

高等医学院校改革创新教材

供临床、影像、检验、康复、眼视光、护理等专业用

总主编 杨保胜 王洪兴

医学微生物学与 人体寄生虫学实验技术

YIXUE WEISHENGWUXUE YU RENTI JISHENGCHONGXUE SHIYAN JISHU

● 主编 何群力

 第四军医大学出版社

供临床、影像、检验、康复、眼视光、护理等专业用

医学微生物学与 人体寄生虫学实验技术

●主编 何群力

第四军医大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

医学微生物学与人体寄生虫实验技术/何群力主编. —西安:第四军医大学出版社,
2015.8

ISBN 978-7-5662-0831-6

I. ①医… II. ①何… III. ①医学微生物学-实验-医学院校-教材
②医学-寄生虫学-实验-医学院校-教材 IV. ①R37-33②R38-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 202142 号

医学微生物学与人体寄生虫实验技术

出版人:富 明

责任编辑:张永利

出版发行:第四军医大学出版社

地址:西安市长乐西路 17 号 邮编:710032

电话:029-84776765

传真:029-84776764

网址:<http://press.fmmu.edu.cn>

制版:郑州学苑出版服务中心

印刷:河南永成彩色印刷有限公司

版次:2015 年 8 月第 1 版 2015 年 8 月第 1 次印刷

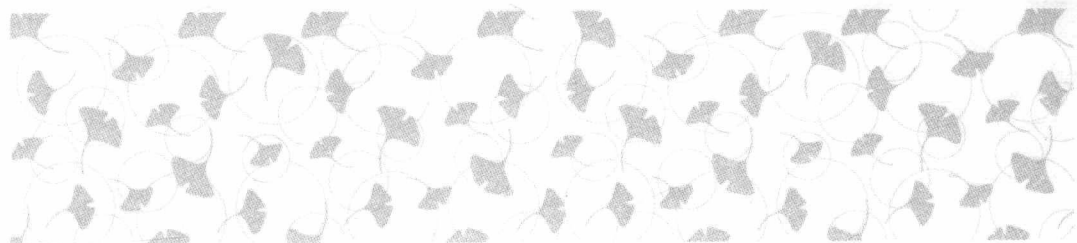
开本:787×1092 1/16 印张:9 字数:213 千字

书号:ISBN 978-7-5662-0831-6/R·1624

定价:22.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换



编者名单

主 编 何群力

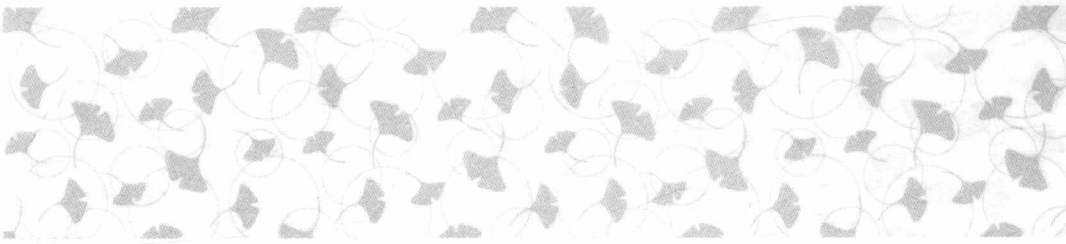
副主编 杨 帆

编 委 (以姓氏笔画为序)

王 宝 李 敏 任莹利

张文钰 杨 帆 何群力

赵晓会 郝振华 谢永生



前 言

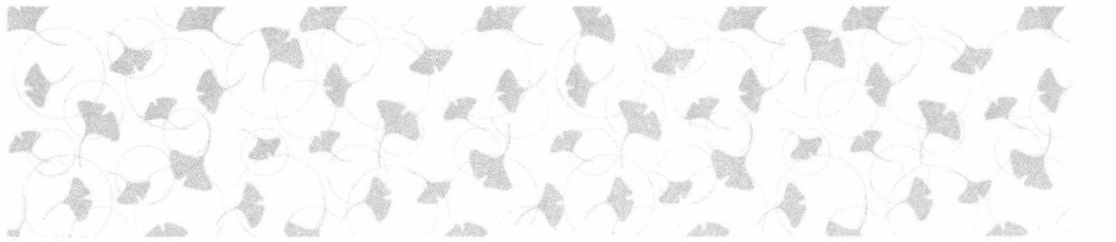
基础医学是医学生命科学的重要学科,是医学生的主要课程之一。随着现代医学理论和技术的迅猛发展,基础医学和临床医学的交叉融合愈来愈深。现代医学技术已经渗透到生命科学研究的各个领域,并推动着整个生命科学的不断发展。随着医学高等教育的改革和综合创新能力人才的培养,高等教育更多地走向应用型教育,加快了“教”与“学”新的思考、探索和步伐。尤其在培养应用型人才方面,医学实践教学对于提高医学生的综合素质和培养医学生的创新精神及实践能力产生积极的推动的作用;对他们毕业后走向工作岗位的实用性意义重大。因此,教学中要重视教学的实践环节、确保实验课的开课率,并开设足够的经典实用验证性实验,高水平的综合性、创新性试验。

