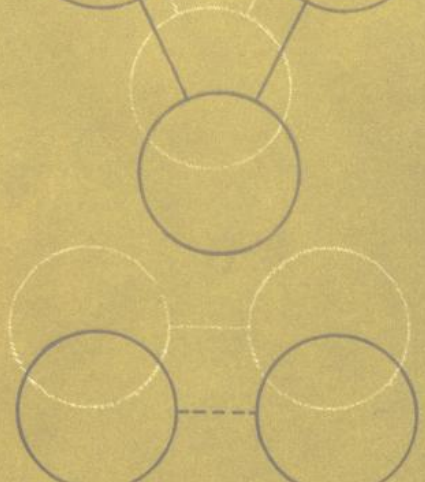
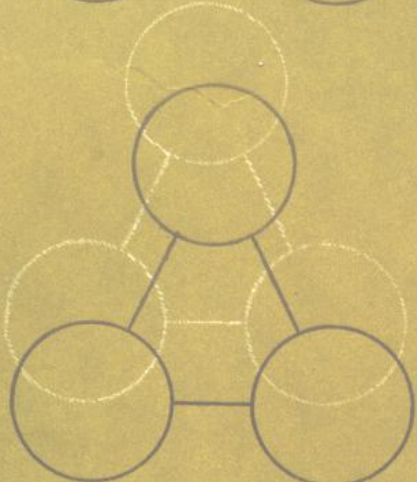
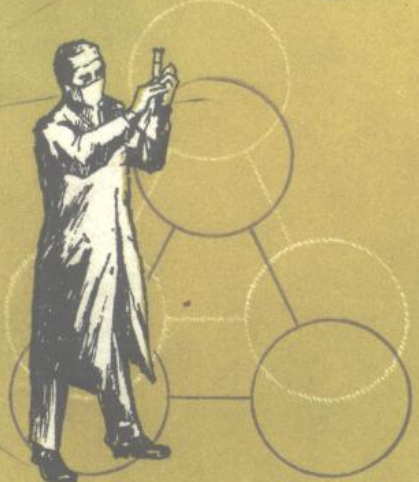
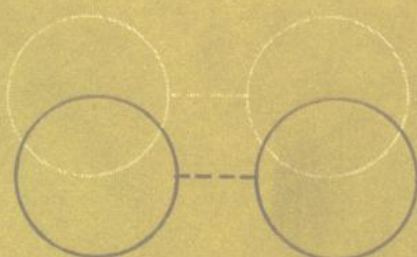
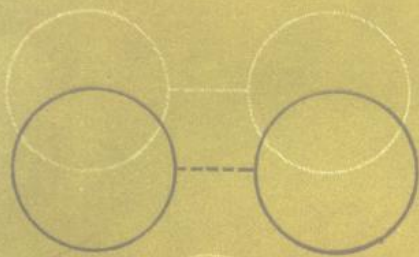




防疫 检验 手册



高树德 汪美先 主编

防疫检验手册

主 编

高树德 汪美先

编 者

马贤凯 王基钦 朱关福

刘鬲廷 汪美先 杜 平

杨时华 林万明 张发良

张淑莲 高树德 徐文兴

韩澄源 黄志尚

绘图 朱 明 宝

照片 王 发 辉

人 民 卫 生 出 版 社

防疫检验手册

高树德 汪美先 主编

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

人民卫生出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米16开本 19印张 12插页 429千字

1982年6月第1版第1次印刷

印数：1—21,100

统一书号：14048·4099 定价：2.30元

ET96/25

编写说明

微生物学检验诊断是防治急性传染病的重要一环。本检验手册就是为了适应卫生防疫和防治急性传染病的需要，由军事医学科学院微生物流行病学研究所，第二、三、四军医大学，沈阳、北京、广州、昆明军区后勤部军事医学研究所等八个单位的同志集体编写的。

本检验手册分成五篇，共二十章并带有附篇，可供卫生防疫检验人员、临床检验人员、微生物教学和科研人员参考或应用。

在编写过程中，虽然我们力求达到内容简明扼要，操作方法具体，检验效果良好，试剂器材条件切实可行的目的，而且还经过了集体讨论和有关单位审定，但是由于我们水平有限，经验缺乏，仍然存在不少缺点和错误，殷切希望批评指正。

