

高等學校教學用書

獸醫微生物學實驗

В. В. КУЗЬМИН, А. Я. ПАНКРАТОВ
М. А. СЕФЕРШАЕВ, А. И. ШАПОВАЛОВА 著

夏 鴻 業 譯

高等教育出版社

醫學微生物學實驗

獸醫微生物學實驗

主編：張學軍 副主編：王國棟 王國棟 王國棟 王國棟

主編：張學軍 副主編：王國棟 王國棟 王國棟 王國棟

醫學微生物學實驗

高等學校教學用書



獸醫微生物學實驗

B. B. 庫茲明, A. Я. 潘克拉托夫 著
M. A. 謝菲爾薩也夫, A. И. 薩波瓦洛娃
夏鴻業 譯

高等教育出版社

本書係根據蘇聯農業書籍出版社 (Сельхозгиз) 出版的 В. В. 庫茲明 (В. В. Кузьмин), А. Я. 潘克拉托夫 (А. Я. Панкратов), М. А. 謝非爾薩也夫 (М. А. Сефершаев) 和 А. И. 薩波瓦洛娃 (А. И. Шаповалова) 著 “獸醫微生物學實驗” (Практические занятия по ветеринарной микробиологии) 1952 年版譯出。原書經蘇聯高等教育部審定為獸醫學院及獸醫系用教學參考書。

本書共分微生物學總論及各論兩部分：總論內容，敘述微生物學的一般基礎技術的操作方法；各論內容，敘述各種主要病原菌及濾過性病毒的特性及檢查方法。

參加本書翻譯工作的為東北農學院畜牧獸醫系微生物學教研室夏鴻業同志；參加校訂工作的為該教研室田蘿珠、王錫堃、王金生等同志。

獸醫微生物學實驗

書號270(課248)

庫 茲 明 等 著
夏 鴻 業 譯

高 等 教 育 出 版 社 出 版

北 京 瑞 瑞 廠 一 七 〇 號

(北京市書刊出版業營業許可證出字第〇五四號)

新 華 書 店 總 經 售

商 務 印 書 館 印 刷 廠 印 刷

上 海 天 通 巷 路 一 九 〇 號

開本850×1168 1/32 印張5 10/16 字數 137,000
一九五五年三月上海第一版 印數 1—2,500
一九五五年三月上海第一次印刷 定價 九角七分



序 言

1950 年在微生物學者和家畜流行病學者的教學會議上提出，要求作者們為獸醫學院和獸醫系，寫一本獸醫微生物學實驗參考書。

在 В. В. 庫茲明(В. В. Кузьмин)副教授倡導下，為寫這本參考書成立了一個小組。組內成員有：В. В. 庫茲明副教授、А. Я. 潘克拉托夫(А. Я. Панкратов)教授、М. А. 謝菲爾薩也夫(М. А. Сефершаев)副教授和 А. Н. 薩波瓦洛娃(А. Н. Шаповалова)助教。這個小組於是就寫了這本實驗參考書。

依照教學計劃規訂的微生物學的教學時間的分配，給在微生物學這門課程實驗計劃的擬定上，帶來了一些不方便。因此在各個學院中的微生物學實驗，都有所不同。在某一些高等學校，無論在第四學期及第五學期，都有三小時的實驗，而在其他高等學校則有兩小時的實驗。有些學院，第四學期甚至還有四小時的實驗。

這種情況，給作者們在編寫這本實驗參考書時，造成了一些困難。

可是作者們考慮到，迫切需要這本實用於獸醫大學和獸醫系有關獸醫微生物學方面的實驗參考書，所以他們把編寫這本書，看成是自己的義務，同時也認為在某種程度上，會便於學生們在這門課程中的實踐工作。

因為考慮到上述情況，作者們是按着根據微生物學的教學大綱，按照每週進程來敘述這些材料的。我們也覺得這樣的配備材料，是最合適的，並且在適應於地方條件的情況下，給各個學院創造了利用這一參考書的可能性。

