

检验专业题解

中级医学检验人员业务考试复习参考资料

中华医学会广西玉林地区分会

检 验 专 业 题 解

中级医学检验人员业务考试复习参考资料

中华医学会广西分会检验学科委员会编

中华医学会广西玉林地区分会

前 言

根据我区医学检验人员的要求，我们组织有关同志按广西壮族自治区卫生局1979年《中级医药卫生人员业务考试复习提纲》，编写了这本复习参考资料，供我区中级医学检验人员复习使用，也适合各级卫生人员参考。由于我们水平有限，时间仓促，错漏难免，请读者批评指正。

中华医学会广西分会检验学科委员会

一九七九年十二月

目 录

基础部分

- 一、什么叫做单染？什么叫做复染？试各举3—4例说明其染色方法原理及用途。… (1)
- 二、了解以下的概念：… (1)
- ①最小致死量 (M.L.D) ②致死限量 (L_+) ③半数致死量 (LD_{50}) ④无毒限量 (L_0) ⑤最大无作用剂量 (M.N.L) ⑥人体每日容许摄入量 (A.D.I) ⑦自身免疫 ⑧絮状沉淀单位 ⑨抗毒素单位 ⑩肥达氏反应 ⑪狄克氏试验 ⑫干扰素 ⑬巴斯德灭菌 ⑭需氧培养 ⑮厌氧培养
- 三、了解以下仪器的使用 and 保养：… (3)
- ①离心机 ②高速离心机 ③显微镜 ④荧光显微镜 ⑤电泳仪 ⑥光电比色计及72型分光光度计 ⑦暗视野 ⑧低温冰箱 ⑨干燥灭菌器 ⑩高压灭菌器 ⑪血清凝固器 ⑫孵卵箱 ⑬隔水式温箱 ⑭高温熔炉 ⑮分析天平
- 四、了解掌握以下生化反应的原理：… (3)
- ①霍乱红反应 ②靛基质反应 ③V—P试验 ④甲基红试验 ⑤枸橼酸盐利用试验 ⑥氧化酶试验 ⑦糖代谢反应 ⑧硫化氢试验 ⑨尿素酶试验
- 五、补体系统在免疫中的作用… (3)
- 六、中和试验的方法和 LD_{50} (或 CP_{50}) 的计算方法… (4)
- 七、凝集反应和沉淀反应的原理和影响因素… (7)
- 八、人体肠道寄生虫 (蛔、蛲、钩、肝吸虫、姜片虫、血吸虫、绦虫等)，虫卵的形态，生活史及检查方法… (8)
- 九、熟识丝虫、疟原虫的生活史，在未梢血液中出现形态特点，检查方法及取材应注意的问题… (11)
- 十、阴道滴虫和白色念珠菌感染取材应注意事项和检查方法… (13)
- 十一、化学的基本定律：… (13)
- ①物质质量不灭定律 ②定比定律 ③倍比定律 ④阿佛加德罗定律 ⑤阿佛加德罗常数 ⑥波以耳及盖吕萨克定律
- 十二、化学的基本结构：… (15)
- ①原子结构：原子的电荷及结构，原子中电子层结构与元素性质的关系。 ②分子结构：化合物与化学键、离子键、共价键的形成，离子化合物和共价化合物在性质上的区别，极性分子和非极性分子的区别 ③络合物的概念

十三、周期表:	(19)
①明了原子结构和周期表的关系 ②各主族元素包括那些元素及其通性 ③付族元素的通性 ④为什么有些付族元素如铁、锰不止一种原子价。	
十四、电解质与非电解质。用电离学说的观点来解释酸碱盐的本质。电解质溶液中的化学反应	(25)
十五、缓冲溶液的缓冲作用及其机制。缓冲液浓度的计算。氢离子浓度与PH的关系	(27)
十六、烷烃、烯烃、炔烃、卤烃的通式,命名,化学性质及其主要的代表化合物性质	(30)
十七、醇、醛、醚、酮、羧酸的通式,命名和主要化学性质及其常见代表化合物的性质	(37)
十八、油脂、碳水化合物、生物硷、蛋白质的组成、分类、化学性质	(49)
十九、芳香族(苯酚、胺)的结构、命名和主要化学性质及其常见化合物	(50)
二十、(一)溶液浓度表示方法和换算: ①百分浓度(W/W、W/V、V/V) ②克分子浓度 ③克当量浓度 ④PPM ⑤PPb的配制,计算方法。	(51)
(二)各种浓度的换算关系	(55)
二十一、分析数据处理:	(57)
①绝对值 ②平均值 ③准确度 ④精密度 ⑤有效数字	
二十二、重量分析:重量分析原理、计算。试用钙、硫酸盐的测定说明之	(61)
二十三、容量法:	(62)
①中和法的原理 ②何谓滴定等当点 ③如何选择指示剂 ④氧化还原的反应原理,用电子学说解释高锰酸钾与草酸,碘与硫代硫酸钠的反应原理 ⑤络合滴定的原理 ⑥用EDTA滴定钙、镁的原理。	
二十四、比色分析:	(64)
①比色分析的原理 ②郎百一比尔定律 ③透光率、消光率、克分子吸光系数和比消光系数 ④代表符号及它们之间的关系	

临 床 检 验

血 液:

一、血液的组成及理化性质	(67)
二、血液的功能	(67)
三、血液的形成、调节及细胞的发育过程	(67)
四、红细胞:	(68)
①正常红细胞的特点 ②异常红细胞的各种形态 ③红细胞沉降率的正常值与异常的临床意义	
五、血红蛋白:	(68)
①正常人血红蛋白的含量及其测定的临床意义 ②血红蛋白的生成与破坏 ③血红蛋白含量的异常变化	

