

变态反应实验技术

乔秉善 编著

科学出版社



变态反应实验技术

乔秉善 编著

科学出版社

1990

内 容 简 介

本书系我国首次正式出版的一部有关变态反应实验技术书籍。书中系统地介绍了各种变应原浸液的制备技术;变应原材料的收集方法;体内、体外诊断实验操作;常用仪器、器皿的种类、使用及国外有关变应原研究进展等。书中还详细地介绍了常见常用气传致敏花粉、真菌和尘螨实验方法、分类和形态特征,并均附有其形态照片。

本书可供变态反应工作者及其他有关医药卫生人员的参考。

Z1128/03

变态反应实验技术

乔秉善 编著

责任编辑 潘秀敏

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100707

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1990年7月第 一 版 开本:787×1092 1/32

1990年7月第一次印刷 印张:12

印数:0001—1 000 字数:272 000

ISBN 7-03-001676-9/Q·244

定价:12.00 元

序

临床变态反应学不同于其他临床医学,其最大的特点在于它所特具的实验室技术。可以断言,一个上乘的变态反应临床必然伴随着一个上乘的变态反应实验室。因为变态反应实验室为变态反应临床提供诊断和防治的一切重要手段,包括高效价的诊断和治疗用变应原、各种体内和体外的特异及非特异检验、以及各种气传致敏因子的日常追踪监测等。这些年来,由于免疫学的进展,对变态反应实验技术赋予了不少新的内容。例如变应原制备的新工艺,变应原标准化的新方法,各种酶标免疫、放射免疫、荧光免疫在变态反应的应用,各种化学活性介质的微量测定,免疫球蛋白和补体的测定,变应原激发试验,各种特殊药物应用中的血浓度监测,以及高精度的肺功能测定等。这些新内容使变态反应实验技术成为变态反应范围内一个极为活跃的领地。

乔秉善同志从事变态反应实验技术工作 20 余年,积累了丰富的经验,特别在大气生物学方面有很多专长。由于他的勤奋,创造性地建立了一套适合我国国情的变态反应实验技术,现在把它总结成书,提供给国内从事变态反应工作的同行们,让更多的人得以分享他的宝贵经验,这无疑对我国变态反应实验技术的发展将起到很大的推动作用。我希望本书的出版发行将引起全国变态反应同行对变态反应实验技术的重视,把我国变态反应研究工作,建立在坚实、可靠和创新的基础之上。

叶世泰

1989 年 7 月于北京协和医院

前 言

本书初稿《变态反应学实验技术》曾于1980年由江苏医学情报所等单位内部印出,受到了变态反应学界的欢迎。

近10年来,随着医学科学的不断前进,变态反应学科的发展亦极为迅速,迄今为止,全国绝大部分省市及地区都有专门人员从事这个学科的医疗和研究工作,一个庞大的变态反应专业队伍已经建立起来。与此同时,本学科的临床和实验研究也有了新的进展。在此情况下,为了适应工作的需要,作者对初稿重新进行了修订和增写,并定名为《变态反应实验技术》。

全书共分十五章,每一章都增加了新的内容,并增加了部分章节;为了便于读者了解国外有关变应原研究情况,还专门写了“变应原剂型的研究进展”,附于书后。

本书在编写过程中,得到了协和医院变态反应科领导的关怀及全科同志们的大力支持。叶世泰教授在百忙中为本书写了序;第七章第三节由张志超教授撰写;对流免疫电泳一节及酶联免疫吸附试验一节,是在王宇、段淑琴技师的协助下写成;“变应原剂型的研究进展”系由朱栓立医师协助查阅大量文献后写成。在此,谨向他们表示衷心的感谢!

