

仿真塑胶细菌培养物在“医学微生物学实验”教学中的应用

刘佳¹, 杨致邦¹, 李革¹, 何永林², 涂增², 徐蕾², 卢楠², 张光媛^{*1}, 郭亚楠^{*2}

1 重庆医科大学实验教学管理中心, 重庆 401331

2 重庆医科大学基础医学院, 重庆 401331

刘佳, 杨致邦, 李革, 何永林, 涂增, 徐蕾, 卢楠, 张光媛, 郭亚楠. 仿真塑胶细菌培养物在“医学微生物学实验”教学中的应用[J]. 微生物学通报, 2022, 49(4): 1294-1301

Liu Jia, Yang Zhibang, Li Ge, He Yonglin, Tu Zeng, Xu Lei, Lu Nan, Zhang Guangyuan, Guo Yanan. Application of simulated plastic bacterial cultures in the teaching of Medical Microbiology Experiment[J]. Microbiology China, 2022, 49(4): 1294-1301

摘要: 医学微生物学实验是医学院校不可缺少的基础必修课, 也是涉及实验室生物安全的特殊课程。为杜绝生物安全隐患, 避免实验结果不稳定及生化反应现象不典型的问题, 将医学微生物实验中示教的典型细菌培养物和细菌的生化反应结果制成仿真塑胶教具, 并应用于实验教学, 对实验组与对照组学生的实验考核和问卷调查结果进行统计分析。结果表明仿真塑胶教具仿真度较高, 示教观察点能达到教学要求, 学生和教师对仿真教具的接受度高, 试点班应用后学生考核成绩略高于对照组, 达到预期的教学效果。细菌培养物仿真塑胶教具具有很好的应用价值。

关键词: 医学微生物学实验; 致病菌; 塑胶仿真培养物; 实验教学; 实验考核

Application of simulated plastic bacterial cultures in the teaching of Medical Microbiology Experiment

LIU Jia¹, YANG Zhibang¹, LI Ge¹, HE Yonglin², TU Zeng², XU Lei², LU Nan², ZHANG Guangyuan^{*1}, GUO Yanan^{*2}

1 Experimental Teaching Management Center, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China

2 School of Basic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China

Abstract: Medical Microbiology Experiment is a compulsory course in medical universities and

基金项目: 重庆市高等教育教学改革研究项目(173047, 213120); 重庆医科大学教育教学研究项目(JY200318, JY210301)

Supported by: Chongqing Education Teaching Reform Research Projects (173047, 213120); Education and Teaching Research Projects of Chongqing Medical University (JY200318, JY210301)

*Corresponding authors: E-mail: ZHANG Guangyuan: sanqinyouthzhang@126.com; GUO Yanan: 102670@cqmu.edu.cn

Received: 2021-07-06; Accepted: 2021-11-19; Published online: 2022-01-19

colleges, which concerns laboratory biosafety. In order to eliminate hidden dangers over biosafety and avoid problems such as unstable results caused by experiments and atypical biochemical reactions, we have made simulated plastic molds of the typical bacterial cultures and biochemical reaction outcomes of microbiology and have applied them to the experiment teaching. The experiment examination and questionnaire survey results of students were compared between the experiment group and the control group. The results showed that the plastic teaching aids had high simulation degree and met the requirements of observation points in teaching, and students and teachers had high acceptance of the teaching aids. The assessment score of students in the pilot class with application of the teaching aids was slightly higher than that of students in the control class, which indicated the teaching performance as expected. In a word, the simulated teaching aids can guarantee the teaching quality and has a good prospect in the future.

