

全国中等卫生学校配套教材

供护理、助产、妇幼卫生、社区医学、预防医学、口腔医学、药剂、医学影像诊断、中医、中药专业用

免疫学基础与病原生物学实验报告

肖运本 主编

徽科学技术出版社

全国中等卫生学校配套教材
供护理、助产、妇幼卫生、社区医学、预防医学、
口腔医学、药剂、医学影像诊断、中医、中药专业用

免疫学基础与病原生物学实验报告

主编 肖运本

编者 (以姓氏笔画为序)

吴文林 (大连铁路卫生学校)

肖运本 (武汉市卫生学校)

陈佩文 (厦门卫生学校)

杨祖成 (无锡卫生学校)

姚秀缤 (湖北医大附属卫生学校)

彭德华 (珠海市卫生学校)

安徽科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

免疫学基础与病原生物学实验报告/肖运本主编
—合肥: 安徽科学技术出版社, 2000. 2
全国中等卫生学校配套教材
ISBN7-5337-1954-9

I. 免… II. 肖… III. ①免疫学-专业学校-实验
报告②病原微生物-生物学-专业学校-实验报告
IV. Q939.91

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 02786 号

安徽科学技术出版社出版

(合肥市跃进路 1 号新闻出版大厦)

邮政编码: 230063

电话号码: (0551) 2825419

新华书店经销 合肥天马印刷有限责任公司印刷

*

开本: 787×1092 1/16 印张: 3 字数: 71 千

2002 年 2 月第 3 次印刷

印数: 5 000

ISBN 7-5337-1954-9/Q · 30 定价: 4.00 元

(本书如有倒装、缺页等问题, 请向本社发行科调换)

目 录

实验目的及实验室规则·····	1
实验一 免疫器官与免疫细胞观察·····	2
实验二 豚鼠过敏性休克·····	4
实验三 抗原抗体反应实验·····	5
实验四 常用生物制品观察·····	8
实验五 显微镜油镜的使用和保护方法·····	9
实验六 细菌的形态与结构观察·····	10
实验七 细菌的培养与代谢产物观察·····	13
实验八 细菌的分布实验·····	17
实验九 消毒与灭菌实验·····	19
实验十 病原性球菌实验·····	22
实验十一 肠道杆菌及其他细菌实验·····	25
实验十二 病毒及其他微生物实验·····	29
实验十三 医学线虫实验·····	31
实验十四 医学吸虫实验·····	34
实验十五 医学绦虫实验·····	37
实验十六 医学原虫实验·····	39
实验十七 医学节肢动物实验·····	42

实验目的与实验室规则

一、实验目的

免疫学基础与病原生物学实验是本课程重要的组成部分。通过实验,验证有关理论,加深对基本理论知识的理解;通过实验操作,掌握有关的基本操作技能和无菌技术,建立无菌观念;通过正确地观察和分析实验结果,使学生养成实事求是的科学态度,培养严肃认真的工作作风,独立工作、分析和解决问题的能力。

二、实验室规则

1. 进实验室要穿工作服,离室前脱下并反折,工作服经常清洗,保持洁净。
2. 非实验必备的物品,不准带入实验室。带进实验室的必要的教材和文具要远离操作部位。
3. 实验室内绝对禁止饮食、吸烟或用嘴舔铅笔等。
4. 实验室内保持肃静,禁止谈笑和高声说话,以利于集中精力完成实验操作。
5. 凡具有传染性的培养物、带菌材料、动物、器具等,均需按要求处理,不得随便乱放或用水冲洗。实验室内任何物品不得携出室外。
6. 实验中一旦发生意外,如划破皮肤,细菌污染实验台、地面、手或衣物时,应立即报告老师及时处理。
7. 爱护公物、节约实验材料,如损坏实验器材时,应向老师报告,进行登记。
8. 经常保持实验室内清洁整齐,实验完毕应整理实验物品、清理桌面,清扫实验室,检查水电和门窗。
9. 实验完毕需用消毒液泡手,再以清水冲洗,然后离开实验室。

(杨祖成)

