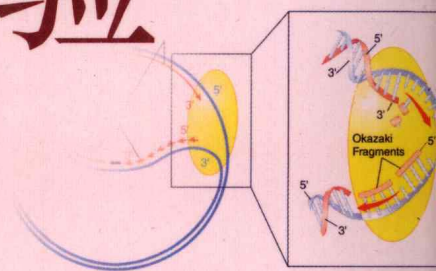
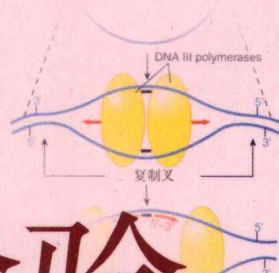





全国高等医药院校医学检验专业规划教材

临床 微生物学检验 实验指导



LINCHUANG
WEISHENGWU XUE
JIANYAN
SHIYANZHIDAO

主编 楼永良

 中国医药科技出版社

全国高等医药院校教材 供临床医学专业用

临床 微生物学检验 实验指导



主编 王洪强
副主编 王洪强 王洪强 王洪强
王洪强 王洪强 王洪强
王洪强 王洪强 王洪强

主编 王洪强

中国医药出版社

全国高等医药院校医学检验专业规划教材

临床微生物学检验实验指导

主 编 楼永良

副主编 张玉妥 王艾琳

秘 书 李 超

编 者 (以汉语拼音为序)

曹明耀 (河北工程大学医学院)

黄 彬 (中山大学中山医学院)

康 梅 (四川大学华西临床医学院)

李 超 (温州医学院)

李 惠 (上海交通大学)

刘晓春 (天津医科大学)

刘 勇 (中国医科大学)

楼永良 (温州医学院)

汤建中 (宁夏医科大学)

王艾琳 (北华大学)

杨维青 (广东医学院)

周铁丽 (温州医学院)

张玉妥 (河北北方学院)



中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书为全国高等医药院校医学检验专业规划教材之一,是《微生物学检验》的配套用书。全书分7单元,共32个实验。介绍了实验室规则和常用仪器设备,详细讲解了细菌学检验基本技术、常见病原菌的检验、常见病原性真菌的培养和鉴定、抗菌药物敏感性试验与耐药性检测、常见病毒检测技术以及常见临床标本的细菌学检验。书中配有操作示意图及微生物形态彩图,直观而实用;书末附有常用培养基、染液和试剂的配制方法及用途,便于查阅。

本书可供高等院校医学检验专业本科、专科师生实验使用,也可供从事临床检验工作和医学研究的技术人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

临床微生物学检验实验指导/楼永良主编. —北京:中国医药科技出版社, 2010. 2

全国高等医药院校医学检验专业规划教材

ISBN 978 - 7 - 5067 - 4532 - 1

I. ①临… II. ①楼… III. ①微生物学 - 医学检验 - 医学院校 - 教学参考资料 IV. ①R446. 5

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第239448号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲22号

邮编 100082

电话 发行: 010 - 62227427 邮购: 010 - 62236938

网址 www. cmstp. com

规格 787 × 1092mm $\frac{1}{16}$

印张 13 $\frac{1}{2}$

彩插 8

字数 265千字

版次 2010年2月第1版

印次 2010年2月第1版第1次印刷

印刷 北京地泰德印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4532 - 1

定价 29.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

全国高等医药院校医学检验专业规划教材 建设委员会

主任委员 丛玉隆 (解放军军医进修学院)

副主任委员 (以汉语拼音为序)

樊绮诗 (上海交通大学)

胡丽华 (华中科技大学)

刘新光 (广东医学院)

吕建新 (温州医学院)

王 前 (南方医科大学)

吴忠道 (中山大学)

姚 智 (天津医科大学)

尹一兵 (重庆医科大学)

委 员 (以汉语拼音为序)

陈育民 (河北工程大学)

洪秀华 (上海交通大学)

胡建达 (福建医科大学)

胡翊群 (上海交通大学)

李咏梅 (北华大学)

刘 辉 (大连医科大学)

刘成玉 (青岛大学)

吕世静 (广东医学院)

王 辉 (新乡医学院)

徐克前 (中南大学)

