

農畜疾病微生物學診斷

(上 冊)

H. M. 洛扎諾夫著

田韞珠 王金生譯

畜牧獸醫圖書出版社

序 言

診斷就是識別疾病，是防治及預防疾病措施鏈鎖中的首要環節。傳染病的診斷時如沒有微生物學的檢查便失掉其意義。我國廣大的獸醫診斷實驗室均裝備了最新的器械、工具與研究傳染病病原體的一切必需的設備。並且微生物學診斷的方法及工具也是逐日地在改進着，但現在還沒有一本書能夠在其篇幅中有系統地敘述微生物學技術的實踐基礎，以供現代獸醫診斷實驗室專家所需用。本書，是首次試圖完成獸醫書籍中的這個缺口。

本書的總論部分除記載有一般所使用的器械及微生物學的技術操作方法外，尚有新的器械、微生物的染色方法與培養方法，特別是濾過性病毒等的培養方法。此外還記載有診斷材料的準備方法、檢查方式與程序及檢驗文件等。

各論部分記載有各種農畜疾病的實驗室診斷法。著者並竭力廣泛地採取了蘇聯獸醫及醫學上的現代成就，並對於某些材料的各種代替品的利用方面也予以充分的注意。

編寫本指導時，也涉及了著者在全蘇實驗獸醫研究所中央獸醫師深造班教育工作中的經驗以及蘇聯農業部及蘇聯國營農場都在進行診斷檢查方面所擬定的指示要求。

血孢子蟲病及寄生蠕蟲的診斷部分是由獸醫候補博士 А. А. 葛里金佈拉特（莫斯科獸醫學院）執筆。

如果本書能給獸醫專家們在家畜、家禽疾病的及時而正確地診斷

工作（農莊預防工作中的決定性環節之一）上有所幫助時，我們認為已達到了預期的目的。

副教授 Н. И. 洛札諾夫

目 錄

序 言.....	(1)
----------	-------

總 論

微生物学的技術

光学器械.....	(1)
顯微鏡.....	(1)
位相比差(顯微鏡)檢查法.....	(13)
顯微鏡的使用及護理.....	(15)
限外顯微鏡.....	(19)
电子顯微鏡.....	(20)
顯微鏡下物体的測量法.....	(23)
旋轉接目測微計.....	(25)
縮圖器.....	(26)
滅菌的方法与器械.....	(28)
高压蒸汽滅菌器.....	(31)
濾过法及器械.....	(36)
超濾过滤器.....	(45)
唧筒.....	(48)
真空測量計.....	(50)
培养与培养菌研究用器械.....	(52)
定溫箱.....	(52)
定溫箱的護理.....	(55)

振盪器.....	(56)
加熱用器械.....	(58)
細菌學的染料.....	(61)
染料飽和酒精溶液的製備.....	(63)
工作用染料溶液的製作.....	(64)
細菌學的顯微鏡檢查法.....	(69)
顯微鏡檢查用塗片的製作法.....	(70)
非染色標本的檢查法.....	(73)
微生物的陰性(橢形)檢查法.....	(75)
微生物的生菌(活的)染色法.....	(76)
塗片的染色法.....	(77)
塗片的單染色法.....	(80)
羅倫切夫染色法.....	(80)
塗片的複(鑑別)染色法.....	(81)
革蘭氏染色法.....	(81)
革蘭氏染色法修正法。修正法 I (史尼夫氏), 修正法 II (艾特克思氏).....	(84)
抗酸性微生物染色法.....	(85)
用紅色苯胺色素染色法(莫勞久夫與柯勞里考維氏).....	(90)
莫勞久夫氏鍍銀法.....	(91)
荚膜染色法.....	(93)
芽胞染色法.....	(95)
鞭毛染色法.....	(97)
鞭毛鍍銀染色法——莫勞久夫氏修正法.....	(98)
細菌學的檢查法.....	(102)
培养基.....	(102)
培养基反应的修正.....	(102)