學生們在微生物學總論和各論各篇實驗工作之後，便可以獨

自解決有關細菌學方面的問題。在各個場合下，課題的選擇和擬定，都需要考慮到學生們對學過的部分材料掌握的程度，並應考慮到教研室的具體情況。這些問題，應該直接在教研室教學會議上，進行討論和解決。

作者們清楚的瞭解到，這本參考書不可能完全滿足各個學院在獸醫微生物學講授中所提出的具體要求。但假如作者們這一微小的勞動，能對教師和學生在獸醫微生物學實驗作業和編排工作中，以及在提高學生們的成績方面有所幫助，那麼，著者們就很滿意了。作者們感謝在一起工作的同志們和對這本書中的缺點給予批評的學生們。

本書各章執筆者：

庫茲明副教授：(1)序言，(2)微生物檢查法，(3)顯微鏡，(4)製備最常用的染色液，(5)培養基(一般的知識)，(6)滅菌，(7)純培養菌的分離，(8)菌落的研究，(9)實驗動物感染，(10)病原性球菌，(11)豬丹毒桿菌，(12)巴斯德氏桿菌，(13)每週實驗概括的分配；

潘克拉托夫教授：(1)製成的染色標本顯微鏡檢查及普通染色法，(2)荚膜染色，(3)芽胞染色，(4)抗酸性細菌的染色，(5)微生物的活體染色，(6)微生物運動性的檢查，(7)破傷風病原體，(8)肉毒桿菌病及壞死桿菌病病原體，(9)腸傷寒桿菌屬，(10)李氏桿菌病原體，(11)放線菌病病原體，(12)髮癬及頭癬菌病病原體，(13)實驗實施中一些方法的說明；

謝菲爾薩也夫副教授：(1)厭氣性微生物的分離及培養方法，(2)空氣、水、土壤及飼料的細菌學檢查，(3)腸道微生物區系的檢查，(4)沉澱反應，(5)化膿性桿菌，(6)炭疽桿菌，(7)氣腫疽病原體，(8)惡性水腫病原體；

薩波瓦洛娃助教：(1)天然培養基，(2)人工培養基，(3)有色培養基，(4)微生物的培養，(5)凝集反應，(6)溶菌現象，(7)補體結合

反應及膠固反應,(8)鼻疽病原體,(9)流行性及潰瘍性淋巴管炎病原體,(10)結核病原體,(11)濾過性病毒——傳染病病原體。

著者們

目 錄

序言	1
----------	---

微生物學總論

微生物檢查法	1
--------------	---

一般的知識(6)顯微鏡(7)製成的染色標本顯微鏡檢查及普通染色法
(17)製備最常用的染色液(19)微生物的複染色(23)荚膜染色(25)芽
胞染色(26)抗酸性細菌的染色(27)微生物運動性的檢查(28)微生物
的活體染色(30)

培養基	20
-----------	----

一般的知識(33)天然培養基(35)人工培養基(36)有色培養基(42)滅
菌(48)

微生物的培養	39
--------------	----

純培養菌的分離(61)菌落的研究(67)厭氣性微生物的分離及培養法(70)

空氣、水、土壤及飼料的細菌學檢查	53
------------------------	----

腸道微生物區系的檢查	60
------------------	----

實驗動物感染	65
--------------	----

血清學反應	72
-------------	----

沉澱反應(102)凝集反應(104)補體結合反應(112)

微生物學各論

病原性葡萄球菌	89
---------------	----

病原性鏈球菌	92
--------------	----

其他病原性球菌	96
---------------	----

化膿性桿菌	98
-------------	----

巴斯德氏桿菌	100
猪丹毒桿菌	103
炭疽病原體	105
氣腫疽病原體	113
惡性水腫病原體	116
破傷風病原體	121
壞死桿菌病病原體	123
肉毒桿菌病病原體	125
腸傷寒桿菌屬	129
布魯氏桿菌	140
李氏桿菌病病原體	146
鼻疽病原體	148
流行性及潰瘍性淋巴管炎病原體	151
結核病原體	153
放線菌病病原體	157
髮癬菌病病原體	158
頭癬病原體	159
濾過性病毒——動物傳染病病原體	160
實驗實施中一些方法的說明	164

