

高等医学院校实验系列规划教材

微生物学实验指导

WEISHENGWUXUE SHIYAN ZHIDAO

主编 吕 杰 张 涛



中国科学技术大学出版社

高等医学院校实验系列规划教材

微生物学实验指导

WEISHENGWUXUE SHIYAN ZHIDAO

主 编 吕 杰 张 涛

副主编 高淑娴 徐志本 周 平

编 委 陈登宇 马丽娜 徐志本

吕 杰 张 涛 高淑娴

周 平 郑庆委

中国科学技术大学出版社

内 容 简 介

本实验指导分为三部分。第一部分为微生物学基本实验技术和操作技能,共设 12 个实验;第二部分为一些重要病原体的检测和鉴定,共设 6 个实验;第三部分为环境和食品中常见病原微生物的检测,共设 4 个实验。每个实验的编写力求实用、简明、条理清晰,并配有图表。为进一步增强学生对知识点的理解和掌握,提高学生分析和解决实际问题的能力,部分实验增设了“注意事项”“思考题”及“知识拓展”。

本书可供高等院校生物科学、食品质量等专业的学生学习使用,也可供有关研究人员和技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物学实验指导/吕杰,张涛主编. —合肥:中国科学技术大学出版社,2018.8
ISBN 978-7-312-04507-3

I. 微… II. ①吕… ②张… III. 微生物学—实验—医学院校—教学参考资料 IV. Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 164083 号

出版 中国科学技术大学出版社
安徽省合肥市金寨路 96 号,230026
<http://press.ustc.edu.cn>
<https://zgkxjsdxcbbs.tmall.com>
印刷 安徽省瑞隆印务有限公司
发行 中国科学技术大学出版社
经销 全国新华书店
开本 710 mm×1000 mm 1/16
印张 13
字数 269 千
版次 2018 年 8 月第 1 版
印次 2018 年 8 月第 1 次印刷
定价 35.00 元

前 言

微生物学是生命科学中的一门重要学科,为学习生命科学、食品卫生及药物分析等专业的课程奠定了重要的理论基础。微生物学实验的基本操作技术在微生物学的创建和飞速发展中发挥了巨大作用。为适应微生物学的快速发展和实用型人才的培养需要,我们在蚌埠医学院基础医学院有关部门的组织和支持下,经过教研室多名资深教师的共同努力,完成了这本《微生物学实验指导》的编写,希望能借此提高实验教学质量,使学生掌握基本理论、基本知识和基本技能。

为适应学科的发展,满足教学的需要,培养学生理论联系实际、独立思考、独立操作的能力,结合教学实际情况,我们对实验内容进行了认真筛选,同时对编写体系做了有机整合。本实验指导由浅入深,从微生物学实验室规则及安全入手,强化微生物学实验室生物安全及要求;重视微生物学基本技能和基础性实验的掌握,详细介绍了微生物学的基本实验技术及基础性实验,夯实学生微生物学实验基础;精炼环境和食品中病原体的分离鉴定,简要介绍了常见病原体(细菌、真菌、病毒)的微生物学实验检查;创新性地设置了综合性试验,介绍食品中常见病原体的微生物学检查原则及方法。对每一个实验的编写力求实用、简明、条理清晰,每一个实验分别介绍了实验的目的、材料、原理、方法及结果观察等,并附有必要的图表。结合编者多年的教学经验,部分实验增设了“注意事项”“思考题”及“知识拓展”,以期增强学生对知识的理解和掌握,提高学生分析问题和解决问题的能力。

