

# 兽医病理解剖学

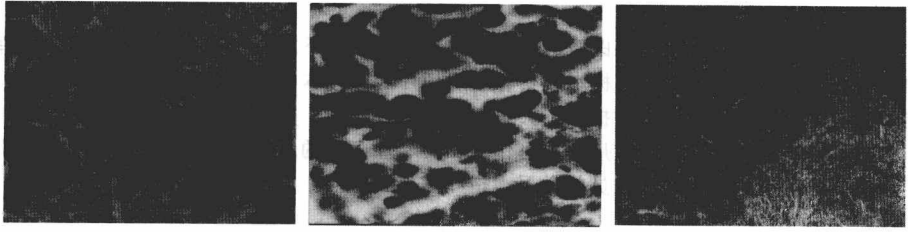
## 实验技术

SHOUYI BINGLIJIEPOUXUE  
SHIYAN JISHU

▶ 马德星 主编 李广兴 主审



化学工业出版社  
生物·医药出版分社



# 兽医病理解剖学

## 实验技术

SHOUYI BINGLIJIEPOUXUE  
SHIYAN JISHU

▶ 马德星 主编 李广兴 主审

730mm×1000mm 1/16 印张 13.5 字数 592 千字 2008年9月北京第1版第1次印刷



化学工业出版社  
生物·医药出版分社  
北京

购书热线: 010-64518888 邮购部电话: 010-64518890

网址: <http://www.cip.com.cn>

凡购书50元以上, 均可获赠电子版, 数量有限, 送完即止。



本书分两篇。上篇介绍了兽医解剖学的实验基础知识。下篇介绍了兽医解剖中各种器官、组织的创伤、损害、炎症、病变等标本观察和组织切片观察。本书紧密贴合兽医解剖学实验、研究和实际工作需要, 病例典型, 并提供了大量组织学病理彩图, 方便学习和记忆。

本书可供本学科配套教学使用, 也可作为相关专业师生的参考用书, 还可作为兽医基层人员和实际从事畜禽疾病剖检诊断人员的学习、指导用书。

### 图书在版编目 (CIP) 数据

兽医病理解剖学实验技术/马德星主编.—北京: 化学工业出版社, 2009. 8

ISBN 978-7-122-05979-6

I. 兽… II. 马… III. 兽医学: 病理解剖学-实验-基本知识 IV. S852.31-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 099597 号

---

责任编辑: 邵桂林 史 懿

装帧设计: 韩 飞

责任校对: 陈 静

---

出版发行: 化学工业出版社 生物·医药出版分社 (北京市东城区青年湖南街 13 号  
邮政编码 100011)

印 装: 化学工业出版社印刷厂

720mm×1000mm 1/16 印张 12 $\frac{3}{4}$  字数 295 千字 2009 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

---

购书咨询: 010-64518888(传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

---

定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

# 编 审 人 员

主 编 马德星（东北农业大学）

参编人员（以姓氏笔画为序）

危延武（哈尔滨兽医研究所）

宋春林（东北农业大学）

张瑞莉（东北农业大学）

贺文琦（吉林大学）

唐雨顺（辽宁医学院）

主 审 李广兴（东北农业大学）

# 前 言

兽医病理解剖学是兽医科学的一门基础学科，在兽医临床疾病诊断和兽医科学研究方面均具有重要的作用。兽医病理解剖学实验课程中大体标本观察和组织切片观察是兽医病理解剖学的重要教学手段。本书正是根据兽医病理解剖学理论与实验教学要求编写的，可作为高等农林院校兽医学，畜牧学等专业的本科生实验教材和研究生参考教材。既适合本学科配套教学使用，又为各专业研究生从事与病理相关的研究课题提供了有价值的参考。同时该书也适用于兽医基层人员的培训和作为实际从事畜禽疾病剖检诊断人员的参考书籍。全书共分两篇，即基础篇（上篇）和实验篇（下篇），基础篇共七章，实验篇共十六章，根据教学、科研和实际生产需要，分别从基本病理、器官系统病理、传染病病理、寄生虫病理四个大方面安排一些基本的和实用性强的实验项目。

在兽医教学、临床诊疗及科学研究工作中，图像占有非常重要的地位，因此在本书的附图部分，提供了一定数量的组织学病变彩色图片，图片清晰，病变典型，并且相应地对病理组织学变化进行了具体描述，便于学生掌握和记忆。此外，考虑到本书编写的前瞻性，我们补充了一些近年来兽医病理学诊断及实验研究技术的新进展，以开拓学生的思维能力，更好地满足学生、教师和兽医临床工作者的需要。

本书编写人员均为多年从事兽医病理工作的一线人员，由东北农业大学马德星主编，其他参编人员有张瑞莉（东北农业大学）、宋春林（东北农业大学）、危延武（哈尔滨兽医研究所）、唐雨顺（辽宁医学院）、贺文琦（吉林大学），具体撰写分工如下。

