

全国高等院校医学实验教学规划教材

医学免疫学与病原生物学实验

第 2 版

主编 单 颖 张轶博



科学出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材

医学免疫学与病原生物学实验

第2版

主 编 单 颖 张轶博

副主编 卢 颖 佟 伟 金梅花 李淑华 崔洪雨

编 委 (按姓氏笔画排序)

于 广 (锦州医科大学) 王光川 (锦州医科大学)

卢 颖 (锦州医科大学) 李永刚 (锦州医科大学)

李淑华 (锦州医科大学) 吴 因 (锦州医科大学)

吴学敏 (锦州医科大学) 佟 伟 (锦州医科大学)

沈雁飞 (锦州医科大学) 张 佩 (锦州医科大学)

张轶博 (锦州医科大学) 苗 苗 (锦州医科大学)

金旭鹏 (锦州医科大学) 金梅花 (锦州医科大学)

单 颖 (锦州医科大学) 赵红岩 (锦州医科大学)

柳明杰 (锦州医科大学) 董 颖 (锦州医科大学)

程 峰 (锦州医科大学)

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本教材是结合教学工作实际,在第1版教材的基础上编写而成的。全书共四篇13章,第一篇为常用仪器使用、试剂配制及基本实验操作,主要介绍实验室常规仪器设备的使用与维护、常用试剂的配制、常用动物实验技术及免疫学、微生物学、寄生虫学基本实验方法;第二篇为经典验证性实验,目的是训练学生的基本技能,并巩固基本知识、验证基本理论;第三篇的综合性实验,是在有一定的实验基础上为解决临床某些具体问题而开设的,目的是提高学生对学科内的知识和技术进行综合运用与分析的能力;第四篇的创新性实验,旨在培养学生的创新思维能力和基本科研能力。

在编写形式方面,每项实验基本包括实验目的、实验原理、实验材料、实验方法及注意事项,并在多数实验后附有一定量的思考题。

本书可供高等医学院校临床、口腔、影像、麻醉、护理、预防及药学等各专业学生使用。

图书在版编目(CIP)数据

医学免疫学与病原生物学实验 / 单颖, 张轶博主编. —2版. —北京: 科学出版社, 2018.1

全国高等院校医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-054085-0

I. ①医… II. ①单… ②张… III. ①医学-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. ①R392-33 ②R37-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第187092号

责任编辑: 朱 华 / 责任校对: 郭瑞芝

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 陈 敬

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>

北京汇瑞嘉合文化发展有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011年6月第 一 版 开本: 787×1096 1/16

2018年1月第 二 版 印张: 14

2018年1月第九次印刷 字数: 317 000

定价: 69.80 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

全国高等院校医学实验教学规划教材（第2版）

总编委会

主 任	曲 巍				
副主任	崔洪雨	肖建英	王爱梅	温有锋	
	贾云宏	徐 军	万义增		
委 员	（按姓氏笔画排序）				
	于 利	于秋泓	万义增	王 顺	王亚平
	王昌军	左中夫	叶丽平	李华侃	杨 菁
	杨春雨	张 莉	张轶博	单 颖	徐 军
	高 航	阎文柱			
总策划	崔洪雨				
秘 书	马丽娜				

总 序

医学专业教育不仅要让学生系统掌握医学理论知识,更需要关注学生实践技能、科学思维和创新能力的培养。实验教学与理论教学相辅相成,在全面提高医学教育质量方面有着理论教学不可替代的作用,是高等教育体系中的一个重要环节,是医学教育教学的重要组成部分。实验教材是体现实验教学内容和教学方法的知识载体,是指导学生动手操作、培养学生实践能力的重要工具,是做好实验教学、提高实验教学质量的重要保证,是培养创新型人才的重要手段。为顺应当代医学发展形势、满足医学教育和医学生培养需求,建立以能力培养为主线,分层次、多模块、相互衔接的实验教学体系,培养适应21世纪医药卫生事业发展的高素质医学人才,从实际应用性出发,构建具有自身特点的实验教学内容和建材体系。