《医学微生物学与人体寄生虫学实验技术》的编写,严格按照“三基三严”的基本原则(“三基”即:基本理论、基本知识、基本技能;“三严”即:严格要求、严谨态度、严肃作风。),发挥众师之长,吸取更多兄弟院校有关实验教材之精华,删除重复、陈旧、既不经典也不实用的实验内容和技术方法,充实了新理论、新知识、新技能;整合、调整、重排了一些实验内容;新增了综合性实验和创新性试验内容;在文后增加彩图插页。本书彰显了实验内容之精华,图文并茂之特色。本书内容由主编拟定编写大纲,对编者周密安排,分头执笔,经多遍修改,互审互校,集体定稿完成。在编写过程中得到了院、系、各位编者和出版社的大力支持。在此,一并致以衷心的感谢!

限于编者的水平和编写经验,尽管大家付出了最大的努力,但书中难免还存在着错误和不足。在此,恳请同行、同道、同学和读者给予批评指正。

何群力

2015年7月

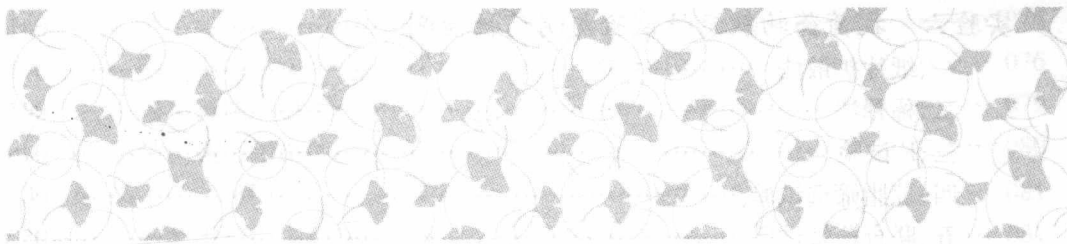


实验室规则

1. 学生进入微生物学实验室必须穿好隔离衣(白大衣工作服),离室需脱下反折,并要经常清洗消毒。
2. 进实验室前必须将随身携带的书包、衣物等与实验无关物品一律存放在指定的储物柜内。
3. 严禁在实验室内进食、饮水和喧哗打闹。
4. 手接触过培养物后或离开实验室前要用肥皂洗手,必要时用消毒液泡手;避免有菌材料污染;破损器材应及时处理并报告;实验台或实验室及其他位置一旦被细菌污染,应及时报告老师做正规消毒灭菌处理。
5. 实验过程中,避免一切不良的个人习惯;操作中产生的废料要放在指定容器内;实验完毕清理台面,值日生严格认真打扫卫生,关闭水电、门窗,洗手后方可离开实验室。

实验室意外紧急处理办法

1. 皮肤破损 去除异物,生理盐水或蒸馏水洗净后用 2% 碘酊(碘伏)或 2% 红汞涂抹。
2. 烧伤 局部涂凡士林,2% 鞣酸或 2% 苦味酸。
3. 化学药品腐蚀伤 若强酸则先用大量清水冲洗,再用碳酸氢钠溶液洗涤中和;若强碱则先用大量清水冲洗,再用 2% 硼酸洗涤中和(若伤处为眼部加用橄榄油或者液体石蜡 1~2 滴滴眼)。
4. 菌液入口 立即吐入消毒容器内,1:1000 高锰酸钾或 3% 过氧化氢漱口,根据菌种服用抗菌药物。
5. 菌液污染台面 2%~3% 来苏水或 0.1% 新洁尔灭覆盖 30 分钟后抹去,皮肤手指沾染活菌应用上述液体浸泡 3 分钟后再用肥皂和清水洗净。
6. 火警 勿慌,立即关闭电闸和煤气闸。若乙醇、乙醚等有机溶剂起火切不可用水扑救,可用沙土等物扑灭。



