

动物疫病诊断与防治实践指导

王京仁

湖南文理学院动物科学教研室

二〇一〇年二月二十二日

主 编 王京仁

副主编 李淑红 夏维福

审稿人 夏维福

前言

《动物疫病诊断与防治实践指导》是湖南省教育厅教研教改《地方本科院校动物科学专业“一、三、三”实践教学体系的构建》项目的具体内容和研究成果之一。

在第一版的基础上，对全书的内容进行了适当调整，项目安排有所变动，字数也有所增加。全书共 12 个项目，约 2 万字。教材内容仍以动物疾病学基础知识和微生物免疫血清学技术为重点，同时兼顾部分新知识和新技术。使用本书进行实践时，可依据具体情况和学时组织安排。

全书定稿后，承湖南文理学院生命科学系夏维福教授审阅，更正和修改了许多内容，并给予有益的指导，谨此深表谢意。同时感谢湖南文理学院给予编写经费资助。

本书的不足之处，诚请师生和同行们指正，以便再版时修订。

王京仁

2010 年 2 月修订于湖南文理学院

动物疫病诊断与防治实践目的和要求

一、实践课的目的：

- 1、使学生加深对疾病学的基本概念和基本理论知识的理解和运用。
- 2、学习掌握动物疾病防治中的微生物学与免疫学的基本操作技术要求和各种措施，并在实际操作中多观察、多了解，尽可能的参与一些畜禽疾病的临床防治工作
- 3、培养学生从事科学实践的能力，即观察记录实践结果、整理分析实践资料、综合书写实践报告和论文的能力。
- 4、培养学生严谨求实的科学作风，独立分析和解决问题的能力，相互帮助和团结协作的精神。

二、实践课的要求：

- 1、严格遵守实践操作规程，树立“独立思考，认真操作”的观念。
- 2、实践前做好预习，明确实践目的、原理、主要方法步骤和注意事项，做到心中有数，提高实践的成功率。
- 3、在实践时，对指导所列的步骤依次进行，仔细观察并认真记录实践结果或绘图；
几人同做一项实践时，要注意分工协作、密切配合；
对示教的实践要仔细观察，并联系有关理论进行积极思考；
设计性实践以 4-8 人为单位，严格按照科研程序完成；
实践中注意科学合理地分配和运用时间。
- 4、实践完毕，应认真分析实践结果，探讨实践原理，得出可能的结论。若实践结果与理论不符合时，要加以分析讨论，以逐步提高自己的科学思维能力。实践课后，须按时按要求递交实践报告。
- 5、防止发生各种事故。

实践室规则

动物疾病学实践室是一个病原微生物高度集中的场所，其实践对象大都是病原微生物，有传染的危险。为了防止病原微生物感染自身、污染环境以及扩散传播，要求同学们进入实践室必须严格遵守以下规则：

一、进入实践室必须穿实践服，必要的实践指导、书籍，其它个人物品如书包、衣物等一律不得带入实践室。

二、实践室内禁止饮食、吸烟、用嘴湿润铅笔或标签、以手抚摸头面部等等行为。

三、每项实践，都要有无菌意识，既要防止临床标本及纯培养物被污染，更要防止临床标本或纯培养中的病原微生物感染人体或污染环境。

四、用过的手术器械、注射器、吸管、滴管、试管、玻片等带菌器材，应放在指定的地方或含消毒液的容器内，不得放在桌面上或水池内，亦不得将带菌液体倾入水槽。酒精灯不可互相点燃，以防发生意外。

五、不可擅自搬动示教、实践器材或室内设施。爱护公物，节约使用实践材料。如有损坏，应立即向指导教师报告，主动在破损物品登记本上登记，某些物品需按规定酌情赔偿。

六、实践完毕，登记仪器使用记录，清理桌面，把用过的物品放回原处（如显微镜、接种环、染色液、擦镜纸、香柏油、火柴等），需培养的物品按要求放入温箱。

七、离开实践室前，应脱下实践服，反折放入抽屉内，在消毒液中将手浸泡 5~10 分钟，并用自来水冲洗干净后，方可离室。

八、值日生负责整理清洁实践室（包括桌面、地面、实践设备等），然后关好水、电、门、窗，脱衣洗手后离室。

九、未经许可，不得将实践室内任何物品借出或带出室外。

实践室应急防护措施

一、发生意外事故的应急处理

1、皮肤破伤：包括皮肤的破损、针刺和切割伤，应尽可能挤出损伤处的血液，除尽异物，用肥皂和清水冲洗伤口或沾污的皮肤；如果粘膜破损，应用生理盐水(或清水)反复冲洗。伤口应用消毒液(如 70%酒精、0.2%次氯酸钠、0.2%~0.5%过氧乙酸、0.5%来苏尔等)浸泡或涂抹消毒，并包扎伤口。

2、烧伤：涂以獾油等烧伤治疗剂。

3、化学药品腐蚀伤：若为强酸，先用大量清水冲洗，再以 5%碳酸氢钠或 5%氢氧化铵溶液中和之；强碱腐蚀则先以大量清水冲洗后，再以 5%醋酸或 5%硼酸洗涤中和。

4、眼睛溅入液体：必须迅速用生理盐水连续冲洗至少 10 分钟，避免揉擦眼睛。

5、衣物污染：(1)尽快脱掉实践服以防止感染物污染皮肤并进一步扩散。洗手并更换实践服。(2)将已污染的实践服放入高压灭菌器。(3)清理发生污染的地方及放置实践服的地方。(4)如果个人衣物被污染，应立即将污染处浸入消毒剂，并更换干净的衣物或一次性衣物。

6、吸入病原菌菌液：应立即吐入容器内消毒，并用 1：1000 高锰酸钾溶液漱口；可根据菌种不同，服用抗菌药物予以预防。

7、菌液流洒桌面，应倾倒适量 84 消毒液或 0.1%新洁尔灭于污染面，让其浸泡半小时后抹去；若手上沾有活菌，亦应浸泡于上述消毒液 10 分钟后，再以肥皂及水洗刷。

8、被溅的地面用经消毒剂浸泡的吸水物质覆盖，消毒剂起作用 10~15min 后，用消毒剂冲洗清理该地方，并以可行的方法移走吸水性物质。

9、严防火灾：如发生火灾应沉着处理，切勿慌张。立即关闭电源，如系酒精、二甲苯、乙醚等起火，切忌用水，应迅速用沾水的布类和沙土覆盖扑火。

10、感染动物逃跑，应立即抓回，并对污染区进行处理。

11、意外事故均应登记记录在科室“意外事故记录本”上。

二、实践室预备的应急药品

碘酒、酒精、高锰酸钾、无菌生理盐水、灭菌纱布、灭菌棉签、绷带、胶布。84 消毒液、新洁尔灭、过氧乙酸、来苏尔等消毒液。肥皂、洗衣粉、清洁剂、毛巾、实验服。

目 录

序号	项目名称	学时	页码
	动物疫病诊断与防治实践目的和要求		1-3
	实践室规则		4-
	实践室应急防护措施		5-
实践一	临床检查的基本方法及一般检查		7-13
实践二	系统临床检查方法		14-15
实践三	临床常用诊疗技术操作		16-21
实践四	小动物临床检查（选开）		22-
实践五	心电图描记法及 X 光检查		23-49
实践六	超声诊断仪的操作		50-55
实践七	鸡传染性法氏囊病的琼脂扩散试验		56-
实践八	病毒血凝和血凝抑制试验		57-58
实践九	临床标本的细菌学检验		
实践十	Elas 快速检测疾病		
实践十一	疾病的 PCR 诊断技术（选开）		59-61
	常见动物疫病及动物产品安全监测方法		
			62-

实践一 临床检查的基本方法及一般检查

一、实践目的

1. 掌握检查动物的基本方法、各种方法的应用范围及其注意事项。
2. 了解临床检查的程序；掌握动物整体状态、被毛、皮肤、眼结膜、浅表淋巴结的检查方法和体温、脉搏数、呼吸数的测定方法
3. 结合临床病例认识有关症状，并了解其临床意义。

二、实践内容

1. 临床检查的基本方法
2. 全身状态的观察
3. 被毛和皮肤的检查
4. 眼结合膜的检查
5. 浅在淋巴结的检查
6. 体温、呼吸和脉搏数的测定

三、实践材料

马 1 匹、牛 1 头、羊 1 只，猪 1 头及临床病例若干例。

四、实践用品与用具

体温计 2 支，听诊器 30 支，叩诊锤、板 3 套，来苏尔水缸 2 个，秒表 2 只，穿刺针 2 支，注射器 2 支，马耳夹子，牛鼻钳子各 1 个。

五、实践方法

1. 临床检查的基本方法

1.1 问诊

1.1.1 内容

问诊就是以询问的方式，听取动物主人或饲养管理人员关于动物发病情况和经过的介绍。一般在进行体格检查前进行。问诊的主要内容包括：现病史、既往史、平时的饲养、管理及使役或利用情况等。

1.1.2 注意事项

问诊态度要各蔼，要取得饲养管理人员的很好配合；要采用启发式或提问的方式，在内容上既要有重点，又要全面搜集情况；对问诊所得到的材料不能简单地肯定或否定，应结

合现症检查的结果进行深入的分析，更不能单凭问诊而草率做出诊断。

1.2 视诊

1.2.1 检查方法

视诊分为肉眼视诊和器械视诊，但兽医临床检查通常是用肉眼直接视诊。

视诊的检查方法一般是先检视全群动物，判断其总的营养和发育状态、管理情况、发现患病的个体，然后再对个体进行视诊。

对个体动物进行视诊时，一般先不要靠近病畜，也不宜进行保定，应尽量使动物保持自然的姿态。检查者在离动物左前方或前上方适当距离（一般1~1.5米）开始，先观察其一般状态（如精神、体格发育、营养、姿势及行为等）；然后由前到后，从左到右，边走边看，观察动物头、颈、胸、腹、脊柱及四肢；当至正后方时，应注意其尾、肛门、会阴部，并对照观察两侧胸、腹部是否有异常，最后绕到前方或前上方。为观察运动过程及步态，可进行牵遛，以发现其运步的异常；最后再接近动物，进行局部检查。

1.2.2 内容

动物的体格大小，发育程度，营养状况，体质强弱，躯体结构，胸腹及肢体的匀称性等外貌状态；精神及体态、姿势与运动、行为；与外界相通的体腔；被毛、皮肤等体表病变及可视黏膜；某些生理活动异常，如呼吸动物、采食、咀嚼、吞咽、反刍、嗝气等消化活动及排粪、排尿动物等；粪便、尿液及其它病理产物的数量、性状与混合物等。

1.2.3 注意事项

视诊应在自然光下和宽敞的场所进行；对初来就诊的动物，应先让其休息、熟悉周围环境，待其呼吸、心跳等平静后再进行检查；视诊所得的资料，应结合现病检查结果进行综合分析，不要单纯依据视诊所见材料就做出诊断。

1.3 触诊

1.3.1 检查方法

触诊就是利用手指端、手掌或拳、手背及指甲对动物要检查的组织或器官进行触压和感觉，以判定病变的位置、大小、形状、硬度、温度和敏感性等。

按压触诊法 用手掌平放于被检部位，轻轻按压，感知其内容物的性状与敏感性。适用于检查胸、腹壁的敏感性及中、小动物的腹腔器官与内容物性状。

切入触诊法 以一个或几个半拢的手指，沿一定部位进行深入的切入或压入，以感知内部器官的性状。用于检查肝、脾的边缘等。

冲击触诊法 以拳或手掌在被检部位连续进行2~3次用力的冲击，以感知腹腔深部器官

的性状与腹膜腔的状态。

对动物的不同部位进行检查时，应采取不同的方式：

①检查体表的温度、湿度或感知某些器官的活动情况（如心搏动、脉搏、瘤胃蠕动等）时，应以手指、手掌或手背接触皮肤进行感知；

②检查局部与肿物的硬度，应以手指进行加压或揉捏，根据感觉及压后的现象去判断；

③以刺激为目的而判定动物的敏感性时，应在触诊的同时注意动物的反应及头部、肢体的动作；

④对内脏器官的深部触诊，须依被检动物的个体特点（如畜种、大小等）及器官的部位和病变情况的不同而选用压迫、插入、揉捏、滑动或冲击等手法进行；

⑤对中、小动物可通过腹壁深部触诊，对大动物还可通过直肠进行内部触诊；

⑥对某些管道（食管、瘘管等），可借助器械（探管、探针等）进行间接触诊或探诊。

1.3.2 内容

①检查动物的体表状态；

②感知某些器官、组织生理性或病理冲动（如心搏动、瘤胃蠕动、动脉脉搏等）；

③判定腹壁的紧张及敏感性；

④感知腹腔状态，胃、肠的内容物性状；

⑤对动物机体某一部位给予机械刺激，从而判断其感受力与敏感性。

1.3.3 注意事项

触诊时应注意安全，应先了解被检查动物的习性及有无恶癖，必要时应进行保定；触诊时一手放在动物适当部位（如肩上部、髻甲部、髻结节等）做支点，一手进行检查；应从前往后，自上而下地边抚摸边接近欲检部位，切忌直接突然接触患部，检查某部位的敏感性时，应从健区后病部，先远后近，先边缘后中心，先轻后重，并注意与对应部位或健区进行比较；必要时，可先遮住动物的眼睛，但注意不要使用能引起动物疼痛或妨碍动物表现其反应动作的保定法。

1.4 叩诊

1.4.1 检查方法

叩诊是对动物的某一部位进行叩击，根据所产生的音响的特性去判断被检查的器官、组织的物理状态的一种方法。

叩诊的方法按使用器械与来路分为直接叩诊法和间接叩诊法。

直接叩诊法 就是直接用手指或叩诊锤向动物体表进行叩诊。由于动物体表的软组织（皮

肤、皮下组织、肌肉)振动不良,不能很好地向深部传导,所以直接叩诊法应用不广,只是检查脊柱、鼻窦、喉囊时偶尔应用。

间接叩诊法 又分为指指叩诊法和锤板叩诊法。

指指叩诊法,以左手的中指代替叩诊板,使之紧紧地放在动物体表的检查部位上,再以弯曲的右手中指,在第二指关节处呈 90 度的屈曲,用该指端向做叩诊板的手指的第二指节上,垂直地以短而急地连续两次叩击。该叩诊法适用于中、小动物的诊察。

锤板叩诊法,以左手持叩诊板,将其紧贴于欲检查的部位上,以右手持叩诊锤,用腕关节做轴上下摆动,使之垂直的向叩诊板上连续叩击 3~4 次,以分辨其产生的音响。此法通常适用于大动物。

1.4.2 内容

①直接叩诊法适用于检查肠臌气时的鼓响音及弹性,反争兽瘤胃臌气时判定其含气量及紧张度,或诊察鼻窦、喉囊。

②间接叩诊法主要用于检查肺脏、心脏及胸腔的病变,也可用以检查肝、脾的大小和位置以及靠近腹壁的较大肠管的内容物性状。

③叩诊可做为一种刺激,判断其被叩击部位的敏感性,叩诊时注意叩诊音的变化外,还应注意锤下抵抗。

1.4.3 注意事项

叩打应该是短促、断续、快速而富有弹性,叩诊锤或手指在叩打后应很快的离开;叩诊板不应过于用力压迫,除做叩诊板用的手指外,其余不应该接触动物的体壁,以免妨碍振动;叩诊板须紧密地贴在动物体表,其间不得留有空隙。对被毛过长的动物,应将被毛分开,以使叩诊板与体表皮很好的接触。当检查胸部时,叩诊板应顺肋间放置,以免横放在两条肋骨上而与胸壁之间产生空隙;当确定含气器官与周围无气器官的分界时,可由含气器官的部位逐渐转向无气器官部位,反之,再从无气器官部位开始转向含气器官部位,如此反复,最后依叩诊音转变的部位而确定其边界。

1.5 听诊

1.5.1 检查方法

听诊就是借助听诊器直接用耳来听取动物体内器官运动时产生的声音的一种检查方法。

直接听诊法 一般先在动物体表上放一听诊布做垫,然后将耳直接贴于体表的相应部位进行听诊。检查者可根据检查的目的采取适宜的姿势。

间接听诊法 即器械听诊法，用听诊器在被检器官的体表部位进行听诊。由于通过听诊器听到的音响有所增强，而且使用方便，所以比直接听诊法多用。听诊器由耳端件、弹簧片、胶管、金属连接部分及胸端件。胸端件可分为钟型和隔膜型两种，前者适用于听取低调声音，如吹风样的心脏杂音和呼吸音。隔膜型适用于听取高音调声音，如二尖瓣狭窄时的舒张期杂音。

1.5.2 内容

①听取心脏及大血管的声音，特别是判定心音的频率、强度、性质、节律、心杂音、心包的摩擦音以及击水音等；

②听取喉、气管以及肺泡呼吸音、附加的杂音与胸膜的病理性声音；

③听取胃肠的蠕动音；

④听取动物的呻吟、喘息、咳嗽、喷嚏、嗝气、咀嚼的声音等。

1.5.3 注意事项

在安静的室内进行；防止听诊器胶管与其它物体摩擦产生杂音；听诊器的耳件要适宜地插入检查者的外耳道，耳件的凹面朝向检查者，不能松也不能太紧；

听头要紧密在放在动物体表的检查部位，避免被毛的摩擦，必要时可将其打湿，但也不应过于用力压迫；听诊胆小易惊或性情暴烈动物时，要由远而近地逐渐地将听诊器集音头移至听诊区，以免引起动物反抗。听诊过程中仍须注意防止动物踢咬。

1.6 嗅诊

嗅诊主要应用于嗅闻动物呼出气体、口腔的臭味以及动物所分泌和排泄的带有特殊臭味的分泌物、排泄物以及其他病理产物。

2. 全身状态的观察

接触动物进行检查的第一步，就是观察动物的全身状态。应着重判定其体格、发育、营养程度、精神状态、姿势、体态、运动与行为的变化和异常表现。全身状态的检查主要利用视诊方法进行。

2.1 体格发育

2.1.1 检查方法

主要根据骨骼的发育程度及躯体的大小而定，主要注意病畜的头颈，躯干及四肢各部位的发育情况及形态，比例关系。必要时可采用测量器械测定体长、体高、胸围等体尺。

2.1.2 临床应用

健康的动物体格发育良好，其体躯高大，结构匀称，肌肉结实。

动物躯体矮小，结构不匀称，提示营养不良或慢性消耗性疾病（慢性传染病、寄生虫病或长期的消化紊乱等）。如幼龄动物患佝偻病时，则表现为体格矮小，并且躯体结构呈明显改变（头大颈短、关节粗大、肢体弯曲或脊柱凹凸等特征性状）。动物躯体结构改变，各部比例不匀称，如牛的左肋胀满是瘤胃膨胀的特征；马的右肋隆起可提示肠胀气；左右胸廓不对称，宜考虑单侧气胸或胸膜与肺的严重疾病；动物头部、面部歪斜是面神经麻痹的特征。

2.2 营养状态

2.2.1 检查方法

主要根据动物肌肉的丰满度，皮下脂肪及被毛情况而判定。确切测定应称量体重。

2.2.2 临床应用

健康动物营养良好，肌肉丰满，躯体圆满而骨骼棱角不突出，被毛光滑。

在病理情况下，动物表现为消瘦，被毛蓬乱、无光、皮肤缺乏弹性，骨骼表露明显。短期内急剧消瘦，应考虑为急性热性病的可能或由于急性胃肠炎频繁下痢而大量失水的结果；病程如果发展缓慢，则多提示为慢性消耗性疾病，如慢性传染病、寄生虫病、长期的消化紊乱或代谢障碍性疾病。

2.3 精神状态

2.3.1 检查方法

主要观察动物的神态，根据其耳的活动，眼的表情及对外界刺激的反应情况和举动而判定。

2.3.2 临床应用

健康动物表现为头耳灵活，眼睛明亮，对外界刺激反应灵敏，毛、羽平顺并富有光泽，幼畜表现为活泼好动。

动物过度兴奋时，轻者左顾右盼、惊恐不安、竖耳刨地，重者则表现为不顾障碍地一直往前冲或后退不止，啃咬物体，甚至攻击人和其他动物，多提示为中枢神经系统的重度疾病。动物精神抑制时，轻则表现沉郁，重则嗜睡，甚至为昏迷状态，意识不清，卧地不起，呼唤不应，对刺激几乎无反应甚至仅有部分反射功能，或有时伴有肌肉痉挛与麻痹，或有时四肢呈游泳样动作，可见脑及脑膜疾病、中毒病或某些代谢性疾病的后期。

2.4 姿势与体态

2.4.1 检查方法

观察动物在相对静止间的空间位置及其姿态特征。

2.4.2 临床应用

健康动物的姿势自然，动作灵活协调。

在病理状态下，动物所表现的反常姿态常由中枢神经系统疾病及其调节机能失常，骨骼、肌肉或内脏器官的痛疼及外面神经的麻痹等原因而引起。当动物站立时呈典型的木马样姿态（头颈平伸、肢体僵硬、四肢关节不能屈曲、尾根挺起、鼻孔张开、牙关紧闭），是破伤风的特征。当牛在站立时经常保持前躯高位、后躯低位的姿势时，常为牛的前胃及心包的创伤性病变。乳牛呈曲颈侧卧的同时伴有嗜睡或半昏迷状，常为生产瘫痪的特征。猪的两后肢瘫痪呈犬坐样姿势，常为传染性麻痹。

2.5 运动与行为

2.5.1 检查方法

对动物的运动和行为进行检查，主要采取牵溜运动的方法。检查者与动物保持3~5米的距离，有顺序地从前方、侧方、后方进行比较观察。

2.5.2 临床应用

健康动物在运动中动作协调，反应灵敏。

在病理情况下，动物运动与行为的异常可表现为以下几种：共济失调、盲目运动、跛行、痉挛、麻痹等。

3. 被毛和皮肤的检查

被毛和皮肤表被状态的检查，主要应注意被毛，皮肤及皮下组织的变化及有无表在外科病变。

3.1 被毛及羽毛的检查

检查时应注意观察羽毛和被毛的清洁、光泽及脱落情况。健康动物的被毛，平顺而富有光泽，生长牢固；健康家禽的羽毛整齐，平顺而光滑。家畜一般每年春末换毛，而家禽多于每年秋末换羽。

检查被毛时，还要注意被毛的污染情况。

3.2 皮肤的检查

主要通过视诊和触诊进行检查，包括皮肤的颜色、温度、湿度、弹性、水泡、脓疱及溃疡等。

3.2.1 皮肤颜色的检查 对于白色皮肤的动物，颜色变化易辨识；对于有色素皮肤的动物，则应参照可视粘膜的颜色变化。白色皮肤的动物，其皮色的改变可表现为苍白、黄染、发绀及

潮红与出血斑点。

3.2.2 皮肤温度的检查 检查皮温，用手背触诊为宜。对马可触耳根、颈部及四肢；牛、羊可检查鼻镜（正常时发凉）、角根（正常时有温感）、胸侧及四肢；猪可检查耳及鼻端。

3.2.3 皮肤湿度的检查 检查皮肤的湿度，可采用视诊和触诊。少量的汗多表现在耳根、鼻端、肘后、鼠蹊部、犬的脚垫部触摸有湿润感；多汗时，可见这些部位的被毛濡湿并呈卷束状；大量出汗时则可见汗液滴流，甚至汗如雨下。

牛的鼻镜正常时湿润并附有少许水珠，鼻镜干燥可见于发热病及重度消化障碍。

3.2.4 皮肤弹性的检查 马在颈侧，牛在最后肋骨后部，小动物可在背部。检查时将该处的皮肤拉起形成皱襞后再放开，观察其恢复原态的情况。皮肤弹性良好的动物，拉起放开后，皱褶很快恢复、平展。如恢复得很慢，是皮肤弹性降低的标志。

3.2.5 水泡、脓疱及创伤与溃疡的检查 病变多发于体表被毛稀疏部位，检查时应特别注意眼、唇周围、蹄部、趾间等处。

3.3 皮下组织的检查

用视诊、触诊方法发现皮下或体表有肿胀时，应注意肿胀部位的大小、形态，并触诊判定其内容物的性状、硬度、温度、移动性及敏感性等。

常见的肿胀有浮肿、气肿、脓肿、血肿、淋巴外渗及疝等。

4. 眼结合膜的检查

首先观察眼睑有无肿胀、外伤及眼分泌物的数量、性质。然后再打开眼睑进行检查。检查马的眼结合膜时，通常检查者站立于马头一侧，一手持缰绳，另一手食指第一指节置于上眼睑中央的边缘处，拇指放在下眼睑，其余三指屈曲并放于眼眶上面做为支点。食指向眼窝略加压力，拇指则同时拨开下眼睑，即可使结膜露出而检查。牛检查时主要观察其巩膜的颜色及其血管情况，检查时可一手握牛角，另一手握住其鼻中膈并用力扭转其头部，即可使巩膜露出，也可用两手握牛角并向一侧扭转，使牛头偏向侧方；检查牛结膜时，可用大拇指将下眼睑拨开观察。

健康马、骡的眼结合膜呈淡红色；牛的颜色较马稍淡，但水牛则较深；猪眼结合膜呈粉红色、犬、猫的眼结膜也呈淡红色，猫的比狗要深些。

结合膜颜色的变化可表现为：潮红（可呈现单眼潮红、双眼潮红、弥漫性潮红及树枝状充血），苍白，黄染、发绀及出血（出血点或出血斑）。

检查眼结合膜时最好在自然光线下进行，因为红光下对黄色不易识别，检查时动作要快，且不宜反复进行，以免引起充血。应对两侧眼结合膜进行对照检查。

5. 浅在淋巴结的检查

5.1 检查方法

检查浅表淋巴结时主要进行触诊。检查时应注意其大小、形状、硬度、敏感性及在皮下的可移动性。

牛常检查颌下，肩前、膝襞、乳房上淋巴结等。

猪可检查腹股沟淋巴结。

犬、猫可检查颌下淋巴结、耳下、肩前、腹股沟淋巴结等。

5.2 病理变化

急性肿胀：表现淋巴结体积增大，并有热痛反应，常较硬，化脓后可有波动感。

慢性肿胀：多无热、痛反应，较坚硬，表面不平，且不易向周围移动。

6. 体温、呼吸和脉搏数的测定

6.1 体温的测定

6.1.1 检查方法

测直肠温度。首先甩动体温计使水银柱降至 35℃ 以下；用酒精棉球擦拭消毒并涂以润滑剂后再行使用。被检动物应适当地保定。测温时，检查者站在动物的左后方，以左手提起其尾根部并稍推向对侧，右手持体温计经肛门慢慢捻转插入直肠中；再将带线绳的夹子夹于尾毛上，经 3~5min 后取出，用酒精棉球擦除粪便或粘附物后读取度数。用后再甩下水银柱并放入消毒瓶内备用。

6.1.2 注意事项

体温计在用前应统一进行检查、验定，以防有过大的误差；对门诊病畜，应使其适当休息并安静后再测；对病畜应每日定时(午前与午后各一次)进行测温，并逐日绘成体温曲线表；测温时要注意人畜安全；体温计的玻璃棒插入的深度要适宜(大动物可插入其全长的 2/3)；注意避免产生误差，用前须甩下体温计的水银柱；测温的时间要适当(按体温计的规格要求)；勿将体温计插入宿粪中；对肛门松弛的母畜，可测阴道温度，但是，通常阴道温度较直肠温稍低(0.2~0.5℃)。6.2 脉搏数的测定 测定每一分钟脉搏的次数，以次/分表示。

马属动物可检颌外动脉。检查者站在马头一侧；一手握住笼头，另一手拇指置于下颌骨外侧，食指、中指伸入下颌枝内侧，在下颌枝的血管切迹处，前后滑动，发现动脉管后，用手指轻压即可感知。

牛通常检查尾动脉，检查者站在牛的正后方。左手抬起牛尾，右手拇指放在尾根部的背面，用食指、中指在距尾根 10cm 左右处尾的腹面检查。

猪和羊可在后肢股内侧的股动脉处检查。

检查脉搏时，应待动物安静后再测定。一般应检测一分钟；当脉搏过弱而不感于手时，

可用心跳次数代替。

6.3 呼吸次数的测定 测定每分钟的呼吸次数，以次/分表示。

一般可根据胸腹部起伏动作而测定，检查者站在动物的侧方，注意观察其腹肋部的起伏，一起一伏为一次呼吸。在寒冷季节也可观察呼出气流来测定。鸡的呼吸灵敏可观察肛门下部的羽毛起伏动作来测定。

测定呼吸数时，应在动物休息、安静时检测。一般应检测一分钟。观察动物鼻翼的活动或将手放在鼻前感知气流的测定方法不够准确，应注意。必要时可用听诊肺部呼吸音的次数来代替。

表 2-1 各种动物正常体温(°C)、脉搏及呼吸次数(次/分)

种属	体温	脉搏数	呼吸数
马	37.5-38.5	30-45	8-16
牛	37.5-39.5	40-80	10-25
水牛	36.5-38.5	40-60	10-20
羊	38.0-39.5	60-80	10-25
猪	38.0-39.5	60-80	10-20
鸡 (心跳)	40.0-42.0	120-200	15-30

六、作业与思考

1. 问诊、视诊、触诊、叩诊、听诊的方法、应用及注意事项。
2. 临床检查的程序如何？
3. 体温、脉搏数、呼吸数的检查方法，正常指标，生理改变，病理性变化及其诊断意义如何？

附录：

参考文献：

(夏维福 王京仁)

实践二 系统临床检查方法

一、实践目的

1. 掌握口腔、咽部、食道、腹部和胃肠的检查方法。
2. 掌握反刍动物前胃及真胃的检查部位、方法及肠蠕动音的听诊。
3. 观察反刍、暖气的活动和变化
4. 掌握牛直肠内部触诊的操作方法、检查顺序、正常状态及注意事项。
5. 掌握胃导管探诊的操作方法及注意事项。
6. 掌握胃导管插入食道判断的正确方法。
7. 掌握呼吸运动(呼吸次数、节律、类型及呼吸困难)、呼出气体、鼻液、咳嗽的检查方法。
8. 掌握上呼吸道检查法及胸肺的叩、听诊检查法，熟悉其正常状态。
10. 结合典型病例认识主要症状并理解其诊断意义。
11. 练习心脏的临床检查法 要求初步掌握心脏的视、触、叩、听诊的部位、方法及正常状态，区别第一与第二心音。
12. 练习动物脉搏的触诊 要求了解不同动物脉搏触诊的部位、方法及正常状态。
13. 检查临床典型病例或听取异常心音录音的播放。
14. 了解动脉压和中心静脉压测定仪器的使用方法、正常值和注意事项。
15. 掌握各泌尿器官的检查部位、方法及正常状况、病理状况与临床意义
16. 掌握公畜、母畜的外生殖器官的检查项目、方法及正常状况、病理状况与临床意义
17. 熟练乳腺的检查，以及对乳汁病理变化的准确判断。
18. 了解头颈和脊柱的检查方法及病理特征
19. 重点掌握运动技能的检查，病理特征及诊断意义
20. 了解及掌握一般感觉和特殊感觉的检查和中枢性麻痹与外周性麻痹的区别

二、实践内容

1. 消化系统临床检查方法
2. 呼吸系统的临床检查方法
3. 心血管系统的临床检查方法
4. 泌尿、生殖系统的临床检查方法
5. 神经系统的临床检查方法

三、实践材料

牛 3 头，羊 4 只，猪 4 头，犬 3 头；患呼吸器官疾病的典型病例；

四、实践用品与用具

单手开口器、重型开口器、猪的开口器、胃管、听诊器、叩诊器、保定用具(耳夹子、鼻捻子及绳)、润滑剂(液体石蜡或其它油类)、灌肠器、乳胶手套，人造革围裙及直肠检查专用服等；额带反射镜、手电筒、小动物开口器和内窥镜、显微镜；新洁尔灭，灭菌生理盐水；检验皿；乳汁、化学检验的试剂；

五、实践方法

1. 口腔、咽及食道的检查
- 1.1 口腔的检查

1.1.1 适用症状

当发现动物消化功能障碍、咀嚼、吞咽障碍、流涎时，必须重视口腔的检查。口腔检查主要注意流涎，气味，口唇粘膜的温度、湿度、颜色及完整性、舌和牙齿的变化。

1.1.2 检查方法

口腔检查时，首先观察口腔外部特征，然后打开口腔，检查口腔气味、温度、湿度、黏膜以及舌头。主要是用视、触和嗅诊等方法进行。动物的开口法，可根据临床的需要，采用徒手开口法或借助一些特制的开口器械进行。下面介绍几种家畜的开口法。

牛的徒手开口法 检查者站在牛头侧方，可先用手轻轻拍打牛的眼睛，在牛闭眼的瞬间，以一手的拇指和食指从两侧鼻孔同时伸入并捏住鼻中隔(或握住鼻环)向上提举，再用另一手伸入口中握住舌体并拉出，口即张开(图 3-1)。

羊的徒手开口法 是用一手拇指与中指由颊部捏握上颌，另一手拇指及中指由左、右口角处握住下颌，同时用力上下拉即可开口。

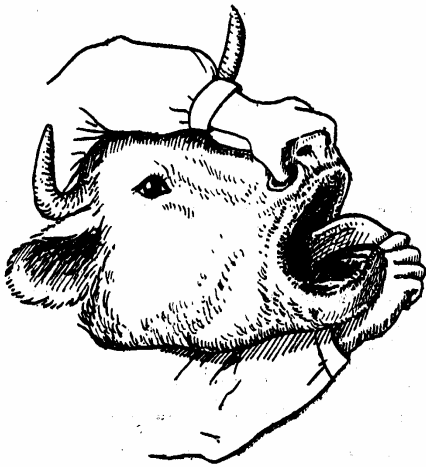


图 3-1 牛的徒手开口法

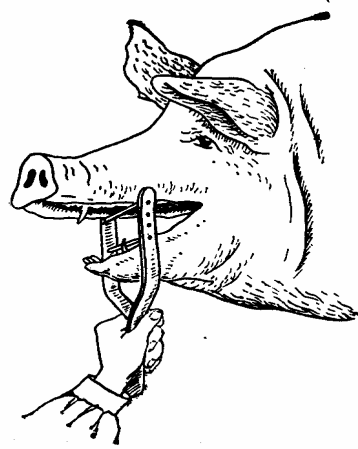


图 3-2 猪的开口法

猪的开口 须使用特制的开口器(图 3-2)。

犬、猫的开口法 性情温驯的狗，令助手握紧前肢，检查者右手拇指置于上唇左侧，其余四指置于上唇右侧，在握紧上唇的同时，用力将唇部皮肤向下内方挤压；用左手拇指与其余四指分别置于下唇的左、右侧，用力向内上方挤压唇部皮肤。左、右手用力将上下腭向相反方向拉开即可(图 5-5)必要时用金属开口器打开口腔。猫的开口法：助手握紧前肢，检查者两手将上、下腭分开即可。

1.1.3 注意事项

在徒手开口时，应防止咬伤手指；拉出舌头时不要用力过大，以免造成系带的损伤；使用开口器时，应注意动物的头部保定；对软内症的动物应防止开口过大，造成颌骨骨折。

1.2 咽部的检查

1.2.1 适用症状

当动物表现有吞咽障碍并随之有饲料或饮水从鼻孔返流时，应做咽部检查。主要用视诊和触诊的方法。

1.2.2 检查方法

咽的视诊 当发现有局部肿胀、吞咽动作障碍及头颈伸直忌避活动等姿势变化时，多为咽部炎症的表现。

咽的触诊 咽部检查用两手分别沿颈部食管沟自上向下加压滑动检查，感知是否肿胀、异物、内容物硬度、有无波动感及敏感反应。

1.3 食道的检查

1.3.1 适用症状

当发现动物表现在吞咽障碍及怀疑食管梗塞时，应进行食管检查。

1.3.2 检查方法

食管触诊 触诊食管时，检查者应站在动物的左颈侧，面向动物后方，左手放在右颈沟处固定颈部，用右手指端沿左侧颈沟直至胸腔入口，轻轻按压，以感知食管状态。加压滑动检查，感知是否肿胀、异物、内容物硬度、有无波动感及敏感反应。

食管视诊 当食管憩室、扩张时，在动物采食过程中，可见颈部食管出现境界明显的局限性膨隆，此时，如将食物向头部方向按摩、推送，可引起暖气或呕吐动作。

食管探诊 食管探诊，主要用于提示有食道阻塞性疾病、胃扩张的可疑或为抽取胃内容物时用，对食管狭窄、食管憩室及食管受压等病变也具有诊断意义，食管和胃的探诊兼有治疗作用。

一般根据动物的种类及大小而选定不同口径及相应长度的胶管(或塑料管)，大动物用长为2.0~2.5m，内径10~20mm，管壁厚3~4mm，其软硬度应适宜。用前探管应用消毒液浸泡，并涂润滑油类。动物要保定，尤其要保定好头部。如须经口探诊时，应加装开口器，大动物及羊一般可经鼻、咽探诊。

操作时，检查者站在动物头部一侧，一手把握住鼻翼，另一手持探管，自鼻道(或经口)徐徐送入，待探管前端达到咽腔时(大动物30~40cm深度)可感觉有抵抗，此时可稍停推进并加以轻微的前后抽动，待动物发生吞咽动作时，应趁机送下。如动物不吞咽，可由助手捏压咽部以引起其吞咽动作。

探管通过咽后，应立即判定是否正确的插入食管内。插入食管内的标志是，用胶皮球向探管内打气时，不但能顺利打入，而且在左侧颈沟可见有气流通过的波动，同时压扁的胶皮球不会鼓起来。插入气管的标志是，用胶皮球向探管内打气时，在颈沟部看不到气流波动，被压扁的胶皮球可迅速鼓起来。如胃管在咽部转折时，向探管打气困难，也看不到颈沟部的波动。



图 3-3 马的探管插入法

此外，探管在食管内向下推进时可感到有抵抗和阻力。但如在气管内时，可引起咳嗽并随呼气阶段有呼出的气流，也可作为判定探管是否在食管内的标志。

探管误插入气管内时，应取出重插。对于从鼻孔插入探管时，探管不宜在鼻腔内多次扭转，以免引起粘膜破损，出血(图3-3)。

2. 腹部检查

2.1 腹部的视诊

2.1.1 适用症状及内容

腹部的视诊，除观察被毛、皮肤及皮下组织的表在病病外，应着重判断腹围的大小及外形轮廓的改变。

2.1.2 检查方法

腹围视诊，检查者站立于动物的正前或正后方，主要观察腹部轮廓、外形、容积及 肋部的充满程度，应做左右侧对照比较，主要判定其膨大或缩小的变化。

2.2 腹部的触诊

2.2.1 适用症状及内容

触诊时，腹壁敏感提示腹膜炎症；腹壁紧张性增高，可见于破伤风；冲击触诊，有击水音或感有回击波，见于腹腔积液。

2.2.2 检查方法

大动物触诊时，检查者位于腹侧，一手放在动物背部，以另一手的手掌平放于腹侧壁或下侧方，用腕力作间断冲击动作，或以手指垂直向腹壁作冲击式触诊，以感知腹肌的紧张度、腹腔内容物的性状并观察动物的反应。

中小动物触诊时，检查者站在动物后方，两手同时自两侧肋弓后开始，加压触摸的同时逐渐向上后方滑动进行检查，或使动物侧卧，然后用拼拢、屈曲的手指，进行深部触摸。

3. 胃的检查

3.1 反刍家畜胃的触诊、叩诊和听诊

3.1.1 瘤胃

触诊：检查者站在动物的左腹侧，左手放于动物背部，检手(右手)可握拳、屈曲手指或以手掌放于左肱部，先用力反复触压瘤胃，以感知内容物性状。正常时，似面团样硬度，轻压后可留压痕。随胃壁蠕动可将检手抬起，以感知其蠕动力量并可计算次数。正常时为每2分钟2~5次。

叩诊：用手指或叩诊器在左侧 肱部进行直接叩诊，以判定其内容物的性状。正常时瘤胃上部为鼓音，由饥饿窝向下逐渐变为浊音。

听诊：多用听诊器进行间接听诊，以判定瘤胃蠕动音的次数、强度、性质及持续时间。

正常时，瘤胃随每次蠕动而出现逐渐增强又逐渐减弱的沙沙声。似吹风样或远雷声。

3.1.2 网胃

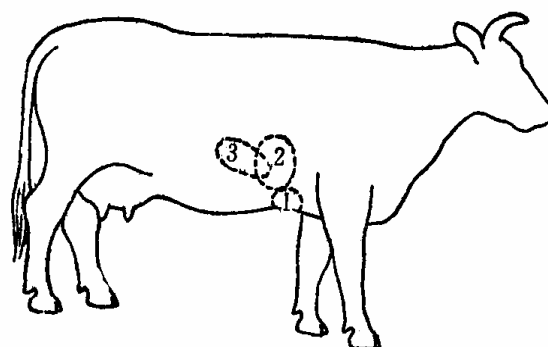
位于腹腔的左前下方，相当于6~7肋骨间，前缘紧接膈肌与心脏相邻，其后部下侧位于剑状软骨之上(图3-4)。

检查时，主要采用触诊和叩诊方法判断其敏感度。常用方法有：

① 拳头顶压：检查者面向动物蹲在左胸侧，屈曲右膝于动物腹下，将右肘支在右膝上，右手握拳并

抵住剑状软骨突起部，然后用力抬腿并用拳顶压网胃区，以观察动物反应。健康动物无异常表现。

② 凹腰反射：检查者用手抓住髻甲



部的皮肤往上紧捏，正常只会出现凹腰反射，无敏感反应。

③叩诊：于左侧心区后方的网胃区内，进行直接强叩诊或用拳轻击。以观察动物反应。

④压迫法：由二人分别站在家畜胸部两侧，各伸一手于剑突下相互握紧，各将其另一手放于家畜的髻甲部；二人同时用力上抬

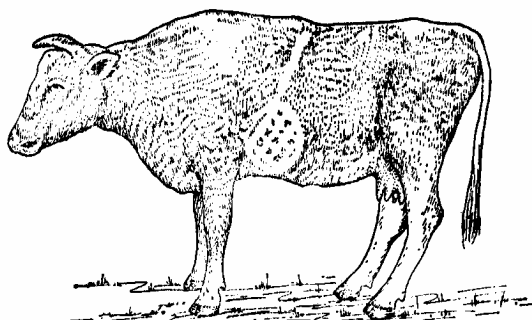


图3-5 牛创伤性网胃炎时的敏感区

紧握的手，并用放在髻甲部的手紧握其皮肤，观察家畜反应。或先用一木棒横放于家畜的剑突下，由二人分别自两侧同时用力上抬，迅速下放并逐渐后移压迫网胃区，同时观察家畜的反应。

⑤走下坡路：也可使家畜行走上、下坡或作急转弯等运动，观察其反应。正常家畜，在进行上述检查试验时，家畜无明显反应，相反如表现不安、痛苦、呻吟或抗拒并企图卧下时，是网胃的疼痛敏感的表现，常为创伤性网胃炎的特征（图 3-5）。

3.1.3 瓣胃

瓣胃检查在右侧 7~10 肋间，肩关节水平线上下 3cm 范围内进行。

触诊：在右侧瓣胃区内进行强力触诊或以拳轻击，以观察家畜有无疼痛性反应。对瘦牛可使其左侧卧，于右肋弓下以手伸入进行冲击。

听诊：在瓣胃区听诊其蠕动音。正常时呈断续细小的捻发音，采食后较明显。主要判定蠕动音是减弱还是消失。

3.1.4 真胃（皱胃）

位于右腹部第 9~11 肋间的肋骨弓区。

触诊：沿肋弓下进行深部触诊。由于腹壁紧张而厚，常不易得到准确结果。因此，应尽可能将手指插入肋骨弓下方深处，向前下方行强压迫。在犊牛可使其侧卧进行深部触诊。主要判定是否有疼痛反应。

听诊：在真胃区内，可听到类似肠音，呈流水声或含漱音的蠕动音。主要判定其强弱和有无蠕动音的变化。

3.2 反刍、暖气活动的观察

反刍活动的观察、主要判定反刍的有无、开始出现反刍的时间、每昼夜反刍的次数，每次反刍的持续时间及食团再咀嚼的力量等变化。

正常时，每昼夜进行 4~10 次，每次反刍持续时间为 20~40min，每个返回到口腔中的食团再咀嚼约 30~50 次。

暖气：是反刍动物的一种生理现象。正常动物每小时内可吐气 20~30 次。

当暖气时，可在左侧颈部沿食管沟看到由颈根部向上的气体移动波，同时可听到暖气时的特有音响。

观察暖气活动时，主要判断其暖出的次数多少及是否完全停止。

3.3 犬的胃触诊

犬的腹壁薄，易用触诊方法检查。通常用双手拇指以腰部做支点，其余四指伸直置于两侧腹壁，缓慢用力感觉腹壁及胃肠的状态。也可将两手置于两侧肋骨弓的后方，逐渐后上方移动，让内脏器官滑过指端，以行触诊。

4. 肠管的检查

4.1 反刍家畜肠管检查

多采用触诊和听诊。健康牛只，在整个右腹侧，可听到短而稀少的肠蠕动音。触诊时有软而不实之感。若肠音频繁似流水状，见天各型肠炎及腹泻。肠音微弱，可见于一切热性病及消化道功能障碍。触诊时，若有充实感，多见肠便秘。

4.2 单胃家畜肠管检查

猪的小肠位于腹腔右侧及左侧的下部，结肠呈圆锥状位于腹腔左侧，盲肠大部分在右侧。当过食或饲喂多汁饲料时，易发生臌气，视诊可发现右腹部膨大，病畜呈犬坐姿势，呼吸急促、呻吟，两前肢频频交换负重。腹部触诊可感知肠内容物性状，当结肠套或肠便秘时，可感知坚硬的粪串或呈块、盘状，同时并伴有疼痛反应。听诊肠音高朗、边绵，可见于各类型肠炎及伴发肠炎的传染病。肠音低沉、微弱或消失，见于肠便秘。

犬在内盆腔前口摸到香肠粗细的粪结，是大肠秘结的表现。肠套叠时，可以摸到坚实而有弹性的肠管。肠蠕动音听诊部位在左右两侧肋部。健康犬肠音如捻发音。肠音增强见于消化不良、胃肠炎的初期。肠音减弱或消失见于肠便秘、阻塞及重剧胃肠炎等。

1. 胃导管的探诊

胃导管的探诊，不仅是临床上一种有效的诊断方法，也常是一种治疗手段。根据深入的长度和动物的反应，可确定食管梗塞、狭窄、憩室及炎症的发生部位，并可提示胃扩张的可疑；根据需要可借抽取胃内容物进行实验室检查；食管及胃的探诊可兼有治疗的作用，可将探管放置一定时间以排出内容物及气体。

1.1 准备工作

1.1.1 动物要保定，尤其要保定好头部。如须经口探诊时，应加装开口器，大动物及羊一般可经鼻、咽探诊。

1.1.2 根据动物的种类及大小而选定不同口径及相应长度的胶管(或塑料管)，大动物用长为2.0~2.5m，内径10~20mm，管壁厚3~4mm，其软硬度应适宜。

1.1.3 用前探管应用消毒液浸泡，并涂润滑油类。

1.2 操作方法

检查者站在动物头部一侧，一手把握住鼻翼，另一手持探管，自鼻道(或经口)徐徐送入，待探管前端达到咽腔时(大动物30~40cm深度)可感觉有抵抗，此时可稍停推进并加以轻微的前后抽动，待动物发生吞咽动作时，应趁机送下。如动物不吞咽，可由助手捏压咽部以引起其吞咽动作。

探管通过咽后，应立即判定是否正确的插入食管内。插入食管内的标志是，用胶皮球向探管内打气时，不但能顺利打入，而且在左侧颈沟可见有气流通过的波动，同时压扁的胶皮球不会鼓起来。插入气管的标志是，用胶皮球向探管内打气时，在颈沟部看不到气流波动，被压扁的胶皮球可迅速鼓起来。如胃管在咽部转折时，向探管打气困难，也看不到颈沟部的波动。此外，探管在食管内向下推进时可感到有抵抗和阻力。但如在气管内时，可引起咳嗽并随呼气阶段有呼出的气流，也可作为判定探管是否在食管内的标志。探管误插入气管内时，应取出重插，探管不宜在鼻腔内多次扭转，以免引起粘膜破损，出血。

1.3 胃导管插入食道的判定方法

胃导管探诊时，必须准确判断是否插入食道，否则会造成异物性肺炎，甚至窒息死亡。因此必须谨慎操作，在进行下一步操作时，应采用各种方法综合判定导管是否插入食道内。判定方法见表2-1

表2-1 胃导管插入正误判定

鉴别方法	插入食道内	误入气管内
手感和观察反应	胃管前端到达咽部时稍有抵抗感，胃管进入食道，推送胃管稍有阻力感，发涩	推送胃管无阻力，有时咳嗽，骚动不安
来回抽动胃管	胃管前端在食管沟呈的明显的波浪式蠕动	无波动
向胃管内充气反应	随气流进入，颈沟部见明显波动	无波动感
接压扁的橡皮球	橡皮球不再鼓起(反刍兽除外)	压扁的橡皮球迅速鼓起
将胃管外端放到耳边听	听到不规则的“咕噜”声或水泡声，无气流部击耳边	随呼吸动物作出现有节奏的呼出气流

将胃管外端浸入水中	无气泡或出现与呼吸无关的气	随呼吸动作出现规律性水泡
触摸颈沟部	颈沟区有一硬的管索状物，抽动胃管更明显的酸臭气	无
鼻嗅胃管外端气味	有酸臭气	无
外接注射器回抽（小动物）	抽不动，或胃管变扁，松手后注射器内芯回缩	轻松抽动，有大量气体进入注射器

1.4 注意事项

- 1.4.1 胃管探诊前应根据动物的种类和大小选择相应的开口器、口径及长度和软硬适宜的胃管；
- 1.4.2 开口器(尤其横木开口器)应压住动物舌部，以免舌的活动将胃管推出或咬断；
- 1.4.3 胃管及其他用具使用前应以温水清洗干净，将胃管前端涂以润滑剂，然后盘成数圈，涂油端向前上方，另端向前下方备用；
- 1.4.4 插入或抽动胃管时要小心、缓慢，不宜粗暴；
- 1.4.5 当胃管进入咽部或上部食道时，有时会发生呕吐，此时应放低动物头部，以防呕吐物误入气管中；
- 1.4.6 经鼻插入胃管，有时会引起鼻出血，少量出血时，可将动物头部适当高抬或吊起，冷敷额鼻部，并不断淋浇冷水，出血过多时，可采用 1%鞣酸棉球塞于鼻腔中，或皮下注射 0.1% 盐酸肾上腺素 5ml，必要时可注射全身止血药。

2. 直肠检查法

直肠检查除用于妊娠诊断外，对于肠阻塞、肠绞窄、肠套叠及真胃变位与真胃扭转等疾病的诊断都有一定的意义。此外，对膀胱、肾脏及尿路检查也很重要。

2.1 家畜准备

- 2.1.1 保定以六柱栏较为方便，左右后肢应分别以足夹套固定于栏柱下端，以防后踢；为防止卧下及跳跃，要加腹带及压绳；尾部向上或向一侧吊起。如在野外，可借助在车辕内(使病马倒向，即臀部向外)保定；根据情况和需要，也可采取横卧保定。牛的保定可钳住鼻中隔，或用绳系住两后肢。
- 2.1.2 对腹围膨大病畜应先行盲肠穿刺或瘤胃穿刺术排气，否则腹压过高，不宜检查，尤其是采取横卧保定时，更须注意防止造成窒息的危险。
- 2.1.3 对心脏衰弱的病畜，可先给予强心剂；对腹疼剧烈的病马应先行镇静(可静脉注射 5% 水合氯醛酒精溶液 100~300ml 或 30% 安乃近溶液 20ml)，以便检查。
- 2.1.4 一般可先用温水 1000~2000ml 灌肠，以缓解直肠的紧张度并排出粪便，便于直检。

2.2 术者准备

术者剪短指甲并磨光，充分露出手臂并涂以润滑油类，必要时用乳胶手套。

2.3 操作方法

术者将拇指放于掌心，其余四指并拢集聚呈圆锥形，以旋转动作通过肛门进入直肠，当肠内蓄积粪便时应将其取出，再行入手；如膀胱内贮有大量尿液，应按摩、压迫以刺激其反射排空或行人工导尿术，以利于检查。

手沿肠腔方向徐徐深入，直至检手套有部分直肠狭窄部肠管为止方可进行检查，当被检马频频努责时，入手可暂停前进或随之后退，即按照“努则退、缩则停，缓则进”的要领进行操作，比较安全。切忌检手未找到肠管方向就盲目前进，或未套入狭窄部就忙于检查。当狭窄部套手困难时，可以采用胳膊下压肛门的方法，诱导病马作排粪反应，使狭窄部套在手上，同时还可减少努责作用。如被检马过度努责，必要时可用 10% 普鲁卡因 10~30ml 作尾骶穴封闭，以使直肠及肛门括约肌弛缓而便于检查。

检手套入部分直肠狭窄部或全部套入后，检手做适当地活动，用并拢的手指轻轻向周围触摸，根据脏器的位置、大小、形状、硬度、有无肠带，移动性及肠系膜状态等，判定病变的脏器、位置、病变的性质和程度。无论何时手指均应并拢，绝不允许叉开并随意抓搔、锥刺肠壁，切忌粗暴以免损伤肠管。并按一定顺序进行检查。