本系列实验教材第1版于2011年由科学出版社出版发行,为推动实验教学改革,整合实验教学资源,完善实验教学体系,提高实验教学水平,于2016年10月对第1版系列教材进行全面修订。第2版教材由长期工作在教学、科研、医疗第一线的具有丰富理论与实践教学经验的教师编写而成,延续上一版教材的结构框架,将实验内容分为基本实验操作及常用仪器使用、经典验证性实验、综合性实验、研究创新型实验,并依据学科特点适当调整结构比例,增加综合性、创新性实验项目,减少验证性实验。进一步整合、更新了实验项目,删减陈旧内容,纠正在使用过程中发现的问题,使实验项目设置更加科学,实验技术操作更加规范,更有利于培养和提高学生实践能力、观察能力、分析和解决问题能力。

第2版实验系列教材共八本,包括《医用化学实验》《医用物理学实验》《医学大体形态学实验》《医学显微形态学实验》《医学机能实验学》《生物化学与分子生物学实验》《医学免疫学与病原生物学实验》《临床技能学》。其中《临床技能学》融合视频、音频等富媒体技术,使纸质教材与数字教材有机地结合,顺应教材多样化、个性化的发展需要。

本系列教材读者对象以本科、专科临床医学专业为主,兼顾预防、口腔、影像、麻醉、检验、护理、药学等专业需求,涵盖医学生基础医学全部实验教学内容。

在修订过程中,虽经全体编委努力工作及反复修改,但由于水平和时间限制,教材中难免有疏漏或缺陷,恳请读者和同行专家提出宝贵意见。

全国高等院校医学实验教学规划教材

总编委会

2017年7月

前 言

《医学免疫学与病原生物学实验》涵盖了医学免疫学、医学微生物学及人体寄生虫学的实验内容。实验教学是体现三基（基本理论、基本知识、基本技能）中基本技能的主要手段，它是加深和验证基本理论和基本知识的途径，是学好相关课程的重要环节。通过实践，使学生掌握基本的实验诊断技术，为今后的学习及医疗科研工作打下良好基础。

《医学免疫学与病原生物学实验》第1版教材自2011年出版以来，至今已经使用6年，此次修订是结合教学工作实际，对部分内容进行了增删。全书共四篇13章，第一篇中增加了常用仪器使用，更新了一些基本实验方法；第二篇对经典验证性实验进行了适当删减；第三篇的综合性实验有所增加，目的是进一步提高学生对学科内的知识和技术进行综合运用与分析的能力；第四篇的创新性实验有所增加和更新，旨在培养学生的创新思维能力和基本科研能力。

本书适合于临床、口腔、影像、麻醉、护理、预防及药学等各专业和各层次学生使用，以实用性、科学性、先进性为原则。每项实验基本由实验目的、实验原理、实验材料、实验方法及注意事项构成，并附有一定量的思考题。

本书中各实验相对独立，在教学中各不同专业可根据各自教学大纲的要求、学时分配、实验条件及专业特点选择相应实验内容。

本书尽管是在第1版基础上进行了修订，但书中难免会有不妥和疏漏之处，恳请同行及读者批评指正。衷心希望广大师生在教学实践中对本书提出宝贵意见，以便今后不断完善和提高。

编 者

2017年3月

目 录

实验室安全守则	1
---------	---

第一篇 常用仪器使用、试剂配制及基本实验操作

第一章 常用仪器设备的使用	2	一、医学实验动物的分类	36
一、显微镜	2	二、常用实验动物及品系	37
二、高压蒸汽灭菌器	5	第二节 动物实验基本技术	37
三、电热恒温培养箱	6	一、动物捉拿、固定方法	37
四、生物安全柜	6	二、动物编号方法	39
五、超净工作台	7	三、实验动物接种及取血方法	39
六、厌氧培养箱	8	四、实验动物消毒、麻醉方法及处死方法	42
七、菌落计数器	9	第四章 基本实验方法	44
八、微量移液器	10	第一节 微生物形态结构观察法	44
九、二氧化碳培养箱	11	一、细菌标本不染色观察法	44
十、酶标仪	12	二、细菌标本染色观察法	45
十一、微生物分析仪	13	三、病毒的观察法	48
十二、细胞离心机	14	第二节 微生物分离培养技术	48
十三、血培养仪	15	一、细菌的分离培养技术	48
十四、浊度仪	17	二、真菌培养技术	52
十五、流式细胞仪	18	三、病毒的分离培养技术	53
十六、活细胞工作站	19	第三节 病原微生物菌种毒种保藏技术	57
十七、常用器材及清洁方法	20	第四节 寄生虫病原学实验诊断技术	58
第二章 常用试剂配制	21	一、粪便检查方法	58
一、染色液及固定液	21	二、血液检查法	61
二、常用试剂	23	三、排泄物与分泌物等的检查	63
三、培养基	25	四、组织检查法	64
第三章 实验动物及动物实验技术	36		
第一节 实验动物品系和选择	36		

