

全国高等院校医学实验教学规划教材

病原生物学与免疫学实验教程

主 编 周小鸥 余 辉 李曼君



科学出版社

第 1 章 病原微生物学概论

病原生物学与免疫学实验教程

主编 李树德 副主编 李树德

全国高等院校医学实验教学规划教材

病原生物学与免疫学实验教程

主 编 周小鸥 余 辉 李曼君

副主编 王嘉军 邱文洪 梅 钧 刘 燕

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

杜幼芹(三峡大学)

高劲松(长沙医学院)

郭凯文(武汉科技大学医学院)

李曼君(湖北中医药大学)

刘 燕(九江学院)

卢小澍(九江学院)

梅 钧(九江学院)

邱文洪(江汉大学医学院)

宋文剑(江汉大学医学院)

宋银宏(三峡大学)

王嘉军(三峡大学)

王 磊(三峡大学)

王 倩(湖北中医药大学)

王中平(九江学院)

卫 飞(湖北中医药大学)

吴建芳(九江学院)

余 辉(九江学院)

俞丽琴(九江学院)

周小鸥(九江学院)

朱 平(三峡大学)

科 学 出 版 社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

《病原生物学与免疫学实验教程》的目标旨在培养医学生的科学态度、动手能力、综合分析问题、解决问题的能力及自主创新精神。设计编写原则主要体现在实用性、综合性、创新性和先进性。本教程的编写结合各参编院校实验教学改革的实际,依据新的培养目标,将医学微生物学实验、人体寄生虫学实验和医学免疫学实验的传统实验内容重新进行优化整合,并增加了综合性实验和创新性实验内容。在总论部分,将形态学实验室常规仪器设备和实验动物操作技术做系统全面介绍;在创新性实验部分,增加了科研的基础知识,并提供部分科研参考选题;增添了免疫学综合实验,微生物学病案分析,寄生虫病动物模型复制和流行情况调查等,内容丰富而又实用;对学科间有交叉重复的内容进行了适当的组合优选,避免教学资源的浪费;全书配有双色或彩色插图,便于学生的记忆与操作;且三门学科的实验独自成篇,方便教学需要。

本教材适用于医药卫生院校本科和专科相关学科的实验教学,也可供青年教师考研和从事科研工作时参考。

图书在版编目(CIP)数据

病原生物学与免疫学实验教程 / 周小鹏,余辉,李曼君主编. —北京:科学出版社,2012

全国高等院校医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-032668-3

I. 病… II. ①周… ②余… ③李… III. ①病原微生物-实验-医学院校-教材 ②免疫学-实验-医学院校-教材 IV. ①R37-33 ②R392-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 224836 号

责任编辑:许贵强 丁海燕 / 责任校对:陈玉凤

责任印制:刘士平 / 封面设计:范壁合

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京天时彩色印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年1月第一版 开本:787×1092 1/16

2012年1月第一次印刷 印张:17

字数:422 000

定价:56.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

医学是一门实践性极强的科学,医学实验教学在整个医学教育中占有极为重要的地位,医学实验教学质量的提高将有助于提高整体医学教育水平。医学职业教育的培养目标是培养学生探索精神、科学思维、实践能力、创新能力,以及职业素养。实践教学是实现创新型技能型人才培养目标的重要环节,现阶段,实验教学的改革和研究已成为本、专科教学研究的热点问题。

九江学院基础医学院(原九江医学高等专科学校)历来十分重视教学改革,自2000年就对基础医学各学科实验进行了优化组合,将医学微生物学实验室、人体寄生虫学实验室和医学免疫学实验室整合为形态学综合实验室,实现了实验教学资源的共享,极大地提高了实验设备的使用效率,同时也减少了实验准备人员的匹配,加强了实验室的管理,使整个实验室的实际工作水平和效率都上了一个崭新的台阶。但是,在实验教材的建设方面并未相应地发生根本的变化,医学微生物学实验、人体寄生虫学实验和医学免疫学实验一直沿用各教研室自编的实验指导,教学内容实用、简洁和精炼,但不利于学生实践能力的拓展和创新能力的培养。为了顺应高校实验教学改革的潮流,适应新形势下高等教育的发展,以本院2010年培养计划的重新修订为契机,我院形态学教学团队联合三峡大学医学院、湖北中医药大学、江汉大学医学院、武汉科技大学医学院及长沙医学院相关教研室具有丰富教学经验的教师共同编写了这本《病原生物学与免疫学实验教程》。