培养基的濾过及透明法.....	(111)
培养基的製作.....	(112)
鑑別診斷用培养基.....	(123)
丰富培养基.....	(132)
微生物还原特性檢定用培养基.....	(133)
嗜血性微生物用培养基.....	(133)
合成培养基.....	(135)
厭氧菌用培养基.....	(137)
乾燥培养基.....	(142)
用乾燥粉末製作培养基的方法.....	(142)
真菌培养用培养基.....	(145)
培养基各成分的代用品.....	(149)
普通肉浸液的代用品.....	(149)
工廠製炭水化合物的代用品.....	(150)
培养与移植細菌於培养基上的方法.....	(154)
細菌的純培养菌的分离法.....	(156)
純培养菌的研究.....	(160)
厭氧性菌培养法.....	(172)
厭氧性培养物的生長特徵和檢查.....	(182)
厭氧菌材料的檢查程序.....	(184)
血清学的檢查法.....	(190)
凝集反应.....	(191)
點滴法.....	(195)
迅速凝集反应.....	(196)
顯微鏡下的凝集反应.....	(197)
凝集反应加速法(諾布里氏).....	(197)
類屬凝集反应的抑制法.....	(198)

卡斯替拉氏的凝集素吸收法.....	(198)
血球凝集反應.....	(199)
血球凝集抑制反應.....	(200)
副傷寒凝集素血清.....	(200)
沉澱反應.....	(204)
補體結合反應.....	(209)
生物學的檢查法.....	(230)
實驗動物.....	(230)
實驗動物的固定及接種方法.....	(243)
噬菌體.....	(253)
診斷材料的處理法.....	(263)
實驗室檢查用病理材料的採取.....	(263)
實驗室檢查材料的程序.....	(268)
微顯用文件的製作.....	(269)

〔本書“附表”均在下冊〕

光 学 器 械

顯 微 鏡

顯微鏡區分为二主要的部分：机械部分与光学部分。

顯微鏡的机械部分为由鏡架所構成（圖1），此鏡架是由U形或L形字母狀之底部或鏡座1与上部的——鏡臂或鏡柱2所組成，鏡柱藉活動關節3与鏡座相連結。鏡筒4固定於鏡臂之上，在鏡筒的下端裝有轉換器5。鏡筒藉粗動升降螺旋6沿着鏡柱而移動，但用於更微細的裝置時是微動升降螺旋7。載物台8亦固定於鏡臂之上，在它的下面裝置有活動照明裝置9。

顯微鏡的光学部分係由於反射鏡10，帶有虹彩遮光器的集光鏡11和旋轉於鏡筒下部或轉換器上的接物鏡12，以及插入在鏡筒上部中的接目鏡13所組成。

机械部分 大多數現代的顯微鏡均具有蹄鉄形的低鏡座所謂大陸型的鏡架；亦有呈三脚形的高鏡座顯微鏡（英國型）。鏡座应具有相當的重量，以便保持顯微鏡在水平位置的穩定性。一般現代顯微鏡的鏡架均具有活動關節，因此可使顯微鏡的整個上部向後傾屈，在一般的操作中給与一定的便利，而且在顯微投影及顯微鏡照相像上亦完全必要。

載物台普通為圓形或方形，不動性或為更複雜的可動性台；台面上有孔，於此孔中插入有彈性的片鉗（标本固定鉗）以便於固定載物玻片之用。可動性台藉齒輪和螺旋向二相互垂直的方向移動。大形

十字形可動載物台（圖2）對操作上極為便利，利用它可以系統地檢查整個的標本。在此台上的載物片固定於二固定鉗間；左方的鉗可以移動。因此可以固定不同長度的載物玻片。標本移動的尺度，可在具有0.1毫米正確度的游動標尺的特殊的標示綫上計算。根據預先記出物體一定位置的標示綫數字，於再檢查時就可很快地找到標本中必要的部位。藉助於一特殊的槓桿停止載物台向雙方移動，而把標本留置在所確定的位置上；如沒有十字形可動載物台時，可藉固定在鏡台上的標本推進器來移動標本的位置（圖3）。

