

首都医科大学教育教学改革系列教材——实验课程教材

◎ 主编 陈海伦

病原生物学与免疫学

实验教程



北京大学医学出版社

首都医科大学教育教学改革系列教材——实验课程教材

病原生物学与免疫学实验教程

主 编 陈海伦

副主编 赵文明 杨 静 杨雅平

编 者 (以姓氏拼音为序)

陈海伦 何秀娟 孔庆利 李 蕴

卢思奇 邵 萍 孙明洁 王少华

杨 静 杨雅平 赵文明 朱俊萍

诸欣平

北京大学医学出版社

图书在版编目(CIP)数据

病原生物学与免疫学实验教程/陈海伦主编. —北京:
北京大学医学出版社, 2007. 5
ISBN 978-7-81071-918-6

I. 病… II. 陈… 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 074217 号

病原生物学与免疫学实验教程

主 编: 陈海伦

出版发行: 北京大学医学出版社(电话: 010-82802230)

地 址: (100083) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京瑞达方舟印务有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 江 宁 责任校对: 金彤文 责任印制: 张京生

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 9 插页: 4 字数: 218 千字

版 次: 2007 年 6 月第 1 版 2007 年 6 月第 1 次印刷 印数: 1-5000 册

书 号: ISBN 978-7-81071-918-6

定 价: 18.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

网上增值服务说明

为了给一级建造师考试人员提供更优质、持续的服务，应广大读者要求，我社提供网上免费增值服务。

增值服务主要包括两方面内容：考试复习方法、答疑解惑，每个科目提供不同的内容服务。

使用方法如下：

1. 请读者登录我社网站(www.cabp.com.cn)“建造师考试网上增值服务”板块，阅读相关答疑内容。

2. 刮开封三上的防伪码，根据防伪码上的 ID 及 SN 号，上网通过验证后下载相关内容。

3. 如果输入 ID 及 SN 号后无法通过验证，请及时与我社联系。可通过邮件发至 E-mail: jzs@cabp.com.cn，或电话联系：010-68331447(周一至周五)。

请读者注意：增值服务从 2007 年 4 月 10 日开始，下载内容每月更新一次，累计更新 5 次，考试前结束，内容下载次数限定 12 次。

网上增值服务如有不完善之处，敬请广大读者谅解并欢迎提出宝贵意见和建议，谢谢！

《全国一级建造师执业资格考试用书》(第二版)光盘介绍

为帮助考生采取不同方式复习,针对考试用书的重点和难点,我们特别编制了配书光盘。光盘操作简单、界面友好,希望成为考生复习的好帮手。

一、主要内容

包含几百个有关难点和重点的问题,按照各章节的顺序逐一给出问题和答案。

二、运行环境

运行环境:

| | |
|-------|------------------------|
| 操作系统 | 中文 Windows2000/XP 操作系统 |
| CPU | 主频 800MHz 以上 |
| 内存 | 256MB 以上 |
| 硬盘 | 8GB 以上 |
| 光盘驱动器 | 8×CD-ROM 以上 |
| 彩色显示器 | 1024×768 标准字体模式 |

三、使用说明

1. 本光盘为自启动运行,将光盘置于光盘驱动器中,即可以启动,双击桌面快捷方式,或者在“我的电脑”中双击所在盘符,即可启动。
2. 按照光盘主界面上“网上增值服务”,进入中国建筑工业出版社网站“www.cabp.com.cn”,享受网上增值服务,请务必注意您的计算机已经登录互联网。

四、注意事项

1. 光盘的使用中如有问题请与以下号码联系:010-58933060
2. 技术支持邮箱:bjxzsjsupport@vip.sina.com

首都医科大学教育教学改革系列教材编委会

主任委员 吕兆丰

副主任委员 线福华

委员 (以姓氏笔画为序)

