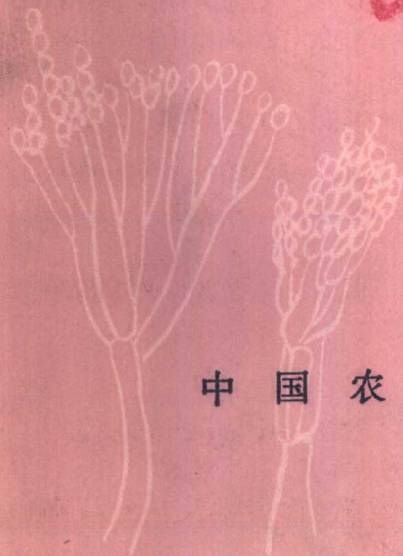
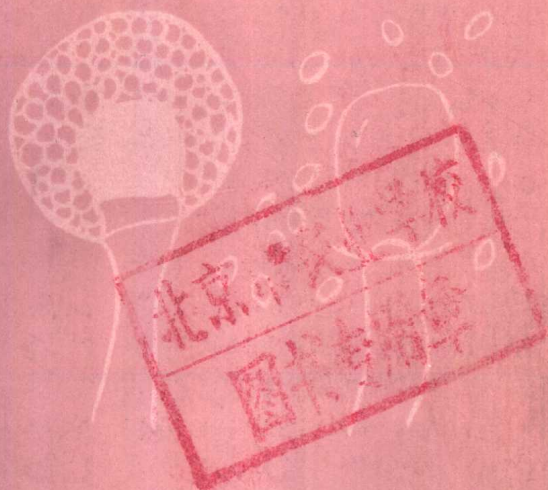


兽医微生物实验诊断手册

廖延雄 主编



中国农业出版社

兽医微生物实验诊断手册

(京)新登字060号

兽医微生物实验诊断手册

廖延雄 主编

* * *

责任编辑 江社平

中国农业出版社出版(北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 北京市密云县印刷厂印刷

850×1168mm 32开本 24.5印张 624千字

1995年3月第1版 1995年3月北京第1次印刷

印数 1—2 000册 定价 29.50元

ISBN 7-109-03396-1/S·2180

序

一九八五年在南宁举行全国兽医微生物学学术会议，罗家铸教授建议编一本兽医微生物实验诊断用的实用手册，得到与会专家、教授的支持。罗家铸教授并主动承担组织联络工作，又得杜念兴教授负责免疫部分、徐为燕教授负责病毒部分，在此基础上，邀请有关专家、教授编写相应章节，1986年开始，历时两年余，初稿得以基本汇齐，吾司终审之职，部分章节还请了施万球、韦家槐教授协助。有的章节内容，还向原著者请教、商讨；有的章节作了修改补充；有些章节作了重抄，又经两年余，赖群策之力，得以脱稿。

此书以实用为宗旨，使省市地县的兽医诊断室及兽医站的同志，能按书操作；亦可供卫生检验、兽医院校的有关实验室参考。但本书初版，肯定有许多不完善处，实践是检验真理的唯一标准，请使用本书之人，在应用中提出宝贵的意见，以供及时修改，使其逐步趋向完善。

原中国科学院学部委员、全国人大代表、全国政协委员，曾任江西兽医专科学校、西北农学院畜牧兽医系、国立中央大学畜牧兽医系、西北畜牧兽医学院教授，盛形笙博士，是我国兽医微生物学奠基人之一，仅以此书来纪念盛形笙先生逝世五周年。

第五届中国微生物学会兽医微生物专业委员会主任委员 廖延雄

一九九一年十二月于江西 南昌

兽医微生物实验诊断室

工作人员注意事项

从事兽医微生物实验诊断，会接触病原微生物，故要求工作谨慎，严防微生物扩散或实验室感染，防止事故，确保安全；实验室又是进行实验诊断的重要工作场所，故应保持整洁、有序，并注意节约。

