

医学生实验实习指导丛书



微生物与免疫学·寄生虫学 实验指导

主编◎徐秀芬 赵曼瑞 胡 军



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

医学生实验实习指导丛书

微生物与免疫学 寄生虫学实验指导

WEISHENGWU YU MIANYIXUE
JISHENGCHONGXUE SHIYANZHIDAO

主 编 徐秀芬 赵曼瑞 胡 军

主 审 周占国

编 委 (以姓氏笔画为序)

马素好 亓水芹 张海林

周 燕 周占国 赵曼瑞

胡 军 徐秀芬



人民军医出版社

People's Military Medical Press

北 京

图书在版编目(CIP)数据

微生物与免疫学寄生虫学实验指导/徐秀芬等主编. 北京:人民军医出版社,2005.1

(医学生实验实习指导丛书)

ISBN 7-80194-463-1

I. 微… II. 徐… III. ①医药学:微生物学—实验—医学院校—教学参考资料②医药学:免疫学—实验—医学院校—教学参考资料③医学:寄生虫学—实验—医学院校—教学参考资料 IV. ①R37-33②R392-33③R38-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 080389 号

策划编辑:丁金玉 加工编辑:路弘 责任审读:李晨

出版人:齐学进

出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店

通信地址:北京市复兴路 22 号甲 3 号 邮编:100842

电话:(010)66882586(发行部)、51927290(总编室)

传真:(010)68222916(发行部)、66882583(办公室)

网址:www.pmmp.com.cn

印刷:北京京海印刷厂 装订:京兰装订有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:14.25 字数:339千字

版次:2005年1月第1版 印次:2005年1月第1次印刷

印数:0001~4000

定价:22.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

电话:(010)66882585、51927252

郑州澍青医学高等专科学校创办人王树青九十二岁为学生题词：

“必须有高尚之医德，才能悟化出精湛之医术”

必须有高尚之医德
才能悟化出精湛之
医术

学生留念

王树青

二〇一二年六月
王树青

内 容 提 要

本书以人民卫生出版社新版大专教材为蓝本,根据教学大纲,结合实际情况,组织有丰富教学经验的教师编写。全书共分3章,第1章为医学免疫学实验技术,第2章为医学微生物学实验技术,第3章为医学寄生虫学检验技术。所有实验技术均有机地融进了教师的经验体会,而且结合临床知识,有助于培养学生的独立思维及观察能力。本实验指导亦可作为免疫学与微生物学寄生虫学学习及考试指导,供广大医学生使用。

责任编辑 丁金玉 路 弘

医学生实验实习指导丛书

编委会名单

总主编 王左生

副总主编 陈定先 宋友民 赵清治

编委 (以姓氏笔画为序)

于俊玲	王同曾	王隶华	王清勇
冯世俊	刘作屏	杨运虹	张凡
罗冬云	宗安民	赵曼瑞	莫三心
徐希	徐秀芬	徐佩安	高斐文
常桂梅	蔺敏		

序

临床医学是一门以实践为主的科学,作为医学生不仅要有宽厚的理论基础,而且要有坚实的临床技能和初步的实践知识。因此,实验和实习是医学教育的重要组成部分。

郑州澍青医学高等专科学校在多年的办学中重视实验、实习,不仅在实验设备上不断更新,为学生添置了各类现代实验设备,而且在教学上也不断积累经验,逐渐形成了自己的教学模式和内容。随着学校专科教育的发展,我们组编了这套丛书,一方面为我校学生使用,同时也作为向同行交流。本套丛书的编写者为学校聘任多年的老教师,多是来自河南省各高校的离、退休教授,他们把自己多年的经验汇总到了该书中,提高了本套丛书的水平。

本套丛书共分 10 册,贯穿了从基础到临床的各门课的实验与临床实习内容,每个学科的实验按专科教学要求进行了分节和规范,希望通过实验教学达到以下几个目的:①加强理论与实践的联系,通过实验验证和巩固学生的理论知识;②掌握各科实验的基本操作技术,为今后开展科研工作打下基础;③引导学生开阔思路,利用所学知识去探讨新的知识;④培养学生对事物客观地进行观察、比较、分析的能力,建立严谨求实的科学态度;⑤培养临床基本技能,有利于循序渐进为进入临床做好准备。

