实验课件整理

**细菌学**

1. **培养基种类：**

培养基：用人工方法配制成的，专供微生物生长繁殖用的混合营养物制品。

1. 按营养成分分：
2. 基础培养基：常用新鲜牛肉浸膏，加入适量蛋白胨、NaCl，调pH至7.2~7.6即成。
3. 营养培养基：在基础培养基中添加葡萄糖、血液、血清等（营养成分），最常用的是血琼脂平板。
4. 按物理状态分：
5. 液体培养基：可用于大量繁殖细菌（扩增），但必须种入纯种细菌（沉淀、浑浊、表面生长）
6. 半固体培养基：用于观察细菌动力、短期保存细菌（浑浊、沿穿刺线生长）
7. 固体培养基：常用于细菌分离纯化
8. 按功能分：
9. 鉴别培养基：用于培养和区分不同细菌种类的培养基。

利用各种细菌分解糖类、蛋白质的能力及代谢产物不同，在培养基加入特定的作用底物和指示剂。

1. 选择培养基：在培养基中加入某种化学物质，抑制某些细菌生长而有利于另一些细菌生长，从而将后者从混杂标本分离出来。
2. 增菌培养基：抑制杂菌生长，有利于分离菌生长。
3. 厌氧培养基：营养成分丰富，含特殊生长因子，氧化还原电势低，加入美蓝作为氧化还原指示剂。加入的脑、心浸液和肝块、肉渣含有不饱和脂肪酸，能吸收培养基中的氧。（硫乙醇酸盐和半胱氨酸是较强的还原剂，维生素K1、氧化血红素能促进某些杆菌的生长。）

常见的有：庖肉培养基、硫乙醇酸盐肉汤等。

1. 基础培养基——牛肉膏蛋白胨培养基是最广泛、最普通的

二、细菌分离培养

平板划线法

观察细菌培养形状：大小、形状、边缘、表面、隆起度、颜色、溶血性

厌氧菌的分离培养法：1、焦性没食子酸法；2、肝块（庖肉）肉汤；3、共栖培养法；4、高层琼脂法

1. 革兰染色法
2. 原理：由于细菌细胞壁的结构和组成不同，用革兰氏染色法可将细菌分为阳性菌和阴性菌。

阳性菌的细胞壁主要由肽聚糖形成的网状结构组成，乙醇脱色时细胞壁脱水、肽聚糖层的网状结构孔径缩小、透性降低，结晶紫-碘的复合物不易被洗脱而保留在细胞内，经脱色和复染后仍保留初染的蓝紫色。

而阴性菌肽聚糖层较薄、类脂含量高，所以当脱色处理时，类脂被乙醇溶解、细胞壁透性增大，使结晶紫-碘的复合物较容易被洗脱处理，用复染剂复染后，被染上红色。

1. 步骤：

结晶紫初染-碘液媒染-乙醇脱色-复染

1. 油镜使用：
2. 不滴油看不清？

油镜的透镜很小，光线通过玻片与油镜头之间的空气时，因介质密度不同，发生折射或全反射，使射入透镜的光线减少，物象显现不清。

1. 滴油以后又能看清了？

在油镜与载玻片之间加入和玻璃折射率相近的香柏油，则使进入透镜的光线增多，视野亮度增强，使物象明亮清晰。

1. 生理生化试验：
2. 原理：

不同细菌具有不同的酶系统，对糖类和蛋白质的分解能力不同，最终形成的代谢产物也就不同。通过检验代谢产物，可鉴定细菌。

1. 麦康凯平板的原理：

牛胆盐和结晶紫可抑制革兰阳性菌的生长；

乳糖为可发酵糖类；中性红是pH指示剂，细菌发酵乳糖产酸时菌落呈粉红色，并在周围出现胆盐沉淀的浑浊圈。

因此麦康凯琼脂培养基可分离发酵乳糖的革兰氏阴性肠道杆菌。

1. 动物致病性试验
2. 动物试验的用途：

进行病原体分离鉴定；确定病原体的致病力；

恢复或增强细菌的毒力；测定细菌的外毒素；

制备疫苗或诊断抗原；制备免疫血清；

用于检验药物的治疗及毒性

2、LD50：半数致死量

表示在规定时间内，通过指定感染途径，使一定体重或年龄的某种动物半数死亡所需最小细菌数或毒素量。

1. 细菌计数：平板菌落计数法

原理：平板菌落计数法是根据微生物在固体培养基上所形成一个菌落是由一个单细胞繁殖而成的现象进行的。

优点：能测出样品活菌数。

缺点：手续较繁，且测定值常受各种因素影响。

1. 瑞士染色：

碱性染料美蓝+酸性染料伊红，甲醇作溶剂。原理包括物理吸附、化学亲和作用。

不同种类的细胞、不同成分及结构，对酸性及碱性染料的结合能力不同，因而使不同种类细胞染成不同颜色。

细菌染成蓝色。

病毒学

1. 病毒分离培养
2. 病毒：

病毒是体积微小，结构简单，只有一种类型的核酸，只能在活的、敏感细胞内以复制方式增殖的非细胞型微生物。至少含有核酸和蛋白质两种组分。

1. 三种病毒分离培养的方法：实验动物接种；细胞培养；鸡胚培养

实验动物接种：最原始

细胞培养：分原代细胞培养、传代细胞培养

鸡胚接种：广泛用于禽类病毒的分离培养和抗原制备

1. 鸡胚培养法的优点：
2. 鸡胚组织分化程度低，病毒易复制，感染病毒的膜和液体含大量病毒。
3. 鸡胚是完整的机体，有神经血管的分布以及脏器构造。
4. 来源充足，操作简单，通常是无菌的，对接种病毒不产生抗体。
5. 鸡胚培养法的缺点：
6. 一般病毒通常不使鸡胚产生特异性感染指征。
7. 卵黄中常看后家禽病原体的母源抗体。
8. 某些细菌、衣原体和病毒能从感染母鸡传递到鸡胚。
9. 通常鸡胚含有白血病病毒。
10. 在鸡的食物中加入抗菌素，母鸡吃后会传递给鸡胚，鸡胚就会产生对立克次体和衣原体感染的抵抗。
11. 鸡胚接种途径：