实验一 免疫器官与免疫细胞观察

一、实验目的

1. 初步认识胎儿胸腺及雏鸡腔上囊结构。
2. 初步认识中性粒细胞、巨噬细胞及 T 细胞形态特点并了解其生物学功能。

二、实验内容

1. 胎儿胸腺、雏鸡腔上囊标本观察(示教)。
2. 吞噬细胞吞噬现象标本观察(示教)。
3. E 玫瑰花结与 T 细胞转化试验结果观察(示教)。

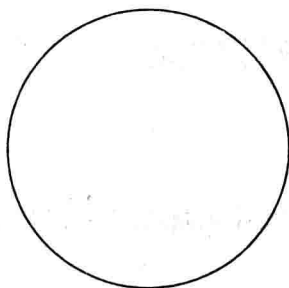
三、实验方法

1. 观察 4~6 个月以上胎儿胸腺标本, 注意胸腺位于胸腔纵隔上部, 胸骨后方, 由不对称两叶合并在一起, 中间可见一正中线。
2. 观察雏鸡腔上囊标本, 注意腔上囊位于泄殖腔内背侧直肠外上方, 为一囊状淋巴组织。
3. 用细胞观察被中性粒细胞吞噬的细菌或被巨噬细胞吞噬的鸡红细胞的染色标本片。注意鸡红细胞为椭圆形, 有细胞核, 在巨噬细胞内有多个因不同程度地被消化而大小不一的鸡红细胞的特征。
4. 用油镜观察 E 玫瑰花结染色标本片, 可见染成紫蓝色的小淋巴细胞(T 细胞), 平均直径 $4.5\mu\text{m}$, 核呈圆形, 常有一小凹, 染色质呈块状, 排列致密, 胞质为新月形, 其周围结合 3 个或 3 个以上染成红色的绵羊红细胞。
5. 用油镜观察淋巴细胞转化试验染色标本片, 注意未转化的淋巴细胞与转化的淋巴母细胞的不同形态特征。淋巴母细胞体积为淋巴细胞的 3~5 倍, 胞浆丰富, 胞浆内有空泡, 可见伪足, 核内染色质疏松, 可见 1~3 个核仁。

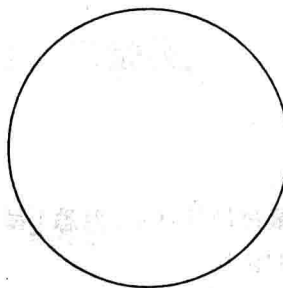
四、实验报告

1. 叙述胎儿胸腺、雏鸡腔上囊的解剖位置及形态特征。

2. 绘出中性粒细胞或巨噬细胞的吞噬现象。

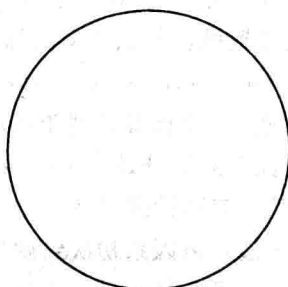


中性粒细胞吞噬现象



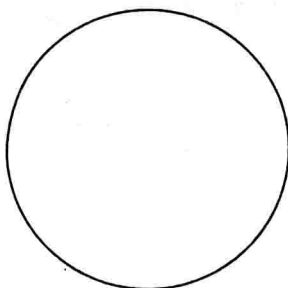
巨噬细胞吞噬现象

3. 绘出 E 玫瑰花结试验结果。



玫瑰花结形态

4. 绘出淋巴母细胞形态染色特征。



淋巴细胞形态

(肖运本)

实验二 豚鼠过敏性休克

一、实验目的

通过观察豚鼠过敏性休克,熟悉 I 型超敏反应的发生机制及发病过程,提高对防治过敏性休克重要性的认识。

二、实验内容

豚鼠过敏性休克(示教)。

三、实验方法

1. 致敏注射 取体重约 250g 的豚鼠 2 只(其中 1 只为备用),每只腹腔或皮下注射 1:10 稀释的鸡蛋清溶液 0.5ml,使之致敏,并以染料涂抹,做好标记。

2. 发敏注射 取致敏注射 2~3 周的豚鼠 1 只,心内注射 1:2 稀释的鸡蛋清溶液 1ml;取未致敏的豚鼠 1 只,心内注射 1:2 稀释的鸡蛋清溶液 1ml,作为对照。

3. 结果观察 致敏豚鼠经发敏注射后数分钟至 10 分钟内,出现不安、竖毛、搔鼻、喷嚏、呼吸困难、抽搐、大小便失禁、痉挛性跳跃等反应,严重者数分钟内死亡。解剖可见肺气肿。对照豚鼠注射鸡蛋清溶液,但因系初次致敏注射,不出现上述反应。由于动物个体差异,有的实验结果不明显,可取另一只备用致敏豚鼠再次进行发敏注射。