姚群峰 (湖北中医学院)

张进顺 (河北北方学院)

吴俊英 (蚌埠医学院)

郑铁生 (江苏大学)

秘 书 长 王应泉 (中国医药科技出版社)

办 公 室 解秀兰 (中国医药科技出版社)

浩云涛 (中国医药科技出版社)

王宇润 (中国医药科技出版社)

出版说明

全国高等医药院校医学检验专业规划教材是由全国高等医药院校医学检验专业规划教材建设委员会组织规划,全国数十所医药院校积极参与编写和使用,中国医药科技出版社出版的全国性医学检验专业教材。本套教材是国内第一套四色印刷的医学检验专业教材,自2004年出版以来,由于其新颖独到的编排设计、图文并茂的四色印刷、与临床紧密结合的实用性,深受广大教师和学生的欢迎,获得了良好的市场效应,为我国的检验专业本科教育做出了重要贡献。

为适应我国医学检验专业本科教育发展的需要,全国高等医药院校医学检验专业规划教材建设委员会在调研和总结一版教材质量和使用情况的基础上,组织上海交通大学医学院、中山大学医学院、华中科技大学同济医学院、中南大学湘雅医学院、南方医科大学、温州医学院、青岛大学医学院、重庆医科大学、新乡医学院等数十所院校的教师共同进行第二轮规划教材的编写修订工作。

第二轮规划教材的编写修订工作,坚持紧扣教育部、卫生部对医学检验专业本科教育的培养目标,以新的医学检验专业教育纲要为基础,以临床实际需求为指导,着重强调培养目标与用人要求相结合的原则,注重体现“三基”(基本理论、基础知识和基本技能)、“五性”(思想性、科学性、先进性、启发性和适用性)。在继承上一版教材优点的基础上,有以下创新:①新增补《临床检验仪器》和六本配套实验指导教材,让本套教材体系更趋完善;②理论课教材每章前保留学习要点,部分教材章后增加病例分析和小结,加强系统性;③原中英文或英中文对照升级为汉英或英汉名词索引,便于查找;④新增大量彩图,版面设计更美观、更活泼、更趋人性化;⑤实验指导更注重全面提高学生动手能力和综合分析解决问题的能力,所选实验更新、更全、更实用。

该套教材主要供全国高等医药院校医学检验及相关专业的学生使用。全套教材书目如下:

1. 临床检验基础(第2版)
2. 临床检验基础实验指导★
3. 临床生物化学检验(第2版)

4. 临床生物化学检验实验指导 (第2版)
5. 临床血液学检验 (第2版)
6. 临床血液学检验实验指导★
7. 临床微生物学检验 (第2版)
8. 临床微生物学检验实验指导★
9. 临床免疫学检验 (第2版)
10. 临床免疫学检验实验指导 (第2版)
11. 临床寄生虫学检验 (第2版)
12. 临床寄生虫学检验实验指导★
13. 分子诊断学 (第2版)
14. 分子诊断学实验指导★
15. 临床输血检验 (第2版)
16. 临床输血检验实验指导★
17. 临床实验室管理 (第2版)
18. 临床检验仪器★

注：★表示本轮规划教材建设的新增品种。

全国高等医药院校医学检验专业规划教材建设委员会
2010年1月

前言

随着临床医学和生命科学技术的不断发展，要求新时代的医学检验人才应具备与时俱进的知识结构体系。《临床微生物学检验》是医学检验专业的主干课程之一，其中基本技能的教学和训练、基础知识和基本理论与临床的密切结合是学好该课程的关键。为此，全国高等医药院校医学检验专业规划教材建设委员会在医学检验专业第二轮规划教材编写时，新增了《临床微生物学检验实验指导》。

