


 全国医药职业教育检验类规划教材

QUANGUO YIYAO ZHIYE JIAOYU JIANYANLEI GUIHUA JIAOCAI

微生物学检验 实验指导

(供医学检验技术及相关专业用)

主编 桂芳

 中国医药科技出版社

第 2 版

ISBN 7-309-05212-9

微生物学检验 实验指导

张永海 主编

第 2 版



科学出版社

全国医药职业教育检验类规划教材

微生物学检验实验指导

(供医学检验技术及相关专业用)

主 编 桂 芳

 中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书是全国医药职业教育检验类规划教材之一。全书共七章，四十一个实验。主要包括微生物学检验基本技术、常见病原菌的培养和鉴定、常见病源性真菌的培养和鉴定、病毒的培养和鉴定、临床标本的细菌学检验、卫生微生物学检验等。

本书既可供全国高职高专医学专科学校医学检验技术专业师生学习使用，也可作为临床检验工作者在实际工作中的参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物学检验实验指导/桂芳主编. —北京: 中国医药科技出版社, 2009. 8

全国医药职业教育检验类规划教材

ISBN 978 - 7 - 5067 - 4223 - 8

I. 微... II. 桂... III. 微生物学 - 医学检验 - 实验 - 高等学校: 技术学校 - 教学参考资料 IV. R446. 5 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 144538 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. cspyp. cn

规格 787 × 1092mm¹/₁₆

印张 15¹/₄

字数 302 千字

版次 2009 年 8 月第 1 版

印次 2009 年 8 月第 1 次印刷

印刷 北京季蜂印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4223 - 8

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

医学检验技术专业实验指导丛书编写委员会

主任 段于峰
副主任 张纪云 黄斌伦 熊金成
李 进 甘小玲 黄泽智
秘 书 江兴林

编 者 (以姓氏笔画为序)

王益明 (浙江金华职业技术学院)

甘小玲 (重庆医药高等专科学校)

江兴林 (怀化医学高等专科学校)

李 进 (广西卫生管理干部学院)

李光武 (山东医学高等专科学校)

张纪云 (山东医学高等专科学校)

杨元娟 (重庆医药高等专科学校)

林逢春 (楚雄医学高等专科学校)

段于峰 (怀化医学高等专科学校)

桂 芳 (怀化医学高等专科学校)

黄泽智 (邵阳医学高等专科学校)

黄斌伦 (浙江金华职业技术学院)

熊金成 (楚雄医学高等专科学校)

会员委员会

2005年8月

编写说明

医学检验技术专业教育的目标是培养医学检验技术实用技能性人才，其核心能力是医学检验操作技能，实践教学处于主体地位。一直以来，医学检验技术专业没有公开出版、独立成册的全套实验教材，实践教学未得到应有的重视。为了突出高职教育实践教学，强化专业核心能力培养，在充分酝酿和取得共识的基础上，决定以湖南省教育厅教学改革立项课题《医学检验技术专业实践教学体系的改革研究与实践》研究为契机，开发、编写医学检验技术专业核心课程实验教材。

临床检验技术发展很快，方法不断更新，仪器化程度越来越高，随着医疗体制改革的深入，基层医疗将快速发展，常规检验仪器将得到较快的普及，手工操作越来越少，工作内容和工作方式发生改变。这种发展趋势下，高职医学检验专业如何选择教学内容，构建合适的实验、实训教材，以满足服务于工作任务的职业教学模式的需要，是对我们高职医学检验教育工作者的挑战。正是敢于面对挑战、勇于实践的实干精神和对医学检验职业教育的热情使我们七所高职高专院校医学检验系的领导和专家于2008年12月聚拢于怀化医学高等专科学校，举行了“医学检验技术专业系列实验教材建设研讨会”，并成立了编写委员会。会上，对教材的编写进行了深入、细致和全面的讨论，确定了教材编写的基本思路、基本内容和体例格式，并确定了编写人员。

本套实验教材共7本，包括《临床基础检验学实验指导》、《血液学检验实验指导》、《生物化学检验实验指导》、《微生物学检验实验指导》、《免疫学检验实验指导》、《寄生虫学检验实验指导》、《卫生理化检验实验指导》。全套教材的基本体例为章、实验、思考题；编写的基本思路是结合国家临床检验操作规程，促进实验实训规范化；在每一章之后附加与实验内容有关的练习题，有利于学生学习和掌握直接服务于医学检验技术的知识要点；书后增加综合性分析题，旨在促进研究性学习，达到训练和提高学生综合分析和解决问题的能力。

