 高等学校规划教材



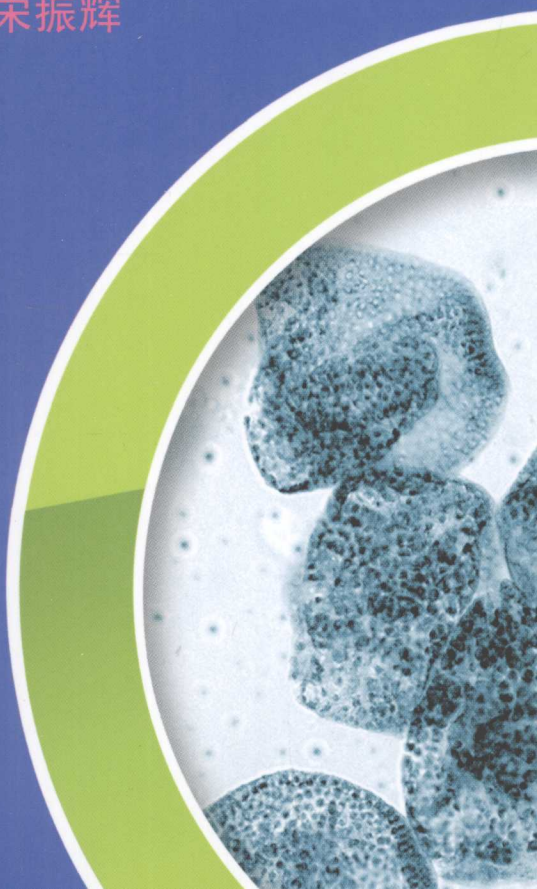
动物微生物 实验教程

DONGWU WEISHENGWU SHIYAN JIAOCHENG

►► 主编 沙莎 宋振辉

5-33
9

 西南师范大学出版社
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位



九江学院图书馆



1815449

1507342

动物微生物实验教程

DONGWU WEISHENGWU SHIYAN JIAOCHENG

主 编：沙 莎 宋振辉

不外借

S852.6-33/1149

九江学院图书馆
藏书章

不外借



西南师范大学出版社
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

图书在版编目(CIP)数据

动物微生物实验教程/沙莎,宋振辉主编. —重庆:西南
师范大学出版社,2011.8
高等学校规划教材
ISBN 978-7-5621-5395-5

I. ①动… II. ①沙…②宋… III. ①兽医学:微生物
学—实验—高等学校—教材 IV. ①S852.6—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 139369 号

动物微生物实验教程

沙莎 宋振辉 主 编

责任编辑:杜珍辉

版式设计:周娟尹恒

校对人员:杨炜蓉

照 排:夏洁

出版、发行:西南师范大学出版社

(重庆·北碚 邮编:400715

网址:www.xscbs.com)

印 刷:重庆东南印务有限责任公司

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:13.75

插 页:8

字 数:374千字

版 次:2011年8月第1版

印 次:2011年8月第1次印刷

书 号:ISBN 978-7-5621-5395-5

定 价:28.00元

1201345

动物微生物实验教程

主 编:沙 莎 宋振辉

副主编:朱 玲 盖新娜

编 者:徐志文 王 印 杨晓伟
赵光伟 张鸚俊 孙裕光

审 稿:郭 鑫



前 言

本书主要通过掌握微生物学的基本理论和技术方法,来研究畜禽病原微生物、水产微生物和食品微生物、药学微生物的分离培养、鉴定、应用、微生物学检验及其所致疾病的免疫预防、诊断和治疗等。全书分10章,共有32个实验。本书主要包括以下5个方面:(1)动物微生物实验的基本操作和技能,如显微镜技术,无菌操作技术,细菌的分离与纯化,细菌染色,培养基制备,动物微生物菌种的分离、纯化、培养,细菌的生化鉴定等技术;(2)加深理论部分的理解,如动物微生物形态观察、动物微生物生理生化测定、消毒剂及抗生素等外界因素对动物微生物生长的影响等;(3)针对畜牧、兽医、水产、动物药学等专业不同研究内容设计的实验内容,如鱼实验方法、动物性食品微生物学检验、动物药品微生物检验方法、犬小孢子菌分离、鸭肝炎病毒的鸭胚接种等;(4)现代微生物学基本实验技术,如细菌PCR试验、大肠杆菌感受态细胞的制备等;(5)注重动物微生物实验技术的应用性,开设了紧密结合临床实际应用的实验内容,如巴氏杆菌的实验室诊断、动物性食品卫生检查、酶联免疫吸附试验、温和气单胞菌实验室检验等。

