

预防医学大专函授系列教材

防疫检验

尚德秋 主编

天津医学院

中国预防医学科学院

审定



中国科学技术出版社

编写说明

防疫检验在传染病的防治中占有重要地位。它不仅是正确诊断各类传染病的重要手段之一,而且也疫情调查、分析和制定传染病防治措施提供宝贵的基础资料。近年来,随着免疫学、微生物学、流行病学和传染病学的发展,防疫检验技术也得到不断完善和改进。为适应当前培养卫生防疫的专业人才的教学需要,由天津医学院和中国预防医学科学院共同编审了这本教材,作为预防医学大专函授教育之用。

全书分为二篇。第一篇为病原微生物防疫检验,共有七章,主要内容包括概论、细菌性疾病的防疫检验、螺旋体检验、立克次体和衣原体检验、真菌检验、病毒检验和寄生虫检验;第二篇为防疫检验常用的技术原理和操作方法,共有四章,内容包括血清学检验技术、分子遗传学检验技术、细菌生化反应检验技术和其他检验技术。全书最后附有常用染色液和染色法、培养基及常用溶液配制,便于读者学习使用。本书由尚德秋、张树波、纪绍忠、肖东楼、徐建国共同编写,尚德秋为主编。全书脱稿后呈送天津医学院任中原先生复审。

此书除供防疫检验教学外,还可作为从事防疫检验人员的工作参考书。由于目前国内尚无“防疫检验”的教材专著,虽然在编写过程中我们力求突出我国防疫检验特色和实用性,但由于我们实际经验的不足和学术水平所限,难免有缺点和错误,殷切期望在不断教学和应用中得到改正。

预防医学大专函授系列教材

防疫检验

尚德秋 主编

天津医学院 审定
中国预防医学科学院

责任编辑 邓俊峰 张林东 张宝安

封面设计 范惠民

中国科学技术出版社出版(北京海淀区白石桥路32号)

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

北京星城印刷厂印刷

开本: 787×1092毫米 1/16 印张: 17.125 字数: 440 千字

1991年5月第1版 1991年5月第一次印刷

印数: 1—3,000册 定价: 4.00元

ISBN 7-5046-0248-5/R·62

序 言

建国40年来,由于贯彻预防为主方针,我国卫生事业有了很大的发展,全国已形成一支相当规模的卫生防疫保健队伍,卫生防疫工作取得了巨大成就。但是,目前卫生防疫队伍仍然存在数量不足、素质不高、专业技术人员结构比例不合理等状况,还有相当一部分卫生防疫人员没有受过系统的专业教育和职业培训,技术水平亟待培养和提高,以适应四化建设的需要,为此,受卫生部卫生防疫司的委托,由天津医学院和中国预防医学科学院联合举办预防医学专业证书函授教育,为全国卫生、防疫、保健人员提供继续教育的机会,通过系统的有计划的专业知识教育,达到上岗任职所要求的大专层次的专业水平和工作能力。

本系列教材共计有十六分册,包括专业基础课和专业课两部分,含有基础医学、临床医学和预防医学有关的专业内容。其中专业基础课有医学生物学、医学微生物学、生物化学、卫生统计学、卫生微生物学、卫生化学、卫生毒理学和流行病学总论;专业课有劳动卫生与职业病学、环境卫生学、营养与食品卫生学、传染病学、寄生虫病学、社会医学、卫生检验和防疫检验等。

遵照卫生部《关于高等医药院校教材编审原则和注意事项》的要求精神和有关规定,这套系列教材在编写过程中注意贯彻党和国家的各项有关政策和指导思想,根据我国国情,结合实际,努力做到专业教材具有科学性、系统性、逻辑性和先进性的要求,重点阐述本学科的基础理论、基本知识和基本技能。并考虑到函授教学的特点,在语言文字上力求深入浅出,通俗易懂,重点突出,条理清晰,适合自学形式。本书不仅是预防医学专业证书函授教材,也可作为医疗卫生系统从事卫生、防疫、检验、预防保健在职人员进行职业培训、自学提高的教材或参考书。

天津医学院卫生系和各有关专业以及中国预防医学科学院所属的流行病学微生物学研究所、病毒学研究所、寄生虫病研究所、劳动卫生与职业病研究所、环境卫生与卫生工程研究所、营养与食品卫生研究所、食品卫生监督检验所、环境卫生监测所的有关专家、教授参加了这套教材的编审工作,经过多次研究,反复审评修改,保证了教材质量。我们谨向一切组织、支持本教材编写出版工作的领导,向所有参加本教材的编辑、校对人员致以深切谢意。

