全制度，还应成立生物安全管理领导小组，加强生物安全制度实施情况的监督管理，实验室入口处须粘贴生物安全标志，注明危险因素，生物安全级别，负责人姓名和电话，进入实验室的特殊要求及离开程序，禁止非工作人员进入实验室，如需参观实验室等特殊行为需经实验室负责人的批准后方可进入。

（4） 实验室常见生物危险

实验室生物污染的途径包括：空气传播（临床标本中的污染源在空气中传播、微生物气溶胶的吸入）、直接传播（工作中偶然刺伤、割伤，碎玻璃划伤直接感染）、皮肤粘膜接触（临床标本中的传染源通过破损皮肤粘膜接触造成的感染）、其他不明原因的实验室相关感染。

实验室伤害以及与工作有关的感染主要是由于人为失误、不良实验技术以及仪器使用不当造成的。因此，实验室人员必须提高生物安全意识，认真学习生物安全相关的各种法规和文件，定期进行生物安全防护知识培训，熟悉生物防护有关知识，加强基本技能的培养，严格执行操作规程。实验室管理者应对实验室的风险级别进行分析，尤其对风险级别较高的、接触高危标本几率较大的区域如微生物和分子生物学室予以高度重视，保护实验室工作人员和环境的安全。

（4） 生物废弃材料的管理

实验室内所有用过的样本、培养物及其他生物性材料等废弃物，严禁未经处理就随意丢弃，应置于贴有生物危害标志的专用废弃物处理容器内，注意容器的充满量不能超过其设计容量，利器（如针头、小刀、玻璃等）应置于耐扎锐器盒内，在去污染或最终处置前应存放在指定的安全地方，经过高压灭菌或其他无害化处理后再安全运出实验室；

有害气体、气溶胶、污水、废液等均需经无害化处理后排放；动物尸体、组织的处置和焚化应符合国家相关要求。处理危险废弃物的人员需经过专业培训，并使用适当的防护设备。

二、无菌操作要求

1. 接种细菌时必须穿工作服、戴工作帽。
2. 进行接种食品样品时，必须穿专用的工作服、帽及拖鞋，应放在无菌室缓冲间，工作前经紫外线消毒后使用。
3. 接种食品样品时，应在进无菌室前用肥皂洗手，然后用 75%酒精棉球将手擦干净。
4. 进行接种所用的吸管，平皿及培养基等必须经消毒灭菌，打开包装未使用完的器皿，不能放置后再使用，金属用具应高压灭菌或用 95%酒精点燃烧灼三次后使用。
5. 从包装中取出吸管时，吸管尖部不能触及外露部位，使用吸管接种于试管或平皿时，吸管尖不得触及试管或平皿边。
6. 接种样品、转种细菌必须在酒精灯前操作，接种细菌或样品时，吸管从包装中取出后及打开试管塞都要通过火焰消毒。
7. 接种环和针在接种细菌前应经火焰烧灼全部金属丝，必要时还要烧到环和针与杆的连接处，接种结核菌和烈性菌的接种环应在沸水中煮沸 5min，再经火焰烧灼。
8. 吸管吸取菌液或样品时，应用相应的橡皮头吸取，不得直接用口吸。

三、无菌间使用要求

1. 无菌间通向外面的窗户应为双层玻璃，并要密封，不得随意打开，并设有与无菌间大小相应的缓冲间及推拉门，另设有 0.5-0.7m²的小窗，以备进入无菌间后传递物品。
2. 无菌间内应保持清洁，工作后用 2%-3%煤酚皂溶液消毒，擦拭工作台面，不得存放与实验无关的物品。
3. 无菌间使用前后应将门关紧，打开紫外灯，如采用室内悬吊紫外灯消毒时，需 30W 紫外灯，距离在 1.0m 处，**照射时间不少于 30min**，使用紫外灯，应注意不得直接在紫外线下操作，以免引起损伤，**灯管每隔两周需用酒精棉球轻轻擦拭，除去上面灰尘和油垢，以减少紫外线穿透的影响。**
4. 处理和接种食品标本时，进入无菌间操作，不得随意出入，如需要传递物品，可通过小窗传递。
5. 在无菌间内如需要安装空调时，则应有过滤装置。

四、消毒灭菌要求

微生物检测用的玻璃器皿、金属用具及培养基、被污染和接种的培养物等，必须经灭菌后方能使用。

1. 灭菌前准备

- (1) 所有需要灭菌的物品首先应清洗晾干，玻璃器皿如吸管、平皿用纸包装严

密，如用金属筒应将上面通气孔打开。

(2)装培养基的三角瓶塞，用纸包好，试管盖好盖，注射器须将管芯抽出，用纱布包好。

2. 装放

(1)干热灭菌器：装放物品不可过挤，且不能接触箱的四壁。

(2)大型高压蒸气锅：放置灭菌物品分别包扎好，直接放入消毒筒内，物品之间不能过挤。

3. 设备检查

(1)检查门的开关是否灵活，橡皮圈有无损坏，是否平整。

(2)检查压力表蒸气排尽时是否停留在零位，关好门和盖，通蒸气或加热后，观察是否漏气，压力表与温度计所标示的状况是否吻合，管道有无堵塞。

(3)对有自动电子程序控制装置的灭菌器，使用前应检查规定的程序，是否符合于进行灭菌处理的要求。

4. 灭菌处理

(1) 干热灭菌法：此法适应于在干热情况下，不损坏、不变质、不蒸发的物品、较常用于玻璃器皿、金属制品、陶瓷制品等的灭菌。

① 器械器皿应清洗后再干烤，以防附着在表面的污物炭化。

② 灭菌时安放物品不能过挤，不要直接接触底和箱壁，物品之间留有空隙。

③ 灭菌时将箱门关紧，接上电源，先将排气孔打开约 30min，排除灭菌器中的冷空气，温度升至 160℃调节指示灯，维持 1.5-2h。

④ 灭菌完毕后或温度升温过程中，须在 60℃以下才能打开箱门。

(2) 手提式高压锅或立式压力蒸气灭菌器使用应按下列步骤进行：

① 手提式高压锅在主体内加入 3L 清水，立式高压锅加水 16L(重复使用时应将水量补足，水变混浊需更换)。

② 手提式压力锅将顶盖上的排气管插入消毒桶内壁的方管中(无软管或软管锈蚀破裂的灭菌器不得使用)。

③ 盖好顶盖拧紧，勿使漏气；置灭菌器于火源上加热，立式压力锅通上电源，并打开顶盖上的排气阀放了冷气(水沸腾后排气 10-15min)。

④ 关闭排气阀，使蒸气压上升到规定要求，并维持规定时间(按灭菌物品性质与有关情况而定)。

⑤ 达到规定时间后，对需干燥的物品，立即打开排气阀排出蒸气，待压力恢复

到零时，自然冷却至 60℃后开盖取物，如为液体物品，不要打开排气阀，而应立即将锅去除热源，待自然冷却，压力恢复至零，温度降到 60℃以下 再开盖取物，以防突然减压液体剧烈沸腾或容器爆破。