目 录

第一篇 医学微生物学实验技术	001
实验一 普通光学显微镜的构造和使用方法	001
实验二 细菌形态学检查	008
一、细菌不染色标本检查	008
二、细菌单染色法	009
三、细菌革兰染色法	010
四、芽胞染色法	012
五、荚膜染色法	014
六、鞭毛染色法	015
七、抗酸染色法	016
实验三 细菌的分布与消毒灭菌	017
一、细菌的分布	017
二、物理消毒灭菌法	018
三、化学消毒法	020
四、消毒灭菌效果的评价	021
实验四 细菌的培养技术	023
一、培养基的制备	023
二、培养方法	025
三、分离培养和接种技术	028
四、生长现象的观察	032
五、菌种保藏	033
实验五 细菌常用的生化反应	036
一、糖发酵试验	036
二、IMViC 试验	037
三、硫化氢产生试验和触酶试验	039

实验六 抗菌药物敏感性试验与耐药性检测	041
一、纸片扩散法	041
二、稀释法	045
三、E 试验	048
四、琼脂筛选试验	049
五、联合药敏试验	050
六、 β -内酰胺酶和超广谱 β -内酰胺酶检测	051
实验七 噬菌体的噬菌作用	052
实验八 细菌的鞭毛变异	053
实验九 质粒传递实验	053
实验十 内毒素的检测——鲎实验	054
实验十一 细菌的 L 型变异	055
实验十二 病原性细菌	056
一、葡萄球菌	056
二、链球菌	056
三、肺炎球菌	057
四、脑膜炎球菌	058
实验十三 病毒的动物接种	059
实验十四 病毒鸡胚培养法	060
实验十五 病毒组织培养法	061
实验十六 病毒血凝、血凝抑制和中和实验	062
一、血凝实验	062
二、血凝抑制实验	063
三、中和实验	064
实验十七 病原性真菌	065
一、常见真菌的观察	065
二、皮肤丝状菌的检查	065
第二篇 人体寄生虫学实验技术	067
实验十八 原虫	067
一、溶组织内阿米巴	067
二、阴道毛滴虫	068
三、疟原虫	069
实验十九 吸虫	071
一、华支睾吸虫	071
二、卫氏并殖吸虫	073
三、日本血吸虫	074

实验二十 绦虫	076
一、带绦虫	076
二、细粒棘球绦虫	079
三、曼氏迭宫绦虫	080
实验二十一 线虫	081
一、似蚓蛔线虫	081
二、钩虫	083
三、蠕形住肠线虫	086
 第三篇 综合性实验	089
综合性实验一 细菌在自然界中的分布	089
一、空气中细菌检查	089
二、工作台上细菌检查	089
三、水中细菌检查	089
四、飞沫中细菌检查	090
五、手指皮肤消毒前后的细菌检查	090
六、作业	090
综合性实验二 细菌鉴定技术	091
一、生物化学鉴定试验	091
二、血清学鉴定	094
三、分子生物学鉴定	099
综合性实验三 病原性球菌的鉴定	101
一、葡萄球菌属	102
二、链球菌属	104
综合性实验四 致病性肠道杆菌的鉴定	107
综合性实验五 真菌分离培养和鉴定	109
一、真菌的大培养	109
二、真菌的小培养	109
综合性实验六 免疫血清的制备	111
一、实验目的和内容	111
二、实验材料	111
三、操作步骤	112
四、注意事项	113
五、演示	113
六、实验报告	113
七、问题和思考	114

综合性实验七 乙型肝炎病毒的血清学检测法	114
一、琼脂双向扩散试验	114
二、对流免疫电泳	114
三、反向间接凝集试验	115
四、固相酶联免疫吸附试验	116
综合性实验八 微生物学分子生物学技术	118
一、质粒 DNA 提取及琼脂糖凝胶电泳	118
二、DNA 的限制性核酸内切酶酶切实验和连接实验	119
三、耐药质粒 DNA 转化实验	120
四、PCR 方法检测病原微生物	121
五、核酸杂交法检测病原微生物	122
第四篇 创新性实验	125
附录	126
附录 I 微生物学实验室常用的器皿	126
附录 II 常用的计量单位	130
附录 III 酚的重蒸馏与酚的饱和	131
附录 IV 洗涤液的配制与使用	132
附录 V 组织培养常用试剂及培养液制备	133

