



全国中医药行业高等教育“**十二五**”规划教材



全国高等中医药院校规划教材(第九版)

# 免疫学基础与病原生物学实验

供中医学类、中药学类、中西医临床医学等专业用

主 编 © 田维毅 卢芳国

全国百佳图书出版单位

中国中医药出版社



全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材  
全国高等中医药院校规划教材（第九版）

# 免疫学基础与病原生物学实验

（新世纪第三版）

（供中医学类、中药学类、中西医临床医学等专业用）

主 编 田维毅（贵阳中医学院）  
      卢芳国（湖南中医药大学）  
副主编（按姓氏笔画排列）  
      万红娇（江西中医药大学）  
      元海军（山西中医学院）

中国中医药出版社

· 北 京 ·

## 图书在版编目 (CIP) 数据

免疫学基础与病原生物学实验/田维毅, 卢芳国主编. —3 版. —北京: 中国中医药出版社, 2013. 5

全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材

ISBN 978 - 7 - 5132 - 1412 - 4

I. ①免… II. ①田…②卢… III. ①免疫学 - 实验 - 中医学院 - 教材  
②病原微生物 - 实验 - 中医学院 - 教材 IV. ①R392 - 33②R37 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 071706 号

中国中医药出版社出版

北京市朝阳区北三环东路 28 号易亨大厦 16 层

邮政编码 100013

传真 010 64405750

河北省欣航测绘院印刷厂印刷

各地新华书店经销

\*

开本 787 × 1092 1/16 印张 5.25 字数 115 千字

2013 年 5 月第 3 版 2013 年 5 月第 1 次印刷

书号 ISBN 978 - 7 - 5132 - 1412 - 4

\*

定价 10.00 元

网址 [www.cptcm.com](http://www.cptcm.com)

如有印装质量问题请与本社出版部调换

版权专有 侵权必究

**社长热线 010 64405720**

**购书热线 010 64065415 010 64065413**

书店网址 [csln.net/qksd/](http://csln.net/qksd/)

官方微博 <http://e.weibo.com/cptcm>

# 全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材

## 全国高等中医药院校规划教材（第九版）

### 专家指导委员会

- 名誉主任委员 王国强（卫生部副部长兼国家中医药管理局局长）  
邓铁涛（广州中医药大学教授 国医大师）
- 主任委员 李大宁（国家中医药管理局副局长）
- 副主任委员 王永炎（中国中医科学院名誉院长 教授 中国工程院院士）  
张伯礼（中国中医科学院院长 天津中医药大学校长 教授 中国工程院院士）
- 委员（以姓氏笔画为序）
- 洪 净（国家中医药管理局人事教育司巡视员兼副司长）
- 王 华（湖北中医药大学校长 教授）
- 王 键（安徽中医学院院长 教授）
- 王之虹（长春中医药大学校长 教授）
- 王北婴（国家中医药管理局中医师资格认证中心主任）
- 王亚利（河北医科大学副校长 教授）
- 王国辰（全国中医药高等教育学会教材建设研究会秘书长 中国中医药出版社社长）
- 王省良（广州中医药大学校长 教授）
- 车念聪（首都医科大学中医药学院院长 教授）
- 石学敏（天津中医药大学教授 中国工程院院士）
- 匡海学（黑龙江中医药大学校长 教授）
- 刘振民（全国中医药高等教育学会顾问 北京中医药大学教授）
- 孙秋华（浙江中医药大学党委书记 教授）
- 严世芸（上海中医药大学教授）
- 李大鹏（中国工程院院士）
- 李玛琳（云南中医学院院长 教授）
- 李连达（中国中医科学院研究员 中国工程院院士）
- 李金田（甘肃中医学院院长 教授）
- 杨关林（辽宁中医药大学校长 教授）
- 吴以岭（中国工程院院士）



