



西安交通大学 本科“十二五”规划教材  
“985”工程三期重点建设实验系列教材

# 医学免疫学与病原生物学 实验教程

主编 刘如意 徐纪茹



西安交通大学出版社  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

C14009148



西安交通大学 本科“十  
“985”工程三

R392-33  
13

# 医学免疫学与病原生物学 实验教程

主 编 刘如意 徐纪茹

编 者 (按姓氏拼音排序)

|     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|
| 陈艳炯 | 程彦斌 | 杜艺华 | 雷艳君 |
| 刘如意 | 任会勋 | 史 霖 | 司开卫 |
| 王军阳 | 谢 明 | 徐纪茹 | 寻 萌 |
| 杨 娥 | 张 旭 | 周晓勃 |     |



R393-33  
13



北航

C1698006



西安交通大学出版社  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目 (CIP) 数据

医学免疫学与病原生物学实验教程/刘如意, 徐纪茹主编. —西安: 西安交通大学出版社, 2013. 9

ISBN 978-7-5605-5489-1

I. ①医… II. ①刘… ②徐… III. ①医药学-免疫学-实验-医学院校-教材  
②病原微生物-实验-医学院校-教材 IV. ①R392-33②R37-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 182512 号

书 名 医学免疫学与病原生物学实验教程

主 编 刘如意 徐纪茹

责任编辑 吴 杰

出版发行 西安交通大学出版社

(西安市兴庆南路 10 号 邮政编码 710049)

网 址 <http://www.xjtupress.com>

电 话 (029) 82668357 82667874 (发行中心)

(029) 82668315 82669096 (总编办)

传 真 (029) 82668280

印 刷 陕西元盛印务有限公司

开 本 727mm×960mm 1/16 印张 11.5 字数 193

版次印次 2013 年 9 月第 1 版 2013 年 9 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5605-5489-1/R·328

定 价 19.00 元

读者购书、书店添货、如发现印装质量问题, 请与本社发行中心联系、调换。

订购热线: (029) 82665248 (029) 82665249

投稿热线: (029) 82665546 (029) 82668502

读者信箱: [xjtupress@163.com](mailto:xjtupress@163.com)

版权所有 侵权必究

# 编审委员会

主 任 冯博琴

委 员 （按姓氏笔画排序）

邓建国 何茂刚 张建保 陈雪峰

罗先觉 郑智平 徐忠锋 黄 辰

# Proface 序

教育部《关于全面提高高等教育质量的若干意见》（教高〔2012〕4号）第八条“强化实践育人环节”指出，要制定加强高校实践育人工作的办法。《意见》要求高校分类制订实践教学标准；增加实践教学比重，确保各类专业实践教学必要的学分（学时）；组织编写一批优秀实验教材；重点建设一批国家级实验教学示范中心、国家大学生校外实践教育基地……。这一被我们习惯称之为“质量30条”的文件，“实践育人”被专门列了一条，意义深远。

目前，我国正处在努力建设人才资源强国的关键时期，高等学校更需具备战略性眼光，从造就强国之才的长远观点出发，重新审视实验教学的定位。事实上，经精心设计的实验教学更适合承担起培养多学科综合素质人才的重任，为培养复合型创新人才服务。

早在1995年，西安交通大学就率先提出创建基础教学实验中心的构想，通过实验中心的建立和完善，将基本知识、基本技能、实验能力训练融为一炉，实现教师资源、设备资源和管理人员一体化管理，突破以课程或专业设置实验室的传统管理模式，向根据学科群组建基础实验和跨学科专业基础实验大平台的模式转变。以此为起点，学校以高素质创新人才培养为核心，相继建成8个国家级、6个省级实验教学示范中心和16个校级实验教学中心，形成了重点学科有布局的国家、省、校三级实验教学中心体系。2012年7月，学校从“985工程”三期重点建设经费中专门划拨经费资助立项系列实验教材，并纳入到“西安交通大学本科‘十二五’规划教材”系列，反映了学校对实验教学的重视。从教材的立项到建设，教师们热情相当高，经过近一年的努力，这批教材已见端倪。