实习是经验教学的初步阶段,是学生走向工作前的准备阶段,是成为临床医务人员基本素质的训练阶段。本套丛书在编写过程中如存在不足之处,望指正。

王左生

2003 年 8 月

前 言

医学微生物学与免疫学、寄生虫学是医学领域的重要基础学科,是介于医学基础课与临床课之间的一门桥梁学科,故与临床工作十分密切。医学微生物学与免疫学、寄生虫学与人类许多疾病的发生、发展及预后有着非常密切的关系。该门课的实验技术也逐渐成为医学微生物学与免疫学、寄生虫学的分支学科,它不仅能推动本门学科的发展,而且生命学科的许多重要发现、发明和理论,证实该门学科的实验技术起着重要的作用。虽然目前各种新的实验方法、技术层出不穷,许多临床检验由原来的手工操作向着快速、敏感、简便以及全自动化发展,但各种实验的基本原理不变,各种新技术几乎都以基本技术为依托。故该门课程的编写仍以基本实验技术为主,适当编入一些新的实验。为适应学科的发展,满足教学需要,培养学生理论联系实际,独立思考、独立操作的能力,并进一步提高实验教学质量,每个实验之前结合相关理论,介绍实验原理,并在实验之后附有思考题,便于学生复习、思考、理解和掌握。有些实验列有相关附录,便于学生查阅、理解。

本实验指导分为3章,第1章为医学免疫学实验技术;第2章为医学微生物学实验技术;第3章为医学寄生虫学检验技术。

本书可供医学院校本、专科学生使用;亦可供临床医师、卫生防疫、医学检验以及从事医学微生物学与免疫学、寄生虫学专业的教师 and 研究人员参考。

由于编写时间仓促,编者经验不足和水平有限,虽然经过反复审阅,多次修改,若仍存在缺点、不足,恳请广大读者批评指正。

编 者

2004年5月

目 录

第1章 医学免疫学实验技术	(1)
第一节 非特异性免疫功能检测法	(1)
实验一 吞噬细胞的吞噬试验	(1)
实验二 溶菌酶的测定	(4)
实验三 血清补体的测定	(6)
第二节 体液免疫功能检测法	(7)
实验一 凝集反应	(7)
实验二 沉淀反应	(16)
实验三 中和反应	(25)
实验四 免疫标记技术	(26)
实验五 溶血空斑试验	(35)
实验六 单克隆抗体制备及其应用	(37)
第三节 细胞免疫功能检测法	(39)
实验一 淋巴细胞分离法	(39)
实验二 E玫瑰花环试验	(42)
实验三 淋巴细胞转化试验	(43)
实验四 白细胞移动抑制试验	(45)
实验五 T细胞亚群检测	(46)
实验六 混合淋巴细胞反应	(48)
实验七 体内细胞免疫功能检测	(49)
第四节 细胞因子的检测	(52)
第2章 医学微生物学实验技术	(55)
第一节 细菌形态检测法	(55)
实验一 显微镜的使用与保护	(55)
实验二 细菌基本形态及特殊结构的观察	(57)
实验三 细菌不染色标本检查法	(57)
实验四 细菌染色法	(59)
第二节 细菌培养法	(64)
实验一 培养基的制作	(64)
实验二 细菌的基本培养法及生长现象观察	(65)
实验三 细菌的生化反应	(69)
第三节 外界因素对细菌的影响	(72)
实验一 物理因素对细菌的影响	(72)

