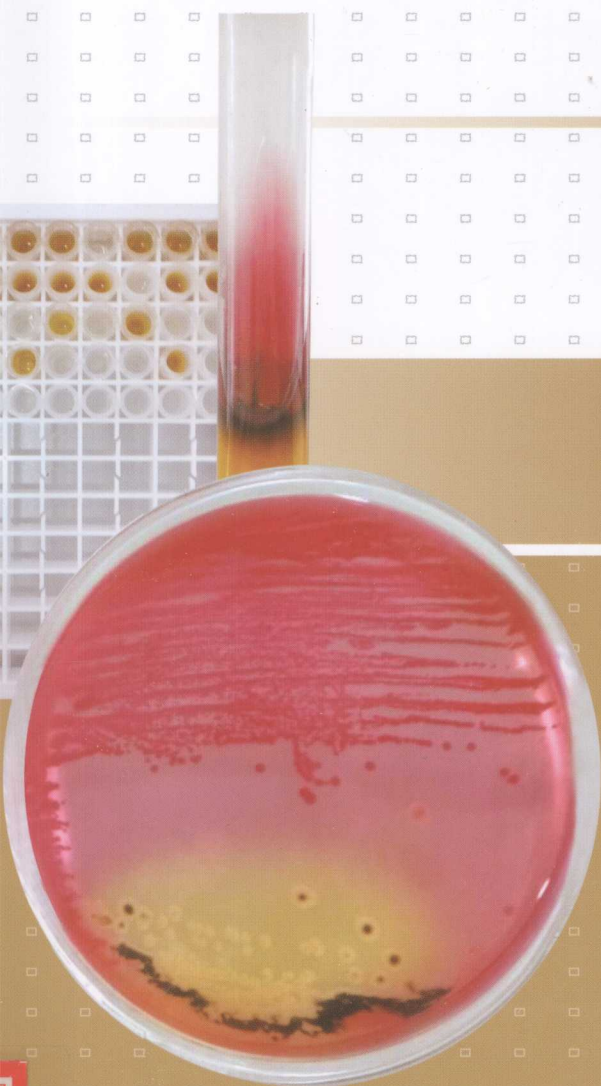


 高等医学院校实验教学特色教材

病原微生物学与 免疫学 实验技术

◎ 主编 胡 桂 刘成侠



中国医药科技出版社

高等医学院校实验教学特色教材

病原微生物学与免疫学 实验技术

主编 胡 桂 刘成侠

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书是适合医学院校实验教学的教材,分为医学免疫学实验技术和医学微生物学实验技术两篇,共十六章。

本书适合临床、护理、口腔、检验、药学、医学实验技术等专业学生的实验教学。

图书在版编目(CIP)数据

病原微生物学与免疫学实验技术 / 胡桂, 刘成侠主编. —北京:

中国医药科技出版社, 2015. 2

高等医学院校实验教学特色教材

ISBN 978-7-5067-7223-5

I. ①病… II. ①胡… ②刘… III. ①病原微生物—实验
②免疫学—实验 IV. ① R37-33 ② R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 020054 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行: 010-62227427 邮购: 010-62236938

网址 www.cmstp.com

规格 787 × 1092mm $1/16$

印张 9 $1/2$

字数 174 千字

版次 2015 年 2 月第 1 版

印次 2015 年 2 月第 1 次印刷

印刷 北京九天众诚印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978-7-5067-7223-5

定价 42.80 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

编委会

主 编 胡 桂 刘成侠

副主编 李 薇 张 慧

崔照琼 马碧书

编 者 王艺静 王晓瑞

白 玥 李 贞

张芸娇 潘本刚

前言

医学实验技术是现代实验室技术和临床实践相结合、发展迅速、多技术和多学科交叉的综合性很强的学科。随着高等教育由精英教育向大众化教育的转变,高校办学规模的不断扩大,办学层次呈现出多元化,医学教育的理念也发生了深刻变化。我们以培养应用型人才为目标,设置适合的课程体系,着力培养学生的创新能力和实践能力,注重从知识传授向能力培养的转变,培养适应社会的应用型人才。