我很高兴地看到这次立项教材有几个优点：一是覆盖面较宽，能确实解决实验教学中的一些问题，系列实验教材涉及全校12个学院和一批重要的课程；二是质量有保证，90%的教材都是在多年使用的讲义的基础上编写而成的，教材的作者大多是具有丰富教学经验的一线教师，新教材贴近教学实际；三是按西安交大《2010版本科培养方案》编写，紧密结合学校当前教学方案，符合西安交大

人才培养规格和学科特色。

最后，我要向这些作者表示感谢，对他们的奉献表示敬意，并期望这些书能受到学生欢迎，同时希望作者不断改版，形成精品，为中国的高等教育做出贡献。

西安交通大学教授

国家级教学名师

2013年6月1日

# Foreword 前言

医学免疫学与病原生物学作为重要的基础医学课程，是生命科学中迅猛发展的前沿学科。其实验教学的目的主要是验证理论知识，加深对理论知识的理解，更重要的是培养学生动手能力，提高学生的基本科学素质。通过实验教学，使学生运用免疫学与病原生物学知识和技术对传染病及临床感染的病原体进行研究，解决临床疾病诊断和防治等实际问题，并不断深入研究。

有鉴于此，西安交通大学医学部有关专家两年前就邀请同道及临床专家商讨编写《医学免疫学与病原生物学实验教程》事宜，初稿已自编成册在本校及兄弟院校交流使用。在此基础上，我们删除了一些陈旧的、重复性的实验内容，新增了一些与现代分子医学相关的新技术，在篇章结构上进行了优化和调整，力求实验内容的系统和完整。全书共设三篇二十一章，并设附录介绍常用试剂配制、介绍基本实验技能等。各篇既有侧重，又有整合的复合型试验，力求简明实用，使其适合医学各专业实验教学之需，同时也能为医学研究者提供部分基本的科研方法。

本教材被列为西安交通大学“十二五”规划教材项目，得到了教务处的的大力支持，袁育康教授、范桂香教授为本教材的出版提供了宝贵的第一手资料，在此一并表示感谢。

由于编写时间仓促，水平有限，书中难免会有错误和不妥之处，恳请师生们批评指正。

作者

2013年7月22日

# Contents 目录

|               |       |
|---------------|-------|
| 实验目的与要求 ..... | (001) |
| 实验室规则 .....   | (002) |

## 第一篇 医学微生物学

|                              |       |
|------------------------------|-------|
| 第一章 细菌的形态及染色 .....           | (005) |
| 实验一 显微镜油镜的使用 .....           | (005) |
| 实验二 细菌染色标本片的制备 .....         | (006) |
| 实验三 细菌基本形态及特殊结构观察 (示教) ..... | (008) |
| 实验四 形态的变异: 鞭毛的变异 .....       | (008) |
| 第二章 细菌培养的基本技术及生化反应 .....     | (010) |
| 实验一 细菌培养基的制备 .....           | (010) |
| 实验二 细菌接种技术及生长表现 .....        | (012) |
| 实验三 细菌的生化反应 .....            | (014) |
| 第三章 细菌的分布及外界因素对细菌的影响 .....   | (021) |
| 实验一 细菌的分布 .....              | (021) |
| 实验二 外界因素对细菌生长的影响 .....       | (023) |
| 第四章 病原性球菌的分离鉴定 .....         | (031) |
| 第五章 病原性肠道杆菌的分离鉴定 .....       | (034) |
| 第六章 结核分枝杆菌的检测 .....          | (037) |
| 第七章 流感病毒的分离鉴定 .....          | (041) |
| 第八章 实验室生物安全 .....            | (048) |



