

医学微生物学

实验指导

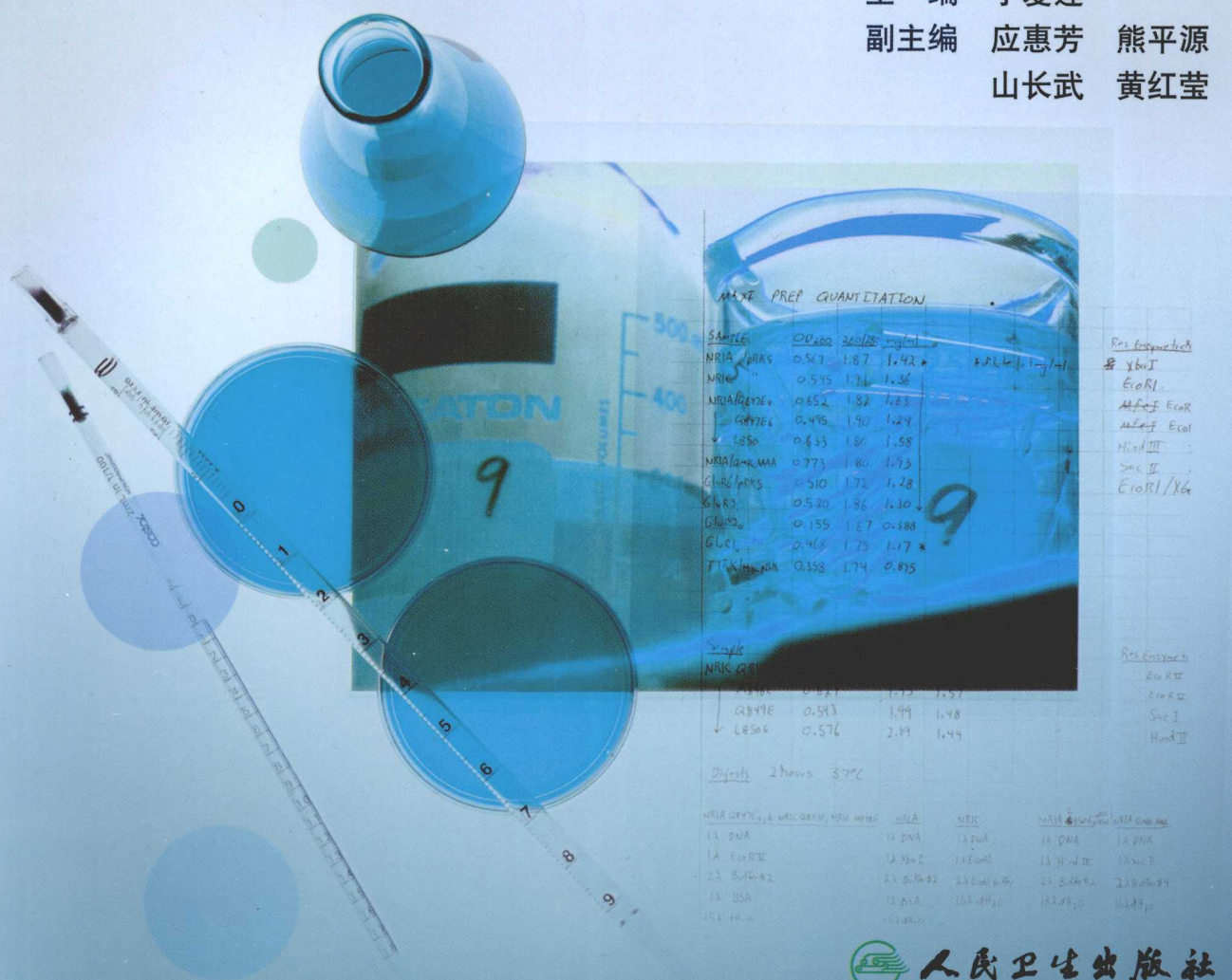
供基础、预防、临床医学、药学等专业用

第2版

主 编 于爱莲

副主编 应惠芳 熊平源

山长武 黄红莹



高等学校教材

供基础、预防、临床医学、药学等专业用

医学微生物学实验指导

第 2 版

主 编 于爱莲

副主编 应惠芳 熊平源 山长武 黄红莹

编 者 (以姓氏笔画为序)