编写中，有关单位提供了宝贵的资料和图片，许多同志还提出了宝贵的意见，并参加了绘图、照相、誊写、打字和校对等工作，在此一并致谢！

编 者

1981 年于北京

目 录

第一篇 总 则

第一章 概述	1
第一节 防疫检验工作的特点	1
一、影响范围	1
二、工作规模	1
三、紧急程度	1
四、病原体的种类	1
五、标本情况	2
第二节 防疫检验室的组织和任务	2
一、中心检验室	2
二、基层检验室	3
第三节 防疫检验工作守则	3
第二章 标本的采集和运送	4
第一节 采集标本的原则	4
第二节 采集标本的要求	5
第三节 标本的采集方法	6
一、空气采样	6
二、水样	7
三、昆虫、动物的采集	8
四、患者标本的采集	9
五、尸检标本采样	10
六、生物战剂污染物的采样	11
第四节 标本的保存和运送原则	11
一、标本保存	12
二、标本的运送	12
第三章 初步检验	13
第一节 标本的接收和转送	13
一、标本的接收	13
二、转送	13
第二节 标本的处理	13
一、一般方法	13
二、节肢动物标本的处理	15
第三节 初步检验	16
一、初步检验程序	16
二、初步检验要点	17
三、初步检验结果的判定标准	20

第二篇 细菌和毒素的检验

第四章 细菌的检验	22
✓第一节 鼠疫杆菌	22
一、检验程序	22
二、分离方法	22
三、鉴定方法	23
四、判定标准	26
五、注意事项	26
附：鼠疫抗血清的制备	26
第二节 霍乱弧菌	27
一、检验程序	27
二、分离方法	27
三、鉴定方法	28
四、判定标准	31
五、注意事项	31
附：霍乱抗“O”免疫血清的制备	32
第三节 炭疽杆菌	32
一、检验程序	32
二、检验方法	33
三、鉴定方法	36
四、判定标准	40
五、注意事项	40
附一：抗炭疽杆菌荚膜血清的制备	40
附二：抗炭疽杆菌沉淀素荧光抗体的制备	41
附三：青霉素溶液	41
附四：消毒用碘液	41
附五：10%中性甲醛固定液	42
附六：甘油蛋白固定剂	42
第四节 兔热杆菌	42
一、检验程序	42
二、分离方法	42
三、鉴定方法	43
四、判定标准	44
五、注意事项	44
附：兔热杆菌免疫血清的制备	44
第五节 布氏杆菌	45
一、检验程序	45
二、分离方法	45
三、鉴定方法	46
四、判定标准	49
五、注意事项	50
附一：布氏杆菌病人的血清学诊断	50

附二：染料滤纸片的制备方法·····	51
附三：布氏杆菌免疫血清的制备·····	52
第六节 类鼻疽杆菌·····	52
一、检验程序·····	52
二、分离方法·····	52
三、鉴定方法·····	53
四、判定标准·····	55
五、注意事项·····	55
附：类鼻疽杆菌免疫血清的制备·····	55
第七节 沙门氏、志贺氏杆菌·····	55
一、检验程序·····	56
二、检验方法·····	56
三、鉴定方法·····	57
四、判定标准·····	66
五、注意事项·····	67
第八节 创伤感染厌氧病原菌·····	67
一、检验程序·····	67
二、厌氧菌分离方法·····	68
三、梭杆菌属的鉴定·····	71
四、判定标准·····	73
五、注意事项·····	73
第九节 创伤感染需氧病原菌·····	73
金黄色葡萄球菌·····	73
一、检验程序·····	73
二、分离培养方法·····	74
三、鉴定方法·····	74
绿脓杆菌·····	74
一、检验程序·····	75
二、分离鉴定·····	75
三、判定标准·····	75
第十节 脑膜炎奈瑟氏菌·····	76
一、检验程序·····	76
二、分离方法·····	76
三、鉴定方法·····	77
四、判定标准·····	78
五、注意事项·····	78
第五章 毒素的检验·····	79
第一节 肉毒毒素·····	79
一、检验程序·····	79
二、检验方法·····	79
三、判定标准·····	82
四、注意事项·····	82
第二节 葡萄球菌肠毒素·····	83