本实验教程的目标旨在培养学生的科学态度、动手能力、综合分析问题、解决问题的能力及自主创新精神。在编写过程中始终贯穿实用性、综合性、创新性和先进性,并适度超前的设计编写原则。《病原生物学与免疫学实验教程》结合了我院及参编院校实验教学改革的实际情况,依据新的培养目标,将医学微生物实验、人体寄生虫学实验、医学免疫学实验的传统实验内容重新进行优化整合,并增加综合性实验和创新性实验内容。在总论部分,将形态学实验室常规仪器设备做系统全面介绍;在综合性和创新性实验部分,增加了科研的基础知识并提供部分科研参考选题、微生物学病案讨论、寄生虫病动物模型复制和流行情况调查等,内容丰富而又实用;对学科间有交叉重复的内容进行了适当的组合优选,避免教学资源的浪费;附有实验常用的试剂配方,能满足开展设计性实验和综合性实验的要求;另外,全书配有双色或彩色插图,便于学生的记忆与操作。通过实验教学,使学生不仅能掌握实验基本操作技术,并与各学科基础知识融会贯通,达到全面培养学生的自学能力、独立思考问题及解决问题的能力、实验设计与实验结果统计分析的能力,培养学生科学思维的方法与科研

论文撰写的能力以及培养学生团结协作、开拓创新的精神,为提高学生的综合学习素质及适应今后临床课程的学习打下坚实的基础。

本实验教材的编写和出版得到了各参编院校领导、同行以及科学出版社的大力支持,在此表示诚挚的谢意。各位编者在编写过程中也非常敬业,认真推敲,反复修改。由于我们学识水平和经验有限,教材中难免存在错误和不足之处,真诚希望使用本教材的老师 and 同学提出宝贵的意见和建议,以便在今后的修订中渐臻完善。

编者
2011年7月

目 录

第一篇 总 论

第一章 绪论	1
第一节 病原生物学与免疫学实验的目的和要求	1
第二节 实验室规则	1
第三节 实验室生物安全简介	2
第二章 病原生物学与免疫学常用仪器设备的使用	5
第一节 显微镜	5
第二节 离心机	10
第三节 培养箱	11
第四节 电热恒温干燥箱	13
第五节 高压蒸汽灭菌器	14
第六节 菌落计数器	16
第七节 超净工作台	16
第八节 生物安全柜	18
第九节 微量移液器	19
第十节 电泳设备	20
第十一节 分光光度计	22
第十二节 酶标仪	23
第十三节 流式细胞仪	25
第三章 实验动物及操作技术	27
第一节 实验常用动物	27
第二节 实验动物的抓取与固定	28
第三节 常用的动物接种方法	30
第四节 实验动物采血方法	32
第五节 实验动物的解剖	33
第二篇 医学免疫学实验	
第四章 医学免疫学基础性实验	37
第一节 凝集反应	37
实验一 直接凝集反应	37
实验二 间接凝集反应	41
实验三 间接凝集抑制试验	42
第二节 沉淀反应	44
实验一 单向琼脂扩散实验	44
实验二 双向免疫扩散实验	45
实验三 对流免疫电泳	47
实验四 免疫电泳	49

