

# 猪痢疾

长春市畜牧兽医工作总站  
长春市兽医科技情报分站

# 目 录

|                                   |      |
|-----------------------------------|------|
| 一、病的概况                            | (1)  |
| (一) 什么叫猪痢疾                        |      |
| (二) 发现、分布及其危害性                    |      |
| 二、病原体                             | (3)  |
| 1. 在微生物学上的分类; 2. 形态; 3. 染色性;      |      |
| 4. 培养; 5. 病原性; 6. 抵抗力。            |      |
| 三、流行病学                            | (6)  |
| 传染来源、传播途径、易感动物、流行特点               |      |
| 四、症状                              | (7)  |
| 最急性、急性、亚急性及慢性                     |      |
| 五、病理解剖变化                          | (9)  |
| 肉眼检查、组织学检查                        |      |
| 六、诊断                              | (10) |
| 一般诊断 (流行病学、临床、病理) 细菌学诊断           |      |
| 1. 镜检—涂片染色 { 普通染色 暗视野活体检查<br>镀银染色 |      |
| 2. 分离培养                           |      |
| 3. 分离的猪痢疾蜜螺旋体的致病性检查鉴别诊断           |      |
| 七、治疗                              | (19) |
| 八、防疫措施                            | (20) |
| 附: 参考文献                           | (21) |

# 猪 痢 疾

Swine Dysentery

兽医大学传染病教研室 王 殿 瀛

## 一、病的概况

### (一) 什么叫猪痢疾

猪痢疾是由一种厌氧螺旋体——猪痢疾密螺旋体引起的,是猪的一种急性或慢性肠道传染病。其特征是,在剖检上以大肠粘膜发生卡他性、出血性乃至纤维素性坏死性炎症为特征,在临床上流行初期发病者以急性出血性下痢为主,流行中后期以亚急性和慢性粘液性下痢为主。由于本病以下痢为主,其下痢便类似人的痢疾,故称为猪痢疾,但又于猪痢疾的下痢便最突出的特点是血样,急性病例的下痢便为红色,亚急性和慢性的有时为黑色,所以还有血痢 (Bloody scours)、赤痢 (Bloody Dysentery)、黑痢 (Black scours)、肠粘膜出血性腹泻 (Mucohemorrhagia diarrnea) 等别名。还有,一度认为是由大肠弧菌引起的,曾被称为弧菌性痢疾 (Vibronic dysentery)。

### (二) 发现、分布及其危害性

#### 1. 发现:

猪痢疾早在1918年美国就见有本病的发生,1921年Whiting等进行了首次报道,并进行了研究。但长期间未得肯定病性,并且曾一度认为是由大肠弧菌引起的,直至1971—1972年才明确肯定本病病原为猪痢疾密螺旋体,

1976年以后被世界大多数国家所公认。

根据以上情况，我认为可将本病病原研究分为三个阶段，即：

(1) 病原未明阶段：(1921—1944)：本病自1921年首次报道以来至1944年的23年期间，未明确是由何种病原所引起的。因此在这个期间，也有的曾将本病怀疑为猪瘟、猪付伤寒及大肠杆菌病的。

(2) 大肠弧菌病原阶段：(1944—1971)：1944年Doyle等人，从病猪大肠肠段病变部分离出一种弧菌，并定名为大肠弧菌，(*Vibrio Coli*)，以其纯培养经口感染健康猪成功，但以后各国学者进行追试，难于成功，从而抱有怀疑，继续进行研究，直到1971年才被明确。

(3) 病原明确阶段(1971—1976)：1971年英国 Taylor 和 Alexander，从病猪大肠内分离出一种螺旋体，将其纯培养物经口感染健康猪发病。这种培养物在体外传代20代，体内通过2代，仍能保持其特性，同时提出此螺旋体就是本病的病原体，且命名为甲(I)型螺旋体或大螺旋体。1972年美国Harris等进行追试，给无特定病原猪(SPF猪)，经口感染(甲型)密螺旋体样微生物，也获得成功。以后，南斯拉夫、加拿大、荷兰、日本等许多国家研究工作者，亦先后追试成功。

