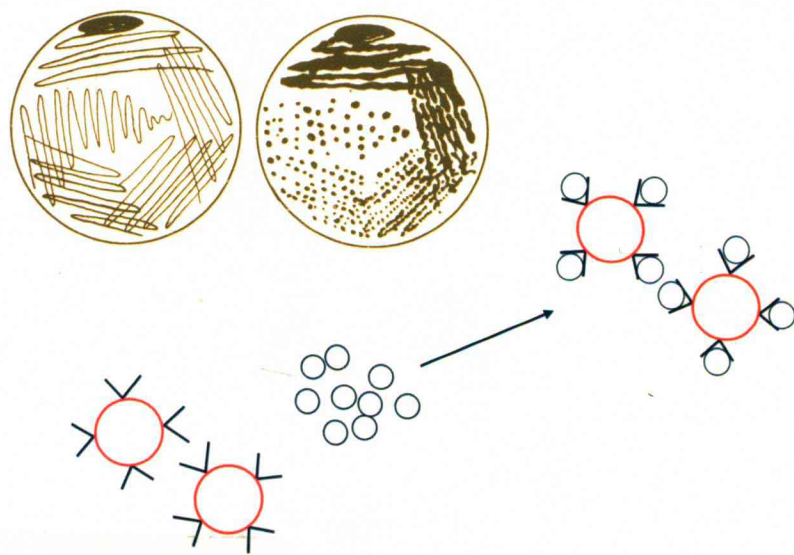


医学免疫学 与微生物学实验教程

主编 白 丽 申元英



医学免疫学与微生物学 实验教程

Yixue Mianyixue yu Weishengwuxue
Shiyan Jiaocheng

主 编 白 丽 申元英

副主编 吴利先 张 雷 潘云华 王国富 郭利军

主 审 钱金枬 段利华

编 委 (以姓氏汉语拼音为序)

白 丽 郭利军 刘 奇 孟 余 潘云华

申元英 王 聪 王 涛 王国富 吴利先

武有聪 杨国平 张 雷



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

内容简介

本书是对临床医学、预防医学、医学检验、卫生检验、药学及药剂学等本科专业实验教学的长期积淀和总结。主要介绍医学免疫学与微生物学各主要实验的原理、材料、方法、结果观察等内容,结构清晰,文字精练,图文并茂,紧密结合临床实际应用,注重实验指导的可操作性,有助于学生掌握实验基本理论、基本知识和基本技能。

本书主要适用于高等医药院校本科各专业学生,也可作为教师和医务人员参考书。

图书在版编目(CIP)数据

医学免疫学与微生物学实验教程 / 白丽, 申元英主编. — 北京: 高等教育出版社, 2013. 1
ISBN 978 - 7 - 04 - 036899 - 4

I. ①医… II. ①白…②申… III. ①医学—免疫学—实验—医学院校—教材②病原微生物—微生物学—实验—医学院校—教材 IV. ①R392 - 33②R37 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 011632 号

策划编辑 席 雁 孙葵葵
封面设计 张 楠

责任编辑 孙葵葵
责任印制 张泽业

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 中国农业出版社印刷厂
开 本 787mm × 1092mm 1/16
印 张 10
字 数 230 千字
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.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版 次 2013 年 1 月第 1 版
印 次 2013 年 1 月第 1 次印刷
定 价 21.00 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 36899 - 00

序

我国的高等教育从 20 世纪末进入大众化教育阶段以来，医学教育也进入了快速发展时期，大学的分类、分层也更加明显。各种层次的高等医学院校教育理念、培养目标、生源素质不尽相同，教材也应百花齐放，彰显学校特色。

“医学免疫学与微生物学”是医学类专业的重要基础课程之一，该学科进展快速。20 世纪以来，特别是最近一二十年以来，随着生物科学和医学科学的飞速发展，以及各种现代技术的广泛应用，医学免疫学与微生物学也取得了重大进展，使人们对诸多疾病机制的认识提高到了一个更高的水平。将现代医学研究的最新成果应用于教学，培养具有前沿领域视野的医学生，是每一位高等医药院校教师要思考和实践的问题。