变态反应实验是一门综合的实验技术。它围绕着生物制剂,横跨好几个领域:既有生物化学、免疫学,又有微生物学、昆虫学;既有植物分类学,又有孢粉形态学……。本书是在突出主要内容的前提下,并从以上几方面加以编写的,其宗旨是力求理论和实验方法结合,重在实用。如果它能在各地的

变态反应实验研究中起到一点参谋和助手作用，那也正是作者的目的。鉴于个人业务技术水平有限，书中缺点或错误在所难免，不妥之处，敬希读者和广大变态反应工作者批评指正。

作者

1989年2月

目 录

序

前言

第一章 变态反应实验室的设计及管理	1
第一节 实验室的设计	1
第二节 实验室的管理	5
第二章 常用仪器、器皿的种类、使用及维护	9
第一节 常用玻璃器皿的名称及使用	9
第二节 普通仪器种类及使用	16
第三节 精密仪器的使用及维护	20
第三章 变应原浸液的制备通则	32
第一节 粉碎	33
第二节 净化	35
第三节 去脂	36
第四节 提取	39
第五节 过滤与分离	42
第六节 透析	44
第七节 浓缩	46
第八节 酸碱度的校正	48
第九节 除菌过滤	49
第十节 分装	57
第十一节 灭菌检查	58
第十二节 毒性试验	59
第十三节 标准化	61
第十四节 贴标签及填写制备记录单	62
第十五节 冷藏	63

第四章 变应原浸液的制备细则	67
第一节 屋尘、工业粉尘变应原浸液的制备	67
第二节 花粉变应原浸液的制备	70
第三节 真菌变应原浸液的制备	74
第四节 昆虫变应原浸液的制备	78
第五节 尘螨变应原浸液的制备	83
第六节 羽毛变应原浸液的制备	87
第七节 动物毛变应原浸液的制备	88
第八节 纤维及谷类皮壳变应原浸液的制备	89
第九节 谷类变应原浸液的制备	91
第十节 饮料类变应原浸液的制备	92
第十一节 蛋类变应原浸液的制备	93
第十二节 肉类变应原浸液的制备	94
第十三节 水产类变应原浸液的制备	95
第十四节 乳类变应原浸液的制备	96
第十五节 蔬菜类变应原浸液的制备	97
第十六节 水果类变应原浸液的制备	98
第十七节 干果及油料作物变应原浸液的制备	99
第十八节 调味品类变应原浸液的制备	100
第十九节 香烟烟变应原浸液的制备	100
第二十节 多价变应原浸液配方	102
附表 各类变应原制备检索	106
第五章 变应原提取液及灭菌检查用培养基的配制	108
第一节 变应原提取液的配制方法及选择使用	108
第二节 灭菌检查用培养基的配制方法及选择使用	112
第六章 变应原浸液的标准方法	114
第一节 蛋白质沉淀方法	114
第二节 微量凯氏定氮法	116
第三节 与本测定方法有关的辅助试验	124
第四节 变应原浸液实测举例	125

第七章	特异性过敏原体内检测方法	129
第一节	皮内试验检测方法	129
第二节	挑刺试验检测方法	133
第三节	划痕试验检测方法	136
第四节	斑贴试验检测方法	137
第五节	被动转移试验(P-K 试验)检测方法	141
第六节	结膜试验检测方法	143
第七节	鼻粘膜试验检测方法	144
附	协和医院临床常规用皮肤试验记录单	145
第八章	体外实验诊断方法	149
第一节	分泌物嗜酸细胞的检查方法	149
第二节	痰分泌物病原真菌检查方法	151
第三节	鼻粘膜表面嗜碱粒细胞检查方法	154
第四节	琼脂双扩散法	155
第五节	对流免疫电泳	159
第六节	酶联免疫吸附试验	164
第九章	脱敏注射液的配制及脱敏技术	172
第一节	脱敏注射液的配制	172
第二节	脱敏治疗方法	176
第三节	磷酸组织胺注射液的配制	181
第十章	细菌菌苗的制备	184
第一节	标本采取和细菌分离培养	184
第二节	菌苗的制备方法	189
第三节	菌苗的使用方法	192
第十一章	消毒及灭菌	194
第一节	实验用品及操作室的消毒	194
第二节	实验用品的灭菌	197
第三节	无菌技术	199
第十二章	气传致敏花粉及其植物的实验方法	201
第一节	识别植物的基本方法	201