上篇：第一章、第二章、第三章（唐雨顺），第四章（马德星），第五章（贺文琦），第六章（危延武），第七章（贺文琦）。

下篇：第八章至第十七章（马德星），第十八章（宋春林），第十九章（张瑞莉），第二十章和第二十一章（马德星），第二十二章（张瑞莉），第二十三章（张瑞莉）。

附录1（宋春林），附录2（马德星）。

马德星负责全书统稿以及附录图片的采集与整理，与参编人员共同对全书进行了校对和修改。全书由国家重点学科基础兽医学-兽医病理学教研室李广兴教授进行主审。

在此书的编写过程中，参编人员付出了极大的努力，反复讨论和修改后定稿，旨在使本书特色鲜明，在教学和实践工作中发挥作用。相信本书出版后会受到国内各农业院校同行及师生们的欢迎。

因近十年来，国内尚无公开发行的关于兽医病理解剖学实验技术方面的书籍，加之编写人员水平有限，难免有不足之处，敬请同行专家和广大读者批评指正，以使本书在使用中不断完善和提高。

马德星

2009年4月于马家花园

# 目 录

绪论 .....	1
----------	---

## 上篇 兽医病理解剖学实验基础知识

<b>第一章 光学显微镜与显微摄影技术 .....</b>	<b>3</b>
第一节 普通光学显微镜技术 .....	3
第二节 常用特殊光学显微镜 .....	7
第三节 显微摄影技术 .....	9
<b>第二章 兽医病理剖检术式和顺序 .....</b>	<b>12</b>
第一节 尸体剖检的概述 .....	12
第二节 家畜尸体剖检术式和顺序 .....	15
第三节 家禽尸体剖检术式和顺序 .....	23
第四节 检查方法 .....	25
<b>第三章 病理眼观标本制作与观察 .....</b>	<b>30</b>
第一节 眼观标本制作技术 .....	30
第二节 原色标本制作技术 .....	32
第三节 眼观标本观察和诊断 .....	33
<b>第四章 病理组织切片的制作与观察 .....</b>	<b>36</b>
第一节 石蜡组织切片制作技术 .....	36
第二节 冰冻切片制作技术 .....	44
<b>第五章 组织病理学染色技术 .....</b>	<b>46</b>
第一节 概述 .....	46
第二节 组织病理学常规染色技术 .....	51
第三节 组织病理学特殊染色技术 .....	57
<b>第六章 免疫组织化学技术 .....</b>	<b>75</b>
第一节 免疫荧光组织化学技术 .....	75
第二节 免疫酶组织化学技术 .....	77
<b>第七章 病理学实验技术进展 .....</b>	<b>82</b>
第一节 形态计量与图像分析技术 .....	82
第二节 原位杂交技术 .....	84
第三节 流式细胞分析技术 .....	91
第四节 芯片技术 .....	94
第五节 激光共聚焦显微镜技术 .....	102

<b>第八章</b>	<b>局部循环障碍</b> .....	105
	第一节 局部血液循环障碍 .....	105
	第二节 组织液循环障碍——水肿 .....	109
<b>第九章</b>	<b>细胞和组织的损伤</b> .....	112
	第一节 萎缩 .....	112
	第二节 变性 .....	114
	第三节 病理性物质沉着 .....	118
	第四节 坏死 .....	120
	第五节 梗死 .....	121
<b>第十章</b>	<b>细胞和组织的适应性反应</b> .....	124
	第一节 增生与肥大 .....	124
	第二节 创伤愈合 .....	125
	第三节 机化和包囊形成 .....	126
<b>第十一章</b>	<b>炎症</b> .....	128
	第一节 变质性炎 .....	128
	第二节 渗出性炎 .....	128
	第三节 增生性炎 .....	131
<b>第十二章</b>	<b>肿瘤</b> .....	133
<b>第十三章</b>	<b>心脏血管系统病理</b> .....	136
	第一节 心包炎 .....	136
	第二节 心肌炎 .....	137
	第三节 心内膜炎 .....	138
<b>第十四章</b>	<b>呼吸系统病理</b> .....	140
	第一节 肺炎 .....	140
	第二节 肺气肿 .....	142
<b>第十五章</b>	<b>消化系统病理</b> .....	144
	第一节 胃炎与肠炎 .....	144
	第二节 中毒性肝营养不良 .....	145
	第三节 肝炎 .....	146
	第四节 肝硬化 .....	147
<b>第十六章</b>	<b>泌尿系统病理</b> .....	149
	第一节 肾小球肾炎 .....	149
	第二节 化脓性肾炎与间质性肾炎 .....	151
<b>第十七章</b>	<b>造血和淋巴系统病理</b> .....	153
	第一节 淋巴结炎 .....	153
	第二节 脾炎 .....	154
<b>第十八章</b>	<b>神经系统病理</b> .....	156