Keywords: Medical Microbiology Experiment; pathogenic bacteria; simulated plastic bacterial cultures; experiment teaching; experiment assessment

随着仿真技术的迅猛发展, 仿真塑胶模型在医学教育领域已逐渐成为有效的教具^[1-3], 如在人体解剖学实验中制作仿真塑胶人体模型, 以解决尸体标本收集困难的问题。近年来, 在临床上大量应用仿真塑胶模拟人供学生操作练习。这些仿真塑胶教具既保留了真实器官标本的外观特点, 又便于保存, 已成为实验教学中的有效教具。

“医学微生物学实验”是所有医学专业及医学相关专业学生的一门重要基础课, 其内容主要涉及病原微生物的形态结构、培养方法、培养特性和检测方法等。通过实验能加深学生对医学微生物学理论知识的理解, 掌握医学微生物学基本实验方法和检测技术。其中, 细菌生长现象和细菌生化反应结果的观察是实验的经典内容, 也是细菌学检验的实验基础。在实验中需要用到大量致病菌的培养物。其中多种培养物所接种的细菌在《人间传染的病原微生物名录》^[4]中都属于危险程度二类(III级)的细菌, 按照生物安全的要求, 应在II级生物安全实验室进行, 但大多数医学院校面对数千名学生, 不可能都建立如此大规模的II级生物安全实验

室。此外, 实验准备人员制备这些典型的培养物时需从鉴定菌种开始, 反复调试才能获得, 而且典型培养物不能保存, 须制备新鲜培养物, 致使这些实验的准备耗费大量人工、精力和材料。

为解决上述医学微生物学实验面临的困难, 本实验室首次设计和制作了医学微生物学实验中示教的多种典型细菌培养物的仿真塑胶教具, 应用于“医学微生物学实验”教学中, 通过应用于课堂教学和实验考核以及对学生的问卷调查, 对细菌培养物仿真塑胶在实验教学中的应用效果进行评价, 探讨其应用价值。

1 塑胶仿真细菌培养物的设计和制作

1.1 塑胶仿真细菌培养物的设计

根据本校医学专业及医学相关专业本科“医学微生物学实验”教学大纲的要求, 初步选取细菌的生长现象和肠道杆菌生化反应两部分实验的示教内容, 具体内容有: 细菌的生长现象观察, 包括金黄色葡萄球菌在液体培养基中混浊生长、枯草芽孢杆菌在液体培养基中表面生长、乙型溶血性链球菌在液体培养基中沉淀

生长；细菌在琼脂平板上生长的菌落特征观察，包括金黄色葡萄球菌、白色葡萄球菌和柠檬色葡萄球菌及枯草芽孢杆菌在营养琼脂平板上生长的菌落，乙型溶血性链球菌在血琼脂平板上生长的菌落；细菌的生化反应观察，包括大肠埃希菌在葡萄糖液体培养基中的生长结果观察；伤寒沙门菌、大肠埃希菌在沙门菌、志贺菌选择鉴别琼脂平板(selection and identification agar plate of *Salmonella* and *Shigella*, S.S)、伊红美蓝选择鉴别琼脂平板(eosin and methylene blue selective identification agar plate, EMB)上生长的菌落观察；变形杆菌和大肠埃希菌在醋酸铅培养基中生长现象的观察；大肠埃希菌、乙型副伤寒沙门菌、伤寒沙门菌、痢疾志贺菌在克氏双糖铁培养基中的生长现象观察。

1.2 塑胶仿真细菌培养物的制作

与仿真塑胶模型制作公司(成都西恩科技有限公司)联系后，将上述选取的细菌培养物先制备典型培养物的实物，请制作公司的技术人员到现场仔细观察，并拍照保存。根据示教的观察点，制定每种典型培养物的制作标准，包括剂型、大小、形态、颜色等特征要求，交仿真塑胶模型制作公司制作。在制作过程中，实验室技术员与制作公司的技术人员和技术工人多次通过电话和现场沟通，商讨解决制作工艺中的难点，直至基本达到制作标准。

2 塑胶仿真细菌培养物在实验教学中的应用评价

2.1 应用对象

选取医学微生物学实验教学大纲与教学学时和内容相同的 2018 级医学影像学专业本科与 2018 级临床药学专业本科 2 个专业的学生，从每个专业中抽出 2 个实验班，每个班人数为