由于本套实验教材的使用量较小，出版发行所需成本较大，这种情况下，中国医药科技出版社倾注了极大的热情，使本套实验指导得以顺利出版，在此深表谢意。本教材在编写过程中参考了相关医学检验专业教材和《全国临床检验操作规程》，在此向相关作者表示衷心感谢。由于编写时间仓促，认识水平有限，本套丛书还存在诸多缺点和不足，希望广大师生多提宝贵意见，以便再版时进一步提高。

编写委员会
2009年5月

本书编委会

主 编 桂 芳

副主编 王秀虎 张其霞

编 者 (以姓氏笔画为序)

王秀虎 (邵阳医学高等专科学校)

阳大庆 (怀化医学高等专科学校)

李争鸣 (怀化医学高等专科学校)

何旭瑛 (金华职业技术学院)

张加林 (楚雄医学高等专科学校)

张西强 (山东医学高等专科学校)

张其霞 (山东医学高等专科学校)

钟方为 (邵阳医学高等专科学校)

段巧玲 (重庆医药高等专科学校)

桂 芳 (怀化医学高等专科学校)

奇 癖

2002年2月

前 言

《微生物学检验》是医学检验（技术）专业的必修和主干课程之一，微生物检验技术是专业核心能力的组成部分。为了适应当前对高职高专《微生物学检验》实验教学的需求，我们在编写委员会的安排下组织编写了《微生物学检验实验指导》。

本实验指导的编写，主要是根据高职高专医学检验技术专业职业导向、能力本位的培养目标，以全国高等医学院校医学检验技术专业高职高专规划教材《微生物学检验》为基础，依据医学检验技术专业专科教学大纲的要求，围绕理论教学内容，结合《全国临床检验操作规程》（第三版）选择相关的实验，使学生通过实验课的操作训练，建立无菌观念，掌握《微生物学检验》基本操作技术，熟悉常见病原菌的分离培养和鉴定方法。本教材内容主要包括绪论、微生物检验基本技术、常见病原菌的培养和鉴定、常见病原性真菌的培养和鉴定、病毒的培养和鉴定、临床标本的细菌学检验、卫生微生物学检验等七章共41个实验，按照目的和要求、试剂与器材、实验内容（包括实验原理、方法、注意事项）、结果判断、临床意义、结果记录和报告等层次进行编写。为方便临床使用，本书附录中还介绍了常用培养基的制备和用途、常用试剂和染色液的配制及药敏试验结果解释标准。

《微生物学检验试验指导》作为医学检验技术专业《微生物学检验》的实训教材，既可供全国高职高专医学专科学校医学检验技术专业师生学习使用，也可作为临床检验工作者在临床检验实际工作中的参考。

由于时间仓促，加之编写水平有限，书中难免有不当之处，敬请专家和读者批评指正。

编 者
2009年5月

目 录

第一章 绪论	(1)
第二章 微生物学检验基本技术	(5)
实验一 细菌的形态结构观察及显微镜油镜的使用	(5)
实验二 细菌的形态学检查	(8)
实验三 灭菌前的准备与基础培养基的制备	(12)
实验四 细菌的接种培养法与生长现象的观察	(16)
实验五 细菌的生化反应	(23)
实验六 细菌的分布及消毒灭菌	(26)
实验七 细菌的药敏试验及耐药性检测	(30)
实验八 动物实验与细菌毒素检测	(37)
实验九 L型细菌的培养和鉴定	(44)
实验十 细菌的数字编码鉴定法和自动化检测技术	(46)
第三章 常见病原菌的培养和鉴定	(50)
实验十一 葡萄球菌属检验	(50)
实验十二 链球菌属检验	(53)
实验十三 奈瑟菌属和布兰汉菌属检验	(57)
实验十四 大肠埃希菌检验	(59)
实验十五 沙门菌属检验	(62)
实验十六 志贺菌属检验	(65)
实验十七 其他肠道杆菌检验	(68)
实验十八 弧菌属与弯曲属检验	(70)
实验十九 非发酵菌检验	(74)
实验二十 棒状杆菌与需氧芽孢杆菌检验	(76)
实验二十一 分枝杆菌检验	(84)
实验二十二 厌氧菌检验	(88)
实验二十三 病原性螺旋体检验	(96)
实验二十四 支原体、衣原体与立克次体检验	(101)