一、检验程序	83
二、检验方法	83
三、判定标准	85
四、注意事项	85

第三篇 螺旋体和真菌的检验

第六章 螺旋体的检验	86
第一节 钩端螺旋体	86
一、检验程序	87
二、检验方法	87
三、鉴定方法	90
四、血清学诊断	92
五、判定标准	95
六、注意事项	95
第二节 回归热螺旋体	96
一、直接涂片镜检	96
二、鸡胚接种法	97
三、动物接种法	97
第七章 真菌的检验	97
第一节 组织胞浆菌	97
一、检验程序	97
二、分离方法	98
三、鉴定方法	98
四、判定标准	98
五、注意事项	99
第二节 球孢子菌	99
一、检验程序	99
二、分离方法	99
三、鉴定方法	100
四、判定标准	100
五、注意事项	101

第四篇 病毒、衣原体及立克次体的检验

第八章 病毒、衣原体及立克次体检验概述	102
第九章 病毒的检验	105
第一节 天花病毒	105
一、检验程序	105
二、检验方法	105
三、鉴定方法	110
四、判定标准	111
五、注意事项	112
第二节 虫媒病毒(东马、西马与委马病毒、黄热与登革热病毒、乙型脑炎与森林脑炎病毒)	112

一、基本概念	112
二、检验程序	116
三、检验方法	117
四、鉴定方法	120
五、判定标准	123
六、注意事项	123
第三节 流行性感胃病毒	123
一、检验程序	124
二、病毒分离	124
三、鉴定方法	126
附：可溶性抗原的制备	126
四、快速血清学检验	126
五、判定标准	127
六、注意事项	127
附：霍乱滤液的制备与检定	127
第十章 衣原体与立克次体检验	129
第一节 鸟疫衣原体	129
一、检验程序	130
二、检验方法	130
附：蔗糖、磷酸盐、谷氨酸盐液	130
三、鉴定方法	131
附：鸟疫衣原体补体结合抗原制备方法	132
四、判定标准	133
五、注意事项	133
第二节 立克次体	133
一、检验程序	134
二、检验方法	135
三、鉴定方法	138
四、血清学诊断	142
五、判定标准	145
六、注意事项	146

第五篇 技术方法

第十一章 染色液与染色法	147
一、美蓝染色法	147
二、复红染色法	147
三、革兰氏染色法	147
四、姬姆萨染色法	148
五、荚膜染色法	148
六、乳酸酚棉蓝染色法	148
七、马 (Macchiavello) 氏染色法	148
八、吉梅尼茨 (Gimenez) 染色法	149
九、细胞计数用结晶紫溶液	149

十、碘液染色法·····	149
第十二章 细菌的生物化学试验·····	150
第一节 糖类代谢试验·····	150
一、糖类发酵试验·····	150
二、甲基红 (M-R) 试验·····	150
三、伏-拨 (V-P) 试验·····	151
四、巯基乙酸钠糖发酵培养基·····	151
第二节 蛋白质代谢试验·····	151
一、靛基质试验·····	151
二、硫化氢产生试验·····	152
附: 厌氧菌硫化氢产生试验·····	152
三、明胶液化试验·····	153
四、尿素酶试验·····	153
五、霍乱红试验·····	153
六、果胶液化试验·····	154
七、牛乳凝固试验·····	154
八、苯丙氨酸脱氨试验·····	154
九、赖氨酸脱羧试验·····	155
十、赖氨酸脱羧快速实验·····	155
第三节 盐类利用试验·····	156
一、柠檬酸盐利用试验 (Simmon 氏法) ·····	156
二、酒石酸盐利用试验 (Jordan 和 Harmon 氏法) ·····	156
三、粘液酸盐利用试验·····	157
四、藻胶酸盐利用实验·····	157
五、丙二酸钠利用试验·····	157
第四节 呼吸酶类试验·····	158
一、硝酸盐还原试验·····	158
二、厌氧菌硝酸盐还原试验·····	158
三、氰化钾抑制试验·····	158
四、氧化酶试验·····	159
五、细胞色素氧化酶试验·····	159
第十三章 培养基和保存液的制备·····	160
第一节 基础培养基·····	160
一、牛肉浸液·····	160
二、肉浸液肉汤·····	160
三、牛肉膏肉汤·····	160
四、普通琼脂培养基·····	161
五、赫金格尔 (Hottinger) 氏消化液·····	161
六、赫金格尔 (Hottinger) 氏培养基·····	161
七、肝浸液·····	162
八、血琼脂培养基·····	162
第二节 鼠疫杆菌的培养基·····	162
一、1%溶血琼脂培养基·····	162