第一篇

医学微生物学实验技术

实验一 普通光学显微镜的构造和使用方法

一、实验目的

熟悉普通光学显微镜的构造及各部分的功能;学习并掌握油镜的原理和使用方法。

二、实验原理

微生物个体微小,必须借助显微镜才能观察到微生物的个体形态和细胞构造。

早期的显微镜仅由少数几块透镜组成,难以消除物像的像差和色差。现代普通光学显微镜利用目镜和物镜两组透镜系统来放大成像,故又常被称为复式显微镜。它们由机械装置和光学系统两大部分组成。

(一) 显微镜的机械装置

显微镜的机械装置包括镜座、镜筒、物镜转换器、载物台、推动器、粗调螺旋、微调螺旋等部件(图 1-1)。

1. 镜座 镜座是显微镜的基本支架,它由底座和镜臂两部分组成。在它上面连接有载物台和镜筒,它是用来安装光学放大系统部件的基础。

2. 镜筒 镜筒上接目镜,下接转换器,形成接目镜与接物镜(装在转换器下)间的暗室。

从物镜的后缘到镜筒尾端的距离称为机械筒长。因为物镜的放大率是对一定的镜筒长度而言的。镜筒长度的变化,不仅放大倍率随之变化,而且成像质量也受到影响。因此,使用显微镜时,不能任意改变镜筒长度。国际上将显微镜的标准筒长定为160 mm,此数字标在物镜的外壳上。

3. 物镜转换器 物镜转换器上可安装3~4个接物镜,一般是三个接物镜(低倍、高倍、油镜)。通常显微镜装有四个物镜。转动转换器,可以按需要将其中的任何一个接物镜和镜筒接通,与镜筒上面的接目镜构成一个放大系统。

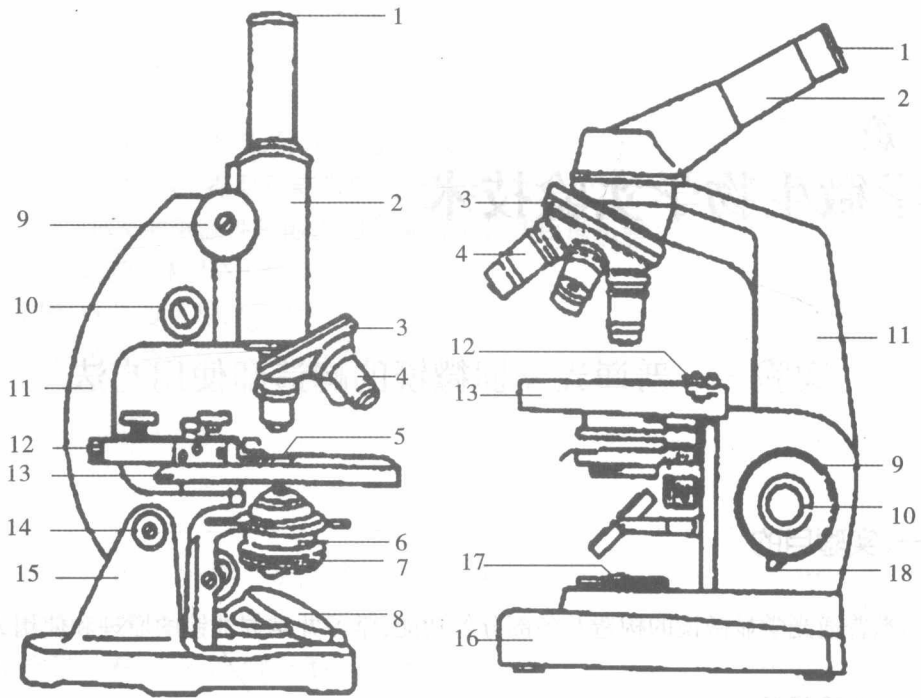


图 1-1 光学显微镜的构造

1. 目镜;2. 镜筒;3. 物镜转换器;4. 物镜;5. 通光孔;6. 聚光器;7. 光圈;8. 反光镜;9. 粗调节器;
10. 细调节器;11. 镜臂;12. 推进器;13. 载物台;14. 倾斜关节;15. 镜柱;16. 镜座;17. 照明装置;
18. 粗调限位环凸柄

