

全国高职高专卫生部规划教材配套教材
供 临 床 医 学 专 业 用

病原生物学和免疫学 实验指导

主 编 肖纯凌 赵富玺
副主编 郑葵阳 夏 惠 司传平



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

全国高职高专卫生部规划教材配套教材

供临床医学专业用

病原生物学和免疫学 实验指导

主 编 肖纯凌 赵富玺

副主编 郑葵阳 夏 惠 司传平

主 审 陈兴保

编 者(以姓氏笔画为序)

马春玲(山东医学高等专科学校)	辛 岗(汕头大学医学院)
方 芳(沈阳医学院)	张 冉(湖南师范大学医学院)
司传平(济宁医学院)	张雄鹰(长治医学院)
台凡银(山东菏泽医学专科学校)	郑葵阳(徐州医学院)
刘 新(沈阳医学院)	赵富玺(山西大同大学医学院)
刘丽华(山西大同大学医学院)	夏 惠(蚌埠医学院)
刘伯阳(齐齐哈尔医学院)	高江原(重庆医药高等专科学校)
安春丽(中国医科大学)	黄建林(大庆医学高等专科学校)
李剑平(江西护理职业技术学院)	崔 昱(大连医科大学)
杨建平(赤峰学院医学院)	潘润存(甘肃平凉医学高等专科学校)
肖纯凌(沈阳医学院)	

秘 书 方 芳(沈阳医学院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

病原生物学和免疫学实验指导/肖纯凌等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2009. 8

ISBN 978-7-117-11561-2

I. 病… II. 肖… III. ①病原微生物-实验-高等学校:
技术学校-教学参考资料②医药学:免疫学-实验-高等学校:
技术学校-教学参考资料 IV. R37-33 R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 131430 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.hrhexam.com	执业护士、执业医师、 卫生资格考试培训

病原生物学和免疫学实验指导

主 编: 肖纯凌 赵富玺

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京机工印刷厂(万通)

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 10.75

字 数: 261 千字

版 次: 2009 年 9 月第 1 版 2009 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-11561-2/R·11562

定 价: 18.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)



实验教学是医学教育的重要内容,是培养具有实践能力、创新精神的新型人才的重要环节。为促进高等医学教育的发展,适应教学改革的需要,我们按照 2008 年 9 月在沈阳召开的“卫生部规划高职高专临床医学专业教材主编人会议”中修订工作原则和基本要求,修订第五版《病原生物学和免疫学》的基础上,同步修订与理论教材配套的实验教材,即《病原生物学和免疫学实验指导》。本实验教材尝试实验教学改革的新模式,竭力培养学生的独立操作、独立观察、独立分析和独立解决实际问题的能力。通过学习,不仅使学生掌握病原生物学及免疫学的基本实验操作技术,并利用这些知识进一步去解决临床中的实际问题,培养学生综合分析与创新能力。

为了编好本实验教材,根据专科医学人才培养特点和要求,编委们反复讨论后确定将实验教材分三篇,第一篇为基础实验,包括基本实验方法、经典验证性实验和常规仪器使用、试剂配制;第二篇为综合性实验,每个实验融合了多学科的相关内容,培养学生的综合分析能力;第三篇是创新设计性实验,在实验指导教材中提出几项实验目标,由学生自主选择和提出实验设计方案并完成实验,最后总结和分析实验结果,训练学生发现问题、分析问题的思维。学生可通过选择不同实验板块进行学习。按理论教材顺序编排,注重与理论教学相配合,以实验教学为载体,培养学生动手能力和创新思维。本实验教材的特色是尝试通过实验教学改革,将技能训练与综合、创新能力培养相结合,夯实基础,加强创新。

为方便学生的学习,本教材编写力求将技术操作分别写入相关的实验中,以便于学生通过实验操作,更进一步领会和理解教材的基本理论。本实验指导内容包括医学微生物学实验、人体寄生虫学实验和医学免疫学实验。

多少年来,实验教学的功能只是验证理论和加深对理论的理解,实验教学内容常年不变,随着医学教育的发展,我们尝试对实验教学内容进行深层次的更新,增添了融合性和创新性实验,旨在强化实验教学的实践和创新功能,但此类教材目前无完整模版和经验可循,加之我们的水平有限,教材中难免有不足,恳请同行、专家提出宝贵意见。