(3) 卧式压力锅蒸气灭菌器的使用按下列步骤进行：

- ① 关紧锅门，打开进气阀，将蒸气引入夹层进行预热，夹层内冷空气经阻气器自动排出。
- ② 夹层达到预定温度后，打开锅室进气阀，将蒸气引入锅室，锅室内冷空气经锅室阻气器自动排出。
- ③ 待锅室达到规定的压力与温度时，调节进气阀，使保持恒定至
- ④ 自然或人工降温至 60℃再开门取物，不得使用快速排出蒸气法，以防突然降压，液体剧烈沸腾或容器爆破。
- ⑤ 使用自动程序控制式压力蒸气灭菌器，在放好物品关紧门后，应根据物品类别按动相应开关，以便按要求程序自动进行灭菌，灭菌时必须利用附设仪表记录温度与时间以备查，操作要求应严格按照厂家说明书进行。

5. 灭菌温度与时间 干热灭菌器灭菌温度 160℃，1.5-2h；压力蒸气灭菌锅灭菌温度与时间 121℃，15-30min。

6. 灭菌后物品，按正常情况已属无菌，从灭菌器中取出应仔细检查放置，以免再度污染。

- (1) 物品取出，随即检查包装的完整性，若有破坏或棉塞脱掉，不可作为无菌物品使用。
- (2) 取出的物品，如为包装有明显的水浸者，不可作为无菌物品使用。
- (3) 培养基或试剂等，应检查是否符合达到灭菌后的色泽或状态，未达到者应废弃。
- (4) 启闭式容器，在取出时应将筛孔关闭。
- (5) 取出的物品掉落在地或误放不洁处，或沾有水液，均视为受到污染，不可作为无菌物品使用。
- (6) 取出的合格灭菌物品，应存放于贮藏室或防尘柜内，严禁与未灭菌物品混放。
- (7) 凡属合格物品，应标有灭菌日期及有效期限。
- (8) 每批灭菌处理完成后，记录灭菌品名、数量、温度、时间、操作者。

五、有毒有菌污物处理要求

微生物实验所用实验器材、培养物等未经消毒处理，一律不得带出实验室。

1. 经培养的污染材料及废弃物应放在严密的容器或铁丝筐内，并集中存放在指定地点，待统一进行高压灭菌。
2. 经微生物污染的培养物，必须经 121℃、30min 高压灭菌。
3. 染菌后的吸管，使用后放入 5% 煤酚皂溶液或石炭酸液中，最少浸泡 22h (消毒液体不得低于浸泡的高度) 再经 121℃、30 min 高压灭菌。
4. 涂片染色冲洗片的液体，一般可直接冲入下水道，烈性菌的冲洗液必须冲在烧杯中，经高压灭菌后方可倒入下水道，染色的玻片放入 5% 煤酚皂溶液中浸泡 22 h 后，煮沸洗涤。做凝集试验用的玻片或平皿，必须高压灭菌后洗涤。
5. 打碎的培养物，立即用 5% 煤酚皂溶液或石炭酸液喷洒和浸泡被污染部位，浸泡半小时后再擦拭干净。
6. 污染的工作服或进行烈性试验所穿的工作服、帽、口罩等，应放入专用消毒袋内，经高压灭菌后方可洗涤。

四、课程思政：

1. 安全意识与责任担当：强调实验安全不仅是个人的责任，更是对他人和集体的负责。过安全教育，培养学生的规则意识和责任感。
2. 严谨的科学态度：实验室的安全操作规范体现了科学的严谨性。引导学生在日常生活中也保持严谨的态度，做到言行一致。
3. 环保意识：在实验废弃物处理中，强调环保意识，引导学生关注环境保护，培养可持续发展的观念。

五、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

实训项目教学设计

项目二：微生物的显微形态观察

项目名称	微生物的显微形态观察		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学实验			
教学目的	1.掌握普通光学显微镜的构造及使用方法； 2.了解油浸系物镜的基本原理和使用方法； 3.掌握对微生物标本的形态观察。 4. 课程思政： 培养细致入微的观察力、科学探索精神、团队合作意识。			
教学学时	3 学时			
教学设计	教学要点	训练要点与要求	训练方法	备注
	显微镜的构造	认识和了解普通光学显微镜的结构构造。	实物观察与操作。	
	粗调节器和细调节器的使用	掌握粗调节器和细调节器的功能、使用方法和注意事项。	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	载物台和推动器的使用	掌握载物台和推动器的功能、使用方法和注意事项。	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	油浸系物镜的基本原理和使用方法	掌握油浸系物镜的使用方法	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	观察使用	1. 显微镜的放置。 2. 光线的采集与调节。 3. 标本的安装。 4. 观察、寻找观察对象过程 5. 油镜的使用 6. 观察结束后的养护。	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		课后完成
考核方法	实践考核。			
考核标准	1、 实践操作（50分）； 2、 实训报告（40分）； 3、 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。			
分组要求	独立操作。			
其它要求				

《微生物的显微形态观察》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

1. 掌握的构造及使用方法。
2. 了解油浸系物镜的基本原理和使用方法。
3. 掌握对微生物标本的形态观察。
4. **课程思政：**培养细致入微的观察力、科学探索精神、团队合作意识。

二、实训材料：

普通光学显微镜、微生物染色装片标本、香柏油、二甲苯、擦镜纸，面巾纸

三、实训步骤：

1. 实验室安全教育：

进入实验室禁止喧哗、追逐；

食品、零食、水杯禁止带进实验室；严禁在实验室内玩火；

禁止未经许可乱动实验药品和实验器材，严禁将实验药品带出实验室，严禁将多余或实验之后的可食用性实验材料进行食用；

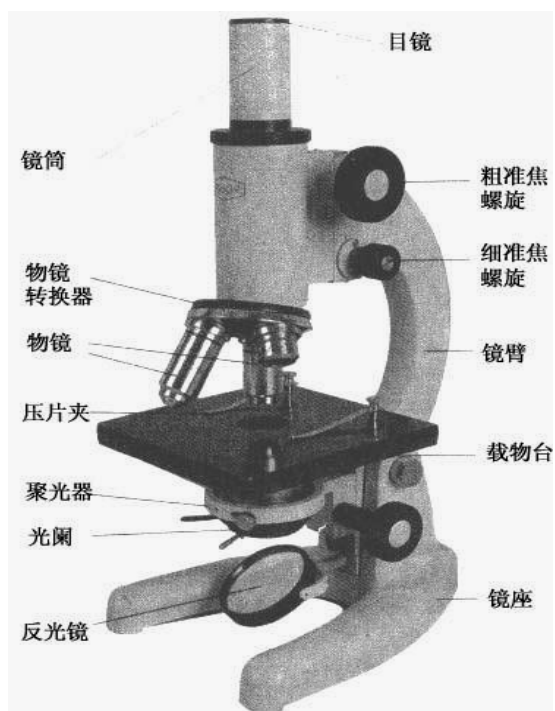
进实验室后，禁止随意移动实验台上的一切药品及用具，对他人的实验结果（如培养物）只看不动；