实验五 免疫比浊法	50
第三节 免疫标记技术	53
实验一 酶免疫技术	53
实验二 荧光免疫技术	58
实验三 免疫金标记技术	63
第四节 补体参与的免疫反应	66
实验一 补体溶血试验	66
实验二 血清总补体活性测定	68
实验三 补体依赖的细胞毒试验	69
第五节 免疫细胞的分离与纯化	71
实验一 自然沉降法分离外周血白细胞	71
实验二 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞	72
实验三 尼龙棉柱法富集外周血 T 淋巴细胞	74
实验四 小鼠腹腔巨噬细胞的制备	75
第五章 医学免疫学综合性实验	78
第一节 特异性抗体的制备	78
实验一 抗原与免疫血清的制备	78
实验二 免疫血清的鉴定及纯化	80
实验三 单克隆抗体的制备	83
第二节 免疫印迹	87
实验 免疫印迹技术	87
第三节 免疫细胞的检测	95
实验一 E 玫瑰花环试验	95
实验二 T 淋巴细胞亚群的检测	96
实验三 淋巴细胞增殖试验	99
实验四 溶血空斑试验	104
第四节 非特异性免疫功能的检测	107
实验一 NK 细胞活性的检测	107
实验二 巨噬细胞吞噬功能测定	108
实验三 中性粒细胞吞噬功能测定	109
实验四 硝基四氮唑蓝还原试验	110
第五节 细胞因子的检测	112
实验一 白细胞介素-2 的生物活性检测	112
实验二 肿瘤坏死因子的生物活性检测	113
第六节 超敏反应的检测	115
实验一 豚鼠过敏反应试验	115
实验二 皮肤速发型超敏反应	116
实验三 血清总 IgE 测定	117
实验四 循环免疫复合物的检测	119
实验五 迟发型超敏反应试验(皮肤试验)	120
第六章 医学免疫学创新性实验	122
第一节 创新性实验的选题、设计与实施	122

第二节 创新性实验参考选题	127
第三篇 医学微生物学实验	
第七章 医学微生物学基础性实验	129
第一节 细菌形态学检查	129
实验一 不染色标本检查	129
实验二 革兰染色和细菌基本形态观察	130
实验三 细菌特殊结构的观察	132
第二节 细菌的分布与消毒灭菌	133
实验一 细菌的分布	133
实验二 物理消毒灭菌法与化学消毒法	133
第三节 细菌分离培养技术	136
实验 细菌接种技术、培养方法和生长现象	136
第四节 细菌鉴定技术	139
实验一 常见生物化学鉴定	139
实验二 细菌血清学鉴定	143
实验三 细菌毒素检测	145
第五节 细菌的药物敏感性试验	146
实验一 液体、固体培养基连续稀释法	146
实验二 琼脂扩散法	147
第八章 医学微生物学综合性实验	150
第一节 医院感染的微生物检测	150
实验一 空气消毒效果的检测	150
实验二 血液透析液检测	151
实验三 压力蒸汽灭菌器灭菌效果的检测	151
第二节 人体正常菌群的检测	152
实验一 肠道正常菌群定性定量检测	153
实验二 口腔正常菌群检测	154
第三节 临床常见病毒的快速检测	155
实验一 肝炎病毒的检测	155
实验二 疱疹病毒检测	156
实验三 人类免疫缺陷病毒(HIV)抗体快速检测	157
第四节 真菌的检测	160
实验一 常见浅部真菌检测(真菌性甲癣标本镜检)	160
实验二 常见深部真菌检测	160
第五节 临床标本常见细菌的检查	161
实验一 尿液标本的细菌学检验	161
实验二 肠道标本的细菌学检验	163
实验三 呼吸道标本的细菌学检验	164
实验四 血液及骨髓标本的细菌学检验	166
第九章 医学微生物学创新性实验	167
第一节 细菌部分	167
第二节 其他微生物部分	168