为便于同学理解和掌握,本书中附有大量图表,每项实验均有操作要点和复习思考题。使用本教材可依据各校具体情况和学时安排,选择性地安排实验课。

本书在多年积累的实验教学经验的基础上,参考了国内其他院校编写的相关教材和资料,并由中国农业大学动物医学院郭鑫教授审阅和修改。

本书编写过程中受到了西南大学荣昌校区动物医学系领导的关心,受到了来自四川农业大学徐志文、王印、朱玲教授和中国农业大学盖新娜副教授、西南大学宋振辉副教授、杨晓伟、赵光伟、孙裕光、张鸚俊等同志的大力支持,受到了预防兽医教研室各位同事的支持和关怀,西南大学荣昌校区动医07级常浩、孙思、马骏同学也给予了热情的帮助,谨此一并致谢。

本书的不足之处,诚请师生和同行们指正,以便修订。

沙莎 宋振辉

2011年5月于西南大学荣昌校区

微生物操作技术图



图 1. 接种工具



图 2. 执拿接种棒手式

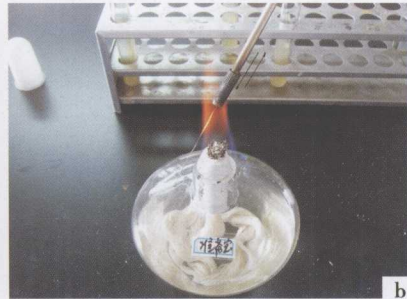
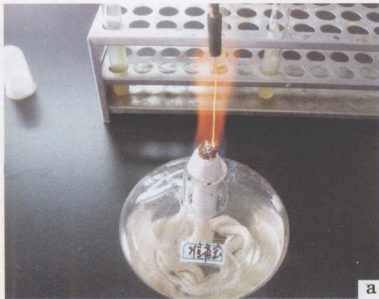


