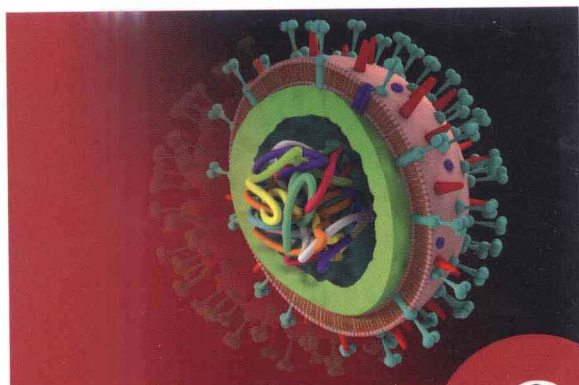




普通高等教育“十一五”国家级规划教材



(第2版)

基础医学实验教程

(细胞生物学、免疫学、遗传学、医学微生物学、人体寄生虫学)

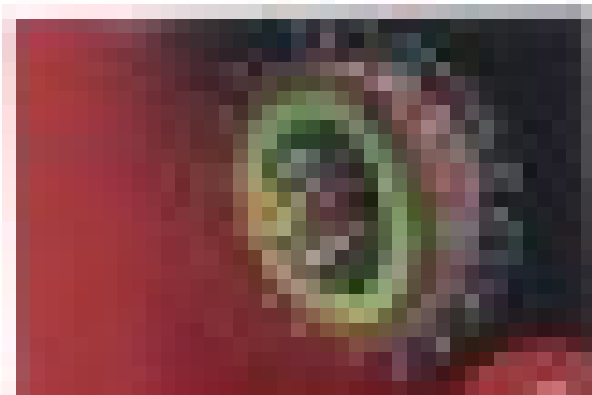
主编 李 凡 刘永茂 肖纯凌



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS



教育部 教育部 教育部



2

基础医学实验教程

主编：王 强

人民卫生出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

第2版

基础医学实验教程

(细胞生物学、免疫学、遗传学、医学微生物学、人体寄生虫学)

Jichu Yixue Shiyan Jiaocheng

主 编 李 凡 刘永茂 肖纯凌

副主编 (按姓氏笔画排序)

丁剑冰 王 丽 李 一 李淑红 郑贤红 赵 佳

编著者 (按姓氏笔画排序)

丁剑冰 马秀敏 王 丽 王 放 王国庆 王轶楠 史红艳

朱玉琢 刘 冰 刘 利 刘永茂 闫东梅 孙延波 李 一

李 凡 李菁华 李淑红 杨 巍 吾拉木·马木提 肖纯凌

郑贤红 赵 佳 赵春燕 贺 丹 袁红艳 夏米西努尔·伊力克

倪朝辉 徐 琦 黄红兰 崔黎明 温得中 赫荣华



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

图书在版编目(CIP)数据

基础医学实验教程 / 李凡, 刘永茂, 肖纯凌主编.
—2 版. —北京: 高等教育出版社, 2011.6
细胞生物学、免疫学、遗传学、医学微生物学、人
体寄生虫学
ISBN 978 - 7 - 04 - 032177 - 7

I. ①基… II. ①李… ②刘… ③肖… III. ①基础
医学 - 实验 - 高等学校 - 教材 IV. ①R3 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 131986 号

策划编辑 席 雁 责任编辑 瞿德竑 封面设计 李卫青
责任校对 殷 然 责任印制 韩 刚

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷 高等教育出版社印刷厂
开 本 850 × 1168 1/16
印 张 23.75
字 数 570 000
插 页 2
购书热线 010 - 58581118

咨询电话 400 - 810 - 0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landracom.com>
<http://www.landracom.com.cn>
版 次 2002 年 9 月第 1 版
2011 年 6 月第 2 版
印 次 2011 年 6 月第 1 次印刷
定 价 39.80 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题, 请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 32177 - 00

前言

《基础医学实验教程》是由细胞生物学、遗传学、免疫学、医学微生物学、人体寄生虫学5个专业的教师联合编写，经高等教育出版社出版发行的一本综合性实验技能教材。本教程的立意是在实验教学体系改革不断深入的形势下，打破专业教研室和实验室的界限，组成综合性基础教学实验中心的前提下创建的。

本教程吸取了国内外有关教材的精华，结合基础医学改革的实际，在保证基本理论、基本技术和基本知识的前提下，充分吸收各学科最新技术和最经典实验，尽可能将各专业实验内容融会贯通，有机结合，建立了一些综合性的系统实验。目的在于启发学生思维和创新意识，并以删除专业间的重复、力求简明实用为宗旨，使其既适合各专业、各层次的学生实验课教学需求，又为研究生和青年教师的科研工作提供一些常用的实验方法。故本教程具有内容丰富和使用面广的特点。

在篇章结构上，力求实验内容的完整性和系统性。本书分为细胞学技术、免疫学检测技术、细菌分析技术、其他原核微生物的微生物学检查、真菌学、病毒学、医学遗传学技术、人体寄生虫学实验诊断技术共8篇。