实验完毕，应将所有用具清洗干净，放回原位，保持刚进实验室的状况；

结束时，注意做好卫生值日工作，离开时，确保关水关电及锁门。

2. 显微镜、油浸系物镜的使用

2.1 讲述、演示普通光学显微镜的结构和性能



注意：变更物镜（转动器的转动）和调焦时的镜筒变化方向（逐渐上升）。

观察顺序：装片——低倍镜到视野——高倍镜观察。

2.2 低倍镜观察染色装片

上升镜筒 → 放置装片 → 下降物镜至距装片 0.5cm 处 → 调光 → 用粗调节器调焦距（徐徐上升） → 用细调节器细调焦距 → 观察

2.3 高倍镜观察染色装片

低倍镜观察后换高倍镜（注意避免镜头与玻片相撞） → 调节光度 → 细调节器校正焦距 → 观察。

2.4 讲述油浸系物镜的工作原理与使用方法

2.4.1 油镜的辨认：

油镜上有 OI 或 HI 字样，或一圈红或黑线标记，要物镜中，油镜的放大倍数和数值孔径最大，工作距离最短。

2.4.2 工作原理：

油镜在物镜与装片之间的介质为香柏油，其折射率与玻璃相近，光线经载玻片后可直接通过香柏油进入物镜而不发生折射，可通过增加数值孔径而提高分辨率，同时增加视野的亮

度。

2.5 油镜观察装片

高倍镜观察后提起镜筒、换油镜至正下方 → 玻片的镜检部位加一滴香柏油 → 下降油镜浸于油中（以油圈不扩大为止，镜头不可压及装片） → 调光、上升镜筒调焦距 → 观察

3. 微生物的形态观察

将各种微生物的染色装片放于显微镜下观察。

4. 镜检完毕后的工作

4.1 移开物镜镜头

4.2 取出装片

4.3 清洁油镜，用擦镜纸擦去香柏油，再沾少许二甲苯擦去残留的香柏油，再擦净残留的二甲苯。

4.4 擦净显微镜，将各部分还原。

四、课程思政：

1. 细致入微的观察力： 显微镜观察需要高度的专注和细致的观察力。通过显微镜的使用，引导学生在生活中也注重细节，培养耐心和专注力。

2. 科学探索精神： 鼓励学生通过显微镜观察微生物的形态，激发科学探索精神，培养对未知的好奇心和求知欲。

3. 团队合作： 实验过程中强调团队协作，培养学生的合作意识和集体荣誉感。

五、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

六、作业

1. 绘制观察至的标本形态。

2. 为什么在使用高倍镜和油镜观察标本之前要先用低倍镜进行观察？

实训项目教学设计

项目三：培养基的配制与灭菌

项目名称	培养基的配制与灭菌		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学实验			
教学目的	1. 掌握培养基配制的原理与方法； 2. 熟悉和掌握牛肉膏蛋白胨培养基的配制； 3. 了解高压蒸汽灭菌锅的构造与正确使用方法。 4. 课程思政： 培养规范操作与质量意识、节约意识、责任与诚信。			
教学学时	3 学时			
教学设计	教学要点	训练要点与要求	训练方法	备注
	培养基的配制方法	掌握培养基配制的基本方法与技能	实物观察与操作。	
	高压蒸汽灭菌锅的工作原理	了解并掌握高压蒸汽灭菌锅的工作原理	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	高压蒸汽灭菌锅的使用方法	掌握高压蒸汽灭菌锅的使用方法	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	掌握斜面培养基的制作	掌握斜面培养基的制作	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	掌握灭菌培养基的无菌检验技术	掌握灭菌培养基的无菌检验技术	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		课后完成
考核方法	实践考核。			
考核标准	1. 实践操作（50分）； 2. 实训报告（40分）； 3. 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。			
分组要求	独立操作。			
其它要求				

《培养基的配制及灭菌技术》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

1. 掌握培养基配制的原理与方法；
2. 熟悉和掌握牛肉膏蛋白胨琼脂培养基的配制；
3. 了解高压蒸汽灭菌锅的构造与正确使用方法；
4. **课程思政：**培养规范操作与质量意识、节约意识、责任与诚信。

二、实训材料：

高压蒸汽灭菌锅、电炉、烧杯、三角瓶（300ml）、试管、三角瓶塞、玻棒、牛皮纸、棉绳、长颈漏斗、勺子、牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、电子称、量筒、PH 试纸等。

三、实训步骤：

1. 培养基的配制方法

称药品 → 加热溶解 → 调 PH → 过滤 → 分装 → 加棉塞 → 包扎 → 灭菌 → 摆斜面 → 无菌检查

2. 培养基配制的方法与步骤

2.1 培养基配方：

牛肉膏 3g，蛋白胨 10g，NaCl 5g，琼脂 15~20g，水 1000ml，pH 7.0~7.2。

2.2. 配制步骤：

①称药品。按配方称取各成分，放入已加适量水的烧杯中。

②加热溶解。烧杯于石棉网上加热，并用玻棒搅拌，将琼脂加入已溶解药品中，继续加热并不断搅拌，最后补足水分。

③调 PH。若 PH 偏酸，用 1mol/L 的 NaOH 调；偏碱，用 1mol/L 的 HCl 调。PH 的调整通常放在加琼脂前。

④分装。将熬成的培养基趁热分装。培养基高度约为试管长度的 1/5~1/4，约 10~15ml，注意避免将培养基沾于试管口内外。分装后的试管，在培养基凝固前必须立放。

④制棉塞。用叠放式将未脱脂棉做成棉球，塞入试管口，管口内棉塞底部要求光滑，棉塞侧面要求无褶皱，棉塞长度的 2/3 在管口内。棉塞的松紧以手提棉塞轻晃试管不滑出为度。

⑤捆把。

包扎，贴上标签，准备灭菌。

3. 高压蒸汽灭菌锅的结构、工作原理与使用方法。

3.1 结构：实体认识。

包括锅体、压力表、安全阀、排气阀、灭菌锅腔、筛架、锅盖、胶垫圈、紧固螺栓等。

3.2 原理：利用高压产生的高蒸汽温度杀灭微生物的方法。

3.3 使用方法：装锅→加热排气→升压→保压灭菌→降压出锅

关键：排净冷空气

注意：灭菌时间和压力因培养基而异。

升降压力要稳

灭菌时间从保压时算起

压力降至“0”才能开盖

4. 培养基的灭菌

加水→培养基入锅→上盖→对称、均匀地扭紧螺栓→加热升温→冒热气 3-5min，以排冷空气→关闭排气阀，继续升温，压力升至 1 kg/cm²，温度过到 121℃时，开始稳压 25~30min→熄火，自然降压至压力为 0（若降压太快，试管中的培养基易沸腾浸湿棉塞）→锅盖半开，让锅内多余蒸汽逸出，锅内的余热烘干棉塞→开盖，取物→摆斜面→斜面试管上可覆盖洁净和厚毛巾或几层纱布，防止试管内产生过多的冷凝水。