于广福	泰山医学院	应惠芳	咸宁学院医学院
于爱莲	泰山医学院	赵英会	泰山医学院
山长武	济宁医学院	曹 卉	济宁医学院
马 杰	武汉科技大学医学院	黄红莹	河南大学医学院
王 玉	泰山医学院	韩子强	泰山医学院
朱小明	泰山医学院	熊平源	武汉科技大学医学院
庄东明	泰山医学院	潘少波	泰山医学院
刘昌平	济宁医学院		

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

医学微生物学实验指导/于爱莲主编. —2 版.
—北京: 人民卫生出版社, 2010. 8

ISBN 978-7-117-13123-0

I. ①医… II. ①于… III. ①医药学: 微生物学-
实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①R37-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 112673 号

门户网: www.pmph.com 出版物查询、网上书店 卫人网: www.ipmph.com 护士、医师、药师、中医 师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

医学微生物学实验指导

第 2 版

主 编: 于爱莲

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 尚艺印装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 20

字 数: 499 千字

版 次: 2005 年 3 月第 1 版 2010 年 8 月第 2 版第 7 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-13123-0/R · 13124

定 价: 35.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

图书在版编目 (CIP) 数据

医学微生物学实验指导/于爱莲主编. —2 版.
—北京: 人民卫生出版社, 2010. 8

ISBN 978-7-117-13123-0

I. ①医… II. ①于… III. ①医药学: 微生物学-
实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①R37-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 112673 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医 师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

医学微生物学实验指导

第 2 版

主 编: 于爱莲

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 尚艺印装有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 20

字 数: 499 千字

版 次: 2005 年 3 月第 1 版 2010 年 8 月第 2 版第 7 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-13123-0/R · 13124

定 价: 35.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

前言

医学微生物学是基础医学中的一门重要学科,为学习临床各科的感染性疾病、传染病、超敏反应性疾病和肿瘤疾病等奠定重要的理论基础。医学微生物学实验的基本操作技术为医学微生物学的创建和飞速发展发挥了巨大作用。

目前,微生物学实验技术已广泛地渗透到现代生命科学的各个领域,微生物学和其他学科的相互交叉,成为现代微生物学的显著特点。医学微生物学是现代微生物学的重要分支,更是一门实验性很强的学科。实验教学在其专业学习中有十分重要的地位,通过实验教学培养学生科学的思维方法、实验动手能力、综合分析问题能力和创新能力,全面推进素质教育。

《医学微生物学实验指导》一书是根据卫生部规划教材《医学微生物学》第七版的教学需要编写的实验教材,总结了我们长期以来微生物学实验课程教学和科学研究中部分工作经验,参考了国内兄弟院校编写的有关教材。本书共分 30 章,共涵盖 109 个实验项目。其以“基础性、实用性、科学性和先进性”为原则,每一项实验内容包括目的要求、基本原理、实验材料、操作方法和问题思考等,力求使学生在实验中有明确的实验思路。该教材具有以下特点:

1. 基本实验与应用相结合 对于学生必须掌握的操作技术详细介绍。删除在基础研究与临床诊断中应用较少的陈旧方法,增加目前广泛应用的简便、快速、特异性较强的实验技术。

2. 基本技能与创新结合 在实验教材内容中,对学生既强调基本技能的训练,又注重学生创新思维的启发。因此,在某些章节的实验后附有实验设计、病例讨论、问题思考等,以启发学生思维,提高学生分析、解决问题的能力。

3. 基础实验与综合性实验结合 基础性实验包括了医学微生物学实验的基本操作和技能训练,是医学微生物学课程中最基本、最具学科特点的实验技术,通过基础实验使学生掌握医学微生物学的基本知识与技能,为进行综合性实验奠定基础。综合性实验部分由多种实验技术手段和多层次的实验内容组成,要求学生独立完成实验材料的准备、试剂配制、实验操作、总结归纳和分析实验结果。通过综合性实验训练学生对所学知识和实验技术的综合运用能力、独立工作能力、对实验结果的判断、分析能力等。

