

● 主编 裴德翠 郭鄂平



病原生物学

实验教程

高等学校实验教材

人民卫生出版社

高等学校实验教材

(供临床医学、麻醉、影像、药学、护理、检验、口腔等专业用)

病原生物学实验教程

主 编 裴德翠 郭鄂平

副主编 金志雄 张光玉

编 者(以姓氏笔画为序)

王 娅 王少基 王金勇 王淑兰

孙各琴 李 蓓 宋明华 朱明胜

罗冬青 杨 靖 杨树国 金志雄

张光玉 郭鄂平 裴德翠 熊 琛

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

病原生物学实验教程/裴德翠等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2006. 7
ISBN 7-117-07573-2

I. 病... II. 裴... III. 病原微生物—实验—医学
院校—教材 IV. R37-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 040857 号

病原生物学实验教程

主 编: 裴德翠 郭鄂平
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)
地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
邮 编: 100078
网 址: <http://www.pmph.com>
E - mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-67605754 010-65264830
印 刷: 北京汇林印务有限公司
经 销: 新华书店
开 本: 787×1092 1/16 印张: 18 插页: 8
字 数: 418 千字
版 次: 2006 年 7 月第 1 版 2006 年 7 月第 1 版第 1 次印刷
标准书号: ISBN 7-117-07573-2/R·7574
定 价: 35.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394
(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

高等医学院校医学基础课实验教材

编 写 委 员 会

主任委员 杨江林

副主任委员 卢方安 姚俊霞 郭鄂平
曾凡龙 邓成国 裴德翠

委 员 (以姓氏笔画为序)

卫荣华	邓成国	邓维秀	卢方安	阮绪芝
李 斌	朱名安	朱名胜	孙各琴	孙设宗
杜兴贵	陈公财	张光玉	杨 虹	杨江林
金志雄	胡承江	姚俊霞	桑 明	郭鄂平
曾凡龙	彭吉林	雷怀成	熊 琛	裴德翠

总 序

医学教育不仅要让学生系统掌握医学理论知识，更需要关注学生实践技能、科学思维和创新能力的培养。从人才培养体系整体观出发，建立以能力培养为主线，分层次、多模块、相互衔接的实验教学体系，与理论教学既联系又相对独立，实现基础与前沿、经典与现代的有机结合是我们编写本教程的初衷。依照此要求编写的医学基础课实验系列教材，其基本理念是面向学生未来，立足创新能力教育，体现科学本质，突出科学探索，反映当代科学成果。设计思路突出“整合”和“探究”两个特点。力图从实际应用性出发构建具有自身特点的实验教学内容，进而通过实验结果的分析与思辩，期望在医学基础课实验教学体系和方法上有所继承与突破。

本系列教材系统介绍了医学生物学、人体正常与病理组织形态学、生物化学与分子生物学、医学免疫学、病原生物学等学科实验研究所必需的知识与技术。教学层次分为基本实验、提高型实验和研究创新型实验，实验内容与理论教学有机结合，实验方法与实验条件相匹配，内容丰富而翔实，其基本理念和设计思路具有以下特点：

1. 在注重基础性、可操作性的前提下，兼顾现有实验条件，避免过分追求实验设备的“高、精、尖”，用现代的观点进行审视，强调动手能力，突出先进性，使选定的实验内容和技术手段既保留动手机会，又与现代生命科学发展的步伐相一致；

2. 实验内容去旧增新，删繁就简。将原来一些经典实验与现代科学思维相结合，适当压缩，并进行内容和教学方法的改革。对原书的插图进行了精选。对所开设的每一个实验要求达到的培养目的作了清晰而明确的阐述。教材内容选择性强；

3. 层次分明，难易适宜。基本实验以理论验证为主，加深学生对基础理论的正确理解，培养实事求是的科学精神。提高型实验在内容设计上不拘泥于单一学科知识领域，趋向于对学科间融合的探索。研究创新型实验设计力图呈现教材的开放性，增加了扩展（延伸）探究活动，为学生留下更多的问题空间，把扩展和提高的学习任务交由学生自主探究，旨在通过探索让学生更加有效地学习，以培养学生的综合能力和知识迁移能力，学会连续性思维，跳跃性思维，并能自行设计实验；

