

高等医学院校基础医学实验教学改革系列教材

病原生物免疫学 实验教程

主编 © 高劲松 吴高莉

北京大学医学出版社

高等医学院校基础医学实验教学改革系列教材

病原生物免疫学实验教程

主 编 高劲松 吴高莉

副主编 李万峰 张 琼

编 者 (以姓名汉语拼音为序)

戴文辉 高劲松 方 绘 侯建伟 符清明

李万峰 刘洪娜 刘西霞 裴瑞青 吴 潇

吴高莉 吴海军 张 琼

北京大学医学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

病原生物免疫学实验教程/高劲松, 吴高莉主编. —北京:
北京大学医学出版社, 2014.8
高等医学院校基础医学实验教学系列教材
ISBN 978-7-5659-0906-1

I. ①病… II. ①高… ②吴… 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. ①R37-33②R392-33

中国版本图书馆CIP数据核字 (2014) 第163913号

病原生物免疫学实验教程

主 编: 高劲松 吴高莉

出版发行: 北京大学医学出版社

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

电 话: 发行部: 010-82802230; 图书邮购: 010-82802495

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京画中画印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 张彩虹 责任校对: 张雨 责任印制: 罗德刚

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 11.75 字数: 291 千字

版 次: 2014 年 8 月第 1 版 2014 年 8 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-0906-1

定 价: 26.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

高等医学院校基础医学实验教学改革系列教材

编审委员会

主 任 何彬生

副主任 卢捷湘 何建军 罗怀青 周启良

委 员 (以姓名汉语拼音为序)

何彬生 何建军 何月光 黄春霞 刘 佳

刘万胜 卢捷湘 罗怀青 罗桐秀 秦晓群

孙继虎 吴长初 谢应桂 袁爱华 曾 明

张子敬 周启良 祝继明 朱传炳

总策划 罗怀青

序

随着我国医学教育的不断深入,医学教育的目标已向培养高素质、强能力、具有创新精神的综合型人才的目标转变。医学实验教学是医学人才培养的重要环节,国内各高校对实验教学内容、教学方法和手段、管理体制等进行了大量的改革和探索。教育部在全国开展医学院校专业认证评估,把实验教学改革再次推向新的高度。

在医学教育认证标准中(WFME和IIME),课程整合是其中一项重要的观察指标,实验课程融合和教学改革是其中的重要部分。为加强学生动手能力培养,强化学生创新思维训练,有效开展实验课程的融合,促进医学人才质量的提高,适应医学专业认证评估的需要,长沙医学院开展了基础医学实验教学改革探索,并组织编写了本系列教材。

本系列教材的编写,综合了“本科医学教育国际标准”和“全球医学教育最低基本要求”两个国际医学教育标准,更加注重学生能力培养的个性化教学需求,注重创新思维和创新精神的培养,注重基础与基础、基础与临床的知识融合及知识运用能力的培养。

首先,对基础医学课程实验教学内容进行优化整合,形成形态学实验、机能学实验、生物化学与分子生物学实验、病原生物免疫学实验、化学实验等实验教学。

其次,实验项目按照“基础性实验”“综合性实验”“设计创新性实验”三大模块编写,精简了基础性实验和重复的实验项目,增加了“三性”实验项目,联系后续课程内容及临床,重点突出知识点的横向与纵向联系。

同时,融合最新的科研成果,将其转化为不同课程之间的综合性、创新性实验项目,有助于全面提升医学专业人才培养质量。

本次出版的基础医学实验教学改革系列教材是长沙医学院教育教学改革成果的重要组成部分,我们期盼着这些成果能够成为医学人才培养质量迈上新台阶的标志。

欢迎兄弟院校专家学者雅正指导!

