

高等医药院校教材

A Concise Experimental Text in Pathobiology

病原生物学 简明实验教程

主编 李明远 刘佩娜



四川出版集团
四川出版集团
四川出版集团
四川出版集团

四川大学出版社



高等医药院校教材

病原生物学简明实验教程

主 编 李明远 刘佩娜

四川大学出版社

责任编辑:孙 激 刘志勇
责任校对:刘志勇
封面设计:罗 光
责任印制:曹 琳

图书在版编目(CIP)数据

病原生物学简明实验教程 / 李明远, 刘佩娜主编. —成都:
四川大学出版社, 2004.8
高等医药院校教材
ISBN 7-5614-2903-7

I. 病... II. ①李... ②刘... III. 病原微生物-医
学院校-教材 IV. R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 089676 号

书名 病原生物学简明实验教程

主 编 李明远 刘佩娜
出 版 四川大学出版社
地 址 成都市一环路南一段 24 号 (610065)
发 行 四川大学出版社
印 刷 华西医科大学印刷厂
开 本 787 mm×1 092 mm 1/16
印 张 13.5
字 数 290 千字
版 次 2004 年 8 月第 1 版
印 次 2004 年 8 月第 1 次印刷
印 数 0 001~3 000 册
定 价 20.00 元

◆ 读者邮购本书, 请与本社发行科
联系。电 话: 85408408/85401670/
85408023 邮 政 编 码: 610065

◆ 本社图书如有印装质量问题, 请
寄回出版社调换。

◆ 网址: [www. scupress. com. cn](http://www.scupress.com.cn)

版权所有◆侵权必究
此书无本社防伪标识一律不准销售

前 言

21 世纪,随着生命科学的快速发展,以及近年来公共卫生方面突发事件的增多,医学界对病原生物的研究越来越重视。为适应病原生物学学科的发展和满足该学科教学的需要,为提高学生理论联系实际解决问题的能力,为培养学生的独立思考能力、独立操作技能,以及提高教师病原生物学实验课的教学质量,编者在查阅国内外有关资料,参考兄弟院校相关实验教程,总结并吸收近年来病原生物学实验课教学经验的基础上,结合本学科的特点,编写了这本《病原生物学简明实验教程》。

本教程根据学科的特点和发展趋势,将病原生物学实验分为医学微生物学实验和人体寄生虫学实验两部分,包括 70 个实验。在每个实验的开始部分,均结合相关理论编写了一段概述,既便于学生了解该实验的操作方法,又便于其明白实验原理。本实验教程中所列的实验材料方便易得,方法简单具体、切实可行,对实验结果的描述清晰明了。本教程还在大部分实验之后列有思考题,便于学生复习课堂所学知识。根据微生物学和寄生虫学各自的学科特点,本教程在其编写内容和方式上也存在一定差异。

本教程的理论性、实用性和系统性均较强,尤其具有实用性。本教程主要供高等医药院校各专业的本科、专科学生使用,也可作为本学科的研究生、进修生、青年教师、师资班学员及实验技术人员的参考用书。

本教程由四川大学华西基础医学与法医学院微生物学教研室和寄生虫学教研室共同编写,两个教研室的部分专家、教授承担了本实验教程的审阅工作。本教程是集体智慧的结晶,它浸透了编写教师的辛勤汗水。同时,本实验教程的编撰还受到了同事们的大力支持。本教程在出版过程中得到了四川大学出版社的大力支持,在此一并表示衷心感谢。

如果本教程能对医药院校学生的学业或事业有所帮助,编者将感到无限欣慰。当然,限于编者的水平和经验,本教程虽经反复审阅和修改,但难免还有疏漏之处,切盼读者不吝惠教。

编 者

2004 年 8 月

病原生物学实验的目的和要求

(一) 目的

病原生物学实验课是医学微生物学和人体寄生虫学课程的重要组成部分。学习本实验课的目的包括以下几个方面。

(1) 在系统学习医学微生物学和人体寄生虫学理论知识的基础上开设病原生物学实验课程,可使学生加深对病原生物学理论知识的理解,并验证和巩固所学的理论知识。让学生学习和掌握本课程的基本实验操作技术是开设本课程的主要目的。

(2) 通过实验操作,可培养学生独立工作和独立学习的能力。通过观察实验结果,可培养学生观察、思考、分析和解决问题的能力。同时,可使学生逐步树立严格的科学学风、具有严肃的科学态度和掌握严密的工作方法。