第四篇 医学寄生虫学实验

第十章 医学寄生虫学基础性实验	170
第一节 医学原虫	170
实验一 叶足虫	170
实验二 鞭毛虫	174
实验三 孢子虫、纤毛虫	178
第二节 医学蠕虫	186
实验一 线虫	186
实验二 吸虫	199
实验三 绦虫	206
第三节 医学节肢动物	214
实验一 昆虫纲	214
实验二 蛛形纲	221
第十一章 医学寄生虫学综合性实验	225
第一节 实验动物感染寄生虫模型的建立	225
实验一 实验动物人工感染蛔虫实验	225
实验二 实验动物人工感染血吸虫实验	225
第二节 寄生虫感染的免疫学诊断	227
实验一 环卵沉淀试验检测血吸虫感染	227
实验二 酶联免疫吸附法检测弓形虫感染	228
第三节 寄生虫病案例分析	231
第十二章 医学寄生虫学创新性实验	239
第一节 寄生虫感染调查	239
流行病学调查的基本步骤	239
实验一 市售蔬菜的寄生虫卵污染状况调查	239
实验二 幼儿园儿童蠕形住肠线虫感染状况调查	240
实验三 大学生蠕型螨感染情况调查	241
实验四 食用猪肉寄生虫感染的调查	242
实验五 肝吸虫病流行病学调查	243
第二节 原虫培养	243
实验一 阴道毛滴虫的体外培养	243
实验二 阴道毛滴虫药物敏感性观察	244
附录一 免疫学常用试剂的配制	246
附录二 微生物学常用染色液及培养基的配制	257
附录三 寄生虫标本介绍	260
附录四 人体主要寄生虫卵图	263
参考文献	264

第一篇 总 论

第一章 绪 论

第一节 病原生物学与免疫学实验的目的和要求

一、病原生物学与免疫学实验的目的

1. 通过实验观察和技术操作,加强和巩固对课堂基本理论的理解和运用。
2. 学习和掌握病原生物学与免疫学的基本操作技术。
3. 培养学生从事科学实验的能力,即观察记录实验结果、整理分析实验资料、综合书写实验报告和论文的能力。
4. 培养学生严谨求实的科学作风,独立分析问题和解决问题的能力,互相帮助和团结协作的精神。

二、病原生物学与免疫学实验的要求

1. 课前做好充分预习,明确实验目的、原理、内容、操作步骤及注意事项,尽量避免或减少错误发生。
2. 在实验过程中,要坚持实验的严肃性、严格性及严谨性。对操作性实验应按照实验指导所列的步骤依次进行,仔细观察并认真记录实验结果或绘图;对示教的实验也要仔细观察,并联系有关理论进行积极思考;设计性实验要严格按照科研程序完成;实验中注意科学合理地分配和运用时间;几人同做一项实验时,要注意分工协作,密切配合。
3. 实验结果必须如实记录,认真分析得出结论。遇有与理论不符的结果时,应分析探讨其原因,培养科学思维能力。实验课后,须按时、按要求递交实验报告。
4. 严格遵守实验室规则,防止各种事故发生。

第二节 实验室规则

在病原生物学和免疫学实验过程中,经常要接触到病原微生物和寄生虫等具有传染性的材料,为保证实验效果,同时避免病原微生物和寄生虫的实验室污染,保证实验操作者的安全,必须遵守以下规则。

1. 进入实验室上课时必须穿好白大衣,必要时戴帽子和口罩,离开实验室时脱下反折。白大衣应经常清洗消毒,保持洁净。
2. 必要的实验指导、实验报告及文具(如铅笔、彩色铅笔和小尺)等物品带入后,应放在

实验台下的抽屉里,其他个人物品如书包、衣物等一律不得带入实验室。

3. 实验室内严禁饮食、吸烟、用嘴湿润铅笔或标签等,不要用手触摸头面部及身体暴露部位,以防感染。

4. 实验室内应保持安静,不得高声谈笑或随意走动,以免影响他人。

5. 注意安全、保护环境:

(1) 每项微生物实验都要坚持无菌操作,严禁随意丢弃具有感染性的病原体、感染性材料、培养物、污染物、动物尸体及排泄物,以免污染环境。

(2) 使用过的吸管、滴管、试管、玻片等带菌器材,应放在指定地点或含有消毒液的容器内,不得放在桌面上,亦不可冲洗于水槽内,以免堵塞排水管。

(3) 酒精灯不可互相点燃,以免发生意外。

(4) 未经许可,不得将实验室内任何物品(尤其是菌种等)带出实验室。

6. 实验过程中若不慎将传染性标本污染桌面、手及其他物品时,应立即报告老师紧急处理,切勿隐瞒或自行处理。常见处理如下:

(1) 皮肤伤害:先除去异物,用无菌生理盐水洗净后,涂 2% 红汞或 2% 碘酒。

(2) 烧伤:局部涂凡士林,5% 鞣酸溶液或 2% 苦味酸溶液。

(3) 化学药品腐蚀伤:若为强酸,先用大量清水冲洗,再用 5% 碳酸氢钠溶液洗涤中和;若为强碱,先用大量清水冲洗,再用 5% 醋酸溶液或 5% 硼酸溶液洗涤中和。若受伤部位是眼部,经过上述步骤处理后,再用橄榄油或液状石蜡 1~2 滴滴眼。

(4) 菌液误入口中:立即将菌液吐入消毒容器中,并用 1:10000 高锰酸钾溶液或 3% H_2O_2 溶液漱口,并根据菌种不同,服用抗菌药物预防感染。

(5) 细菌污染衣物:立即脱下,放入 3% 甲酚皂溶液(来苏水)或 3% 氯胺溶液内浸泡 30min,或仔细包好经高压蒸汽消毒后清洗。

(6) 菌液污染桌面:将适量的 2%~3% 甲酚皂溶液或 0.1% 醋酸氯己定溶液倒入污染处,浸泡 30min 抹去。若手上沾有活菌,亦应浸泡上述消毒液 3min 后,用肥皂和清水洗净。

7. 看示教时,未经许可,不得移动显微镜推进尺。

8. 爱护实验器材和设备,节约实验材料,如不慎损坏实验仪器或实验标本,应及时报告指导老师,并进行登记,酌情处理。

9. 实验完毕应清理台面,检查各种实验标本和实验器材,并按原位放好或送还标本室,需培养的标本按要求放入培养箱。离开实验室前,应用肥皂洗手,必要时用消毒液泡手再用清水洗净。

10. 值日生负责清洁整理实验室(包括桌面、地面、实验设备等),并关好门、窗、水、电后方可离开。

第三节 实验室生物安全简介

一、实验室生物安全的重要性

生物安全(biosafety)的概念有狭义和广义之分。狭义的生物安全是指现代生物技术的研究、开发、应用及转基因生物可能对生物多样性、生态环境和人类健康产生潜在的危害。广义的生物安全是指与生物有关的各种因素对社会、经济、人类健康及生态环境所产生的危害或潜在风险。

实验室生物安全(laboratory biosafety)是指保证实验室的生物安全条件和状态不低于

容许水平,避免实验室人员、来访人员、社区及环境受到不可接受的损害,符合相关法规、标准等对实验室保证生物安全责任的要求。

二、病原微生物的分类

《病原微生物实验室生物安全管理条例》(中华人民共和国国务院令 第 424 号,2004 年 11 月 12 日)根据病原微生物的传染性、感染后对个体或者群体的危害程度,将病原微生物分为四类:

第一类病原微生物,能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物,以及我国尚未发现或者已经宣布消灭的微生物。如天花病毒、埃博拉病毒和马尔堡病毒等。

第二类病原微生物,能够引起人类或者动物严重疾病,比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物。如艾滋病病毒(I型和II型)、SARS 冠状病毒、高致病性禽流感病毒、炭疽芽孢杆菌、结核分枝杆菌、霍乱弧菌、鼠疫耶尔森菌等。

第三类病原微生物,能够引起人类或者动物疾病,但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害,传播风险有限,实验室感染后很少引起严重疾病,并且具备有效治疗和预防措施的微生物。如登革病毒、各型肝炎病毒、流行性感冒病毒、破伤风杆菌、脑膜炎奈瑟菌、伤寒沙门菌、志贺菌属等。

第四类病原微生物,在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物,如小鼠白血病病毒等。

其中第一类、第二类病原微生物统称为高致病性病原微生物。医学微生物学教学实验中使用的微生物主要为第三类和第四类病原微生物。

三、生物安全实验室的分级

生物安全实验室(biosafety laboratory,BSL),简称 BSL 实验室,在结构上由两部分硬件组成,即一级防护屏障(安全设备)和二级防护屏障(设施)。根据实验室对病原微生物的生物安全防护水平,依照实验室生物安全国家标准的规定,将实验室分为一级、二级、三级、四级(表 1-1)。