本教材以培养实际操作能力为目的，依据教学大纲要求，与《临床微生物学检验》配套，共同完成课程的教学目标。教材以实验技术为主线，围绕验证性实验、设计性实验和综合性实验3大类，由实验室规则和常用仪器设备、细菌学检验基本技术、常见病原菌的检验、常见病原性真菌的培养和鉴定、抗菌药物敏感性试验与耐药性检测、常见病毒检测技术、常见临床标本的细菌学检验等7个部分，共32个实验组成。旨在通过验证性实验使学生掌握最基本的临床微生物学理论和检验技术，通过设计性实验培养学生科研创新的基本素养，通过综合性实验培养学生运用所学知识分析问题和解决问题的能力。教材内容突出理论联系实际，注重基础与临床紧密结合，兼顾基础性、系统性和实用性，以期在有限的实验教学时数内达到较好的教学效果。教材的编写格式包括实验目的、实验器材、实验方法、实验结果、注意事项和思考题等，涉及的实验原理部分，为避免与理论教材重复，原则上不再编入，重点突出实验方法和技术。为了方便教学，特别在教材的第一部分介绍了微生物实验室常用仪器设备，在附录中列举了常见培养基、常用染色液与试剂的配方和用途，并增加了临床标本检验实验记录表等。

由于我们的学术水平和编写能力有限，尽管全体编者做了很大的努力，但缺点和错误仍在所难免，敬请广大师生在使用过程中批评指正。

楼永良
2009年12月

目 录

第一单元 实验室规则和常用仪器设备	(1)
一、微生物学实验室规则	(1)
二、微生物学实验室常用仪器设备	(2)
第二单元 细菌学检验基本技术	(6)
实验一 细菌的形态学检查	(6)
一、不染色标本的检查	(6)
二、革兰染色和细菌基本形态观察	(7)
三、细菌的特殊结构染色和观察	(9)
实验二 细菌的分布与消毒灭菌	(11)
一、细菌的分布	(11)
二、物理消毒灭菌法(设计性实验)	(13)
三、化学消毒法(设计性实验)	(15)
四、消毒灭菌效果的评价	(16)
实验三 细菌的分离培养	(18)
一、培养基的制备	(18)
二、细菌的接种与分离技术	(20)
三、细菌的培养方法	(23)
四、细菌生长现象的观察	(24)
五、倾注培养	(26)
实验四 细菌的鉴定	(26)
一、生物化学鉴定	(26)
二、数字编码鉴定及自动化鉴定	(33)
三、血清学鉴定	(36)
四、分子生物学鉴定	(38)
实验五 动物实验性感染与细菌毒素的检测	(40)
一、动物实验性感染模型的制作	(40)
二、实验动物采血技术	(42)
三、细菌内毒素的检测	(43)
四、细菌外毒素毒性检测	(44)
实验六 细菌的遗传与变异	(45)
第三单元 常见病原菌的检验	(48)

实验七 球菌	(48)
一、葡萄球菌属	(48)
二、链球菌属和肠球菌属	(51)
三、奈瑟菌属和布兰汉菌属	(56)
实验八 肠杆菌科	(58)
一、埃希菌属	(58)
二、志贺菌属和沙门菌属	(61)
三、枸橼酸杆菌属、克雷伯菌属、肠杆菌属和沙雷菌属	(64)
四、变形杆菌属、摩根菌属和普罗威登斯菌属	(67)
五、耶尔森菌属及哈夫尼亚菌属	(69)
实验九 弧菌属、气单胞菌属、弯曲菌属和螺杆菌属	(70)
一、弧菌属	(70)
二、气单胞菌属	(73)
三、弯曲菌属	(75)
四、螺杆菌属	(76)
实验十 非发酵菌	(78)
一、假单胞菌属和产碱杆菌属	(78)
二、不动杆菌属和窄食单胞菌属	(79)
实验十一 苛养菌	(81)
一、军团菌属	(81)
二、嗜血杆菌属	(83)
实验十二 需氧革兰阳性杆菌	(85)
一、棒状杆菌属	(85)
二、需氧芽孢杆菌属	(88)
三、李斯特菌属	(91)
四、加特纳菌属	(93)
五、需氧放线菌属和诺卡菌属	(94)
实验十三 分枝杆菌属	(95)
一、结核分枝杆菌	(95)
二、非结核分枝杆菌	(99)
实验十四 厌氧菌	(99)
一、厌氧芽孢梭菌	(99)
二、无芽孢厌氧菌	(103)
实验十五 螺旋体和支原体	(106)
一、钩端螺旋体	(106)
二、梅毒螺旋体	(108)
三、支原体	(111)
实验十六 衣原体和立克次体	(113)
一、衣原体	(113)