第二篇 经典验证性实验

第五章 医学免疫学基本实验	66	试验	71
第一节 体液免疫相关的基本实验	66	第二节 细胞免疫相关的基本实验	73
实验一 凝集反应	66	实验一 E-花环形成试验	73
实验二 抗体形成细胞检测——溶血空斑		实验二 淋巴细胞分离法	75
		实验三 中性粒细胞吞噬功能	

测定	77	试验	102
实验四 巨噬细胞吞噬功能测定	78	实验六 触酶试验 (过氧化氢酶试验)	103
第三节 免疫标记技术	79	实验七 耐热核酸酶试验	104
实验一 酶联免疫吸附试验	80	三、血清学鉴定	104
实验二 放射免疫测定法	81	实验一 玻片直接凝集反应	104
实验三 免疫荧光技术	83	实验二 肥达反应	105
第六章 医学微生物学基本实验	85	实验三 外斐反应	107
第一节 微生物形态结构观察	85	实验四 酶联免疫吸附试验检测 HBsAg	107
一、细菌形态结构观察	85	四、分子生物学检测	108
实验一 不染色——细菌动力观察	85	实验一 碱变性法提取质粒 DNA	108
实验二 革兰染色——细菌基本形态观察	85	实验二 聚合酶链反应检测解脲脲原体	110
实验三 抗酸染色——结核分枝杆菌形态观察	86	实验三 Southern 印迹杂交检测人乳头瘤病毒	111
实验四 奈瑟染色——白喉棒状杆菌异染颗粒观察	87	五、细菌致病物质的检测	115
实验五 细菌特殊结构的观察	87	实验一 白喉外毒素检测	115
实验六 镀银染色——螺旋体形态观察	88	实验二 细菌内毒素的检测 (鲎试验)	116
二、真菌染色及形态结构观察	89	实验三 破伤风杆菌痉挛毒素的检测	117
实验一 白假丝酵母菌形态观察	89	实验四 血浆凝固酶试验	117
实验二 多细胞真菌菌丝、孢子单染观察	89	第三节 细菌的药物敏感性试验	118
三、病毒形态观察	90	实验一 纸片扩散法	119
第二节 微生物分离培养鉴定	91	实验二 试管稀释法	120
一、微生物生长现象观察与鉴定	91	第四节 消毒灭菌	120
实验一 细菌生长现象观察与鉴定	91	实验一 热力杀菌试验	120
实验二 病毒生长现象观察与鉴定	93	实验二 紫外线灭菌试验	121
实验三 真菌生长现象观察与鉴定	97	实验三 滤过除菌试验	122
二、细菌生化反应	98	实验四 化学消毒剂杀菌试验	123
实验一 双糖铁琼脂试验	98	实验五 噬菌体溶菌试验	124
实验二 糖发酵试验	99	第五节 细菌变异试验	125
实验三 IMViC 试验	100	实验一 S-R 变异	125
实验四 尿素酶试验	102	实验二 H-O 变异	126
实验五 肺炎链球菌胆汁溶菌		实验三 细菌 L 型变异	126
		实验四 耐药质粒传递	127
		实验五 耐药质粒转化	128

第七章 寄生虫学基本实验····· 130	实验一 叶足虫····· 152
第一节 医学蠕虫····· 130	实验二 鞭毛虫····· 154
实验一 线虫····· 130	实验三 孢子虫····· 156
实验二 吸虫····· 139	第三节 医学节肢动物····· 161
实验三 绦虫····· 147	实验一 昆虫纲····· 161
第二节 医学原虫····· 152	实验二 蛛形纲····· 166