四、实验报告

1. 填写豚鼠过敏性休克实验结果表。

豚鼠类别	注射溶液(1:2 鸡蛋清溶液)	豚 鼠 反 应
已致敏豚鼠		
未致敏豚鼠		

2. 分析致敏豚鼠与未致敏豚鼠出现不同反应的原因。

(肖运本)

实验三 抗原抗体反应实验

一、实验目的

了解常见抗原抗体反应的原理及熟悉其临床应用范围。

二、实验内容

1. 玻片凝集反应(操作)。
2. 试管凝集反应(示教)。
3. 间接胶乳凝集抑制试验(妇幼卫生、助产专业操作,其他专业示教)。
4. 单向琼脂扩散试验(示教)。
5. ELISA 双抗体夹心法测早早孕(妇幼卫生、助产专业操作,其他专业示教)。

三、实验方法

(一) 玻片凝集反应

1. 取载玻片 1 张,右侧加生理盐水 1 滴,中间及左侧无菌操作各加伤寒沙门菌诊断血清 1 滴。

2. 用取菌环无菌操作取伤寒沙门菌培养物少许,分别与生理盐水及中间伤寒沙门菌诊断血清混匀。同法取大肠埃希菌培养物与左侧伤寒沙门菌诊断血清混匀。

3. 轻轻晃动载玻片,1~2 分钟后,观察结果,出现细小凝集块者即为阳性,均匀混浊者为阴性反应。

(二) 试管凝集反应

1. 试验方法

试 管	1	2	3	4	5	6	7	结果观察
生理盐水(ml)	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	56°C 水浴箱中 2~4h
伤寒诊断血清(ml)	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	弃去 0.5	4°C 冰箱过夜或
血清稀释倍数	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	对照管	37°C 温箱过夜次晨
菌液(ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	观察结果
血清最终稀释倍数	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	对照	

2. 结果观察、解释及效价确定 自冰箱或温箱取出后,切忌振荡试管。先观察生理盐水对照管,管底为圆形、边缘整齐的细菌沉淀物,若轻摇,细菌散开仍呈混浊,之后由第 1 管与对照管对比观察,如有凝集,可见管底有沉淀的凝集块,边缘不整齐,液体出现不同程度的澄清。“H”菌液的凝集呈棉絮状。观察完后,可轻摇见棉絮状凝集物上升。凝集强弱以“+”的多少表示。

++++: 细菌全部凝集,上层液体澄清透明

+++ : 约 75% 的细菌凝集,上层液体轻度混浊

++ : 约 50% 的细菌凝集,上层液体中等混浊,呈半透明

十：约 25% 的细菌凝集，上层液体较混浊

一：不凝集，液体混浊度与对照管相同

以出现明显凝集(++)的血清最高稀释倍数为该血清的凝集效价。

(三) 间接胶乳凝集抑制试验

1. 用吸管取被检孕妇尿 1 滴，加于载玻片左侧，非孕妇尿 1 滴(对照)加于载玻片右侧。

2. 取另一滴管在载玻片左右侧各加抗-绒毛膜促性腺激素(抗-HCG)血清 1 滴，混匀。

3. 加致敏的 HCG 胶乳抗原各 1 滴于左右两侧液滴中，缓慢摇动 3~5 分钟后，置黑色背景下肉眼观察试验结果。呈均匀混浊乳状液的为妊娠试验阳性，出现明显白色细小凝集颗粒的为妊娠试验阴性。