图 3. 接种环灭菌。a. 灭环。b. 灭接头和棒。

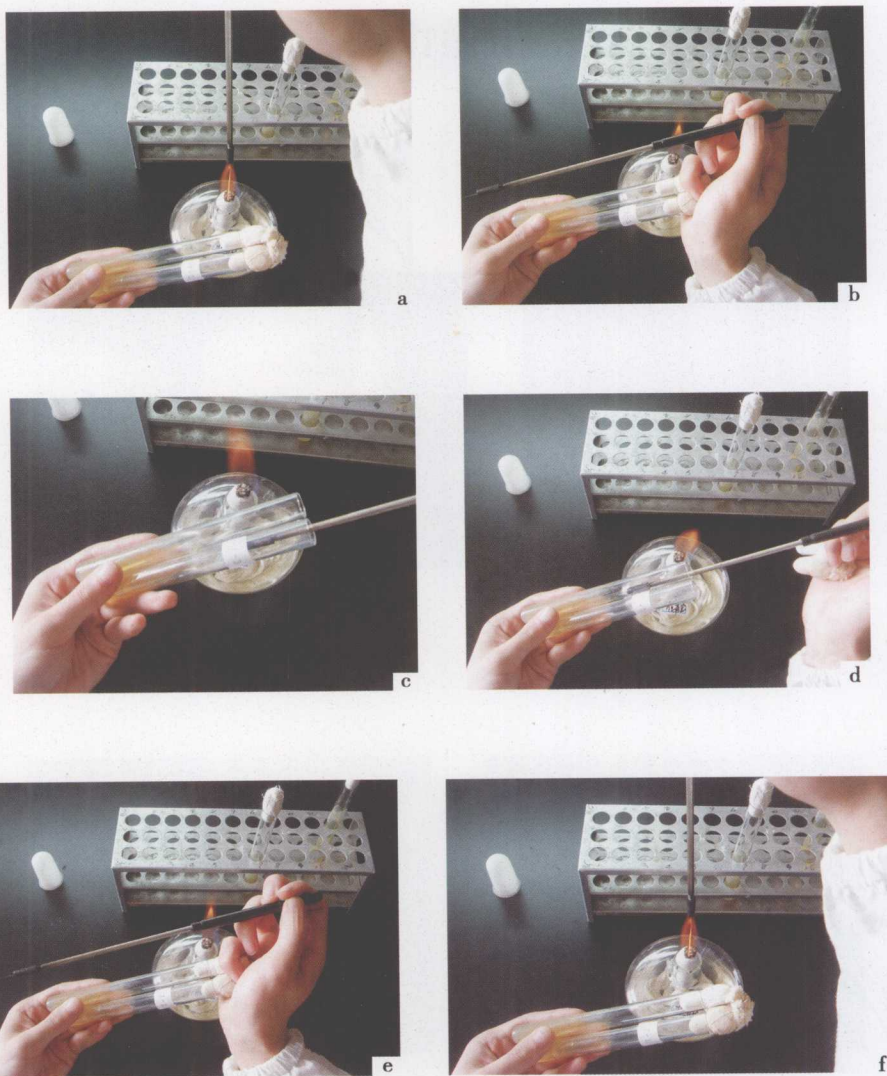


图 4. 斜面移植。a. 接种环灭菌。b. 取棉塞。c. 钓菌。d. 移植划线(从斜面底部至顶部)。e. 盖棉塞。f. 灭菌。

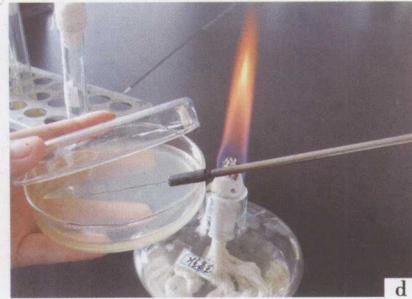
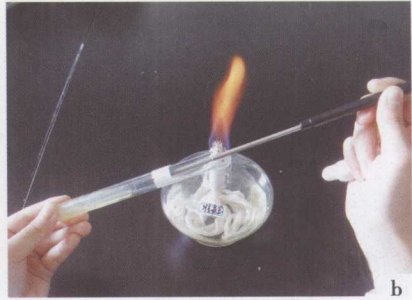


图 5. 平板划线。a. 接种环灭菌。b. 钩菌。c. 盖菌种棉塞。d. 皿盖开启一小口划线



图 6. 分区划线分离的菌落

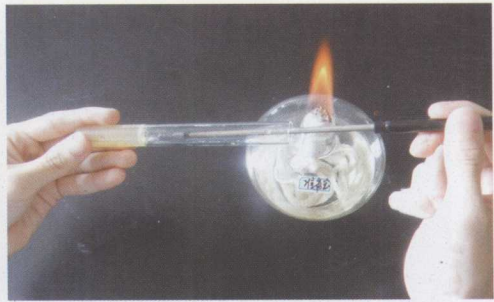


图 7. 穿刺接种(水平穿刺)



图 8. 倾注平板。a. 取棉塞并在火焰上掠烧瓶口。b. 倾到培养基于无菌平板中。c. 水平移开倾倒好的平板。d. 培养基凝固后倒置。



图 9. 液体培养基摇瓶培养。a. 培养瓶瓶口用 16 层纱布和纸包扎灭菌。b. 接种后, 去掉包扎纸摇瓶培养。

兽医病原菌形态彩图

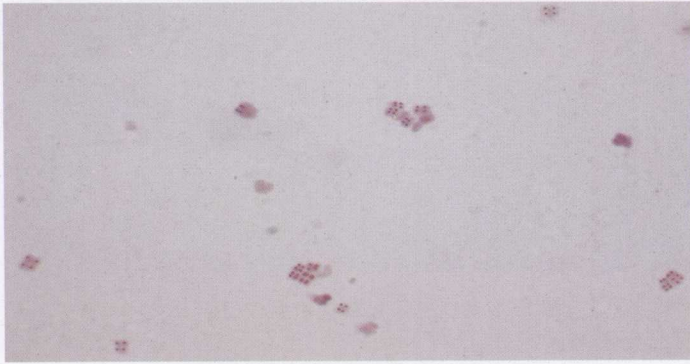


图 1. 四联球菌(10×100)

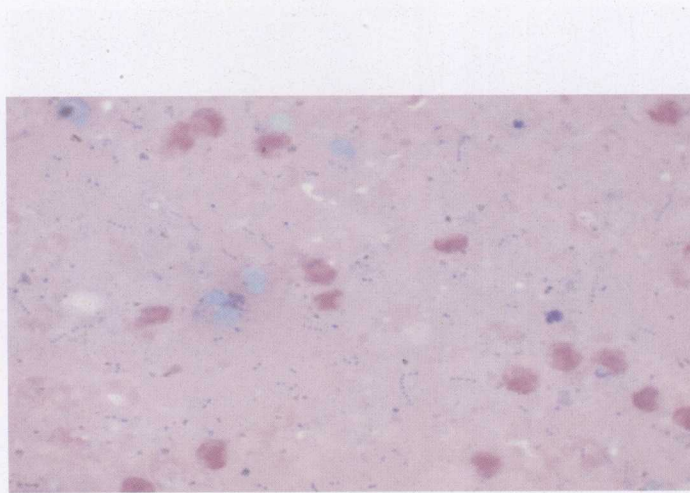


图 2. 猪链球菌组织涂片(10×100)