六、白细胞:	(69)
①白细胞计算, 血小板计算及产生误差的原因 ②中性白细胞增多和减少的临床意义 ③淋巴细胞增多和减少的临床意义	
七、骨髓:	(70)
(一) 正常骨髓象	
(二) 病态骨髓象: ①恶性贫血 ②再生障碍性贫血 ③溶血性贫血 ④血小板减少性紫癜 ⑤急慢性粒细胞型白血病 ⑥急慢性淋巴细胞型白血病 ⑦单核细胞型白血病 ⑧传染性单核细胞增多症 ⑨传染性淋巴细胞增多症 ⑩浆细胞白血病	
八、血液凝固:	(73)
①正常的止血机制 ②血液凝固机制 ③常用的诊断出血性疾病的试验	
九、血型与输血:	(74)
①人类血型及血型的鉴定 ②血型鉴定及交叉配合试验可能发生错误的原因	
尿 液:	
一、肾的主要生理功能	(77)
二、尿液的理学检查	(77)
三、尿液的化学检查	(77)
(一) 蛋白质: ①生理性蛋白 ②病理性蛋白	
(二) 糖: ①尿糖定性检验 ②尿糖定量检验	
四、尿沉渣:	(77)
①正常尿沉渣 ②病理尿沉渣 ③管型生成的原因 ④艾狄氏计算的临床意义	
体液检验:	
一、胃液的常规检查	(78)
二、胃液的病理性改变	(78)
三、正常与异常的十二指肠液	(78)
四、脑脊液的正常与异常	(78)
①流行性脑膜炎 ②结核性脑膜炎 ③病毒性脑炎	
五、漏出液与渗出液的鉴别	(79)
六、精子的形态及计算	(80)
寄 生 虫:	
一、人体寄生虫卵的检查诊断: 蛔虫、钩虫、蛲虫、鞭虫、中华分枝睾吸虫、绦虫 (猪、牛) 卵的鉴别要点。	(80)
二、血丝虫检验诊断要点	(80)
三、日本血吸虫检验诊断要点	(81)
四、阿米巴原虫的检验诊断要点	(81)
五、疟原虫检验诊断要点	(81)

六、隐血：..... (82)

①隐血试验的原理 ②容易引起隐血试验假阳性的原因

生物化学及生化检验

- 一、组成蛋白质的基本单位是什么？有何特点？它们是怎样结合成蛋白质的？氨基酸及蛋白质的颜色反应在临床生化检验中有何实际用途。..... (83)
- 二、何谓等电点？纸上电泳分离血清蛋白质的基本原理是什么？..... (83)
- 三、核蛋白是由那些成分组成的？核酸的代谢怎样？血红蛋白是由那些成分组成的？什么是氧合血红蛋白和高铁血红蛋白..... (84)
- 四、酶是什么？酶与辅酶、辅酶与维生素的关系怎样？血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、淀粉酶、硷性磷酸酶、酸性磷酸酶、胆硷酯酶、乳酸脱氢酶、磷酸肌酸激酶、单胺氧化酶等在临床诊断上的意义？在测定中应注意那些问题才能获得准确结果..... (85)
- 五、射香草酚浊度试验、脑磷脂胆固醇絮状试验、高田氏试验的原理是什么？..... (86)
- 六、何谓血糖？机体如何维持血糖浓度的恒定？测定血糖常用那几种方法？基本原理是什么？..... (86)
- 七、何谓耐糖现象？临床上怎样利用耐糖试验来诊断糖尿病..... (87)
- 八、糖的氧化分解主要分为那几个阶段？有何重要生理意义？为什么说三羧酸循环是糖、脂类及蛋白质代谢的总枢纽？..... (87)
- 九、血脂包括那些物质？何谓高脂蛋白血症？血浆脂蛋白分几类？如何根据血浆脂蛋白的分类对高脂蛋白血症进行分型..... (88)
- 十、脂肪酸氧化的基本途径怎样？..... (89)
- 十一、酮体包括那些物质？酮体如何生成和氧化？何谓酮血症？..... (90)
- 十二、蛋白质代谢的最终产物是什么？血液非蛋白氮包括那些物质？尿素如何生成？... (90)
- 十三、说明用消化法测定非蛋白氮的原理..... (90)
- 十四、试述肝脏的代谢功能？肝功能试验的评价及选择？..... (90)
- 十五、试述胆色素代谢的全过程？..... (91)
- 十六、溶血性黄疸、阻塞性黄疸、及肝细胞性黄疸是怎样产生的？临检中如何鉴别这三种黄疸？..... (91)
- 十七、试述钾、钠、钙、氯的检测原理？..... (92)
- 十八、试述钾、钠、钙、氯代谢的特点..... (92)
- 十九、试述酸、硷平衡的调节机制..... (93)
- 二十、何谓代谢性酸中毒？代谢性硷中毒？呼吸性酸中毒和呼吸性硷中毒？..... (93)
- 二十一、酸硷平衡失调的生化检验指标有那些？..... (93)
- 二十二、试述血浆电解质的组成及其浓度的表示方法..... (93)
- 二十三、仪器的使用和校正，万分之一天平的使用和维护，光电比色计的使用和波长的选择..... (93)

二十四、比色分析法的反应条件、比尔定律.....	(96)
二十五、求统计平均值、标准差、标准误.....	(97)