一、防止病原微生物散播

1. 实验室着工作衣帽，如沾有可传染的材料，应脱下浸于消毒药水中过夜或高压消毒后再洗涤。

2. 沾有微生物的器皿及废弃培养物，应先消毒后再行洗涤；检查用过的动物尸体、脏器、血液等，应严加消毒、掩埋。

3. 接种环、针，用前用后必须经火焰烧灼消毒。

4. 含有培养物的试管不可平放桌面，以防其中液体流出。

5. 实验室中禁止吸烟、饮水或用嘴润湿铅笔和标签等。

6. 操作危险材料时勿谈话或思考其他问题，以免分散注意力而发生意外。

7. 用过的培养物、病料及器具等，必须放入规定地点，待消毒后洗刷或处理，不得任意乱放，更不许未消毒即洗涤或处理。

8. 实验室若发生意外，如划破皮肤、培养物或病料污染台面或地面时，应立即处理，必要时就医。在病原微生物所污染的地点，应以布沾浓的消毒液（如5%的石炭酸）覆盖过夜。

9. 菌种或毒种转让，应按规定办理。

二、防火

一切易燃品应远离火源。不可将酒精灯倾斜向另一酒精灯引火，以免有时发生爆炸。电炉、电热板、煤油炉等用完后应立即关灭，如有漏电、漏油，应立即修理。实验室应有灭火器或防火砂袋。

三、节约

1. 节约药品、试剂、镜油、拭镜纸、燃料、水、电及一切用品。
2. 使用仪器按操作规程。
3. 插吸管于试管中时，要轻放到底才松手。以免戳穿试管底。
4. 平皿一般应翻放，即皿底在上，皿盖在下，以免拿平皿时，皿底掉下摔破。
5. 金属器皿用毕消毒后，立即擦干，以防生锈。
6. 配制的试剂、培养基等均应有标签或标记，并注明日期。要经高压灭菌的标签用铅笔写，以免消毒后字迹不清。

四、安全

最后一人离开实验室前，应对窗户、自来水开关、电源、煤气开关检查一遍，关好，锁门。

五、清洁与秩序

各物均有一定的放置位置。无论工作到多晚，工作后要清理，将用过各物放回原处或规定地点；每日开始工作前，做好必要的清洁卫生准备工作；工作必须有记录，将日期、时间、被检材料、工作内容、结果等详尽如实地记在专用的记录本上。

目 录

序

第一篇 检验技术	1
第一章 培养基	1
第一节 培养基的基本原理及制备原则	1
第二节 培养基的制备	5
附 常用玻璃器皿的清洗	23
第二章 样品的采集包装寄送	25
第一节 样品的采集	26
第二节 样品的包装与寄送	29
第三章 动物试验	31
第一节 常用实验动物的饲养管理及繁殖	31
第二节 常用实验动物的正常生理指数	36
第三节 实验动物的选择及管理	40
第四节 实验动物的抓取和保定	41
第五节 实验动物注射法	43
第六节 实验动物采血法	49
第七节 实验动物编号法	52
第八节 感染动物的解剖	54
第四章 细菌形态学检验技术	56
第一节 标本制作及细菌大小的测定	56
第二节 常用染色法及染色液的配制	59
第三节 细菌运动性检查	68
第五章 细菌的分离培养	70
第一节 细菌的接种	70
第二节 需氧菌的培养	72

第三节	非需氧菌(包括微需氧菌、厌氧菌)的培养	72
第四节	细菌培养性状观察	75
第五节	菌种保存	76
第六章	细菌的生化反应试验	81
第一节	糖类代谢试验	81
第二节	蛋白质及氨基酸代谢试验	89
第三节	有机酸盐及铵盐利用试验	97
第四节	呼吸酶类试验及其他试验	102
第五节	缓冲液的配制	111
第七章	细菌计数法	115
第一节	直接计数法	115
第二节	间接计数法	120
第八章	细菌对药物敏感性试验	122
第一节	试管稀释法	122
第二节	滤纸片扩散法	126
第三节	牛津小杯法	128
第四节	平板小沟法	129
第五节	联合药物敏感试验	129
第六节	药敏试验应注意的几个问题	130
第九章	诊断血清学技术	132
第一节	沉淀反应	132
第二节	凝集反应	146
第三节	免疫荧光技术	159
第四节	酶免疫技术	168
第五节	补体结合反应	182
第六节	中和试验	196
第七节	血凝及血凝抑制试验	203
第八节	凝集溶解试验	208
第九节	生长抑制试验	209
第十节	代谢抑制试验	211
第二篇	细菌	213