36 人，共计 144 人。4 个班的性别比例、年龄组成及前期其他学科平均实验成绩无显著性差异，用于对“医学微生物学实验”的学习效果评价。

2.2 评价方法

以所选实验教学班为单位进行对比研究，其中医学影像学专业本科和临床药学专业本科各 1 个实验班共 72 名学生作为平行对照组，另 2 个实验班共 72 名学生作为平行实验组。4 个班均用常规方法进行实验教学，教师先对实验目的、原理、材料、方法、结果及注意事项等进行系统讲解，其间对实验标本的观察要点进行重点讲解，并采用多媒体展示实验相关的图片或视频材料。教师讲解后，对照组采用传统真实细菌培养物供学生示教观察，实验组采用制备的仿真塑胶细菌培养物供学生观察，均不事先告知观察的是仿真教具或者真实培养物。

实验教学结束后按常规进行实验考核，实验组和对照组的班级同时进行，考核的方法和内容均相同。考试内容病原微生物形态的识别、细菌培养物的识别、细菌生化反应的判定、细菌鉴定实验结果的判定等，满分为 100 分，其中涉及观察示教标本的内容占实验考核内容的 40%。

2.3 学生使用仿真教具学习感受调查

在实验考核结束后，实验组在告知仿真教具和真实培养物的情况下，同时观察仿真教具和真实培养物后再进行不记名问卷调查，调查学生对采用仿真塑胶细菌培养物学习的感受。问卷调查的内容主要有仿真塑胶细菌培养物仿真度及学生对仿真塑胶细菌培养物应用于实验教学的支持度。

2.4 数据统计分析

统计实验组和对照组学生的最终成绩及问

卷调查结果, 均采用 Graphpad Prism 6.0 软件进行分析, 以 $P < 0.05$ 判为有显著性差异。

3 制作的仿真塑胶细菌培养物教具

在实验室技术员与制作公司的技术员和技术工人反复实验及共同努力下, 基本上按制作标准完成了设计教具的制作。制作的教具虽然在色彩、精细度方面有待进一步改进, 但能展示培养物的观察要点, 满足学生示教观察的需要。下面以 3 种葡萄球菌在营养琼脂平板上生长的菌落和大肠埃希菌在葡萄糖液体培养基中的生化反应为例, 介绍制作的仿真塑胶细菌培养物与真实培养物的比较。

3.1 三种葡萄球菌在营养琼脂平板上生长的菌落

观察要点如图 1 所示, 金黄色葡萄球菌有散在单个菌落, 菌落圆形、中等大小(直径 1-3 mm)、突起、半透明、浅黄色; 白色葡萄球菌有散在单个菌落, 菌落圆形、中等大小(直径 1-3 mm)、突起、半透明、白色; 柠檬色葡萄球菌有散在单个菌落, 圆形、菌落中等大小

(直径 1-3 mm)、突起、半透明、柠檬色。

3.2 大肠埃希菌在葡萄糖液体培养基中的生化反应结果观察

观察要点如图 2 所示, 糖发酵阴性: 培养液呈紫色, 小导管内无气泡; 糖发酵产酸产气: 培养液呈黄色, 小导管内有气泡。

4 塑胶仿真教具在实验教学中的应用效果

4.1 实验课学生考核结果分析

将实验组和对照组学生的实验考核成绩进行比较, 对照组学生的平均实验成绩为 90.4 分, 实验组学生的平均实验成绩为 93.0 分。实验组实验课总成绩高于对照组, 有显著性差异 ($P < 0.05$)。此结果表明, 实验组学生应用仿真塑胶致病细菌培养物教具学习可以保证教学质量。

从成绩分布情况来看, 对照组成绩在 95-100 分之间的学生占 29.16%; 在 85-94 分之间的学生占 55.56%; 在 75-84 分之间的学生占 12.50%; 在 60-74 分的学生占 2.78%; 60 分以下的学生占 0%, 成绩呈正态分布。实验组成绩