二、立克次体	(115)
第四单元 常见病原性真菌的培养和鉴定	(118)
实验十七 真菌检验的基本技术	(118)
一、真菌染色技术和形态结构观察	(118)
二、真菌分离培养和鉴定	(119)
实验十八 单细胞真菌的培养和鉴定	(121)
一、假丝酵母菌属	(121)
二、隐球菌属	(123)
三、毛孢子菌属	(124)
实验十九 多细胞丝状真菌的培养和鉴定	(125)
一、常见浅部多细胞丝状真菌的培养和鉴定	(125)
二、常见深部多细胞丝状真菌的培养和鉴定	(126)
实验二十 双相型真菌的培养与鉴定	(127)
第五单元 抗菌药物敏感性试验与耐药性检测	(129)
实验二十一 纸片扩散法药物敏感性试验和联合药敏试验	(129)
一、纸片扩散法药物敏感性试验	(129)
二、联合药敏试验	(132)
实验二十二 稀释法药物敏感性试验和 E 试验	(134)
一、琼脂稀释法	(134)
二、肉汤稀释法	(135)
三、E 试验	(138)
实验二十三 特殊耐药菌及耐药酶的表型检测	(139)
一、 β -内酰胺酶的检测	(139)
二、超广谱 β -内酰胺酶 (ESBL) 的检测	(140)
三、碳青霉烯酶的检测	(142)
四、耐甲氧西林葡萄球菌 (MRS) 的检测	(143)
五、葡萄球菌诱导性克林霉素耐药的检测 (D-Test)	(144)
六、耐万古霉素肠球菌的检测	(145)
七、耐青霉素肺炎链球菌的检测	(146)
第六单元 常见病毒检测技术	(148)
实验二十四 病毒培养技术	(148)
一、鸡胚接种	(148)
二、动物接种	(150)
三、组织细胞培养	(151)
实验二十五 病毒快速检测技术	(155)
一、电镜负染观察病毒	(155)

二、生物素-链霉亲和素系统 ELISA 检测抗巨细胞病毒抗体····· (156)
三、PCR 法检测 HPV-DNA ····· (157)

第七单元 常见临床标本的细菌学检验 ····· (159)

实验二十六 血液及骨髓液标本的细菌学检验——综合性实验····· (159)
实验二十七 尿液标本的细菌学检验——综合性实验····· (162)
实验二十八 生殖道标本的细菌学检验——综合性实验····· (165)
实验二十九 肠道标本的细菌学检验——综合性实验····· (168)
实验三十 呼吸道标本的细菌学检验——综合性实验····· (171)
实验三十一 脑脊液标本的细菌学检验——综合性实验····· (174)
实验三十二 脓液、创伤感染分泌物、胸腹水及穿刺液的细菌学检验
——综合性实验····· (176)

附录 ····· (180)

附录一 常用培养基(按拼音排序)····· (180)
附录二 常用染液和试剂(按拼音排序)····· (199)
附录三 临床标本检验实验记录表····· (204)

彩图 ····· (205)

第一单元 实验室规则和常用仪器设备

一、微生物学实验室规则

微生物学实验的对象大多为病原微生物，具有传染性，在实验中必须严格掌握无菌概念，防止实验中自身感染和污染环境，因此要求严格遵守以下规则：

1. 实验前复习相关理论知识，并预习当次实验内容。书包、外衣等物品放于室外，请勿带入实验室内。必须带入的书籍和文具等请放在非操作区，以免污染。

2. 进入实验室时必须穿好白大衣，必要时配戴口罩和帽子。

3. 认真进行各项实验，严格掌握无菌技术。各种实验物品按指定地点存放，如吸过菌液的吸管、毛细滴管应投入消毒缸内；用过的玻片、L形棒等放入装有消毒液的搪瓷缸中，不得乱放在桌面上或冲洗于水槽中。