第三篇 综合性实验

第八章 医学免疫学综合性实验····· 169	养与鉴定····· 188
实验一 B 淋巴细胞免疫功能 的检测····· 169	实验五 卫生细菌学检测—— 水中细菌总数和大肠 菌群数的检测····· 190
实验二 T 淋巴细胞免疫功能 的检测····· 170	实验六 厌氧菌分离培养—— 庖肉培养基厌氧培 养法····· 192
实验三 SAP 酶标法检测 T 细 胞亚群····· 172	实验七 流感病毒的分离与 鉴定····· 193
实验四 免疫器官观察和胸腺 细胞凋亡检测····· 174	实验八 疑似真菌感染皮屑 观察····· 194
实验五 豚鼠 I 型超敏反应性 模型制备与分析····· 176	第十章 人体寄生虫学综合实验····· 196
实验六 多克隆抗体制备、检 测与保存····· 177	实验一 粪便寄生虫卵检测·· 196
实验七 细胞杀伤活性检测 技术····· 179	实验二 日本血吸虫动物模型 建立、鉴定及解剖病 理变化观察····· 198
第九章 医学微生物学综合实验····· 183	实验三 阴道毛滴虫的体外培 养及检测····· 199
实验一 病原性球菌的分离 培养与鉴定····· 183	实验四 鼠疟原虫的接种及 检测····· 200
实验二 脑膜炎奈瑟菌分离 培养与鉴定····· 184	实验五 疟原虫在蚊体内的 发育观察····· 201
实验三 肠道杆菌的分离培 养与鉴定····· 186	
实验四 尿路病原菌分离培	

第四篇 创新性实验

第十一章 医学免疫学创新性实验····· 203	实验四 骨髓移植前的 HLA 配型····· 205
实验一 卡介苗免疫对 T 细胞 亚群的影响····· 203	实验五 乙肝疫苗与计划免疫·· 206
实验二 白细胞介素 2 的产生 及检测····· 204	第十二章 医学微生物学创新性实验·· 208
实验三 肿瘤坏死因子的诱生 及活性测定····· 204	实验一 肺结核——结核分 枝杆菌的分离培养 与鉴定····· 208

实验二	支原体肺炎——肺炎支原体的微生物学鉴定	208
实验三	慢性肾盂肾炎——L 型细菌的检测	208
实验四	念珠菌性肺炎——白假丝酵母菌的微生物学鉴定	209
实验五	大蒜提取物的抗菌性分析	209

实验六	食堂炊餐具等卫生细菌学调查	209
实验七	疑似痢疾患者粪便标本的免疫荧光检测	209

第十三章 人体寄生虫学创新性实验

实验一	旋毛形线虫感染的检查	211
实验二	鼠疟原虫接种及鉴定实验	212

参考文献	214
------------	-----

实验室安全守则

医学免疫学与病原生物学实验包括医学免疫学、医学微生物学和人体寄生虫学三个专业的基本技术和实验方法。实验中所用标本大多数含有病原生物，有些病原生物传染性强，因此实验中要严格遵守无菌操作技术规范，避免发生自身感染和环境污染。为此，全体师生必须遵守下列实验室安全守则。

- (1) 进入实验室，穿上白大衣；非必需的物品不要带入室内。
- (2) 严禁饮食、咬笔杆、随便走动及大声喧哗等；无特殊情况不得中途离开实验室。
- (3) 爱护公物，节约使用实验材料；严禁在任何物品上乱写乱画；未经教师允许不得擅自将实验室内物品带出。
- (4) 实验中若发生任何意外污染（如传染性材料污染了桌面和物品，划破皮肤，吸入菌液或实验器材打破等），应立即报告指导教师，进行相应处理。
- (5) 用过的有菌器材等应放到指定的消毒容器内，不得随意放在桌上或水池中。
- (6) 易燃品切勿接近火；丢失或损坏器材及标本时要立即报告并予赔偿。
- (7) 实验结束后，显微镜镜头上的香柏油和其他部件上无意溅落的香柏油要擦拭干净；洗刷试管及用过的器材；及时清理实验区，物归原处，摆放整齐。
- (8) 关闭水、电及煤气；洗手消毒后方可离开实验室；值日生打扫卫生，关好门窗，经教师允许后方可洗手消毒，离开实验室。

第一篇 常用仪器使用、试剂配制及基本实验操作

第一章 常用仪器设备的使用

一、显微镜

(一) 显微镜的种类

显微镜是一种精密的光学仪器，是由一个或几个透镜组合构成，可用于放大微小物体使人用肉眼可以观察。显微镜以显微原理进行分类可分为光学显微镜与电子显微镜，按可移动性进行分类可分为台式显微镜与便携式显微镜。其中光学显微镜还可细分为普通光学显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜、相差显微镜、激光共聚焦扫描显微镜、偏光显微镜、微分干涉差显微镜、倒置显微镜等。下面介绍几种比较常用的显微镜：