(四) 单向琼脂扩散试验

1. 在含有抗 Ig(如 IgG)抗体或抗各成分补体(如 C₃)抗体的琼脂板小孔(抗原孔)中加入待检血清。

2. 将琼脂板放入湿盒，置 37℃ 温箱，24 小时后观察结果，抗原孔四周出现白色沉淀环者为阳性。测量沉淀环直径，换算出血清中 Ig 或补体成分的含量。

(五) ELISA 双抗体夹心法测早早孕

1. 在各抗-HCG 抗体包被管上编号。

2. 用试管盒上塑料软管向各管底部加 3 滴被测尿样。

3. 向各管底部加 3 滴酶结合物(酶标抗-HCG 抗体,试剂 1 号瓶),轻轻摇动。

4. 室温下(25℃ 左右)反应 2 分钟。

5. 立即向各管底部加 3 滴洗液(试剂 2 号瓶)。

6. 用蒸馏水或去离子水加满各管，反复洗涤 5 次，每次都把管内的水甩干净。

7. 将各管倒立在吸水纸上，用力拍几次，去掉管内残余水分。

8. 向各管底部加 3 滴底物(试剂 3 号瓶)。

9. 立即向各管底部加 3 滴显色剂(试剂 4 号瓶),轻轻摇动。

10. 室温下(25℃ 左右)反应 2 分钟，立即观察结果。蓝色为阳性反应，无色为阴性反应。

四、实验报告

1. 记录并解释玻片凝集反应的结果。

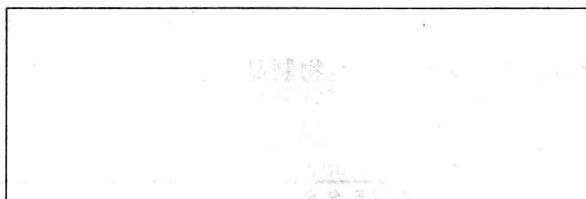
2. 记录试管凝集反应的结果并判定血清凝集效价。

试管号	1	2	3	4	5	6	7	(对照)
血清最后稀释度	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640		
反应结果								
血清凝集效价								

3. 记录并解释间接胶乳凝集试验的结果。

	待检孕妇尿(1 滴)	非孕妇尿(对照,1 滴)
抗-HCG 血清	1 滴	1 滴
	混匀	
致敏 HCG 胶乳抗原	1 滴	1 滴
	缓缓摇动 3~5 分钟	
试验结果		

4. 绘出并解释单向琼脂扩散试验结果。



单向琼脂扩散试验结果

5. 记录并解释 ELISA 双抗体夹心法测早早孕的结果。

实验结果 实验材料	颜色反应	结果判断
阳性尿液(对照)	蓝 色	阳 性
阴性尿液(对照)	无 色	阴 性
待检尿液		

6. 说出上述抗原抗体反应的原理及临床应用范围。

(肖运本)

实验四 常用生物制品观察

一、实验目的

认识常用的生物制品并熟悉其用途。

二、实验内容

常用生物制品的观察(示教)。

三、实验方法

陈列用于疾病预防、治疗和诊断的生物制品。

四、实验报告

填写常用生物制品及用途表。

生物制品种类	生物制品名称	用途
活疫苗		
死疫苗		
联合疫苗		
亚单位疫苗		
新疫苗		
基因工程疫苗		
类毒素		
抗毒素		
抗病毒血清		
丙种球蛋白制剂		
免疫增强剂		
诊断血清		
诊断抗原		

(肖运本)

实验五 显微镜油镜的使用和保护方法

一、实验目的

1. 了解显微镜油镜的成像原理。
2. 学会显微镜油镜的使用与保护方法。

二、实验内容

显微镜油镜的使用与保护(操作)。

三、实验方法

1. 使用油镜时,必须端坐,不要将镜台倾斜,以免镜油流出污染镜台。
2. 以自然光线为光源时,用平面反光镜;以灯光为光源时,用凹面反光镜。
3. 将载玻片标本放在载物台上,用移动器或固定夹固定。先用低倍镜对好光,然后转换油镜头,放大光圈和升高集光器。
4. 在标本上滴1滴香柏油,然后从侧面观察,慢慢将油镜头下降至镜油内,但不要碰到载玻片,以免损伤镜头。
5. 以左眼注视目镜视野内,先用粗调节器缓慢调节至有模糊物像时,然后用细调节器调至物像清晰。观察标本时,两眼宜同时睁开,以减少眼睛疲劳。最好用左眼看镜筒内,右眼配合左眼绘图或记录。
6. 使用完毕,用擦镜纸(切不可用手、布或其他纸类)蘸少许二甲苯将镜头上的镜油擦干净,再用擦镜纸将残存的二甲苯擦干净。
7. 最后,将物镜转成“八”字形,反光镜竖起,下降镜筒和集光器,罩好镜套,放入镜箱内。
8. 使用显微镜要轻拿轻放,平时放置要注意通风干燥,防霉防晒。

四、实验报告

1. 说出使用显微镜油镜时在标本片上滴加香柏油(镜油)的原理。
2. 叙述显微镜油镜使用注意事项。

(杨祖成)

