

全国执业兽医资格考试推荐用书

2017年



执业兽医资格考试

单元强化自测与详解

预防兽医

(兽医全科类)

中国兽医协会 组编

王春仁 主编

- ★ 精讲核心考点
- ★ 凸显得分要点
- ★ 全面、实用、准确、高效

 中国农业出版社

编写人员

2017年

执业兽医资格考试(兽医全科类)

单元强化自测与详解 预防兽医

中国兽医协会 组编 ●
王春仁 主编 ●

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

2017 年执业兽医资格考试 (兽医全科类) 单元强化自
测与详解. 预防兽医/王春仁主编; 中国兽医协会组编

. —北京: 中国农业出版社, 2017. 4

ISBN 978-7-109-22811-5

I. ①2… II. ①王…②中… III. ①兽医学—预防医
学—资格考试—题解 IV. ①S85-44

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 060707 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码 100125)

责任编辑 林珠英 黄向阳

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2017 年 4 月第 1 版 2017 年 4 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 38.25

字数: 980 千字

定价: 70.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

编写人员

主 编 王春仁

副主编 倪宏波 闻晓波

编 者 冉旭华 (兽医微生物学与免疫学)

朱战波 周玉龙 (兽医传染病学)

常巧呈 仇建华 (兽医寄生虫学)

翟军军 (兽医公共卫生学)

《2017年执业兽医资格考试（兽医全科类）单元强化自测与详解 预防兽医》是参加全国执业兽医资格考试人员考前复习的必备参考书。全书包括兽医微生物学与免疫学、兽医传染病学、兽医寄生虫学和兽医公共卫生学四部分内容。参考书对每门学科的大纲内容和重要考点做了介绍，重点突出且简明扼要，结构合理，逻辑性强，便于理解和记忆，是考生复习备考应试的重要指南。同时，每个单元都以往年考试真题为例，对答案进行详细分析，让考生了解答题技巧，提高解题能力。在单元最后按照执业兽医考试大纲要求，为考生精心编写了若干各种类型的模拟试题，强化考生对本单元知识的理解，训练考生的答题能力。

本书由黑龙江八一农垦大学预防兽医学教研室的教师们编写。内容科学实用，语言通俗易懂，适合作为执业兽医资格考试预防兽医部分的参考书。

编著者

第二篇 兽医传染病学

第一单元 传染病学基础知识	1
第二单元 人畜共患传染病	17
第三单元 家畜动物共患传染病	23
第四单元 禽的传染病	29
第五单元 水产动物的传染病	35

各单元包括:大纲内容 重要考点 例题分析 练习题目

前言

第一篇 兽医微生物学与免疫学

第一单元 细菌的结构与生理	1
第二单元 细菌的感染	17
第三单元 细菌感染的诊断	25
第四单元 消毒与灭菌	31
第五单元 主要的动物病原菌	37
第六单元 病毒基本特性	64
第七单元 病毒的检测	73
第八单元 主要的动物病毒	78
第九单元 抗原与抗体	105
第十单元 细胞因子	121
第十一单元 免疫应答	126
第十二单元 变态反应	133
第十三单元 抗感染免疫	139
第十四单元 免疫防治	148
第十五单元 免疫学技术	158

第二篇 兽医传染病学

第一单元 传染病学基础知识	175
第二单元 人畜共患传染病	196
第三单元 多种动物共患传染病	230
第四单元 猪的传染病	245
第五单元 牛、羊的传染病	277

第六单元	马的传染病	295
第七单元	禽的传染病	298
第八单元	犬、猫的传染病	335
第九单元	兔和貂的传染病	346
第十单元	蚕、蜂的传染病	355

第三篇 兽医寄生虫学

第一单元	寄生虫学基础知识	366
第二单元	寄生虫病的诊断与防控技术	373
第三单元	人畜共患寄生虫病	382
第四单元	多种动物共患寄生虫病	401
第五单元	猪的寄生虫病	422
第六单元	牛、羊的寄生虫病	432
第七单元	马的寄生虫病	459
第八单元	禽的寄生虫病	472
第九单元	犬、猫的寄生虫病	495
第十单元	兔的寄生虫病	507
第十一单元	家蚕的寄生虫病	511
第十二单元	蜂的寄生虫病	520

第四篇 兽医公共卫生学

第一单元	环境与健康	527
第二单元	动物性食品污染及控制	547
第三单元	人畜共患病概论	572
第四单元	乳品卫生	577
第五单元	场地消毒及生物安全处理	584
第六单元	动物诊疗机构及其人员公共卫生要求	595

第一篇 兽医微生物学与免疫学

第一单元 细菌的结构与生理

| 大纲内容 |

一、细菌的形态

细菌 (bacterium) 是一类具有细胞壁和核质的单细胞原核细胞型微生物, 个体微小, 大小介于动物细胞与病毒之间, 以微米 (μm) 为测量单位, 经染色后光学显微镜下才可见。细菌的结构简单, 无成形的细胞核, 按其个体形态可分为球菌、杆菌和螺形菌三类。细菌的基本结构有细胞壁、细胞膜、细胞质和核体等。某些细菌还具有一些特殊结构, 如鞭毛、菌毛、荚膜和芽孢等。细菌多以二分裂方式进行无性繁殖。每种细菌所具有的酶不完全相同, 对营养物质的分解能力不一样, 其代谢产物也不相同。因此, 利用生化反应试验可以鉴别不同种类的细菌。

1. 细菌的个体形态 细菌的个体形态基本可分为球状、杆状和螺形三种, 分别称为球菌、杆菌和螺形菌。

(1) 球菌 (coccus) 菌体呈球形或近似球形, 直径通常在 $0.5\sim 2.0\mu\text{m}$ 。按其分裂方向和分裂后排列形式的不同分为: ①双球菌, 沿一个平面分裂, 分裂后两个菌体成对排列, 如肺炎链球菌。②链球菌, 沿一个平面分裂, 分裂后 3 个以上菌体成短链或长链, 如猪链球菌。③葡萄球菌, 沿多个不规则平面分裂, 分裂后菌体堆积在一起呈葡萄状排列, 如金黄色葡萄球菌。无论何种球菌, 它们的培养物中有时可观察到散在的单个菌体。