- 吴咸中 (天津中西医结合医院主任医师 中国工程院院士)
- 吴勉华 (南京中医药大学校长 教授)
- 肖培根 (中国医学科学院研究员 中国工程院院士)
- 陈可冀 (中国中医科学院研究员 中国科学院院士)
- 陈立典 (福建中医药大学校长 教授)
- 范永升 (浙江中医药大学校长 教授)
- 范昕建 (成都中医药大学校长 教授)
- 欧阳兵 (山东中医药大学校长 教授)
- 周 然 (山西中医学院院长 教授)
- 周永学 (陕西中医学院院长 教授)
- 周仲瑛 (南京中医药大学教授 国医大师)
- 郑玉玲 (河南中医学院院长 教授)
- 胡之璧 (上海中医药大学教授 中国工程院院士)
- 耿 直 (新疆医科大学副校长 教授)
- 高思华 (北京中医药大学校长 教授)
- 唐 农 (广西中医药大学校长 教授)
- 梁光义 (贵阳中医学院院长 教授)
- 程莘农 (中国中医科学院研究员 中国工程院院士)
- 傅克刚 (江西中医学院院长 教授)
- 谢建群 (上海中医药大学常务副校长 教授)
- 路志正 (中国中医科学院研究员 国医大师)
- 廖端芳 (湖南中医药大学校长 教授)
- 颜德馨 (上海铁路医院主任医师 国医大师)
- 秘 书 长** 王 键 (安徽中医学院院长 教授)
- 洪 净 (国家中医药管理局人事教育司巡视员兼副司长)
- 王国辰 (全国中医药高等教育学会教材建设研究会秘书长  
中国中医药出版社社长)
- 办公室主任** 周 杰 (国家中医药管理局人事教育司教育处处长)
- 林超岱 (中国中医药出版社副社长)
- 李秀明 (中国中医药出版社副社长)
- 办公室副主任** 王淑珍 (全国中医药高等教育学会教材建设研究会副秘书长  
中国中医药出版社教材编辑部主任)
- 裴 颢 (中国中医药出版社教材编辑部副主任)

全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材  
全国高等中医药院校规划教材(第九版)

## 《免疫学基础与病原生物学实验》编委会

- 主 编 田维毅 (贵阳中医学院)  
卢芳国 (湖南中医药大学)
- 副主编 (按姓氏笔画排列)  
万红娇 (江西中医药大学)  
元海军 (山西中医学院)
- 编 委 (按姓氏笔画排列)  
丁剑冰 (新疆医科大学)  
王 焱 (黑龙江中医药大学)  
边育红 (天津中医药大学)  
刘文泰 (河北医科大学)  
刘永琦 (甘肃中医学院)  
张宏方 (陕西中医学院)  
范 虹 (湖北中医药大学)  
罗 晶 (长春中医药大学)  
赵文娟 (云南中医学院)  
陶方方 (浙江中医药大学)  
梁裕芬 (广西中医药大学)  
梅 雪 (河南中医学院)  
赖 宇 (成都中医药大学)  
雷 萍 (辽宁中医药大学)  
蔡 琨 (贵阳中医学院)

# 前 言

全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材是为贯彻落实《国家中长期教育改革和发展规划纲要（2010-2020年）》、《教育部关于“十二五”普通高等教育本科教材建设的若干意见》和《中医药事业发展“十二五”规划》，依据行业人才需求和全国各高等中医药院校教育教学改革新发展，在国家中医药管理局人事教育司的主持下，由国家中医药管理局教材办公室、全国中医药高等教育学会教材建设研究会总结历版中医药行业教材特别是新世纪全国高等中医药院校规划教材建设经验的基础上，进行统一规划建设的。鉴于由中医药行业主管部门主持编写的全国高等中医药院校规划教材目前已出版八版，为便于了解其历史沿革，同时体现其系统性和传承性，故本套教材又可称“全国高等中医药院校规划教材（第九版）”。

本套教材坚持以育人为本，重视发挥教材在人才培养中的基础性作用，充分展现我国中医药教育、医疗、保健、科研、产业、文化等方面取得的新成就，以期成为符合教育规律和人才成长规律，并具有科学性、先进性、适用性的优秀教材。