4. 实验室内保持安静，不得高声谈笑或随便走动，以免影响他人实验。禁止在实验室内饮食、吸烟或用嘴湿润标签等物品。

5. 实验中发生差错或意外事故时，应立即报告教师进行及时处理，切勿隐瞒或自作主张不按规定处理。如发生有菌材料污染桌面、衣物等，应立即用抹布浸沾2%~3%来苏（或5%石炭酸液）泡在污染部位，经半小时后方可除去；如手上沾有活菌，用上述来苏尔消毒液浸泡10min左右后，再用肥皂及自来水反复洗净；如吸入菌液，应立即吐出后，以大量0.5g/L高锰酸钾及清水漱口，必要时根据菌类不同，使用其他药物以预防感染。

6. 爱护实验室内各种仪器设备，按使用规则操作；未经老师许可，不得擅自搬动示教、器材或其他室内设施；实验用过的器材，必须放在指定地点或按要求处理，不能随便乱丢乱放。培养箱、冰箱等开门后应及时关好；显微镜用后要擦净，各功能部件复位，登记使用情况后放入显微镜柜内。

7. 节约使用实验材料，如不慎损坏器材，应报告教师进行登记。

8. 实验完毕后整理桌面，关好水、电等开关。需培养的材料要做好标记如学号、姓名等，送入孵箱培育。培养物在结果观察完毕后放污物筒，送消毒室处理。

9. 实验完毕，脱下白大衣和帽子，按要求将白大衣反折、叠好，按座号放入柜内。再用消毒液及自来水洗手后方可离开实验室。

10. 同学应安排轮流值日, 负责实验室的卫生、水电、门窗的安全。

二、微生物学实验室常用仪器设备

(一) 压力蒸汽灭菌器

根据冷空气排放方式的不同, 压力蒸汽灭菌器可分为下排气式压力蒸汽灭菌器和预真空压力蒸汽灭菌器两大类。下排气式压力蒸汽灭菌器是利用重力置换的原理, 使热蒸汽在灭菌器中从上而下, 将冷空气由下排气孔排出, 排出的冷空气由饱和蒸汽取代, 利用蒸汽释放的潜热使物品达到灭菌。预真空压力蒸汽灭菌器是利用机械抽真空的方法, 使灭菌柜室内形成负压, 蒸汽得以迅速穿透到物品内部进行灭菌。见书末彩图 1、2。

压力蒸汽灭菌器可以使用外来的管道蒸汽, 也可以使用与压力蒸汽灭菌器配套的电蒸汽锅炉随时生产蒸汽。小型的下排气式压力蒸汽灭菌器多通过加热灭菌锅内的水并使之产生蒸汽达到灭菌目的, 多用于实验室常用中小型物品及小量试剂的灭菌。由于外来管道蒸汽的汽源较充足, 适用于较大型的压力蒸汽灭菌器, 多用于医院、药厂等量多且体积较大的一些物品的灭菌。通常将容积小于 60L 的压力蒸汽灭菌器归为小型压力蒸汽灭菌器, 在教学实验室多使用便携式压力蒸汽灭菌器。

压力蒸汽灭菌器使用的注意事项:

1. 不能使用对此高压蒸汽灭菌器灭菌任何有破坏性材料和含碱金属成分的物品。否则, 灭菌这些物品将会导致爆炸或腐蚀内胆和内部管道, 以及破坏密封圈。
2. 含有盐分的液体漏出或溢出时, 应及时擦拭干净, 否则会腐蚀容器和管道, 特别是盖子的密封圈需彻底清洁, 以防密封圈快速老化。为有效防止外来的物质或液体进入排汽孔中, 所有灭菌物品均应有严格捆扎或包装, 灭菌物品放置时互相之间须留有空隙, 有利蒸汽穿透, 提高灭菌效果。
3. 除蒸馏水外, 不要倒任何液体于容器内, 要使用配套的盛放器具, 不要使用其他篮筐于灭菌器内。高压锅使用前必须检查水位是否达到设备要求安全水位。
4. 每次使用前均应检查盖子的密封圈有无异物粘连, 如有异物要及时清除, 否则会导致蒸汽泄漏。
5. 在使用压力蒸汽灭菌器的过程中, 如有异常发生(有声音发出, 闻到气味, 冒烟), 请立即切断电源, 并联系相关维护人员, 绝对不许自行处理或擅自改造灭菌器的结构。
6. 在打开灭菌器的盖子之前, 确认压力已归于“0/mPa”以下; 灭菌后应待温度稍下降后再行取出灭菌物品, 以防止烫伤。
7. 不要在爆炸性气体附近使用该仪器。