编写这部综合性实验教程是我们多年教学改革的愿望和新尝试，但由于时间仓促和编写能力有限，书中难免有不妥与疏漏之处，恳请同行指正。

编者
2011年3月

目 录

第1篇 细胞学技术

1.1 显微镜	1	1.2.1.1 光学显微镜下的细胞形态和结构	35
1.1.1 光学显微镜	1	1.2.1.2 细胞器的显微和超微结构	36
1.1.1.1 普通光学显微镜	1	1.2.1.3 细胞中微丝的染色及观察	38
1.1.1.2 显微镜的使用方法	4	1.2.1.4 细胞组分的分级分离	40
1.1.1.3 使用显微镜应注意的事项	6	1.2.1.5 细胞群体中各周期时相百分比的测定	43
1.1.1.4 细胞标本的制备与观察	6	1.2.2 细胞化学分析	44
1.1.1.5 显微镜的保养与维护	6	1.2.2.1 细胞内蛋白质及核酸成分的测定	44
1.1.2 相差显微镜	7	1.2.2.2 细胞内酸性磷酸酶和过氧化物酶的测定	46
1.1.3 暗视野显微镜	11	1.3 细胞的生命活动	49
1.1.4 荧光显微镜	13	1.3.1 观察细胞的生理活动	49
1.1.5 倒置显微镜	15	1.3.2 人类ABO血型的测定	51
1.1.6 体视显微镜	16	1.3.3 细胞的活体染色	52
1.1.7 万能研究用显微镜	16	1.3.4 同种和异种细胞融合	54
1.1.8 电子显微镜	17	1.3.5 动物细胞的原代培养和细胞计数	57
1.1.8.1 电镜的基本原理	17	1.3.6 动物和植物细胞的有丝分裂	60
1.1.8.2 电镜的基本构造	17	1.3.7 动物细胞的减数分裂	62
1.1.8.3 透射电镜的标本制备及观察	18	1.3.8 TUNEL法检测细胞凋亡	64
1.1.8.4 扫描电镜的标本制备及观察	19	1.4 人类雄性配子细胞学分析	66
1.1.8.5 其他电子显微镜	20	1.4.1 精液的一般性状	66
1.1.8.6 电子显微镜的制备技术	21	1.4.2 化学检查	66
1.1.9 显微镜的应用	23	1.4.3 实验室检查	67
1.1.9.1 细胞的显微摄影	23	1.4.4 混合免疫球蛋白试验	
1.1.9.2 血液涂片及显微测量	28		
1.1.9.3 细胞的显微注射	31		
1.1.9.4 放射自显影术	34		
1.2 细胞结构观察和成分分析	35		
1.2.1 细胞的形态结构	35		

(MAR 试验)	68	1.4.4.3 精子冻存实验	69
1.4.4.1 低渗膨胀实验	68	1.4.4.4 精子形态学检测	71
1.4.4.2 精子存活率检测	69	1.4.4.5 精液白细胞检测	71

第2篇 免疫学检测技术

2.1 抗体制备及纯化技术	78	血清中 IgG 含量	96
2.1.1 多克隆抗体的制备	78	2.2.2.3 对流免疫电泳——检测人	
2.1.1.1 动物的选择	78	血清中甲胎蛋白	98
2.1.1.2 免疫原	78	2.2.2.4 火箭电泳	99
2.1.1.3 佐剂	79	2.2.2.5 免疫电泳	100
2.1.1.4 免疫途径	79	2.2.3 免疫沉淀法	101
2.1.1.5 免疫血清效价的测定	80	2.3 补体检测技术	104
2.1.1.6 采血及分离血清	80	2.3.1 补体含量测定——血清总补体	
2.1.1.7 免疫血清的保存	81	含量的测定 (CH_{50})	104
2.1.1.8 兔抗人血清白蛋白多克隆抗体的		2.3.2 补体依赖细胞毒试验	105
制备	81	2.4 细胞因子检测技术	106
2.1.2 单克隆抗体制备	82	2.4.1 白细胞介素 1 的诱生及	
2.1.3 基因工程抗体	85	检测	108
2.1.4 抗体的纯化	85	2.4.2 白细胞介素 2 检测	110
2.1.4.1 硫酸铵盐析法	86	2.4.2.1 依赖细胞株增殖测定法	110
2.1.4.2 DEAE-纤维素层析法	86	2.4.2.2 鼠脾 T 淋巴细胞增殖分析法	111
2.2 抗原抗体检测技术	88	2.4.3 肿瘤坏死因子测定	112
2.2.1 凝集反应	88	2.4.4 干扰素检测	113
2.2.1.1 玻片凝集——ABO 血型鉴定		2.4.4.1 干扰素活性测定	113
(正定型)	88	2.4.4.2 人外周血单个核细胞产生	
2.2.1.2 玻片凝集——ABO 血型鉴定		IFN γ 的 Elispot 检测	115
(反定型)	89	2.4.5 集落刺激因子检测	116
2.2.1.3 试管凝集——血型抗体凝集		2.4.6 趋化因子检测	118
效价测定	90	2.4.7 转化生长因子 β 检测	119
2.2.1.4 间接凝集——抗链球菌溶血素 O		2.4.8 血管内皮细胞生长因子检测	119
抗体的检测	92	2.5 免疫标记技术	120
2.2.1.5 协同凝集	93	2.5.1 免疫荧光技术	120
2.2.2 沉淀反应	94	2.5.2 免疫酶技术	121
2.2.2.1 双向免疫扩散——检测抗卵清		2.5.2.1 直接法 ELISA 检测酶标抗体的	
蛋白抗体	95	效价	123
2.2.2.2 单向免疫扩散——检测人		2.5.3 放射免疫分析	124