本套教材具有以下主要特色：

## 1. 继续采用“政府指导，学会主办，院校联办，出版社协办”的运作机制

在规划、出版全国中医药行业高等教育“十五”、“十一五”规划教材时（原称“新世纪全国高等中医药院校规划教材”新一版、新二版，亦称第七版、第八版，均由中国中医药出版社出版），国家中医药管理局制定了“政府指导，学会主办，院校联办，出版社协办”的运作机制，经过两版教材的实践，证明该运作机制符合新时期教育部关于高等教育教材建设的精神，同时也是适应新形势下中医药人才培养需求的更高效的教材建设机制，符合中医药事业培养人才的需要。因此，本套教材仍然坚持这个运作机制并有所创新。

## 2. 整体规划，优化结构，强化特色

此次“十二五”教材建设工作对高等中医药教育3个层次多个专业的必修课程进行了全面规划。本套教材在“十五”、“十一五”优秀教材基础上，进一步优化教材结构，强化特色，重点建设主干基础课程、专业核心课程，加强实验实践类教材建设，推进数字化教材建设。本套教材数量上较第七版、第八版明显增加，专业门类上更加齐全，能完全满足教学需求。

## 3. 充分发挥高等中医药院校在教材建设中的主体作用

全国高等中医药院校既是教材使用单位，又是教材编写工作的承担单位。我们发出关于启动编写“全国中医药行业高等教育‘十二五’规划教材”的通知后，各院校积极响应，教学名师、优秀学科带头人、一线优秀教师积极参加申报，凡被选中参编的教师都以积极热情、严肃认真、高度负责的态度完成了本套教材的编写任务。

## 4. 公开招标，专家评议，健全主编遴选制度

本套教材坚持公开招标、公平竞争、公正遴选主编原则。国家中医药管理局教材办公室和全国中医药高等教育学会教材建设研究会制订了主编遴选评分标准，经过专家评审委员会严格评议，遴选出一批教学名师、高水平专家承担本套教材的主编，同时实行主编负责制，为教材质量提供了可靠保证。

#### 5. 继续发挥执业医师和职称考试的标杆作用

自我国实行中医、中西医结合执业医师准入制度以及全国中医药行业职称考试制度以来，第七版、第八版中医药行业规划教材一直作为考试的蓝本教材，在各种考试中发挥了权威标杆作用。作为国家中医药管理局统一规划实施的第九版行业规划教材，将继续在行业的各种考试中发挥其标杆性作用。

#### 6. 分批进行，注重质量

为保证教材质量，本套教材采取分批启动方式。第一批于2011年4月启动中医学、中药学、针灸推拿学、中西医临床医学、护理学、针刀医学6个本科专业112种规划教材。2012年下半年启动其他专业的教材建设工作。

#### 7. 锤炼精品，改革创新

本套教材着力提高教材质量，努力锤炼精品，在继承与发扬、传统与现代、理论与实践的结合上体现了中医药教材的特色；学科定位准确，理论阐述系统，概念表述规范，结构设计更为合理；教材的科学性、继承性、先进性、启发性及教学适应性较前八版有不同程度提高。同时紧密结合学科专业发展和教育教学改革，更新内容，丰富形式，不断完善，将学科、行业的新知识、新技术、新成果写入教材，形成“十二五”期间反映时代特点、与时俱进的教材体系，确保优质教育资源进课堂，为提高中医药高等教育本科教学质量和人才培养质量提供有力保障。同时，注重教材内容在传授知识的同时，传授获取知识和创造知识的方法。

综上所述，本套教材由国家中医药管理局宏观指导，全国中医药高等教育学会教材建设研究会倾力主办，全国各高等中医药院校高水平专家联合编写，中国中医药出版社积极协办，整个运作机制协调有序，环环紧扣，为整套教材质量的提高提供了保障机制，必将成为“十二五”期间全国高等中医药教育的主流教材，成为提高中医药高等教育教学质量和人才培养质量最权威的教材体系。