	第一节 非化脓性脑炎 .....	156
	第二节 化脓性脑炎 .....	157
<b>第十九章</b>	<b>代谢病及中毒病病理 .....</b>	<b>158</b>
	第一节 白肌病 .....	158
	第二节 纤维性骨营养不良 .....	159
<b>第二十章</b>	<b>病毒性传染病病理 .....</b>	<b>160</b>
	第一节 猪瘟 .....	160
	第二节 马传染性贫血 .....	161
	第三节 狂犬病 .....	162
	第四节 鸡白血病 .....	163
	第五节 鸡马立克病 .....	164
<b>第二十一章</b>	<b>细菌性传染病病理 .....</b>	<b>166</b>
	第一节 猪丹毒 .....	166
	第二节 猪巴氏杆菌病 .....	167
	第三节 禽霍乱 .....	168
	第四节 沙门菌病 .....	169
	第五节 结核病 .....	171
	第六节 副结核病 .....	173
	第七节 鼻疽 .....	174
<b>第二十二章</b>	<b>寄生虫病病理 .....</b>	<b>176</b>
	第一节 鸡球虫病 .....	176
	第二节 猪弓形体病 .....	177
<b>第二十三章</b>	<b>支原体性疾病病理 .....</b>	<b>179</b>
<b>附录 1</b>	<b>剖检记录 .....</b>	<b>181</b>
<b>附录 2</b>	<b>组织学彩色图片 .....</b>	<b>183</b>
<b>参考文献</b>	<b>.....</b>	<b>193</b>



# 绪 论

## 一、动物病理解剖学的内容和任务

动物病理学包括动物病理解剖学和动物病理生理学两门科学，它是兽医科学的基础理论学科之一。

### 1. 动物病理解剖学的概念

动物病理解剖学是兽医科学的一门基础学科，它的任务是通过研究发病动物器官和组织发生的形态结构方面的变化，来阐明病理过程和疾病发生、发展和转归的基本规律，为诊断和分析疾病以及防治疾病提供科学的理论依据。

动物的疾病种类繁多，不同种类动物各有其特殊的疾病。不同的疾病各有其特定的原因、发生机理和病理变化，即疾病各有其特殊性。病理解剖学研究各种疾病的特殊性，同时更重要的任务是通过观察和分析各种疾病的特殊性，进而探讨它们之间包含的一些共同性规律，即病理过程，并且掌握病理过程和疾病的一般规律，为临床诊断实践奠定理论基础。例如，在临诊上经常见到肺炎、脑炎、胸膜炎和关节炎等疾病，它们各有其特殊的病理变化，互不相同。但它们都属于炎症性疾病，凡是炎症性病理过程都是由组织损伤、血液循环障碍和渗出以及增生三方面的变化组成，其本质都是机体防御、适应和代偿的局部表现，这就是一切炎症性病理变化的基本规律和本质。不同的炎症之间只是由于上述三方面变化比例程度不同而表现出其特殊性，但其本质有共同的规律性。

### 2. 动物病理解剖学的内容

动物病理解剖学包括总论和各论两大部分。总论部分是阐述在各种疾病中可发生的病理形态学变化，即基本病理过程。包括局部血液循环障碍、细胞和组织损伤、细胞和组织的适应性反应、炎症、肿瘤和败血症。各论部分包括器官系统病理、传染病病理、寄生虫病病理和霉菌病病理。它是按照临床病理原则对器官系统的疾病进行综合性描述，而且对那些由特异性病因引起的疾病，如传染病和寄生虫病，还以疾病为单位阐述。但必须指出，动物病理解剖学的任务是研究疾病的基本规律，各论中只能选择那些有代表性的疾病，要想对现有动物疾病毫无遗漏地一一介绍，既没必要，而且实际上也不可能。

## 二、动物病理解剖学在兽医科学中的地位

动物病理解剖学是一门理论性和实践性较强的学科，为了学好这门课程，有必要掌握有关的基础学科理论和技术，包括动物解剖学、动物组织与胚胎学、动物生物化学、动物生理学、兽医微生物学与免疫学，掌握了这些知识，才能学好动物病理解剖学。另外，动物病理解剖学的任务在于阐明动物疾病的基本规律，这些基本规律的理论和技术，是进一步学习各门临床学科，包括内科学、外科学、产科学、传染病学和寄生虫学的基础。因此动物病理解剖学是动物医学专业各门学科的桥梁学科，起着承前启后的

作用。

此外，动物病理解剖学在比较医学中阐明人与动物之间的疾病关系方面有重要作用，特别是利用动物进行疾病研究，即实验病理学，为医学和动物学的发展做出了重要的贡献。

### 三、动物病理解剖学的研究方法和指导思想

动物病理解剖学是一门形态科学，应用动物解剖学和动物组织学方法为其基本研究手段。改进形态学研究手段，可以深入地理解相应结构的生理意义，从而扩展形态学材料的范围，帮助我们去揭示生理和病理过程与形态过程、机能与结构、形式与内容之间的联系，分析和阐明疾病的规律。