2.5.4 免疫印迹技术	125	2.7.2 T淋巴细胞数量及功能检测	138
2.5.4.1 嗜酸性粒细胞白血病细胞 (EoL-1)		2.7.2.1 T淋巴细胞数量检测——E玫瑰	
中 bcl-2 蛋白表达的检测	125	花环试验	138
2.5.5 免疫细胞化学技术	129	2.7.2.2 T淋巴细胞亚群检测——微量	
2.5.5.1 小鼠腹腔巨噬细胞膜分子 CD68		细胞毒法	139
表达的检测	131	2.7.2.3 T淋巴细胞转化试验	140
2.6 免疫细胞分离技术	132	2.7.2.4 小鼠细胞毒T细胞 (CTL)	
2.6.1 单个核细胞分离	132	活性测定	142
2.6.1.1 人外周血单个核细胞分离		2.7.3 B淋巴细胞功能检测	143
——Ficoll 分层离心法	133	2.7.3.1 B细胞膜免疫球蛋白检测	143
2.6.2 淋巴细胞分离	134	2.7.3.2 脾细胞介导的 SRBC 溶血分光	
2.6.2.1 T、B 淋巴细胞的分离——		光度计定量测定法 (QHS)	144
尼龙毛柱法	134	2.7.3.3 B淋巴细胞转化试验	145
2.6.3 巨噬细胞分离	135	2.7.4 巨噬细胞功能检测	145
2.6.3.1 小鼠腹腔巨噬细胞分离	136	2.7.4.1 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红	
2.7 免疫细胞功能检测技术	136	细胞	145
2.7.1 自发增殖活性测定	136	2.7.4.2 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性红	
2.7.1.1 小鼠骨髓细胞自发增殖活性		测定	146
测定	137	2.7.5 NK 细胞功能检测	147
2.7.1.2 小鼠胸腺细胞自发增殖活性		2.7.5.1 抗体依赖细胞介导的细胞毒	
测定	137	试验	147
2.7.1.3 小鼠脾细胞自发增殖活性		2.7.5.2 小鼠 NK 细胞活性测定	148
测定	138	2.7.6 LAK 细胞功能检测	152

第3篇 细菌分析技术

3.1 细菌染色技术	154	3.2.1.2 肉浸汤培养基	
3.1.1 细菌革兰染色法	154	(infusion medium)	158
3.1.2 细菌荚膜染色法 (Hiss 法)	155	3.2.1.3 普通琼脂培养基	
3.1.3 细菌鞭毛染色法	156	(agar medium)	159
3.1.4 细菌芽胞染色法	156	3.2.1.4 半固体琼脂培养基	
3.1.5 抗酸染色法	157	(soft agar medium)	159
3.1.6 奈瑟染色法	157	3.2.1.5 血液琼脂培养基	
3.2 细菌的分离培养	158	(blood agar medium)	159
3.2.1 常用培养基的制备	158	3.2.1.6 SS 琼脂培养基 (Salmonella-	
3.2.1.1 肉膏汤培养基		Shigella medium)	160
(broth medium)	158	3.2.1.7 吕氏血清斜面培养基	

(Loeffler medium)	160	3.8.1.3 噬菌体的鉴定	171
3.3 细菌培养技术和生长现象示教	160	3.8.1.4 噬菌体对细菌的裂解作用	172
3.3.1 平板划线分离培养法	160	3.8.2 细菌质粒的提取、酶切与连接	
3.3.2 纯种细菌移种技术	162	实验	172
3.3.2.1 斜面培养基移种技术	162	3.8.2.1 质粒 DNA 的快速提取	172
3.3.2.2 液体培养基移种技术	163	3.8.2.2 DNA 的限制性酶切	173
3.3.2.3 半固体培养基移种技术	163	3.8.3 DNA 酶切片段的连接	174
3.3.3 细菌在各种培养基上生长现象的		3.8.4 接合试验	175
观察	164	3.8.5 转化试验	175
3.3.3.1 细菌在平板培养基上的生长		3.8.6 鼠伤寒沙门菌营养缺陷型回复	
现象——菌落特征	164	突变试验 (Ame's test)	176
3.3.3.2 细菌在斜面培养基上的生长		3.9 抗生素抑菌试验与细菌耐药试验	178
现象	164	3.9.1 抗生素体外抑菌作用试验	178
3.3.3.3 细菌在肉汤培养基中的生长		3.9.1.1 纸片法	178
现象	164	3.9.1.2 最小抑菌浓度 (MIC) 及最小	
3.3.3.4 细菌在半固体培养基中的生长		杀菌浓度 (MBC) 测定	179
现象	165	3.9.2 抗生素体内抑菌试验	
3.4 细菌基本形态和特殊结构	165	(ED ₅₀ 测定)	180
3.4.1 细菌基本形态的观察	165	3.9.3 细菌或细菌毒素半数致死量	
3.4.2 细菌特殊结构的观察	165	(LD ₅₀) 测定	180
3.5 细菌运动的观察	166	3.10 细菌检测	181
3.6 细菌的变异现象	167	3.10.1 葡萄球菌属	181
3.6.1 H-O 变异	167	3.10.1.1 检验程序	181
3.6.2 L 型变异	167	3.10.1.2 检验方法	182
3.6.3 细菌的耐药性基因突变	168	3.10.2 链球菌属	183
3.6.4 S-R 变异	169	3.10.2.1 化脓性链球菌	183
3.7 人体正常菌群的检测	169	3.10.2.2 肺炎链球菌	185
3.7.1 手指皮肤的细菌检查	169	3.10.3 脓汁中病原菌的分离与鉴定	187
3.7.2 口腔中细菌的检查	170	3.10.3.1 一般检查程序	187
3.7.2.1 牙垢直接涂片镜检	170	3.10.3.2 标本采集和处理	187
3.7.2.2 咽喉部细菌培养	170	3.10.3.3 操作步骤	188
3.8 细菌遗传学试验	171	3.10.4 奈瑟菌属	188
3.8.1 噬菌体的分离及其对细菌的		3.10.4.1 检验程序	188
裂解试验	171	3.10.4.2 检验方法	188
3.8.1.1 噬菌体的分离	171	3.10.5 肠道杆菌	190
3.8.1.2 噬菌体的增殖	171	3.10.5.1 检验程序	191