何树生
2016年11月

前言

培养学生掌握病原生物学与免疫学研究的基本技能,提高科学素质及创新意识是对现代病原生物学与免疫学实验教学提出的要求。根据《教育部关于开展高等学校实验教学示范中心建设和评审工作的通知》(教高〔2005〕8号)精神,为使实验教学独立成为不依赖于理论教学的体系,将教学改革和科研成果融入实验教学中,有利于培养实践能力和创新精神强的创新型医学人才,长沙医学院基础医学院组织编写了有创新和改革,符合国家实验教学示范中心要求的高等医学院校基础医学实验教学改革系列教材,《病原生物免疫学实验教程》即为该系列教材之一。

随着长沙医学院实验教学体系的改革,将医学微生物学实验、医学寄生虫学实验和医学免疫学实验整合为病原生物免疫学实验。为有利于教学,将原《医学微生物学实验指导》、《医学寄生虫学实验指导》和《医学免疫学实验指导》三本实验教材内容整合为《病原生物免疫学实验教程》一本教材,对内容的编排也进行了较大调整。随着医学实验教学的改革,各医学院校都根据各自实验教学改革的特点,编写了相应的实验教材,故本实验教材主要是根据长沙医学院实验教学改革的体系和内容而编写。

本实验教材定位于本科实验教学,适合以五年制临床医学专业为主,兼顾预防、口腔、影像、药学、检验、护理等专业本、专科病原生物学与免疫学实验教学的需要。各专业可按照培养特点和要求,通过对不同板块的必选实验项目和自选实验项目相结合选修实验课程。

本实验教材内容结合长沙医学院教学改革和科研的实际,融入中南片区多个医学院校的相关科研成果,体现实用性和创新性。实验项目分以下三部分:

1. 基础性实验 为验证病原生物学与免疫学理论,加深学生感性认识的经典实验。
2. 综合性实验 为融合病原生物学与免疫学实验技术而设计的与临床实践密切结合的实验。
3. 设计创新性实验 结合长沙医学院近年开展的学生创新实验,为学生提供的一些与创新实验相关的项目,有利于学生在教师指导下,按照临床实践,根据所学的病原生物学与免疫学知识自行设计实验。

本实验教材的编写宗旨是使学生掌握病原生物学与免疫学的基本方法与基本操作技术;强化实验室生物安全意识,掌握无菌操作技术;加深学生对病原生物学与免疫学基本理论的理解与认识;培养学生独立操作、独立观察和思考、独立分析和解决实际问题的能力;增强学生的科技创新能力;培养学生严谨的作风、科学的方法和严肃认真的工作态度。

将实验教学独立成为不依赖于理论教学的体系是实验教学改革的新模式,本实验教材的编写是适应这一新模式的尝试,有待在教学实践中检验和改进。随着病原生物学与免疫学学科的发展,新的实验技术不断涌现,也需要在应用中加以补充。我们希望本实验教材的出版和使用能促进实验教学改革的探索,限于我们的水平和经验,难免有疏漏之处,殷切期望同道们不吝惠教。