本套教材在继承的基础上进行了改革与创新，但在探索的过程中，难免有不足之处，敬请各教学单位、教学人员以及广大学生在使用中发现问题及时提出，以便在重印或再版时予以修正，使教材质量不断提升。

国家中医药管理局教材办公室

全国中医药高等教育学会教材建设研究会

中国中医药出版社

2012年6月



# 编写说明

辅以基本的实验教学是学习免疫学与病原生物学的必要途径。通过免疫学与病原生物学实验的学习与实践，不仅可以促进学生对相关理论知识的学习兴趣和学习效果，同时可以提高学生实践操作的基本技能，培养学生分析问题、解决问题的能力 and 严谨、求实的科学态度。

《免疫学基础与病原生物学实验》是全国中医药行业高等教育“十二五”规划教材《免疫学基础与病原生物学》的配套实验教材。因此，在内容设置时，一方面充分考虑与该理论教材的衔接，另一方面又注重其实验教材的独立性、科学性和系统性。教材内容总体上包括两大板块，一是与理论教材匹配的基本内容，二是供教师和学生根据实际需要灵活取舍的扩展内容。

根据实验内容，本教材共分四章。第一章为医学免疫学实验，主要介绍医学免疫学的基本操作技术；第二章为医学微生物学实验，主要介绍医学微生物学的基本实验技能；第三章为医学寄生虫学实验，主要介绍医学寄生虫学的基本形态观察；第四章为综合性/设计性实验，主要介绍有关免疫学基础与病原生物学的部分综合性/设计性实验项目，以供教学选择。此外，本书还设置了附录部分，主要介绍免疫学基础与病原生物学实验的扩展内容，以供教材使用者参考。

为完成本书的编写，全国18所中医药院校19位编委老师集思广益、推陈出新，使该书内容具有先进性、普及性和适用性。同时，在本书编写的整个过程中，得到了上海中医药大学王易教授的悉心指导和大力支持，在此表示衷心感谢！

由于编写时间仓促，编者水平有限，书中难免有错漏或不妥之处，恳请读者和同行不吝提出宝贵意见，以便再版时修订。

《免疫学基础与病原生物学实验》

编委会

2013年3月

## 目 录

实验室规则	1
<b>第一章 医学免疫学实验</b>	<b>2</b>
实验一 凝集反应	2
附：玻片法鉴定人 ABO 血型（直接凝集试验）	5
实验二 沉淀反应	6
实验三 补体溶细胞试验	10
实验四 酶联免疫吸附试验	11
附：ELISA 双抗夹心法定性（或半定量）检测人血清中甲胎蛋白的含量	13
实验五 巨噬细胞吞噬试验	14
实验六 E-花环形成试验	15
实验七 淋巴细胞转化试验	17
实验八 I 型超敏反应试验	19
<b>第二章 医学微生物学实验</b>	<b>20</b>
实验一 细菌的形态观察	20
附：结核分枝杆菌抗酸染色法	22
实验二 细菌的人工培养	23
实验三 细菌代谢产物的观察	26
实验四 细菌的分布	28
实验五 消毒与灭菌	29
实验六 革兰阳性致病菌	33
实验七 革兰阴性致病菌	36
实验八 医学真菌	38
实验九 医学病毒	40
<b>第三章 医学寄生虫学实验</b>	<b>45</b>
实验一 医学原虫	45
实验二 医学蠕虫	47
实验三 医学节肢动物	51
<b>第四章 综合性/设计性实验</b>	<b>54</b>
实验一 免疫血清的制备	54
附 1：不同性质的抗原处理方法	55