2 目 录

实验二十五 病原菌的分子生物学检测和其他检测技术	(104)
第四章 常见病原性真菌的培养和鉴定	(108)
实验二十六 病原性真菌检验	(108)
第五章 病毒的培养和鉴定	(112)
实验二十七 病毒的培养和形态学检查	(112)
实验二十八 病毒的血凝试验与血凝抑制试验	(116)
实验二十九 病毒的免疫学检测和分子生物学检测技术	(118)
第六章 临床标本的细菌学检验	(123)
实验三十 血液标本的细菌学检验	(124)
实验三十一 尿液标本的细菌学检验	(128)
实验三十二 粪便标本的细菌学检验	(132)
实验三十三 脓液及穿刺液标本的细菌学检验	(137)
实验三十四 生殖道标本的细菌学检验	(140)
实验三十五 脑脊液标本的细菌学检验	(143)
实验三十六 痰液标本的细菌学检验	(146)
第七章 卫生微生物学检验	(151)
实验三十七 水的卫生微生物学检验	(151)
实验三十八 食品的卫生微生物学检验	(162)
实验三十九 空气的卫生微生物学检验	(170)
实验四十 食物中毒的微生物学检验	(174)
实验四十一 化妆品的微生物学检验	(183)
综合分析题	(191)
附录	(192)
参考文献	(233)

第一章 绪 论

一、《微生物学检验》实验目的的要求

- (1) 通过实验验证理论知识, 并掌握比较全面的微生物学基本操作技术。
- (2) 在微生物学实验过程中建立无菌观念, 掌握无菌操作技术。
- (3) 通过实验进一步掌握临床常见病原微生物的生物学性状、分离培养和鉴定的方法、各种临床标本的微生物学检验程序和方法。
- (4) 在实验过程中逐渐培养独立思考问题、分析问题和解决问题的能力。

二、微生物学实验室规则及实验室意外处理方法

1. 微生物学实验室规则 由于微生物学实验是以病原微生物为研究对象, 在实验过程中任何疏忽大意都有可能引起实验人员的自身感染或实验室和周围环境的污染。因此, 实验中应严格遵守实验规则, 建立无菌观念, 严格无菌操作, 防止实验过程中出现意外情况, 并确保实验结果的准确。

- (1) 试验前须预习实验内容, 了解实验目的、方法和注意事项, 做到心中有数, 避免发生错误, 提高实验效率。
- (2) 进入实验室必须穿工作服, 必要时还须戴口罩、帽子和手套, 并做好实验前的各项准备工作。
- (3) 非必需物品禁止带入实验室, 带入实验室的物品应远离操作区, 放在指定的区域。
- (4) 实验室内不准大声喧哗、嬉戏, 应保持实验室的安静、整洁和有序。不准在实验室内吸烟、饮水和进食, 尽量避免用手触摸头、面部, 防止感染, 尽量减少室内活动, 以免引起风动。
- (5) 实验中注意节约试剂, 爱护仪器, 避免有菌材料的污染, 如有传染性材料污染桌面、地面、手、衣服或发生其他意外情况, 应立即报告老师及时作适当处理。
- (6) 用过的污染物品应放到指定的地点, 经专人消毒灭菌之后再行清洗, 切勿乱丢或冲入水池中。禁止将本实验室的物品带出实验室外。需送温箱培养的物品, 应标记清楚后送到指定地点。
- (7) 实验完毕后应将桌面整理清洁, 试剂、仪器放回原处, 并用浸有消毒液的抹布将操作台擦拭干净, 打扫卫生, 关好水、电、门窗。
- (8) 离室前脱下工作服, 反折放在指定的地方, 双手在 2% 来苏液中浸泡 5min 左右, 再用肥皂、清水洗净, 方可离开实验室。