由于编写这类教材我们还是首次,难免存在缺点和不足,敬希使用本教材的教师、同学和读者们提出宝贵意见,以期再版时修改提高。

中国预防医学科学院 院长 陈春明

天津医学院 副院长 王正伦

目 录

第一篇 病原微生物防疫检验

第一章 概 论

第一节 防疫检验基本内容和任务..... 1

一、基本内容..... 1

二、防疫检验室的基本任务..... 2

第二节 防疫检验工作的基本特点..... 3

一、紧迫性..... 3

二、准确性..... 3

三、多样性..... 3

四、传染性..... 4

第三节 防疫检验与其他学科的关系..... 4

一、与其他学科的联系..... 4

二、防疫检验与传染病诊断..... 4

三、防疫检验与卫生检验..... 5

第四节 标本的采集、保存及运送..... 6

一、采集标本的原则..... 6

二、采集标本的注意事项..... 6

三、采集标本方法..... 6

四、标本的保存和运送..... 9

第五节 标本初检..... 9

一、标本接收及转送..... 9

二、初检标本的处理..... 10

三、标本初检..... 11

第六节 防疫检验工作守则..... 12

第二章 细菌性疾病的防疫检验

第一节 鼠疫杆菌检验..... 14

第二节 霍乱弧菌检验..... 17

第三节 病原性大肠杆菌检验..... 21

第四节 小肠结肠炎耶氏菌检验..... 22

第五节 弯曲菌检验..... 24

第六节 志贺氏菌属检验..... 26

第七节 伤寒和副伤寒沙门氏菌检验..... 29

第八节 白喉杆菌检验..... 31

第九节 百日咳杆菌检验..... 34

第十节 脑膜炎奈瑟氏菌检验..... 36

第十一节 军团菌检验..... 39

第十二节 结核杆菌检验..... 42

第十三节 麻风杆菌检验..... 45

第十四节 淋病奈瑟氏菌检验..... 47

第十五节 破伤风梭菌检验..... 49

第十六节 布鲁氏菌检验..... 52

第十七节 炭疽杆菌检验..... 56

第十八节 肉毒毒素检验..... 59

第三章 螺旋体检验

第一节 钩端螺旋体检验..... 62

第二节 梅毒螺旋体检验..... 68

第三节 伯格多费里疏螺旋体检验..... 70

第四章 立克次体和衣原体检验

第一节 立克次体检验..... 73

第二节 衣原体检验..... 76

第五章 真菌检验

第一节 组织胞浆菌检验..... 79

第二节 球孢子菌检验..... 81

第三节 新型隐球菌检验..... 83

第四节 念珠菌检验..... 85

第六章 病毒检验

第一节 肝炎病毒检验..... 88

甲型肝炎病毒检验..... 88

乙型肝炎病毒检验..... 90

丙型肝炎病毒检验..... 94

丁型肝炎病毒检验..... 94

第二节 流行性出血热病毒检验..... 94

第三节 狂犬病病毒检验..... 98

第四节 人类免疫缺陷病毒检验..... 101

第五节 麻疹病毒检验..... 105

第六节 脊髓灰质炎病毒检验..... 108

第七节 流行性感胃病毒检验..... 112

第八节 登革病毒检验..... 116

第九节 流行性腮腺炎病毒检验..... 120

第十节 流行性乙型脑炎病毒检验..... 123

第十一节 引起急性出血性结膜炎

的病毒检验..... 127

第十二节 病毒性腹泻病原体检验..... 130

第十三节 风疹病毒检验	133
第七章 寄生虫检验	
第一节 黑热病原虫检验	139
第二节 疟原虫检验	141
第三节 血吸虫检验	143
第四节 丝虫检验	146
第五节 痢疾阿米巴检验	149
第二篇 防疫检验常用检验技术的原理和操作方法	
第一章 血清学检验技术	
第一节 血清学反应基本原理及主要影响因素	154
一、抗原-抗体结合及反应原理	154
二、影响血清反应的主要因素	155
第二节 血清凝集试验	156
第三节 炭凝集试验	158
第四节 抗球蛋白试验	159
第五节 沉淀试验	161
环状沉淀试验	161
絮状反应	162
免疫扩散试验	163
第六节 补体结合试验	165
第七节 间接血凝及血凝抑制试验	169
第八节 中和试验	173
第九节 免疫酶技术及其变法	176
第十节 荧光抗体技术	183
第十一节 放射免疫测定法	187
第二章 分子遗传学检验技术	
第一节 质粒检测技术	192
第二节 DNA探针技术	195
第三节 G+C克分子百分比测定	198
第四节 聚合酶链反应	201
第三章 细菌生化反应检验技术	
第一节 糖代谢试验	204
糖(醇)发酵试验	204
双糖铁半固体培养基	205
甲基红试验	207
V-P试验	208
第二节 蛋白质代谢试验	209
吡啶试验	209

硫化氢试验	210
明胶液化试验	211
尿素酶试验	212
石蕊牛乳试验	213
第三节 碳源和氮源利用试验	215
柠檬酸盐利用试验	215
酒石酸盐利用试验	216
第四节 各种酶类试验	217
硝酸盐还原试验	217
细胞色素氧化酶试验	219
第四章 其他检验技术	
第一节 单克隆抗体的基本原理和技术	221
第二节 气相色谱法	225
第三节 电泳技术	228
免疫电泳	228
对流免疫电泳	230
聚丙烯酰胺凝胶电泳	231
第四节 病毒分离培养技术	233
一、分离材料的准备	233
二、病毒分离培养方法	233
附录一 染色液及染色法	
美蓝染色	240
复红染色	240
革兰氏染色	240
姜-纳氏抗酸染色法	241
荚膜染色	242
缪尔氏荚膜染色法	
俄尔特氏荚膜染色法	
墨汁硫酸荚膜染色法	
芽胞染色	242
极体染色	243
Ponder-Kinyoun极性染色法	
Wayson氏极染色法	
鞭毛染色	243
冯泰纳氏镀银染色法	243
柯氏染色法	244
马氏染色法	244
吉梅尼茨染色法	244
包涵体染色	245
碘液染色	

雪勒氏染色改良法	
姬姆萨染色法	245
瑞氏染色法	246
利什曼氏染色法	246
苏木素伊红厚血膜染色法	246
阿明巴玻片快速染色法	247

附录二 培养基

一、基础培养基	248
肉浸液	
牛肉膏肉汤	
赫金格尔氏消化液	
赫金格尔氏培养基	
普通琼脂培养基	
肝浸液	
血琼脂培养基	
明胶培养基	
二、鼠疫杆菌培养基	250
1%溶血琼脂培养基	
胆碲铜紫培养基	
草酸镁琼脂培养基	
三、霍乱弧菌培养基	251
硷性蛋白胨水	
胆碲硷性蛋白胨水	
庆大霉素培养基	
四、肠道病原菌培养基	251
革兰氏阴性增菌液	
亚硝酸盐煌绿(SBG)增菌液	
胆汁葡萄糖肉汤	
海氏肠道菌琼脂培养基	
伊红-美蓝(EMB)培养基	
SS琼脂培养基	
三糖铁琼脂培养基	
麦康凯(MacConkey)琼脂	
中国蓝琼脂培养基	
五、白喉杆菌培养基	254
吕氏血清斜面培养基	
尿素蛋黄双糖琼脂培养基	
六、百日咳杆菌培养基	255
马铃薯浸液	
基础琼脂	
完全培养基	
七、奈瑟氏菌属培养基	255