结合医学院校学生自身特点、实验室条件和实验课时分配,根据我们多年来的实验教学经验以及部分借鉴其他院校的先进方法,我们编写了这本适合医学院校实验教学的《病原微生物学与免疫学实验技术》教材。编写本书的目的是要求学生通过实验加深对理论知识的理解,使学生掌握必要的实验原理,了解实验设计的方法、操作技能以及培养其独立分析和解决问题的能力。本书既介绍了凝集反应、沉淀反应、补体参与的血清学反应、中和反应等经典的基础实验内容,也包括了免疫标记技术、固相膜免疫技术、免疫印迹技术、肠杆菌科细菌数字编码鉴定等前沿的临床实验技术。这些实验技术对于同学们更好地理解、掌握病原微生物学与免疫学的理论知识以及更好地与临床实践相联系是不可或缺的。

本书由多年从事实验教学、具有丰富实验教学经验的教师编写,分为医学免疫学实验技术和医学微生物学实验技术两个部分,将相关基础理论与实验内容相结合,突出基本原理的理解以及对基本技能的训练。本教材的特点是直观性、实用性与实操性强,书中的图片均是我们在实验教学过程中实际拍摄(说明:本书照片由白玥老师拍摄)和自行绘制的,适合临床、护理、口腔、检验、药学、医学实验技术等专业学生的实验教学,各专业可根据自身专业的特点选择性使用。

由于时间仓促,编者水平有限,存在疏漏之处,敬请大家批评指正。

昆明医科大学海源学院 胡 桂

2014年6月

目录

病原实验室生物安全管理制度 / 1

普通光学显微镜的结构和使用方法 / 3

第一篇 医学免疫学实验技术

第一章 凝集反应 / 9

基础知识·····	9
实验·····	12
实验一 试管凝集试验——测定抗体效价·····	12
实验二 玻片凝集试验——鉴定细菌·····	14
实验三 抗链球菌溶血毒素“O”乳胶凝集试验·····	15

第二章 沉淀反应 / 17

基础知识·····	17
实验·····	25
实验四 环状沉淀试验·····	25
实验五 免疫浊度试验（透射比浊法）·····	26
实验六 单向琼脂扩散试验·····	28

第三章 补体参与的血清学反应与中和反应 / 31

基础知识·····	31
实验·····	34

实验七 补体溶血试验	35
实验八 血清总补体活性 (CH ₅₀) 测定	36

第四章 细胞免疫功能测定 / 38

基础知识	38
实验	40
实验九 外周血单个核细胞 (PBMC) 分离技术	40
实验十 E 玫瑰花环形成试验	42
实验十一 淋巴细胞转化试验 (形态学法)	44

第五章 固有免疫功能测定 / 46

基础知识	46
实验	47
实验十二 外周血中性粒细胞吞噬功能试验 (小吞噬试验)	48
实验十三 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能试验 (大吞噬试验)	49
实验十四 小鼠血脑屏障功能测定	50

第六章 酶免疫技术 / 52

基础知识	52
实验	55
实验十五 酶联免疫吸附试验	55

第七章 固相膜免疫测定技术 / 59

基础知识	59
实验	61
实验十六 胶体金免疫层析法检测乙肝表面抗原	62
实验十七 胶体金免疫层析法检测 HCG	64
实验十八 滴金免疫测定法检测结核分枝杆菌抗体	65

第八章 免疫印迹技术 / 68

基础知识	68
实验	69
实验十九 抗 ENA 抗体检测 (免疫印迹法)	69

第二篇 医学微生物学实验技术

第九章 物理消毒灭菌法 / 75

基础知识·····	75
实验·····	78
实验二十 实验室常用消毒灭菌设备 ·····	78

第十章 培养基制备 / 83

基础知识·····	83
实验·····	85
实验二十一 培养基制备 ·····	86

第十一章 细菌的分离培养及接种技术 / 88

基础知识·····	88
实验·····	94
实验二十二 细菌的分离培养及接种技术 ·····	95
实验二十三 细菌生长性状观察 ·····	97

第十二章 细菌形态学检查 / 99

基础知识·····	99
实验·····	104
实验二十四 细菌不染色标本检查 ·····	105
实验二十五 细菌的革兰染色 ·····	106
实验二十六 结核分枝杆菌的抗酸染色 ·····	108
实验二十七 细菌的基本形态观察 ·····	110
实验二十八 细菌的特殊结构观察 ·····	110