4. 运用“思考题”加强教材的启发性、开拓性和应用性。实验项目后面的思考题是一个十分广阔的思维空间，可使学生在基本实验中做到既要对每一个实验进行严格要求，强调基本技能的训练，同时又使学生的思想不受其束缚，启发他们的创新精神。

医学基础课实验教程是一套配合人民卫生出版社发行的全国高等学校临床医学专业第六轮规划教材的系列实验教材，主要用于医学本科实验教学。教材非常重视生命科学

研究中如何发挥学生观察、分析与思辩能力的培养，它的主要任务是使大学生通过动手，得到实验技术的基本操作技能训练、科学思维和创新能力的培养，同时也要使他们初步了解或掌握先进技术和方法，与迅速发展的学科前沿接轨。

撰写本套教材的作者均为长期从事医学基础理论及实验教学的教师和实验技术人员，其中不乏有成就的中青年专家、学者，所写部分均为自己熟悉的教学或科研内容，涉及面较广，可供其它院校根据具体条件酌情选用。

由于水平和时间的限制，缺点和错误在所难免，恳请读者和同行专家提出宝贵意见。

杨江林

2006.6

前 言

病原学是基础医学中的一门重要学科，也是一门技术性很强的实验学科，其独树一帜的实验技术在学科发展中占据着突出的位置。而实验课则是锻炼学生观察能力、操作能力、思维能力、运用能力等智力因素的一个重要途径，也是培养学生创新能力和创新精神的一个重要手段。因此实验教学为病原学教学的一个重要组成部分。

为适应学科的发展和实验改革的需要，培养实用性和具有创新精神的人才，近几年来，我们不断地尝试实验改革，并取得了一定的成果。为与此相配套，我们在长期的病原学教学经验积累和自编教材的基础上，根据教学大纲要求，参照国内外出版物及兄弟院校的经验，编写并出版此书。本书在着重基本技能训练的基础上，主要突出了新颖性及注重综合能力和创新能力的培养。首先，我们将一些新技术、新方法尽量介绍给学生，并且增加了一些新病原的检测方法。其次，我们编制了一些综合型和创新型实验，以培养学生应用及科研能力，并且插入了大量的图片，便于更好的掌握常见病原的形态。

本书分为上下两篇，主要包括实验技术、实验项目和病例分析三部分。其中实验技术主要介绍病原学实验常用技术及目前出现的一些新技术。实验项目包括基本实验、提高型实验和研究创新型实验。基本实验主要介绍常见病原的鉴定方法；提高型实验介绍临床常见标本的检测、实验动物模型的建立等，在实际教学中有选择的取舍，主要培养学生的整体思维，逻辑思维和独立学习能力；研究创新型实验突出了自主性，要求学生自己查阅资料、写出实验材料、设计实验方案、独立或在老师帮助下完成实验，最后写出论文并进行答辩。该部分主要培养学生科研及创新能力。病例分析，通过微生物和寄生虫病典型病例介绍和误诊病例的分析，可提高学生思考能力、记忆能力、归纳能力、分析能力和表达能力，并能引导学生将理论与临床实际问题相联系。为适应将来学校多层次的教学需要，教程在内容上比实际教学安排要多，因此、在教学中可根据具体情况选择使用。本书可作为医学院校本、专科学生的实验教材，也可作为检验工作者、微生物与寄生虫学教学及实验人员等的参考书。