大理学院的医学教育十分重视学生的实践能力。教师们根据教学的实际需要，在总结国内外医学教材编写先进经验的基础上，不断推出自己有地域特色的医学教材。由白丽和申元英教授主编的《医学免疫学与微生物学实验教程》一书，正是为适应现代医学教育形势而编写的。

本书以全国高等医药院校规划教材《医学免疫学》及《医学微生物学》为理论基础，以提高学生实际应用能力为目标编写而成，着重介绍医学免疫学和微生物学各主要实验的原理、材料、方法、结果观察等内容。本书注重基本理论、基本知识和基本技能的讲述，突出实验原理、实验方法的说明，有助于学生对基本理论、基本知识和基本技能的学习与掌握，适合高等医药院校师生参考使用。

本书的编者都是具有多年教学经验的中青年教师，他们凭着对医学教学的热爱与执着，严谨治学，经过悉心的学习、研究与总结，在使用多年的实验教学讲义的基础上，经过反复修改形成了本书。作者特别注意将地方性疾病、学科的最新进展和教学经验纳入其中，丰富了教材内容和特色，增加了实用性。

本教材的出版，无论瑕瑜，均为医学教材的百花园增添了新的花朵，打破了高校医学教材长期种类比较单一、可选度较低的局面，为医药院校的教师和学生提供了一份新的选择。我作为从事医学教育多年的管理者，衷心希望编者们在教学中不断总结和完善，让这本教材绽放出更绚丽的色彩。

钱金楸

2012 年 11 月 30 日

前 言

医学免疫学与医学微生物学是生命科学的前沿学科，是高等院校医药学类各专业的专业基础课程及主干课程。实验教学是培养学生基本理论、基本知识和基本技能的重要手段，也是培养学生正确思维、独立思考、善于创新、综合分析和解决问题以及灵活运用知识能力的重要途径。

医学免疫学与医学微生物学知识互相渗透、紧密联系，目前国内不少医药院校的一些专业（包括我校的大部分医药学专业）将其作为一门课程来设置，因此，从实用出发，我们将医学免疫学与医学微生物学各主要实验汇集在一起，编写了本书。

本书编写注重实验指导的可操作性，注重对学生医学免疫学和医学微生物学基本实验技能的培养，且紧密结合临床实际应用，是对临床医学、预防医学、医学检验、卫生检验、药学及药剂学等本科专业实验教学的长期积淀和总结。根据高等院校医药学各专业对医学免疫学与微生物学实验教学的需要，我们对教学内容进行选择，使之既包含了验证性实验，也包含综合性实验和病例讨论，能对学生进行科学实验全过程的训练，使他们了解科学研究的科学性和严谨性，有利于实现医学生尽早接触临床、尽早接触医疗实践的教育改革目标，增加学习的趣味性，唤起学生探索的欲望，激发其学习的主动性，培养学生独立思考与科研协作能力。另外，根据学科的发展，本书还编入了近年应用于临床和研究的、适于学生实验教学的一些实验内容，如流式细胞术、微生物基因组的提取、核酸的体外扩增、质粒 DNA 的提取等，使学生能接触最新的实验技能和知识。同时，本书还将部分实验中的主要培养基及试剂制备方法归纳入实验的附录中，方便查找与使用。本书主要适用于高等医药院校本科各专业学生，也可作为青年教师和医务人员的参考书。

本书在编写过程中得到大理学院各级领导的大力支持。编撰本书的作者为长期从事医学免疫学与医学微生物学实验教学一线的优秀教学团队成员，具有丰富的教学实践及教学研究经验，对教学怀有极大的热情，勤于钻研，团结协作，围绕医学免疫学与医学微生物学优秀课程的建设目标，积极进行了改革和探索，并且与时俱进，不断完善，以提高教学效率和质量，其中，教材建设是我们重要的建设目标之一。