葡萄糖肉汤增菌培养基	
巧克力琼脂平板	
PV选择性培养基	
葡萄糖血清琼脂平板	
八、军团菌培养基	256
活性炭酵母琼脂培养基(CYE)	
九、结核杆菌培养基	257
罗氏改良培养基	
十、破伤风梭菌培养基	257
十一、布氏菌属培养基	257
马铃薯琼脂培养基	
肝浸液琼脂培养基	
卡氏双相培养基	
十二、炭疽杆菌培养基	258
戊烷脒选择培养基	
胆汁、煌绿培养基	
碳酸氢钠琼脂培养基	
十三、钩端螺旋体培养基	259
改良柯少夫培养基	
切尔斯基培养基	
十四、真菌培养基	259
沙氏琼脂培养基	
沙氏琼脂选择性培养基	
脑心浸液血球琼脂培养基	
十五、黑热病利什曼原虫培养基	260
三恩(N.N.N.)氏培养基	

附录三 常用溶液配制

0.2M磷酸盐缓冲液	
0.15M磷酸盐缓冲液	
0.05M甘氨酸-HCl缓冲液	
0.05M甘氨酸-NaOH缓冲液	
0.05M Tris-HCl缓冲液	
pH7.2 0.15M磷酸盐缓冲液	
pH7.2 0.2M磷酸盐缓冲液	
pH9.6磷酸盐缓冲液	
pH8.6巴比妥缓冲液	
pH8.6 0.05M硼酸缓冲液	
Tris-甘氨酸电泳缓冲液(pH8.3)	
阿氏(Alserer's)血液保存液	
枸橼酸盐葡萄糖抗凝溶液	
pH4.0 0.1M醋酸盐-醋酸缓冲液	
0.1M醋酸钠	
洗涤液	

第一篇 病原微生物防疫检验

第一章 概 论

所谓防疫检验系指从各种材料中分离和鉴定病原体,测定人或动物对各种病原体产生抗体和变化,以及对自然疫源地活动的监测和各种类型的检疫等。其目的是,早期发现传染源、查明传播途径、评价预防措施,为判断、控制和预测传染病流行提供科学依据。

第一节 防疫检验基本内容和任务

一、基 本 内 容

防疫检验涉及的内容是比较广泛的。主要有以下几个方面。

(一) 分离和鉴定病原体

当从体内外某种材料中查到与本次流行有关的致病性的细菌、病毒、立克次体、衣原体、真菌、螺旋体、寄生虫(成虫或卵)等明确传染病的传染源、传播因子和可能的传播途径,这就为有关部门采取相应措施提供了依据。因此,这是防疫检验极为重要的内容,凡是从事防疫检验的工作者必须学会和掌握。

(二) 测定抗体或抗原及其变化

检查人和动物对某种传染病的病原体的抗体及其变化,也是防疫检验的主要内容之一。尤其近年来,在防疫检验中不断发展检测抗体的新方法,致使它在防疫检验中的地位愈来愈被重视。因为分离病原体虽然是非常重要的和最可靠的判定疫情指标,但是从各种材料中分离病原体并不是经常能获得阳性结果。故人们逐渐建立具有特异性强、敏感性高的各种血清学检查抗原或抗体的指标。它包括各种类型的血清凝集试验,沉淀反应、补体结合试验、抗球蛋白试验,免疫荧光技术,酶联和放射免疫检查法等。

用这些方法检查人和动物体液中存在的各种形式抗原或抗体,从而间接表明某种传染病的侵袭对象、流行范围和程序等,这就为判断、控制和预防某种传染病的流行提供了依据。

(三) 过敏反应检查

某些病原体侵入机体之后,会诱导机体或细胞出现某种类型的过敏反应。如布鲁氏菌侵入人、畜体内,常常导致机体出现第Ⅳ型(迟发型)过敏反应。这种反应常被用于防疫检验。因为此反应具有明显的特异性和敏感性,方法简便,故在确定传染源、流行范围和程度上具有重要参考意义。

(四) 对自然疫源地活动的监测

对那些具有自然疫源性疫病,监测疫区内有关自然宿主及媒介昆虫,对于预测人间的疫情和控制疫病流行是极为重要的。如在鼠疫疫区内对野生啮齿类动物和各种蚤类监测对防止鼠疫流行是十分重要的。当用血凝试验,黄鼠的血凝阳性率在5%以上,或灰旱獭阳性率在1%以上时,就预示在鼠间有鼠疫的传播,可能危及人群的安全,应采取疫区处理的措施。

(五) 各种类型的检疫

这是防疫检验具有突出社会效益的内容。它包括国境卫生检疫、疫区检疫和交通检疫。

1. 国境卫生检疫 为防止某些传染病经国境输入或传出, 实行国境卫生检疫。1957年我国颁布《中华人民共和国国际卫生检疫条例》, 对鼠疫、霍乱、天花、黄热病、斑疹伤寒、回归热进行国境检疫。对自港口、陆地交通线或国际飞行站出入境旅客、动物、交通工具、行李、货物等都要进行检疫。如发现传染病人、可疑被感染者、传播媒介和鼠类等应进行消毒、杀虫、灭鼠, 对病人立即隔离治疗。对可疑被感染者应留验至该病最长潜伏期, 并进行卫生防疫处理。如发现鼠疫、霍乱等应以最快方式报告卫生部。

