

21

世纪高等医药院校教材

供临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、
药学、检验、护理、法医等专业使用

人体寄生虫学实验指导

段义农 陈晓宁 主编



科学出版社

www.sciencep.com



中华人民共和国教育部

教育部 2008 年 12 月 16 日颁布
教育部 2009 年 1 月 9 日施行

人体寄生虫学实验指导

王树强 王树中 主编



科学出版社
Science Press

21 世纪高等医药院校教材

供临床、预防、基础、口腔、麻醉、影像、药学、检验、护理、法医等专业使用

人体寄生虫学实验指导

主 编 段义农 陈晓宁
副主编 马济宏 杜婁英
编 者 (以姓氏笔画为序)
马济宏 杜婁英 邴玉艳 陈金铃
陈晓宁 周 全 赵 蕾 段义农
秦永伟 黄为群

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书为高等医药院校教材,是人体寄生虫学教学的配套用书。全书分为两部分。第一部分是实验指导,由10章组成,包括实验总则、医学蠕虫实验、医学原虫实验、医学节肢动物实验,以及寄生虫标本的采集、保存与鉴定等内容。第二部分是考试题解,由10章组成,题型包括选择题(A型题、X型题)、是非题、填空题、名词解释和问答题,供学生检查理论学习效果,复习迎考。

本教材适合于高等医药院校5年制和长学制教学使用,也可作为临床检验人员、卫生防疫人员、教学人员及科研人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

人体寄生虫学实验指导 / 段义农, 陈晓宁主编. —北京: 科学出版社, 2008

21世纪高等医药院校教材

ISBN 978-7-03-022182-7

I. 人… II. ①段…②陈… III. 医学: 寄生虫学-实验-医学院校-教学参考资料 IV. R38-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第078195号

策划编辑: 胡治国 / 责任编辑: 胡治国 / 责任校对: 陈玉凤

责任印制: 刘士平 / 封面设计: 黄超

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>

陈海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008年6月第一版 开本: 787×1092 1/16

2008年6月第一次印刷 印张: 13 1/4 插页: 1

印数: 1—5 000 字数: 356 000

定价: 28.00元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈明辉〉)

前 言

人体寄生虫学是高等医药院校必修的基础课程之一,寄生虫学实验不仅是寄生虫学的重要组成部分,而且是一个必要的实践教学环节。它有助于学生掌握基本理论、基本知识和基本技能。为了适应医学教育新的发展形势,提高教学质量,满足实验教学需要,根据高等医药院校5年制和长学制学生培养计划和教学大纲的要求,南通大学医学院和承德医学院合作编写了《人体寄生虫学实验指导》,作为目前教学使用的《人体寄生虫学》、《医学寄生虫学》等的配套教材。

全书分为两个部分,第一部分是实验指导,包括实验总则、常见寄生虫的实验及寄生虫标本的采集、保存与鉴定等。实验项目以虫种为基本线索进行编写,方便不同院校在教学过程中根据教学安排和教学顺序,进行实验内容的取舍与重新组合。书中虫种编排顺序基本按照形态教学的一般规律和多数院校的安排,先易后难,即按照线虫、吸虫、绦虫、原虫和节肢动物的顺序。每个虫种分为内容提要、目的要求、自学标本、示教标本、实验操作、实验报告和思考题等标题。凡在自学标本中出现的内容,示教标本中不再重复叙述。书中编入许多寄生虫的显微结构模式插图,使学生在实验中对照插图能正确地认识标本的形态结构。第二部分是人体寄生虫学考试题解,旨在帮助学生巩固所学的理论知识,检查学习效果,复习迎考。试题类型包括选择题(A型题、X型题)、是非题、填空题、名词解释和问答题。试题注重基本理论、基本知识和基本技能方面的考核,同时注意将基础知识与临床实际相结合。试题按虫种编入各章节,方便学生使用。参考答案力求准确、简明扼要。书的附录中收集了部分寄生虫学网址,可供学生拓展课堂教学内容,丰富寄生虫学知识,了解最新研究动态,提高学习的兴趣。

本书适合于高等医药院校临床医学、预防医学、医学检验、口腔医学、全科医学、影像医学、护理学等专业5年制和长学制的学生使用,也可作为临床检验人员、卫生防疫人员、教学人员及科研人员的参考书。本书在编写过程中参考了国内有关教材、专著的内容,在此对这些书的作者表示诚挚的感谢。同时在编写出版过程中得到了南通大学教务处领导的关心和支持,在此一并表示衷心的感谢。由于知识水平所限,本书的错误和不足之处在所难免,敬请同道批评指正。