3.10.5.2 检验方法	191	3.10.10 幽门螺杆菌	213
3.10.5.3 肥达反应	195	3.10.10.1 侵入性检查	213
3.10.6 霍乱弧菌	198	3.10.10.2 非侵入性检查	215
3.10.6.1 检验程序	198	3.10.11 其他细菌	216
3.10.6.2 检验方法	198	3.10.11.1 布鲁斯菌	216
3.10.7 厌氧性细菌	201	3.10.11.2 芽胞杆菌	216
3.10.7.1 标本的采集及运送	201	3.10.11.3 鼠疫耶尔森菌	217
3.10.7.2 厌氧性细菌的分离鉴定 程序	201	3.10.11.4 铜绿假单胞菌	217
3.10.7.3 检验方法	202	3.10.11.5 流感嗜血杆菌	217
3.10.8 棒状杆菌	205	3.10.11.6 军团菌	218
3.10.8.1 棒状杆菌的分离鉴定	205	3.10.11.7 百日咳鲍特菌	218
3.10.8.2 检验方法	206	3.10.12 自动化细菌鉴定系统	218
3.10.9 分枝杆菌属	208	3.10.12.1 利用自动化细菌鉴定系统 进行细菌的系统鉴定	218
3.10.9.1 标本的采集和处理	208	3.10.12.2 利用细菌鉴定仪体外测定 细菌耐药性的试验	219
3.10.9.2 结核分枝杆菌的检验程序	209		
3.10.9.3 检验方法	209		

第4篇 其他原核微生物的微生物学检查

4.1 肺炎支原体	221	查法	224
4.1.1 肺炎支原体“油煎蛋”样 菌落示教	221	4.4.3 钩端螺旋体的分离与鉴定	224
4.1.2 肺炎支原体冷凝集试验	221	4.4.4 钩端螺旋体凝集溶解试验	225
4.2 衣原体	222	4.5 梅毒螺旋体	226
4.2.1 沙眼-包涵体结膜炎包涵体的 检查	222	4.5.1 梅毒螺旋体的形态学检查	226
4.2.2 沙眼衣原体的分离培养	223	4.5.2 梅毒螺旋体动物接种试验	227
4.3 立克次体	223	4.5.3 诊断梅毒的血清学试验	227
4.3.1 立克次体形态及染色性示教	223	4.5.3.1 RPR 试验	227
4.4 螺旋体	224	4.5.3.2 VDRL 玻片沉淀试验	228
4.4.1 钩端螺旋体形态及染色性 示教	224	4.6 回归热螺旋体形态示教	229
4.4.2 钩端螺旋体暗视野显微镜检 查	224	4.7 放线菌	229
		4.7.1 以色列放线菌“硫黄样颗粒” 检查	229

第5篇 真 菌 学

5.1 真菌的形态学	232	5.4 皮肤癣菌感染的临床标本检查	237
5.1.1 真菌的形态结构及主要病原 真菌的形态观察	232	5.5 白假丝酵母	238
5.2 真菌的培养物观察	235	5.5.1 白假丝酵母的形态示教	238
5.3 真菌的分离培养	236	5.5.2 白假丝酵母的分离与鉴定	238
5.3.1 斜面培养(又称大培养)	236	5.6 新型隐球菌	239
5.3.2 玻片培养(又称小培养)	236	5.6.1 新型隐球菌的形态示教	239
5.3.2.1 钢环法	236	5.6.2 新型隐球菌的分离与鉴定	239
5.3.2.2 小琼脂块培养法	237	5.7 曲霉病的检查法	240