4. 基础实验与设计性实验结合 设计性实验是在完成基础实验和综合性实验的基础上,根据所学的医学微生物学的理论知识和基本技能及结合其他学科相关资料,学生自我设计实验方案,模拟科研课题进行初步的调研和实验操作进行数据处理、撰写论文等,或对病原体所致疾病的临床病例分析,做出诊断,制定可疑病原体的检测程序。通过设计实验有利

于学生全面了解和综合掌握本门实验课程的教学内容,满足学生个性发展的需要,更注重培养学生创新意识、独立分析和解决问题的能力。

本书作为高等院校医学微生物学基础实验课教材。其中各个实验相对独立,根据各层次、各专业的实验学时酌情选择实验内容。本书也可作为从事医学微生物研究工作的有关教师及科技工作者的良好参考书。

本书的出版得到泰山医学院、济宁医学院、咸宁学院医学院、武汉科技大学医学院和河南大学医学院领导、教务处及教材科的大力支持与帮助,得到出版社的支持与合作。在此一并表示衷心感谢。

由于编写时间仓促,学术水平和编写能力有限,尤其是各学校实验条件不同,专业要求有别,在内容和安排上难免会顾此失彼,恳请同道们及读者不吝提出宝贵意见。

于爱莲

2010年6月

目 录

实验须知	1
实验室意外事件的紧急处理方法	2
第一章 显微镜使用技术	3
实验 1 普通光学显微镜	3
实验 2 暗视场显微镜	8
实验 3 荧光显微镜	10
实验 4 相差显微镜	13
实验 5 电子显微镜	16
第二章 细菌染色技术	21
实验 6 细菌单染色	21
实验 7 革兰染色	22
实验 8 抗酸染色	24
实验 9 细菌荚膜染色	25
实验 10 鞭毛染色	26
实验 11 芽胞染色	28
实验 12 细菌异染颗粒染色	29
实验 13 细菌核质染色	30
第三章 细菌的形态与特殊结构	31
实验 14 细菌基本形态的观察	31
实验 15 细菌特殊结构的观察	32
实验 16 细菌动力观察	34
第四章 细菌的分离培养技术	36
实验 17 常用细菌培养基的制备	36
实验 18 细菌分离与接种	38
实验 19 细菌培养技术	42
第五章 人体正常菌群和实验室环境细菌的检测	45
实验 20 人体各部位细菌的检查	45
实验 21 实验室环境细菌的检查	47
第六章 细菌生化鉴定技术	49
实验 22 糖发酵试验	49

实验 23	IMViC 试验	50
实验 24	硫化氢试验	52
实验 25	尿素酶试验	52
第七章	消毒灭菌法	55
实验 26	物理法	55
实验 27	化学消毒法	57
第八章	噬菌体试验	58
实验 28	噬菌体的分离与鉴定	58
实验 29	噬菌体蚀斑实验	59
实验 30	噬菌体的效价测定	60
第九章	细菌的遗传与变异	62
实验 31	细菌的变异现象	62
实验 32	细菌耐药质粒 DNA 的提取与转化	64
实验 33	细菌接合试验	67
实验 34	细菌转化试验	68
实验 35	艾姆试验	70
第十章	抗生素抑菌试验与细菌耐药性试验	74
实验 36	抗生素体外抑菌作用试验	74
实验 37	抗生素体内抑菌作用试验(ED_{50} 测定)	76
实验 38	细菌半数致死量(LD_{50})测定	77
第十一章	细菌毒素检测	79
实验 39	荚膜的致病作用	79
实验 40	内毒素的毒性作用	80
实验 41	鲎试验	81
实验 42	外毒素的毒性作用及抗毒素的保护作用	82
第十二章	动物实验及采血技术	84
实验 43	实验动物接种技术	84
实验 44	动物采血技术	86
第十三章	球菌	88
实验 45	葡萄球菌属	88
实验 46	链球菌属	91
实验 47	奈瑟菌属	97
第十四章	肠杆菌科	101
实验 48	埃希菌属	101
实验 49	沙门菌属	103
实验 50	肥达试验	105
实验 51	志贺菌属	107