由于编者水平有限,加之编写时间紧迫,书中存在不足之处在所难免,恳请广大师生给予指正,我们将在今后的教学工作中不断加以补充和完善。

编 者

2018年8月

目 录

前言	(i)
绪论 微生物学实验室规则及安全	(1)
实验一 显微镜的使用和维护	(6)
实验二 微生物学实验室常用仪器的使用	(12)
实验三 微生物学实验中常用物品的准备	(17)
实验四 细菌的形态结构	(23)
任务一 细菌涂片标本的制备	(23)
任务二 细菌基本形态的观察	(26)
任务三 细菌特殊结构的观察	(29)
任务四 细菌动力观察	(32)
实验五 真菌的形态结构	(34)
任务一 真菌的形态观察	(34)
任务二 真菌的培养与菌落观察	(38)
实验六 常用培养基的制备	(41)
实验七 微生物的接种技术	(45)
实验八 微生物的菌株保藏	(51)
任务一 常用的简易保藏法	(51)
任务二 甘油保藏法	(54)
任务三 冷冻真空干燥保藏法	(56)
任务四 干燥保藏法	(59)
任务五 液氮超低温保藏法	(62)
实验九 微生物的生长及生化	(66)
任务一 细菌的培养方法	(66)
任务二 细菌的生长现象	(70)
任务三 细菌的生化反应	(72)

实验十	理化因素对微生物生长的影响	(85)
任务一	物理因素对细菌的影响	(85)
任务二	化学因素对细菌的影响	(88)
任务三	生物因素对细菌的影响	(90)
实验十一	微生物遗传与变异	(95)
任务一	细菌的鞭毛变异现象	(95)
任务二	细菌的 L 型变异	(97)
任务三	R 质粒接合传递实验	(100)
实验十二	环境中微生物检测	(103)
任务一	空气中微生物的分布及检测	(103)
任务二	水中细菌的分布及测定	(105)
任务三	土壤微生物数量的测定	(114)
实验十三	球菌	(117)
实验十四	肠道杆菌	(126)
实验十五	分枝杆菌和棒状杆菌	(136)
任务一	结核分枝杆菌	(136)
任务二	白喉棒状杆菌	(143)
实验十六	支原体、衣原体、立克次体、螺旋体	(148)
任务一	支原体	(148)
任务二	衣原体	(149)
任务三	立克次体	(149)
任务四	螺旋体	(151)
实验十七	病原性真菌	(155)
任务一	浅部感染真菌	(155)
任务二	深部感染真菌	(157)
实验十八	病毒	(163)
任务一	病毒的形态观察	(163)
任务二	病毒的培养方法	(164)
任务三	病毒的分子生物学检查	(170)
实验十九	食品中菌落总数测定、大肠菌群计数	(174)
任务一	食品中菌落总数测定(GB 4789. 2—2010)	(174)
任务二	食品中大肠菌群计数(GB 4789. 3—2010)	(178)

实验二十 食品中霉菌菌落计数	(186)
实验二十一 食品中常见球菌——金黄色葡萄球菌检测	(189)
实验二十二 食品中常见肠道杆菌检测	(192)
任务一 沙门氏菌检验	(192)
任务二 志贺菌检验	(196)

绪论 微生物学实验室规则及安全

一、微生物学实验的目的与要求

1. 实验目的

开展微生物学实验的目的是加强和巩固学生对所学理论知识的理解,这是对理论知识的重要补充。在系统学习理论知识的基础上,通过微生物学实验的开展,使学生掌握微生物学的基本操作、基本技术,为今后的工作实践及科研工作奠定坚实的基础。

2. 实验要求

为达到预期的实验目的,要求学生应做到以下方面:

(1) 实验课前应做好预习,明确本次实验的目的、原理、内容、理论依据及操作中的注意事项,尽量避免或减少错误发生。

(2) 认真听取指导老师的讲解和示教,仔细观摩实验课中的影像、多媒体等电化教材演示。

(3) 在实验过程中,应持严肃认真的科学态度,合理分配时间,爱护实验器材。

(4) 在整个微生物学实验过程中,应建立“无菌概念”,培养“无菌操作”技能。

(5) 在实验过程中应严格按照实验操作步骤,注意生物安全,防感染、防污染和防扩散。

(6) 实验课中应独立思考、独立操作,培养分析及解决问题的能力。

(7) 实验结果应真实记录,并独立撰写实验报告(根据需要选用彩笔绘图),如实验结果与理论不符,应探讨和分析其产生的原因。

二、微生物学实验室学生安全规则

微生物学实验室常涉及病原微生物,任何细微疏忽或者不规范操作均可能导致严重的后果。因此,为了防止微生物学实验过程中学生自身感染及环境污染,根据中华人民共和国国务院令(第424号)《病原微生物安全管理条例》,参照“实验室生物安全通用要求”,结合学生实验的实际情况,制定以下学生安全规则:

(1) 学生进入实验室应正确穿白大衣,离开时脱下并反折放回原处,不必要的物品不得带入实验室,必须带入的书籍和文具等应放在指定的非操作区,以免受到

污染。无菌操作时必须戴口罩,不得开启易造成空气流动的电器设备,如电风扇、吊扇及空调等。

(2) 进入实验室进行实验操作前应先洗手,避免手上的分泌物、食物油、护肤用品和沾染的微生物等对实验造成污染。

(3) 与实验无关的物品不得带入实验室,实验室内的任何物品不得带出实验室。禁止在实验室工作区域进食、饮水、吸烟、化妆和处理隐形眼镜;不得高声谈笑,不得嬉戏打闹,应保持实验室内的安静、整洁、有序。

(4) 各种实验物品应按指定地点存放,小心处理传染性材料、培养物和污染物,用过的器材必须及时放入盛有消毒液的容器内,不得放在桌上,也不能在水槽内冲洗。

(5) 严禁用嘴吸移液管或将实验材料置于口内,严禁用舌舔标签。

(6) 实验过程中需送入温箱培养的物品,应做好标记后送到指定温箱培养。

(7) 实验过程中发生差错或意外事故时,禁止隐瞒或自作主张不按规定处理,应立即报告老师进行正确的处理。如有传染性的材料污染桌面、地面等,应立即用0.2%~0.5%的84消毒液浸泡污染部位,作用5~10 min后方可抹去。如手被活菌污染,也应使用上述浓度的消毒液浸泡5~10 min后,再以自来水反复冲洗干净。

(8) 爱护室内仪器设备,严格按操作规则使用。节约使用实验材料,不慎损坏了器材等物品应主动报告指导老师进行处理。

(9) 在实验课结束前应清点、整理好实验物品,清点菌种管,应物归原处并将桌面整理干净。若有缺失,应立即报告任课教师,查清后方能离开实验室。

(10) 实验完毕后,以肥皂洗手,必要时用一定浓度的消毒液泡手后方可离开实验室。值日生打扫室内卫生,关好水、电、煤气、门窗,洗手后离室。

三、实验室废弃物处理标准规程

实验室废弃物处理的标准规程如下:

(1) 实验室工作人员做好个人防护。穿好工作服,戴好手套、口罩和帽子等。

(2) 实验人员用防渗专用包装容器(袋)或者防锐器穿透密闭容器,收集实验室废弃物。在包装上贴警示标志和标签,标签上填写废弃物的名称、数量、产生日期、处理人名字、废弃物来源、是否回收、处理注意事项等,然后存放于规定位置。实验准备人员及时进行无害化处理,并做好实验室废弃物处理记录。

(3) 废弃物分类处理。

① 感染性废弃物处理:培养基、标本和菌(毒)种保存液、血液、血清、临床标本等感染性废弃物首选压力蒸汽灭菌。使用过的一次性手套、口罩、帽子、试管、吸管、移液器吸头,一次性实验用品及实验器械等感染性废弃物可选用高压蒸汽灭菌

或消毒液浸泡 24 h。

② 损失性废弃物处理:针头、缝合针、解剖刀、手术刀、备皮刀、手术锯、实验玻片、玻璃试管、玻璃安瓿等能够刺伤或割伤人体的废弃的实验利(锐)器等损伤性废弃物需放入符合要求的利器盒里,容器装满 3/4 后封盖,进行高压蒸汽灭菌处理,按要求贴上警示标志和标签。