(2) 杆菌 (bacillus) 菌体形态多样, 多数呈直杆状, 也有的菌体稍弯, 两端大多呈钝圆形, 其大小用长和宽表示, 中等大小的杆菌长 $2.0\sim 3.0\mu\text{m}$, 宽 $0.5\sim 1.0\mu\text{m}$ 。有的杆菌末端膨大呈棒状, 称棒状杆菌, 如化脓棒状杆菌; 有的菌体短小, 近似椭圆形, 称为球杆菌, 如多杀性巴氏杆菌; 少数菌体两端平齐, 如炭疽芽孢杆菌; 有的呈分支状生长, 称分支杆菌, 如结核分支杆菌。

(3) 螺形菌 (spiral bacterium) 菌体呈弯曲或螺旋状, 分为弧菌和螺菌两种。弧菌的菌体短小, 长 $2.0\sim 3.0\mu\text{m}$, 只有一个弯曲, 呈弧形或逗点状, 如霍乱弧菌。螺菌菌体较长, 为 $3.0\sim 6.0\mu\text{m}$, 有数个弯曲, 如鼠咬热螺菌。也有的菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形, 称为螺杆菌, 如幽门螺杆菌。

细菌的形态易受环境因素 (如培养温度、培养基成分、pH 等) 的影响, 在适宜条件下培养 $8\sim 18\text{h}$ 的形态较为典型。幼龄或衰老的细菌, 或在机体感染部位受到药物等因素作用后, 常呈多形性。因此, 在实验室鉴定细菌时应予甄别。

2. 细菌的群体形态 细菌在人工培养基中以菌落形式出现。在适宜的固体培养基中, 适宜条件下经过一定时间培养 (一般 $18\sim 24\text{h}$), 细菌在培养基表面或内部分裂增殖形成大量菌体细胞, 形成肉眼可见的、有一定形态的独立群体, 称为菌落 (colony)。若菌落连成一片, 称菌苔 (lawn)。不同种细菌的菌落在大小、色泽、表面性状、边缘结构等方面各具特征, 由

此可以初步判断细菌的种类。例如,金黄色葡萄球菌在普通营养琼脂上的菌落为圆形、边缘整齐、呈金黄色、直径为1~2mm;炭疽杆菌的菌落大而扁平,形状不规则,边缘呈卷发状。将细菌样本在固体培养基上划线接种,经适当时间培养后获得单个菌落,是细菌纯化、传代和鉴定的重要步骤之一。

二、细菌的基本结构

基本结构是所有细菌都具有的细胞结构,包括细胞壁、细胞膜、细胞质和核体等。

1. 细胞壁 细胞壁(cell wall)是细菌最外层结构,紧贴于细胞膜之外,坚韧而有弹性,平均厚度15~30nm,占菌体干重的10%~25%。经高渗溶液处理使其与细胞膜分离后,再经特殊染色才可在光学显微镜下观察,或用电子显微镜直接观察。细菌细胞壁的化学组成比较复杂,以革兰氏染色法可将细菌分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌两大类,它们的细胞壁构成有较大差异。

(1) 革兰氏阳性菌细胞壁 细胞壁较厚(20~80nm),由肽聚糖和穿插于其内的磷壁酸组成。肽聚糖为原核生物细胞所特有,又称黏肽,是构成细菌细胞壁的成分。革兰氏阳性菌细胞壁可聚合多层(15~50层)肽聚糖,其含量占细胞壁干重的50%~80%。

肽聚糖由聚糖骨架、四肽侧链和五肽交联桥三部分组成。

①聚糖骨架:由N-乙酰葡萄糖胺和N-乙酰胞壁酸两种单糖交替排列,经 β -1,4糖苷键连接成聚多糖。

②四肽侧链:由4~5个氨基酸组成的侧链,连接在聚糖骨架的胞壁酸分子上,四肽侧链之间由交联桥连接。侧链上氨基酸的数量、种类和连接方式,随细菌种类不同而异。

③五肽交联桥:由5个甘氨酸组成的桥链,将两个相邻的四肽侧链连接在一起,一端与四肽侧链的第三位氨基酸相连,另一端则与另一侧链的第四位氨基酸相连,使三者构成坚韧牢固的三维立体框架结构。

磷壁酸是革兰氏阳性菌细胞壁的特有成分,依据其结合部位的不同,可分为壁磷壁酸和膜磷壁酸,前者以共价键结合于聚糖骨架的胞壁酸上,从肽聚糖内穿出于细胞壁外;后者又称脂磷壁酸,其一端以共价键结合于胞质膜外层的糖脂上,另一端贯穿肽聚糖层而游离于细胞壁表面。磷壁酸的抗原性较强,介导细菌对宿主细胞的黏附或为噬菌体提供特异的受体。

此外,某些革兰氏阳性菌细胞壁表面尚有一些特殊的蛋白质,如金黄色葡萄球菌的A蛋白,A群链球菌的M蛋白等。

(2) 革兰氏阴性菌细胞壁 细胞壁较薄(10~15nm),结构较革兰氏阳性菌更为复杂,除含有肽聚糖层外,还有外膜和周质间隙,约占细胞壁干重的80%。革兰氏阴性菌细胞壁所含肽聚糖较少,仅1~3层,占细胞壁干重的5%~10%,无五肽交联桥结构,属于疏松薄弱的二维结构。