附 2: 免疫血清的保存 .....	55
实验二 病原菌的检测 .....	56
实验三 肠道菌群失调的微生物学检查 .....	57
实验四 洗手产品或中药提取物杀菌效果的检查 .....	58
<b>附 录</b> .....	59
<b>附录 1 常用玻璃器皿及玻片洗涤方法</b> .....	59
一、玻璃器皿洗涤法 .....	59
二、玻片洗涤法 .....	59
三、洗液的配制 .....	60
<b>附录 2 常用培养基的配制</b> .....	60
一、营养肉汤培养基 .....	60
二、营养琼脂培养基 .....	60
三、伊红美蓝 (EMB) 培养基 .....	61
四、S-S 琼脂培养基 .....	61
五、双糖含铁培养基 .....	61
六、硫乙醇酸钠培养基 .....	62
七、改良马丁琼脂培养基 .....	62
八、沙保培养基 .....	62
九、胆盐乳糖增菌培养基 .....	62
十、枸橼酸盐培养基 .....	62
十一、磷酸盐葡萄糖蛋白胨水培养基 .....	63
十二、蛋白胨水培养基 .....	63
十三、乳糖发酵培养基 .....	63
十四、明胶十六烷三甲基溴化铵琼脂培养基 .....	63
十五、卵黄高盐琼脂培养基 .....	63
<b>附录 3 常用染色液及试剂的配制</b> .....	64
一、常用染色液的配制 .....	64
二、常用试剂的配制 .....	65
<b>附录 4 菌种的分离纯化与保藏</b> .....	69
一、菌种的分离纯化方法 .....	69
二、菌种保藏方法 .....	70
<b>主要参考书目</b> .....	72

## 实验室规则

---

免疫学基础与病原生物学实验中，常常会使用一些血清或病原材料，操作时存在人员感染或污染环境的危险。因此，要求操作者严格遵守实验室规则，养成良好的操作习惯，最大限度保障操作人员及环境安全。

一、实验前认真预习实验内容，熟悉操作过程中的危险环节和注意事项。

二、进入实验室必须穿着实验服，禁止携带非实验必需物品进入实验室。

三、实验过程中禁止吸烟和进食，保持肃静，不得随意走动。

四、严格遵守各实验操作规程。

五、树立牢固的无菌概念，严格遵守无菌操作规则。实验中产生的所有污染材料不得随意摆放和丢弃，须按要求处理。

六、实验过程中若出现传染性材料污染、容器破碎等意外情况时，须在老师的指导下进行妥善处理。

七、实验结束后，应打扫卫生，整理器材物品，保证实验室整洁。

# 第一章 医学免疫学实验

## 实验一 凝集反应

### 【实验目的】

1. 掌握直接凝集反应的主要方法、操作过程和临床意义。
2. 了解凝集反应的原理。

### 【实验原理】

颗粒性抗原（如细菌、螺旋体、红细胞或细胞性抗原等）或可溶性抗原与载体颗粒结合成致敏颗粒后，它们与相应抗体能在体外发生特异性结合，在有电解质存在且两者比例合适的情况下，可形成肉眼可见的凝集，这种现象称为凝集反应。直接凝集试验包括玻片凝集试验和试管凝集试验，是取已知的免疫血清（含抗体）与待测样品中的颗粒性抗原（细菌、钩端螺旋体、红细胞或细胞性抗原等）结合，可产生肉眼可见的凝集现象。

### 【实验材料】

#### （一）玻片凝集试验

1. 大肠埃希菌 18~24 小时斜面培养物。
2. 1:20 稀释的大肠埃希菌多价免疫血清。
3. 载玻片、生理盐水、接种环、记号笔、滴管和酒精灯等。

#### （二）试管凝集试验

1. 大肠埃希菌培养物制备的细菌悬浊液。
2. 大肠埃希菌免疫血清，经 56℃30 分钟灭活（破坏补体）。
3. 小试管、试管架、微量移液器、生理盐水等。



## 【实验方法】

### (一) 玻片凝集试验

1. 取清洁玻片1张,用记号笔分别在玻片上画2个直径为1.5cm左右的圆圈,并在背面分别标记为1号、2号。用滴管在1号圈内滴加生理盐水1滴,在2号圈内滴加大肠埃希菌免疫血清1滴。