微生物学及微生物检验

一、细菌的基本形态与构造及常用的检查方法，试各举一例说明.....	(99)
二、细菌的繁殖和生长条件。说明进行细菌培养的必需条件.....	(100)
三、根据细菌的生物化学反应，试说明以下培养基的原理：.....	(100)
①糖发酵培养基，如葡萄糖、乳糖 ②双糖培养基 ③中国兰培养基 ④尿素培 培养基 ⑤枸橼酸盐培养基	
四、细菌的代谢产物，如毒素，色素等在微生物检查中的意义.....	(101)
五、外环境如物理、化学、生物对微生物的影响，并说明这些因素在防治工作中有什 么意义.....	(101)
六、革兰氏染色的原理.....	(102)
七、重点说明以下几种常用的血清学检查的原理和方法：.....	(103)
①肥达氏反应 ②甲胎蛋白琼脂扩散法 ③乙型肝炎表面抗原对流免疫电泳检查 法 ④抗链球菌“O”溶血素测定	
八、以下几种致病菌的检查鉴定方法：.....	(105)
①金黄色葡萄球菌 ②脑膜炎双球菌 ③白喉杆菌 ④霍乱弧菌 ⑤沙门氏菌 ⑥痢疾杆菌 ⑦钩端螺旋体	
九、说明以下名词的意义：.....	(106)
①抗原 ②抗体 ③半抗原	
十、说明以下的概念：.....	(107)
①非特异性免疫 ②屏障功能③吞噬细胞和吞噬作用 ④正常体液中的抗微生物 的物质 ⑤特异性免疫 ⑥细胞免疫 ⑦体液免疫	
十一、T细胞，B细胞有何不同之点.....	(108)
十二、五种免疫球蛋白的功能.....	(108)
十三、说明免疫反应的三个阶段：.....	(111)
①感应阶段 ②反应阶段 ③效应阶段	
十四、真菌的一般特性.....	(112)
十五、什么叫病毒？它的一般特性怎样.....	(113)

基 础 部 分

一、什么叫做单染？什么叫做复染？试各举3—4例说明其染色方法原理及用途。

单染：只用一种染料着色，如美兰或复红。一般只能观察细菌的形态与排列，不能显示细菌的结构与染色特性。

复染：即以两种以上的染料着色，可显示细菌的特殊结构及染色特性。例如：

(一) 革兰氏染色法：革兰氏染色的原理尚未明了，可能与以下几方面有关：1、革兰氏阳性菌等电点(PH 2—3)比阴性菌(PH 4—5)为低，在同样的染色环境中，阳性菌体所带的阴电荷较阴性菌多，因之与硷性染料结合力较强。2、媒染剂中的碘进入菌体后与染料结合，生成一种复合物，并和阳性菌体内的核糖核酸镁盐结合，使已着色的细菌不易脱色。3、脱色剂酒精容易透入阴性菌体内，溶解染料和碘的复合物，使细菌脱色。阳性菌结合的染料较多且牢固，且酒精不易透过其细胞壁，故不易脱色。

革兰氏染色法是临床最常用的细菌鉴别染色法，用此法可将所有细菌分为两大类，这样可将被检致病菌的范围缩小，然后再进一步鉴定之。

(二) 抗酸性染色法：可鉴别抗酸性和非抗酸性细菌。抗酸性细菌一般不易着色，但着色后有抵抗酸和乙醇脱色的能力。其原理可能是由于抗酸杆菌含有多量脂类，摄取石炭酸和染料较多。但细菌外壁限制染色液进入，所以须加热促进着色。用脱色剂时，对于非抗酸性细菌，由于染料及石炭酸的复合物在脱色剂中的溶解度较大，故染料及石炭酸离开细胞而脱色。对于抗酸性细菌，染料和石炭酸的复合物在细胞内溶解度比在脱色剂中为大，故仅有轻度溶解。同时细胞壁可能有阻止已溶解的染料和石炭酸迅速扩散于细胞外的作用，所以细菌不脱色。

(唐梅)

二、了解以下概念：

(一) 最小致死量(MLD)：经一定途径能在一定时间内完全杀死一组试验动物的致病性微生物(或毒素)、药物、射线等的最小剂量。

(二) 致死限量(L₊)：最小量的毒素与一单位抗毒素混合后，皮下注入试验动物，能使动物在一定期限内死亡的毒素量。各种毒素的致死限量的测定可能在动物选择上，毒素抗毒素的用量上稍有出入。

(三) 半数致死量(LD₅₀)：半数致死量是指致病微生物(或其毒素)、药物、射线等，以特定的途径接种或照射动物，在一定时间内使50%动物致死的剂量。

(四) 无毒限量(L₀)：测定细菌外毒素的一种单位。以白喉毒素为例：最大量的白喉毒素，与一单位的白喉抗毒素混合后，皮下注入体重250克的豚鼠，不产生毒性反应。所用的这个毒素量称做一个无毒限量。

(五) 最大无作用剂量(M.N.L)：是指细菌之毒素被抗毒素中和或用化学方法处理

后失去原来毒性，将其注入250克体重豚鼠体内，而不致使动物有任何毒性反应的量。

(六) 人体每日容许摄入量 (A.D.I)：即每日极限量。用此剂量时即可达到防治疾病的目的，又不引起毒性反应。

(七) 自身免疫：机体免疫系统对自身抗原和外源抗原具有识别能力，因此，在正常情况下，机体为避免损害自身而不对自身组织成份发生免疫反应，如果机体因为某种原因失去识别其自身组织的能力时，则对自身组织发生免疫反应，此称为自身免疫反应。