王晓燕 付丽 白玉兴 苏红星

陈海伦 郝刚 侯燕芝 黄艳

崔国辉 董小黎

总 序

社会经济的发展、医学模式的转变以及科技进步带来的医学理论、医疗方法和手段的发展变化，对卫生人才的知识结构和职业素质提出了更高的要求，高等医学教育面临着深化改革的新挑战；全球经济一体化加速了医学教育国际化的进程，高等医学教育面临着如何与国际医学教育接轨的新问题；我国高等教育事业完成了规模发展、取得了历史性突破之后，进入了内涵式发展的过程，高等教育面临着全面提高质量的新任务。

在此形势下，首都医科大学从 2005 年开始全面启动了新一轮教育教学改革。本轮改革以教育部 2005 年 1 号文件为指导，以《中国医学本科教育标准》为依照体系，以教育教学观念的转变为前提，以培养学生综合素质、实践能力和创新精神为目标，对本科各专业的人才培养模式、课程结构体系和内容体系、教育教学方法以及考核模式和评价方式等进行全面改革。

经过几年的努力，完成了本科各专业人才培养目标的论证以及教育教学模式和课程结构体系的改革，形成了新的培养方案；完成了本科各专业课程内容体系和课程内容的改革，形成了新的教学大纲；对基础医学实验教学资源进行全面整合，改革实验教学的模式和内容，形成独立设置的实验课程和具有创新意义的特色系列教材；进行了学生成绩考评模式的改革，形成了科学合理的评价方式，并在课程考核中逐步推广；在教学方法的改革和现代教育技术的应用方面也正在进行探索；在教学管理方面，建立了比较完善的教学运转体系和有效的质量监控体系，为进一步提高教育教学水平提供了有力的保障。

回顾改革以来的历程，首都医科大学的决策层、管理层以及广大教职员工为教育教学改革付出了艰苦的努力，克服了重重困难，迎来了教育教学改革系列成果的诞生。

本次出版的实验教学系列教材是教育教学改革成果的重要组成部分，是对人体解剖学、组织学与胚胎学、细胞生物学、分子生物学、生物化学、医学遗

传学、生理学、病理生理学、病理学、药理学、医学微生物学、医学免疫学、人体寄生虫学等 13 门课程的实验教学内容进行优化整合形成的，包括《正常人体形态学实验教程》《异常人体形态学实验教程》《医学生物学实验教程》《医学机能学实验教程》《病原生物学与免疫学实验教程》五部教材。这些成果凝聚着我校广大教师和教学管理工作者的集体智慧，也得到了医学教育界专家的指点。但是，由于其中包含了一些新的探索，难免存在一些不足和缺憾，在实践过程中还需按照医学教育的规律和医学教育改革的趋势不断进行完善。

如今，首都医科大学教育教学改革系列成果已经陆续面世了。我们期盼着这些成果的诞生能够成为首都医科大学教育教学水平和人才培养质量迈上一个新台阶的标志。

吕兆丰

2007 年 4 月

前 言

培养具有综合素质的创新型人才是新时期的教育方针，是我国高等教育新一轮教育、教学改革和教育转型的动因，也是现代大学教育的新的目标。医学是从实践中发展起来的科学。重视实践教学、重视学生实践能力和创新能力的培养而进行的实验教学改革是实现新的教育目标系统工程中的重要一环。正是在这样的背景和教育理念的引导下，我校组建了实验教学中心，开始了独立开设融合性实验课程的积极探索。

医学微生物学、人体寄生虫学和医学免疫学在临床疾病方面有着不可分割的联系。因此，以引起临床感染性疾病的生物病原及其病原学和免疫学诊断为主线，将上述三门学科整合开设独立的实验课是我们进行实验教学改革的初步尝试。其目的旨在使学生通过融合实验课将各学科理论知识从临床的角度融会贯通，对引起感染性疾病的各类病原生物有更全面地了解，并掌握基本的实验诊断技术，为提高今后的临床诊疗水平奠定基础。这些技能对将来在基层或边远地区工作的医生更为需要。另外，通过自主实验设计，还可增加学生的学习兴趣 and 探索欲望，培养学生的科学和创新思维、严谨求实的科学作风。