1. 普通光学显微镜 用日光或灯光为光源，在最佳条件下分辨率可达到 $0.25\mu\text{m}$ ，在油浸镜放大 1000 倍情况下，能将 $0.25\mu\text{m}$ 的微粒放大到 0.25mm 的肉眼可观察范围（肉眼可见最小形态为 0.2mm ）。由于一般病原生物都大于 $0.25\mu\text{m}$ ，故利用普通光学显微镜都可以进行观察。

2. 暗视野显微镜 暗视野显微镜是光学显微镜的一种，也叫超显微镜。暗视野显微镜的聚光镜中央有挡光片，使照明光线不直接进入物镜，只允许被标本反射和衍射的光线进入物镜，因而视野的背景是黑的，物体的边缘是亮的。利用这种显微镜能见到小至 $4 \sim 200\text{nm}$ 的微粒子，分辨率可比普通显微镜高 50 倍。

3. 荧光显微镜 荧光显微镜是以紫外线为光源，现多采用 200W 的超高压汞灯作光源照射，由于光源波长短，故分辨率高于普通显微镜。用荧光染料或荧光抗体染色细菌或病毒等微生物后，经紫外线照射可发荧光，利用荧光显微镜可进行定性和定量分析。

4. 相差显微镜 相差显微镜可利用光的衍射和干涉现象将透过标本的光线光程差或相位差转换成肉眼可分辨的振幅差，从而提高了密度不同物质图像的明暗区别。活细胞和未染色的生物标本，因细胞各部细微结构的折射率和厚度的不同，光波通过时，波长和振幅并不发生变化，仅相位发生变化（振幅差），这种振幅差人眼无法观察。而相差显微镜通过改变这种相位差，并利用光的衍射和干涉现象，把相位差变为振幅差来观察活细胞和未染色的标本。

5. 电子显微镜 电子显微镜是根据电子光学原理，用电子束和电子透镜代替光束和光学透镜，使物质的细微结构在非常高的放大倍数下成像的仪器。电子显微镜的放大倍数可达到数十万倍，能分辨 1nm 的物体。电子显微镜除了最早发明的透射电子显微镜外，还有其他多种类型，如扫描电子显微镜、分析电子显微镜、超高压电子显微镜等。

(二) 普通光学显微镜的构造

1. 机械装置

(1) 镜座和镜臂：镜座位于显微镜底部，呈马蹄形，它支持全镜。镜臂有固定式和活动式两种，活动式的镜臂可改变角度。镜臂支持镜筒。

(2) 镜筒：是由金属制成的圆筒，上接目镜，下接转换器。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。

(3) 转换器：为两个金属碟所合成的一个转盘，其上装 3 ~ 4 个物镜，可使每个物镜通过镜筒与目镜构成一个放大系统。

(4) 载物台：又称镜台，为方形或圆形的盘，用以载放被检物体，中心有一个通光孔。在载物台上有的装有两个金属压夹称为标本夹，用以固定标本；有的装有标本推动器，将标本固定后，能向前后左右推动。有的推动器上还有刻度，能确定标本的位置，便于找到变换的视野。

(5) 调焦装置：是调节物镜和标本间距离的机件，有粗动螺旋即粗调节器和微动螺旋即细调节器，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。

2. 光学装置

(1) 物镜：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、放大倍数、镜筒长度、焦距等主要参数，如 NA0.30、 $10\times$ 、160/0.17、16mm 等。其中“NA0.30”表示数值孔径 (numerical aperture, 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。

(2) 目镜：装于镜筒上端，由两块透镜组成。目镜把物镜成的像再次放大，不增加分辨力，上面一般标有 $7\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等放大倍数，可根据需要选用。一般可按与物镜放大倍数的乘积为物镜数值孔径的 500 ~ 700 倍，最大也不能超过 1000 倍的选择。目镜的放大倍数过大，反而影响观察效果。

(3) 聚光器：光源射出的光线通过聚光器汇聚成光锥照射标本，增强照明度和造成适宜的光锥角度，提高物镜的分辨力。聚光器由聚光镜和虹彩光圈组成，聚光镜由透镜组成，其数值孔径可大于 1，当使用大于 1 的聚光镜时，需在聚光镜和载玻片之间加香柏油，否则只能达到 1.0。虹彩光圈由薄金属片组成，中心形成圆孔，推动把手可随意调整透进光的强弱。调节聚光镜的高度和虹彩光圈的大小，可得到适当的光照和清晰的图像。