肖纯凌 赵富奎

2009 年 6 月



绪论.....	1
---------	---

第一篇 经典验证性实验

第一章 医学微生物学基本实验.....	3
实验一 显微镜(油浸镜)的使用与维护.....	3
一、显微镜的使用方法	3
二、显微镜的维护	6
实验二 细菌形态结构观察.....	6
一、细菌的基本形态观察	6
二、细菌的特殊结构观察	6
实验三 细菌染色法.....	7
一、细菌涂片标本的制备及革兰染色法	7
二、抗酸染色	9
三、特殊结构染色法.....	10
四、细菌不染色标本检查法(细菌动力检查).....	12
实验四 培养基的制备	13
一、基础培养基(肉汤培养基).....	13
二、肉汤琼脂固体培养基.....	14
三、半固体培养基.....	14
四、血液琼脂培养基.....	14
实验五 细菌的接种方法及生长现象观察	14
一、分离培养(平板分段划线).....	14
二、纯培养.....	16
实验六 细菌的生化反应	17
一、糖发酵试验.....	17
二、IMViC 试验	18
三、尿素分解试验.....	20
四、H ₂ S 试验	20
五、触酶试验.....	20



六、氧化酶试验	21
实验七 微生物的分布和微生物菌种、毒株的保存	22
一、微生物分布的检测	22
二、菌种的保存	23
三、毒株的保存	24
实验八 消毒与灭菌实验	25
一、热力灭菌器及其使用(高压蒸汽灭菌器)	26
二、紫外线对细菌的影响	27
三、滤菌器过滤除菌	27
四、无菌工作台与生物安全柜	28
五、化学消毒剂的杀菌实验	28
实验九 细菌毒力的检测	28
一、内毒素测定	29
二、外毒素的毒性作用和抗毒素的中和作用	29
三、细菌侵袭力的测定	30
实验十 细菌的药物敏感性试验	32
实验十一 细菌的变异	37
一、细菌质粒 DNA 的提取	37
二、细菌转化实验	37
三、L 型细菌的检测	38
实验十二 病毒的形态观察	40
一、病毒的电子显微镜观察	40
二、病毒感染的细胞包涵体检测	40
实验十三 病毒的培养	41
一、动物接种法	41
二、鸡胚培养法	42
三、细胞培养法及接种病毒结果观察	43
实验十四 病毒的血清学实验	44
一、流感病毒的血细胞凝集试验和血细胞凝集抑制试验	44
二、乙型肝炎病毒抗原抗体的检测——ELISA	46
实验十五 真菌、放线菌的培养方法与形态观察	47
一、真菌的形态观察	47
二、真菌的染色	48
三、真菌的培养	49
第二章 人体寄生虫学基本实验	51
实验十六 线虫	51

一、似蚓蛔线虫(蛔虫)·····	51
二、蠕形住肠线虫(蛲虫)·····	52
三、毛首鞭形线虫(鞭虫)·····	53
四、十二指肠钩口线虫和美洲板口线虫·····	54
五、班氏吴策线虫和马来布鲁线虫·····	55
六、旋毛形线虫(旋毛虫)·····	56
七、粪类圆线虫·····	57
八、结膜吸吮线虫·····	57
九、美丽筒线虫·····	57
实验十七 吸虫·····	58
一、华支睾吸虫(肝吸虫)·····	58
二、布氏姜片吸虫(姜片虫)·····	59
三、肝片形吸虫·····	60
四、卫氏并殖吸虫(肺吸虫)·····	61
五、斯氏狸殖吸虫·····	62
六、日本裂体吸虫(血吸虫)·····	63
实验十八 绦虫·····	65
一、链状带绦虫和肥胖带绦虫·····	65
二、细粒棘球绦虫·····	67
三、微小膜壳绦虫(短膜壳绦虫)·····	68
四、曼氏迭宫绦虫(孟氏迭宫绦虫)·····	69
实验十九 原虫实验·····	70
一、溶组织内阿米巴·····	70
二、结肠内阿米巴·····	71
三、杜氏利什曼原虫(黑热病原虫)·····	72
四、阴道毛滴虫·····	73
五、蓝氏贾第鞭毛虫·····	73
六、疟原虫·····	74
七、刚地弓形虫·····	76
八、微小隐孢子虫·····	76
九、结肠小袋纤毛虫·····	77
实验二十 节肢动物·····	78
一、蚊·····	78
二、蝇·····	79
三、白蛉·····	79
四、蚤·····	80