(八) 絮状沉淀单位：絮状沉淀单位 (絮状反应单位，絮状反应限量，絮状沉淀限量)，在拉蒙絮状反应中，(简称Lf)，能与相对应的一个单位抗毒素最先起反应的毒索量。以不同量的抗毒素，与一定量的毒素或类毒素在试管中混合，观察最早发生絮状沉淀反应的一管，即可计算絮状反应限量。它可用于测定抗毒素与毒素 (类毒素) 的结合力，当毒素 (类毒素) 和抗毒素中任何一个为已知时，即可测知未知含量。

每毫升毒素 (类毒素) 的Lf含量可按下列公式计算：

$$\text{Lf/毫升 (毒素或类毒素)} = \frac{\text{抗毒素单位/毫升} \times \text{抗毒素毫升数}}{\text{毒素或类毒素毫升数}}$$

(九) 抗毒素单位：表达抗毒素中和能力的单位。白喉抗毒素的单位是此抗毒素与100个最小致死量白喉毒素混合后，皮下注射至250克豚鼠，能保护豚鼠至少4天不死亡的抗毒素量。破伤风抗毒素的单位是此抗毒素与100个最小致死量破伤风毒素混合后，注射至350克重的豚鼠，能保护豚鼠至少96小时不死亡的抗毒素量的约10倍剂量。美国公共卫生署的猩红热抗毒素单位是能中和50个皮肤试验剂量猩红热毒素的抗毒素量。

(十) 肥达氏反应：凝集反应的一种，是用伤寒杆菌的菌体“O”抗原，鞭毛“H”抗原和付伤寒杆菌甲、乙、丙型的鞭毛“H”抗原测定病人血清中相应抗体的定量凝集反应。此试验由Widal氏首先使用，故称肥达氏反应。

(十一) 狄克氏试验：测定人体对猩红热有无免疫力的皮肤试验。方法是将小剂量的链球菌猩红热毒素注射到被试者皮内。6—24小时后，如果注射局部出现红疹，说明被试者体内无相应抗体；若注射局部无反应，则说明被试者体内有相应抗体。

(十二) 干扰素：干扰素是机体抗病毒感染的一种非特异性免疫因素。它是由病毒或其他病原体 (如支原体、立克次氏体、细胞内毒素、霉菌产物、原虫等) 或一些合成的多聚核苷酸等诱导淋巴细胞，白细胞，网状内皮细胞等产生的一种低分子含糖蛋白质，能阻止多种病毒在细胞内增殖。

(十三) 巴斯德灭菌：利用较低的温度 (60~70°C) 及较短之时间 (30分钟) 杀灭病原菌，同时不损害被消毒的物质的灭菌方法，称巴斯德灭菌法，此法常用于奶类的灭菌。

(十四) 需氧培养：指适用于某些需氧菌如硝酸盐阴性杆菌、枯草杆菌、白喉杆菌、霍乱弧菌等细菌的培养方法，培养细菌的试管棉塞或平皿，不用腊封，使空气能够流通，或采用某种方法给氧气。这种有氧气存在的培养细菌的方法称为需氧培养。

(十五) 厌氧培养：将培养基中的氧气除掉，以适宜厌氧菌的生长。除氧的方法有化学法 (如焦性没食子酸法)，物理法 (如培养罐抽气)，生物法 (如庖肉培养基法) 等。

(唐梅、王亚章、胡彬厚)

三、了解以下仪器的使用和保养

1、离心机。2、高速离心机。3、显微镜。4、荧光显微镜。5、电泳仪。6、光电比色计及72型分光光度计。7、暗视野。8、低温冰箱。9、水浴箱。10、干燥灭菌器。11、高压灭菌器。12、血清凝固器。13、孵卵箱。14、隔水式温箱。15、高温熔炉。16、分析天平。

请参考，湖南省黔阳地区卫生学校编《药剂、检验常用仪器》及蔡宏道等编《实用临床检验》第三册有关部分。

四、了解掌握以下生化反应的原理：

(一) 霍乱红反应的原理：某些细菌能还原培养基中的硝酸钾为亚硝酸钾，并分解蛋白胨中的色氨酸产生靛基质，加入硫酸使与亚硝酸钾作用生成亚硝酸，再和靛基质化合，生成红色的亚硝酸靛基质。霍乱与付霍乱弧菌呈阳性反应。

(二) 靛基质反应的原理：某些细菌如大肠杆菌能分解蛋白质的色氨酸而生成靛基质，与对二甲氨基苯甲醛作用，形成玫瑰靛基质而呈红色。如大肠杆菌靛基质反应阳性。

(三) V—P试验原理：某些细菌（如产气杆菌）分解葡萄糖产生丙酮酸使其脱羧变成乙酰甲基甲醇，在硷性环境下被空气氧化为二乙酰，二乙酰与蛋白胨中的精氨酸所含胍基起作用，生成红色的化合物。产气杆菌V—P试验阳性。

(四) 甲基红试验的原理：某些细菌如大肠杆菌等分解糖类后，先产生丙酮酸，丙酮酸再被分解为甲酸、乙酸、乳酸、琥珀酸等。由于产生的酸类较多，使培养基的PH在4.5以下，甲基红指示剂越酸越红PH4.4（红色）~PH6.2（黄色），因此大肠杆菌甲基红试验阳性。而另一些细菌，如产气杆菌分解糖产生丙酮酸后，不再继续分解为其他酸类，而使丙酮酸脱羧变成醇类（中性物质），使培养基的PH在5.4以上，故产气杆菌甲基红试验阴性。

