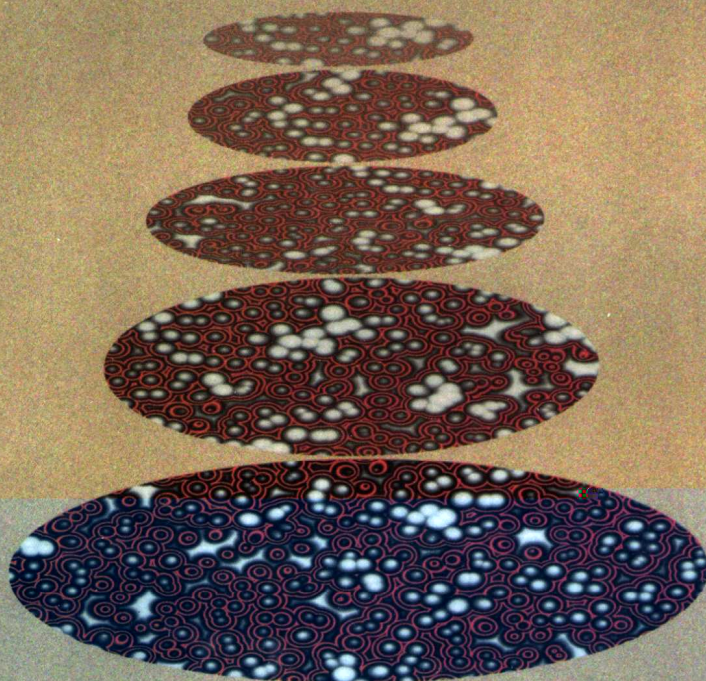


医学免疫学与微生物学 基础实验技术

主 编 杜 英 赵国强 李付广



河南医科大学出版社

医学免疫学与微生物学 基础实验技术

主编 杜 英 赵国强 李付广

编委 (按文章先后为序)

苏 堤 李付广 张光磊 秦 英
胡 军 龚光明 陈宗德 阮丽荣
杜 英 赵国强

河南医科大学出版社

· 郑 州 ·

图书在版编目(CIP)数据

医学免疫学与微生物学基础实验技术/杜英等主编. - 郑州:河南医科大学出版社,1999.12

ISBN 7-81048-386-2

I.医… II.杜… III.①医药学:免疫学-实验-高等学校-教材②医药学:微生物学-实验-高等学校-教材IV.R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 76963 号

河南医科大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

邮政编码 450052 电话 (0371)6988300

河南医版激光照排中心照排

郑州市毛庄印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 14.625 字数 347 千字

2000 年 1 月第 1 版 2000 年 1 月第 1 次印刷

印数 1~6150

定价:19.00 元

前 言

医学微生物学与免疫学是医学领域的重要基础学科,微生物以及人体的免疫状况与人类许多疾病的发生、发展和预后有关。微生物学与免疫学实验技术也已成为微生物学与免疫学的分支学科,它不仅是微生物学与免疫学发展的基石,而且生命学科的许多重要发现、发明和理论证实实验技术都起着重要的作用。虽然目前在实验领域各种新的实验方法、技术层出不穷,各种临床检验也由原来的手工操作向着快速、敏感以及全自动化发展,但是各种技术的实验原理基本不变,各种新技术几乎也都要以基本技术为依托,只有熟练掌握这些基本实验技术,才有可能改进和完善新技术。

全书分2篇,共11章,50余个常用的实验。第一篇为医学免疫学实验技术,第二篇为医学微生物实验技术。书中不仅介绍了微生物学与免疫学的一些经典实验方法,也对近年来医学研究中在微生物学与免疫学领域使用的新技术、新方法加以阐述,如免疫标记技术、核酸杂交与分析技术、聚合酶链反应等。书中涉及到的法定计量单位、医学名词按国家最新标准执行。

本书理论联系实际,图文并茂,通俗易懂,具有较强的科学性与实用性,可供临床医师、卫生防疫和检验人员以及从事医学微生物学和医学免疫学专业的教师 and 研究人员参考,也可供医学院校本、专科学生使用。