第十章 球菌	213
第一节 葡萄球菌属	213
附一 金色葡萄球菌的检查	216
附二 碱性磷酸酶的测定	218
第二节 链球菌属	219
附 链球菌发酵类型检查及乳酸纸层析分析法	228
第十一章 肠杆菌科	230
第一节 埃希氏菌属	242
第二节 沙门氏菌属	250
第三节 克勒伯氏菌属	260
第四节 肠杆菌属	262
第五节 变形杆菌属、摩根氏菌属及普罗菲登斯菌属	262
第六节 耶辛氏菌属	264
第七节 志贺氏菌属	271
第八节 柠檬酸杆菌属	272
第十二章 需氧培养即可生长的肠杆菌科及巴氏 杆菌科以外的其他革兰氏阴性杆菌	274
第一节 假单胞菌属	274
第二节 气单胞菌属	288
第三节 博德特氏菌属	295
第四节 布氏杆菌属	302
第五节 摩拉氏菌属	314
第六节 军团菌属	321
第十三章 巴氏杆菌科	331
第一节 巴氏杆菌属	331
第二节 嗜血杆菌属	340
第三节 放线杆菌属	346
第四节 费朗西斯氏菌属	350
第五节 鸭瘟巴氏杆菌	353
第十四章 弯曲形细菌	355
第一节 兼性厌氧的弧菌属	355

第二节	微嗜氧的弯杆菌属	363
第十五章	螺旋体科	369
第一节	钩端螺旋体	369
第二节	密螺旋体	373
第三节	疏螺旋体	378
第十六章	拟杆菌科	382
第一节	拟杆菌属	383
第二节	梭杆菌属	386
第十七章	芽孢杆菌科	390
第一节	梭菌属	390
第二节	芽孢杆菌属	408
第十八章	无内芽孢的革兰氏阳性杆菌	412
第一节	李氏杆菌属	413
第二节	丹毒杆菌属	418
第三节	棒状杆菌属	422
第四节	分支杆菌属	429
第五节	放线菌属	440
第六节	嗜皮菌属	443
第十九章	霉形体检验技术	449
第一节	分离培养	449
第二节	形态学检查	453
第三节	培养物的纯化	456
第四节	生化试验	457
第五节	霉形体的血清学鉴定	463
第六节	致病性霉形体检验	467
第二十章	立克次氏体与衣原体	476
第一节	立克次氏体	476
第二节	衣原体	485
第三篇	真菌	491
第二十一章	瘤座孢科	491
第二十二章	丛梗孢科	504

第一节	曲霉属	504
第二节	青霉属	513
第二十三章	暗梗孢科	521
第二十四章	组织胞浆菌科	523
第二十五章	丛梗孢科中的皮霉菌	525
第二十六章	束梗孢科	527
第四篇	病毒的检验	531
第二十七章	鸡胚培养技术	531
第一节	鸡胚的结构	531
第二节	受精卵的检查	533
第三节	接种途径	534
第二十八章	细胞培养技术	542
第一节	器材的准备	542
第二节	细胞培养液的配制	547
第三节	细胞培养常用试剂的配制	555
第四节	单层细胞的培养	558
第五节	传代细胞系的培养	562
第六节	细胞培养的不同方法	563
第七节	细胞的保存和递送	564
第二十九章	病毒的细胞培养感染试验	568
第一节	细胞致病效应	568
第二节	血吸附和血吸附抑制试验	569
第三节	空斑形成试验	571
第三十章	干扰素测定方法	575
第三十一章	病毒电镜标本的制备	582
第一节	负染标本的制备	582
第二节	免疫电镜术	584
第三节	超薄切片用的样品采集和固定	587
第三十二章	病毒理化特性的检查	589
第一节	病毒核酸类型的测定	589