第十三章 病原性球菌的检查及鉴定 / 111

基础知识·····	111
实验·····	112
实验二十九 血浆凝固酶试验（结合凝固酶测定） ·····	113

实验三十 抗菌药物敏感性试验（纸片扩散法）	113
实验三十一 触酶试验	115

第十四章 细菌的生化反应与肠杆菌科细菌数字编码鉴定 / 117

基础知识	117
实验	118
实验三十二 几种肠杆菌科细菌的鉴别试验	119
实验三十三 肠杆菌科细菌选择鉴别培养基	123
实验三十四 肠杆菌科细菌数字编码鉴定	125

第十五章 其他微生物形态观察 / 127

基础知识	127
实验	127
实验三十五 病原性螺旋体	129
实验三十六 立克次体检查	131
实验三十七 病原性真菌	133

第十六章 流感病毒的实验室检查 / 136

基础知识	136
实验	139
实验三十八 流感病毒血凝试验	140
实验三十九 流感病毒血凝抑制试验	141

病原实验室生物安全管理制度

国家根据病原微生物的传染性、感染后对个体或者群体的危害程度，将病原微生物分为四类：

第一类病原微生物，是指能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物，以及我国尚未发现或者已经宣布消灭及重新复燃的微生物。

第二类病原微生物，是指能够引起人类或者动物严重疾病，比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物。

第三类病原微生物，是指能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，并且具备有效治疗和预防措施的微生物。

第四类病原微生物，是指在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物。

第一类、第二类病原微生物统称为高致病性病原微生物。

为了加强病原实验室生物安全管理，保护实验室工作人员和公众的健康，制定本实验室的生物安全管理制度。

- (一) 学生进入实验室必须穿戴工作服，没有穿戴工作服不得进入实验室。
- (二) 实验室内严禁吃、喝任何食物、饮料。
- (三) 与实验无关的物品不得带入实验室，实验室内不得喧哗。