2. 疫区检疫 在国内发生甲类传染病时, 经上级领导批准, 可进行疫区检疫。

(1) 疫区划定 疫区是指传染源存在, 传播因素所能播及的范围, 或敌方发动细菌战时所污染的范围。

(2) 限制疫区和非限制区间的交往 限制区的人(可能是传染源)和物(可能带有该病病原体)离开疫区。为防止疾病从疫区传出, 有必要对离开疫区的人进行医学观察。同时也限制易感者进入疫区, 以免疫区内传染病继续发生, 影响疫区内的控制速度。在必要时对进入疫区易感者进行免疫。

为实现这些措施, 事先都需进行防疫检验。

(3) 对疫区人员进行防疫检验, 以便发现传染源。

3. 交通检疫 当传染病流行时, 为防止传染病从某一地区带入、传出或扩散, 应在有关车站、码头、机场等交通要道设立检疫点, 进行交通检疫。

检疫人员有权劝阻易感人员进入疫区, 或疫区人员向其他地区流动, 并应对往来人员进行必要的预防接种及预防性服药。如发现密切接触者应进行医学观察, 发现传染病人应送医院, 或送临时隔离病房进行治疗。

作到这些都必须进行防疫检验。

二、防疫检验室的基本任务

根据所在地域、设备以及从事防疫检验工作的专业人员的专业化程度, 可将防疫检验室分为两大类: 中心实验室和基层实验室。

(一) 基层实验室的基本任务

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

其主要任务是: ①快速检出细菌与毒素, 为尽快对急性细菌性传染病和毒素中毒性疾病作出反应, 要求基层防疫检验必须做到此点; ②将采集的原标本和分离的菌种送检; ③对病毒、立克次体及真菌标本的处理及送检; ④对血清标本作初检及送检。

(二) 中心实验室基本任务

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

其主要任务是: 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、立克次体和真菌的分离和鉴定; ④对送检的血清进行确定性的检验; ⑤对基层检验室进行技术支援和物质供应; ⑥发动群众, 宣传防疫知识, 开办短训班, 交流经验, 拟定工作计划等; ⑦向上级卫生部门报告结果, 并提出采取防疫措施的建议。

这两类检验室在发生紧急疫情的情况下, 可在适当的地区内迅速组建。在平时, 或在大多数非紧急疫情时, 可由各级主管防疫的业务单位完成。在我国主要由各类防疫站完成。

第二节 防疫检验工作的基本特点

防疫检验同临床检验、卫生学的病原微生物检查虽有共性，但亦有其不同的特点。

一、紧迫性

俗语说“救疫如救火”。这句话并非夸大，确实如此。任何一种传染病都具有一定传播速度，有些传染病传播速度甚快，如鼠疫、霍乱、流感等，感染后数小时就可以发病。因此，为使染疫者尽快得到处理和防止疫情扩散，要求在最短时间内作出准确诊断和分析，并应尽快采取措施。这就赋予了防疫检验工作与其他临床检验有不同的特点——紧迫性，即时间性。

二、准确性

传染病具有传染性，传播速度较快的特点。如果不及时进行检验和采取措施便会造成传染病扩散。同样，防疫检验不能作出正确报告，造成错误判断，由此所引出的后果与不能及时检疫是一样的，甚至结果会更严重。

例如，对本不是鼠疫的病人，因防疫检验的错误报告，而误认为是鼠疫流行，便会按《紧急疫情处理规定》采取上报，封锁疫区，切断交通，对患者进行严格隔离，消毒灭鼠，烧掉一切可能染菌物质等措施。可以想像，这样会造成多么严重的精神压力和人力物力的浪费。反之，如果是鼠疫流行，而没有作出准确的判断，就会导致鼠疫蔓延，很可能出现“万户萧疏鬼唱歌”的局面。使人民群众生命受到威胁，国家经济蒙受严重损失。

因此，防疫检验工作必须准确。为达到检验的准确，在进行此工作时必须严格按技术规程进行，具备严肃的科学作风。

三、多样性

防疫检验是针对传染病的检疫而言。引起传染病的病原体的种类是相当复杂的，它包括细菌、螺旋体、立克次体、衣原体、支原体、病毒、真菌和寄生虫等。这些病原体又各具备明显不同的特点。这就要求从事防疫检验的工作者必须具有广泛的病原学知识，方能作好这项工作。

防疫检验工作多样性另一个含义是工作范围和工作对象的广泛性。一般的临床检验的目的是为了诊断、用药和判断治疗效果。所以，临床检验涉及的对象是个体病案。卫生学检验的目的是对水、食品和室内空气等作出卫生学评价。它涉及的检验对象是食物和生活环境。防疫检验则涉及人群和生活环境。防疫检验的人群不仅包括病人，还包括感染者、病后康复者以及健康者。由此可见，防疫检验的工作对象几乎是社会上所有人群，其范围包括人群周围的一切。

防疫检验的多样性的第三个含义是采集样品的多种多样。标本也叫检样。它是指可能含有检出目的病原体的物体。或从人和动物机体中取出的各类病理检材。

临床检验是根据病人症状决定采样种类，主要是血、尿、便、痰、脑脊液、脓等物质。卫生检验主要是对食品、水和空气等物质。而防疫检验的物质则是千差万别。例如，鼠疫的防疫检验样品既包括病人的各种病理检材，又要检查当地可能作为鼠疫菌宿主的野生啮齿动物和媒介昆虫。又如，布鲁氏菌病的防疫检验，除检验病人血、尿、关节液和骨髓外，还要检

验牛、羊、猪、犬、鹿、骆驼等家畜的血、尿、阴道分泌物和乳等。在必要时，还要进一步检查水源、乳、肉、毛皮制品等。

由此，不难看出防疫检验的对象是多种的，其范围是广泛的，样品是多样的。

四、传染性

不言而喻，传染病具有传染性。防疫检验的对象就是针对各种传染病的检疫。因此，这项工作本身就具有一定的危险性。这就要求从事这项工作的人员在对不同传染病进行检疫时，要进行相应的个人防护，包括戴口罩、戴胶手套、穿防护服及防护靴等。