獸醫微生物學實驗

微生物學總論

微生物檢查法

一般的知識

檢查微生物利用下列四種方法：(1)細菌鏡檢法，(2)純培養法，(3)實驗動物感染法及(4)血清學的方法。

細菌鏡檢法或顯微鏡下微生物的檢查法，主要是利用於微生物形態學的研究。

此種方法是研究微生物的形態、大小、細胞相互間的配列、運動性、細胞的構造以及微生物對染色的關係。為此，須從人工條件下培養基上培養的細菌培養物或從適當處理的被檢病理材料中，專門製備塗片(標本)並在顯微鏡下檢查。有時塗片是在不染色情況下檢查，例如，在檢查非洲馬鼻疽病原體材料時，即應用此法。

細菌學方法或純培養法主要是用於研究微生物的生理學。微生物在人工培養基上發育時，研究它們的營養和呼吸過程，觀察它們對自己的生長利用什麼樣的營養物質，在培養基中引起什麼樣的變化以及在其本身生活過程中，分泌什麼樣的產物(如，氣體、毒素、酶等)。

使用實驗動物人工感染法是測定某一種微生物對動物機體可能發生的影響。研究病的發展及病的經過，且在斃死後進行剖檢，以確定該種微生物在動物機體內，自身生命活動的結果所引起的變化，並從屍體中分離病原體的純培養菌。

在實驗室中，用作試驗的動物通常是利用家兔、豚鼠、小白鼠(很少用小灰鼠)、大白鼠和鴿子。實驗室內試驗的操作，用大動物是比較少的，僅在特殊檢查時利用。

血清學的方法是藉助於各種血清反應，來檢查傳染病的未知病原體。關於血清反應

將在下面談到。血清學的方法基本是應用特殊的血清(動物免疫時所製得的),檢查未知的細菌或藉已知的抗原來檢查由患者採來的未知(被檢)血清。如檢查布魯氏桿菌病、副傷寒及鼻疽等,即應用這樣的血清。

同樣可根據已知的微生物,利用血清反應來檢查未知的傳染病,此時,不用事先已製好的血清,而是利用由患者獲得的血清。

顯微鏡

課題 (1)熟悉顯微鏡的構造並研究其各個部分的相互作用;(2)在顯微鏡下檢查三枚已製成的標本並練習使用油浸系;(3)通曉及記錄使用顯微鏡的規則。

材料及儀器 (1)顯微鏡;(2)裝在瓶中的香柏油(按照需要);(3)三種細菌的染色標本(按照學生人數)。

顯微鏡的概念 顯微鏡是一種能夠放大用肉眼所不能看見的微小物體(無論是有生命的或無生命的)的複雜光學儀器(圖1)。在微生物學中,顯微鏡是用於研究無論是死的、活的、染色的或不染色的微生物。

顯微鏡是適當裝配成的光學玻璃裝置,被檢物可放大 800—3000 倍,同時可以容易地識別和研究這些微小的生物或無生命的微小物體的形態和構造。

第一個顯微鏡,實際上是不適合於細菌學精確檢查用的普通放大鏡,並且放大倍數比較小。

俄國在十月革命前並未曾製造顯微鏡,現在蘇聯已具備優良的國

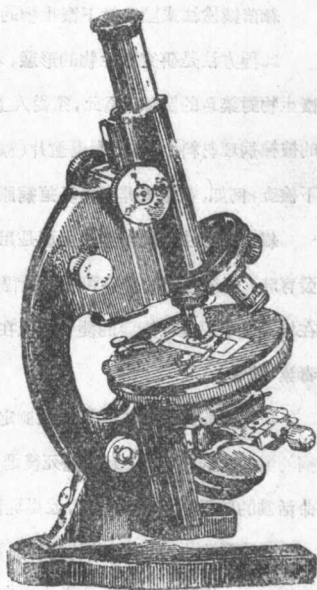


圖1. 現代生物學的顯微鏡

產顯微鏡，用之裝備了我們的學校、科學研究機關及各地區的工作人員。

顯微鏡的主要部分 顯微鏡可分為機械的裝置與光學的裝置二部分。

機械裝置僅是骨架部分，在它的上面固定着所有的光學部分，是由以下各主要部分所構成的。

鏡架 鏡架的下面部分為鏡座，由沈重的金屬所製成，以保持顯微鏡最大的穩定性。鏡架的上面部分或鏡臂，是固定顯微鏡的鏡筒的。

載物臺在中間有孔，在臺的上面放置被檢查的標本及固定鈎，載物臺有可移動的與不動的，可移動的臺在工作時很方便，藉着螺旋可以將臺向兩個相互垂直的方向移動，這樣就給予檢查標本的不同部位的可能性，而不必在臺上直接用手使其移動。