本书的出版得到了郧阳医学院领导、教务处及教材科的大力支持与帮助，在此表示衷心的感谢。

本书的编写在许多方面都是新的尝试，限于编者的水平和能力，在内容和安排上肯定有不少欠缺和错误，恳请广大同行和读者批评指正。谢谢！

裴德翠 郭鄂平

2006年6月

目 录

实验目的与要求	1
实验室规则	1
实验内容和方法	2
实验报告	3
实验考核	3

上篇 医学微生物学实验

第一部分 实验技术	7
第一章 微生物学实验室简介	7
第一节 无菌室简介	7
一、无菌室建筑要求	7
二、无菌室内设备和用具	7
三、无菌室的消毒灭菌	8
四、无菌室工作规程	8
五、无菌室空气污染情况的检验	8
第二节 微生物学实验室常用的器皿	9
一、器皿的种类	9
二、玻璃器皿的清洗方法	12
三、玻璃器皿灭菌前的准备	14
四、玻璃仪器使用时的注意事项	16
第三节 微生物学实验室常用仪器	16
一、显微镜	16
二、普通电冰箱	18
三、水浴箱	18
四、恒温培养箱	18
五、高压灭菌器	19
六、血清凝固器	19
七、干热灭菌器(烤箱)	19
八、超净工作台	20
第二章 微生物的形态观察	21
第一节 细菌的形态观察	21

一、显微镜油镜使用法	21
二、细菌不染色标本检查法	23
三、细菌染色标本检查法	24
四、细菌特殊结构染色法	27
五、细菌的基本形态和特殊结构观察	30
六、放线菌的形态结构观察	31
七、细菌大小的测定	32
第二节 真菌的形态观察	34
一、真菌形态结构观察	35
二、常见浅部真菌镜检	35
三、常见深部真菌镜检	37
四、白假丝酵母菌芽管及厚膜孢子形成试验	38
第三节 病毒的形态观察	38
一、观察病毒形态的电镜照片	38
二、观察病毒包涵体形态	39
三、噬菌斑的培养观察	40
第三章 微生物培养技术	41
第一节 细菌的培养	41
一、常用培养基制备	41
二、细菌的分离培养与接种技术	42
三、细菌在不同培养基上生长状态的观察	44
四、平板菌落计数	44
第二节 真菌的培养	45
一、真菌培养基简介	45
二、真菌培养方法	45
三、真菌的菌落观察	46
第三节 病毒的培养	47
一、病毒的动物接种法	47
二、鸡胚培养法	48
三、组织培养法	50
四、细胞病变观察及病毒量测定	51
五、空(蚀)斑形成试验	53
第四章 消毒灭菌技术	54
第一节 物理学消毒灭菌法	54
一、热力灭菌	54
二、过滤除菌	56
三、紫外线杀菌	57
第二节 化学消毒灭菌法	58

一、几种常用消毒剂的抑菌试验	58
二、酚系数的测定	59
三、不同浓度酒精的杀菌试验	60
第五章 抗菌药物敏感性试验	61
一、纸片扩散法	61
二、稀释法	62
三、E 试验	64
四、联合抑菌试验	66
第六章 细菌代谢产物的检测	69
一、单糖发酵实验	69
二、IMViC 试验	69
三、H ₂ S 试验	71
四、尿素酶实验	71
五、内外毒素的检测	72
第七章 细菌血清学诊断技术	74
一、细菌抗血清的制备（以伤寒免疫血清的制备为例）	74
二、沉淀反应（毛细管法）	75
三、凝集反应	76
四、中和试验	79
五、荚膜肿胀试验	79
第八章 动物实验	81
一、实验动物的分类	81
二、实验动物的选择	82
三、实验动物接种法	83
四、动物采血技术	86
第九章 分子生物学实验技术	88
一、微生物 DNA 的提取	88
二、PCR 技术	92
三、核酸杂交技术	94
四、核酸指纹图谱技术	95
五、生物芯片技术	95
六、基因克隆技术	97
第二部分 实验项目	100
第十章 基本实验	100
实验一 化脓性球菌的病原学检测	100
一、常见化脓性球菌的形态染色性观察	100