五、虱	81
六、臭虫	81
七、蜚蠊(蟑螂)	82
八、蜉	83
九、螨	83
第三章 医学免疫学基本实验	86
实验二十一 凝集反应	86
一、直接凝集反应(ABO 血型鉴定)	86
二、间接凝集反应	87
三、间接凝集抑制试验	88
四、SPA 协同凝集反应	88
实验二十二 沉淀反应	89
一、琼脂扩散试验	90
二、免疫电泳试验	92
实验二十三 补体试验	94
一、补体结合试验	95
二、血清总补体活性测定	96
实验二十四 免疫标记技术	97
一、酶免疫标记技术	98
二、免疫荧光技术	100
三、放射免疫分析法	100
实验二十五 免疫胶体金斑点试验	102
一、斑点金免疫渗滤试验	102
二、斑点免疫层析试验	103
实验二十六 非特异性免疫功能检测法	104
一、吞噬细胞吞噬实验	104
二、溶菌酶的测定	105
实验二十七 细胞免疫功能测定	107
一、人外周血单个核细胞的分离	107
二、E 花环形成试验	109
三、淋巴细胞增殖试验	111
实验二十八 超敏反应	115
一、豚鼠过敏反应	115
二、皮肤过敏反应试验	116
三、细胞因子测定	116



第二篇 综合性实验

实验二十九 化脓性葡萄球菌及 MRSA 检测鉴定	119
一、检查程序示意图	119
二、致病性测定(触酶试验、血浆凝固酶、耐热核酸酶、肠毒素测定)	120
三、耐药性菌株的耐药试验	122
实验三十 链球菌属的鉴别检查	123
一、形态与培养	123
二、生化反应	124
三、抗“O”试验	125
四、血清学试验:链球菌分群快速胶乳凝集试验	126
五、基因鉴定(PCR 技术)	126
实验三十一 胃肠道感染的病原体检测	127
一、病原体分离培养	127
二、致病性肠道细菌的生化鉴定	128
三、肠道杆菌的血清学鉴定	128
四、痢疾杆菌快速检测——免疫荧光菌球试验	129
五、ESBLs 检测	129
六、肥达反应	131
实验三十二 呼吸道感染的病原体检测	133
一、肺炎链球菌	133
二、脑膜炎奈瑟菌	134
三、白喉棒状杆菌	136
四、结核分枝杆菌	138
五、军团菌属	141
六、放线菌	143
七、支原体	144
八、真菌	146
实验三十三 消化道感染寄生虫的病原学检查	149
实验三十四 B 淋巴细胞试验	150
溶血空斑试验——小室液相法	150
实验三十五 T 淋巴细胞亚群检测技术	152
一、免疫荧光检测法	152
二、酶免疫技术 APAAP 法	153
实验三十六 NK 细胞活性的测定	154
一、乳酸脱氢酶(LDH)测定法	154



二、放射性核素 ⁵¹ Cr测定法	155
-----------------------------------	-----

第三篇 创新设计性实验

实验三十七 细菌耐药性检查	157
一、紫外线诱变试验	157
二、耐药性突变菌株的检测	158
实验三十八 设计和建立寄生虫感染的动物模型并进行动物模型的鉴定	158
一、华支睾吸虫感染动物模型	158
二、日本血吸虫感染动物模型	160
三、旋毛虫感染动物模型	161



绪 论

一、病原生物学与免疫学实验目的与要求

病原生物学与免疫学实验教学目的是:掌握本学科的基本实验技能,加深对基本理论和基本知识的理解,培养学生科学严谨的工作作风和分析解决实际问题的能力,为今后的临床实践及科学研究工作打下坚实的基础。实验教学形式基本上分为教师示范、学生自己模拟操作及综合设计实验等。

为提高实验课教学效果,要求学生在实验前后做到以下几点:

1. 每次实验课前务必做好预习,明确实验目的、原理、内容、操作中需注意的问题等。
2. 在实验过程中,应按照实验指导所列步骤,依次进行,避免或减少错误的发生。
3. 实验结果必须真实地记录下来,然后进行分析,得出结论。如出现和理论不符的结果时,应寻找原因。实验完成后,要写出实验报告。