2.4 检查顺序

牛直肠检查顺序 肛门 直肠 → 骨盆腔 → 膀胱 → 子宫 → 卵巢 → 瘤胃 → 盲肠 → 结肠袢 → 左肾 → 输尿管 → 腹动脉 → 子宫中动脉

2.4.1 肛门及直肠 注意检查肛门的紧张度及附近有无寄生虫、粘液、肿瘤等，并感知直肠内容物的数量及性状，以及粘膜的温度和状态等。

2.4.2 骨盆腔内部 入手稍向前下方检查可摸到膀胱、子宫等。膀胱位于骨盆腔底部。无尿时可感触到如梨子状大的物体，当其内尿液过度充满时，感觉如一球形囊状物，有弹性波动感。触诊骨盆腔壁光滑，注意有无脏器充塞或粘连现象，如被检马、牛有后肢运动障碍时，应注意有无盆骨骨折。

2.4.3 腹腔内部检查

检手伸入直肠后，以水平方向渐次前进，当至结肠的后段“S”状弯曲部，即可按顺序检查。

瘤胃：在骨盆前口的左侧，可摸到瘤胃的背囊，其上部完全占据腹腔的左侧，触诊可感到有捏粉样硬度的内容物及瘤胃的蠕动波。

肠：几乎全部位于腹腔的右半部，盲肠在骨盆口的前方，其尖端的一部分达骨盆腔内；结肠圆盘位于右 肋部上方；空肠及回肠位于结肠及盲肠下方；正常时各部分肠管不易区分。

肾脏：左肾的位置决定于瘤胃内容物的充满程度，可左可右，可由第2~3腰椎延伸到3~6腰椎；右肾悬垂于腹腔内，可以使之移动，或用手托起，检查较为方便，主要注意其大小、形状、表面状态、硬度等。

2.5 注意事项

检查者应剪短、磨光指甲，露出手臂涂以润滑油，必要时戴上胶手套。对腹围膨大的动物应先进行盲肠穿刺术或瘤胃穿刺术排气；对心脏衰弱的动物，可先给予强心剂；对腹疼剧烈的动物应先进行镇静。直检过程中检手手指均应并拢，用指肚感觉脏器的位置、大小、形状、硬度、移动性、内容物等，绝不允许叉开手指随意抓、搔，以免损伤肠管。

1. 呼吸运动的检查

检查呼吸运动时，应注意呼吸的频率、类型、节律、对称性、呼吸困难和膈肌痉挛等。

1.1 呼吸频率(次数)的检查

一般可根据胸腹部起伏动作而测定，检查者站在动物的侧方，注意观察其腹肋部的起伏，一起一伏为一次呼吸。在寒冷季节也可观察呼出气流来测定。鸡的呼吸灵敏可观察肛门下部的羽毛起伏动作来测定。

测定呼吸数时，应在动物休息、安静时检测。一般应检测一分钟。观察动物鼻翼的活动或将手放在鼻前感知气流的测定方法不够准确，应注意。必要时可用听诊肺部呼吸音的次数来代替。

1.2 呼吸类型的检查

检查者站在病畜的后侧方，观察吸气与呼气时胸廓与腹壁起伏动作的协调性和强度。

健畜一般为胸腹式呼吸(犬、猫为胸式呼吸)，即在呼吸时，胸壁和腹壁的动作是协调

的，强度大致相等。

在病理情况下，可见胸式或腹式呼吸，犬、猫例外。

1.3 呼吸节律的检查

检查者站在病畜的侧方，观察每次呼吸动作的强度、间隔时间是否均等。

健畜在吸气后紧随呼气，经短时间休止后，再行下次呼吸。每次呼吸的间隔时间和强度大致相等，即呼吸节律正常。

典型的病理性呼吸节律有：陈—施二氏呼吸(由浅到深再至浅，经暂停后复始)，毕欧特氏呼吸(深大呼吸与暂停交替出现)、库斯茂尔氏呼吸(呼吸深大而慢，但无暂停)。

1.4 呼吸对称性的检查

检查者立于病畜正后方，对照观察两侧胸壁的起伏动作强度是否一致。

健畜呼吸时，两侧胸壁起伏动作强度完全一致。

病畜可见两侧不对称性的呼吸动作。

1.5 呼吸困难的检查

检查者仔细观察病畜鼻的扇动情况及胸、腹壁的起伏和肛门的抽动现象，注意头颈、躯干和四肢的状态和姿势；并听取呼吸喘息的声音。

健康家畜呼吸时，自然而平顺，动作协调而不费力，呼吸频率相对正常，节律整齐，肛门无明显抽动。

呼吸困难时，呼吸异常费力，呼吸频率有明显改变(增或减)，补助呼吸肌参与呼吸运动。尚可表现为如下特征：

(1)吸气性呼吸困难 头颈平伸、鼻孔开张、形如喇叭，两肋外展，胸壁扩张，肋间凹陷，肛门有明显的抽动。甚至呈张口呼吸。吸气时间延长，可听到明显的吸气性狭窄音。

(2)呼气性呼吸困难 呼气时间延长，呈二段呼出；补助呼气肌参与活动，腹肌极度收缩，沿季肋缘出现喘线(息劳沟)。

(3)混合型呼吸困难 具有以上两型的特征，但狭窄音多不明显而呼吸频率常明显增多。

2. 上呼吸道的检查

2.1 呼出气体的检查

病畜的前面仔细观察两侧鼻翼的扇动和呼出气流的强度；并嗅闻呼出气体有无臭味。但怀疑传染病(如鼻疽、结核等)时，检查者应戴口罩。

健康家畜呼出气流均匀，无异常气味，稍有温热感。

病畜可见有两侧气流不等，或有恶臭、尸臭味和热感。

2.2 鼻液的检查

首先观察动物有无鼻液，对鼻液应注意其数量、颜色、性状、混有物及一侧性或两侧性。

健康的马、骡通常无鼻液，冬季可有微量浆液性鼻液。牛有少量浆液性鼻液，常被其自然舐去。

病畜可见有：浆液性鼻液，为清亮无色的液体；粘液性鼻液，似蛋清样；脓性鼻液，呈黄白色或淡黄绿色的糊状或膏状，有脓臭味；腐败性鼻液，污秽不洁，带褐色，呈烂桃样或烂鱼肚样，具尸臭气味。

此外，应注意有无出血及其特征(鼻出血鲜红呈滴或线状；肺出血鲜红，含有小气泡；胃出血暗红，含有食物残渣)、数量、排出时间及单双侧性。

2.3 鼻液中弹力纤维的检查

取少量鼻液，置于试管或小烧杯内，加入 10%氢氧化钠(钾)溶液 2~3ml，混合均匀，在酒精灯上边震荡边加热煮沸至完全溶解。然后，离心倾去上清液，再用蒸馏水冲洗并离心，如欲使其着色，最好于离心前加入 1%伊红酒精数滴。再取沉淀物涂片，镜检。

弹力纤维为透明的折光性强的细丝状弯曲物、具有双层轮廓，两端尖或呈分叉状，常集聚成束状而存在。染色后呈蔷薇红色。

弹力纤维易被某些酶溶解，故应多次检查才能准确。

2.4 鼻粘膜的检查法

将病畜头抬起，使鼻孔对着阳光或人工光源，即可观察鼻粘膜。在小动物可用开鼻器。检查时应注意，应作适当保定；注意防护，以防感染；使鼻孔对光检查，重点注意其颜色、有无肿胀、溃疡、结节、瘢痕等。

病理情况下，鼻粘膜的颜色也有发红、发绀、发白、发黄等变化。常见的有潮红肿胀(表面光滑平坦、颗粒消失、闪闪有光)、出血斑、结节、溃疡、瘢痕。有时也见有水泡、肿瘤。

2.5 喉及气管的检查

外部视诊，注意有无肿胀等变化；检查者站在家畜的前侧，一手执笼头，一手从喉头和气管的两侧进行触压，判定其形态及肿胀的性状；也可在喉和气管的腹侧，自上而下听诊。

健康家畜的喉和气管外观无变化；触诊无疼痛；听诊有类似“赫”的声音。

在病理情况下可见有：喉和气管区的肿胀，有时有热痛反应，并发咳嗽；听诊时有强烈的狭窄音、哨音、喘鸣音。对小动物和禽类还可作喉的内部直接视诊。检查者将动物头略为高举，用开口器打开口腔，用压舌板下压舌根，对光观察；检查鸡的喉部时，将头高举，在打开口腔的同时，用捏肉髯手的中指向上挤压喉头，则喉腔即可显露。注意观察粘膜的颜色，有无肿胀物和附着物。

2.6 咳嗽的检查

可向畜主询问有无咳嗽，并注意听取其自发咳嗽、辨别是经常性还是阵发性，干咳或湿咳，有无疼痛、鼻液等伴随症状。必要时可作人工诱咳，以判定咳嗽的性质。

(1)牛的人工诱咳法 用多层湿润的毛巾掩盖或闭塞鼻孔一定时间后迅速放开，使之深呼吸则可出现咳嗽。

应该指出，在怀疑牛患有严重的肺气肿、肺炎、胸膜炎合并心机能紊乱者慎用。

(2)小动物诱咳法 经短时间闭塞鼻孔或捏压喉部、叩击胸壁均能引起咳嗽。犬在咳嗽时有时引起呕吐，应注意以免重视了呕吐而忽视了咳嗽。

在病理情况下，可发生经常性的剧烈咳嗽，其性质可表现为：干咳(声音清脆，干而短)；湿咳(声音钝法、湿而长)；痛咳(不安、伸颈)。甚至可呈痉挛性咳嗽。

3. 胸廓的检查

胸廓的检查方法一般采用视诊和触诊。胸廓的视诊，注意观察呼吸状态，胸廓的形状和对称性；胸壁有无损伤、变形；肋骨与肋软骨结合处有无肿胀或隆起；肋骨有无变化，肋间隙有无变宽或变窄，凸出或凹陷现象；胸前、胸下有无浮肿等；胸廓触诊时应注意胸壁的敏感性，感知温湿度、肿胀物的性状并注意肋骨是否变形及骨折等。

健康动物胸廓两侧对称，脊柱平直，肋骨隆起，肋间隙的宽度均匀，呼吸亦对称。

病理情况下，桶状胸可见于严重的肺气肿、小动物的胸水、急性纤维性胸膜炎等。扁平胸又称鸡胸，可见于佝偻病、软骨症、慢性消耗性疾病。两侧胸廓不对称可见于一侧肋骨骨折、单侧性胸膜炎、胸膜粘连、骨软症、代偿性肺气肿等。

4. 胸、肺叩诊

4.1 肺叩诊区

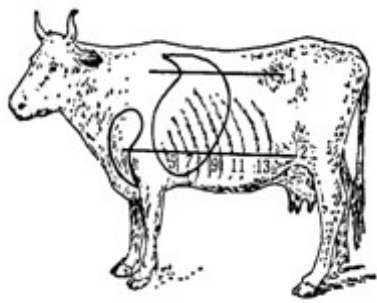


图 5-1 牛肺叩诊区

1. 髻结节线 2. 肩关节线 5、7、9、11、13 表示肋骨

背界：平行线与马同，但止于第十一肋间隙。

前界：由肩胛骨后角沿肘肌向下划一类似“S”形的曲线，止于第四肋间隙下端。

后界：由第十二肋骨与脊柱交接处开始斜向前下方引一弧线，经髻结节水平线与第十一肋间隙交点；肩关节水平线与第八肋间隙交点，止于第四肋间隙下端。

此外，在瘦牛的肩前 1~3 肋间隙尚有一狭窄的叩诊区(肩前叩诊区)。

绵羊和山羊肺叩诊区与牛相同，但无肩前叩诊区。

4.2 叩诊方法

胸、肺叩诊除应遵循叩诊一般规则外，须注意选择大小适宜的叩诊板，沿肋间隙纵放，先由前至后，再自上而下进行叩诊。听取声音同时还应注意观察动物有无咳嗽、呻吟、躲闪等反应性动作。

正常肺区叩诊音，大家畜一般为清音，以肺的中 1/3 最为清楚；而上 1/3 与下 1/3 声音逐渐变弱。而肺的边缘则近似半浊音。健康小动物的肺区叩诊音近似鼓音。胸部叩诊可能出现疼痛性反应，表现为咳嗽、躲闪、回视或反抗；肺叩诊区的扩大或缩小；出现浊音、半浊音、水平浊音、鼓音、过清音、破壶音、金属音，这些都是胸肺的病理性变化的表现。

5. 胸、肺听诊

肺听诊区和叩诊区大致相同。听诊时，应先从呼吸音较强的部位即胸廓的中部开始，然后再依次听取肺区的上部、后部和下部。牛尚可听取肩前区。每个听诊点约间隔 3~4cm，在每点上至少听取 2~3 次呼吸，且须注意听诊音与呼吸活动之间的联系。对可疑病变与对侧相应部位对比听诊判定。如呼吸音微弱，可给以轻微的运动后再行听诊，使其呼吸动作加强，以利听诊。注意呼吸音的强度、性质及病理性呼吸音的出现。

健康家畜可听到微弱的肺泡呼吸音，在吸气阶段较清楚，如“呖”、“呖”的声音。整个肺区均可听到，但以肺区中部为最明显。动物中，马的肺泡音最弱；牛、羊较明显，水牛甚微弱；幼畜比成年家畜略强。除马属动物外，其他动物尚可听到支气管呼吸音，在呼气阶段较清楚，如“赫”、“赫”的声音，但并非纯粹的支气管呼吸音，而是带有肺泡呼吸音的混合呼吸音。

牛在第 3~4 肋间肩端线上下可听到混合呼吸音。绵羊、山羊和猪的支气管呼吸音大致与牛相同。犬在整个肺区都能听到明显的支气管呼吸音。

在病理情况下，可见肺泡呼吸音的增强或减弱，甚至局部消失。还可听见病理性呼吸音或附加音，病理性支气管呼吸音、混合性呼吸音(“呖”—“赫”)，湿啰音(似水泡破裂音，以吸气末期为明显)，干啰音(似哨音、笛音)、胸膜摩擦音(似沙沙声、粗糙而断续，紧压听诊器时明显增强，常出现于肘后)、拍水音、捻发音、空瓮音。

1. 心脏的检查

1.1 心搏动的检查

1.1.1 部位

一般在左侧进行，必要时可在右侧。牛羊在肩端线下 1/2 部的第三至第五肋间，第四

肋间最明显；犬在第四至第六肋间胸廓下 1/3 处，第五肋间最明显。

1.1.2 检查方法

被检动物取站立姿势，使其左前肢向前伸出半步，以充分露出心区。检查者站在动物左侧方，视诊时，仔细观察左侧肘后心区被毛及胸壁的振动情况；视诊一般看不清楚，所以多用触诊。触诊时，检查者一手(右手)放在动物的髻甲部，用另一手(左手)的手掌，紧贴在动物的左侧肘后心区，注意感知胸壁的振动，主要判定其频率及强度。

健康动物，随每次心室的收缩而引起左侧心区附近胸壁的轻微振动。

其病理变化可表现为心搏动减弱或增强。但应注意排除生理性的减弱(如过肥)或增强(如运动后、兴奋、惊恐或消瘦)。

1.2 心脏的叩诊检查

1.2.1 正常心浊音区

牛：在左侧，由于心脏被肺脏所掩盖的部分较大，因而不能确定相对浊音区，位于第 3-4 肋间，胸廓下 1/3 的中间部。

犬、猫：心脏的绝对浊音区位于左侧第 4-6 肋间，前缘达第 4 肋骨，上缘达肋骨和肋软骨结合部，大致与胸骨平行，后缘受肝浊音影响而无明显界限。

被检动物取站立姿势，使其左前肢向前伸出半步，以充分露出心区。对大动物，应用锤板叩诊法；小动物可用指指叩诊法。按常规叩诊方法，沿肩胛骨后角向下的垂线进行叩诊，直至心区，同时标记由清音转变为浊音的一点；再沿与前一垂线呈 45° 左右的斜线，由心区向后上方叩诊，并标记由浊音变为清音的一点；连接两点所形成的弧线，即为心脏浊音区的后上界。

1.2.2 检查方法

被检动物取站立姿势，使其左前肢向前伸出半步，以充分露出心区。检查者站在动物左侧方，对大动物，应用锤板叩诊法；小动物可用指指叩诊法。按常规叩诊方法，沿肩胛骨后角向下的垂线进行叩诊，直至心区，同时标记由清音转变为浊音的一点；再沿与前一垂线呈 45° 左右的斜线，由心区向后上方叩诊，并标记由浊音变为清音的一点；连接两点所形成的弧线，即为心脏浊音区的后上界。

在心区反复地用较强和较弱的叩诊进行检查，根据产生的浊音的区域，可判定心脏绝对浊音区及相对浊音区。

其病理变化可表现为心脏叩诊浊音区的缩小或扩大，有时呈敏感反应(叩诊时回视、反抗)或叩诊时呈鼓音(如牛创伤性心包炎时)

1.3 心脏的听诊检查

1.3.1 检查方法

听诊心音，一般采用听诊器进行听诊。先将动物的左前肢向前拉伸半步，以充分暴露心区，通常于左侧心区部位听取，必要时再于右侧心区听诊。听诊时，宜将听诊器的听头放于心区部位，并使之与体壁密切接触。各种动物心间的最佳听取点见表 2-3。

表 2-3 各种动物心音最佳听取点

动物	第一心音		第二心音	
	二尖瓣口	三尖瓣口	主动脉瓣口	肺动脉瓣口
马	左侧第 5 肋间，胸廓下 1/3 的中央水平线上	右侧第 4 肋骨，胸廓下 1/3 的中央水平线上	左侧第 4 肋间，肩关节线下方 1-2 指处	左侧第 3 肋间，胸廓下 1/3 的中央水平线下方
牛	左侧第 4 肋间，主动脉瓣口的远下方	右侧第 3 肋间，胸廓下 1/3 的中央水平线上	左侧第 4 肋间，肩关节线下方 1-2 指处	左侧第 3 肋间，胸廓下 1/3 的中央水平线下方

猪	左侧第 5 肋间，胸廓下 1/3 的中央水平线上	右侧第 4 肋间，肋骨和肋软骨结合部稍下方	左侧第 4 肋间，肩关节线下方 1-2 指处	左侧第 3 肋间，胸廓下 1/3 中央水平线下方
犬	左侧第 5 肋间，胸廓下 1/3 中央水平线上	右侧第 4 肋间，肋骨和肋软骨结合部一横指上方	左侧第 4 肋间，肩端线下方或肋骨和肋软骨结合部上 2-3 横指处	左侧第 3 肋间，接近胸骨处或肋骨和肋软骨的结合处

1.3.2 健康动物的心音特点：

马：第一心音的音调低，持续时间较长且音尾拖长；第二心音短促、清脆，且音尾突然停止。

牛：黄牛一般较马的心音清晰，尤其第一心音明显，但其第一心音持续时间较短；水牛及骆驼的心音则不如马清晰。

猪：心音较钝浊，且两个心音的间隔大致相等。

犬、猫：心音比其他家畜强，正常时有所谓“胎样心音”。胎样心音是指第一、二心音的强度一致，两心音之间的间隔与下一次心音之间的间隔时间几乎相等，因此难于区别第一、二心音。不过，在听诊时，触诊脉搏，与脉搏同时产生的声音为第一心音。

区别第一与第二心音时，除根据上述心音的特点外，第一心音产生于心室收缩期中，与心搏动，动脉脉搏同时出现；第二心音产生于心室舒张期，与心搏动、动脉脉搏出现时间不一致。

心音的病理变化可表现为心率过快或徐缓、心音混浊、心音增强或减弱、心音分裂或出现心杂音、心律不齐。

2. 脉管的检查

2.1 动脉血管检查

2.1.1 检查方法

大动物多检查颌外动脉和尾动脉；中、小动物则检查股动脉。

颌外动脉的检查方法 马属动物常检查颌外动脉。检查者站在马头一侧；一手握住笼头，另一手拇指置于下颌骨外侧，食指、中指伸入下颌枝内侧，在下颌枝的血管切迹处，前后滑动，发现动脉管后，用手指轻压即可感知。

尾动脉的检查方法 牛通常检查尾动脉，检查者站在牛的正后方。左手抬起牛尾，右手拇指放在尾根部的背面，用食指、中指在距尾根 10cm 左右处尾的腹面检查。猪和羊可在后肢股内侧的股动脉处检查。检查脉搏时，应待动物安静后再测定。一般应检测一分钟；当脉搏过弱而不感于手时，可用心跳次数代替。

股动脉检查 猪和羊可在后肢股内侧的股动脉处检查。检查者左手握住动物的一侧后肢的下部；右手的食指及中指放于股内侧的股动脉上，拇指放于腹内侧。

检查时，除注意计算脉搏的频率外，还应判定脉搏的性质(大小、软硬、强弱及充盈状态与节律)。正常脉搏性质表现为：脉管有一定的弹性，搏动的强度中等，脉管内的血量充盈适度，其节律表现为强弱一致，间隔均等。

2.1.2 动脉血管的病理表现

在病理情况下，脉搏可表现为：脉率的增多与减少，振幅过大(大脉)或过小(小脉)，力量增强(强脉)或减弱(弱脉)；脉管壁松弛(软脉)或紧张(硬脉)，脉管内血液过度充盈(实脉)或充盈不足(虚脉)。心律不齐则表现为间隔不等及大小不匀。

2.2 浅在静脉的检查

2.2.1 检查方法

视诊 观察浅在静脉(如颈静脉、胸外静脉)的充盈状态及颈静脉的波动。正常时颈静脉不显露，可见由颈根部向颈上部的逆行波动，一般不超过颈的 1/3 处。

触诊 用手指触诊颈静脉，感觉其充盈情况和有无肿胀；用食指和中指压住颈静脉中部，观察其逆行的波动情况。一般营养良好的动物，浅在静脉管不明显；较瘦或皮薄毛稀的动物则较为明显。正常情况下，马、牛颈静脉沟处可见有随心脏活动而出现的自颈基部后上

部反流的波动，其反流波不超过颈部的下 1/3。

2.2.2 浅在静脉的病理表现

浅在静脉的过度充盈，隆起呈绳索状；颈静脉波动高度超过颈下部的 1/3。

对颈静脉波的性质，可于颈中部的颈静脉上用手指加压鉴定，即在加压以后，近心端和远心端的波动均消失，为心房性(阴性)波动；远心端消失而近心端的波动仍存在，为心室性(阳性)波动；近心端与远心端的波动均不消失并可感知颈动脉的过强搏动，为伪性搏动。同时还应参照波动出现的时期与心搏动及动脉脉搏的时间是否一致而综合判定。

1. 肾脏的检查

1.1 肾脏的位置

马 左肾：呈蚕豆形，位于最后胸椎及第 1~3 腰椎横突下方；右肾：呈圆角等边三角形，位于最后 2~3 胸椎及第 1 腰椎横突下方。

牛 左肾：位于 3~5 腰椎横突下方，略垂于腹腔中，当瘤胃充满时，可完全移向右侧；右肾：呈长椭圆形，位于第 12 肋间及 2~3 腰椎横突下方。均具有分叶结构。

羊 左肾：位于 1~3 腰椎横突下方；右肾：位于 4~6 腰椎横突下方。表面光滑，均不分叶。

猪 左右肾几乎对称，均位于 1~4 腰椎横突下方。

犬 蚕豆外形，表面光滑。左肾：位于 2~4 腰椎横突下方；右肾：位于 1~3 腰椎横突下方。

禽 两肾均较大，约占体重 1%~2.6%，分为前、中、后三叶，均位于腰荐椎两侧横突之间。

1.2 肾脏的检查方法

①视诊 某些肾脏疾病（如急性肾炎、化脓性肾炎）时，家畜表现腰背僵硬，拱起，迈步小心，后肢向前移动缓慢，牛有时呈腰区膨隆；马表现为腹痛样症状；猪患肾虫病时，拱背、后躯摇摆。另外需特别注意肾性水肿，多发生于眼睑、腹下、阴囊及四肢下部。

②触诊 为检查肾脏的重要方法。大动物可在腰背部强行加压或用拳捶击，也可由腰椎横突下侧方向向内探触，观察家畜是否呈现敏感反应。中小家畜如羊、犬等，他们取站立姿势时，检查者立于动物后方，两手分别放在体躯两侧，以拇指于其腰背部作支点，其余四指指尖由腰椎之下对向腹内加压，前后或者上下触诊肾脏的大小、硬度及敏感度。肾脏的压痛，可提示急性肾炎、肾脏及周围组织发生化脓性感染、肾肿胀等。在直肠触诊时应注意检查肾脏的大小、形状、硬度、有无压痛、活动性、表面是否光滑等。

2. 膀胱及尿道的检查

2.1 膀胱的检查

①位置 大家畜的膀胱位于骨盆腔的底部，小动物的膀胱位于耻骨联合前方的腹腔底部。

②检查方法 大动物的膀胱检查，只能进行直肠触诊；小动物可于后腹部由下方或侧方进行触诊。检查膀胱时，应注意其位置、大小、充满度及敏感性。

③病理变化 触诊膀胱区呈波动感，提示膀胱内尿液潴留，如随触诊而被动地流出尿液，则提示膀胱麻痹；动物对触诊呈敏感反应，见于膀胱炎或者膀胱结石。

在膀胱的检查中，较好的方法是膀胱镜检查，借此可以直接观察膀胱黏膜的状态及膀胱内部的病变，也可根据窥察输尿管口的情况，判定血尿或脓尿的来源。此外，小动物也可用 X 线造影术进行检查。

2.2 尿道的检查

①位置及检查方法 母畜的尿道，开口于阴道前庭的下壁，特别是母牛的尿道，宽而

短，检查最为方便，检查时可将手指伸入阴道，在其下壁可触摸到尿道外口。此外，可用金属制、橡皮制或塑料制导尿管进行探诊。公畜的尿道，位于骨盆腔内的部分，连同贮精囊和前列腺可由直肠内触诊，位于骨盆及会阴以外的部分，可进行外部触诊，雄性反刍动物和公猪的尿道，因有“S”弯曲，用导尿管探诊较为困难，而公马的尿道探诊则较为方便。

②病理变化 尿道炎有急、慢性之分，急性者尿频尿痛，尿道外口肿胀，且常有黏液或脓性分泌物，慢性尿道炎无明显症状。尿道结石多见于公畜，触诊感到膨大，坚硬，压触时疼痛明显。尿道狭窄表现为排尿困难，尿流变细呈滴状，甚至可引起慢性尿潴留，可用导尿管探诊。

3. 外生殖器官的检查

3.1 公畜外生殖器的检查

①睾丸和阴囊的检查 应注意睾丸的大小、形状、硬度以及有无隐睾、压痛、结节和肿物等。睾丸炎在急性期，睾丸明显肿大、疼痛，触诊时局部压痛明显、增温，患畜精神沉郁，食欲减退，后肢多呈外展姿势，出现运步障碍。如发热不退或睾丸肿胀和疼痛不减时，应考虑有睾丸化脓性炎症可能。正常的阴囊呈椭圆形肿大，表面光滑，膨胀，有囊性感，局部无压痛，压之留痕。如积液明显，可对阴囊阴鞘穿刺，如为血性液体可提示由外伤、肿瘤及阴囊水肿引起，见于阴囊局部炎症等。此外，阴囊和阴鞘水肿也可发生于某些全身性疾病，如贫血、心脏及肾脏疾病等。

②阴茎及龟头的检查 公畜阴茎较长，易发生受伤，受伤后可局部发炎，肿胀或溃烂，见尿道流血，排尿障碍，受伤部位疼痛和尿潴留等症状，严重者可发生阴茎、阴囊、腹下水肿和尿外渗，造成组织感染、化脓和坏死。龟头肿胀时，局部红肿，发亮，有的发生糜烂，坏死，有多量渗出液外溢，尿道可流出脓性分泌物。此外，公羊和公猪最易发生包皮龟头炎，猪的包皮龟头炎，在其包皮的前端部形成充满包皮垢和浊尿的球形肿胀，同时包皮口周围的阴毛被尿污染，包皮脂和脓污秽物粘着在一起，致使排尿障碍，此种变化可见于猪瘟。

3.2 母畜外生殖器的检查 母畜外生殖器主要是指阴道和阴门。

①检查方法 将与动物相适应的阴道扩张器浸泡在消毒水中，待使用时用清洁水冲洗，检查时，首先排除直肠宿粪，然后用清洁水和消毒水对母畜阴户、尾根、肛门及其周围进行清洗，擦干水渍后，将尾巴拉于畜体一侧，然后用清洁水淋湿阴道扩张器，并缓慢插入阴道内，当达到适当深度后开张阴道扩张器即可进行窥视检查。

②检查项目 阴道及子宫颈阴道部的形状、颜色、湿润度、子宫颈外口开张程度以及分泌物的情况等，还应判断阴道的长度和大小。

③病理变化

畸形 阴道短且狭窄，双子宫颈

子宫颈阴道部变化 受到损伤及感染而出现充血、出血、肿胀等变化，慢性炎症则可能因为结缔组织增生，使部分黏膜壁呈乳头状突起（常见于牛）

阴道及其黏膜变化 正常情况下，未孕母畜阴道黏膜为淡红色；发情时，黏膜充血，湿润；怀孕期间，黏膜变灰白或灰黄色，粘附有少量粘稠的灰白或灰黄色粘液，阴道干涩。病理情况下，较多见者为阴道炎。患畜表现拱背、努责、尾根翘起，阴门中流出浆液性或黏液脓性污秽腥臭液，甚至附着在阴门、尾根部变为干痂，阴道充血呈深红色，敏感性增高，疼痛，或有溃疡等。假膜性阴道炎时，可见黏膜覆盖一层灰黄色或灰白色坏死组织薄膜，膜下上皮缺损，或出现溃疡面。在马媾疫时，可见到母马阴道和阴唇水肿，阴道黏膜肿胀，有小结节和溃疡。

当阴道和子宫脱出时，可见阴门外有脱垂物体，在母牛产后胎衣不下时，阴门外常吊挂部分的胎衣。

4. 乳腺的检查

4.1 乳房临床检查

视诊 可从畜体侧面和后方观察乳房，对乳房的形状、大小及对称性、皮肤颜色及外部创伤等情况作出判断。如果乳房红肿，紧张，则提示发生炎症反应；牛，绵羊和山羊乳房皮肤上出现疹疱、脓疱及结节多为痘疹、口蹄疫等症状。

触诊 可确定乳房皮肤的厚薄、温度、软硬度及乳房淋巴结的状态，有无脓肿及其硬结部位的大小和疼痛程度。检查乳房皮肤厚薄和软硬度时，应将皮肤捏成皱襞或由轻到重施压感觉之，如果发生浆液性炎或纤维蛋白性炎，乳房或患病区的普遍变得坚硬；如果有结节形成，乳房有明显质地差异的硬结。检查乳房温度时，用手掌紧贴乳房皮肤，当乳房有急性炎症时，可感觉到明显灼热感，当乳房发生坏疽时，可能出现湿冷的变化。在对乳头进行检查时，用一只手固定乳头基部，另一只手的拇指和食指及中指，由乳头基部向乳头开口方向捏搓。通过检查可以发现牛的乳头池黏膜广泛性增生引起的乳头壁变厚，以及由肉芽组织增生和纤维化而形成的结节状赘生物等。

4.2 乳汁检查

①一般临床检查 检查时，可将各乳区的乳汁分别挤入手心或盛于器皿内进行观察，注意乳汁颜色、稠度和性状。临床主要有以下异常变化：

乳汁稀薄 乳汁的粘稠性降低，颜色变清淡，甚至出现清水样的变化，这类乳汁一般夹杂有乳凝块或白色絮状物。

脓性乳 见于化脓性乳房炎，乳汁呈粘性脓样，暗淡无光或呈灰黄色。

血性乳 见于出血性乳房炎，乳汁发生水样变化，呈粉红色，带有淡红色絮状物或血凝块。

②化学检验法

方法：首先用乳汁检验盘收集乳汁，将奶牛 4 个乳区的乳汁分别挤入检验盘的 4 个检验皿，然后倾斜检验盘使多余的乳汁从检验皿中溢出，仅在检验皿内保留 2ml 乳汁，加入等量检验液 2ml 后，旋转式摇动检验盘，使检验试剂与乳汁在同心圆状的运动中充分混合，10 秒钟后观察乳汁反应。判定结果的标准见表，乳汁阳性反应者，表明相应乳区已遭受感染或有炎症反应。

③乳上淋巴结检查

牛的乳上淋巴结位于乳房基部的上方，一般为 1~2 个，似鸡蛋大小。检查时用手指向乳房基部的后方插入，触诊淋巴结是否肿大、变硬以及有无疼痛反应，乳房发生急性炎症时，乳上淋巴结发生肿胀，触诊有疼痛反应。乳牛发生乳房结核时，乳房淋巴结显著肿大，形成硬结，触诊常无热痛。

1. 头颅及脊柱的检查

1.1 头颅的检查

①检查方法 可采用视诊和触诊，应注意其形状、大小、温度、硬度等变化。必要时可采用叩诊，注意是否有浊音。

②病理变化

局部隆突膨大 见于外伤，肿瘤，额窦炎，副鼻窦蓄脓，先天性脑积水。

骨骼变形 见于某些骨质代谢疾病，如骨软症，佝偻病，纤维性骨炎等。

增温 见于外伤，热射病，脑充血，脑膜和脑的炎症，如猪的乙型脑炎，牛的结核性脑膜炎，恶性卡他炎。

颅部压痛 见于外伤，炎症，肿瘤及多头蚴病

叩诊浊音 见于脑瘤，额窦炎，脑多头蚴病。

1.2 脊柱的检查

①检查方法 可采用视诊和触诊，应注意其形状、大小、硬度等变化。

②病理变化

变形 如上弯、下弯或侧弯，见于脑膜炎，脊髓炎，破伤风，骨软症或佝偻病。

局部肿胀、疼痛 常为外伤或骨折。

2. 感觉机能检查

2.1 视觉检查

①检查方法 观察眼睑、眼球、眼结膜、角膜、瞳孔的状态，着重检查视力及瞳孔对光反射的反应。检查视力时，可用长绳牵引病畜前进，通过障碍物，还可以用手在动物眼前晃动或做欲打击动作，看其是否有躲闪和闭眼反应，然后用手遮住动物眼睛，并迅速放开，以观察光线射入瞳孔的缩小反应，并可在光线较暗的条件下，突然用手电筒从侧方照射动物的眼睛，同时观察瞳孔的缩动变化。

②病理变化

眼睑 上眼睑下垂，多由眼睑举肌麻痹所致，见于面神经麻痹、脑炎、脑肿瘤及某些中毒病，眼睑肿胀，见于流行性感冒、牛恶性卡他热，猪瘟，眼睑水肿，常是仔猪水肿病的特征。

眼球 眼球下陷，见于严重失水、眼球萎缩，慢性消耗性疾病及老龄消瘦动物的眼球下陷，是眼眶内脂肪减少的结果。眼球呈有节律性的抽搦，两眼短速的来回转动，称为眼球震颤，见于急性脑炎，癫痫等。

角膜 角膜混浊，见于马流感，牛恶性卡他热及泰氏焦虫症，亦可见于创伤或维生素 A 缺乏症及马的周期性眼炎和其他眼病。

瞳孔 瞳孔的变化除了眼本身的疾病外，尚可反应全身疾病，其中尤以对中枢神经系统病变的判断有重要价值。瞳孔散大，主要见于脑膜炎、脑肿瘤或脓肿，多头蚴病，阿托品中毒，若两侧瞳孔呈迟发性散大，对光反应消失，眼球固定前视，表示脑干功能严重障碍，病畜进入垂危期，当病畜高度兴奋或剧痛性疾病时，亦可出现瞳孔散大，但仍保持对光反应。瞳孔缩小，若伴发对光反应迟缓或消失，提示颅内压升高或交感神经、传导神经受损害，见于慢性脑室积水、脑膜炎、有机磷中毒及多头蚴病等，若瞳孔缩小，眼睑下垂，眼球凹陷，三者同时出现，乃交感神经及其中枢受损的指征。

视力 视力减弱甚至完全消失，可见于山道年、野萱草根中毒，牛犊、猪的维生素 A 缺乏症，猪的食盐中毒，马的周期性眼炎以及其他重度眼病的后期。病畜视力增强，表现为羞明，可见于结膜一角膜炎等眼科疾病，罕见于颅内压升高，脑膜炎，日射病，牛恶性卡他热，牛瘟等。视觉异常的动物，有时出现“捕绳样动作”，如狂犬病，脑炎，眼炎初期等。

2.2 听觉检查

①检查方法 应在安静的环境下，突然给动物吆唤一声或重击一拳，产生较响亮的声音，以观察动物的反应。

②病理变化 听觉过敏病畜对轻微声音，即将耳廓转向发音的方向或一耳向前，一耳向后迅速来回转动，同时惊恐不安，肌肉痉挛等，可见于破伤风、马传染性脑脊髓炎，牛酮血病症，狂犬病等。听觉减弱或完全丧失，主要提示中枢疾病，临床可见于延脑和大脑皮质颞叶受损等。某些品种特别是白毛的犬和猫有时为遗传性，乃因其螺旋器发育缺陷所致。

2.3 嗅觉检查

①检查方法 遮住动物的眼睛，用有芳香气味的物质或优质饲料，置于动物鼻前，让其嗅闻，再观察其反应。

②结果 若动物出现咀嚼动作，向饲料处寻食，说明它已闻到芳香味，且唾液也分泌增加，若动物无任何反应，则可能为嗅觉障碍，嗅觉降低或丧失，往往是鼻黏膜炎症引起，如马传染性脑脊髓炎、犬瘟热或猫传染性胃肠炎。

2.4 浅感觉检查

①检查方法 先将动物的眼睛遮住，然后用针头以不同的力量针刺皮肤，观察动物的反应。一般先由感觉较差的臀部开始，再沿脊柱两侧向前，直至颈侧，头部。对于四肢，做环形针刺，较易发现不同神经区域的异常。

②病理变化

感觉性增高 见于脊髓膜炎，脊髓背根损伤，视丘损伤，或末梢神经发炎、受压等。此外，牛的神经型酮血症或动物 DDT 中毒等，也可见到皮肤感觉性增高。

感觉性减退或缺失 体躯两侧对称性感觉减退或缺失，多为脊髓横断性损伤，如挫伤、压迫及炎症等；半边肢体感觉减退或缺失，见于延脑或大脑皮层间传导径路受损伤；身体许多部分的多发性感觉缺失，见于多发性神经炎、马媾疫和某些病（如腺疫）。

感觉异常 见于羊的痒病，狂犬病，伪狂犬病，脊髓炎，多发性神经炎，马尾神经炎。但在皮肤病或许多寄生虫病、真菌病等也可发生皮肤痒感，应与神经系统疾病相区别。例如湿疹，螨病，痘，马的夏藓，犬的毛囊虫症。

2.5 深感觉检查

①检查方法 可人为地将动物摆成不自然的姿势，如使牛的两前肢交叉或广为分开姿势，以观察动物的反应。

②结果 在健康动物，当人为动作除去后，迅速回复原来的姿势。深感觉障碍，动物将长时间保持人为的不自然姿势而不改变，提示大脑，脊髓被损害如慢性脑积水、脑炎、脊髓损伤，严重肝病及中毒等。

3. 反射机能检查

3.1 浅反射

耳反射 轻触耳内侧皮毛，正常时动物表现摇头和转头。

尾反射 轻触尾根部腹侧皮肤时，尾根转动

腹壁反射 轻触腹壁时，腹肌收缩。

肛门反射 触及肛门皮肤时，肛门外括约肌收缩

蹄冠反射 用针刺或用脚踩蹄冠，正常动物立即提肢或回顾。此反射，用于检查颈部脊髓功能。

提睾反射 刺激大腿内侧皮肤，睾丸上提。

会阴反射 刺激会阴部尾根下方皮肤，引起向会阴部缩尾的动作。

喷嚏反射 刺激鼻粘膜即打喷嚏或振鼻。

角膜反射 轻轻刺激角膜，引起眼睑闭合。

3.2 深部反射

①检查方法

膝反射 检查时动物横卧，应使其上侧的后肢肌肉得将松弛状态，方可进行检查，用叩诊锤扣击髌骨韧带直下方，正常动物下肢伸展。

腱反射 又称飞节反射，动物横卧，扣击跟腱，正常则引起呈关节伸展与球关节屈曲。

②病理变化

反射减弱、消失 是反射弧的传导径路受损所致。常提示脊髓背根（感觉根）、腹根（运动根）或脑、脊髓灰质的病变，见于脑积水、多头蚴病等。在极度衰弱的病畜均可减弱，昏迷时期则消失，这是由于高级神经中枢兴奋性降低的结果。

反射增强、亢进 可因反射弧或反射中枢兴奋性增高或刺激过强所致，见于脊髓背根、腹根或外周神经的炎症，以及脊髓炎，破伤风，有机磷及土的宁中毒等。此外，当中枢运动神经原（锥体束）损伤时，也可呈现反射亢进。

4. 运动机能检查

4.1 检查方法 检查时首先观察动物静止时肢体的位置、姿势、然后将动物的缰绳、鼻绳松开，任其自由活动，观察有无不自主运动、共济失调现象。此外，用触诊的方法，检查肌腱的能力及硬度；并且对肢体做他动运动，以感觉其抵抗力。

4.2 病理变化

强迫运动

①回转运动 病畜按同一方向作圆圈运动。见于牛羊多头蚴病、脑脓肿、脑肿瘤等。此外也见于因脑内压升高所引起的脑炎、李氏杆菌病等。

②盲目运动 动物表现为无目的地行走，直冲，后退，呈转圈或时针样运动等，主要见于脑及脑膜的局灶性刺激，如脑炎或脑膜炎及某些中毒病时，若呈慢性经过，反复出现上述运动，可见于颅内占位性病变，如多头蚴病、猪的脑囊虫病。

③暴进及暴退 暴进见于纹状体或视丘受损伤或视神经中枢被侵害而视野缩小时；暴退见于摘除小脑的动物或颈肌痉挛而后弓反张时，如流行性脑脊髓炎等。

共济失调

静止性失调 表现为静止时站立不稳，四肢叉开，倚靠墙壁，见于小脑、小脑脚、前庭神经和迷路受损。

运动性失调 运动时步态失调，后躯摇摆，行走如醉，高抬肢体似涉水状等，见于大脑皮层、小脑、前庭、脊髓受害。

临床上一般多见于小脑性失调，动物不仅呈现静止性，并且呈现运动性失调，可见于脑炎、脑脊髓炎以及侵害脑中枢的某些传染病、中毒病、某些寄生虫病等。

痉挛

可表现阵发性、强直性两种痉挛。大多由大脑皮层受刺激、脑干或基底神经受损伤所致。阵发性痉挛提示大脑、小脑、延髓或外周神经遭受侵害，见于病毒或细菌感染性脑炎，化学物质或植物中毒和起源于肠道的内中毒，低钙血症等。最典型多见的强直性痉挛，主要见于各种动物的破伤风，此外也见于某些中毒，脑炎与脑膜炎，矿物质、维生素代谢紊乱。牛的创伤性网胃心包炎、酮血病、肝脂肪营养不良、急性败血症时，可见有肘后肌群的震颤。

中枢性麻痹（瘫痪）

表现特征是腱反射增加，皮肤反射减弱和肌肉紧张性增强，并迅速使肌肉僵硬。常见于狂犬病，马的流行性脊髓炎，某些重度中毒病，大脑皮层运动区的出血、寄生虫、脓肿、肿瘤等占位性病变而使脑部受压等。

外周性麻痹和中枢性麻痹的鉴别

见课本扫描

六、作业与思考

1. 饮食状态的检查；口、咽、食管的检查的方法和注意事项
2. 胃肠检查的部位、方法、正常情况和病理变化？
3. 胃导管探诊的操作方法和注意事项？
4. 直肠检查的顺序和临床意义？
5. 临床常见的呼吸困难有哪几种类型？各有何临床特点？分别见于何疾病？
6. 家畜常见的呼吸方式有几种？临床表现形式如何？
7. 肺部常见的叩诊病理音有哪些？
8. 呼吸音的病理变化与常见疾病有哪些？
9. 常见的呼吸杂音有哪些？如何鉴别？
10. 心搏动检查的方法、正常状态、异常变化及诊断意义？
11. 心音听诊应注意哪些？
12. 心音强度在病理情况下会发生哪些改变？

13. 各动物的肾脏的检查部位及检查方法
14. 外生殖器的检查方法及病理变化特征
15. 乳腺的检查方法及意义
16. 感觉、反射及运动机能正常与否的检查方法
17. 感觉、反射及运动机能病理情况在临床上的表现
18. 中枢性瘫痪与外周性瘫痪的区别

附录：

参考文献：

（夏维福 王京仁）

实践三 临床常用诊疗技术操作

一、实践目的

1. 掌握接近和保定动物的常用方法和注意事项。
2. 学会临床常用诊疗技术的操作方法。
3. 掌握每种给药方法的应用范围和注意事项。

二、实践内容

1. 接近动物的方法

2. 保定动物的方法

牛、猪、羊、兔、犬、猫、大鼠、小鼠的保定方法

3. 投药法

3.1 拌料给药法

3.2 饮水给药法

3.3 经口灌药法

3.4 胃管投药法

3.5 片剂、丸剂、舔剂投药法

4. 注射法

4.1 皮下注射法

4.2 皮内注射法

4.3 肌肉注射法

4.4 静脉注射法

4.5 气管内注射法

4.6 胸腔内注射法（或肺内注射法）

4.7 腹腔内注射法

4.8 乳房内注射法

4.9 子宫内注入法

5. 直肠给药法及灌肠技术

6. 涂擦给药法

7. 局部给药法

三、实践材料

马 1 匹、牛 1 头、羊 1 只，猪 1 头及临床病例若干例。

四、实践用品与用具

体温计 2 支，来苏尔水缸 2 个，秒表 2 只，穿刺针 2 支，注射器 2 支，马耳夹子，牛鼻钳子各 1 个。

五、实践方法

1. 接近动物的方法

在接近动物时，应请动物主人或饲养员协助工作。检查者应先发出接近信号，然后从动物的前方徐徐绕至前侧言视线范围内，再一面观察其反应一面接近。单眼瞎动物应从健康眼那侧接近，双眼瞎动物在接近过程中更须加倍注意动物的异常反应。

接近动物后，检查者用手掌或其他软物轻轻抚摸动物的被毛和皮肤（如马牛的额部、颈侧、肩部；猪下腹部；犬猫头顶、背部）。同时密切观察其反应，待动物安静后方可进行保定或诊治活动。

【注意事项】

1. 接近动物的场地应尽量在原饲养厩舍、畜栏、运动场。需要在其他场合进行时，应选择明亮、宽敞、安静的环境，人员数量应限制。
2. 检查者应先向动物主人或饲养员了解被接近动物的习性和有无恶癖。应熟悉各种动物的习性，特别是异常表现（如马竖耳、瞪眼；牛低头凝视、喷气；犬、猫龇牙咧嘴、伏地吠叫）等，以便及时躲避或采取相应措施。
3. 在对动物进行检查时，检查者的手应自始至终在动物体表有一个支点，用以作为防备之用，常用的支点有三个，分别是鼻绳或缰绳、耆甲部、髌结节。

2. 保定动物的方法

保定动物的方法可以分为物理保定法和化学保定法。物理保定法是一种非常经济实用的保定方法，因其对动物的刺激不是太大，在对动物进行临床检查、注射、灌药、一般处治时经常采用。各种动物有不同的习性，兽医工作者必须根据其特点采取不同的方法，即使是对同一种动物，也不能拘泥于形式，必须根据不同的检查需要灵活的应用各种方法。化学保定法是指用某些化学药剂，使动物暂时失去其正常运动能力的一种保定方法。此法常用于不易捕捉的经济动物和野生动物。

2.1 常用的绳结法

单活结 一手持绳在另一手上绕一周，然后用被绳缠绕的手握住绳的另一端并经绳环处拉出

即成。

双活结 两手握绳，左手掌向下，两手同时右转至两手相对为止，此时绳子形成两个圈。再使两绳圈并拢，左手圈通过右手圈，然后两手分别向相反方法拉绳，开是形成两个圈套即可。

拴马结 左手握缰绳的游离端，右手握持缰绳绕过木桩，再在左手上绕成一个圈套。将左手的小圈套从大圈套内向上向后拉出，同时换右手拉缰绳的游离端，把游离端做成小套穿入左手所拉的小圈内，然后抽出左手，拉紧缰绳的近端即成。

猪蹄结 一种方法是将绳端套于柱上后，再套一圈，便两绳端压于圈的里边，一端向左，一端向右；另一种方法是两手交叉握绳，各向原来手的方向移动，最后两手一转即成。

2.2 牛的保定方法

徒手握鼻保定法 此法适用于一般临床检查、灌肠、肌肉及静脉注射。站立于牛颈部右侧，左手握牛角，右手拍打牛的左眼，在牛不断闭眼或眨眼时，右手拇指和食指、中指乘机分别插入其左、右鼻也并捏住鼻中隔，并用力提起拉向右侧。在提拉牛鼻的同时，捉牛角的左手用力前推，牛头应受到压、提、拉三种力量的作用，向左后方弯曲而被固定。

鼻钳保定法 鼻钳是兽医较常用的保定工具，其保定方法是用鼻钳紧夹鼻中隔。对烈性牛，用鼻钳尚不能控制时，可将牛缰绳套于鼻钳或鼻环的基部，用力扭拧，即可控制。

单柱颈绳保定法 此法适用于一般临床检查或直肠检查。将牛的颈部紧贴于单柱，以单绳或双绳作颈部活结固定。

角根保定法 此法适用于头部各器官的检查及豁鼻修补手术。找一支柱，使牛角弯部嵌在支柱上卡紧，利用牛角缰绳由前至后绕柱侧至牛颈背侧，再引向颈对侧，由颈下柱后拉回，并用力拉紧，如牛头仍能摆去，可把缰绳端扭成圈，套在角上，用力向后拉紧即可。

四柱栏和六柱栏保定法 此法适用于各种注射及颈、腹、蹄部疾病的治疗。四柱栏和六柱栏由铁制和木制两种。当动物进入栏后，为防止其前跳或下卧，一定要用绳分别将背上、胸下、腰上、腹下加以约束，限制其活动。绳结就为活结，特别是鼻绳，便于紧急时解脱。

提肢倒牛法 是临床常用的倒牛方法。用一条长约 10 米的圆绳，把绳折成一长一短，于折转处做上套结，套在倒卧侧前肢系部；将短绳经胸下从对侧向上绕过肩部，由倒卧侧一人拉住；长绳端向上从臀部绕住两后肢，交助手牵引。畜主牵牛向前，当牛的倒卧侧前肢抬起时，保定者拉紧短绳端并往下压，同时助手将臀部的绳下移，紧缚两后肢并用力向后拉，前后合力，即可倒卧。牛倒卧后，牵牛人用力按住牛角，拉短绳的人用力抽紧短绳，并压住肩峰部，拉长绳的人压住臀部，另一人将腰部的绳套放松并通过臀、尾部拉至跖部收紧，并与前肢绑在一起。

“8”字形缠绕倒牛法 用两条手指粗的长绳，由两人同时将绳的一端分别拴在非倒卧侧前、后肢球节的上方，再用另一端与倒卧侧前、后肢相应部位作“8”字形缠绕，然后将前肢的绳向后牵引，后肢的绳向前牵引，使四肢大体合于胸腹下而后倒卧。

2.3 猪的保定方法

倒提保定 此法适用于小猪的腹腔注射。保定者双手持猪后肢跗关节、腹部向外，向上提起离地，用膝和大腿夹住猪头部即可。

单柱侧卧保定法 此法适合于大猪的保定。将猪只放倒在立柱或树干旁，使其背部紧贴立柱。取短绳一根，绕立柱关通过猪倒卧上侧腋下，拉紧绳索，使倒卧侧前后蹄离开地面，打结固定。为防止猪向上翻转，一人可向后下方按压倒卧上侧的后肢。

鼻勒保定法 此法适用于体大的，尤其是那些脾气较凶的公母猪，较为高全有效。取一根筷子粗的结实柔软细绳，在绳的一端系一个双活结。保定时，一人抓住猪的两耳并向上提；在猪嚎叫时，把绳的活结立即套入猪的上颌犬齿后面的齿槽间隙内，用力拉紧长绳即可。解脱时只要拉短绳头，绳圈即可全部松懈。猪鼻被勒住时，有只往后退，拒不前过的习惯，故绳套不会松脱，保定牢固。

2.4 羊的保定方法

羊的保定法比较简单，因为它的体型一般不大，脾性温顺。小羊可由助手双手抓住头或四肢作任何形式的保定。个体较大的成年羊即可由助手将两后肢提起，两腿夹住羊体躯保定。必要时可用绳子捆绑四肢保定。

2.5 兔的捕捉和保定方法

正确的捉兔方法，应避免抓两耳，以免损伤耳朵和引起缺血或充血。对幼兔，其个体小，体重轻，可直接抓其背部皮肤，不可握捏太紧；对中兔，应先抚摸消除恐惧感，待静伏后，抓住两耳及颈肩部皮肤，兔多不会挣扎；对成年家兔，因体重较大，须两手配合，一手抓住两耳及颈肩部皮肤，一后托起臀部以支持其体重。