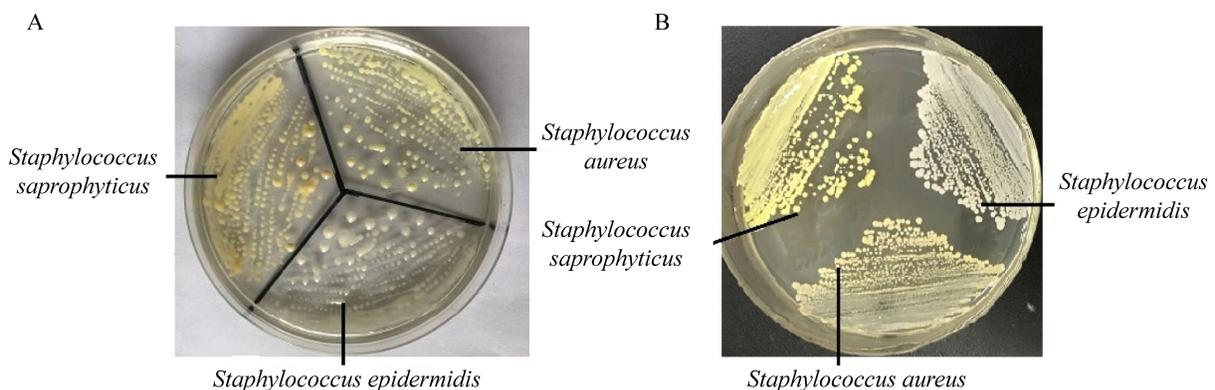


图 1 三种葡萄球菌在营养琼脂平板上生长的菌落 A: 三种葡萄球菌在营养琼脂平板上生长的菌落仿真塑胶教具; B: 三种葡萄球菌在营养琼脂平板上生长的菌落真实培养物

Figure 1 Colonies of three *Staphylococcus* growing on nutrient agar plate. A: Simulation plastic teaching aid for three species of *Staphylococcus* growing on nutrient agar plate; B: Real colony cultures of three species of *Staphylococcus* on nutrient agar plate.

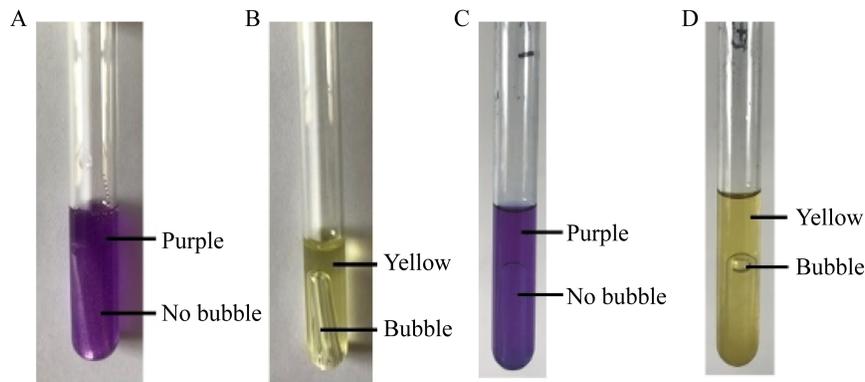


图 2 大肠埃希菌在葡萄糖液体培养基中的生化反应 A: 大肠埃希菌糖发酵阴性的仿真塑胶教具; B: 大肠埃希菌糖发酵产酸产气的仿真塑胶教具; C: 大肠埃希菌糖发酵阴性的真实培养物; D: 大肠埃希菌糖发酵产酸产气的真实培养物

Figure 2 Biochemical reaction of *Escherichia coli* in glucose liquid medium. A: Simulation plastic teaching aids of *E. coli* with negative glucose fermentation; B: Simulation plastic teaching aid of *E. coli* with producing acid and gas by glucose fermentation; C: Real culture of *E. coli* with negative glucose fermentation; D: Real culture of *E. coli* with producing acid and gas by glucose fermentation.