4. 载物台 载物台中央有一孔,为光线通路。在台上装有弹簧标本夹和推动器,其作用为固定或移动标本的位置,使得镜检对象恰好位于视野中心。

5. 推动器 是移动标本的机械装置,它是由一横一纵两个推进齿轴的金属架构成的,好的显微镜在纵横架杆上刻有刻度标尺,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. 粗调螺旋 粗调螺旋是移动镜筒调节接物镜和标本间距离的机件,老式显微镜粗调螺旋向前扭,镜头下降接近标本。新近出产的显微镜(如 Nikon 显微镜)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,标本脱离物镜。

7. 微调螺旋 用粗调螺旋只可以粗放的调节焦距,要得到最清晰的物像,需要用微调螺旋做进一步调节。微调螺旋每转一圈镜筒移动 0.1mm(100 μm)。新近出产的较高档次的显微镜的粗调螺旋和微调螺旋是共轴的。

(二) 显微镜的光学系统

显微镜的光学系统由反光镜、聚光器、接物镜、接目镜等组成,光学系统使物体放大,

形成物体放大像,见图 1-1。

1. 反光镜 较早的普通光学显微镜是用自然光检视物体,在镜座上装有反光镜。反光镜是由一平面和另一凹面的镜子组成,可以将投射在它上面的光线反射到聚光器透镜的中央,照明标本。不用聚光器时用凹面镜,凹面镜能起会聚光线的作用。用聚光器时,一般都用平面镜。新近出产的较高档次的显微镜镜座上装有光源,并有电流调节螺旋,可通过调节电流大小调节光照强度。

2. 聚光器 聚光器在载物台下面,它是由聚光透镜、虹彩光圈和升降螺旋组成的。聚光器可分为明视场聚光器和暗视场聚光器。普通光学显微镜配置的都是明视场聚光器,明视场聚光器有阿贝聚光器、齐明聚光器和摇出聚光器。阿贝聚光器在物镜数值孔径高于 0.6 时会显示出色差和球差。齐明聚光器对色差、球差和慧差的校正程度很高,是明视场镜检中质量最好的聚光器,但它不适于 4 倍以下的物镜。摇出聚光器能将聚光器上透镜从光路中摇出满足低倍物镜(4×)大视场照明的需要。

聚光器安装在载物台下,其作用是将光源经反光镜反射来的光线聚焦于样品上,以得到最强的照明,使物象获得明亮清晰的效果。聚光器的高低可以调节,使焦点落在被检物体上,以得到最大亮度。一般聚光器的焦点在其上方 1.25 mm 处,而其上升限度为载物台平面下方 0.1 mm。因此,要求使用的载玻片厚度应在 0.8 ~ 1.2 mm 之间,否则被检样品不在焦点上,影响镜检效果。聚光器前透镜组前面还装有虹彩光圈,它可以开大和缩小,影响着成像的分辨力和反差,若将虹彩光圈开放过大,超过物镜的数值孔径时,便产生光斑;若收缩虹彩光圈过小,分辨力下降,反差增大。因此,在观察时,通过虹彩光圈的调节再把视场光阑(带有视场光阑的显微镜)开启到视场周缘的外切处,使不在视场内的物体得不到任何光线的照明,以避免散射光的干扰。

3. 物镜 安装在镜筒前端转换器上的接物透镜利用光线使被检物体第一次造像,物镜成像的质量,对分辨力有着决定性的影响。物镜的性能取决于物镜的数值孔径(numerical aperture 简写为 N_A),每个物镜的数值孔径都标在物镜的外壳上,数值孔径越大,物镜的性能越好。

物镜的种类很多,可从不同角度来分类。根据物镜前透镜与被检物体之间的介质不同,可分为两类。

(1) 干燥系物镜:以空气为介质,如常用的 40× 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× ~ 100×,数值孔径大于 1。