外膜由外膜蛋白、脂质双层和脂多糖三部分组成。

①外膜蛋白:外膜中镶嵌的多种蛋白质的统称,主要包括脂蛋白和微孔蛋白。脂蛋白位于肽聚糖与外膜之间,其蛋白部分结合于肽聚糖的四肽侧链上,脂质部分插入外膜,牢固地连接着肽聚糖层与外膜。微孔蛋白一般由3个相同分子质量的亚单位组成,形成跨越外膜的孔道,起到分子筛的作用,仅允许小分子质量的物质(如无机盐类、双糖、氨基酸、二肽或三肽等)通过,大分子物质不能通过。一些细菌的外膜蛋白作为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。

②脂质双层:结构类似细胞膜,能阻止大分子物质进入菌体,其内镶嵌着多种外膜蛋白。

③ 脂多糖：由类脂 A、核心多糖和特异性多糖组成。类脂 A 是一种结合有多种长链脂肪酸的氨基葡萄糖聚二糖链，在各种革兰氏阴性菌中的结构相似，是内毒素的主要毒性成分，具有多种生物学效应，能导致动物体发热、白细胞增多，甚至休克、死亡。核心多糖位于类脂 A 的外侧，由葡萄糖、乳糖等组成，具有细菌属的特异性，如沙门氏菌属不同种细菌的核心多糖都相似。特异性多糖是脂多糖的最外层，具有种、型特异性，由 3~5 个低聚糖单元重复构成的多糖链构成菌体抗原（即 O 抗原）。脂多糖能够吸附 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等阳离子，也是一些噬菌体在细菌表面的特异性吸附受体。

革兰氏阴性菌外膜与细胞膜之间有 2~3nm 的空隙，占细胞体积的 20%~40%，称周浆间隙。该间隙含有多种蛋白酶、核酸酶及特殊结合蛋白等，在细菌获得营养、解除有害物质毒性等方面起重要作用。

由于革兰氏阴性菌与革兰氏阳性菌细胞壁结构显著不同，因而它们在染色特性、抗原性、致病性及对药物的敏感性方面差异很大，前者革兰氏染色为红色，而后者为紫色。革兰氏阳性菌对溶菌酶和青霉素敏感，溶菌酶能破坏细胞壁肽聚糖中 N-乙酰胞壁酸与 N-乙酰葡萄糖胺之间的 β -1, 4 糖苷键，而青霉素能抑制细胞壁合成过程中五肽桥与四肽侧链末端的 D-丙氨酸之间的连接，从而破坏肽聚糖骨架，干扰细胞壁合成，导致细胞死亡。革兰氏阴性菌细胞壁中肽聚糖含量较少，又有外膜的保护，所以对溶菌酶和青霉素不敏感。

(3) 细胞壁的主要功能 ① 维持菌体的固有形态，保护细菌抵抗低渗环境。细菌细胞内含有高浓度的无机盐和大分子营养物质，渗透压可达 25 个大气压，高出胞外数百倍，细胞壁的存在避免了细菌在此环境条件下的破裂和变形。② 与细胞内、外物质交换有关，细胞壁有许多微孔，可使水和小分子物质自由通过，并阻留大分子物质，它与细胞膜共同完成细胞内、外物质交换。③ 细胞壁为表面结构，携带多种决定细菌抗原性的抗原决定簇。④ 与细菌的致病性有关，革兰氏阴性菌细胞壁上的脂多糖具有内毒素作用，革兰氏阳性菌的磷壁酸、A 群链球菌的 M 蛋白介导细菌对宿主细胞的黏附。

当细菌受到某些理化因素或药物作用时，其细胞壁可被直接破坏或合成受到抑制，这种细胞壁缺陷型的细菌仍能够生长、繁殖和分裂，称为 L 型细菌。这种缺乏完整细胞壁的 L 型细菌不能维持其固有形态，呈多形性，染色不易着色，但仍有一定致病力；在普通培养基中不能耐受菌体内的高渗透压而胀裂死亡，但在高渗低琼脂含血清的培养基中能缓慢生长。L 型细菌可发生于青霉素、头孢霉素等抗菌药物治疗疾病的过程中。

2. 细胞膜 细胞膜 (cell membrane) 位于细胞壁内侧，紧密包绕着细胞质，是一层富有弹性及半渗透性的生物膜，厚 5~10nm，约占细菌干重的 10%。其结构与真核生物细胞膜基本相同，为脂质双层并镶嵌有特殊功能的载体蛋白和酶类，但不含胆固醇。

细胞膜的主要功能：① 具有选择通透性，与细胞壁共同完成菌体内、外的物质交换。② 分泌胞外酶，解除环境中不利因素的毒性。③ 有多种呼吸酶类，如细胞色素酶和脱氢酶，可以转运电子，完成氧化磷酸化，参与细胞呼吸过程，与细菌的能量产生、利用和贮存有关。④ 有多种合成酶类，是细菌细胞生物合成的场所，菌体的多种成分如肽聚糖、磷壁酸、脂多糖等均可由细胞膜合成。

3. 细胞质 细胞质 (cytoplasm) 指细胞膜所包围的、除核体以外的所有物质，其基本成分是水、蛋白质、脂类、核酸及少量的无机盐等，还含有一些有形成分如核糖体、质粒等亚显微结构。细胞质内含有多种酶系统，是细菌新陈代谢的主要场所。

(1) 核糖体 (ribosome) 是游离于细胞质中的微小颗粒，由 RNA 和蛋白质组成，其数

目随生长阶段而异,生长旺盛时最多,数量可达数万个。沉降系数为70S,它由50S和30S两个亚基组成,链霉素、红霉素能分别与30S和50S亚基结合,从而干扰菌体蛋白的合成而呈现抗菌作用。当mRNA与核糖体结合并将核糖体串成多聚核糖体时,就成为蛋白质合成的场所。