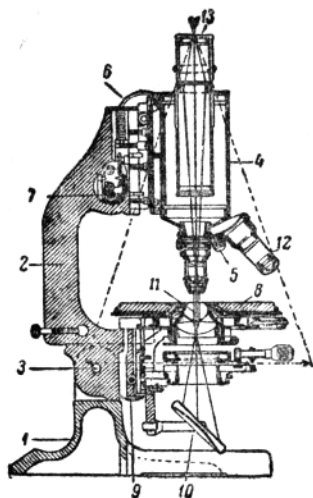


圖1 顯微鏡

- | | |
|--------------|------------|
| 1. 顯微鏡座； | 2. 鏡臂（鏡柱）； |
| 3. 活動關節； | 4. 鏡筒； |
| 5. 轉換器； | 6. 粗動升降螺旋； |
| 7. 微動升降螺旋； | 8. 載物台； |
| 9. 活動照明機械設備； | 10. 反射鏡； |
| 11. 集光鏡； | 12. 接物鏡； |
| 13. 接目鏡。 | |

鏡筒：比較複雜的顯微鏡的鏡筒係由兩個鏡筒所組成。外筒固定至下部，為了避免光綫的反射，內部鏡筒的表面塗為黑色。鏡筒上部的外面記有以毫米計算的刻度，此刻度規定了鏡筒的機械長度（自接物鏡螺旋綫上緣的固定點到頂部——接目鏡——鏡筒邊緣的距離）。美國與英國的顯微鏡鏡筒的機械長度為250毫米，其餘所有的顯微鏡也包括我國的在內均為160毫米。特別在液浸系的应用時，應嚴格遵照所規定的鏡筒長度。鏡筒上下的移動，是藉着帶有斜齒綫的齒桿與粗動升降螺旋而升降；此系統是在利用光學系統的粗大操用時使用。但在進行更精確照準時則須藉助微動升降螺旋。微動升降螺旋根據其顯微鏡樣式的不同，可以是垂直或水平的位

轉換器係由二个稍弯屈的金屬板所組成，它被固定於鏡筒的下端。在可動轉換器的金屬板下面有2、3或4个固定接物鏡的螺旋孔（圖4）。某些型的顯微鏡裝置有附加裝備來代替轉換器，这个裝置由二部分所組成：其一為旋擰於鏡筒中的精確研磨的導管；第二部分為與接物鏡相連接的部分（帶有適當的滑走部）。每一個接物鏡都有自己的帶有滑走部的附設物（圖5）。在構造簡單的顯微鏡其所需的接物鏡是直接旋擰於鏡筒的上面；但此种样式很不方便，因而在不同程度的擴大檢查時，每次都須擰下不必要的接物鏡並須旋擰上所需要的接物鏡。

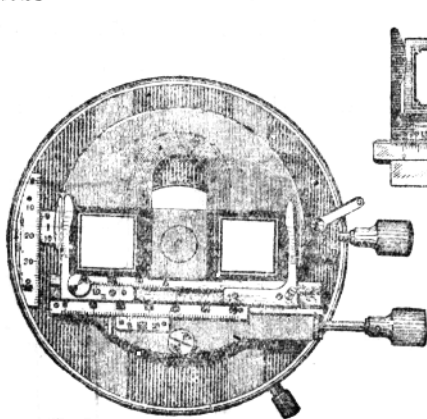


圖2 十字形活動載物台

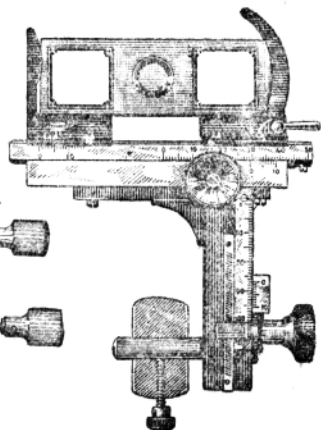


圖3 標本推進器

光学部分：生物学顯微鏡的照明裝置或阿部氏集光鏡，係由反射鏡、遮光器與集光鏡透鏡的系統（圖6）所組成。反射鏡，為二精確的反射鏡——平面鏡與凹面鏡，鑲嵌在一個圓形的直徑40—50毫米的普通的金屬殼內。反射鏡可以圍繞其支持器（可動地固定於軸上）之叉形軸而迴轉，反射鏡軸插入於軸孔中水平地被固定在鏡架上。反射鏡