第二节	病毒类脂的测定	594
第三节	病毒对几种理化因素的抗性测定	595
第三十三章	细小病毒科	597
第一节	猪细小病毒	597
第二节	牛细小病毒	600
第三节	猫泛白细胞减少症病毒	601
第四节	犬细小病毒	603
第五节	水貂肠炎病毒	604
第六节	小鹅瘟病毒	606
第七节	阿留申水貂病病毒	607
第八节	兔细小病毒	608
第九节	啮齿动物的细小病毒	609
第三十四章	乳多空病毒科	611
第三十五章	腺病毒科	615
第一节	哺乳动物腺病毒属	615
第二节	禽腺病毒属	619
第三十六章	疱疹病毒科	622
第一节	疱疹病毒甲亚科	622
第二节	疱疹病毒乙亚科	634
第三节	疱疹病毒丙亚科	637
第三十七章	虹色病毒科	643
第一节	鱼淋巴囊肿病毒	643
第二节	非洲猪瘟病毒	644
第三十八章	痘病毒科	648
第一节	正痘病毒属	651
第二节	禽痘病毒属	655
第三节	羊痘病毒属	657
第四节	野兔痘病毒属	659
第五节	副痘病毒属	660
第六节	猪痘病毒属	661
第三十九章	微核糖核酸病毒科	663

第一节	肠道病毒属	663
第二节	鼻病毒属	668
第三节	口蹄疫病毒属	670
第四十章	披膜病毒科	676
第一节	甲病毒属	676
第二节	瘟病毒属	679
第三节	动脉炎病毒属	683
第四十一章	黄病毒科	685
第一节	日本脑炎病毒	685
第二节	引起动物脑炎的其他黄病毒	687
第四十二章	布尼安病毒科	689
第四十三章	呼肠孤病毒科	693
第一节	呼肠孤病毒属	693
第二节	环状病毒属	697
第三节	轮状病毒属	702
第四十四章	双 RNA 病毒科	705
第一节	鸡传染性腔上囊炎病毒	705
第二节	鱼传染性胰坏死病毒	706
第四十五章	反录病毒科	708
第一节	肿瘤病毒亚科	708
第二节	泡沫病毒亚科	714
第三节	缓慢病毒亚科	714
第四节	马传染性贫血病毒	715
第四十六章	冠状病毒科	719
第四十七章	嵌沙病毒科	724
第四十八章	弹状病毒科	726
第一节	狂犬病病毒属	726
第二节	水泡病毒属	728
第三节	本科可能成员	730
第四十九章	正粘病毒科	734
第五十章	副粘病毒科	740

第一节 副粘病毒属	740
第二节 麻疹病毒属	747
第五十一章 未分类病毒	752
第五十二章 鱼类病原微生物	755
第一节 鱼害粘球菌	755
第二节 I型嗜水气单胞菌嗜水亚种	757
第三节 荧光假单胞菌	759
第四节 疖疮型点状气单胞菌	761
第五节 水霉科	762
附一 常见淡水鱼类寄生水生真菌分类检索表	765
附二 鱼类常见的几种传染病鉴别表	767

第一篇 检验技术

第一章 培养基

第一节 培养基的基本原理及制备原则

培养基是根据各类微生物生长繁殖需要,将各种营养成分按适当比例配制而成,它提供这些微生物生长的条件和环境(如营养物、pH、渗透压、O₂、抑制另一些微生物生长等),用于微生物的分离、繁殖、鉴别、研究。

一、培养基的基本成分

(一) 水 配制培养基所用的水,有的必须是蒸馏水、双蒸蒸馏水或无离子水。如制备生化试验用的许多培养基,加水来制备去水培养基都得用蒸馏水或无离子水,至於制备牛肉浸液等,冷水或自来水亦可。总之,根据要求而定。

(二) 蛋白胨 蛋白胨是蛋白质经蛋白酶(常用胰蛋白酶或胃蛋白酶)酸或碱水解后的中间产物。在水解过程中,蛋白质分解为较小分子的产物,如蛋白胨、胨、肽甚至氨基酸。上述成分的比例依蛋白胨牌号而不同,所以其营养价值也不尽相同,有的适于某种细菌生长,有的则适于某种生化反应的出现。蛋白胨主要为细菌生长提供氮源。因为它是两性化合物,所以也具有缓冲作用。