在 95–100 分之间的学生占 36.11%; 在 85–94 分之间的学生占 51.39%; 在 75–84 分之间的学生占 11.11%; 在 60–74 分之间的学生占 1.39%; 低于 60 分的学生占 0%, 成绩呈正态分布。此结果表明, 实验组学生使用仿真塑胶致病菌培养物教具学习之后, 整体实验课成绩有一定程度提高, 有显著性差异($P < 0.05$); 相比对照组, 成绩在高分区间的学生比例有一定程度增加, 有显著性差异($P < 0.05$)。

将实验考核中涉及仿真塑胶教具部分的成绩进行比较, 该部分占总成绩的 40%, 实验组成绩略高于对照组。从平均成绩来看, 对照组学生的平均实验成绩为 36.0 分, 实验组学生的平均实验成绩为 36.5 分。实验组示教标本相关实验成绩略高于对照组, 无显著性差异($P > 0.05$)。此结果表明实验组学生使用仿真塑胶致病菌培养物教具学习之后, 与用真实培养物学习同样能掌握实验相关知识点。从成绩分布情况来看, 对照组成绩在 38–40 分之间的学生占 19.44%; 在 34–37 分之间的学生占

50.00%; 在 30–33 分之间的学生占 19.44%; 在 24–29 分之间的学生占 11.12%; 24 分以下的学生占 0%, 成绩呈正态分布。实验组成绩在 38–40 分之间的学生占 20.83%; 在 34–37 分之间的学生占 65.28%; 在 30–33 分之间的学生占 9.72%; 在 24–29 分之间的学生占 4.17%; 24 分以下的学生占 0%, 成绩呈正态分布。此结果表明实验组学生使用仿真塑胶致病菌培养物教具学习之后相关知识掌握较好。

4.2 仿真塑胶细菌培养物支持度评价

学生作为仿真塑胶细菌培养物的直接使用对象, 根据学生的感受, 通过问卷调查学生是否支持实验课上用仿真塑胶细菌培养物代替真实标本, 将学生的态度分为支持、比较支持、不太支持、不支持。实验组问卷调查结果统计显示(图 3): 44.44% 的学生表示愿意在实验课上使用仿真塑胶细菌培养物; 34.72% 的学生表示比较愿意在实验课上使用仿真塑胶细菌培养物; 13.89% 的学生表示不太愿意使用仿真塑胶细菌培养物; 6.95% 的学生表示不愿意使用仿真塑

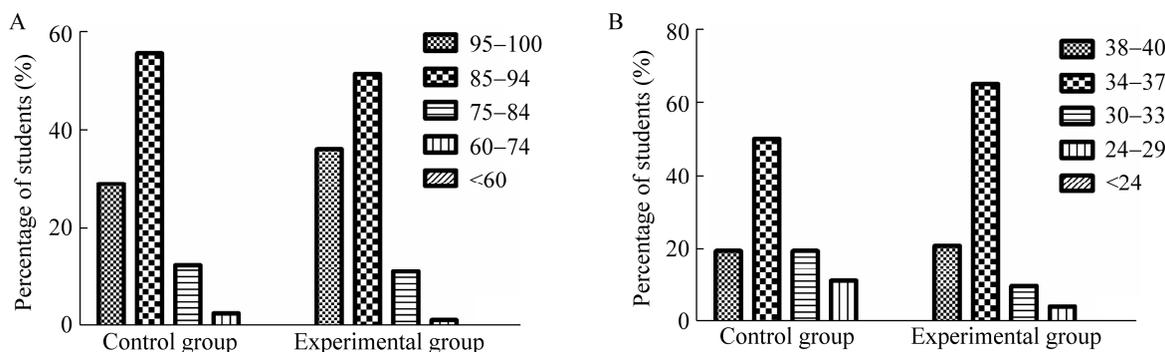


图3 学生实验考核成绩分布 A: 整体实验课成绩分布; B: 与仿真教具相关实验成绩分布

Figure 3 Distribution of scores in the experimental assessment of the students. A: Overall experimental course score distribution; B: Distribution of experimental results related to simulation teaching aids.