5. 无菌检验

制作斜面培养基，室温或 37℃培养 48 小时，观察培养结果。

四、课程思政：

1. 规范操作与质量意识：培养基的配制需要严格按照标准操作，培养学生对质量的严格把控，引导学生在工作中树立规范意识。

2. 节约意识：在实验过程中，强调试剂和材料的合理使用，培养学生的节约意识和资源保护观念。

3. 责任与诚信：灭菌操作的规范性直接影响实验结果的真实性，引导学生树立诚信意识，做到实事求是。

五、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

六、作业

1. 如何检验培养基灭菌是否彻底？
2. 高压蒸汽灭菌时，为什么要排尽锅内的冷空气？

实训项目教学设计

项目四：微生物接种及纯培养

项目名称	微生物接种及纯培养		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学实验			
教学目的	1.帮助学生建立无菌操作概念 2.学习、掌握无菌操作技术 3.学习、掌握微生物的斜面接种和分离技术 4.课程思政： 树立无菌观念，养成卫生习惯，培养专注与精准能力；树立生物安全意识。			
教学学时	3 学时			
教学设计	教学要点	训练要点与要求	训练方法	备注
	无菌操作技术	1.接种空间一定要彻底的消毒灭菌； 2. 操作人员双手要用 75%的酒精消毒，不戴口罩操作时要尽量少说话，工作台面必须经酒精擦抹消毒； 3.各种操作（接种，倒培养基，加样品，涂布等）需在火焰区内进行； 4.整个操作过程中，动作必须准确迅速无误，时时刻刻树立无菌观念。 5.各种接种工具和菌种接触前应该经火焰灼烧灭菌，冷却后现接菌种，以免烫死或烫伤菌种。	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	转管、斜面接种技术	注意无菌操作	教师讲授并示范，学生实践操作。	
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		课后完成
考核方法	实践考核。			
考核标准	1、 实践操作（50分）； 2、 实训报告（40分）； 3、 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。			
分组要求	独立操作。			
其它要求				

《细菌的接种与培养技术》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

- 1.帮助学生建立无菌操作概念
- 2.学习、掌握无菌操作技术
- 3.学习、掌握微生物的斜面接种和分离技术
- 4.课程思政：树立无菌观念，养成卫生习惯，培养专注与精准能力；树立生物安全意识。

二、实训材料：

无菌试管培养基，超净工作台，酒精灯，接种环，酒精棉球、酵母菌、枯草杆菌、大肠杆菌等。

三、实训步骤：

1. 无菌操作

将微生物分离、转接及培养时防止被其他微生物污染的技术称为无菌技术。

2. 无菌操作技术要点

接种空间一定要彻底的消毒灭菌；

菌中所暴露或通过的空间必须是无菌区；

菌种管口、瓶口的部分必须用酒精灯火焰封闭；

各种接种工具在和菌种接触前应该经火焰灼烧灭菌，冷却后再接触菌种，以免烫死或烫伤菌种；

棉塞塞入管口或瓶口的部分，拔出后不要与未经灭菌的物体接触；

每次接种的时间不宜过长，以免空气中杂菌的基数积累太多，影响转管、接种效果；

操作人员应换消毒的工作服、戴口罩，双手要用 70-75%的酒精消毒；

不戴口罩操作时应尽量少说话；

整个操作过程中，动作必须准确迅速无误，时时刻刻树立无菌观念。

3. 斜面接种技术

3.1 接种前的准备

3.1.1 检查接种工具，进行环境消毒；

3.1.2 在欲接种的培养基试管或平板上贴好标签，标上接种的菌名、操作者、接种日期等。

3.1.3 将培养基、接种工具和其他用品全部放在实验台上摆好，进行环境消毒。

3.2 接种方法

3.2.1 将菌种试管与待接种的试管培养基依次排列，挟于左手的拇指与其他四指之间，

用右手的无名指与小指和手掌边拔出棉塞并挟住。

3.2.2 置试管口于酒精火焰附近。

3.2.3 将接种工具垂直插入酒精火焰中烧红,再横过火焰3次,然后再放入有菌试管内,在管壁上停留片刻待其冷却。

3.2.4 取少许菌种置于另一支试管中,用接种环在菌种中沾取少量菌样,在培养基斜面上作“之”字形划线,把菌种接种到新的培养基上。

3.2.5 取出接种工具,试管口和棉塞进行火焰灭菌。

3.2.6 重新塞上棉塞。

3.2.7 烧死接种工具上的残余菌,把试管和接种工具放回原处。

注意:划线过程不能划破培养基表面。

4. 培养

斜面接种后于 37℃ 恒温培养 48h, 观察。

四、课程思政:

1. 无菌观念与卫生习惯: 无菌操作是微生物实验的核心,通过无菌操作的训练,引导学生养成良好的卫生习惯,培养健康的生活方式。

2. 专注与精准: 接种操作需要高度的专注和精准,培养学生在工作中追求卓越的精神,做到精益求精。

3. 生物安全意识: 强调微生物操作的生物安全性,引导学生关注公共卫生安全,培养社会责任感。

五、记录与总结(本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等)

六、作业

1、为什么从事微生物实验工作的基本要求是无菌操作?

实训项目教学设计

项目五：细菌革兰染色法

项目名称	细菌革兰染色法		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学			
教学目的	1.掌握微生物涂片基本技术 2.掌握微生物的染色基本技术 3.掌握微生物的革兰氏染色技术 4.初步认识细菌的形态特征 5. 课程思政： 培养科学方法与逻辑思维、创新意识、实事求是作风。			
教学学时	3 学时			
教学设计	技能点	训练要求与标准		训练方法
	细菌的涂片技术	菌液涂散应尽可能的薄。 涂片完毕后，取种器应经火焰灭菌。 固定时，加热程度以玻片不烫手为宜。		教师讲授并示范，向学生强调注意事项，由学生具体操作
	革兰氏染色的原理			教师讲授
	实验数据的记录及结果处理，实训总结			对学生操作过程中出现的不规范操作进行强调并纠正，总结各项技能点的掌握要点
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		课后完成
考核方法	过程考核：操作（80分）+ 报告（20分）			
考核标准	1.细菌的革兰氏染色（70分）； 2.实训报告（20分）； 3.实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。			
分组要求	独立完成			
场地要求	微生物室			
设备仪器	接种针、显微镜、酒精灯、载玻片			
其它要求				

《细菌革兰染色法》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

1. 掌握微生物涂片基本技术
2. 掌握微生物的染色基本技术
3. 掌握微生物的革兰氏染色技术
4. 初步认识细菌的形态特征
5. **课程思政：**培养科学方法与逻辑思维、创新意识、实事求是作风。

二、实训材料：

培养 24 小时左右的大肠杆菌（G⁻）和培养 12 小时左右枯草杆菌（G⁺）、革兰氏染色试剂、香柏油、二甲苯、显微镜、载玻片、盖玻片、吸水纸、擦镜纸、接种环、酒精灯等。

三、实训步骤：

1. 细菌的革兰氏染色原理

1.1 细菌细胞常带有电荷，可与相关酸碱性染料结合而使细菌着色，易于观察。

1.2 在革兰氏染色中，由于细菌细胞壁的化学组成及结构不同而产生不同的染色结果。

①革兰氏阳性细菌：细胞壁较厚、肽聚糖含量较高和其分子交联度较紧密，用乙醇洗脱时，肽聚糖网孔会因脱水而明显收缩，加上它基本不含类脂，故经乙醇处理不能在壁上溶出缝隙，因此，结晶紫与碘复合物仍牢牢阻留在细胞壁内，使其呈现紫色。

②革兰氏阴性细菌：壁薄、肽聚糖含量低和交联松散，故遇乙醇后，肽聚糖网孔不易收缩，加上它类脂含量高，所以当乙醇把类脂溶解后，细胞壁上出现较大缝隙，复合物容易溶出细胞壁，因此经乙醇脱色后，细胞又成无色。再用红色染料进行复染，革兰氏阴性细菌获得一层新的颜色—红色。