徒手保定 将兔放在手术台上，一手抓住两耳及颈肩部皮肤即可，也可同时用一手扶住臀部。

台架保定 台架由平台和颈夹两部分组成，夹颈孔上部为活动插板，将兔的颈部牢固卡住即可保定。

侧卧保定 一手抓住两耳及颈肩部皮肤，一手捉住两后肢跗部，两手拉紧，将兔侧卧保定在台上。

2.6 犬的保定方法

嘴套保定法 嘴套有皮革和铁制两种，一般选择大小适宜或调节成适宜大小后给犬带上。

头套保定法 取高于犬头长、直径稍粗于犬头的废旧塑料桶一只，去掉桶底，边缘磨圆，距边缘1~2厘米处等距离钻4个孔，每孔系上布条或细绳并结成环套，再用皮革颈圈或绷带穿入环套。保定时将圆桶套在犬的头颈部，收紧颈圈扣牢或将绷带打结固定。

徒手倒卧保定法 先将犬做所嘴保定，然后两手分别抓住犬的两前肢腕部和两后肢的跖部，将犬提起横卧在平台上，以右手的臂肘压住犬的颈部保定。

颈钳保定法 此法对凶猛咬人的犬保定可靠，也适用于捕捉于兴奋状态的病犬。颈钳由90~100厘米的铁杆制成，钳端是两个20~25厘米半圆形的铁嘴，大小恰能套入犬的颈部。保定时，张开钳嘴，夹住犬的颈部将其按在地上，由助手拉住犬的两后肢使犬呈侧卧或仰卧。仰卧时，可先将犬的两后腿向后并向外翻转成“V”字形，然后用左右脚掌分别踩住犬的两后肢跖部。

2.7 猫的保定方法

徒手保定 此法适用于性情温驯的猫。保定成年猫时，应由两个操作。一个抓住猫的颈背部皮肤，另一人双手分别抓住猫的两前肢和两后肢，将猫牢牢固定。

台架保定 同兔台架保定法。

猫袋保定 用人造革或粗厚布制成大、中、小型号的猫袋。

保定钳保定法 此法适用于250克以上的猫。保定夹由手柄、活动关开和钳嘴呈90度弯曲，闭合时形成一个较大的椭圆形颈引和两个较小的椭圆形的臂孔。保定时，使钳手柄位于猫的颈背部，钳嘴弯曲朝向猫的颈腹部，张开钳嘴，将猫颈部夹于颈孔内，两前腿平夹于臂孔内，使猫侧卧。然后一手握紧钳柄，另一手握住猫的两后腿即可。

颈钳保定法 此法适用于野性较大的猫。颈钳的结构与犬的颈钳相似，只不过小一些而已。保定时一人用颈钳夹住猫的颈部，另一人双手分别捉住猫的前后肢。

2.8 大鼠的保定方法

双手戴上手套，一只手掌紧紧地置于其背腰部，用大拇指和食指在下颌后部将头固定，另一只手托住后躯进行保定，也可用特制的塑料圆柱形固定器保定。

2.9 小鼠的保定方法

将小鼠置于网格上，右手拉紧小鼠尾巴，待其安定，左手大拇指和食指拧住其颈部皮肤提起，右手将其尾部稍拉直，左手无名指扣住尾根，松开右手，即可对其进行注射。

3. 投药法

3.1 拌料给药法

3.1.1 适用范围

当发病动物尚有食欲或大群动物发病和进行药物预防里使用。

3.1.2 方法

根据动物的数量、采食量、给药剂量计算出药物和饲料的用量，准确称取后将所用药物先混入少量饲料中，反复拌和，然后再加入部分饲料拌和，这样多次逐步递增饲料，直至将饲料混完。

3.1.3 注意事项

用于混饲的药物一般为粉剂或散剂，如为片剂应将其研成细粉状，混药的饲料也应为粉末状；药物应无异味或刺激性。

3.2 饮水给药法

3.2.1 适用范围

尚有饮欲的发病动物以及大批动物进行药物防病和经口补液。

3.2.2 方法

根据动物的数量、采食量、给药剂量计算出药物和水的用量，药物应充分溶解于水，并搅拌均匀。投药前停止供水 1-2 小时，然后再饮用药水。

3.2.3 注意事项

饮水应清洁，不含有害物质和其他异物，不宜采用漂白粉的自来水来溶解药物；一般在水中不易破坏的药物，可以在一天内饮完；在水中一定时间易破坏的药物，宜在规定时间内饮完，以保证药效。

3.3 经口灌药法

3.3.1 适用范围

适用于水剂药物或散剂及研碎的片剂等加适量的水而制成的溶液、混悬液。此法多用于牛。

3.3.2 器材

灌角、灌药瓶（长颈的塑料瓶、橡胶瓶）、竹筒（斜口）、药匙或不接针头的注射器、开口器等。

3.3.3 方法

重点详细介绍牛的经口灌药法。首先要站立保定，使口角与眼角连线呈水平。术者站在牛头斜前方，左手从牛的右侧口角处伸入口腔，并压着舌头，右手持灌药瓶，自牛的左测口角伸入舌背部，抬高瓶底并轻轻振抖。

3.3.4 注意事项

灌药前应将动物保定确实，防止被动物抓、咬伤；每次灌入量不宜过多，不能连续灌，以防误咽；灌药中，如发生强烈咳嗽时，应立即停止灌药，并放低动物头部，促使药物咳出。

3.4 胃管投药法

3.4.1 适用范围

适用于各种动物疾病的治疗；探查食道的通透性；抽取胃液，排出胃内气体及胃内容物；人工喂饲流食；中毒或过食的洗胃。

3.4.2 器材

胃管、开口器、漏斗、注射器等。

3.4.3 方法

首先保定动物，使头部稍高抬固定，然后装上开口器，术者取胃管，从开口器的中间孔插入，前端抵达咽部，轻轻来回抽动以刺激吞咽动物，随动物吞咽时将胃管插入食道中。胃管投药时，必须准确判断是否插入食道，否则会将药液误投入气管和肺内（判定胃管正确插入食道方法见下表）。判定胃管正确插入食道后，再将胃管推送到颈部下 1/3 处，外连接漏斗，先投少量清水证明无误后，即可投药。

鉴别方法	胃管插入正误判定方法	
	插入食道内	误入气管内
手感和观察反应	胃管前端到达咽部时稍有抵抗感，胃管进入食道，推送胃管稍有阻力感，发涩	推送胃管无阻力，有时咳嗽，骚动不安
来回抽动胃管	胃管前端在食管沟呈的明显的波浪式蠕动	无波动
向胃管内充气反应	随气流进入，颈沟部见明显波动	无波动感
接压扁的橡皮球	橡皮球不再鼓起（反刍兽除外）	压扁的橡皮球迅速鼓起
将胃管外端放到耳边听	听到不规则的“咕噜”声或水泡声，无气流部击耳边	随呼吸动物作出现有节奏的呼出气流
将胃管外端浸入水中	无气泡或出现与呼吸无关的气	随呼吸动作出现规律性水泡
触摸颈沟部	颈沟区有一硬的管索状物，抽动胃管更明显的酸臭气	无
鼻嗅胃管外端气味	有酸臭气	无
外接注射器回抽（小动物）	抽不动，或胃管变扁，松手后注射器内芯回缩	轻松抽动，有大量气体进入注射器

3.4.4 注意事项

患病动物呼吸极度困难或有鼻炎、咽炎、喉炎时，应禁用胃管给药；插入或抽动胃管时要小心、缓慢，不宜粗暴；当胃管进入咽部或上部食道时，有时会发生呕吐，此时应放低动物头部，以防呕吐物误入气管中。

3.5 片剂、丸剂、舔剂投药法

3.5.1 用具

舔剂一般可用光滑的木片或竹片。丸剂、片剂可用徒手投服，亦可用镊子投服，必要时可用投药枪。

3.5.2 方法

将动物确实保定，打开或撬开动物口腔，另一手持药片、药丸或用竹片刮取舔剂，自另一侧口角送入舌根部投药，争速抽出手、竹片或镊子等，使其闭口，并用右手掌托其下颌骨，使头稍高抬，让其自行咽下。投药后视其需要可灌少量饮水。

4. 注射法

4.1 皮下注射法

4.1.1 适用范围

凡是易溶解、无强烈刺激性的药品及疫苗等，都可进行皮下注射。

4.1.2 注射部位

注射部位多选择在皮肤较薄、富有皮下结缔组织、松弛易移动而活动性较小的地方。大动物多在颈部两侧；猪在耳根后或股内侧；羊在颈侧、肘后或股内侧；兔在背部皮下；犬猫在颈侧、背部两侧或股内侧；禽类在翼下。

4.1.3 方法

将动物保定，注射部位剪毛，消毒，采用同心圆消毒法(用消毒镊子夹持 5%的碘酊棉球或 75%酒精棉从注射部位的中心以同心圆向周围涂擦)。注射时，左手中指和拇指捏起注射部位的皮肤，同时以食指指尖压皱褶向下陷呈窝状，右手持注射器，从皱褶基部陷窝处刺入皮下 2-3 厘米，如果感觉针尖无抵抗，并能自由活动时，左手把持针头结合部，右手推压针筒活塞，即可注射药液。

4.1.4 注意事项

刺激性较强的药品，不能作皮下注射；如需注射大量药液时，应做分点注射。

4.2 皮内注射法

4.2.1 适用范围

用于某些疾病的变态反应诊断或进行药物过敏试验及炭疽苗、绵羊痘苗等的预防接种。

4.2.2 注射部位

注射部位根据动物种类不同和注射目的不同可在颈侧中部或尾根内侧。

4.2.3 方法及注意事项

用卡介苗注射器吸取药后，排出注射器内的空气。局部常规消毒处理后，左手将皮肤捏起皱褶，注射器针头斜面向下，在皮肤皱褶的顶部与注射部位皮肤呈小于 35 度角刺入皮内 0.2-0.5 厘米，深达表皮和真皮层之间，缓慢注入药液。注射正确时，感到推药有较大的阻力，注射部位形成小豆大的隆起硬结。

4.3 肌肉注射法

4.3.1 适用范围

有一定刺激性和较难吸收的药液、静脉注射有副作用的药液、不能进行静脉注射的油剂和乳剂等都可采用肌肉注射法。

4.3.2 注射部位

凡肌肉丰满的部位均可进行肌肉注射，但应注意避开大血管及神经的径路。

4.3.3 方法

左手的拇指与食指轻压注射局部，右手按执笔式持吸好药液的注射器使针头与皮肤呈垂直状态，避开大血管及神经的径路，迅速刺入肌肉中 2-4 厘米，而后用左手拇指、食指把持针头结合部，以食指指节顶在皮上，再用右手抽动针筒活塞，确认无回血时，即可注入药液。

4.3.4 注意事项

具有强刺激性的药物不能进行肌肉注射；注射针头刺入的深度，一般呆刺入 2/3，不宜全部刺入，以防针头折断；对于皮厚或保定不确实的大动物，可先进针，再连接吸好药液的注射器进行注射。

4.4 静脉注射法

4.4.1 适用范围

大量的补液、输血；以治疗为目的急需速效的药物；一般刺激性较强的药物或皮下、不能肌肉注射的药物等可采用静脉注射。

4.4.2 注射部位

马、牛、羊等在颈静脉的上 1/3 与中 1/3 交界处；猪在耳静脉或前腔静脉；犬、猫在前肢正中静脉或后肢隐静脉；禽类在翼下静脉；特殊情况也可在胸处静脉注射，如奶牛乳房静脉。

4.4.3 方法

颈静脉注射法 动物站立保定，头前伸并偏向注射侧的对侧以暴露注射侧颈静脉，局部剪毛消毒；用左手拇指横压注射部位部位稍下方的颈静脉沟上，使静脉管充盈怒张；右手持注

射器，使针尖斜面向上，沿颈静脉径路，在压迫点上方约 2 厘米处，使针类与皮肤呈 30-45 度角，准确迅速地刺入静脉内，手感空虚，轻轻抽动针筒活塞见有回血后，再沿血管向前顺针，将针头尽量顺入血管；松开左手同时用拇指、食指固定针头结合部，放低右手减少其间角度，推动针筒活塞徐徐注入药液；注射完毕，左手持酒精棉球压紧针孔，右手迅速拔出针头，然后涂 5%碘酊消毒。

耳静脉注射法 动物站立保定或侧卧保定，耳静脉局部剪毛，消毒；一人用手捏住耳背面的耳根部的静脉管处，使静脉怒张，或首先用手指头弹扣，或用酒精棉球反复涂擦耳背部，以引起血管充盈，黑色皮肤耳静脉注射时，为看清血管以利于注射，可用手电筒在耳腹面照射进行，此法也适合夜间静脉注射。以下步骤同颈静脉注射法。

猪前腔静注射法 主要用于大量输液或采血。前腔静脉是由左右两侧的颈静脉与腋静脉至第一对肋骨间的胸腔入口处，于气管腹侧面汇合而成。注射部位在第一肋骨与胸骨柄结合处的前方。由于左侧靠近膈神经，刺入深度依猪体大小而定，一般为 2-6 厘米，一般选用 16-20 号针头。步骤同颈静脉注射法。

犬、猫静脉注射法 犬、猫的静脉注射可在颈静脉或前肢正中静脉、后肢隐静脉进行。先交局部被毛分开或剪毛、消毒，然后由一人将静脉近心端压紧（或用橡胶带扎紧），使静脉怒张。注射时用左手握住肢部前韧带局部皮肤，右手持注射器，将针头先刺入血管处的皮下，再与血管平行刺入静脉内，回抽针管活塞，如有回血，则用左手拇指压住针头结合部，松开压紧静脉的手或解开橡胶管后，慢慢向静脉内注入药液。注完后再用酒精棉环压紧针孔，再涂擦碘酊。

4.4.4 注意事项

严格遵守无菌操作规程，注射用具及注射部位均应严格消毒；注射时要排尽注射器或输液橡胶管中的气泡；混合注射多种药液时应注意配伍禁忌，油类制剂不能作静脉注射；输液过程中要经常注意动物的表现，如有骚动、出汗、气喘、肌肉震颤等征象时，应立即停止注射；静脉注射药液的温度要接近于动物的体温，冬天进行静脉注射时需先将药液进行温热后再使用。

4.5 气管内注射法

4.5.1 适用范围

用于牛、羊、犬、猫等呼吸器官疾病的治疗。

4.5.2 注射部位

注射部位一般选择在颈中上部、腹侧面正中，两个气管软内环之间。

4.5.3 方法

动物站立保定，抬高头部，暴露颈部；术者一手握住气管，另手持注射器，于两个气管环之间，垂直刺入气管内。如有突然落空感，或摆动针头感觉前端空虚，回抽有多量气体进行注射器，即可缓缓注入药液。

4.5.4 注意事项

注射前宜将药液加温至体温程度，以减刺激；注射过程中如动物咳嗽时，应暂停，待安静后再注入药液；注射速度宜慢，最好滴注。

4.6 胸腔内注射法（或肺内注射法）

4.6.1 适用范围

将某些药物直接注射于胸腔或肺内，是治疗胸膜炎或肺炎的有效疗法，适用于各种动物。

4.6.2 注射部位

肩胛后角的垂线、肩胛后角水平线与第九肋间的交点至肘突的弧形区域内。或在左右两侧第六至第八间隙的中上部。

4.6.3 方法

动物站立保定；术部剪毛消毒。术者左手于注射部位先将局部皮肤稍向前方拉动 1-2 厘米；右手持注射器，沿骨前缘垂直快速刺入 3-5 厘米（胸膜腔注射只要进入胸腔，有落空感即可），快速注入药液后，迅速拔出针头，使皮肤复位，并进行消毒处理。

4.6.4 注意事项

为防止损伤肺脏，应采用“快进针、快推药、快抽针”的三快原则；注射过程中应严防空气进入胸腔；刺入针头后抽应无血液方能注射。

4.7 腹腔内注射法

4.7.1 适用范围

腹腔能容纳大量药液，腹膜有吸收能力，其药物作用速度仅次于静脉注射。故可用腹腔注射进行大量输液和注入药液进行治疗，尤其适用于腹膜炎、胃肠炎等腹部器官疾病的治疗。

4.7.2 注射部位

马的腹腔内注射在左侧胁窝部；牛羊在右侧胁窝部；犬、猫、兔、小猪在耻骨前缘 3-5 厘米，腹正中线旁 1-3 厘米处；大猪可在两侧后腹部注射。

4.7.3 方法

大动物站立保定，中、小动物倒提后肢保定或仰卧并稍抬高后躯保定。局部剪毛、消毒。左手把握动物的腹侧壁，右手持注射器或连接输液乳胶管的针头于注射部位垂直入 2-3 厘

米，针头进入腹腔后抵抗力突然减弱，回抽无血及粪便残渣，缓慢注入药液或进行输液，注射药物时阻力较小。

4.7.4 注意事项

腹腔注射宜用无刺激性药液；如进行腹腔大量补液，则宜用等渗溶液，并最好将药液加温至接近体温的程度；注射中应防止针头损伤内脏。

4.8 乳房内注射法

4.8.1 适用范围

将药物通过导乳管注入乳池内，主要用于奶牛、奶山羊等乳房炎的治疗；通过导乳管注入空气，治疗奶牛生产瘫痪。

4.8.2 方法

动物站立保定，挤静患区内的乳汁或分泌物，清洗乳房，拭干后用70%酒精擦拭乳头管口及乳头消毒。以左手将乳头握于掌内，轻轻向下拉，右手持灭菌消毒的乳导管涂以润滑剂，自乳头口慢慢插入，再以左手把握乳头及导乳管，右手持注射器与导乳管结合，然后将药物缓慢注入乳房。如果是进行乳房送风，可将导乳管与乳房送风器连接，4个乳头分别充气，充气量以乳房的皮肤紧张，乳房基部的边缘清楚，轻叩乳房发出鼓音为标准。

4.8.3 注意事项

操作时应注意无菌，以防感染；导乳管或针头插入前应涂以消毒的润滑油，插入时动作要轻，以防操作乳头管黏膜。

4.9 子宫内注入法

4.9.1 适用范围

适用于子宫炎（如胎衣不下、难产助产后）的防治，子宫蓄脓的冲洗治疗。

4.9.2 方法

用一硬胶皮管或塑料管，后端接上漏斗。术者右手携带管头从阴道伸入，触摸子宫颈，然后将管头通过子宫颈导入子宫内，左手握住漏斗或由助手把持漏斗，慢慢注入药液，洗后放低漏斗，使子宫内液体倒流出来，然后再提高漏斗，反复进行冲洗。

4.9.3 注意事项

急性子宫内膜炎时，子宫较脆，尽量不要冲洗子宫，如确需冲洗要十分小心。

5. 直肠给药法及灌肠技术

直肠给药是将药物直接或通过导管投入直肠内，以促进药物的吸收和进行补液治疗的方法；灌肠是向肠道内注入大量药液，通过肠壁吸收药液、排出蓄粪及异物、促进有毒物质的

排出等来治疗疾病的一种方法。

5.1 适用范围

5.1.1 直肠给药，促进药物的吸收和补液治疗。治疗肠炎时灌注消毒剂或收敛剂或抗菌消炎药物，使药物直接作用于肠黏膜；当营养失调时将营养剂制成溶液，通过灌肠使营养物质吸收；在严重脱水或动物太小，静脉给药无法实施时，通过肠壁吸收达到补液给药的目的。

5.1.2 排出蓄粪及异物。当大量粪便停留于肠道内而发生便秘时，通过灌肠能使粪便软化、润滑肠管并增强肠道蠕动，以过到排出结粪的目的。

5.1.3 用于洗肠、排出有毒物质。应用消毒收敛剂量洗肠，以清除肠内的分解产物和炎症渗出物，这种方法需要反复地注入和排出。

5.2 方法

动物站立保定，尾巴用绷带缠缚，将尾吊起。将药物注入灌肠器或水桶内，并高高地吊起来。灌肠器的一端放入水桶，连接胶管的一端从肛门插入直肠，药液以虹吸原理徐徐流入肠管。

小动物的灌肠，通常在治疗台上或者手术台上站立或横卧保定，选用粗细适度的灌肠器插入肠道一定深度，用注射器或洗耳球缓慢注入适量灌肠液体。

5.3 注意事项

当直肠内有蓄粪时，应通过直检等人工方法排出蓄粪，然后再注入药液；以药物治疗和补液为目的时，为防止药液排出，可将尾根下压在肛门上，或在灌注药液的同时，按摩腹部以使药液向深部扩散；严重的胃肠弛缓时，严禁大剂量灌肠，否则会导致灌入液体无法出排出，加重病发表情。

6. 涂搽给药法

6.1 适用范围

涂搽给药法是将液体制剂、搽剂、糊剂、软膏剂及硬膏剂等搽在皮肤或黏膜上，以治疗疾病的方法。

6.2 方法

液体制剂使用刷子，糊剂、软膏及硬膏制剂等可用手指或膏药匙刀充分地涂抹在皮肤上。

6.3 注意事项

具有强烈的刺激性的药物禁用手指涂抹；将药剂涂布于颊佳或黏膜的表面，不必搽入；为防止动物舔食涂搽的药物引起口腔炎或中毒，应给动物带上适当的口笼或网罩。

7. 局部给药法

7.1 眼的局部给药

药物可分眼药水、眼药膏、结合膜下注射药和洗眼药等。眼药水滴入眼角结合膜囊内，勿使滴管与眼睛接触；眼药膏挤入下眼睑的边缘处。

7.2 耳的局部给药

内耳禁忌使用大量的药液或粉剂。稀薄的油膏或丙二醇常作为耳局部用药的赋形剂。常用的药物有抗生素、过氧化氢和利凡诺等。向耳内滴入几滴，然后用手掌轻轻按摩，以便使药物与耳道充分接触以发挥药物作用。

7.3 鼻的局部给药

常用等渗药液滴入鼻腔内，勿使滴管接触鼻腔黏膜。鼻腔内禁用油膏，因为它会损伤鼻黏膜或因不慎吸入产生类脂性肺炎。

六、作业与思考

1. 动物的接近和保定方法有哪些？
2. 动物的接近和保定应注意哪些？

附录：

参考文献：

(夏维福 王京仁)

实践四 小动物临床检查

一、实践目的

1. 通过实践，学生能够熟练掌握小动物的保定、一般检查和各系统检查的检查方法、技术和注意事项。
2. 了解各种小动物的生活习性和攻击人时的神态，确保检查时人和小动物的安全。
3. 对现症的检查结果，应进行综合分析和判断，从而得出准确的诊断。

二、实践内容

1. 小动物的保定方法
2. 小动物的一般检查方法
3. 小动物的系统检查方法

三、实践材料

犬、猫

四、实践用品与用具

根据各项实习内容的需要，准备好实习器械，如听心音时的听诊器，测量体温时的体温计等。

五、实践方法

1. 小动物的保定

保定是以人力或器械控制小动物，限制其防卫活动，以达到保障人和动物安全，便于诊疗工作顺利进行为目的。保定方法有多种，可根据动物种类、个体大小、行为和诊疗目的选择不同的保定法。

1.1 犬的保定法

①口套保定法 口套有皮革制品和铁丝制品两种，选择大小合适的给犬带在嘴上，即可防止咬人。根据诊疗工作的需要，令犬站立或侧卧，保定人员抓住脖圈，固定好头部，防止头部活动即可。如无嘴套，可用绷带或细绳代替，即在中间绕两次成圈，套在犬上、下颌上，在两颌间隙系紧，其两游离端沿下颌拉向耳后收紧打结。也可将活圈套在犬下颌犬齿后方，再将两游离绕到鼻背侧收紧打结。

②站立保定法 站立保定最好由犬的主人进行。其他人员保定时，声调要温和，态度要友善，举动要稳妥，避免粗暴的恐吓和突然动作。保定人员要站于犬的左侧，面向头部，边接近犬边低声调呼唤犬，右手轻拍犬的颈部和胸下方或挠痒再用牵引带套住犬嘴。

③倒卧保定法 是将犬的一侧卧于手术台上，用细绳或绷带将两前肢和两后肢分别捆绑在一起，再用细绳将前后肢系紧在手术台上，以防犬骚动，助手按住犬头部，即可进行诊疗工作。一般静脉注射或局部治疗处理常用此法保定。但在腹部或会阴部手术时，常需采用仰卧保定法。即先将犬侧卧于手术台上，然后分别在四肢球节下方栓绳，并在手术台上拴紧，使四肢伸展，仰卧。另用一细绳将犬头保定于手术台上，防止活动，即可进行手术或其他诊疗措施。

④颈圈保定法 颈圈是一种防止自身损伤的保定装置，在小动物临床应用很普遍。有圆锥形、圆盘形两种。该保定法既可使头不能回转舔咬躯干、四肢受伤部位，也可防止后爪搔抓头部。

1.2 猫的保定法

①抓猫保定法 保定者应戴上厚革制长筒手套，抓住猫颈、肩、背部皮肤，提起，另一

手快速抓住两后肢伸展，将其稳住，以达到保定的目的。

②猫袋保定法 选用一个与猫体大小相适的猫袋（用人造革或帆布缝制，两端开口，系上可抽动的带子），将猫装进去。将一后肢露在袋子外，然后收紧袋口，同时用手拉住其后肢。注意颈部不能收得过紧，防止发生窒息。

③扎口保定法 同犬的口套保定法。

④颈圈保定法 方法同犬。多用 X 射线胶片制成圆锥形颈圈。

图于书上扫描

2. 小动物的一般检查

一般检查是诊断患病动物的初步阶段，借以了解动物的体况，为系统检查提供方向和重点。一般检查通常包括全身状态、被毛和皮肤、可视黏膜、淋巴结、体温、脉搏及呼吸数的检查。

2.1 全身状态

① 精神状态

检查方法：主要观察动物的神态，根据其耳的活动，眼的表情及对外界的刺激反应情况和举动而判定。健康小动物表现灵活，反应敏锐，眼睛明亮；精神异常时，则表现为抑制（沉郁、嗜睡或昏迷）或过度兴奋（狂躁不安、惊恐、乱咬、嚎叫等）。一般见于脑病或中毒。

② 营养、发育与体格

健康动物营养良好，肌肉丰满，被毛平顺而有光泽，皮肤有弹性，骨骼发育与年龄和品种相称。个体消瘦，骨骼明显外露，被毛粗乱无光，皮肤弹性降低，则为营养不良。可见于营养缺乏及代谢扰乱性疾病，长期的消化障碍（胃肠卡他）及慢性消耗性疾病（发热病，某些传染病及寄生虫病）等。

③ 姿势与体态

健康的小动物姿势自然，运动自如、协调。当中枢神经系统功能紊乱或骨骼、关节、肌肉损伤时，则表现站立不稳、共济失调、跛行或异常姿势等。

2.2 被毛和皮肤

①被毛状态与脱毛

检查方法：注意被毛的清洁，光泽，完整及生长是否牢固，整齐，平顺而光滑，是否有脱落现象。

被毛蓬松粗乱、失去光泽、易脱落或换毛季节推迟，多是营养不良和慢性消耗性疾病的表现。局部被毛脱落，见于湿疹等皮肤病。

②皮肤温度与湿度

检查方法：用手触诊。应注意动物的皮温和湿度根据动物的种类、部位和气候不同而有差别。

健康的犬、猫的鼻端一般凉而湿润，但睡眠时干燥。鼻端、耳根、股内侧发热时，体温多升高。局部皮温升高，常见于局部炎症。如耳鼻发凉，肢稍冷感，见于心力衰竭，虚脱及休克。

犬的汗腺不发达，多分布于蹄球，趾球，脚垫，鼻端等。

③皮肤弹性

检查方法：在小动物的背部一处皮肤作一皱襞后放开，观察其恢复原态的情况。

健康犬皮肤柔软，可捏成皱褶，松开后立即恢复原位。如果恢复很慢，见于营养障碍，脱水等。

④发疹

发疹是皮肤病的表现。根据发疹的性质可分为水疱、脓疱、溃疡、糜烂、脱屑、痂皮、

瘢痕等不同时期。检查时应特别注意眼，唇周围及蹄部、趾间等处。

⑤皮肤肿胀

常见的肿胀有水肿，气肿，血肿，脓肿，炎性肿胀及肿瘤等。通过触诊可以区别。

水肿：也称浮肿。触诊呈捏粉样，指压留痕，常见于心力衰竭及肾脏疾病等。

气肿：触诊呈捻发音，边缘轮廓不清，常见于肘后、肩胛、胸侧等处。

血肿：最初的肿胀有明显的波动且有弹性，以后则坚实，并有捻发音，肿胀中间有波动，局部增温。

脓肿：开始局部热痛，触之坚实，以后脓肿成熟，触诊有明显的波动感，穿刺抽取内容物可进一步区分。

炎性肿胀：常伴有红、肿、热、痛等特征，见于感染创等。

2.3 可视黏膜的检查

临床上主要检查眼结膜。方法是用两手的拇指打开上下眼睑进行检查。正常犬、猫的眼结膜为淡红色。常见的病理变化有以下几种：

潮红 潮红是结合膜病理性充血，可分浅表性和深层性充血两种。前者是典型的眼外部受到异物刺激、细菌感染或过敏性反应的表现；后者则是角膜或眼内部病变特征。

苍白 急性发生苍白可见于大失血及肝脾等内脏破裂，若逐渐发生苍白，可见于一些慢性消耗性疾病，如慢性消化不良，寄生虫病，营养性贫血等。

黄染 为胆色素代谢障碍，血液内胆色素增多的结果，见于溶血和肝实质病变、胆结石等。

发绀 是不同的蓝紫色，常见于机体缺氧（如肺炎），循环障碍，某些中毒。

2.4 体表淋巴结的检查

体表淋巴结的检查时应注意的淋巴结主要有颌下淋巴结、颈浅淋巴结、腋下淋巴结、腹股沟淋巴结和膝窝淋巴结等。常用触诊的方法检查其大小、形状、硬度、表面状态、敏感性及其可动性。

急性肿胀 体积明显增大，表面光滑，触之温热，敏感坚实。见于周围组织器官的急性感染。

慢性肿胀 淋巴结坚硬，表面凹凸不平，无热无痛，与周围组织粘连而固着，可动性差。

化脓 淋巴结肿胀，隆起，皮肤紧张，增温敏感，有波动。

2.5 体温、脉搏及呼吸的测定

①体温的测定 通常测直肠的温度，测定时，先将体温计的水银柱甩到最低刻度以下，用酒精棉球擦拭消毒并涂以润滑剂后，将犬尾根稍上举，将体温计缓慢地插入肛门内，体温计后端系一小夹子，把夹子固定在犬背部毛上，以防体温计脱落。经3min后取出，读取度数。

幼犬：38.2~39.2℃ 成年犬：37.5~38.7℃ 成年猫：38.1~39.2℃

体温升高见于多数传染病、炎症及日射病和热射病等，体温降低主要见于重度衰竭，濒死期。

②脉搏检查

检查方法：一般检查后肢股内的股动脉，左手握住小动物的一侧后肢的下部，右手的食指及中指放于内侧的股动脉上，拇指放于股外侧。

正常犬为70~160次/min，小型犬180次/min以上，猫110~240次/min。当犬猫剧烈运动、兴奋、恐惧、过热、妊娠时，脉搏可一时性增多。

脉搏增多见于各种发热性疾病、心脏疾病、贫血及疼痛等；脉搏数减少见于某些脑病及中毒，也可见于胆血病，窦性心动过缓等。

③呼吸率的测定

呼吸数测定一般根据胸腹部的起伏动作而测定，胸壁的一起一伏为一次呼吸。健康犬的呼吸数为 10~20 次/min，猫为 14~20 次/min。当犬猫运动、兴奋及过热时，呼吸数明显增多。

呼吸数增多见于发热性疾病，肺部疾病，脑炎及破伤风等；呼吸数减少，见于某些脑病，狂犬病末期等。

3. 小动物的系统检查

3.1 循环系统的检查

①心脏听诊：

心音 在每个心动周期中，可以听到“嗵—哒”两个心音，前一个音调低而钝浊，持续时间长，尾音也长，称为第一心音（也称缩期心音）。第二个音调较高，持续时间较短、尾音终止突然的称为第二心音（也称张期心音）

心音的病理改变

心音频率的改变： 窦性心动过速，兴奋来自窦房结，心率均匀而快速，犬超过 200 次/min，见于发热及心力衰竭；窦性心动过缓，兴奋形成发生障碍或迷走神经兴奋性增高所致。心率在 60 次/min 以下，见于黄疸，颅内压增高或洋地黄中毒等。

心音强弱的改变： 两心音同时增强见于热射病初期、剧烈性疼痛、贫血、心脏代偿机能亢进。第一心音增强，见于房室瓣口狭窄及贫血；第二心音增强，是由于主动脉或肺动脉血压升高所致；两心音减弱，见于心脏衰竭的后期及其他疾病的濒死期；第一心音减弱，仅见于心肌梗死或心肌炎的末期；第二心音减弱，见于血容量减少性疾病，主动脉瓣口狭窄或闭锁不全。

心音性质的改变： 心音浑浊是指心音含混不清，两心音缺乏明显的界限，可见于心肌变性以及瓣膜肥厚。金属样心音见于肺空洞，心包积气等。

心脏杂音 心脏杂音分为心内杂音和心外杂音，心内再因又分为器质性杂音和非器质性杂音，器质性杂音包括缩期杂音、张期杂音和连续性杂音。心外杂音包括心包摩擦音、心包拍水音和心肺杂音。心外杂音在犬较少见。

②动脉检查：

动脉压的测定：

检查方法：犬取站立姿势，将血压计袖袋绑在股部进行测量。

健康犬收缩压为 16.0~18.7kPa 舒张压为 4.0~5.3kPa，脉压为 12.0~13.3kPa。血压降低可见于心机能不全、休克等；血压升高见于急、慢性肾炎。

毛细血管充盈时间测定

检查方法：保定被检犬头部，并将上唇提起，露出上切齿的齿龈黏膜。用手指压齿龈黏膜 1~2s，然后移去手指，观察齿龈黏膜恢复原来颜色所需要的时间。

健康犬齿龈黏膜毛细血管再充盈时间为 1s 左右，毛细血管再充盈时间延长，见于心力衰竭、脱水及休克等。

3.2 呼吸系统的检查

①呼吸类型的检查 观察吸气与呼气时胸廓与腹壁起伏状况和强度。

健康犬、猫为胸式呼吸，即在呼吸时，胸壁运动明显。如果呈现的是胸腹式或腹式呼吸即为病态，表明病变多在胸部，如胸膜炎，心包炎。

②呼吸节律的检查 观察每次呼吸动作的强度、间隔时间是否均等。

健康犬猫在吸气后紧随呼气，经短时间休止后，再行下次呼吸。每次呼吸的间隔时间和强度大致相等，即呼吸节律正常。

典型的病理性呼吸节律有：陈——施二氏呼吸（由浅到深再至浅，经暂停后复始），如脑病，重度肾病及某些中毒性疾病；毕欧特氏呼吸（深大呼吸与暂停交替出现），见于胸壁疼痛，慢性肺泡气肿等；库斯茂尔氏呼吸（呼吸深大而慢，但无暂停），见于脑及脑膜的炎症，脑水肿等。

③呼吸困难的检查 仔细观察小动物鼻的扇动情况及胸、腹壁的起伏和肛门的抽动现象，注意头颈、躯干和四肢的状态和姿势；并听取呼吸喘息的声音。健康犬猫呼吸时，自然而平顺，动作协调而不费力，呼吸频率相对正常，节律整齐，肛门无明显抽动。

呼吸困难时，呼吸异常费力，呼吸频率有明显改变(增或减)，补助呼吸肌参与呼吸运动。尚可表现为如下特征：

吸气性呼吸困难 头颈平伸、鼻孔开张、形如喇叭，两肋外展，胸壁扩张，肋间凹陷，肛门有明显的抽动。甚至呈张口呼吸。吸气时间延长，可听到明显的吸气性狭窄音。

呼气性呼吸困难 呼气时间延长，呈二段呼出；补助呼气肌参与活动，腹肌极度收缩，沿季肋缘出现喘线(息劳沟)，常见于慢性肺泡气肿，细支气管炎等。

混合型呼吸困难 具有以上两型的特征，但狭窄音多不明显而呼吸频率常明显增多。临床上最常见，如各型肺炎，心功能不全，严重贫血，严重脑病等。

④ 上呼吸道的检查

鼻液检查

检查方法：首先观察动物有无鼻液，对鼻液应注意其数量、颜色、性状、混有物及一侧性或两侧性。患病的动物可见有：浆液性鼻液，为清亮无色的液体；粘液性鼻液，似蛋清样；脓性鼻液，呈黄白色或淡黄绿色的糊状或膏状，有脓臭味；腐败性鼻液，污秽不洁，带褐色，呈烂桃样或烂鱼肚样，具尸臭气味。此外，应注意有无出血及其特征(鼻出血鲜红呈滴或线状；肺出血鲜红，含有小气泡；胃出血暗红，含有食物残渣)、数量、排出时间及单双侧性。

喉及气管的检查

检查方法：外部视诊，注意有无肿胀等变化；用手从喉头和气管的两侧进行触压，判定其形态及肿胀的性状；也可在喉和气管的腹侧，自上而下听诊。

健康动物的喉和气管外观无变化；触诊无疼痛；听诊有类似“赫”的声音。

在病理情况下可见有：喉和气管区的肿胀，有时有热痛反应，并发咳嗽；听诊时有强烈的狭窄音、哨音、喘鸣音。小动物还可作喉的内部直接视诊。检查者将动物头略为高举，用开口器打开口腔，用压舌板下压舌根，对光观察；注意观察粘膜的颜色，有无肿胀物和附着物。

咳嗽的检查

检查方法：注意听取其自发咳嗽、辨别是经常性还是阵发性，干咳或湿咳，有无疼痛、鼻液等伴随症状。必要时可作人工诱咳，以判定咳嗽的性质。

小动物诱咳法 经短时间闭塞鼻孔或捏压喉部、叩击胸壁均能引起咳嗽。犬在咳嗽时有时引起呕吐，应注意以免重视了呕吐而忽视了咳嗽。

在病理情况下，可发生经常性的剧烈咳嗽，其性质可表现为：干咳(声音清脆，干而短)；湿咳(声音钝法、湿而长)；痛咳(不安、伸颈)。甚至可呈痉挛性咳嗽。

⑤胸部检查

胸部视诊 应注意观察胸廓的形状、两侧的对称性及呼吸运动是否匀称。

胸部触诊 主要是感觉胸壁的温度和敏感性。

胸部扣诊 多采用手指扣诊法，主要用于判定肺和胸膜腔的病理变化。

胸部听诊 犬胸部听诊对支气管、肺和胸膜疾病的诊断具有特别重要的意义。在病理情况下，可见肺泡呼吸音的增强或减弱，甚至局部消失。还可听见病理性呼吸音或附加音，病理性支气管呼吸音、混合性呼吸音(“呖”——“赫”)，湿啰音(似水泡破裂音，以吸气末期为明显)，干啰音(似哨音、笛音)、胸膜摩擦音(似沙沙声、粗糙而断续，紧压听诊器时明显增强，常出现于肘后)、拍水音、捻发音、空瓮音。

3.3 消化系统的检查

①饮食欲检查

食欲检查 可通过观察犬、猫对食物的要求欲望和采食量来加以判断。食欲减退，可见各种热射病、代谢病、各种胃肠病等；食欲废绝见于各种高热性疾病和急性胃肠道疾病，提示疾病严重。食欲亢进，可见于重病恢复期、肠道寄生虫病、甲状腺机能亢进、糖尿病及慢性消化道疾病。异嗜，可见于营养缺乏病、代谢病、慢性胃肠道疾病、肠道寄生虫等。

饮欲检查 检查方法与食欲检查相同。饮欲的病理改变主要有：饮欲增强，可见于发热

性疾病、腹泻、呕吐、糖尿病等；饮欲减退，可见于不伴有呕吐和腹泻的胃肠疾病，及中枢神经机能紊乱性疾病。

采食障碍 表现为采食不灵活或不能采食。见于唇、舌齿龈疼痛性疾病，如口炎、舌炎、牙龈炎、咽喉炎等。

咀嚼障碍 表现为咀嚼缓慢或咀嚼疼痛。在咀嚼中突然张口，见于口炎、牙齿疾病及下颌关节疼痛性疾病。如猫在采食咀嚼时突然嚎叫、乱跑是齿病的典型症状。

吞咽障碍 吞咽时，摇头、伸颈、咳嗽，或由鼻孔逆流食物和饮水。见于咽炎、咽麻痹、咽异物、咽肿瘤等。

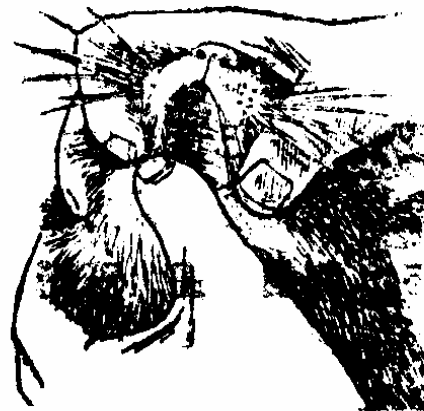
咽下障碍 吞咽后不久，呈现伸颈、摇头、然后两鼻孔逆流混有唾液的食物，见于食管阻塞、食管炎、食管痉挛及食道狭窄等。

呕吐的检查 呕吐是指胃内容物不由自主地经口排出，犬、猫易发生呕吐。呕吐检查时，应注意呕吐出现时间、次数、状态，呕吐物的数量，气味和混合物等。

②犬、猫的开口法 性情温驯的狗，令助手握紧前肢，检查者右手拇指置于上唇左侧，其余四指置于上唇右侧，在握紧上唇的同时，用力将唇部皮肤向下内方挤压；用左手拇指与其余四指分别置于下唇的左、右侧，用力向内上方挤压唇部皮肤。左、右手用力将上下腭向相反方向拉开即可必要时用金属开口器打开口腔。猫的开口法：助手握紧前肢，检查者两手将上、下腭分开即可(见下图)。



犬的开口法



猫的开口法

③咽部的视诊和触诊 咽的外部视诊要注意头颈的姿势及咽周围是否肿胀；触诊时，可用两手自咽喉部左右两侧加压并向周围滑动，以感知温度、敏感性反应及肿胀的硬度和特点。

④食管的视诊、触诊和探诊

视诊 注意吞咽过程饮食沿食道沟通过的情况及局部是否有肿胀。

触诊 检查者两手分别由两侧沿颈部食管沟自上向下加压滑动检查，注意感知是否有肿胀、异物、内容物的硬度、有无敏感反应及波动感。

探诊 一般根据动物的种类及大小而选定不同口径及相应长度的胶管(或塑料管)，用前探管应用消毒液浸泡，并涂润滑油类。动物要保定，尤其要保定好头部。如须经口探诊时，应加装开口器。

⑤腹部检查

腹部视诊 主要观察腹部外形轮廓的变化。腹围膨大，除母犬、母猫妊娠后期及饱食物等生理情况处，可见于急性胃扩张、腹水肠便秘等。腹围缩小，见于慢性消化道疾病、寄生虫病及营养不良等。

腹部触诊 双手缓慢用力感觉腹壁及腹腔脏器的状态。检查胃部时，应将犬、猫两前肢提高；从右侧最后肋后方，向前内上方触压可以触摸肝脏；若猫患有肝吸虫病时可触到肿大

的肝脏，其表面凹凸不平。腹部触诊，往往可以确定胃、肠充盈度、脏器炎症、器官大小的变化，器官变位、较大的异物等变化。

腹部听诊 主要检查肠蠕动音，如肠音高朗，连绵，可见于各种肠炎，如减弱或消失时，多见于重度便秘。

⑥排粪检查

观察粪便的物理特性状，表面有无黏液、伪膜，粪中是否有血液及其颜色和数量等。排粪时表现疼痛不安或伴有呻吟，称排粪带痛，见于腹膜炎，另还有排粪失禁，见于急性胃肠炎。

3.4 泌尿及生殖系统的检查

①泌尿系统的检查

排尿状态检查

排尿姿势 检查排尿状态时要注意观察排尿姿势、排尿次数和排尿量的多少。排尿姿势异常，常见于尿失禁和排尿带痛，甚至脊髓损伤，或者膀胱炎、尿道炎和尿路结石等病症。

排尿次数和排尿量 健康成年犬一天的排尿量平均为每千克体重 22ml，幼犬为每千克体重 40~200ml。观察以下症状：少尿或无尿，尿淋漓，尿频，多尿，或者不排尿。提示可能阴道炎症、尿结石、泌尿器官炎症、肾脏疾患；注意当膀胱破裂时，不见病犬排尿，但腹部触诊感觉不到膀胱，腹部却逐渐膨大。

泌尿器官的检查

主要是采用触诊方法，对肾脏和膀胱进行检查

肾脏的检查 犬、猫的左侧肾脏可在左腰窝的前角触到，右肾常不易触到，右肾常不易触到。小犬也可于其横卧时进行肾脏触诊。老龄猫的肾增生、缩小变形均可触知。急性肾炎、肾盂肾炎及钩端螺旋体病时，触诊肾脏敏感。

膀胱的检查 犬、猫的膀胱，位于耻骨联合前方的腹腔底部。触诊时采取诊时采取站立或者侧卧的姿势，当膀胱充满时，可在下腹壁耻骨前缘触及一个有弹性的球形光滑体，过度充满时可达脐部。检查膀胱内有无结石时，最好用一手食指插入直肠，另一手的拇指与食指于腹壁外，将膀胱向后方挤压，使直肠内的食指容易触到膀胱。

②生殖系统的检查

雄性犬、猫生殖器官检查

首先检查外生殖器官，如阴囊、睾丸、阴茎等。阴囊壁增厚，易增加阴囊内温度，使睾丸发生退变。检查精索有无精索静脉曲张、睾丸大小、硬度是否一致、对称、有无隐睾。正常睾丸应硬而有弹性，如其变小质软，表明睾丸退变或发育异常。如其坚实，可能发生睾丸炎症、纤维变性或肿瘤。附睾位于睾丸背侧。有先天性附睾发育不全，或因上行感染、布氏杆菌病发生附睾纤维变性。观察阴茎和包皮鞘有无先天性畸形、包茎、龟头包皮炎和传染性性病肿瘤等。直肠检查前列腺是否平滑、对称、有无疼痛，如硬实并有结节、疼痛，可能是前列腺癌，非疼痛性对称性肿大，见于前列腺囊肿或前列腺增生。

雌性犬、猫生殖器官检查

主要检查阴户和阴道。正常阴户小而有皱纹，有弹性，无分泌物。阴道检查需借助阴道开张器或检耳镜（小犬），观察阴道黏膜有无损伤、异物增生及其分泌物性质。正常阴道黏膜粉红色。条状皱褶。发情时，其黏膜充血、水肿，皱褶更明显，且阴户肿胀、有无味血色或黏性分泌物。在其他时候如有分泌物，尤其有恶臭味，提示局部感染、肿瘤，或内分泌性疾病（子宫积脓）。子宫检查可通过腹壁触摸，了解其有无胎儿和子宫积液，但确诊需通过B超或X射线检查。

3.5 神经系统的检查

①中枢神经机能的检查

检查方法：主要观察动物颜面表情、耳的动作、身体姿势以及各种防卫性反应等现象。

精神兴奋是大脑皮层兴奋性增高的表现。病犬病猫容易惊恐，对轻微刺激即表现出强烈的反应。过度兴奋时，则活动性增强，狂躁不安，吠叫，乱咬，提示脑及脑膜充血、炎症、脑细胞受炎性产物或毒素的刺激。常见于脑炎、狂犬病、破伤风以及某些中毒病等。精神抑制是大脑皮质抑制过程占优势的表现。按其轻重程度，可分为精神沉郁、昏睡和昏迷。

②运动机能检查

运动机能检查，主要应注意强迫运动、共济失调、痉挛和瘫痪等

强迫运动主要表现为盲目运动和圆圈运动，见于大脑皮质、小脑、脑桥、前庭核等部位障碍。共济失调是犬猫在运动时出现的失调，其步幅、运动强度、方向性均发生异常，动作缺乏节奏性、准确性和协调性，见于脊髓、迷路、前庭神经、小脑及大脑皮质损伤。痉挛临床常见的是阵发性痉挛和强直性痉挛。瘫痪是指骨骼随意运动完全丧失或不完全丧失，按其发生的肢体部位，可分为单瘫、偏瘫、截瘫；按神经系统损伤部位，又可分为中枢性瘫痪和外周性瘫痪。

③感觉机能检查

感觉机能检查包括浅感觉检查（感觉过敏和感觉减退或消失）深感觉检查和瞳孔对光反应检查。

④反射检查

临床上常用的反射检查主要有耳反射、腹壁检查以及跟腱反射等。

六、作业与思考

1. 小动物问诊、视诊、触诊、叩诊、听诊的方法、应用及注意事项
2. 结合膜的检查方法，正常状态；颜色改变的原因及诊断意义
3. 体温、脉搏数、呼吸数的检查方法，正常指标，生理改变，病理性变化及其诊断意义
4. 心脏的听诊的方法，正常状态，异常变化及诊断意义
5. 胸、肺病理叩诊音产生条件及诊断意义。肺听诊法；呼吸音的病理改变及诊断意义。
6. 饮食状态的检查；口、咽、食管的检查的方法和注意事项
7. 排尿动作、正常状态、频尿、多尿、无尿、尿淋漓、尿失禁与排尿带痛的特点及诊断意义。
8. 强迫运动、痉挛、瘫痪、共济失调的临床表现特征和诊断意义。

附录：

参考文献：

（王京仁）

实践五 心电图描记法及 X 光检查

一、实践目的

1. 学习心电图机的使用，进行心电图检查的一般操作，并初步了解家畜心电图检查的方法
2. 学习心电图机技术指标的测量和分析心电图的步骤
3. 通过实践，了解 x 线机的一般构造，掌握其使用方法与注意事项，结合 x 线机的使用，进行透视检查的一般操作，并初步了解家畜胸部透视的进行方法。
4. 了解 x 线摄影检查的技术条件及其确定方法，通过实践初步掌握大动物四肢下部的骨关节及小动物胸部摄片的方法步骤与注意事项，从实践中了解 x 线照片的暗室操作技术。

二、实践内容

1. 描记心电图的导联
2. 心电图的描记方法
3. 分析心电图的步骤
4. 熟悉透视前的准备工作，10mA 及 30mA x 线机的构造与使用方法
5. 基本掌握透视的方法和步骤，100KV 200mA 固定式 x 线机的组成与使用示教，透视检查法的操作，小家畜初步胸透示教

三、实践材料

动物：牛 2 头，兔 3 只；犬、羊、小猪、猫各 1 只（头）；

四、实践用品与用具

1. 心电图机 2 台，配电盘 2 个，毛剪 2~4 把，酒精棉、镊子、兔台等。
2. 挂图：正常心电图、心电图测量法各一幅。
3. 器材：x 线机、x 线管、螺丝刀、接线板、红色护目镜、透视暗室用照明红灯及遮光用红、黑布帘，铅围裙，铅手套，铅眼镜，胸部 X 线解剖图及动物保定用具等。X 线软片 1 盒，暗盒附增感屏，暗盒 4 个，切刀 1 把，洗片架 8 个，显影液 1 桶，定影液 1 桶，铅号码 1 盒，测厚尺 1 把，聚光筒 1 个，滤线器 1 块，密纹静止滤线器（缺者暂免）、胸部摄片架、四肢骨关节摄片架，洗片架（夹）、定时钟、显影温度计，或全自动冲片机 1 台，显影剂、定影剂。
4. 胸部 X 线解剖图一幅，胸部正位透视示意图一幅，胸部侧位透视示意图一幅，四肢透视示意图一幅；投照挂图若干幅。

五、实践方法

心电图机的操作实践

（一）原理概述

一般心电图机的结构，可分为下列几部分：导程选择器、标准讯号源、电压放大器、功率放大器、记录器、记录笔、浮标振荡器、走纸装置和电源等。有些心电图机因其功能不同，结构和组成部分也有区别，但它们描记心电图波形的原理是相同的。

导联选择器的任务是将同时接在人体上的多根导联线组成各种导联的接法，分档选择任一导程送入放大器。例如选择导程 I 时，导联选择器就把红、黄二根导联线接入电压放大

器，同时其它导联线被断开。

通过导联选择器的选择，来自导联线的心电信号送入电压放大器输入端，由于心电信号是很微弱的，所以要电压放大器加以放大，放大器本身不但要具有足够的增益，而且还要保证较低的噪音电平，以利于提高整机的灵敏度，心电信号在本级得到足够的幅度放大再送至功率放大器，进行功率放大。此时心电信号不仅具有一定的电压幅度，而且还具有足够的功率，这样送到记录器后，就可推动描记笔按心电波变化的规律进行摆动。描笔下面的记录纸上留下了心电图波形。

描笔在记录纸上描记时，为了减少阻力，设一描笔浮标振荡器，它产生频率较高的信号和心电信号一起加至功率放大器，然后去推动描笔。这样使描笔时刻都有处于浮标状态，即微颤状态，使描笔在描记时容易起劲，换向时也快。

描记心电图时，大家必需使用同一大小的增益，统一标准，描出的图形才可以比较，达到鉴别诊断的目的。因此，机器本身设有 1mV 的信号源作“打标”用。即给电压放大器加 1mV 的信号，调整增益，使描笔打标 10 小格之后，再作心电图，这个在描记时容易 1mV 信号输入，打标 10 小格就是大家统一使用的标准。