在本书编写过程中参考了本教研室老前辈撰写的专著、教材等,也承蒙各位老师的关心和指导,在此表示感谢。

由于编写时间和我们理论水平所限,书中难免存在许多缺点和错误,恳请广大读者批评指正。

河南医科大学微生物学与免疫学教研室

杜 英

1999年10月

内容提要

医学免疫学与微生物学是当今医学领域中重要的基础学科,医学免疫学与微生物学实验技术在医学研究和临床实践中也有广泛的应用。本书根据目前基础医学和临床医学研究的实际需要并结合作者长期工作体会编写而成。

本书主要介绍了微生物学与免疫学的常用实验技术。全书分2篇:第一篇为医学免疫学实验技术,包括非特异性免疫功能、体液免疫功能、细胞免疫功能和细胞因子的检测方法;第二篇为医学微生物学实验技术,介绍了细菌、衣原体、支原体、立克次体、螺旋体、真菌和病毒的形态结构、培养、致病性和变异性等方面的检测方法和相应疾病的诊断技术。

本书可供临床医师、卫生防疫和检验人员以及从事医学微生物学和医学免疫学专业的教师和研究人員参考,也可供医学院校本、专科学生使用。

目 录

第一篇 医学免疫学实验技术

第一章 非特异性免疫功能检测法	(3)
实验一 吞噬细胞的吞噬试验.....	(3)
实验二 溶菌酶的测定.....	(6)
实验三 血清补体的测定.....	(8)
第二章 体液免疫功能检测法	(11)
实验一 凝集反应	(11)
实验二 沉淀反应	(21)
实验三 补体参与的反应	(32)
实验四 中和反应	(36)
实验五 免疫标记技术	(37)
实验六 溶血空斑试验	(46)
实验七 单克隆抗体制备及其应用	(48)
第三章 细胞免疫功能检测法	(51)
实验一 淋巴细胞分离法	(51)
实验二 E玫瑰花环试验	(54)
实验三 淋巴细胞转化试验	(55)
实验四 白细胞移动抑制试验	(57)
实验五 T细胞亚群检测	(58)
实验六 混合淋巴细胞反应	(60)
实验七 体内细胞免疫功能检测	(61)
第四章 细胞因子的检测	(65)

第二篇 医学微生物学实验技术

第五章 细菌形态学检查法	(69)
实验一 显微镜的使用与保护	(69)

实验二	细菌基本形态和特殊结构的观察	(73)
实验三	细菌不染色标本检查法	(73)
实验四	细菌染色法	(75)
第六章	细菌培养法	(83)
实验一	培养基的制作	(83)
实验二	细菌的基本培养法及生长现象观察	(84)
实验三	细菌的生化反应	(88)
第七章	外界因素对细菌的影响	(95)
实验一	物理因素对细菌的影响	(95)
实验二	化学因素对细菌的影响	(101)
实验三	生物因素对细菌的影响	(103)
第八章	细菌的变异	(109)
实验一	L型细菌的检查	(109)
实验二	Ames 试验	(110)
实验三	细菌质粒的提取和细菌转化试验	(110)
第九章	细菌毒力的测定	(113)
实验一	细菌内毒素的测定——鲎试验	(113)
实验二	外毒素对机体的毒性作用及抗毒素的中和作用	(114)
实验三	细菌侵袭力的测定	(114)
第十章	细菌在正常人体与环境中的分布	(117)
实验一	细菌在人体分布的检测	(117)
实验二	环境中细菌分布的检测	(121)
第十一章	病原性球菌的微生物学检查	(125)
实验一	临床标本化脓性球菌的分离与鉴定	(125)
实验二	葡萄球菌的微生物学检查	(126)
实验三	链球菌的微生物学检查	(128)
实验四	肺炎球菌的微生物学检查	(131)
实验五	脑膜炎球菌的微生物学检查	(132)
实验六	淋球菌的微生物学检查	(134)
第十二章	肠道杆菌的分离与鉴定	(135)
实验一	粪便标本中致病性肠道杆菌的分离与鉴定	(135)
实验二	肥达反应	(138)
实验三	痢疾杆菌荧光菌球检查法	(139)
实验四	耶尔森菌属的微生物学检查	(139)
第十三章	其他细菌的微生物学检测	(145)
实验一	霍乱弧菌的检测	(145)
实验二	副溶血性弧菌(嗜盐弧菌)的检测	(148)
实验三	气单胞菌属的检测	(149)