编 者

2008年5月

目 录

第一部分 实验指导	(1)	第1节 杜氏利什曼原虫	(51)
第一章 实验总则	(1)	第2节 蓝氏贾第鞭毛虫	(53)
第1节 实验守则	(1)	第3节 阴道毛滴虫	(55)
第2节 光学显微镜的使用	(1)	第七章 孢子虫	(57)	
第3节 显微测微尺的使用	(7)	第1节 疟原虫	(57)	
第4节 体视显微镜的使用	(8)	第2节 刚地弓形虫	(62)	
第5节 寄生虫学实验方法	(9)	第3节 隐孢子虫	(63)	
第6节 实验报告	(10)	第4节 肺孢子虫	(63)	
第二章 线虫	(11)	第八章 昆虫	(65)	
第1节 似蚓蛔线虫	(11)	第1节 蚊	(65)	
第2节 毛首鞭形线虫	(14)	第2节 蝇	(68)	
第3节 蠕形住肠线虫	(15)	第3节 白蛉	(71)	
第4节 十二指肠钩口线虫与美洲 板口线虫	(16)	第4节 蚤	(72)	
第5节 旋毛形线虫	(20)	第5节 虱	(74)	
第6节 班氏吴策线虫与马来布鲁 线虫	(21)	第6节 臭虫	(75)	
第三章 吸虫	(25)	第7节 蜚蠊	(75)	
第1节 华支睾吸虫	(25)	第九章 蜚、螨	(78)	
第2节 布氏姜片吸虫	(27)	第1节 蜚	(78)	
第3节 卫氏并殖吸虫	(29)	第2节 螨	(80)	
第4节 斯氏狸殖吸虫	(31)	第十章 寄生虫的采集、保存与鉴定	(83)	
第5节 日本裂体吸虫	(31)	第1节 寄生虫的采集与保存	(83)	
第四章 绦虫	(39)	第2节 寄生虫的鉴定	(86)	
第1节 链状带绦虫与肥胖带 绦虫	(39)	第二部分 考试题解	(90)	
第2节 微小膜壳绦虫	(42)	第一章 总论	(90)	
第3节 细粒棘球绦虫	(43)	第二章 线虫	(101)	
第4节 多房棘球绦虫	(44)	第1节 似蚓蛔线虫	(101)	
第5节 曼氏迭宫绦虫	(45)	第2节 毛首鞭形线虫	(104)	
第五章 叶足虫	(47)	第3节 蠕形住肠线虫	(105)	
第1节 溶组织内阿米巴	(47)	第4节 钩虫	(108)	
第2节 其他消化道阿米巴	(49)	第5节 旋毛形线虫	(113)	
第六章 鞭毛虫	(51)	第6节 班氏吴策线虫与马来布鲁 线虫	(115)	
		第三章 吸虫	(120)	

第1节 华支睾吸虫	(120)	第1节 疟原虫	(160)
第2节 布氏姜片吸虫	(123)	第2节 刚地弓形虫	(169)
第3节 并殖吸虫	(125)	第3节 隐孢子虫	(174)
第4节 日本裂体吸虫	(128)	第4节 肺孢子虫	(176)
第四章 绦虫	(134)	第八章 昆虫	(178)
第1节 带绦虫	(134)	第1节 蚊	(178)
第2节 微小膜壳绦虫	(137)	第2节 蝇	(180)
第3节 细粒棘球绦虫	(138)	第3节 白蛉	(182)
第4节 曼氏迭宫绦虫	(140)	第4节 蚤	(183)
第五章 叶足虫	(142)	第5节 虱	(184)
第1节 溶组织内阿米巴	(142)	第6节 臭虫	(186)
第2节 其他阿米巴	(148)	第7节 蜚蠊	(187)
第六章 鞭毛虫	(151)	第九章 蜱、螨	(189)
第1节 杜氏利什曼原虫	(151)	第1节 蜱	(189)
第2节 蓝氏贾第鞭毛虫	(155)	第2节 螨	(193)
第3节 阴道毛滴虫	(157)	第十章 综合题	(196)
第七章 孢子虫	(160)		
主要参考资料	(203)		
附录	(204)		
彩图			

第一部分 实验指导

第一章 实验总则

人体寄生虫学实验教学是人体寄生虫学教学的重要环节。学生通过实验学习可以验证、巩固和加深理解本学科的基本理论知识;掌握常见寄生虫的形态结构和实验观察方法;掌握和熟悉寄生虫学实验的基本操作技能;培养学生实事求是的科学态度和分析问题、解决问题的能力,为从事寄生虫病的诊断、防治和研究工作奠定基础。

第1节 实验守则

- (1) 实验课前应认真预习实验指导,明确本次实验的要求和实验内容,做到心中有数。
- (2) 上实验课时应带实验指导、实验报告纸及绘图文具。穿着工作服,按规定座位入坐。不得迟到、早退或无故缺席。
- (3) 实验前要认真检查本次实验所用实验仪器、器材、实验标本等是否完好、齐全,如有缺损,应及时报告老师处理。
- (4) 实验时按照实验指导规程进行实验。仔细观察实验标本,记录观察内容。观察显微镜下示教标本时,不得擅自移动标本,以免所示标本移位,影响其他学生观察。标本如不清晰,可适当调节光源或焦距细调节器,必要时请老师解决。
- (5) 实验中遵守纪律,保持实验室整洁、安静。严禁大声喧哗、谈笑或随意走动。不做与本次实验无关的事情。实验中出现事故或意外情况,应及时报告老师处理。实验室内禁止进食、禁止吸烟。
- (6) 实验结束时应认真清点整理实验仪器、器材和实验标本,放回或送还原处,如有缺损应立即向带教老师报告。实验的污物必须放在指定地点,严禁随意丢弃具有感染性的病原体、实验动物尸体及排泄物等,以免污染环境。
- (7) 实验报告应在规定的时间内完成。
- (8) 实验课后值日学生应做好实验室清洁卫生工作。关好门、窗、水、电后方可离开。

第2节 光学显微镜的使用

寄生虫学实验中最常用的仪器是光学显微镜,学生应该了解显微镜的基本构造,熟练掌握显微镜的使用方法,尤其是油浸镜的使用方法。现将显微镜的基本构造、光学原理、使用方法及注意事项介绍如下:

(一) 基本构造与原理

普通光学显微镜的构造可分为机械装置和光学系统两大部分(图 1-1-1)。

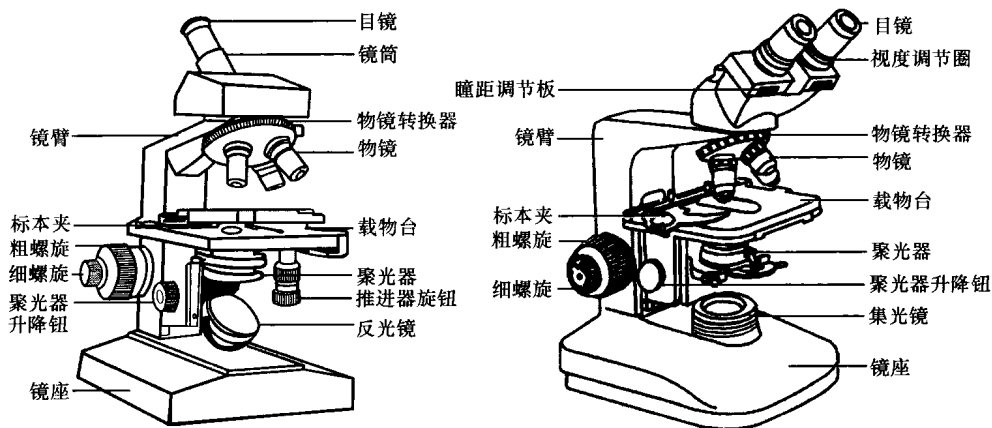


图 1-1-1 光学显微镜的构造

1. 机械装置 显微镜的机械装置包括镜座、镜筒、物镜转换器、载物台、推进器、粗调节器、细调节器等部件。

(1) 镜座(base):是显微镜的底座,用以支持整个镜体。

(2) 镜臂(arm):一端连于镜座,一端连于镜筒。镜臂有固定式和活动式两种,活动式的镜臂可改变角度。

(3) 镜筒(body tube):连在镜臂的前上方,镜筒上端装有目镜,下端装有物镜转换器。镜筒有单筒和双筒两种,单筒又可分为直立式和后倾式两种。而双筒则都是倾斜式的,倾斜式镜筒倾斜 45° 。双筒中的一个目镜有屈光度调节装置,以备在两眼视力不同的情况下调节使用。

(4) 物镜转换器(旋转器)(nosepiece):接于棱镜壳的下方,可自由转动,盘上有3~4个圆孔,是安装物镜部位,转动转换器,可以调换不同倍数的物镜,当听到碰叩声时,表示物镜光轴恰好对准通光孔中心,光路接通,此时方可进行观察。

(5) 载物台(镜台)(specimen stage):在镜筒下方,形状有方、圆两种,用以放置玻片标本,中央有一通光孔,我们所用的显微镜其镜台上装有玻片标本推进器(推片器),推进器一侧有弹簧夹,用以夹持玻片标本,镜台下有推进器调节旋扭,可使玻片标本作左右、前后方向的移动。在纵横架杆上刻有刻度的游标卡尺,构成很精密的平面坐标系。如果我们须重复观察已检查标本的某一部分,在第一次检查时,可记下纵横标尺的数值,以后按数值移动推动器,就可以找到原来标本的位置。

(6) 调节器(adjustment):是装在镜背上的大小两种螺旋,可调节物镜和标本间距离。有粗调节器(coarse adjustment,又称粗螺旋)和细调节器(fine adjustment,又称细螺旋),利用它们使镜筒或镜台上下移动,当物体在物镜和目镜焦点上时,则得到清晰的图像。粗螺旋移动时可使镜台做快速和较大幅度的升降。细螺旋移动时可使镜台缓慢地升降。用粗螺旋调节的焦距幅度较大,要得到最清晰的物像,需要用细螺旋做进一步微调。老式显微镜粗螺旋向前扭,镜头下降接近标本。新近出产的显微镜(如Nikon显微镜)粗螺旋和细螺旋是共轴的。镜检时右手向前扭,载物台上升,让标本接近物镜,反之则下降,标本远离物镜。

2. 光学系统 光学系统一般包括目镜、物镜、聚光器、光源等。

(1) 目镜(eyepieces, ocular lens):装于镜筒上端,由两块透镜组成。上端的一块透镜称“接目镜”,下端的透镜称“场镜”。上下透镜之间或在两个透镜的下方,装有由金属制的环状光阑或叫“视场光阑”,物镜放大后的中间像就落在视场光阑平面处,所以其上可安置目镜测微尺。目镜把物镜造成的像再次放大,不增加分辨率,上面一般标有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等放大倍数,可根据需要选用。一般可按目镜与物镜放大倍数的乘积等于物镜数值孔径的 $500\sim 700$ 倍为宜,最大也不能超过 1000 倍。目镜的放大倍数过大,反而影响观察效果。

(2) 物镜(objective):物镜安装在镜筒下端的转换器上,因接近被观察的物体,故又称接物镜。其作用是将物体作第一次放大,是决定成像质量和分辨能力的重要部件。