心电图机的使用环境要求：

- 1、心电图机周围不应有高压电缆，X射线机，超声仪器及电疗机等。
- 2、心电图机周围具有合适的温度的湿度（温度过高或过低对被检测的人的心电正确均影响，湿度过高或过低会对仪器产生不良影响，本机正常工作时要求相对湿度 10~95%，温度 5°C~10°C，并尽量减少搬动。
- 3、心电图应安置有良好的接地线。既可保证安全，又能显著降低交流干扰和其它电磁波干扰。

导联线的连接：

导联线的一端插入机器的导联插座，另一端具有十个插头，按下列规定插入四肢电极和胸电极上。

R（红、黑） 右手 L（黄、黑）左手
F（绿、黑） 左脚 R F（黑、黑）右脚

C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆ 分别插入已安装好的对应胸电极上。

()

（二）实践步骤

心电图的使用方法

为了正确使用、操作仪器，保证仪器正常工作，延长仪器使用寿命，必须熟悉心电图机面板按钮、开关的名称和作用，掌握仪器的使用方法。图 7-1、图 7-2 和图 7-3 是 XD-7100 单道心电图机的面板图。

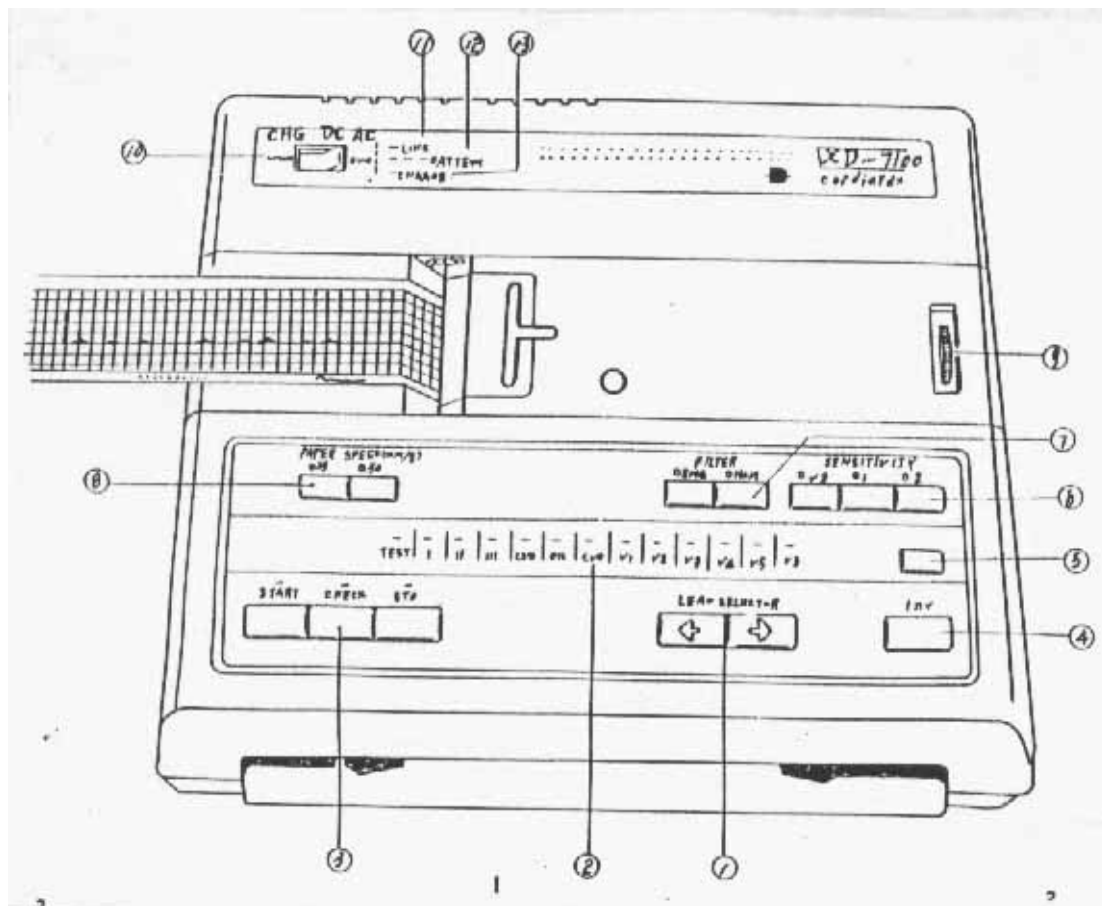
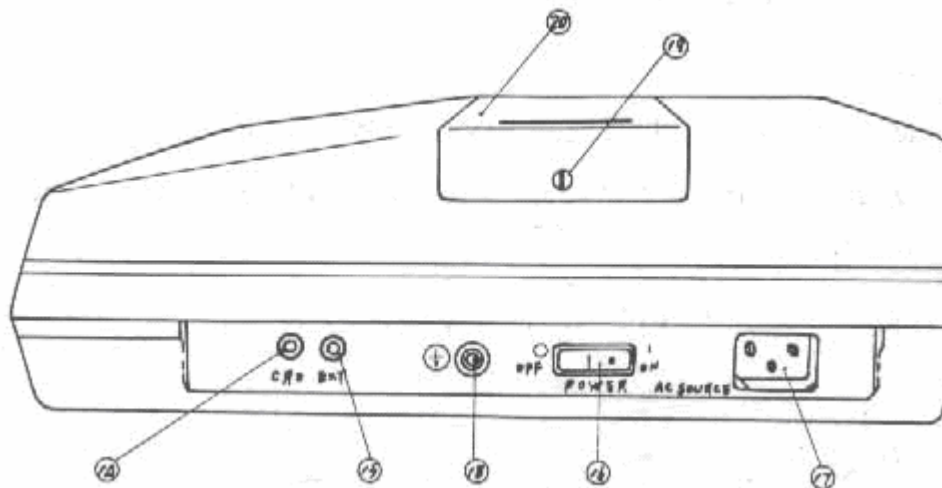
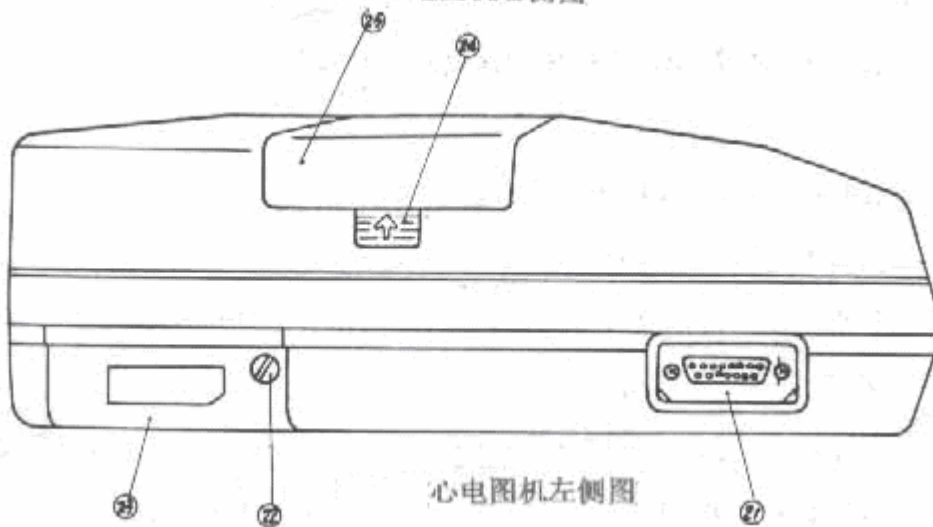


图 9-1 XD-7100 单道心电图机面板图



心电图机右侧图



心电图机左侧图

面板介绍:

1. 导联选择键 (LEAD SELECTOR): 按动 \leftarrow 键 \rightarrow 或键, 选择所需导联, 可左移或右移。
2. 导联显示器: 当按动导联选择键时, 该显示器即有对应灯发光, 显示当时所处的导联位置。(由十三只LED组成)
3. 记录键: (由START、CHECK、STOP三个键组成)
控制传动走纸及记录装置。按动该三键的工作状态如下:

按动键名称	记录纸	记录描笔	描笔(冷热)
准备键 (STOP)	停	停	预热
观察键 (CHECK)	停	工作	预热
启动键 (START)	走	工作	加热

4. 定标键: 控制1mV电压信号通断以供作标准电压用。
5. 复位键 (RESET): 封闭输入信号使记录装置停止摆。
6. 增益选择键 (SENSITIVITY): 由1/2、1、2三键组成, 其中1为标准增益。
7. 滤波控制键 (FILTER): 由HUM和EMG二键组成。HUM交流干扰抑制键, ENG

肌电干扰抑制。当有交流干扰时，可按动 HUM 键，而畜体肌电干扰强烈时，可按动 EMG 键。

8. 纸速选择键 (PAPER SPEED): 由 25mm/s 及 50mm/s 二键组成, 其中 25mm/s 为常用走速。
9. 基线控制: 改变记录描笔位置。
 - 1 0. 电源选择开关: AC 为交流电源接通; DC 为电池电源接通; CHG 为电池充电。
 - 1 1. 交流电指示器: (LINE)
 - 1 2. 电池指示器: (BATTERY)
 - 1 3. 充电指示器: (CHARGE)
 - 1 4. 示波插口 (CRO): 输入经放大后的心电信号, 可接外部设备的心电输入端。
 - 1 5. 输入插口 (EXT): 输入外来信号。
 - 1 6. 交流电源开关 (POWER): 通断交流电源用, OFF 关, ON 开。
 - 1 7. 交流电源插座 (ACSOURCE): 通过三芯电源线与外市电源相接。
 - 1 8. 电线接线柱: 接地线用。
 - 1 9. 记录盖板螺丝
 - 2 0. 记录盖板
 - 2 1. 导程线插
 - 2 2. 电池盒盖板螺丝
 - 2 3. 电池盒盖板
 - 2 4. 记录纸盒盖板
 - 2 5. 记录纸盒盖

家畜心电图描记使用方法:

(1. 动物的保定)

右侧卧位, 四肢与身体长轴垂直 (不适当的姿势或位置会使 QRS 波的平均心电轴改变), 放在绝缘的桌面上。保定者站在动物的背侧, 右手抓住动物的两前肢并使两前肢间有空隙, 右手臂压住动物的脖子使动物不能移动, 左手抓住两后肢并使两后肢间有空隙, 左手臂压住动物的臀部使动物不能移动。

2. 电极的连接

四个电极分别接在 RA 右前肢和 LA 左前肢的肘部皮肤; RL 右后肢和 LL 左后肢膝部皮肤。接电极的部位要剃毛并清洗干净以保证电极和皮肤间有良好的接触, 必要时可涂导电胶或酒精。

3. 心电图的描记

a. 打开心电图仪的电源开关 b. 把心电图仪的描记笔移动到心电图纸的中央 c. 以 25mm/s 的纸速调节心电图仪的灵敏度 d. 调节纸速, 一般用 50mm/s; e. 分别描记 I、II、III、aVR、aVL、aVF 导联的心电图, 每个导联要描记 3—4 个完整的波形, 在变换导联时不用停止心电图仪, 直接切换即可。描记完这六个导联后再测量 II 导联, 并作较长时间的描记, 一般要描记 20cm 左右的纸长。f. 结束关机。)

其描记步骤大致如下:

(1) 被检动物的准备。被检动物要绝缘, 站在橡皮垫上, 若用铁制六柱栏也要垫以薄橡皮。置放电极的部位剪毛, 用酒精擦拭脱脂, 然后涂擦盐水, 装上电极。

描记心电图的导联

1.1 标准导联（双极肢导联）具体连接方法有：

标准一导联（I）：正极接于左前肢与躯干交界处，负极接于右前肢与躯干交界处；

标准二导联（II）：正极接于左后肢与躯干交界处，负极接于右前肢与躯干交界处；

标准三导联（III）：正极接于左后肢与躯干交界处，负极接于左前肢与躯干交界处；

1.2 加压单极肢导联，常用的加压单极肢导联有：

aVR：加压单极右前肢导联；

aVL：加压单极左前肢导联；

aVF：加压单极左后肢导联。

1.3 单极胸导联

1.3.1 马的单极胸导联

V₁：探查电极置于右侧第4肋间，肩端水平线下方12cm处，电极与胸壁垂直，主要对向右心室前侧壁；

V₂：探查电极置于左侧肘端垂直线与胸骨交叉点的后方3cm胸骨体中线上，电极与胸骨垂直，主要对向室中隔部；

V₃：探查电极置于胸前左腋部左、右肩端水平线下方4cm处，电极水平对向动物尾方，主要对向左心室侧壁；

V₄：探查电极置于左、右肩端水平连线的中点处，电极水平对向动物尾方，主要对向左心室前壁；

V₅：探查电极置于胸前左、右肩端水平连线中点上方6cm处，电极水平对向动物尾方，主要对向左心室前壁；

V₆：探查电极置于髻甲顶点偏左6cm处，电极与背部垂直，主要对向左心室心尖部。

V₇：探查电极置于髻甲顶点后方6cm偏右6cm，电极与背部垂直，主要对向心尖部。

临床检查时，一般只描记V₁、V₆即可。

牛的单极胸导联：

V₁：电极置于右侧第4肋间，肩关节水平线下方12cm处，主要对向右心室侧壁；

V₂：电极置于胸骨柄的左缘与左腋窝连线的中点处，主要对向室中隔；

V₃：电极置于左侧肩胛骨上端前缘，主要对向左心室前侧壁的基底部；

V₄：电极置于左侧肩胛骨前缘的中点处，主要对向左心室侧壁的基底部。

临床检查时，一般只描记V₁、V₂、V₄或V₁、V₄导联即够分析。

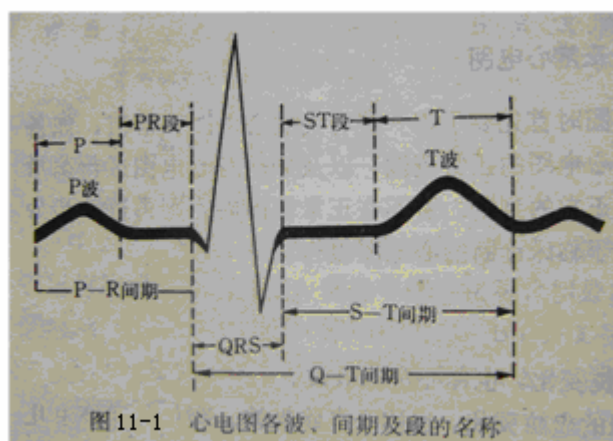
(2) 连接电源、地线、打开电源开关，校正标准电压。

(3) 连接肢导线，一般按如下规定联接。红——右前肢、黄——左前肢、绿——左后肢、黑——右后肢、白——胸部。

(4) 按下或转动导联选择器，基线稳定，无干扰时，即可描记，每个导联描记4~6个心动周期。遇心律失常的动物，为便于分析，可选择一个导联，适当地多描记一些心动周期。

(5) 描记完毕，关闭电源开关，旋回导联选择器，卸下肢导线及地线，切下记录纸，并注明动物号及描记日期。

心电图的描记方法



- 2.1 被检动物要绝缘，站在橡皮垫上，如用铁制 6 柱栏保定时，柱栏要缠以薄橡皮。置放电极的部位要剪毛，用酒精棉球充分擦拭脱脂，然后将鳄鱼夹电极牢固地夹持（或将针电极刺入置放电极部位的皮肤）。
- 2.2 连接电源、地线、总导线；
- 2.3 连接导联线，切勿接错；
- 2.4 打开电源开关，预热 2 分钟；
- 2.5 调稳基线，将描记笔的位置调节在记录纸的中央。校正标准电压。
- 2.6 转动导联选择器，按下观察挡。如果基线稳定，无干扰时，即可按下记录挡进行描记。每个导联描记 4~6 个心动周期，并打一个标准电压。
- 2.7 一个导联描记完后，先闭记录挡，再闭观察挡。然后转动导联选择器，再进行下一导联的描记。
- 2.8 所有导联描记完毕后，关闭电源，将导联选择器旋回零位。将心电图注明动物病志号，描记日期。卸下导联、地线等。

3. 分析心电图的步骤

记录纸呈长带状，纸上有大方格和小方格，每个大方格中有 25 个小方格，每个小方格的距离为 1 毫米，绘出心电图就要测定各波的高度，及各波间的距离。观看幻灯

上、下代表电压，所测的高度往往以毫米计（计一小格），1mv=10mm。

左、右代表时间，1S=25mm，一小格=0.04 秒

60/周期（秒）=心率

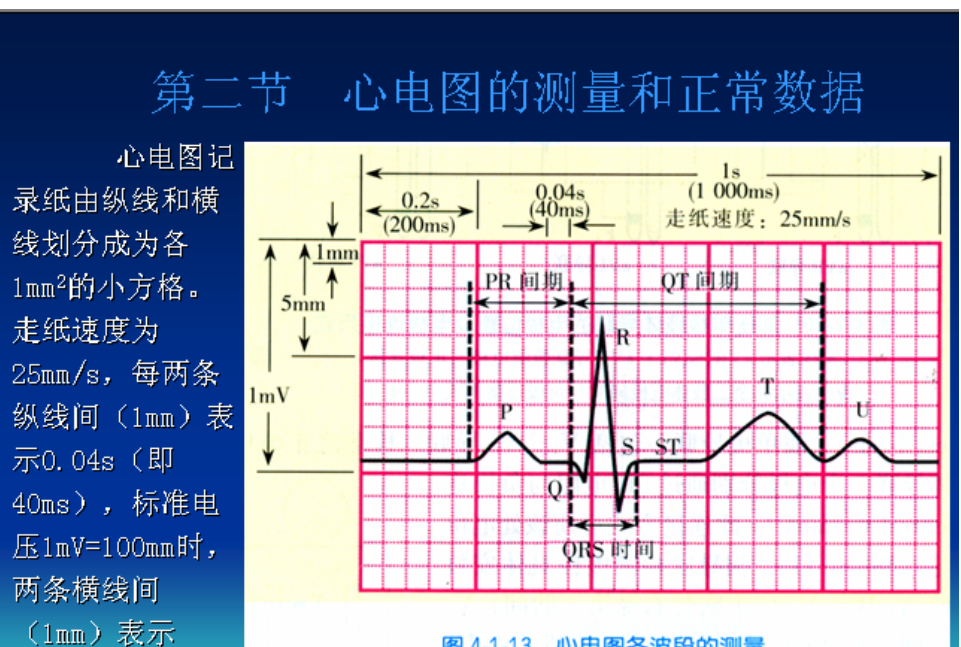


图 4-1-13 心电图各波段的测量

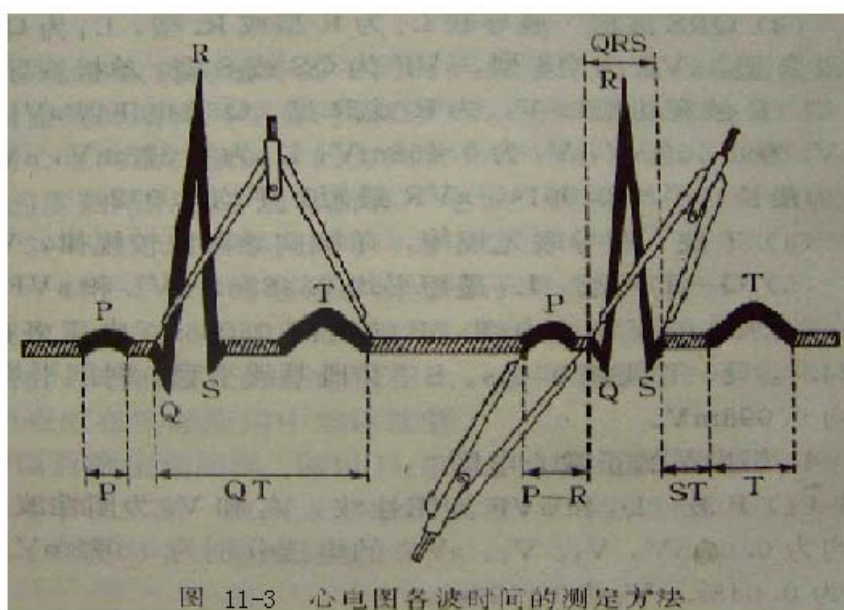
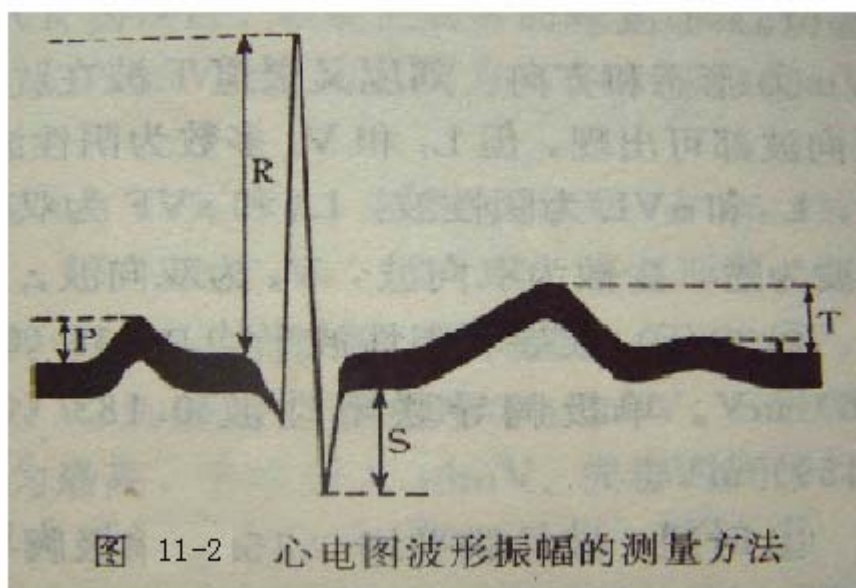
- 3.1 将各导联心电图剪好，按 L I、L II、L III、aVR、aVL、aVF、V₁、V₂……的顺序贴好，并标明导联。先全面检查一遍，注意有无导联的错误，各导联的标准电压曲线是否正确，个别导联电压有无偏高偏低的现象。
- 3.2 找出 P 波，计算心率，尤其要注意 aVR 与 aVF 的 P 波。选择适当的几个导联，测量 P-P 或 R-R 间期，计算出心率，其公式如下：

$$\text{每分钟心率} = \frac{60}{P - P \text{ 或 } R - R \text{ 间期 (秒)}}$$

- 3.3 测定 P-R 间期及 Q-T 间期，必要时，测定 QRS 时限。

3.4 检查各导联，从胸导联开始到肢导联，注意 P 波、Q 波、QRS 综合波、S-T 段及 T 波的形状、电压及相互间的比例有无改变，S-T 段有无移动，初步决定心电图是否正常。如不正常，是否符合某种心电图改变，做出初步诊断。

3.5 最后参照患病畜年龄、性别、治病用药情况及临床诊断，综合分析，做出心电图的诊断。



XD-7100 单道心电图机使用说明:

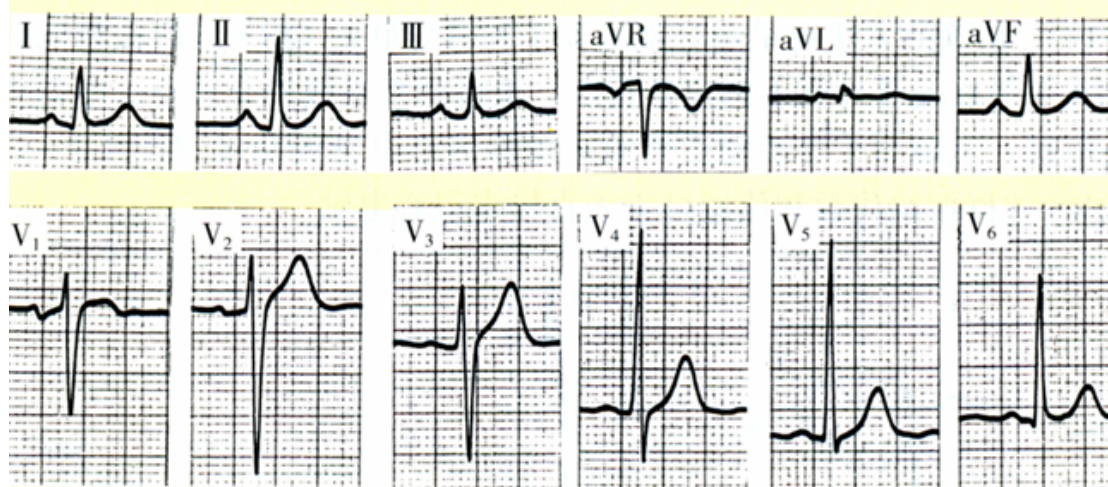
1. 电源开关置于“ON”。
2. 电源开关置于“AC（交流），’，此时“LINE”“TBST”“PA PER SPEED（25mm / s）”“SENSITIVITY（1）”“STOP”，晶体灯发出亮光。
3. 调节基线控制旋钮应能改变描笔的位置，使之停在纪录纸中央附近。
4. 按动“CHECK”键，此时“STOP”灯灭，“CHECK”灯亮。
5. 按动定标键“1mV”，使描笔随着定标键的按动而作相应的摆动。
6. 按“START”，此时“CHECK”灯灭，“START”灯亮，记录纸按 25mm/sec 速度走动。
7. 继续按动定标键，在走动的纪录纸上可看到一清晰的定标方波，其振幅应是 10mm。
8. 按动“LEAD SELECTOR”键，使之由“TEST”向“I”导“II”联转换。

9. 在心电图纸上得到一段清晰的纪录后，可继续按动“LEAD SELECTOR”键，使之由“I”导联向“II”导联转换，以此类推，可重复上述操作，完成 12 个导联的心电图纪录。
10. 仪器使用完毕，切断电源，做好清洁工作。并做好仪器使用登记。

注意使用交流电源时：

1. 电源开关置于“ON”
2. 电源选择开关置于“AC”，这时面板上各键位置为：
导联显示器置于“TEST”
走速选择置于“25”
增益选择置于“1”
记录键置于“STOP”
交流指示器“LINE”发亮
3. 调节基线控制改变描笔位置，使之停在记录纸中央附近。
4. 再把记录键置于“CHECK”。
5. 用一定节律按动定标键，记录笔应随定标键的按动而作相应摆动。
6. 按动记录键置于“START”位置，记录纸应按 25mm/s 的速度走动。
7. 连续按动定标键，在记录纸上可看到一清晰的定标方标，其振幅为 10mm。

二、正常心电图波形特点和正常值



人正常心电图

心电图机的技术指标测量

一台心电图机的性能好坏，由许多参数来衡量，我们在使用心电图机时，首先应对仪器的主要性能作以下检查，看是否合乎要求。

现将其技术指标及测定方法分述如下：

一、增益

心电图机的增益，就是指放大倍数，正常机器的放大倍数为 5000-7500 倍，平常使用时 1mV 信号放大后记录笔打标 10mm 的振幅，大约是大 5000 倍，这是最起码的增益，一般要求心电图机的最大放大倍数为 7500 倍左右，即记录笔描记的振幅为了 15mm。本机的技

术指标其最大增益 $>18\text{mm/mV}$ 。

测试方法：把增益选择键置于“1”。把记录键置于“START”。记录纸走动，以一定节拍按动定标键，不断打出方形波，这个方形波的振幅应为 10mm ，说明此机放大倍数合乎要求。若增益不能符合要求，可取下记录盖板，用小螺丝刀对“GAIN”电位器进行调整。

二、噪音和漂移

噪音和漂移都是来源于电路内部元件或外界条件的影响，但它们是有区别的，噪音是指较高频率的扰动；基线漂移一般指描笔缓缓地移动。正常心电图机要求噪音和漂移现象在记录纸上描不出来。

测试方法：把记录键置于“START”，记录纸走动，这时描笔应在记录纸上留下一条很平稳的直线。说明机器没有噪音，也不漂移。若描线出现微小颤动或缓缓上下摆动，则机器出现噪音和漂移现象。

心电图机还可能受到的各种干扰：

1. 交流干扰

出现交流干扰时应检查心电图室环境是否合适，受检动物所睡床（金属）是否接地良好，受检动物有否与金属物品相碰，受检动物附近是否有市电电源线，导联线是否接触良好，若导联线接触良好，则干扰一般来自环境。本机设有交流滤波器装置“HUM”键，按动该键可排除交流干扰。

1. 畜体机电干扰

在心电信号中常会迭加一些畜体带来的不规则信号，要清除这些迭加信号的干扰，首先检查心电图室环境是否合适，被检动物皮肤是否松弛，电极夹子是否松动，电极固定是否良好，当上述各种人为因素解决后，还未能排除干扰时，可按：“EMG”键加以排除。

2. 基线漂移

当发生基线漂移时可检查电极安放部位是否稳固，导联插头与电极连接是否紧密，电极与动物的皮肤是否干净，漂移与被检动物呼吸是否有关。

三、 阻尼

动圈式电流表随着输入信号的变化而作自由振荡，其振幅与信号频率有关，当信号频率 f 与电流表固有固有振动频率 f_0 相近时，产生共振，振幅最大，因此需要加上一个抑制谐振运动的力矩在心电图机中称为“阻尼”。动圈式电流表的阻尼是利用描笔和记录纸之间的摩擦和空气阻力而达到的。心电图机的阻尼是否正常，对所描记的心电图的很大影响，除阻尼正常外，常见的毛病是阻尼过大或过小。



图 9-1

测试方法：与测试增益时一样，打出一个个方形波，观察波形阻尼情况，若定标阻尼不佳，可取下记录盖板，用小螺丝刀调节“DAMP”电位器，以达到合适为止。

四、 放大器的对称性

心电图机对于等幅的正负信号的放大倍数应该是相等的。我们将心电图放大器对正信号和对相等幅度的负信号的放大倍数的比值，叫心电图机的对称性。这个性能关系到心电图波

形的真实性，心电图的放大对称性不仅记录笔处于记录纸中心位置时必须对称，而且一个质量好的机器，基线偏上或偏下工作时，放大倍数也应对称。

测试方法：

- 1.基线位于中心线时的对称性测试：机器通电后，首先把描笔调至记录纸中心位置上，增益调节至打标为 10mm，开动记录走纸开关，按下“1mV”标准信号电键，不要立即撒手，等记录笔回到原来基线位置时，再撒手。于是记录笔先向上后又向下打出波形，等到记录纸走了一段后停止走纸。此时测量向上波形的幅度和向下波形幅度是否相等，若相等时则说明此机的放大器对称性良好，否则其对称性不好，如图 7-5（1）。
- 2.基线偏上的对称性测验：把描笔调至描纸中心之上 8-10mm，然后同 1 的方法进行测验，其曲线如图 7-5（2）。质量较稍差的心电图机，往往向上振幅小于向下振幅，按技术要求，如果上下振幅之差小于 1.5mm 还是允许的。
- 3.基线偏下的对称性测验：把描笔调至描纸中心之下 8-10mm，同 1 方法进行测验，其曲线如图 7-5（3），质量差的心电图机，往往向下振幅小于向上振幅，按技术要求，如果上下振幅之差小于 1.5mm 还是允许的。

五、记录速度

心电图机走纸速度使用 25mm/s 的快速档。

测试方法：机器通电后，开动走纸开关，按打标电键，同时计时，经过时间 T（一般为 10 秒）再按打标电键，在纸上观察到两个方形波，停止走纸，从记录纸上计算两个方波前沿之间的小方格数，即为路程 S，可得到走纸速度 $V=S/T$ （mm/s）。

例如，经过 $T=10$ 秒，两个矩形波之间距离 $S=250$ 个格，则其记录纸的走纸为 $V=250/10=25$ （mm/s）。

六、时间常数

心电图机的时间常数是指方形波从工作出发 100%波幅下降到达 37%（ $e^{-1}=0.37$ ）所经过的时间 T。下 1mV 标准信号电键，直至描笔下降到原来基线位置时才撒手，停止走纸。计算波幅从 10mm 下降到达 3.7 处所经过的时间，就是该机器的时间常数。心电图记录纸横坐标每小格为 0.04 秒，只要读出从工作出 100mm 下降到 3.7mm 所经过的小格数(S)乘以 0.04 秒，就得到该机的时间常数 $T=S \times 0.04$ （秒）。

七、频率响应特性

心电波形不是简单的正弦波形，而且由很多不同频率，不同振幅的正弦信号合成的。这样我们要求在放大心电信号时，放大器对不同频率的正弦信号能按它们原来的比例进行放大，或者说，放大器对各种不同频率的信号具有相同的放大能力。但是实际上由于电路电抗元件及非线性结构本身的限制，放大器对不同频率的信号放大能力是不同的。我们把放大器对不同频率信号的放大能力不同特性，用输出波幅随信号频率变化关系曲线变化来表示，称它为频率响应特性。在测试频率范围内，一般要求振幅—频率曲线接近水平，则机器愈好。

测试方法：需要一个子 1—100 周低频正弦波振荡器，作为信号源，其输出调整为 1.5mV，然后由心电图机的导程线输入，黄、黑色两条导程线和振荡器的地线相接，红色导程线和振荡器的正端相接。心电图机通电后，增益调到 1.5 小格，导联开关 K_1 拔至“I”位置，开动记录走纸开关，进行描记。具体的描记方法是把振荡器的输出频率从工作出发 10Hz 开始逐步升高，每升高 10Hz 记录一次，直到 100Hz 为止，分别填于附表中。

频 率 (Hz)	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
-------------	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----

波幅 (mm)										
------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

以频率为横坐标，波幅为纵坐标，给出频率响应特性曲线。

结果处理：将描记七个技术指标的心电图纸取下，贴于测验报告上，根据测得结果，分析这七个指标是否符合技术要求。（临床使用时，每部机都要定期进行指标的测定）。

Biocare ECG-300 数字式三道心电图机操作规程

Biocare ECG-300数字式三道心电图机



一、简介

心电图机能将心脏活动时心肌激动产生的生物电信号（心电信号）自动记录下来，已成为临床诊断和科研常用的医疗电子仪器。

心脏电生理功能与心电图存在着密切的有机联系，心脏电生理功能失常许多可以从心电图反应出来。

心脏有节奏的不停运动，便产生一种微弱电信号向人体各个方面传导，将二极电极置于人体表面上任何不同部位，都可获得多种心电信号波。心电图的导联就是如何将电极放在身体哪个部位以及电极如何与心电图正、负极相连接的方式。

目前临床上常用的心电图导联（即威尔逊网络导联）有标准导联（I、II、III），加压单极肢体导联（aVR、aVL、aVF）及胸导联（V1~V6）；不常用的导联有双极胸导联（CC、CL、CF），右胸导联（V3R、V4R……V8R），以及 V7~V9 到来那，V' 1~V' 5 导联，VE 导联，S5 导联，心房导联（A 导联），改良 CL1 导联（MCL1 导联），“ABC”导联，食道导联，心房导联等。

二、安放 ECG 电极注意事项：

1. 准备好病人的皮肤。由于皮肤是不良导体，要获得优良的 ECG 信号，电极与皮肤的良好接触是很重要的。

——如有必要，请将电极贴附部位的毛发剃掉。

——用肥皂水彻底清洗电极贴附部位。不推荐使用乙醚或乙醇，因为它们会使皮肤干燥，增加电阻。

——用力擦皮肤，使它彻底干燥来增加组织中的毛细血流并出去无用的的皮肤屑和皮肤油。

2. 放电极前，要在电极上安夹子或按钮。如果您使用的不是预上胶的电极，请在放电极前，涂上电极胶。

3. 按照您所选的导联放置方案，将电极放在病人身上。

三、操作使用注意事项：

1. 如果显示的任何一个 ECG 波形太小或者被削波，则您可以改变屏幕上其中一个或全部 ECG 波形的大小。改变调整系数只会改变屏幕上 ECG 波形的目视外观。并不影响监护仪分析的 ECG 信号。要用固定的调整系数来改变屏幕上所有的 ECG 波形的大小：

——波幅 x0.5 可让波形大小减半

——波幅 x1 可显示没有缩放的波形

——波幅 x2 可让波形大 1 倍

——波幅 x4 可让波形大 4 倍

2. ECG 滤波设定定义了如何对 ECG 波形进行平滑处理。滤波减小了对信号的干扰。如果信号受高频或低频干扰，就必须用此设定。

——50Hz 交流干扰

—35Hz 肌电干扰

—100Hz 低频干扰

四、导联分类:

1. 标准导联 I、II、III

(1) I 导联

左上肢电极接心电图机放大器输入的正极，右上肢电极接放大器负极，所得电位是两上肢电位之差。当左上肢电位较右上肢电位高时，描出的波形向上，反之则向下。

(2) II 导联

左下肢电极接放大器输入正极，右上肢电极接放大器输入负极。当左下肢电位较右上肢电位高时，描写的波形向上，反之则向下。

(3) III 导联

左下肢电极接放大器输入正极，左上肢电极接放大器负极。当左下肢电位高于上肢电位时，描出的波形向上，防止则向下。

2. 加压单极肢体导联

(1) aVR 导联（加压单极右上肢导联）

左上肢电极经电阻连于放大器输入正极，改变后的中心电站连于放大器输入负极，左上肢电极和左下肢电极分别通过电阻接于改变后的中性电站上。

(2) aVL 导联（加压单极左上肢导联）

左上肢电极经电阻连于放大器输入正极，改变后的中性电站连于放大器负极，右上肢电极和左上肢电极分别通过电阻接于改变后的中性电站上。

(3) aVF 导联（加压单极左下肢导联）

左下肢电极经电阻连于放大器输入正极，改变后的中性电站连于放大器输入负极，右上肢电极和左上肢电极分别通过电阻接于改变后的中性电站上。

3. 单极导联

- (1) V1 导联：胸电极安放在胸骨右缘第四肋间。
- (2) V2 导联：胸电极安放在胸骨左缘第四肋间。
- (3) V3 导联：胸电极安放在 V2 与 V4 连线的中点。
- (4) V4 导联：胸电极安放在左锁骨中线与第五肋间。
- (5) V5 导联：胸电极安放在左腋前线与第五肋间。
- (6) V6 导联：胸电极安放在左腋中线与第五肋间。

Biocare ECG-300 常见故障及排除

1、打直线

答：1) 按了导联封闭键；按了导联封闭键屏幕上显示"导联封闭"或"[0]"并出现打直线，只要再按一次"INST"或"RESET"直至"导联封闭"、"[0]"消失。

2) 导联脱落打直线；屏幕上显示"导联脱落"或导联闪动，一般要看是某导联、某几导联打直线还是全部打直线，首先检查对应导联电极是否脱落，各个接触点是否良好。其次更换一条导联线试试，再不行就是机器本身问题。

3) 数据出界打直线；屏幕上显示"数据出界"或"OVR"，首先检查各个电极安放是否稳妥、病人是否燥动不安，其次更换条导联线试一下。再不行就是主板问题。

4) 无心率显示所有导联打直线；请打开机器，用万用表测量放大部分的+5V，±12V 是否正常，（用万用表测量的电压值应为+5V 左右，±12.3V 左右）若不正常则是主板 DC-DC 变换电路元件损坏。

2、打印不清

- 答：1) 看纸仓盖上两铜轴是否磨损过大（除十二道机外）
 2) 打印头不良会引起打印不清，更换同型号打印头试下。
 3) 打印头支架、弹簧变形会引起打印不清。
 4) 打印头使用时间长，打印头脏或有污垢；用棉签粘点酒精进行擦拭打印头则可。
 5) 所使用热敏打印纸过期或质量太差、潮湿等，更换打印纸。
 6) 程序错乱引起打印不清
 7) 针对 ECG-1200 上面或下面打印不清的，一般在打印头与打印头支架间加垫片。

3、卡纸、不走纸

- 答：1) 打印纸不规则，纸与纸仓的磨擦力过大，更换一卷打印纸试一下。
 2) 清除各齿轮上的杂质。
 3) 打开机器看电机排线是否松动，电机是否锈死转不动。
 4) 电机驱动电路问题引起卡纸、不走纸。
 5) 针对 ECG-1200 卡纸一般为无纸轴或者纸轴过短（纸轴应长于打印纸 2mm 左右）。

4、机器不开机

答：插上交流电，将拨断开关拨至闭合状态，看指示灯是否闪烁或常亮。若指示灯不亮，则属于交流电没有进入机器，检查是否交流电源开关没打开或电源保险丝坏，可以打开交流电源开关或更换保险丝；若指示灯有亮，可打开机器，用镊子将透明排线所插插座的第 1、2 脚短路并立即拿开（可反复做几次），看是否能开关机，若能开关机，则断定是面板坏，更换面板即可。若不能开关机，则是开关机启动电路部分元器件坏，建议返厂维修。

禽与哺乳动物的心电图描记

[实验目的]

- 学习描记禽与哺乳动物心电图的方法。
- 熟悉禽类和哺乳类动物正常心电图的波形并了解其生理意义。

图 7.8-1 羊标 I、II、III 心电导联图

[实验原理]

心肌在兴奋时首先出现电位变化，并且已兴奋部位和未兴奋部位的细胞膜表面存在着电位差，当兴奋在心脏传导时，这种电位变化可通过心肌周围的组织和体液等容积导体传至体表。将测量电极放在体表规定的两点即可记录到由心脏电活动所致的综合性电位变化。该电位变化的曲线称为心电图。

体表两记录点间的连线称导联轴，心电图是心电向量在相应的导联轴上的投影。心电图波形的大小与导联轴的方向有关，与心脏的舒缩活动无直接关系。导联的选择有 3 种，①标准的肢体导联，是身体两电间的电位差，简称标 I（左、右前肢间，左正右负）、II（右前肢，左后肢，左正右后）、III（左前后肢，前负后正）导联（图 7.8-1）；②单极加压导联，左、右前肢及左后肢三各肢体导联上各串连一个 5 kΩ 的电阻，共接于中心站，此中心站的电位为 0，以此作为参考电极。另一电极分别置于左、右前肢和左后肢，分别称为 aVR（右前肢）、aVL（左前肢）、aVF（左后肢）。③单极胸导联，仍以上述的中心站为参考电极，探测电极置于胸前。常规的有 V1~V6 共 6 个部位（见图 7.8-2）。

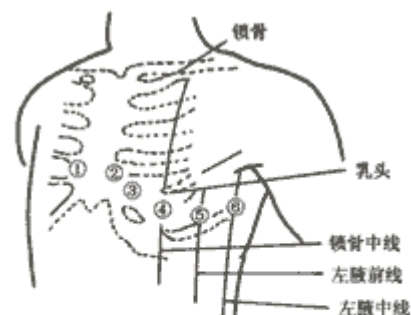


图 7.8-2 胸导联电极安放示意图

- ①V₁: 胸骨右缘四肋间; ②V₂: 胸骨左缘四肋间;
- ③V₃: ②~④的中点; ④V₄: 左锁骨中线第五肋间;
- ⑤V₅: 左腋前线第五肋间; ⑥V₆: 左腋中线第五肋间

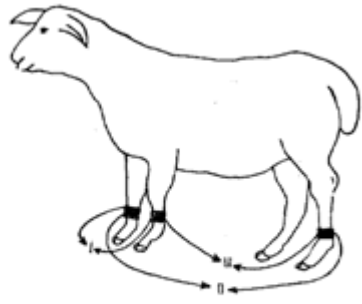


图 7.8-1 羊标 I, II, III 心电导联图

当心脏的兴奋自窦房结(或静脉窦)产生后,沿心房扩布时在心电图上表现为“P”波;兴奋继续沿房室束浦肯野纤维向整个心室扩布,则在心电图上出现“QRS”波群,此后整个心室处于去极化状态没有电位差,然后当心脏开始复极化时,产生“T”波(图 7.8-3)。

[实验对象]

家鸽(禽), 家兔(或羊)

[实验药品]

10%NaCl, 乙醚。

[仪器与器械]

心电图机(或二道生理实记录仪), 动物手术台或保定架, 蛙板, 粗砂纸, 记录针形电极(或注射针头), 棉花, 纱布, 分规,

1. 动物的保定与电极的安放:

(1) 鸽 将鸽子背位固定于解剖台上, 用单夹型鸟头固定器固定其头部, 用缚带将两肢固定于解剖台进行剪毛、当于肩部下。胸前导中线最顶向左侧外为 V3。由为右心室 1.5 cm 处。以得到 V1、

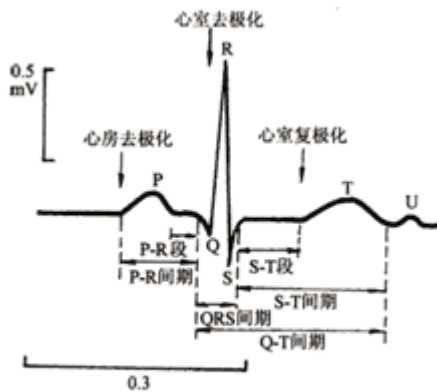


图 7.8-3 正常体表心电图

(2) 下垫以橡胶前肢的两针形电极分别插入肘关节上部的前臂皮下, 后肢两针形电极分别插入膝关节上部的大腿皮下。动物在开始固定时会出现较大的挣扎, 通常需安静 20 min 左右方可进行心电图描记。胸前导联可参照人的相应部位安放。

(3) 羊 预先训练羊, 使其在实验期间能保持安静站立。四个电极分别装于四肢的掌部和跗部(图 7.8-1)。在装电极前, 先将该部分的毛剃去, 用乙醚棉球擦拭后, 涂上导电糊(或覆盖一浸透 10% NaCl 溶液的棉花), 然后将电极扎紧并连导线。待动物安静 20 min 后, 即可测定心电图。

2. 仪器连接

(1) 心电图机描记, 用 5 种不同颜色的导联线插头分别与动物体的相应部位的针形电极连接。前肢: 左黄、右红(鸡两翼的两电极相当于上部部位, 亦为左黄、右红); 后肢: 左绿、右黑; 胸前为

台的侧柱上(图 7.8-4)。对两翼和后肢消毒。取两针形电极分别插入左右两翼相的皮下, 两肢的电极则需插入股部外侧皮肤电极按下列顺序连接: 自胸前龙骨突正端的上缘向下 1.5 cm 处为起点, 由起点侧 1.5 cm 处为 V1; V1 再向外侧 1.5 cm 于鸟类的心脏胸骨面解剖特点几乎全部外壁, V5 应在左翼的腋后线外下部 1.5 针形电极分别插入以上各点的皮下, 即可 V3、V5 的心电图。

兔 将清醒家兔背位固定于解剖台上, 底皮毯以排除干扰。对四肢进行剪毛、消毒。

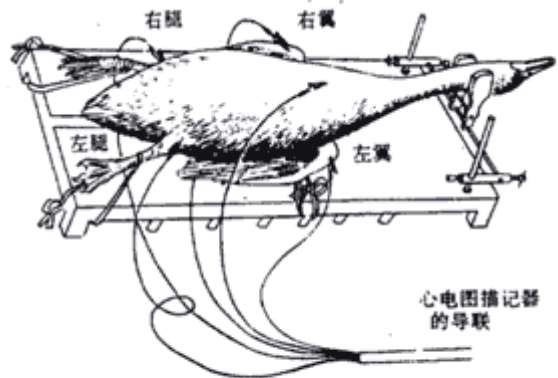


图 7.8-4 单夹型鸟头固定器及心电各导联部位示意

白。

3.确定走纸速度 一般为 $25 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 。但某些动物心率过快时（如兔、鼠、鸡等），可将走纸变速开关调至 $50 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

4.定标：重复按动 1 mV 定标电压按钮，使描记笔向下移动 10 mm ，记录标准电压曲线。

5.记录心电图 旋动导联选择开关，依次记录 I、II、III、aVR、aVL 和 aVF 6 个导联的心电图。

6.测量 II 导联 P 波、QRS 波群、T 波振幅，P-R、R-R 和 Q-T 间期，心脏活动每一个心动周期的记录正好是心电图的五个波形(图 7.8-5)。

[注意事项]

1.在清醒动物上进行心电图描记必须保证动物处于安静状态，否则动物挣扎，肌电干扰极大。应在固定动物后稳定一定时间，再进行描记心电图。

2.针形电极与导线应紧密连接，防止因出现松动产生 50 Hz 干扰波。

3.在每次变换导联时必须先将切断输入开关，然后再开启。每换一次导联，均须观察基线是否平稳及有无干扰，如有干扰，须调整或排除后再作记录。

4.仪器使用完毕后，应擦净并将个操作钮恢复原位，最后切断电源。

[实验结果]

1.剪贴心电图曲线；

2.测量、分析各种动物的心电图测量若干个 R-R（或 P-P）间期，求其平均值，即为一个心动周期的时间（s）；

3.计算心率：

$$\text{心率} = \frac{60}{\text{P-P或R-R间隔时间}} \text{次}\cdot\text{min}^{-1}$$

4.统计全班结果，用平均值 \pm 标准差表示心动周期和心率。

[思考题]

1.心电图记录在科研中有何意义？

2. II 导联记录到的正常心电图中的每个波及间期有何意义？

X 线机的操作实践

（一）10mA 和 30（或 50）mA X 线机结构的观察

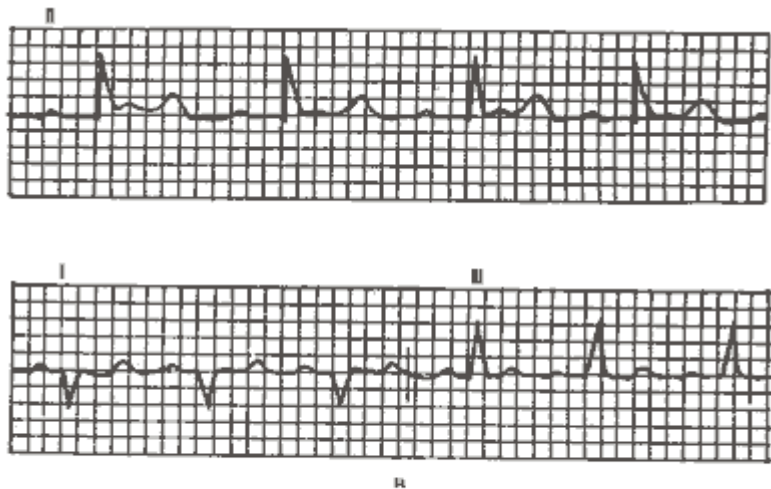


图 7.8-5 山羊标准肢体导联心电图

1. 机头 10mA、30mA 或 50mA x 线机采用组合式机头的结构，机头外壳由金属板或铝合金制成，内衬一层薄铅板防止机头漏出射线（有些机头用铅套筒把 x 线管包裹，只在放射窗处开一圆孔让有用的线束通过）。目前国产 10mA、30mA 或 50mA 组合机头采用圆筒（罐）状的外壳，外壳中央开一圆形放射窗，装上一块向内凹陷的杯状有机玻璃，对准 x 线管焦点，透过有机玻璃可在灯丝点亮后看到 x 线管阳极反射面的情况，并可检视机头内有无游离气泡，放射窗外可接上活动光门或聚光筒，以控制照射野的大小。机头内装有 x 线管、高压变

压器和灯丝变压器，圆筒的一端安装耐油橡皮制成的涨缩器，另一端为机头电路的接线端子板。通过导线与控制台相连。两端外壳另装上金属盖。机头内充满高压绝缘油。

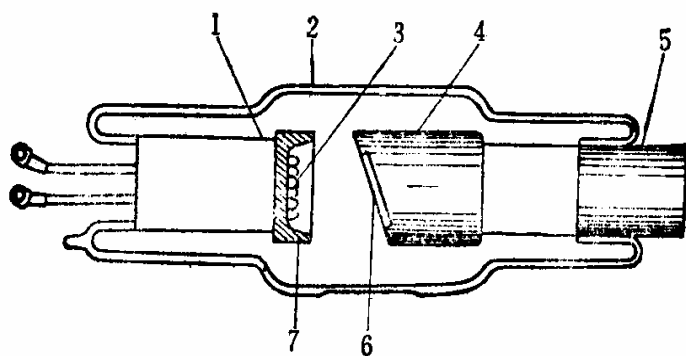


图 10-1 单焦点静止阳极 x 线管示意图

1. 阴极 2. 管壁 3. 灯丝 4. 阳极 5. 阳极杆 6. 钨靶 7. 聚

2. x 线管 是一个具有特殊用途的真空玻璃二极管，由阴极、阳极及管壁构成阴极有灯丝、集射罩，阳极有倾斜的钨靶（图 10-1）。

3. 变压器

(1) 高压变压器 把高压电输送给 x 线管的两极以产生 x 线。这种变压器的特点为输出电压很高，连续工作的容量小而瞬间工作的容量大。

(2) 灯丝变压器 系供给 x 线管（或高压整流管）灯丝加热的低压电流，次级电压多在 4~10V 左右，因其次级与高压变压器次级相连，故要求较高的绝缘性能。

4. 操纵台 也称控制台，是开动 x 线机和调节 x 线质量的装置，为一薄铁制的小箱子，内装自耦变压器、转换器、电阻器、继电器和保险丝等。面板上安装有各种操纵设备如电源开关和电源电压调节器、指示灯、电源电压（V）表、透视摄影曝光计时器（或手闸式定时钟开关）、透视曝光开关（脚踏开关）。

