

高等医药学校基础课实验系列教材

病原学与免疫学

实验教程

姚旌旗 覃金红 孙剑刚 主编

BING YUAN XUE YU MIAN YI XUE
SHI YAN JIAO CHENG



科学出版社

www.sciencep.com

· 高等医药学校基础课实验系列教材 ·

病原学与免疫学实验教程

姚旌旗 覃金红 孙剑刚 主编



科学出版社

(北京) 中国图书馆学会图书馆分会

内 容 简 介

本书共分四部分,其中第一部分为实验概述,包括实验室规则、实验意外事故的紧急处理、常见器皿的处理、油镜的使用和保护,第二部分为基础验证性实验(实验一至四十九),第三部分为综合提高性实验(实验五十至六十七),第四部分为研究创新性实验,书末附有附录。

本书可用于高等医药学校临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、检验、护理等专业本专科实验课教学。由于各专业的要求、学时不同,可根据实际情况选择实验项目。

图书在版编目(CIP)数据

病原学与免疫学实验教程/姚旌旗,覃金红,孙剑刚主编. —北京:科学出版社,2007

(高等医药学校基础课实验系列教材)

ISBN 978-7-03-019954-6

I. 病… II. ①姚…②覃…③孙… III. ①病原微生物—实验—医学院校—教材②医药学:免疫学—实验—医学院校—教材 IV. R37-33
R392-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第140357号

责任编辑:江 兰/责任校对:梅 莹

责任印制:高 嵘/封面设计:苏 波

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

武汉嘉捷印务有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年9月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2007年9月第一次印刷 印张:13 1/2 插页:6

印数:1—3 000 字数:300 000

定价:24.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《病原学与免疫学实验教程》编者名单

主 编 姚旌旗 覃金红 孙剑刚

副主编 陈喜珪 邓毛子 廖纪元

编 者 (按姓氏笔画为序)

邓毛子 方 华 王希君 孙剑刚 刘红云

李俊飞 余 娜 陈喜珪 应惠芳 罗金萍

周惠萍 姚旌旗 梁 莹 覃金红 曾 洁

廖纪元 戴定兰

高等医药学校基础课实验系列教材

编写指导小组

组 长 刘复兴 费新法

成 员 费新法 胡振武 刘复兴 刘红梅

余同辉 覃金红 余良主

“高等医药学校基础课实验系列教材”丛书序

随着社会的持续发展与科学技术的不断进步,具有创新能力的高素质复合型人才愈来愈得到社会的需要。目前,我国高等教育的招生规模渐趋稳定,高等教育的重点已由规模发展转向质量工程,教育部在2001年颁布了《关于加强高等学校本科教学工作提高教学质量的若干意见》,2003年3月又启动了“高等学校教育质量和教学改革工程”,明确了当前及今后高校教学工作的重点,应该在于如何进一步深化教育体制和教学体系改革,以提高教育教学质量,培养符合社会发展需求的高等人才。

如何提高教育教学质量,是一个十分复杂的命题,它涉及高校工作的各个方面。其中实践教学环节对于提高学生的动手能力、创新素质与科学思维具有理论教学不可替代的作用。然而传统的教学过程中对理论教学较为重视,实践教学却没有充分发挥其应有价值。因此,教育部明确要求加强实践教学环节,并大力推进了一批基于互联网的国家级示范教学基地和国家级基础课程实验教学示范中心的建设,有力地提高了高校教学实验室的建设水平,加大了基础课程实验教学的改革力度。

医(药)学是一门实践性很强的科学,实践教学对于医(药)学学生巩固和加深理论认识、提高动手操作能力、培养创新能力乃至初步的科研能力都十分重要。然而,面向医(药)学本、专科学生的传统实践教学,尤其是医(药)学基础课程的实验教学,往往依附于理论教学而处于从属地位,教学过程中不同程度地存在重理论、轻实践的现象;另一方面,具体的实验内容也一般比较单一,而且存在不同学科实验内容的重复现象,验证性实验项目多、综合性实验项目少,单元操作多、复合训练少,学生往往跟着教师的要求被动学习,自身的主观能动性发挥得不够,创新精神与科学思维也就培养得不够。