近年来，生物科学在生物化学、物理化学、免疫学、遗传工程学和分子生物学等领域取得了飞跃的进展，电子显微镜等新技术的出现和应用，由以细胞为单位的细胞生物学研究，跃进到构成细胞各种成分的超微结构的研究，即分子生物学领域，为动物病理解剖学的研究和发展开辟了广阔的途径。

学习动物病理解剖学和其他学科一样，必须遵循自然界客观规律性来认识和分析疾病中呈现的各种现象，从中分析归纳其固有的规律。

# 上篇 兽医病理解剖学实验基础知识

## 第一章 光学显微镜与显微摄影技术

### 第一节 普通光学显微镜技术

有机体微细结构、细胞内物质分布及细胞有关功能活动必须借助显微镜才能观察到。熟悉显微镜并掌握其操作技术是研究微生物不可缺少的手段。

显微镜可分为电子显微镜和光学显微镜两大类。光学显微镜包括：明视野显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜、偏光显微镜、荧光显微镜、立体显微镜等。其中明视野显微镜为最常用普通光学显微镜，其他显微镜都是在此基础上发展而来的，基本结构相同，只是在某些部分做了一些改变。本节主要介绍明视野显微镜。

#### 一、显微镜的构造

普通光学显微镜的构造可以分为机械系统、照明系统和光学系统三大部分（图1-1）。

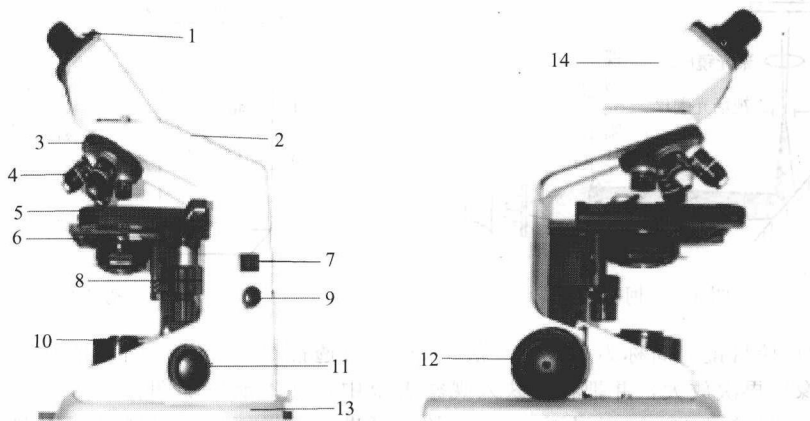


图 1-1 显微镜构造

- 1—目镜；2—镜臂；3—转换器；4—物镜；5—载物台；6—聚光器光阑；7—电源开关；8—载玻片移动钮；9—光亮调节钮；10—光源；11—细调焦旋钮；12—粗调焦旋钮；13—底座；14—镜筒

### 1. 机械系统

(1) 镜座 在显微镜的底部，呈马蹄形、矩形、三角形等。

(2) 镜臂 连接镜座和镜筒之间的部分，呈圆弧形，作为移动显微镜时的握持部分。

(3) 镜筒 位于镜臂上端的空心圆筒，是光线的通道。镜筒的上端可插入接目镜，下面可与转换器相连接。镜筒的长度一般为 160mm。显微镜分为直筒式和斜筒式；有单筒式的，也有双筒式的。

(4) 旋转器 位于镜筒下端，是一个可以旋转的圆盘，有 3~4 个孔，用于安装不同放大倍数的接物镜。

(5) 载物台 是支持被检标本的平台，呈方形或圆形。中央有孔可透过光线，台上有用来固定标本的夹子和标本移动器。

(6) 调焦旋钮 包括粗调焦旋钮和细调焦旋钮。

(7) 调节载物台或镜筒上下移动的装置。

### 2. 照明系统和光学系统

目前，几乎所有的中、高级显微镜都采用柯勒照明方式，即能使光源各点发出的光在通过样品时呈现平行光，使物面 A 得到均匀的照明，从而获得清晰的图像（图 1-2）。

(1) 接物镜 常称为镜头，简称物镜，是显微镜中最重要的光学原件之一，由许多块透镜组成。物镜标记见图 1-3。物镜作用是将标本上的待检物进行放大，形成一个倒立的实像，一般显微镜有 3~4 个物镜，根据使用方法差异可分为干燥系和油浸系两组。干燥系物镜包括低倍镜  $[(4\sim 10)\times]$  和高倍镜  $[(40\sim 45)\times]$ ，使用时物镜与标本之间的介质是空气；油浸系物镜  $[(90\sim 100)\times]$  在使用时，物镜与标本之间加有一种折射率与玻璃折射率几乎相等的油类物质（如香柏油）作为介质。此外，物镜又有消色差、半复消色差、复消色差、平场消色差、平场复消色差等类型。