BSL-1 和 BSL-2 为基础实验室,BSL-3 为生物安全防护实验室,BSL-4 为最高生物防护实验室。BSL-1 和 BSL-2 实验室不得从事高致病性病原生物实验活动,BSL-3 和 BSL-4 实验室从事高致病性病原微生物实验活动。对我国尚未发现或者已经宣布消灭的病原微生物,任何单位和个人未经批准不得从事相关实验活动。医学微生物学教学实验通常要求在 BSL-1 和 BSL-2 实验室开展。

表 1-1 生物安全实验室的分级

级别	处理对象
一级	对人体、动植物或环境危害较低,不具有对健康成人、动植物致病的致病因子。
二级	对人体、动植物或环境具有中等危害或具有潜在危险的致病因子,对健康成人、动植物和环境不会造成严重危害,具有有效的预防和治疗措施。
三级	对人体、动植物或环境具有高度危险性,主要通过气溶胶使人体传染上严重的甚至是致命的疾病,或对动植物和环境具有高度危害的致病因子。通常有预防治疗措施。
四级	对人体、动植物或环境具有高度危险性,通过气溶胶途径传播,或传播途径不明,或未知的危险的致病因子。没有预防治疗措施。

四、病原微生物实验室生物安全

病原微生物实验室生物安全是避免危险生物因子造成实验室人员暴露,向实验室外扩散并导致危害的综合措施,以防止实验人员感染和危险因子外泄而污染环境。

病原微生物实验室生物安全的核心是防感染和防扩散。实验室感染控制工作包括定期检查实验室的生物安全防护、病原微生物菌(毒)种样本保存与使用、安全操作、实验室排放的废水和废气以及其他废弃物处理等实验情况。

实验室发生高致病性微生物泄露时,实验室工作人员应当立即采取措施,防止扩散,具体包括:①封闭被病原微生物污染的实验室或者可能造成病原微生物扩散的场所;②开展流行病学调查;③对患者进行隔离治疗,对相关人员进行医学检查;④对密切接触者进行医学观察;⑤进行现场消毒;⑥对染疫或者疑似染疫的动物采取隔离、捕杀等措施;⑦其他需要采取的预防、控制措施。

(周小鸥)

第二章 病原生物学与免疫学常用仪器设备的使用

第一节 显微镜

显微镜是一种光学放大仪器,在病原生物学与免疫学的实验检查中,如细菌、病毒、蠕虫卵、原虫、免疫细胞、抗原和抗体等,根据实验要求的不同,需要选择功能不同的显微镜才能观察到,如普通光学显微镜、暗视野显微镜、倒置显微镜、荧光显微镜及电子显微镜等,最常用的是普通光学显微镜。掌握显微镜的使用和维护是病原生物学与免疫学实验研究的一项基本技能。

一、普通光学显微镜

普通光学显微镜(light microscope)通常用日光或灯光作为光源,其波长约 $0.5\mu\text{m}$ 。在最佳条件下,显微镜的最大分辨率为波长的一半,即 $0.25\mu\text{m}$,而肉眼能看到的最小物体为 0.2mm ,故用油浸镜放大1000倍,能将 $0.25\mu\text{m}$ 的微粒放大到 0.25mm ,肉眼可以看清。一般病原生物都大于 $0.25\mu\text{m}$,用普通光学显微镜能看到。