为了适应新的教学改革需求,咸宁学院申报了湖北省医学基础课实验教学示范中心的建设,2005年5月获准立项。在示范中心的建设过程中,我们紧密围绕“体制改革是关键、教学改革是核心、教育思想观念改革是先导、培养人才是根本”的总体思路,一方面加强设备、环境等硬件上的实验条件建设,另一方面更加注重管理体制、实验内容、师资队伍等软条件的改革与建设,包括加强实验教材的建设。经过一段时间的探索与改革实践后,我们组织了“高等医药学校基础课实验系列教材”的编写,经过一年多的努力,终于使这套丛书得以顺利出版。

编写这套丛书时,我们集思广益、多方借鉴,一方面总结以往实验教学的有益经验,保留或调整了一部分传统实验项目;另一方面积极探索,注意学科间的交叉融合,引入或设计了一些新的实验项目,同时广泛参考兄弟院校的改革模式或经验,尽力做到:

(1) 重新构建医学基础实验课程体系。随着理论学科分枝越来越细,以往的实验内容一般紧跟理论教学,而新的实验课程体系的建构,目的之一就是要打破学科间的壁垒,充分寻找学科间理论上关联甚密、研究方法相近或相关的方面,以学科群为单位,建立新的实验课程体系。如形态学实验涵盖细胞生物学、组织学与胚胎学、医学遗传学、病理学的实验部分,机能学实验涵盖生理学、药理学、病理生理学的实验部分,病原学与免疫学实

验涵盖人体寄生虫学、医学微生物学、免疫学的实验部分等。新的实验课程体系要求不能是原来实验内容的简单拼凑,而应是独立于理论课程之外、学科群实验内容的有机整合。

(2) 建立分层次的实验教学模式。新的实验课程,以方法学为主线之一,适当联系理论学科,从简到繁、由浅入深,分为基础验证性实验、综合提高性实验、研究创新性实验三个层次,形成新的实验教学模式。

(3) 积极探索,同时注意现实可行。在教学内容的设置方面,既大胆设想,引入新的教学成果或科研实验,又充分考虑医(药)学本、专科学生的知识水平与接受能力,并且与理论相关课程适当平行;在教学模式建设方面,既努力打破传统的实验教学格局,又不造成教学秩序的混乱,让教师、学生都能适应和接受。

系列丛书的编写,是由“高等医药学校基础课实验系列教材”编写指导小组提出整体思路和构想,并负责统筹策划和协调。丛书成功的编写既得到了咸宁学院各级领导的指导和关心,更得力于广大编审人员的密切协作与辛勤劳动,在此致以诚挚的谢意;丛书的顺利出版,则得益于科学出版社的鼎力相助,也一并致谢!

最后,作为一种新的改革尝试,丛书中的疏漏之处在所难免,甚至由于编写时间较为仓促,缺点和错误也极可能存在,诚请同道指正。

刘复兴

2007年8月

前 言

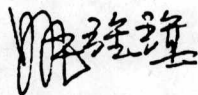
随着高等教育改革的不断深入,能力培养已引起高等学校的普遍关注。编写本实验教程的指导思想是,迎合高校实验教学改革的主流,结合本校实际,改良传统的实验教学模式,兼顾不同层次的教学同时并举,注重学生基本技能的训练,突出学生创新精神和实践能力的培养。

在学科重组中,学校将医学微生物学、人体寄生虫学和医学免疫学三个学科组成了病原学与免疫学学科群,并要求以“群”编写本实验教材,这是一种尝试。由于三个学科在教学内容上的特殊性,令编者在理论融通、内容取舍、文图呼应、版式设计以及在教学实践上多少有些困惑。基于此,本书尽可能着力于指导学生对经典基础性实验的验证,引导学生对综合提高性实验的思考,开发学生对自主创新性实验的研究,以期达到真正意义上的学以致用。

本教程的编写凝聚了各位编者在教学过程中的一些经验积累,吸取了国内兄弟院校相关教材和国外教材的精华,将传统的医学微生物学、人体寄生虫学和医学免疫学三门学科的实验教材进行了探索性整合,适当删减了部分重复、陈旧的实验内容,增加了部分新技术,充实了一些新内容。全书比较突出的特点是在强化学生基本技能训练的基础上,启发学生的创新思维,形成了基础验证性实验、综合提高性实验和创新设计性实验三大教学模块。

贯彻实施本教程内容的方式有:学生具体操作、教师演示、标本观察、实物展示、流程讲解、实地考察、多媒体录像演示以及在教师指导下的自主设计研究等形式。

由于编者学识水平所限,加之编写时间紧迫,疏漏和错误在所难免,殷切希望高校同仁及读者予以斧正!