实验六 细菌的形态与结构观察

一、实验目的

1. 初步认识细菌的基本形态和特殊结构。
2. 说出细菌涂片标本的制作、革兰染色法的步骤及细菌的革兰染色性。

二、实验内容

1. 细菌的基本形态和特殊结构观察(示教)。
2. 细菌的动力观察(示教)。
3. 细菌的涂片制作与革兰染色法(操作)。

三、实验方法

(一) 细菌的基本形态和特殊结构观察

1. 细菌基本形态观察

- (1) 球菌：葡萄球菌、链球菌、脑膜炎奈瑟菌。
- (2) 杆菌：伤寒沙门菌、痢疾志贺菌、炭疽芽胞杆菌。
- (3) 弧菌：霍乱弧菌。

2. 特殊结构观察

- (1) 荚膜：肺炎链球菌的荚膜。
- (2) 鞭毛：伤寒沙门菌的鞭毛。
- (3) 芽胞：破伤风芽胞梭菌的芽胞。

(二) 细菌的动力观察

1. 取洁净载玻片 2 张,以无菌操作用接种环取葡萄球菌和大肠埃希菌培养液各 1 环,分别置于 2 张载玻片中央,用小镊子取盖玻片,先使其一边接触菌液后缓缓放下,以免产生气泡。然后将 2 张标本片分别置于显微镜载物台上,光线宜暗,即将光圈缩小,聚光器下降,先用低倍镜寻找,找到标本后再换成高倍镜观察。

2. 结果 有鞭毛的细菌在液体中有活泼的大范围改变位置的运动,为鞭毛运动,无鞭毛的细菌仅有位置不变的分子颤动,为布朗运动。

(三) 细菌的涂片制作与革兰染色法

1. 细菌涂片制作 涂片—干燥—固定。具体操作程序为:将生理盐水各 1 滴滴于载玻片两端,以无菌操作,用接种环分别挑取葡萄球菌和大肠埃希菌菌落少许于载玻片两端的生理盐水中,并研成均匀混浊的菌液(如系液体标本,则不需加生理盐水,可直接涂于载玻片上)置室温中自然干燥,如欲加速干燥,也可将涂膜背面置火焰上方不烤手的高处略加烘烤,但切不可将涂膜烤焦。将载玻片涂膜标本的背面以钟摆速度通过酒精灯火焰温度最高处 3 次,将细菌固定在载玻片上。

2. 染色 将制作好的标本片按下列步骤进行染色:

- (1) 初染:滴加结晶紫染液初染 1 分钟,水洗。
- (2) 媒染:滴加卢戈碘液媒染 1 分钟,水洗。

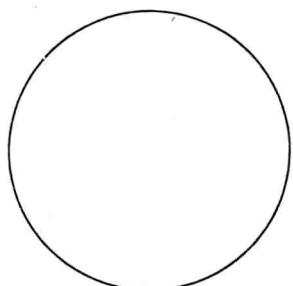
(3) 脱色：滴加 95% 乙醇脱色，摇动标本片至无紫色脱下为止，历时 30~60 秒，水洗。