高劲松 吴高莉

2014年6月20日

目 录

第一篇 基础知识

学生实验总则	2
--------------	---

第一章 常用实验器材的准备及仪器设备的使用	3
-----------------------------	---

第一节 常用实验器材的准备	3
---------------------	---

第二节 常用仪器设备的使用	4
---------------------	---

第二篇 基础性实验

第一章 病原生物学	27
-----------------	----

第一节 微生物形态的观察	27
--------------------	----

第二节 细菌涂片标本的制备及染色法	33
-------------------------	----

第三节 细菌的人工培养	39
-------------------	----

第四节 病毒的分离培养技术	50
---------------------	----

第五节 线虫常用检查方法与形态学观察	57
--------------------------	----

第六节 吸虫常用检查方法与形态学观察	68
--------------------------	----

第七节 绦虫常用检查方法与形态学观察	75
--------------------------	----

第八节 原虫及医学节肢动物形态学观察	80
--------------------------	----

第二章 医学免疫学	97
-----------------	----

第一节 凝集反应	97
----------------	----

第二节 沉淀反应——双向琼脂扩散试验	99
--------------------------	----

第三节 间接免疫荧光技术——抗核抗体的检测	102
-----------------------------	-----

第四节 酶联免疫吸附试验——双抗体夹心法检测乙肝病毒表面抗原	104
--------------------------------------	-----

第三篇 综合性实验

第一章 病原生物学.....	109
第一节 空气中微生物的杀灭方法.....	109
第二节 细菌的动力检查.....	111
第三节 细菌对抗生素敏感性试验.....	113
第四节 肠道杆菌的鉴定.....	119
第五节 钩端螺旋体的显微镜凝集试验.....	124
第六节 病毒血凝试验与血凝抑制试验.....	125
第七节 环卵沉淀试验.....	128
第八节 人面部螨虫的检查.....	130
第九节 蛙体内裂头蚴的检查.....	131
第十节 粪便标本中寄生虫虫卵的检查.....	133
第十一节 易与虫卵混淆的植物颗粒鉴定及带泥土蔬菜的虫卵检查.....	136
第二章 医学免疫学.....	139
第一节 中性粒细胞吞噬功能测定.....	139
第二节 淋巴细胞转化试验.....	141
第三节 Et 花环形成试验.....	143
第四节 肿瘤坏死因子的免疫学检测法.....	146
第五节 胶体金斑点层析技术检测早期妊娠.....	148

第四篇 设计创新性实验

第一章 病原生物学.....	153
第一节 奶粉中金黄色葡萄球菌的检验.....	153
第二节 乙肝病毒感染病例设计实验室诊断方法.....	154
第三节 乙胺嗪对淋巴丝虫病化学治疗的研究.....	154
第四节 大蒜籽浸液预防日本血吸虫尾蚴感染的实验研究.....	156
第二章 医学免疫学.....	159
第一节 肿瘤患者细胞免疫功能测定.....	159
第二节 多糖类免疫调节剂对正常或免疫功能低下小鼠免疫功能的影响.....	160
附录 常用试剂的配制.....	161
第一节 医学免疫学实验相关试剂的配制.....	161

第二节 医学寄生虫学实验相关试剂的配制.....	162
第三节 医学微生物学实验相关试剂的配制.....	170
主要参考文献.....	173

第一篇

基础知识

学生实验总则

1. 学生进入实验室工作与学习之前,须认真阅读本总则及实验室其他规章制度,并严格遵守。
2. 实验前应认真进行预习,明确实验目的和要求,了解所做实验的原理、所用仪器和注意事项,掌握实验内容、方法和步骤,以便正确地进行实验操作。
3. 任何人不得私自挪用实验室的仪器设备、标本等。实验时除指定使用的仪器外,不得随意动用其他仪器。
4. 学生在实验时必须按编定的组别和指定的席位就座,不得任意调动。应遵守上课时间,不得无故迟到、早退、缺席。因故不能上实验课者,应向指导教师请假,所缺实验课应及时补上。无故不参加实验者作旷课处理。
5. 进入实验室或其他实验场地,必须着实验服,保持安静,严禁喧哗、吸烟、吃零食、随地吐痰和乱扔纸屑,不准做与实验无关的事。
6. 实验前检查、清理好所需的仪器、用具等。如有缺损,应及时向指导教师报告,不得自己任意挪用,不准擅自将任何实验器材、试剂、药品等带出实验室。
7. 实验时,服从教师指导,按规定和步骤进行实验,认真操作、细心观察,真实地记录各种实验数据,不允许抄袭他人数据,不得擅自离开操作岗位。
8. 注意安全与防护,严格遵守操作规程。爱护仪器设备,节约水、电、试剂和药品等。实验结束后,废液、废渣、废气、标本及含病菌的其他材料要按指定要求处置,不得随意丢弃。
9. 在实验过程中如仪器设备发生故障,应立即报告指导教师及时处理。凡违反操作规程或不听从指导而造成仪器设备损坏等事故者,必须写出书面检查,并按学校有关规定处理。
10. 实验结束后,学生应负责将仪器整理还原,桌面、凳子收拾整齐。由值日学生打扫卫生并协助教师收拾整理试剂及仪器,经指导教师审核测量数据和仪器还原情况并同意后方可离开实验室。
11. 应在指导教师规定时间内上交实验报告。
12. 开放性实验一般安排在非实验课时间,学生可以结合自己的兴趣爱好,选择合适的时间段进行开放性实验操作。
13. 对课外开放实验所需的仪器设备,须经指导教师签字同意后办理借用手续,实验结束后及时归还。归还时,经实验室人员认真检查后,方可离开。如发现损坏、遗失,按学校有关规定处理。消耗材料的领用按实验室规定办理手续。