## 第二篇 人体寄生虫学

|                        |       |
|------------------------|-------|
| 第九章 线虫 .....           | (053) |
| 第十章 吸虫 .....           | (058) |
| 第十一章 绦虫和原虫 ( I ) ..... | (063) |
| 第十二章 原虫 ( II ) .....   | (069) |
| 第十三章 医学节肢动物 .....      | (073) |

## 第三篇 医学免疫学

|                                   |       |
|-----------------------------------|-------|
| 第十四章 固有免疫功能测定 .....               | (077) |
| 实验一 碳粒廓清试验 .....                  | (077) |
| 实验二 吞噬细胞的功能试验 .....               | (078) |
| 实验三 血清总补体活性测定 ( CH50 单位测定 ) ..... | (080) |
| 第十五章 经典的抗原抗体反应 .....              | (083) |
| 实验一 凝集反应 .....                    | (083) |
| 实验二 沉淀反应 .....                    | (086) |
| 实验三 中和试验 .....                    | (089) |
| 实验四 补体结合试验 .....                  | (090) |
| 第十六章 免疫标记技术 .....                 | (091) |
| 实验一 免疫荧光技术 .....                  | (091) |
| 实验二 酶联免疫吸附试验 .....                | (093) |
| 第十七章 免疫细胞的分离技术 .....              | (096) |
| 实验一 外周血单个核细胞的分离 .....             | (096) |
| 实验二 淋巴细胞的分离、纯化 .....              | (098) |
| 第十八章 免疫细胞功能测定 .....               | (104) |
| 实验一 E - 玫瑰花环试验 .....              | (104) |
| 实验二 淋巴细胞增殖试验 .....                | (106) |

|       |                                |       |
|-------|--------------------------------|-------|
| 实验三   | NK 细胞活性的检测 .....               | (109) |
| 第十九章  | 细胞因子的检测 .....                  | (112) |
| 实验一   | 白细胞介素 -2 生物学活性测定 .....         | (112) |
| 实验二   | ELISA 法测定小鼠血清中的 IL-6 的含量 ..... | (114) |
| 第二十章  | 抗体制备技术 .....                   | (118) |
| 实验一   | 免疫血清的制备及其效价测定 .....            | (118) |
| 实验二   | 免疫球蛋白纯化技术——盐析法纯化人血清免疫球蛋白 ..... | (120) |
| 实验三   | 单克隆抗体制备 .....                  | (121) |
| 第二十一章 | 实验动物免疫功能测定 .....               | (131) |

## 附 录

|      |                          |       |
|------|--------------------------|-------|
| 附录一  | 常用试剂和培养基的配制 .....        | (139) |
| 附录二  | 实验动物的管理、接种、采血及处死方法 ..... | (156) |
| 附录三  | 寄生虫学总结表与复习题 .....        | (163) |
| 参考文献 | .....                    | (172) |

# 实验目的与要求

医学免疫学与病原生物学实验课是医学专业课程的重要组成部分，指导学生上好实验课是教学过程中的重要环节。

## 一、实验目的

学习实验课的目的是：

1. 使学生加深理解并巩固理论知识，学习和掌握有关的实验操作技术，为以后的医学专业课学习打好基础。
2. 在实验中，培养学生观察、思考和分析问题的能力，主动参与实验的动手能力及独立工作的能力。训练学生严格的科学作风、严肃的科学态度和严密的工作方法。
3. 培养学生在集体工作环境中互帮互让，团结协作，共同完成好实验的精神品德。