绒毛尿囊腔接种、绒毛尿囊膜接种、卵黄囊内接种、羊膜腔内接种、脑内注射。

1. 病毒的血凝与血凝抑制
2. 试验用途：

通过HA-HI试验，可用已知血清鉴定未知病毒，也可用已知病毒来检查被检血清中的相应抗体，并滴定抗体含量。

2、血清滴度：以100%凝集的血清最大稀释度为该血清的滴度，即血清效价。

细菌总论

1. 细菌分类（广义）：三菌四体一病毒

三菌：细菌、真菌、放线菌

四体：支原体、衣原体、螺旋体、立克次体

一病毒

1. 基本形状：球状、杆状、螺旋状
2. 大小单位：微米μm
3. 分裂方式：二分裂繁殖
4. 排列：
5. 球菌：双球菌、链球菌、四联球菌、八叠球菌、葡萄球菌
6. 杆菌：杆状、球杆状、分枝状、长丝状
7. 螺旋菌：弧菌、螺菌
8. 细菌结构：
9. 基本结构：核质、细胞质、细胞膜、细胞壁
10. 特殊结构：荚膜、鞭毛、菌毛、芽孢

细胞壁：是位于细胞最外的一层厚实、坚韧的外被，主要由肽聚糖构成。有固定细胞外形、保护细胞等多种生理功能。革兰阳性菌细胞壁厚，无结构分化，主要由肽聚糖和磷壁酸等组成。

肽聚糖：又称黏肽，是细菌细胞壁所特有的物质。革兰阳性菌的肽聚糖是由聚糖链支架、四肽侧链、五肽交联桥组成的复杂聚合物。

磷壁酸：是一种由核糖醇或甘油残基经磷酸二酯键相互联结而成的多聚物，并带有一些氨基酸或糖。是革兰阳性菌的特有成分、特异性表面抗原。

革兰阴性菌细胞壁：较薄，由外膜和周质间隙组成。外膜包括脂多糖、磷脂、蛋白质、脂蛋白。最外面是脂多糖，即内毒素，其中类脂A是内毒素主要毒性成分。多糖有抗原性，即O特异侧链。

脂多糖（LPS）：是位于革兰氏阴性菌细胞壁最外层的一层较厚的类脂多糖类物质。由类脂A、核心多糖、O特异性侧链三部分组成。

原生质球：用溶菌酶等作用革兰氏阴性菌，仅能去除细胞内肽聚糖，形成仍有外膜包裹的菌体，称为原生质球。

原生质体：一定条件下，去除或缺损细菌细胞壁并不损害细菌生命。革兰氏阳性菌经溶菌酶或青霉素处理后，可完全去除细胞壁，形成仅由细胞膜包住细胞质的菌体，称为原生质体。

质粒：是在核体DNA以外、游离的小型双股DNA分子，多为共价闭合环状。其功能是控制产生菌毛、菌素、耐药性和细菌素等遗传形状。质粒能毒独立复制，随宿主分裂传给子代菌体。

S层：完整包裹菌体，由单一的蛋白质亚单位组成，规则排列，呈晶格结构。

鞭毛：菌体表面1至数十根的弯曲丝状物（着生方式：端生，周生，侧生）

芽孢：某些革兰氏阳性菌在一定环境条件下，可在菌体内形成一个圆形或卵圆形的休眠体，称为芽孢。

菌落：某个细菌在适合生长的固体培养基表面或内部，在适宜条件下，经过一定时间培养，生长繁殖出巨大数量的菌体，形成一个肉眼可见的、有一定形态的独立群体，称为菌落。

菌苔：若长出的菌落连成一片，称为菌苔。

微荚膜：荚膜的厚度若在200nm一下，用光学显微镜不能看见，但可以在电子显微镜下看到，称为微荚膜。

细菌代谢特点：

1. 生长繁殖速度极快，超过动物细胞10~100倍
2. 利用各种化合物作为能源的能力远远强于动物细胞
3. 对营养的需求比动物细胞更多种多样，因为它们有多种代谢旁路
4. 可以利用超常流水线式生产的方式合成大分子物质
5. 能产生肽聚糖、脂多糖、磷壁酸等特殊物质

细菌转录的两个特点：

1. 细菌由同一个RNA聚合酶催化合成mRNA、tRNA、rRNA。
2. 细菌mRNA不需要通过核膜转运到胞浆，因此不需要聚A帽状结构。

生长因子：维生素、氨基酸、嘌呤、嘧啶

世代时间：一个菌体分裂为两个菌体所需的时间称为世代时间

生长曲线：迟缓期、对数期、稳定期、衰退期

（毒素等代谢产物大多在稳定期产生）

**病毒总论**

核心+衣壳=核衣壳

病毒的分类标准：

1. 病毒的形态结构
2. 核酸类型和多肽
3. 病毒的复制
4. 对理化因素的稳定性