## 2. 分布：

本病目前遍及世界各国，大约有40多个国家报告有本病的发生。如北美州的美国，各州都有本病，1971年以来被认为是第二个常见的猪病。加拿大1962首次报道，并在国内蔓延。在欧洲，爱尔兰、捷克、罗马尼亚、希腊、苏联(1939)，法国(1951)、西德(1951)、荷兰(1953)、波兰(1955)、英国(1957)、瑞典(1960)、挪威(1965)、保加利亚

(1967)、丹麦(1968)等国家,均先后有本病发生的报道。在非洲,尼日利亚、南非、墨洛哥、几内亚、罗得西亚;在拉丁美洲,巴西、哥伦比亚、古巴;在大洋洲,澳大利亚、新西兰等国家,也有发生。在亚洲,日本64年以来连续报道(由于在冲绳岛引进美国猪种而引起的),现遍及全国。南朝鲜、马来西亚、老挝等国家也有本病。

国内:1978年10月自美国进口一批猪种,在上海检疫期间发病,后经病原检查确诊为猪痢疾,同年10月四川有疑似病例报告。79年上海对此病作了正式报道,目前已证实山东、北京、湖北、辽宁、黑龙江等省市,均有本病或类似本病的发生。

### 3. 危害性:

本病由于猪只死亡(能使断奶幼猪发病率高达90%以上,致死率约在50%)。生长率降低(病猪平均日增重为健猪的一半),增加饲料消耗(为健康猪的2倍)以及治疗费用而造成巨大的经济损失。据美国报道,1972年因本病损失3400万美元,1978年损失达5000万美元,平均每年损失3000—5000万美元。

## 二、病 原 体

猪痢疾密螺旋体(*Treponema hyodysenteriae*)有以下主要生物学特性:

1. 在微生物学上的分类:猪痢疾密螺旋体在微生物学上的分类属于螺旋体科的密螺旋体属。

(1) 什么叫螺旋体:螺旋体是一群细长、柔软,呈螺旋状弯曲、运动活泼的单细胞微生物。在微生物学上的位置,介于细菌与原虫之间。具有细菌所有的基本构造,其细胞壁有脂多糖,二分裂繁殖,与原虫类似之处是,菌体外无

鞭毛，但在细胞壁与细胞膜之间有轴丝，从每端伸入，靠近细胞中部重叠，轴丝的屈曲与收缩使其自由活泼运动。

(2) 螺旋体分为几属：螺旋体根据螺旋的数目、螺旋的大小和规则程度及两螺旋间的距离，可将螺旋体分为五个属，对人畜有致病性的有三属，即疏螺旋体属（如鸡疏螺旋体）、密螺旋体属（如兔梅毒、人的梅毒螺旋体等）、细螺旋体属（钩端螺旋体）。

(3) 密螺旋体是属于那属：密螺旋体是属于密螺旋体属。这一属的特点是螺旋细密，且角度较锐，具有多数轴丝。

2. 形态：本菌呈较缓慢的螺旋形状，长6~8.5微米，宽0.32~0.38微米，弯曲松，多为2~4个弯曲，两端尖锐，形如双雁翅状。新鲜病料在暗视野显微镜下，可见活泼的蛇状运动。电子显微镜下观察，其形态与细菌不同，细胞壁与细胞膜间有7~9个轴丝。能够通过0.45~0.65微米孔径的滤膜。

3. 染色性：革兰氏染色阴性，普通苯胺染料（如结晶紫、美蓝、复红）及姬姆萨氏液、瑞氏液，着染良好。也可用镀银染色法染色。

4. 培养：猪痢疾密螺旋体为厌氧性，比一般细菌培养要求严格得多，但与一般消化道螺旋体的培养相比，还算容易。

通常应用含5—10%牛胎血清的胰酶消化大豆汤（或琼脂），或胰酶消化大豆汤鲜血琼脂，据报道，普通鲜血琼脂亦可应用，置厌氧瓶内，以冷钯（即105催化剂）为触媒，使瓶内气体 $H_2$ 和 $CO_2$ 成80:20之比。

