

# 病原生物学与免疫学基础

## 实验报告

专业\_\_\_\_\_

学号\_\_\_\_\_

班级\_\_\_\_\_

姓名\_\_\_\_\_

第二军医大学出版社

# 实验一 医学免疫学基础

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习:①凝集反应、单向琼脂扩散实验、酶联免疫吸附实验、斑点免疫渗滤实验(测 HCG 辅助妊娠诊断)的原理及方法;②E 玫瑰花结试验、淋巴细胞转化试验、T 细胞亚群检测的原理及方法。

## 【实验目的】

掌握凝集反应、单向琼脂扩散实验、酶联免疫吸附实验、斑点免疫渗滤实验(测 HCG 辅助妊娠诊断)E 玫瑰花结试验、淋巴细胞转化试验、T 细胞亚群检测的原理、实验方法及临床意义。

## 【实验内容】

1. 直接凝集反应——玻片法及试管法(操作):记录操作步骤。

2. 正向间接凝集反应——RF 检测(示教)。

3. 反向间接凝集反应——HCG 检测(操作):记录操作步骤。

4. 间接凝集抑制试验——妊娠试验(操作):记录操作步骤。

5. 单向琼脂扩散试验(示教)。

6. 酶联免疫吸附试验(示教)。

7. 斑点免疫渗滤试验——测 HCG 辅助妊娠诊断(示教)。

8. E 玫瑰花结试验、淋巴细胞转化试验、T 细胞亚群检测(示教)。

## 【结果与分析】

1. 血型鉴定试验:根据凝集现象,结合下表判断实验者血型为( )型。

血型	血型诊断血清	
	抗 A	抗 B
A 型	+	-
B 型	-	+
AB 型	+	+
O 型	-	-

注:“+”表示凝集;“-”表示无凝集。

分析：

2. 肥达反应结果：

抗原	试管凝集情况							凝集效价
	1	2	3	4	5	6	7	
伤寒杆菌 O 菌液								
伤寒杆菌 H 菌液								
PA H 菌液								
PB H 菌液								

分析与结论：

3. 正向间接凝集反应(RF 检测)结果：如试验圈内出现( )为阳性,说明待检血清中有( )。

4. 反向间接凝集反应(HCG 检测)结果：

检测样本	现象
孕妇尿液	
正常人尿液	
待检尿液	

分析与结论：

5. 间接凝集抑制试验(妊娠试验)结果：

检测样本	现象
孕妇尿液	
正常人尿液	
待检尿液	

分析与结论：

6. 单向琼脂扩散试验现象：如抗原与已知的抗体相对应,在两者比例适合处即出现由免疫复合物所形成的( )。

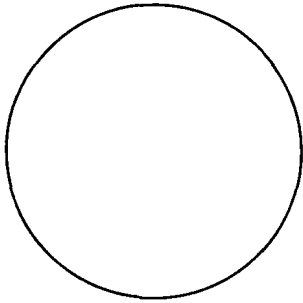
7. 酶联免疫吸附实验结果：

样品	颜色	结论与分析
阴性对照		
待检样品		

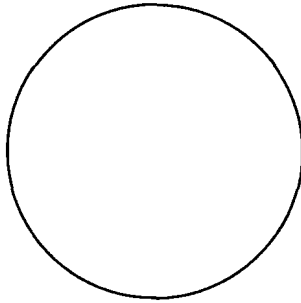
8. 斑点免疫渗滤实验一测 HCG 辅助妊娠诊断实验结果:( )判为阳性反应;反之,则为阴性反应。

分析:

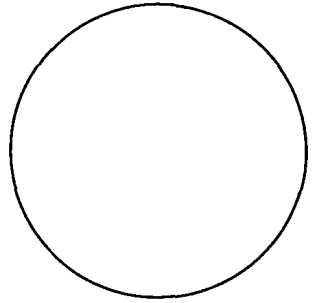
9. E 玫瑰花结试验、淋巴细胞转化试验、T 细胞亚群检测镜下观察:



E 玫瑰花结



淋巴细胞转化试验



T 细胞亚群

### 【实验报告与作业】

1. 反向间接凝集反应和间接凝集抑制试验的原理有何不同?
2. 鉴定血型时应注意哪些问题?
3. 肥达反应中设对照管有什么目的?
4. 酶联免疫吸附实验的定性法和定量法在实验方法上有何不同?
5. 尿液检测 HCG 阳性的临床意义是什么?
6. 做 E 玫瑰花结试验、淋巴细胞转化试验、T 细胞亚群检测有何用途?