2. 用灭菌后的接种环取少许大肠埃希菌培养物分别加入第1号、2号圈内,随即将菌液与生理盐水或免疫血清混合成均匀悬浊液。

### (二) 试管凝集试验

1. 取小试管8支,依次编号后,分别排列于试管架上,按表1-1内容进行操作。

2. 用微量移液器吸取生理盐水,第1管加入0.9ml,其他管各加入0.5ml。

3. 用微量移液器吸取0.1ml大肠埃希菌免疫血清加入第1管中,吹吸三次使之充分混匀,此管血清稀释度为1:10。从第1管中吸出0.5ml加入第2管中,反复吹吸混匀,然后吸出0.5ml加入第3管中,同法依次稀释至第7管。从第7管吸出0.5ml弃之。第8管不加血清作为阴性对照管。

4. 用微量移液器吸取大肠埃希菌菌液,每管加入0.5ml,血清倍比稀释度从第1管开始分别为1:20、1:40、1:80、1:160、1:320、1:640和1:1280。

5. 将试管内液体振荡混匀后,置37℃恒温箱过夜。

表1-1 试管法凝集试验操作和结果举例(单位:ml)

试管号	1	2	3	4	5	6	7	8
生理盐水	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
抗体(血清)	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	弃去
抗原(菌液)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
血清稀释度	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	—
37℃恒温箱过夜								
结果	++++	++++	++++	+++	++	+	-	-

## 【结果观察】

### (一) 玻片凝集试验

玻片静置数分钟后观察结果。如上述混悬液由均匀混浊状变为澄清透明,并出现大小不等的乳白色凝集块者即为阳性(+);如混悬液仍呈均匀混浊状则为阴性(-)。如肉眼观察不够清楚,可将玻片置于显微镜下用低倍镜观察(图1-1)。

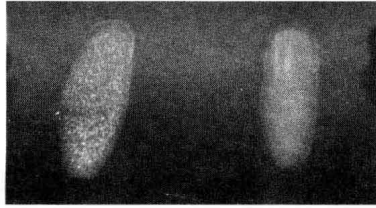


图 1-1 玻片凝集试验（左侧为阳性，右侧为阴性）

## （二）试管凝集试验

1. 对照管：应无凝集现象，液体均匀混浊，部分细菌沉积于管底，形成白色圆形沉积物。

2. 观察 1~7 试验管中液体的混浊度以及管底的凝块，根据这两种现象确定和记录凝集反应的强度：

- ++++：完全凝集，上层液体澄清透明，管底有边缘不整的白色凝块。
- +++：大部分凝集，上层液体微微混浊，管底有边缘不整的白色凝块。
- ++：半数凝集，上层液体中等混浊，管底有大而薄的伞状白色凝块。
- +
- ：少量凝集，上层液体混浊，管底有少量凝块。
- ：不凝集，与对照管现象相同。

3. 判定血清凝集效价（滴度）：是指能发生“++”凝集现象的最高血清稀释度为血清凝集效价，也称滴度。如表 1-1，其血清凝集效价为 1:320。

### 【注意事项】

#### （一）玻片凝集试验

1. 玻片应洁净、干燥、中性，以防止和减少非特异性凝集。
2. 每一待检菌均须作生理盐水对照，若生理盐水对照出现凝集则表示细菌发生自凝，试验结果无效。
3. 在载玻片两端涂布混合细菌时，应先将细菌与生理盐水均匀混合，然后再将细菌与免疫血清均匀混合，以免将血清带入生理盐水中。
4. 试验后的细菌仍有传染性，应将载玻片及时放入消毒缸内。
5. 该方法主要用于细菌菌种的鉴定、分型以及人类红细胞 ABO 血型抗原的鉴定（后附）。此法操作简便，反应迅速，为定性试验，敏感性较低。

#### （二）试管凝集试验

1. 抗原、抗体在比例适当时，才出现肉眼可见的凝集现象。如抗体浓度过高，则无凝集物形成。此时须加大抗体稀释度重新试验。
2. 判断结果时，应在暗背景下透过强光观察。