(三) 肉浸液或牛肉膏 肉浸液即牛肉水浸液,牛肉膏系牛肉浸液经煮沸或蒸沸后浓缩而成。肉浸液中含有两大类物质:一为

含氮物质，其中包括肌酸、黄嘌呤、次黄嘌呤、腺嘌呤、尿酸、谷氨酰氨、肌肽和肉毒碱等。另一类为不含氮物质有葡萄糖、磷酸乙醚、乳酸、琥珀酸、脂肪、肌醇和无机盐。除此，尚含有 8 种维生素 B 族物质，为细菌的生长因子。牛肉膏营养次于新鲜制备的牛肉浸液。

(四) **无机盐类** 细菌生长需要一定的盐类。一般培养基中加入钠、钾、镁、硫酸盐、磷酸盐、碳酸盐或醋酸盐等，这些盐类物质兼有缓冲作用并与培养基的渗透压有关。

(五) **酵母膏** 由酵母细胞提取而得，本身除具营养成分外，还是 B 族维生素的丰富来源。

(六) **琼脂** 是从海藻提取的胶聚物质，是一种复合多糖，一般不被细菌利用，只作为培养基的固形剂。琼脂在 95°C 左右溶解，42°C 左右凝固。

(七) **碳水化合物** 在培养基中加入糖、醇等碳水化合物，供给细菌生长所需的能源和碳源。亦可利用其发酵产物来帮助鉴别细菌种类。

(八) **血液及体液** 血液、血清或腹水中含有丰富的蛋白质和生长因素，用于培养营养要求较高的细菌。培养基中加入血液，还可测定细菌的溶血作用。

(九) **抑菌剂** 培养基中加入抑菌剂，抑制某些细菌生长，便于分离和鉴别另一些细菌。

(十) **指示剂** 生化反应培养基中加入指示剂，观察细菌对各种物质的利用和分解以及 pH 值的变化情况。

二、制备培养基的要求及注意事项

1. 配制培养基所用化学药品均应为化学纯或分析纯或试剂级，称量要准。

2. 所用器材应清洁，一般用玻璃(中性硬质)，搪瓷或不锈钢容器；不宜用铜、铝或铁的容器，以免金属离子进入培养基而

影响细菌生长。

3. 培养基 pH 值应准确, 一般培养基 pH 值为 7.4~7.6, 因高压灭菌后 pH 值约降低 0.1~0.2, 因此在调 pH 值时应比实际需要高 0.1~0.2。

4. 培养基加热次数不宜过多, 时间不宜过长, 否则营养成分被破坏。

5. 制备好的培养基通常要求澄清透明, 便于观察细菌生长性状。

6. 培养基分装不得超过容器的 2/3, 以免灭菌时溢出。

7. 根据培养基成分, 采用适当的灭菌温度、时间和方法。

8. 制备好的培养基应作无菌检验, 必要时用已知菌鉴定其质量。

9. 去水培养基应保存于阴暗干燥处, 使培养基始终呈干粉状态。制备的培养基通常应存放于 4°C 冰箱中, 或少量制备一次使用。

三、培养基 pH 值测定

(一) 指示剂的配制

1. 常用指示剂感应范围及使用浓度见表 1-1。

2. 配法。

(1) 称取指示剂于玛瑙乳钵内研磨。

(2) 按上表加入 0.1 mol/L NaOH 溶液研磨至溶解。

(3) 按上表加蒸馏水至规定量即成。配制液应晴朗无沉淀。

(二) pH 值测定

1. 取与标准比色管大小、厚薄一致的小试管三支, 各加待测培养基 5 ml, 一支加指示剂 0.25 ml 作测定, 另两支不加指示剂作对照。

2. 将两对照管连同 pH 标准比色管(有商品)放入比色盒中。

3. 往测定管中徐徐滴加 0.1 mol/L 的 NaOH(或 0.1 mol/L