鏡筒或筒是在其中固定着放大被檢物體的接物鏡與接目鏡。鏡筒是藉二個螺旋而向上下移動；使用微動螺旋時，其一個迴轉，

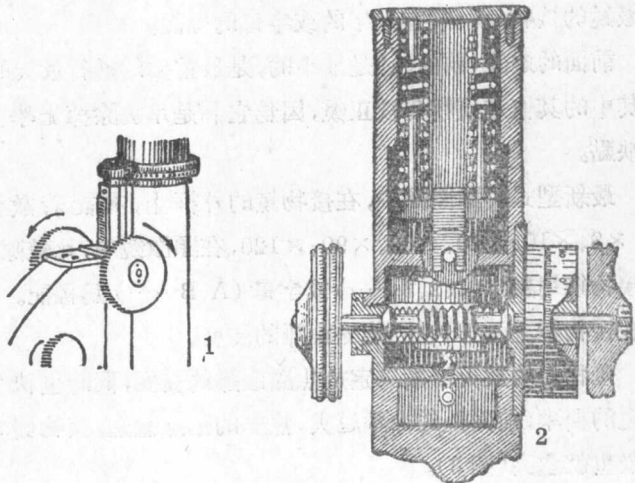


圖2. 顯微鏡的粗動螺旋(1)及微動螺旋(2)

鏡筒即上昇或下降 0.1 毫米，粗動螺旋或鋸齒螺旋是作為粗糙標準用的(圖 2)。

鏡筒是由兩個筒所構成，一個筒插入另一個筒中，在內筒上有以毫米計算的刻度，可以確定鏡筒一定的長度。鏡筒如抽出較長時，可以得到較大的放大倍數，但同時顯著地影響了映像的清晰性。大多數的接物鏡在鏡筒長 160 毫米時，呈最好的映像。

在鏡筒的下部固定着轉換器(帶有擰入接物鏡用的螺旋孔)，轉換器可圍繞着它自己的軸而轉動，因此可以按照希望來獲得或大或小的放大倍數，而把任何一個接物鏡轉到鏡筒的下面。

光學裝置是由接物鏡、接目鏡、反射鏡與集光鏡所構成。各種光學部分的配合使被檢物體的照明有了較強或較弱的，以及使它的放大有較大或較小的可能性。光學裝置由以下各部分所構成。

接物鏡是包圍在金屬框內使被檢物體放大的透鏡系統。放大的程度是決定於我們所使用接物鏡前面鏡的曲率，透鏡的曲率越小，放大力也越小。每一個顯微鏡附有數個不同放大力的接物鏡。顯微鏡的接物鏡一般有數字的或字母的標記。

前面的透鏡(前面鏡)是最小的，是最重要的進行放大的透鏡。在其中的其他透鏡稱為校正鏡，因為它們是用於除掉光學上映像的缺點。

最新型式的顯微鏡中，在接物鏡的外框上，標記着放大的標誌： $\times 8$ 、 $\times 10$ 、 $\times 40$ 、 $\times 60$ 、 $\times 90$ 、 $\times 120$ ；在顯微鏡中，比較陳舊型式的接物鏡用數字(1、2、3……)或字母(A、B……)為標記。一些公司在接物鏡上，記出它們焦點距離的長度。