(五) 枸橼酸盐利用试验：细菌在没有牛肉膏、蛋白胨的培养基上，如不能利用枸橼酸钠和磷酸二氢铵作为碳和氮的来源，则不能生长，培养基的PH不变，产气杆菌能利用，则能在此培养基上生长，生成碳酸盐，使培养基变碱，溴麝香草酚兰指示剂呈深蓝色。

(六) 氧化酶试验：细菌如有氧化酶存在，则氧化酶能氧化四甲基对苯二胺或盐酸二甲基对苯二胺，生成红色的醌类化合物。奈瑟氏菌属等氧化酶试验阳性。

(七) 糖代谢反应：糖代谢可分为有氧和无氧两种。在有氧环境中，某些细菌可使某种糖类完全氧化生成 CO_2 和 H_2O 。在厌氧环境下，则不能完全分解（发酵），此时可产生各种酸类、醇类及气体（ CO_2 和 H_2 ）。细菌在含有不同的糖类、醇类或糖类的培养基中，如能分解此类物质而产酸，则指示剂变色，如能同时产生气体，则可于发酵管内或半固体培养基中出现气泡。

(八) 硫化氢试验：某些细菌能分解蛋白胨中含硫氨基酸（如胱氨酸）产生硫化氢，硫化氢遇到培养基中的重金属类如铅盐、铁盐等则形成硫化铅或硫化铁黑色沉淀物。常用于肠道杆菌的鉴别。

(九) 尿素酶试验：某些细菌如变形杆菌具有尿素分解酶，尿素酶能分解尿素产氨，使培养基呈碱性，酚红指示剂呈红色。（党仁裘）

五、补体系统在免疫中的作用。

(一) 溶解或杀伤作用：红细胞、细菌等颗粒性抗原与相应抗体结合后，激活补体系

统,引起一系列链锁反应,最后导致颗粒抗原的溶解或死亡。补体对革兰氏阴性菌的作用较大,尤其是霍乱弧菌,易被溶解。输血中如发生“血型”错误,因血清中存在补体,可引起严重的溶血反应。肿瘤细胞在抗体单独存在时,几乎不受影响,当加入补体后,就能死亡。有人发现C₅能直接作用于白血病细胞,与抗体共同作用而破坏之。

(二)免疫粘附作用:与C₃b结合的细胞或抗原抗体复合物,具有粘附灵长类红细胞或非灵长类动物血小板的能力。例如病毒同相应抗体结合成的复合物,在补体的参与下,就能与红细胞相互粘连,形成较大凝集物,有利于吞噬清除。

(三)中和病毒作用: C₁, C₄有促进抗体对疱疹病毒的中和作用,若将C₁、C₄限制在一定的浓度范围,加入C₂、C₃能增强中和病毒的能力。又C₁、C₄、C₂和C₃共同存在时,可增强特异抗体对脊髓灰质炎病毒的中和作用。

(四)吸引吞噬细胞作用:在补体结合激活过程中释放出的C₃a、C₅a及C₅₆₇三种物质,具有对中性粒细胞和巨噬细胞趋化作用,使它们向病原体部位移行和集中,以进行吞噬;同时亦造成了炎症反应。

(五)过敏毒素作用: C₃a·C₅a能刺激肥大细胞和血小板释放组织胺,因而引起平滑肌收缩,血管通透性增加等过敏反应。此外,补体尚有促进血凝的作用。

(黄居彬)

六、中和试验的方法和LD₅₀(或CP₅₀)的计算方法。

中和试验常用的有二种方法:一种是固定病毒用量(如100TCD₅₀)与等量一系列倍比稀释的血清进行中和试验;另一种是固定血清用量与等量一系列对数稀释(即十倍稀释)的病毒进行中和试验。

(一)固定病毒——稀释血清法(以能致组织培养细胞病变的病毒为例)

1、病毒悬液:选用的病毒悬液必须是对细胞有较稳定的致病力,使用前用Hank's液稀释至100TCD₅₀/0.1ml含量。

2、血清的处理:血清用等量Hank's液稀释,如为人血清则用56°C30分钟灭活,并待冷却后应用。

3、操作步骤:

(1)将已灭活处理的未知血清,用Hank's液作一系列倍比稀释,使其稀释度分别为原血清的1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128……每管含量为0.5毫升。

(2)分别在上述各管内加0.5ml(即与血清等量)的病毒悬液(滴度为100TCD₅₀/0.1ml),充分摇匀混合。

(3)放37°C水浴作用1小时。

(4)取出后接种细胞管,每管0.2毫升,每稀释度接种四管,每细胞管补充维持液至总量为1毫升。

(5)放37°C温箱培养(有的病毒需放33°C或35°C培养),逐日观察细胞病变并纪录结果,一般观察10~14天左右,如遇出现细胞病变较晚的病毒应延长观察日期。

(6)同时将病毒悬液作毒力滴度的对照,即将病毒悬液连续作十倍稀释后,接种细胞管,每管0.1毫升,并加维持液至总量为1毫升,逐日观察病变,纪录结果。

(7)留出同批的细胞管四支作为正常细胞对照,必要时尚需设置正常血清(阴性血清)