2. 实验室意外的紧急处理方法

(1) 发生皮肤破损或刺伤 首先用肥皂和水冲洗伤口, 尽量挤出损伤处的血液, 并用 70% 乙醇或其他皮肤消毒剂进行消毒, 立即进行医疗处理。

(2) 化学药品腐蚀伤 若为强酸, 用大量清水冲洗后再以 5% 碳酸氢钠溶液中和; 若为强碱, 用大量清水冲洗后再以 5% 醋酸或 5% 硼酸溶液中和; 若受伤处是眼部, 经上述方法处理后, 再滴入橄榄油或液体石蜡 1~2 滴。

(3) 烧伤 局部涂凡士林、5% 鞣酸或 2% 苦味酸。

(4) 菌液误入口中 立即将菌液吐入消毒容器中, 再用 1:1000 高锰酸钾或 3% 过氧化氢漱口, 根据菌种服用适当抗生素预防感染。

(5) 菌液污染环境 将适量 2%~3% 来苏或 0.1% 新洁尔灭浸泡污染面半小时后除去, 如手上有菌污染, 也可浸泡于上述消毒液中 3~5min, 之后用肥皂和清水洗净。

三、生物安全防护知识简介

医学检验工作人员长期接触有潜在传染性的血液、粪便、体液等标本, 这些标本往往是各种细菌、病毒等病原微生物的传播载体, 无论是实验人员感染, 还是造成实验室和周围环境的污染, 都将导致严重的后果。因此实验室工作人员在实验过程中必须高度重视实验室生物安全防护, 强化生物安全意识, 熟悉生物安全防护有关知识, 严格无菌操作。

1. 微生物的分类等级 根据世界卫生组织 (WHO) 出版的《实验室生物安全手册》, 将微生物分为四个不同危险度等级: 危险度 1 级是指不能引起人或动物致病的微生物, 此类微生物无或仅具有极低的个体和群体危险; 危险度 2 级的病原体具有中度个体危险, 低度群体危险, 能引起人或动物致病, 但对实验室工作人员、社区、家畜或环境不易导致严重危害, 所引起的感染具有有效的预防和治疗措施, 并且疾病传播的危险有限; 危险度 3 级的病原体具有高度个体危险, 低度群体危险, 通常能引起人或动物的严重疾病, 但一般不会发生感染的播散, 并且对感染具有有效的预防和治疗措施; 危险度 4 级的病原体具有高度的个体危险和群体危险, 通常能引起人或动物的严重疾病, 并且很容易发生个体之间的直接或间接传播, 对感染一般没有有效的预防和治疗措施。

基于以上划分标准, 结合微生物的致病性、传播方式、目前所具有的预防和治疗措施等因素, 我国卫生部于 2006 年制定了《人间传染的病原微生物名录》, 对各种病原微生物的危害程度及其相关实验活动需要达到的生物安全实验室级别做了详细分类, 各实验室进行有关实验均需参照此标准。

2. 生物安全实验室分级与要求 由于各种病原微生物的危险度等级不同, 因此实验室必须达到相应的生物防护等级才能开展有关实验。根据 WHO《实验室生物安全手册》和我国卫生部 2002 年颁布的《微生物和生物医学实验室生物安全通用准则》, 实验室从生物安全防护的角度共分为四级: 一级生物安全防护实验室 (BSL-1) 为实验室结构设施、安全操作规程、安全设备适用于危险度 1 级的微生物, 依据标准操作程序可进行开放性操作, 如用于教学的普通微生物实验室即属此类。二级生物安全防护实验室 (BSL-2) 适用于对人或环境具有中等潜在危害的微生物, 即危险度 2 级的病原体, 该级别实验室应

具备生物安全柜和密封的离心管,以免发生泄漏和产生气溶胶。三级生物安全防护实验室(BSL-3)适用于有明显危害、可以通过空气传播的病原微生物(如结核杆菌、伯氏立克次体等),通常已有预防传染的疫苗,该级别实验室除了有严格的一级和二级安全设施要求外,还需具备合适的空气净化系统。四级生物安全防护实验室(BSL-4)适用于对人体具有高度的危险性,通过气溶胶途径传播或传播途径不明,目前尚无有效的疫苗或治疗方法的致病微生物及其毒素。BSL-4实验室必须与其他实验室隔离,并具备特殊的空气和废物处理系统,实验操作须在Ⅲ级生物安全柜内或全身穿戴特制的正压防护服。