在进行防疫检验不仅个人有被感染的危险，而其被检材料有污染周围环境，感染其他人的可能；甚至于因检验防护不当造成小范围的流行的可能性。鉴于此，要求从事该项工作的人员在进行检验时，应在特定的环境中进行。在检验后要进行适当的消毒处理，以防感染的扩散。

综上所述，防疫检验主要具有紧迫性（时间性）、准确性（科学性）、多样性和传染性四个特点。

第三节 防疫检验与其他学科的关系

一、与其他学科的联系

由于防疫检验工作对象广泛，内容繁杂，技术性强，因此与许多学科有着密切关系，尤其微生物学、免疫学、寄生虫学、流行病学、传染病学和动物昆虫学等是防疫检验工作不可缺少的理论依据；这些学科中的某些技术也是防疫检验的重要手段。在某种意义上说，防疫检验工作的改进、充实和发展是与这些学科的发展息息相关的。

例如，通过对某种传染病的流行病学调查研究，发现新的传染源和传播因子，就会导致在防疫检验中增加检疫对象及被检样品的种类。如果通过对某种病毒的研究，发现了新的特性和最敏感的组织培养细胞，就会提高病毒感染防疫检验的水平。

虽然防疫检验与许多学科有一定依存关系，但是也不完全从属于其他学科。它具有独立的内容和任务，有其基本特点。它是一门自成体系的学科。它的发展也促进了相应学科的前进。

例如，在防疫检验中，为尽快发现传染源，迅速地控制疫情发展，找到对某种病原体快速分离培养方法，或快速诊断技术。这就丰富了医学微生物学的理论和技术。

通过实际的检疫，发现某种物质携带大量的某种传染病的病原体，这就会提高对某种传染病的流行病学的认识。

二、防疫检验与传染病诊断

防疫检验与一般传染病诊断有相同之处，亦有不同之点。

传染病诊断包括：①流行病学接触史；②临床症状和体征；③常规的化验检查；④特异性实验室检验等。传染病的诊断主要取材于病人本身，而其目的是为了治愈一个病人。

防疫检验是针对某传染病的病原体侵犯的群体。它的检疫是针对某种病原微生物引起传染病的特异性检查：①分离和鉴定病原体；②特异性血清学试验；③其他特异性试验（乳汁

试验、过敏试验)。其中最重要的是分离和鉴定病原体。在疫区内，防疫检验的对象和范围是一切可疑的人（或动物）和物品。防疫检验的目的是为了确定传染源、传播因子和传播途径，明确疫区，为制定控制疫病流行提供依据。

传染病诊断和防疫检验都要采用对某种传染病的特异性检查方法，这是两者共同之点。当然，在临床上，对某种传染病的确诊可为防疫检验提供检疫的线索。

三、防疫检验与卫生检验

防疫检验与卫生检验，两者既有区别又有共同之处。

防疫检验与卫生检验共同之处：①从不同物品中检查微生物；②在外环境中某些被检物品是相同的，如水和食品等；③目的是为了预防在人群中疾病的发生。

虽然如此，防疫检验与卫生检验存在着明显区别。各自有其独立的理论体系和技术手段。

卫生检验 ①主要检查对象是外环境中的水、空气、土壤和各类食品等；②除检查病原微生物外，还包括对某些非病原性微生物（或条件致病菌）检查，以此作为卫生学指标；③除了采用生物学方法作为检测手段外，还采用物理和化学方法监测水质、空气、土壤等；④检验目的既为防止传染病在人群中发生，也为了杜绝在人群中出现中毒性疾病。

防疫检验 ①检查的目的物除外环境中可能成为某传染病的传播媒介和传播因子外，更重要的是检查传染源；②主要是检查病原微生物和对人有致病作用的寄生虫；③检查手段是采用对某种传染病病原体的特异方法；④其目的为预防在人群中传染病的发生和流行，以及控制已发生的某种传染病提供依据。

现将防疫检验与传染病诊断和卫生检验异同之点列于表1-1中。

表1-1 防疫检验与传染病诊断和卫生检验的对比

项 目	防疫检验	传染病诊断	卫生检验
检验对象	人群	个体病案	
外环境中被检物	某些野生动物、家畜、昆虫、水、空气、食品等及一切与传染流行有关的可疑因子		水、空气、土壤、各类食品等
检验、诊断方法	病原体分离、鉴定，特异性血清学检查，过敏性试验等	病人临床表现，流行病学，病原分离、培养、特异性实验检查，一般临床化验	微生物及某些病原体卫生学指征的分离、鉴定、各毒素的测定，物理化学检验
目 的	为防止在人群中传染病流行，或为控制已发生的疫情采取措施提供依据	为治愈病人	为保护群众一般健康服务，为采取保健措施提供依据