第二节	花粉的一般形态及鉴定	208
第三节	空气中花粉的调查	217
第四节	植物标本的采集和制做	223
第十三章	气传致敏真菌的实验方法	226
第一节	真菌的基本知识	226
第二节	空气中真菌的调查方法及分离接种	230
第三节	空气中真菌的鉴定技术	240
第十四章	主要气传致敏花粉及植物形态	248
第十五章	主要气传致敏真菌形态	303
附录 1	变应原剂型的研究进展	351
附录 2	协和医院变态反应实验室制备的部分变应原 PNU 含量	358
附录 3	变态反应实验室常用仪器、器械及试剂	361
	主要参考文献	364
	索引	365

第一章 变态反应实验室的设计及管理

变态反应实验室是医疗、教学、科研的重要基地。它担负着变应原的制备、临床检验、各种体外诊断以及致敏微生物、致敏花粉和其它所有致敏材料的收集、培养、鉴定、处理等多方面的常规工作及繁重的教学、科研任务。为了适应工作的需要，对实验室必须进行合理的设计和建立一套科学的管理方法。

第一节 实验室的设计

实验室的设计并没有固定的模式，可根据任务的多少和当地设备、条件等情况来决定。原则上，变应原的制备必须有单独的房间，应该和其它工作分开，特别是远离微生物、花粉等材料的操作，以防止污染。

下面分为几个室予以介绍。

一、变应原制备室

用途。变应原的制备，变应原的标准化，变应原的冷藏，变应原材料的贮存等。

设计要求。房间应宽敞，采光明亮，面积以 24—36 平方米为宜。

设计安排如下。

1) 无菌室。专供变应原制备用。可在房间内一角隔成，

内装双层玻璃、换气扇。面积约2平方米左右。室内设有操作台,刷洗池,照明灯,紫外线消毒灯,真空泵,各种除菌滤器等。

2) 毒气橱。供加热有机溶剂等用。在房间内一角隔成,面积不超过1平方米。橱内设有照明灯,加热用电炉;橱外顶端通风管道旁装有抽气机。

3) 边台。放置磁力搅拌器、振荡器等仪器。

4) 水泥台。台上安放分析天平。

5) 中心台。台上设双层试剂架,放置常用试剂。

6) 刷洗池。洗涤用。

7) 制冷工具。变应原冷藏用。如冰箱、冰柜等,可根据需要选择使用。

8) 壁柜。放置器械及其它实验用品等。

其它主要设备。离心机,恒温培养箱,干燥箱,恒温水箱,普通天平,凯氏定氮仪,粉碎机,变应原材料陈列柜,标本陈列柜及桌、椅、凳等仪器及用具。

二、生化、免疫室

用途。进行体外实验诊断,如琼脂扩散,免疫电泳,嗜碱细胞脱颗粒试验,酶联免疫吸附试验以及变应原纯化研究等。

设计要求。房间应宽敞,背光,面积不小于24平方米。

设计安排如下。

1) 生化台。用于实验操作。

2) 中心台。台上设双层试剂架,放置常用试剂。

3) 水泥台。安放精密仪器。

4) 刷洗池。日常洗涤用。

5) 低温冰箱。存放需低温冷藏试剂、血清等。

其它主要设备。除上述设备及仪器外,尚需普通冰箱,电

泳仪,微量酶标分光光度计,721型分光光度计,微量吸管,分析天平,普通天平,离心机,恒温水箱,干燥箱和光学显微镜等。

三、真菌工作室

用途。气传及致敏真菌的分离、接种、培养及致敏真菌变应原材料的收集、处理等。

设计要求。房间要求背光,面积不小于20平方米。

设计安排如下。

- 1) 靠窗边台。一般操作用。
- 2) 靠墙壁架。用于致敏真菌人工培养收集材料。可整面墙设置,直通屋顶,中间多层层板,形同书架或病历架。
- 3) 接种柜。用于菌种的分离、接种。使用木料或有机玻璃制做均可(图1-1)。柜内装有照明灯和紫外线灯。