根据物镜放大率的高低,可分为四类。

(1) 低倍物镜:指 1× ~ 6×, N_A 值为 0.04 ~ 0.15。

(2) 中倍物镜:指 6× ~ 25×, N_A 值为 0.15 ~ 0.40。

(3) 高倍物镜:指 25× ~ 63×, N_A 值为 0.35 ~ 0.95。

(4) 油浸物镜:指 90× ~ 100×, N_A 值为 1.25 ~ 1.40。

根据物镜像差校正的程度来分类可分为三类。

(1) 消色差物镜:是最常用的物镜,外壳上标有“Ach”字样,该物镜可以除红光和青光形成的色差。镜检时通常与惠更斯目镜配合使用。

(2)复消色差物镜:物镜外壳上标有“Apo”字样,除能校正红、蓝、绿三色光的色差外,还能校正黄色光造成的相差,通常与补偿目镜配合使用。

(3)特种物镜:在上述物镜基础上,为达到某些特定观察效果而制造的物镜。如:带校正环物镜,带视场光阑物镜,相差物镜,荧光物镜,无应变物镜,无罩物镜,长工作距离物镜等。目前在研究中常用的物镜还有:半复消色差物镜(FL),平场物镜(Plan),平场复消色差物镜(Plan Apo),超平场物镜(Splan),超平场复消色差物镜(Splan Apo)等。

4. 目镜 目镜的作用是把物镜放大的实像再放大一次,并把物像映入观察者的眼中。目镜的结构较物镜简单,普通光学显微镜的目镜通常由两块透镜组成,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。

普通光学显微镜常用的目镜为惠更斯目镜(Huygens eyepiece),如要进行研究用时,一般选用性能更好的目镜,如补偿目镜(K)、平场目镜(P)、广视场目镜(WF)。照相时选用照相目镜(NFK)。

(三)光学显微镜的成像原理

显微镜的放大是通过透镜来完成的。单透镜成像具有像差和色差,影响物像质量。由单透镜组合而成的透镜组相当于一个凸透镜,放大作用更好,可消除或部分消除像差或色差。图 1-2 是显微镜的成像原理模式。A1B1 和眼睛的距离为显微镜的明视距离,标本 AB 的像经过物镜后到 A1B1 处成为一个放大倒立的实像(中间像)。当光线传到目镜时,在 A2B2 被放大成一个直立的虚像,然后传递到视网膜上,标本 AB 就被放大了,人眼看到的是 AB 被放大后的虚像,A2B2 与原样品像的方向是相反的。

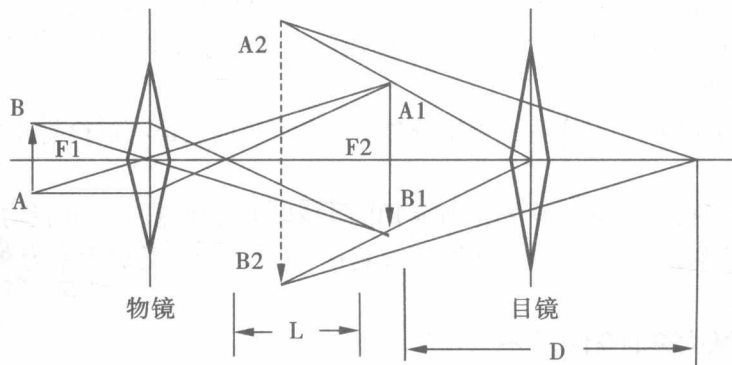


图 1-2 显微镜放大光学原理

AB: 物体; A2B2: 目镜放大图像; F1: 物镜的焦距; F2: 目镜的焦距; L: 为光学显微镜筒长度(物镜后焦点与目镜前焦点之间的距离); D: 明视距离(人眼的正常明视距离为 250 mm)

1. 增加照明亮度 油镜的放大倍数可达 100X,放大倍数这样大的镜头,焦距很短,直径很小,但所需要的光照强度却最大。从承载标本的玻璃片透过来的光线,因介质密度

不同(从玻片进入空气,再进入镜头),有些光线会因折射或全反射,不能进入镜头,致使在使用油镜时会因射入的光线较少,物像显现不清。所以为了不使通过的光线有所损失,在使用油镜时须在油镜与玻片之间加入与玻璃的折射率($n=1.55$)相仿的油镜(通常用香柏油,其折射率 $n=1.52$)。