物镜上通常标有数值孔径(也称镜口率)、放大倍数、镜筒长度、焦距等主要参数。镜口率反映该镜头分辨力的大小,其数字越大,表示分辨率越高。工作距离是指显微镜处于工作状态(物像调节清楚)时物镜前透镜的表面与盖玻片(盖玻片的厚度一般为 0.17mm)上表面之间的距离。物镜的放大倍数愈大,它的工作距离愈小(表 1-1-1)。如: $\text{NA } 0.25; 10\times; 160/0.17; 16\text{mm}$ 。其中“ $\text{NA } 0.25$ ”表示数值孔径(numerical aperture,简称为 NA),“ $10\times$ ”表示放大倍数,“ $160/0.17$ ”分别表示镜筒长度和所需盖玻片厚度(mm), 16mm 表示焦距。

表 1-1-1 光学显微镜物镜参数

物镜放大倍数	镜口率(N. A.)	工作距离(mm)
$10\times$	0.25	5.40
$40\times$	0.65	0.39
$100\times$	1.30	0.11

根据物镜前透镜与被检物体之间的介质不同,物镜可分为:①干燥系物镜:以空气为介质,如常用的 $40\times$ 以下的物镜,数值孔径均小于 1 。②油浸系物镜:常以香柏油为介质,此物镜又叫油镜头,其放大率为 $90\times\sim 100\times$,数值孔径大于 1 。

根据放大倍数的不同,物镜可分为低倍物镜(10 倍以下)、中倍物镜(20 倍左右)、高倍物镜($40\sim 65$ 倍)。显微镜的放大倍数是物镜的放大倍数与目镜的放大倍数的乘积,如物镜为 $10\times$,目镜为 $10\times$,其放大倍数就为 $10\times 10=100$ 。

(3) 聚光器(condenser):又称集光器,位于镜台下方的聚光器架上,由聚光镜和光圈组成,其作用是把光线集中到所要观察的标本上。①聚光镜(focusing lens):由一片或数片透镜组成,起汇聚光线的作用,加强对标本的照明,并使光线射入物镜内,镜柱旁有一调节螺旋,转动它可升降聚光器,以调节视野中光亮度的强弱。②光圈(iris diaphragm):又称虹彩光圈,在聚光镜下方,由十几张金属薄片组成,其外侧伸出一柄,推动它可调节其开孔的大小,以调节光量。

(4) 光源(light source):较新式的显微镜其光源通常是安装在显微镜的镜座内,通过按钮开关来控制;老式的显微镜大多是采用附着在镜臂上的反光镜,反光镜是一个两面镜子,一面是平面,另一面是凹面。在使用低倍和高倍镜观察时,用平面反光镜;使用油镜或光线弱时可用凹面反光镜。

(5) 滤光片(filter):可见光是各种颜色的光组成的,不同颜色的光线波长不同。如只需某一波长的光线时,就要用滤光片。选用适当的滤光片,可以提高分辨力,增加影像的反差和清晰度。滤光片有紫、青、蓝、绿、黄、橙、红等各种颜色,分别透过不同波长的可见光,可根据标本本身的颜色,在聚光器下加相应的滤光片。

3. 基本原理 显微镜的放大效能(分辨率)是由所用光波长和物镜数值孔径决定,缩短使用的光波波长或增加数值孔径可以提高分辨率,可见光的光波幅度比较窄,利用减小光波长来提高光学显微镜分辨率是有限的,提高数值孔径是提高分辨率的理想措施。要增加数值孔径,可以提高介质折射率。

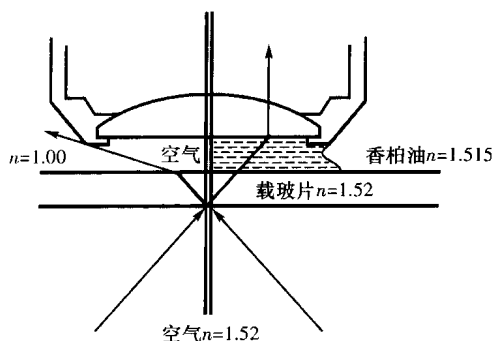


图 1-1-2 光线折射原理

油镜与其他物镜的不同是载玻片与物镜之间不是隔一层空气,而是隔一层油质,称为油浸系。这种油常选用香柏油,因香柏油的折射率 $n = 1.515$,与玻璃相近。当光线通过载玻片后,可直接通过香柏油进入物镜而不发生折射。如果玻片与物镜之间的介质为空气,则称为干燥系,当光线通过玻片后,受到折射发生散射现象,进入物镜的光线显然减少,这样就降低了视野的照明度(图 1-1-2)。

利用油镜不但能增加照明度,更主要的是能增加数值孔径,因为显微镜的放大效能是由其数值孔径决定的。所谓数值孔径,即光线投射到物镜上的

最大角度(称为镜口角)的一半正弦,乘上玻片与物镜间介质的折射率所得的乘积,可用下列公式表示:

$$NA = n \times \sin\alpha$$

式中 NA = 数值孔径; n = 介质折射率; α = 最大入射角的半数,即镜口角的半数。

因此,光线投射到物镜的角度愈大,显微镜的效能就愈大,该角度的大小决定于物镜的直径和焦距。

显微镜的分辨力是指显微镜能够辨别两点之间最小距离的能力。它与物镜的数值孔径成正比,与光波长度成反比。因此,物镜的数值孔径愈大,光波波长越短,则显微镜的分辨力愈大,被检物体的细微结构也愈能明晰地区别出来。因此,一个高的分辨力意味着一个小的可分辨距离,这两个因素成反比关系。显微镜的分辨力是用可分辨的最小距离来表示的。

$$\text{能辨别两点间最小距离} = \frac{\lambda}{2NA}$$

式中 λ = 光波波长, NA = 数值孔径。

我们肉眼所能感受的光波平均长度为 $0.55\mu\text{m}$,假如采用放大率为 40 倍的高倍物镜($NA = 0.65$)和放大率为 25 倍的目镜,总放大率为 1000 倍,它能辨别两点之间的距离为 $0.42\mu\text{m}$ 。而用 100 倍的油镜($NA = 1.25$)和放大率为 10 倍的目镜,总放大率也是 1000 倍,却能分辨出 $0.22\mu\text{m}$ 间的距离。因此,增加目镜的放大率,不能提高分辨率。