(2) 质粒(plasmid) 是细菌染色体外的遗传物质,为闭合环状双股DNA分子,编码细菌生命活动非必需的基因,赋予其某些特定的遗传性状。医学上重要的质粒有F质粒、R质粒和毒力质粒等,分别决定细菌的致育性、耐药性及致病性等。质粒能够自我复制,传给子代,也可自然丢失或从一个细菌转移至另一个细菌。在基因工程中,质粒常用作目的基因的运载体。

4. 核体 核体(nuclear body)是细菌的染色体,由裸露的双链DNA堆积而成,因无核膜和核仁,也无组蛋白包绕,故又称拟核。核体在细胞质中心或边缘区,呈球形、哑铃状或带状等形态。核体具有细胞核的功能,是细菌遗传变异的物质基础,仅在复制的短时间内为双倍体。

三、细菌的特殊结构

某些细菌在一定条件下可形成一些特殊结构,如鞭毛、菌毛、荚膜和芽孢等。

1. 荚膜 荚膜(capsule)是某些细菌在细胞壁外包绕的一层边界清楚且较厚的黏液样物质。荚膜的化学成分随种而异,大多数细菌的荚膜为多糖,炭疽芽孢杆菌、鼠疫耶尔森菌等少数细菌的荚膜为多肽,还有一些细菌的荚膜为透明质酸。荚膜无折光性,普通染色时呈负染,光镜下仅见菌体周围有一层无色透明圈,用特殊染色法可将荚膜染成与菌体不同的颜色而易于观察。荚膜的形成与细菌所处的环境有关,一般是在机体内或营养丰富的培养基中容易形成,而在环境不良或普通培养基上则易消失。

荚膜的主要功能:①保护细菌抵御吞噬细胞的吞噬,增加细菌的侵袭力,是构成细菌致病性的重要因素。②荚膜成分具有特异的抗原性,可作为细菌鉴别及细菌分型的依据。

2. 鞭毛 鞭毛(flagellum)是某些细菌表面附着的细长呈波浪状弯曲的丝状物,其数目从一到数十根不等,直径5~20nm,长度可达5~20 μ m。鞭毛的成分是蛋白质,由鞭毛蛋白亚单位组成,与动物的肌动蛋白相似,具有收缩性。根据鞭毛的数目、位置等可将有鞭毛的细菌分为单毛菌、双毛菌、丛毛菌和周毛菌四种,经特殊染色后在普通显微镜下可见。

鞭毛的主要功能:①菌体运动,有鞭毛的细菌不仅能做位移运动,而且也可用培养法检查有鞭毛细菌在平板表面及在半固体培养基中生长的动力,作为细菌鉴别的依据之一,如伤寒沙门氏菌与志贺氏菌形态相似,但前者有鞭毛能运动,后者无鞭毛不能运动,借此可区别两种菌。②鞭毛具有特异的抗原性,通常称为H抗原,对细菌的鉴别、分型有一定意义。③有些细菌(如霍乱弧菌、空肠弯曲菌等)的鞭毛与细菌的黏附有关,能增强细菌对宿主的致病性。

3. 菌毛 菌毛(pilus)是大多数革兰氏阴性菌和少数革兰氏阳性菌的菌体表面遍布,比鞭毛细而短的丝状物,直径5~10nm,长0.5~1.5 μ m,只有在电子显微镜下才能观察到。其化学成分为蛋白质,称菌毛素。菌毛与细菌的运动无关,但具有良好的抗原性,按其形态、分布和功能可分为普通菌毛和性菌毛两种。

(1) 普通菌毛 遍布于菌体表面,可达数百根之多。普通菌毛是一种黏附结构,细菌借此黏附于呼吸道、消化道和泌尿生殖道的黏膜上皮细胞上,进而侵入细胞。因此,与细菌的致病性有关。无菌毛的细菌则易被黏膜细胞纤毛的摆动、肠蠕动或尿液冲洗而排除。

(2) 性菌毛 由质粒携带的致育因子(F因子)编码,故又称F菌毛。性菌毛比普通菌毛长而粗,每个菌体仅有1~4根,为中空管状,与细菌的接合和F质粒的转移有关。

菌毛分为六个型，分别用阿拉伯数字或大写罗马数字表示。其中，2型（F2）为性菌毛，其余均为普通菌毛（F1，F3~F6）。

4. 芽孢 芽孢（spore）是某些细菌在一定条件下胞质脱水浓缩形成的具有多层膜包裹、通透性低的圆形或椭圆形小体。芽孢带有完整的核质与酶系统，保持着细菌的全部代谢活动，但其代谢相对静止，不能分裂繁殖，当条件适宜时又可发芽而形成新的菌体。因此，芽孢的形成不是细菌的繁殖方式，而是细菌的休眠状态，是细菌抵抗不良环境的特殊存活形式。芽孢壁厚不易着色，普通染色法光镜下可见菌体内有无色透明的芽孢体，经特殊的芽孢染色可被染成与菌体不同的颜色而易于观察。

芽孢形成的意义：①芽孢对热、干燥、化学消毒剂和辐射等有较强的抵抗力，在自然界中分布广泛并可存活数年甚至数十年。芽孢可耐受100℃数小时，杀灭芽孢的可靠方法是160℃干热灭菌或高压蒸汽灭菌。器械、敷料、培养基等进行灭菌或环境消毒时，常以杀灭细菌芽孢作为灭菌或消毒是否彻底的标准。②环境中的芽孢一旦进入机体后又可发芽而形成新的繁殖体，故应防止芽孢污染周围环境，威胁动物和人的健康。③芽孢的大小、形态和在菌体中的位置随菌种而异，有助于细菌的鉴别。如炭疽杆菌的芽孢为卵圆形，位于菌体中央；破伤风杆菌的芽孢为圆形，比菌体大，位于菌体末端。