（二）X 线机的使用方法及注意事项

1. 使用操作 在使用操作前，应先阅读说明书，清楚了解其性能特点。电源电压与机器要求的电压要相符，接地要切实，各旋钮或调节器应在零位，然后按下述步骤操作。

(1) 启开电源开关 电源指示灯亮，电源电压表有读数。

(2) 调节电源电压 旋转电源电压调节器使电压表指到 220V 处。

(3) 拨好透视摄影交换器 透视时拨向“ ”摄影时拨向“ ”处。

(4) 调节毫安 30 或 50mA x 线机、毫安表有两行读数，上行读数大者为摄影毫安，下行读数小者为透视毫安。

(5) 调节千伏 根据需要调节千伏，按调节器的千伏数刻度选择即可。

(6) 调节曝光时间 摄影检查需要调节曝光时间、曝光计时器的刻度以秒为准，由 0~8S 或 0~10S，最短能控制到 0.2S 以上。透视曝光由脚踏开关控制。

(7) 曝光 摄影时按下计时器手闸按钮，即开始曝光，一达到预定的时间，自动跳闸，切断高压，曝光随即停止。透视曝光时间，由脚踏开关随意控制，离开脚踏，曝光停止。

(8) 关闭机器 用毕, 关闭电源开关, 拉开墙闸, 各调节器或开关返回零位。

2. 注意事项

(1) 启开电源后不要立即曝光, 应稍等片刻, 使灯丝预热产生足够电子。但使用完毕应立即关闭电源, 免使灯丝不必要地点燃增加蒸发而缩短寿命。

(2) 必须在额定性能内使用, 切勿过负荷。如 30mA x 线机最大摄影性能为 30mA、85KV、10S。低于额定性能使用, 可以延长 x 线管寿命。同时每次摄影曝光之后, 应有数分钟间歇, 以待阳极靶面散热。连续透视, 如机头超过额定温度 (感觉烫手), 应停机冷却, 或加风扇散热, 免至超过规定的热容量。

(3) 在曝光过程中, 除透视毫安以外, 不能作任何其他调节, 有需要时应停止曝光再行调节。

(4) 注意熟悉 x 线机正常使用现象, 若发现异常声音、臭味、漏油、荧光过亮或过弱, 毫安表反映针震动或下跌等等, 应立即停机检查。

(5) x 线机平日要注意防震防潮, 保持清洁干燥, 定时检查安全接地, 小心操作使用。

(三) 透视检查操作法

1. 透视器材的准备

(1) 在机头放射窗外安装好活动光门, 在荧光屏上装上活动褶迭式暗箱, 集体观察时不装暗箱, 但需在透视暗室内进行。

(2) 安装好透视荧光屏, 并轻轻转机头使放射窗的中心垂直对准荧光屏的中心。

(3) 透视者戴红眼镜进行暗适应, 调节眼睛适应于黑暗中观察的视力。

2. 机器的调节及透视操作

(1) 把透视摄影交换器旋转对准“ ”处, 并肥脚踏开关接上操纵台的曝光插座, 调节好电源电压。

(2) 透视条件用 2.5~3mA, 暂用 60KV (实际上应按投照部位厚度而增减)。关闭活动光门, 然后踏下脚踏开关, 观察毫安表读数, 调节至 2.5 或 3mA 即可。

(3) 稍打开活动光门, 露出一方形小孔, 闭目除去红眼镜, 踏下脚踏曝光, 观看方形的淡绿色荧光照射野是否位于荧光屏中央, 否则调整机头至对准为止。然后在曝光之下再开大活动光门, 适当扩大照射野范围 (只能小于而不能等于荧光屏, 更不能大于荧光屏的面积)。即可正常地进行检查。透视小部位时, 照射野要相应缩小。

(4) 留意观察体会荧光的亮度, 然后曝光数秒间歇数秒进行, 小动物 (或人体) 四肢较薄部位的观察, 注意认识软组织、骨骼、关节间隙的阴影与亮度, 体会 x 线的穿透作用, 荧光作用及影响 x 线穿透力与荧光亮度的因素, 理解透视检查在疾病诊断上的意义。

(四) 小家畜胸部透视检查示教

在上述透视操作之后, 接着转入做小家畜的胸部透视。

1. 动物准备 小猪、羊、犬、猫均可, 按具体情况选择 1 头, 畜体应清洁干燥。

2. 透视场地准备 集体观察, 在暗室内进行, 并把荧光屏上的褶迭暗箱取下, 关闭室内门窗并用红黑双层布帘遮蔽, 防止漏光。熄灭白灯, 改用红灯照明。应备有盛接粪尿器皿。

3. 透视体位与动物保定

小猪可用徒手直立保定透视, 分别用两手执着同侧耳壳及前肢, 把猪向上提举, 作背腹位或侧位透视。亦可作卧位透视, 但前、后肢要分别向前后尽量拉开。

羊、犬除上述两种体位外, 尚可作自然站立侧位透视。猫以直立位或卧位为宜。除自然站立姿势外, 任何体位均应把两前肢尽量向前拉紧, 各种体位中以直立位效果最佳, 但保定比较麻烦。每种动物均应进行正位 (背腹位) 和侧位透视, 但羊的胸透应以侧位为主。

4. 透视条件 2.5~3mA, 透视千伏按动物大小而定, 以上动物用 55~65KV 即可, 猫可用低限 (50~55KV), 机头与荧光屏的距离在各种 x 线机均已固定, 参照使用则可。

5. 透视的方法程序 先开大光门, 对全肺进行浏览, 获得初步的全面印象后, 再缩小光门分区进一步观察。如发现异常, 可进一步缩小光门, 对病变深入观察, 并与对称的正常部位进行比较, 最后开大光门进行全面的复核比较。

6. 胸部透视荧光影象的初步认识

(1) 背腹位肺野: 肺富含空气, x 线容易透过, 投影在荧光屏上呈现明亮而均匀的阴影, 通过与明亮的肺组织对比, 应显现出下述器官的影象。

心脏: 在背腹位呈卵圆形的黑暗阴影, 位于两肺之间的中央偏左处, 细看可见其搏动。

横膈: 呈圆顶状暗影, 为肺野的下界, 细看可以观察其随呼吸而运动。

(2) 侧位肺野 除见心脏和横膈外, 尚可显现主动脉, 后腔静脉和肺动脉等大血管和气管阴影, 大血管的阴影较暗, 而气管阴影最亮, 比肺野更为透明。

此外, 在背腹位和侧位胸透时, 均容易看到肋骨与胸椎等骨骼影象, 其阴影最为暗黑。

x 线摄影检查与暗室技术

1. 实验方法

以 4~5 人的小组为单位进行实习, 时间第一项约 2 学时, 由教师利用实物、图表或幻灯片等示教后, 进行操作。第二项约 1 学时, 主要由教师操作示教。第三项约 1 学时, 分组操作和分组示教。

2. 实验内容:

2. 1 透视前的准备工作:

2. 1. 1 透视前应详细阅读透视申请单, 参考临床各项指标及临床初步诊断, 明确透视目的, 以便做到心中有数。

2. 1. 2 作好病例的登记工作。

2. 1. 3 透视前应清除透视部位的一切外物, 如泥沙、粪便等。

2. 1. 4 病畜应妥善保定, 以免机器及人畜安全。

2. 1. 5 检查中工作人员应做好防护工作, 以防止 X 线的损伤。

2. 2 透视时应注意的事项:

2. 2. 1 透视时应将荧光屏尽量靠近检查部位。

2. 2. 2 透视时要快而准, 时间不宜过长, 一般情况控制在 1 分钟内, 疑难病例应控制在 5 分钟以内。

2. 2. 3 透视时应间断暴光。一般暴光 3~5 秒钟, 间隔 2~3 秒钟为宜。

2. 2. 4 机器使用时间过长, 应注意机器的休息和冷却。

2. 3 胸部透视检查:

2. 3. 1 驻立侧位: 即动物自然站立的姿势, 两前肢尽量前踏, 以便更多的暴露肺见眼尖叶的肺野。检查时由上到下, 由前至后; 或先胸心三角区→椎膈三角区→心膈三角区→心脏→肺尖叶。如有必要亦可以采取各种斜位。

2. 3. 2 直立背腹位 (正位): 是将小动物两前肢提举, 萤光屏置于胸前, 也可仰卧于诊断床或检查台上, 对准胸部进行观察。习惯上由右上→右下→左下→左上→纵隔→心脏。观察时要注意心胸比例, 双侧胸廓是否对称, 肋膈角是否清晰锐利, 心脏、大血管及膈肌的活动情况。

2. 4 腹部透视检查:

由于腹部脏器缺少自然对比, 临床检查较少应用。但如果怀疑有胃肠穿孔, 肠梗阻, 肠扭转或肠套迭时, 透视检查仍是不可缺少的方法。故有助于临床诊断。

2. 5 四肢透视检查:

由于在透视条件下不能清楚显示骨与关节的细微结构和病变, 故骨与关节主要以拍片检查为主。透视检查为辅助的手段, 四肢局部透视仅用于观察有无骨折、脱位, 有无不透性异物等。骨折的手术复位, 拍片前的定位等也可用透视检查。

(一) x 线摄影器材及暗室设备的认识与使用

1. 摄影器材

(1) x 线软片 为醋酸纤维或涤纶片基制成的双面药膜胶片, 呈淡黄绿色。感光性能分为低速、中速和高速三种, 大小尺寸共有 6 种规格, 习惯上以英寸表示。

国产片习惯上以 25 张为一盒包装, 每张软片夹有双面保护纸, 用黑纸袋包装, 外衬硬纸皮防止屈折, 并以黑色或红色喷塑铝薄袋密封, 然后装盒。平日应立放以免受压, 置于冷暗干燥处保存。

(2) 增感屏 其大小尺寸与 x 线软片规格相同。通常用胶水纸或特制胶布粘贴于暗盒内。除常规的钨酸钙增感屏外, 还有感光性能更优的氟氯化钡增感屏和稀土增感屏。注意对增感屏勿污损和折伤。

(3) 暗盒 (片盒): 由塑料片及金属板制成, 目前的暗盒多用铝板制成, 作装盛软片进行摄影之用, 大小尺寸及规格与 x 线软片及增感屏相同, 盒面可透 x 线, 盒底内面衬有一层弹力泡沫垫, 使增感屏与 x 线软片紧密接触, 供摄影用的暗盒, 内面都贴有增感屏, 要两屏药膜相对, 切勿贴反。盒底外面装有弹簧开关, 装片后要把开关卡紧以免漏光。

(4) 聚光筒 (遮线筒或活动光栅) 用来限制照射野的大小和减少散射线。

(5) 测厚尺 用来测量被摄部位厚度以确定 KV 数。

(6) 铅号码 用来标记照片的日期和编号。

(7) 摄影架 用来安放固定暗盒进行摄影。

(8) 滤线器 安装在电动诊视床的滤线器多是活动滤线器。此外还有密纹静止滤线器。应按其规定焦距使用。密纹滤线器大小尺寸与暗盒规格相同, 能滤去散射线, 提高影像清晰度。

2. 暗室设备器材

(1) 安全红灯 暗室操作时的照明光源。

(2) 切刀 为裁切软片用。

(3) 洗片架 (夹) 夹持软片进行冲洗用, 由不锈钢制成, 其大小规格与软片相同。

(4) 定时钟 以分为单位的定时闹钟, 用以计算显影时间。

(5) 其他尚有温度计、洗片盒 (或桶)、冲洗池、干片机、天平、量杯、漏斗等。

(6) 显影剂与定影剂。

(二) 摄影技术条件的选择与曝光条件表的制订

试以小猪或羊的胸部为例进行技术条件的选择和曝光条件表的制订。

(1) 用测厚尺测量猪 (或羊) 的胸部侧位厚度厘米数, 并以彩笔标记被测位置。

(2) 试用书本上介绍的千伏数或使用千伏数计算公式: $KV = \text{厚度 (cm)} \times 2 + \text{基数}$, 算出千伏值, 基数范围为 25~30, 焦点胶片距用 75 或 100cm, 试用 30mA 和 0.4S 曝光时间。

(三) 小动物胸部背腹位及侧位投照的方法步骤

(1) 根据动物大小, 准备相应大小的胶片。一般中, 小猪可用 8×10 或 7×11 的软片, 装入在暗盒内的两块增感屏之间, 紧闭暗盒备用。若把较小的软片装入较大的暗盒内, 须在暗盒上标明软片的位置。

(2) x 线摄片登记和编号。在号码牌上按所编 x 线号排好铅号码、日期和左、右等铅字，并贴挂在暗盒上。

(3) 用测量尺测量胸厚的厘米数，参照条件表选择投照条件。但在毫安秒值维持不变的情况下，尽量用高毫安和短时间曝光。

(4) 按选定的投照条件调节好 KV、mA、曝光时间和距离。

(5) 把暗盒装在摄影架上，动物用保定带保定两前肢及头部（羊可套在羊角上）垂直悬挂起来（注意勿压迫气管），进行水平投照。如用卧位摄影，暗盒平放在地上或床上，人工保定动物进行垂直投照。

(6) 摆好位置并对准 x 线束中心。背腹位摄影，矢状面与片盒垂直，胸骨柄与片盒上界等高。侧位投照，矢状面与片盒平行，片盒侧缘与胸骨剑突对齐，x 线束的中心对准软片的中心。

(7) 接通机器电源，调节好电源电压，掌握呼吸间歇的安静时机进行曝光，曝光完毕即关闭电源。

（四）大动物前肢腕关节前后位及内侧位投照

(1) 胶片的准备，在体格不大的动物，使用 5×7 软片，体型较大的动物切成 6×8 或 7×11 软片。

(2) 动物被检部应清洁干燥，局部不能留有碘、汞类药物。在柱栏内站立保定待检。

(3) 编号、排铅号码、测厚、选择投照条件，调节机器等参照胸部投照的方法进行。

(4) 片盒装于四肢摄片架上，对正腕关节摆放好片盒位置，x 线束中心水平对准两列腕骨之间的间隙。

(5) 接通电源，开动机器，掌握在动物安静的瞬时进行曝光。

6. 摄片时注意事项

(1) 软片的放置与被检部位要一致，方位要正确。

(2) 片盒要紧贴被检部位，局部要清洁干燥。

(3) x 线束中心要对准被检部位中心并与胶片垂直，拍摄关节时中心线束要对准关节间隙。

(4) 拍摄长骨等细长部位，软片长轴与 x 线管长轴垂直。拍摄长而宽的部位，如胸、腹时，x 线管长轴与胶片长轴平行，x 线管的阳极端应位于投照部较薄的一端。

（五）暗室技术操作

1. 胶片的装卸

(1) x 线软片开盒：胶片装卸过程全部在暗室内进行。先把软片纸盒封口撕开，关闭白灯，在安全红灯下把盒内包裹软片的塑料铝箔密封袋反折的封口剪开，即可进行装片。

(2) 装片：把暗盒底朝上平放桌面，打开暗盒。把已开盒的 x 线软片密封袋折口打开，用右手拇指及食指伸入封袋内连同保护纸轻轻取出一张软片，左手掀去护纸的下页，把软片放入暗盒内的增感屏上，再用左手食指和中指隔着面页护纸检查软片前沿及两角，若已正确位于暗盒后，右手即把软片平放盒内并将保护纸取出，把底盖盖好并卡紧。随后则把软片密封袋口反折好，放回纸盒内盖好（如软片尺寸大，按需要裁小后再行装片）。

(3) 卸片：经过摄影曝光后的胶片可以卸片进行冲洗。把暗盒平放于台上打开盒盖，把胶片倒出以手接住。如不能脱出可用指甲轻轻将其刮起，用食指和拇指拿着片角取出，再夹在洗片架上进行冲洗。

2. x 线软片的冲洗

(1) 显影剂及其配制

50℃温水（蒸馏水为佳）	800ml
米得（甲基对氨基酚）	3.5g
无水亚硫酸钠	60g
坚安（对苯二酚）	9g
无水碳酸钠	40g
溴化钾	3.5g
水加至	1000ml

按顺序溶解后配成，或用 1 加仑（1 加仑=4.546L）装的显影粉成品配制成 3785ml。

（2）定影剂及其配制

50℃温水	600ml
硫代硫酸钠	240g
无水亚硫酸钠	15g
醋酸（28%）	48ml
硼酸	7.5g
钾矾	15g
水加至	1000ml

按顺序溶解配制或用 4.546L 装定影粉成品配制。

（3）显影：把已经卸下的胶片夹好在洗片架上，放入清水中浸湿后拿起，滴去清水，即放入显影桶内上下移动几次，然后加盖显影，显影液温度 20℃，显影时间 4~6 min。如用盆冲时，则不装洗片架。

（4）洗影：显影完毕的胶片，拿起滴去显影液，放入清水中漂洗片刻（由数秒至二十秒不定）取出滴去清水。

（5）定影：洗影完毕的照片，放入定影桶内定影（盆冲时平放定影盆内）10~15 min 并加盖。中间可翻动一次。

（6）冲影：定影完毕的胶片，拿起滴去定影液，放入流动清水中冲洗 0.5~1h。

（7）干燥：冲影完毕的胶片，拿起滴去清水，放在凉片架上凉干，或放入电热干片箱内烤干。最后装入封套登记，送阅片室阅片和归档。

3. 暗室操作的注意事项

- （1）暗室内应切实保持黑暗，不能漏光。
- （2）软片的装卸和操作，应避免在红灯下曝露时间久，致使胶片发灰。
- （3）冲洗过程中，胶片避免摩擦划伤，避免重迭或粘着。

1. 实验方法

以 4~5 人为小组进行实习，每小组摄影两张 X 光照片。先教师进行示教，时间掌握在 1 学时以内。其他时间由学生自己操作完成。

2. 实验内容

2. 1 X 线摄影器材及暗室设备的认识与使用

2. 1. 1 X 线软片：X 线软片为醋酸纤维或涤纶片基制成的双面药膜胶片，呈淡黄绿色。感光性能分为低速、中速和高速三种，大小尺寸共有 6 种规格，习惯以英寸表示如下：

英 寸	厘 米	英 寸	厘 米
5×7	12.7×17.8	11×14	27.9×35.6
8×10	20.3×25.4	12×15	30.4×38.1
10×12	25.4×30.4	14×17	35.6×43.2

--	--	--	--

国产 X 软片习惯以 25 张为一合包装，每张片夹有双面保护纸，用黑纸袋包装。规格不全时，可使用大片裁成小片。

2. 1. 2 增感屏：其大小尺寸与 X 线软片规格相同。通常用胶水纸或特种胶布粘贴于暗合内。除常规的钨酸钙增感屏外，尚有感光性能更优的氟氯化钡和稀土增感屏。使用时要注意对增感屏不要污损。

2. 1. 3 暗盒：由塑料板及金属制成，目前的暗盒多用铝板制造，作装 X 软片进行摄影之用，其大小尺寸和规格与 X 软片及增感屏相同。盒面可透 X 线，盒底内面衬有一层弹力泡沫垫，使增感屏与 X 线软片紧密接触。盒底外面装有弹簧开关，装片后要把开关卡紧。

2. 1. 4 聚光筒：用来限制照射野的大小或减少散射线。

2. 1. 5 测厚尺：用以测量被摄部位厚度以确定 KV 数。

2. 1. 6 铅号码：用以标记照片的日期和编号。

2. 1. 7 滤线器：安装在诊断床的滤线器多是活动滤线器。其滤线器大小尺寸与暗合规格相同，能滤去散射线，提高影象清晰度。

2. 1. 8 安全红灯：暗室操作时的照明光源。

2. 1. 9 切刀：为裁切 X 软片用。

2. 2 小动物胸部正位及侧位投照方法步骤

2. 2. 1 根据动物大小，准备相应大小的 X 胶片。将 X 软片装入暗合中备用。

2. 2. 2 登记按顺序编号，在号码牌上排好 X 线号、日期和左右的铅字，并把牌子粘在暗合上。

2. 2. 3 按选定的投照条件调节好 KV、mA、暴光时间和距离。

2. 2. 4 把暗合摆好、动物保定好，并对准 X 线的中心线，即 X 线束的中心对准软片的中心。

2. 2. 5 接通机器电源，调节好电源电压，选择好投照条件进行暴光。

2. 2. 6 暴光完毕，转扭回零，关闭电源。

2. 3 暗室技术操作

2. 3. 1 显影：把已卸下的 X 软片夹好在洗片架上，放入清水中浸洗后拿起，滴去清水，放入显影液内加盖显影，显影液温度为 20°C，显影时间为 4~6min。如用全自动洗片机时，则不装洗片架。

2. 3. 2 定影：显影完毕的照片，再放入定影液内定影，定影时间为 15~20min，加盖定影。

2. 3. 3 水洗：定影完毕后的胶片，拿起滴去定影液，放入流动的清水中冲洗 30~60min 即可。

2. 3. 4 干燥：水洗完毕的胶片，滴去清水，放在凉片架上凉干，或放入干片箱内烘干。然后装入袋内登记，送阅片室阅片和归档。

六、作业与思考

1. 动物单极胸导联如何确定？
2. 如何分析心电图，作出诊断？
3. 透视检查时的条件有那哪些？
4. 透视前要作哪些准备工作？
5. 透视时应注意哪些事项？
6. 通过本次实验，请你制订一个某部位的 X 线摄影条件表。
7. 冲洗出来的 X 线照片过黑，可能由哪些原因？
8. 摄影过程中应注意哪些事项？

附录：

参考文献:

(王京仁)

ZW-F10 便携式诊断 X 射线

本机

实施标准: Q / SQCV06-1999 《ZW-F10 型便携式诊断 X 射线机》。

设备类型: 本产品按防电击的类型和程度分类属于 I 类、B 型、非永久性安装的普通医用电气设备。

工作制: 适用在待机状态和按规定加载时连续同供电网连接。

制造厂的责任:

在以下几种情况下，制造厂对设备的安全性、可靠性和性能方面受到的影响负有责任：

- 装配、增设、调试、改动或维修都是由制造厂认可的人员进行的；
- 有关房间内的电气设施是符合有关要求的；
- 设备是严格按照使用说明书要求使用的。



警告：在安装或使用本设备时，请务必仔细阅读本说明书的全部内容。

第一章 概 述

一、产品特点

本机是一部安全防电击、防散射、单焦点、半波自整流的携带式诊断 X 射线机，全部零部件装在机箱和支架袋内，并配备有背包袋，便于携带使用。

二、主要用途及适用范围

本机可供口腔、骨科、心、肺、头颅及节育环等透视、摄影之用，适用于部队、中小医院及流动场所使用。

荧光屏与初级防护屏组装一起，并附装有遮光暗袋，可在亮室内工作。暗袋拆卸后，亦可在暗室内工作。

三、环境条件及工作条件

1、 产品运输和贮存条件：

- a) 环境温度范围： $-20^{\circ}\text{C} \sim +70^{\circ}\text{C}$ ；
- b) 相对湿度范围： $\leq 95\%$ ；
- c) 大气压力范围： $500\text{hPa} \sim 1060\text{hPa}$ ；
- d) 无腐蚀爆炸性气体及尘埃。

2、 产品正常工作环境条件

- a) 环境温度范围： $10^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ ；
- b) 相对湿度范围： $< 87\%$ ；
- c) 大气压力范围： $860\text{hPa} \sim 1060\text{hPa}$ 。

3、 电源条件


- a) 电源电压：单相交流 $220\text{V} \pm 22\text{V}$ ；

- b) 频率：50Hz±1Hz；
- c) 电源容量：不低于 1KVA；
- d) 电源内阻：不大于 1.5Ω。



警告：下列的安全措施与功能已表达在本机的设备上，
请务必熟悉、理解。

四、安全及相关标志

- 1、在 X 射线发射辐射窗口旁，标有图形符号 “”；
- 2、X 射线设备的半价层：2.7 mmAl；
- 3、X 射线设备的附加滤过：在 X 射线辐射窗口，选用 2.0mmAl 作为附加固定滤过片，固定的附加滤过片必须用工具才能拆卸，且在 X 射线管机头外壳上标明；
- 4、X 射线辐射窗口线束的限制方法：用铅门作限束装置。在正常使用范围内，通过手动调节 X 射线束范围，使矩形照射野最大不超过 190mm×240mm；
- 5、焦点至皮肤距离：本机在距焦点 30cm 处设有一阻挡棒，阻止在进行 X 射线照射时，焦点至皮肤距离小于 30cm 时使用；
- 6、一次防护屏：本机采用 8mm 厚的铅玻璃作为一次防护屏，并与荧光观察屏组合成一体；
- 7、X 射线辐射输出的限制：本机设有透视 4min 的限时装置，当单次连续透视时间达到 4min 时，本机将自动终止辐照。

第二章 结构特征与工作原理

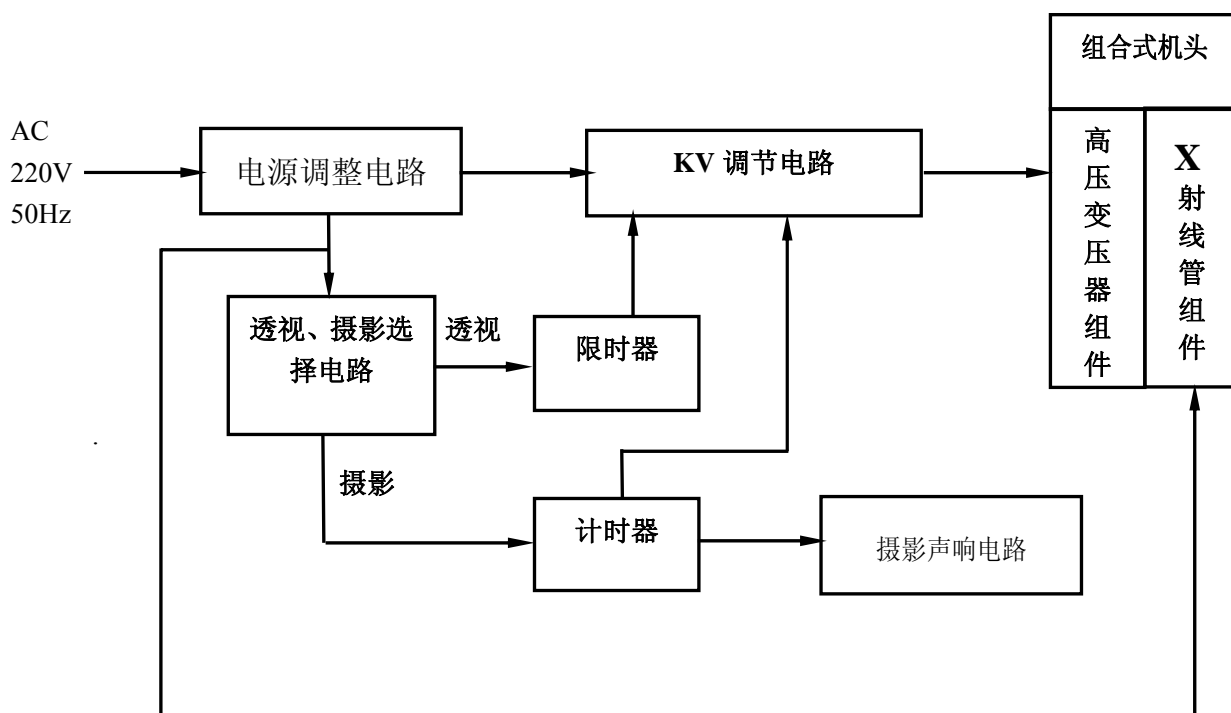
一、整机结构

整机由三部分组成：

- 1、 **X 射线辐射发生装置：**由 X 射线管机头、控制箱、透视脚开关、摄影计时器组成。可对 X 射线辐射能量及时间进行控制；
- 2、 **X 射线辐射接收与防护装置：**由调节 X 射线照射野的铅门和配有铅玻璃作为初级防护屏的荧光屏支架组成。使 X 射线辐照在照射野内进行透视；
- 3、 **机械活动装置：**由立柱合件、水平导轨合件、弯臂、机箱组成，能针对不同诊断部位作上下、前后移动，适合多部位的 X 射线辐射及观察诊断。

二、电路工作原理：（见图 1，电路方框图）

交流 220V 电源在电网变化 $\pm 10\%$ 范围内，输入电源调整电路，使电源电压调整在 220V 处，根据选定的透视或摄影方式，选择 KV 值。在透视状态下，通过 mA 调节电位器调节 mA，当单次连续使用时间达 4min 时，透视限时器动作，关断 KV 调节电路的输出（即停止了组合式机头的输入）；在摄影条件下，通过摄影计时器，进行摄影时间选择。在摄影时，有光（黄灯亮）、声（蜂鸣器响）同时进行指示。



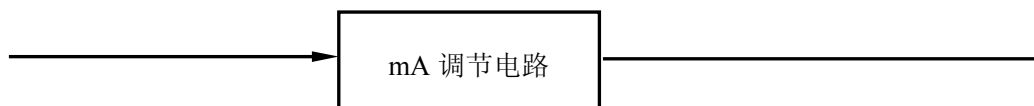


图 1. 电路方框图

第三章 技术特性

一、主要性能

本机设有透视、摄影两种工作方式：

- 1、 闭合电源开关时，绿色指示灯亮，为预备状态；
- 2、 透视时，黄色指示灯亮，且单次透视持续时间超过 4min 时，电路会自动断开；
- 3、 摄影时，黄色指示灯亮，且同时伴有蜂鸣器声响，用以指示加载终止的时刻。

二、技术参数

- 1、 **透视：** 管电压：45~75KV，共分 7 档；
管电流：0.5~5.0mA，连续可调。
- 2、 **摄影：** 管电压：45~75KV，共分 7 档；
管电流：10mA。
- 3、 **最大输出功率：**
连续方式： $P=0.74 \times 75KV \times 5mA=277.5W$ ；
间隙方式： $P=0.74 \times 75KV \times 10mA=555.0W$ 。


4、

	注意：本机最高额定容量： 透视：65KV、5mA，断续 1 小时 摄影：75KV、10mA，10S
---	--

- 5、 **焦点尺寸：** 1.5mm×1.5mm。
- 6、 **计时范围：** 0~10S。
- 7、 **焦点至荧光屏距离：** 630mm。
- 8、 **机架上下移动范围：** 230mm。
- 9、 **机架左右移动范围：** 130mm。

10、荧光屏尺寸：203×254mm(8" ×10")

11、

	注意：照射野： 最小： 15mm×15mm； 最大： 190mmX240mm
---	---

12、熔断器： 5A；

13、净重： 25Kg。

第四章 机器的携带、安装、拆卸和调试

一、携带

本机为携带式，由一个装载机箱的背包袋和一个支架袋两部分组成。

1、机箱内所装部件：（见图2）



荧光屏、控制箱、摄影计时器、
脚开关、铅门、荧光屏支架
X射线管机头、集光筒、连接线、
接地线、荧光屏布袋。

图2

2、支架袋内含：（见图3）



弯臂、立柱合件、
水平导轨合件。
阻挡棒

图3

二、安装

1、安装前的准备

收到机器后，开箱并拆开各包装袋，取出说明书，按装箱清单逐件清点，检查数量是否齐全，同时注意零部件是否因运输不当而出现破损或其它异常情况。如发现问题，请及时向发货单位提出。

2、安装步骤

根据图 2、图 3 所示零部件，按如下步骤安装：

- 1)取出机箱内的所有部件，盖好箱盖，扣紧箱攀后放妥；
- 2)将控制箱挂到机箱一侧的两个挂钉上，确保操作过程中整体的重量平衡；（见图 4）
- 3)将方形立柱按图示方向插入机箱的上下固定圈方孔内；（见图 5）
- 4)将水平导轨合件插入立柱，并将导轨尾端的挡板旋转一定角度固定；（见图 6）
- 5)两根弯臂连接好，套在水平导轨上，并紧固旋钮，使弯臂不会转动；（见图 7）
- 6)装上 X 射线管机头；（见图 8）
- 7)装上荧光屏；（见图 9）
- 8)装上铅门；（见图 10）
- 9)旋入阻挡棒。（见图 11）



图 4



图 5



图 6



图 7

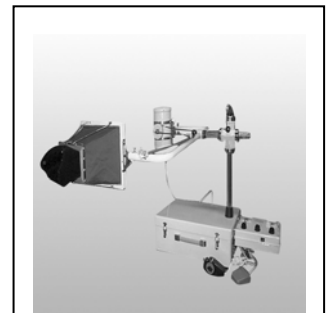


图 8

图 9

图 10

图 11



警告：为了使患者的吸收剂量在合理情况下尽可能低，使焦点到皮肤距离不小于 30cm，本机设置了阻挡棒。

10) 根据需要，可改变透视或摄影安装位置，如图 11、图 12 所示；



警告：在按照图 12、13 所示方式使用时，应在机箱左侧附加重物或用绳索缚于工作台上，以免整机失衡，倾覆。



图 12

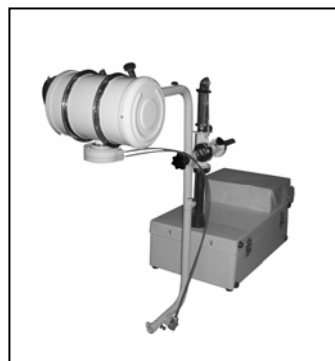



图 13

11) 连插相关导线(透视时，将脚开关插入；摄影时，将摄影计时器插入)



注意：如电源无地线时，必须接上接地线，将其一端与控制箱上的保护接地端（符号：）相连，另一端与大地可靠连接后，方可使用。

三、拆卸

- 1、 将升降主体部件移至立柱的最高位置固定，取下荧光屏组件；
- 2、 卸下 X 射线管机头窗口上的铅门；
- 3、 卸下 X 射线管机头；
- 4、 旋下紧固旋钮，取下弯臂，并将弯臂拆分为二；

- 5、取出方形立柱；
- 6、将各部件分别装入机箱和支架袋内。

四、调整与试验

本机在出厂前已作过全面调整和整机性能试验，但考虑到使用地区的电源情况不同，以及运输过程中受震、受潮等影响，用户安装完毕后仍须对本机进行再一次全面检查和调整，以使机器能完全达到设计性能。

请在调整前对电路分析作较为清晰的了解，详读电路原理图（见 19 页）及元器件清单（见 18 页）。

1、空载调试

除透视脚开关及摄影计时器外，将各连接线分别接插入控制箱后（其中 5 芯连接线插头暂不与 X 射线管机头相连接），按下列步骤操作：

- 1) 将控制面板上的各调节旋钮均调至最低位置；
- 2) 在 5 芯的连接插头的①脚和②脚（即高压变压器初级接线的 0—P 端）及①脚和③脚（即 X 射线管的灯丝变压器的初级接线 0—F 端）各接上一个 0—250V 电压表或 220V15W 的白炽灯；
- 3) 接通电源，调节电源电压旋钮，使电源电压表指针达到 220V 处。此时，①脚和②脚的电压表有读数或灯被点亮，将透视 / 摄影选择开关置“透视”位，转动透视毫安调节旋钮，电压表读数或白炽灯亮度随之变化，表明控制箱的灯丝控制输出电路正常；



注意：此时，透视脚开关及摄影计时器尚未与控制箱连接。

- 4) 透视校验：
 - a. 将透视脚开关插入控制箱，面板上的透视 / 摄影选择开关置于“透视”档；

- b. 闭合脚开关，此时面板上的“黄色指示灯”亮，同时，①脚和②脚的电压表有读数或灯泡发亮，调节 KV 旋钮，改变 0—P 间的电压值，电压表读数或电灯亮度会随之变化，表明“透视”高压初级供电电路控制正常。
- 5) 摄影校验：
- a. 将摄影计时器插入控制箱，面板上的透视 / 摄影选择开关置于“摄影”档；
- b. 设定计时器时间，按下计时器，此时面板上的“黄色指示灯”亮，以及蜂鸣器响，同时，①脚和②脚的电压表有读数或灯泡发亮，调节 KV 旋钮，改变 0—P 间的电压值，电压表读数或电灯亮度会随之变化，表明“摄影”高压初级供电电路控制正常。

2、负载调试

未使用过的或长久停用的机器，在使用前必须经过训练，以提高 X 射线管的真空度，延长使用寿命。

- 1) 将透视 / 摄影开关置“透视”档；
- 2) 固定管电流 mA 值(约 1mA)，以最低管电压 45KV 开始加载，每提高 5KV 加载一次，直到最高工作电压 75KV；
- 3) 当发现管电流不稳定时，应立即降低管电压，直到管电流稳定，并在这个电压下断续加载数分钟后，再逐步提高 KV 档，直到最高工作电压 75KV。如一切正常则训练结束；
- 4) 按机器操作规程，做透视和摄影操作，当荧光屏上显示荧光和电流 mA 表有读数时，即表明该机全部电路工作正常。

3、管电流 mA 调整

mA 值在出厂时已调整妥当，但由于运输过程中的不确定因素，可能导致 mA 值变动。如使用时 mA 值有较大偏差，可卸下控制箱两侧四个螺钉，将控制箱底壳拆开，按以下步骤进行调整。

- 1) 透视 mA 调整

按机器操作规程，进行透视操作，将电源电压调整至 220V 处，将 KV 调至 60KV 档。闭合脚开关，逐渐将面板上 mA 调节电位器顺时针旋转到底，mA 表读数应为 5mA。若读数超过或未达到，可调节控制箱内的透视用半固定电阻 R 的调整环。

2) 摄影 mA 调整

按机器操作规程，进行摄影操作，将电源电压调整至 220V 处，将 KV 调至 60KV 档，按下计时器，mA 表读数应为 10mA。若是超过或未达到，可调节控制箱内的摄影用半固定电阻 R_1 的调节环。

4、反峰电压调整

反峰电压控制电路由 R_2 和整流二级管 RE 组成，本机出厂时已作精确调整，新机使用时勿须再作调整；

- 1) 在高压变压器初级线路中，串接 0—10A 交流电流表，按机器操作规程进行透视或摄影操作，期间依次变动旁路电阻 R_2 的调整环，即调整电阻值，使电流表所示数值最小，即是所需阻值；
- 2) 整流二级管 RE 的极性和 X 射线管的极性一致时，荧光屏亮度最亮，如果两者的极性不一致，则荧光屏很暗，线电流很大，这时只须变更整流二级管 RE 的两端接线即可。



注意：在调整 R_1 和 R_2 电阻的调整环时，应先将调整环的紧固螺钉旋松，轻轻地将调整环在电阻上滑动至所需位置后，再将螺钉重新紧固。（调整环上的圆头不应与电阻上的阻丝相接触）



警告：在进行调节电阻调整环时，必须切断电源，以免触电。

第五章 使用操作



图 14 控制箱面外形图

一、透视

- 1、将透视 / 摄影开关置“透视”档，接插透视脚开关导线；
- 2、接通电源，置电源开关于“I”位，绿色指示灯亮，调节“电源调节”旋钮使电压表指针对准 220V 刻度(标有红色▲处)；
- 3、选择“KV 调节”旋钮至所需要的 KV 值；
- 4、踏下脚开关，观察毫安 mA 表，并旋转“透视 mA 调节”旋钮到所需要的 mA 值。此时，面板上的“黄色指示灯”亮；
- 5、将 X 射线管机头中心与荧光屏中心位置对齐，调节铅门开启大小，使 X 射线照射在荧光屏中心位置。再次把铅门开启至最大位置。此时，X 射线矩形照射野将不会超过荧光屏尺寸；
- 6、在进行荧光屏透视诊断时，透视部位应贴近荧光屏；
- 7、踏下脚开关，单次连续照射时间超过 4min 时，内部时间限时电路会自动断开。若再次踏下脚开关时，又可正常透视；
- 8、透视完毕后，将“电源调节”旋钮旋到“O”位，同时断开“电源开关”，并将“KV 调节”和“mA 调节”旋钮退至最低位置；



注意： 透视时不能超过最大额定容量：65KV、5mA、断续 1 小时。

二、摄影

1、摄影方法

- 1) 将透视 / 摄影开关置“摄影”档，接插摄影计时器导线；
- 2) 接通电源，置电源开关于“Ⅰ”位，绿色指示灯亮，调节“电源调节”旋钮使电压表指针对准 220V 刻度(标有红色▲处)；
- 3) 选择“KV 调节”旋钮至所需要的 KV 值；
- 4) 将摄影计时器调节到所需要的工作秒 S 值；
- 5) 按下摄影计时器，摄影即开始。此时，面板上的“黄色指示灯”亮，蜂鸣器鸣响。摄影结束时，声光指示同时结束；
- 6) 摄影完毕后，将“电源调节”旋钮旋到“○”位，同时断开“电源开关”，并将“KV 调节”旋钮退至最低位置。



注意：在透视和摄影进行过程中，不能调整电源电压和 KV 值。

2、摄影技术条件



注意：摄影的质量与管电压 (KV)、管电流 (mA)、加载时间 (S)、辐射距离及 X 光胶片的感光灵敏度有很大关系。因此，必须根据这些条件进行适当地综合调整。本机提供的摄影技术条件表仅供参考。



特别提示：由于本机为小型便携式 X 射线诊断机，摄影时未配备如大型机那种样光野指示器。为此，用本机摄影时，应遵守下列方法：

- 1) 参考摄影技术条件表，根据不同部位，确定摄影距离；
- 2) 选择“透视”操作时，先将铅门关闭，然后根据已确定的距离，在保证使 X 射线管机头中心与荧光屏中心能对齐的方式前提下，逐渐开启铅门，在荧光屏上调出最大照射野（但不超过荧光屏的有效尺寸 8" × 10"）。此时，铅门限束器的开启位置即为对应选定距离的安全辐射照射野的位置；

3、摄影技术条件表

(供参考)

部 位	管电压 (KV)	管电流 (mA)	时 间 (S)	距离 (cm)
肺 部	65-75	10	1.0	150
腹 部	65	10	1.5	75
髋关节(正)	75	10	2.0	85
髋关节(侧)	75	10	3-4	85
膝 关 节	65	10	0.5	85
踝 关 节	60	10	0.5	85
肘 关 节	60	10	0.5	85
肩 关 节	75	10	1.0	85
足 背	55	10	0.5	150
腕关节(正)	55	10	0.5	85
腕关节(侧)	60	10	0.5	85
手(足)指	50	10	0.3-0.4	最小距离
乳 突	75	10	1.0	150
颈 椎	75	10	1.0-1.5	85

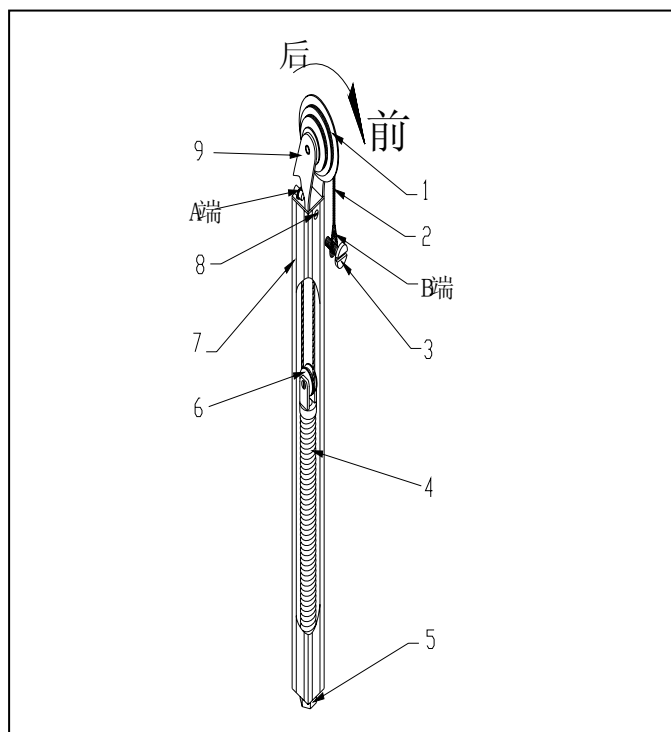
腰 椎(正)	75	10	3.0	75
腰 椎(侧)	75	10	8.0	65
头 颅(正)	75	10	2.4	65
头 颅(侧)	75	10	2.0	65
胸 椎(正)	75	10	3.5	75
胸 椎(侧)	75	10	8.0	75

第六章 维护与保养

为延长本机的使用寿命和操作者的安全，用户除掌握本机的电路原理和基本操作知识外，还应经常对本机进行保养和维护工作。

一、用户应注意的有关事项：

- 1、本机忌潮湿，高温和日光暴晒；
- 2、长期未使用或更新的 X 射线管机头，使用前必须作 X 射线管机头的训练和相应调整；
- 3、在安装、搬运及操作过程中，应小心谨慎，避免碰撞；
- 4、在操作过程中发现 X 射线管机头有劈啪的打火声及异常响声时，请停止使用，避免造成严重损坏，并及时与厂方联系。



二、钢丝绳的更

换：（参见图 15）

- (1) 塔状曲线轮
- (2) 钢丝绳
- (3) 挂钩螺丝（固定于套筒体上）

- (4) 平衡弹簧
- (5) 调节螺钉
- (6) 滑轮
- (7) 立柱
- (8) 沉头螺钉
- (9) 曲线轮架

图 15（整机上下移动重量平衡结构图）

钢丝绳使用日久发生折断现象时，应进行调换，以免发生意外。

调换方法如下：

- 1、旋松调节螺钉（5），使立柱内的平衡弹簧（4）回缩，直到该螺钉脱落后，再把沉头螺钉（8）和挂钩螺丝(3)旋出，即可卸下曲线轮架（9），拉出平衡弹簧（4），取出旧钢丝绳或残留的断钢丝绳；
- 2、取备用钢丝绳（2）一根，以有环的 A 端为头，依次穿入曲线轮架（9）、圆孔、滑轮（6）、及长孔后，将弹簧（4）插入立柱（7）内，并旋入调节螺钉（5）使其与平衡弹簧（4）搭上 4~5 牙，再把曲线轮架（9）就位后旋入 2-沉头螺钉（8）装好；
- 3、以钢丝绳（2）有环的 B 端为头，按图示方向从后向前，顺着塔状曲线轮（1）上的凹槽绕三周（此三周应尽可能绕在整个曲线轮的中段）后，把钢丝绳（2）的 B 端环挂到套筒体的挂钩螺丝（3）上，再适当旋紧调节螺钉（5）；
- 4、上下移动的平衡调整

本机出厂时已调好平衡，新机使用时勿须再作调整。

将所有零部件准确安装完毕，上下移动立柱体合件上的 X 射线管机头等部件（以下简称主体）时，在不受其他外力作用下，主体应能达到随处均可稳定停位，如不能达到随处可稳定停位，须按下列方法进行平衡调整：

- a. 将立柱上端连接弹簧的钢丝绳（2）夹住，将套筒体向上抬一

点，使塔状曲线轮（1）上的钢丝绳（2）处于不受拉力的状态；

- b. 一手握住钢丝绳（2），另一手转动塔状曲线轮（1）（注意：仅转动塔状曲线轮（1），钢丝绳（2）不可跟动，即以此改变钢丝绳（2）处于塔状曲线轮（1）不同直径段上的位置），每次作少量转动后，再试作主体的上下移动，观其随处平衡情况，如此反复，即可完成主体的位移平衡调整；
- c. 进行平衡调整时塔状曲线轮（1）转动方向的确定：
 - i. 若主体未受其他外力时，自动下移，应顺时针方向转动塔状曲线轮（1），可求得新的平衡；
 - ii. 若主体未受其他外力时，自动上升，应逆时针方向转动塔状曲线轮（1），也可求得新的平衡。

第七章 杂散辐射的防护

本机是在使用过程中允许操作者或工作人员接近患者进行放射诊断的 X 射线设备。因此，具有使操作者和其他工作人员免遭杂散辐射的合理措施及使用要求；

- 1、 规定操作者或工作人员在有效占用区内进行透视检查或摄影；
- 2、 本设备有效占用位的位置如图 16 所示；
- 3、 本设备的设计及构成，已将加载过程中需要触摸的手柄及控制装置等均置于 X 射线束照射范围之外；
- 4、 本机为小型的携带式透视、摄影诊断 X 射线机，使用部位的灵活性以及结构尺寸的限制性，提醒使用者和操作者在正常使用时，需要使用防护用具和穿戴防护衣；

5、杂散辐射试验：依据 GB9706.12—1997 中 29.208.6 条款规定进行。其中：管电压：75KV，管电流：3mA。

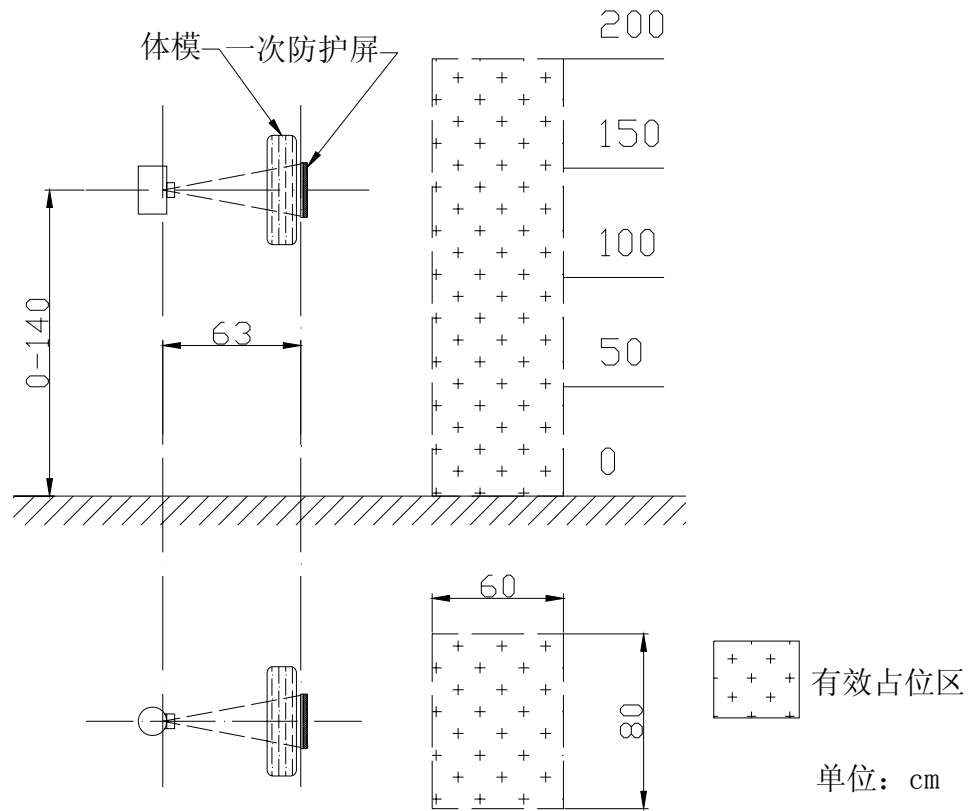
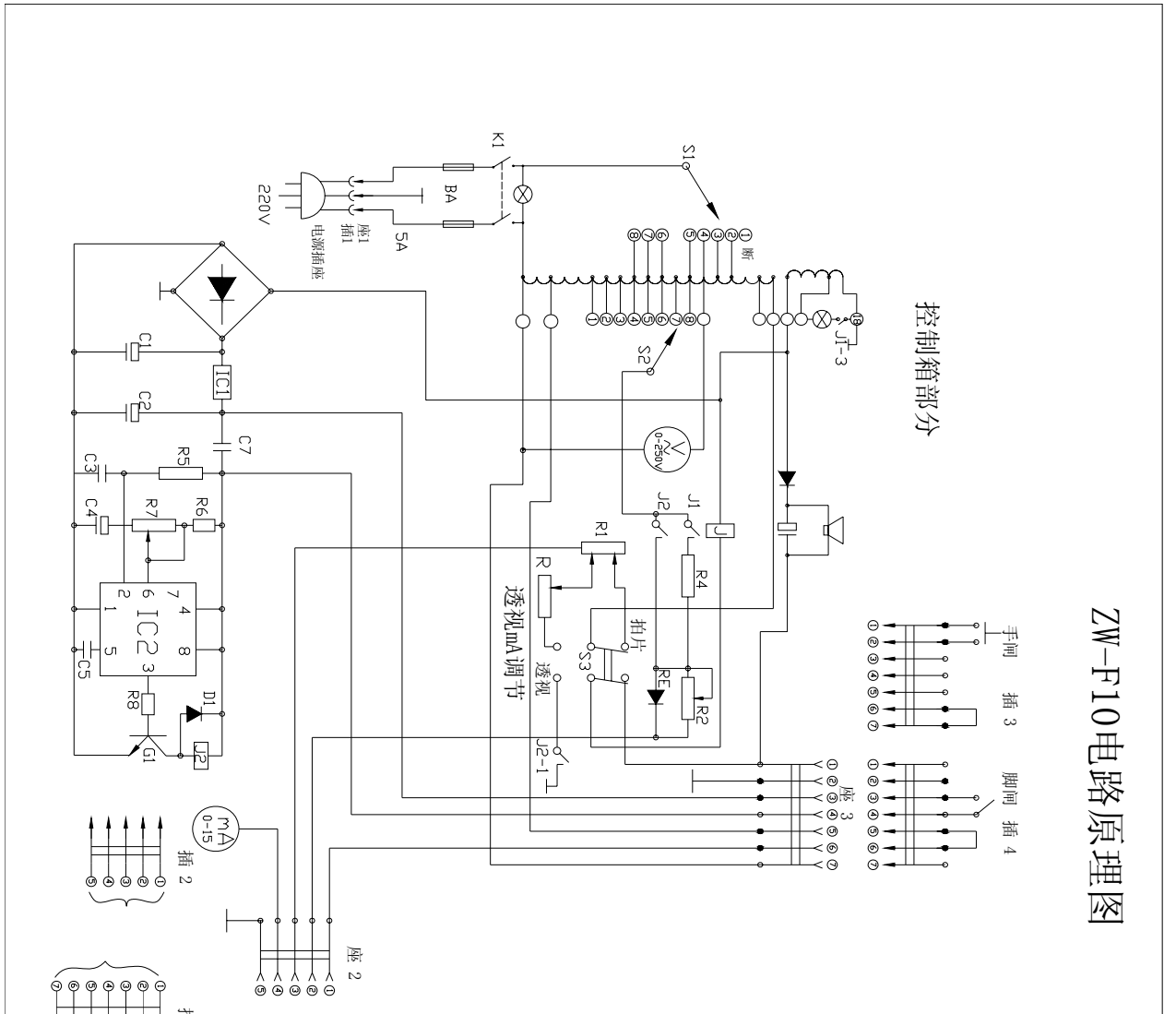