(二) 使用方法

1. 观察前的准备

(1) 取镜和放置:显微镜从显微镜柜或镜箱内拿出时,要用右手紧握镜臂,左手托住镜座,平稳地将显微镜搬运到实验桌上。将显微镜放在自己身体的左前方,离桌子边缘约 10cm 左右,右侧可放记录本或绘图纸。

(2) 对光:不带电光源的显微镜,可利用灯光或自然光通过反光镜来调节光照,但不能用直

射阳光,直射阳光会影响物像的清晰并刺激眼睛。移动物镜转换器(切忌手持物镜移动),使低倍镜对准镜台的通光孔,当转动听到碰叩声时,说明物镜光轴已对准镜筒中心。打开光圈,上升聚光器,并将反光镜转向光源,用眼睛在目镜上观察(单筒目镜以左眼观察,右眼睁开),同时调节反光镜方向,直到视野内的光线均匀明亮为止。光线较强时,用平面反光镜,光线较弱时,用凹面反光镜。自带光源的显微镜,可通过调节电流旋钮来调节光照强弱。凡检查染色标本时,光线宜强;检查未染色标本时,光线宜弱。可通过扩大或缩小光圈、升降聚光器、旋转反光镜调节光线。

(3) 调节光轴中心:显微镜在观察时,其光学系统中的光源、聚光器、物镜和目镜的光轴及光阑的中心必须跟显微镜的光轴同在一直线上。

2. 低倍镜观察 镜检任何标本都要养成必须先用低倍镜观察的习惯。因为低倍镜视野较大,易于发现目标和确定检查的位置。具体操作:

(1) 放置玻片标本:将标本片放置在载物台上,一定使有盖玻片的一面朝上,切不可放反。用标本夹夹住,移动推进器,使被观察的标本处在物镜正下方。

(2) 调节焦距:首先从显微镜侧面注视物镜镜头,同时旋转粗螺旋,使载物台缓慢地上升(或下降镜筒)至物镜距标本片约5mm处。切勿在目镜上观察时上升载物台,以免上升过多,造成镜头或标本片的损坏。不过现在多数显微镜载物台上升有限位点,低倍镜下镜头不会接触到标本。然后再从目镜里观察视野,左手慢慢转动粗调节器使载物台缓慢下降(或镜筒上升),直至视野中出现物像为止,如物像不清晰再用细调节器调节。用推进器移动标本片,找到合适的目的像并将它移到视野中央进行观察(注意移动玻片的方向与视野物像移动的方向是相反的)。如果视野内的亮度不合适,可通过升降集光器的位置或开闭光圈的大小来调节。

如果在调节焦距时,载物台下降已超过工作距离($>5.40\text{mm}$)而未见到物像,可能由以下原因引起:①旋转粗螺旋太快,超过焦点。应按上述步骤重新调节焦距;②标本没有放到视野内,应移动标本寻找观察对象;③光线太强,尤其观察没有染色的标本或比较透明的标本时,易出现这种现象。应将光线调暗一些再观察;④物镜没有对正,重新对正后再观察。

3. 高倍镜观察

(1) 选好目标:一定要先在低倍镜下把需进一步观察的部位调到中央,同时把物像调节到最清晰的程度。

(2) 转换物镜:转动物镜转换器,换上高倍镜头。转换高倍镜时转动速度要慢,并从侧面进行观察,防止高倍镜头碰撞玻片。较好的显微镜,低倍、高倍镜头是同焦的,在正常情况下,高倍物镜的转换不应碰到载玻片或其上的盖玻片。如果高倍镜头碰到玻片,可能原因是:①低倍镜的焦距没有调好,应重新调焦;②标本片放反(即玻片有标本的一面朝下),应放正标本后重新操作;③高倍镜与低倍镜不配套,应直接用高倍镜如上所述调焦;④物镜偶尔也会松动,应拧紧再操作。

(3) 调节焦距:转换好高倍镜后,用眼睛在目镜上观察,此时一般能见到一个不太清楚的物像,再用细螺旋顺时针或逆时针方向转动(一般不要超过1圈),直至物像清晰。切勿再用粗螺旋调节!如果视野的亮度不合适,可用集光器和光圈加以调节。

观察中如需要更换标本片时,应该先将载物台下降(或镜筒上升),把标本片移至载物台前方,再取出玻片。

4. 油镜观察

(1) 在使用油镜之前,一般先经低、高倍镜观察,然后用油浸镜观察。玻片标本也可以不经过低倍和高倍物镜,直接用油镜调焦距。

(2) 将高倍镜转出,在玻片标本的镜检部位滴上一滴香柏油。眼睛从侧面注视,轻轻转换油镜,使镜面浸入香柏油中。如直接用油镜对焦,应先用粗螺旋将镜台下降(或镜筒提升)约2cm,将油镜转至正下方。滴上一滴香柏油,从侧面注视,用粗调节器小心地将镜台上升(或镜筒下降),使油镜浸在香柏油中,其镜头几乎与标本相接,又不至于压坏标本。绝不可用力过猛。由于油浸物镜的工作距离很短,一般在0.2mm以内,再加上一般光学显微镜的油浸物镜没有“弹簧装置”,因此使用油浸物镜时要特别细心,避免由于“调焦”不慎而压碎标本片并使物镜受损。