2. 增加显微镜的分辨率 显微镜的分辨率或分辨力(resolution or resolving power)是指显微镜能辨别两点之间最小距离的能力。从物理学角度看,光学显微镜的分辨率受光的干涉现象及所用物镜性能的限制,可表示为:

$$D = \lambda / 2N_A$$

式中 λ = 光波波长; N_A = 物镜的数值孔径值。

光学显微镜的光源不可能超出可见光的波长范围($0.4 \sim 0.7 \mu\text{m}$),而数值孔径值则取决于物镜的镜口角和玻片与镜头间介质的折射率,可表示为:

$$N_A = n \times \sin \alpha$$

式中, α 为光线最大入射角的半数,总是小于 180° 。它取决于物镜的直径和焦距,一般来说在实际应用中最大只能达到 120° ,而 n 为介质折射率。由于香柏油的折射率(1.52)比空气及水的折射率(分别为 1.0 和 1.33)要高,因此以香柏油作为镜头于玻片之间介质的油镜所能达到的数值孔径值(N_A 一般在 $1.2 \sim 1.4$)要高于低倍镜、高倍镜等干镜(N_A 都低于 1.0)。若以可见光的平均波长 $0.55 \mu\text{m}$ 来计算,数值孔径通常在 0.65 左右的高倍镜只能分辨出距离不小于 $0.4 \mu\text{m}$ 的物体,而油镜的分辨率却可达到 $0.2 \mu\text{m}$ 左右。

(四) 显微镜的性能

显微镜分辨能力的高低决定于光学系统的各种条件。被观察的物体必须放大率高,而且清晰,物体放大后,能否呈现清晰的细微结构,首先取决于物镜的性能,其次为目镜和聚光镜的性能。

1. 数值孔径 也叫做镜口率或开口率,简称为 N_A ,在物镜和聚光器上都标有它们的数值孔径,数值孔径是物镜和聚光器的主要参数,也是判断它们性能的最重要指标。数值孔径和显微镜的各种性能有密切的关系,它与显微镜的分辨力成正比,与焦深成反比,与镜像亮度的平方根成正比。数值孔径可用下式表示:

$$N_A = n \cdot \sin \theta$$

式中 n 表示物镜与标本之间的介质折射率; θ 表示物镜的镜口角。所谓镜口角是指从物镜光轴上的物点发出的光线与物镜前透镜有效直径的边缘所张的角度,见图 1-3。

镜口角 α 总是小于 180° , θ 为 $\alpha/2$ 。因为空气的折射率为 1 ,所以干燥物镜的数值孔径总是小于 1 ,一般为 $0.05 \sim 0.95$;油浸物镜如用香柏油(折射率为 1.515)浸没,则数值孔径最大可接近 1.5 。虽然理论上数值孔径的极限等于所用浸没介质的折射率,但实际上从透镜的制造技术看,是不可能达到这一极限的。通常在实用范围内,高级油浸物镜的最大数值孔径是 1.4 。

几种物质的介质的折射率为:空气为 1.0 ,水为 1.33 ,玻璃为 1.5 ,甘油为 1.47 ,香柏油为 1.52 。介质折射率对物镜光线通路的影响见图 1-4。

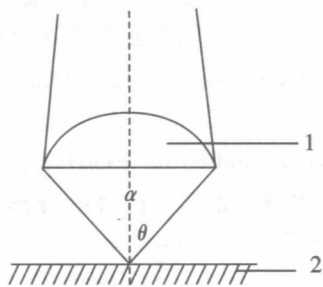


图 1-3 物镜的光线入射角

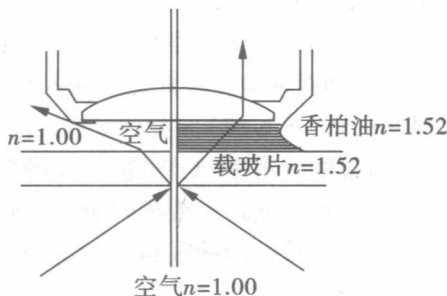


图 1-4 干燥物镜和油浸系物镜光线通路

2. 分辨力 D 可用下式表示:

$$D = \lambda / 2N_A$$

可见光的波长为 $0.4 \sim 0.7 \mu\text{m}$, 平均波长为 $0.55 \mu\text{m}$ 。若用数值孔为 0.65 的物镜, 则 $D = 0.55 \mu\text{m} / 2 \times 0.65 = 0.42 \mu\text{m}$ 。这表示被检物体在 $0.42 \mu\text{m}$ 以上时可被观察到, 若小于 $0.42 \mu\text{m}$ 就不能视见。如果使用数值孔径为 1.25 的物镜, 则 $D = 0.22 \mu\text{m}$ 。凡被检物体长度大于这个数值, 均能视见。由此可见, D 值愈小, 分辨力愈高, 物象愈清楚。根据上式, 可通过减低波长、增大折射率、加大镜口角来提高分辨力。紫外线作光源的显微镜和电子显微镜就是利用短光波来提高分辨力以检视较小的物体的。物镜分辨力的高低与造象是否清楚有密切的关系。目镜没有这种性能。目镜只放大物镜所造的象。