第四节 标本的采集、保存及运送

标本采集、保存和运送是否合适直接关系着检验效果。

所谓标本（又称样品）系指在防疫检验中的一切被检材料。它与采样对象不同。如检查人的尿，人是采样对象，尿是标本（样品）。

一、采集标本的原则

（一）群众性

因为平时追索疫源时常需在广大地域内进行，战时敌方用生物武器袭击又是突然和诡密的。要作到及时采样，除了应有机动性强的专业队伍外，一定要依靠群众。

（二）时间性

采样必须及时。外环境中的标本一定要在消毒前采集；病人标本要在发病初期，使用抗生素前采集。

（三）针对性

采样必须与现场实际情况结合起来。根据调查线索及流行病学指征，确定采样时间、地点及对象。注意选择可能含有病原体的标本和采集能直接反映病原体侵袭或感染指征的样品。

临床标本要根据临床诊断的疾病、病型和症状体征采样。如病人发烧期要采血，咳嗽要取痰，腹泻应采便等。

战时敌方使用生物战剂时，应取不明来源的昆虫、动物，以及一切反常存在的物品材料等。

二、采集标本的注意事项

（一）防护和消毒

采样者应着隔离衣、口罩、注意手的消毒，必要时戴胶手套，防止自身感染及传播他人。离开疫区要作好消毒，根据情况进行更换服装和个人卫生处理。

（二）无菌操作

采集病人血、脑脊液，或其他穿刺取样时，严格作到无菌操作。虽然在取便，或进行肛拭，或咽拭时无需严格无菌操作，但也要尽量避免其他杂菌的混入。

（三）标记

采集的标本要按地区和品种分别装入不同容器，不能混淆。所采集的一切标本均应有标签，详细填写标本送检单，注明采标本的时间、地点、数量、名称、采集者姓名和单位等。

（四）昆虫动物标本

采集昆虫、动物标本时，除收集自毙鼠外，尽量采集活的标本，并保持原形，以便鉴定。

（五）时间性

为防止因标本放置时间影响检验效果，以及影响疫区迅速采取措施，应立即送检。暂不能送检时，应注意不同标本材料采用不同的保存方法。

三、采集标本方法

（一）空气采样

1. 沉降法 检验空气的各种沉降方法都是以微生物沉降的原则为基础。在各种沉降法中，郭霍(Koch)氏简单平皿法就是最早的方法之一。到目前为止，这种方法仍有一定意义。

此法适用于室内或气流较稳定的场所。根据检出目的菌的特征，选用相应的平皿培养基。一般在25m²面积上按正方形对角交叉线的中央放一个，四角各放一块平皿。然后，同时打开平皿盖，使平皿暴露5分钟。之后将平皿盖盖上，置37℃温箱中培养一定时间，尔后计数5个

平皿上的菌落数,再求出平均数。5分钟在 100cm^2 面积上降落的细菌总数,约等于 10L 空气中所含的菌数。可按下式求出每立方米空气中的细菌含量的近似值。

$$\text{每立方米}(\text{m}^3)\text{的细菌数} = N \times \frac{100}{A} \times \frac{5}{t} \times \frac{1000}{10} = \frac{50000N}{At}$$

式中: A =所用平皿面积(cm^2); t =平皿暴露于空气的时间(分); N =培养后每个平皿生长菌落的平均数

2. 滤过法 用各种过滤材料机械地阻留微生物的方法。此法常用盛有液体和玻璃珠的玻璃瓶,抽吸定量空气,然后将玻璃瓶振摇,使在水中的气体与液体完全混合,并使细菌均匀地散布在水中。取 1ml 液体接种于平皿营养培养基上,计算出生长菌落数。按下列公式算出每 m^3 空气中的菌落数。

$$\text{TC} = \frac{1000V_s N}{V_a}$$

式中: CT =每立方米(m^3)空气中菌数; V_s =吸收液体量(ml); V_a =滤过空气量(ml); N =平皿上生长菌落数

3. 气流冲击法 此法需特殊仪器,使空气通过采样器进行培养计数菌数。

(二)水样品收集

水是各种肠道传染病的重要传播媒介之一。因此,取水作防疫检验是追查传染源,判定传播范围和感染对象等有意义的手段。

1. 污染区水样的采集 如怀疑污染区内的供水点、水库、河流等被污染,可按有小不采大、有静不采动的原则采取表面水。每点取 $100\sim 500\text{ml}$,然后进行检验。

2. 井水和自来水的采样 为检查井水是否被污染,可从表面取水 $100\sim 500\text{ml}$ 送检。

为监视供水系统是否被污染,可从自来水取样检查。采样前先点燃酒精棉球,烧灼水龙头口。然后,将水龙头开 $5\sim 10$ 分钟,再用 500ml 无菌瓶接水。为中和自来水中的余氯,瓶中预先放入 $2\text{ml} 1\%$ 硫代硫酸钠。

(三)昆虫、动物标本采集

1. 昆虫标本采集

(1) 蚤 密集蚤可用绒布或毛巾覆盖后,从一端掀起,用棉球贴取。室内游离蚤可用粘蚤纸粘扑。夜间可放水盆,中间置一小油灯诱捕。鼠洞蚤可用掏土勺掏洞土,捕捉随土出洞的蚤。啮齿动物寄生蚤,因动物死亡后蚤迅速离去,所以应扑活动物取蚤。

(2) 蜱 寄生于动物体上的蜱,可用镊子取。在草上的蜱可用白布从草上拂过取蜱。

(3) 蚊 用捕虫网或吸蚊器等捕捉。

(4) 蝇 用捕虫网、粘蝇纸,或用诱饵诱捕。

2. 啮齿动物标本采集 用捕鼠笼、钢轧或掘灌等方法捕捉。不便运送时,也可取有关组织脏器送检。

(四)患者标本采集

1. 血 采血的主要目的是检查病原体,其次检查抗体。供病原检查的血应在投药前、发烧期为宜。从静脉取 2.5ml 血,加到含有抗凝剂(0.2% 肝素溶液或 4% 枸橼酸钠液)管中进行培养。