在可能範圍內应当適用於任何位置以便於接受來自任何光源的光束，可以按着顯微鏡的光軸通過被檢查的物體。有些顯微鏡為了反射鏡的上下變位而具有特殊裝置。平面反射鏡並不改變落在它上面的光束的樣式，而凹面鏡則集中從反射鏡所反射的光線於一明顯的點上。弱擴大時主要使用平面鏡而在強擴大時則使用凹面反射鏡。平面鏡並不歪曲光線的線路所以使物體能較正確地照明；在弱擴大下用平面鏡照明時，被檢查標本的外形，比用凹面鏡時要顯著地明瞭。

遮光器：為了限制光束，特別是在其邊緣部分照明不平均，因而映像失去其清晰性，這時自然地也就減少了映像的明顯性，所以必須借助於遮光器。在簡單的，特別是舊式構造的顯微鏡，常常應用帶有 5—6 個直徑不等的圓孔所謂旋轉遮光器（Резольверная диафрагма）。藉轉動遮光器的圓板來決定使用那一個孔，以使一定數量的光線進入到達在物體的上面。



圖4 轉換器

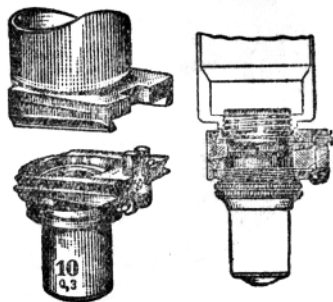


圖5 接物鏡的附加裝置

同樣也使用圓筒遮光器（Цилиндрическая диафрагма），此器的上部為有狹細圓筒狀裝置之筒，可插入於固定在鏡台下面的筒管中。此種裝置的上面部分，是嵌入帶有不同孔徑（1、3、6 毫米）的蓋。這樣的遮光器應當放置在載物台的上部平面上（圖 7）。

現代生物學的顯微鏡均裝置有所謂虹彩遮光器，此虹彩遮光器係

由於鑲嵌在一個框內的許多可活動的節片所組成。虹彩遮光器孔類似瞳孔，藉助於一特殊的槓桿可以逐漸地收縮（圖 3）。在工作中虹彩遮光器非常方便而且在顯微鏡檢查上對照明的調節上是最現代的設備。

集光鏡的作用是將分散或平行的光綫集中起來，亦即在加強对被檢物体的照明時使用。集光鏡的構造係由一圓錐形的金屬框，內裝有兩個透鏡（通常為一個裝置在另外一個透鏡的上面）所構成：下面的為一雙凸透鏡，在它的上面的為一小形平凸透鏡。小平凸透鏡的上部平面應與鏡台上