(4) 光源：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。在使用低倍镜和高倍镜观察时，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：可见光是由各种颜色的光组成的，不同颜色的光线波长不同。如果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、红等各种颜色的，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。

(三) 普通光学显微镜使用方法

1. 低倍镜的使用方法

(1) 取镜和放置: 取下绸布和外罩, 右手紧握镜臂, 左手托住镜座, 将显微镜放在自己左前方的实验台上, 镜座后端距桌边 3 ~ 6cm 为宜, 便于坐着操作。

(2) 对光: 用拇指和中指移动旋转器, 使低倍镜对准镜台的通光孔。打开光圈, 上升集光器, 并将反光镜转向光源, 以左眼在目镜上观察, 同时调节反光镜方向, 直到视野内的光线均匀明亮为止。

(3) 放置玻片标本: 取一玻片标本放在镜台上, 一定使有盖玻片的一面朝上, 切不可放反, 用推片器弹簧夹夹住, 然后旋转推片器螺旋, 将所要观察的部位调到通光孔的正中。

(4) 调节焦距: 以左手按逆时针方向转动粗调节器, 使镜台缓慢地上升至物镜距标本片约 5mm 处, 应注意在上升镜台时, 切勿在目镜上观察, 一定要从右侧看着镜台上升, 以免上升过多, 造成镜头或标本片的损坏。然后, 两眼同时睁开, 用左眼在目镜上观察, 左手顺时针方向缓慢转动粗调节器, 使镜台缓慢下降, 直到视野中出现清晰的物像为止。

如果物像不在视野中心, 可调节推片器将其调到中心, 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, 镜台下降已超过工作距离 ($> 5.40\text{mm}$) 而未见到物像, 说明此次操作失败, 则应重新操作, 切不可心急而盲目地上升镜台。

2. 高倍镜的使用方法

(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心, 同时把物像调节到最清晰的程度, 才能进行高倍镜的观察。

(2) 转动转换器, 调换上高倍镜头, 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, 如高倍镜头碰到玻片, 说明低倍镜的焦距没有调好, 应重新操作。

(3) 调节焦距: 转换好高倍镜后, 用左眼在目镜上观察, 此时一般能见到一个不太清楚的物像, 可将细调节器的螺旋逆时针移动 0.5 ~ 1 圈, 即可获得清晰的物像。

如果视野的亮度不合适, 可用集光器和光圈加以调节, 如果需要更换玻片标本时, 必须顺时针转动粗调节器使镜台下降, 方可取下玻片标本。

3. 油镜的使用方法

(1) 在使用油镜之前, 必须先经低、高倍镜观察, 然后将需进一步放大的部分移到视野的中心。

(2) 将集光器上升到最高位置, 光圈开到最大。

(3) 转动转换器, 使高倍镜头离开通光孔, 在需观察部位的玻片上滴加一滴香柏油, 然后慢慢转动油镜, 在转换油镜时, 从侧面水平注视镜头与玻片的距离, 使镜头浸入油中而又以不压破载玻片为宜。

(4) 观察目镜, 并慢慢转动细调节器至物象清晰为止。

如果不出现物象或者目标不理想要重找, 在加油区之外重找时应按: 低倍到高倍到油镜程序。在加油区内重找应按: 低倍到油镜程序, 不得经高倍镜, 以免油沾污镜头。

(5) 油镜使用完毕, 先用擦镜纸沾少许二甲苯将镜头上和标本上的香柏油擦去, 然后再用干擦镜纸擦干净。

4. 显微镜使用注意事项

- (1) 持镜时必须为右手握镜臂、左手托座的姿势，不可单手提取，以免零件脱落或碰撞到其他地方。
- (2) 轻拿轻放，不可把显微镜放置在实验台的边缘，以免碰翻落地。
- (3) 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。
- (4) 水滴、乙醇或其他药品切勿接触镜头和镜台，如果沾污应立即擦净。
- (5) 放置玻片标本时要对准通光孔中央，且不能反放玻片，防止压坏玻片或碰坏物镜。
- (6) 要养成两眼同时睁开的习惯，以一眼观察视野，另一眼用以绘图。
- (7) 使用完毕后，取下标本片，转动旋转器使镜头离开通光孔，下降镜台，平放反光镜，下降集光器、关闭光圈，推片器回位，盖上绸布和外罩，最后填写使用登记表。