图 16 杂散射线防护占位图

ZW-F10 元件清单

代号	器件名称	器件型号	数量	备注
R1	线绕电阻	RXQ-12-620	2	
R2	线绕电阻	RXQ-12-150	1	
R3	瓷盘电位器	BC-25-25W-1K	1	
R4	电阻	RX20-20W-24	1	
R5	电阻	100K	1	
R6	电阻	1.3M	1	
R7	电位器		1	
R8	电阻	2K	1	
C1	电容	220 μ f/25V	1	
C2	电容	100 μ f/16V	1	
C3	电容	0.1 μ f	1	
C4	钽电容(黄)	100 μ f/16V	1	
C5	电容	0.1 μ f	1	
C6	电容	220 μ f/50V	1	
C7	电容	10N	1	
RE	硅整流器	6A/500V	1	
D1	二级管	IN4007	1	

D2	二极管	IN4007	1	
Z	桥整		1	
J1	继电器	JY 16A 12VAC	1	
J2	继电器		1	
S1	刷形开关	KS30-1-8	1	电源调节
S2	刷形开关	KS30-1-8	1	KV 调节
S3	开关	KN3-A2×2	1	摄影-透视转换
IC1	集成电路	7806	1	
IC2	集成电路	555	1	
Q1	硅三级管		1	
X 射线管		D2 1/85	1	
B1	多抽头变压器		1	
B2	升压变压器		1	
BA1	保险丝	BGXP5A	2	
BA2	保险丝	BGXP5A		
ZD1	绿灯		1	
ZD2	黄灯		1	
摄影计时器			1	
电压表	0~250 (V)		1	
电流表	0~15 (mA)		1	
电源表			1	



附：XD2-1/85X 射线管技术参数

主要用途：供医学诊断

最高工作电压：75KV(自整后)

85KV(单相全波)

最高反向峰值电压：85KV

阴极形式：固定阳极

阳极倾角：22°

冷却形式：油浸冷却

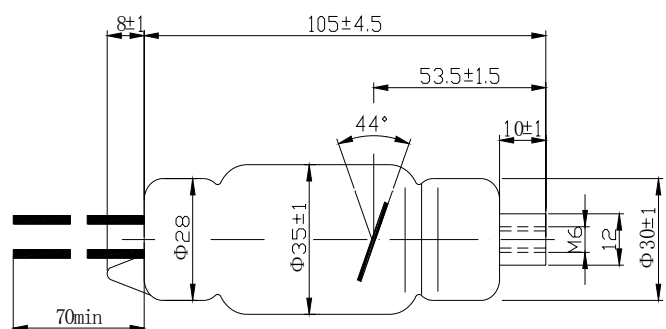
焦点标称值：1.5

灯丝特征：2.4A, 1.9V~3.3V

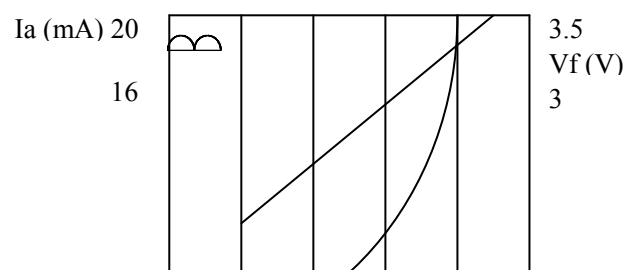
连续功率：170W

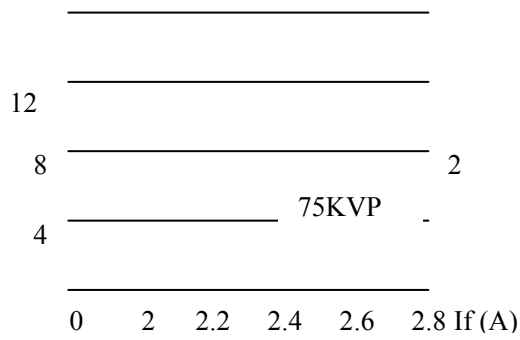
固有滤过：约 0.7mmAL

外形尺寸：



灯丝发射特性：





最大负载特性:

工作电压 Operating Voltage (KV)	负载电流 Loading Current (mA)	负载时间(秒) Loading Time (second)		
		0.2	1	6
75		20	18	15
70		22	20	16
60		25	23	18
50		30	28	22

装箱清单

一、背包袋内装:

- (1) 机箱.....1 件
- (2) 控制箱.....1 件
- (3) 摄影计时器.....1 件
- (4) 脚开关.....1 件
- (5) 铅门.....1 件
- (6) 荧光屏支架.....1 件
- (7) X 射线管机头.....1 件
- (8) 集光筒.....2 件
- (9) 接地连接线.....1 件
- (10) 荧光屏布袋.....1 件
- (11) 本机说明书.....1 件

- (12) 三包卡.....1 件
- (13) 合格证.....1 件
- (14) 电源线.....1 件
- (15) 控制箱与 X 射线管机头的连接线.....1 件
- (16) 备用钢丝绳.....1 件
- (17) 熔断器.....5 件
- (18) 电珠.....2 件

二、支架袋内装：

- (1) 弯臂.....1 件
- (2) 立柱合件.....1 件
- (3) 水平导轨合件.....1 件
- (4) 阻挡棒.....1 根

实践六 超声诊断仪的操作

一、实践目的

1. 通过实践，了解超声诊断仪的各功能键掌握其使用方法及注意事项。
2. 结合超声诊断仪的使用，进行超声检查的一般操作，初步了解家畜超声检查的方法。

二、实践内容

1. 超声多普勒诊断仪的操作与应用
2. B型超声诊断仪的操作与应用

三、实践材料

实验动物 羊、牛或兔。

四、实践用品与用具

器材 B型超声诊断仪、50S Tringa Vet 便携式兽用B超仪、螺丝刀、接线板、试电笔、超声耦合剂甘油或石蜡油、毛剪、卫生纸、棉花、各种探头。

五、实践方法

1. 超声多普勒诊断仪的操作与应用

1.1 应用范围

通过听取胎心音、胎动音、脐带音、胎盘音、母体血管音诊断死胎、多胎；确定胎盘位置及分娩时监听胎心变化。可以探查浅表的血管，从血流音的有无判断血管是否阻塞和断肢再植后血管是否畅通。通过听取肝、脾、肱动脉、颈动脉、甲状腺等多种血流音进行科研和诊断疾病。

1.2 仪器使用方法和注意事项

- ① 仪器提柄转下将前部支起，放平稳。
- ② 将电源线的插头插入机后电源插座内，接通电源，（接地要可靠）。
- ③ 将探头的高频插头分别接至仪器S、F端高频插座上，接触要良好。
- ④ 向上开启电源开关，指示灯亮，预热1分钟后即可使用。
- ⑤ 音量大小可以调节，音量钮右推为大，以听清多普勒信号音为原则，不必过大，以免产生噪音。
- ⑥ 探头为仪器关键部件，其中压电晶片质脆，应避免磕碰。
- ⑦ 探头必须消毒使用时，不可用高温消毒法，以免有机玻璃部分受热损坏，应采用其它消毒法。
- ⑧ 该仪器应远离能产生高频电磁场的仪器设备工作，以免干扰，影响正常使用。
- ⑨ 若使用中听到电台广播，是由于仪器的S端高频插座与探头的高频插座接触不良所致，并非仪器故障，使之接触良好，广播即消失。

2. B型超声诊断仪的操作与应用

2.1 应用范围

B型实时成像仪用于诊断的依据是断层图像的特征，主要由图像形态、辉度、内部结构、边界回声、回声总体、脏器后方情况以及周围组织表现等，它在临床医学方面应用十分广泛。

- ① 动物妊娠诊断，可探测胎囊、胎体、胎心搏动、胎膜、胎盘、胎动等；
- ② 动物机体内部脏器的轮廓及其内部结构的探测，如肝、胆、脾、肾、胰和膀胱等内部结构；区分肿块的性质，如浸润性病变更往无边界回声或边缘不气，若肿块有膜时其边界有回声且显示平滑；也可显示动态器官，如心脏瓣膜的运动情况等。
- ③ 表浅器官内部组织探测，如眼睛、甲状腺、乳房等内部结构的探查和线度的测量。

（一）50 Tringa Vet 兽用B超仪



兽用 50S Tringa Vet B 超仪专门为动物妊娠测定而设计。它轻便、操作简捷、检测快速而准确。重量仅为 800 克（29 盎司），是目前世界上体积最小最轻便的超声波仪器之一。兽用 50S Tringa Vet 的独特设计之处在于他可被固定在前臂上使用或者将其置于特殊的携带箱中挂在脖子或者肩膀上使用，从而解放您的双手，12V 直流电池可连续使用 4 小时。即使对于没有任何经验的操作者来讲，学会解读图象内容也是一件很容易的事情。

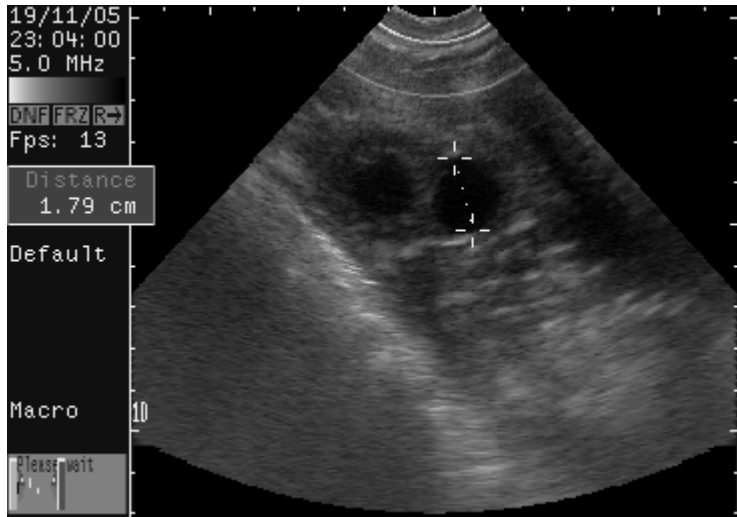


★ 特点 ★：快速，准确，安全

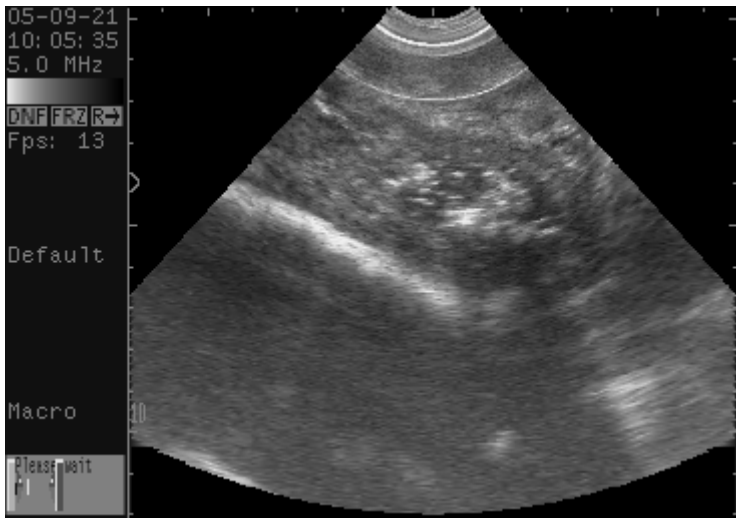
- 1、猪配种 18 天、羊配种 30 天即可检测出是否怀孕
- 2、早期妊娠诊断，奶牛配种 24 天可检测是否怀孕，配种 55-77 天鉴别胎儿性别
- 3、子宫疾病诊断
- 4、每小时可以扫描 100 只动物
- 5、标准存储 160 张图像
- 6、便于清洗与消毒
- 7、测量软件包括猪、马、牛、羊和骆驼的专用报告设置
- 8、其他功能：妊娠子宫及产后子宫检查，测背膘。
- 9、适于牧场、宠物医院、动物医院、兽医站和科学教研等的使用。



黄体囊肿



卵泡测量



子宫内膜炎



胎儿为母

猪妊娠监测和排卵监测

B超监测卵泡发育和排卵为何时配种、提高配种率提供可靠的科学依据；B超早孕监测可及时发现假孕空怀母猪，以便尽早作相应处理；妊娠期B超监测可及时发现死胎、流产、胚胎吸收等，同时可估测怀仔数目；产期B超监测可判断是否产完排尽；产后B超监测可观察子宫复原状况，同时诊断子宫内膜炎、子宫蓄脓、积液等繁殖障碍病，甚至可据此而发现诸群疫情。

1.1 监测计划的制订

根据本场的实际情况和生产计划而制订监测计划。如在600头基础母猪的生产线上，计划每月产仔24窝，可在备配母猪中挑选25—30头将要发情的母猪作排卵监测，制表登记耳号、年龄、胎次、断奶日期、过往配种产仔记录、监测结果、催情用药及备注等栏目。对B超观察卵泡尚未发育成熟的母猪可用催情情使其同步发情，尽量在同周内同步配种。同期配种的母猪一同转入怀孕母猪舍，在配种后18天可开始作同期早孕监测，并制表登记耳号、年龄、胎次（初配）、配种日期、监测日期、监测结果、处理意见及备注等栏目。对测定阳性的母猪可转入孕期监测；对测定可疑或阴性的母猪在3天和16天后再分别监测，若仍为阴性（未孕）则可及时转栏作相应处理。作孕期监测可每周一次，或半月，或一月监测一次，每次监测结果均需制表记录，项目与早孕监测类似。对发现死胎、气胎、流产和胚胎吸收的母猪应用淘汰或治疗处理。孕期监测正常的母猪在配种后100天左右转入产仔舍，作进一步的观察和监测。所有监测记录最好输入电脑存贮、统计、分析，也许能从中发现问题和疫情隐患。比如在某段时间内发现配种成功率显著降低或死胎、流产率显著提高，就应及时检讨饲养管理是否妥当，饲料质量是否正常，公猪精液是否合格，是否存在细小病毒病、猪瘟等疫情隐患。

1.2 监测方法

1.2.1 母猪保定和测前处理 被检母猪可在限位栏内自由站立或保定栏内侧卧保定、于其大腿内侧、最后乳头外侧腹壁上洗净、剪毛，涂布超声耦合剂。

1.2.2 仪器操作 打开B超仪，调节好对比度、辉度和增益以适合当时当地的光线强弱及检测者的视觉。探头涂布耦合剂后置于检测区，使超声发射面与皮肤紧密相接，调节探头前后上下位置及入射角度，首先找到膀胱暗区，再在膀胱项上方寻找子宫区或卵巢切面。

1.2.3 图像观察 当看到典型的孕囊暗区即可确认早孕阳性。熟练的操作在几秒钟内即可完成一头母猪的检测。但早孕阴性的判断须慎重，因为在受胎数目少或操作不熟练时难以找到孕囊。未见孕囊不等于没有受孕，因此会存在漏检的可能。放在判断早孕阴性时应于两侧大面积仔细探测，并需几天后多次复检。排卵监测较为复杂，因为猪的卵巢较小，包

埋于深处，外被结缔组织包裹，不易找到，需积累经验，反复摸索、孕期监测也需小心翼翼地探测到胎动和胎心搏动才能鉴别死、活胎；估测怀胎数时更需双侧子宫全面探查，否则估测数不准，探测怀胎数的时间在配种后 28—35 天最适宜，此时能观察到胎体，而且胎囊并不很大，在一个视野内可观其全貌，随着胎龄增加和胎体增大，一个视野只能观察到胎囊的一部分，而估测误差也会增大。

1.2.4 结果处理 记录每头监测结果，登记监测表，并作统计分析。

1.3 监测效益分析

早孕监测的经济效益和社会效益是相当可观的。监测结果统计分析，每一百头母猪用 B 超监测早孕后每年可减少无效饲养费用 6500 元以上，间接经济效益还包括增加产仔数，提高母猪生产效率，及时发现猪群疾病和疫情等。

2 种猪活体背膘厚及眼肌面积的测定

2.1 测量位置的确定

膘厚和眼肌面积可在同一位置上测量，也可在同一幅超声切面上测得。我国现大部分单位取三点测量，即肩胛后沿、最后肋处及腰荐接合处距背正中线 4 厘米处作为膘厚和眼肌厚的测量点，而后取三点平均值。此三处亦可作眼肌面积的测量位置，也有人仅作 10—11 肋间距背正中线 4 厘米处测量。

2.2 操作程序

被测猪在保定栏内自然保定，测量位置要清洗去痂皮，剪毛并涂布藕合剂，测背膘时将探头隔水袋水平置于猪背上，探头轴线与背正中线垂直，并使探头前端扫描线稍超过背正中线，以便显现出棘突强回声；测量眼肌面积则要使用扫描宽度为 10 厘米以上的探头，已在探头和猪背间垫以水袋或特制的测量模，（笔者曾用玻璃胶设计了一种简易测量模，使测量面与猪背弧相吻合，效果不错）。然后调节 B 超机对比度、辉度、增益及近场、远场调节纽，获得清晰的超声切面声像图后冻结图像，用电子测距离和测面积的功能测量膘厚和眼肌面积，再用注释功能加注耳号、品种、年龄、体重等资料，最后打印或输入电脑存贮。

2.3 影像识别

清晰的声像图可明显呈现棘突、椎体、横突和背最长肌外侧端纵向肌膜四个强回声点以及皮肤界面、脂间结缔组织，背最长肌上层肌膜和下层肌膜四条强回声带。脂肪层为带状实质暗区；肌切面为回声稍强的实质暗区；膘厚和眼肌厚测量点为距棘突 4 厘米处；皮肤界面与上层肌膜两条强回声带的间距即为膘厚；上下两层肌膜强回声带的间距即为用肌厚；眼肌面积测量区为两侧四个强回声点和上下两层肌膜强回声带所包围的实性暗区。

3. 疾病诊断

猪场的许多疾病均可用 B 超作出初步诊断，尤其是生殖道疾病。如子宫积水，子宫蓄脓，死胎、木乃伊胎等其他如肝、肾病变，体内外肿块疝等，B 超均能作特征性诊断。

家畜肝脏超声探查法

各种家畜的超声探查方法基本相似，现以牛为例介绍如下。

(1) 仪器条件：超声诊断仪，探头频率为 2.5 兆赫。先用正常灵敏度（即一般灵敏度）探查，根据情况可随时开大增益。扫掠时间比例为 1：1 或 1：2。

(2) 探查技术：

①被检动物于柱栏内自然站立保定，右季肋部涂擦耦合剂（剪毛或不剪毛均可）。

②探查手法：一般采用滑行探查和定点探查两种方法。滑行探查用于确定肝脏的大小、斜径、上下径、上下界和观察波型的变化，从而了解肝脏形状（即体表投影）、肝脏边缘锐钝情况及发现病变的有无和性质。探查顺序：牛一般先从第 13 肋骨后缘开始，然后顺次向前探查第 12、11、10、9、8 等肋间，每个肋间由上向下滑行，在肝脏波型消失处，用颜色作上记号，然后把各点连起来，就构成了肝脏（右侧）体表投影位置，从而就可测定肝脏的后界、肝肺界及上下界，量出上下径等。

③肝脏斜径和厚度测量法：肝脏的斜径是描右侧肝体表投影的最大斜长，即第 13 肋骨后缘斜向第 8 肋的距离。

肝脏厚度测定法，从第 12、11、10 肋间分别与腰——肘连线（即右侧第 2 腰椎横突末端与肘突的连线）相交的各点，作为测定厚度的代表点。

④右侧肝脏前上界或肺界：当探头置于肝脏上界各肋间时，若动物处于吸气状态时示波屏上出现肺波，相反在动物呼气时则出现肝波，此即肺肝界。

⑤肝脏边缘锐钝的测定：当探头滑向各肋间下缘时，注意观察示波屏上肝实质平段消失时的宽窄情况，即可判断肝脏边缘的钝锐。

⑥肝脏波型的观察：采用肋间连续滑行及多点、多方向探查法，在出肝波饱和、稳定时，观察波数、波幅、形态、分布状况及波的活动度等，从而发现肝病理变化。

超声多普勒诊断仪的使用方法及注意事项

(1) 应用范围

通过听取胎心音、胎动音、脐带音、胎盘音、母体血管音诊断死胎、多胎；确定胎盘位置及分娩时监听胎心变化。可以探查浅表的血管，从血流音的有无判断血管是否阻塞和断肢再植后血管是否畅通。通过听取肝、脾、肱动脉、颈动脉、甲状腺等多种血流音进行科研和诊断疾病。

(2) 仪器使用方法和注意事项

①仪器提柄转下将前部支起，放平稳。

- ②将电源线的插头插入机后电源插座内，接通电源，（接地要可靠）。
- ③将探头的高频插头分别接至仪器 S、F 端高频插座上，接触要良好。
- ④向上开启电源开关，指示灯亮，预热 1 分钟后即可使用。
- ⑤音量大小可以调节，音量钮右推为大，以听清多普勒信号音为原则，不必过大，以免产生噪音。
- ⑥探头为仪器关键部件，其中压电晶片质脆，应避免磕碰。
- ⑦探头必须消毒使用时，不可用高温消毒法，以免有机玻璃部分受热损坏，应采用其它消毒法。
- ⑧该仪器应远离能产生高频电磁场的仪器设备工作，以免干扰，影响正常使用。⑨若使用中听到电台广播，是由于仪器的 S 端高频插座与探头的高频插座接触不良所致，并非仪器故障，使之接触良好，广播即消失。

2.2 仪器使用方法和注意事项（以 ULTRA SCAN 为例）

① 功能键与控制钮的功能（如图 1）

ON—接通电源。

OFF—关闭电源。

YELLOW LIGHT—示电池正在使用，或外电源被连通。

BAT. LOW (FLASHING)—黄灯闪烁，说明电池充电不足。

MENU—菜单键，启动主菜单或辅菜单（如测量菜单）显示于屏幕上。

FREEZE—冻结键，用以冻结图像，冻结后再按“记忆键”即可存储图像，再按冻结键可解冻而重新开始扫描。

MEMORY—记忆键，扫描时用存储被冻结图像，处于“记忆查询 (MEMCHECK)”状态时用于回顾被记忆的图像，重复按“记忆键”可显示被记忆的 1-4 幅图像。按“返回”键可回到主菜单。

INVERT—反转键，可使图像由黑变白或由白变黑。

ZOOM UP/DOWN—变焦键，该键可使探测深度如下表所示，最大穿透深度以厘米显示“ZOOM UP”从 1 至 3 变大，“ZOOMDOWN”，从 3 至 1 变小。

探头频率	线阵探头			扇扫探头	
	变焦 1	变焦 2	变焦 3	变焦 1	变焦 2
3.5 兆赫	10cm	12.5cm	16.5cm	11cm	22cm
5.0 兆赫	8cm	11cm		11cm	22cm
7.5 兆赫	6cm			8cm	

M-MODE—M 超键，扫描时直接进入 M 超功能，测心率等。

SPLIT MODE—分幅显示键，用于线阵探头可使图像分幅。用于 M 超和扇扫探头时，屏幕分为两半，M 超于左半幅，实时扇扫图像 (50) 于右半幅。

SPLIT A/SPLIT B—分幅 A/B 键，在分幅状态下，选择实时图像，并增减分幅数目，按分幅 A 使实时图像在左边，按分幅 B 使实时图像在右边；在 M 超状态此

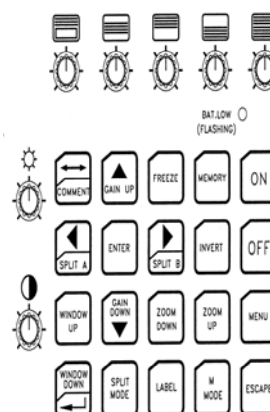


图 6-1 900 型超声扫描仪前面板控制键盘

键用于增减扫描速度(1秒、3秒、8秒),分幅A增速而分幅B减速;此两键亦可当箭头键用,使标向左/向右移动。

GAIN UP/GAIN DOWN—总增益调节键,实时扫描时.此两键用于调节增益变动范围,(正负16级),正常情况下在第16级;在菜单状况下当箭头键用可上/下移动光标;在测量状况下可在屏幕上移动光标。

COMMENT—注释键,在“冻结”或“忆查询”时用于输入注释文字光和器官名称,对活动图像可获镜面影像。

LABEL—标记键,在“注释”状态下,用于输入已备好的器官名称。

ENTER—回车键,在“菜单”中键入所选择的程序。在测量状态下用于固定光标起始位置。

WINDOW UP/ DOWN—窗日上/下卷动键,此键仅用于线扫,使操纵者观察不同深度的图像。按“窗口下卷键”可使剖面图向更深层翻卷,重复按此键直至所需检查的深度。该深度的起始点位置(以厘米计,最大可至22厘米)将显示在屏幕的左上方。按“窗口上卷键”使显示图像上卷直至皮肤表面;当键入注释文字时,窗日下卷键使光标回到起始位置的第二行。

ESC—退出键,退出目前状态。

BRIGHTNESS—屏幕辉度调节

CONTRAST—屏幕对比度调节

START—近场深度调节

SLOPE—远场和近场间界面增益斜率调节

NWAR—近场超声图像增益调节

TFA—“传送频率调节”,使扫描传送频率与探头倾率(3.5、5.0或7.5兆赫)相匹配

GAIN—主增益调节,调节超声图像全场。

② 基本检查程序

检查前的准备:按开机键(ON)接通电源,用上/下键移动光标选择线扫或扇扫后按回车键(ENTER),涂上超声耦合剂后把探头安置在被检查区域,屏幕上即显示一个剖面图观察屏幕上图像,如果需要可使用主机前面板上的电位计,调节亮度和/或对对比度;为获得最适合的清晰图像,可调节增益键(GAIN UP/DOWN)及远场或近场控制。

冻结实时图像:如果需要冻结图像,抓稳探头,固定位置,按冻结键(FREEZE)即可。

存储图像:按冻结键(FREEZE)冻结图像,按记忆键(MEMORY)存储图像(记忆序码将改变),重复按此键可选择期望记忆位置,再按冻结键(FREEZE)可解冻回到实时扫描,或按退出键(ESC)回到主菜单。

键入注释或器官名称:

键入注释:在冻结或记忆图像上可键入注释资料,用箭头键或鼠标移动光标至你所希望显示的开始位置,按注释键(COMMENT),一组字母数字符号显示在屏幕下面,且有小白块停留在新近选择的字符上。另有一条小白线出现在光标所在位置,此乃将要键入的字符所在位置,用箭头键(或鼠标)选择所要键入的字符,按回车键(ENTER)(或鼠标)该字符即被键入,连续选择并键入所需字符,改错可按分幅键(SPLIT KEY)或用键盘之删除键,按WINDOW DOWN键可键入新的一行,在“9”和“、”之间是空格符号。当键入的内容足够时,再按注释键(COMMENT),屏幕被拉深。

键入器官名称:主机内设置了主要器官一名录,用下列方法可以调用。在完成注释程序后,按标记键(LABEL)(EMBRYO,名录内的第一个名称即被显示)。或先键入所需名称的第一个字母后再按LABEL键。如先键入H后按LABEL键即显示出“HEAD”亦可重按LABEL键,显示下一个器官名称。重复按此键可浏览所有名录。器官名可用英语、法语、西班牙语、德语和意大利语。查阅器官名录或改变语种可在主菜单中选择OPTIONS。

③ 超声探查的方法

体外探查法:通过动物体表对内部组织器官进行探查的一种方法,用于小动物或大家畜较浅部位组织脏器的探查。

a. 动物保定:一般用站立保定,小动物可侧卧或仰卧保定。

b. 局部处理:在体表探查部位,一般需进行剪毛或剃毛,然后仔细涂擦耦合剂,以保证探头与皮肤能够紧密接触。

c. 检查方法：通常采用滑动探查法(直线检查)和扇形探查法。滑动探查法是将探头首先紧贴于被检部位的皮肤，然后在体壁上直线滑动探头；扇形探查法是把探头首先置于被检部位皮肤的某一点上，再作各种方向的扇形摆动。

阴道探查法：阴道探查法需使用阴道探头，适用于探查大家畜骨盆腔内的器官(膀胱、子宫、卵巢等)。探查时应将阴道探头插入阴道，紧贴前端阴道壁进行探查；或者经直肠将被检器官移至阴道超声探头附近进行探查。

直肠探查法：适用于大家畜腹腔脏器的探查。检查时，需选用直肠超声探头，并按以下方法进行。

- a. 掏出直肠宿粪；
- b. 将超声直肠探头握于手心，涂润滑剂，把探头带人直肠；
- c. 在直肠内将探头移至被探查的脏器部位进行检查。

④ 注意事项

- a. 作阴道、直肠检查时，请使用一次性探头罩；体外探查时应避免探头与皮肤间出现空隙，以免影响探查效果。
- b. 在检查过程中，探头逐渐变热是正常的。
- c. 亮度及对比度太强会使图像失去聚焦。
- d. 在冻结操作中，如探头移动则冻结图像不清晰。

摆放好仪器，连接探头和电源，具体操作见上述操作方法。适当保定动物，在探查靶器官体表投影处剪毛、涂布耦合剂，进行体外线扫(如图2)或扇扫(如图3)探查。结束探查。退回主菜单，关闭电源，清检仪器，处理好实验动物。撰写实验报告。

六、作业与思考

1. 使用B型超声诊断仪进行检查的基本程序有哪些？
2. 超声探查的方法有哪些？如何进行体外探查？

附录：

参考文献：

(王京仁)

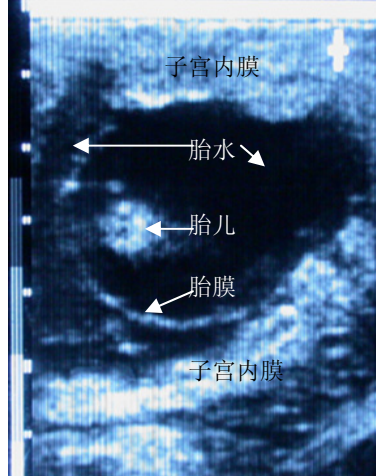


图 6-2 线阵探头扫查牛的妊娠子宫

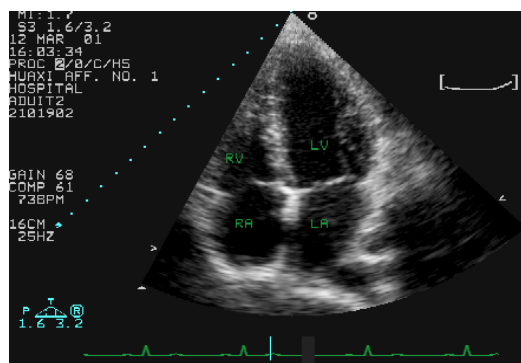


图 6-3 扇型探头扫查心脏

目 录

序号	项目名称	学时	页码
	动物疫病诊断与防治实践目的和要求		1-3

扇型探头扫查

实践室规则		4-
实践室应急防护措施		5-
实践一	临床检查的基本方法及一般检查	7-13
实践二	系统临床检查方法	14-15
实践三	临床常用诊疗技术操作	16-21
实践四	小动物临床检查（选开）	22-
实践五	心电图描记法及 X 光检查	23-49
实践六	超声诊断仪的操作	50-55
实践七	鸡传染性法氏囊病的琼脂扩散试验 或猪伪狂犬病乳胶凝集试验	56-
实践八	病毒血凝和血凝抑制试验	57-58
实践九	临床标本的细菌学检验	
实践十	Elas 快速检测疾病	
实践十一	疾病的 PCR 诊断技术（选开）	59-61
	常见动物疫病及动物产品安全监测方法	
		62-

实践七 凝集试验

一、实践目的

1. 熟悉平板凝集反应和试管凝集反应的操作技术，通过对凝集结果的观察和记录，了解凝集的判定和对被检牲畜试验结果的判定。
2. 了解间接血凝反应试验过程和操作方法。

颗粒性抗原(细菌、螺旋体、红细胞等)与相应抗体结合后，在有适量电解质存在下，抗原颗粒可相互凝集成肉眼可见的凝集块，称为凝集反应(Agglutination reaction)或凝集

试验。参与凝集反应的抗原称为凝集原 (Agglutinogen)，抗体称为凝集素 (Agglutinin)。细菌或其它凝集原都带有相同的负电荷，在悬液中相互排斥而呈现均匀的分散状态。抗原与相应抗体相遇后可以发生特异性结合，形成抗原抗体复合物，降低了抗原分子间的静电排斥力，此时已有凝集的趋势，在电解质（如生理盐水）参与下，由于离子的作用，中和了抗原抗体复合物外面的大部分电荷，使之失去了彼此间的静电排斥力，分子间相互吸引，凝集成大的絮片或颗粒，出现了肉眼可见的凝集反应。根据是否出现凝集反应及其程度，对待测抗原或待测抗体进行定性、定量测定。

凝集反应包括直接凝集反应和间接凝集反应两大类，本实验主要介绍直接凝集反应。

二、实践内容

1. 平板凝集反应（以布氏杆菌为例）
2. 试管凝集反应（以布氏杆菌为例）
3. 间接血球凝集试验（以结核病为例）
4. 虎红平板凝集试验（以布氏杆菌为例）
5. 鸡白痢平板凝集试验

三、实践材料

实验动物 牛

四、实践用品与用具

1. 玻板，载玻片，试管（1cm x 8cm），试管架，刻度吸管，滴管，微量可调加样器，滴头（tip 头），牙签或火柴棒，记号笔。
2. 灭菌的生理盐水，灭菌的 0.5%石炭酸生理盐水。
3. 布氏杆菌病试管凝集抗原，布氏杆菌病平板凝集抗原，布氏杆菌病虎红平板凝集抗原，布氏杆菌病阳性血清，布氏杆菌病阴性血清，被检血清（牛、羊或猪）。
4. 鸡白痢平板凝集抗原，鸡白痢阳性血清，鸡白痢阴性血清，被检鸡血清。

五、实践方法

（一）平板凝集反应（以布氏杆菌为例）

- （1）取洁净玻片一块，用玻璃铅笔划成五行小格，并标明待检血清的号码。
- （2）按表 7-1 滴加待检血清、抗原（将牛、羊、猪三型布氏杆菌悬浮于甘油浓盐水中，加入煌绿及结晶紫制成）和生理盐水（检查绵羊、山羊血清时，用 12%浓盐水）。血清用前需放室温，使其温度达 20℃左右。

表 7-1 布氏杆菌的平板凝集反应

成分	试 验 组				对 照
	1	2	3	4	
盐 水	—	—	—	—	0.03
被检血清	0.08	0.04	0.02	0.01	—
抗 原	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03

（3）用火柴棒自血清量最少格起，依次往前搅拌，使血清与抗原混匀，每份血清用一根火柴棒。

（4）混合完毕后，将玻片置于凝集反应箱上均匀加温，或放于离火焰稍高处，微微加温至 30℃左右，3~5 分钟内记录反应结果。

（5）按下列标准记录反应强度

++++：出现大的凝集块、液体完全透明。

+++：有明显凝集块、液体几乎完全透明，即 75%凝集。

++：有可见凝集片，液体不甚透明，即 50%凝集。

±：液体混浊，有小的颗粒状物，即 25%凝集。

-：液体均匀混浊，无凝集物。

凝集阳性：呈片状或较大块状颗粒凝集，液体透明，液滴呈花斑状。凝集阴性：无凝集，液滴仍为均匀混悬液。布病患病判定：牛血清在 0.02 或以上处出现凝集阳性则判为患病阳性；0.04 处出现凝集阳性判为可疑；0.08 处出现凝集阳性判为阴性。牛、马和骆驼的血清在 0.02ml 处或以上凝集，而绵羊、山羊和猪的血清在 0.04ml 处或以上凝集，判为阳性反应；牛、马和骆驼的血清在 0.04ml 处凝集，绵羊、山羊和猪的血清在 0.08ml 处凝集时判为可疑反应。

大规模检疫时，允许只用两个血清量作试验，牛、马、骆驼用 0.04 和 0.02ml，猪、山羊和绵羊、狗用 0.08 和 0.04ml。如用两个血清量作试验，任何一个血清量出现凝集时，均需用四个血清量重检。

(6) 每次试验须用标准阳性血清和阴性血清作对照。

[注意事项]

(1) 实验时必须设抗原、阳性血清及阴性血清对照，以避免假阳性、假阴性的结果。

(2) 结果判为可疑时，隔 2-3 周后采血重做。阳性畜群，重检时仍为可疑，可判为阳性。对同群中既无临床症状又无凝集反应阳性者，马、猪重检仍为可疑，判阴性；牛、羊重检仍为可疑者，可判为阳性，或以补体结合反应核对。

(3) 平板凝集试验与试管凝集试验的关系见下表。

平板凝集试验与试管凝集试验的关系

平 板 凝 集	80 μ L	40 μ L	20 μ L	10 μ L
相当于试管凝集	1:25	1:50	1:100	1:200

(4) 判定标准：同试管凝集试验。

(5) 注意：对于阳性及可疑的被检血清需用试管凝集试验进行验证。

(二) 试管凝集反应

(1) 每份血清用 4 支试管 (1 \times 8cm)，另取对照管 3 支。如待检血清多时，只设一份对照组。

(2) 按表 8-2，用 0.5% 石炭酸生理盐水，将被检血清稀释成四个稀释度。第五管中不加血清，设抗原对照。第六管中加 1:25 稀释的布氏杆菌阳性血清 0.5 毫升作阳性对照。第七管中加 1:25 稀释的布氏杆菌阴性血清 0.5 毫升作阴性对照。

(3) 各管中加入用 0.5% 石炭酸生理盐水稀释 20 倍的布氏杆菌抗原 0.5ml (每 ml 含菌 8 亿)。

(4) 各管加抗原后，将各管充分混匀，放 37 $^{\circ}$ C 温箱中感作 4~10 小时，取出后放室温 18~24 小时，然后观察并记录结果。

(5) 检查猪、羊、狗时血清稀释度为 1:25, 1:50, 1:100, 1:200；绵羊、山羊血清用 10% 浓盐水稀释。牛、马和骆驼血清稀释度为 1:50, 1:100, 1:200, 1:400，大规模检疫可只用两个稀释度，即狗、猪、羊为 1:25, 1:50；牛、马、骆驼为 1:50 和 1:100。

判定结果时用“+”表示反应强度：

++++：液体完全透明，菌体完全被凝集呈伞状沉于管底，振荡时，沉淀物呈片状、块状或颗粒状 (即 100% 的菌体被凝集)。

+++：液体略混浊，菌体大部分被凝集于管底，振荡时呈片状或颗粒状 (75% 菌体被凝集)。

++：液体不透明，管底有明显凝集片，振荡时有块状或小片絮状物 (50% 菌体被凝集)。

+: 液体不透明, 仅管底有少许凝集, 其余无显著的凝集块 (25%菌体被凝集)。

—: 液体混浊, 管底无凝集, 菌体不被凝集, 但由于菌体自然下沉, 在管底中央可见圆点状沉淀, 振荡后立即散开呈均匀混浊。

表7-2 布氏杆菌试管凝集反应

管号 最终血清稀 释法 成分 (毫升)	管 号				对 照		
	1	2	3	4	抗原对照	阳性对照	阴性对照
	1:25	1:50	1:100	1:200		1:25	1:25
0.5%石炭酸生理盐水	2.3	0.5	0.5	0.5	0.5	—	—
被检血清	0.2	0.5	0.5	0.5	—	0.5	0.5
抗原 (1:20)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	↓						
	弃去1.5				弃去0.5		

(6) 当每份待检血清仅用 2 个稀释度进行试验时, 无论任何一个稀释度发生凝集现象, 该血清都应该用四个稀释度重检。

(7) 判定血清凝集价: 凝集判定: ++++ 液体完全透明, 菌体完全凝聚呈伞状沉于管底, 振摇时沉淀呈片状、块状或颗粒状 (100%凝集); +++ 液体略呈混浊, 菌体大部分被凝集沉淀管底, 振荡后情况同前 (75%凝集); ++ 液体不太透明, 管底有明显凝集颗粒沉于管底, 振摇时有块状或小片絮状物 (50%凝集); + 液体透明度不明显或不透明, 有少量颗粒状物沉于管底 (25%凝集); — 液体不透明, 管底无凝集, 有时管中可能有少量均匀沉淀物, 振荡后均匀混浊。出现 “++” 以上凝集现象的最高血清稀释度为凝集价。牛、马和骆驼血清凝集价 1:100 以上为阳性, 1:50 为可疑。猪、绵羊、山羊和狗的血清凝集价为 1:50 以上为阳性, 1:25 可疑。

(三) 间接血球凝集试验 (以结核病为例)

(1) 致敏红血球的制备

1. 无菌采取绵羊血于阿氏液中, 于 4℃ 冰箱保存备用 (保存期 3 周)。用时用生理盐水洗涤 3 次。
2. 用 pH7.4PBS 稀释旧结核菌素 15~60 倍, 每 6 毫升稀释的结核菌素加沉淀血清 0.1 毫升。混合后置 37℃ 水浴 2 小时, 每 15 分钟振摇 1 次, 以防血球沉降。
3. 用生理盐水洗涤致敏红血球 3 次后稀释成 0.25% 血球悬液。

(2) 间接凝集反应

1. 取被检血清 1 毫升加等量洗涤后的沉积红血球, 室温作用 10 分钟后, 离心除去红血球, 以吸收非特异性凝集素。56℃ 灭活 30 分钟。
2. 按表 7-3 分别加入各种成分。

表 8-3 结核病间接红血球凝集试验

成分	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	抗原对照	血清对照
生理盐水 (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
被检血清 (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—	0.25
0.25% 致敏血球 (ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	未致敏血球 0.1
	振荡混合, 于 25~30℃ 放置过夜											
	↓											
	弃去 0.5											

3. 按管底血球沉降图形判定凝集程度。血球凝集于管底呈伞状，轻轻振荡后血球呈颗粒状或絮片状者为+++；血球集中沉淀于管底呈小园点，轻摇后呈均匀混浊者为-；介于二者之间的判为++和+。

本法诊断结核病有特异性，可诊断活动性结核。如多次检查凝集价显著升高者（升高4倍以上），可判为活动性结核。

（四）虎红平板凝集试验

这种试验是快速平板凝集试验。抗原是布氏杆菌加虎红制成。虎红平板凝集试验可与试管凝集试验及补体结合试验效果相比，具有操作简单、快速、特异性强的优点。

1. 被检血清和布氏杆菌病虎红平板凝集抗原各 30 μ L 滴于玻璃板的方格内，每份血清各用一支牙签或火柴棒混合均匀。在室温（20 $^{\circ}$ C）4-10min 内记录反应结果。同时以阳、阴性血清作对照。

2. 结果判定：在阳性血清及阴性血清试验结果正确的前提下，被检血清出现任何程度的凝集现象均判为阳性，完全不凝集的判为阴性，无可疑反应。

3. 注意：抗原用前充分摇匀，抗原和被检血清用前应放室温 30-60min 后再进行试验。

（五）鸡白痢平板凝集试验

1. 被检鸡血清和鸡白痢平板凝集抗原各 1 滴（约 30 μ L）滴于玻板或载玻片上，用牙签或火柴棒充分混合。

2. 结果判定：在室温（20 $^{\circ}$ C）下，观察 30-60s，凝集者为阳性，不凝集者为阴性。

（六）伪狂犬病乳胶凝集试验抗体检测试剂盒

产品说明

1 敏感性试验

1.1 国内流行毒株的阳性血清检测，用乳胶凝集试验与中和试验分别对流行毒株的阳性血清检测，抗体效价结果如下：

不同的血清种类	两种检测方法检出的抗体水平	
	乳胶凝集试验	中和试验
闽 A 株阳性血清	1: 128	1: 64
鄂 A 株自制血清	1: 256	1: 128

结果表明：对流行毒株的阳性血清检测乳胶凝集试验比中和试验敏感。

1.2 检出抗体时间的比较

猪用基因缺失疫苗免疫后一周两种方法抗体检出情况比较

检测的猪号 不同检测方法的抗体水平 乳胶凝集试验 中和试验

检测的猪号	不同检测方法的抗体水平	
	乳胶凝集试验	中和试验
1	1: 4	1:6.01
2	1: 2	1:9.38
3	1: 2	1:6.01
4	1: 4	1:6.01
5	1: 2	—
6	1: 1	—
7	1: 8	—
8	1: 2	1: 11.9

注：乳胶凝集检测结果大于 1: 2 为阳性。

2 特异性试验

用乳胶抗原检测几种不同的特异性血清和缓冲液，结果如下：

不同的血清或溶液与乳胶抗原反应的结果						
PrV 阳性	PrV 阴性	猪瘟阳性	衣原体阳	生理盐水	磷酸缓冲	硼酸缓冲

血清	血清	血清	性血清		液	液
凝集	不凝集	不凝集	不凝集	不凝集	不凝集	不凝集

结果说明：乳胶抗原不发生自凝，也不与其它阳性血清反应，具有较好的特异性。

3 符合率试验

用乳胶凝集试验与中和试验对临床送检的 414 份血清进行检测，比较结果如下：

		血清中和试验		
		阳性	阴性	合计
乳胶凝集 试验	阳性	168	52	220
	阴性	3	191	194
	合计	171	243	414

结果表明：在检测的 414 份血清中，血清中和试验检出阳性份数为 171，阴性为 243；而乳胶凝集试验检出阳性份数为 220，阴性为 194；在血清中和试验检测为阴性的 243 份中，乳胶凝集试验检出 52 份阳性。结果说明，乳胶凝集试验比血清中和试验敏感。

伪狂犬病胶乳凝集实验试剂盒使用说明

【制品名称】 伪狂犬病胶乳凝集实验试剂盒

通用名:伪狂犬病胶乳凝集实验试剂盒

商品名：无

英文名：Pseudorabies Latex Agglutination Test Diagnostic Kit

汉语拼音：Weikuanguanbingjiaoruningjishiyanshijihe

【主要成分及含量】乳胶抗原 2MLX1 瓶、阳性血清 2MLX1 瓶、阴性血清 2MLX1 瓶、稀释液 4MLX4 瓶。

【性状】胶乳抗原为乳白色均匀混悬浮液，阳性血清和阴性血清为橙黄色或淡棕黄色液体，稀释为透明无色液体。

【作用与用途】胶乳抗原 用于检验伪狂犬病病毒抗体的胶乳凝集试验。

阳性血清 用于伪狂犬病胶乳凝集试验抗原效价测定和胶乳凝集试验对照。

阴性血清 用于伪狂犬病胶乳凝集试验对照。

稀释液 用于待检血清的稀释。

【用法与判定】对照试验应出现如下结果：

阳性对照 将阳性血清进行 2 倍系列稀释，取 20 μ l 与等量胶乳抗原进行胶乳凝集试验，胶乳抗原与 1: 64 稀释的阳性血清应出现“++”凝集反应。

阴性对照 阴性血清加抗原，应不发生凝集反应。

稀释液对照 抗原加稀释液混合后，应不发生凝集反应。

定性试验 取被侧样品（血清或全血）、阳性血清、阴性血清、稀释液各 1 滴（约 20 μ l），分别置于玻片上，各加等量胶乳抗原 1 滴，混匀，搅拌并摇动 1-2 分钟，在 3-5 分钟内观察。判定结果。

定量试验 先将被测样品在微量反应板或 EP 管内用稀释液作 2 倍系列稀释，各取 1 滴（约 20 μ l）依次滴加于玻片上，同时设阴性血清和阳性血清对照，随后各加胶乳抗原 1 滴，如上搅拌并摇动，判定。达到阳性凝集反应的血清最高稀释倍数，即为血清的抗体效价。

凝集反应强度标准：

++++全部胶乳凝集，颗粒聚于液滴边缘，液体完全透明。

+++大部分胶乳凝集，颗粒明显，液体稍浑浊。

++约 50%胶乳凝集，但颗粒较细，液体较浑浊

+有少许凝集，液体呈浑浊。

-液滴呈原有的均匀乳状。

出现“++”以上凝集判为阳性。

【贮藏】在 2-8℃，有效期为 1 年。

【规格】1 胶乳抗原、阳性血清和阳性血清 1 瓶（2ML）/盒。

2 稀释液 4MLX4 瓶/盒

3 其它材料 橡皮乳头 5 个/盒；20020 μ l 微量吸头 5 个/盒；载玻片 2 块/盒。

【批准文号】兽药生字（2005）170048062

【生产企业】武汉科前动物生物制品有限责任公司

地址：430070 湖北武汉市洪山区狮子山街特 1 号华中农业大学校内

电话：027-87285506 传真：027-87285172

E-MAIL:hzauvet@public.wh.hb.cn

http:www.epizooty.com

六、作业与思考

1. 描述玻板凝集试验各血清量中凝集现象及结果。
2. 描述试管凝集试验各对照管设置的意义及各血清稀释度管的凝集现象及结果，判定检验牛的患病情况及建议。
3. 比较布病玻板和试管凝集试验的优、缺点及其用途。

4. 试述玻板和试管凝集试验操作的注意事项。
5. 凝集反应的原理是什么？哪些因素影响细菌凝集试验？凝集试验中为什么要设阳性、阴性血清及抗原对照？

附录：

参考文献：

(王京仁)

实践八 沉淀试验

一、实践目的

1. 掌握炭疽环状沉淀试验的操作方法和结果观察。
2. 掌握琼脂扩散沉淀试验的原理和操作方法。
3. 了解对流免疫电泳的一般原理和操作技术。

可溶性抗原(如细菌浸出液、含菌病料浸出液、病毒、血清以及其他来源的蛋白质、多糖、类脂等)与其相应的抗体结合后，在电解质参与下，形成肉眼可见的白色沉淀，称为沉淀反应(Precipitation reaction)。沉淀反应中的抗原称为沉淀原(Precipitinogen)，抗体称为沉淀素(Precipitin)。

沉淀反应主要包括有环状沉淀试验、琼脂扩散沉淀试验及免疫电泳等。

二、实践内容

1. 超声多普勒诊断仪的操作与应用
2. B型超声诊断仪的操作与应用

三、实践材料

1. 生理盐水, 8.5% NaCl 溶液, 0.5% 石炭酸生理盐水, 巴比妥缓冲液, 琼脂粉等。
2. 炭疽沉淀抗原 (炭疽标准抗原), 炭疽沉淀素血清, 待检抗原。
3. 禽流感琼扩抗原, 禽流感阳性血清, 待检鸡血清; 兔抗猪 IgG, 猪血清, 鸡血清, 兔血清、牛血清, 羊血清等。
4. 小鹅瘟琼扩抗原, 小鹅瘟抗血清; 鸡传染性法氏囊病琼扩抗原 (或待检法氏囊组织浸提液), 鸡传染性法氏囊病阳性血清。

四、实践用品与用具

口径 0.4cm 的小试管, 毛细滴管, 载玻片, 平皿, 烧杯, 打孔器, 针头, 酒精灯, 加样器 (移液器), 滴头, 电泳槽, 电泳仪等。

五、实践方法

(一) 环状沉淀试验

环状沉淀试验 (Ring precipitation test) 是最早的沉淀反应。目前在链球菌的分类、鉴定, 昆虫吸血性能及所吸血液来自何种动物的鉴别, 肉品种属鉴定及炭疽尸体与皮张的检验工作中仍然应用。以炭疽环状沉淀反应为例, 此反应又称 Ascoli 氏反应。

1. 待检抗原的制备

(1) 取疑为炭疽死亡动物的实质脏器 1g 放入小烧杯中剪碎, 加生理盐水 5-10ml, 煮沸 30min, 冷却后用滤纸过滤使之呈清澈透明的液体, 即为待检抗原。

(2) 如待检材料是皮张、兽毛等, 可采用冷浸法。先将样品高压灭菌 30min 后, 皮张剪为小块并称重, 加 5-10 倍的 0.5% 石炭酸生理盐水, 置室温浸泡 10-24h。用滤纸过滤 2-3 次, 使之呈清朗的液体, 此即为待检抗原。

2. 加样: 取 3 支口径 0.4cm 的小试管, 在其底部各加约 0.1 ml 的炭疽沉淀素血清 (用毛细滴管加, 注意液面勿有气泡)。取其 1 支, 用毛细滴管将待检抗原沿着管壁轻轻加入使重叠在炭疽沉淀素血清之上, 上下两液间有一整齐的界面, 注意勿产生气泡。另 2 支小试管, 一支加炭疽沉淀抗原, 另一支加生理盐水, 方法同上, 作为对照。

3. 结果判定: 5-10min 内判定结果, 上下重叠两液界面上出现乳白色环者, 为炭疽阳性。对照组中, 加炭疽沉淀抗原者应出现白环, 而加生理盐水者应不出现白环。