③ 重复使用检验器材处理:重复使用的器材,清洗后灭菌、烘干备用;若染菌,则先灭菌、再清洗,再灭菌、烘干备用。

四、实验室意外事故处理

为降低实验室发生意外事故对生物安全造成的不利影响,保障实验人员的安全和实验室生物的安全,实验人员必须严格遵守操作程序,一旦意外事故发生,实验人员应立即停止工作,及时通知实验室主任,并采取应急措施和检修,具体如下:

(1) 实验人员被实验动物咬伤时,应立即停止工作,用 3% 双氧水或碘酒擦拭受伤部位,用创可贴或消毒纱布包住受伤部位,然后按照退出程序退出实验室,如需要再进行必要的医学处理,同时通知实验室主任。

(2) 当实验动物逃逸时,在将实验动物抓获后,应立即对动物逃逸时的路线及实验区域严格消毒并作备案。

(3) 皮肤破损时,先除去异物,再用生理盐水或蒸馏水清洗双手和受伤部位,使用适当的皮肤消毒剂,必要时进行医学处理。要记录受伤原因和相关的微生物,并保留完整适当的医疗记录。

(4) 烧伤时,局部涂抹凡士林、5% 鞣酸或 2% 苦味酸。

(5) 化学药品腐蚀伤害。① 强酸:先用大量清水冲洗,再用碳酸氢钠溶液洗涤中和。② 强碱:先用大量清水冲洗,再用 5% 硼酸溶液洗涤中和。如受伤处为眼部,经上述步骤处理后,再用橄榄油或液体石蜡 1~2 滴滴眼。

(6) 食入潜在感染性物质后,应立即将含菌液体吐入消毒容器内,并用 3% 双氧水漱口;根据菌种不同,服用对症抗菌药物预防感染及做相应的医学处理。要报告食入材料的鉴定和事故发生的细节,并保留完整适当的医疗记录。

(7) 当盛有感染性物质的容器破碎或感染性物质溢出时,实验人员应立即用蘸有消毒液的抹布覆盖溢出感染物及含有感染物的破碎容器,10 min 后将抹布及破碎物品清理掉(注意:用镊子清理玻璃碎片),然后再用消毒剂擦拭被污染区域。用于清理的抹布等物品装入耐高温高压灭菌袋内,封口后用高压蒸汽灭菌法进行消毒处理。

(8) 对离心机内盛有潜在危害物质的离心管,如果机器正在运行时怀疑发生破损,应立即关闭机器电源,让机器密闭静置 30 min;如果机器停止后发现破损,应立即盖上盖子,让机器密闭 30 min。将所有破碎的离心管、离心机内盖和转头在

0.2% 新洁尔灭消毒剂内浸泡、擦拭。对未破损的离心管做表面消毒处理。

(9) 潜在危害性气溶胶的释放。出现事故时,所有人员必须立即撤离相关区域,任何暴露人员都应接受医学咨询,立即通知实验室负责人。为了使气溶胶排出和较大的粒子沉降,在1h内严禁人员入内,推迟进入实验室24h,张贴“禁止进入”的醒目标志。过了相应时间后,在生物安全专业人员的指导下清除污染。应穿戴适当的防护服和呼吸保护装备。

(10) 火灾和自然灾害。发生自然灾害时,应向当地或国家紧急救助人员提出警告。感染性物质应收集在防漏的盒子内或结实的一次性袋子中,由生物安全人员依据当地的规定决定继续利用或是最终丢弃。发生火灾时,须沉着、冷静,切勿惊慌,应立即关闭电闸和煤气阀门,如为酒精、乙醚、汽油等有机溶液起火,切忌用水扑救,可用沙土等扑灭,必要时拨打火警电话求助。