(一) 普通光学显微镜的构造

普通光学显微镜按镜筒可分为单筒、双筒和多头显微镜,按光源可分为反光镜光源与自带光源显微镜等几种,其基本结构相似,可分为机械装置和光学系统两大部分(图2-1)。

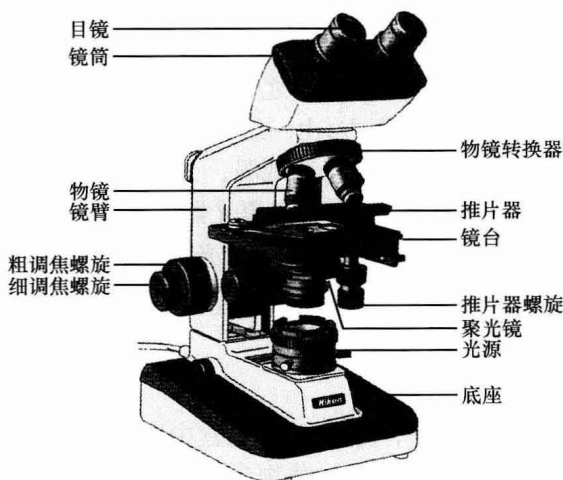


图 2-1 普通光学显微镜的基本结构

1. 机械装置

(1) 镜座:位于最底部,是显微镜的基座,用于稳定和支持镜体。有的显微镜在镜座内装有光源。

(2) 镜柱:连接镜座和镜臂的短柱。

(3) 镜臂:位于镜柱上方,是支持镜筒和载物台的弯曲状结构,是取用显微镜时的握持部位。直立式显微镜在镜臂和镜柱之间有一可动关节称为倾斜关节,使用时可适当倾斜,但倾斜角度不超过 45° ,以免显微镜翻倒。

(4) 镜筒:位于镜臂上方的中空圆筒,上端安装目镜,下端连接物镜转换器。

(5) 物镜转换器(旋转盘):位于镜筒下端的圆盘,分两层,上层固着不动,下层可自由转动。下面有3~4个圆孔,可装载不同放大倍数的物镜。

(6) 载物台:用以放置玻片标本的平台,位于镜臂前方。台中央有一圆形通光孔,来自下方的光线经此孔照射到标本上。台上有标本推进器(推进尺),用以固定标本,也可使标本前后左右移动。

(7) 调焦器:也称调焦螺旋,是用于调节物镜与被检物体之间的焦距,一般设有粗调螺旋和细调螺旋。粗调螺旋可使载物台以较快速度升降,适于低倍镜对焦;细调螺旋可使载物台以缓慢速度升降,适于高倍镜、油镜的对焦或低倍镜调整清晰度时使用。

2. 光学系统

(1) 目镜:短筒状,安装在镜筒上方,一般由两个透镜组成。上面刻有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等符号,表示其放大倍数。镜筒中常装有一根用毛发制成的指针,用以指示标本中的具体部位。

(2) 物镜:安装在物镜转换器的下方,每个物镜由数片凸透镜组合而成。按放大倍数的不同可分为:低倍镜、高倍镜和油镜。低倍镜的放大倍数为10倍,其上刻有 $10/0.25$ 等字样,其中10表示放大倍数,0.25表示镜口率(NA),低倍镜观察的视野较宽。高倍镜的放大倍数为40,其上刻有 $40/0.65$ 和 $160/0.17$ 等字样,其中160表示镜筒长度,0.17表示盖玻片厚度为0.17mm,高倍镜观察物体的范围较窄。油镜是放大倍数为100的物镜,使用时必须在玻片上滴加香柏油,以减少光的折射。显微镜的总放大倍数等于目镜和物镜放大倍数的乘积。

(3) 反光镜:不带光源的显微镜才安装有反光镜,位于聚光器的下方,可向各个方向转动,有平、凹两面,光线较强时使用平面镜,反之使用凹面镜。

(4) 聚光器:位于载物台通光孔下方,由一组透镜组成。可使光线聚集成束。其侧面有升降螺旋,上升时可使光线增强,下降时光线减弱。

(5) 光圈:也称彩虹光圈或孔径光阑,位于聚光器下方,由一组金属薄片组成,其外侧有一小柄,转动小柄可使光圈扩大或缩小,以调节进光量。有的显微镜在光圈下方装有滤光片环,可放置不同颜色的滤光片。

(二) 普通光学显微镜的使用方法

1. 低倍镜的使用方法

(1) 准备:右手紧握镜臂、左手平托镜座,从镜盒中取出显微镜,轻放于座位左前方的实验台上,以离实验台边缘3~6cm处为宜。载物台向前,让目镜朝向观察者。

(2) 调光:先转动粗调螺旋,将载物台略下降(或镜筒略升高),使物镜与载物台距离稍拉开。再旋转物镜转换器,使低倍镜头对准载物台上的通光孔,当镜头完全到位时,可听到轻微的“咔哒”声。然后打开光圈、上升聚光器,同时调节反光镜的角度,直到视野内的光线明亮均匀为止。