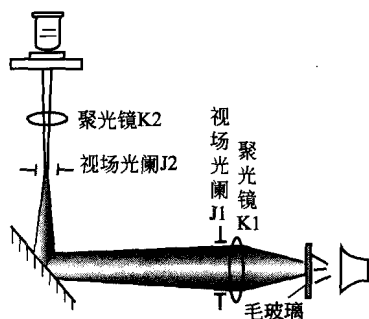


图 1-2 柯勒照明

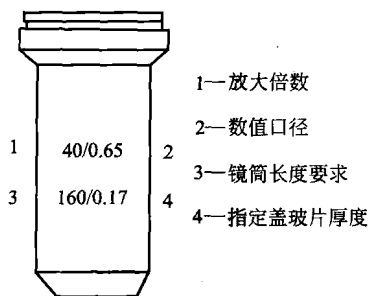


图 1-3 物镜标记

(2) 接目镜 简称为目镜，一般由 2~3 块透镜组成。其作用是把物镜放大的实像（中间像）再次放大，并把物像映入观察者眼中，并不能增加图像的分辨率。一般显微镜的标准目镜是 10 $\times$ ，也有应用 16 $\times$  的。可进行显微摄影的显微镜配有照相目镜，应当注意的是，进行显微摄影时，使用低倍照相目镜（2.5 $\times$ ，3.3 $\times$ ）和高倍放大物镜组合所成的照片要比用高倍照相目镜（6.7 $\times$ ）和低倍镜得到的同样放大倍率的照片清晰。

(3) 聚光镜 位于载物台的下方，由一组透镜组成，其作用是将由光源发散的光线有效的聚焦在标本上，以产生与物镜相适应的光束，提供较好的图像。聚光镜可以通过

位于载物台下方的聚光镜调节旋钮进行上下调节，以求得最适光度。聚光器还附有虹彩光圈，以调节锥形光柱的角度和大小，控制进入物镜的光量。

(4) 孔径光阑 孔径光阑位于聚光镜的下方，由十余块金属薄片组成，中央通光孔呈圆形，通光圆孔的大小可以通过移动光阑把手来调节，从而改变聚光镜的数值孔径。孔径光阑的作用是使图像的分辨率、反差和景深处于最佳状况。

(5) 反光镜 初级生物显微镜的标本直接用自然光源经反光镜反射后照明。反光镜是一个双面镜，一面是平面，另一面是凹面，起着把外来光线变成平行光线进入聚光镜的作用。中级以上的显微镜都具有内置光源，使用内置光源的显微镜就无需反光镜。

(6) 光源 日光和灯光均可，以日光较好，其光色和光强都比较容易控制，有的显微镜采用装在底座内的内置光源。

## 二、显微镜的成像原理

显微镜的放大作用是由物镜和目镜共同完成的。标本经物镜放大后，在目镜的焦平面上形成一个倒立实像，再经目镜进一步放大形成一个虚像，被人眼所观察到（图 1-4）。在油浸系中，载玻片与镜头之间多用香柏油作介质。因香柏油的折射率（ $n=1.51$ ）与玻璃的折射率（ $n=1.52$ ）几乎相等，故透过滤玻片的光线通过香柏油后，直接进入物镜，而不发生折射。两组物镜光线通路的区别如图 1-5 所示。

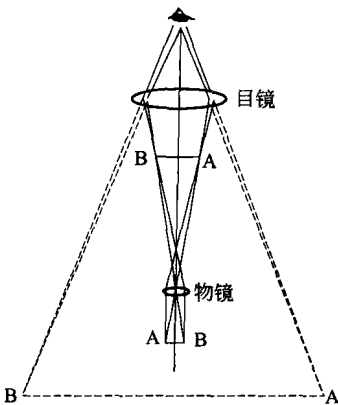


图 1-4 显微镜成像

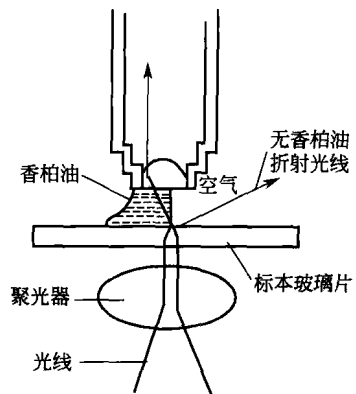


图 1-5 物镜光线通路

## 三、显微镜的重要光学技术参数

### 1. 分辨率和数值口径

衡量显微镜性能好坏的主要指标是显微镜的分辨率，显微镜的分辨率是指显微镜将样品上相互接近的两点清晰分辨出来的能力。它主要取决于物镜的分辨能力，物镜的分辨力是所用光的波长和物镜数值口径的函数。分辨率用镜头所能分辨出的两点间的最小距离表示，距离越小，分辨能力越好。可用公式(1-1)表示：