第6篇 病 毒 学

6.1 病毒形态电镜照片及包涵体 示教	241	6.6.1 血凝试验	252
6.1.1 病毒的电镜照片示教	241	6.6.2 血凝抑制试验	253
6.1.2 镜检病毒包涵体标本片	241	6.7 HIV感染的微生物学检查	255
6.2 病毒的培养方法	243	6.7.1 HIV的分离与鉴定试验	255
6.2.1 动物实验法	243	6.7.2 HIV抗体的检测试验	255
6.2.1.1 小白鼠脑内接种法	243	6.7.2.1 检测HIV抗体的初筛实验	255
6.2.1.2 小白鼠滴鼻感染法	243	6.7.2.2 检测HIV抗体的验证实验	256
6.2.2 鸡胚培养法	244	6.8 HBsAg检测试验	257
6.2.3 病毒的组织细胞培养法	245	6.8.1 琼脂双向扩散试验	257
6.2.3.1 常用的人胚肾皮质的单层细胞 培养法	245	6.8.2 对流免疫电泳	257
6.3 病毒的定量检测法	246	6.8.3 反向间接血凝试验	257
6.3.1 50%组织细胞感染量试验	247	6.8.4 固相酶联免疫吸附试验	258
6.3.2 蚀斑形成试验	248	6.9 HBV的核酸检测试验	258
6.4 中和试验	248	6.10 HCV抗体的检测试验	259
6.5 肠道病毒的分离与鉴定	250	6.11 HPV基因的克隆及初步鉴定	260
6.5.1 标本采集及处理	250	6.11.1 提取组织DNA	260
6.5.2 分离鉴定程序	251	6.11.2 核酸定量	261
6.5.3 病毒分离	251	6.11.3 PCR扩增	261
6.5.4 病毒鉴定	251	6.11.4 PCR产物回收	261
6.6 流感病毒的血凝及血凝抑制试验	252	6.11.5 连接反应	262
		6.11.6 转化	262
		6.11.7 阳性重组体筛选及初步鉴定	262

第7篇 医学遗传学技术

7.1 细胞遗传学实验技术	264	7.2.1.1 小鼠骨髓细胞姐妹染色单体 互换试验	279
7.1.1 人外周血淋巴细胞培养及 染色体标本制备技术	264	7.2.1.2 人外周血淋巴细胞姐妹染色 单体互换试验	280
7.1.2 人类染色体G显带技术及 染色体G显带标本的制备	266	7.2.2 染色体畸变试验	281
7.1.3 人类染色体C显带技术	267	7.2.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核 试验	284
7.1.4 人类高分辨显带染色体标本的 制备技术	267	7.2.4 人外周血淋巴细胞微核试验	286
7.1.5 实体瘤细胞染色体标本的制备 技术	270	7.2.5 精子畸形试验	287
7.1.6 羊水细胞的培养及其染色体 标本的制备技术	271	7.2.6 非程序DNA合成	289
7.1.7 绒毛细胞的培养及其染色体 标本的制备技术	274	7.3 分子生物学技术	291
7.1.8 X, Y性染色质的检查	276	7.3.1 基因诊断技术	291
7.1.9 X染色体脆性部位显示法	277	7.3.1.1 慢性粒细胞白血病的基因易 位与基因诊断	291
7.2 遗传毒理学实验技术	278	7.3.1.2 聚合酶链反应法体外扩增 DNA片段及检测	304
7.2.1 姐妹染色单体互换试验	278	7.3.1.3 PCR-SSCP诊断法	307

第8篇 人体寄生虫学实验诊断技术

8.1 病原学检查	310	8.1.3 排泄物与分泌物等的检查	321
8.1.1 粪便检查	310	8.1.3.1 痰液	321
8.1.1.1 直接涂片法	310	8.1.3.2 十二指肠液和胆汁	321
8.1.1.2 厚涂片透明法	311	8.1.3.3 尿液	322
8.1.1.3 浓聚法	311	8.1.3.4 鞘膜积液	322
8.1.1.4 尼龙袋集卵法	314	8.1.3.5 阴道分泌物	322
8.1.1.5 毛蚴孵化法	314	8.1.4 其他器官组织检查	322
8.1.1.6 肛门拭子法	315	8.1.4.1 骨髓穿刺	322
8.1.1.7 钩蚴培养法	316	8.1.4.2 淋巴结穿刺	322
8.1.1.8 淘虫检查法	318	8.1.4.3 肌肉活检	323
8.1.1.9 带绦虫孕节检查法	318	8.1.4.4 皮肤及皮下组织活检	323
8.1.2 血液检查	318	8.1.4.5 直肠黏膜组织活检	323
8.1.2.1 检查疟原虫	318	8.1.4.6 肺组织活检	324
8.1.2.2 检查微丝蚴	320	8.1.5 寄生虫的人工培养	324