第十五章 弧菌属	109
实验 52 霍乱弧菌	109
实验 53 副溶血性弧菌	112
第十六章 螺杆菌属	114
实验 54 幽门螺杆菌	114
第十七章 厌氧性细菌	117
实验 55 厌氧芽胞梭菌属	117
第十八章 分枝杆菌属	121
实验 56 结核分枝杆菌的分离和鉴定	121
第十九章 棒状杆菌属	125
实验 57 白喉棒状杆菌的分离与鉴定	125
第二十章 支原体、衣原体和立克次体	128
实验 58 支原体	128
实验 59 衣原体	130
实验 60 立克次体	132
第二十一章 螺旋体	135
实验 61 钩端螺旋体	135
实验 62 梅毒螺旋体	138
实验 63 齿垢涂片检查疏螺旋体	141
第二十二章 病毒学基本试验	143
实验 64 病毒的形态及包涵体检查	143
实验 65 鸡胚接种法	145
实验 66 病毒的原代细胞培养	148
实验 67 传代细胞培养	151
实验 68 动物接种法	152
实验 69 病毒的定量检测	153
实验 70 中和试验	156
第二十三章 呼吸道病毒	160
实验 71 流行性感冒病毒的分离与鉴定	160
第二十四章 肠道病毒	164
实验 72 肠道病毒的分离与鉴定	164
实验 73 脊髓灰质炎病毒的分离与鉴定	166
实验 74 手足口病病原体检测	167
实验 75 轮状病毒的检测	175
第二十五章 肝炎病毒	178
实验 76 乙型肝炎病毒的抗原和抗体检测	178
实验 77 前 S ₂ 及抗前 S ₂ 的检测	181

实验 78	HBV-DNA 检测	182
第二十六章	人类免疫缺陷病毒	188
实验 79	HIV 抗体的检测	188
实验 80	HIV 抗原的检测	191
第二十七章	真菌学	193
实验 81	真菌的分离培养方法	193
实验 82	真菌的形态与结构观察	194
实验 83	浅部感染真菌的检查	196
实验 84	机会致病性真菌的检查	197
实验 85	真菌鉴定	198
第二十八章	分子微生物学实验技术	200
实验 86	细菌核酸分子杂交	200
实验 87	细菌 DNA 提取	202
实验 88	细菌 DNA 中 G+C mol% 的含量测定	203
实验 89	细菌质粒的提取、酶切与连接实验	204
实验 90	DNA 琼脂凝胶电泳	206
实验 91	PCR-ELISA 技术	208
实验 92	PCR-SSCP 技术	210
实验 93	mRNA 差异显示 PCR 技术	211
实验 94	DNA 序列测定	212
实验 95	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	216
实验 96	HPV 基因的克隆及鉴定	217
实验 97	蛋白质印迹法	220
实验 98	基因芯片技术	222
实验 99	双向凝胶电泳	224
第二十九章	临床标本的细菌学检查	229
实验 100	血液标本	229
实验 101	脓汁标本	231
实验 102	粪便标本	233
实验 103	尿液标本	234
实验 104	脑脊液标本	236
实验 105	痰液及呼吸道标本	238
实验 106	泌尿生殖道分泌物标本	239
实验 107	常见食物中毒细菌的检验	241
第三十章	实验设计与实验技能的测评	246
实验 108	实验设计	246
实验 109	实验技能的测评	248

附录一 微生物实验室常用仪器与器皿·····	250
附录二 培养基的制备及用途·····	281
附录三 菌种保存·····	290
附录四 实验报告范文·····	296
范文1 细菌的革兰染色·····	296
范文2 噬试验·····	297
主要参考文献·····	298
微生物学实验常用汉英词汇·····	299

实验须知

(general laboratory directions)

实验是加深理解和验证课堂讲授的理论,训练学生掌握微生物学最基本的操作技能,熟悉先进的检测方法,培养学生善于观察、独立思考、分析问题和解决问题的能力,养成实事求是、严肃认真的科学态度,以及敢于创新的开拓精神。为保证实验效果,同时避免病原微生物的实验室内传染,保证实验操作者的安全,要求必须严格遵守以下规则:

一、学生在每次实验课前,认真预习实验内容,明确实验目的,了解实验原理、主要过程,做到心中有数,思路清晰。如有疑问,应事先请教指导教师。

二、不必要的物品勿带入实验室,必须要带的书本、文具等应放在远离实验操作的指定位置,以免污染。

三、进入实验室必须穿好隔离衣,离室时脱下反叠带走。

四、实验室内应保持安静,不得高声谈笑和随便走动。严禁吸烟、进食、饮水。严禁用嘴吸移液及湿润标签,尽量不要用手触摸头面部及身体其他暴露部位。

五、实验过程中要小心仔细,严格按操作规程进行,若发现问题,在独立思考、分析原因的基础上找指导教师帮助。

六、如遇不慎打破菌种管或使有菌材料污染皮肤、衣物、桌面等情况,应立即报告指导教师,切勿隐瞒或自行处理。

七、需培养的材料,应标明自己的组别、名称及处理方法,放于教师指定的地点进行培养。实验室中的菌种和物品等,未经教师许可,不得携出室外。

八、认真观察、分析实验结果,以实事求是的科学态度记录在实验报告中。如实验结果与理论不一致时,应分析原因,培养自己独立思考、分析问题和解决问题的能力。

九、实验完毕,清理实验用品,物归原处。实验废弃物应放入或倒入指定的位置和容器内。吸过菌液的吸管、毛细滴管等放入来苏儿消毒缸内;用过的玻片放入装有消毒液的搪瓷缸内,绝对不能乱放在桌面上。

十、离开实验室前,应用肥皂洗手、必要时用消毒液浸泡双手,然后用清水洗净。关水、关电、关窗、关门后方可离开实验室。

实验室意外事件的 紧急处理方法

(emergency treatment measures of
unexpected accident in laboratory)

一、实验过程中,切勿使乙醇、乙醚、丙酮等易燃药品接近火焰。如遇火险,应先关掉火源,再用湿布或沙土掩盖灭火,切忌用水。必要时用灭火器。

二、烧伤时局部可涂凡士林、5%鞣酸或2%苦味酸。

三、皮肤破损 先除去异物,用蒸馏水或生理盐水洗净后,涂2%碘酒或碘附。

四、药品腐蚀 强酸腐蚀伤时先用大量清水冲洗,再用5%醋酸或5%硼酸溶液中和;强碱腐蚀伤,用清水冲洗后,再用5%碳酸氢钠溶液中和。如伤至眼部,经上述步骤处理后,再滴入1~2滴液体石蜡。

五、误入菌液 不慎将菌液吸入口中,应立即吐入消毒容器内,用1:1000高锰酸钾溶液或3%双氧水漱口;并根据菌种不同,服用抗菌药物预防感染。

六、菌液污染 菌液流洒桌面、衣物或其他地方时,将3%来苏尔液或5%苯酚液覆盖30min后擦去,如为芽胞杆菌,应适当延长消毒时间。若手上沾有活菌,应浸泡于来苏儿液或新洁尔灭液中消毒10min,再用肥皂和自来水反复洗净。

1

第一章

显微镜使用技术

(microscopy technique)

微生物个体微小,肉眼不能直接看到,必须借助显微镜放大后才能观察。因此,显微镜是微生物实验室最常用的基本工具。

显微镜的种类很多,根据照明光源的性质分为光学显微镜和非光学显微镜两大类。光学显微镜是利用人眼可见的可见光或紫外线作光源,根据其原理和结构的不同分为普通光学显微镜、倒置显微镜、暗视场显微镜、相差显微镜、荧光显微镜、万能显微镜、共聚焦显微镜等不同类型的。非光学显微镜是指电子显微镜。不是利用可见光或紫外线作为光源,而是以电子束作为光源,并用“电磁透镜”作透镜。另外,还有光电结合的新型显微镜如电视显微镜。在检查细菌的形态与结构时最常用普通光学显微镜。

实验 1 普通光学显微镜 (light microscope)

【实验目的】

1. 了解普通光学显微镜的结构与作用。
2. 掌握油镜的使用原理及正确的使用方法。

【实验原理】

普通光学显微镜的基本工作原理是用物镜和目镜的多组凸透镜将物像逐级放大并反射到视网膜上的过程。

1. 成像原理(mechanism of imagery) 由光源发出的光线至聚光镜,会聚到被观察的标本片上,使标本得到足够的照明,由标本所透射的照明光线经物镜进入使光轴倾斜 45° 的棱角,在目镜的视场光栏处形成倒立、放大的实像(物镜对标本的第一次放大),该实像经过接目镜再次放大,进入人的眼睛,通过眼睛所观察的是物体放大而清晰的虚像(离开眼睛 250mm)。普通光学显微镜的成像原理见图 1-1。