$$D = \frac{0.61\lambda}{NA} \quad (1-1)$$

式中  $\lambda$ ——光波波长。

物镜的数值口径简称为 N. A (NA)；表示从聚光镜发出的锥形光柱照射到观察标本上，能被物镜所聚集的量。可用公式(1-2)表示：

$$NA = n \sin \theta \quad (1-2)$$

式中  $n$ ——标本和物镜之间介质的折射率；

$\theta$ ——由光源投射到透镜上的光线和光轴之间的最大夹角。

光线投射到物镜的角度越大，数值口径就越大。如果采用一些高折射率的物质作介质，如使用油镜采用香柏油作介质，则数值口径增大，从而提高分辨能力。物镜镜筒上标有数值口径，低倍镜为 0.25，高倍镜为 0.65，油镜为 1.25。这些数值是在其他条件都适宜的情况下的最高值，实际使用时，往往低于所标示的值。

## 2. 放大倍数、焦距和工作距离

显微镜的放大倍数是物镜和目镜放大倍数的乘积。放大倍数一样时，由于目镜和物镜搭配不同，其分辨率也不同。一般来说，增加放大倍数应该是尽量用放大倍数高的物镜。物镜的放大倍数越大，焦距越短，物镜和样品之间的距离（工作距离）便越短。

## 四、显微镜的使用

### 1. 观察前的准备

取放显微镜时应一手握住镜臂，一手托住底座，使显微镜保持直立、平稳。置显微镜于平整的实验台上，镜座距实验台边缘 3~4cm。镜检时姿势要端正。

接通电源，根据所用物镜的放大倍数，调节光亮度调节钮、调节虹彩光圈的大小，使视野内的光线均匀、亮度适宜。转动粗调节螺旋，降低载物台或升高镜筒，旋转物镜转换器，将物镜头对准镜台孔，升高聚光镜，打开光圈。将观察的切片标本放在载物台上（盖片面朝上），固定好并将其移至中央。转动粗调节螺旋，升高载物台或降低镜筒，至物镜距玻片约 5mm 时，再缓慢降低镜台或升高镜筒，至看清图像为止。为使图像更清晰，可轻轻转动微调螺旋。用双筒目镜观察标本时，调节两瞳孔间的距离，应用双眼自目镜中观察，同时用双手握住两个目镜管，前后或左右移动，直到双眼看到一共同视野为止。

### 2. 显微观察

一般情况下，采用白炽灯为光源时，应在聚光镜下加一蓝色的滤色片，除去黄光，以缓解观察者眼睛疲劳。进行显微观察时应遵从低倍镜到高倍镜再到油镜的观察程序，因为低倍镜视野较大，易发现目标及确定检查的位置。

(1) 低倍镜观察 将做好的标本片固定在载物台上，用标本夹夹住，移动推进器使观察对象处于物镜的正下方。旋转物镜旋转器，将 10×物镜调至光路中央。旋转粗调旋钮将载物台升起，从侧面小心调节物镜接近标本片，然后用目镜观察，缓慢降载物台，待初见物像后，改用细调旋钮精细调焦，直至物像清晰。通过玻片夹推进器慢慢移动玻片，认真观察标本各部位并记录观察结果。调焦时应降载物台，以免误操失误损坏镜头。注意无论使用单筒显微镜或双筒显微镜均应双眼同时睁开观察，以减少眼睛的疲劳，也便于边观察边绘图记录。

(2) 高倍镜观察 在低倍镜下找到观察目标并将其移至视野中心，轻轻转动物镜转换器将高倍镜移至工作位置。对聚光镜光圈及视野光亮度进行适当调节后，微调细调旋钮使物像清晰，仔细观察并记录。如果高倍镜和低倍镜不同焦，则按照低倍镜的调焦方法重新调节焦距即可看清物像。

(3) 油镜观察 在高倍镜或低倍镜下找到观察目标，用粗调焦旋钮先降载物台，后将油镜转到工作位置。在待观察的样品区域加一滴香柏油，从侧面注视，用粗调旋钮将载物台小心地上升，使油镜浸在香柏油并几乎与标本片相接。将聚光镜升至最高位置并开足光圈。慢慢地降载物台至视野中出现清晰图像为止，仔细观察并做记录。

### 3. 显微镜的维护

① 搬动显微镜时应该用右手握持镜臂，左手托镜座，平贴胸前，以防撞碰。切勿用一只手斜提，前后摇摆。

② 使用前应检查显微镜的主要部件有无缺损；使用时要严格按操作程序，正确、缓慢地移动有关机械部分。

③ 观察结束后，先降载物台，取下载玻片。将各部分还原，将物镜转成“八”字形，同时把聚光镜降下，以免物镜和聚光镜发生碰撞危险。盖好防尘罩，放回原处。

④ 显微镜不宜直接暴露在阳光照射下，以免目镜、物镜脱胶而损坏。要放置在阴凉、干燥、无灰尘、无挥发性化学药品的地方。

⑤ 所有镜头均经校验，切勿自行拆卸，以免安装不当而影响观察效果。如镜头表面有灰尘，勿用口吹或手指抹擦，应用擦镜纸揩去；沾有污物时，用擦镜纸拭去镜头上的油，然后用擦镜纸蘸少许二甲苯擦去镜头上残留的油迹，再用干净的擦镜纸擦去残留的二甲苯。