二、常见化脓性球菌的培养特征观察	101
三、血浆凝固酶试验	101
四、触酶试验	102
五、耐热核酸酶试验	103
六、抗链球菌溶血素“O”试验 (ASO)	103
七、胆汁溶菌试验	104
八、氧化酶试验	105
实验二 肠道杆菌病原学检测	105
一、肠道杆菌的形态染色性观察	106
二、肠道杆菌的培养特征观察	106
三、肠道杆菌的生化反应	106
四、肥达 (Widal) 试验	107
实验三 厌氧性细菌实验	109
一、常见厌氧芽胞梭菌的形态染色性	110
二、厌氧培养法及常见厌氧芽胞梭菌的培养特征	110
三、“汹涌发酵”试验	111
四、卵磷脂酶及奈格尔试验	112
五、脂酶试验	112
六、产气荚膜梭菌动物试验	113
七、破伤风毒素抗毒素中和试验	113
实验四 呼吸道感染细菌实验	114
一、常见呼吸道感染菌株形态染色性观察	114
二、结核分枝杆菌和白喉棒状杆菌培养特征观察	115
三、分枝杆菌菌种鉴定方法	115
四、结核菌素试验	116
五、白喉棒状杆菌 Elek 平板毒力试验	117
六、流感嗜血杆菌卫星试验	117
实验五 其他微生物实验	118
一、其他微生物形态染色性观察	118
二、其他微生物的培养特征观察	119
三、炭疽杆菌串珠实验	119
四、放线菌的硫磺颗粒检查法	120
五、梅毒螺旋体 RPR 试验	120
六、溶脲脲原体脲酶试验	121
七、外斐 (Weil-Felix) 反应	122
实验六 常见病毒检测技术	123
一、流感病毒的血凝与血凝抑制试验	123
二、实时荧光定量 RT-PCR 检测 SARS-Cov 病毒	126
三、ELISA 间接双抗体夹心法检测轮状病毒	127

四、乙型肝炎病毒“两对半”的检测	128
五、胶体金标记抗体一步法检测 HBsAg	131
六、HIV 的实验室诊断	132
第十一章 提高型实验	137
实验一 脓汁标本病原微生物的分离鉴定	137
实验二 痰标本病原微生物的分离鉴定	139
实验三 尿液标本病原微生物的分离鉴定	142
实验四 生殖道标本病原微生物的分离鉴定	144
实验五 粪便标本病原微生物的分离鉴定	146
实验六 血液标本病原微生物的分离鉴定	149
实验七 脑脊液标本病原微生物的分离鉴定	151
实验八 组织标本病原微生物的分离鉴定	152
实验九 细菌耐药质粒的提取与转化	156
实验十 鲜奶中微生物的检测	157
第十二章 研究创新型实验	160
实验一 医院空气中细菌种类的调查及药敏试验	160
实验二 医院氧气湿化瓶污染情况的调查	161
实验三 结核分枝杆菌临床分离株耐药性分析	161
实验四 溶菌酶的杀菌效果探讨	162
第十三章 病例分析	164
病例一	164
病例二	164
病例三	164
病例四	165
病例五	165
病例六	166
病例七	166
病例八	166
病例九	167
附录	168
附录一 实验设计	168
附录二 实验室常见意外事故的处理	169
附录三 常用染色液的配制和染色方法	170
附录四 常用培养基的配制	174
附录五 实验室常用试剂及溶液配制	183
附录六 菌种保藏	186