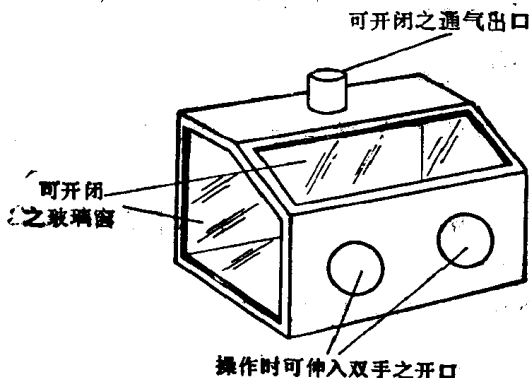


图 1-1 微生物接种柜

- 4) 中心台。台上设双层试剂架,放置常用试剂。
- 5) 超净工作台。用于真菌的集落接种培养等操作。
- 6) 换气扇。在靠窗的一边上方安装。

7) 大刷洗池。洗涤用。

其它主要设备。除上述设备及仪器外,尚需光学显微镜,组织捣碎机,分样筛,恒温培养箱,接种针,酒精灯,培养皿,载玻片,盖玻片,切片盒及大量1 000 毫升三角烧瓶等。

四、花粉培育室

用途。供气传及致敏花粉材料的采集、培育用。

设计要求。房间应宽敞,采光充足,面积不小于20 平方米。

设计安排如下。

- 1) 靠窗及靠墙边台。实验操作及培育花粉用。
- 2) 换气扇。靠窗上方安装。
- 3) 刷洗池。洗涤用。
- 4) 标本柜。贮藏腊叶标本等用。

其它主要设备。分样筛,组织打碎机等。

五、形态研究室

用途。供气传花粉、微生物、尘螨、昆虫等形态研究和教学用。

设计要求。房间应背光,面积不小于20 平方米。

设计安排如下。

- 1) 暗室。供洗印照片用。可在房间内一角隔成,面积约2 平方米。内装备放大机,印相机,切纸刀,洗相用水池等。
- 2) 靠墙边台。台上安放显微照相装置,反拍架等。
- 3) 靠窗边台。供一般操作用。
- 4) 刷洗池。洗涤用。

其它主要设备。普通照相机(带三角架),碘钨灯,显微镜,解剖镜,普通放大镜,标本柜,上光机,各种型号相纸,黑

白、彩色胶卷等。

六、杂用室

用途。用于贮存变应原溶媒，各种表格，各种用具、杂物等。

设计要求。要求干燥、背光，冬季应有暖气设备，面积12—16平方米。

设计安排如下。

1) 靠墙处均安装货架，将各类物品分类存放，以便于查找并防止损坏。

2) 靠窗上方安装排风扇。

第二节 实验室的管理

管理是一门科学。一个井然有序、组织严密的实验室，是使工作顺利进行的必要保证。无论实验室规模大小，任务多少，都必须实行严格的科学管理。

一、工作守则和安全技术操作

变态反应实验室根据其工作性质，应制定出相应的工作守则和技术操作制度，并把其抄写和镶嵌在镜框内，挂在醒目的地方，使每个工作人员都能熟悉并掌握其内容要求。实验室负责人要带头遵守和负责督促下级工作人员执行。