实验四	嗜血杆菌属及包特菌属的检测	(151)
实验五	布鲁杆菌属的检测	(152)
实验六	棒状杆菌属的检测	(155)
实验七	分枝杆菌属的检测	(158)
实验八	需氧芽胞杆菌属的检测	(161)
实验九	厌氧芽胞杆菌属的检测	(163)
实验十	临床标本厌氧菌的分离鉴定	(165)
实验十一	军团菌的检测	(169)
实验十二	假单胞菌属的检测	(172)
实验十三	弯曲菌属的检测	(173)
第十四章	衣原体、立克次体、螺旋体、支原体的检测	(179)
实验一	衣原体的检测	(179)
实验二	立克次体的检测	(181)
实验三	螺旋体的检测	(183)
实验四	支原体的检测	(188)
第十五章	真菌的常规检验法	(191)
实验一	真菌的形态观察	(191)
实验二	真菌的培养	(194)
实验三	真菌毒素的鉴定	(197)
第十六章	病毒学检查	(199)
实验一	病毒的分离培养	(199)
实验二	血凝及血凝抑制试验	(208)
实验三	病毒的血清学反应	(210)
实验四	病毒抗原的检测	(217)
实验五	病毒核酸检测技术	(220)
实验六	病毒感染的细胞包涵体检查	(224)

第一篇

医学免疫学实验技术

第一章 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特有免疫,是对多种菌的防御反应,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2类,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,能吞噬和消化衰老、死亡细胞及病原微生物等异物。

【材料】

1. 白色葡萄球菌 8 h 培养物,置沸水浴 20 min 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、酒精棉球、瑞氏染液、微量移液器、移液头。

【方法】

1. 用酒精棉球消毒耳垂或手指,刺破皮肤,取血 40 μ l 于加抗凝剂试管中。
2. 用微量移液器取葡萄球菌培养物 40 μ l 加入血中,轻摇混合,放 37 $^{\circ}$ C 温箱内孵育 30 min,每 15 min 振摇 1 次。
3. 吸取白细胞层(即沉淀的红细胞表层)白细胞悬液 40 μ l,滴于载玻片一端,待自然干燥后,行 Wright 染色。
4. Wright 染色法
 - (1)将瑞氏(Wright)染色液数滴,滴于血膜上染 1 min。
 - (2)加等量缓冲液,轻轻吹打混合,染 5 min。
 - (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。

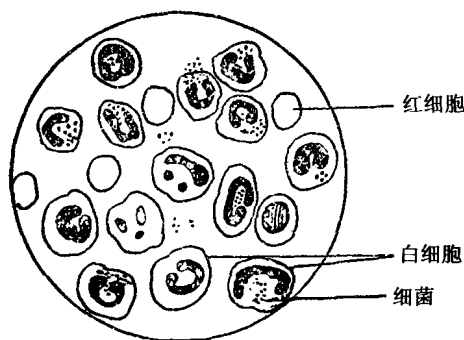


图 1-1 中性粒细胞的噬菌现象

【结果判断】

1. 吞噬百分率 计数 100 个中性粒细胞中吞有葡萄球菌的细胞数。
2. 吞噬指数 计数 100 个中性粒细胞中被吞噬的细菌总数, 平均每个中性粒细胞吞噬的细菌数。

〔附〕 瑞氏染色液配制

1. 成分 瑞氏染粉 0.1 g
甲醇(不含有醋酮者) 60 ml
2. 制法 将瑞氏染粉置于乳钵内, 研溶于甲醇中, 保存于紧塞之棕色瓶内, 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 10 g 中药斑蝥浸泡于装有 100 ml 95% 酒精的磨口瓶中, 塞紧瓶口, 于室温浸泡数日后备用。
2. 红细胞悬液 鸡翅静脉取血, 肝素抗凝(每毫升加入肝素 25 ~ 50 u), 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. 其他 1 cm² 滤纸片, 无菌纱布块, 拱型塑料盖(直径 4 ~ 5 cm), 姬姆萨染液。