2. 细胞的涂片技术

在玻片中央滴一滴清水，取一环菌体，轻涂于滴水中，并涂散成适当大小的薄层，用火焰进行干燥和固定。

3. 革兰氏染色的方法与步骤

3.1 简单涂片染色法

涂片 → 干燥 → 固定 → 染色 → 水洗 → 干燥 → 镜检观察

1) 涂片。取清洁干净载玻片一块，于中央加一滴蒸馏水，按无菌操作用接种环取一环菌物，然后在水滴中均匀地涂成薄涂片。涂布后须将接种环烧灼灭菌。

2) 干燥。涂片放室温自然干燥；也可将标本面向上，在离火焰约 15 cm 高处微微加热

烘干，切勿靠近火焰；或用电吹风吹干。

3) 固定。手执玻片一端，让涂菌的一面朝上，通过火焰 2-3 次（以不烫手为宜）。

4) 染色。将玻片平放于台面上，滴加 1 滴或 2 滴染液于涂片上（以染液刚好覆盖涂片薄膜为宜），1-2 分钟。

5) 水洗。倾去染液，用蒸馏水从载玻片的一端轻轻进行冲洗，直到从涂片上流下的水无色为止。水洗时，不要让水流直接冲洗涂面，水流不宜过急、过大，以免涂片薄膜脱落。

6) 干燥。自然干燥。

7) 镜检。将涂片置于显微镜下进行形态观察。

3.2 革兰氏染色法

涂片 → 干燥 → 固定 → 初染 → 媒染 → 脱色 → 复染 → 镜检观察

1) 涂片。同简单涂片染色法。

2) 干燥。同简单涂片染色法。

3) 固定。同简单涂片染色法。

4) 初染。将玻片平放于台面，加适量的结晶紫染色液，染色 1min。

5) 水洗。倾去染色液，用水冲洗，直到从涂片上流下的水无色为止。

6) 媒染。滴加碘液，染色 1 min。

7) 水洗。倾去染色液，用水冲洗。

8) 脱色。将玻片倾斜，连续滴加 95%乙醇脱色 20-30S, 至流出液无色，立即水洗。

9) 水洗。用水冲洗。

10) 复染。滴加蕃红复染 5min。

11) 水洗。倾去染色液，用水冲洗。

12) 干燥。自然风干。

13) 镜检。将涂片置于显微镜下进行形态观察。

14) 实验完毕后的处理

先用擦镜纸将浸过油的油镜头上的油擦去，再用擦镜纸蘸少许无水乙醇将镜头擦 2-3 次，再用干净的擦镜纸擦 2-3 次。

观察后的染色玻片用无水乙醇将油擦干净。

4. 注意事项

4.1 革兰氏染色成败的关键是酒精脱色。如脱色过度，革兰阳性菌可被脱色而染成阴性菌；如脱色时间过短，革兰阴性菌会被染成革兰阳性菌。脱色时间的长短还受涂片厚薄及乙醇用量多少等因素的影响，难以严格规定。

4.2 染色过程中勿使染色液干涸。用水冲洗后，应吸去玻片上的残水，以免染色液被稀释而影响染色效果。

4.3 选用幼龄细菌。若菌龄太老，由于菌体死亡或自溶常革兰阳性菌转呈阴性反应。

四、课程思政：

1. 科学方法与逻辑思维：革兰氏染色法需要严格按照步骤操作，培养学生的逻辑思维和科学方法论，引导学生在解决问题时注重方法和步骤。

2. 创新意识：鼓励学生在实验中思考改进方法，培养创新意识和解决问题的能力。

3. 实事求是：强调实验结果的真实性，引导学生在学习和工作中做到实事求是，不弄虚作假。

五、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

六、作业

1. 做革兰氏染色涂片时为什么不能过于浓厚？其染色成败的关键一步是什么？

实训项目教学设计

项目六：细菌的生化反应实验

项目名称	细菌的生化反应实验	项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学		
教学目的	1.掌握细菌鉴定中常用生化实验的原理和方法； 2.了解细菌生化试验在细菌鉴定及诊断中的重要意义； 3.课程思政： 培养严谨的实验态度、理论联系实际的方法，学会合作与交流。		
教学学时	3 学时		
教学设计	技能点	训练要求与标准	训练方法
	IMViC 试验原理	IMViC 试验操作	教师讲授并示范，向学生强调注意事项，由学生具体操作
	实验结果判断	详见课件	教师讲授
	实验数据的记录及结果处理，实训总结		对学生操作过程中出现的不规范操作进行强调并纠正，总结各项技能点的掌握要点
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。	课后完成
考核方法	过程考核：操作（80分）+ 报告（20分）		
考核标准	1.操作（70分）； 2.实训报告（20分）； 3.实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。		
分组要求	独立完成		
场地要求	微生物室		
设备仪器	接种针、试剂盒、酒精灯、超净工作台等		
其它要求			

《细菌的生化反应实验》项目实训教学过程设计

一、 实训目的：

1. 掌握细菌鉴定中常用生化实验的原理和方法；
2. 了解细菌生化试验在细菌鉴定及诊断中的重要意义；
3. **课程思政：** 培养严谨的实验态度、理论联系实际的方法，学会合作与交流。

二、 实训材料：

菌种：大肠杆菌、产气肠杆菌、枯草芽孢杆菌等；

培养基：大肠杆菌 IMViC 鉴定管（蛋白胨水培养基、葡萄糖磷酸盐胨水培养基、西蒙氏柠檬酸盐培养基）。--西林瓶

试剂：甲基（MR）红指示剂、40%KOH（甲液）、5% α -萘酚（乙液）、靛基质试剂等。

其他材料：试管架、酒精灯、接种环等。

三、 实训步骤：

IMViC 试验（吲哚、甲基红、伏-普、柠檬酸盐）

1. 西林瓶的使用

开启西林瓶前，用 75%酒精棉消毒西林瓶表面，在无菌条件下，按铝盖上的箭头方向打开铝盖，撕开铝盖，打开西林瓶胶塞。所有的西林瓶在使用后均高压灭菌后方可弃去。

2. 接种和培养

用接种环将菌种分别接种于 1 支蛋白胨水培养基（吲哚试验），2 支葡萄糖磷酸盐胨水培养基（甲基红试验和伏-普试验），1 支柠檬酸盐斜面培养基，置 37℃培养 2d。

3. 后续实验（操作步骤如下表“使用说明”）

四、 课程思政：

1. 严谨的实验态度： 生化反应实验需要精确的操作和观察，培养学生严谨的实验态度和科学精神。

2. 理论联系实际： 引导学生将实验结果与实际应用相结合，培养学生的实践能力和应用意识。

3. 合作与交流： 实验过程中鼓励学生之间的合作与交流，培养团队协作能力和沟通能力。

五、 记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

六、 作业

- （1）你的实验结果与实验预期是否相同？如果不同试分析原因。

实训项目教学设计

项目七：细菌菌落总数(CFU)的测定

项目名称	细菌菌落总数(CFU)的测定		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学			
教学目的	1. 进一步建立无菌操作概念 2. 巩固和掌握无菌操作技术 3. 掌握药品中细菌总数的测定技术 4. 掌握药品样品的制备技术 5. 课程思政： 质量控制与标准意识、数据分析与诚信、公共卫生意识。			
教学学时	3 学时			
教学设计	技能点	训练要求与标准		训练方法
	细菌菌落总数测定的原理	一定条件下（营养琼脂培养基上，于 37℃培养 48h）生长的一群嗜中温的需氧及兼性厌氧的细菌总数。		教师讲授
	样品的稀释	训练在无菌条件下利用玻璃吸管稀释样品至一系列浓度的方法		教师讲授并示范，向学生强调注意事项，由学生具体操作
	倾注法	掌握在无菌条件下进行样品与培养基倾注混匀的方法		教师讲授并示范，向学生强调注意事项，由学生具体操作
	菌落总数的计算方法	掌握菌落总数的计数原则(P194)		教师讲授，学生根据实验结果编制实训报告
	实验数据的记录及结果处理，实训总结			对学生操作过程中出现的不规范操作进行强调并纠正，总结各项技能点的掌握要点
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		
考核方法	过程考核：操作（80分）+ 报告（20分）			
考核标准	4、 无菌操作：倒平板（30分），倾注技术（20分），涂布技术（20分） 5、 实训报告（20分）； 6、 实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10分）。			
分组要求	4人1组			
场地要求	微生物室			
设备仪器	酒精灯、涂布棒、灭菌培养基和培养皿，超净工作台			