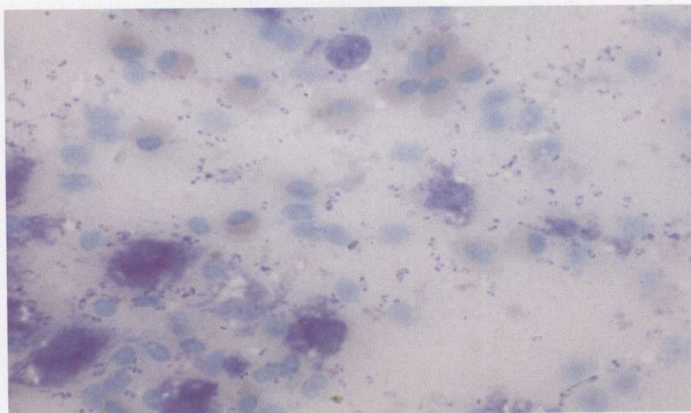


图 3. 多杀性巴氏杆菌组织涂片(10×100)

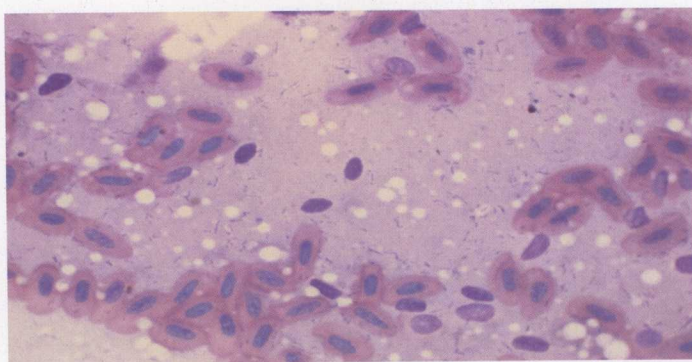


图 4. 猪丹毒杆菌组织涂片(10×100)

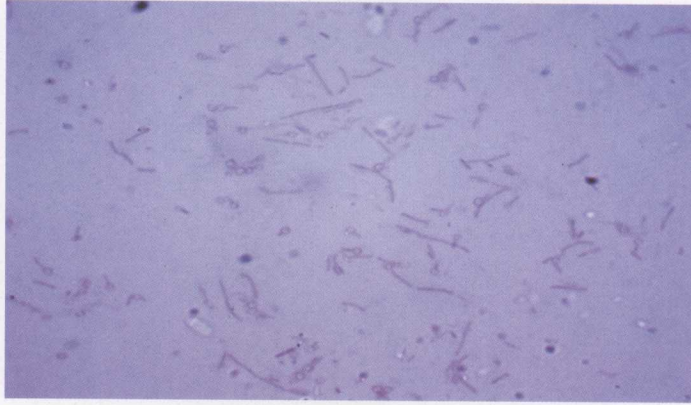


图 5. 破伤风芽孢杆菌(10×100)

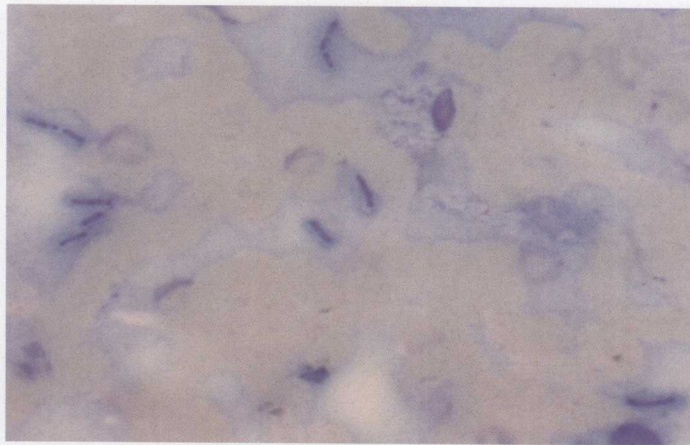


图 6. 炭疽杆菌荚膜(10×100)



图 7. 沙门菌鞭毛(10×100)