本实验教程的特色体现在以下两个方面：

1. 实验内容的选取和编排改变了以往单纯追求学科系统性的做法，而是打破学科界限、以临床实际出发，将教学内容按教学目标整合为基础实验（常用基本技术）、综合实验（运用基本技术解决临床问题）和设计性实验（学生根据病例或选题自行设计实验方案）三个模块。内容的选取更多地考虑的是培养临床医生所需要的基本技能和综合素质而非学科的系统性和全面性。

2. 针对模拟临床标本的检测，增加了病例摘要和讨论内容。学生提前接触病例可使教学更紧密联系临床实际，并增加学生的学习兴趣 and 求知欲望。在讨论中，更可深化对知识的系统理解，提高学生的综合分析问题能力和表达能力。

本实验教程的内容包括医学微生物学、人体寄生虫学和医学免疫学的基本实验技术、模拟临床感染标本的病原生物和免疫学诊断方法、新实验技术介绍、

病例学习和讨论等内容，并新增了实验室生物安全有关内容。教学形式分为形态观察、录像演示、实际操作和自学等部分。形态观察包括病原生物的形态染色标本片、培养物和感染脏器病理标本。录像内容包括操作技术规范、新实验技术介绍等。自学内容为有关的仪器介绍、实验原理以及因时间关系不要求同学实际操作的部分实验内容的介绍。书后附有常用的溶液、染液和培养基的配制、常用染色方法、部分病原生物和免疫学中英文词汇、以及常见病原生物的形态彩图。

本教程适用于临床、预防、护理等专业的七年制、五年制和三年制的学生。

本实验教程的编写参考了诸多兄弟院校的经验，也凝聚了我校病原生物学系和免疫学系教师和技术员的心血，并得到我校和基础医学院的领导和专家、教务处及教材科、电教中心、佑安医院肝炎研究所、临床检验中心和免疫室的大力支持和帮助。本教程中采用的部分病例选自张玲霞主编的《传染病案例分析》一书。病原生物实验室的王珂、赵冬、高燕同志提供了细菌形态学的照片。在此一并表示衷心地感谢。

本实验教程的编写，是我校实验教学改革向独立开设实验课并进行学科融合走出的第一步。限于编者的学术和技术水平以及时间仓促等诸多方面的不足，使得本实验教程在内容的取舍和编排上，尤其在设计性实验的选题方面，尚存欠缺和不成熟之处，恳请各位同仁和学生在使用过程中多提建设性意见。

陈海伦

2007年4月20日于北京

目 录

| | |
|---------------------------|-------------|
| 病原生物实验室安全守则 | (1) |
| 病原生物实验室意外事故紧急处理办法 | (2) |
| 病原生物学与免疫学实验的目的和要求 | (3) |
| 第一部分 基础实验 | (5) |
| 实验 1 实验室生物安全 | (5) |
| 实验 2 实验室常用物品的准备和消毒灭菌 | (10) |
| 实验 3 显微镜使用方法 | (14) |
| 实验 4 细菌的形态观察 | (18) |
| 实验 5 真菌形态和培养性状观察 | (22) |
| 实验 6 病毒的形态观察 | (24) |
| 实验 7 寄生虫的虫卵形态观察 | (24) |
| 实验 8 细菌的接种和培养 | (26) |
| 实验 9 环境、物体及人体表的细菌培养及消毒灭菌 | (30) |
| 实验 10 细菌总数测定(平板菌落计数) | (31) |
| 实验 11 凝集反应 | (33) |
| 实验 12 沉淀反应 | (36) |
| 实验 13 酶联免疫吸附实验 | (40) |
| 第二部分 综合实验 | (43) |
| 综合实验一 脓标本和咽拭子的细菌检查 | (43) |
| 实验 14 模拟脓标本和口/咽部细菌的分离培养 | (44) |
| 实验 15 模拟脓标本的分离培养结果鉴定 | (44) |
| 综合实验二 呼吸道感染常见病原生物的实验室检查 | (47) |
| 实验 16 呼吸道感染常见细菌和病毒 | (47) |
| 实验 17 卫氏并殖吸虫(肺吸虫)和卡氏肺孢菌 | (48) |
| 综合实验三 肠道感染常见病原生物的实验室检查 | (50) |
| 实验 18 肠道感染常见细菌和病毒 | (50) |
| 实验 19 肠道杆菌的培养和鉴定 | (51) |
| 实验 20 肠道感染原虫 | (55) |
| 实验 21 肠道感染线虫 | (57) |
| 实验 22 肠道感染绦虫和吸虫 | (60) |
| 综合实验四 泌尿生殖道感染常见病原生物的实验室检查 | (64) |
| 实验 23 泌尿生殖道感染常见细菌和真菌 | (64) |