部的平面相平

行（圖 9）。

為了獲得清楚

的映像，被檢

物体應位在集

光鏡的焦點

上；為此，根

据光源与載物

玻片的厚度不

同，可藉集光

鏡的上升或降

低的方法對集光器進行調節。

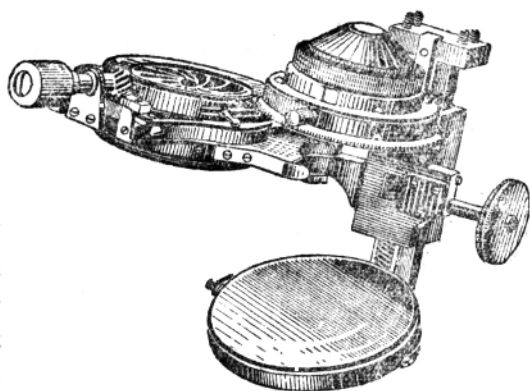


圖 6 照明裝置

多數顯微鏡裝有“折合式（Откидной）”集光鏡（圖 10），此種集光鏡在必要時可以簡單而容易地引轉於一旁。同樣，也應用了有着強度光力的三個透鏡組成的集光鏡；以及由各種複雜結構透鏡所組成的消除散光的消錯集光鏡和消除顏色分散的消色集光鏡。

接物鏡——為顯微鏡的最貴重與最脆弱的部分，它是裝配在一普通的金屬框內的光學玻璃結構。接物鏡可決定顯微鏡光學的性能，此性能包括其自身可能擴大的倍數、解像力與物像的正確性。

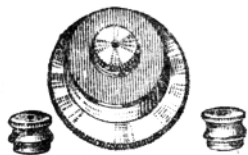


圖7 圓筒遮光器



圖8 虹彩遮光器

接物鏡中最小的、在前端的（距物體最近者）透鏡稱為前端鏡；它在接物鏡中為唯一有擴大力的透鏡。所有其他接物鏡的透鏡的使命均為了消除所獲得的映

像中存在的缺點，所以稱之為矯正鏡。接物鏡之擴大力愈強，其焦點距離愈短，前端透鏡的彎曲度亦愈大。最強力的透鏡，其形態接近為半球形並有着最小的直徑。

接物鏡的構造是按照它的擴大力的增高而複雜化，所有的接物鏡區分為：比較簡單而便宜的消色透鏡與能夠除去光學映像中各種缺點的——最現代的透鏡即消色消錯透鏡。消色消錯透鏡係自所謂“新式的”光學玻璃種類即礪素玻璃、氟素玻璃與螢石製造的，而消色透鏡則是使用“舊式的”玻璃：普通玻璃與鉛玻璃（最好的板玻璃與上等硅酸鉛、硅酸鉀合成玻璃）。也有半消色消錯鏡或構造

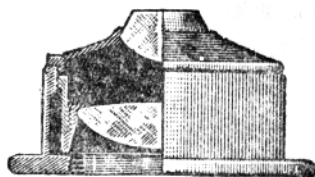


圖9 集光鏡

比較簡單的螢石製接物鏡，但此接物鏡也是使用與消色消錯透鏡同樣的玻璃所製成的。

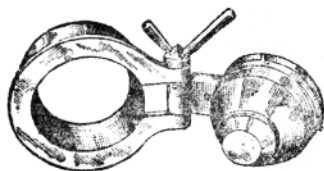


圖10 折合式集光鏡

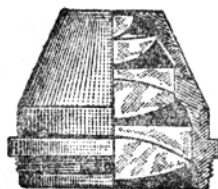


圖11 消色集光鏡

接物鏡的前端鏡與被檢物體間有空氣層的接物鏡稱為乾燥系並用字母(或數字)或在其上用時來表示其焦點距離的長度(例, $\frac{1}{3} = 3$ 毫米等)。大多數的消色消錯接物鏡焦點距離的長度, 均用毫米(16.8毫米、4毫米)來表示。

為了避免一部分光線的損失, 將最強力的接物鏡之前端鏡, 浸置於放在標本上面有着與玻璃屈折率相近的液體中, 一般使用一滴香柏油。香柏油的屈折率為1.515, 而玻璃的屈折率為1.53。