二、龙胆紫亚硫酸钠琼脂培养基·····	162
三、胆碲铜紫培养基·····	163
四、抗血清琼脂培养基·····	163
五、草酸镁琼脂培养基·····	163
第三节 霍乱弧菌的培养基·····	164
一、碱性蛋白胨水·····	164
二、胆碲碱性蛋白胨水·····	164
三、甲酚红甘露糖琼脂培养基·····	164
四、庆大霉素培养基·····	165
第四节 炭疽杆菌的培养基·····	165
一、2%兔血清肉汤·····	165
二、五倍浓缩肉汤·····	166
三、戊烷脒血琼脂培养基·····	166
四、青霉素琼脂（供串珠试验用）·····	166
五、活性炭碳酸氢钠琼脂培养基·····	167
第五节 兔热杆菌的培养基·····	167
一、葡萄糖半胱氨酸血琼脂培养基·····	167
二、先锋霉素培养基·····	168
第六节 布氏杆菌的培养基·····	168
一、改良赫氏琼脂培养基·····	168
二、胰蛋白胨琼脂培养基·····	168
三、双相（固体和液体）培养基·····	168
四、万古霉素培养基·····	169
五、抗敌霉素培养基·····	169
第七节 类鼻疽杆菌的培养基·····	169
一、4%甘油肉汤·····	169
二、4%甘油普通琼脂培养基·····	169
三、类鼻疽杆菌选择性培养基·····	170
四、中性红胆盐培养基·····	170
第八节 沙门氏、志贺氏菌属的培养基·····	170
一、革兰氏阴性菌（GN）增菌液·····	170
二、亚硒酸盐煌绿（SBC）增菌液·····	170
三、亚硒酸盐（SF）增菌液·····	171
四、胆汁葡萄糖肉汤·····	171
五、海氏（Hektoen）肠道菌琼脂培养基·····	172
六、伊红、美蓝（EMB）琼脂培养基·····	172
七、SS 琼脂培养基·····	173
八、三糖铁琼脂培养基·····	173
九、尿（素）动（力）胨（基质）培养基·····	174
第九节 创伤感染病原菌的培养基·····	174
一、庖肉培养基·····	174
二、葡萄糖血琼脂·····	174
三、乳糖卵黄牛奶培养基·····	175

四、巯基乙酸钠肉汤半固体培养基·····	175
第十节 脑膜炎奈瑟氏菌的培养基·····	175
一、葡萄糖肉汤增菌培养基·····	175
二、巧克力琼脂平板·····	176
三、PV (多万)选择培养基·····	176
四、半固体糖发酵管·····	176
五、糖血清琼脂平板·····	177
六、菌种保存培养基·····	177
第十一节 葡萄球菌的培养基·····	177
一、葡萄糖血琼脂培养基·····	177
二、甘露醇食盐琼脂培养基·····	178
三、蛋黄亚碲酸盐甘氨酸培养基·····	178
四、葡萄球菌产毒培养基·····	178
第十二节 钩端螺旋体的培养基·····	179
一、改良柯少夫 (Korthof) 培养基·····	179
二、切尔斯基 (Терский) 培养基·····	179
三、含炭双层培养基·····	180
第十三节 真菌的培养基·····	180
一、沙氏 (Sabouraud) 琼脂培养基·····	180
二、沙氏琼脂选择性培养基·····	181
三、脑心浸液血琼脂培养基·····	181
第十四节 菌 (毒) 种保存培养基或保存液·····	182
一、卡-布 (Cary-Blair) 氏半固体保菌培养基·····	182
二、文-腊 (Venkatraman-Ramakrishnan) 氏霍乱标本保存液·····	182
三、炭疽标本淀粉保存管·····	182
四、20%中性甘油盐水·····	182
五、50%甘油磷酸盐缓冲液·····	183
六、炭末琼脂保存培养基·····	183
七、病毒保存液·····	184
第十四章 血清学试验·····	184
第一节 沉淀试验·····	184
一、环状沉淀试验·····	184
二、琼脂扩散试验·····	184
三、琼脂免疫电泳·····	186
第二节 凝集试验·····	187
一、玻片 (定性) 凝集试验·····	187
二、试管 (定量) 凝集试验·····	188
附一: 肥达氏试验·····	188
附二: 外斐氏试验·····	189
第三节 红细胞凝集和红细胞凝集抑制试验·····	189
一、流行性感胃病毒血凝抑制试验·····	190
二、虫媒病毒血凝抑制试验·····	194
三、注意事项·····	199