下篇 人体寄生虫学实验

第十四章 实验室仪器器材的使用和保养	193
一、显微镜的使用和保养	193
二、测微尺的使用	196
三、体视显微镜的使用	197
四、手持放大镜的使用	197
五、其他仪器器材的使用和保养	197
第十五章 基本实验	198
医学蠕虫学	198
第一节 线虫 (<i>Nematode</i>)	198
一、似蚓蛔线虫 (蛔虫) (<i>Ascaris lumbricoides</i>)	198
二、毛首鞭形线虫 (鞭虫) (<i>Trichuris trichiura</i>)	199
三、蠕形住肠线虫 (蛲虫) (<i>Enterobius vermicularis</i>)	200
四、十二指肠钩口线虫 (<i>Ancylostoma duodenale</i>) 和美洲板口线虫 (<i>Necator americanus</i>)	201
五、旋毛形线虫 (旋毛虫) (<i>Trichinella spiralis</i>)	204
六、班氏吴策线虫 (<i>Wuchereria bancrofti</i>) 和马来布鲁线虫 (<i>Brugia malayi</i>) (丝虫)	204
七、其他线虫	206
粪类圆线虫 (<i>Strongyloides stercoralis</i>)	206
美丽筒线虫 (<i>Gongylonema pulchrum</i>)	206
结膜吸吮线虫 (<i>Thelazia callipaeda</i>)	207
颚口线虫 (<i>Gnathostoma</i>)	207
东方毛圆线虫 (<i>Trichostrongylus orientalis</i>)	207
第二节 棘头虫	207
猪巨吻棘头虫	207
第三节 吸虫 (<i>Trematode</i>)	208
一、华支睾吸虫 (肝吸虫) (<i>Clonorchis sinensis</i>)	208
二、布氏姜片吸虫 (姜片虫) (<i>Fasciolopsis buski</i>)	210
三、卫氏并殖吸虫 (<i>Paragonimus westermani</i>) 和斯氏狸殖吸虫 (<i>Pagumogonimus skrjabini</i>)	211
四、日本裂体吸虫 (日本血吸虫) (<i>Schistosoma japonicum</i>)	213
五、其他吸虫	215
肝片形吸虫 (<i>Fasciola hepatica</i>)	215
异形吸虫 (<i>Heterophyia trematodes</i>)	215
棘口科 (<i>Echinostomatidae</i>) 吸虫	216
第四节 绦虫 (<i>cestode</i>)	216