3. 放大率 显微镜放大物体, 首先经过物镜第一次放大造象, 目镜在明视距离造成第二次放大大象。放大率就是最后的象和原物体两者体积大小之比例。因此, 显微镜的放大率(V)等于物镜放大率(V_1)和目镜放大率(V_2)的乘积, 即:

$$V = V_1 \times V_2$$

4. 焦深 在显微镜下观察一个标本时, 焦点对在某一象面时, 物象最清晰, 这象面为目的面。在视野内除目的面外, 还能在目的面的上面和下面看见模糊的物象, 这两个面之间的距离称为焦深。物镜的焦深和数值孔径及放大率成反比: 即数值孔径和放大率愈大, 焦深愈小。因此调节油镜比调节低倍镜要更加仔细, 否则容易使物象滑过而找不到。

(五) 显微镜的操作步骤

显微镜是精密贵重的仪器, 严格遵守操作规程。

1. 取镜 打开镜箱, 右手握住镜臂, 左手托住镜座, 轻轻放在桌上。
2. 检查各部位零件是否完好, 用纱布把镜身擦干净(接物镜、接目镜用擦镜纸拭擦)。
3. 调节光线 将低倍镜转至镜筒下方, 转动粗调节器, 使镜头离载物台 1 cm , 开放光圈, 升高聚光器, 调节反光镜(一般在自然光下用平面反光镜)使视野内有均等的光线。水浸标本应用较弱的光线, 染色标本宜用强光。
4. 将标本置载物台上, 使之正好在接物镜的下方。
5. 低倍镜观察 转动粗调节器使物镜向下降至距标本 0.5 cm 处, 用眼从目镜处观察, 同时转动粗调节器使镜筒慢慢升起, 待看到物象时, 再用细调节至清晰看见为止(初

学者要注意分辨聚光器上或载物片或镜头上面的灰尘,以免误认为待观察物)。

6. 高倍镜观察 在低倍镜下观察到的物体用推动器移至视野中心,然后移动转换器,将高倍镜直接转到镜筒下方,然后由接目镜观察,调节光圈及聚光器获得适当的照明,再转动细调节器可看见物象(不要转动粗调节器)。并将要观察部分移至视野中央。

7. 油镜的使用 油镜的工作距离(指物镜前透镜的表面到被检物体之间的距离)很短,一般在0.2 mm以内,再加上一些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。

(1)用粗调节器将镜筒起约2 cm,将油镜转至镜筒下方,加液体蜡(香柏油)一滴于载玻片所要观察的部位上。

(2)用粗调节器轻轻将镜筒转下,此时应从显微镜侧方注意观察,使油镜浸入油中,并与标本片几乎相接触为止。

(3)调节聚光器、光圈,使得照明适宜,然后将粗调节器轻轻向后转动,使镜筒极其缓慢地上升,至能见到模糊物象为止。

(4)转动细调节器,使物象完全清晰。如上升时油镜已离开油面,仍未见到物象,必须再从侧面注视,将油镜降下,重复操作,直到看清物象为止。必须用粗调节器找到模糊物象后再用细调节器调节至物象清楚,否则禁止用细调节器。

(5)油镜使用完毕后,将镜筒升起,取下载玻片,用一片擦镜纸擦镜头上的油,如用香柏油则再用一片擦镜纸沾二甲苯(或苯)少许擦沾在镜头上的残存油渍。然后再用干净的擦镜纸小心地将二甲苯擦干净,以免黏合透镜的树脂或麻仁油溶解而损坏镜头。

(6)显微镜使用完毕后,应将镜头转成“八”字式,或将最低倍数镜头转至镜筒下方,再降下镜筒与聚光器,放平反光镜,拭去灰尘,归置箱中。

(7)显微镜应放在干燥阴凉的地方,不要放在强烈日光下照射。潮湿季节要经常擦镜头,或在镜匣内放上干燥剂硅胶,以免长霉而损坏镜头。

(六) 思考题

1. 用油镜观察时应注意哪些问题? 在载玻片和镜头之间加滴什么油? 起什么作用?
2. 试列表比较低倍镜、高倍镜及油镜各方面的差异。为什么在使用高倍镜及油镜时应特别注意避免粗调节器的错误操作?

(何群力 李 敏)