3. 注意温度、pH、电解质对试验结果的影响。

4. 抗原、抗体加入后要充分振摇，以增加抗原抗体的接触。

5. 本法主要检测血清中是否有某种特异性抗体及其效价，可协助临床诊断或供流行病学调查研究。常用的有诊断伤寒和副伤寒的肥达反应（Widal test）、诊断斑疹伤寒和恙虫病等立克次体病的外-斐反应（Weil - Felix）以及诊断布氏菌病的瑞特反应（Wright test）。本试验是一种经典的半定量凝集试验，操作简单，但敏感性不高。

## 附：玻片法鉴定人 ABO 血型（直接凝集试验）

### 【实验原理】

同上。

### 【实验材料】

抗 A 标准抗体、抗 B 标准抗体、人红细胞悬液、载玻片、牙签、记号笔、滴管等。

### 【实验方法】

1. 在洁净载玻片的左右上角，分别用记号笔标记“A”和“B”。

2. 分别吸取抗 A 标准抗体和抗 B 标准抗体 1 滴，滴在载玻片左右两侧中央。

3. 用滴管吸取人红细胞悬液，分别滴于载玻片抗 A 标准抗体和抗 B 标准抗体上。

然后用牙签混匀。

4. 手持载玻片轻轻摇动，室温下静置数分钟后观察结果。

### 【结果观察】

见表 1-2。

表 1-2 人 ABO 血型鉴定结果

血型	抗 A 标准抗体	抗 B 标准抗体
A 型	+	-
B 型	-	+
AB 型	+	+
O 型	-	-

注：“+”凝集，“-”不凝集。

## 实验二 沉淀反应

### 【实验目的】

1. 熟悉沉淀反应的基本原理。
2. 了解反应的主要方法、操作过程和临床意义。

### 【实验原理】

可溶性抗原（包括血清蛋白质、细菌外毒素以及各种微生物和组织细胞的可溶性浸出物等）与相应抗体结合，在比例适宜且有电解质存在的情况下，经过一定时间形成肉眼可见的沉淀或沉淀线，此种现象称为沉淀反应。

#### （一）单向琼脂扩散试验

单向琼脂扩散试验系定量试验，通常以已知抗体测定未知抗原。试验中首先将一定量的抗血清（抗体）与加热融化的离子琼脂混匀后，浇注平皿或玻片上，制成含抗体的琼脂板；接着在琼脂板上打孔，将不同浓度的标准抗原或待检抗原加入孔中，抗原向孔四周呈辐射状扩散，与已混在琼脂中的相应抗体结合，在抗原抗体比例合适处形成白色圆形沉淀环。当抗体浓度一定时，沉淀环的直径大小与抗原浓度呈正相关。利用此原理，可定量检测未知抗原。

其检测方法是：先以已知不同浓度的标准抗原与固定浓度的抗血清反应测得的沉淀环直径作为纵坐标，以抗原浓度为横坐标，绘制标准曲线；然后量取待检同种抗原的沉淀环直径，即可从标准曲线中求得含量。该试验在实践中主要用于定量检测标本中的各种免疫球蛋白、补体以及甲胎蛋白（AFP）等物质的含量。

#### （二）双向琼脂扩散试验

双向琼脂扩散试验系定性试验。本法是将可溶性抗原与相应抗体分别加入琼脂板上相邻的两孔中，两者各自向四周扩散，在两孔之间的区域内当比例适合时可形成沉淀线；如抗原与抗体无关则不形成沉淀线。若两孔中含有多个对应的抗原抗体系统，则可出现多条沉淀线。沉淀线的特征与位置不仅跟试剂的特异性与浓度有关，且与其分子大小和扩散速度等因素相关。此试验可用于检测抗原或抗体的特异性和纯度，亦可用已知的抗原（抗体）来测未知的抗体（抗原）。临床上可用于 AFP 的检测，以辅助诊断原发性肝癌等疾病。

#### （三）对流免疫电泳

在 pH 为 8.6 的缓冲液中，抗原带负电荷，可在电场作用下由阴极向阳极移动。抗体为大分子球蛋白，带少量的负电荷，移动较慢，受电渗作用反而向阴极移动，这样就