二、实验室规则

由于本学科的实验对象多为病原生物,有传染的危险。因此,进入实验室必须严格遵守以下规则:

1. 进实验室前必须先穿好白大衣,系好衣扣和袖口。除必要的文具、实验指导、笔记本外,其他物品应放入更衣柜内。
2. 实验室内要保持安静,严禁吸烟、喧哗。
3. 实验过程中,如果不慎发生培养物容器破损或传染性材料外溢等,应立即报告指导教师,以便及时处理。
4. 实验完毕,须将吸过菌液的吸管、毛细滴管、用过的玻片等,投入含有消毒剂的容器中,不得放在实验台上,亦不可冲洗于水槽内;废弃物品必须放在指定地点;其他物品应放回原处。未经许可不得将实验室内的任何物品带出室外。
5. 要爱护实验室公物,注意节约水、电及实验材料。实验室常规设备如培养箱、水浴箱、电冰箱等,不准随意调试。
6. 离开实验室前,脱下白大衣,反折叠好;须用消毒液或肥皂把手洗净。
7. 每次实验课后,由值日生负责湿性打扫,关好水、电、门窗等。

三、实验室意外的紧急处理

在实验过程中,要严防事故的发生;如发生意外伤害事故,应及时报告,并采取一些紧急处理措施。

1. 皮肤损伤 先除尽异物,用蒸馏水或生理盐水洗净后,涂碘伏。

2. 烧伤 局部涂凡士林、5%鞣酸或2%苦味酸。

3. 化学药品腐蚀伤

(1)强酸:先用大量清水冲洗,再用5%碳酸钠溶液冲洗以中和酸。

(2)强碱:先用大量清水冲洗,再用5%硼酸溶液或5%醋酸溶液冲洗以中和碱。

若受伤部位是眼部,经洗眼器洗眼后,再用无菌橄榄油1~2滴滴眼。

4. 菌液污染桌面 将适量的2%~3%来苏水或0.1%苯扎溴铵倒入污物处,浸泡30分钟抹去。若手上沾有活菌,应浸泡上述消毒液3分钟,然后再用肥皂洗手,清水冲净。

5. 火警 如发生火警时,须沉着冷静处理,切勿慌张。应立即关闭电闸或煤气阀门。如乙醇、乙醚、汽油等有机溶剂起火,切忌用水扑救,可用沙土等物扑灭。

(肖纯凌 赵富玺)

第一篇 经典验证性实验

第一章 医学微生物学基本实验

实验一 显微镜(油浸镜)的使用与维护

显微镜是研究病原生物形态的重要工具之一。根据不同的研究目的和要求,分别选用普通光学显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜、荧光显微镜或电子显微镜等,其中以普通光学显微镜(简称显微镜)最为常用。