二、高压蒸汽灭菌器

(一) 高压蒸汽灭菌器的工作原理

高压蒸汽灭菌器是由一个具有两层壁的能耐高压的锅炉所构成，蒸汽进入消毒室内，积聚而产生压力。蒸汽的压力增高，温度也随之增高。用压力 104.0 ~ 137.3kPa 时，温度可达 121 ~ 126℃，维持 30min，即能杀死包括具有顽强抵抗力的细菌芽孢在内的一切细菌，达到灭菌目的。此法常用于一般培养基、生理盐水、手术器械及敷料等耐湿和耐高温物品的灭菌。

(二) 高压蒸汽灭菌器的使用方法

- (1) 将需要灭菌的物品放入消毒室内，紧闭器门。
- (2) 先使蒸汽进入夹套，在达到所需的控制压力后，将冷凝水泄出器前面的冷凝阀旋开少许，再将总阀开放，使蒸汽进入消毒室。
- (3) 冷凝阀的开放是使冷凝水和空气从消毒室内排出，以确保消毒室所需的温度。
- (4) 此时可看到夹套的蒸汽压力下降，消毒室的蒸汽压力上升。
- (5) 在消毒室温度达到预选温度时，开始计算灭菌时间。
- (6) 灭菌时间终了后，让消毒室内的蒸汽自然冷却或予以排气。
- (7) 在消毒室压力表下降到“0”位 1 ~ 2min 后，将门打开。
- (8) 再等 10 ~ 15min 后取出已灭菌的物品。
- (9) 由于余热的作用和蒸发，包裹即能干燥。物品灭菌后，一般可保留 2 周。

(三) 高压蒸汽灭菌器的使用注意事项

- (1) 需要灭菌的各种包裹不应过大、过紧，一般应小于 55cm×33cm×22cm。
- (2) 放入灭菌器内的包裹，不要排得太密，以免妨碍蒸汽透入，影响灭菌效果。
- (3) 包内和包外各贴一条灭菌指示带（长 6 ~ 8cm），如压力达到 15min 时，指示纸带上即出现黑色条纹，表示已达灭菌的要求。包内放入用纸包好的升华硫黄粉的检测温度的方法，因为所用的硫黄品种不同，多数的熔点为 114 ~ 116℃，故结果有时并不可靠。
- (4) 易燃和易爆炸物品如碘仿、苯类等，禁用高压蒸汽灭菌法；锐利器械如刀、剪

不宜用此法灭菌,以免变钝。

(5) 瓶装液体灭菌时,要用玻璃纸和纱布包扎瓶口,如用橡皮塞的,应插入针头排气。

(6) 已灭菌的物品应做记号,以便识别,并需与未灭菌的物品分开放置,以免弄错。

(7) 要有专人负责,每次灭菌前,应检查安全阀的性能是否良好,以防锅内压力过高,发生爆炸。

三、电热恒温培养箱

(一) 电热恒温培养箱的工作原理

电热恒温培养箱,利用电加热的方式,通过控温仪的控制,达到工作室温度均匀恒定,可为受试培养物提供理想稳定的温度环境。电热恒温培养箱外壳一般由钢板制成,工作室用碳钢板或镜面不锈钢板折制而成,工作室与外壳之间填充保温棉。工作室的内部放有试验用品搁板,用来放置各种试验物品,工作室的顶部装有离心式风扇叶轮和环形电热管。冷空气经电热管加热后使工作室温度上升,通过离心风机的作用,保证工作室内部温度均匀,箱门上设有可供观察用的视镜。电热恒温培养箱的前面板上装有温度控制仪表、电源开关及加热开关等,利于观察及操作。电热恒温培养箱适用于做细菌培养、发酵及恒温试验。

(二) 电热恒温培养箱的使用方法

(1) 接通电源,将仪器电源开关拨到“I”位,此时电源指示灯亮,控温仪显示培养箱内当时温度。

(2) 温度设定:所需温度与设定温度相同时不需设定,反之则需重新设定。

1) 按控温仪的功能键“SET”进入温度设定状态,此时“SV”设定闪现。

2) 按移位键,并配合加键“ Δ ”或减键“ ∇ ”设定培养温度至所需温度。

3) 按功能键“SET”确认设定,温度设定相符合。

(三) 电热恒温培养箱的使用注意事项

(1) 箱内不应放入过热或过冷之物,取放物品时,应随手关闭箱门,以维持恒温。

(2) 培养箱内最底层温度较高,培养物不易与之直接接触。箱内培养物不易放置过挤,以保证培养物受温均匀。各层金属孔架上放置物品不宜过重,以免将金属孔架压弯滑脱,打碎培养标本。