《细菌菌落总数(CFU)的测定》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

1. 进一步建立无菌操作概念
2. 巩固和掌握无菌操作技术
3. 掌握药品中细菌总数的测定技术
4. 掌握药品样品的制备技术
5. **课程思政：**质量控制与标准意识、数据分析与诚信、公共卫生意识。

二、实训材料：

营养琼脂培养基、无菌培养皿、无菌水、涂布棒、无菌吸管、检测样品、无菌生理盐水、无菌玻璃珠。

三、实训步骤：

1. 操作环境消毒

75%酒精表面消毒

2. 样品的制备

此部分空白，让学生提前完成

P140-141

2.1 液体样品的制备

2.2 药品样品的制备

3. 样品稀释

用 1ml 无菌移液管从样品中吸取 1ml，吹入 9ml 无菌水中，吹吸二次，使溶液充分混匀，制成浓度为 10^{-1} 的溶液；反复重复此操作，制成 10^{-1} 、 10^{-2} 两个浓度的溶液。

3. 空白平板制作

在酒精灯附近向每个平板倒入约 20ml 培养基，平板待凝固。

4. 倾注倒平板

分别从原液、 10^{-1} 、 10^{-2} 三个浓度的试管中各吸取 1ml 溶液吹入无菌培养皿中，共 3 个平板，迅速倒入已溶解并冷却至 46°C 左右的培养基中，每个平板倒入约 20ml 培养基，进行混匀，以上各步骤均需在酒精灯附近进行无菌操作。

5. 培养

所有平板倒置于 37°C ，培养 48 小时左右，取出计数，并计算菌落总数。

四、课程思政：

1. 质量控制与标准意识： 菌落总数测定需要严格按照标准操作，培养学生对质量控制

和标准的重视，引导学生在工作中树立规范意识。

2. 数据分析与诚信： 强调实验数据的真实性和准确性，引导学生在学习和工作中做到诚信，不篡改数据。

3. 公共卫生意识： 通过菌落总数的测定，引导学生关注公共卫生安全，培养社会责任感。

五、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

六、思考题：

1. 根据你的菌落计数结果，计算出每 ml 样品中所含的细菌总数？

实训项目教学设计

项目八：药物的体外抗菌试验

项目名称	药物的体外抗菌试验		项目编号	
隶属课程	微生物学与免疫学			
教学目的	1、掌握纸片扩散法（K-B 法）的原理、操作方法、结果的判读及其临床意义； 2、掌握联合抗菌试验的原理、操作方法、结果判读及其临床意义。 3、 课程思政 ：临床应用与社会责任、科学严谨与实事求是、创新与实践。			
教学学时	3 学时			
教学设计	技能点	训练要求与标准		训练方法
	纸片扩散法（K-B 法）的原理	分别涂布两种菌液（大肠、金葡）0.2ml 于平板上，注意涂布均匀！分别将青霉素药敏试纸（10U/ml）、克林霉素药敏试纸（10U/ml）放置于平板相应位置，每个平板放各放两片。注意一次到位！		教师讲授
	不同药敏试纸选择	青霉素、克林霉素药等不同敏试纸选择		教师讲授并示范，向学生强调注意事项，由学生具体操作
	试纸放置	距边 2.0cm、距中心 2.5cm，两试纸间距 4mm 左右		教师讲授并示范，向学生强调注意事项，由学生具体操作
	结果判断	测量抑菌圈直径，参照 CLSI 的标准解释结果。		教师讲授，学生根据实验结果编制实训报告
	实验数据的记录及结果处理，实训总结			对学生操作过程中出现的不规范操作进行强调并纠正，总结各项技能点的掌握要点
	实验报告的书写	能正确编制报告，内容完整、书写正确、清晰。		
考核方法	过程考核：操作（80 分）+ 报告（20 分）			
考核标准	1.无菌操作（70 分） 2.实训报告（20 分）； 3.实验过程及实验结束后良好的工作习惯和卫生习惯（10 分）。			
分组要求	4 人 1 组			
场地要求	微生物室			
设备仪器	酒精灯、药敏试纸、灭菌培养基和培养皿，超净工作台、培养箱等			
其它要求				

《细菌菌落总数(CFU)的测定》项目实训教学过程设计

一、实训目的：

- 1、掌握纸片扩散法（K-B法）的原理、操作方法、结果的判读及其临床意义；
- 2、掌握联合抗菌试验的原理、操作方法、结果判读及其临床意义；
- 3、**课程思政：**临床应用与社会责任、科学严谨与实事求是、创新与实践。

二、实训材料：

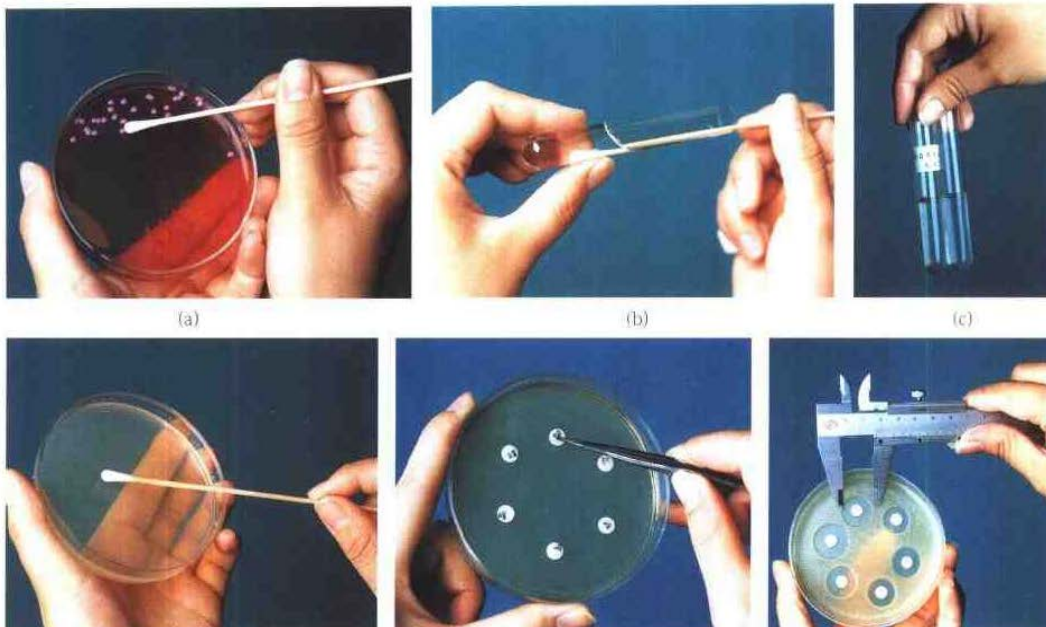
- 1、**菌种：**大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌；
- 2、**培养基：**水解酪蛋白琼脂（MH琼脂）、MH肉汤（均用LB琼脂代替）；
- 3、**抗菌纸片（ $\phi 6.0-6.35\text{mm}$ ）：**青霉素、克林霉素药敏试纸；
- 4、**其它：**无菌刻度管、涂布棒（L棒）、镊子、无菌试管、游标卡尺等。