供抗体检查的血标本应在发病 7 天内采取,并应在恢复期再采血检查。

2. 排泄物

(1) 尿 首先清洗尿道口,取排尿中间部分 $20\sim 30\text{ml}$ 。不能自动排尿者可进行导尿。

(2) 粪便 病人排便后, 用火柴棒或竹签挑取脓血粘液或稀软粪便, 盛于涂蜡的纸盒或火柴匣内, 也可用其他小瓶, 然后送检。

(3) 痰 漱口后, 将痰咳于无菌容器中, 用生理盐水洗几次后进行检查。

3. 分泌物 咽头分泌物、溃疡面脓汁或渗出液等, 用无菌棉棒涂擦局部采取。

4. 穿刺液 腺穿刺、腰椎穿刺、骨髓穿刺和关节囊穿刺等, 均按临床化验取材方法进行。必须严格注意无菌操作。

(五) 尸检标本采集

从动物和人的尸体材料中检出病原微生物是防疫检验工作的一个重要环节。对追溯传染源、自然疫源地的判定, 生物战剂特征分析等都有重要价值。

1. 尸检的注意事项 小型的啮齿动物可送实验室解剖。牲畜和人可在掩埋地或火化场进行解剖。最好在设备较好的实验室解剖。

(1) 按取材特点准备解剖器械和培养液或固定液。

(2) 解剖者应着装隔离服、戴眼镜、口罩、胶手套及线手套。

(3) 术者、助手应站在上风向。

(4) 夏季应注意防蝇。

(5) 作解剖记录。

(6) 死于炭疽的家畜只剪一块耳角进行检查。用末梢血压印片镜检和培养。一般不解剖体腔, 以免炭疽杆菌接触空气后形成芽胞, 污染环境。

2. 尸检取材 解剖前应观察尸体一般情况。如新鲜程度, 皮肤和粘膜状态, 淋巴结是否肿大, 自然孔有无血迹或血性渗出物以及尸僵程度等。剖开后, 应观察有无皮下出血, 胶样水肿, 淋巴结、肝、脾是否肿大或病变, 肺部有无充血, 心、肾大小及病变等(表1-2)。

表1-2

临床和尸检标本取样

待诊病种	病 人								解 剖 材 料							
	血	尿	便	痰	唾液	咽洗液	脑脊液	腺穿刺	局部材料	肝	脾	肺	肠	淋巴结	骨髓	脑
各型脑炎	+						+									+
登革热	++				+		++							+		
流感						+						+				
斑疹伤寒	++															+
鼠疫	+			++				++	+	++	++	+		++	++	
霍乱			++										++			
炭疽	++		++				+		++	++	++	++		++		+
布病	++	+							++	++	++				++	
伤寒、副伤寒	++	++	++												++	
痢疾			++													
肉毒毒素中毒	+															
钩端螺旋体	++	++														
球孢子菌病				++			+	+		+						
组织胞浆菌病				++		+					+			+	+	

供分离病毒的脑组织标本要在病人死后5小时内取样。如不开颅,可用抽脑脊液的穿刺针由鼻孔插入,进行穿刺取样。各病种取样部位见表1-2。尸体如已腐烂,可锯一块带骨髓的股骨送检。

3.尸检后处理 为了不使尸体和解剖时的污染物成为传染源,剖检后的尸体最好是焚化。在掩埋尸体时要距居民点1公里以外,挖7尺以上的土坑,并在尸体周围撒石灰粉,然后填平。对解剖器材、衣物等均作适当消毒处理。

四、标本的保存和运送

标本采集后应尽早检验。所以检验室应设在取样现场附近。但因标本数量多或取材地点与检验室距离较远,或出于条件限制而不能及时作检验时,需要将标本作适当保存和运送。

(一)标本保存

标本保存目的:①保持原态,抑制杂菌繁殖,不影响或有利病原微生物检出;②保持罪证(对敌方投放的生物战剂);③为教学用保存的示教标本。

凡用消毒药处理,或用乙醇、甲醛液固定的标本已不适于作病原微生物的分离。

1.冷藏 一般细菌检验标本应在4℃左右条件下保存。可用加冰、盐的广口暖瓶保存。病毒、立克次体标本最好冷冻保存,温度越低越好。可用化学致冷剂或在液氮罐中保存。

2.放保存液中保存

(1)分离病毒的组织块放50%中性甘油缓冲盐水中(pH8.0),在4℃条件下保存数周。鼻腔、咽喉拭子和外界标本等可用由0.5%水解乳蛋白、2%小牛血清、青霉素500u/ml、链霉素500μg/ml、制霉菌素50u/ml组成的溶液保存。

(2)分离沙门氏菌、志贺氏菌、霍乱弧菌和鼠疫杆菌等,目前多用卡氏半固体培养基保存。可用1/15M pH8.1的磷酸缓冲液处理过的棉棒采便,然后插入保存液的底部,拧紧瓶盖运送。保存一周不影响检出率。

(二)标本运送

忽视运送标本这一环节,很可能导致前功尽弃。因此,在运送标本时必须注意以下几点。

1.运送标本应按采集时的要求严密包装,外表消毒、编号、登记、贴标签,严防容器破碎和滴漏及避免动物或昆虫逃失。

2.一定附有送检单,填明标本名称、数量、采集地点、时间、采集时情况、送检者及单位、日期和采样者等。临床或尸检标本要注明症状,解剖所见及检查的目的。

3.专人运送,尽快地送至就近检验单位。

4.妥善保存,运送途中要避免日光和高温等,利用一切条件防止病原微生物死亡。

第五节 标本初检

标本初检的目的是对采集可疑标本经一定处理后,用快速或一般检验技术进行粗略检查,从而作出初步报告。这样就可以尽快地采取有效的防治措施,并为进一步查明病原微生物的种类及其特征打下基础。

当前,初检只能较准确地查出细菌和毒素,对大多数病毒和立克次体需经较长时间的常规或特殊鉴定才能作出报告。

一、标本接收及转送

接收标本时,按送检单填写内容验收核实,并填写标本登记本,填写接收标本回条。应将接收的原标本分出一部分,贴上标签,放适当条件下保存或运送,以便重复检查及作进一步试验。

根据对标本初步检验结果,将原标本或病原体转送到鉴定组或条件较好的检验室作进一步检查。

二、初检标本的处理

为除去某些标本杂质,浓缩病原体,抑制杂菌生长,以便提高标本阳性检出率,需要进行适当处理。通常用的标本处理液及应用列于表1-3中。

表1-3 标本处理液及应用	
处 理 液*	应 用
生理盐水、PBS(pH7.2)、普通肉汤	用于培养或接种动物
0.25%正常兔血清盐水	洗细菌和毒素,用于间接血凝、培养或接种动物
0.2%明胶缓冲液(pH6.5)	洗肉毒毒素,用作动物试验和间接血凝
0.5%明胶汉克氏液	处理病毒标本,用于组织培养或动物接种