在固体培养基上生长，菌落细小，中心比较干燥，呈半透明的扁平状，周围有云雾状；在血液琼脂上生长，呈明

显的 $\beta$ 型溶血。如无严格厌氧条件,在血琼脂上也可生长,出现溶血,但生长不良,见不到菌落。

5. 病原性: 只用猪痢疾密螺旋体强毒株纯培养物口服接种,可使一般健康猪及SPF猪,发生与自然感染相一致的猪痢疾,但不能使无菌猪发病;健康猪或病猪肠内容物,与强毒株密螺旋体混合饲喂健康猪、SPF猪及无菌猪可以发病(病猪肠内容物,饲喂感染也可产生同样结果);单纯弯曲细菌(弧菌类)纯培养,不能使健康猪、SPF猪及无菌猪发病,但将病原性密螺旋体与弯曲细菌等一些厌氧或兼性厌氧菌混合,则可复制本病。从而推测猪痢疾密螺旋体致病作用,必需在弯曲细菌等一些厌氧或兼性厌氧菌等肠道微生物或某些生化物质配合作用下,才能实现。

另外,猪痢疾密螺旋体除大量存在病猪体内以外,在不少没有本病的猪群,也常检出,但它们大多数是非致病性的。这些非致病性菌株,在形态上与强毒株甚为相似。目前,仅发现它们在溶血性上呈弱 $\beta$ 型,而致病性菌株呈强 $\beta$ 型溶血。但也有的报道,非致病性菌株多为小型螺旋体,比强毒株易于培养;长为4~6微米,宽0.24~0.3微米,有1~2条轴丝,螺旋不规则,通常只有一个弯曲,两端钝圆。

实验动物中,只豚鼠易感,对豚鼠进行人工感染,可引起下痢和肠的类似病变。

6. 抵抗力: 猪痢疾密螺旋体对理化学因素的抵抗力不强,一般消毒药,如克辽林、来苏儿、氢氧化钠(1%),在2~3分钟内,均可杀死;在60℃30分钟死亡。在厌氧环境中保存在4℃,4~7天,~20℃24天,~70℃6个月。在猪圈和堆肥中,能存活7个月或更长,在沼泽或污水池中,可以生长繁殖而长期存在。能抵抗青霉素、多粘菌素、壮观

霉素，但在其他抗菌素、磺胺类药物及某些化学合成药物作用下，生长受到抑制。

### 三、流行病学

**传染来源：**病猪和带菌猪是本病的传染来源。猪痢疾密螺旋体主要存在于病猪的病变肠段粘膜、肠内容物，并随同粪便排出体外，污染周围环境，散布传染，因此病猪是本病的主要传染来源。至于恢复期带菌猪虽然体内存在菌数较少，但能带菌、排菌达数月，因此也不能忽视，往往成为爆发本病的始动因素，通常易感猪与这种带菌猪接触28天可发生感染，据国内外报道，清静猪场多是由于引进恢复期带菌猪后而发生的，但也有不引入猪只而发生的。据报道，密螺旋体作为肠道固有菌丛之一而存在着，从这点来看，健康带菌猪也有可能成为传染来源。