四、细菌的染色方法

细菌个体微小，肉眼不可见，需借助普通光学显微镜或电子显微镜放大后才能观察到其形态和结构。也可用暗视野显微镜、相差显微镜和荧光显微镜等进行观察。使用暗视野显微镜观察时，可在黑暗的背景中看到发亮的菌体，明暗反差可以提高观察效果，多用于不易染色的微生物（如螺旋体等）的形态和运动观察。在细菌学检验中最常用的是明视野显微镜，但由于细菌为无色半透明的生物，且具有一些特殊的结构，因此，需要经过染色后才能明视野显微镜下清楚地观察细菌的形态和结构。

细菌的等电点较低（pI 2~5），在近中性环境中多带负电荷，易与带正电荷的碱性染料结合，故多选用碱性染料，如美蓝、碱性复红、甲紫等。细菌的染色方法有多种，可分为单染法和复染法两大类。单染法是仅用一种染料进行染色，如美蓝染色法。该法简易方便，多用于观察细菌的形态、大小与排列，但不能显示细菌的结构与染色特性。复染法是用两种或两种以上的染料进行染色，可将细菌染成不同颜色，除可观察细菌的大小、形态外，还能鉴别细菌的不同染色性，故又称鉴别染色法，常用的有革兰氏染色、瑞氏染色和特殊染色（如芽孢染色、异染颗粒染色）等。

1. 革兰氏染色法 不同的革兰氏染色特性说明细菌属性不同，可用于细菌的初步鉴别，即细菌可按这种染色方法分为革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌两大类。其方法是：将标本固定后先用草酸铵结晶紫染色1min，水洗后加碘液染1min，然后用95%乙醇脱色30s，最后用稀释的石炭酸复红或沙黄复染1min后水洗。干后镜检，被染成紫色的为革兰氏阳性菌，被乙醇脱色后复染成红色的为革兰氏阴性菌。

革兰氏染色法与细菌细胞壁结构密切相关，经结晶紫初染和碘液媒染后，所有细菌都染上不溶于水的结晶紫与碘的复合物而呈现深紫色。但革兰氏阴性菌肽聚糖少，交联疏松，且细胞壁脂质含量高，易被乙醇溶解，使胞壁通透性增高，结合的染料复合物容易溶解洗脱，最后被红色的染料复染。革兰氏阳性菌等电点低于革兰氏阴性菌，在同等条件下结合带正电荷的碱性染料多；革兰氏阳性菌细胞壁脂质含量低，肽聚糖层厚，立体网格状结构紧密，染料复合物不

易从菌体细胞内溶出。

革兰氏染色法的临床意义在于：①鉴别细菌，革兰氏染色可将细菌分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌两大类。②与致病性有关，大多数革兰氏阳性菌以外毒素为主要致病物质，而革兰氏阴性菌主要以内毒素致病，二者临床表现和致病机制各不相同。③选择抗菌药物，大多数革兰氏阳性菌对青霉素、头孢菌素、龙胆紫等敏感，而大多数革兰氏阴性菌对氨基糖苷类抗生素如链霉素、庆大霉素等敏感。

2. 瑞氏染色法 瑞氏染料是碱性美蓝与酸性伊红钠盐混合而成的染料，当溶于甲醇后即发生分离，分解成酸性和碱性两种染料。由于细菌带负电荷，故与带正电荷的碱性染料结合而成蓝色。组织细胞的细胞核含有大量的核糖核酸镁盐，也与碱性染料结合成蓝色。而背景和细胞浆一般为中性，易与酸性染料结合染成红色。其方法是：抹片自然干燥后，滴加瑞氏染色液，经1~3min，再加约与染液等量的中性蒸馏水或缓冲液，轻轻晃动玻片，使之与染液混合，经3~5min后直接用水冲洗，吸干后镜检。细菌染成蓝色，组织细胞的胞浆呈红色，细胞核呈蓝色。

3. 特殊染色方法 主要是针对细菌的特殊结构（如鞭毛、荚膜、芽孢等）和某些特殊细菌的染色技术。

(1) 抗酸染色法 细胞壁含有丰富蜡质的抗酸杆菌类细菌（如结核分支杆菌），一般不易着色，需用浓染液加温或延长染色时间才能着色，但一旦着色后即使用强酸、强碱或酸性酒精也不能使其脱色。其方法是在已干燥、固定好的抹片上滴加较多的石炭酸复红染色液，在玻片下以酒精灯火焰微微加热至产生蒸汽为度（不要煮沸），经3~5min后水洗，然后用3%盐酸酒精脱色，至标本无色脱出为止，充分水洗后再用碱性美蓝染色液复染约1min，水洗。吸干后镜检。抗酸性细菌呈红色，非抗酸性细菌呈蓝色。

(2) 芽孢、荚膜和鞭毛的染色法

① 芽孢染色法：根据细菌的菌体和芽孢对染料亲和力不同的原理，用不同染料进行染色，使芽孢和菌体呈不同颜色而便于区别。芽孢壁厚、透性低，着色、脱色均较困难，当用弱碱性染料孔雀绿在加热的情况下进行染色时，染料可以进入菌体及芽孢使其着色，而进入芽孢的染料则难以透出。若再用番红液复染，则菌体呈红色而芽孢呈绿色。

② 荚膜染色法：通常采用负染色法，即将菌体染色后，再使背景着色（常用美蓝），从而把荚膜衬托出来。有荚膜的菌，菌体蓝色，荚膜不着色（菌体周围呈现一透明圈），背景蓝紫色；无荚膜的菌，菌体蓝色，背景蓝紫色。

③ 鞭毛染色法：在染色的同时将染料堆积在鞭毛上使其加粗的方法：在风干的载玻片上滴加以丹宁酸和氯化高铁为主要成分的甲液，4~6min后用蒸馏水轻轻冲净，再加以硝酸银为主要成分的乙液，缓缓加热至冒汽，维持约0.5min，在菌体多的部位可呈深褐色到黑色，用水冲净，干后镜检。菌体及鞭毛为深褐色到黑色。