【目的】

初步掌握显微镜油镜的使用与维护方法。

【材料】

显微镜、香柏油、二甲苯、擦镜纸。

【方法】

一、显微镜的使用方法

(一) 显微镜的构造

显微镜的构造分为机械和光学两部分(图 1-1)。

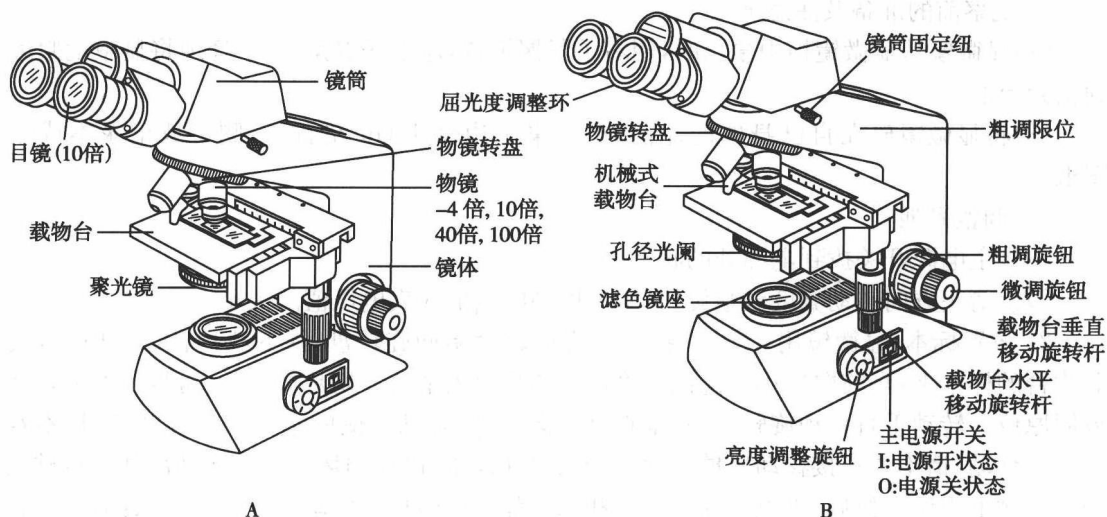


图 1-1 普通光学显微镜结构

1. 机械部分 用于支持镜体和调焦。

(1) 镜筒: 是光线的通路, 上端接目镜, 下端与物镜转换器相连。

(2) 物镜转换器: 又称旋转盘, 是镜筒下方的一个圆盘结构, 用以安装不同放大倍数的接物镜, 可按顺时针或逆时针方向旋转。

(3) 镜臂: 是支持镜筒和镜台的弯曲状结构, 显微镜的握持部。

(4) 倾斜关节: 介于镜臂和镜座之间, 为镜筒作前后变位的支持点。

(5) 载物台: 是放置被检标本片的平台, 载物台上有标本推进器, 可使标本片前、后、左、右移动。载物台中央有通光孔, 来自下方的光线经此孔照射到标本上。

(6) 调焦器: 也称调焦螺旋, 在镜台后方两侧, 通过升降镜筒, 调节物镜与被检物体之间的焦距。一般设有粗调螺旋和细调螺旋, 前者用作粗略调焦, 后者用作精密调焦。

(7) 镜柱: 是连接镜臂与镜座的短柱。

(8) 镜座: 位于最底部, 是整台显微镜的基座, 用于支撑和稳定镜体。有的显微镜在镜座内装有光源。

2. 光学部分

(1) 目镜: 安装在镜筒的上端。每个目镜一般由两个透镜组成, 其上刻有放大倍数如 $\times 5$ 、 $\times 10$ 、 $\times 15$ 。镜中常装有一条黑色细丝作为指针, 以便指示物像供观察。

(2) 物镜: 安装在物镜转换器上, 有低倍镜(10×0.25 , 10 表示放大倍数, 0.25 表示数值孔径)、高倍镜(40×0.65)及油镜(100×1.25)。

(3) 聚光器及光圈: 调节视野明暗度。在聚光器的左下方有一个调节螺旋, 可使其上升或下降, 升高可使光线增强, 反之光线变弱。光圈外侧有一个小柄。旋转可使光圈的孔径开大或缩小, 以调节光线的强弱。

(4) 反光镜: 有平、凹两面, 可以自由转动, 使光源射出的光线反射到聚光器。

(二) 显微镜的使用方法

显微镜结构精密, 使用时需细心。以奥林巴斯 CX-21 为例, 须按下列步骤进行:

1. 观察前的准备及注意事项

(1) 显微镜从显微镜柜中拿出时, 用右手紧握镜臂, 左手托着镜座, 平稳地将显微镜搬运到实验台上。

(2) 将显微镜放在自己身体的左前方, 离桌子边缘 10cm 左右, 右侧可放记录本或绘图纸。

(3) 调整光强

1) 将主电源开关拨到电源开的状态。

2) 按箭头方向转动亮度调整旋钮, 旋钮周围的数值代表电压值的大小。

2. 放置标本(显微镜用标本) 按箭头方向转动粗调旋转盘, 降下载物台, 拉开机械式载物台的样本夹, 自前向后小心谨慎地将标本切片放入平台。切片放稳后, 再将样本夹轻轻放回原位。转动垂直移动旋转杆, 标本垂直方向移动; 转动下侧的水平移动旋转杆, 标本水平方向移动(请不要直接移动机械式载物台来移动标本, 以免损坏旋钮的转动部件。机械式载物台碰上粗调限位后, 垂直移动旋转杆和水平移动旋转杆的转动力量会变大, 这时请停止转动旋转杆)。取下标本方法与放入标本方法相反。