附：主要溶液配制方法·····	199
第四节 反向间接红细胞凝集试验·····	200
一、试剂和器材·····	200
二、试验方法·····	201
三、结果判定·····	203
四、注意事项·····	204
附一：免疫球蛋白的提取·····	204
附二：干燥诊断红细胞的制备·····	207
第五节 炭凝集试验·····	208
一、试剂和器材·····	208
二、试验方法·····	209
三、结果判定·····	210
四、注意事项·····	210
第六节 中和试验·····	210
一、一般中和试验方法·····	211
二、微量细胞培养中和试验·····	214
第七节 补体结合试验·····	217
一、试剂配制·····	218
二、操作方法·····	219
三、注意事项·····	223
附一：巴比妥缓冲液的配制·····	224
附二：10%蛋清盐水的配制·····	224
第十五章 荧光抗体技术·····	225
一、概述·····	225
二、荧光抗体的制备·····	226
三、荧光抗体染色法·····	230
四、荧光显微镜的结构与使用·····	233
五、荧光抗体法在生物防疫检验中的应用·····	235
附：蛋白质与荧光素定量标准曲线·····	237
第十六章 动物实验·····	238
一、接种方法·····	238
二、采血方法·····	241
三、实验动物的剖检·····	243
第十七章 鸡胚培养·····	244
一、接种前准备·····	245
二、接种方法·····	246
三、培养和观察·····	248
四、剖检和收获·····	248
第十八章 组织培养·····	249
第一节 器材准备和溶液配制·····	249
一、培养容器·····	249
二、组织培养盖玻片·····	249
三、橡皮塞·····	250

四、主要溶液的配制	250
第二节 细胞培养法	253
一、鸡胚细胞培养	254
二、地鼠肾细胞培养	255
三、人胚肾细胞培养	255
四、黑拉 (HeLa) 细胞培养	255
第三节 组织细胞保存法	256
一、单层细胞短期保存	256
二、细胞悬液长期保存	256
第四节 标本接种与观察	257
一、病毒检验组织培养法操作程序	257
二、标本接种	257
三、观察指标	258
附：粘病毒组织培养红细胞吸附试验	258
第五节 病毒空斑技术	260
一、虫媒病毒 (A 组) 空斑	260
二、空斑中和法 (抑制法)	261
三、登革热病毒空斑	262
附一：空斑法用培养基的制备	263
附二：空斑固定液	263
第六节 组织培养注意事项	263
第十九章 药物敏感试验	264
一、抗菌药物敏感性的测定 (纸片法)	264
二、联合抗菌素的敏感性测定 (纸条法)	266
第二十章 菌(毒)种保存法	268
一、简易保存法	268
二、冷冻真空干燥保存法	270

附 篇

一、基层检验室药品、器材	272
二、常用缓冲液	277
三、实验室常用消毒剂	280
四、常用元素的原子量	281
五、常用指示剂及 pH 范围	281
六、度量衡名称及简写	281
七、度量衡的进位制	282
八、手册中药品、试剂中英文对照	282
九、缩写中英对照	287