**传播途径：**主经消化道传染，这是人所公知的，但由于某种应激因素使猪体抵抗力降低时，也可能发生内源传染。

**易感动物：**仅猪易感，不分年令、性别及品种均可感染。但以7~12周令的小猪最为易感。据报道，小猪的发病率可达100%，致死率达75%。但一般认为发病率约75%，致死率约5~25%。白猪比黑猪易感。

**流行特点：**

1. 无明显季节性，但4、5月份与9、10月份较多发生，这与季节性产仔有密切关系。

2. 流行缓慢，在短时间内全群发病的情况，极为少见，即使是同一猪舍的猪，也不是一齐发病，而是今天发生几头，明天再发生几头，逐渐传播蔓延。

3. 流行期较长，在较大的猪群中流行时，常常拖延到

几个月。例如，有个肥育猪群，猪只入栏时开始发现此病，直到出售时仍有猪只发病。

4. 一旦发生，不易根除。如前所述，恢复猪带菌率很高，且带菌时间较长。虽然病原体在外界环境的抵抗力不强，一般消毒药易于将其杀死，但由于经常不断地由带菌猪的粪便排出，使防疫、消毒工作发生困难。这些病愈后带菌猪成为以后的传染来源，致使本病在猪群中缠绵不断，不易根除。

5. 之所以不易根除的另外一个原因是，大群病猪经过治疗症状消退后，过3~4周可重复发生。即使应用有效药物连续进行治疗与预防，此病也可复发。这种情况使人得出猪只对此病不能产生抵抗力的错误判断，事实上急性病病康复后，可以抵抗本病的重复感染。

## 四、症 状

**潜伏期：**3日至2月以上。自然感染多为1~2周，用病料人工感染约3天，用猪痢疾密螺旋体培养物感染为5~10天。

本病的症状，由于个体与个体、群体与群体之间不同，有很大差异，但其共同症状是：

**下痢：**开始可能出现下痢，如粪便变软或呈粥状或水样，但多数病猪表现为含有大量粘液性并混有少量血液的稀粪，并伴有特殊的恶臭，波及到全猪舍，也有的仅含有粘液胶冻状或血液性下痢，还有少数病例在干粪球上附有粘液和血丝。

**体温：**多数病例体温未见升高，少数病例体温可升至41℃左右稽留或迅速降为常温。

**全身症状：**多数病猪表现精神萎顿和沉郁。食欲减退或废绝。腹痛，如弓腰、踢腹、起卧不安或卧地呻吟等，尤其

是踢腹是其特征，具有诊断意义。营养状态急剧下降，体重迅速减轻，呈脱水状态；病程延长时，表现贫血或恶病质状态。

血液学变化：白细胞总数增加，但也有的例外，核显著左移。血清中钠及碳酸盐减少，血钾升高，表现明显的酸中毒。

各型猪痢疾的不同症状：

最急性型：见于流行初期，致死率很高，个别表现无症状，突然死亡。多数病猪表现废食，剧烈下痢，粪便开始时呈黄灰色软粪，后迅速变为水泻，内含有粘液及带有血液或血块，并随病程发展粪便中可能出现脱落的粘膜或纤维素性渗出物的碎片，其味腥臭。此时病猪精神沉郁，肛门松弛，排粪失禁，腹围紧缩，弓腰和腹痛，眼球下陷，呈高度脱水状态，全身寒颤，往往在抽搐状态下死亡。病程12—24小时。

急性型：多见于流行初、中期，病开始多为排软粪或稀粪，继则粪便中含有大量半透明的粘液而粪便呈胶冻状，在多数情况下粪便中含有血液和血凝块（红色、咖啡色或黑红色）和脱落粘膜组织碎片。在下痢同时，表现食欲减退，口渴增加，腹痛和迅速消瘦。有的死亡，有的转为慢性。病程7～10天。

亚急性及慢性型：多见于流行的中、后期。亚急性病程约为2～4周；慢性的为4周以上。这两型症状相似，病势缓和，下痢时轻时重；反复发生。下痢时粪便含有黑红血液和粘液（如油脂状）。病猪饮食欲正常或稍减退，但猪体消瘦、贫血，生长发育停滞，呈恶病质状态。少数康复猪经一定时间（5—60日或更长），可以复发，甚至多次复发。

## 五、病理解剖变化

本病病变主要局限在大肠（结肠、直肠及盲肠）。早期病变出现在结肠襻的顶部，随着病程发展，可以蔓延至整个结肠、直肠及盲肠。轻者表现为卡他性、出血性炎和纤维蛋白渗出，重者出现广泛的浅在性粘膜坏死。