五、实验室菌种、样本的使用、销毁和保藏

实验室应规范微生物菌种、样本的使用、销毁和保藏工作,防止微生物的感染与扩散。

1. 微生物菌种、样本的使用

(1) 使用微生物菌种、样本时须在相应生物安全级别的实验室中进行。

(2) 在使用微生物菌种、样本时应按上岗证的项目范围进行实验活动,使用高致病性或可疑高致病性病原微生物菌种、样本按其特殊规定进行。

(3) 使用微生物菌种、样本时,如发生意外事件或生物安全事故时,应按“实验室感染应急预案”的相关规定进行处理。

(4) 使用后剩余的微生物菌种、样本需要归还的,应按要求归还,并由使用者和保藏者双方签名;不需归还的,应视为感染性废弃物,按“实验废弃物管理规定和处置要求”进行处置。

2. 微生物菌种、样本的销毁

(1) 菌种、样本在销毁前经科室负责人批准,并在保藏记录上注销,写明销毁原因,并填写销毁记录,记录应包括时间、方法、销毁人、批准人等。

(2) 销毁菌种、样本应按“实验废弃物管理规定和处置要求”中感染性废弃物的处理方法进行,必要时应在质量管理办公室监督下进行销毁。

(3) 销毁高致病性病原微生物菌种、样本时应按照特殊要求进行。

3. 微生物菌种的保藏

(1) 实验室应指定专人负责菌种的保藏,双人双锁,并建立所保藏的菌种名记录清单,确保菌种安全。

(2) 保管人员变动时,必须严格执行交接手续。

(3) 菌种应有严格的登记,包括购进日期、使用情况、销毁情况、销毁人、方法、

数量等。

(4) 各菌种应按规定时间接种,一般接种不超过五代,同时注意菌种有无污染及变异,如发现污染时,应及时更换。

(5) 菌种保存范围及向外单位转移,应按国家卫生部规定执行。

(6) 所有存在的菌种应具备详细清单,列明相关信息。

(7) 使用菌种工作时,如发生严重污染环境或实验室人身感染事故时,应及时处理,并向当地卫生局报告。

(张涛)

实验一 显微镜的使用和维护

【实验目的】

- (1) 熟悉显微镜的结构、功能和使用方法。
- (2) 掌握油镜的使用和维护方法。

【实验内容】

绝大部分的微生物,如细菌、病毒和单细胞真菌等,必须借助显微镜(光学显微镜或电子显微镜)放大才能被观察到,其中实验室使用最广泛的是普通光学显微镜(本书中简称为显微镜),所以,正确使用和维护显微镜是进行微生物学实验研究必须掌握的基本技能之一。

一、普通光学显微镜的基本构造

普通光学显微镜的基本构造分为机械系统和光学系统两大部分,本节以目前较为常用的电光源光学显微镜为例进行介绍(图 1.1)。机械系统包括镜座、镜臂、载物台及台上的标本推进器、镜筒、物镜转换盘、升降调节器等,其主要作用是支撑、固定镜头、调节物象焦距、搁置和移动标本。光学系统包括反光镜(或电光源)、光圈、聚光器、物镜、目镜等,作用是收集光源并聚集于标本上,然后通过透镜放大成像,使人眼可以分辨在裸眼时不能看见的细节。物镜一般有 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$ 、 $100\times$ 等几种。 $100\times$ 的物镜是油镜,是微生物学实验最常用的物镜。因为目镜多为 $10\times$,所以使用油镜观察标本时,放大倍数为 1 000,可以将实际大小为 $1\mu\text{m}$ 左右的细菌放大至人眼能分辨的 1mm 左右。

1. 机械系统

- (1) 镜筒:上端装接目镜,下端与物镜转换器相连。
- (2) 物镜转换器:又称旋转盘,是安装在镜筒下方的一个圆盘结构,可以按顺时针或逆时针方向旋转,其上平均分布有 3~4 个圆孔,用以装载不同放大倍数的物镜。
- (3) 镜臂:支持镜筒和镜台的弯曲状结构,是取用显微镜时的握持部位。
- (4) 镜台:也称载物台,是放置被检测标本片的平台。镜台上有标本移动器