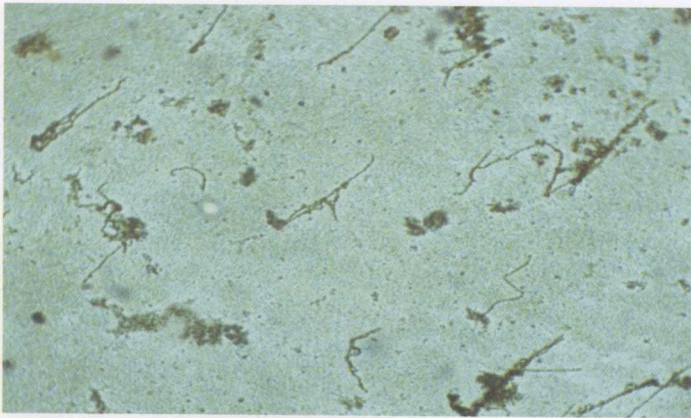


图 8. 钩端螺旋体(10×100)

目 录

| | |
|----------------------------------|-----|
| 实验须知 | 001 |
| 第一章 细菌形态和结构的观察方法 | 003 |
| 实验一 显微镜的使用及细菌形态观察 | 004 |
| 实验二 细菌美蓝染色和革兰氏染色 | 014 |
| 实验三 细菌特殊染色 | 017 |
| 第二章 培养基的配制与消毒灭菌 | 021 |
| 实验四 基础培养基的制备 | 023 |
| 实验五 高压蒸汽灭菌 | 027 |
| 实验六 特殊培养基的制备 | 036 |
| 第三章 细菌及真菌的分离培养与纯化技术 | 039 |
| 实验七 细菌分离培养及移植 | 040 |
| 实验八 细菌在培养基中的生长表现 | 047 |
| 实验九 真菌的形态观察 | 050 |
| 第四章 细菌的生理及生化特性 | 053 |
| 实验十 理化因素对微生物的影响 | 054 |
| 实验十一 细菌生化试验 | 056 |
| 实验十二 细菌药敏试验 | 065 |
| 第五章 动物试验技术 | 070 |
| 实验十三 实验动物试验法 | 070 |
| 实验十四 病料的采集、包装和运送 | 075 |
| 实验十五 鱼实验方法 | 078 |
| 第六章 动物性食品微生物检测 | 083 |
| 实验十六 细菌总数测定 | 083 |
| 实验十七 大肠杆菌检测 | 086 |
| 实验十八 沙门氏菌检测 | 089 |

| | |
|---------------------------------------|------------|
| 实验十九 发酵乳中微生物的检验 | 096 |
| 第七章 动物药品检验方法 | 098 |
| 实验二十 动物医用一次性输液器的无菌检验 | 100 |
| 实验二十一 兽用消毒剂效力测定——悬浮测定法 | 102 |
| 第八章 免疫学技术 | 106 |
| 实验二十二 凝集实验 | 108 |
| 实验二十三 沉淀实验 | 110 |
| 实验二十四 酶联免疫吸附试验(ELISA) | 113 |
| 第九章 病原微生物实验室诊断方法 | 117 |
| 实验二十五 巴氏杆菌 | 117 |
| 实验二十六 猪丹毒杆菌 | 122 |
| 实验二十七 嗜水气单胞菌 | 125 |
| 实验二十八 犬小孢子菌 | 127 |
| 第十章 动物病毒技术 | 129 |
| 实验二十九 动物病毒——鸡胚接种、采收 | 130 |
| 实验三十 动物病毒——细胞培养 | 133 |
| 实验三十一 动物病毒检测——血凝及血凝抑制试验 | 136 |
| 第十一章 现代微生物学技术 | 139 |
| 实验三十二 细菌 PCR 实验 | 139 |
| 实验三十三 大肠杆菌感受态细胞制备 | 141 |
| 实验三十四 感受态细胞转化 | 143 |
| 实验三十五 转化细菌的鉴定 | 144 |
| 附录 I 微生物实验室常用仪器及器皿 | 148 |
| 附录 II 常用染色液的配制及染色方法 | 155 |
| 附录 III 实验室常用培养基的配制 | 161 |
| 附录 IV 菌种的保藏 | 193 |
| 附录 V 常用试剂和缓冲液的配制 | 200 |
| 附录 VI 离心力与转速的换算 | 205 |
| 附录 VII 大肠菌群近似值检索表(MPN 表) | 208 |
| 参考文献 | 210 |