尸体多为明显消瘦，肛门尾根部粘膜有腥臭的粘液血液性粪便。急性的可视粘膜潮红，慢性者常为苍白色，皮肤无出血斑点。

急性期大肠壁水肿、变厚，呈红色或暗红色，肠系膜水肿，大肠粘膜常被大量的胶冻状粘液或粘液、血液性渗出物所复盖，粘膜面充血、出血和肿胀，有的呈脑迴状。肠内容物呈粥状或水样不等，并混有粘液、血液和组织碎片。急性期过后，肠壁水肿减轻，但肠粘膜病变加重，粘膜表层坏死，形成纤维素性伪膜，呈麸皮或豆腐渣样外观。这种坏死性变化可能出现在某些肠段，也可弥散整个大肠，类似猪付伤寒的肠道变化，但不如猪付伤寒那样严重，因此也有人把这种麸皮样变化，作为特征性变化来看待。

大肠系膜淋巴结常见有水肿。

胃及小肠：一般无肉眼可见变化，少数病例可出现卡他性病变。

肝脏：郁血肿胀，质地脆弱，有黄色与红色相间的斑块，切面多呈槟榔样外观。

其他脏器无规律性和特征性病变。

组织学检查：

大肠：典型的变化表层为粘膜浅层坏死，粘膜完整性受到不同程度的破坏。坏死的伪膜是由粘液、纤维蛋白、脱落

的上皮细胞、白细胞、红细胞和它们的残屑以及密螺旋样微生物所构成。固有层及粘膜下层，聚集不定量的炎性细胞（嗜中性细胞、单核细胞及淋巴细胞）；血管充血和内皮细胞肿胀增生；在组织间隙或腺窝中分散着不等量的红细胞而呈现出出血景象。肠腺中柱状细胞及杯状细胞不同程度的肿胀、变性和坏死，使肠腺出现扩张、萎缩、破坏或为炎性细胞所代替，以至排列不齐，有的腺窝（腔）内，积聚大量粘液、纤维蛋白及细胞碎屑。在一些腺腔中（特别是含有粘液的），有数量不一的密螺旋体，多者可以密集呈网状，有的还混有其他肠道细菌。粘膜下层细菌很少，密螺旋体消失，整个病程反应，一般局限于粘膜层和粘膜下层，其深层保持相对的完整性。

通过上述病理学观察，病原体入侵不超过粘膜下层，同时其他脏器缺乏重要病变，暗示猪痢疾发病机理，主要是由于大肠局部破坏（炎症和坏死），引起全身性体液和电解质平衡失调和中毒性变化的结果。

## 六、诊 断

由于本病的流行病学、临床症状、剖检变化，比较特征，因此老疫区根据临床症状，结合流行病学材料、剖检变化，即可作出初步诊断，例如：

在流行病学上，无季节性、流行缓慢、流行持续期长，易转为慢性，且可复发；

在临床上，流行初期以最急性或急性胶冻样血痢为主，致死率较高，二、三周后以亚急性和慢性粘液性混有纤维素性渗出物的下痢为主（间或含有血液呈黑色，即或不见有血色存在有潜血），致死率较低；潜血试验阳性（当肉眼检查不能

明确粪便中有血液时，进行潜血试验），白细胞总数增高，用抗菌素（如土霉素、链霉素、氯霉素等）或磺胺类药物内服有近期效果，并可复发；

在剖检上，病变常局于大肠（特别是结肠），小肠及肠系膜淋巴结常不损害，其他脏器无明显变化。最急性病例为卡他性出血性肠炎；急性病例为出血性坏死性肠炎；亚急性和慢性以卡他性、坏死性肠炎为特征，等等。这些都是诊断本病的根据。