限于编者的认识水平，本书难免会有各种缺点和不足，恳请广大师生提出宝贵意见。

白 丽 申元英

2012 年 11 月

目 录

实验要求及实验室规则	1
------------------	---

第一篇 医学免疫学实验

实验一 沉淀反应	5
实验二 凝集反应	9
实验三 溶血反应与补体结合反应	12
实验四 50% 补体溶血试验	16
实验五 酶联免疫吸附试验	18
实验六 外周血单个核细胞的分离及细胞活性测定	20
实验七 E 玫瑰花环形成试验	23
实验八 淋巴细胞转化试验	25
实验九 白细胞移动抑制试验	27
实验十 间接免疫荧光法检测 T 淋巴细胞亚群	29
实验十一 流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群	31
实验十二 直接溶血空斑试验	35
实验十三 辛酸硫酸铵法提取血清 IgG 抗体	37
实验十四 免疫血清的制备	39
实验十五 非特异性免疫	43

第二篇 医学微生物学实验

实验十六 显微镜（油镜）的使用及保护方法	49
实验十七 细菌基本形态与特殊结构的观察	51
实验十八 细菌不染色标本检查法	54
实验十九 细菌培养法	55
实验二十 细菌的生化反应	60
实验二十一 消毒与灭菌	64
实验二十二 药物敏感试验	69
实验二十三 消毒剂的定量杀菌试验	72

实验二十四 噬菌体 74

实验二十五 环境及正常人体细菌检查 76

实验二十六 细菌的变异性 79

实验二十七 球菌 81

实验二十八 肠道杆菌 84

实验二十九 肥达反应 86

实验三十 霍乱弧菌 88

实验三十一 动物源性细菌 92

实验三十二 厌氧芽胞梭菌 93

实验三十三 白喉棒状杆菌 95

实验三十四 流感嗜血杆菌、百日咳鲍特菌、空肠弯曲菌和铜绿假单胞菌 98

实验三十五 分枝杆菌 100

实验三十六 血液的细菌学检查 103

实验三十七 粪便的细菌学检查 106

实验三十八 中段尿的细菌学检查 110

实验三十九 脓液标本的细菌学检查 112

实验四十 立克次体 114

实验四十一 支原体 116

实验四十二 螺旋体 118

实验四十三 真菌 123

实验四十四 口腔假丝酵母菌感染的检验 125

实验四十五 病毒的形态检查 127

实验四十六 病毒分离及培养法 128

实验四十七 微生物基因组提取及基因的体外扩增 135

实验四十八 细菌质粒 DNA 提取与鉴定 140

第三篇 病例讨论

病例一 145

病例二 145

病例三 145

病例四 146

病例五 146

病例六 146

病例七 147

病例八 147

病例九 147

病例十 148

2. 烧伤 局部涂凡士林、5%鞣酸或2%苦味酸。

3. 化学药品腐蚀伤 若为强酸,先用大量清水冲洗,再以5%碳酸氢钠溶液洗涤中和;强碱腐蚀伤时,先以大量清水冲洗,再用5%醋酸或5%硼酸溶液洗涤中和。若受伤处是眼部,经过上述步骤处理后,再滴入橄榄油或液状石蜡1~2滴。

4. 菌液误入口中 应立即吐入消毒容器中,用1:1 000高锰酸钾溶液或过氧化氢溶液漱口,并根据菌种不同,服用抗菌药物预防感染。

5. 菌液洒洒桌面 将适量2%~3%甲酚皂溶液(来苏尔)或0.1%苯扎溴铵(新洁尔灭)倒于污染面,浸泡30 min后抹去。若手上有活菌,亦应浸泡于上述消毒液3 min,再用肥皂和水清洗。