8.1.5.1	溶组织内阿米巴培养	324	8.3.3	钩虫	344
8.1.5.2	阴道毛滴虫培养	326	8.3.4	丝虫	346
8.1.5.3	蓝氏贾第鞭毛虫培养	326	8.3.5	毛首鞭形线虫(鞭虫)	347
8.1.5.4	隐孢子虫培养	326	8.3.6	旋毛形线虫(旋毛虫)	347
8.1.5.5	利什曼原虫培养	327	8.3.7	猪巨吻棘头虫	348
8.1.5.6	疟原虫培养	327	8.3.8	链状带绦虫(猪肉绦虫、 有钩绦虫、猪带绦虫)	348
8.1.5.7	血吸虫培养	328	8.3.9	肥胖带绦虫(牛带绦虫、 牛肉绦虫、无钩绦虫)	349
8.1.6	寄生虫的动物模型	328	8.3.10	细粒棘球绦虫(包虫)	350
8.1.6.1	溶组织内阿米巴	328	8.3.11	微小膜壳绦虫、曼氏迭宫 绦虫	350
8.1.6.2	杜氏利什曼原虫	328	8.3.12	华支睾吸虫(肝吸虫)	351
8.1.6.3	刚地弓形虫	328	8.3.13	布氏姜片吸虫(姜片虫)	352
8.1.6.4	疟原虫	329	8.3.14	卫氏并殖吸虫(肺吸虫)	353
8.1.6.5	卡氏肺孢子虫	329	8.3.15	日本裂体吸虫(日本 血吸虫)	353
8.1.6.6	旋毛虫	329	8.3.16	引起皮炎的血吸虫尾蚴	355
8.1.6.7	血吸虫	329	8.3.17	溶组织内阿米巴(痢疾 阿米巴)	355
8.1.6.8	华支睾吸虫	329	8.3.18	结肠内阿米巴(结肠 阿米巴)	356
8.1.6.9	卫氏并殖吸虫	329	8.3.19	杜氏利什曼原虫	357
8.1.7	动物接种	329	8.3.20	阴道毛滴虫	357
8.1.7.1	卫氏并殖吸虫的动物接种	329	8.3.21	蓝氏贾第鞭毛虫	358
8.1.7.2	日本血吸虫的动物接种	330	8.3.22	疟原虫	358
8.1.7.3	旋毛虫的动物接种	330	8.3.23	刚地弓形虫	360
8.2	免疫学检查	330	8.3.24	蜚	360
8.2.1	皮内试验	330	8.3.25	螨	361
8.2.2	环卵沉淀试验	331	8.3.26	蚊	362
8.2.3	尾蚴膜反应	332	8.3.27	蝇	363
8.2.4	免疫荧光法	332	8.3.28	白蛉	363
8.2.5	酶标抗原对流免疫电泳	333	8.3.29	蚤	363
8.2.6	间接血凝试验	334	8.3.30	虱	364
8.2.7	酶联免疫吸附试验	335	8.3.31	蜚蠊	364
8.2.8	免疫酶染色试验	337			
8.2.9	酶免疫转印技术	338			
8.2.10	DNA探针技术	339			
8.2.11	聚合酶链反应	340			
8.3	寄生虫的形态学观察	343			
8.3.1	似蚓蛔线虫(蛔虫)	343			
8.3.2	蠕形住肠线虫(蛲虫)	344			

第 1 篇 细胞学技术

1.1 显微镜

显微镜是用来观察、记录和研究经过制片技术处理后被检物体细微结构的最主要的光学精密仪器。它广泛地应用于各学科的领域中，对微观世界的探索及理论的研究起着极其重要的作用。

显微镜的种类繁多，不仅因制造年代和不同国家的产品有不同类型，而且在结构、造型及功能等方面亦各异。一般来说，根据照明光源的性质可分为“光学显微镜”和“非光学显微镜”。光学显微镜是利用人眼可见的可见光或紫外线作为光源的，分为单式显微镜和复式显微镜。其中单式显微镜制造简单，放大率及性能均不高，是由一块或几块透镜组成，如放大镜、平台解剖镜；而复式显微镜则是由多组透镜组合而成，并可根据结构、原理和应用范围的不同分多种类型，如常规普通复式显微镜、专用或多用特种显微镜（荧光和倒置显微镜）及大型多用途的万能显微镜。非光学显微镜不是利用人眼可见的可见光或紫外线作为光源的，而是利用电子束作为光源并且是以“电磁透镜”作透镜的，因而也称电子显微镜。

1.1.1 光学显微镜

光学显微镜（light microscope）简称显微镜或光镜，是利用光线照明使微小物体形成放大影像的仪器。目前使用最广泛的是普通光学显微镜，此外，还有相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜和倒置显微镜等。

1.1.1.1 普通光学显微镜

【实验目的】

了解普通光学显微镜的结构、性能及维护方法，熟练掌握其使用。

【实验准备】

- （1）材料：洋葱、人口腔上皮细胞。
- （2）仪器和器材：普通光学显微镜、载玻片、盖玻片、牙签、吸水纸、眼科镊子、眼科剪子。
- （3）试剂：二甲苯、1%碘液。

【实验原理】

普通光学显微镜的基本工作原理是利用物镜和目镜的多组凸透镜将物像逐级放大并反射到视网膜上的过程。而显微镜性能和质量的高低可通过分辨率、数值孔径、放大率及焦点深度、视场直径等指标来反映。

分辨率（resolving power, R）即显微镜的分辨本领，是指显微镜或人眼在 25 cm 和明视距离（能看清物像的最佳标准距离）处所能清楚分辨被检物体最小间隔的能力。它主要由物镜的