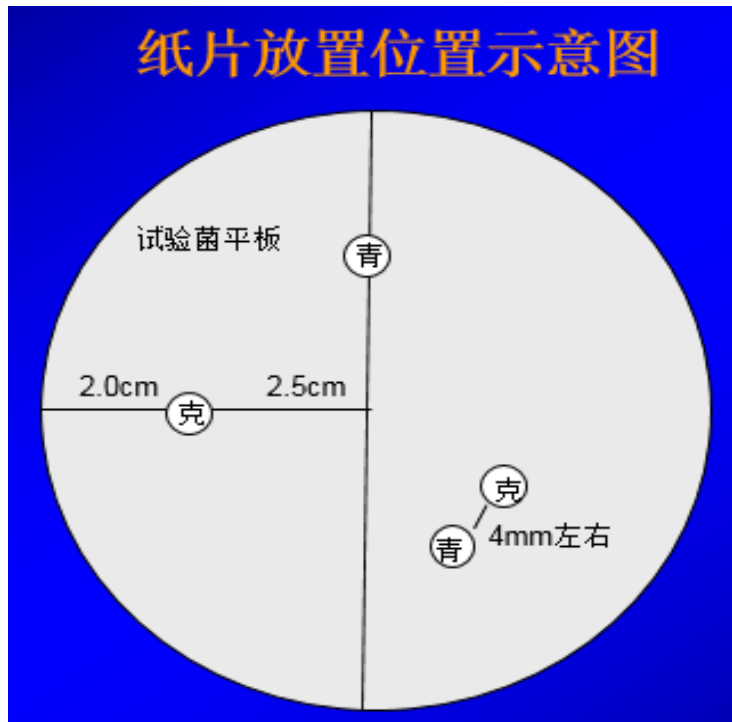
三、实训步骤：

- 1、每组倒两个平板（4mm左右），等凝固待用。
- 2、操作方法（K-B法和联合抗菌试验在同一平板上完成）

分别涂布两种菌液（大肠、金葡）0.2ml于平板上，注意涂布均匀！分别将青霉素药敏试纸（10U/ml）、克林霉素药敏试纸（10U/ml）放置于平板相应位置，每个平板放各放两片。注意一次到位！放置位置见图。

- 3、35-37℃培养 18-24h，观察结果。





四、注意事项

- 试纸瓶取出冰箱后须放置至恒温后方可打开；
- 菌液应在 15min 内接种完毕；
- 接种后，平板放置时间不要超过 5min；
- 平皿使用时应尽可能取出多余的水分；
- 培养温度控制在 35-37℃，平皿堆放不宜过高；
- 测量抑菌圈直径时要精确；
- 注意纸片距离；
- 使用后的所有培养物须高压蒸汽灭菌处理。

五、课程思政：

1. 临床应用与社会责任： 强调抗菌试验的临床意义，引导学生关注临床需求，培养学生的社会责任感和职业使命感。

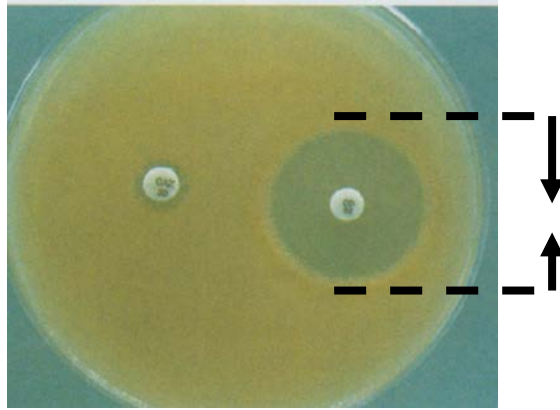
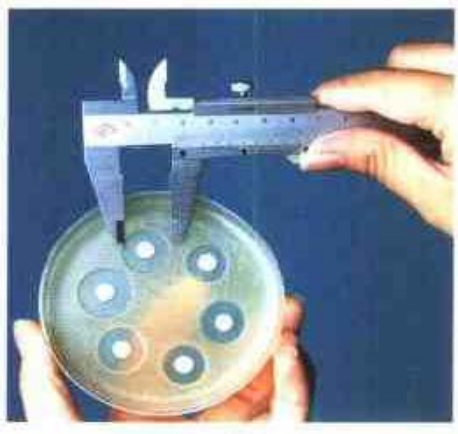
2. 科学严谨与实事求是： 实验操作需要严格按照标准进行，培养学生严谨的科学态度和实事求是的精神。