6. 火警 如发生火警,需沉着处理,切勿慌张,应立即关闭电闸和煤气阀门。如乙醇、乙醚、汽油等有机溶剂起火,切忌用水扑救,可用沙土等扑灭火焰。

五、实验时的注意事项

(一) 严格遵循实验指导

1. 在开始做实验之前,必须仔细阅读实验指导,进行独立思考,并根据实际情况,作出实验的具体安排和打算。

2. 合理安排时间和实验材料,尽量避免出错,力求取得理想的结果。

(二) 认真完成实验操作

1. 认真听取指导老师实验前的讲解。

2. 细心操作,若发现问题,在独立思考、分析原因的基础上找老师帮助。

3. 在自己的实验材料上做好标记,包括班级、姓名、菌名、日期等。

4. 认真观察实验结果,将其记录在实验报告中(根据需要彩色笔绘图记录),并回答实验教程中所有的问题。

5. 遇到实验结果与理论不符的情况,应仔细分析原因,培养自己独立思考、分析问题和解决问题的能力。

(三) 充分利用参考资料

1. 在教科书和参考书中核对有关的数据和资料。

2. 认真观摩示教和影像、多媒体等电化教材。

第一篇

医学免疫学实验

实验一

沉淀反应

【目的要求】

1. 掌握沉淀反应的原理及种类。
2. 了解双向琼脂扩散试验、单向琼脂扩散试验及对流免疫电泳的原理、实际应用及结果观察。

【原理】

可溶性抗原（血清、毒素、细菌浸出液等）与相应抗体相遇，在比例适当和有电解质存在时，出现肉眼可见的沉淀物，称为沉淀反应。参与沉淀反应的抗原多为蛋白质、多糖、类脂等。沉淀反应的种类很多，根据反应条件不同，有环状沉淀试验、絮状沉淀试验和琼脂扩散试验。最常用的是琼脂扩散试验。

【内容】

（一）双向琼脂扩散试验

将 1.2% 琼脂糖倾注于玻璃板上，待琼脂凝固后，按一定模式打孔，再将抗原与抗体分别加入琼脂板上有一定间距的小孔内。抗原、抗体各自向四周扩散。如两者是对应的，经过一定时间后会在比例适宜处形成白色沉淀线。利用双向琼脂扩散试验，可用已知抗原（或抗体）检测未知抗体（或抗原）；还可用来检测抗原或抗体的纯度，分析和鉴定抗原与抗体的成分，以及半定量滴定抗血清的效价。

〔材料〕

人血清（稀释度 1:2、1:8），兔抗人血清，1.2% 氯化钠琼脂，载玻片，吸管，金属打孔器，注射器针头。

〔方法〕

1. 铺板 用吸管吸取加热熔化的琼脂 4 mL 左右，加到载玻片上，加时移动吸管，直至载玻片的四角均被琼脂铺满为止。在浇注琼脂板时，要避免琼脂中有气泡产生。

2. 打孔 琼脂冷却后，用金属打孔器按图 1-1 模型打孔，并用注射器针头挑去孔中琼脂。

3. 加样 于中间孔加入抗人血清，第 1、2

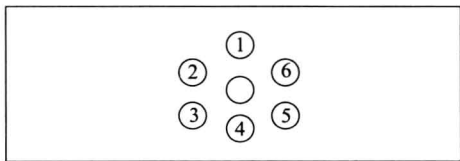


图 1-1 双向琼脂扩散试验打孔示意图

孔径 3 mm，琼脂板长 75 mm，宽 25 mm

孔加入生理盐水作对照，第3、4孔加入稀释度为1:8的人血清，第5、6孔加入稀释度为1:2的人血清。

4. 孵育 将载玻片置于湿盒内，室温静置24~48 h后观察结果。

[结果观察与分析]