4. 注意: 观察结果时, 可将一只手放在小试管对测的适当位置上遮挡光线, 有利于看到白色沉淀环。

(二) 琼脂扩散沉淀试验

琼脂扩散沉淀试验 (Agar gel precipitation test, AGPT) 是沉淀反应的一种形式。物质自由运动形成扩散现象, 扩散可以在各种介质中进行。1% 琼脂凝胶形成网状构架, 空隙中是 98%-99% 的水, 允许分子量在 200ku 以下分子通过。绝大多数可溶性抗原和抗体的分子量在 200ku 以下, 因此可以在琼脂凝胶中自由扩散, 所受阻力甚小。二者在琼脂凝胶中相遇, 在最适比例处结合成复合物, 此复合物因颗粒较大而不能扩散, 故形成沉淀带。

本试验可用已知抗体检测样品中的抗原, 也可用已知抗原检测血清样品中的抗体。

1. 琼脂板制备: 称取 1g 琼脂粉, 加入 100ml 生理盐水或 8.5% NaCl 溶液 (禽类), 煮沸使之溶解。待溶解的琼脂温度降至 60℃ 左右时倒入平皿中, 厚度为 2-3mm。

2. 打孔: 用打孔器在琼脂凝胶板上按 7 孔梅花图案打孔, 孔径约 3-5mm, 中心孔和周围孔间的距离约为 3-5mm。挑出孔内琼脂凝胶, 注意不要挑破孔的边缘。

3. 封底: 在火焰上缓缓加热, 使孔底琼脂凝胶微微融化, 以防止孔底边缘渗漏。

4. 加样: 以毛细滴管 (或加样器) 将样品加入孔内, 注意不要产生气泡, 以加满为度。

(1) 血清流行病学调查: 将禽流感琼扩抗原置中心孔, 周围 1、3、5 孔加禽流感阳性血清, 2、4、6 孔分别加待检鸡血清, 每加一个样品应换一个滴头。

(2) 抗血清效价测定：将猪血清（抗原）加入中心孔，将兔抗猪 IgG（抗体）作 2 倍比稀释，即 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 等，分别加至周围孔中。或者是将小鹅瘟琼扩抗原加入中心孔，周围孔加入 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32 等稀释的小鹅瘟抗血清。

(3) 抗原检测：将兔抗猪 IgG（抗血清）加入中心孔，将待测抗原（猪血清、鸡血清、兔血清、牛血清、羊血清等）置于周围孔中。或者是将鸡传染性法氏囊病阳性血清加入中心孔，周围孔加鸡传染性法氏囊病琼扩抗原（或待检法氏囊组织浸提液）。

5. 感作：将琼脂凝胶板加盖保湿，置于 37℃温箱，24-48h 后，判定结果。

6. 结果判定

(1) 血清流行病学调查：待检孔与阳性孔出现的沉淀带完全融合者判为阳性。待检血清无沉淀带或所出现的沉淀带与阳性对照的沉淀带完全交叉者判为阴性。

(2) 抗血清效价测定：以出现沉淀带的血清最高稀释倍数为抗血清的 AGP 效价。

(3) 抗原检测：兔抗猪 IgG 与猪血清孔之间有明显沉淀带，与其他血清孔之间不形成沉淀带。鸡传染性法氏囊病阳性血清与鸡传染性法氏囊病琼扩抗原孔之间出现沉淀带，如与待组组织浸提液孔之间出现沉淀带，说明该法氏囊组织中有鸡传染性法氏囊病病毒抗原。

(三) 对流免疫电泳

在 pH 值 8.6 的琼脂凝胶中，抗体球蛋白带有微弱的负电荷，在电泳时，由于电渗作用的影响，抗体球蛋白反而向负极倒退。而一般抗原蛋白质带负电荷，在电泳力的作用下向正极移动。二者在两孔之间相遇，形成肉眼可见的白色沉淀线。

本法由于抗原抗体分子在电场作用下定向运动，限制了自由扩散，从而提高了敏感性，它较琼脂扩散试验敏感性高 10-16 倍，并可大大缩短沉淀线出现的时间，适用于快速诊断。

1. 琼脂板制备：用巴比妥缓冲液配制 1%-1.5% 琼脂凝胶板，厚度 2-3mm。

2. 打孔：孔径 3-5mm，孔距 4-10mm，一张载玻片可打 12 个孔，挑去孔内琼脂，封底。

3. 加样：一对孔中，一孔加已知（或待测）抗原，另一孔加待测（或已知）抗体。

4. 电泳：在电泳槽内加入 pH 8.6 的巴比妥缓冲液，将滤纸片放入缓冲液内浸湿搭桥。将抗原孔置于负极端。电压 2.5-6V/cm，或电流强度 3-5mA/cm，电泳时间为 30-90min。

5. 结果观察：断电后，将凝胶板置于灯光下，衬以黑色背景观察。阳性者则在抗原与抗体孔之间形成一条清楚致密的白色沉淀线。如沉淀线不清晰，可将琼脂凝胶板放在湿盒中 37℃数小时或置电泳槽过夜再观察。

六、作业与思考

1. 进行环状沉淀试验时，注意事项是什么？
2. 琼脂扩散沉淀试验的操作方法及其应用。
3. 对流免疫电泳的原理是什么？

附录：

参考文献：

（王京仁）

实践九 病毒的血凝及血凝抑制试验

一、实践目的

掌握病毒 HA 和 HI 试验的原理和基本操作方法，了解其实用价值。

有些病毒具有凝集某种(些)动物红细胞的能力，称为病毒的血凝，利用这种特性设计的试验称血球凝集(HA)试验，以此来推测被检材料中是否有病毒存在，是非特异性的，但病毒的凝集红细胞的能力可被相应的特异性抗体所抑制，即血球凝集抑制(HI)试验，具有特异性。通过 HA-HI 试验，可用已知血清来鉴定未知病毒，也可用已知病毒来检查被检血清中的相应抗体和滴定抗体的含量。

二、实践内容

1. 超声多普勒诊断仪的操作与应用
2. B 型超声诊断仪的操作与应用

三、实践材料

1. 生理盐水，0.5% 鸡红细胞悬液。
2. 新城疫病毒液（尿囊液或冻干疫苗液），新城疫阳性血清，被检鸡血清。

4 单位病毒	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
室温中静置 10 min												
0.5%红细胞	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
弃去 50												
结果观察	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	++++	++++	-

6. 结果判定：待病毒对照孔（第 11 孔）出现红细胞 100%凝集（++++），而血清对照孔（第 12 孔）为完全不凝集（-）时，即可进行结果观察。

以 100%抑制凝集（完全不凝集）的被检血清最大稀释度为该血清的血凝抑制效价，即 HI 效价。凡被已知新城疫阳性血清抑制血凝者，该病毒为新城疫病毒。

从表 9-2 看出，该血清的 HI 效价为 1:64，用以 2 为底的负对数(-log₂)表示，即 6log₂。

六、作业与思考

1. HA 和 HI 试验的原理是什么？
2. HI 试验是不是特异的抗原抗体反应，为什么？
3. HA 和 HI 试验有何实际应用意义？

附录：

1. 阿氏液 (Alsever)：即红细胞保养液

枸橼酸钠 (5H₂O) 0.80g

枸橼酸 (H₂O) 0.055g

葡萄糖 2.05g

氯化钠 0.42g

双蒸水 加至 100 ml

将以上试剂加热溶解于双蒸水中，调整 pH 至 6.8，115℃灭菌 10min，4℃保存备用。

2. 0.5% 鸡红细胞制备方法

先用灭菌注射器吸取 3.8% 枸橼酸钠溶液（其量为所需血量的 1 / 5），从鸡翅静脉或心脏采血至需要血量，置灭菌离心管内，加灭菌生理盐水为抗凝血的 2 倍，以 2000r/min 离心 10min，弃上清液，再加生理盐水悬浮血球，同上法离心沉淀，如此将红细胞洗涤三次，最后根据所需用量，用灭菌生理盐水配成 0.5% 鸡红细胞悬液。

3. 96 孔微量反应板的清洗

将浸泡有 75% 乙醇的棉签放入微量反应板的每个孔内旋转，用自来水冲洗反应板 5 次，再用蒸馏水冲洗 3 次以上，置 37℃温箱中干燥。

参考文献：

（王京仁）

实践十 酶联免疫吸附试验

一、实践目的

1. 掌握酶联免疫吸附试验的原理及基本操作方法。
2. 了解猪群猪瘟抗体监测的意义及鸡传染性法氏囊病病毒检测的方法。

酶联免疫吸附试验 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 是目前发展最快, 应用最广泛的一种免疫学检测技术。其基本过程是将抗原或抗体吸附于固相载体上, 在载体上进行免疫酶染色, 底物显色后以肉眼或酶标仪检测结果。通过酶与底物作用呈现颜色的深度, 进行定量或定性分析。本试验将抗原抗体反应的特异性与酶的高催化活性相结合, 使测定方法达到很高的敏感性, 且特异性强, 可用于生物活性物质的微量检测及疾病诊断, 广泛应用于整个生命科学领域。

二、实践内容

1. 间接 ELISA (以猪瘟抗体的检测为例, 该法可用于猪瘟抗体监测)
2. 夹心 ELISA (以鸡传染性法氏囊病病毒检测为例)

三、实践材料

1. 0.01mol/L PBS (pH7.2), 0.01mol/L PBST (含 0.01%吐温 20), 2mol/L H₂SO₄, pH9.6 碳酸盐缓冲液 (包被液), 封闭液, 邻苯二胺 (OPD), 3% H₂O₂, 柠檬酸盐缓冲液。
2. 猪瘟病毒抗原, 兔抗猪 IgG 酶标抗体, 待检血清, 猪瘟阳性血清, 猪瘟阴性血清。
3. 鸡传染性法氏囊病病毒 (IBDV) 特异性抗体, IBDV 抗原, 待检 IBDV 抗原, 酶标抗 IBDV 的单克隆抗体。

四、实践用品与用具

酶标板, 酶联检测仪 (酶标仪), 微量加样器, 滴头 (tip 头)。

五、实践方法

(一) 间接 ELISA (以猪瘟抗体的检测为例, 该法可用于猪瘟抗体监测)

1. 包被: 用碳酸盐缓冲液稀释猪瘟病毒抗原至 1 μ g/ml, 以微量加样器每孔加样 100 μ L, 置湿盒内 37 $^{\circ}$ C 包被 2-3h。
2. 洗涤: 以 PBST 冲洗酶标板, 共洗 5 次, 每次 3min。
3. 加待检血清: 每孔加 100 μ L PBS, 然后在酶标板的第 1 孔加 100 μ L 待检血清, 以微量加样器反复吹吸几次混匀, 吸 100 μ L 加至第 2 孔, 依次倍比稀释至第 10 孔, 剩余的 100 μ L 弃去, 置湿盒内 37 $^{\circ}$ C 作用 2h。
4. 洗涤: 同上。
5. 加酶标抗体: 以 PBS 将兔抗猪 IgG 酶标抗体稀释至工作浓度, 每孔加 100 μ L, 置湿盒内 37 $^{\circ}$ C 作用 2h。
6. 洗涤: 同上。
7. 加底物显色: 取 10ml 柠檬酸盐缓冲液, 加 OPD 4ml 和 3% H₂O₂ 100 μ L, 每孔加 50 μ L, 置湿盒内避光显色 10min。
8. 终止反应: 每孔加 2mol/L H₂SO₄ 溶液 100 μ L 终止反应。
9. 结果判定: 以酶标仪检测样品的 OD 值 (波长 490nm), 先以空白孔调零, 当 OD \geq 2.1 即判断为阳性。

注意: 每块 ELISA 板均需在最后一排的后 3 孔设立阳性对照、阴性对照和空白对照。

(二) 夹心 ELISA (以鸡传染性法氏囊病毒检测为例)

1. 包被: 用包被液将 IBDV 特异性抗体稀释为 25-100 μ g/ml, 以 100 μ L/孔的量加入酶标板中, 置 4 $^{\circ}$ C 过夜吸附或 37 $^{\circ}$ C 吸附 120min。
2. 洗涤: PBST 冲洗酶标板, 共洗 3 次, 每次 3min。
3. 封闭: 用封闭液封闭, 200 μ L/孔, 4 $^{\circ}$ C 过夜或 37 $^{\circ}$ C 120min; PBST 洗 3 次, 每次 1min。
4. 加待检 IBDV 抗原: 每孔加 100 μ L 待检 IBDV 抗原, 同时设立阴、阳性对照, 37 $^{\circ}$ C 孵育 45-90min; PBST 洗 3 次, 每次 3min。
5. 加酶标抗体: 每孔加 100 μ L 酶标鼠抗 IBDV 的单抗, 37 $^{\circ}$ C 孵育 45-90min; PBST 洗 3 次, 每次 5min。
6. 加底物溶液: 每孔加底物溶液 (OPD 和 H₂O₂) 100 μ L, 37 $^{\circ}$ C 避光作用 20min。
8. 终止反应: 每孔加 2mol/L H₂SO₄ 溶液 50 μ L 终止反应。
9. 结果判定: 在酶标仪上读取 OD 值 (波长 490nm), 当 OD \geq 0.3, 并且 P/N \geq 2.1, 为阳性。

(三) 猪繁殖与呼吸综合征 ELISA 抗体检测试剂盒

产品说明

符合率试验

猪繁殖与呼吸综合征病毒 N-ELISA 抗体检测试剂盒与 IDEXX 公司 PRRS ELISA 试剂盒共检测血清 185 份。猪繁殖与呼吸综合征病毒 N-ELISA 抗体检测试剂盒检测出阳性 110 份, IDEXX 公司 PRRS ELISA 试剂盒检测为阳性 113 份, 阳性符合率为 90.3%。N-ELISA 抗体检测试剂盒检测为阴性 75 份, IDEXX 公司 PRRS ELISA 试剂盒为阴性 72 份, 阴性符合率为 88.9%, 两者总符合率为 89.7%, 结果如下:

		IDEXX 公司 PRRS ELISA 试剂盒		符合率 (%)
猪繁殖与呼吸综合 征病毒 N-ELISA 抗体检测试剂盒	阳性	102	8	90.3%
	阴性	11	64	88.9%
	总数	185		89.7%

猪繁殖与呼吸综合征病毒 ELISA 抗体检测试剂盒

使用说明书

【简介】

试剂盒由抗原包被的微孔板，酶标羊抗猪 IgG 及其它试剂制成，应用间接 ELISA 原理检测猪血清中抗蓝耳病 N 蛋白的抗体。

【用途】

猪蓝耳病 ELISA 诊断试剂盒用于检测猪血清中抗蓝耳病 N 蛋白的抗体。评估猪场蓝耳病疫苗免疫状况。感染猪的血清学诊断。

【原理】

本试剂盒是采用猪蓝耳病病毒 N 基因的基因工程表达产物包被检测板。在试验中，加入稀释的对照血清和待检血清，经温育后，若样品中含有猪蓝耳病 N 蛋白的特异性抗体，则将与检测板上抗原结合，经洗涤除去未结合的抗体和其他成分后；再加入酶标二抗，与检测板上抗原抗体复合物发生特异性结合；再经洗涤除去未结合的酶结合物，在孔中加 TMB 底物液，与酶反应形成蓝色产物，加入 HF 溶液终止反应后，用酶标仪 630nm 波长测定各反应孔中的 OD 值。

【试剂盒主要成分】

1 包被抗原的检测板	2 块	(96 孔/板)	
2 阴、阳性对照血清	各 1 管	(1ml/管)	
3 羊抗猪酶标二抗		1 瓶	(20ml/瓶)
4 20 倍浓缩洗涤液	1 瓶	(30ml/瓶)	
5 底物 A 液、B 液	各 1 瓶	(10ml/瓶)	
6 终止液	1 瓶	(10ml/瓶)	
7 样品稀释液	1 瓶	(50ml/瓶)	
8 血清稀释板	2 块	(96 孔/板)	
9 说明书		1 张	

【样品制备】

取动物全血，按常规方法制备血清，要求血清清亮，无溶血。

【洗涤液配制】

使用前，浓缩的洗涤液应恢复至室温（25℃左右），并摇动使沉淀的盐溶解（最好在 37℃水中加热 5-10min），然后用蒸馏水或去离子水作 20 倍稀释（例如：每板用 20 ml 浓缩液加上 380ml 水），稀释好的洗涤液在 4℃可以存放 7 天。

【样品稀释】

待检血清 1: 40 稀释：具体为在血清稀释板中按 1: 40 稀释待检血清（195 μl 样品稀释液中加 5 μl 待检血清，混匀即可）。

注意：阳性和阴性对照 1: 4 稀释，（例如：180 μl 样品稀释液中加 60 μl 对照血清，吹打均匀）。

【注意事项】

- 1 试剂盒使用前各试剂应平衡至室温，使用后放回 2-8℃。

- 2 不同批号试剂盒的试剂组分不得混用，使用试剂时应防止试剂污染。
- 3 不要用口移液。
- 4 TMB（底物液 B）不要暴露于强光，避免接触氧化剂。
- 5 检测板拆封后避免受潮或沾水（未用完的抗原包被板加干燥剂放于自封袋中，应尽快置于 4℃）。
- 6 待检血清样品数量较多时，应先使用血清稀释板稀释完所有要检测血清，再将稀释好的血清转移到反应板，使反应时间一致。
- 7 浓缩洗涤液用蒸馏水或去离子水稀释，如果发现有结晶加热使其溶解后再使用。
- 8 在操作过程中移液时，切忌将气泡加入检测板孔中。
- 9 严格按照操作说明书可以获得最好的结果，操作过程中移液，定时和洗涤等的全过程必须精确。

【操作步骤】

- 1 取检测板（根据样品多少可拆开分次使用），用稀释好的洗涤液洗板 2 次（200 μ l/孔）每次静置 2 分钟后倒掉，再在干净吸水纸上拍干。
- 2 取稀释好的待检样品 100 μ l 加入到检测板中；阴性对照和阳性对照各设 2 孔，每孔 100 μ l；轻轻振匀孔中样品（勿溢出），置 37℃温育 30 分钟。
- 3 甩掉板孔中的溶液，用洗涤液洗板 3 次，200 μ l/孔，每次静置 3 分钟倒掉，再在干净吸水纸上拍干。
- 4 每孔加羊抗猪酶标二抗 100 μ l，置 37℃温育 30 分钟。
- 5 洗涤 5 次，方法同 3。切记每次在干净吸水纸上拍干。
- 6 每孔先加底物液 A 一滴（50 μ l）、再加底物液 B 一滴（50 μ l），混匀，室温（18℃-25℃）避光显色 10 分钟。
- 7 每孔加终止液 1 滴（50 μ l），10 分钟内测定结果（检测前在震荡器上轻轻震动一下）。

【结果判定】在酶标仪上测各孔 OD630 值。试验成立的条件是阳性对照孔平均 OD630 值大于或等于 1.0，阴性对照孔平均 OD630 值必须小于 0.3。

样品 OD630 值大于 0.42，判为阳性；样品 OD630 值在 0.38 到 0.42 之间，判为可疑；样品 OD630 值小于 0.38，判为阴性。

注意：用 620 ~650 纳米波长测定结果均有效。

【贮存】2-8℃避光保存

【有效期】6 个月

六、作业与思考

1. 免疫酶技术的原理是什么？
2. 间接 ELISA 和夹心 ELISA 的操作步骤是什么？
3. 猪群猪瘟抗体监测对指导猪瘟免疫有何实际意义？

附录：

参考文献：

（王京仁）

实践十一 临床病例中病原菌的分离与鉴定

一、实践目的

1. 练习微生物接种、移植和培养的基本技术，掌握无菌操作技术。
2. 初步掌握动物疫病检测的采样技术、病原微生物的接种、分离、培养、纯化技术及鉴定技术

为了获得某种微生物的纯培养，一般是根据该微生物对营养、酸碱度、氧等条件要求不同，而供给它适宜的培养条件，或加入某种抑制剂，淘汰其他一些不需要的微生物，再用各种方法分离、纯化该微生物，直至得到纯菌株。

稀释涂板法、稀释混合平板法、划线分离

二、实践内容

三、实践材料

1. 临床病例

2. 培养基 血琼脂平板、巧克力琼脂平板、中国蓝琼脂平板，MH 琼脂平板、SS 琼脂平板、灭菌的牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、肉汤培养基、三糖铁培养基。肠道选择性培养基、各种微量生化反应管等。

3. 试剂 革兰染液、无菌生理盐水、各种常用抗菌药物纸片、诊断血清、1 万 U/mL 链霉素液、10% 苯酚、生化反应试剂等。

四、实践用品与用具

酒精灯、接种环、接种针、消毒棉签、载玻片、镊子、剪刀，手术刀，冰块，保温盒，普通培养箱、二氧化碳培养箱、显微镜、无菌培养皿、无菌吸管、无菌三角玻棒、电子天平、记号笔、火柴、生物安全柜、冰箱、装有 45mL 无菌水三角瓶、装有 9mL 无菌水的试管。

五、实践方法

(一) 动物疫病检测的采样技术：

重大动物疫病检测中，结果准确与否，样品质量是关键，因此采样人员必须是兽医技术人员，熟悉采样器具的使用，掌握正确采样方法，科学采样

采样时注意隔离防护，隔离或防护服进出场要消毒，准备好采样所需的器具
家禽采样需要：

酒精棉、碘酒棉、5ml 注射器、无菌棉签、塑料离心管、签字笔、记号笔、采样单等

牛羊采样还需：牛鼻钳、20ml 注射器、采血真空管、采样杯、OP 液保存容器等

猪采样还需：猪保定器、开口器、扁桃体采样器等

脏器的采取还需：解剖刀、齿锯、剪刀、手术刀、镊子、病料保存袋等

所有病原检测样品都需冷藏箱加冰块保存和运输

血清样品的采集

家畜采血方法：

雏鸡（禽）心脏采血

左手抓鸡，竖折，手持采血针，平行颈椎。从胸腔前口插入，回抽见有回稳中有降时，即把针心向外拉，使血液流入采血针

成年禽心脏采血

助手抓住两翅及两腿，右侧握保定，在触及心搏动明显处或胸骨前端，背部下部凹处连线的 1/2 处消毒，垂直或稍向前方刺入 2-3cm，回抽见回血时，即把针心各外拉，使血液流入采血针

成年禽可采取翅静脉采血

助手一手握住禽的两腿，另一手握住两翼，在翅下静脉处消毒，手持采血针，从无血管处向静脉丛刺入，见有血液回流即把针心向外拉，使血液流入采血针，每只禽采血液 2-3ml 做好标记

牛羊采血方法

牛颈静脉采血

用手按住颈静脉沟的下端及近心端，可看到颈静脉隆起，消毒后在颈静脉隆起

处，针头向头端方向快速刺入，抽取 5ml 血，采血完毕用酒精棉球按压并拔出针头

也可采用尾静脉采血

在牛尾根后下方 4-5cm 的正中，垂直刺入 2-3cm，见有血液回流进入真空采血管

奶牛可乳房静脉采血

奶牛腹部可看到明显隆起的乳房静脉，消毒后在静脉隆起处，针头向后肢方向快速刺入，见有血液回流进入真空采血管

羊的采血方法：选用颈静脉采血，方法同牛颈静脉采血

猪的采血方法

耳静脉采血：站立保定，助手用力在耳根压静脉的近心端，手指轻弹或用酒精棉球反复涂擦耳静脉，使血管扩张，针头沿血管刺入，见有血液回流接入真空采血管

前腔静脉采血：保定器让猪头仰起，露出右腋窝，针头从右侧向心脏方向刺入，回抽见有回血时，即把针心向外拉，使血液流入采血真空管

血清分离：

采血后针心后拉抽入少量空气，倾向放置，血液凝固前不能晃动以防止溶血，血液经过自然放置数小时，冬天可置 37℃ 恒温箱中 1 小时左右，见上面析出淡黄色液体即为血清，将血清移到另外的小塑料离心管中，盖紧瓶盖，做好标记，每份血清量不少于 0.5ml

病原检测样品的采集

1、家禽喉拭子和泄殖腔拭子采集方法

取无菌棉签插入鸡喉咙内转动三圈或泄殖腔内转动三圈取出，插入含有 1ml 含青霉素、链霉素各 3000 单位的 PH 值为 7.2 的 pb 离心管中，减去漏出部分，盖紧瓶盖，做好标记

2、牛羊 O-P 液的采取方法：

先禁食 12 小时，助手保定牛，消毒碳杯，术者手从牛喉角后沿伸入口腔，抓住舌头，将碳杯送入咽喉，顺吞咽动作将采样杯来回抽动三次即可。

将 O-P 液移入容器或汉克式 (Hanks) 液中保存。

3、猪扁桃体采取技术

扁桃体采样器使用：把采样钩拉在扁桃体上，快速扣动板机即可

扁桃体采集：用开口器开口，可以看到突起的扁桃体，快速扣动板机取出扁桃体放离心管中

病死畜禽的解剖

与重大动物疫病检测中，结果准确与否，样品质量是关键，因此采样人员必须是兽医技术人员，熟悉采样器具的使用，掌握正确采样方法，科学采样采样时注意隔离防护，隔离或防护服进出场要消毒，准备好采样所需的器具

家禽采样需要：

酒精棉、碘酒棉、5ml 注射器、无菌棉签、塑料离心管、签字笔、记号笔、采样单等

牛羊采样还需：牛鼻钳、20ml 注射器、采血真空管、采样杯、OP 液保存容器等

猪采样还需：猪保定器、开口器、扁桃体采样器等

脏器的采取还需：解剖刀、齿锯、剪刀、手术刀、镊子、病料保存袋等

所有病原检测样品都需冷藏箱加冰块保存和运输

血清样品的采集

家畜采血方法：

雏鸡（禽）心脏采血

左手抓鸡，竖折，手持采血针，平行颈椎。从胸腔前口插入，回抽见有回稳中有降时，即把针心向外拉，使血液流入采血针

成年禽心脏采血

助手抓住两翅及两腿，右侧握保定，在触及心搏动明显处或胸骨前端，背部下部凹处连线的 1/2 处消毒，垂直或稍向前方刺入 2-3cm，回抽见回血时，即把针心各外拉，使血液流入采血针

成年禽可采取翅静脉采血

助手一手握住禽的两腿，另一手握住两翼，在翅下静脉处消毒，手持采血针，从无血管处向静脉丛刺入，见有血液回流即把针心向外拉，使血液流入采血针，每只禽采血液 2-3ml 做好标记

牛羊采血方法

牛颈静脉采血

用手按住颈静脉沟的下端及近心端，可看到颈静脉隆起，消毒后在颈静脉隆起处，针头向头端方向快速刺入，抽取 5ml 血，采血完毕用酒精棉球按压并拔出针头

也可采用尾静脉采血

在牛尾根后下方 4-5cm 的正中，垂直刺入 2-3cm，见有血液回流进入真空采血管

奶牛可乳房静脉采血

奶牛腹部可看到明显隆起的乳房静脉，消毒后在静脉隆起处，针头向后肢方向快速刺入，见有血液回流进入真空采血管

羊的采血方法：选用颈静脉采血，方法同牛颈静脉采血

猪的采血方法

耳静脉采血：站立保定，助手用力在耳根压静脉的近心端，手指轻弹或用酒精棉球反复涂擦耳静脉，使血管扩张，针头沿血管刺入，见有血液回流接入真空采血管

前腔静脉采血：保定器让猪头仰起，露出右腋窝，针头从右侧向心脏方向刺入，回抽见有回血时，即把针心向外拉，使血液流入采血真空管

血清分离：

采血后针心后拉抽入少量空气，倾向放置，血液凝固前不能晃动以防止溶血，血液经过自然放置数小时，冬天可置 37℃ 恒温箱中 1 小时左右，见上面析出淡黄色液体即为血清，将血清移到另外的小塑料离心管中，盖紧瓶盖，做好标记，每份血清量不少于 0.5ml

病原检测样品的采集

1、家禽喉拭子和泄殖腔拭子采集方法

取无菌棉签插入鸡喉咙内转动三圈或泄殖腔内转动三圈取出，插入含有 1ml 含青霉素、链霉素各 3000 单位的 PH 值为 7.2 的 pb 离心管中，减去漏出部分，盖紧瓶盖，做好标记

2、牛羊 O-P 液的采取方法：

先禁食 12 小时，助手保定牛，消毒碳杯，术者手从牛喉角后沿伸入口腔，抓住舌头，将碳杯送入咽喉，顺吞咽动作将采样杯来回抽动三次即可。

将 O-P 液移入容器或汉克式 (Hanks) 液中保存。

3、猪扁桃体采取技术

扁桃体采样器使用：把采样钩拉在扁桃体上，快速扣动板机即可

扁桃体采集：用开口器开口，可以看到突起的扁桃体，快速扣动板机取出扁桃体放离心管中

病死畜禽的解剖与病变组织器官的采取

采样原则：采集有病变的器官组织，采集病变和健康组织交界处，先采实质器官，如脾、肾，后采集污染的器官组织，如胃肠等。急性死亡的牛羊先采耳尖血，涂片镜检，排除炭疽。

猪的样品采集

活猪先从前腔静脉采血，病死猪沿腹部切开并剥离皮肤，然后酒精棉火焰消毒，更换手套、镊子、剪刀，观察并采集股前淋巴结，下颌淋巴结，然后剪开胸骨，打开胸腹腔，观察心、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏、扁桃体、喉头、膀胱、胃、小肠、大肠等器官的病变并采样，如有神经症状，还要采集大脑，用锯锯开脑骨，剪刀剥离脑膜，用镊子取出大脑。

家禽的样品采集

先用消毒剂喷湿鸡毛，从两腿到胸部用剪刀剪开，剥离皮肤，用酒精棉火焰消毒，更换手套、镊子、剪刀、沿肋骨下缘剪开，观察肝脏并取样，然后检查心脏、肺脏、脾脏、喉气管、脾胃、肌胃、十二指肠、胰腺、盲肠与盲肠扁桃体、直肠等器官的病变并取样，采样完毕脱掉手套与病禽尸体一起进行无害化处理。采样人员用消毒液洗手消毒，环境采用喷洒消毒，所采病料放带有冰块的冷藏箱保存运送，如不能及时运送或检测，1-3 天血清样品可冷藏保存，否则冰冻保存，病料样品冰冻保存期，作细菌培养样品应冷藏保存和运送，采样同时填写采样单，包括厂名、畜种、日龄、联系人、变化、规模、采样数量、样品名称、编号、免疫情况、临床表现、病理变化等。（采样单用签字笔或钢笔逐项详细填写，一式三份）

采样时间与数量：

免疫效果检测：冻干疫苗免疫 14 天，灭活疫苗免疫 21 天后，每群采血清 30 份，进行抗体水平检测。

疫苗监测：采集禽喉拭子和泄殖腔拭子，牛 O-P 液，猪扁桃体进行病原监测。采样数量依据感染的高低，一般可每群随机抽检 30-60 头（只），有病死时，可采 2-3 头（只）病死畜禽的器官组织。

病变组织器官的采取

采样原则：采集有病变的器官组织，采集病变和健康组织交界处，先采实质器官，如脾、肾，后采集污染的器官组织，如胃肠等。急性死亡的牛羊先采耳尖血，涂片镜检，排除炭疽。

猪的样品采集

活猪先从前腔静脉采血，病死猪沿腹部切开并剥离皮肤，然后酒精棉火焰消毒，更换手套、镊子、剪刀，观察并采集股前淋巴结，下颌淋巴结，然后剪开胸骨，打开胸腹腔，观察心、肺脏、肝脏、脾脏、肾脏、扁桃体、喉头、膀胱、胃、小肠、大肠等器官的病变并采样，如有神经症状，还要采集大脑，用锯锯开脑骨，剪刀剥离脑膜，用镊子取出大脑。

家禽的样品采集

先用消毒剂喷湿鸡毛，从两腿到胸部用剪刀剪开，剥离皮肤，用酒精棉火焰消毒，更换手套、镊子、剪刀、沿肋骨下缘剪开，观察肝脏并取样，然后检查心脏、肺脏、脾脏、喉气管、脾胃、肌胃、十二指肠、胰腺、盲肠与盲肠扁桃体、直肠等器官的病变并取样，采样完毕脱掉手套与病禽尸体一起进行无害化处理

采样人员用消毒液洗手消毒，环境采用喷洒消毒，所采病料放带有冰块的冷藏箱保存运送

如不能及时运送或检测，1-3 天血清样品可冷藏保存，否则冰冻保存，病料样品冰冻保存期，作细菌培养的样品应冷藏保存和运送，采样同时填写采样单，包括厂名、畜种、日龄、联系人、变化、规模、采样数量、样品名称、编号、免疫情况、临床表现、病理变化等。（采样单用签字笔或钢笔逐项详细填写，一式三份）

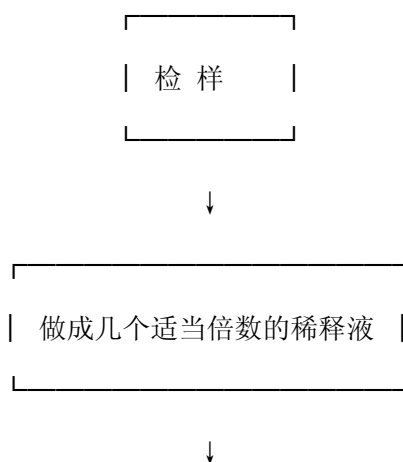
采样时间与数量：

免疫效果检测：冻干疫苗免疫 14 天，灭活疫苗免疫 21 天后，每群采血清 30 份，进行抗体水平检测。

疫苗监测：采集禽喉拭子和泄殖腔拭子，牛 O-P 液，猪扁桃体进行病原监测。采样数量依据感染的高低，一般可每群随机抽检 30-60 头（只），有病死时，可采 2-3 头（只）病死畜禽的器官组织。

（二）分离微生物菌检测程序

1、菌落总数的检验程序如下



| 选择 2~3 个适宜稀释度 |
| 各以 1mL 分别加入灭菌平皿内 |



| 每皿内加入适量营养琼脂 |

36±1℃ ↓ 48±2h

| 菌落计数 |

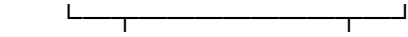


| 报告 |

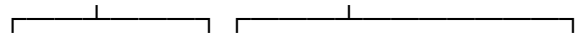
2、大肠菌群操作程序

| 检样 |
| 稀释 |
| 乳糖胆盐发酵管 |

| 36 ±1°C , 24±2h |

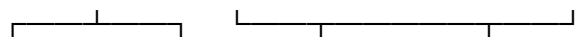


| 不产气 | | 产气 |



| 大肠菌群阴性 | | 伊红美蓝琼脂平板 |

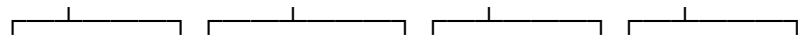
| 36 ±1°C , 18±24h |



| 报告 | | | |

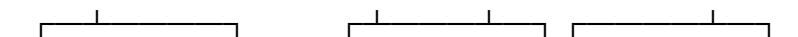
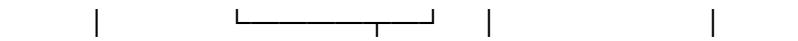
| 革兰氏染色 | | 乳糖发酵管 |

| 36 ±1°C , 24±2h |

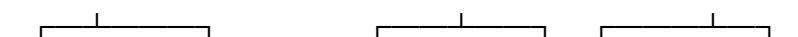
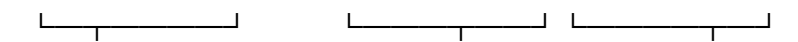


| 革兰氏阳性 | | 革兰氏阴性 | | 产气 | | 不产气 |

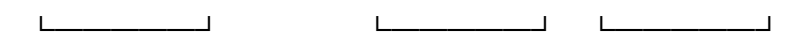
| 无芽胞杆菌 | | | |



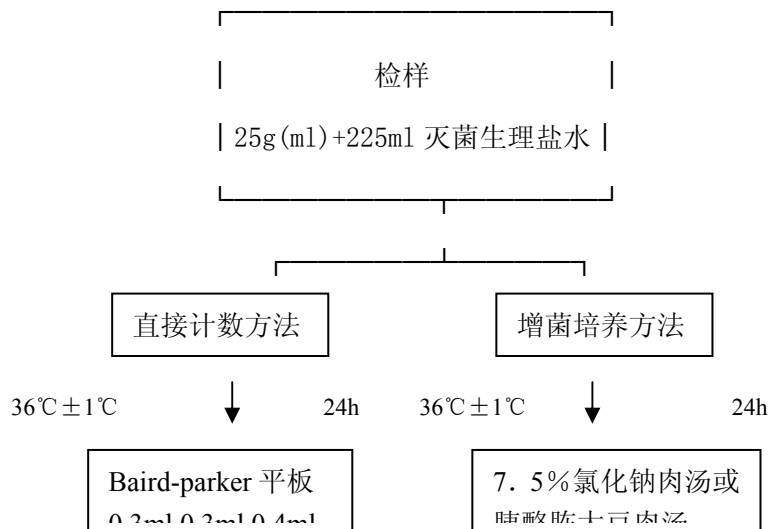
| 大肠菌群阴性 | | 大肠菌群阳性 | | 大肠菌群阴性 |

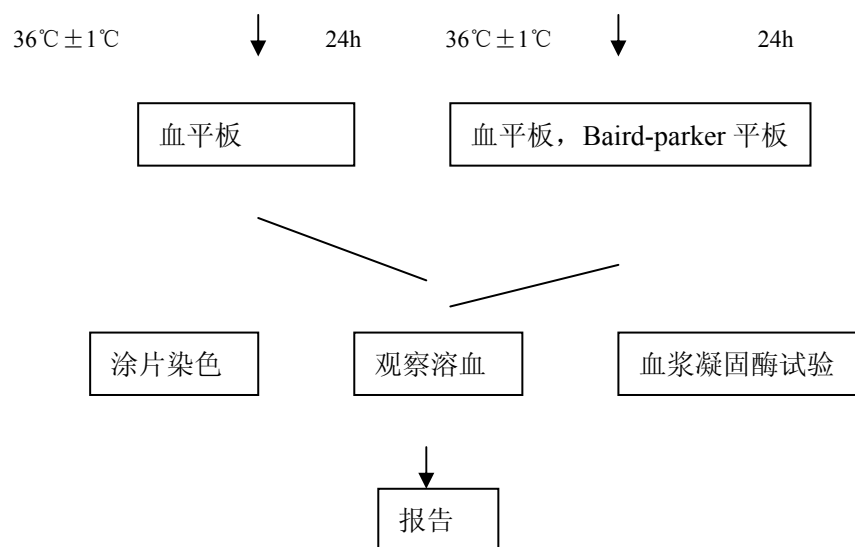


| 报告 | | 报告 | | 报告 |

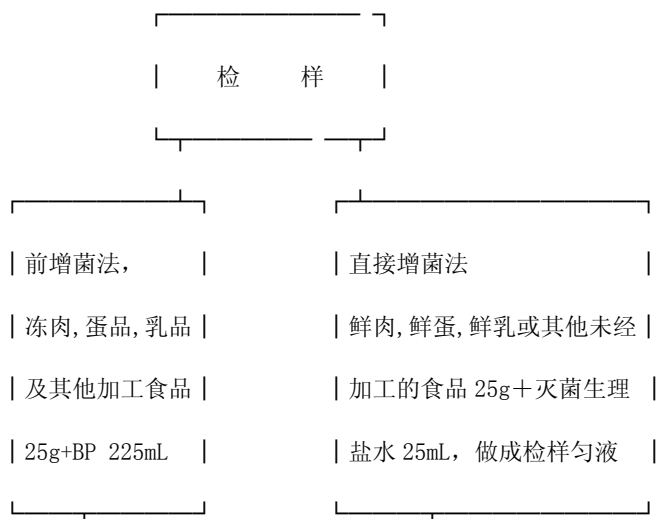


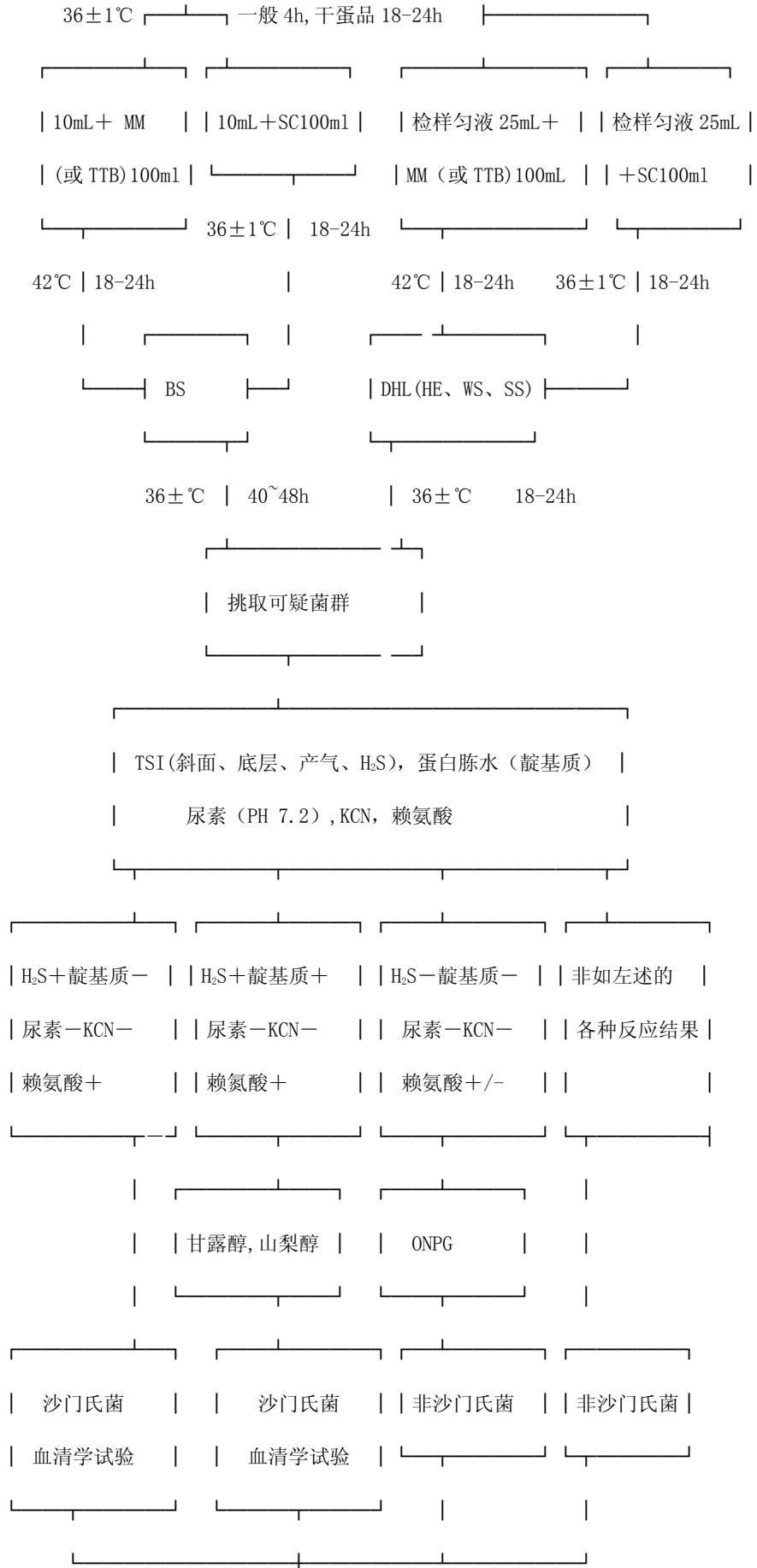
3. 金黄色葡萄球菌检验程序如下：





4.沙门菌检验步骤





|
| 报 告 |
|

(三) 微生物的培养

制平板：每组制培养皿3付。

在无菌培养皿底部注明分离菌名、稀释度、组别、班级。



图 7-3 吸管取菌液

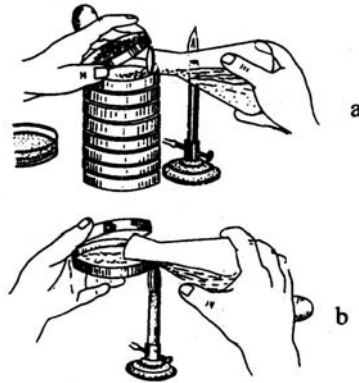


图 7-2 倒平板
a. 皿加法 b. 手持法

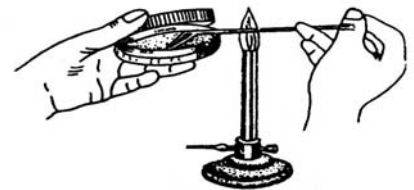


图 7-4 平板涂抹操作

标本的检验程序

直接涂片、染色(革兰氏或抗酸染色)、镜检；再采用需氧或厌氧分离培养脓汁(血平板、EMB或普通琼脂平板)，挑选可疑菌落，再行染色，同时进行纯培养、鉴定和药敏试验。

分离培养方法

(一) 分离培养

1. 左手斜持平板底，右手持接种环，接种环在火焰上灭菌（接种环与火焰之间相交成 15°角）。冷却后，沾取脓汁标本一接种环，先在平板的一端涂开并在平板的 1/3 面积上划密集的平行线，接种环在火焰上灭菌。
2. 将平板旋转约 70°，待接种环再次灭菌冷却后，使接种环通过已划线的“Ⅰ”区 5—7 次，以后即不与“Ⅰ”区接触做连续密集划平行线，约占平板面积的 1/3。接种环再一次灭菌。
3. 再转平板约 70°，如上法在第Ⅲ区划线，划满余下的培养基表面。
4. 划完线后，先盖好平板，再将接种环上的残留细菌用火焰灭菌。在平板底面的一隅用特种铅笔写上班级和学号，然后是平皿底面向上放于铁丝筐中，送 37℃ 培养 18—24h。如有孤立菌落生长，即可获得纯种细菌。分离培养技术中划线操作很重要，划线要求平行密集但不重复。接种环上带的细菌在划线过程中就陆续附在培养基表面上，初划线的区域附着的细菌较多，后划线的区域细菌越来越少。有些地方，尤其是第Ⅲ区就可能分散的单个细菌在培养基表面。经培养后，即可能生长繁殖成单个菌落。

(二) 分离培养结果观察

肉眼观察：先一般性地观察整个培养基上的菌落，再选有代表性的孤立菌落做如下详细观察

：大小—直径（mm）或针尖大、豆粒大等，或记载为：大菌落（直径在 5 毫米以上），中等

大小菌落（直径在 3 毫米左右），小菌落（直径在 1 毫米左右）。

性状—点状、圆形、卵圆形、叶状等。

边缘—整齐、锯齿状、毛发状等。

表面—光滑、皱纹、湿润、干燥等。

隆起度—凸起、扁平、中心凹陷等。

结构—均质状、颗粒状等。

透明度—透明、半透明、不透明等。

观察菌落时，不要将空气中落入生长的杂菌误认为分离培养出的细菌。杂菌生长于划线痕迹之外，或为个别的形状异常的孤立菌落。另外，也要注意保护好平板，勿使再落入杂菌。

（三）革兰氏染色镜检

选择经肉眼仔细观察过的孤立菌落，用特种铅笔在平皿底面划圈作为标记，经老师检查后再涂膜，做革兰氏染色。

【方法】

根据菌落特征和镜检所检基本可以确定细菌类别，如不能可做下一步鉴定：

（四）培养结果为革兰氏阳性时应作如下鉴定

1. 初步判定为葡萄球菌，做甘露醇发酵和血浆凝固酶试验，以判定是否为金黄色葡萄球菌。需与链球菌鉴别时，应做触酶试验。葡萄球菌触酶试验阳性，链球菌为阴性。
2. 初步疑为链球菌时，根据溶血环的特征决定甲、乙、丙三型，同时接种肉汤培养基，观察其生长特征，再涂片染色镜检，视其链状排列状况做出鉴定。若疑为甲型链球菌则应做胆汁溶菌试验，以与肺炎球菌鉴别。
3. 形态、染色、菌落疑为肺炎球菌时，应做荚膜观察，并做菊糖发酵和胆汁溶菌试验。
4. 形态、染色、菌落疑为脑膜炎球菌时，应做葡萄糖、麦芽糖、蔗糖发酵试验，氧化酶试验及血清学鉴定。

（五）葡萄球菌的鉴定方法

1. 血浆凝固酶试验（略）
2. 触酶试验（略）
3. 耐热核酶试验（略）
4. 细菌对药物的敏感性试验（略）

（六）肺炎双球菌的鉴定方法

（一）肺炎双球菌感染小白鼠实验

【材料】

1. 小白鼠、肺炎双球菌培养液。
2. 注射器、3.5%碘酒、75%酒精、3%来苏儿液、镊子、剪刀、解剖盘。
3. 载物玻片、荚膜染色液。

【方法】

1. 小白鼠腹腔接种法：

固定—去毛—消毒—填写动物实验纪录标签（或卡片）—饲养—观察。

（1）用右手拇指、食指提起鼠尾，使鼠爬于鼠罐铁丝盖上，向后拉尾巴，则鼠成固定状态。此时迅速以左手拇指、食指捏住鼠头颈背部皮肤、提起、迅速翻转，使鼠腹部向上躺于掌面。然后以小指或无名指挟住鼠尾及左右腿处，中指垫于鼠背下，于左侧腹股沟部去毛，用碘酒酒精消毒。

（2）将鼠头向下，使肠管倒向横膈膜，免遭刺伤，右手持住注射器，以 15°。倾斜方向

先

将针头刺入皮下，再将注射器提起，以近垂直方向穿透腹壁肌层与腹膜而进入腹腔，试抽注射器，若无物吸入时，说明针刺在腹腔内，立即可将感染材料注入，注射量以 0.2ml 为宜。

(3) 注射完毕，用酒精棉签轻轻按压注射处片刻，以防止注入液外溢，并可达到消毒的目的。

(4) 注射完毕的小鼠，标以记号（以染色液涂于鼠头部或背部）。置入鼠罐内，并填写动物实验卡或标签。注明试验动物名称、记号、注射材料、部位、数量以及注射日期等，然后贴于鼠罐壁上。动物应饲养于隔离室内，每日早、晚喂食一次，喂前进性观察，注意有无发病症状如食欲不振、竖毛、不活泼等现象，记入卡片，标签内。

(5) 待动物濒于死亡之前或观察一定时间后，杀死解剖，作细菌学及病理学检查。

2. 小鼠尸体解剖与细菌学检查法

将一切器材准备妥当，放置于适当位置，然后进行解剖。

(1) 将小鼠在 3% 来苏儿液中浸湿皮毛，仰卧于解剖台上，用固定钉固定其四肢，用碘酒充

分消毒腹部皮肤。

(2) 用镊子提起下腹部皮肤，以钝头剪刀自近耻骨联合处至下颌部作直线剪开皮肤，再由剪开线近四肢的两端，横向剪开四肢，剥离皮下组织，皮肤向腹部两侧翻转，并用固定钉固定之。观察注射部位及所属淋巴结有无充血肿大，粘连等病理变化。

(3) 用碘酒消毒胸腹壁，将剪刀和镊子蘸酒精在火焰上灭菌，解剖胸腔，自横膈膜沿软骨分别向上剪开直至上胸腔口，剪断一侧胸锁韧带，翻起胸骨，暴露胸腔脏器后，观察有无病变。然后剪开心脏，取心脏组织涂片，染色镜检。

(4) 将剪刀与镊子灭菌，继续解剖腹腔，从耻骨至横膈膜直线剪开肌层与腹膜。此时应特别注意勿损伤肠管，以免污染。暴露腹腔脏器后，观察腹腔内有无渗出液及其它性状，并做涂片检查，然后横剪开，观察肠管腹膜有无粘连、肝、脾、肾等脏器有无充血、肿大、粘连以及病灶等变化。然后取脾、肝等组织涂片。

(5) 解剖完毕，尸体浸入 3% 来苏儿液内，然后深埋或焚烧。解剖台以来苏儿液消毒，解剖

器材煮沸灭菌。

(6) 取各种脏器组织印片，用荚膜染色液染色。镜检有无细菌，镜下能否看到带荚膜的肺炎双球菌。

(7) 荚膜染色程序：

(七) 肺炎球菌胆汁溶菌试验

(八) 抗链球菌溶血毒素“O”试验

附：细菌的染色检查法

细菌个体微小，无色半透明，只有染色后的细菌标本，才能在显微镜下识别其各种不同结构，并鉴别细菌。染料一般有酸性、碱性、中性（复合）等种类。细菌的等电点较低，约在 pH 2~5 之间，故在中性、碱性或弱碱性溶液中，菌体蛋白质电离后带负电荷，而碱性染料电离时染料离子带正电荷。所以，在微生物学中常采用美蓝，碱性复红、结晶紫等碱性染料进行染色。

一般染色法分为单染色法和复染色法。单染色法只用一种染料使细菌着色，可清楚观察细菌形态，但不能鉴别细菌。复染色法是用两种以上染料进行染色，有协助鉴别细菌的作用，故又称为鉴别染色法。复染色法种类很多，主要有革兰染色法和抗酸染色法。此外，还有用于细菌的芽胞、鞭毛、荚膜、核质、细胞壁等的特殊染色法。