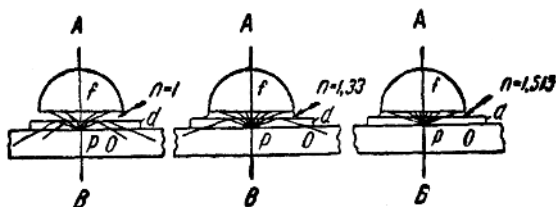


圖12 乾燥系、水浸系及油浸系接物鏡的光路 表示圖

n ——屈折率; P ——標本; f ——接物鏡的前端鏡; d ——蓋玻璃。

因為玻璃與香柏油的屈折率相差極小, 所以全部光線既不反射也不屈折, 完全落於待檢物體中。各種光學媒質中光線的進路, 如圖12所示。

被浸於液體內的接物鏡稱為液浸系。液浸系有水浸系及油浸系。液浸系接物鏡的光學結構是很複雜的。在高度隆凸時其前端鏡極小; 透鏡的數量一般為6——7個, 但在更強力的接物鏡則為9——10個。

液浸系接物鏡的標記是: 消色鏡——其焦點距離的長度在下側以英吋($\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$ 等)表示之, 消色消錯透鏡——焦點距離長度記以毫米(2毫米, 1.5毫米)。焦點的距離與接物鏡系別(水浸系或油浸系)的標記, 一般刻於其外框的上面。

蘇聯顯微鏡的接物鏡均用帶有x形符號的數字表示之, 按前述各

該系統自身擴大的倍數記如：8x、40x、90x（液浸系）。近年來一些外國商號亦用同一方式來標記接物鏡。

接目鏡 現在最多用的接目鏡為海庚氏接目鏡與補正接目鏡。

海庚氏接目鏡係由於二平凸透鏡所組成，二鏡彼此裝置於一定的距離，而且鏡的凸面銜向物體的方向。接目鏡上面的透鏡稱為目鏡，下面的透鏡稱為集合鏡（Коллектив）；二鏡之間的鏡筒中有帶有圓孔的遮光板。遮光板以其十分圓的邊界與對週邊光線的約束而限制了視野的範圍。

接目鏡有各種不同的強度，強擴大接目鏡的焦點與接目鏡的長度比弱擴大的接目鏡較短。

接目鏡用羅馬字或阿拉伯數字來表示之；弱擴大接目鏡一般用數字1和2表示之，3與4表示為中等。強擴大接目鏡為15x與20x，因它所映之像不明顯所以很少應用。

蘇聯顯微鏡的接目鏡標記為7x、10x與15x，此為表示它們自身的擴大倍數數字。

補正接目鏡的構造比較複雜，它們可以補正各接物鏡中光學的缺點恰如其所命名。

補正接目鏡在理論上僅可應用於消色消錯接物鏡，但實際証明，亦可應用在消色接物鏡（鏡口率0.80以上）。補正接目鏡用K字或“Comp”與數字來表示之。此數字幾乎完全與該接目鏡自身的擴大倍數相應。

補正接目鏡的號數.....	2	4	6	8	12	18
焦點距離（毫米）.....	75	47	30	18.5	15	10
擴大倍數.....	3 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	8 $\frac{1}{2}$	13.5	16 $\frac{1}{2}$	25

近年來製造了具有一個接物鏡和兩個接目鏡的雙目雙筒顯微鏡。接目鏡可按研究者的兩眼間距離適當地移動，距離移動的限度為由56到76毫米。在接目鏡與接物鏡之間裝置有三稜鏡。

現代光學工業製造了特殊顯微鏡的雙筒裝置，所以任何單筒的顯微鏡均可變換成雙筒的顯微鏡（圖13）。

顯微鏡的質量決定於以下三個主要標識：1）擴大的能力；2）光學性能的限度，即在光線連結中幾何學的正確性，也就是以明顯而正確的被檢物體的外形為根據；與3）解像的能力（映像力），即物體的詳細構造映出的能力。

顯微鏡的接物鏡是映出物體的擴大像，而接目鏡恰如一擴大鏡，再由它將所獲得物像加以擴大。因此一般顯微鏡總的擴大倍數等於接目鏡與接物鏡擴大倍數的乘積。如接目鏡和接物鏡的擴大倍數在其外框上用帶X號的數字來表示，那麼其接物鏡外框上的數字和接目鏡自身數字的相乘積即為顯微鏡的擴大倍數。