2. 分辨力(resolving power) 人的眼睛对物体的分辨力仅 $250\mu\text{m}$ (0.25mm),多数球菌直径大约为 $0.5\sim 2\mu\text{m}$,杆菌长约 $1\sim 5\mu\text{m}$,宽 $0.3\sim 1\mu\text{m}$ 。观察细菌时,要选择分辨力至少为 $0.5\mu\text{m}\times 1000$ 倍的油镜头。评价显微镜质量的好或差,不仅要看放大倍数,更重要的是看分辨力。

分辨力是指显微镜分辨两个物体之间最短距离的能力。以 R 表示,分辨距离越短(R 值越小),显微镜的分辨能力就越高。

$$R=0.16\lambda/N.A. \quad NA=n \times \sin a/2$$

公式中 λ 为入射光波长, N. A. 为物镜数值孔径(numerical aperture, N. A.); n 为物镜与标本之间介质的折光率(refractive index), a 为光线进入物镜的最大镜口角。由于 λ 与 a 一般不会改变, 因此折光率 n 对显微镜分辨力影响很大。油镜的透镜小, 观察时由于聚光器集聚的光源通过载玻片经空气进入物镜头时, 由于空气的折光率($n=1.0$)与玻片折光率($n=1.52$)不同, 产生折射, 降低了显微镜的分辨率。使用油镜时, 在油镜头与标本片之间滴加香柏油($n=1.515$), 使之与玻片的折光率趋向一致, 减少了折射, 增加了视野亮度, 提高了分辨力(图 1-2)。

3. 放大倍数或放大率(magnification)

放大率是眼睛看到像的大小与对应标本大小的比值, 放大倍数是指长度而不是指面积与体积。

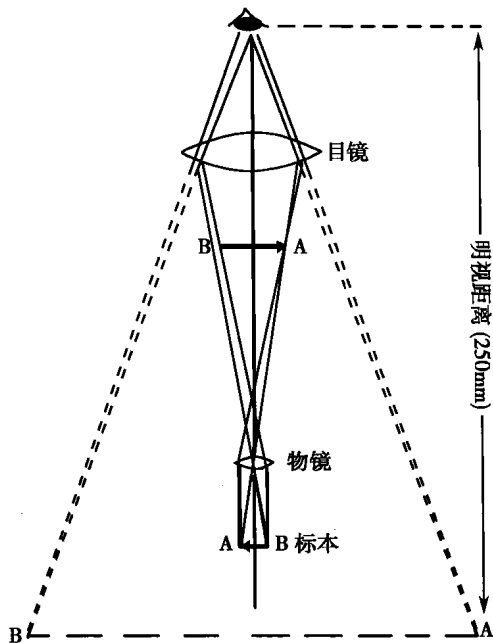


图 1-1 普通光学显微镜的成像原理

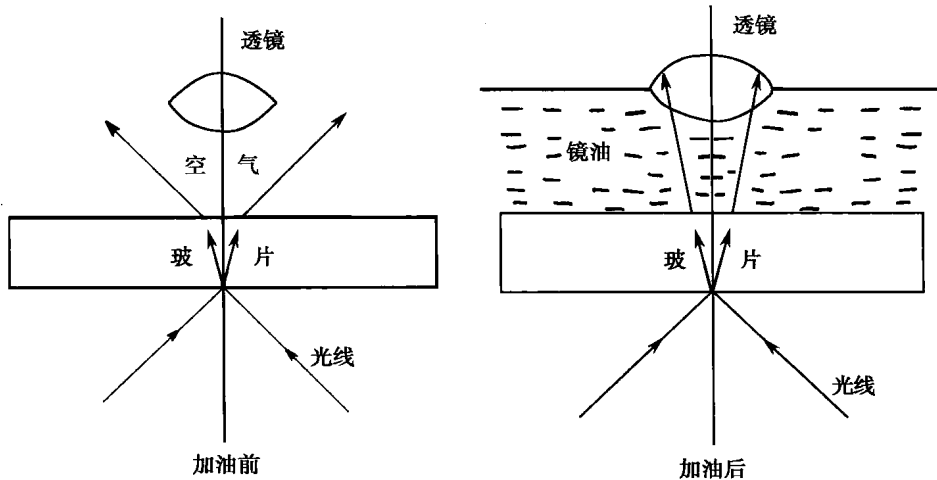


图 1-2 油镜原理

目镜放大倍数=250mm(明视距离)/fmm(目镜焦距)