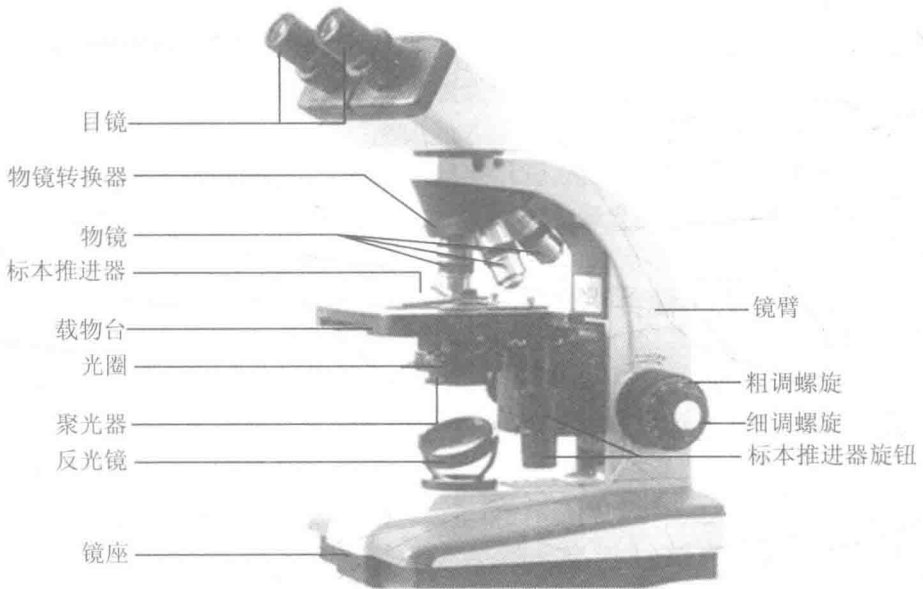


图 1.1 普通光学显微镜结构示意图

(推进尺),可使标本片前后左右移动。镜台中央有圆形的通光孔,来自下方的光线经此孔照射到标本上。

(5) 调焦器:也称调焦螺旋,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,前者用于概略调焦,后者用于精密调焦。

(6) 镜柱:是连接镜臂与镜座的短柱。

(7) 镜座:位于最底部,是整台显微镜的基座,用于支撑和稳定镜体。有的显微镜在镜座内装有光源。

2. 光学系统

光学系统包括目镜、物镜、聚光器、反光镜等。

(1) 目镜:也称接目镜,安装在镜筒的上端。每个目镜一般由两个透镜组成。其上刻有放大倍数,如 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$,其中 $10\times$ 多见。镜中常装有一条黑色细丝作为指针,以便指示物像供人观察。

(2) 物镜:也称接物镜。每个物镜由数片凸透镜组合而成,其下端接近被检标本。接物镜一般有低倍镜、高倍镜和油镜三种。它们安装在物镜转换器上,各有一些标志,如低倍镜: $10\times 0.25(10/0.25)$,10 表示放大倍数,0.25 表示数值孔(口)径(NA);高倍镜: $40\times 0.65(40/0.65)$;油镜: $100\times 1.25(100/1.25)$ 。

(3) 聚光器:位于载物台通光孔的下方,由聚光镜和光圈组成,其主要功能是将光线集中到要观察的标本上。聚光器由 2~3 个透镜组合而成,其作用相当于一个凸透镜,可将光线汇集成束。在聚光器的左下方,有一调节螺旋,可使其上升或下降,升高可使光线增强,反之光线变弱。光圈也称彩虹光阑或孔径光阑,位于聚

光器的下端,是控制进入聚光镜光束大小的可变光阑。它由十几张金属薄片组合排列而成,其外侧有一小柄,可使光圈的孔径张大或缩小,以调节光线的强弱。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。

(4) 反光镜:是位于显微镜镜座上方的一个可以转动的圆镜。反光镜具有两面,一面为平面镜,一面为凹面镜,其作用是收集光线。平面镜使光线分布较均匀,凹面镜有聚光作用,反射的光线较强,一般在光线较弱时使用。