(3) 从接目镜内观察,开大光圈,上调聚光器,使光线充分明亮。来回慢慢转动细螺旋至物像清晰为止。如果不出现物像或者目标不理想要重找,在加油区之外重找时应按:低倍→高倍→油镜程序。在加油区内重找应按:低倍→油镜程序,不得经高倍镜,以免油沾污镜头。如果直接用油镜对焦观察,应先用粗螺旋将载物台徐徐下降(或镜筒上升),当出现物像一闪后改用细螺旋调至最清晰为止。

(4) 观察完毕,下降载物台2cm,将油镜头转出,先用干净擦镜纸(通常用二层)擦去镜头上的油,再用擦镜纸蘸少许乙醚乙醇混合液(乙醚2份,乙醇3份)或二甲苯,擦去镜头上残留油迹,最后再用擦镜纸擦拭1~2次。

5. 观察后的复原 将各部件还原,转动物镜转换器,使物镜头不与载物台通光孔相对,而是成八字形位置,再将载物台下降至最低,调节好镜台上标本推进器的位置,降下聚光器,反光镜与聚光器垂直,然后用柔软纱布清洁载物台等机械部分,最后罩上防尘套,或放回柜内或镜箱中。

(三) 光学显微镜的保养

显微镜是精密贵重的仪器,必须很好地保养。镜头的保护最为重要。镜头要保持清洁,只能用软而没有短绒毛的擦镜纸擦拭。切勿用手绢或纱布等擦镜头。物镜在必要时可以用溶剂清洗,但要注意防止溶解固定透镜的胶固剂。根据不同的胶固剂,可选用不同的溶剂,如酒精、丙酮和二甲苯等,其中最安全的是二甲苯。方法是用脱脂棉花团蘸取少量的二甲苯,轻擦,并立即用擦镜纸将二甲苯擦去,然后用洗耳球吹去可能残留的短绒。目镜是否清洁可以在显微镜下检视。转动目镜,如果视野中可以看到污点随着转动,则说明目镜已沾有污物,可用擦镜纸擦拭接目的透镜。如果还不能除去,再擦拭下面的透镜,擦过后用洗耳球将短绒吹去。在擦拭目镜或由于其他原因需要取下目镜时,都要用擦镜纸将镜筒的口盖好,以防灰尘进入镜筒内,落在镜筒下面的物镜上。

(四) 注意事项

(1) 学生每学期固定使用某一编号的显微镜。

(2) 拿显微镜时,一定要右手拿镜臂,左手托镜座,不可单手拿,更不可倾斜拿。

(3) 观察标本时,必须依次用低、高倍镜,最后用油镜。当目视接目镜时,特别在使用油镜时,切不可使用粗调节器,以免压碎玻片或损伤镜面。

(4) 用单筒显微镜观察标本时应养成两眼同时睁开的习惯,以左眼观察物像,右眼注视绘图。

(5) 保持显微镜的清洁,光学和照明部分只能用擦镜纸擦拭,切忌口吹、手抹或用布擦,机械部分用布擦拭。

(6) 不要随意取下目镜,以防止灰尘落入物镜。不准擅自拆卸显微镜的其他任何部件,以免损坏。

第 3 节 显微测微尺的使用

显微测微尺是在显微镜下测量所见物体直径、长度、面积等几何参数的工具。

1. 组成 显微测微尺由目镜测微尺(ocular micrometer)和物镜测微尺(stage micrometer)组成(图 1-1-3)。

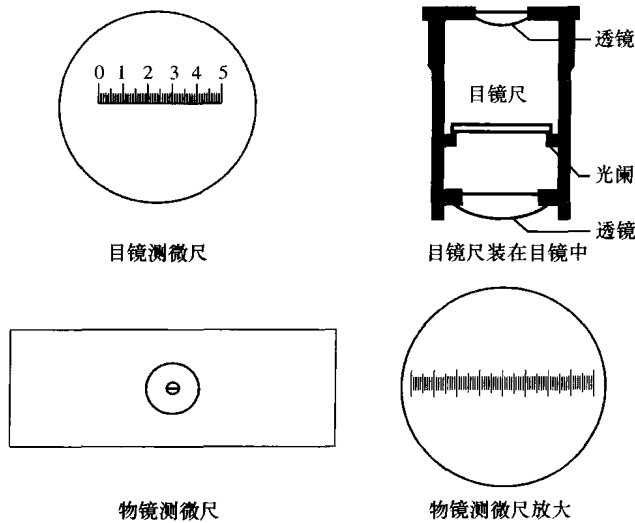


图 1-1-3 显微测微尺结构示意图

目镜测微尺简称目镜尺、目尺,为一直径约 2cm 的圆形玻片。目尺有直线型、十字线型或方格型等规格。直线型、十字线型上刻有 0 ~ 50 或 0 ~ 100 的刻度,用于测量长度。使用时先将目镜取下,旋开上方的透镜,把目尺放在镜筒的光阑上,使有刻度的一面朝下(若观察到数字为反字,应取出翻转一面),再旋上透镜,放回镜筒。