(二) 超净工作台

超净工作台是一种垂直层流型的局部空气净化设备, 具有操作方便舒适, 工作效率高, 预备时间短等特点。其原理为: 室内空气经初效过滤, 由小型离

心风机压入静压箱，再经空气高效二级过滤，从空气高效过滤器出风面吹出的洁净气流具有一定的、均匀的断面风速，可以排除工作区原来的空气，并去除大于 $0.3\mu\text{m}$ 的尘埃、细菌和真菌孢子等，以形成无菌高洁净的工作环境。工作人员在这样的无菌条件下操作，可以有效保持无菌材料在转移接种过程中不受污染。见书末彩图3、4。

超净工作台使用的注意事项：

1. 使用前先打开紫外灯照射，紫外线照射时间一般为30min。
2. 使用中，有机玻璃罩受到污染，严禁用酒精棉球擦拭，请用含水棉布擦拭。
3. 要保持超净工作台整洁，不要堆积杂物。
4. 使用完毕，勿忘关闭酒精灯，并做好使用记录。
5. 如遇故障，除记录在册外，还应及时与有关人员联系，尽早排除故障。
6. 为保证超净工作台符合无菌要求，应定期由相关工作人员对工作台内空气进行无菌测试并进行相关机械部件的维护。

（三）生物安全柜

在微生物实验室中进行具有传染性/感染性标本或极易形成气溶胶类标本的处置时，应在生物安全柜内进行。按生物安全防范级别的要求，凡达2~3级生物安全防范要求的试剂配置或样本的操作，均应在Ⅰ级或Ⅱ级生物安全柜内进行，凡达4级生物安全防范要求的，均需在Ⅲ级生物安全柜内进行相应的操作。见书末彩图5。

生物安全柜使用的注意事项：

1. 生物安全柜内为定向气流，人员走动、开窗、关门以及送风系统调整等都可能造成柜内气流受到干扰，因此本设备应置于空气流通性较小的位置，以防安全柜空气屏障的完整性因气流干扰而破坏。
2. 在开始工作以前以及完成工作以后，要清除生物安全柜内表面的污染，并“空载”开机至少5min以便生物安全柜来完成“净化”的过程。
3. 生物安全柜内所有物品应尽可能地放在工作台后部靠近边缘的位置，前面的进气格栅不能被纸、仪器设备或其他物品阻挡。废弃物盛放容器不应放在安全柜的外面，以免操作过程中双臂频繁进出安全柜。操作人员在移动双臂进出安全柜时，需要小心维持前面开口处气流的完整性。
4. 生物安全柜中不需要紫外灯。如果使用紫外灯，应每周进行灯管的清洁，以除去可能影响其杀菌效果的灰尘和污垢。定期检查紫外线的强度，以确保有足够的照射剂量。
5. 在生物安全柜内应避免使用明火，在对接种针或接种环进行灭菌时，可以使用红外电热灭菌器或微型电炉，而不应使用明火。
6. 一旦在生物安全柜中发生有生物学危害的物品溢出时，应在安全柜处于工作状态下立即进行清理。使用有效的消毒剂，并在处理过程中尽可能减少气溶胶的生成。
7. 生物安全柜在安装或使用一定时间后，应由具有资质的专业人员按照生

产商的说明对生物安全柜的运行性能以及完整性进行认证,以检查其是否符合国家及国际的性能标准。

8. 在进行1级和2级生物安全防范要求操作时,可穿着普通试验服。在进行3级和4级生物安全防范要求(防护服型实验室除外)操作时,应使用前面加固处理的反背式试验隔离衣以达到更好的防护效果。

(四) 光学显微镜

光学显微镜主要包括普通光学显微镜、偏光显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜、微分干涉差显微镜、荧光显微镜和激光共聚焦扫描显微镜等,其中普通光学显微镜最为常用。