2007年8月

目 录

第一部分 实验概述

实验室规则	3
实验意外事故的紧急处理	4
常见器皿的处理	5
油镜的使用与保护	10

第二部分 基础验证性实验

实验一 特异性抗体的制备	15
实验二 免疫血清的鉴定与纯化	18
实验三 凝集反应	22
实验四 沉淀反应	28
实验五 补体溶血反应	36
实验六 免疫标记技术	38
实验七 人外周血单个核细胞分离	43
实验八 免疫实验相关动物模型的建立	45
实验九 细菌的基本形态和特殊结构	48
实验十 细菌不染色标本检查	50
实验十一 细菌标本染色检查	52
实验十二 细菌的分离接种与生长现象	56
实验十三 细菌的生化鉴定	60
实验十四 物理、化学及生物因素对细菌的影响	65
实验十五 病原性球菌	70
实验十六 肠道感染细菌	72
实验十七 厌氧性细菌	74
实验十八 白喉杆菌	77
实验十九 结核杆菌	79
实验二十 支原体、衣原体、立克次体	81
实验二十一 病原性螺旋体	84
实验二十二 病原性真菌	88
实验二十三 病毒的形态学检查	91
实验二十四 病毒的培养技术	93
实验二十五 病毒血凝试验	96
实验二十六 病毒的血清学试验	98

实验二十七	溶组织内阿米巴和结肠内阿米巴	101
实验二十八	杜氏利什曼原虫	103
实验二十九	阴道毛滴虫	105
实验三十	蓝氏贾第鞭毛虫	106
实验三十一	疟原虫	107
实验三十二	刚地弓形虫	110
实验三十三	肺孢子虫和隐孢子虫	111
实验三十四	华支睾吸虫	112
实验三十五	布氏姜片吸虫	114
实验三十六	卫氏并殖吸虫和斯氏狸殖吸虫	116
实验三十七	日本血吸虫	118
实验三十八	带绦虫	120
实验三十九	曼氏迭宫绦虫	122
实验四十	似蚓蛔线虫	124
实验四十一	毛首鞭形线虫	126
实验四十二	蠕形住肠线虫	127
实验四十三	钩虫	129
实验四十四	旋毛形线虫	132
实验四十五	丝虫	133
实验四十六	蚊	135
实验四十七	蝇	137
实验四十八	蜚蠊	139
实验四十九	疥螨	140

第三部分 综合提高性实验

实验五十	E 花环形成试验	143
实验五十一	淋巴细胞亚群的检测	145
实验五十二	淋巴细胞增殖反应(MTT 比色法)	147
实验五十三	混合淋巴细胞培养	149
实验五十四	NK 细胞活性的检测(乳酸脱氢酶释放试验)	151
实验五十五	中性粒细胞吞噬功能测定	153
实验五十六	溶血空斑形成试验	155
实验五十七	细胞因子检测	157
实验五十八	豚鼠过敏反应的观察	160
实验五十九	药物中金黄色葡萄球菌的检查	162
实验六十	空气中微生物的检测及初步鉴定	164
实验六十一	抗链球菌溶血素 O 试验	165
实验六十二	肥达反应	168
实验六十三	细菌 R 质粒接合传递试验	170

实验六十四	细菌 DNA 提取	171
实验六十五	学生粪便蠕虫感染自查	173
实验六十六	野外捕获宿主检查其寄生虫的感染情况	175
实验六十七	菜市场蔬菜寄生虫卵和幼虫的调查	176

第四部分 研究创新性实验

选题、设计与实施	179
参考选题	184
参考文献	191
附录	192
常用试剂及其配制	192
常用染色液的配制	199
常用培养基配方	200
洗液的配制和使用	203

第一部分

实验概述

策一陪代

突鋸趾板

实验室规则

在病原学与免疫学试验中,经常要接触一些病原微生物与寄生虫,有被感染的危险性。为保证实验效果,同时避免病原微生物及寄生虫的实验室污染,保证实验操作者的安全,要求必须遵守以下规则:

(1) 学生在每次实验课前,认真预习实验内容,明确实验目的,了解实验原理和主要实验过程,做到心中有数,思路清晰。如有疑问,应事先请教指导教师。

(2) 不必要的物品请勿带入实验室,必须要带的书本、文具等应放在远离实验操作的指定位置,以免污染。

(3) 进入实验室,必须穿好工作服,离室时脱下反叠带走。

(4) 实验室内应保持安静,不得高声谈笑和随便走动。严禁吸烟、进食、饮水,严禁用嘴吸取移液及湿润标签,尽量不要用手触摸头面部及身体其他暴露部位。

(5) 实验过程中要小心仔细,严格按操作规程进行,若发现问题,在独立思考、分析原因的基础上找指导老师帮助。

(6) 如遇不慎打破菌种管或使有菌(或寄生虫)材料污染皮肤、衣物、桌面等情况,应立即报告指导教师,切勿隐瞒或自行处理。

(7) 需培养(或处理)的材料,应标明组别、名称及处理方法,放于教师指定地点进行培养(或处理)。实验室中的菌种及其他物品,未经教师许可,不得携出室外。

(8) 认真观察、分析实验结果,以实事求是的科学态度记录在实验报告中。如实验结果与理论不一致时,应分析原因,培养自己独立思考、分析问题和解决问题的能力。

(9) 实验完毕,清理实验用品,物归原处。实验废弃物应放入或倒入指定地方和容器内。吸过菌液(或虫卵)的吸管、毛细滴管等放入消毒缸内;用过的玻片放入装有消毒液的陶瓷(玻璃)缸内,绝不能乱放在桌面上。

(10) 离开实验室前,应用肥皂洗手,必要时用消毒液浸泡双手,然后用清水洗净。关好水、电、门、窗后方可离开实验室。

实验意外事故的紧急处理

实验时要严格按老师所要求的操作进行,若不慎发生意外事故,应立即报告指导老师,进行紧急处理。

(1) 皮肤创伤:先除尽异物,用无菌生理盐水洗净,再涂以 2% 红汞或 2% 碘酒进行消毒,必要时进行包扎。

(2) 烧灼伤:涂以无菌的液体石蜡、5% 鞣酸或 2% 苦味酸。

(3) 化学腐蚀伤:如为强酸,应先用大量清水冲洗,再以 5% 碳酸氢钠溶液洗涤中和;强碱腐蚀伤应先以大量清水冲洗,再用 5% 醋酸溶液洗涤中和。若眼部受伤,经上述方法处理后,再滴入无菌液体石蜡 1~2 滴。

(4) 吸入菌液,应立即吐入盛有消毒液的容器内,以大量清水或 3% 双氧水漱口,并根据菌种的不同服用相应的抗生素以预防。

(5) 菌液溅洒桌/地面,应立即用抹布浸 0.2%~0.5% 84 消毒液,盖在污染部位,经半小时后再抹去。若菌液、感染阶段的寄生虫等污染手部,应立即将手浸泡于消毒液内 10~20 分钟,再用肥皂刷洗。

常用器皿的处理

在微生物学实验中经常需用大量的消耗性器皿,如玻璃器皿、橡胶制品、塑料制品、金属器材等。对这些器皿要求较高,必须清洁、无菌,否则会影响培养基的酸碱度;如含有某种化学药品,可能抑制细菌的生长,影响预期的结果。因此,掌握各种器材的清洗、消毒是非常重要的。