物镜放大倍数=160mm(光学筒长)/fmm(物镜焦距)

显微镜总放大倍数=物镜放大倍数×目镜放大倍数

明视距离是指从眼球晶状体到目镜所放大的虚像之间的距离一般为 250mm。

光学筒长是指物镜上下焦点平面之间的距离。光学筒长的长度随机械筒长及物镜筒长而不同, 光学筒长略小于机械筒长。一般为 100mm, 也有 170mm 长的。仪器上所注数字一般是指机械筒长。

4. 焦点深度(depth of focus) 是指显微镜通过调焦看标本的某一点时, 不仅这一物

点,而且它的上下两侧也能看清楚,能清楚的这两侧之间的厚度。物镜的放大倍数越高,焦点深度越小。

5. 视野(visual field) 是指所看到的被检标本的范围。视野的大小与总放大倍数成反比,即放大倍数越大,视野越小,所看到的标本范围也越小。

6. 工作距离(working distance, W. D.) 是指观察标本最清晰时,物镜透镜的下沿与标本之间或与盖玻片之间的距离。物镜的放大倍数越高,其工作距离越短,油镜的工作距离最短,约为 0.2mm,故用油镜时,要求盖玻片的厚度为 0.17mm。

【实验材料】

1. 器材 普通光学显微镜、香柏油(cedar oil)、二甲苯(dimethyl benzene)、擦镜纸(lens paper)。

2. 标本 细菌革兰染色标本片。

【实验内容】

(一) 显微镜的结构

普通光学显微镜是由机械系统、照明系统和光学系统组成。

1. 机械系统(mechanical system) 主要作用是稳定和支持整个镜身。由镜座(base or foot)、镜臂(arm)、镜筒(tube)、载物台(stage)、物镜转换器(revolving nose piece)、调焦装置(focusing adjustment)等组成(图 1-3)。

2. 照明系统(illumination system) 是决定显微镜性能和功能的关键部分。不同显微镜的光源和照明方式亦不同。由光源(light source)、反光镜(reflection mirror)、聚光器(condenser)、光栏(diaphragm)、滤光片等组成。其作用有二:一是改变入射光的性质,即决定吸收哪些光和透过哪些光;二是改变入射光的强度,即调节光束大小。

显微镜用的照明光源有天然光源和人工光源。天然光源是用较柔和、对人眼睛无损害的太阳光。人工光源采用低压灯泡产生的强光,再通过会聚透镜加强光的亮度并使光均匀照射。人工光源中的弧光灯用于暗视场照明,紫外灯用于紫外显微镜,碘钨灯、氙灯、高压汞灯用于荧光显微镜。