3. 聚焦 对焦要领:

- (1)从显微镜的侧面看,按箭头方向转动粗调旋钮使物镜尽可能接近标本(表 1-1)。
- (2)一边看目镜,一边慢慢逆箭头方向转动粗调旋转盘使载物台下降。
- (3)看到标本后,用微调旋钮来正确对焦。

表 1-1 不同倍率的物镜从物镜到标本的距离

物镜放大倍率	4 倍	10 倍	40 倍	100 倍
WD(mm)	22.0	10.5	0.56	0.13

注:WD,动作距离

4. 调整瞳距 调整瞳距是调整双眼间的距离,使两只眼睛同时看到一个显微镜像,防止观察时的疲劳。具体方法是:一边看目镜,一边移动双眼镜筒,让左右视野一致。将自己的瞳距值记住,利于下次观察时的调整。

5. 调整光镜位置和孔径光栅 一般聚光镜是在上限位置使用,但是在观察视野亮度不太均衡时,向下微调聚光镜,可获得良好的照明亮度。在孔径光栅环上刻有物镜倍率($\times 4$ 、 $\times 10$ 、 $\times 40$ 、 $\times 100$),观察时将与使用物镜相对应的倍率放到上面。

6. 转换物镜 将希望使用的物镜转到标本(显微镜使用标本)的上方。

(1)低倍镜观察:镜检任何标本都要养成先用低倍镜观察的习惯。因为低倍镜视野较大,易于发现目标和确定检查的位置。将标本放置在载物台上,用标本夹夹住,移动推进器,使被观察的标本处在物镜正下方,转动粗调节螺旋,直至物像出现,再用细调节螺旋将物像调至清晰为止。

(2)高倍镜观察:在低倍镜观察的基础上转换高倍物镜。在正常情况下,高倍物镜的转换不应碰到载玻片或其上的盖玻片,在转换物镜时要从侧面观察,避免镜头与玻片相撞。然后从目镜观察,调整光亮适度,缓慢调节粗调节螺旋使载物台上升直至物像出现,再用细调节螺旋调至物像清晰为止。

(3)油镜观察:使用油镜时,需要加香柏油,其原理是:由于油镜的透镜很小,光线自标本片透过进入空气中时,因介质密度不同,有些光线因折射不能进入透镜,这样射入透镜的光线较少,物像显现不清楚;若在标本片和油镜之间加与玻璃折光率($n=1.520$)相仿的香柏油($n=1.515$),避免了光线的全反射,进入油镜的光锥就宽一些,视野的亮度相对增强了一些,同时也增大了孔径数,提高了分辨率(图 1-2)。

油浸物镜的工作距离(指物镜前透镜的表面到被检物体之间的距离)很短,一般在 0.2mm 以内。因此,使用油镜时要特别细心,避免由于调焦不慎而压碎标本片,使物镜也受到损害。必须按下列步骤操作:

- 1)在标本片上镜检部位滴上香柏油 1 滴。
- 2)从侧面注视,调节粗螺旋,提升载物台,使物镜浸入香柏油中,此时镜头几乎与标本接触。

3)从目镜观察,慢慢调节粗螺旋使载物台下降,当出现物像后改用细螺旋(只允许在 180° 范围内调节),调至物像清晰为止。如油镜已离开油面而仍未见到物像,必须再从侧面观察,重复上述操作。

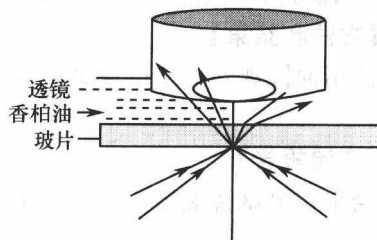


图 1-2 油镜原理示意图(引自:陈兴保. 病原生物学和免疫学实验指导)