接物鏡的放大倍數決定於焦點距離的長度，同時也決定於前面鏡的曲率；前面鏡的曲率越大，焦點的距離愈短，接物鏡的放大倍數也就愈高(圖 3)。

細菌學檢查用顯微鏡可區分為浸涵系(或液浸系)及乾燥系二

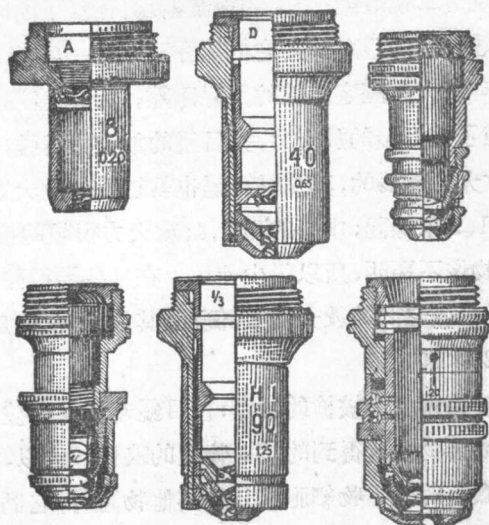


圖3. 各種接物鏡的縱剖面

型。液浸系接物鏡的數字是表示焦點距離的長度，由於顯微鏡的型式不同，用吋或毫米來表示。液浸系接物鏡與其他接物鏡相比，有着最大的放大力。它們所以被稱為液浸系，就是在用它們工作時，須將其浸置在液體（香柏油、凡士林油或水）中。通常是這樣操作：滴一滴香柏油於被檢物體的上面，然後轉動粗動螺旋，將接物鏡浸在此油滴中。這樣作是爲了使被檢物體與接物鏡間的空隙，充滿香柏油，而不使從被檢物體進入接物鏡中的光線分散。香柏油平均有和玻璃同一的折光率而可使光線達到最小限度的分散。

假如接物鏡與被檢物體中間，沒有香柏油狀的附加介質，那麼它們中間就充滿了空氣，由於空氣有不同的折光率，因此光線通過空氣層即相應的屈折，而不能全部進入接物鏡中。

所有其他接物鏡均稱為乾燥系，和液浸系接物鏡的不同點，是在操作時它們並不浸置於香柏油中。

接目鏡有二個透鏡：上面的透鏡稱為目鏡，下面的透鏡稱為集光鏡。二透鏡間的距離等於它們焦點距離的一半，因此根據接目鏡的長度可以大概測定出總的焦點距離。因為焦點的距離縮小時，就增強了接目鏡的放大力，接目鏡的放大力越強，其焦點距離也越短；放大力越弱的，其焦點距離也就越長。放大力最小的接目鏡用數字 1、2 來標記；中等的用 3、4；放大力很強的接目鏡用 5，因其所映的物像不顯明，所以很少使用。在某些顯微鏡的接目鏡上的標記，是根據它們的放大倍數，例如，其放大倍數為： $\times 5$ 、 $\times 7$ 、 $\times 10$ 、 $\times 12$ 、 $\times 20$ 。

僅是接物鏡放大被檢的物體；接目鏡却不放大被檢的物體，而只是放大從接物鏡所得到的被檢物體的映像。所以，如接物鏡不能擴大極微小的微生物細胞或任何其他物體時，它們仍然為不可見。顯微鏡總的放大倍數，是用接物鏡的放大倍數乘接目鏡的放大倍數的積來決定的。

接目鏡放大倍數的增加，與其附有的數字值相一致。

使用顯微鏡工作時，用低倍放大或中等放大的接目鏡較好（使用任何接物鏡），利用這些接目鏡時，可以獲得最顯明（清楚）的映像。

集光器是高倍透鏡的系統構成的，用於集中來自反光鏡的光線於一點——焦點。此焦點應位於被檢標本的平面上。用白天的光線檢查時，應當將集光器，上昇到載物臺的水平；用人工照明時，將集光器降低，在低倍放大時一直降到光源的映像不顯露在標本平面上為止。

反光鏡。反光鏡是固定在集光器下面可以自由旋轉作為反射光線用的兩面鏡；一面是平面，一面是凹面。反光鏡不僅用於反射光線，也可將光線轉向於檢查者所希望的方向。平面反光鏡通常在白天的分散光線下使用，而凹面反光鏡則是在用人工照明時集