二、显微镜的使用

1. 低倍镜的使用

(1) 准备:打开实验台上的工作灯,转动粗调螺旋。将载物台略下降(或使镜筒略升高),使物镜和载物台距离稍拉开。再旋转物镜转换器,将低倍镜对准载物台中央的通光孔,当镜头完全到位时,可听到轻微的“卡嗒”声。

(2) 调光:打开光圈,上升聚光器,双眼向目镜内观察,同时调节反光镜的角度,使视野内的光线亮度均匀、适中。

(3) 放片:把所需要观察的标本片放到载物台上,并用移动器上的弹簧夹固定好,然后把观察的标本部位移到通光孔的正中央。

(4) 调焦:从显微镜侧面注视低倍镜,同时用粗调螺旋使载物台缓慢上升(或使镜筒下降),直到低倍镜镜头距载玻片标本约 5 mm 时,再从目镜里观察视野,同时用左手慢慢转动粗调螺旋,使载物台缓缓下降(或使镜筒缓缓上升),直至视野中出现物像为止。如物像不清晰,可转动细调螺旋,直至视野中的物像清晰为止。

2. 高倍镜的使用

(1) 依照上述操作步骤,先用低倍镜找到标本片中的物像。

(2) 将观察物移至视野中央,同时转动细调螺旋,使被观察的物像清晰。

(3) 眼睛从侧面注意物镜,转动物镜转换器,使高倍镜镜头对准通光孔。

(4) 眼睛向目镜内观察,同时微微转动细调螺旋,直至视野内的物像清晰。

有时,在低倍镜准焦情况下,直接换高倍镜时会发生高倍镜与标本片碰撞,导致标本转不过来,此时应将载物台下降或使镜筒升高,直接用高倍镜调焦。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,直至物像清晰为止。

3. 油镜的使用

(1) 用低倍镜或高倍镜找到所需观察的标本物像,并将要进一步放大的部位移至视野中央。

(2) 转动物镜转换器,移开低倍镜或高倍镜,在标本片的中央滴一滴香柏油,眼睛从侧面注视镜头,轻轻转换油镜,使镜面浸在油滴中。在一般情况下,转过油镜即可看到物像,如不清楚,用细调螺旋调节至物像清晰。

(3) 油镜观察完毕后取下标本片,并下降载物台约 10 mm,把物镜转到一边,立即用擦镜纸拭去镜头上的油。若油已干,可用擦镜纸蘸取少许二甲苯擦净,并用另一张擦镜纸拭去二甲苯,以防二甲苯使镜头脱胶落下。

(4) 封加盖片的标本片擦拭方法同油镜。无盖片的标本片,可用拉纸法擦油,即用一小块擦镜纸覆盖在标本片油滴上,再滴一滴二甲苯,平拉擦镜纸,反复几次即可擦净,也可直接在二甲苯中把标本片上的油洗去。

添加香柏油的原理:因油镜的放大倍数高、透镜较小,而且载玻片和空气的折射率不同,从标本片透过的光线经折射后部分光线不能进入油镜,故视野亮度不够,且物像不清晰,在油镜和标本片之间滴加香柏油,因其折射率 $n = 1.515$,与载玻片的折射率($n = 1.520$)相仿,故可使进入油镜头的光线增加,物像清晰(图 1.2)。