光学显微镜在结构上可分为光学系统和机械装置两个部分。光学系统主要包括目镜、物镜、聚光器、光栅及光源等部分。机械装置主要包括镜筒、镜柱、载物台、镜座、粗细调节螺旋等部分。目镜位于显微镜筒的上方,它除了进一步扩大物镜所形成的实像之外,也限制了眼睛所观察的视野。按放大率分,常用目镜有5倍、10倍和15倍三种。常用物镜按放大率分为三类,其中低倍镜(10×),镜头最短,高倍镜(40×),镜头较长,油浸物镜(100×),又称为油镜,镜头最长。此外,在高倍镜和油镜上还常加有一圈不同颜色的线,以示区别。

聚光器位于显微镜台的下方,可会聚来自光源的光线,将光集中于标本,使标本受到光强适度的均匀照射。聚光器的下端装有孔径光栅(光圈)以控制通过物镜光束的强弱。普通光学显微镜的照明光源位于聚光器的下方,为特制的照度均匀的强光灯泡,并且配有可变电阻,可以改变光线的强度。

光学显微镜的目镜和物镜安装在镜筒的两端,它们的距离是固定的。将标本片放在载物台上,旋转粗调螺旋使载物台接近物镜。标本片进入物镜第一焦平面,目镜内即可见标本片内的组织影像。然后用细调螺旋使目镜内的影像清晰即可进行观察。更换放大倍数时就要调换目镜或物镜。见书末彩图6、7。

普通光学显微镜物镜的使用:

1. 低倍镜 低倍镜多用于观察标本或组织的大体结构和染色结果,分辨率较低。

2. 高倍镜 在微生物学中,高倍镜多用于观察不染色的活体细菌及真菌的运动状况,部分体积较大的真菌亦可用高倍镜观察其细胞形态。

3. 油镜 油镜多用于观察染色标本中细菌的染色性质、形态和排列等。

光学显微镜使用的注意事项:

1. 持镜时必须是右手握臂、左手托座的姿势,不可单手提取,以免零件脱落或碰撞到其它地方。

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、酒精或其它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，以左眼观察视野，右眼用以绘图。

7. 不要随意取下目镜，以防止尘土落入物镜，也不要任意拆卸各种零件，以防损坏。

8. 使用完毕后，必须复原才能放回镜箱内，其步骤是：取下标本片，转动旋转器使镜头离开通光孔，下降镜台，下降集光器，关闭光圈，关闭电源，推片器回位，盖上外罩，放回实验台柜内。

(五) 酒精灯

酒精灯是以酒精为燃料的加热工具，其外焰加热温度可达 $400 \sim 500^{\circ}\text{C}$ ，在微生物操作中适用于接种针、接种环的灭菌。另外，点燃的酒精灯周围的气体会形成自下而上的环流，造成距离灯芯周围直径约 10cm 范围的无菌环境，此范围内适用于细菌的接种、无菌液体的分装等。

酒精灯使用的注意事项：

1. 新灯或旧灯壶内酒精少于其容积 $1/2$ 的都应添加酒精。酒精量以不超过灯壶容积的 $2/3$ 为宜。（酒精量太少则灯壶中酒精蒸气过多，易引起爆燃；酒精量太多则受热膨胀，易使酒精溢出，发生事故。）

2. 应在距离明火 1m 以外的地方借助小漏斗添加酒精，以免酒精洒出。严禁在酒精灯未熄灭的情况下添加酒精，以免造成事故。

3. 点燃酒精灯用燃着的火柴或火机，决不可用燃着的酒精灯对火。否则易将酒精洒出，引起火灾。

4. 带有大量细菌的接种针或接种环直接在外焰中加热，由于菌体的迅速受热膨胀，会造成微量爆炸，使未完全灭菌的菌体溅出，因此，应先用内焰加热，使菌体内的水分充分蒸发，再移至外焰加热至无菌状态。

5. 加热完毕应及时盖灭酒精灯，盖灯帽时，要斜着盖，绝不允许用嘴吹灭；不用的酒精灯必须将灯帽罩上，以免酒精挥发。

6. 不要碰倒自己或别人的酒精灯，万一洒出的酒精在灯外燃烧，可用湿抹布或砂土扑灭。