根据以上定义,医院内的临床实验室因接触可能含有致病微生物的标本,通常应达到二级生物安全防护实验室要求。根据《实验室生物安全认可准则》,二级生物安全实验室结构设施需符合以下几点:①实验室需具有防止节肢动物和啮齿动物进入的设计,有可开启的窗户,有纱窗,实验室门有可视窗带锁并能自动关闭;②每个实验室均应设置洗手池,宜设置在靠近出口处;③实验室工作区域外有足够的存储空间及摆放个人衣物的设施;④实验室内墙壁、地面应平整、防滑、易于清洁,不适宜用地毯;⑤实验台面应能防水、耐腐蚀、耐热;⑥实验室内应保证工作照明,避免反光和强光;⑦在实验室内应穿戴隔离衣、帽、手套,必要时戴防护眼镜,实验室应有生物安全柜;⑧有适当的消毒设施,如高压蒸汽灭菌器,并设置洗眼装置、应急喷淋装置、急救药箱、灭火器等;⑨有可靠的电力供应和应急照明;⑩在实验室出口处设有在黑暗中可明确辨认方向、通道的标识;⑪在实验室入口处和装有传染性物质的设备表面贴有生物危险标志。

3. 实验室生物安全管理制度 实验室生物安全制度建设对于临床实验室而言是生物安全防护的核心,实验室生物安全管理制度应包括:实验室准入制度、生物安全培训制度、生物安全责任制和责任追究制度、生物防护与安全制度、安全检查制度、个人防护制度、实验室管理制度、清洁消毒制度、安全计划审核制度、废弃物处理制度、事故报告制度、生物安全防护应急预案、标准操作程序等。

建立健全了各项生物安全制度,还应成立生物安全管理领导小组,加强生物安全制度实施情况的监督管理。实验室入口处须粘贴生物安全标志,注明危险因素,生物安全级别,负责人姓名和电话,进入实验室的特殊要求及离开程序,禁止非工作人员进入实验室,如需参观实验室等特殊行为需经实验室负责人的批准后方可进入。

4. 实验室常见生物危险 实验室生物污染的途径包括:空气传播(临床标本中的污染源在空气中传播、微生物气溶胶的吸入)、直接传播(工作中偶然刺伤、割伤,碎玻璃划伤直接感染)、皮肤黏膜接触(临床标本中的传染源通过破损皮肤黏膜接触造成的感染)、其他不明原因的实验室相关感染。

实验室伤害以及与工作有关的感染主要是由于人为失误、不良实验技术以及仪器使用不当造成的。因此,实验室人员必须提高生物安全意识,认真学习生物安全相关的各种法规和文件,定期进行生物安全防护知识培训,熟悉生物防护有关知识,加强基本技能的培养,严格执行操作规程。实验室管理者应对实验室的风险级别进行分析,尤其对风险级别较高的、接触高危标本几率较大的区域如微生物和分子生物学室予以高度重视,保护实验室工作人员和环境的安全。

5. 生物废弃材料的管理 实验室内所有用过的样本、培养物及其他生物性材料等废

弃物，严禁未经处理就随意丢弃，应置于贴有生物危害标志的专用废弃物处理容器内，注意容器的充满量不能超过其设计容量，利器（如针头、小刀、玻璃等）应置于耐扎锐器盒内，在去污染或最终处置前应存放在指定的安全地方，经过高压灭菌或其他无害化处理后安全运出实验室；有害气体、气溶胶、污水、废液等均需经无害化处理后排放；动物尸体、组织的处置和焚化应符合国家相关要求。处理危险废弃物的人员需经过专业培训，并使用适当的防护设备。

生物安全实验室的废弃物处理应遵循以下原则：1. 生物安全实验室的废弃物应分类收集，不得混放。2. 生物安全实验室的废弃物应存放在专用的生物安全废弃物处理容器中。3. 生物安全实验室的废弃物应存放在指定的安全地方，不得随意丢弃。4. 生物安全实验室的废弃物应经过高压灭菌或其他无害化处理后安全运出实验室。5. 生物安全实验室的废弃物处理应符合国家相关要求。6. 生物安全实验室的废弃物处理人员应经过专业培训，并使用适当的防护设备。7. 生物安全实验室的废弃物处理应记录在案。8. 生物安全实验室的废弃物处理应定期进行消毒。9. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的等级要求。10. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的布局要求。11. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的通风要求。12. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的照明要求。13. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的温控要求。14. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的湿度要求。15. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的噪音要求。16. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的辐射要求。17. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的电磁干扰要求。18. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的防静电要求。19. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的防火要求。20. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的防盗要求。21. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的保密要求。22. 生物安全实验室的废弃物处理应符合生物安全实验室的其他相关要求。