五、细菌的生长繁殖

细菌是一类能独立进行生命活动的单细胞微生物，涉及复杂的新陈代谢过程进行生长繁殖。细菌的生长繁殖与环境条件密切相关，条件适宜时，生长繁殖及代谢旺盛；反之，则易受到抑制或死亡。了解细菌生长繁殖的条件和规律，对实验室检测和临床实践有重要指导意义。

1. 细菌生长繁殖的基本条件

(1) 营养物质 营养物质是构成菌体成分的原料，也是细菌生命活动所需能量的来源。细

菌生长所需的营养物质与菌体细胞的化学组成密切相关,其化学组成包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂类和核酸等。水占菌体重量的80%;固体成分仅占15%~20%,其中蛋白质占50%~80%,糖类占10%~30%,脂类占1%~7%,无机盐占3%~10%。细菌生长繁殖所需的营养物质主要有:①水分。细菌对物质的吸收、渗透、分泌、排泄及代谢过程的生化反应均必须在水中进行。②碳源。各种含碳的无机、有机化合物,如CO₂、碳酸盐、糖、脂肪等都能被细菌吸收利用,作为合成菌体的必需原料,同时也作为细菌代谢的主要能量来源。③氮源。细菌对氮源(如蛋白胨、氨基酸等)的需要仅次于碳源,其主要功能是作为菌体成分的原料。④无机盐。细菌需要钾、钠、镁、磷、铁、硫、氯等无机盐,除构成菌体成分外,其主要作用是调节菌体的渗透压和酸碱平衡,以及激活酶的活性。⑤生长因子。是某些细菌生长繁殖所必需而又不能自身合成的有机化合物,主要是B族维生素、某些特定氨基酸、嘌呤、嘧啶等。

(2) 酸碱度(pH) 大多数细菌最适pH为7.2~7.6,个别细菌如霍乱弧菌在pH 8.4~9.2的碱性条件下生长最好,而结核分支杆菌则在pH 6.0~6.5的弱酸性条件下最适宜。细菌代谢过程中分解糖类产酸,pH下降,不利于细菌生长。

(3) 温度 各类细菌对温度的要求不同,根据其对温度的适应范围,可将细菌分为三类:嗜冷菌,生长范围-5~30℃,最适生长温度为10~20℃;嗜温菌,生长范围10~45℃,最适生长温度为20~40℃;嗜热菌,生长范围25~95℃,最适生长温度为50~60℃。大多数病原菌的最适生长温度为37℃,个别细菌如鼠疫杆菌在28~30℃的条件下生长最好。

(4) 气体 细菌生长繁殖需要的气体主要是氧和二氧化碳。根据细菌代谢时对分子氧的需要与否,分为四种类型:①专性需氧菌。必须在有氧条件下才能生长繁殖的细菌,如结核分支杆菌、铜绿假单胞菌等。②微需氧菌。在低氧压(5%~6%)的环境中生长最好,氧压>10%对其生长有抑制作用,如空肠弯曲菌。③专性厌氧菌。必须在无氧的条件下才能生长繁殖的细菌,如破伤风芽孢杆菌。④兼性厌氧菌。在有氧或无氧条件下均能生长繁殖,但在有氧时生长较好,大多数病原菌属此类,如葡萄球菌、伤寒沙门氏菌等。

(5) 渗透压 一般培养基的渗透压和盐浓度对大多数细菌是安全的,少数细菌如嗜盐菌需要在较高浓度(3%)的NaCl环境中生长良好。

2. 细菌个体的生长繁殖 细菌个体多以二分裂方式进行无性繁殖,当细菌生长到一定时间,即在细胞中间逐渐形成横隔,将一个细胞分裂成两个等大的子细胞。球菌一般沿不同平面进行分裂,杆菌则沿横轴分裂。一个菌体分裂为两个菌体所需的时间称为世代时间,细菌繁殖速度与其所处的环境条件有关,适宜条件下多数细菌繁殖速度很快,一般细菌(如大肠埃希氏菌)繁殖一代只需20~30min,个别细菌分裂较慢,如结核分支杆菌繁殖一代需18~20h。

单个细菌在固体培养基上分裂繁殖后可以形成肉眼可见的细菌群体,称为菌落。将临床样本或食品样本进行一定的稀释后在固体培养基上培养,根据形成的菌落数进行细菌计数,用菌落形成单位(colony-forming unit, cfu)表示。

3. 细菌群体的生长繁殖 细菌繁殖极快,但由于生长环境中营养物质不断消耗,毒性代谢产物不断积聚,以及环境pH的改变,细菌不可能无限增殖,而是呈现一定规律。如将一定数量的细菌接种于适宜的液体培养基后,连续定时取样检查活菌数,以培养时间为横坐标,培养物中活菌数的对数为纵坐标,可绘制出一条反映细菌增殖规律的曲线,称为生长曲线。生长曲线分为四个时期:

(1) 迟缓期 为细菌进入新环境的适应阶段,主要是合成和积累生长繁殖所需的各种酶系

统,一般为最初培养的1~4h。此期菌体增大,代谢活跃,但分裂迟缓,细菌数并不显著增加。

(2) 对数期 又称指数期,细菌经过迟缓期的适应后,以恒定的速度分裂增殖,活菌数目呈对数直线上升。此期细菌的大小、形态、染色性、生物活性等都较典型,对外界环境因素(如抗生素等)的作用也较敏感;对数期可持续数小时至数天不等,如大肠杆菌的对数期可持续6~10h。

(3) 稳定期 由于细菌经过对数期生长后培养基中营养物质的消耗,毒性代谢产物的蓄积,以及pH下降等,使细菌繁殖速度渐趋减慢,死亡菌数逐渐增加,新繁殖的活菌数与死菌数大致平衡。此期细菌的形态、染色和生理特性常有改变,如革兰氏阳性菌可能被染成阴性菌。一些细菌的芽孢、外毒素和抗生素等代谢产物大多在此期产生。