【方法】

1. 取 1 cm² 滤纸片 2 张, 沾适量 10% 斑蝥浸液, 放于被检者经酒精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 ~ 5 h 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 4 cm 的塑料盖, 用胶布固

定以保护水泡。48 h 后,在前臂皮肤上就形成一个同盖片一样大小的水泡。用酒精棉球消毒水泡表面及其周围皮肤,用消毒注射器将泡液全部吸出,注入含肝素的试管中,用消毒纱布包好发泡部位。

2. 取出泡渗出液 0.5 ml,加入经洗涤的 5% 鸡红细胞 0.02 ml,轻轻振摇混匀,放 37 °C 水浴中保温 30 min,每 10 min 摇动 1 次,离心,取沉淀涂片固定。也可在温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	0.5 g
甘油(纯粹)	33 ml
甲醇(不含有酯酮者)	33 ml

制法:先溶解姬姆萨染粉于甘油内,置于 60 °C 温水箱内 2 h,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 ~ 15 min,固定之。

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

(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(制备同前)。

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 25 g 左右)。

【方法】

1. 实验前 3 d,给小鼠腹腔内注射无菌 6% 淀粉肉汤液 1 ml。

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

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 5 mm 的小口,从剪口处朝头、尾部用力,撕开皮肤,暴露腹壁(图 1-2)。

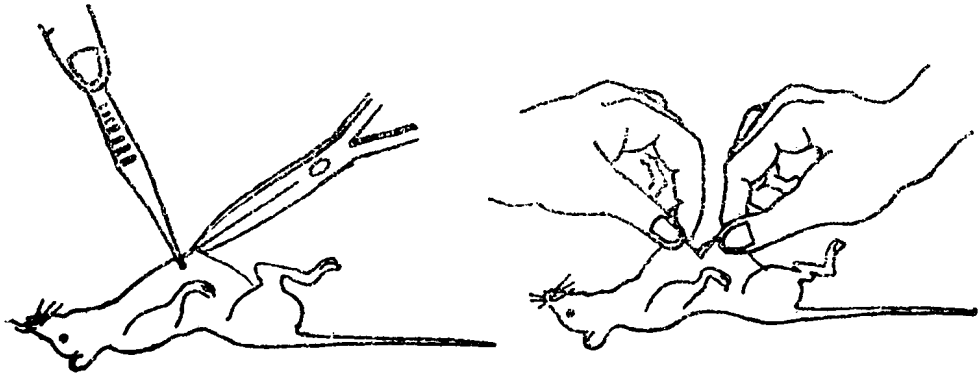


图 1-2 小白鼠腹腔暴露操作示意图

5. 提起腹前壁,避开血管剪一小口,用毛细吸管吹吸混匀腹腔内液体,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,摇晃混匀。

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

8. 取出后,在生理盐水内清洗载玻片 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。

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,能溶解革兰阳性细菌。由于它的高等电点(pH 11.0),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 pH 6.4, 1/15 mol/L PBS; 5 mol/L KOH 溶液;溶菌酶标准品。

2. 微球菌普通琼脂斜面 24~36 h 培养物。
3. 受验者唾液。
4. 3% 琼脂(用 pH 6.4, 1/15 mol/L PBS 配制)。
5. 1 ml, 5 ml 无菌吸管, 10 × 100 mm 小试管, 毛细吸管, 平皿, 打孔器(内径 3 mm), 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 5 ml 1/15 mol/L PBS 加到微球菌培养管中, 置室温中 5~10 min, 旋转培养管, 制成菌悬液。

2) 分光光度计波长 640 nm, 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 pH 6.4, 1/15 mol/L PBS 配成 1 000 $\mu\text{g/ml}$, 置冰箱冻存, 临用时再稀释成 100, 50, 25, 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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热。

2) 列 2 排试管, 每排 8 支。第 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 0.2 ml。第 2 排依同样方法加入标准的及待测的样品, 每管 0.2 ml, 然后于各管中加 5 mol/L KOH 液 1 滴。置 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴预热 5 min。

3) 于每管各加入预热的菌液 1.8 ml, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴继续作用 2 min。