# 实验二 微生物学实验室常用仪器简介 及光学显微镜的使用

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习:①微生物实验室规则及常见事故处理方法;②微生物学实验室常用仪器的构造、原理、使用方法及注意事项;③光学显微镜的构造、原理、使用方法及注意事项。

## 【实验目的】

1. 掌握光学显微镜油镜头的使用及维护措施。
2. 熟悉微生物学实验室常用仪器的使用及注意事项。
3. 熟读实验室规则。
4. 学会微生物学实验室常见事故处理。

## 【实验内容】

1. 实验室规则及常见事故处理。
2. 高压蒸汽灭菌器、干烤箱、恒温箱、恒温水浴箱、冰箱、离心机等微生物学实验室常用仪器实物介绍(示教)。

3. 光学显微镜油镜头的使用及维护措施(操作)。

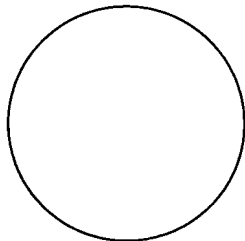
(1)油镜头使用原理:

(2)油镜头使用方法:

(3)油镜头的维护措施:

## 【结果与观察】

油镜下细菌涂片观察:



## 【实验报告与作业】

1. 简述微生物学实验室常用仪器临床实际应用。
2. 谈谈使用完油镜后你是如何保护油镜的。



# 实验三 细菌的形态学检查法(1)

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习:①细菌的不染色标本的原理、方法、注意事项及临床意义;②暗视野显微镜的构造、原理、使用方法、注意事项及临床意义。

## 【实验目的】

了解细菌运动性的观察方法。

## 【实验内容】

1. 细菌的不染色标本观察(示教)。
  - (1)压滴法。
  - (2)悬滴法。
2. 暗视野显微镜的使用(示教)。

## 【结果与观察】

1. 有鞭毛细菌的运动特点:
  
  
  
  
  
  
  
  
  
  
2. 无鞭毛细菌的运动特点:

## 【实验报告与作业】

1. 不染色细菌标本的检查有何实际意义?
2. 压滴法时,盖玻片与载玻片之间出现气泡会影响结果观察吗?



## 实验四 细菌的形态学检查法(2)

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习:①革兰染色原理、方法、注意事项和临床意义;②抗酸染色法的原理、方法、注意事项和临床意义;③细菌的基本形态和特殊构造。

### 【实验目的】

1. 掌握细菌的标本片制备及革兰染色方法。
2. 熟悉细菌的基本结构和特殊结构。
3. 了解抗酸染色方法及意义。

### 【实验内容】

1. 细菌革兰染色(操作)。

(1)制片:

(2)步骤:

2. 细菌的抗酸染色(示教)。

(1)制片:

(2)步骤:

3. 细菌的基本形态观察(葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、大肠埃希菌、霍乱弧菌)。

4. 细菌的特殊构造观察(肺炎链球菌——荚膜、破伤风梭菌——芽孢、大肠埃希菌——鞭毛)。

### 【结果与观察】

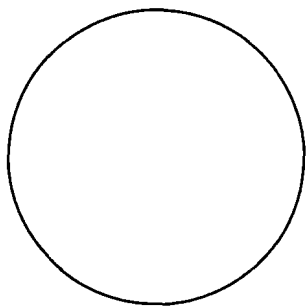
1. 记录革兰染色的结果:

细菌名称	形态	排列	颜色	染色性
大肠埃希菌				
葡萄球菌				

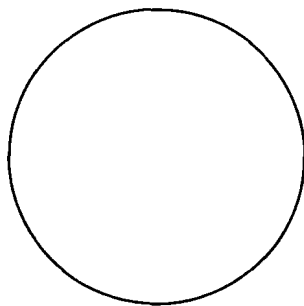
2. 记录抗酸染色的结果:

细菌名称	形态	排列	颜色	染色性
结核分枝杆菌				
葡萄球菌				

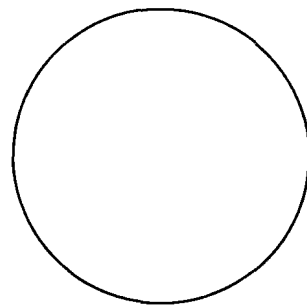
3. 细菌的基本形态(用红蓝铅笔绘出镜下图)观察:



葡萄球菌/链球菌

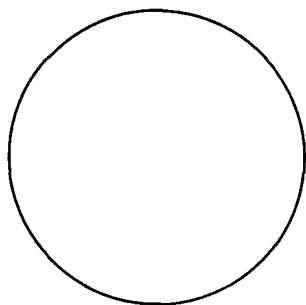


肺炎链球菌/脑膜炎奈瑟菌

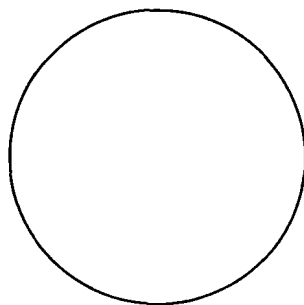


大肠埃希菌/霍乱弧菌

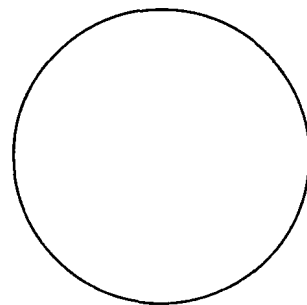
4. 细菌的特殊构造观察:



肺炎链球菌(荚膜)



破伤风梭菌(芽孢)



大肠埃希菌(鞭毛)

### 【实验报告与作业】

1. 固定待检标本片时应注意什么?
2. 某未知菌株在进行革兰染色时,怎样保证染色结果正确、可靠?
3. 根据实验,你认为在革兰染色中哪一步最关键?为什么?



# 实验五 基础培养基的制备与细菌的接种和培养

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习:①培养基制备过程中常使用的器材准备、培养基制备过程及常用培养基制备;②细菌的接种法和培养法的原理、方法、注意事项及临床意义;③细菌在培养基上的生长现象观察。

## 【实验目的】

1. 熟悉培养基制备的基本过程及常用培养基的种类及其用途。
2. 掌握细菌的接种法和培养法的原理、方法、注意事项及临床意义。
3. 验证理论内容:细菌在培养基上的生长现象。

## 【实验内容】

1. 常用器材准备——培养皿、试管、吸管及毛细管、烧瓶等包装(示教)。
2. 常用培养基制备——基础培养基以肉膏汤制备为例,营养培养基以血平板为例示教,注意培养基分装、pH测定等步骤(示教)。
3. 细菌的培养法——需氧培养法、CO<sub>2</sub>培养法、厌氧培养法(示教)。
4. 细菌的接种方法——固体、半固体、液体等培养基的接种(示教或操作)。
5. 细菌在固体、半固体、液体等培养基上的生长现象观察(示教)。

## 【结果与观察】

### (一)肉膏汤的制备

1. 成分:

2. 配制:

3. pH测定:测定肉膏汤液体培养基总量为 1 000 ml,使 pH 值至 7.6 时,先取培养基 \_\_\_\_\_ ml,加 \_\_\_\_\_ 指示剂 \_\_\_\_\_ ml,0.1 mol/L NaOH \_\_\_\_\_ ml。计算欲测定的肉膏汤液体培养基共需要加入 1 mol/L NaOH \_\_\_\_\_ ml(写出计算过程)?

4. 记录你所制备的培养基成分和量/瓶:

培养基名称	牛肉膏	蛋白胨	氯化钠	琼脂	蒸馏水
普通琼脂平板					
半固体培养基					
蛋白胨水培养基					

## (二)细菌的接种法和培养法

培养基名称	接种的细菌	接种方法	培养方法
血液琼脂平板			
普通琼脂平板			
半固体培养基			
液体培养基			

## (三)细菌在培养基上的生长现象

### 1. 细菌在普通琼脂培养基上的生长现象观察：

接种的细菌	形状	大小	颜色	边缘	性状	表面	透明度
葡萄球菌菌落							
大肠埃希菌菌落							

### 2. 半固体培养基上的生长现象观察：

接种的细菌	生长现象	动力(阳性/阴性)
大肠埃希菌		
葡萄球菌		

### 3. 液体培养基上的生长现象观察：

接种的细菌	生长现象
大肠埃希菌	
溶血性链球菌	
枯草芽孢菌	

## 【实验报告与作业】

1. 图示法表示培养基的制备过程。
2. 说出配制培养基的主要依据是什么？怎样才知道你制备的培养基是合格的？
3. 怎样识别平板上生长的菌落是污染的菌落？
4. 请说出平板划线分离过程中应注意的问题。
5. 为什么要将培养皿倒置培养？

# 实验六 细菌的代谢产物观察

指导教师 \_\_\_\_\_ 实验时间 \_\_\_\_\_ 实验评分 \_\_\_\_\_

预习：糖发酵试验、IMViC 试验、硫化氢试验和尿素分解试验等的原理、方法、注意事项及临床意义。

### 【实验目的】

掌握糖发酵试验、IMViC 试验、硫化氢试验和尿素分解试验的原理、结果判断及医学意义。

### 【实验内容】

1. 单糖发酵试验(示教)。
2. IMViC 试验(示教)。
3. 硫化氢试验(示教)。
4. 尿素分解试验(示教)。

### 【结果与分析】

1. 单糖发酵试验现象与结果：

菌种	葡萄糖	乳糖	麦芽糖	甘露醇	蔗糖	对照管
大肠埃希菌						
伤寒沙门菌						

分析与结论：

2. IMViC 试验现象与结果：

菌种	靛基质试验	甲基红试验	VP 试验	枸橼酸盐利用试验
大肠埃希菌				
产气杆菌				

分析与结论：

3. 硫化氢试验结果：

细菌名称	培养基颜色变化	结果
大肠埃希菌		
普通变形杆菌		

分析与结论：

4. 尿素分解试验结果：

菌 种	培养基颜色反应	动力试验	结 果
普通变形杆菌			
福氏志贺菌			

分析与结论：

5. 细菌的色素观察：

细菌名称	培养基上细菌菌落形状与颜色
大肠埃希菌	
葡萄球菌	
铜绿假单胞菌	

分析与结论：

**【实验报告与作业】**

1. 仅依据一种细菌的生化反应实验结果能将两种不同的细菌鉴别开吗？为什么？
2. 解释大肠埃希菌、普通变形杆菌在醋酸铅培养基中的生长现象。
3. 分析大肠埃希菌、产气杆菌 IMViC 试验结果，说出为什么。

# 实验七 细菌的分布与消毒灭菌

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习：①细菌在自然界及人体的分布规律及检查方法；②物理因素、化学因素及生物因素对细菌的影响。

## 【实验目的】

1. 掌握空气中、水中、物品表面及人体内细菌的检查方法，熟悉高压蒸汽灭菌法和滤过除菌法。
2. 验证温度与细菌生长繁殖的关系。
3. 了解紫外线的杀菌作用特点及化学消毒剂的杀菌效果。
4. 掌握药物敏感性试验方法以及医学意义。

## 【实验内容】

1. 不同地点的空气中、自来水及池水中、书籍、硬币、红蓝铅笔等物品上细菌的检查(示教)。
2. 正常人体咽喉部细菌的检查(示教)。
3. 掌握高压蒸汽灭菌器和滤菌器的使用方法(示教)。
4. 皮肤消毒前后的细菌学检查(操作)：记录操作步骤。
  
5. 温度与细菌生长繁殖的关系(操作)：记录操作步骤。
  
6. 紫外线的杀菌作用(操作)：记录操作步骤。
  
7. 细菌对抗生素敏感性测定(操作)：记录操作步骤。

### 【结果与分析】

#### 1. 温度与细菌生长繁殖的关系实验结果:

培养方法	菌种	现象
100℃ 5 min 后	大肠埃希菌	
37℃ 培养 24 h	枯草杆菌	
37℃ 培养 24 h	大肠埃希菌	
	枯草杆菌	
22℃ 培养 24 h	大肠埃希菌	
4℃ 培养 24 h	大肠埃希菌	

分析与结论:

#### 2. 紫外线的杀菌作用实验结果:

项 目	平板 1		平板 2	
	盖子覆盖处	暴露处	纸片覆盖处	暴露处
现象				

分析与结论:

#### 3. 皮肤消毒前后的细菌学检查实验结果:

项 目	消毒前		消毒后		对 照
	甲	乙	甲	乙	
菌落数					

分析与结论:

#### 4. 细菌对抗生素敏感性测定实验结果:

药品名称	结 果
抑菌环直径	
敏感度	

分析与结论:

### 【实验报告与作业】

1. 做人体咽喉部位细菌检查的血平板上是否有草绿色溶血环出现? 如果有,可能是什么?
2. 高压蒸汽灭菌器主要适用于哪些物品的灭菌? 使用时应注意哪些问题?
3. 在医学实践中紫外线有哪些应用?
4. 细菌对抗生素的敏感性试验在医学实践中有何意义?



# 实验八 细菌的耐药性变异与细菌的致病性

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习：①细菌的耐药性变异的原理及检测方法；②病原菌的致病因素及测定方法。

## 【实验目的】

1. 了解 R 质粒在细菌变异中的作用及细菌耐药性变异的意義。
2. 观察透明质酸酶的侵袭作用。
3. 观察并了解外毒素的毒性作用及抗毒素的中和作用。
4. 了解鲎试验检测内毒素的方法。

## 【实验内容】

1. R 质粒传递的细菌耐药性变异(示教)。
2. 透明质酸酶实验(示教)。
3. 破伤风梭菌外毒素的毒性作用及抗毒素的保护作用(示教)。
4. 鲎试验(示教)。

## 【结果与分析】

1. 耐药性变异实验结果：

中国蓝平板上接种的细菌	菌落的特征(大小及等色素)
供体菌	
受体菌	
接合菌	

分析与结论：

2. 透明质酸的扩散作用实验结果：

注射物	现象
乙型溶血性链球菌培养物滤液+墨水	
生理盐水+墨水	

分析与结论：

3. 破伤风杆菌外毒素的毒性作用及抗毒素的中和作用实验结果：

豚 鼠	现 象
注射破伤风抗毒素后注射破伤风外毒素	
注射破伤风外毒素	

分析与结论：

4. 鲎试验结果：

项 目	现 象
标准内毒素	
蒸馏水	
待测样品	

**【实验报告与作业】**

1. 供体菌、受体菌及接合菌的菌落生长现象有何不同？说明了什么？
2. 为什么在破伤风外毒素的毒性作用试验中两只动物的表现不同？
3. 怀疑是热原质污染的葡萄糖注射液，能否用鲎试验法检测？为什么？



# 实验九 化脓性细菌及病原性球菌检查

指导教师\_\_\_\_\_ 实验时间\_\_\_\_\_ 实验评分\_\_\_\_\_

预习:①化脓性细菌(化脓性细菌形态及染色性、化脓性细菌的培养物观察、血浆凝固酶试验、抗链球菌溶血素“O”试验);②病原性球菌未知标本(脓汁)的检查。

## 【实验目的】

1. 认识葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌和铜绿假单胞菌镜下形态及染色特性。
2. 能区分金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌和铜绿假单胞菌在普通琼脂平板上菌落特征与色素特点;金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、甲型链球菌、乙型链球菌及肺炎链球菌在血琼脂平板上菌落特点及溶血现象。
3. 会做血浆凝固酶试验、抗“O”试验(胶乳法),并应用所学知识解释结果及意义。

## 【实验内容】

1. 化脓性细菌形态及染色性(示教):
  - (1)革兰染色标本片(金黄色葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌和铜绿假单胞菌)。
  - (2)荚膜染色标本片(肺炎球菌荚膜)。
  - (3)脑膜炎球菌亚甲蓝染色标本片。
  - (4)铜绿假单胞菌鞭毛染色标本片。
2. 化脓性细菌的培养特性(示教):普通琼脂平板、血琼脂平板和普通肉汤 18~24 h 培养物:金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎球菌和铜绿假单胞菌。
3. 血浆凝固酶试验(操作):记录操作步骤。
4. 抗链球菌溶血素“O”试验(操作):记录操作步骤。

## 【结果与分析】

1. 化脓性细菌形态及染色性(彩笔绘图):