胶细菌培养物。结果表明大部分学生愿意接受实验课上使用仿真塑胶细菌培养物, 支持度较高。带教教师认为示教的仿真塑胶细菌培养物最主要的优点是不怕学生打破, 也不怕学生接触, 避免了生物安全的危险, 但尚需提高其仿真度。实验准备人员认为示教的仿真塑胶细菌培养物省工省料、一劳永逸, 值得推广。

4.3 仿真塑胶细菌培养物在实验室开放方面的应用

为帮助学生在实验课后复习实验知识, 基础医学的各实验室均设立了开放实验室。医学微生物学实验室的实验内容因涉及多种病原微生物的培养物, 受生物安全的限制; 而且细菌培养物长期保存后不能保持典型的生物学特征, 如菌落特点、生物化学反应特点等, 因此难以设立开放实验室。制备了仿真塑胶细菌培养物后, 医学微生物学实验室可以大胆地开放, 学生可以在课后利用晚自习的时间到实验室复习实验内容, 观察细菌生长繁殖的现象及特性, 实验室管理人员也无生物安全危害的担忧, 受到教师和学生的一致好评。

4.4 专利申请

我们制备仿真塑胶细菌培养物代替真实

的细菌培养物应用于“医学微生物学实验”教学, 避免了致病菌培养物所存在的生物安全隐患, 在国内外均属一种新的设计和尝试, 已向国家知识产权局申请发明专利(申请号: CN202010557516.1), 该申请已被受理, 并于2020年9月18日在专利公报第36卷3802期上公布, 目前尚在实质审查中。

5 讨论

5.1 医学微生物学实验的带教老师和学生都承担着生物安全的风险和压力

医学微生物学是所有医学专业及医学相关专业学生的一门必修的重要基础课, 对于临床检验专业和卫生检验专业的学生, 则还需进一步学习临床微生物学课程。医学微生物学实验课的内容多数为涉及细菌的实验。在实验中, 细菌的形态学观察、细菌的人工培养方法, 以及细菌在液体、固体、半固体培养基(琼脂平板、试管)中的生长现象观察和细菌鉴定的基本生化反应, 都是基础微生物学实验最基本的经典内容, 多采用示教的形式向学生展示, 这些典型的培养物不可避免要用致病菌来制备。例如, 为了观察到细菌

生长繁殖的典型特征,在细菌菌落观察中常要用金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌的血琼脂平板培养物;在细菌生化反应的观察中常要用到伤寒沙门菌、痢疾志贺菌等肠道致病菌的双糖铁试管培养物;为观察细菌的“汹涌发酵”现象,要用到产气荚膜梭菌的牛乳石蕊培养物。这些培养物所接种的细菌都属于危险程度二类(III级)的细菌,应在II级生物安全实验室进行。虽然这些培养物多采用由实验准备人员上课前在II级生物安全实验室制备成典型的培养物,再拿到实验课堂示教,但上课时也常有学生不慎打破示教的试管或平板,使其中的培养物外泄,致病菌纯培养物污染桌面或地面的事件发生;有的学生因好奇打开示教的平板导致手触碰到致病菌菌落等。此外,在气温高的夏天,这些培养物还容易形成气溶胶污染环境;即使是在II级生物安全实验室进行示教也涉及生物安全问题^[5-7]。

虽然国内外尚无学生在医学微生物学实验中发生致病菌泄漏引起生物安全公共卫生事件的公开报道,但医学微生物学实验课的带教老师和学生都承受着生物安全的风险和压力。

5.2 医学微生物学实验的准备难度高,费工又耗材

在医学微生物学实验中,示教的细菌培养物必须具有典型的特点才能使学生获得正确的感性认识。为此,负责实验准备的技术人员在课前相当早的时间就要开始准备,从复苏保存的菌种开始,到获得培养物,实验过程中的影响因素较多,菌种的变异、培养基的成分、pH 等都可影响细菌的生长,稍有不慎就不能得到满意的典型培养物。因此,每次实验都要做几次才能得到符合要求的典型培养物,而且获得的典型培养物保存时间有限,特别是细菌生化反应的典型培养物,即使放冰箱4℃左右

保存,其反应的现象也容易发生改变。因此,不同时间的实验需分批次制备典型培养物,即使这样每批次培养物难免会有一定差异。由此可见,医学微生物学的实验准备难度高、费工又耗材,实验准备人员苦不堪言。