4) 在第 1 排试管内各加 5 mol/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 0.5 cm)内, 用 640 nm 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 $T_0\%$ 。 $T_1\% - T_0\% = \text{TD}\%$ (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 $^{\circ}\text{C}$, 与预热好的微球菌液等体积混合, 倾注于无菌平皿(直径 9 cm)内, 每皿 15 ml。

2) 凝固后, 无菌操作用打孔器打孔, 孔间距约 1.5 cm, 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(制备与前法相同), 每孔 20 μl 。样品避免溢出孔外。

4)置于 24 ~ 26 ℃, 12 ~ 18 h。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的 $T_1\%$ 、 $T_0\%$ 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			
光学测定法	1	2	3	4	5	6	7	8
$T_1\%$								
$T_0\%$								
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,最好在同一块平板上备有标准品的对照,以资比较。
2. 慢性气管炎患者痰中溶菌酶含量降低。

实验三 血清补体的测定

补体($C_1 \sim C_9$)能使抗体(溶血素)致敏的绵羊红细胞(抗原)溶解。若新鲜受检血清(补体来源)加入致敏羊红细胞后,溶血程度有所减弱,说明其补体系统中的一个或数个成分含量或活性不足。补体活性与溶血程度之间在一定范围内(如 20% ~ 80%)溶血率呈正相关,一般以 50% 溶血作为判别点(CH_{50}),即终点观察指标。人血清总补体正常值为 50 ~ 100 $CH_{50}U/ml$ 。

总补体活性测定可用于变态反应性疾病的辅助诊断,主要反映补体($C_1 \sim C_9$)经传统途径活化的活性。在急性炎症、感染、组织损伤(如风湿热急性期、结节性动脉周围炎、皮炎、伤寒等)、癌肿、骨髓瘤等,常可见补体活性的升高。低补体活性血症多见于急性肾小球肾炎、膜增殖性肾小球肾炎、亚急性细菌性心内膜炎、急性乙型病毒性肝炎、慢性肝病和遗传性血管神经性水肿等。

【材料】

1. TEAB 缓冲液, pH 7.3 ~ 7.4

成分:	三乙醇胺	28 ml
	1 mol/L HCl	180 ml
	NaCl	75 g
	MgCl ₂ ·6H ₂ O	1.0 g
	CaCl ₂ ·2 H ₂ O	0.2 g

制法:将上述成分混合,加水至 1 000 ml,即配成 10 倍贮存液。工作液用 9 份蒸馏水稀释使用,离子强度 0.15。

2. 用 1:2 000 稀释的兔抗 SRBC(绵羊红细胞)的抗体致敏的 SRBC,TEAB 缓冲液配制, 5×10^8 细胞/ml。

3. 人血清。

4. 试管、吸管。

5. 紫外分光光度计。

【方法】

1. 用 TEAB 缓冲液将人血清作 1:50 稀释。

2. 将此稀释血清吸移 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 和 4.0 ml 到一系列反应试管中。

3. 加所需量的 TEAB 缓冲液,使每管到 6.5 ml。

4. 所有管精确地加 1 ml SRBC 悬液,每管混合物的总容积是 7.5 ml。

5. 加 1 ml SRBC 到 6.5 ml 缓冲液中,建立细胞空白对照,加 1.0 ml SRBC 到 6.5 ml 蒸馏水中,建立完全溶血对照。

6. 所有试验管和对照管,在 37 °C 孵育 1 h。在孵育期间,要经常振荡,不要让细胞沉淀。

7. 孵育后,以 2 000 r/min 离心 10 min,小心将上清液倒在标有记号的管内,在紫外分光光度计波长 541 nm 读取上清液的血红蛋白的 OD 值,通过减去细胞空白读数,校正每试验管和完全溶血对照管的读数。通过用校正的完全溶血的 OD 值除以校正的 OD 值,确定每管溶血程度(y)(y = 溶解的和未溶解的细胞上清液的 OD 值比, y = 1.0,是完全溶血; y = 0.5,是 50%溶血)。

8. 使用 lg - lg 图纸,将每管的 y/(1 - y)值,对相应的补体量,绘成坐标图,从图上读 50%溶血剂量。

9. 补体水平以 1 ml 未稀释血清所含的 50%溶血剂量(CH₅₀U/ml)表示。

【注意事项】

待检血清必须新鲜。

(苏 堤)