观察孔间沉淀线的数目与特征。

1. 抗原抗体中只有单一的相应成分，在孔间出现一条沉淀线。如两者浓度相当，沉淀线在两孔中间；两者浓度不相当时，沉淀线偏向浓度低的一侧（图1-2A）。

2. 两孔间有若干条沉淀线，说明抗原和抗体中各有若干种相应的成分（图1-2B）。

3. 相邻两孔与对应孔的沉淀线相连，说明该两孔的抗原成分完全相同（图1-2C）。

4. 相邻两孔与对应孔间的沉淀线相交，说明两孔中的抗原成分完全不同（图1-2D）。

5. 相邻两孔与对应孔间的沉淀线相切，说明两孔中的抗原成分部分相同，部分不同（图1-2E）。

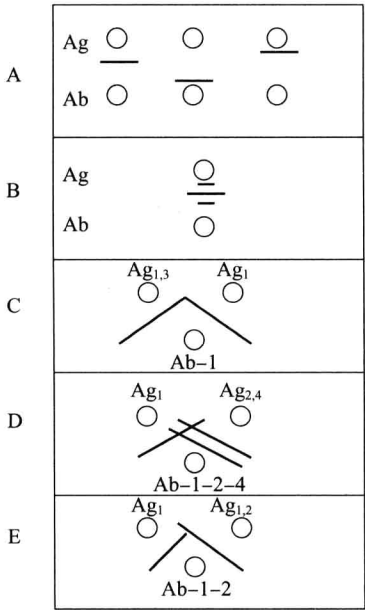


图1-2 双向琼脂扩散试验结果分析

(二) 对流免疫电泳试验

对流免疫电泳试验是在双向琼脂扩散试验的基础上结合电泳技术而建立的，是利用在通电的琼脂中，抗原与抗体会向相反的电极移动，在碱性缓冲液（pH 8.0~8.6）的条件下，抗原带负电，由负极向正极移动；而抗体为球蛋白，相对分子质量大，移动较慢，同时受电渗的影响，抗体分子只能向负极泳动。相应抗原和抗体在最适比例处出现沉淀线，由于电场作用，限制了抗原抗体分子多方面扩散，可缩短沉淀线出现的时间（约1 h）。

[材料]

0.06 mol/L 及 0.03 mol/L pH 8.6 巴比妥缓冲液，正常人混合血清（抗原），免抗人血清，琼脂，电泳仪、电泳槽，打孔器、吸管、玻片。

[方法]

1. 用0.03 mol/L pH 8.6 巴比妥缓冲液配制1.2%~1.5%琼脂，实验前于水浴中加热、熔化。

2. 用吸管吸取熔化琼脂，直接加到玻片上，至四角铺满为止。

3. 待琼脂冷却凝固后，于琼脂板上打2排孔（图1-3）。

4. 按图1-3模式分别加入抗原、抗体。留1孔加生理盐水作对照。

5. 将琼脂玻片置电泳槽上，加抗原的孔置负极端，加抗体的孔置正极端。琼脂板两端分别用4层纱布与缓冲液相连（槽内缓冲液为0.06 mol/L pH 8.6 巴比妥缓冲液）。接通电源，控制电流在4 mA/cm 或电压100 V，通电1~2 h。

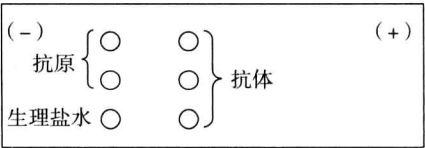


图1-3 对流免疫电泳试验打孔示意图
孔径3 mm，琼脂板长75 mm，宽25 mm

[结果观察]

电泳完毕后取出玻片，若待检标本中有相应的抗原（或抗体），则可在抗原与抗体之间观察到白色沉淀线，试验为阳性。

(三) 单向琼脂扩散试验

本试验是在含有最适量抗体的琼脂板上打孔，于孔中加入抗原。如抗原与抗体相应时，抗原从孔中扩散，与琼脂中相应抗体结合，形成沉淀环。沉淀环的直径与孔中的抗原浓度呈正比。借此可用已知抗体测定相应抗原量。测定标本时必须同时制作标准曲线。制作标准曲线时，将定量抗原作若干稀释度，分别加入含有最适稀释度的抗体琼脂板中。37℃ 24 h 后，测量各孔沉淀环直径。以沉淀环直径为横坐标，相应孔中抗原量为纵坐标。于半对数坐标纸上绘图，画出标准曲线。标本中所含抗原量是测得标本孔沉淀环直径，对比查标准曲线而得出。单向琼脂扩散试验常用于定量检查血清中免疫球蛋白（Ig）的含量和补体的含量。