3. 创新与实践： 鼓励学生在实验中思考改进方法，培养创新意识和实践能力。

六、记录与总结（本次实训结果记录、实训完成情况、实训过程中出现问题、自我解决问题的记录、所吸取经验、心得体会及建议等）

- 测量抑菌圈直径，参照 CLSI 的标准解释结果。

- CLSI, 美国临床和实验室标准协会, Clinical and Laboratory Standards Institute, 是一家美国医疗协会。



附表 A

微生物药敏试纸(扩散法K-B法)的组成、代号/含量、抑菌环解释标准、质控菌抑菌环允许范围

编号	组成	代号/含量 μg/g	抑菌环解释标准			质控菌抑菌环允许范围			
			R	I	S	大肠艾希菌 ATCC25922	金黄色葡萄球菌 ATCC25923	铜绿假单胞菌 ATCC27853	大肠艾希菌 ATCC35218
1	头孢唑林	CTX30	≤14	15-22	≥23	29-35	25-31	18-22	—
2	头孢曲松	CRO30	≤13	14-20	≥21	29-35	22-28	17-23	—
3	头孢哌酮	CFP75	≤15	16-20	≥21	28-34	24-33	23-29	—
4	头孢他啶	CAZ30	≤14	15-17	≥18	25-32	16-20	22-29	—
5	头孢唑肟	CXM30	≤14	15-17	≥18	20-26	27-35	—	—
6	头孢唑林	CZ30	≤14	15-17	≥18	21-27	29-35	—	—
7	头孢西丁	CFX30	≤14	15-17	≥18	23-29	23-29	—	—
8	头孢吡肟	FEP30	≤14	15-17	≥18	31-37	23-29	24-30	—
9	哌拉西林	PIP100	≤17	18-20	≥21	24-30	—	25-33	12-18
10	羧苄西林	OX1	≤10	11-12	≥13	—	18-24	—	—
11	氟苯西林	AM10	≤13	14-16	≥17	16-22	27-35	—	6
12	羧苄西林	CB100	≤13	14-16	≥17	23-29	—	18-24	—
13	替卡西林	TIC75	≤14	15-17	≥18	24-30	—	21-27	6
14	左氧沙星	LVF5	≤13	14-16	≥17	29-37	25-30	19-26	—
15	环丙沙星	CIP5	≤15	16-20	≥21	30-40	22-30	25-33	—
16	氧氟沙星	OFL5	≤12	13-15	≥16	29-33	24-28	17-21	—
17	洛美沙星	LMF10	≤18	19-21	≥22	27-33	23-29	22-28	—
18	加替沙星	GTF5	≤14	15-17	≥18	30-37	27-33	20-28	—
19	氟罗沙星	FLE5	≤15	16-18	≥19	28-34	21-27	12-20	—
20	诺氟沙星	NOR10	≤12	13-16	≥17	28-35	17-28	22-29	—
21	庆大霉素	GM10	≤12	13-14	≥15	19-26	19-27	—	—
22	司帕沙星	SPP5	≤15	16-18	≥19	30-38	27-33	21-29	—
23	多西环素	DOX30	≤12	13-15	≥16	18-24	23-29	—	—
24	米诺环素	MNO30	≤14	15-18	≥19	19-25	25-30	—	—
25	克拉霉素	CLA15	≤13	14-17	≥18	—	26-32	—	—
26	万古霉素	VA30	若≤14需测MIC	≥15	—	—	17-21	—	—
27	阿奇霉素	AZI15	≤13	14-17	≥18	—	21-26	—	—
28	卡那霉素	K30	≤13	14-17	≥18	17-25	19-26	—	—
29	克林霉素	CM2	≤14	15-20	≥21	—	24-30	—	—
30	红霉素	E15	≤13	14-22	≥23	—	22-30	—	—
31	青霉素	P10U	≤28	29-37	≥38	—	26-37	—	—
32	氯霉素	C30	≤12	13-17	≥18	21-27	19-26	—	—

编号	组成	代号/含量 μg/g	抑菌环解释标准			质控菌抑菌环允许范围			
			R	I	S	大肠艾希菌 ATCC25922	金黄色葡萄球菌 ATCC25923	铜绿假单胞菌 ATCC27853	大肠艾希菌 ATCC35218
33	磷霉素	FOS200	≤12	13-15	≥16	—	25-33	—	—
34	链霉素	S10	≤11	12-14	≥15	12-20	14-22	—	—
35	四环素	TC30	≤14	15-18	≥19	18-25	24-30	—	—
36	利福平	RA5	≤16	17-19	≥20	8-10	26-34	—	—
37	阿莫西林/棒酸	AMC20/10	≤19	20-24	≥25	18-24	28-36	—	17-22
38	替卡西林/棒酸	TCA75/10	≤14	15-19	≥20	24-30	29-37	20-28	21-25
39	头孢他啶/棒酸	CAC30/10	—	—	—	25-33	16-20	22-29	—
40	头孢唑林/棒酸	CTC30/10	—	—	—	29-35	25-31	18-22	—
41	头孢哌酮/舒巴坦	SCF75/50	≤15	16-20	≥21	28-34	24-33	23-29	—
42	氟苯西林/舒巴坦	AMS10/10	≤11	12-14	≥15	19-24	29-37	—	13-19
43	哌拉西林/他唑巴坦	PIT100/10	≤17	18-20	≥21	24-30	27-36	25-33	24-30
44	甲氧萘啶/磺胺甲噁唑	SXT25	≤10	11-15	≥16	23-29	24-32	—	—
45	丁胺卡那	AN30	≤14	15-16	≥17	19-26	20-26	18-26	—
46	庆大霉素	ET300	≤14	15-16	≥17	20-25	18-22	—	—
47	氯西沙星	AZI30	≤15	16-21	≥22	28-36	—	23-29	—
48	亚胺培南	IPN10	≤13	14-15	≥16	26-32	—	20-28	—
49	美罗培南	MPN10	≤13	14-15	≥16	28-34	29-37	27-33	—
50	妥布霉素	TM10	≤12	13-14	≥15	18-26	19-29	19-25	—
51	奈替米星	NET30	≤12	13-14	≥15	22-30	22-31	17-23	—
52	头孢唑林	CZ30	≤14	15-19	≥20	30-36	27-35	12-17	—
53	头孢唑肟	CF30	≤14	15-17	≥18	15-21	29-37	—	—
54	替考拉宁	TCL30	≤10	11-13	≥14	—	15-21	—	—
55	甲氧萘啶	TMP5	≤10	11-15	≥16	21-28	19-26	—	—
56	呋喃唑酮	FZ100	—	—	—	—	15-25	—	—
57	新生霉素	NBS	—	—	—	—	≥16	—	—
58	杆菌肽	BO.04	—	—	—	—	—	—	—
59	奥扑托新	EPRS	—	—	—	—	—	—	—
60	庆大霉素	GM120	—	—	—	—	—	—	—

注: 1 编号 39 头孢他啶/棒酸比头孢唑林抑菌环直径≥5mm 和/或编号 40 头孢唑林/棒酸比头孢唑林抑菌环直径≥3mm。
判定为产ESBLs。用于鉴别葡萄球菌属, 抑菌环在 15-25mm 提示金黄色葡萄球菌。
2 编号 56 呋喃唑酮 用于鉴别葡萄球菌属, 抑菌环在 15-25mm 提示金黄色葡萄球菌。
3 编号 57 新生霉素 用于葡萄球菌属内鉴定, 金黄色葡萄球菌 ATCC25923 做阴性对照 (≥16mm 敏感), 抑菌环≤10mm 为阳性 (耐药) 金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌可被抑制, 表现为敏感, 而腐生葡萄球菌则表现为耐药。
4 编号 58 杆菌肽 用于链球菌属内鉴定 形成抑菌环为敏感, 则推断被检菌为 A 群链球菌。
5 编号 59 奥扑托新 用于链球菌属内鉴定 抑菌环>14mm 为敏感, 推断为肺炎链球菌。
6 编号 60 庆大霉素 质控允许范围用粪肠球菌 ATCC29212, 抑菌环 16-23mm 为合格。

I 协同作用



甲乙两药抑菌环交界角平直



细菌对甲药不敏感, 乙药抑菌环向甲药扩大



无抑菌环作用的两药之间出现抑菌带

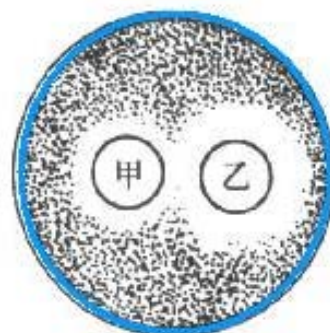
2 无关作用



细菌对两药均耐药



细菌对甲药耐药，对乙药敏感，抑菌环交界角尖锐



细菌对甲、乙两药均敏感，抑菌环交界角尖锐

3 相加作用



甲、乙两药抑菌环交界呈钝圆

4 拮抗作用



细菌对甲药耐药，对乙药敏感，甲药对乙药发生切割状拮抗现象



细菌对甲、乙两药敏感，乙药使甲药的抑菌环呈扁圆形

七、实验结果

1、抗生素对细菌的抑制效果

抗生素 \ 细菌	大肠杆菌抑菌圈直径 (mm)	金黄色葡萄球菌抑菌圈直径 (mm)
青霉素		
克林霉素		

2、两种抗生素对细菌的联合抗菌效果

抗生素 \ 细菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
青霉素		
克林霉素		