一、链状带绦虫 (猪带绦虫) (*Taenia solium*) 与肥胖带绦虫 (牛带绦虫) (*Taenia saginata*) 216

二、细粒棘球绦虫 (*Echinococcus granulosus*) 218

三、微小膜壳绦虫 (*Hymenolepis nana*) 与缩小膜壳绦虫 (*Hymenolepis diminuta*) ... 219

四、曼氏迭宫绦虫 (*Spirometra mansoni*) 220

五、其他绦虫 221

 多房棘球绦虫 (*Echinococcus multilocularis*) 221

 犬复孔绦虫 (*Dipylidium caninum*) 221

 西里伯瑞列绦虫 (*Raillietina celebensis*) 221

医学原虫学..... 222

 第一节 叶足虫..... 222

 一、溶组织内阿米巴 (*Entamoeba histolytica*) 与结肠内阿米巴 (*Entamoeba coli*) 222

 二、致病性自由生活阿米巴 224

 第二节 鞭毛虫..... 224

 一、蓝氏贾第鞭毛虫 (*Giardia lamblia*) 224

 二、阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*) 225

 三、杜氏利什曼原虫 (*Leishmania donovani*) 226

 第三节 孢子虫..... 227

 一、疟原虫 (*malaria parasite*) 227

 二、机会致病原虫 (*Opportunistic protozoan*) 229

 刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 229

 肺孢子虫 (*Pneumocystis*) 230

 微小隐孢子虫 (*Cryptosporidium parvum*) 230

 第四节 纤毛虫 (结肠小袋纤毛虫) 230

医学节肢动物..... 231

 第一节 昆虫..... 231

 一、蚊 (*Mosquito*) 231

 二、蝇 (*Fly*) 233

 三、虱 (*Louse*) 235

 四、蚤 (*Flea*) 236

 五、臭虫 (*Bed-bugs*) 236

 六、蜚蠊 (*Cockroach*) 237

 第二节 蜱螨..... 238

 一、蜱 (*Ixodidea*) 238

 二、螨 (*Mite*) 239

 疥螨 (*Itch mite*) 239

 蠕形螨 (*Follicle mite*) 239

 尘螨 (*Dust mite*) 240

 粉螨 (*Acaridae*) 240

第十六章 提高型实验	242
一、蛔虫生活史过程的验证	242
二、巴门氏钩蚴分离法	242
三、钩蚴培养法	242
四、旋毛虫病动物模型的建立	243
五、马来丝虫幼虫在中间宿主体的发育	243
六、线虫标本的制作	243
七、肺吸虫囊蚴分离法	244
八、肺吸虫病动物模型的建立	244
九、解剖肺吸虫病试验动物	244
十、肺吸虫病的免疫学诊断	245
十一、肺吸虫流行病学的生物宿主现场调查	245
十二、血吸虫病动物模型的建立	246
十三、快速酶联免疫吸附试验	246
十四、日本血吸虫虫卵沉淀、孵化法	247
十五、肠道寄生虫病原学检查	248
十六、鼠疟模型的建立	249
第十七章 研究创新型实验	250
一、日本血吸虫病兔或鼠解剖及病理变化观察	250
二、肺孢子虫大鼠模型的建立及肺孢子虫卵囊的检查方法	250
第十八章 病例分析	252
线虫	252
病例一	252
病例二	253
病例三	254
病例四	255
病例五	255
吸虫	256
病例六	256
病例七	257
病例八	258
病例九	258
病例十	259
绦虫	259
病例十一	259
原虫	260
病例十二	260
病例十三	261

病例十四	262
病例十五	262
病例十六	263
病例十七	264
病例十八	265
节肢动物	266
病例十九	266
病例二十	266
病例二十一	267

附图

实验目的与要求

病原学实验课是病原学教学的重要组成部分，是培养学生实际操作、思维、科研和创新能力的基礎。

通过实验，加深、巩固对理论内容的理解与记忆；学习、掌握病原学的基本实验方法和操作技术，树立无菌观念；通过综合型和创新型实验设计的讨论和实验结果的分析，培养学生科学的态度、思维方法以及独立分析问题和解决问题的能力。病例分析做到了理论联系实际，为以后的临床工作奠定坚实的基础。

为了提高实验课效果，保证实验课质量，要求学生做到：

1. 每次实习前必须做好预习，明确实验目的、原理、方法及操作中的注意事项等，避免和减少发生错误。
2. 实验过程中必须持严肃认真的态度。对操作的实验要按步骤依次进行操作，并进行积极地思考，对示教内容要仔细观察并与有关理论密切联系。
3. 如实记录，分析结果，得出结论。
4. 独立认真完成实验报告，书写实验报告要字迹清楚，语言简练，表格清晰，画图应力求反映实际标本的原状。
5. 切实遵守实验室规则。

实验室规则

病原学实验的对象大多为病原微生物和寄生虫，具有传染性，为了保证同学们的安全，同时为培养学生严肃态度、严格作风、严密方法的科学工作习惯，保证实验的效果，要求进入实验室后必须严格遵守以下规则：

1. 书包、衣物等挂放于室外，切勿带入室内。必须带人的书籍和文具等也应放置于非操作区，以免污染。
2. 进入实验室应穿好隔离衣、戴好帽子。无菌操作时必须戴好口罩。
3. 实验室要保持肃静和秩序，不得高声谈笑和随处走动。
4. 实验室内禁止饮食和吸烟，不得用嘴舔湿铅笔和标签等。
5. 认真进行各项实验，严格掌握无菌技术。
6. 实验中发生差错或意外事故时，应立即报告教师及时处理。切勿隐瞒或自作主张不按规定处理。如万一发生有病原材料污染桌面、衣物等，应立即用抹布浸沾2%~3%来苏儿（或5%石炭酸液），泡在污染部位，经半小时后方可抹去。如手上沾有活病原也用上述消毒液浸泡10min左右，再用肥皂及自来水反复洗净。
7. 易燃物品（酒精、二甲苯等）不准接近火源。一旦起火，应迅速用沾水的布类和沙土覆盖扑火。
8. 要爱护室内仪器设备，按使用规则操作，不得随意拨动电器开关。显微镜用后要擦净，各功能部件复位，登记使用情况后放入显微镜柜内。要节约使用实验材料，如不慎损坏了器材等，应报告教师进行登记。