1) 实验室应经常保持整齐、清洁，各种用具都应存放固定地点。每次工作结束或暂告一段落时，仪器、用品要排列整齐，台面要擦拭干净，一切废物要及时处理。

2) 做实验时，要严肃、认真、细致，操作要诚实，力求精确，严格遵守操作规程。最好随时将实验情况记录在卡片或

手册上,并详细记录材料的种类、所用试剂、操作程序以及实验结果等。实验中如发生疑问,应立即停止,不要仓促行事。总之,有关实验的一切情况,都应全面、准确地记录下来。

3) 室内各种贵重仪器及物品要有专人保管,建立使用登记卡,以备出现问题及时查找。

4) 严禁在实验室内说笑、打闹、吸烟和招待客人。

5) 进修生和参观学习人员需严格遵守实验室规定,一切实验操作(包括贵重仪器及药品的使用),均应在老师的带领或指导下进行;实验室的物品未经许可,不得擅自动用或带出室外。

6) 为了避免中毒、烧伤,工作时必须穿工作服,必要时戴帽子和口罩。工作服不要存放于个人的衣帽橱中,应挂在实验室更衣处的挂钩上。

7) 进行与可燃物质有关的一切工作时,要注意附近不要有明火,如煤气灯、酒精灯或敞开的电器加热器等,以防发生燃烧或爆炸事故。

8) 停止电流供应时,要把插头拔掉,防止因偶然故障,在无人照管的时候烧坏仪器。

9) 对未知物不要用嘴尝或鼻吸。使用乙醚、丙酮、甲苯等溶剂去脂时,最好在毒气橱内或室外通风处进行,防止中毒。

10) 使用试管加热液体时,注意试管口不要对着自己或他人,以防气体喷出造成烫伤事故。

11) 毒性物质撒落时,应立即收拾起来,并把落过毒物的实验台或地面擦洗干净。工作中使用毒物后,要仔细洗手。

12) 酒精灯在未熄灭前,不要注入燃料,防止火灾事故。

13) 溶液飞沫或浸于水中的固体粉剂落入眼睛时,应立即用大量清水冲洗,并进行必要的治疗。

14) 使用清洗液时,要围塑料围裙和戴耐酸手套,防止烧

坏衣服及皮肤。一旦衣服或皮肤溅落上酸滴，要立即用大量清水冲洗。

15) 实验室必须设置灭火器材，并要放在显著的地方备用。一旦发生火灾，切不要惊慌失措，应根据失火情况，使用干沙土、灭火毡或灭火器等；在着火区内的一切易燃易爆物品，必须立即拿开。

16) 离开实验室前，要检查灯、水、电门、门窗是否关好，防止浪费，杜绝事故。

二、药品、试剂的贮存

实验室内常需贮存一定量的化学药品和试剂（指原装化学试剂和经制备直接用于实验的各种浓度的试剂），对这些药品或试剂应设有专人负责，尤其日常使用的大部分药品，都有一定的毒性和易燃易爆的性质，管理不当，容易发生事故。

1) 大量的化学药品一般不要贮存在实验室内的柜橱里，更不应堆积在台子上，最好贮藏在一个专门的药品贮藏室，室内要求背光、干燥、通风良好，温度以 $15-20^{\circ}\text{C}$ 为宜，最高不要超过 25°C 。

2) 各种药品要分门别类排放在专门的橱柜里，如盐类、酸类、碱类、有机溶剂类等，以便于查找和拿取方便。药柜应该关门防尘。但根据国家公安部门规定，危险的药品必须分柜保管，如燃烧剂乙醚、丙酮、甲苯、二甲苯、甲醇、无水乙醇等，不能和氧化剂氯酸钾、高锰酸钾、双氧水、重铬酸钾等混合存放。氧化剂又称助燃剂，本身不能燃烧，但受高温与其它化学药品（如酸类）作用时，能产生大量的氧气，从而促使有机溶剂燃烧或爆炸。

3) 各种强腐蚀剂如硫酸、盐酸、硝酸等，虽不能引起或帮助燃烧或爆炸，但其本身（或挥发出来的气体）具有强腐蚀性，