反光镜在光栏的下面,一面为平面,另一面为凹面的双面反射镜,可向各方向转动改变采光的方向。平面镜反射的光较弱,而凹面镜反射的光强度大、亮度高。

聚光镜由 1~3 块透镜组成。最上面的一块是平面透镜,其作用为使平行光会聚在上透

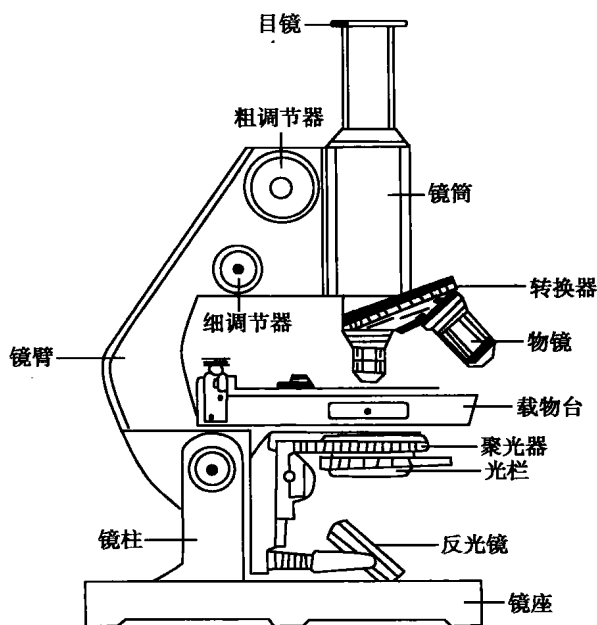


图 1-3 普通光学显微镜的结构

镜上方 1.25mm 处,以使光线继续射入物镜的整个镜口角,并可得到均匀的亮度。

光栏装在聚光镜下,其作用是控制光束的大小而起调节亮度。有虹彩光栏和转盘光栏两种。前者是由多个半月形的薄金属片重叠镶在圆形框架上,各片之间是活动的,通过把手调节。光栏的中心为透光孔;后者也称环状光栏,为一块设有大小不等环形孔洞的平板,选择不同的孔洞可以控制光量、提供不同亮度。每种环孔与相应的物镜对应使用。

滤光片是用有色玻璃制成的镜片,在聚光镜的下方。其作用是选择性的吸收某色光或某种波长的光而透过另一些色光或另一波长的光,以便产生单色光减少色差。滤光片只是对某种光容易透过。如颜色越深者吸收某种光的能力越强。蓝色滤片透过蓝光而吸收黄光,红色滤片透过红光而吸收蓝与绿光。

可见光根据波长及其颜色的差异分为七种单色光即红、橙、黄、绿、青、蓝、紫,波长依次为 700nm、650nm、600nm、550nm、500nm、450nm 和 400nm。其中红、绿和蓝三种光组成白光,红与绿组成黄光,红与蓝合为紫光。

各色滤光片具有不同的作用:①红色滤片,透过最多的光是红色,也通过一部分橙黄光,吸收绿、青、蓝紫光。②蓝色滤片,用于白炽灯光,吸收黄色光,透过较多的蓝光,透过少量的青紫光。③黄色滤片,透过较多的黄色,也通过少量的红光、橙光和绿光。④绿色滤片,使绿色光和黄色光通过,透过绿色较多,吸收蓝紫光和红光。⑤乳白色滤片,用于强光光源,降低光的亮度,使光线变柔和,不刺激眼睛,有利于观察细微结构。

3. 光学系统(optical system) 显微镜的好坏主要取决于光学系统,它起使所观察的样品在显微镜中成像的作用。主要由目镜和物镜组成。

(1) 目镜(ocular eyepiece):

组成:目镜是由两块透镜组成,上面与眼接触的一块叫接目镜,下面一块靠近视野的叫视野透镜,也称为场镜。上、下透镜之间有一个金属圆环为光栏,物镜在这个光栏面上成像。在光栏上可安装目镜测微尺(micrometer),有时可将毛发粘在光栏上,作为指针,指示物像。

作用:目镜的作用是把物镜所放大的像再放大一次;校正物镜预留下来的相差;将物像投射到一定位置上,便于显微放映或照相。

放大倍数:显微镜的目镜上刻有 5×、10×、15× 等字样表示不同的放大倍数。低倍目镜的视野深度和视野面积都比高倍目镜大,故常先用低倍镜来寻找载片上的目标。

(2) 物镜(objective):为显微镜最重要的部分。

组成:物镜由多块透镜(lens)组成,因为光线经过透镜时,通过中轴的像和通过边缘的像不在同一平面上,而使造像不清,称为像差(spherical aberration)。此外,各色光的折射率不同也引起造像不清楚,称为色差(chromatic aberration)。利用几种球面和光学特性不同的玻璃制成的透镜来组成接物镜就可以消除像差和色差。物镜有按色差分为四种:消色差物镜(achromat, Ach)、复消色差物镜(apochromat, Apo)、平场消色差物镜(achromatic aplanatic)和平场复消色差物镜(apochromat aplanatic)。质量最高的物镜为平场复消色差物镜,消色差物镜是目前最常用的一种。

作用:对被检物体做第一次放大形成倒立的实像并将放大像投射到目镜光栏处。

放大倍数:物镜具有一定放大率,其放大率和透镜焦距成反比。通常显微镜上备有 3~4 个放大率不同的物镜,其放大倍数分别为 10 倍低倍镜、40~80 倍高倍镜、100 倍油镜。标本的放大主要靠物镜。一台显微镜的总放大倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