物镜测微尺(简称物镜尺、物尺),又称镜台测微尺(简称镜台尺)。它是一个长方形的玻片。中央有一刻度标尺,全长 1mm,分为 10 个大格,每个大格又分为 10 个小格,每小格为 0.01mm,即 10 μ m。使用时放在载物台上用以标定目尺。

2. 标定 目镜测微尺每个格子的间距是等距离的,但它并不是任何长度的标准衡器。也就是说把目镜测微尺装进目镜筒中不能直接测量长度。只有用物镜测微尺的标准长度为目镜测微尺的刻度间距在不同放大倍数的物镜下进行标定后,才能开始测量。标定过程如下:

将物镜测微尺放在载物台上,刻度朝上,用低倍镜观察,找到它的清晰刻度。此时视野中同时有目尺和物尺的刻度。旋转目镜,移动物尺,使目尺与物尺平行、靠拢以至重叠。再移动物尺使两尺左边零点对齐,然后查找两者第二次出现刻度完全重合的位置。计数重合范围内物尺的格数 n 和目尺的格数 m 。用下列公式求得目尺每小格的实际长度 D 。

$$D(\mu\text{m}) = \frac{n}{m} \cdot d$$

公式中 d 为物尺每小格的长度 10 μ m。

例如:目尺与物尺两次重合区域内物尺格数 24 格,目尺格数 35 格,则目尺每小格的值为 $6.86\mu\text{m}$ 。

当转换不同放大倍率的物镜时,要按照上述方法标定目尺的格距。一般说来,一台显微镜的物镜和目镜固定不变的情况下,每种放大倍率的目尺定标以后,可以长期使用。只有改变镜筒长度或使用其他物镜、目镜时,才有必要重新定标。为了减少测量误差,对每一放大倍率下目尺的格值 D 应测量 3 次,求其平均值。

3. 测量 在测量标本时只用目尺。首先计数被检标本占目尺的格数,然后乘以目尺每小格的长度 D 值,计算出该标本的大小。根据测量的结果还可通过公式计算出标本的面积、体积或细胞核与胞质的比例等参数。

第 4 节 体视显微镜的使用

体视显微镜(stereo microscope)又称为解剖显微镜,简称解剖镜。它是一种具有正像立体感的目视仪器。其光学结构原理是由一个共用的初级物镜,对物体成像后的两个光束被两组变焦镜分开,再经各自的目镜成像。一般解剖镜双目镜筒中的左右两光束并不平行(平行光路系统的除外),形成 $12^\circ \sim 15^\circ$ 的体视角,两个镜筒的光轴构成相当于人用双目观察一个物体时所形成的视角,以此形成三维空间的立体视觉图像。其特点是视场直径大、焦深长,便于观察被检测物体的全部层面;成像是直立的,便于实际操作。

(一) 基本构造

体视显微镜的构造基本上与显微镜相似,也分为机械装置和光学系统两部分,但构造比较简单。机械装置有镜座、镜台、镜筒、支柱(立柱)和调节手轮等部分。光学系统有接目镜、接物镜和反光镜等部分。镜筒和目镜为两个,使用时两眼同时观察。在右侧镜筒上附有调整目镜筒(视度调节圈),用以校正观察者两眼的视度差。如观察者双眼视度具有差异,可以先调节解剖镜使左眼成像清晰,然后旋转右侧视度调节圈至右眼成像清晰。双筒可以在一定角度内相对转动以适应观察者两眼间距离。不同规格型号体视显微镜的物镜不同,有的是定倍放大,有的可连续变倍。总放大率从几十倍至一百倍不等。有的解剖镜上有反光镜,有的缺反光镜;有的在镜身上附有照明灯。镜台上有一块厚玻璃板和一块一面白色一面黑色的瓷板,根据观察物的颜色和透明度可以调换使用。

(二) 使用方法

(1) 根据被观察物体的不同,选择相适应的载物台,将所需观察的物体放在所选用的载物台上。如观察透明的标本,镜台选用玻璃板,光源由反光镜底下照射。如观察不透明的标本,镜台选用瓷板,深色标本用白色一面,浅色标本用黑色一面,光源以强光或灯光从上面直接照在标本上,标本要观察的部位应转向光源。

(2) 操作时,将物体移至载物台中心,转动升降手轮调焦。先使左眼在左边目镜能看到清晰的物像,如此时右眼观察右边目镜的物像不清晰,则可以转动目镜视度调节圈,使之与左边目镜中的物像同样清晰。转动双镜筒的角度以适应两眼间的距离,这样就能看到具有立体感的清晰的物像,调焦基本完成。连续变倍解剖镜转动变倍手轮(或转盘)可得到适当的放大倍率。松开制紧螺钉可以使显微镜轴做任意方位的旋转。松开锁紧手轮可使显微镜上下作大范围移动。

第5节 寄生虫学实验方法

(一) 观察标本

寄生虫教学标本一般分为大体标本(活体标本、浸制或固定标本)、针插标本和玻片标本(包括封片标本和染色标本)。观察时应分别采用不同方法。

1. 大体标本 主要为较大的寄生虫虫体及其所引起的组织器官病理标本,可用肉眼或者放大镜观察。观察时,首先要辨认是何种寄生虫、何阶段,然后仔细观察其形态、大小、颜色和结构。结合致病与诊断,掌握其形态特征。如为病理标本,则应联系寄生虫的致病机制,掌握其病变特征。