(3) 定期消毒内箱,可每月一次。方法为断电后,先用3%来苏溶液涂布消毒,再用清水抹布擦净。

四、生物安全柜

(一) 生物安全柜工作原理

生物安全柜是为操作原代培养物、细菌病毒毒株以及诊断性标本等具有感染性的实验材料时,用来保护操作者本人、实验室环境以及实验材料,使其避免暴露于上述操作过程中可能产生的感染性气溶胶和溅出物而设计的。生物安全柜可提供对样品和工作人员的双重保护,是一种负压过滤排风柜。在一级生物安全柜内操作时,排出的气体先经

过废气通道到达海帕过滤 (high efficiency particle air filter, 简称 HEPA 过滤器), 再排除到环境中, 进而防止微生物气溶胶扩散造成污染。二级和三级生物安全柜, 进入空气也需经过 HEPA 过滤器。

(二) 生物安全柜使用方法

(1) 操作前应将本次操作所需的全部物品移入安全柜, 避免双臂频繁穿过气幕破坏气流; 并且在移入前用 70% 乙醇擦拭表面消毒, 以去除污染。

(2) 打开风机 5 ~ 10min, 待柜内空气净化并气流稳定后再进行实验操作。将双臂缓缓伸入安全柜内, 至少静止 1min, 使柜内气流稳定后再进行操作。

(3) 安全柜内不放与本次实验无关的物品。柜内物品摆放应做到清洁区、半污染区与污染区基本分开, 操作过程中物品取用方便, 且三区之间无交叉。物品应尽量靠后放置, 但不得挡住气道口, 以免干扰气流正常流动。

(4) 操作时应按照从清洁区到污染区进行, 以避免交叉污染。为防可能溅出的液滴, 可在台面上铺一用消毒剂浸泡过的毛巾或纱布, 但不能覆盖住安全柜格栅。

(5) 柜内操作期间, 严禁使用酒精灯等明火, 以避免产生的热量产生气流, 干扰柜内气流稳定; 且明火可能损坏 HEPA 滤器。

(6) 工作时尽量减少背后人员走动以及快速开关房门, 以防止安全柜内气流不稳定。

(7) 在实验操作时, 不可打开玻璃视窗, 应保证操作者脸部在工作窗口之上。在柜内操作时动作应轻柔、舒缓, 防止影响柜内气流。

(8) 安全柜应定期进行检测与保养, 以保证其正常工作。工作中一旦发现安全柜工作异常, 应立即停止工作, 采取相应处理措施, 并通知相关人员。

(9) 工作完全后, 关闭玻璃窗, 保持风机继续运转 10 ~ 15min, 同时打开紫外灯, 照射 30min。

(10) 安全柜应定期进行清洁消毒, 柜内台面污染物可在工作完成且紫外灯消毒后用 2% 的“84 消毒液”擦拭。柜体外表面则应每天用 1% 的“84 消毒液”擦拭。

(11) 柜内使用的物品应在消毒后再取出, 以防止将病原微生物带出而污染环境。

五、超净工作台

(一) 超净工作台工作原理

超净台又叫无菌工作台, 是在接种罩的基础上设计出来的无菌工作台。目前多采用垂直层流的气流形式, 通过变速离心机将负压箱内经过预滤器过滤的空气压入静压箱, 再经高效过滤器进行二级过滤, 从出风面吹出洁净风流, 以一定的和均匀的断面风速通过工作区时, 将尘埃颗粒和微生物颗粒带走, 从而形成无尘无菌的工作环境。

(二) 超净工作台使用方法

(1) 打开无菌工作台及净化室的紫外灯, 消毒半小时以上。

(2) 进入净化室前先关闭紫外灯, 打开超净台风机, 等待 30min 以上, 以排尽臭氧。

(3) 穿好隔离衣, 戴好口罩, 帽子。

(4) 风淋 2min。

(5) 0.1% 过氧乙酸水泡手, 擦干。