## 二、实验要求

为了达到上述目的，提高实验课的教学效果，特提出以下要求：

1. 实验课前做好预习，明确本次实验课的内容及其原理、方法及注意事项。
2. 实验过程中要仔细认真，注意分工与协作，培养团队精神，提倡同学之间互帮互学。操作实验要按操作步骤进行，学会正确的操作手法、准确记录实验结果。示教实验要注意观察，并记录好相关内容。
3. 严格遵守实验室规则及生物安全规范。在微生物学实验课上，要树立“有菌观点”，严格掌握和不断完善无菌操作技术。
4. 注重分析观察实验过程及结果，并紧密联系理论课内容。要注意，不论实验结果与理论符合与否都有讨论的价值，并分析其原因，有可能的话还应重复实验。
5. 注重科学总结，实验完毕应自行分析实验结果，得出可能的结论，并总结实验中的体会和经验。除当堂作好实验记录及绘图外，还应按规定完成系统实验报告。

(徐纪茹)

# 实验室规则

一、进入实验室须穿工作服、戴工作帽。除必要的书籍和文具外，其他个人物品一律不得带入实验室。

二、在实验室内，禁止饮食、吸烟及与学习无关的其它活动，不得大声喧哗或嬉戏。

三、未经教师许可，不得擅自搬动实验器材及示教物品，不准随意摆弄和旋转实验仪器上的开关及旋钮等。

四、按照实验要求，在教师的指导下，主动安排要进行的实验，认真进行实验操作，严格遵守无菌操作规程，争取顺利地完成任务。

五、实验中使用完毕的器材和试剂必须放回规定的位置。废弃物必须按规定进行处理或归放于指定的容器内，不能随便乱丢乱放。

六、若实验中不慎发生菌液打翻、有菌材料污染桌面或衣物、割破手指等意外情况，应及时报告教师进行处理，切勿自作主张不按规定处理，防止自身感染及交叉污染。

七、爱护实验室内的一切设备、挂图、仪器。注意节约使用消耗材料及药品试剂，注意用电安全及节约水电。

八、实验结束，要清理桌面，将实验器材放回原处。值日同学要搞好实验室的清洁卫生，保持室内整齐，离开实验室前要关好门窗、水、电，并将手洗干净。

九、未经许可，不得将实验室内任何物品带出实验室。

(徐纪茹)

第 一 篇

医学微生物学

YIXUEWEISHENGWUXUE



# 第一章

【实验要求】

## 细菌的形态及染色

细菌形体微小，肉眼看不到，必须借助光学显微镜的油镜将其放大 1000 倍左右才能看清。因此，对细菌形态学检查必须掌握显微镜油镜的使用与保护。

### 实验一 显微镜油镜的使用

#### 【实验原理】

用油镜头观察标本，是在使用高倍镜的基础上，采用同玻璃折光率相似的油状物（如香柏油、液体石蜡等）滴加在标本与油镜头中间，以避免光线散射，提高显微镜的清晰度和分辨能力，使观察物像更加清晰（见图 1-1）。

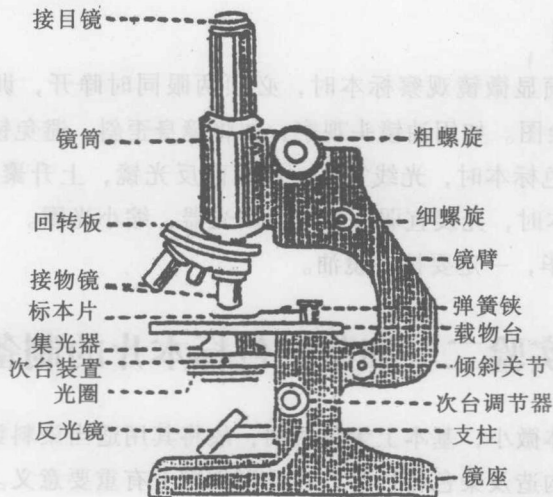


图 1-1 普通光学显微镜

### 【实验方法】

(1) 对光：对光时宜采用低倍镜，依据光线强弱，转动反光镜的位置（光源为自然光时用平面，光源为灯光时用凹面），使视野达到清晰光亮。

(2) 加油：双手向上转动粗螺旋，使镜筒上升，将标本片固定于载物台上，使染色面对准聚光器中央，加镜油于标本面，调换油镜头对准标本面。

(3) 调焦点：用左手向下轻转粗螺旋，使镜筒下降，同时眼睛从右侧观察下降程度，待镜头入油后，要小心使镜头轻触玻面（用力过猛会扭坏镜头及压碎玻片）。然后再眼观目镜，反转粗螺旋，使镜筒慢慢上升，待看到模糊物像时，改用细螺旋上下调节，使物像达到完全清晰为宜（一般转动细螺旋前后半圈）。