| | |
|---|-------|
| 实验 24 阴道毛滴虫 | (66) |
| 综合实验五 皮肤创伤及组织、血液感染常见病原生物的实验室检查 | (67) |
| 实验 25 化脓性球菌和芽胞杆菌 | (68) |
| 实验 26 疟原虫和刚地弓形虫 | (68) |
| 实验 27 旋毛形线虫和包生绦虫 | (73) |
| 实验 28 医学节肢动物 | (76) |
| 综合实验六 肝脏感染的常见病原生物及其实验室检查 | (82) |
| 实验 29 肝炎病毒 | (82) |
| 实验 30 华支睾吸虫(肝吸虫)和日本裂体吸虫(血吸虫) | (88) |
| 综合实验七 血吸虫感染小鼠及病理学观察和诊断方法 | (91) |
| 实验 31 尾蚴感染小鼠及小鼠病变现象观察 | (91) |
| 实验 32 血吸虫感染的诊断 | (92) |
| 综合实验八 HIV 感染者的细胞免疫功能检查 | (94) |
| 实验 33 流式细胞术检测 CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T 淋巴细胞 | (95) |
| 实验 34 ELISPOT 法检测分泌细胞因子的细胞 | (97) |
| 综合实验九 细菌的耐药性及耐药机制检测 | (99) |
| 实验 35 抗生素敏感性实验(K-B 纸片琼脂扩散法) | (100) |
| 实验 36 耐药因子(R 质粒)传递实验 | (101) |
| 第三部分 设计性实验 | (103) |
| 设计实验一 模拟感染性粪便标本的病原学诊断 | (103) |
| 设计实验二 根据乙型肝炎病例设计实验室诊断方法 | (107) |
| 设计实验三 小鼠感染病原生物及其细胞免疫现象检查 | (108) |
| 设计实验四 小鼠抗体形成细胞的检查 | (111) |
| 附录 | (115) |
| 附录 1 常用染色液和染色方法 | (115) |
| 附录 2 常用液体配制方法 | (118) |
| 附录 3 细菌培养常用培养基 | (121) |
| 附录 4 常用病原生物与免疫学中英文词汇 | (124) |
| 附录 5 教科书和参考书 | (131) |
| 附录 6 常见病原生物形态彩图 | (133) |

病原生物实验室安全守则

《病原生物学与免疫学实验教程》包括医学微生物学、人体寄生虫学和医学免疫学三个专业的实验教学内容。实验中所用标本大多含有活的生物病原，其中有些微生物传染性很强。因此，实验中必须严格树立“无菌概念”，严格遵守无菌操作技术规范，防止实验中发生自身感染和环境污染。为此，特制定下列安全守则，希望全体师生共同遵守：

一、进入实验室前必须穿好白大衣，离开时脱下并反折；必要时戴口罩、帽子。

二、与实验无关物品不得放在实验台上；书包、衣物等挂在衣架上；必要的学习用具可放入实验台抽屉内；实验指导应放置于远离操作的部位。

三、实验室内禁止饮食、嚼口香糖、咬笔杆、吸烟、化妆、触摸隐形眼镜、打闹喧哗、随便走动等。

四、接触病原生物时，应严格按照无菌操作技术要求操作。

1. 接种环（针）在使用前后均应烧灼灭菌，用后插在接种环架上，不得任意放在桌面上。

2. 含细菌培养物或体液的试管必需加盖、直立插在试管架上，并在实验台内侧摆放，不得任意横放于桌面上；非操作时不得任意打开盖子并将盖子随意放于桌面。含菌培养皿一律倒置搁放。