和已知有抗体的阳性血清对照组，操作同(1)~(5)，即与未知血清平行作阴性和阳性血清对照试验。

(8)最后根据病变计算50%血清中和终点。

50%血清中和终点的计算：以能保护50%组织培养细胞管不产生病变的血清稀释度作为终点，用Reed及Muench法计算结果，计算步骤见表1。

50%血清中和终点的计算

表1

血清 稀 释 度	细胞病变 管 数 总管数	细胞病变分布		累 计		比数	百分比 (%)
		(+)管	(-)管	(+)↓	(-)↑		
1 : 4 ($10^{-0.6}$)	0 / 4	0	4	0	16	0 / 16	0
1 : 8 ($10^{-0.9}$)	0 / 4	0	4	0	12	0 / 12	0
1 : 16 ($10^{-1.2}$)	0 / 4	0	4	0	8	0 / 8	0
1 : 32 ($10^{-1.5}$)	1 / 4	1	3	1	4	1 / 5	20
1 : 64 ($10^{-1.8}$)	3 / 4	3	1	4	1	4 / 5	80
1 : 128 ($10^{-2.1}$)	4 / 4	4	0	8	0	8 / 8	100

(TCD_{50} 即能致50%组织培养管发生细胞病变的病毒量。)

由上述例子能保护50%的组织培养细胞管不致细胞病变的血清稀释度在1 : 32与1 : 64之间。

具体计算如下：

$$\text{距离比例} = \frac{50\% - \text{低于}50\% \text{的病变率}}{\text{大于}50\% \text{的病变率} - \text{小于}50\% \text{的病变率}} = \frac{50 - 20}{80 - 20} = \frac{30}{60} = 0.5$$

低于50%病变率血清稀释度的对数+距离比例乘稀释系数的对数

$$= -1.5 + 0.5 \times (-0.3) = -1.5 + (-0.15) = -1.65$$

$$-1.65 \text{ 的反对数} = 1/45$$

即1 : 45的血清可保护50%细胞不产生病变。

(二)固定血清用量——稀释病毒法(以致动物死亡的病毒为例)

1、病毒悬液：如用鼠脑组织中繁殖的病毒，以无菌法取脑组织，称重，加稀释液(10%脱脂牛奶液或缓冲液)配成 2×10^{-1} 悬液(即每克鼠脑病毒加4毫升稀释液)充分研磨后，3000转离心20分钟，取用上悬液的病毒。

2、血清处理：用前 56°C 30分钟加温灭活。

3、操作步骤：

(1)用无菌操作将病毒悬液作一系列连续十倍稀释，即将病毒从 2×10^{-1} 的原液稀释成 2×10^{-2} ， 2×10^{-3} ， 2×10^{-4} ……，具体方法是取一排试管，每排8管，于第一排内每管分别加稀释液1.8毫升，将 2×10^{-1} 的病毒悬液，用吸管吸0.2毫升入第一管，另取一无菌的干净吸管将第1管(即 2×10^{-2})的病毒液吸吹三次以上充分混和后，并吸出0.2毫升放入第2管，如此连续稀释。

(2)取若干排试管(根据要检查的血清数安排)，每排4—6管。在第1排各管内加入

0.15毫升的正常阴性血清为对照组。以后每排各管内加入0.15毫升的要检的未知血清，每排一份血清。

(3)各管分别加入等量的步骤(1)连续十倍稀释的病毒悬液，充分摇匀后放37℃作用1小时。稀释度的选择，是最高稀释度要求动物全存活，最低稀释度动物全死亡。

(4)用注射器吸出病毒及血清混合液注射于小鼠脑内，每只鼠注射0.03毫升，每一稀释度注射5只小鼠并饲养于一鼠罐内。

(5)逐日观察动物死亡情况，并作记录。观察持续时间，根据病毒和接种途径而定，如乙脑病毒脑内注射，需观察14天。

(6)最后按Reed和Muench分别计算对照组动物的半数致死量和加免疫血清中和组动物的半数致死量。算法见表—2及表—3。

半数致死量的计算 表 2

病 毒 稀 释 度	接 种 鼠 数	活 鼠	死 鼠	积 累 总 计		死 亡 比	死 亡 率 (%)
				活 鼠 ↓	死 鼠 ↑		
10 ⁻⁴	5	0	5	0	15	15/15	100
10 ⁻⁵	5	0	5	0	10	10/10	100
10 ⁻⁶	5	1	4	1	5	5/6	83
10 ⁻⁷	5	4	1	5	1	1/6	17
10 ⁻⁸	5	5	0	10	0	0/10	0

半数致死量 (LD50) 的计算

距离比例 = $\frac{\text{高于50\%的死亡百分数} - 50}{\text{高于50\%的死亡百分数} - \text{低于50\%的死亡百分数}} = \frac{83 - 50}{83 - 17} = \frac{33}{66} = 0.5$

表3见下页

高于50%死亡的稀释度的对数 (即log10⁶) = 6

举例说明：按Reed和Muench氏法算出10⁻⁶和10⁻⁷的死亡百分数 分别为83% (高于50%) 和17% (低于50%)，根据插表可查出相应格内的数字为50。意即指LD50 = 6 + 0.5 = 6.5。

距离比例 × 稀释系数 (10) 的对数 (即log10¹)，即0.5 × 1 = 0.5

两数之和：6 + 0.5 = 6.5，此即为病毒半数致死量，其意即指原病毒的10^{-6.5}稀释液，可使小白鼠脑内注射0.03毫升后有50%的死亡。

同法计算出：病毒 + 未知血清组的LD50 假设为2.5.....①

病毒 + 正常血清组的LD50 假设为6.5.....②

② - ① = 4.0

中和指数即为10000 (即4.0的反对数)