一般顯微鏡的擴大倍數可以按照下式來確定：

$$V = \frac{160}{F_{\text{ог}}} \times \frac{250}{F_{\text{ок}}}$$

$F_{\text{ог}}$ ——接物鏡焦點的距離， $F_{\text{ок}}$

——接目鏡焦點的距離，160毫米——顯

微鏡筒的機械長度，250毫米——明視距離（正常視力的距離）的長度。

例，接物鏡的焦點距離為2毫米與接目鏡的焦點距離為20毫米，一般顯微鏡的擴大倍數可以按下式求得：

$$X = \frac{160}{2} \times \frac{250}{20}, \text{ 或 } 80 \times 12.5 = 100.$$

蘇聯МБИ-1型顯微鏡是現代型的生物學顯微鏡，因之適用於在透過光線，明視野與暗視野下對透明物體的檢查。МБИ-1型與我國

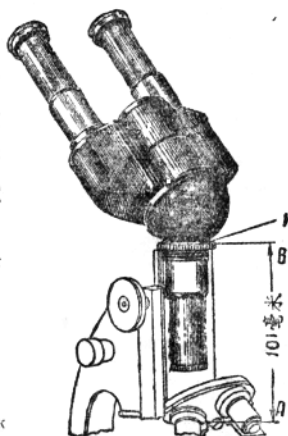


圖13 雙接目鏡裝置

以前的顯微鏡型區別如下：МБИ-1型較低，對於檢查者比較方便；有水平位置的鏡台，對於液體的檢查特別方便，粗動與微動昇降螺旋的位置在下面，在長時間顯微鏡檢查時，工作中非常輕快（手可放在桌上面）。

МБИ-1型的光學結構亦與之不同，在接物鏡與接目鏡的光路中裝有三稜鏡，此三稜鏡在同一鏡筒的長度中（160毫米）可曲折光路並把鏡筒中的光軸以 45° 角導向一個平面。

顯微鏡的構造如圖14所示，在鏡臂的上部有適於固定轉換器之楔形的頭，上面——穴部係為了固定單目斜鏡筒或直鏡筒或雙目鏡的設備。單目斜鏡筒的下部部分呈球形；裏面裝有双重反射的三稜鏡。

МБИ-1型顯微鏡中同樣附加有直形單鏡筒。顯微鏡的集光鏡有兩個透鏡，它具有1.2的油用的鏡口率。集光鏡上裝置有折合式帶框的濾光器的虹彩遮光器。集光鏡上部的透鏡可以取下：如在操作中必

須用弱擴大時，例如，用 $8\times$ 接物鏡，此時可將其鏡口率減低到0.5。又可插入暗視野集光鏡ОИ-2（如後面的記載）來代替普通的集光鏡。

消色接物鏡鏡筒長度為160毫米時，蓋玻片的厚度應為0.7毫米。油浸系接物鏡（ $90\times$ ）上具有虹彩遮

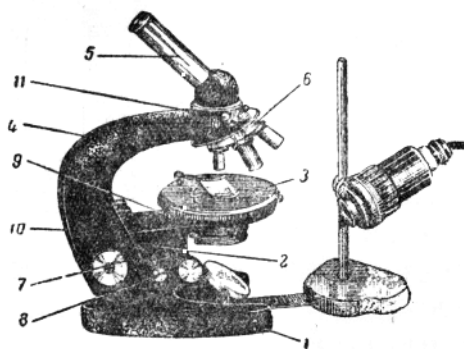


圖14 МБИ-1顯微鏡ON-7光源

1. 鏡座； 2. 上部——微動機械的箱； 3. 載物台；
4. 鏡臂； 5. 斜鏡筒； 6. 轉換器；
- 7.—8粗動與微動螺旋； 9. 固定鏡台旋轉的螺旋；
10. 使鏡台移動8毫米的右側與左側的螺旋；
11. 固定螺旋（固定單斜鏡筒於垂直軸周圍之任何位置）。