3. 用过的有菌器材等应放在指定的消毒容器内，不得随意放在桌面上或水槽内。

4. 若发生任何意外污染（如含菌试管或平皿被打破、菌液外溢等）应立即报告带教老师进行消毒灭菌处理。

五、使用电炉、微型灭菌器和酒精灯要注意防火。不要把易燃物品（如纸、棉拭子等）包括电炉的电源线靠近热源附近。用电炉加热液体时不能离人，要防止溢出或烧干。电炉用后应立即切断电源，放到不易碰到之处冷却，避免接触烫伤。微型灭菌器在短时间不用时应调节在低温待机档，使用结束应关闭电源。酒精灯点燃前需将灯芯及塞子轻轻上提，排出灯内气体以防止火星爆出。酒精灯用后应及时盖上罩熄火。

六、进行动物实验时，不得虐待动物。动物尸体应放在塑料袋中集中放于指定地点按规定处理。

七、爱护公物，节约使用实验材料；严格按照实验仪器的操作规则使用仪器。未经教师允许，不得擅自将实验室内物品携出。实验器材不慎损坏应立即报告。

八、实验完毕需及时整理台面、清点回收物品。值日生打扫室内卫生、关闭不用的仪器、水、电、门、窗。全体同学以肥皂流水洗手后方可离开实验室。

病原生物实验室意外事故紧急处理办法

一、菌液误入口 立即将误吸入口的菌液吐于消毒容器内，并用 1:1000 高锰酸钾溶液或 3% 双氧水漱口；并根据菌种不同，服用抗菌药物预防感染。

二、手指沾有活菌 浸于 0.1% 新洁尔灭液 5min 后用肥皂或流水清洗，或用 2% 碘酒涂抹后再用 75% 酒精棉球涂抹。

三、菌液污染环境 将适量 5% 来苏液、0.1% 新洁尔灭液或 0.5% 84 消毒液倾于污染面上，覆盖半小时后擦净。

四、化学药品腐蚀伤 如不慎被酸、碱等化学药品溅到皮肤或眼睛上，应马上用大量清水冲洗。可用 5% 碳酸氢钠中和酸腐蚀；5% 醋酸或 5% 硼酸中和碱腐蚀。

五、液氮冻伤 若发生液氮滴洒在裸露的皮肤表面或鞋内发生冻伤，切忌烘烤，应当立即脱去鞋袜，把受伤部位放在 40~45℃ 的温水浴中浸泡。受伤严重者应送医院治疗。

六、酒精灯芯塞子爆出引起烧伤 轻伤如局部皮肤发红无破损可浸入冷水止痛，然后局部涂抹凡士林。

七、火警险情

1. 干烤箱温度过高时打开箱门可能引起箱内物品着火。此时应立即关闭箱门、切断电源或气源。

2. 酒精、乙醚等有机溶剂起火应采用沙土或干粉灭火器、1211 或 1301 灭火器灭火。使用灭火器时，先拔保险插销，然后压握把手，将喷射筒对准燃烧物。

病原生物学与免疫学实验的目的和要求

通过本课程的实践，应使学生达到下列教学目的：

- 一、牢固树立无菌观念，掌握生物安全的基本知识和病原生物实验中的无菌操作技术。
- 二、用光学显微镜识别常见病原生物的基本形态，掌握常用的涂片和染色技术。
- 三、熟悉感染性疾病的常见病原生物种类及其检测方法；了解病原生物学和免疫学实验技术的新进展。

为保证实验课的效率 and 效果，学生应做到：

一、预习 实验课前应预习，明确本次实验课内容、理论依据及操作中的注意事项，尽量避免或减少实验失误。

二、合理分配时间 根据不同实验的操作流程和所需时间，合理安排各项实验的操作顺序以提高效率。

三、协作和独立思考 操作中同学之间要互助、协作，也要力求独立思考、勤于动手，做到善于发现问题、提出问题、分析讨论和解决问题。也可根据每个单元后附的思考和讨论题进行总结。

四、实验报告 及时观察并真实记录实验结果，独立完成实验报告。实验报告内容包括：实验名称、目的、材料、步骤流程、结果及其意义分析。如实验结果与理论或预期结果不符，应分析探讨其原因。