(3) 为临床疾病,主要是传染病的诊断、预防和治疗奠定良好的基础。

(4) 让学生了解有关病原生物学的科学研究思路、科学研究方法和基本操作技术。

(5) 培养学生互相帮助和团结协作的团队精神。

(二) 要求

为了达到上述目的,提高病原生物学实验课的教学质量,特对学生提出以下几项要求。

(1) 严格遵守实验室规则,牢固树立无菌观点,掌握无菌操作的基本技术。

(2) 实验前必须做好预习,明确实验的目的和要求,明确将要进行的实验内容,了解实验的原理、方法和注意事项,并做好必要的准备工作。

(3) 实验操作时要仔细、认真,对较复杂的实验,应分工协作共同完成。客观和准确地记录实验结果,并联系理论知识分析实验结果。若所得到的实验结果与预期结果不符合时,要加以分析、讨论,并找出原因,必要时应重复实验。

(4) 按照教师要求,认真完成实验报告和绘图作业,对所做过实验必须达到熟练掌握的程度。

(5) 严格遵守操作规程,杜绝各种事故的发生。

病原生物学实验的实验室规则

病原生物学的实验对象大多数都是病原生物体，具有传染性。因此，进入病原生物学实验室，必须严格遵守以下规则。

- (1) 进入实验室必须先穿好隔离服，必要时还要戴上口罩。
- (2) 除必要的书籍、笔记本和文具外，其他个人物品一律不得带入实验室。
- (3) 在实验室内，禁止饮食、吸烟，以及大声喧哗或嬉戏。
- (4) 未经带习教师许可，不得擅自搬动示教片、实验器材和其他室内设施。
- (5) 按照实验要求，积极地计划、安排所要进行的实验，仔细、认真地进行实验操作，严格遵守无菌操作规程，争取既快又准确地完成实验。
- (6) 实验用过的器材，必须放在指定地点或按要求处理，不能随便乱丢乱放。
- (7) 实验中万一发生有菌材料或传染性标本污染桌面或衣服、打翻菌液、割破手指等情况，应立即报告带习教师，并及时处理，切勿隐瞒或自做主张进行处理。
- (8) 要爱护实验室内的仪器，使用显微镜及其他贵重仪器时，必须按要求操作。对实验消耗材料，如药品、试剂及水、电、气等，要力求节约。
- (9) 实验完毕，应将实验器材放回原处，需培养的物品要放入孵箱内。然后，清理好桌面，做好室内清洁，保持室内的整齐。在离开实验室前，应关好门、窗，水、电和燃气，脱下隔离服，并将手洗干净。
- (10) 未经许可，不得将实验室内的任何物品，特别是菌种和标本等带出实验室。

目 录

病原生物学实验的目的和要求

病原生物学实验的实验室规则

医学微生物学实验部分

实验 1 显微镜的使用和保护	(3)
实验 2 活菌运动的观察	(6)
实验 3 细菌的基本形态和特殊结构观察	(8)
实验 4 细菌的革兰染色法	(10)
实验 5 基础培养基的制备	(13)
实验 6 细菌接种法和生长情况观察	(16)
实验 7 细菌代谢产物的检查	(21)
实验 8 自然界中细菌的检查	(28)
实验 9 正常人体的细菌检查	(31)
实验 10 外界因素对细菌的影响	(33)
实验 11 细菌形态和结构的变异	(40)
实验 12 细菌致病性酶类、毒素和热原质的检查	(44)
实验 13 葡萄球菌属	(51)
实验 14 链球菌属	(54)
实验 15 变异链球菌	(57)
实验 16 肺炎链球菌	(59)
实验 17 淋病奈瑟菌	(63)
实验 18 临床标本中化脓性球菌的分离和鉴定	(66)
实验 19 大肠埃希菌	(68)
实验 20 沙门菌属	(72)
实验 21 志贺菌属	(76)
实验 22 粪便标本中致病性肠道杆菌的分离和鉴定	(79)

实验 23	霍乱弧菌	(82)
实验 24	破伤风梭菌	(86)
实验 25	产气荚膜梭菌	(88)
实验 26	白喉棒状杆菌	(93)
实验 27	结核分枝杆菌	(97)
实验 28	病毒的培养方法	(100)
实验 29	病毒的血清学试验	(106)
实验 30	病毒的快速诊断	(110)
实验 31	衣原体	(115)
实验 32	立克次体	(117)
实验 33	支原体	(120)
实验 34	螺旋体	(122)
实验 35	放线菌	(129)
实验 36	真菌	(131)
实验 37	药物的体外抗菌试验	(136)
实验 38	抗生素效价的测定	(141)
实验 39	注射用药的无菌检查	(144)
实验 40	口服药品中细菌总数的测定	(146)