第一篇 总 则

第一章 概 述

第一节 防疫检验工作的特点

检查带菌者，检查人或动物对某种病原体的抗体效价及其变化，对自然疫源地活动情况的监测，口岸检疫，分离、鉴定引起传染病流行的病原体，都属于防疫检验。防疫检验的目的是为预测、判断和控制传染病的流行提供病原学的依据。

防疫检验，同临床病原学检验、卫生细菌学检验虽有共性，但更有其自己的特点。本手册就是为了体现下述特点而编著的。

一、影响范围

临床检验的目的是为了诊断、用药和判断治疗效果。临床检验涉及的对象是个别病人。卫生细菌学检验的目的是对水、食品和室内空气作出卫生评价，涉及的对象是物和生活环境。防疫检验的结果则影响到防疫人力的动员，交通的通阻，物资交流等社会生活问题，因此防疫检验的影响面最广。为了保证防疫检验结果的可靠性，需要培养和训练专门人才，使这些人掌握可靠的技术方法。

二、工作规模

临床检验和卫生检验的病体检验是各部门化验室的经常性工作，人员、工作量和工作环境都比较恒定，有规律可循，可以按计划工作。防疫检验则往往是临时的、流动性的工作。一次传染病的流行所产生的后果很难预计，常波及较大的地区，要采集大量的标本。检验室要设在现场。为适应此特点，应预先有技术力量的动员方案，有便于储存、运送的试剂以及器材装备的储备。

三、紧急程度

灭疫如救火。对鼠疫、霍乱等急性传染病的可疑疫情要求尽快作出病原学的判断，以免感染人员的扩散，使传染病蔓延或影响扑灭疫情的人力和物力的及时动员和筹运。为此需要快速和准确相结合的检验方法，根据病种的不同，限时作出初步报告和确诊报告。

四、病原体的种类

临床检验由医生按临床症状提出要检验的病原体。一般医院需要检验的多是引起化脓、上呼吸道感染、肺炎、结核的病原体，以及大肠杆菌、变形杆菌、绿脓杆菌等条件致病菌，很少遇到烈性传染病的病原体。卫生细菌学检验常检查细菌总数或特定的指标

菌。防疫检验多是针对烈性传染病，病原体的种类可按疫情和自然疫源地的类型确定；只有少数的疫情按流行病学调查和临床表现不能作出判断时，才要作多种病原体的检验。于此情况要有一个不致漏检的初步检验程序，经全面的初步检验分离出病原体，再按初步检验的综合印象，对分离的病原体作详细的鉴定。

五、标本情况

标本也叫检样。是指可能含有检出目的病原体的物体或取自患者的材料。临床检验根据症状决定采样的种类。血、尿和各种穿刺液都可用无菌手续采取，没有杂菌污染；脓、局部分泌物、痰和粪便虽可能混有杂菌，但致病菌的含量也常占优势。卫生检验标本每个批次是一致的，种类也比较恒定，例如自来水厂经常查的标本是水，蛋厂查的标本是蛋制品和蛋。测定细菌总数不考虑杂菌，但测定水的大肠菌指数和空气中溶血性链球菌数，都可以采用排除杂菌干扰的方法。平时，防疫检验的标本也不复杂，鼠疫疫源地监测的标本是啮齿动物及其寄生蚤；霍乱疫源检查的主要标本是水或水生动物；带菌者检查或口岸检疫采集人或鼠类的标本。杂菌污染程度因标本而异，同是自毙鼠的肝、脾，新死的很少污染；腐臭的则含大量杂菌。同是水样，池、沼、农田水渠的水比河水污染严重，夏季的河水又较春、秋季节含菌量多。反生物战检验，战剂气溶胶沾染的标本种类多，标本中含有的病原微生物种类也难以预计。为了保证检验的效果，必需使标本采样人员掌握选择采集的要领和保存、送检的方法。

第二节 防疫检验室的组织和任务

一、中心检验室

中心检验室是基层检验室的上级机构，有较完备的实验和防护条件，位置相对固定，一般应设在防疫组织指挥部门的附近。

(一) 任务

主要任务是病原微生物的检验，根据情况配备医学昆虫分类鉴定人员和病理检验人员。具体任务如下：

1. 完成基层检验室的一般工作。
2. 接受基层检验室送检菌种的鉴定。
3. 进行病毒和立克次体的检验。
4. 对基层检验室进行技术支援和物资供应。
5. 发动群众，宣传防疫知识，开办短训班，交流经验，拟定工作计划。
6. 向上级卫生部门报告结果，提出防疫措施的建议。