实验二 化学因素对细菌的影响	(76)
实验三 生物因素对细菌的影响	(78)
第四节 细菌的变异	(80)
实验一 L型细菌的检测	(80)
实验二 Ames 试验	(81)
实验三 细菌质粒的提取和细菌转化试验	(81)
第五节 细菌毒力的测定	(83)
实验一 细菌内毒素的测定——鲎试验	(83)
实验二 外毒素对机体的毒性作用及抗毒素的中和作用	(84)
实验三 细菌侵袭力的测定	(84)
第六节 细菌在正常人体与环境中的分布	(86)
实验一 细菌在正常人体分布的检测	(86)
实验二 环境中细菌分布的检测	(87)
第七节 病原性球菌的微生物学检测	(89)
实验一 临床标本——化脓性球菌的分离与鉴定	(89)
实验二 葡萄球菌的微生物学检测	(90)
实验三 链球菌的微生物学检测	(93)
实验四 肺炎球菌的微生物学检测	(95)
实验五 脑膜炎球菌的微生物学检测	(96)
实验六 淋球菌的微生物学检测	(97)
第八节 肠道杆菌的分离与鉴定	(98)
实验一 粪便标本中致病性肠道杆菌的分离与鉴定	(98)
实验二 肥达反应	(100)
实验三 痢疾杆菌荧光菌球检测法	(101)
第九节 其他细菌的微生物学检测	(102)
实验一 霍乱弧菌的检测	(102)
实验二 嗜血杆菌属及包特菌属的检测	(105)
实验三 布鲁杆菌属的检测	(106)
实验四 棒状杆菌属的检测	(109)
实验五 分枝杆菌属的检测	(110)
实验六 需氧芽胞杆菌属的检测	(114)
实验七 厌氧芽胞杆菌属的检测	(116)
实验八 临床标本厌氧菌的分离与鉴定	(118)
实验九 假单胞菌属的检测	(122)
实验十 弯曲菌属的检测	(122)
第十节 衣原体、立克次体、螺旋体、支原体的检测	(126)
实验一 衣原体的检测	(126)
实验二 立克次体的检测	(129)
实验三 螺旋体的检测	(130)

实验四 支原体的检测·····	(135)
第十一节 真菌的常规检验法·····	(137)
实验一 真菌的形态观察·····	(137)
实验二 真菌的培养·····	(140)
第十二节 病毒的检查方法·····	(143)
实验一 病毒的分离培养·····	(143)
实验二 血凝及血凝抑制试验·····	(151)
实验三 病毒的血清学反应·····	(152)
实验四 病毒的抗原检测·····	(158)
实验五 病毒核酸检测技术·····	(160)
实验六 病毒感染的细胞包涵体检测·····	(164)
第3章 医学寄生虫学检验技术·····	(165)
第一节 实验须知·····	(165)
一、光学显微镜使用方法·····	(165)
二、显微镜测微技术·····	(165)
三、寄生虫标本的绘制·····	(166)
四、寄生虫学实验的特点与方法·····	(167)
第二节 实验内容·····	(168)
一、医学蠕虫·····	(168)
(一)似蚓蛔线虫(蛔虫)·····	(168)
(二)毛首鞭形线虫(鞭虫)·····	(170)
(三)十二指肠钩口线虫、美洲板口线虫(钩虫)·····	(171)
(四)蠕形住肠线虫(蛲虫)·····	(173)
(五)旋毛形线虫(旋毛虫)·····	(174)
(六)斑氏吴策线虫(斑氏丝虫)、马来布鲁线虫(马来丝虫)·····	(175)
二、吸虫·····	(176)
(一)华支睾吸虫(肝吸虫)·····	(176)
(二)布氏姜片吸虫(姜片虫)·····	(179)
(三)卫氏并殖吸虫(肺吸虫)·····	(179)
(四)日本裂体吸虫(日本血吸虫)·····	(181)
三、绦虫·····	(182)
(一)链状带绦虫(猪带绦虫)、肥胖带吻绦虫(牛带绦虫)·····	(182)
(二)微小膜壳绦虫(短膜壳绦虫)·····	(184)
(三)细粒棘球绦虫(包生绦虫)·····	(185)
(四)医学蠕虫小结·····	(186)
四、医学原虫·····	(190)
(一)溶组织内阿米巴·····	(190)
(二)蓝氏贾第鞭毛虫·····	(191)
(三)阴道毛滴虫(阴道滴虫)·····	(192)