但在没有发生本病的地区或猪场，为了确诊尚有赖于细菌学检查，如果采取急性病例（未服药的）粪便粘液进行显微镜检查，每个视野见有5条猪痢疾密螺旋体左右时（虽然这种螺旋体在健康猪大肠也偶可发现，但通常为数极少），即可确定为本病，只在有必要时，进行分离培养检查。现将细菌学检查的具体方法述之如下：

### 1. 镜检：

1) 被检病料：以新鲜粪便（最好为粘液）少许或大肠粘膜刮取物作为被检材料。

### 2) 方法：

#### (1) 普通染色法：

涂抹→干燥→火燃固定→染色（草酸铵结晶紫、硷性美蓝或10倍稀释复红染色液）3~5分钟→水洗→干燥→镜检（油镜）。也可用姬姆萨或瑞氏染色液进行染色。

(2) 镀银染色法（方登那，Fontana）方登那染色法的固定液、媒染剂和染色液的配制以及染色方法如下：

|         |       |
|---------|-------|
| 固定液：冰醋酸 | 1毫升   |
| 福尔马林    | 10毫升  |
| 蒸馏水     | 100毫升 |

将上述成分混合即成。

媒染剂：鞣酸 1 克

蒸馏水 100毫升

将鞣酸溶于蒸馏水中即成。

染色液：硝酸银 5 克

蒸馏水 100毫升

将硝酸银溶于蒸馏水中即成。临用前，取硝酸银溶液20毫升，慢慢滴加10%氨水，直至形成的褐色沉淀经摇动后恰能完全溶解为止，然后再注加硝酸银溶液几滴，使溶液于摇动后仍呈微混浊为度。

染色方法：

a. 钩取上述被检材料，制成薄层涂片，在空气中干燥；

b. 用固定液固定1~2分钟；

c. 滴加无水酒精几滴洗除固定液；

c 滴加媒染剂，加热至发生蒸气，约30秒钟；

f. 水洗，滴加染色液，加热至发生蒸气（经我校传染病教研室实践证明，不进行加热室温放置也可），染色30秒钟；

g. 水洗、干燥、镜检（油镜）。

染色结果：背景为淡褐色，螺旋体呈黑色。

结果判定：每张抹片至少观察10个视野，在多数的视野中有3~5条以上猪痢疾密螺旋体微生物时，可视作病猪。山东省按上述判定标准，对非疫区山东泰安畜牧场60头健康猪粪便检查，其结果为55头份未查到猪痢疾密螺旋样微生物，约占92%；5头检出小型密螺旋体，约占8%，且10个视野共发现1—4个。又对疫区内（加样县）一个清静猪场的23头健康猪粪便检查结果，只发现4头猪有少量（2个以下）小型螺旋螺。对35头病猪（呈水泻，粘液性或血痢）检查，31头符合病猪判定标准，检出率为88.6%；4头未查出猪

痢疾密螺旋样微生物，漏检率为11.4%。这一现象可能与服药有关。另外，还发现急性病例病初2~3日内及含有胶冻样血便，检出率可达100%，且多数视野蜜螺旋体样微生物都在10个以上，个别的达几十条；病中期减少，后期更少或消失。亚急性或慢性病例，一般情况只有少数视野发现少量小型螺旋体，只有在发作期，才可见到较多的猪痢疾密螺旋体。

上述检验标准，对急性病例，有重要诊断价值，对亚急性或慢性病例，应参考其他方面检验材料，进行综合分析。

## （2）、暗视野活体检查法：

也可将上述病料，用生理盐水洗净制成悬液，放于薄载玻片上，盖以盖玻片。于暗视野集器上滴加1滴常水，使载玻片与水滴接触，用400倍扩大检查。现将暗视野检查的原理，所需器材、检查方法及注意事项等述之如下：