分辨率所决定而与目镜无关。具体公式如下：

$$R = \frac{0.61\lambda}{NA} = \frac{0.61\lambda}{n \cdot \sin\alpha/2}$$

其中 λ 为照明光源的波长，如白光 $\lambda \approx 0.5 \mu\text{m}$ 。 n 为介质的折射率，如空气 $n = 1$ ，玻璃 $n = 1.52$ ，香柏油 $n = 1.51$ ，液状石蜡 $n = 1.46$ 。 α 为镜口角，是指在工作距离处位于物镜光轴上标本中的一个点所发出的光线到物镜的前透镜有效直径两端所形成的夹角。可见，降低波长、增大介质折射率和加大镜口角及增加明暗反差是提高分辨率的有效手段。

数值孔径（numerical aperture, NA）也称镜口率，是直接决定显微镜分辨率的一个重要参数，其公式为： $NA = n \cdot \sin\alpha/2$ ，其中镜口率数值越大，表示分辨率越高。

放大率（magnifying power）即放大倍数，是光镜性能的另一重要参数。它主要有 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$ 和 $100\times$ 四种，其中 $4\times$ 和 $10\times$ 为低倍镜， $40\times$ 为高倍镜， $100\times$ 为油镜。另外，镜头长度随倍数的增加依次增长，而在不同放大倍数的物镜筒上还标有不同颜色的环，以用于区别。

低倍镜、高倍镜以空气为介质，而油镜需以香柏油或液状石蜡为介质，这样就避免了由于油镜镜孔小，而使进入物镜的光线产生折射，从而导致视野暗淡，物像不清现象的发生。一台显微镜的总放大倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积，如目镜为 $10\times$ ，物镜为 $40\times$ ，其放大倍数为 $10 \times 40 = 400$ 倍。常用显微镜的最大放大倍数为1 600倍。物镜和目镜的放大倍数可用下列公式计算：

$$\text{物镜放大倍数} = \frac{\text{镜筒长度 (110 mm)}}{\text{物镜焦距}} \quad \text{目镜放大倍数} = \frac{\text{明视距离 (250 mm)}}{\text{目镜焦距}}$$

焦点深度（focal depth, D）即当显微镜对标本的某一点或平面聚焦时，焦点平面上下影像清晰的距离或范围。一般来说，焦点深度增大可看到被检物体的全层；反之，则只能看到被检物体的一薄层。公式为：

$$D = \frac{k \cdot n}{M \cdot NA}$$

其中， $k = 240 \mu\text{m}$ ， n 为介质折射率， M 为总放大率， NA 为数值孔径。

视场直径（viewing field）也称视场宽度或视场范围，是指在显微镜下看到的圆形视场内所能容纳被检物体的实际范围。视场直径愈大，愈便于观察。

【实验内容】

1. 显微镜的结构 显微镜的主要结构由三部分组成，即机械部分、照明部分和光学部分（图1-1-1）。

（1）机械部分：是显微镜的支架结构，主要包括镜座、镜柱、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台和调节器。

① 镜座（base）：是显微镜的基座，用以支持整个镜体的平稳。常呈马蹄铁形、圆形或方形，有的显微镜在镜座内装有照明光源。

② 镜柱（post）：是镜座向上直立的短柱，常与镜座和镜臂相连，也具有支持作用。

③ 镜臂（arm）：是与镜柱相连的结构，适于手握。有的显微镜（如L1100型）的镜柱和镜臂合起来统称为主体。

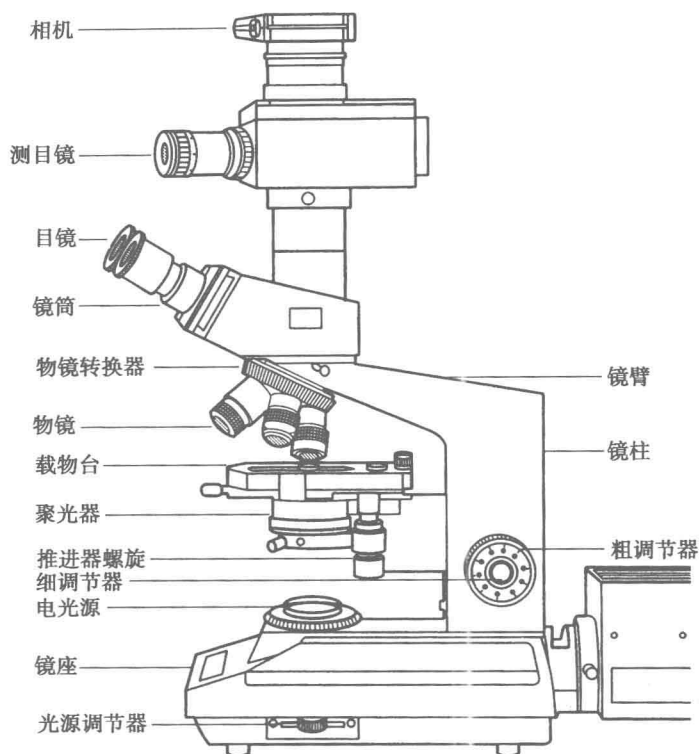


图 1-1-1 普通光学显微镜结构

④ 镜筒 (tube): 是附在镜臂前方的筒状结构, 由金属制成, 其上端装有目镜, 下端装有物镜转换器。目前可根据镜筒数目, 将光镜分为单筒式和双筒式两种。

⑤ 物镜转换器 (revolving nose-piece): 常装在镜筒的下端, 呈圆盘状, 分上、下两片。上片固定在镜筒下端, 其正后方有一固定卡; 下片可自由转动, 并且有 3~4 个螺旋孔, 用以安装不同倍数的物镜。螺旋孔外缘处各有一个缺刻, 当转换物镜时, 下片的缺刻与上片的固定卡相扣合, 此时物镜和镜筒同轴, 便于观察。