聚光線之用。

遮光器是配置在反射鏡與集光鏡間的一種裝置。現代顯微鏡的遮光器是由於多數鋼製節片(虹彩遮光器)所構成。移動其操縱軸時,遮光器孔可以收縮(節片相接近)或擴展(節片後退),因而增強或減弱光束與被檢物的照明(圖4)。

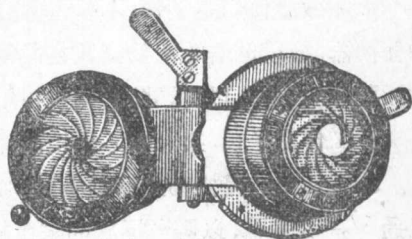


圖4. 放倒的帶遮光器的集光鏡

使用顯微鏡工作 在使用顯微鏡以前,必須檢查其各個部分的相互作用,有無

毛病並調整光源,以使視野有最大的照明。視野照明的方法如下:移動轉換器至最低倍放大的接物鏡,而使它與被檢物體的距離約為1.5厘米,檢查者向接目鏡內觀看並用反光鏡調節光源,以使反光鏡所反射的光線,通過遮光器孔及集光器而射入接物鏡中。

當視野的照明對好後,取檢查的標本,放在載物臺上,用固定鈎固定。根據檢查的目的,使用其一個接物鏡進行檢查。利用顯微鏡來研究微生物的形狀、確定其大小和構造,要製備顯微鏡的標本。檢查微生物常常是在特製的塗片上以染色的形式,在顯微鏡下檢查。

使用顯微鏡的主要規則 1. 顯微鏡必須防止塵埃與濕氣,工作完了後,放入鏡箱中或用布蓋上,或放在玻璃鐘罩下。

2. 乾燥系接物鏡用紗布或柔薄的皮革擦拭。

3. 工作完了後,用紗布或舊的細亞麻布從油浸鏡上,將香柏油擦去。當香柏油乾涸在接物鏡上時,用紗布或細亞麻巾,稍蘸些苯或90%的酒精將其拭去,然後擦乾。

4. 接目鏡必須定時地用紗布或軟巾擦拭。

5. 集光器、反光鏡、載物臺及顯微鏡的其他部分,也必須時時

用乾燥的軟巾或紗布擦拭。

6. 如香柏油滴落在載物臺上，必須用蘸有二甲苯的濾紙，將其拭去並用乾濾紙或乾巾拭乾。

7. 顯微鏡使用完了後，不要留置高倍的接物鏡於其上，而應轉動轉換器，換以低倍的接物鏡並在載物臺上和接物鏡的下面放以清潔乾燥的紗布，以便預防接物鏡損壞的危險。

8. 工作完了後，集光器必須稍微降落。

9. 當使用油浸接物鏡轉動微動螺旋向某一方面轉動時，不要超過 $1/2$ —2 迴轉，以避免螺旋的來復線損壞。

10. 使用低倍的或中等倍數的接物鏡檢查時，應只使用粗動螺旋來昇降鏡筒。

11. 勿使顯微鏡的鏡筒開放着（即鏡筒上不裝入接目鏡），因為這樣就使鏡筒內堆積灰塵並使接物鏡污染。

超顯微鏡的概念 檢查微生物時，除使用普通顯微鏡外，有時使用超顯微鏡。超顯微鏡是一種有暗視野的顯微鏡。暗視野受到明亮的側面光照。此時光線並不像一般顯微鏡那樣通過被檢物體，而是看到被檢物體在黑暗的背景上發亮。側面照明時，斜射的光線不射入於接物鏡中，而是射於檢查人的眼中。在用超顯微鏡檢查時，映入檢查者眼中的是照射在物體上，在被檢物體上發生屈折而反射出來的光線。此時所見到的現象，與在黑暗的地方，光線通過狹窄的間隙，懸浮在空氣中的塵埃，在光線中明顯可見（呈發光的小點）的現象類似。

在超顯微鏡檢查時，只是應用側面光線可以通過的特殊集光器。

在被檢物大小為 0.06 — 0.02 微米（屬於普通顯微鏡的放大限度）或在生活的狀態下觀察微生物的運動性時，可以使用超顯微鏡。