(四)杜氏利什曼原虫(黑热病原虫)·····	(193)
(五)疟原虫·····	(194)
(六)刚地弓形虫·····	(196)
(七)医学原虫小结·····	(197)
五、医学昆虫·····	(198)
(一)蚊(Mosquito)·····	(198)
(二)蝇(Fly)·····	(199)
(三)蚤(Flea)·····	(200)
(四)虱(Louse)·····	(201)
(五)臭虫(Bedbug)·····	(201)
(六)蜱(Tick)、螨(Mite)·····	(202)
(七)医学昆虫小结·····	(203)
附录 A 常用寄生虫学免疫诊断技术·····	(204)
附录 B 医学微生物学与免疫学、寄生虫学的实验目的和要求·····	(213)
附录 C 医学微生物学与免疫学、寄生虫学实验室规则·····	(214)

第 1 章 医学免疫学实验技术

第一节 非特异性免疫功能检测法

非特异性免疫(nonspecific immunity)是人类在长期的种系发育和进化过程中逐渐建立起来的一系列天然防御功能。非特异性免疫与生俱有,受遗传基因控制,并能遗传给后代,具有种的差异,例如人类不感染鸡霍乱菌。非特异性免疫不是针对某一细菌的免疫,是针对多种细菌的防御反应不因抗原刺激而增强。非特异性免疫与宿主机体的屏障结构、吞噬细胞的吞噬功能和正常组织体液中的抗菌物质等生理功能有密切联系。

实验一 吞噬细胞的吞噬试验

机体内具有吞噬功能的细胞统称为吞噬细胞,吞噬细胞是机体天然抵抗力的一个重要组成部分。人类吞噬细胞分小吞噬细胞和大吞噬细胞,前者是外周血中的中性粒细胞,后者为血中的单核细胞和多种组织中的巨噬细胞。它们能吞噬和杀灭血液、组织中的病原微生物及衰老、损伤或癌变细胞。吞噬细胞数量减少或功能障碍均可导致非特异性免疫缺陷,检测其功能,有助于诊断某些疾病和判断机体非特异性免疫水平。

一、中性粒细胞的吞噬作用(phagocytosis of neutrophilic granulocyte)

血液中的中性粒细胞即小吞噬细胞,通过趋化、调理、吞入和杀菌等几个步骤,能吞噬和杀灭衰老、死亡细胞及病原微生物等异物。

【材料】

1. 白色葡萄球菌 8h 培养物,置沸水浴 20min 后,离心洗涤 2 次,用标准比浊管比浊,配成 5×10^8 菌体/ml。

2. 肝素、刺针、试管、载玻片、乙醇棉球、瑞氏染液、微量移液器、移液头。

【方法】

1. 用乙醇棉球消毒耳垂或手指,刺破皮肤,取血 $40\mu\text{l}$ 加于抗凝剂试管中。

2. 用微量移液器取葡萄球菌培养物 $40\mu\text{l}$ 加入血中,轻摇混合,放 37°C 温箱内孵育 30min,每 15min 振荡 1 次。

3. 吸取白细胞层(即沉淀的红细胞表层)白细胞悬液 $40\mu\text{l}$,滴于载玻片一端,待自然干燥后,行 Wright 染色。

4. Wright 染色

(1)将瑞氏(Wright)染色液数滴,滴于血膜上染 1min。

(2)加等量缓冲液,轻轻吹打混合,染 5min。

(3)水洗、水冲时为防止结晶沉着,故要加满水后才倾斜倒去。

(4)干后,用油镜检查中性粒细胞的吞噬情况,见图 1-1。

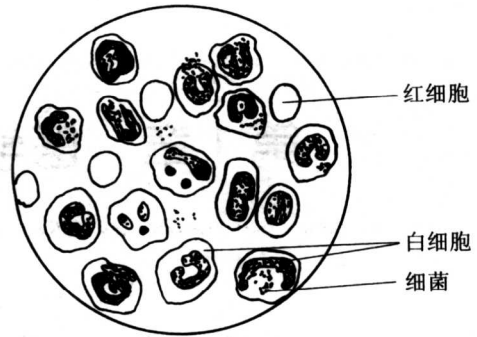


图 1-1 中性粒细胞的噬菌现象

【结果判断】

1. 吞噬百分率 计数 100 个中性粒细胞中有葡萄球菌的细胞数。

2. 吞噬指数 将 100 个巨噬细胞所吞噬鸡红细胞的总数除以 100,即得吞噬指数,即每个巨噬细胞吞噬鸡红细胞的平均数。

【附】瑞氏染色液配制

1. 成分 瑞氏染粉 0.1g
甲醇(不含有醋酮者) 60ml

2. 制法 将瑞氏染粉置于乳钵内,研溶于甲醇中,保存于紧塞的棕色瓶内,可永久保存,且越久光泽越好。

二、巨噬细胞的吞噬作用(phagocytosis of macrophage)