人体寄生虫学实验部分

实验 41	似蚓蛔线虫	(151)
实验 42	毛首鞭形线虫	(154)
实验 43	十二指肠钩口线虫与美洲板口线虫	(155)
实验 44	蠕形住肠线虫	(159)
实验 45	班氏微丝蚴与马来微丝蚴	(161)
实验 46	旋毛形线虫	(163)
实验 47	华支睾吸虫	(165)
实验 48	卫氏并殖吸虫与斯氏狸殖吸虫	(167)
实验 49	布氏姜片吸虫	(169)
实验 50	肝片形吸虫	(170)
实验 51	日本裂体吸虫	(171)
实验 52	链状带绦虫与肥胖带绦虫	(175)
实验 53	微小膜壳绦虫	(177)

实验 54	细粒棘球绦虫	(178)
实验 55	曼氏迭宫绦虫	(179)
实验 56	溶组织内阿米巴与结肠内阿米巴	(180)
实验 57	蓝氏贾第鞭毛虫	(182)
实验 58	阴道毛滴虫	(183)
实验 59	杜氏利什曼原虫	(184)
实验 60	间日疟原虫与恶性疟原虫	(185)
实验 61	刚地弓形虫	(190)
实验 62	蚊	(191)
实验 63	蝇	(194)
实验 64	白蛉	(196)
实验 65	蚤	(197)
实验 66	虱	(198)
实验 67	蜱	(199)
实验 68	恙螨	(200)
实验 69	疥螨	(201)
实验 70	蠕形螨	(202)

医学微生物学实验部分

实验 1

显微镜的使用和保护

(Use and Care of Microscope)

微生物是一群个体微小，肉眼看不见，必须借助显微镜将其放大数百倍至数万倍，才能观察到的微小生物。因此，显微镜是人们认识和研究微生物最重要的和最基本的工具之一。显微镜的种类很多，其原理、构造，以及使用目的各不相同。在细菌的形态学检查方面，以普通光学显微镜，尤其是油镜最为常用，所以这里重点介绍油镜的使用方法和保护方法。

【材料】

- (1) 普通光学显微镜、香柏油、二甲苯、拭镜纸。
- (2) 细菌革兰染色标本。

【方法】

1. 油镜的识别 普通光学显微镜的构造如图 1 所示。观察细菌标本最常用的油镜上都有标记，如 90 倍或 100 倍。油镜的镜头前端有黑、白或红色的圆圈，圆圈上刻有“HI”或“oil”等字样。其镜头直径也较其他物镜小。

2. 油镜滴加香柏油的原理 油镜镜头的直径很小，光线从玻片经空气进入镜头时，由于介质密度不同而发生折射现象，因此进入物镜中的光线很少，于是视野很暗，物像不清晰。如果在油镜的镜头与玻片之间加上折光率和玻片折光率（ $n = 1.520$ ）相近的香柏油（ $n = 1.515$ ），就可避免光线的分散，而增强视野的亮度。

3. 显微镜的使用

- (1) 将显微镜平放于实验台上，勿将镜臂倾斜，以免香柏油流散。
- (2) 以自然光线为光源时，使用凹面反光镜。
- (3) 将聚光器上升到最高位置，把光圈完全打开，增大入射光线的强度。
- (4) 将标本固定在载物台上，先用低倍镜调至视野最亮，并找到标本的所在位置，然后换用油镜。

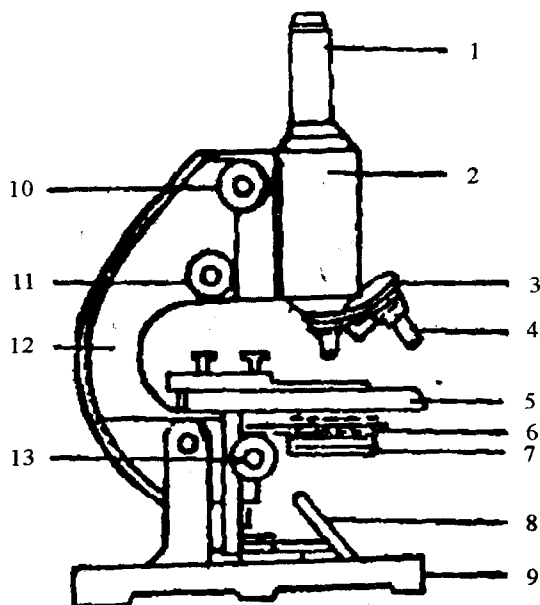


图1 显微镜的结构示意图

1. 目镜 2. 镜筒 3. 镜筒转换器 4. 接物镜 5. 载物台 6. 光圈 7. 聚光器
8. 反光镜 9. 镜座 10. 粗调节器 11. 细调节器 12. 镜臂 13. 聚光器调节器