2. 针插标本 一般为昆虫标本,装于指形玻璃管中,用肉眼、放大镜或者解剖镜观察,了解外观基本结构特征。

3. 玻片标本 为某些体积较小的寄生虫成虫、幼虫、蠕虫虫卵及原虫,分别采用不同方法制作而成。它们是实验中要求观察和掌握的主要标本。一般观察要点如下:

(1) 仪器选择:对自学标本应根据标本的大小、种类采用不同的仪器。较大的虫体,则应在放大镜或解剖镜下观察;微小的虫体或虫卵等应在显微镜下观察。

(2) 放大倍数及光线调节:显微镜观察应先在低倍镜下寻找标本,并将其移至视野中央,然后换高倍镜观察其细微结构;很小的虫体(如原虫)标本需在油镜下观察才可辨清形态结构。由于寄生虫玻片标本的厚薄、大小不一致,着色的深浅不同,观察标本时要求的放大倍数和光线的强度就不能一样,应随时作适当调整,才能看清物像。

(3) 镜检顺序:镜检粪便、体液和血液等涂片标本时,必须按一定的顺序进行观察(图1-1-4),以免遗漏而影响检查结果。

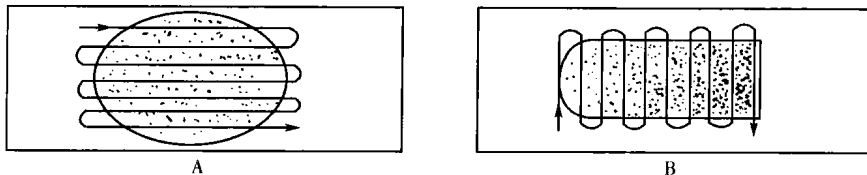


图 1-1-4 标本观察顺序示意图

A. 粪便涂片; B. 血液涂片

(4) 示教标本的观察:显微示教标本一般在视野中央有指针指示。观察时,只能用细调节器适当调节焦距,请勿移动玻片,以免影响其他同学观察。

(二) 技术操作

寄生虫学实验内容中各项操作技术,特别是对粪便和血液或体液中各种寄生虫的检查方法,包括获取标本、标本处理、虫体染色等技术,是本学科要求学生掌握的主要技术操作。必须按照实验要求,认真操作,积极思考各种方法的设计依据,了解各个操作环节的意义。在操作过程中,既要做到不怕脏、不怕臭,又要避免粪便、血液等对实验环境的污染,防止实验室感染发生。

(三) 观看视频影像

随着多媒体数字技术在形态实验教学中的广泛应用,学生可以通过视频影像或图像观察到一些典型的虫体形态结构。视频教学片或多媒体课件还可以演示实验操作技术。有些少见的虫种也可通过视频图像资料进行观看。学生还可以通过视频影像非常直观地对寄生虫的生活史、致病、诊断、流行及防治等内容进行全面地了解。因此,多媒体教学已经成为实验教学不可或缺的一个重要环节。

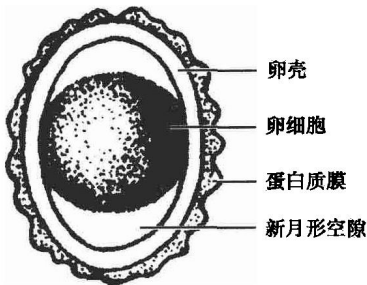
第6节 实验报告

人体寄生虫学实验内容以观察标本为主,真实准确地记录所观察的标本,对正确掌握其形态特点、加强记忆至关重要。绘图是科学记录的一种方法,也是寄生虫学基本实验技能之一,应加强训练,认真掌握,使绘出的图形达到结构正确、比例合适、色彩逼真、注字规范。具体要求:

(1) 实验前准备好绘图本(实验报告纸)和绘图笔(包括2H或4H铅笔和红、蓝、黄、褐色彩笔),不宜用钢笔或圆珠笔绘图。

(2) 绘科学图以精确为主,不能艺术加工渲染。绘图前应仔细观察标本,在认识标本特征的基础上,再下笔描绘,力求做到真实准确。

(3) 根据标本的特点选择不同的绘图方法。以实线表示轮廓,虚线表示被遮蔽但需表现的轮廓,用圆点的疏密来表示明暗、凹凸的立体感。点点时笔尖直立。点的大小要均匀、整齐、浑圆。不能用笔涂阴影。铁苏木精染色和非彩色标本应选择铅笔点线图,用点和线勾画标本结构。染色或有颜色的标本一般要求绘彩图,按所观察标本的实际颜色绘制。



受精蛔虫卵

图 1-1-5 绘图标注文字范例

(4) 绘图大小适宜,布局合理。一般要求图画在纸的稍偏左侧,留出图注的位置。对于构造复杂和体积较小的标本,可适当画大些,以展示其结构;而构造简单和较大的标本可画小些,以画清结构,不影响注字为准。

(5) 图的各部分的位置和比例,应与显微镜中实际观察的标本结构一致,并且要注意突出显微结构的每个特征。在同一张实验报告上要注意不同虫种同类标本之间(如虫卵类标本之间)以及同种寄生虫不同发育阶段之间(如疟原虫环状体、滋养体、裂殖体和配子体之间)的大小比例。

(6) 画面要求整洁,字迹清楚。所有绘图必须用文字注明结构。一律用平行线引出后注字,不可交叉,所有注字应上下对齐,标本名称一律写在图的下方(图 1-1-5)。

(段义农)