(3) 放片:将要观察的标本片放在载物台上的卡槽内,有盖玻片的一面朝上,然后用标

本推进器调节,使观察的标本位于通光孔的正中央。

(4) 调焦和观察:从侧面注视低倍镜,同时用粗调螺旋使载物台缓慢上升(或镜筒下降),直到低倍镜头距玻片标本为 5mm 时,然后从目镜里观察视野,同时慢慢转动粗调螺旋,使载物台缓缓下降(或镜筒缓缓上升),直到基本看清标本物像,再轻轻转动细调螺旋,以得到清晰的物像。

2. 高倍镜的使用

(1) 依照上述操作步骤,先用低倍镜找到物像。

(2) 将要观察的部位移到视野中央,同时转动细调螺旋,使被观察的物像清晰。

(3) 眼睛从侧面注视物镜,转动物镜转换器,使高倍镜头对准通光孔。

(4) 眼睛从目镜内观察,适当调节亮度,同时微微调节细调螺旋,直到视野内的物像清晰。注意使用高倍镜时,不要随意转动粗调螺旋,以免载物台上升(或镜筒下降)幅度过大而损坏标本片或镜头。

有时,在低倍镜准焦情况下,直接换高倍镜时会发生高倍镜头与标本片碰撞;有时标本片转不过来,此时应将载物台下降或使镜筒升高,直接用高倍镜对焦。方法是从侧面注视物镜,调节粗调螺旋,使高倍镜头下降至与标本片最短距离,再观察目镜视野,慢慢调节细调螺旋,使镜头缓缓上升,直到物像清晰为止。

3. 油镜的使用 在观察细菌、原虫等体积微小的病原生物时,必须使用油镜头放大 1000 倍左右才能看到。但因油镜头孔径较小,进入的光线不足,加之光线穿过载玻片,进入油镜头前空气的折射作用,使光分散不能全部进入油镜头内,造成视野很暗,物像不清。如在载玻片上加上折光率与玻璃($n=1.52$)相近的香柏油($n=1.515$)后,就将玻片与油镜头连接起来,光线不折射全部进入油镜头内,便可获得足够的亮度和清晰的物像(图 2-2)。

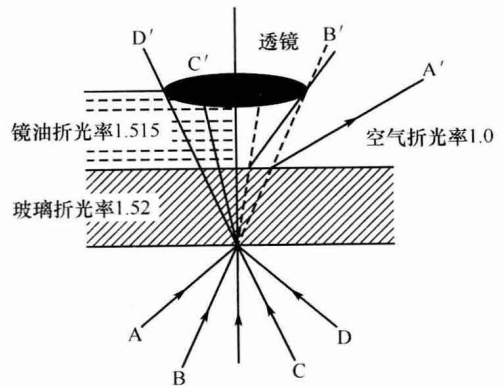


图 2-2 油镜原理示意图

(1) 使用油镜时,应保持载物台水平,勿将镜臂弯曲倾斜,以免香柏油或菌液流淌外溢,影响观察并造成污染。

(2) 用低倍镜或高倍镜找到所要观察的标本物像,并将需进一步放大观察的部位移至视野的正中央。

(3) 调光:将聚光器升至最高,光圈完全打开,同时将反光镜调节到凹面并使光对准聚光器。

(4) 滴油:转动物镜转换器,移开低倍镜或高倍镜,在欲观察标本的部位滴上一小滴香柏油,转换油镜。眼睛从侧面注视油镜头,轻轻转动粗调螺旋,使载物台缓慢上升(或镜筒缓缓下降),油镜头接触油滴后再稍稍使之浸入油滴中,达到几乎与标本片接触,注意勿用力过度,否则有压碎标本片和损坏油镜头的危险!

(5) 调焦和观察:从目镜观察,慢慢转动粗调螺旋,使载物台缓慢下降(或镜筒缓缓上升),待看到模糊物像时转动细调螺旋,直至视野中物像清晰。观察标本时,两眼宜同时睁开,以减少眼睛疲劳,也便于边观察边绘图。调换镜下视野要遵循先由左向右,再由右向左;先由上至下,再由下至上,按顺序观察原则,避免疏漏。