第一章 常用实验器材的准备及仪器设备的使用

第一节 常用实验器材的准备

病原生物学实验的各种器材在使用前后需要做相应的处理,否则易造成实验误差和实验环境的污染。用于病原生物学实验的器材可分为玻璃器皿、橡胶类物品、金属器械、塑料及有机玻璃类器皿四大类。各种器皿的准备过程大致为清洗、干燥、包装、消毒灭菌四个步骤。

一、清洗

(一) 玻璃器皿

病原生物学实验室内使用的玻璃器皿种类很多,如吸管、试管、烧瓶、培养皿、培养瓶、毛细吸管、载玻片、盖玻片、涂菌棒等,清洗后要求玻璃器皿透明干净,无油迹,不能残留任何有害物质及化学药品。

1. 新购入的玻璃器皿

新购入的玻璃器皿因常附有游离碱质,需先在 2% 盐酸溶液中浸泡数小时,以中和器皿上附着的游离碱质,然后用肥皂水或洗衣粉洗刷玻璃器皿的内外,再以清水反复冲洗数次,以除去遗留的酸质,最后用蒸馏水冲洗干净。

2. 使用过的玻璃器皿

凡被病原微生物污染的玻璃器皿,必须先进行严格的消毒灭菌。一般玻璃器皿可用 121.3°C , 20~30 min 高压蒸汽灭菌;载玻片、盖玻片、吸管及滴管等可浸泡于 2% 甲酚皂溶液或 5% 苯酚溶液中 24 h,然后高压蒸汽灭菌。灭菌后的玻璃器皿先用肥皂水或洗衣粉洗刷,再浸泡于由重铬酸钾与浓硫酸配制的清洁液中 24 h,然后以清水反复冲洗数次,最后用蒸馏水冲洗干净。

(二) 橡胶类物品

先用清水将橡胶类物品冲洗干净,然后用 2% 盐酸煮沸 15 min,再以清水反复冲洗数次,最后用蒸馏水冲洗干净。

(三) 金属器械

新购置的金属器械上常涂有防锈油,应先用蘸有汽油的纱布擦去油脂,再用清水冲洗干净,最后用酒精棉球擦拭。使用过的金属器械应先以清水煮沸消毒,再用酒精棉球擦拭干净。

(四) 塑料及有机玻璃类器皿

这类器皿通常为一次性商品, 若需反复使用, 其清洗方法是: 使用后立即浸泡以防干涸, 流水冲洗(不用刷洗), 然后浸泡于 2% 氢氧化钠溶液中 24 h, 以清水冲洗后再用 2% 盐酸浸泡 30 min, 清水反复冲洗数次, 最后用蒸馏水冲洗干净。

二、干燥

器皿可放在实验室通风处自然晾干; 玻璃器械还可以放入烤箱中在 80 ~ 120℃ 加速烘干, 待烤箱温度下降到 60℃ 以下时, 再取出器皿。

三、包装

经清洗、干燥后的器皿必须在灭菌前进行包装, 以避免使用前的再次污染。培养皿常用牛皮纸包裹; 吸管和移液管首先在管口塞入棉花少许(不得过紧或过松), 再用纸包裹后放入铝饭盒内灭菌。其他器皿如金属器械、涂菌棒、加塞的试管可直接装入铝饭盒内灭菌。

四、消毒灭菌

严格的消毒灭菌对微生物的分离培养至关重要。金属器械、玻璃器皿、橡胶类物品等耐高温、高压的器材, 均可采用高压蒸汽法灭菌(121.3℃, 20 ~ 30 min)。对于不耐高温、高压的器皿, 可用消毒液浸泡或 ^{60}Co 照射消毒。灭菌后的器皿须在 1 周内使用完, 过期应重新灭菌后使用。