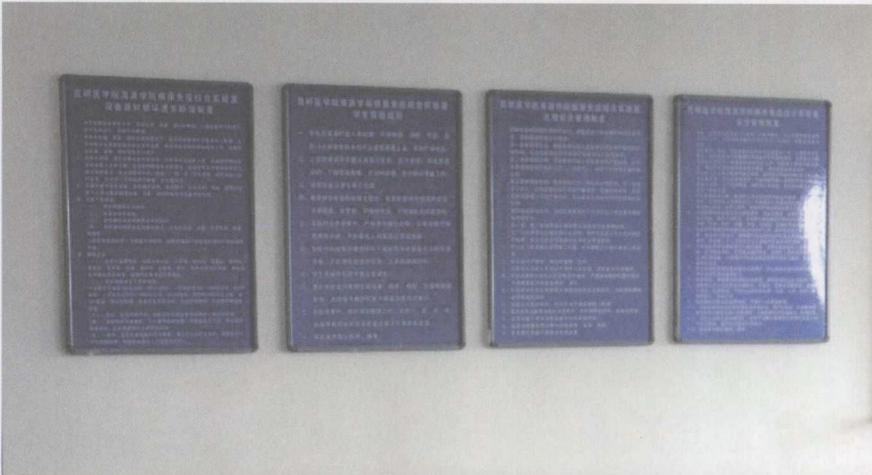


图 1 实验室各类管理制度

(四) 实验课期间必须听从任课教师的指导，严格按照教师的要求操作，不得随意乱动实验室物品、器材。

(五) 如实验课中发生病原微生物器皿破损或皮肤划伤，立即报告带教老师做相应处理。

(六) 实验完毕后的标本、材料交由任课老师统一管理。

(七) 实验完毕必须用消毒水浸泡双手，然后用肥皂洗手、自来水冲净。

(八) 实验完毕后实验菌种、标本、实验材料等各实验室按数量收回。出实验室不得带出实验室的任何实验材料。

(九) 实验结束后标本、物品等实验材料必须放于指定的消毒容器内，统一灭菌后洗涤、处理，不得随意丢弃。

(十) 实验课结束后用消毒水处理桌面、台面、地面。

(十一) 实验用工作服不得穿出本实验室。

普通光学显微镜的结构和使用方法

一、光学显微镜原理

光学显微镜（light microscope）简称光镜，是利用光学照明使微小物体形成放大影像的仪器。目前使用的光镜种类繁多，外形和结构差异较大，有些类型的光镜有其特殊的用途，如暗视野显微镜、荧光显微镜、相差显微镜、倒置显微镜等，但其基本构造和工作原理是相似的。一台普通光学显微镜主要由机械系统、照明系统和光学系统三部分构成。

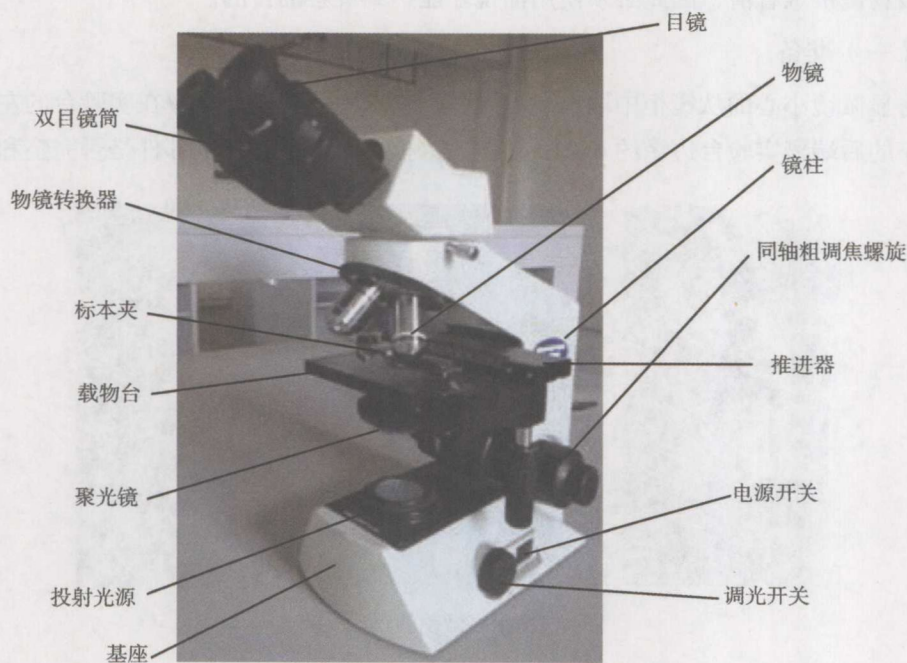


图 2 生物显微镜

二、用途

光学显微镜是生物科学和医学研究领域常用的仪器，它在细胞生物学、组织学、病理学、微生物学及其他有关学科的教学研究工作中有着极为广泛的用途，是研究人

体及其他生物机体组织和细胞结构强有力的工具。

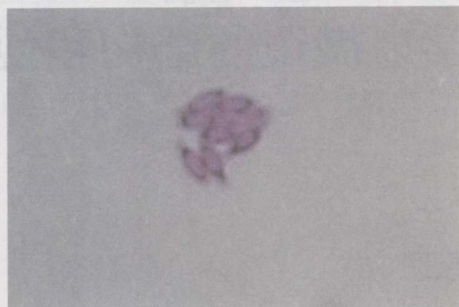


图3 芽胞镜下图 ($\times 1000$)