4)观察完毕,降下载物台,转动旋转盘,使油镜偏位,先用擦镜纸擦去镜头上的香柏油,再用擦镜纸蘸少许二甲苯,擦去镜头上残留的油迹,最后再用擦镜纸擦拭一下即可。

5)将各部件还原,转动旋转盘,使最短物镜与载物台通光孔相对,使载物台上升,聚光器下降,反光镜与聚光器垂直,推进器复位。

二、显微镜的维护

1. 取、送显微镜时一定要一只手握住弯臂,另一只手托住底座。显微镜不能倾斜,以免目镜从镜筒上端滑出。取、送显微镜时要轻拿轻放。

2. 显微镜是贵重的精密仪器,使用时要加以爱惜,不得任意拆卸显微镜上的零件,严禁随意拆卸物镜镜头。

3. 凡是显微镜的光学部分,只能用特殊的擦镜头纸擦拭,不能乱用他物擦拭,更不能用手指触摸透镜,以免汗液玷污透镜。

4. 强酸、强碱、氯仿、乙醇、乙醚等都能去漆或损坏机件,需注意不使其接触机件。

5. 显微镜放置的地方要干燥,以防止透镜发霉,但亦要避免阳光的直接照射。

(赵富玺)

实验二 细菌形态结构观察

一、细菌的基本形态观察

【目的】

认识细菌的基本形态及常见的排列方式。

【材料】

革兰染色标本片:

1. 球菌 葡萄球菌、链球菌、脑膜炎奈瑟菌。
2. 杆菌 大肠埃希菌、伤寒沙门菌、炭疽芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌。
3. 螺形菌 霍乱弧菌或水弧菌。

【方法和结果】

使用油镜观察上述革兰染色标本片。注意观察各菌的形态、大小、排列方式及染色性等特点。

【实验报告】

绘出在显微镜油镜下所见细菌的基本形态图,并注明染色性。

二、细菌的特殊结构观察

【目的】

认识细菌的特殊结构:荚膜、鞭毛及芽胞。

【材料】

特殊染色标本片:

1. 荚膜 肺炎链球菌、产气荚膜梭菌。
2. 芽胞 破伤风梭菌、炭疽芽胞杆菌、枯草芽胞杆菌等。
3. 鞭毛 变形杆菌、霍乱弧菌。

【方法和结果】

使用油镜观察上述特殊结构标本片。

1. 肺炎链球菌 经黑斯(Hiss)荚膜染色后,菌体呈紫色,“矛头状”成双排列,菌体四周有淡紫色或不着色的透明圈(即荚膜)。
2. 破伤风梭菌 经芽胞染色后,菌体呈蓝色,芽胞呈红色。
3. 普通变形杆菌 经鞭毛染色法后,菌体和周身鞭毛呈红色。

【实验报告】

绘出在显微镜下所见细菌的特殊结构图,并注明染色方法。

(刘丽华)

实验三 细菌染色法

细菌细胞小而无色透明,在普通光学显微镜下较难看清楚。若将细菌制成涂片,固定后加以染色,便可在普通光学显微镜下清楚地看到细菌。细菌的等电点较低,约在 pH 2~5 之间,在中性及弱碱性环境中多带负电荷,故易与带正电荷的碱性染料结合。所以,细菌染色多用碱性染料,如亚甲蓝、结晶紫、碱性复红等。

细菌染色法可分为单染色法和复染色法两大类。前者仅用一种染料染色,只能观察细菌的大小、形态和排列,但不能鉴别细菌;后者是以两种以上的染料染色,可显示出细菌的特殊结构或染色特性,在细菌的鉴别上有一定意义,复染法主要有革兰染色法和抗酸染色法。此外,还有对细菌的芽胞、鞭毛、荚膜等结构的特殊染色法。

一、细菌涂片标本的制备及革兰染色法

细菌涂片标本的制备及革兰染色法是微生物学实验中的一项基本技术。革兰染色法是 1884 年由丹麦病理学家 Gram 创立的。此法可将所有细菌分为两大类:革兰阳性菌和革兰阴性菌。

【原理】

革兰染色法的原理尚未完全阐明,目前主要有以下 3 种学说:①革兰阳性菌等电点在 pH2~3,比阴性菌(pH4~5)低,因此阳性菌和碱性染料的结合力比阴性菌强;②革兰阳性菌含有核糖核酸镁盐,易和结晶紫-碘复合物结合而不易脱色;③革兰阳性菌细胞壁及细胞膜的通透性较低,因此,染料和碘的复合物不易被乙醇所溶出。所以,阳性菌被初染液结晶紫染成紫色,而阴性菌初染后可被乙醇脱色,经稀释苯酚复红复染成红色。

【目的】

1. 掌握细菌涂片标本的制备。
2. 掌握革兰染色方法。