(4) 复染：滴加稀释复红复染 30 秒，水洗，用滤纸吸干，油镜镜检。

3. 结果 葡萄球菌染成紫色，系革兰阳性菌；大肠埃希菌染成红色，系革兰阴性菌。

四、实验报告

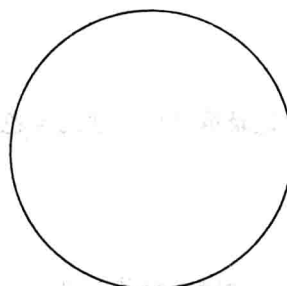
1. 绘出镜下所见细菌基本形态与特殊结构图。



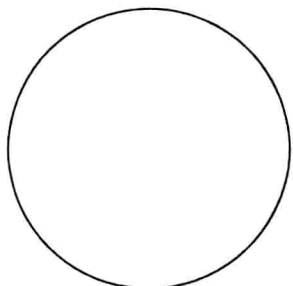
葡萄球菌



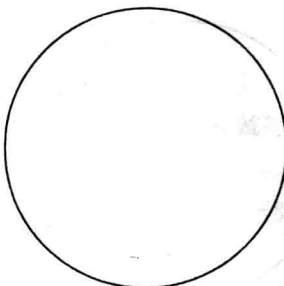
链球菌



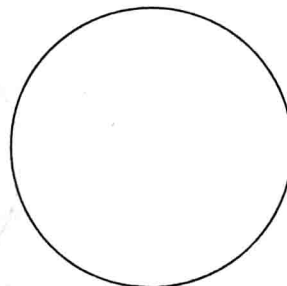
脑膜炎奈瑟菌



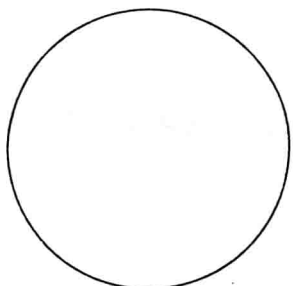
伤寒沙门菌



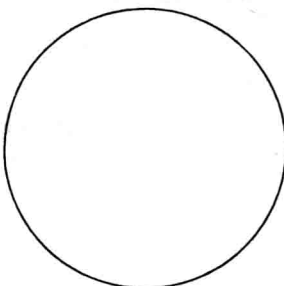
痢疾志贺菌



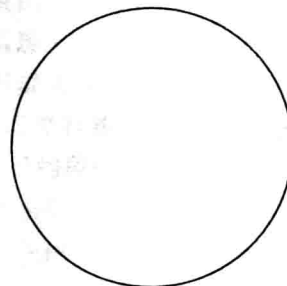
炭疽芽胞杆菌



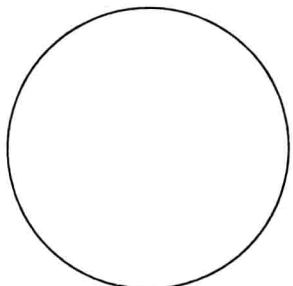
霍乱弧菌



肺炎链球菌的荚膜



伤寒沙门菌的鞭毛



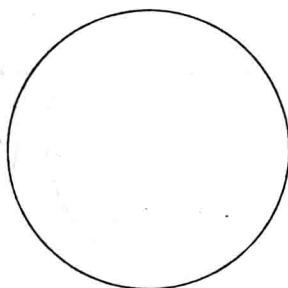
破伤风芽胞梭菌的芽胞

2. 说出鞭毛菌与无鞭毛菌的运动特点。

3. 记录细菌涂片制作的程序(用箭头图表示)。

4. 记录革兰染色法的染色步骤(用箭头图表示)。

5. 用油镜观察革兰染色标本片，并绘图说明染色结果。



革兰染色结果

(杨祖成)

实验七 细菌的培养与代谢产物观察

一、实验目的

1. 说出常用培养基的种类。
2. 观察和初步认识细菌在培养基上的生长现象。
3. 初步学会平板培养基接种技术，通过无菌操作建立无菌观念。
4. 说出细菌代谢产物的临床意义。

二、实验内容

1. 培养基的制备原则和培养基种类介绍(示教)。
2. 细菌接种法(操作)。
3. 细菌的生长现象及代谢产物观察(示教)。

三、实验方法

(一) 培养基的制备原则和培养基种类介绍

1. 制备原则 ①适当的营养成分；②合适的酸碱度；③配制后经灭菌手续使之无菌，方可应用。

2. 制备程序 配料→溶化→测定及矫正 pH 值→滤过→分装→灭菌→备用。

3. 常用培养基的种类

(1) 按物理性状可分：①液体培养基；②固体培养基；③半固体培养基。

(2) 按用途不同可分：①基础培养基：含有细菌需要的基本营养成分，对营养要求不高的细菌均可在此培养基中生长。如肉汤培养基、普通琼脂平板或斜面培养基。②营养培养基：在普通培养基中加入血液、血清等营养物质即成营养培养基，对营养要求较高的细菌可在该培养基上生长。如血琼脂培养基、血清肉汤培养基。③选择培养基：在培养基中加入抑制非目的菌生长的化学物质或药物，有利于目的菌的分离和检出。如 SS 琼脂平板。④鉴别培养基：供细菌进行生化反应试验用，可根据试验结果鉴别细菌。如糖发酵培养基、蛋白胨水培养基。⑤厌氧培养基：培养厌氧菌用。如庖肉培养基。

(二) 细菌接种法

1. 平板培养基接种法 平板培养基主要用于细菌的分离培养。最常用的平板培养基接种法是分区划线法。

(1) 右手以持笔式握接种环，在火焰上烧灼灭菌。

(2) 接种环冷却后，以无菌操作方法沾取葡萄球菌、大肠埃希菌混合液 1 环。

(3) 左手持平板培养基的平皿底，右手将沾取菌液的接种环在平板表面的边缘部分涂抹。烧灼接种环，冷却，自涂抹部分开始，连续在平板表面左右划线，第 1 区划线约占平板表面的 1/4。

(4) 再次烧灼接种环，待冷，将培养基转 80°左右进行第 2 区划线，第 2 区划线与第 1 区划线开始相交 2~3 条，以后可不相交。烧灼接种环后用相同方法进行第 3 区、第 4 区、第 5 区划线。