⑥ 载物台 (stage): 是位于物镜转换器下方的一个方形平台, 用于放置玻片标本。台面水平并与显微镜的光轴垂直, 在台面的中央有一圆孔称通光孔, 是用来通透光线的。载物台上装有推进器, 其左侧附有镰刀形的弹簧卡, 用来夹持玻片标本; 右侧有两个螺旋, 扭动螺旋可使标本前后左右移动, 利于观察标本。此外推进器上还有标尺, 可用来确定标本在视野的位置。

⑦ 调节器 (focusing adjustment): 是装在主体上的螺旋状结构, 分大、小两个螺旋, 呈套叠状。转动大螺旋 (粗调节器) 可使载物台快速和大幅度升降, 从而将物像迅速收入视野, 通常在低倍镜下寻找物像时使用; 转动小螺旋 (细调节器) 可使载物台缓慢地升降, 不易觉察, 多在高倍镜或油镜下调焦时使用, 以获得清晰图像。

(2) 照明部分: 在载物台的下方装有一套照明装置, 由集光器、滤光器和反光镜或电光源组成。

① 集光器 (condenser): 也称聚光器, 位于载物台的下方, 由聚光镜和光圈组成, 其作用是把光线集中到所要观察的标本上。在其左侧有一调节螺旋, 可使集光器上升或下降, 上升时

可使视野亮度增强,下降时可使视野亮度减弱。

a.聚光镜:由一片或数片透镜组成,其作用相当于一凸透镜,可把光线进一步集中在标本上,以增加标本的亮度。

b.光圈:又称可变光阑或孔径光阑,位于聚光镜的下端,由十几张金属薄片围成,中间有圆孔。光圈的外侧有一小柄,推动小柄可调节光圈孔径的大小,以改变视野的亮度。

② 滤光器(filter):常安装在光圈下方,由滤光片和滤光架构成,其作用是在观察标本和显微摄影时,选择某一波段的光线,而排除不需要的光线。

③ 反光镜(reflection mirror):位于集光器下方,常与镜柱相连,可随意转动,其作用是改变光线的方向和调整光线的强弱。它由两面构成:一面平展,一面凹陷。当光强时,用平面镜;而当光弱时,则用凹面镜。在电光源显微镜中,光线可通过镜座中装有的反射镜或反射棱镜反射到集光器中。

④ 光源(light):显微镜的光源有自然光源和电光源两种。自然光源是由太阳折射所发出的光,而电光源则是由日光灯或白炽灯等所发出的光,其作用是显微镜提供光线。

(3) 光学部分:是显微镜的最重要部分,主要由目镜和物镜构成。

① 目镜(ocular):也称接目镜,位于镜筒的最上端,其上标有放大倍数。一般说来,每台显微镜都配有2~3个目镜,用于观察不同放大倍数的需要。在目镜内常装有一指针,用以标示标本的位置,另外在目镜筒下方还有一挡片是用于安装目镜测微尺的。

② 物镜(objective):又称接物镜,常装在镜筒下端与物镜转换器的螺旋孔相连,一般有3~4个。在镜筒侧面常标有主要性能指标,如放大倍数、镜口率、镜筒长度和所需要盖玻片的厚度。常用显微镜物镜的表示方法如图1-1-2。其中10、40、100表示放大倍数,0.10、0.25、0.65、1.25表示镜口率,160表示镜筒长度,0.17表示盖玻片厚度,单位为毫米。镜筒长度是指从目镜筒上缘到物镜转换器螺旋口下端的距离。另外,工作距离是指在观察标本,并把物像调到最清晰的程度时,物镜下表面与盖玻片之间的距离。物镜的放大倍数越大,其工作距离越小。

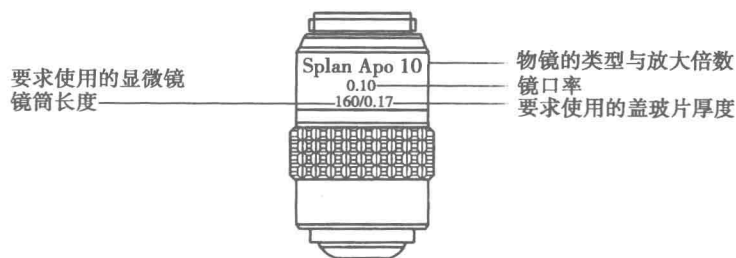


图 1-1-2 普通光学显微镜物镜镜头结构

1.1.1.2 显微镜的使用方法

1.1.1.2.1 低倍镜的使用方法

1. 准备

(1) 右手握镜臂,左手托镜座,将显微镜从镜箱中取出,镜筒朝前放在自己座位前方偏左