一、玻璃器皿的处理

1. 主要程序

玻璃器皿的清洗一般要经过浸泡、刷洗、浸酸、清洗和灭菌五个步骤(见图 1-1)。

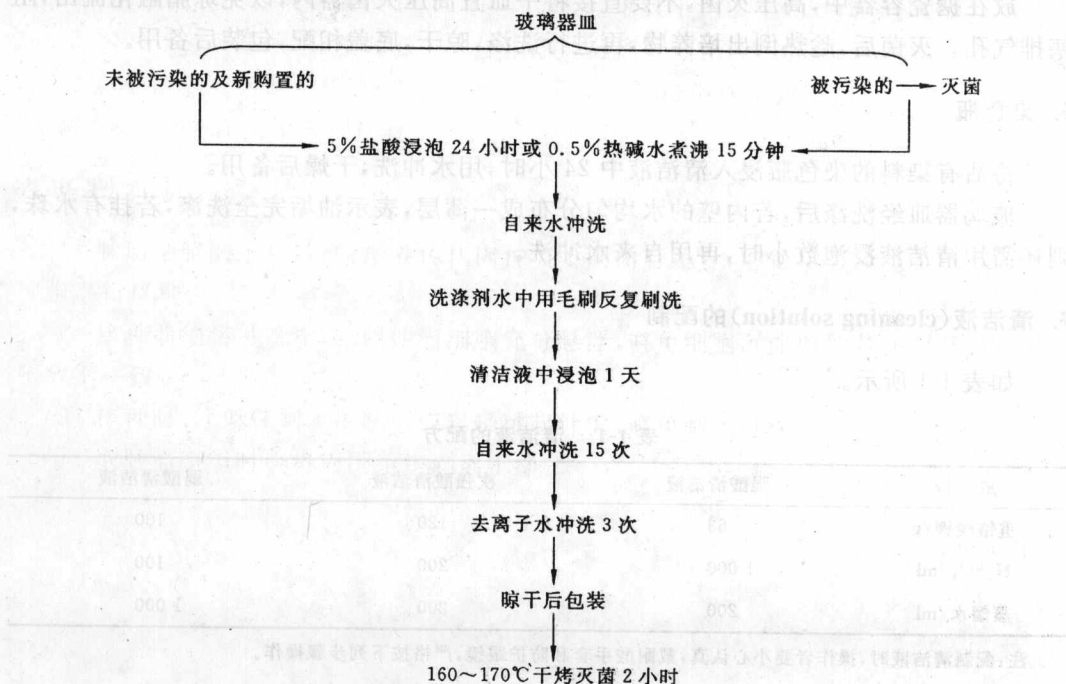


图 1-1 玻璃器皿的处理过程

2. 载玻片与盖玻片

用过的载玻片与盖玻片如滴有香柏油,要先用纱布擦去或浸在二甲苯内摇晃几次,使油垢溶解,再在 5% 的肥皂水中煮沸 10 分钟,用纱布擦拭,立即用自来水冲洗,然后在稀洗涤液中浸泡 2 小时,自来水冲洗,蒸馏水换洗数次,待干后浸于 95% 乙醇中备用。使用时在火焰上烧去乙醇。检查过活菌的载玻片或盖玻片应在 0.25% 新洁尔灭消毒液的标

本瓶内浸泡 24 小时后,取出洗涤。

3. 玻璃吸管

吸过血液、血清、糖溶液或染料溶液等的玻璃吸管,用后立即投入盛有自来水的量筒或标本瓶内(筒底或瓶底应垫以脱脂棉花,以免吸管投入时破裂)。若吸管顶部塞有棉花,则冲洗前先将棉花取出。吸过含有病原微生物培养物的吸管应立即投入盛有 0.25% 新洁尔灭消毒液的标本瓶内,24 小时后取出冲洗。

4. 含油脂的试管

凡沾有凡士林或石蜡的试管,应单独高压灭菌洗涤,以免沾污其他玻璃器皿。当高压灭菌后立即取出棉塞,趁热倒去污物,然后将试管倒置于铁丝框内,烤干后放碱水中煮沸 2 次,最后用肥皂水刷洗干净。

5. 培养细菌的平皿

放在搪瓷容器中,高压灭菌,不要直接将平皿置高压灭菌器内,以免琼脂融化流出,阻塞排气孔。灭菌后,趁热倒出培养物,再进行洗涤,晾干,底盖相配,包装后备用。

6. 染色瓶

将沾有染料的染色瓶浸入清洁液中 24 小时,用水冲洗,干燥后备用。

玻璃器皿经洗涤后,若内壁的水均匀分布成一薄层,表示油垢完全洗涤,若挂有水珠,则还需用清洁液浸泡数小时,再用自来水冲洗。

7. 清洁液(cleaning solution)的配制

如表 1-1 所示。

表 1-1 清洁液的配方

成 份	强酸清洁液	次强酸清洁液	弱酸清洁液
重铬酸钾/g	63	120	100
H ₂ SO ₄ /ml	1 000	200	100
蒸馏水/ml	200	200	1 000

注:配制清洁液时,操作者要小心认真,戴耐酸手套和防护眼镜,严格按下列步骤操作。

- (1) 按配方称量好重铬酸钾和蒸馏水,然后将重铬酸钾完全溶于蒸馏水中。
- (2) 再按配方把工业用浓硫酸缓慢(以产热很少为宜)加入(1)中,边加边搅。
- (3) 自然冷却、备用。

新配制的清洁液呈棕红色。当使用过久,清洁液的颜色变暗、发绿或混浊时,应弃去(深埋地下),配制新的。配制盛装清洁液的容器应耐酸、耐热、有较大的开口,一般用瓶缸、玻璃制品。