[材料]

羊抗人 IgG 诊断血清，参考血清（冻干正常人混合血清，其 IgG 含量为 10.1 mg/mL ≈ 125 U/mL），3.3% 琼脂，0.01 mol/L、pH 7.2 ~ 7.4 的磷酸盐缓冲液（phosphate buffered saline, PBS），6.0 cm × 3.2 cm 的塑料专用板，直径 3 mm 打孔器，注射器针头，可调移液器，投影放大器，半对数坐标纸。

[方法]

1. 含抗体琼脂板的制备 按需要制备含一定浓度抗血清的琼脂板。如所需抗体需作稀释，可先将琼脂加热熔化，冷却至 60℃，取琼脂液 9 mL，保温于 56℃ 水浴中。将在 56℃ 水浴中预温的 1:4 稀释抗血清（羊抗人 IgG）1 mL 与琼脂充分混匀，保温于 56℃ 环境下。用吸管将以上含有抗体的琼脂 4.5 mL 加入塑料专用板。

2. 打孔 待琼脂板凉透后，用打孔器于琼脂板上打孔，每 2 孔中心距离 10 mm。若孔中有残留琼脂，则用大号注射器针头挑出，琼脂必须挑干净，孔缘整齐，不可破损，制成含抗血清琼脂板。

3. 稀释参考血清 每支干燥血清中加入蒸馏水 0.5 mL，待完全溶解后，用 0.01 mol/L、pH 7.2 ~ 7.4 磷酸盐缓冲液稀释成表 1-1 中几种稀释度。

表 1-1 标准参考血清稀释表

稀释倍数	12.5	25	50	100	200
含量 (mg/L)	643.2	21.6	160.8	80.4	40.2

4. 加样 用可调移液器吸取 10 μL 各种稀释度参考血清，准确地加到琼脂板孔中，一种稀释度加 2 个孔。测病人标本时，先将病人血清用 PBS 作 1:40 稀释，然后于每孔中加 10 μL，每份标本加 2 个孔。

5. 孵育 将加好样的琼脂平板放于铺有含 0.5% 苯酚（石炭酸）纱布的搪瓷盒中，置 37℃ 环境下反应 24 h。取出琼脂板，浸泡在生理盐水中 2 ~ 3 h，再浸泡于 1% 鞣酸液中 10 min。取出琼脂板，用自来水轻轻冲洗，将水沥干后置投影放大器放大 3 倍，并测量各孔沉淀环直径（图 1-4）。

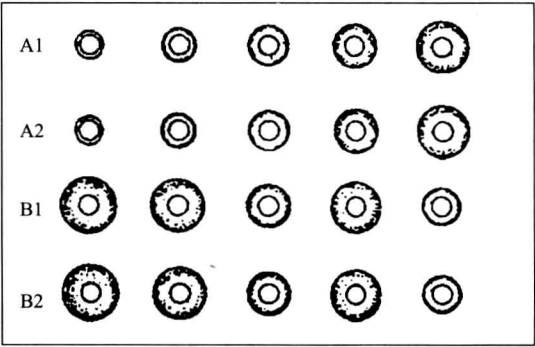


图 1-4 单向琼脂扩散试验结果示意图
A1 和 A2 为标准原孔，B1 和 B2 为待检血清孔

[结果判断]

标准曲线的绘制及血清标本中 IgG 的定量测定。以加各种稀释度参考血清的沉淀环直径为横坐标，相应孔中 IgG 含量为纵坐标，在半对数坐标纸上作图，画出标准曲线（图 1-5）。根据血清标本孔沉淀环直径，查标准曲线。将查得的 IgG 含量乘以标本的稀释倍数（40），即为血清 IgG 的含量。