第二章 微生物学检验基本技术

实验一 细菌的形态结构观察及显微镜油镜的使用

【目的和要求】

1. 熟悉微生物实验室规则并自觉遵守。
2. 掌握细菌基本形态和特殊结构的观察方法。
3. 掌握光学显微镜油镜的使用和维护方法，了解荧光显微镜和暗视野显微镜的构造和使用方法。

【试剂与器材】

1. 示教片 各种球菌、杆菌、弧菌、荚膜、鞭毛、芽孢的示教片。
2. 器材及其他 光学显微镜、载玻片、擦镜纸、香柏油、脱油剂等。

【实验内容】

（一）细菌基本形态和特殊构造的观察

1. 细菌的基本形态（各种球菌、杆菌、弧菌等） 观察要点：注意细菌的染色性、相对大小、形状及排列方式。
2. 特殊结构的观察（荚膜、芽孢、鞭毛） 观察要点：注意这些特殊结构的大小、形状及其在菌体中的位置，均有助于细菌的鉴定。

（二）光学显微镜油镜的使用

1. 光学显微镜的构造 光学显微镜是观察细菌形态最常用的一种仪器，其构造分为机械部分和光学部分，机械部分包括镜座、镜臂、载物台、镜筒、镜头转换器、调焦装置等；光学部分包括接物镜、接目镜、反光镜、聚光器、光圈等（图1-1）。

显微镜的接物镜有低倍镜、高倍镜、油镜三种，放大倍数依次增高，其识别方法如下。

- （1）低倍镜 镜头标志为 $10\times$ 或 $10/0.25$ ，镜头最短，其上常刻有黄色环圈。
- （2）高倍镜 镜头标志为 $40\times$ 或 $40/0.65$ ，镜头较长，其上常刻有蓝色环圈。
- （3）油镜 镜头标志为 $100\times$ 或 $100/1.30$ ，镜头最长，其上常刻有白色环圈，或“oil”字样。

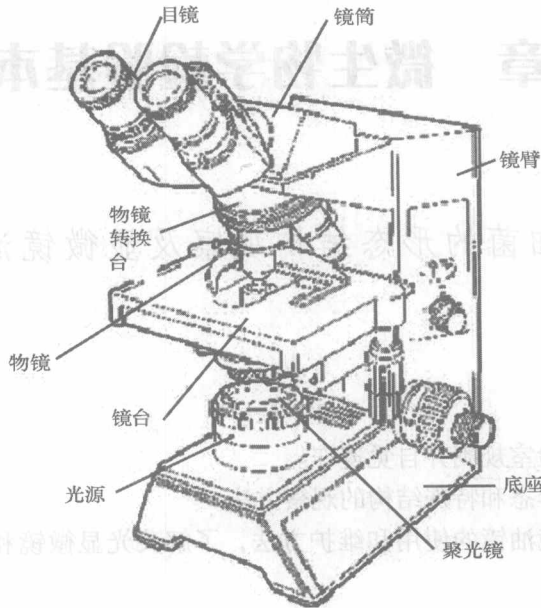


图 1-1 光学显微镜的构造

2. 油镜的使用原理 油镜的放大倍数高而透镜很小，自标本片透过的光线，因玻片和空气的折光率不同（玻璃 $n=1.52$ ，空气 $n=1.0$ ），部分光线经载玻片进入空气后发生折射，不能进入接物镜，致使射入光线较少，物象不清晰。在油镜和载玻片之间滴加和玻璃折光率相近的香柏油（ $n=1.515$ ），则使进入油镜的光线增多，视野光亮度增强，物象清晰（图 1-2）。