单核巨噬细胞包括血液中的单核细胞和组织中的巨噬细胞,具有吞噬、分泌和参与免疫应答的各种功能,是机体免疫水平和功能的重要指标,与抗肿瘤免疫也有重要关系。

(一)人巨噬细胞功能测定

【材料】

1. 10%斑蝥浸出液。10g 中药斑蝥浸泡于装有 100ml 95%乙醇的磨口瓶中,塞紧瓶口,于室温浸泡数日后备用。

2. 鸡红细胞悬液。鸡翅静脉取血,肝素抗凝(每毫升加入肝素 25~50U),以 1:10 比例放入 Alsever 保存液中可保存 1 个月,用生理盐水配成 5%浓度备用。

3. 1cm² 滤纸片,无菌纱布块,拱形塑料盖(直径 4~5cm),姬姆萨染液。

【方法】

1. 取 1cm² 滤纸片 2 张,蘸适量 10%斑蝥浸液,放于被检者经乙醇消毒过的前臂屈侧皮肤上,滤纸上压 1 块盖片或塑料薄膜,敷以清洁纱布,用胶布加以固定。4~5h 后,将滤纸、盖片、纱布一并取下,在斑蝥作用的皮肤上面扣上一个直径 4cm 塑料盖,用胶布固定以保护水疱。48h 后,在前臂皮肤上就形成一个同盖片一样大小的水疱。用乙醇棉球消毒水疱表面及其周围皮肤,用消毒注射器将疱液全部吸出,注入含肝素的试管中,用消毒纱布包好水疱部位。

2. 取出疱渗出液 0.5ml,加入经洗涤的 5%鸡红细胞 0.02ml 轻轻振摇混匀,放 37℃水浴中保温 30min,每 10min 摇动 1 次,离心,取沉淀涂片固定。也可在孵育过程中加入盖片条,2 张合并,放入鸡红细胞和发泡液试管中,使巨噬细胞沿玻片爬,温育结束后小盖片取出,固定。