三、光学显微镜的使用方法

普通光学显微镜的接目镜有低倍镜、高倍镜和油镜三种,因细胞、细菌体积微小,用一般物镜很难看清,因此必须使用油镜才能达到观察的目的。

(一) 准备

将显微镜小心的从镜柜中取出(右手握镜臂,左手托镜座),放置在实验台的左上方,以镜座的后端离实验台边缘约 $6 \sim 10\text{cm}$ 为宜。检查显微镜的各个部件是否完整和正常。



图4 使用显微镜的正确姿势

(二) 低倍镜的使用方法

1. 对光 打开显微镜上的电源开关→转动粗调焦螺旋,使镜筒略升高→调节物镜转换器,将低倍镜转到工作位置(即对准通光孔)→打开光圈,升高聚光器→两眼同时睁开,注视目镜,调节亮度旋钮,使视野内的光线均匀、亮度适中。

2. 放置标本 将玻片标本放置到载物台上,并用玻片夹固定好(注:有盖玻片或有标本的一面朝上)→转动推片器的螺旋,使需要观察的标本部位对准通光孔的中央。

3. 调节焦距 双眼侧面注视低倍镜，转动粗调焦螺旋，使镜筒下降，直至低倍镜头与玻片标本的距离小于 0.6cm → 双眼注视目镜，同时缓慢旋转粗调焦螺旋使镜筒上升直至视野中出现物像为止转动细调焦螺旋，使物像变清晰。

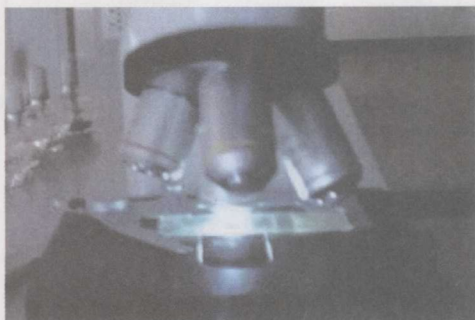


图 5 调节焦距

(三) 高倍镜的使用方法

1. 低倍镜找到物像后，将其移至视野中央。
2. 调节物镜转换器，将高倍镜转到工作位置（即对准通光孔），光圈开到最大，聚光器升到最高。

3. 两眼注视目镜，调节细调焦螺旋，使被观察物像最清晰。

(四) 油镜的使用方法

1. 油镜的标志 ①油镜头下有一白色线圈（图 6）；②有“oil”字样；③油镜头长度大于高倍镜和低倍镜；④有放大倍数 100 或 95 的标记。

2. 油镜的原理 用油镜观察标本，是在高倍镜的基础上，采用同玻璃折光率相似的油状物（如香柏油、液体石蜡等）滴加在标本和油镜头之间，以避免光线折射，从而增加进入透镜的光线，提高显微镜的亮度和分辨能力，使物像更加清晰。

3. 操作步骤

- （1）高倍镜找到物像后，将其移至视野中央。

- （2）调节物镜转换器，将高倍镜转开，在需观察部位的玻片标本上滴加 1~2 滴香柏。

- （3）调节物镜转换器，将高倍镜转到工作位置（即对准通光孔），光圈开到最大，聚光器升到最高。

- （4）两眼注视目镜，调节细调焦螺旋，使被观察物像最清晰。

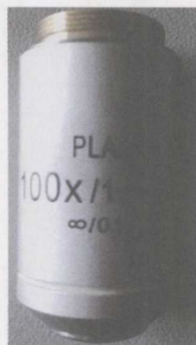


图 6 油镜头

4. 油镜头的清洁保护 油镜观察完后，调节粗调焦器使载物台下降，转动物镜转换器将油镜头转向外侧，用擦镜纸滴加少许擦镜液将镜头擦拭干净，并立即用另一擦镜纸拭去擦镜液。标本上的镜油，须将擦镜纸敷放在载玻片上，在其上滴加 1~2 滴擦镜液，小心拖拉镜纸至无油迹。显微镜用毕，将物镜头转成“八”字形，下降聚光器和载物台，双手平持显微镜放入镜箱，避免日光直射，置于干燥处以防受潮。

（李 薇）

第一篇

医学免疫学实验技术