⑥ 不要随便把目镜从镜筒中取出，以免灰尘落入棱镜或物镜上，不用时应盖上防尘罩。

⑦ 机械部分应保持顺滑灵活，无停滞现象，必要时可在滑动部分涂抹优质润滑油。

## 第二节 常用特殊光学显微镜

在光学显微镜中，除了普通光学显微镜外还有几种特殊光学显微镜，主要应用于一些特殊情况的观察，如暗视野显微镜、体视显微镜、荧光显微镜、相差显微镜、倒置显微镜、偏光显微镜等。现代特殊显微镜很多为集多功能为一体，如倒置相差显微镜、荧光倒置显微镜、相差生物显微镜等。

### 一、暗视野显微镜

暗视野显微镜又称为暗场显微镜，不具备观察物体内部的细微结构的功能，但可以分辨  $0.02 \sim 0.004 \mu\text{m}$  的微粒的存在和运动。因而常用于观察活细胞结构和细胞内微粒运动等。

暗视野显微镜基本原理是丁达尔效应。当一束光线透过黑暗的房间，从垂直于入射光的方向可以观察到空气里出现的一条光亮的灰尘“通路”，这种现象称为丁达尔效应。暗视野显微镜在普通的光学显微镜上换装暗视野聚光镜后，由于该聚光器内部抛物面结构的遮挡，照射在待检物体表面的光线不能直接射入物镜和目镜，而是照射标本后，在标本中微粒作用下发生散射，散射光中一部分进入物镜，因而在黑暗的背景上见到标本中微粒的闪烁光点。缺点是只能看到物体表面的轮廓和运动状态。

暗视野显微镜的基本使用方法如下。

① 安装暗视野聚光器，或用厚实的黑纸片制成遮光板，放在普通显微镜的聚光器下方。

② 选用强光源，一般用显微镜内置灯源照明，以防止直射光线进入物镜。

③ 在聚光器和玻片之间加一滴香柏油，以免照明光线于聚光镜上进行全反射，达不到被检物体，得不到暗视野照明。

④ 进行中心调节，即水平移动暗视野聚光器，使聚光器光轴与显微镜光轴严格位

于一直线上。升降聚光器，将聚光镜的焦点对准待检物。

⑤ 选用与聚光器相应的物镜，调节焦距，按普通显微镜的方法操作。

## 二、体视显微镜

体视显微镜又称实体显微镜或解剖镜，其成像为正立三维空间影像，并具有立体感强、成像清晰宽阔、长工作距离以及连续放大观看等特点。生物学上常用于解剖过程中实时观察。

普通光学显微镜的光源为平行光，因而形成的是二维平面影像；而体视显微镜采用双通道光路，双目镜筒中的左右两光束不是平行的，具有  $12^{\circ}\sim 15^{\circ}$  的夹角（体视角），因而能形成三维空间的立体图像。

体视显微镜与普通光学显微镜的使用方法相近，二者的主要区别在于：体视显微镜的镜检对象可不必制成装片；体视显微镜载物台直接固定在镜座上，并配有黑白双面板或玻璃板，操作者可根据镜检对象和要求加以选择；体视显微镜成像是正立的，便于解剖操作；体视显微镜的物镜仅一个，其放大倍数可通过旋转调节螺旋连续调节。

## 三、荧光显微镜

荧光显微镜是利用细胞内物质发射的荧光强度对其进行定性和定量研究的一种光学工具。细胞内的荧光物质有两类，一类直接经紫外线照射后即可发荧光，如叶绿素等；另一类物质本身不具这一性质，但如以特定荧光染料或荧光抗体染色，经紫外线照射后也可发出荧光。

荧光显微镜的高发光效率点光源（如超高压汞灯）经过滤色系统发出一定波长的光作为激发光，可以激发标本内的荧光物质发射出各色的荧光，通过物镜后面的阻断滤光片的过滤，最后经由目镜的放大作用加以观察。阻断滤光片的作用有：吸收和阻挡激发光进入目镜以免干扰荧光和损伤眼睛；选择并让特定的荧光透过，表现出专一的荧光色彩。

荧光显微镜按照光路原理可分为两种，即透射式荧光显微镜和落射式荧光显微镜。透射式荧光显微镜为旧式的荧光显微镜，其激发光源通过聚光镜穿过标本材料激发荧光。其优点是低倍镜时荧光强，缺点是随放大倍数增加其荧光减弱。落射式荧光显微镜的激发光从物镜向下落射到标本表面，即用同一物镜作为照明聚光器和收集荧光的物镜。光路中需加一个双色束分离器，它与光轴呈  $45^{\circ}$  角，激发光被反射到物镜中，并聚集在样品上，样品产生的荧光以及由物镜透镜表面、盖玻片表面反射的激发光同时进入物镜，返回到双色束分离器，使激发光和荧光分开，残余激发光再被阻断滤片吸收。如换用不同的激发滤片/双色束分离器/阻断滤片的组合插块，可满足不同荧光反应产物的需要。