(LD50指能致50%动物死亡的病毒量。)

按死亡动物数计算LD50的插表

表 3

	高于 50 %	3/4	3/5	4/5	4/6	5/6	4/7	5/7	6/7	5/8	6/8	7/8	5/9	6/9	7/9	8/9	10/10
低于 50 %	%	75	60	80	67	83	57	72	86	62.5	75	87.5	55	67	78	89	100
1/4	25	50	29	55	40	57	22	47	59	32	50	60	17	40	53	61	67
1/5	20	45	25	50	36	52	19	43	54	29	45	55	14	36	48	57	62
2/5	40	71	50	75	63	77	41	70	78	55	71	79	33	63	74	80	83
1/6	17	43	23	47	34	50	17	40	52	27	43	53	13	34	46	53	60
2/6	33	60	37	63	50	66	29	56	68	43	60	69	23	50	62	70	75
1/7	14	41	22	46	32	48	16	38	50	25	41	50	12	32	44	52	58
2/7	29	54	32	60	44	61	25	52	63	36	54	64	19	44	57	65	70
3/7	43	78	60	81	71	83	50	75	84	65	78	82	42	71	80	85	88
1/8	12.5	40	21	44	31	47	16	37	49	24	40	49	11	31	42	51	57
2/8	25	50	29	55	40	57	22	47	59	32	50	60	17	40	53	61	67
3/8	37.5	66	43	71	57	73	35	63	75	48	66	74	28	57	70	75	80
1/9	11	39	20	43	30	45	15	36	48	24	39	49	11	30	42	50	56
2/9	22	47	26	52	38	54	20	44	56	30	47	57	15	38	50	58	64
3/9	33	60	37	63	50	66	29	56	68	43	60	69	23	50	62	70	75
4/9	44	80	63	83	74	84	54	79	86	67	80	86	45	74	82	87	89
0/10	0	33	17	37	25	40	12	30	42	19	33	43	09	25	36	44	50

4、结果的判定：固定血清稀释病毒者当中和指数大于50表示未知血清中有中和抗体，10—49属可疑，若小于10为无中和能力存在。（杨萍）

七、凝集反应和沉淀反应的原理和影响因素。

（一）凝集反应原理：

参加反应的抗原抗体一般都是蛋白质分子，在溶液中是有胶体性质。蛋白质分子在溶液中不会凝集或沉淀，是由于它们有两种稳定因素：

1、蛋白质所含的化学基团中羧基、氨基、肽键等对水有很强的亲和力，故能把水分子吸引到它的周围形成一层水膜，从而阻止蛋白质分子聚集。

2、蛋白质分子表面都带有相同的电荷，故能互相排斥而不聚集。

凝集反应第一阶段：就是抗原决定簇与相应抗体的抗原结合部位，具有相应（互补）的化学基团，故当适量的抗原与抗体结合时对应（或互补）的化学基团相互吸附，亲水基团便不能再和水分子结合，因此抗原抗体结合物即失去了外层水膜即由亲水胶体变为憎水胶体。

凝集反应第二阶段：在电解质（一般用0.85% NaCl）的作用下，带有相反电荷的电子又中和了抗原抗体复合物表面上的大部份电荷，除去了相同电荷的排斥作用，在抗原抗体比例合适时，抗原抗体复合物便互相凝集起来。

（二）沉淀反应原理：

可溶性抗原与对应抗体在电解质存在的条件下发生特异性结合形成复合物，并出现可见

的反应。这种可见的复合物只有在抗原抗体比例适合时才能形成。在试管内表现为沉淀，在琼脂凝胶中表现为沉淀线。沉淀反应在医学上应用较广，如诊断疾病，鉴定菌型以及法医学上血迹鉴定等。在溶液中析出固体物质的过程也叫沉淀反应。

(三) 影响因素:

1、电解质: 血清学反应中需要适量的电解质(一般用生理盐水)，无电解质存在则不出现可见反应。抗原和抗体都是蛋白质，特异性抗原和抗体具有对应的极性基(如羧基、氨基、肽键等)，它们能互相吸附，这些极性基互相吸附后，不能再和水分子结合，因而失去亲水性，变成憎水性；这时易受电解质的中和作用，失去电荷而互相聚集，呈现凝集或沉淀反应。

2、温度: 适当提高温度(通常 37°C)可使抗原与抗体的接触机会增多，而加速反应的出现。

3、酸硷度: 血清学试验时，需要合适的酸硷度，(一般PH为6.0—8.0)。在中性偏硷的情况下，细菌菌体表面带阴电荷，加入酸后，由于菌体氨基酸中的氨基电离，细菌所带的阴电荷减少，当PH达到或接近等电点时，细菌即呈现凝集现象，叫做酸凝集。

4、表面抗原: 具有表面抗原(K抗原、Vi抗原等)的细菌，能阻止菌体O抗原与抗O血清发生凝集，但将细菌煮沸1—2小时，即破坏其表面抗原后，即可与抗O血清出现凝集。

(黄居彬)

八、人体肠道寄生虫(蛔、蛲、钩、肝吸虫、姜片虫、血吸虫、绦虫等)虫卵的形态、生活史及检查方法。

(一) 蛔虫:

1、生活史: 成虫寄生在人的小肠里，以人的半消化食物为营养。雌雄交配后雌虫产卵，卵随粪便排出体外，在荫蔽、潮湿、温暖(25°C 左右)和氧气充足的环境中，约经三周，受精卵发育为含有幼虫的感染性虫卵。此虫卵污染了食物、手指或蔬菜被人误吃，到达小肠，卵内幼虫孵出钻入肠壁的血管和淋巴管，随血流或淋巴液到右心，再到肺，穿过肺毛细血管入肺泡，在肺泡中停留十余日，发育长大，然后沿支气管上行至咽，再被咽下经食道、胃到达小肠，逐渐发育为成虫。自吞入感染性虫卵，到成虫成熟产卵约需8—10周。成虫寿命一般一年左右。

2、蛔虫卵形态: 虫卵分受精卵及未受精卵，受精卵为椭圆形，大小为 $45-75 \times 35-50$ 微米，卵壳厚而无色透明，表面通常有一层粗糙不平的蛋白质膜，因受胆汁染色而呈棕黄色，卵内有一个大而圆的卵细胞，两端与卵壳之间留有新月形的空隙。未受精卵形状不规则，大小 $88-94 \times 39-44$ 微米，一般为长圆形，卵壳和蛋白膜皆较薄，卵内含反光性较强的卵黄颗粒。这两类虫卵的蛋白膜有时均可脱落，此时虫卵卵壳呈无色透明，易与他种虫卵混淆，应注意区别。

3、检查方法: 粪便直接涂片法或饱和盐水漂浮集卵法均可查到虫卵。

(二) 钩虫

1、生活史: 钩虫寄生在人体小肠里，以血液及破碎肠粘膜为食物。雌虫成熟交配后产卵，卵随粪便排出体外，在阴湿的泥土里经1—2天虫卵即发育成幼虫并且孵出。这时幼虫称第一期杆状蚴，在泥土中以有机物为食，发育脱皮成为第二期杆状蚴。5—6天后停止摄食，口腔封闭，再次脱皮发育为具有感染性的丝状蚴。丝状蚴有向湿向温的特性，常活动于土壤的表层，一般可生活2—3周。当人在地里劳动，这时丝状蚴即可附在皮肤上，通过皮肤

较薄嫩的部位或破损处钻入皮肤。丝状蚴入皮肤后，继而侵入血管或淋巴管，随血流到肺，穿过肺泡，沿支气管上行至气管，咽部，然后被咽下经胃到达小肠，逐渐发育为成虫。自丝状蚴钻入皮肤至成虫产卵约需5周。成虫寿命约为1—10年。

2、虫卵形态：虫卵为长圆形，大小为 $56-76 \times 36-40$ 微米，卵壳薄，无色透明。随粪便排出时卵内含有2—4个细胞，大便秘结的人或在较干的粪便中，虫卵多已发育至多细胞桑椹期或含有幼虫。

3、检查方法：直接涂片法、饱和盐水漂浮集卵法，以后者较好。

（三）蛲虫：

1、生活史：

成虫寄生于盲肠附近，用其头部吸附于肠粘膜上，以肠内容物为营养，偶而吸血。雌雄交配后，雄虫很快死去并被排出体外。雌虫子宫内充满虫卵后离开肠壁向大肠下部移动，夜间当宿主熟睡时爬出肛门，在周围皮肤皱褶处产卵。雌虫产卵完毕多数即死去，少数可重新爬入肛门或女性阴道内。虫卵在适宜温度（ $34-36^{\circ}\text{C}$ ）经六小时发育即具有感染性。人若误食虫卵，在胃和十二指肠，卵内幼虫即可孵出。幼虫移行至小肠发育一个时期，脱皮两次，最后到盲肠附近即变为成虫。自吞食虫卵至发育为成虫约需2—4周。雌虫寿命一般为1—2个月。

2、虫卵形态：

蛲虫卵为椭圆形，似柿核状，一侧扁平，一侧稍突。大小为 $50-60 \times 20-30$ 微米，卵壳较厚，无色透明。卵内含有将近发育成熟的幼虫。

3、检查方法：

由于蛲虫产卵方式特殊，在粪便中找到虫卵机会少，（约5%左右），故常在夜间用肛门拭子或在清晨排便前采标本检查成虫或虫卵。

（四）肝吸虫

1、生活史：成虫寄生于人或猫的肝胆管内，所产虫卵随胆汁流入肠腔，然后随粪便排出体外。含卵的粪便被第一中间宿主豆螺、沼螺吞食，卵内毛蚴在螺蛳体内孵出，经过胞蚴和雷蚴两个阶段的无性繁殖，以后产生许多尾蚴。成熟尾蚴离开螺蛳逸出水中，1~2天内如遇到适合的第二中间宿主淡水鱼尾蚴即侵入鱼肉内变成囊蚴。人或猫吃了含有囊蚴的生鱼肉，到十二指肠后，幼虫脱囊而出，钻到总胆管，肝胆管发育为成虫。在人体内寄生的肝吸虫，寿命估计10年以上。

2、虫卵形态：肝吸虫卵为人体常见蠕虫卵中最小者，低倍镜下观察形状似芝麻粒。大小为 29×17 微米，淡棕黄色，卵的前端略窄，有一小盖，小盖周围卵壳增厚，并突起成为肩峰，卵后端钝圆，有一不明显的小突起。卵内含有一发育成熟的毛蚴。

3、检查方法：

（1）粪便水洗沉淀法：因虫卵小，直接涂片不易发现，以水洗沉淀法检出率较高，镜检时要仔细观察，必要时用高倍镜鉴别之。

（2）胆汁或十二指肠液检查：对可疑病人可作十二指肠引流，收集标本检查，因虫卵未与粪便杂物混合，故易查到，通常经离心沉淀取沉渣镜检，准确性较粪便检查高。