第二节 常用仪器设备的使用

病原生物与免疫实验学是一门以实验为主体的学科, 要开展学科的教学必须具备一些基本实验条件。实验室常规配备的仪器种类很多, 下面仅就最常用的一些仪器和设备简要加以介绍, 主要包括显微镜、移液器、离心机、灭菌与除菌设备、无菌操作设备、培养箱、低温贮存设备等。

一、显微镜

显微镜(microscope)是一种光学放大仪器, 以显微原理进行分类, 可分为光学显微镜(光镜)与电子显微镜(电镜)两大类。

光学显微镜通常是以光束作为光源, 由机械部分、光源部分和光学部分组成, 目前最大放大倍率约为 2000 倍。光学显微镜的种类较多, 主要有明视野显微镜(普通光学显微镜)、暗视野显微镜、偏光显微镜、相差显微镜、微分干涉差显微镜、荧光显微镜、共聚焦激光扫描显微镜、倒置显微镜等。

电子显微镜则用电子束代替了光束,用电磁透镜代替了光学透镜,并使用荧光屏将肉眼不可见的电子束成像,目前其最大放大倍率可超过 300 万倍。电子显微镜的分辨本领虽已远胜于光学显微镜,但因其需在真空条件下工作,所以很难用于观察活的生物,而且电子束的照射也可能使生物样品受到辐射损伤,因此在使用上受到一定的局限。电子显微镜主要分为透射电子显微镜、扫描电子显微镜、反射电子显微镜和发射电子显微镜等。

目前实验室常规使用的主要是普通光学显微镜。

(一) 普通光学显微镜

1. 基本结构

按镜筒数目,可将普通光学显微镜分为单筒、双筒、多筒显微镜;按光源不同,可分为反光镜光源与自带光源显微镜;按调节方式不同,可分为镜筒调节式、载物台调节式显微镜,但其基本结构均相似(图 1-1-1),通常包括机械部分、光源部分和光学部分。单筒反光载物台调节式显微镜因其具有造价较低,无需电源,使用简单,易于维修,携带方便等优点,目前使用较为普及。现以此为例进行介绍。



图 1-1-1 普通光学显微镜

(1) 机械部分

镜筒:为显微镜上部圆形中空的长筒,筒口上端安装目镜,下端与物镜转换器相连。其作用是保护成像的光路与亮度。

1) 转换器:固着在镜筒下端,分为两层,上层固着不动,下层可自由转动。转换器上有 2~4 个圆孔,用来安装不同倍数的低倍或高倍物镜。

2) 粗准焦螺旋:为可以转动的旋钮,可通过升降载物台(通常位于镜柱)或升降镜筒(通常位于镜臂),达到调节焦距的作用。一般以载物台调节式多见。

3) 细准焦螺旋:为较粗准焦螺旋小的旋钮,通常位于粗准焦螺旋内或附近,它的移动范围较粗准焦螺旋小,可以细调焦距。

4) 镜座:是位于镜臂的下方、显微镜的底部,呈马蹄形的金属座,用以稳固和支持镜身。

5) 镜柱:是从镜座向上直立的短柱,上连镜臂,下连镜座,可以支持镜臂和载物台。

6) 倾斜关节:镜柱和镜臂交界处有一个能活动的关节,即为倾斜关节,它可以使显微镜在一定范围内后倾(一般倾斜不得超过 45°)而便于观察。但是在使用临时封片观察时,禁止使用倾斜关节,尤其是装片内含酸性试剂时严禁使用,以免污损镜体。

7) 载物台:为从镜臂向前方伸出的金属平台,呈方形或圆形,是放置玻片标本的地方。其中央具有通光孔,在通光孔的左、右有一个弹性的金属压片夹,用来压住载玻片。载物台上通常具有推进器,它包括夹片夹和推进螺旋,除用以夹切片外,还可使切片在载物台上移动。

(2) 光源部分 通常用日光或灯光为光源,其波长约为 $0.5\ \mu\text{m}$ 。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形象为 $200\ \mu\text{m}$,故用油浸镜放大 1 000 倍,能将 $0.25\ \mu\text{m}$ 的微粒放大到 $250\ \mu\text{m}$,肉眼可以看清。一般病原生物都大于 $0.25\ \mu\text{m}$,故用普通光学显微镜均能看到。以下部件参与光源的调节:

1) 反光镜：非自带光源的显微镜在镜座上面有一个一面平、另一面凹的双面圆镜，可做各种方向的翻转，光线较强时使用平面镜，反之使用凹面镜。

2) 聚光器：由凹透镜组成，它可以集中反光镜投射来的光线。在镜柱前面有一个聚光器调节螺旋，它可以使聚光器升降，用以调节光线的强弱，下降时明亮度降低，上升时明亮度加强。

3) 虹彩光圈：又称可变光阑，由多个金属片组成，位于聚光器下方，与聚光器连为一体，随聚光器的升降而升降。使用时移动其把柄，可控制聚光器透镜的通光范围，用以调节光的强度。虹彩光圈下常附有金属圈，其上装有滤光片，可调节光源的色调。

4) 遮光器：简单的显微镜无聚光器和虹彩光圈，而装有遮光器。遮光器呈圆盘状，上面有大小不等的圆孔（光圈）。光圈对准通光孔，可以调节光线的强弱。

(3) 光学部分

1) 目镜：它是安装在镜筒上端的镜头，由一组透镜组成，它可以使物镜成倍地分辨、放大物像，例如 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 、 $20\times$ 。通常使用放大 10 倍（ $10\times$ ）的目镜。

2) 物镜：是决定显微镜质量的关键部件，安装在转换器的孔上，也由一组透镜组成，能够把物体清晰地放大。一般有 3 个放大倍数不同的物镜，即低倍物镜（ $8\times$ 或 $10\times$ ）、高倍物镜（ $40\times$ 或 $45\times$ ）和油浸物镜（ $90\times$ 或 $100\times$ ）。根据需要可选择一个使用。

显微镜的放大倍数是目镜倍数乘以物镜倍数。例如，通过低倍目镜（ $10\times$ ）和高倍物镜（ $40\times$ ）观察标本时，其实际放大倍数为 $10\times 40=400$ 倍。

2. 成像原理

显微镜的成像原理（放大原理）是：光线→反光镜→遮光器→通光孔→标本（一定要透明）→物镜（第一次放大成倒立实像）→镜筒→目镜（再放大成虚像）→眼。

3. 使用与维护

(1) 低倍镜与高倍镜观察

1) 安放显微镜：右手紧握镜臂，左手平托镜座，将显微镜轻放于实验台面，距离实验台边缘几厘米处，让目镜对着观察者。检查各部件状况，擦拭镜身、镜头后方可开始使用。

2) 调光：旋转镜头转换器，使低倍镜头对准载物台上的通光孔。升高聚光器，先打开光源电源，再打开光圈。然后调节光量，使视野内的亮度达到明暗适宜。

3) 安放标本片：将玻片标本放在载物台上的卡槽内，使有盖玻片的一面朝上，将被检材料移至通光孔下的聚光器透镜的中央，并用压片夹卡紧。

4) 调焦和观察：转动粗准焦螺旋调节物镜与载物台的距离，从侧面注视，以两者间的距离为 5 mm 为度。然后自目镜观察，慢慢转动粗准焦螺旋，使载物台下降，直到基本看清标本物像，再轻轻转动细准焦螺旋，以得到清晰的物像。在低倍镜下看清目标后，可用高倍镜进一步仔细观察。将低倍镜下看到的目标移动至视野中央，转动镜头转换器，将高倍物镜转至工作位置，适当调节亮度后，只需微调细准焦螺旋，就能看到更清晰的物像。

(2) 油镜观察 因细菌、原虫等病原生物体积小，必须使用显微镜油镜头，放大 1000 倍左右才能看见。但因油镜头小，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。但在载玻片上加入折光率与玻片（ $n=1.52$ ）相近的香柏油（ $n=1.515$ ）或液状石蜡（ $n=1.48$ ）后，就将玻片与油镜头连接起来，光线基本不折射而全部进入油镜头内，便可获得足够的亮度和清晰的物像。操作如下：