## 四、相差显微镜

相差显微镜是能将光通过物体时产生的相位差（或光程差）转变为振幅（光强度）变化的显微镜。主要用于观察活细胞、不染色的组织切片或缺少反差的染色标本。

人眼只能鉴别可见光的波长（颜色）和振幅变化，不能鉴别相位变化。而大多数生物标本高度透明，光波通过后振幅基本不变，仅存在相位的变化。相差显微镜基本把透过标本的可见光的光程差变成振幅差，从而提高了各种结构间的对比度，使各种结构变得清晰可见。光线透过标本后发生折射，偏离了原来的光路，同时被延迟了  $(1/4)\lambda$ （波长），如果再增加或减少  $(1/4)\lambda$ ，则光程差变为  $(1/2)\lambda$ ，两束光合轴后干涉加强，振幅增大或减下，提高反差。



相差显微镜与普通显微镜相比，差别在于用环状光阑代替可变光阑；用带有相板的物镜取代普通物镜；此外，相差显微镜带有合轴调节用的中心望远镜。相差显微镜对光源要求较高。为获得满意相衬效果，要求标本要薄，并尽可能用单色光源。

### 五、倒置显微镜

倒置显微镜的结构和普通显微镜基本相同，只不过物镜与照明系统位置交换，前者在载物台之下，后者在载物台之上。主要用于培养的活细胞，浮游生物等无色透明活体标本进行显微镜观察。由于被检物体均浮游于培养皿（瓶）中或沉贴于培养皿（瓶）的底壁，导致物镜和聚光镜的工作距离加长，将物镜置于载物台下方，聚光镜和光源置于载物台上方，才可以直接对培养皿（瓶）中被检物体进行显微观察和研究。一般研究用倒置显微镜配置有 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $20\times$ 及 $40\times$ 相差物镜，特殊情况下可以加配荧光或偏光等附件。为更好地保持活体标本的生存状态，高级研究用倒置显微镜在载物台上加有有机玻璃罩并配置温度调节装置。倒置显微镜同样可以加配摄影、摄像附件。

### 六、偏光显微镜

偏光显微是鉴定物质细微结构光学性质的一种显微镜。偏光显微镜可用于检测具有双折射性的物质，双折射性是晶体的基本特征。偏光显微镜被广泛地应用在矿物、化学等领域。在生物学中，很多结构也具有双折射性，这就需要利用偏光显微镜加以区分。在植物学方面，如鉴别纤维、染色体、纺锤丝、淀粉粒、细胞壁以及细胞质与组织中是否含有晶体等。在人体及动物学方面，常利用偏光显微术来鉴别骨骼、牙齿、胆固醇、神经纤维、肿瘤细胞、横纹肌和毛发等。

和普通显微镜不同的是：偏光显微镜光源前配备两片偏光镜（起偏镜），使进入显微镜的自然光线为偏振光；自然光通过镜筒中检偏镜（一个偏振方向与起偏镜垂直的起偏器）后成为振动方向固定的平面偏振光，然后通过标本，穿过物镜，到达上偏光镜（检偏镜）进入目镜被观察；使用旋转载物台，当载物台上放入单折射物质时，无论如何旋转载物台，由于两个偏振片相垂直，显微镜里观察不到光线，而放入双折射性物质时，由于光线通过这类物质时发生偏转，因此旋转载物台便能检测到这种物体。

## 第三节 显微摄影技术

显微摄影技术是利用显微摄影装置来拍摄显微镜视野中所观察到的物像。动物病理、微生物、兽医临床实验室检查等都大量使用显微镜，其中大部分只有观察功能，对观察到的现象无法记录、保存及进行后处理。随着信息时代来临，今天电脑与相机已非常普及，人们就可以利用他们与显微镜组合起来，进行显微摄影。生物显微摄影技术是一项重要的技术，是再现显微视野中物像的最好方法，具有真实性和科学性。包括传统显微摄影技术和数码显微摄影技术两部分。

### 一、传统显微摄影技术

使用传统相机摄影时，将镜头去除，装在显微镜上，拍摄显微镜下看到的切片，或者使用专门的照相显微镜，有自己的专门片盒，可以拍35mm胶片，也可拍一次成像和4寸 $\times$ 5寸页片，对焦、光圈、曝光全在显微镜上操作完成，有一些摄影显微镜除了有连续照明外，甚至还有闪光灯和色温表。自动曝光系统既有多点测光，也可具有中心重点测光、曝光补偿、倒计数显示等功能，一应俱全。传统显微摄影有着和传统相机一样