五、实验绘图 病原生物学部分实验内容以观察形态标本为主，真实准确地记录所观察的标本对正确掌握其形态特点至关重要。因此，绘图是实验基本技术之一，应重点掌握以下要领：

1. 绘图笔 实验前准备好铅笔和红、蓝、黄、绿、褐色等彩笔和绘图本，不得使用圆珠笔或钢笔。

2. 仔细观察、真实记录 认真观察和分析病原生物的主要形态特点并仔细、真实地绘图记录。画面需整洁、字迹清楚。

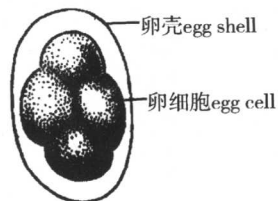
3. 绘图方法 根据标本的特点选择下列方法：

①铅笔点线图：铁苏木素染色和无色标本应选择铅笔点线图，用点和线勾画标本结构图，线要流畅，点要圆，可利用点的疏密表示病原生物的立体感（不用衬阴画法）。

②彩图：除铁苏木素染色外，其他染色和有颜色的标本要求绘彩图，按所观察标本的实际颜色绘制。

4. 按标本大小比例绘图 构造复杂和体积较小的标本图可画大些，以展示其结构；构造简单和较大的标本可画小些，画清楚结构，以不影响标注为准。绘图中注意标本的长宽比例和内部结构的位置，特别注意不同病原生物同类标本之间（如虫卵类标本之间、包囊类标本之间）以及同种寄生虫不同阶段之间的大小比例。绘制的标本图以符合实物比例为准。

5. 图注 所有绘图必须加注中英文，一律用平行线引出图注，所有标注前后对直，标本名称一律写在图的下方（见右图）。



钩虫卵Egg of hook worm



实验 1 实验室生物安全

Laboratory Biosafety

【教学内容】

1. 实验室生物安全的有关概念。
2. 生物安全防护。
3. 生物安全柜。

【目的与要求】

1. 了解生物安全的基本概念、生物因子的危险度分级和生物安全防护水平的分级与防护措施，树立无菌观念。
2. 熟悉病原微生物实验室操作技术规范，了解实验室意外事故的紧急处理方法。

【自学】

工作人员的责任心对于实验室安全操作至关重要！

——摘自 WHO《实验室生物安全手册》

实验室生物安全是针对生物危害提出的。当前世界上仍存在两类主要的生物危害：由高致病性生物因子引起的各类传染病，尤其是新发现和再次流行的传染病如 SARS (severe acute respiratory syndrome)、禽流感、炭疽等；另一类是恐怖分子利用高致病性生物因子制造的生物恐怖。对这些致病性生物因子进行研究和试验，使病原微生物实验室成为很特殊的工作环境，而实验室感染贯穿了微生物学的整个历史。

为了防止实验室感染的发生，美国于 20 世纪中叶建立了第一个生物安全实验室。世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 于 1983 年出版了《实验室生物安全手册》(2004 年已出版了第三版)。美国疾病预防控制中心/国立卫生研究院 (Centers for Disease Control and Prevention / National Institutes of Health, CDC/NIH) 发布的《微生物和生物医学实验室的生物安全》(Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, BMBL) 最早提出将病原微生物的危险度和实验室分为四级的概念。CDC/NIH 于 1999 年公布的《BMBL》第四版目前被国际上公认为实验室生物安全管理方面的“金标准”。

我国在 2003 年 SARS 流行期间开始起草并于 2004 年正式颁布《实验室生物安全通用要求》。这是我国第一部关于实验室生物安全的国家标准。2004 年 11 月国务院又颁布了《病原微生物实验室生物安全管理条例》(以下简称《条例》)，标志着我国病原微生物实验室生物安全的管理步入法制化的轨道。

实验室生物安全的内容主要涉及病原微生物危害程度的评估和分级、无菌操作技术规范、生物安全设备以及实验室的设计和建设标准与分级等。其主要目的是使实验室在处理或保存传染性材料时，保证实验室工作人员、其他人员和环境的安全。