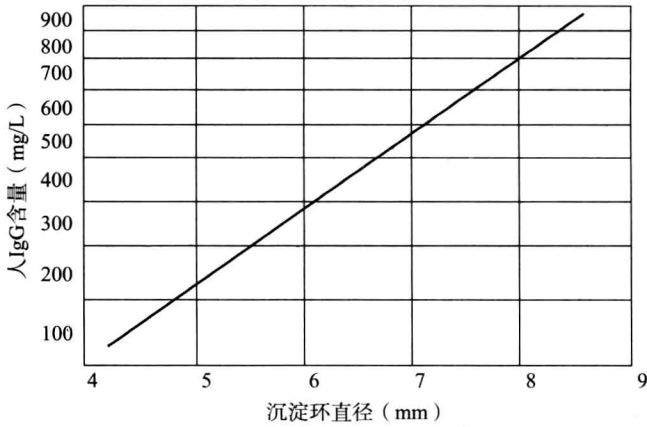


图 1-5 单向琼脂扩散试验标准曲线

【思考题】

- 1. 试述沉淀反应的种类。
- 2. 试述双向琼脂扩散试验的原理及实际应用意义。
- 3. 试述单向琼脂扩散试验的原理及实际应用意义。

实验二

凝集反应

【目的要求】

1. 掌握凝集反应的原理。
2. 掌握直接凝集反应的方法及实际应用。

【原理】

凝集反应是指颗粒性抗原（如病原微生物细胞或红细胞）与相应抗体特异性地结合，在电解质参与下，当两者比例适当时，形成肉眼可见的凝块。凝集反应有直接和间接两种。直接凝集反应系颗粒性抗原与相应抗体结合后出现的凝集现象；如将可溶性抗原吸附到颗粒性载体上，再与相应抗体结合出现凝集现象，称为间接凝集反应。常用的直接凝集反应有玻片和试管两种方法。玻片法操作简便、快速，但只能作定性试验，常用已知抗血清作未知细菌或细胞的鉴定。试管法操作较复杂，但可将血清作不同浓度的稀释，用来检测抗体的含量，常用已知抗原（如细胞）测定病人血清中是否有相应抗体及其含量多少，如辅助诊断肠热症的肥达反应及辅助诊断立克次体病的外-斐反应。

【内容】

（一）直接凝集反应

1. 玻片凝集反应

〔材料〕

1:10 稀释的志贺菌诊断血清和 1:10 稀释的伤寒沙门菌诊断血清，未知菌 24 h 琼脂斜面培养物，生理盐水、玻片、毛细吸管。

〔方法〕

1. 取玻片 1 张，用蜡笔划分成三等份，并标号。于 1 号内滴加 1:10 稀释的志贺菌诊断血清 1~2 滴，2 号内滴加 1:10 稀释的伤寒沙门菌诊断血清 1~2 滴，3 号内滴加 1~2 滴生理盐水。

2. 用接种环无菌操作取未知菌少许，涂于 3 号玻片中，再烧灼接种环后取未知菌少许，涂于 1 号中，同法取未知菌涂于 2 号中。

3. 轻轻转动玻片，经 1~2 min 后观察结果。

〔结果观察〕

出现乳白色凝块并且液体清亮者即为阳性反应。

[注意事项]

操作时，注意勿使液滴干燥而妨碍观察，更应注意液滴不可过大，避免转动玻片时带菌液体碰到手上，而导致实验室感染。观察结束后，试验用玻片应投入消毒缸内，不可随意放在操作台上。

II. 试管凝集试验

[材料]

绵羊红细胞（sheep red blood cell, SRBC），免疫血清（溶血素），生理盐水，12 mm × 100 mm 试管，吸管及标记笔等。

[方法]