(5) 加1滴香柏油于标本的待检部分,缓慢转动粗调节器,用眼从侧方观察油镜头,使之与玻片几乎接触,但切勿使两者相碰,以免损伤镜头。然后从目镜观察,缓慢转动粗调节器,直至出现模糊物像,再调节细调节器至物像清晰为止。

(6) 油镜头使用后,应立即用拭镜纸擦净镜头上的油,再用滴有少许二甲苯的拭镜纸擦拭,随即用干的拭镜纸擦去二甲苯,以防镜片脱落。

4. 显微镜的保护

(1) 显微镜是观察病原生物的重要仪器,宜将显微镜放于阴凉干燥处,并要精心保护,不得随意拆散。

(2) 取、放显微镜时,应右手持镜臂,左手托镜座,轻拿轻放。

(3) 显微镜使用完毕后,应下降聚光器,将物镜转开呈“八字形”,罩上镜套,放入镜箱。

(4) 防止显微镜与强酸、强碱、乙醚、氯仿、乙醇等化学药品接触。

【注意事项】

(1) 用油镜观察标本时,一定要注意玻片的正反面,将标本面向上放置。

(2) 标本干燥后才能滴加香柏油,滴加要适量,不宜太多或太少。

思考题

- (1) 怎样调节才能使显微镜的视野最亮?
- (2) 使用油镜时应注意哪些问题?

(李明远)

实验 2

活菌运动的观察

(Observation of Motility of Living Bacteria)

鞭毛是细菌的运动器官,许多杆菌和弧菌有鞭毛,而球菌一般无鞭毛。有鞭毛的细菌可在液体培养基中做定向运动,起到趋利避害的作用。这种有鞭毛细菌的定向运动有别于无鞭毛细菌的布朗运动,常采用不染色标本的压滴法或悬滴法进行观察。这也是鉴定细菌有无动力的常用方法之一。将压滴法和悬滴法进行比较,压滴法具有更简单、方便的优点,故在这里只介绍压滴法。

【材料】

- (1) 普通变形杆菌、葡萄球菌肉汤 12h 培养物。
- (2) 玻片、盖玻片、接种环、普通光学显微镜等。

【方法】

- (1) 用接种环各取 2~3 环普通变形杆菌及葡萄球菌菌液,分别将它们置于两张玻片中央。
- (2) 将盖玻片轻轻覆盖在菌液上,勿产生气泡。
- (3) 将标本置于显微镜载物台上,在低倍镜下观察两种细菌的运动情况。

【结果】

普通变形杆菌有明显的定向运动现象,提示其有鞭毛;葡萄球菌做布朗运动,提示其无鞭毛。

【注意事项】

显微镜检时需适当降低聚光器或缩小光圈,以使视野不至过亮。

应注意区别鞭毛的定向运动和布朗运动。前者是有方向的位移，后者是在原位附近无规则颤动。

思考题

除了压滴法与悬滴法外，还有哪些方法可鉴别细菌的动力？

(李明远)

实验 3

细菌的基本形态和特殊结构观察

(Bacterial Basic Shape and Special Structure)

细菌是一类具有细胞壁的单细胞原核细胞型微生物。在一定的环境条件下,各种细菌细胞有相对恒定的形态和结构。了解细菌的形态结构,对细菌的鉴定、疾病的诊断均有重要意义。

细菌的基本形态有球形、杆状和螺形三种。细菌的基本结构主要由细胞壁、细胞膜、细胞质、细胞浆和核质组成,而有些细菌还有芽孢、荚膜、鞭毛及菌毛等特殊结构。在对细菌进行形态学检查时,由于细菌微小,且无色半透明,故需要用显微镜放大并经适当染色后才能较清楚地观察到。在细菌的上述特殊结构中,除菌毛必须在电子显微镜下观察外,其他特殊结构必须经相应的特殊染色后才可观察到。根据细菌的形态、大小、排列方式、染色性和特殊结构,可对其进行鉴别。

【材料】

1. 基本形态示教片 细菌的基本形态示教片包括:球菌(葡萄球菌),杆菌(大肠埃希菌),螺形菌(水弧菌)等的形态示教片。
2. 特殊结构示教片 细菌的特殊结构示教片包括:鞭毛(普通变形杆菌),芽孢(破伤风梭菌),荚膜(肺炎链球菌)。

【方法】

- (1) 在油镜下观察各种形态的细菌,比较它们的大小、形态、排列方式和染色性的差异,并绘图记录。
- (2) 在油镜下观察鞭毛、芽孢、荚膜示教片。注意观察:鞭毛的位置;芽孢的大小、形态、位置,以及菌体和芽孢的颜色;荚膜的厚度,菌体与荚膜的颜色。对观察结果,应绘图记录。