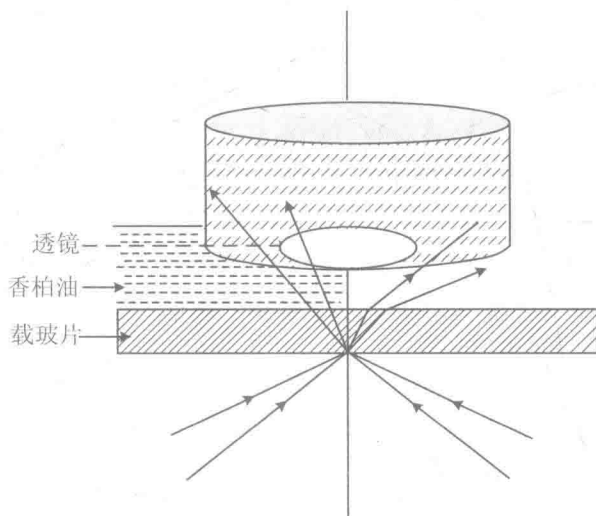


图 1.2 油镜原理示意图

三、显微镜使用的注意事项和维护

- (1) 使用显微镜时应小心爱护,不得随意拆卸。
- (2) 取显微镜时应一手紧握镜臂,一手托住镜座,切忌一手斜提,前后摆动,以避免零部件滑落。
- (3) 显微镜应置于离实验台边缘约 6 cm 处,以免显微镜翻倒落地。课间离开座位时,应将倾斜关节复原,镜头转离通光孔位置。
- (4) 要熟悉粗、细调螺旋转动方向,并能配合使用,调节焦距时,眼睛必须注视物镜头,以免压坏标本和损坏镜头。
- (5) 观察带有液体的临时标本要加盖片,应将显微镜充分放平,以免液体污染

镜头和显微镜。

(6) 显微镜不得与强酸、强碱、乙醚、氯仿和酒精等化学药品接触,如不慎污染时,应立即擦拭干净。

(7) 要保持显微镜的清洁,显微镜的光学部分只能用擦镜纸轻轻擦拭,不可用纱布、手帕、普通纸张或手指擦拭,以避免磨损镜面。

(8) 显微镜使用完毕,将三个接物镜转成“八”字形,将聚光器下降,放入显微镜箱内。切不可把显微镜放在直射光线下曝晒。

(9) 关闭显微镜时,应先将灯泡亮度调至最低,再关闭电源,最后拔插头。

四、显微测微尺的使用

对微生物或细胞进行形态观察时,若要测量它们的大小,就要用到显微测微尺。

1. 原理

目镜测微尺(图 1.3(a))是一块可放在目镜内的隔板上的圆形小玻片。在它的中央刻有精确的刻度,有等分 50 小格和 100 小格两种,每 5 小格之间有一长线隔开。因为目镜和物镜的放大倍数有所不同,目镜测微尺每小格所代表的实际长度就不一样。所以,目镜测微尺不能直接用来测量微小标本的大小,使用前要用镜台测微尺校正,以测算出在一定的目镜和物镜下该目镜测微尺每小格的相对值,然后才能用来测量微生物的大小。

镜台测微尺(图 1.3(b))是中央部分刻有精确等分线的载玻片。一般每个小格的长度是 0.01 mm,是专用于校正目镜测微尺的每格长度的。

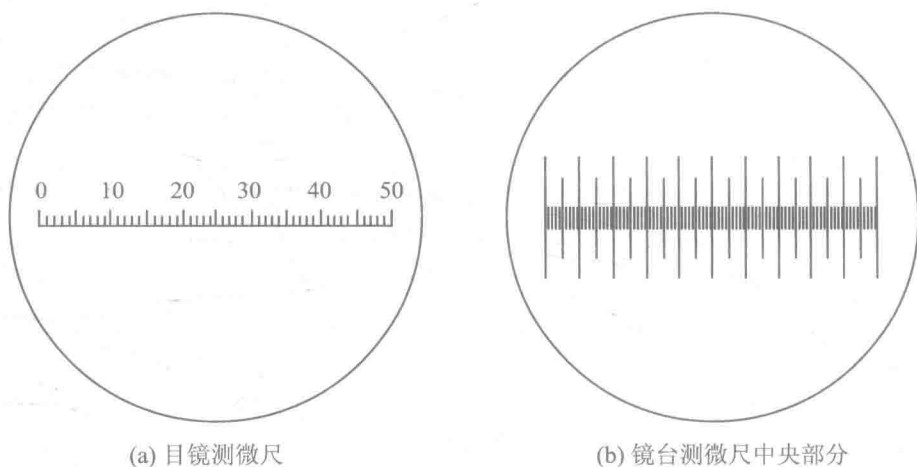


图 1.3 显微测微尺