(4) 观察：观察时只使用细调。需改换视野时，右手操纵推进器，左手转动细螺旋，做到配合自如。并养成左眼观察，右眼看笔绘图的习惯。

### 【油镜头的保护】

油镜头使用完毕后，必须用擦镜纸滴加少量二甲苯将油擦洗干净（二甲苯用量宜少，以免镜片间粘胶溶解）。下降集光器，将物镜转成“八”字，再下降镜筒，轻触镜台表面，双手平持显微镜放入镜箱，避免日光直射，置于干燥处，以防受潮。

### 【注意事项】

(1) 使用直筒显微镜观察标本时，必须两眼同时睁开，训练使用左眼观察标本，右眼看笔绘图。如用油镜头观察，勿将镜身歪斜，避免镜油流出玻片面。

(2) 观察染色标本时，光线宜强。用两面反光镜，上升聚光器，开大光圈。观察不到染色标本时，光线宜弱，可下降聚光器，缩小光圈。

(3) 使用完毕，一定要擦去镜油。

## 实验二 细菌染色标本片的制备

由于细菌个体微小，基本上无色透明，故将其用适当染料染色，方能显示它的形态、大小、构造及染色特性等，在鉴别细菌上有重要意义。

### 【实验仪器和材料】

(1) 葡萄球菌、大肠杆菌 18~24h 普通琼脂斜面培养物。

(2) 革兰氏染色液。

(3) 生理盐水，载物玻片，接种环等。



(4) 显微镜。

## 【实验内容和方法】

### 1. 细菌涂片的制作

(1) 涂片 取清洁无油污载物玻片一张，接种环沾取生理盐水 1~2 环置于玻片中央，再将接种环火焰灭菌，待冷后，沾取葡萄球菌或大肠杆菌菌苔少许，混于生理盐水中，轻轻涂成均匀薄膜。

(2) 干燥 将玻片置于室温自然干燥，也可将涂面向上，远离火焰上方微加温干燥（切勿加热过度，以防将标本烧枯）。

(3) 固定 标本干燥后，通过酒精灯火焰三次（约 2~3s），以杀死细菌并使之固定于玻片上。

(4) 染色 可根据不同的染色要求，用相应的染色液进行染色。

### 2. 革兰氏染色法

涂片的制备方法同前。革兰氏染色方法可分为四步：

(1) 初染 于涂抹面上滴加结晶紫染液数滴，覆盖整个涂面，室温作用 1min。用自来水轻轻冲洗，甩干水分。

(2) 媒染 滴加鲁戈氏染液，室温作用 1min。自来水冲洗，甩干水分。

(3) 脱色 将染色片浸于 95% 酒精缸中，上下提取，边提边看，见涂面无色素下流为止（约 30s）。自来水冲洗，甩干水分。

(4) 复染 加稀释复红染液染 30s。自来水冲洗，用吸水纸吸干玻片上的水分。

(5) 加油镜检 待染色片干后，置于油镜下，调强光视野观察，呈蓝紫色的为革兰氏阳性菌，呈红色的为革兰氏阴性菌。

## 【实验结果】

革兰氏阳性菌染成蓝紫色，革兰氏阴性菌染成红色。

## 【注意事项】

涂片要均匀，干燥要彻底。观察细菌时注意保护镜头，应从低向高调节镜头。