(4) 衰亡期 细菌的繁殖速度减慢或停止,死菌数超过活菌数,生理代谢活动也趋于停滞。此期菌体形态改变显著,出现多形态的衰退型,甚至菌体自溶。

六、细菌的代谢

细菌的代谢是细菌生命活动的中心环节,包括合成代谢和分解代谢,这些代谢反应都是在一系列酶的催化下完成。

1. 细菌的基本代谢过程 细菌的代谢有两个突出的特点。

(1) 代谢活跃 细菌菌体微小,相对表面积很大,因此,物质交换频繁、迅速,呈现十分活跃的代谢过程。

(2) 代谢类型多样化 各种细菌其营养要求、能量来源、酶系统、代谢产物各不相同,形成多种多样的代谢类型,以适应复杂的外界环境。细菌的代谢过程以胞外酶水解外环境中的大分子营养物质开始,产生小分子物质如单糖、短肽、脂肪酸等,经主动或被动转运机制进入细胞内后合成新的碳水化合物、蛋白质、脂类和核酸。细菌的合成代谢与真核细胞类似,但其分解代谢因细菌酶系统的不同,差异甚大。分解代谢可伴有ATP及其他形式能量的产生。

细菌细胞对营养物质的吸收、鞭毛菌的运动等所消耗的能量要由ATP供给,蛋白质、核酸、类脂和多糖等组成菌体细胞的物质合成需要ATP。因此,能量代谢是细菌代谢活动的核心。细菌代谢所需的能量绝大部分是通过生物氧化作用而获得,生物氧化是在酶的作用下细胞内所发生的系列氧化还原反应。细菌生物氧化的类型分为呼吸与发酵。以有机物为受氢体的称为发酵;以无机物为受氢体的称为呼吸,其中以分子氧为受氢体的是有氧呼吸,以无机物(硝酸盐、硫酸盐等)为受氢体的是厌氧呼吸。细菌获得能量的基质主要是糖类,通过糖的氧化或酵解释放能量,并以高能磷酸键的形式(ADP、ATP)储存能量。

2. 细菌的合成代谢产物及其作用 细菌在合成代谢中除合成菌体自身成分外,还合成一些在兽医学上具有重要意义的代谢产物。

(1) 热原质(又称致热源) 是大多数革兰氏阴性菌和少数革兰氏阳性菌合成的多糖,微量注入动物体内即可引起发热反应的物质。革兰氏阴性菌的热原质就是细胞壁中的脂多糖,革兰氏阳性菌的热原质是多糖。热原质耐热,高压蒸汽灭菌20min不会被破坏。因此,在制备和使用生物制品、注射液、抗生素等过程中应严格无菌操作,防止细菌污染,保证无热原质存在。

(2) 毒素 是病原菌在代谢过程中合成的对机体有毒害作用的物质,包括外毒素和内毒素。内毒素是革兰氏阴性菌细胞壁中的脂多糖,菌体死亡或裂解后才能释放出来。外毒素是由革兰氏阳性菌和少数革兰氏阴性菌产生的一类蛋白质,在代谢过程中分泌到菌体外,毒性

极强。

(3) 侵袭性酶类 有些细菌能合成一些胞外酶,如透明质酸酶、卵磷脂酶、链激酶等,促使细菌扩散,增强病原菌的侵袭力。

(4) 色素 某些细菌在代谢过程中能产生不同颜色的色素,对细菌的鉴别有一定意义。分为水溶性和脂溶性两种,前者能扩散至培养基等周围环境中,如铜绿假单胞菌产生的水溶性绿色色素,使伤口脓汁呈绿色;后者只存在于菌体,不扩散至含水的培养基等周围环境中,如金黄色葡萄球菌合成的脂溶性金黄色色素。

(5) 细菌素 是由某些细菌产生的仅对近缘菌株有抗菌作用的蛋白质或蛋白质与脂多糖的复合物。其种类繁多,常以产生的菌种命名,如葡萄球菌素、绿脓菌素、弧菌素等。

(6) 抗生素 是某些微生物在代谢过程中产生的一种能抑制和杀灭其他微生物或肿瘤细胞的物质。多由放线菌和真菌产生,少数由细菌产生。

(7) 维生素 某些细菌能合成自身所需的维生素,并能分泌至菌体外,供动物体吸收利用。如大肠杆菌在肠道内能合成B族维生素和维生素K。

3. 细菌的分解代谢与生化反应 各种细菌所具有的酶不完全相同,对营养物质的分解能力不一致,因而其代谢产物也不相同。据此特点,利用生物化学方法可以鉴别不同种细菌,即为生化反应试验。

(1) 氧化发酵试验 不同细菌分解糖类的能力及代谢产物不同,有氧条件下的分解称为氧化,无氧条件下的分解称为发酵。有些细菌能分解糖类产酸并产气,有的则不能。如大肠杆菌可分解葡萄糖和乳糖,产酸、产气;而伤寒沙门氏菌仅分解葡萄糖,产酸不产气。

(2) 氧化酶试验 氧化酶又名细胞色素氧化酶,该酶在细胞色素C存在时可氧化对二苯二胺,出现紫色反应。如假单胞菌、气单胞菌氧化酶试验为阳性,而肠杆菌科细菌则为阴性。

(3) 过氧化氢酶试验 具有过氧化氢酶的细菌能催化过氧化氢生成水和新生态氧,继而形成分子氧出现气泡。革兰氏阳性球菌中,葡萄球菌和微球菌均产生过氧化氢酶,而链球菌属为阴性,故此试验常用于革兰氏阳性球菌的初步分群;乳杆菌及许多厌氧菌为阴性。