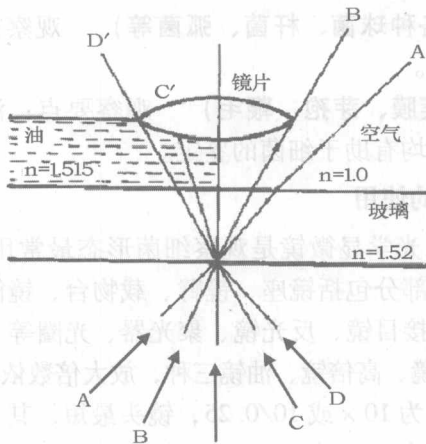


图 1-2 显微镜油镜的使用原理

3. 使用方法

(1) 采光 使用显微镜时必须端坐，将显微镜放在胸前适当位置。将低倍镜转到中央并对准下面的聚光器，打开光圈，转动反光镜，使光线集中于聚光器（以灯光为光源

时,使用凹面反光镜,以自然光为光源时用平面反光镜)。根据所观察的标本,通过升降聚光器和缩放光圈以获得最佳光度。当用低倍镜或高倍镜观察时,应适当缩小光圈,下降聚光器;当用油镜观察时,光线宜强,应把光圈完全打开,并将聚光器上升到最高位置。

(2) 低倍镜调焦 将欲观察的标本置载物台上,用弹簧夹和推进器固定,将待检部位移至视野正中央,上升载物台至不能升高为止。用左眼观察接目镜,缓慢调节粗调节器,使载物台下降,待看到模糊的图像时,再调节细调节器,直至看到清晰的图像为止。

(3) 油镜的使用 低倍镜找到物象并调至清晰之后,转开物镜头,在玻片的标本上滴加1滴香柏油,将油镜头转换至中央,缓慢调节粗调节器,使镜头浸入油中,当油镜头几乎接触玻片时停止转动(从侧面观察),边观察接目镜边轻轻转动粗调节器(此时只能上升镜头,不能下降,防止压坏玻片及损坏物镜),待看到模糊物象时改调细调节器,直至找到清晰物象。

镜检时应将标本按一定方向呈“弓”形移动,直至整个标本观察完毕,以防漏检。观察时应将两只眼睛同时睁开,左眼观察,右眼用于绘图或记录。标本观察完毕后,先将物镜头移开,再转动粗调节器使载物台下降,取下载玻片,立即用擦镜纸将镜头上的香柏油擦净。

4. 注意事项

(1) 显微镜是精密光学仪器,在搬放时应右手紧握镜臂,左手稳托镜座,平端在胸前,轻拿轻放。

(2) 显微镜放到实验台上时,先放镜座的一端,再将镜座全部放稳,切不可使镜座全面同时与台面接触,这样震动过大,透镜和微调节器的装置易损坏。

(3) 避免强酸、强碱、氯仿、乙醚、乙醇等化学药品与显微镜接触,避免日光直射,显微镜须经常保持清洁,勿使油污和灰尘附着。

(4) 接目镜和接物镜不要随便卸下,必须抽取接目镜时,须将镜筒上口用布遮盖,避免灰尘落入镜筒内。更换接物镜时,卸下后应倒置在清洁的台面上,并随即装入木箱的置放接物镜的管内。

(5) 细调节器是显微镜最精细而脆弱的部分,不要向一个方向连续转动数周,应轻轻地来回旋转。

(6) 镜头必须保持清洁,油镜使用完后应立即用擦镜纸拭去香柏油。若油镜镜头上的油迹未擦干净,应先将1:1醇醚混合液或二甲苯滴在擦镜纸上擦拭镜头,再用干净擦镜纸将镜头上残留的醇醚混合液或二甲苯擦净。

(7) 显微镜擦净后,取下标本片,下降聚光器,再将物镜转成“品”字形,送至显微镜室放入镜箱内。

(三) 暗视野显微镜

1. 构造与原理 在显微镜上安装一个特制的聚光器—暗视野聚光器。此聚光器中央为一黑板所遮,光线不能直接通向镜筒,使视野背景黑暗。这样,从聚光器周边斜射到载玻片上细菌等微粒上的光线,就因散射作用而发出亮光,反射到镜筒内。故在强光照射下,可在黑色的背景中看到发亮的菌体。正如我们在暗室内,能看到从隙缝漏入的阳光下,有无数颗尘埃微粒跳跃飞舞一样。