5.3 仿真塑胶细菌培养物在医学微生物学实验中有很好的应用前景

自2004年以来,国家对生物安全问题越来越重视,公布了一系列法律性文件。医学微生物学实验的生物安全问题越来越引起重视。仿真塑胶细菌培养物由塑胶制成,无毒无味,代替真实的细菌培养物能避免生物安全危害。在实验中,教师和学生都无生物安全的负担,教师不用担心学生打破示教的试管或平板,也不用担心学生触碰到致病菌菌落;学生可以放心地去观察仿真塑胶致病菌培养物,有利于学生认真仔细地观察,有助于对知识点的掌握。从本实验在教学中的应用看,只要塑胶细菌培养物能展现示教的观察要点,就能完全达到教学目的,受到学生的欢迎^[8]。仿真塑胶细菌培养物一旦制成,不变形、不变色,可长期保存,也有利于实验室开放供学生课后复习。除克服了生物安全危害问题外,还省工省料、一劳永逸,受到实验准备人员的欢迎。目前需要改进的是制作工艺,塑胶细菌培养物与其他塑胶仿真物不同,后者仅需展现外观,而塑胶细菌培养物还需展现内部结构,要想获得更逼真的教具,还需进一步改进工艺技术。尽管如此,用仿真塑胶细菌培养物替代真实的细菌培养物,特别是那些高致病细菌的培养物在医学微生物学实验中有很好的应用前景。

REFERENCES

- [1] 程旭锋. 医用仿真教具联合团队为基础教学法在乳腺外科教学中的应用[J]. 临床研究, 2019, 27(12): 195-196

- Cheng XF. Application of medical simulation teaching aids combined with team based teaching method in breast surgery teaching[J]. *Clinical Research*, 2019, 27(12): 195-196 (in Chinese)
- [2] 吴代陆, 黄梅. 医学仿真乳房教具在乳房疾病教学中的应用体会[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2017, 15(24): 23-25
- Wu DL, Huang M. The application experience of medical simulation breast teaching aid in breast diseases teaching[J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2017, 15(24): 23-25 (in Chinese)
- [3] 刘咏松. 将仿真植物标本植入药用植物学实验教学的探讨[J]. *成都中医药大学学报(教育科学版)*, 2010, 12(2): 26
- Liu YS. Discussion on implanting simulated plant specimen into experimental teaching of Medicinal Botany[J]. *Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine: Educational Science Edition*, 2010, 12(2): 26 (in Chinese)
- [4] 中华人民共和国卫生部办公厅. 人间传染的病原微生物名录[N]. 卫科教发[2006] 15号, 2006-01-12
- General Office of the Ministry of Health of the People's Republic of China. List of pathogenic microorganisms of human infection[N]. WKJF [2006] No. 15, 2006-01-12 (in Chinese)
- [5] 张洁, 朱昌平, 马文哲. 高校实验室生物安全管理工作的思考[J]. *实验室科学*, 2012, 15(1): 195-197
- Zhang J, Zhu CP, Ma WZ. Consideration on the bio-safety management of universities laboratory[J]. *Laboratory Science*, 2012, 15(1): 195-197 (in Chinese)
- [6] 韩俭, 景涛, 郭璐. 提升医学生病原微生物实验室生物安全防范能力思考[J]. *基础医学教育*, 2019, 21(1): 41-43
- Han J, Jing T, Guo L. Thinking on improving the biosafety prevention ability of pathogenic microorganism laboratory for medical students[J]. *Basic Medical Education*, 2019, 21(1): 41-43 (in Chinese)
- [7] 邓娟, 何晓燕, 屠静, 彭宜红. “医学微生物学”本科实验教学中生物安全的落实与实践[J]. *微生物学通报*, 2018, 45(3): 504-508
- Deng J, He XY, Tu J, Peng YH. The implementation and practice of biological safety in the experimental curriculum of Medical Microbiology for undergraduate students[J]. *Microbiology China*, 2018, 45(3): 504-508 (in Chinese)
- [8] 王毅, 杨致邦, 蒋仁举. 病原生物学与免疫学实验教学改革探索[J]. *中华医学教育探索杂志*, 2014, 13(7): 692-695
- Wang Y, Yang ZB, Jiang RJ. Exploration on the reform of experimental instruction for Pathogenic Biology and Immunology[J]. *Researches in Medical Education*, 2014, 13(7): 692-695 (in Chinese)