(二) 组织展开

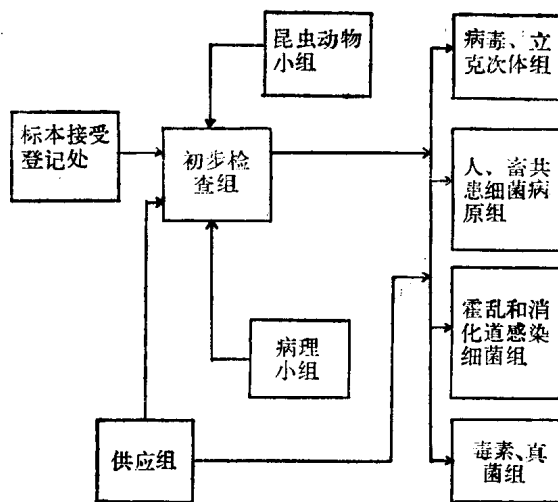


图 1-1 中心检验室的展开

中心检验室的组成和隶属关系由卫生领导部门决定，其具体业务内容应有：标本接收分类；培养基和试剂器材供应；快速和初步检验；细菌鉴定和病毒立克次体分离鉴定等实验室。各实验室的工作关系如图 1-1 所示。

二、基层检验室

基层检验室根据情况由上级卫生部门组织建立或由中心检验室派出。为便于实验室的迁移，应使用组装成套、便于携带的检验器材或检验车辆。

（一）任务

1. 快速和初步检出细菌与毒素。
2. 采集的原标本和分离菌种的后送。
3. 病毒和立克次体标本的处理和后送。

（二）组织和展开

基层检验室由流行病医生一名和检验医生、技术人员 3~4 人组成。工作室应分隔成准备间、缓冲间和操作间三部分。如利用动物作初步分离时，要在安全场所设立动物饲养房，饲养和实验时，要有妥善措施，防止逃脱。

（三）装备器材

应装备采样箱两套和检验箱一套（见附篇一）。

第三节 防疫检验工作守则

1. 防疫检验的结果涉及疫情的判断和处理，工作必须严肃认真，从接收标本到报告检验结果，要有完整的记录、明确的接交和书面报告手续。

2. 针对检验的病原微生物，检验人员都要事先普遍进行预防接种。

3. 在处理未知标本和操作菌（毒）种时，要穿隔离衣和戴防护眼镜、口罩、橡皮手套。用过的防护衣具要经消毒、清洗后再用。

4. 在隔离条件差的房间作动物解剖和菌（毒）种接种时，应用简易操作箱，或用塑料薄膜隔断门窗，操作前后应喷雾消毒。

5. 操作间内要常备来苏儿、石炭酸、氯胺-T 等消毒溶液和酒精、碘酒等消毒剂，处理意外污染。常备敌敌畏等速效杀虫剂控制蚊蝇。

6. 实验过程中的污染器材和污染物最好直接放入煮锅或手提高压锅内，经灭菌后，方可清洗和处理。

7. 移液、稀释等操作要用带橡皮乳头的吸管进行。接种动物注射器中的气泡要排入小试管的脱脂棉内，注射时针头堵塞，应立即更换，不得用力推注以防感染材料从针头衔接处溅出。研磨时，研棒不得离开乳钵捣击；涂片时，接种环要和载玻片密接；混匀液体时，吸管内液体要沿管壁吹下，避免产生气溶胶。

8. 菌（毒）种保存条件要保证不会因意外事故而扩散。后送时，要蜡封或烧熔封闭菌种管，外包浸过消毒液的脱脂棉或纱布，置于密封的金属容器内，并指派专人执行。

9. 感染动物要在安全场所饲养，容器盖要加纱布或细铁纱，以防蚊、蝇、蚤叮咬实验动物。感染动物必须用不易脱色的色素或其它方法作好标记，盖严盖子，防止外逃。