(4) VP 试验 大肠杆菌和产气杆菌均能分解葡萄糖,产酸、产气,两者不能区别。但产气杆菌可使丙酮酸脱羧,氧化产生二乙酰,二乙酰与含胍基化合物反应生成红色化合物,为VP试验阳性,而大肠杆菌则VP试验阴性。

(5) 甲基红试验 产气杆菌分解葡萄糖产生丙酮酸,后者经脱羧后产生中性的乙酰甲基甲醇,培养液 $\text{pH} > 5.4$,加入甲基红指示剂后呈橘黄色,为甲基红试验阴性。大肠杆菌分解葡萄糖产生的丙酮酸不进一步转化为乙酰甲基甲醇,培养液 $\text{pH} \leq 4.5$,甲基红指示剂呈红色,则为甲基红试验阳性。

(6) 枸橼酸盐利用试验 某些细菌(如产气肠杆菌)利用铵盐及枸橼酸盐作为唯一氮源和碳源时,可在枸橼酸盐培养基上生长,分解铵盐及枸橼酸盐,培养基变为碱性,使指示剂溴麝香草酚蓝由淡绿转为深蓝,此为枸橼酸盐利用试验阳性。大肠杆菌不能利用枸橼酸盐为唯一碳源,故在该培养基上不能生长,为枸橼酸盐试验阴性。

(7) 吲哚试验 某些细菌(如大肠杆菌、变形杆菌等)含有色氨酸酶,能分解培养基中的色氨酸生成吲哚,当培养基中滴加靛基质试剂(对二甲氨基苯甲醛)时,可在接触界面上生成玫瑰吲哚而呈红色,为吲哚试验阳性。

(8) 硫化氢试验 某些细菌(如变形杆菌等)能分解培养基中含硫氨基酸(如胱氨酸、蛋

氨酸等)生成硫化氢,硫化氢遇铅或铁离子产生黑色的硫化物,为硫化氢试验阳性。

(9) 尿素酶试验 变形杆菌有尿素酶,能分解培养基中的尿素产生氨,使培养基变为碱性,以酚红指示剂检测时为红色,为尿素酶试验阳性。

细菌的生化反应试验主要用于鉴别细菌,对形态、革兰氏染色反应和培养特性相同或相似的细菌更为重要。吲哚(I)、甲基红(M)、VP(V)、枸橼酸盐利用(C)四种试验,常用于鉴定肠道杆菌,统称之为IMVC试验。大肠杆菌呈“++--”,产气杆菌为“-+”。

七、细菌的人工培养

用人工方法为细菌提供必需的营养及适宜的生长环境,使其在体外生长繁殖,以研究各种细菌的生物学性状、制备生物制品、诊断细菌性疾病、分析对抗菌药物的敏感性等。

1. 培养基的概念及种类 培养基是人工配制、适合细菌生长繁殖的营养基质,根据不同细菌生长繁殖的要求,将氮源、碳源、无机盐、生长因子、水等物质按一定比例配制,调整pH为7.2~7.6,并经灭菌后使用。培养基按其理化性状可分为液体、半固体和固体三大类。液体培养基可供细菌增菌及鉴定使用;在液体培养基中加入0.5%的琼脂即成为半固体培养基,可用于观察细菌的动力及菌种的短期保存;液体培养基中加入1.5%~2%琼脂,即为固体培养基,可供细菌的分离培养、计数、药敏试验等使用。根据营养组成和用途,培养基有下几类。

(1) 基础培养基 含有细菌生长繁殖所需要的基本营养成分,可供大多数细菌培养用。最常用的是普通肉汤培养基,含蛋白胨、牛肉浸膏、氯化钠、水等,常用于糖发酵试验。

(2) 营养培养基 在基础培养基中加入葡萄糖、血液、血清、酵母浸膏等,最常用的是血琼脂平板。可供营养要求较高的细菌生长,如链球菌、肺炎球菌的生长需要加入血液、血清;结核分支杆菌的生长需要加入鸡蛋、马铃薯、甘油等。

(3) 选择培养基 根据特定目的,在培养基中加入某种化学物质以抑制某些细菌生长、促进另一类细菌的生长繁殖,以便从混杂多种细菌的样本中分离出所需细菌。如麦康凯培养基含胆酸盐,能抑制革兰氏阳性菌的生长,利于大肠杆菌和沙门氏菌的生长。

(4) 鉴别培养基 在培养基中加入特定作用底物及产生显色反应指示剂,用肉眼可以初步鉴别细菌。如各种糖发酵管、硫化氢管、伊红美蓝培养基等。

(5) 厌氧培养基 专供厌氧菌的培养而设计,常用的有庖肉培养基,是在肉浸液中加入煮过的肉渣,肉渣中含有不饱和脂肪酸、谷胱甘肽等还原性物质,能降低培养基中的氧化还原电势,并用凡士林或石蜡封口,隔绝空气,造成厌氧环境。也可将细菌接种在固体琼脂培养基上,然后在厌氧袋、厌氧箱、厌氧罐中培养。

2. 细菌在培养基中的生长现象 将细菌接种到培养基中,经37℃培养18~24h后可观察生长现象,个别生长缓慢的细菌需培养数天甚至数周后才能观察。

(1) 液体培养基中的生长现象 不同细菌在液体培养基中可出现:①混浊生长。多数细菌呈此现象,多属兼性厌氧菌,如葡萄球菌。②沉淀生长。少数呈链状生长的细菌或较粗的杆菌在液体培养基底部形成沉淀,培养液较清,如链球菌、乳杆菌。③菌膜生长。专性需氧菌可浮在液体表面生长,形成菌膜,如枯草杆菌。

(2) 半固体培养基中的生长现象 用接种针将细菌穿刺接种于半固体中,如细菌无动力(无鞭毛),则沿此穿刺线生长,而周围培养基清澈透明;如细菌有鞭毛能运动,可由穿刺线向四周扩散呈放射状或云雾状生长。