3. 将涂片或附着有巨噬细胞的盖片用姬姆萨染色。

【结果判断】

油镜下计数巨噬细胞吞噬红细胞情况。

1. 吞噬百分率 即每 100 个巨噬细胞中吞噬有红细胞的巨噬细胞数。

2. 吞噬指数 将 100 个巨噬细胞所吞噬鸡红细胞的总数除以 100, 即得吞噬指数, 即每个巨噬细胞吞噬鸡红细胞的平均数。

【注意事项】

1. 上述 2 项指标是平行的, 故只用吞噬百分率即可反映其吞噬活性。

2. 正常人的巨噬细胞吞噬百分率为 60%~65%, 吞噬指数约为 1.0。

【附】 姬姆萨 (Giemsa) 染色

1. 姬姆萨染液的配制

成分: 姬姆萨染粉	0.5g
甘油(纯粹)	33ml
甲醇(不含有醋酮者)	33ml

制法: 先溶解姬姆萨染粉于甘油内, 置于 60℃ 水浴箱内 2h, 再加入甲醇混合即可。

2. 染色方法

(1) 先将涂片于空气中干燥, 再滴加甲醇于玻片上 5~15min, 固定之。

(2) 滴加姬姆萨染液(1 滴浓染液加 1ml 中性蒸馏水配成), 染 1~3h。

(3) 水洗, 待干, 镜检。

(二) 小白鼠巨噬细胞功能测定

【材料】

1. 无菌生理盐水, Hanks 液, 6% 淀粉肉汤液, 瑞氏染色液。

2. 1% 鸡红细胞悬液(制备见前页“2. 鸡红细胞悬液”)。

3. 无菌注射器、针头、离心管、载玻片、平皿、烧杯、橡皮乳头、解剖剪、镊、解剖板、图钉、水浴箱。

4. 健康小白鼠(体重 25g 左右)。

【方法】

1. 实验前 3d, 给小白鼠腹腔内注射无菌 6% 淀粉肉汤液 1ml。

2. 实验当天, 给小鼠腹腔注射 3~4ml Hanks 液, 轻揉腹部, 令其活动 10min。

3. 颈椎断颈处死, 仰卧固定。

4. 常规消毒腹部皮肤, 左手持镊提起腹中部皮肤。右手用剪子剪长 5mm 的小口, 从剪口处朝头、尾部用力, 撕开皮肤, 暴露腹壁(图 1-2)。

5. 提起腹前壁, 避开血管剪一小口, 用毛细吸管吹混匀腹腔内液体, 并收集于试管内。

6. 腹腔液滴于一张清洁载玻片上, 再加 2~3 滴等量的 1% 鸡红细胞悬液, 摇匀。

7. 将玻片置于湿盒内盖好, 于 37℃ 水浴 30min, 其间轻晃动玻片 2 次。

8. 取出后, 在生理盐水中清洗载玻片 2 次, 洗去未吸附的细胞。

9. 干燥后, 瑞氏染色。

【结果判断】

油镜下计数巨噬细胞吞噬鸡红细胞情况。

1. 吞噬百分率 即每 100 个巨噬细胞中吞噬有鸡红细胞的巨噬细胞数。

2. 吞噬指数 将 100 个巨噬细胞所吞噬鸡红细胞的总数除以 100, 即得吞噬指数, 即每个

巨噬细胞吞噬鸡红细胞的平均数。

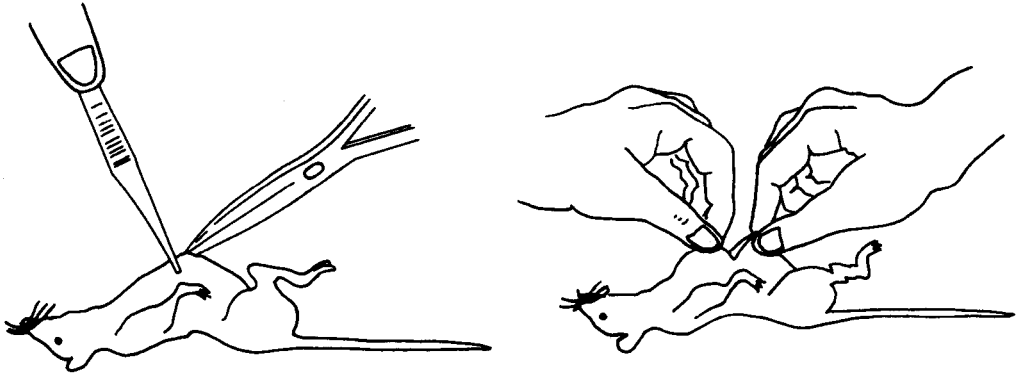


图 1-2 小白鼠腹腔暴露操作示意图

实验二 溶菌酶的测定

溶菌酶(*lysozyme*)主要是由吞噬细胞合成并分泌的一种小分子黏性蛋白质,属乙酰氨基多糖酶。存在于唾液、乳汁、泪液和鼻及气管等分泌物中,能溶解革兰阳性菌。由于它的高等电点(pH11.0),能与细菌牢固结合,并水解细菌细胞壁肽聚糖,使细菌裂解死亡。

溶菌酶与溶壁微球菌(*M. lysodeikticus*)作用后,可使该菌因细胞壁破坏而溶解,致使加样孔周围出现溶解菌环。溶菌环直径与样品中溶菌酶含量的对数呈直线关系。本实验进行唾液溶菌酶溶菌活性的测定。