- 1) 保持载物台水平：勿将镜臂弯曲，以免镜油流散。
- 2) 调光：先使用低倍镜对光，对光时应注意使对光效果达到最好，应将反光镜调节到凹面镜，将聚光器调节到最高处，将虹彩光圈的通光孔调到最大。
- 3) 认清油镜头：油镜头上刻有 $90\times$ 、 $100\times$ 及 Oel 或 Oil 等字样，认清后转至工作位置。
- 4) 加油：看清染色标本的涂膜面及部位后（可先在低倍镜下观察），移动标本片使待观察区域处于油镜头正下方，在待观察区域滴一小滴镜油（香柏油）。
- 5) 调焦点：从侧面注视油镜头，轻轻转动粗准焦螺旋，使载物台缓慢上升，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！然后自目镜观察，慢慢转动粗准焦螺旋，使载物台缓慢下降，待看到模糊物像时转动细准焦螺旋，直到视野中物像清晰识别为止。若镜头已离开油滴，仍未看清物像，则应重新依顺序进行调焦。

(3) 显微镜的复原 显微镜使用完毕后，下降载物台，取下标本片。若使用了油镜，应立即用擦镜纸把油镜和玻片上的镜油擦拭干净，再用擦镜纸蘸少许二甲苯擦拭，然后用另一张干净擦镜纸拭去镜头和玻片上残留的二甲苯。关闭光圈，下降聚光器和载物台，并将镜头叉开成“八”字，使每一个物镜都不对准通光孔，然后放回箱内。

4. 注意事项

- (1) 取镜时，一定要一手握镜臂，一手托镜座，切勿单手斜提，以免碰坏显微镜或零部件脱落。
- (2) 显微镜不可放置在实验台边缘，以防碰翻落地。
- (3) 使用前要检查，如发现缺损，或使用损坏，应立即报告指导教师。
- (4) 放置玻片标本时，应将盖片的一面向上，否则使用高倍镜和油镜时将找不到物像，同时又易损坏玻片标本和镜头。临时制片要加盖片，由于含有水分，易于流动，镜台须平放。观察永久玻片标本时，倾斜关节不得超过 45° ，因事离开座位时，必须将倾斜关节复原。
- (5) 不得随意取出目镜或拆卸零部件，以防灰尘落入或丢失、损坏等。
- (6) 使用显微镜时，应该养成正规操作的习惯，两眼睁开，两手并用，边观察，边记录和绘图等。
- (7) 注意维护显微镜清洁。机械部分如有灰尘、污物等可用绸布擦拭干净。光学和光源部分的镜面，只能用擦镜纸轻轻擦拭，切不可用手指、手帕和绸布等擦摸，以免磨损镜面。

(二) 暗视野显微镜

暗视野显微镜（图 1-1-2）的原理是将光学显微镜上的明视野聚光器换成特制的暗视野聚光器，使反光镜反射过来的光线不能进入镜筒，故背景视野变暗。光线只能从暗视野聚光器周围边缘斜射到菌体上，由于散射作用而使菌体发光，反射到物镜映入眼中。在暗视野中看到的物体映光发亮，易于观察不染色活菌，故此法又称为暗视野映光法，常用于检查活细菌、螺旋体及其动力。

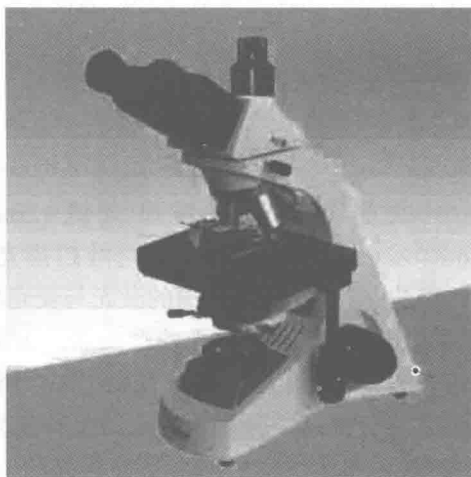


图 1-1-2 暗视野显微镜