① 原理：暗视野检查法是利用特殊的暗视野集光器进行的。这种集光器的构造与普通集光器不同，在集光器中央涂着黑漆、其下面中间有一遮光板，以阻断来自反光镜中部的光束，使光线不能直接射向镜筒，而只能从四周边缘斜射到载玻片上，因此视野呈现暗色，但当被检标本中有细菌、螺旋体或其他微生物存在时，则反射的光线通过镜筒达到目镜，在黑暗的视野中可见到明亮的微生物，好象黑夜天空中闪耀着的星光。

## ② 器材：需要下列器材：

a. 暗视野集光器。如无暗视野集光器，可将普通显微镜的集光器取下，打开顶盖，在其透镜上放一圆形黑纸片，其大小要比集光器透镜小1.5~2毫米左右，盖上顶盖，安放在显微镜上，即成自制的暗视野集光器。装好以后，应试验观察是否合适，纸片过大，进入光线太少，视野变暗，不易

发现菌体；纸片过小、视野亮度太大，同样不易发现。因此，应根据试验适当修正纸片大小。总之，应达到的效果是视野背地发黑，而活动的密螺旋体发亮。

b. 强光源灯。如果光源太弱，便不易看到或看不清螺旋体，因此要求使用低压强光灯炮（6—8伏），也可用100~200度电灯。在无电源设备的地方，可用2节新电池的手电筒作光源，也可达到同样效果。

c. 载玻片。要求要簿，一般不应超过1.5毫米左右。

d. 盖玻片。要求厚约0.1毫米。

### ③ 准备：

a. 光源灯置于显微镜近旁；

b. 取下普通集光器，换上暗视野集光器；

c. 制作压滴标本，将可检材料一滴放载玻片中央，并盖以盖玻片，轻轻压之使其密着。

### ④ 镜检方法：

a. 将暗视野集光器降低，于集光器上滴加一滴常水；

b. 将载玻片（压滴标本）放在载物台上；

c. 提起集光器，使集光器上的水与载玻片接触；

d. 调整光源，即先用弱扩大观察标本同时调节反光镜与集光器，使光线集中于一点；

e. 利用强扩大（400倍）观察。

镜下所见：视野呈暗色，猪痢疾蜜螺旋体呈活泼的蛇状运动。

### ⑤ 应用暗视野活体检查法失败的原因：

a. 焦距未对准，看到低层面而误认；

b. 集光器未对好或黑纸的大小不合适，影响视野的光亮度；

c. 光线不足或光线未对好;

d. 玻片或标本过厚或干燥;

根据具体原因, 应适当调节。

⑥ 使用暗视野显微镜的注意事项:

a. 当载玻片厚度超过1.5毫米时, 则标本不能恰好位于集光器的焦点上, 使物象不清;

b. 所用载玻片及盖片必须清洁无污点、灰尘和划痕, 因为这些都易引起光线的乱反射、而形成明视野照明, 影响观察;

e. 暗视野集光器与载玻片之间要加一滴水或香柏油, 否则照明光线于集光器上面进行全反射, 达不到被检物体上面来, 从而得不到暗视野照明。此外, 水滴中不应含有气泡, 因很小的气泡就能妨碍暗视野观察;

d. 利用暗视野集光器时, 必须调节好光轴, 使集光器的光轴, 与显微镜的光轴在一条直线上。抛物型集光器附有调节焦点用的手把, 调节时利用平面反光镜向集光器准确地反射垂直光线, 如光束能通过集光器中心, 就不必调节, 如偏离中心, 则应使光线通过其中心。

## 2. 分离培养:

### 1) 病料的采取与保存:

主要采取病猪的大肠内容物和粪便。可直接取自肛门内或刚排出的粪便, 尽量选择含粘液的部分。对死亡或扑杀处理的病猪, 可切开大肠取其肠内容物, 或同时用小手术刀刮取病变部附着的粘液和粘膜。病料采取以急性初期最好, 避免从慢性和经过治疗的病猪采取病料。

采取的病料, 原则上不要冻结, 迅速进行直接镜检和分离培养。如需保存, 应将病料放在充有 $\text{CO}_2$ 和 $\text{H}_2$ 或 $\text{N}_2$ 气的