【材料】

1. 无菌 pH6.4, 0.067mol/L PBS; 5mol/L KOH 溶液; 溶菌酶标准品。
2. 微球菌普通琼脂斜面 24~36h 培养物。
3. 受检者唾液。
4. 3% 琼脂(用 pH6.4, 0.067mol/L PBS 配制)。
5. 1ml、5ml 无菌吸管, 10mm×100mm 小试管, 毛细吸管, 平皿, 打孔器(内径 3mm), 微量进样器。
6. 分光光度计、水浴箱、温箱等。

【方法】

1. 光学测定法

(1) 菌液的配制

① 无菌吸取 5ml 0.067mol/L PBS 加到微球菌培养管中, 置室温中 5~10min, 旋转培养管, 制成菌悬液。

② 分光光度计波长 640nm, 测定并调整细菌浓度达到透光率为 30%~40%。

(2) 溶菌酶标准液的配制: 称取溶菌酶标准纯品, 用 pH6.4, 0.067mol/L PBS 配成 1 000 $\mu\text{g/ml}$, 置冰箱冻存, 临用时再稀释成 100 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ 。

(3) 收集唾液标本: 待检者用清水漱口后, 将唾液收集于消毒平皿内。吸取液体部分置试管内, 经 PBS 适当稀释或不稀释使用。

(4) 标准曲线的绘制及样品的测定

①将配制好的菌液置于 37℃ 水浴中预热。

②列 2 排试管,每排 8 支。每 1 排 1~4 管分别加入不同浓度的溶菌酶标准品,第 5~8 管加唾液,每管 0.2ml。第 2 排依同样方法加入标准的及待测的样品,每管 0.2ml,然后于各管中加 5mol/L KOH 液 1 滴,置 37℃ 水浴预热 5min。

③于每管各加入预热的菌液 1.8ml 置 37℃ 水浴继续作用 2min。

④在第 1 排试管内各加 5mol/L KOH 液 1 滴,终止反应。

⑤依次分别将各管菌液倒入比色杯(光程 0.5cm)内,用 640nm 波长测透光率。以第 1 排各管所测定透光率为 $T_1\%$,第 2 排各管所测之透光率为 $T_0\%$ 。 $T_1\% - T_0\% = TD\%$ (透光率差值,即第 1 排各管的 $T_1\%$ 与第 2 排相应各管 $T_0\%$ 之差)。4 个不同浓度的标准品可求得 4 个透光率差值。

⑥以不同浓度标准品测得的透光率差值为纵坐标,标准品溶菌酶浓度为横坐标,在半对数坐标纸上绘制标准曲线。

⑦计算所测样品的透光率差值,此即样品中溶菌酶所致透光率的变化。从标准曲线上即可查得相应浓度溶菌酶的含量,再乘以样品的稀释倍数,即可知原样品中的溶菌酶含量。

2. 琼脂平板法

(1)加热融化 3% 琼脂,冷至 60~70℃,与预热好的微球菌液等体积混合,倾注于无菌平皿(直径 9cm)内,每皿 15ml。

(2)凝固后,无菌操作用打孔器打孔,孔间距约 1.5cm,每平板可打孔 8~9 个。

(3)各孔内依次加溶菌酶标准品和唾液样品,每孔 20 μ l。样品避免溢出孔外。

(4)置于 24~26℃,12~18h,测量小孔周围溶菌环直径。

(5)以溶菌酶标准品的浓度为纵坐标(对数坐标),溶菌环直径为横坐标。在半对数坐标纸上绘制标准曲线。待测样品的溶菌酶含量可依据溶菌环直径大小,从标准曲线中查出相应浓度的含量,乘以样品的稀释倍数得出。

【结果判断】

分别记录光学测定法检测 $T_1\%$ 、 $T_0\%$ 值,求出 $TD\%$ 值,以及琼脂平板法所测之溶菌环直径(mm)于表 1-1,按要求绘制标准曲线,并从标准曲线上查出所测样品的溶菌酶含量。

表 1-1 唾液中溶菌酶含量的测定

管号	溶菌酶标准品				唾液样品			
	1	2	3	4	5	6	7	8
光学测定法								
$T_1\%$								
$T_0\%$								
$TD\%$								
琼脂平板法								
溶菌环直径(mm)								

【注意事项】

1. 平板法观察结果无严格的时间规定。标准曲线绘制后,每次检测样品时,最好在同一