- 1. 取试管 8 支，置试管架上，并编号。
- 2. 于 1 号管中加生理盐水 0.9 mL，其他各管加 0.5 mL。
- 3. 于 1 号管中加入溶血素 0.1 mL，用吸管反复吸吹 3 次，使其混匀；取混合物 0.5 mL 至 2 号管，依同法混匀后吸出 0.5 mL 至 3 号管，如此稀释至 7 号管，混合后弃去 0.5 mL；8 号管中不加血清作对照。
- 4. 各管加入绵羊红细胞 0.5 mL，各管血清最后稀释度为 1:20，1:40，1:80，…，1:1 280（表 2-1）。

表 2-1 试管凝集试验血清稀释法

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8
生理盐水（mL）	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
免疫血清（mL）	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	弃 0.5
血清稀释度	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	对照
SRBC（mL）	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
血清最后稀释度	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1 280	对照

5. 振摇试管使绵羊红细胞与溶血素混合，置于 37℃ 孵育，18~24 h 后观察结果。或置 45℃ 水浴箱 2 h 后观察结果。

[结果观察]

- 1. 观察结果时，注意勿振摇试管，以免凝块摇散。
- 2. 先观察对照管（8 号管），此管中绵羊红细胞不发生凝集，沉在管底，呈一边缘整齐的圆团。
- 3. 若管底见显著的凝块，边缘不整或卷起，有时凝块细小散播于管底，均为凝集反应阳性。若绵羊红细胞被全部凝集，记录为（++++）；若绵羊红细胞大部分被凝集，记录为（+++）；若 50% 左右绵羊红细胞被凝集，记录为（++）；若少部分绵羊红细胞被凝集，记录为（+）；若绵羊红细胞未被凝集，记录为（-）。
- 4. 以能使红细胞发生明显凝集（++）的血清最高稀释倍数为该血清的凝集效价。

（二）间接凝集抑制试验

先将标本中可溶性抗原和相应抗体发生作用，然后再加入已吸附有已知抗原的载体颗粒（亦称致敏颗粒）。这时由于标本中的可溶性抗原已与相应的抗体发生结合，抗体被中和；再加入致敏颗粒，因无相应的抗体作用，而不出现凝集现象。这个试验称间接凝集抑

制试验。此试验主要用于血清中生长激素、尿中的绒毛膜促性腺激素、甲胎蛋白以及 HBsAg 等的测定。

以免疫妊娠试验为例，孕妇尿中绒毛膜促性腺激素的含量显著增多可作为早期妊娠诊断的指标。根据间接凝集试验原理，若被测的是妊娠尿，由于尿中该激素含量较多，能与加入的相应抗血清进行特异性结合；此时再加入吸附有抗原（绒毛膜促性腺激素）的乳胶颗粒，则不出现凝集反应（凝集抑制）。如被测的是非妊娠尿，则因尿中该激素含量较少，不足以与抗血清起反应；当加入吸附有抗原的乳胶颗粒时，则抗血清就与其起反应，出现明显的凝集颗粒。

[材料]

以绒毛膜促性腺激素免疫家兔制备的抗血清，绒毛膜促性腺激素吸附于乳胶颗粒上的乳胶抗原，孕妇及非孕妇尿，洁净玻片，滴管及玻璃棒。

[方法]

1. 取洁净玻片 1 张，用蜡笔划为两格，于第 1 格内滴加孕妇尿 1 滴，第 2 格滴加非孕妇尿 1 滴作对照，不宜太多，也不宜太少，否则易干燥。

2. 两格内均各滴加抗血清 1 滴，以玻璃棒搅匀，使液面直径保持在 1.5 ~ 2.0 cm，缓缓摇动 2 min。

3. 然后分别再滴加乳胶抗原 1 滴，继续摇动 2 ~ 5 min，观察结果。

[结果观察]

对照者（非孕妇尿）应出现明显凝集颗粒，被检测尿如呈均匀混浊为阳性反应，如出现凝集颗粒为阴性。

【思考题】

1. 凝集反应有哪些用途？
2. 什么是凝集效价？
3. 如何判断试管凝集反应的结果？