*为抑制杂菌生长可加适当抗生素

(一)一般处理方法

1.洗脱 过滤采样的滤膜、植物叶片、物体表面采样的棉拭子等都需要洗脱。洗脱液可用无菌蒸馏水,生理盐水、PBS或普通肉汤培养液等。洗脱检查病毒标本应放病毒保存液中。洗脱液用量一般为标本的2~10倍。

2.提取 土壤、食品和可溶性滤纸等固体标本加上上述洗脱液浸泡或研磨后,离心沉淀,取上清液供检。

3.浓缩 水或其他标本洗脱液若含菌量少时,可用硝酸纤维滤膜过滤,离心沉淀,或用絮凝方法浓缩。其过滤液或离心上清液可供检查病毒和毒素用;滤膜上残留物或离心沉淀物可供分离细菌。

4.抗杂菌 用动物、鸡胚和组织培养等方法分离病毒和立克次体时,应在标本中按每毫升加入500u青霉素和500μg链霉素抑制杂菌生长。分离细菌和真菌时,可在培养基中加选定抗生素,作成选择性培养基。

标本处理液中加入抗生素后,在4℃下作用1~2小时,室温放30分钟,即可接种动物,或作培养。

(二)节肢动物标本处理

1.蚤 捕捉的各种蚤类在检菌前,应放在含1/20万龙胆紫的2%盐水中保留3日。制作镜检标本时,挤出前胃,涂片,不需特殊处理。作细菌分离培养时,可作单体检菌,或分组检菌(每组最多不能超过50只)。用保存液洗涤3次后,加少许生理盐水,研碎检查。

2.蜱 分离病原体时,可用70%乙醇浸泡30分钟,或用1/10000硫柳汞浸泡2小时杀死体外杂菌。然后将蜱移入灭菌蒸馏水中洗去残余的消毒剂后,加少量生理盐水或专用溶液研磨后检查。

3.蚊 为分离病毒的蚊,可用含青霉素(1000u/ml)、链霉素(500μg/ml)的冷生理盐水

洗3次。每20~40只蚊为一组，按每只蚊加0.05ml肉汤或其他专用溶液研磨成悬液。加抗生素后，放冰箱2小时，低速离心10分钟，吸上清供接种动物、鸡胚和组织培养用。

4. 蝇 家蝇用选择性增菌培养液洗涤体表后作培养。吸血蝇体内带菌者可用生理盐水反复洗体表，研碎，可用含抗生素的选择性培养基培养。

三、标本初检

(一)初检程序

病原体的初检程序如图1-1所示。

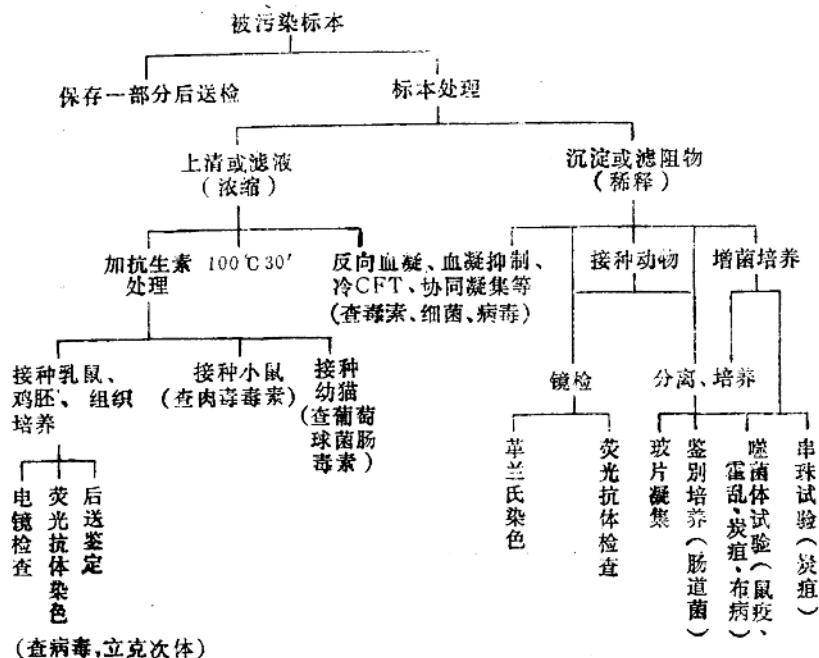


图1-1 标本初检程序

(二)初检要点

1. 确定初步方案

(1) 无疫情作参考的标本 怀疑敌方投撒生物战剂，或其他原因突然出现不同疫情时，要按初检程序作全面检验。

(2) 有疫情的参考标本 可只检查与疫情有关的病原微生物。一次疫情发生，首次病原体检查要特别慎重，必须作完全部鉴定后才能作出确定报告。

2. 镜检 普通生物学显微镜的解像能力是0.2μ(看清)。它适用于观察衣原体，或更大的微生物的形态、构造和染色性。

生物显微镜配合特定附件可用于特殊的检查，如用暗视野集光器作暗视野检查：用装有位相板的物镜取代一般物镜的相差显微镜作相差检查，都可提高不染色标本的分辨效果。可清晰的观察细菌或螺旋体的运动和细菌结构。如用紫外光源，并配有第二滤板的荧光显微镜检查荧光的染色标本，也可提高分辨效果。同时还可作活的微生物的染色检查。如对螺旋体的检查。如果观察荧光抗体染色时，不仅可以看到形态特征，同时还可以检查抗原-抗体的结