实验须知

在进行动物微生物学与免疫学实验时,可能会接触到病原微生物,故操作中应小心谨慎,以免遭受传染或向外散播病原;只有严格遵守操作规程才可防止事故,确保安全。为此在下面的叙述中,我们提出了在微生物学实验操作中应遵守和注意的事项。

一、安全

(一)微生物安全,严防感染

(1)进入实验室,必须穿着工作服,必要时应戴口罩和工作帽。

(2)在检验烈性传染病时,应穿着特制的防护服并在符合生物安全要求的专用实验室操作。工作结束后,应及时更换工作服,并对其进行消毒(如5%石碳酸等)过夜或高压灭菌后,然后洗涤。

(3)实验室内禁止饮食、吸烟及用嘴湿润铅笔和标签等物。

(4)接种针用前用后,必须通过火焰烧灼。吸过菌液或血清的吸管或玻璃刮棒必须放消毒液中浸泡或于消毒锅中煮沸。

(5)含有培养物的试管,不可平放桌面,以防其中的液体流出。

(6)用过的培养物及被污染的器皿(Tip、注射器等),均应放在指定地点或容器,不得随意乱放或用水直接冲洗;必须用消毒液浸泡或煮沸消毒,如果是芽孢杆菌,应延长消毒时间或高压灭菌后,方能清洗;用过的病料、动物尸体须焚烧或灭菌、消毒后掩埋。

(7)真菌培养过程中会产生大量的孢子,并扩散到周围环境中。因此,试验后应用甲醛熏蒸消毒。真菌研究实验室要与细菌、病毒研究实验室隔离,不可交叉使用。

(8)菌种、毒种不经教师同意,绝对不允许带出实验室。

(9)在实验室中一旦发生,如划破了皮肤,试验用细菌、病料污染了实验台面等意外时,不可自己随意处理,应立即报告教师。通常处理的方法是:如手污染时,先用70%酒精棉擦净后,立即用3%来苏儿、0.1%新洁尔灭、1:200的百毒灭等专用消毒剂浸洗数分钟,再用肥皂和清水洗净;如皮肤划破或被动物咬伤,可于局部涂擦碘酒、碘伏并注射相应的抗血清、抗生素等;如实验台或地面污染时,应以5%石碳酸或3%来苏儿等有效消毒剂覆盖过夜再清擦。实验完毕后应全面用消毒药水消毒使用过的器具以及环境。

(10)每次实验课前必须对实验内容进行充分预习,以了解试验的目的、原理和方法,做到心中有数,思路清楚。操作中不要说话,以免飞沫污染或打乱思路。

(二)化学药品、仪器使用安全

(1)一切易燃物品如二甲苯、乙醚、酒精等应远离火源;且不可将酒精灯倾斜向另一酒精灯引火,以防爆炸。

(2)电炉、燃气炉、水龙头等使用时不可离人,用完后应立即关闭。如有漏电、漏水、漏气等现象,应立即报告修理。如不慎失火,切勿慌张,应立即用灭火器、砂土或湿布掩盖灭火。

二、节约

(1)对水、电、煤气、染色液、镜油、拭镜纸及其他药品等均应节约使用。

(2)使用显微镜等各种仪器时要小心,按规程操作、保养,避免不必要的损耗和发生意外。

(3)培养皿一般应翻放,即皿底在上,皿盖在下,以免取拿培养皿时,皿底掉下摔破和冷凝水影响实验结果。

(4)玻璃注射器使用时要对号配套使用,不可过分用力推拉以免破损。

(5)金属器皿用毕消毒后,应立即擦干,防止生锈。

(6)吸管插入试管中时,要轻放到底才松手,以免戳破试管。

(7)加样器要轻拿轻放,并按要求和规格使用,以避免计量不准影响实验。

(8)标记:所用各种试剂、染色剂、培养物、动物等,均需标记明确,以免混乱影响实验结果。要经高压灭菌或蒸汽消毒的物品标记(标签),应用深黑色铅笔书写,不可用毛笔、钢笔、圆珠笔书写,以免消毒灭菌后模糊不清。

(9)记录:每次试验的结果,应以实事求是的科学态度填入报告表格中,力求简明准确,认真回答思考题,并及时汇交教师批阅。

(10)清洁和秩序:每日开始工作前,应清洁桌面、地面。实验室中各物均应摆放一定位置,工作完后放回原处或指定地点,对实验室进行整理,打扫。

(11)实验结束后用肥皂搓洗双手约 30s,清水冲洗,脱下工作服离开。