(一) 细菌涂片的制备

作细菌染色检查，首先要制备细菌涂片。制备细菌涂片一般包括涂片、干燥、固定三步。

1. 涂片：取洁净玻片一张，按以下步骤操作

肉汤培养物涂片：

① 右手拿接种环的黑色胶柄部分，左手托持试管。

② 接种环以 15° 角置于酒精灯的外焰中烧灼灭菌，直至金属丝烧红(图 1-3)，然后将金属柄部也回旋通过火焰烧灼灭菌。

③ 用右手小指和手掌小鱼肌侧拔掉左手所持试管的棉塞，并立即火焰烧灼试管口灭菌。

④ 用已灭菌冷却的接种环伸入试管中取出菌液(图 1-4)。注意勿使沾有菌液的接种环触及试管壁及试管口。

⑤ 再次灭菌试管口，将棉塞在火焰上略加烧灼(时间要短，以免点燃棉塞)，塞好棉塞，放回原处。

⑥ 将接种环上之菌液涂于载玻片上，制成的菌膜直径约 1cm 左右。然后将接种环用火焰烧灼灭菌。为防止细菌溅散污染环境，接种环灭菌前，须先将接种环靠近火焰或放内焰中烤干，然后再在外焰中烧红灭菌，杀死残留的细菌。液体标本(如脓液、痰液等)均可照此法涂片

斜面培养物涂片：

用细菌斜面(或平板)培养物涂片，需预先取一接种环无菌生理盐水置于载玻片上，然后再按上述无菌操作法从斜面培养物上取少量菌苔，放入生理盐水内轻轻研匀，制成直径 1cm 左右的菌膜。

如有多个标本行同一方法染色时，可用蜡笔在玻片上划出数格，做好标记再分别进行涂片，以免混淆。

2、干燥：

涂片最好在室温中自然干燥，如需加速干燥，可将标本向上小心地放置离火焰半尺高处，略烘促使干燥，切不可在火焰上烧干。

3、固定：

常用加热固定法。涂片干燥后，让玻片有菌膜的面向上，在火焰的最热部分迅速通过三次。固定之目的是使细菌蛋白变性，菌体牢固黏附于玻片上，还可杀死细菌，改变菌体对染料的通透性。

以上步骤完成后，便可进行各种染色。

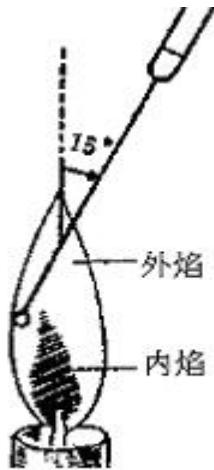


图 1-3 接种环的灭菌法

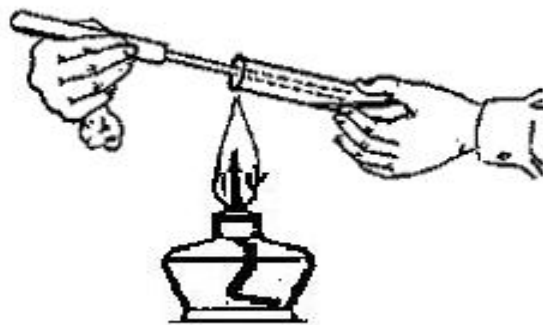


图 1-4 细菌培养物的取材

(二) 革兰 (Gram) 染色法

革兰染色是细菌学中使用最广泛的一种染色方法,籍此染色法,可将所有细菌区分为两大类。

【材料】金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)24h 斜面培养物、革兰染色液、生理盐水、载玻片、接种环等。

【方法】

1、初染:玻片菌膜上滴加结晶紫染液 1~2 滴,染色 1 分钟,用细流水冲洗剩留染液,甩去片上积水。

2、媒染:加卢戈碘液处理 1 分钟后细流水冲洗,甩去积水。

3、脱色:加 95%酒精 2~3 滴,轻轻摇动玻片,使脱色均匀,一般处理约 30 秒左右,细流水冲洗,甩去积水。

4、复染:加稀释石炭酸复红液 1~2 滴,染 30 秒钟,细流水冲洗,待干或用滤纸吸干,油镜观察。

【结果】葡萄球菌染成紫色,为革兰阳性,以 G+表示;大肠杆菌染成红色,称革兰阴性,以 G-表示。

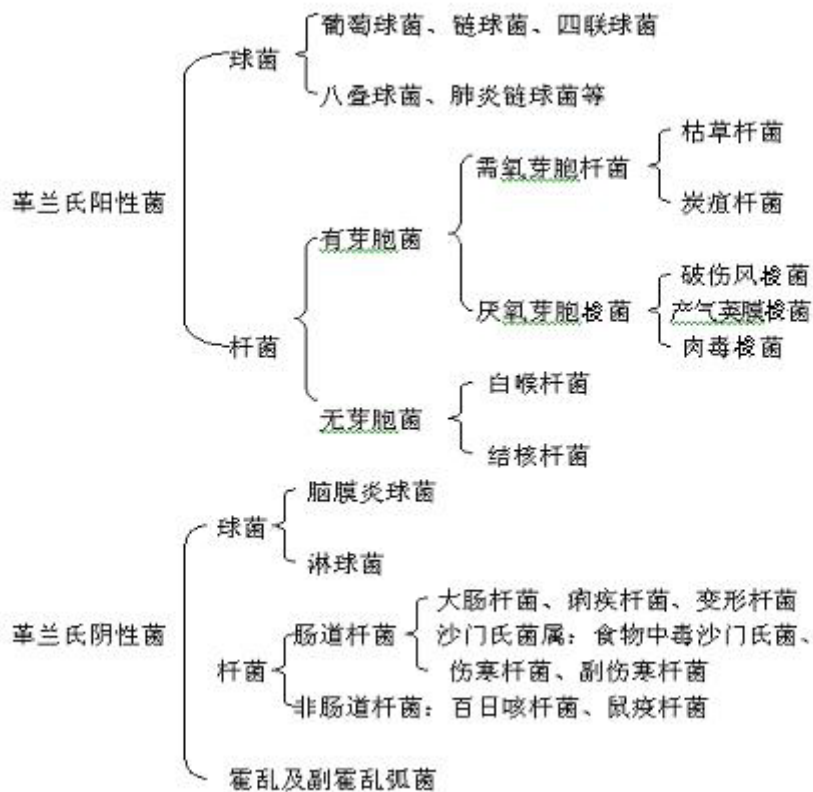
【注意事项】

1、脱色是革兰染色中的关键步骤,脱色过度,可使 G+菌被误染为 G- 菌;脱色不够,则 G- 菌可被误染为 G+菌。脱色时间的长短还与涂片厚薄有关,一般以涂片薄而均匀为好。

2、G+菌与 G- 菌的染色反应,还受多种因素如菌龄、染色时间、pH 等的影响,只有严格正规操作,才能得到正确结果。

【附录】

1、与医学有关的常见细菌的革兰染色性:



2、革兰染色液的配制

(1) 结晶紫染液

- ① 结晶紫酒精饱和液：取 14g 结晶紫溶于 100ml 95% 的酒精内。
- ② 1% 草酸铵水溶液：草酸铵 0.8g 溶于 80ml 蒸馏水中。
- ③ 将已配好之①液 20ml 和②液 80ml 混合即成，置瓶中备用。

(2) 芦戈 (Lugol) 氏碘液

- ① 碘 1g；碘化钾 2g；蒸馏水 300ml
- ② 先将碘化钾 2g 溶于 100ml 蒸馏水中，再加碘 1g，用力摇匀待溶解后，加蒸馏水至 300ml 即成。供革兰染色媒染用。

(3) 95% 酒精

(4) 石炭酸复红稀释液

① 石炭酸复红染液：

取碱性复红酒精饱和液（95% 酒精 100 毫升中加碱性复红 10g）10ml，与 5% 石炭酸水溶液 90ml 混匀即成。

② 稀释石炭酸复红染液：

将上述石炭酸复红染液用蒸馏水稀释 10 倍即成。

上述各种染液配成后，均需用滤纸过滤后使用，染液应贮存于棕色瓶内。

(三) 抗酸染色法

见实践十一——分枝杆菌属，P. 83

三、不染色标本检查法

细菌标本不经染色直接镜检，可观察生活状态下细菌的形态及其运动情况。鞭毛是细菌的运动器官，有鞭毛的细菌，具有运动的能力，称为动力。细菌的动力检查是鉴别细菌的方法之一，一般常用悬滴法、压滴法、半固体琼脂培养法等，以悬滴法及半固体琼脂培养法最为常用（半固体琼脂培养法见实践二，P.47）。悬滴法或压滴法，均以普通光学显微镜直接观察，如用暗视野显微镜或相差显微镜则效果更好。

(一) 悬滴法

【材料】变形杆菌、葡萄球菌的幼龄（8~12 小时）肉汤培养液、凹玻片、盖玻片、凡士林、牙签、镊子。

【方法】

- 1、取凹玻片，于凹窝周围用牙签涂抹凡士林少许。
- 2、取一接种环变形杆菌或葡萄球菌的幼龄培养物，放于盖玻片中央。
- 3、将凹玻片反转，使凹窝对准盖玻片中心，复于其上，粘住盖玻片后再反转，以接种环柄轻压盖玻片，使与凹窝边缘粘紧。
- 4、镜检时光线宜暗，先以低倍镜找到悬滴的边缘后，再换高倍镜观察，注意变形杆菌或葡萄球菌不同的运动情况。
- 5、检查完毕，用镊子夹取玻片，投入消毒液中。

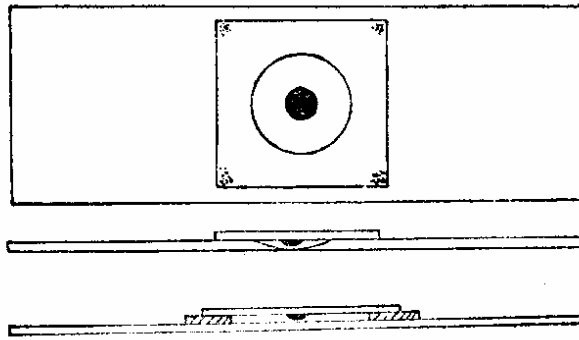


图 1-5 悬滴法

(二) 压滴法

【材料】变形杆菌、葡萄球菌的幼龄（8~12 小时）肉汤培养液、盖玻片、载玻片、镊子。

【方法】

- 1、以接种环取变形杆菌或葡萄球菌菌液 2~3 环，放于载玻片中央。
- 2、用镊子夹盖玻片，复盖于菌液上，放置时，先使盖玻片一边接触菌液，以不发生气泡为佳。
- 3、先以低倍镜找到位置，再换高倍镜观察。

四、细菌基本形态及特殊结构的观察：

【材料】

- 1、球菌、杆菌、弧菌的革兰染色示教片。
- 2、鞭毛、芽胞、荚膜等细菌特殊结构的染色示教片。

【方法】使用油镜观察下述示教片：

1、基本形态示教

球菌：葡萄球菌，为革兰阳性，圆球形、葡萄状排列。

杆菌：大肠杆菌，为革兰阴性，杆状，两端钝圆，散在无规则排列。

弧菌：霍乱弧菌，为革兰阴性，菌体弯曲成弧状，散在无一定排列。

观察时注意各菌的形态、大小、排列及染色性。

2、特殊结构示教

鞭毛：变形杆菌（鞭毛染色），可见杆状菌体及较长、波浪状弯曲的周鞭毛，菌体与鞭毛均呈红色。

芽胞：破伤风梭菌（芽胞染色），不同染色法染色后，可见菌体呈兰色或红色，菌体顶端有一圆形，大于菌体，染成红色的芽胞，使细菌呈鼓锤状。

荚膜：肺炎链球菌（荚膜染色），不同染色法染色后，菌体及背景均呈红色或紫色，菌体周围有一圈淡染或无色的荚膜。

注意鞭毛在菌体上的位置及数目；芽胞的位置、大小及形态；荚膜的位置等。

人工制备营养充足的培养基并提供适宜的温度、气体、pH 等培养条件，即能使细菌在体外环境迅速生长繁殖。细菌培养对临床上病原菌的分离鉴定、制备抗生素、制备疫苗等生物制品都是必不可少的。

一、培养基的制备原则：

- 1、必须有充足的营养。
- 2、合适的酸碱度。
- 3、绝对无菌。

二、培养基的制备

培养基是人工方法将多种营养物质按照各类微生物生长的需要而合成的一种混合营养料。常用的培养基有基础培养基、营养培养基、选择培养基、鉴别培养基、厌氧培养基等。

按照培养基的物理性状可分为液体，固体和半固体三类。

以下介绍常用基础培养基的制备。

(一) 肉汤培养基：

制法：称取营养肉汤粉 1.8g（含牛肉膏 0.3 克 g，蛋白胨 1g、氯化钠 0.5g）加入 100ml 蒸馏水中，用玻棒搅拌加热溶解。按需要分装于三角瓶或试管，瓶口或管口塞棉塞，包装后置高压蒸汽灭菌器内，在 0.11Mpa（1.05 公斤/厘米²）压力下，温度达 121°C，维持 15~20 分钟。冷却后贴好标签，40°C 冰箱贮存备用。

制成后的肉汤呈浅黄色，清晰透明，pH 7.1±0.2

肉汤培养基常用于增菌培养。

(二) 肉汤琼脂固体培养基：

在上述肉汤培养基中加入 2~3%琼脂即成。经高压灭菌后，趁热将试管斜置、冷凝，即成普通琼脂斜面培养基；或趁热取出后，稍冷，以无菌操作倾入灭菌的空培养皿，冷凝后即成普通琼脂平板。制作琼脂平板时，每一空皿（9 厘米直径）需培养基 15~20ml。

普通琼脂平板用于分离培养繁殖细菌；普通琼脂斜面用于纯培养和保存菌种。（琼脂是从石花菜等海藻类中提取的多糖物质，当温度达到 98°C 以上可溶化，45°C 以下则凝固。琼脂对细菌一般无营养作用，用做斜面、平板、高层等不同类型固体培养基的凝固剂。琼脂通常呈酸性，加入液体培养基中可使酸碱度下降 pH 0.2 左右。）

(三) 肉汤琼脂半固体培养基：

在上述肉汤培养基中加入 0.3~0.5%琼脂，加热溶化后，分装于小试管（10×100mm），每管约 3ml，高压灭菌后直立冷凝即成。

半固体培养基用于检查细菌的动力和细菌菌种的保存。

三、常用培养基介绍

(一) 基础培养基

基础培养基含有大多数细菌生长繁殖时所需要的氮源、碳源、无机盐类、水份等最基本的营养成分，可供大多数细菌生长，并可作为营养、鉴别及选择培养基的基础原料。常用的如肉汤培养基。

(二) 营养培养基

在基础培养基中添加一些其他的营养物质，如葡萄糖、血液、血清、酵母浸膏、生长因子等，可供培养营养要求较高的细菌。例如血琼脂平板、血清肉汤培养基等。

(三) 鉴别培养基

利用各种细菌分解糖类和蛋白质的能力及其代谢产物的不同，在培养基中加入特定的作用底物，观察细菌在其中生长后分解底物的作用，从而鉴别和鉴定细菌。例如，单糖发酵管就是在无糖的基础培养基（蛋白胨水）中加入某种糖类及指示剂，因不同细菌对各种糖类发酵作用不同而鉴别之。

(四) 选择培养基

在培养基中加入某种化学物质，使之抑制某一类细菌生长，而有利于另一类细菌生长，从而将后者筛选出来，常用在含有杂菌的标本中分离某种致病菌，例如 SS 琼脂平板。

(五) 厌氧培养基（见实践十-厌氧性细菌，P.80）

四、细菌的接种技术和培养方法：

一般细菌都可用人工方法进行培养，以进一步研究它们的各种生物学特性。培养细菌时，根据研究目的和细菌生长条件的差异，需采用不同的接种技术和培养方法。

（一）细菌的接种技术

接种技术一般分为分离培养接种法和纯种细菌接种法，正确的接种技术是获得典型的生长良好的细菌培养物所必需的。

1、分离培养接种法---平板划线法：

被检材料如粪便、痰、脓汁、尿液、脑脊液等常混杂有多种细菌，平板划线法可使混杂的细菌在琼脂平板表面分散生长，各自形成不同的菌落，再根据菌落的形态特征，挑选单个菌落继续培养，以此分离获得纯种细菌，用于进一步研究、鉴定或保存。

平板划线的方法根据待检标本中细菌的数量来选择，可分为平行划线法和分区划线法两大类。

【材料】葡萄球菌和大肠杆菌混合菌液、普通琼脂平板。

【方法】

（1）平行划线法：常用于含菌量较少的标本。

①烧灼接种环，待冷，取一接种环菌液。左手斜持平皿（45°角），用拇指打开皿盖，使其与皿底间分开成2~3cm宽的缝隙，靠近火焰周围，右手握持沾菌之接种环伸入皿内，在平皿上端1/6范围来回划线，密集涂布。

②烧灼接种环，待冷后（是否冷却可在平板培养基边缘无菌处接触一下，若琼脂溶化表示尚未冷却），通过原划线处作连续平行划线（如图2-1A）。划线时使接种环与平板成300~400°角，轻触平板，用腕力将接种环在平板表面行轻快的滑移动作来回划线，划线间距适当，不能重叠，接种环也不能嵌入培养基内划破琼脂表面，并注意无菌操作，避免空气中的细菌污染。

③接种完毕后，盖皿盖，将接种环火焰灭菌后放回，用记号笔在皿底玻璃上注明标本名称，接种者班级、姓名、日期等，将培养皿倒置（平皿底面朝上，以避免培养过程中凝结水自皿盖滴下），送进温箱。

④经37℃18~24小时孵育后取出，观察琼脂平板表面细菌生长情况，注意菌落的特征。

（2）分区划线法：用于含菌量较多的标本。

同上法通过原划线处作连接平行划线，划线范围占平板的1/3~1/5；种毕，旋转平板，接种环用火焰灭菌，冷却，再通过前一段划线在平板另1/3~1/5面积内作连续平行划线；如此重复3~5次（如图2-1B和2-1C）。

接种完毕后，盖皿盖，接种环火焰灭菌后放回。同上在皿底玻璃上注字后，将培养皿倒置，送进温箱培养，37℃18~24小时后取出，观察菌落特征。

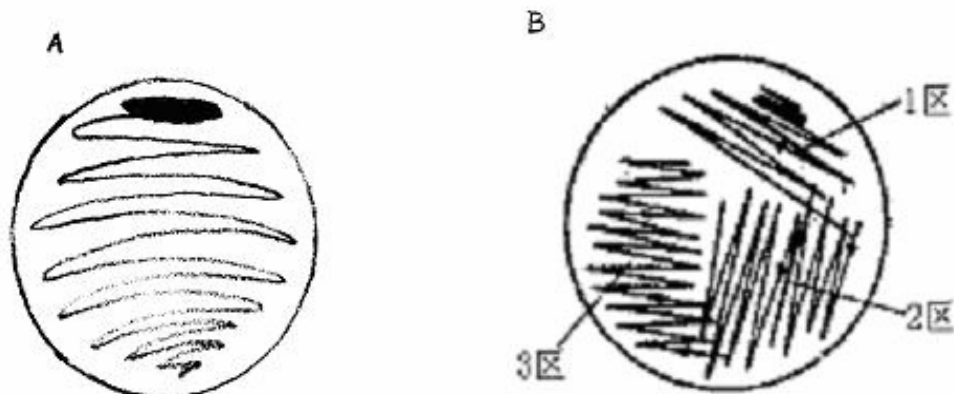


图 2-1A 平行划线法

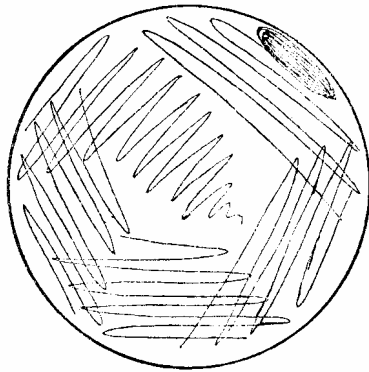
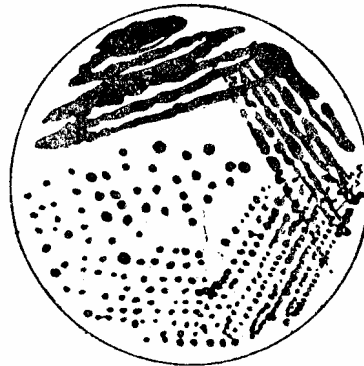


图 2-1B 三段分区划线法



图

图 2-1C 五段分区划线法

图 2-1D 孵育后菌落的散布情况

2、纯种细菌接种法

细菌分离成纯种细菌后，常需接种至各种有关培养基，以扩大繁殖，做进一步鉴定。根据培养基的物理性状，纯种接种法有斜面培养基接种法，液体培养基接种法和半固体培养基接种法三类。

【材料】葡萄球菌或大肠杆菌 18~24 小时斜面培养物各一支、固体琼脂斜面培养基、肉汤培养基、半固体琼脂培养基。

【方法】

(1) 固体斜面培养基接种法：

①左手握持菌种管与待种培养管的下端，使斜面部向上，两管口平齐。在火焰旁，以右手手掌与小指、小指与无名指分别拔取并夹持两管棉塞，并将两管管口迅速通过火焰灭菌。

②右手执接种环（姿势与握铅笔相似）火焰烧灼灭菌，欲伸入试管内的接种杆部分，亦要通过火焰 3 次以杀灭其表面的杂菌。灭菌过的接种环要握持手中，勿再碰及其它物品。

③将灭菌并已冷却的接种环伸入菌种管，从斜面上挑取菌苔少许，退出菌种管，再伸进待种管中，自斜面底部轻轻向顶端划一直线，然后自下而上沿斜面蜿蜒划线，注意划线时勿划破培养基表面，沾菌的接种环，进出试管时，均不应触及试管内壁。（如图 2-2）。

④接种完毕，两管管口迅速通过火焰 2~3 次，塞回棉塞，并以右手拇指、食指分别将两管棉塞转进至原来位置。接种环灭菌后送回。接种管注字后 37℃ 孵育 18~24 小时后观察生长情况。

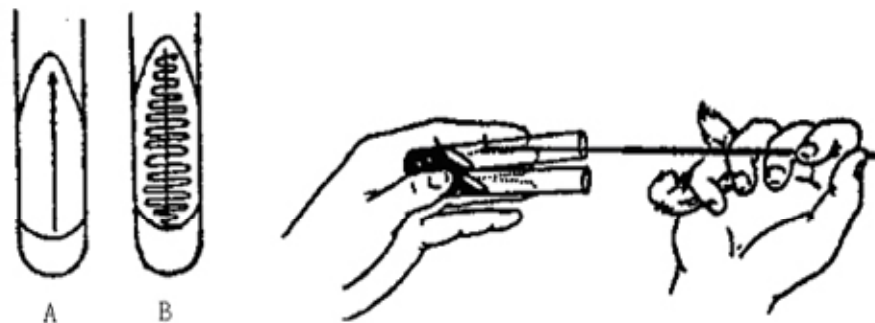
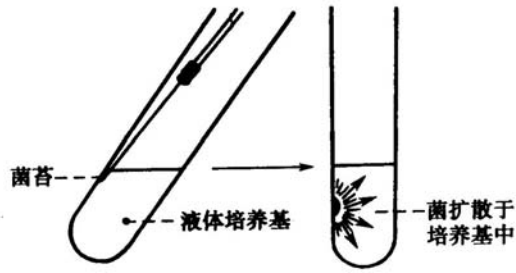


图 2-2 斜面接种法示意图



(2) 液体培养基接种法:

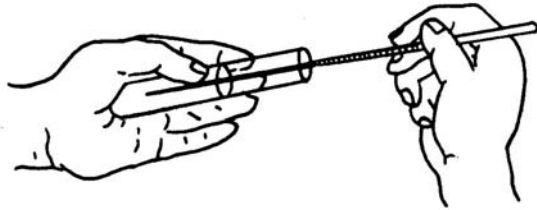
基本上同固体斜面接种法, 不同处, 仅在取菌后, 接种环应在液体培养基管接近液面的管壁处轻轻研磨均匀(如图 2-3), 然后将试管稍倾斜, 使菌种混匀于肉汤中即可。

图 2-3 液体培养基接种法

(3) 半固体培养基接种法:

①同上法握好菌种管及半固体培养基管。

②右手握持接种针, 灭菌冷却后, 以针挑取菌苔, 垂直刺入半固体琼脂培养基的中心, 可刺达近管底处, 但不触及管底, 然后循原路退出。



③接种毕, 管口通过火焰灭菌, 塞上棉塞, 接种针灭菌后放回(如图 2-4)。

上述纯种细菌接种后, 均要在试管上注明菌名、接种者姓名、日期, 送入 37℃温箱, 培养

图 2-4 半固体培养基接种法
18~24 小时后观察生长情况。

(二) 细菌的培养法:

根据待检细菌的生物学特性和培养目的, 可选择采用一般培养法、二氧化碳培养法及厌氧培养法。

1、一般培养法:

又称需氧培养法。将已接种好的平板、斜面、液体培养基置于 37℃恒温孵育箱中, 经 18~24 小时培养后, 一般可于培养基上长成肉眼可见的培养物。如菌量很少或生长缓慢的细菌则需培养 3~7 天甚至 1 个月才可见培养物生长。

2、二氧化碳培养法:

某些细菌如脑膜炎球菌, 淋球菌及肺炎链球菌等培养于含有 5~10%二氧化碳环境下才能迅速生长, 尤其是自标本中初次分离时更为重要。为使培养环境中含 5~10%二氧化碳, 常用方法有下列二种:

(1) 烛缸法: 此为一手续简便而效果良好的方法。

- 取一具有严密瓶盖的玻璃干燥器, 将已接种细菌的试管或培养皿等置于此玻璃器内。
- 取普通蜡烛一短段, 将其点燃, 并将蜡烛粘附于器内。
- 随即将器盖加凡士林油严密盖紧, 切勿漏气, 此时蜡烛火焰之上端与盖底必须保持适当距离(一般离开约 10cm 即可), 以免火焰烧灼盖底引起炸裂。
- 容器内的蜡烛一般于 30~60 秒间即熄灭, 此时容器内的二氧化碳约占 10%左右。
- 将玻璃干燥器置于 37℃温箱内培养。

(2) 硫酸与碳酸钠法

- 将已接种细菌的试管或培养皿置于一有密闭盖的容器内。
- 取原盛青霉素的空瓶或其它玻瓶一个置于此容器内。
- 估计此容器内部容积, 将适量碳酸钠粉末加于此小瓶内, 然后再加入适量 10%硫酸溶液, 使与碳酸钠粉末混合, 例如容器容积为 1000ml, 则加入无水碳酸钠 0.24g 与 10%硫酸溶液 4ml, 即产生所需的二氧化碳。
- 待反应发生后, 将盖严密盖紧。
- 将此容器置于 37℃温箱内培养。

3、厌氧培养法（见实践十-厌氧性细菌，P.80）

五、细菌的生长情况观察

细菌的种类不同，其生长情况也有差别，因而观察细菌的生长情况，对于研究鉴别细菌很重要。下面介绍几种细菌生长情况的观察方法。

（一）细菌在固体琼脂平板上生长情况的观察

【材料】

- 1、普通琼脂平板分别接种金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、枯草杆菌、变形杆菌。
- 2、血琼脂平板分别接种金黄色葡萄球菌、柠檬色葡萄球菌。

【方法】

选择细菌分散生长，形成单个菌落区域中的菌落进行观察。菌落为鉴定细菌的重要指标之一，观察项目主要有以下几点。

（1）大小：菌落直径通常以实测 mm 数表示，也可按习惯描述为针尖大、粟粒大等。

大菌落：直径 4~6mm 或大于 6mm； 中等菌落：直径 2~4mm

小菌落：直径 1~2mm； 细小菌落：直径小于 1mm；

（2）形状：圆形、卵圆形、叶状、不规则形、放射状等。

（3）颜色：无色、白色、黄色、绿色、褐色等。色素有脂溶性和水溶性两种，脂溶性仅菌落有颜色，培养基不着色；水溶性则菌落和培养基均着色。如色素不明显，可用滤纸条轻轻沾菌落表面，如有色素产生，可使滤纸染成相应颜色（沾有细菌的滤纸条观察后投入消毒缸里）。

有的鉴别和选择培养基，在细菌生长过程中形成一定颜色，如大肠杆菌在中国蓝培养基上形成蓝色菌落，而在 S-S 琼脂培养基上形成红色菌落，这是由于大肠杆菌发酵乳糖产酸，借指示剂而显色，与细菌本身产生色素不同。

（4）表面：凸起、扁平、中心凹陷等；光滑、粗糙、皱纹、颗粒状等；湿润（有光泽）、干燥（无光泽）等；

（5）边缘：整齐、不整齐（可有颗粒样，羽毛样、锯齿状、毛发状等）；

（6）透明度：透明、半透明、不透明等；

（7）溶血性：指细菌于血琼脂培养基上对其周围血液的溶解情况，可分为完全溶血（ β 型溶血），不完全溶血（ α 型溶血）和不溶血。

（8）迁徙生长现象

根据以上观察特点，可将菌落分为三个类型：

1、光滑型菌落（Smooth type Colony）：又称 S 型菌落，此种菌落特点为表面光滑、湿润、边缘整齐、至于其它特点如凸起或扁平、色素、透明度、溶血等可因菌种而异。

2、粗糙型菌落（Rough type Colony）：又称 R 型菌落，此种菌落表面粗糙、干燥、边缘不整齐。

3、粘液型菌落（Mucoid type Colony）：又称 M 型菌落，此型菌落表面光滑、湿润、呈粘液状，以接种环触之可拉出丝状物，“成丝试验”阳性可作为鉴别，如肺炎杆菌。

固体平板上，菌量多的部分，菌落常融合成片，形成菌苔，菌苔一般不做为鉴定的指标。

（二）细菌在固体斜面上生长情况的观察

【材料】琼脂斜面培养基、柠檬色葡萄球菌。

【方法】

观察固体斜面上菌苔的生长情况。也有的在斜面培养基内加指示剂或特定底物，做为鉴别培养基，供鉴别细菌用。

（三）细菌在液体培养基中生长情况的观察

【材料】肉汤培养基、枯草杆菌、大肠杆菌或葡萄球菌、链球菌；

【方法】

肉汤在未接种细菌前是澄清的，接种细菌后可有以下三种生长现象：

- 1、混浊生长：液体变混浊。
- 2、沉淀生长：上层培养液澄清，管底有絮状或颗粒状沉淀物。
- 3、形成菌膜：培养液澄清，表面形成一层菌膜。

（四）细菌在半固体培养基中生长情况观察

【材料】半固体培养基、大肠杆菌、葡萄球菌。

【方法】

在半固体培养基中，无鞭毛细菌沿接种线生长，接种线清晰，培养基澄清；有鞭毛细菌弥散生长，接种线模糊不清，周围培养基变混浊；借此可以判断细菌有无动力。

【附录】恒温孵育箱

一般致病性细菌生长所需的适宜温度是 $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，适宜湿度是 40~80%。工作中通常应用恒温孵育箱提供此条件。

孵育箱是一个两层壁的长方形箱，壁间充空气或水，外层壁衬有热不良导体，如石棉、木屑等物质。箱顶装温度计一支，指示箱内温度。箱门常为两层，外为铁门，内为玻璃门，箱内放有金属板数层，便于放置培养物。

孵育箱多借电热法加温，并借助调节器自动调节并保持所需温度。

使用隔水式孵育箱时，需在夹层中灌水，应以 37°C 左右的温水加至箱高 4/5 处，再直接通电源，待调节器调准所需温度后，观察一段时间，直至温度恒定为止。

取培养物时，动作要敏捷，用毕即关好箱门，以免温度发生波动，影响微生物的生长。为防止干燥，可在孵育箱中放一盛水容器，使保持一定的湿度。

细菌的生化反应

一、单糖发酵试验；二、吲哚（靛基质）试验；三、硫化氢试验；四、尿素酶测定；五、细菌色素的产生

细菌的新陈代谢都是在各种不同酶的催化下进行的，由于不同细菌的酶系统不同，其对营养物质的分解能力亦有差异，代谢产物亦不相同。故可利用生化反应的方法，测定细菌的各种代谢产物，借以区别和鉴定细菌。

一、单糖发酵试验

不同细菌具有发酵不同糖类的酶，因而分解糖类的能力各不相同。有的能分解某些糖产酸，有的则既能产酸又能产气，有的则不能分解，据此可以鉴别细菌。常用的糖（醇）有葡萄糖、乳糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖等。

【材料】

- 1、菌种：大肠杆菌、伤寒杆菌 18—24 小时琼脂斜面培养物。
- 2、培养基：乳糖、葡萄糖液体发酵管。

【方法】

1、将大肠杆菌、伤寒杆菌分别以穿刺法接种于乳糖及葡萄糖发酵管中，经 37°C 孵育 18—24 小时后观察结果。

2、如细菌生长，则培养基变混浊；糖是否被分解，根据以下现象判定：

- （1）指示剂仍为紫色不变，表示细菌不分解该糖，用“—”表示；
- （2）指示剂由紫变黄，无气体产生，表示细菌分解该糖，产酸不产气，用“+”表示；
- （3）指示剂由紫变黄，并有气体产生，表示细菌分解该糖，产酸又产气，用“⊕”表示。

注：液体单糖发酵管是在无糖肉汤或蛋白胨水中加入 1% 糖类，指示剂常用溴甲酚紫，pH 感应界为 5.6-6.6，色调由黄→紫。

【结果】	葡萄糖	乳糖
大肠杆菌	⊕	⊕
伤寒杆菌	+	-

二、吲哚（靛基质）试验

某些细菌具有色氨酸酶，能分解蛋白胨中的色氨酸而生成吲哚（靛基质）。吲哚本身无色，不能直接观察，如与吲哚试剂中的对二甲氨基苯甲醛作用，形成红色的玫瑰吲哚，即为吲哚试验阳性。本试验常用于鉴别某些肠道杆菌。

【材料】

- 1、菌种：大肠杆菌、产气杆菌琼脂斜面 18—24 小时培养物。
- 2、培养基：蛋白胨水培养基。
- 3、吲哚试剂。

【方法】

- 1、分别接种大肠杆菌、产气杆菌于 2 支蛋白胨水培养基中。
- 2、37℃ 孵育 24—48 小时后取出，沿管壁加入 2—3 滴吲哚试剂于液面上，振摇试管使试剂与培养液混合，然后静置数分钟，观看是否变色。阳性者可见上层试剂呈玫瑰红色，仍呈黄色者为阴性。

【结果】 大肠杆菌 +， 产气杆菌 -

三、硫化氢试验：

某些细菌能分解培养基中的含硫氨基酸（如胱氨酸、半胱氨酸）生成 H₂S 产生的 H₂S 遇培养基中的铅或铁离子，则形成黑褐色的硫化铅或硫化铁沉淀，黑褐色沉淀物越多，表示生成的 H₂S 量越多，因此可间接地检测细菌是否产生 H₂S。

【材料】

- 1、菌种：大肠杆菌、变形杆菌 18—24 小时斜面培养物。
- 2、培养基：醋酸铅培养基。

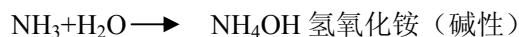
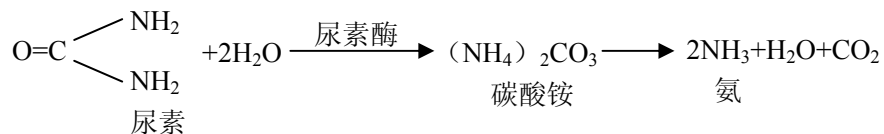
【方法】

- 1、分别穿刺接种大肠杆菌、变形杆菌于 2 支醋酸铅培养基内。
- 2、37℃ 孵育 24 小时后观察，穿刺部位呈黑褐色者为阳性，不变颜色者为阴性。

【结果】 大肠杆菌 -， 变形杆菌 +

四、尿素酶试验

某些细菌如变形杆菌具有尿素酶，因此，在含有尿素的培养基中，能分解尿素产生氨，使培养基变碱，此时培养基中的酚红指示剂显红色，借此可鉴别细菌。



【材料】

- 1、菌种：大肠杆菌、变形杆菌的 18~24 小时斜面培养物。
- 2、培养基：尿素培养基。

【方法】

- 1、分别将大肠杆菌、变形杆菌接种于两支尿素培养基上。
- 2、37℃ 孵育 24 小时观察结果，尿素培养基变红色者为阳性，颜色不变为阴性。

【结果】大肠杆菌 -, 变形杆菌 +

五、细菌色素的产生:

【材料】普通琼脂平板, 绿脓杆菌, 金黄色葡萄球菌

【方法】将绿脓杆菌, 金黄色葡萄球菌分别接种于普通琼脂平板上, 经 37℃ 24 小时孵育后, 观察结果。

注意菌落颜色及周围培养基的颜色。

3 . 病原菌的确定

将从患病材料中分离的所有可能病原菌经纯化和扩大培养后分别进行人工感染实验。目前最常用的人工感染接种方法有注射法和口服等, 究竟选用哪一种方法最合适, 需要根据不同的疾病类型和可能的侵入途径而定。如体内的疾病, 可采用口服、注射法。由于绝大部分病原菌都是条件致病菌, 因此在人工感染实验时还要注意感染菌的用量, 接种量过大, 即使该菌并不是引起实验材料致病的病原菌, 也可能会因大量菌体裂解释放的大量内毒素而使感染生物死亡, 为了量化感染菌的危害程度, 可以测定感染细菌对接种动物的半数致死量 (LD 50), 根据 LD 50 的大小来判断其致病力的强弱。只有 LD 50 相对较低、感染引起的死亡与实验材料有相同症状、并且经回接实验还能分离到相同的细菌时, 才能确定所分离的细菌为引起实验材料致病的病原。

在感染实验时, 感染对象要求是 没有患病史的同种生物或易感实验动物, 在感染前要经过 1 ~ 2 周的饲养, 感染数量要达到一定数量才行。必要时, 还要将温度控制在适合疾病爆发的水平。感染过程中要 定时投饵和换水, 同时安排合适的对照组。

4 . 病原菌的鉴定

分别观察病原菌的形态以及检测其各种生理生化指标, 通过查阅伯杰氏手册确定病原菌的种类; 也可直接用细菌鉴定仪测定病原菌的种类。

菌种保藏技术

所谓菌种 (microorganism cultures) 是指微生物的纯培养物。当分离到一株有用的微生物时, 为保持其形态、生理及遗传等特征的稳定, 避免菌种因发生变异而丧失原种的特性, 就有必要将它加以保藏, 使之不死、不衰, 以达到有利使用和交换的目的。常用的菌种保藏方法有: 定期移植保藏法、冷冻真空干燥保藏法、矿油封藏法、沙土保藏法及液氮保藏法。在此仅介绍定期移植保藏法和液氮保藏法。

一. 定期移植保藏法

定期移植保藏法, 亦称传代培养保藏法, 是将在适宜培养基上生长良好的培养物放置在低温处 (冰箱) 保存, 使微生物停止生长或缓慢生长。当培养基中营养成分被利用完以前或培养物尚未陈旧前, 将它重新移植在新鲜的培养基上, 再于适宜条件下培养, 生长良好后, 再置低温处保存。如此一代一代地继续下去。该法包括斜面培养、穿刺培养和液体培养等。定期移植的间隔时间, 因微生物种类不同而异, 如一周、二周、一个月、四个月、半年不等。一般不产生芽胞的细菌间隔时间较短, 需 1~2 周, 最长一个月移植一次。该法简便易于操作, 不需特殊设备, 但必须要有冰箱。存放定期移植保藏微生物的冰箱的温度, 通常保持在 4~6℃, 相对湿度维持在 60~70% 为宜。在此条件下, 试管上的棉塞不会因潮湿而生霉, 避免保藏的微生物被污染。下面以斜面传代培养保藏为例说明。

【步骤】

贴标签: 将保存的欲移植的老培养物取出, 按株号大小顺序排列; 将注有菌株名称和接种日期的标签贴于试管斜面的正上方, 亦按株号大小顺序排放在试管架上。

接种: 用无菌操作将待保藏的菌种用斜面接种法移接至注明菌名的试管斜面上。

培养: 细菌置 37℃ 恒温箱中培养 18~24h, 放线菌和丝状真菌置 28℃ 恒温箱中培养 4~7 天。

收藏：经培养后，检查新培养的生长物是否是原来的微生物并注意有无污染现象。如一切正常，为防止棉塞受潮长杂菌将管口用牛皮纸包扎，之后置 4℃ 冰箱保存。保存温度不宜太低，否则斜面培养基因结冰脱水而加速菌种的死亡。

采取这种方法保藏微生物菌种，一般每株应保存相继的三代培养物比较适宜，以便于彼此对照，而且当其中一代发生问题时，也可有复份菌株来弥补损失。该法的缺点是花费人力和时间。保存物经长年累月频繁的移植传代，微生物的形态特征和生理性状等有发生变异及被污染的危险。

二. 液氮保藏法

将菌种保藏在超低温（-150~-196℃）的液氮中，在该温度下，微生物的代谢处于停顿状态，因此可降低变异率和长期保持原种的性状。对于用其他保藏法难以保藏的微生物如枝原体、衣原体等都用法。液氮保藏法是当前所有保藏法中最理想的方法。为了减少超低温冻结菌种时所造成的损伤，必须将菌液悬浮于低温保护剂中。分装安瓿管后进行冻结。冻结方式有两种，一是慢速冻结，一是快速冻结。慢速冻结指在冻结器控制下，以每分钟下降 1~5℃（每分钟下降度数因菌种不同而异）的速度使样品由室温下降至-40℃后，立即将样品放入液氮贮藏器中作超低温冻结保藏。快速冻结指将分装有菌液的安瓿管直接放入液氮贮藏器中作超低温冻结保藏。无论选用何种冻结方式，如处理不当都会引起细胞的损伤或死亡。由于细胞类型不同，其渗透性也有差异，要使细胞冻结至-150~-196℃，每种生物所能适应的冷却速度也不同，因此须根据具体的菌种，通过试验来决定冷却的速度。

【步骤】

制备安瓿管：用于超低温保藏菌种的安瓿管必须用能经受 121℃ 高温和-196℃ 冻结处理而不破裂的硬质玻璃制成的。如放在液氮气相中保藏，可使用聚丙烯塑料做成的带螺帽的安瓿管（也要能经受高温灭菌和超低温冻结的处理）。安瓿管大小以容量 2ml 为宜。安瓿管用自来水洗净，再用蒸馏水洗两遍，烘干，将注有菌名及接种日期的标签放入安瓿管上部，塞上棉花于 121℃ 条件下灭菌 30min，备用。

制备保护剂：配制 20% 甘油或 10% DMSO（dimethylsulphoxide, 二甲基亚砷）水溶液，于 121℃ 条件下灭菌 30min。

制备菌悬液：把单细胞微生物接到合适的培养基上，并在合适的温度下培养到稳定期，再吸适量无菌生理盐水于斜面菌种管内，用接种环将菌苔从斜面上轻轻地刮下，制成均匀的悬液。

加保护剂：吸取上述菌液 2ml 于无菌试管中，再加入 2ml 20% 甘油或 10% DMSO，充分混匀。保护剂的最终浓度分别为 10% 或 5%。

分装菌液：将加有保护剂的菌液分装到安瓿管中，每管装 0.5ml。如放于液氮液相中保藏，安瓿管口必须用火焰密封。熔封后将安瓿管浸入次甲蓝溶液中于 4~8℃ 静置 30min，观察溶液有无进入管内，只有经密封检验合格者，才可进行冻结。

冻结：适于慢速冻结的菌种在控速冻结器的控制下使样品每分钟下降 1 或 2℃，当冻结到-40℃ 后，立即将安瓿管放入液氮贮藏器中进行超低温冻结。适于快速冻结的菌种，可将安瓿管直接放液氮贮藏器中进行超低温冻结。

保藏：液氮超低温保藏菌种，可放在气相或液相中保藏。气相保藏，即将安瓿管放在液氮贮藏器中液氮液面上方的气相（-150℃）中保藏。液相保藏，即将安瓿管放入提桶内，再放入液氮（-196℃）中保藏。

解冻恢复培养：将安瓿管从液氮贮藏器中取出，立即放入 38℃ 水浴中解冻，由于安瓿管内样品少，约 3min 即可融化。

【注意事项】

放在液相中保藏的安瓿管，管口务必熔封严密。否则当该管从液氮贮藏器中取出时，会因进入其中的液氮受外界较高温度的影响而急剧气化、膨胀，致使安瓿管爆炸。

从液氮贮藏器中取出安瓿管时面部必须戴好防护罩、皮手套，以防冻伤。

附录：细菌菌落的计数方法

①选择生长均匀，无片状菌苔生长的平皿观察。一般先用肉眼观察，用记号笔在平板底上进行点数（以免遗漏），然后再持放大镜检查有无遗漏的微小菌落。

②如菌落多而密集，可用分区法或菌落计数器计数。分区法是用记号笔在平皿底部通过圆心做垂直线，分为四区，再分别选择菌落密集和稀疏的两个区，再做平分线，使每一小区为平皿面积的 $1/8$ 或 $1/16$ ，然后再分别挑选菌落稀疏和密集的两小区进行计数，所得数乘以 8 或 16，即为该平皿的菌落总数。（图 4-1）

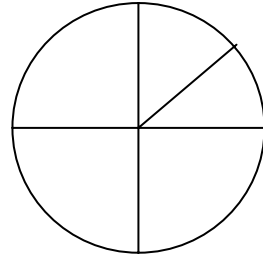


图 4-1 分区法计数

③简易的菌落计数器是一块玻璃板上刻划有 144 个面积为 1 平方厘米的正方形小格。将长有菌落的培养皿放上，计算 10 个小方格内的菌落数，如为 30 个，则平均 1 小方格为 3 个菌落。若培养皿直径是 9 厘米，则半径为 4.5 厘米，整个培养皿上的菌数是 $3 \text{ 个} \times 3.1416 \times (4.5)^2 = 199$ 个菌落。

六、作业与思考

- 1、接种环使用前、后为什么必须烧灼灭菌？
- 2、仅根据细菌的形态，能否鉴别细菌？
- 3、革兰染色包括哪些步骤？革兰染色成功与否关键在哪一步？革兰染色有何实际意义？
- 4、对琼脂平板上出现的菌落，你如何识别是你接种上去的，还是污染的杂菌？
- 5、简述本次实践中所见的细菌生化反应的原理。

附录：

参考文献：

（王京仁）

实践十二 金黄色葡萄球菌荧光定 PCR 检测

一、实践目的

通过实践，掌握金黄色葡萄球菌荧光定量 PCR 检测试剂盒使用方法

二、实践内容

金黄色葡萄球菌荧光定量 PCR 检测方法

三、实践材料

金黄色葡萄球菌荧光定量 PCR 检测试剂盒（深圳易瑞生物技术公司）

四、实践用品与用具

适用荧光 PCR 仪品牌与型号

Cepheid 公司的 SmartCycler

ABI 公司的 Prism7000、7700、7500、9600 系列

Stratagene 公司的 MX3000、MX4000

Corbett Research 公司的 Rotor-Gene 3000

Bio-Rad 公司的 iCycler 系列、MJ opticon2

Roche 公司的 LightCycler 等

五、实践方法

NA 提取：取增菌液 1ml 加到 1.5ml 无菌离心管中，10,000rpm 离心 5min，弃去上清；加入 50 μ l DNA 提取液，充分混匀后沸水浴 5 min，13,000rpm 离心 5min，取上清液进行检测或保存于-20 $^{\circ}$ C 以待检测。

扩增试剂准备（在试剂贮存和准备区完成）

- 从试剂盒中取出 PCR 反应液，冰盒上融化后混匀。试剂在使用前 2000rpm 离心 20s。
- 设需要的 PCR 反应管数为 N(N = 待检样本数 X 份 + 1 管阴性对照 + 1 管阳性对照)。
- MIX 的配制：首先吸取反应混合液至 1.5ml 灭菌离心管，体积 22.6 \times N (μ l)，再加入 Taq DNA 聚合酶 0.4 \times N (μ l)到 1.5ml 灭菌离心管，混匀后短暂离心（2000rpm/20s），然后向 N 个 0.2ml PCR 反应管中分装已加入 Taq 酶的 MIX 各 23 μ l/每管，盖紧管盖。
- **注意：**阴性对照管建议在此区中加入 2 μ l 阴性对照样品。

加样（在样品制备区完成）

- 阳性对照取出解冻，使用前 2000rpm 离心 20s。
- 将保存在-20 $^{\circ}$ C 的核酸提取物置室温解冻，以 13,000rpm 离心 5min；向 N 个 PCR 管中分别加入待检样本 DNA（包括阳性对照）2 μ l，盖紧管盖，2000rpm 离心 20s，将 PCR 反应管转移至核酸扩增区。注意做好样品号标记。

PCR 扩增（在核酸扩增区完成）

- 上机前应检查各反应管是否盖紧。
- 反应体系设为 25 μ l；荧光信号采集设定在退火温度。对于多通道荧光 PCR 仪，选择荧光素 FAM 为信号采集通道。
- PCR 循环参数为：第一阶段，94 $^{\circ}$ C 3 min 预变性；
第二阶段，[94 $^{\circ}$ C 15s；55 $^{\circ}$ C 40s；72 $^{\circ}$ C 15s] \times 40 次循环

质量控制标准及结果判断

- 阴性对照 C_T 值应显示为 0 或 ≥ 40.0 ，阳性对照的 C_T 值应 ≤ 30.0 ，否则视实验失败，需重做。
- 检测样品 $C_T \leq 35.0$ ，结果有效，可直接报告样品阳性；
- 检测样品 $35.0 < C_T < 40.0$ ，需进行一次重复实验，若 C_T 仍介于 35.0 和 40.0 之间，且曲线有明显的指数增长特性，同时阴性对照 C_t 值为零，可报告样品阳性，否则报告样品阴性。
- 检测样品 C_T 值为零，报告样本阴性。

部分仪器阈值设定方法

- 对于 MJ Opticon2 系列荧光定量 PCR 检测仪进行结果分析时，扣除本底后再输入循环

1-15 之间的荧光值，进行 C_T 值的设置或拖动基线到合适的位置以确定 C_T 值。

- ▶ 对于 ABI7500, 9600 系列荧光 PCR 检测仪进行结果分析时基线的确定：取 3-10 或 3-15 个循环的荧光值，阈值设定原则为阈值线刚好超过正常阴性对照品扩增曲线的最高点，而不显示 C_T 值为宜。

六、作业与思考

简述如何应用金黄色葡萄球菌荧光定量 PCR 检测试剂盒检测病料中的球菌？

附录：

试剂盒组成

产品目录号	
规格	48 次检测
DNA 提取液	3ml / 1 管
金黄色葡萄球菌 PCR 反应液	1100 μ l / 1 管
Taq 酶 (5U/ μ l)	20 μ l / 1 管
金黄色葡萄球菌阳性对照	40 μ l / 1 管
金黄色葡萄球菌阴性对照	500 μ l / 1 管
操作手册	1 份

产品介绍

- ◇ 本试剂盒采用 TaqMan 探针法实时荧光 PCR 技术，用于金黄色葡萄球菌的 PCR 体外特异性检测。
- ◇ 本试剂盒灵敏度为 100 拷贝/ml。定量检测线性范围为：10-10¹⁰ 拷贝/ml。

贮存与运输条件

- ◇ 本试剂盒必须在 -20℃ 下避光保存，有效期为 6 个月。
- ◇ 需在低温下运输。

注意事项

- ◇ 本试剂盒仅用于体外检测使用，操作人员必须经过培训并具有一定的经验，试剂盒使用前请仔细阅读说明书全文。
- ◇ 请严格按照基因扩增检验实验室的管理规范进行实验操作：如 PCR 实验严格分区操作；各区应有专用的手套、移液器等，不得交叉使用，避免污染；工作人员应遵循从一区到二区的单方向工作原则，各工作区相对隔离；进行 PCR 实验的工作桌面和及相关物品应定期用 1% 次氯酸钠、75% 酒精、1mol/L 盐酸或紫外灯进行灭菌和消毒。
- ◇ 试剂盒中各试剂充分融化后请短暂离心。反应液分装时应尽量避免产生气泡。上机前应注意检查各反应管是否盖紧，以免污染仪器。

参考文献:

(王京仁)

实践十三 药敏试验

一、实践目的

1. 学习了解细菌对药物的敏感试验的常用方法。
2. 学习对药物的敏感试验的操纸片法作方法。

二、实践内容

1. 超声多普勒诊断仪的操作与应用
2. B型超声诊断仪的操作与应用

三、实践材料

药敏纸片。选择中国生物制品鉴定所药敏纸片。氨苄西林 (AMP), 阿莫西林/克拉维酸 (AMC), 头孢噻吩 (CFT), 头孢噻肟 (CTX), 庆大霉素 (GEN), 萘啶酸 (NAL), 环丙沙星 (CIP), 四环素 (TBT), 利福平 (RFA), 复方新诺明 (SMZ) 等药敏纸片若干。

被试细菌。经分离和鉴定后的纯培养菌株(例如大肠杆菌、链球菌等),黄色葡萄球菌、痢疾杆菌 18~24 小时培养物;含有青霉素、庆大霉素、红霉素、复合磺胺、链霉素等抗生素的干燥滤纸片。

四、实践用品与用具

试管架、试管、棉拭子、酒精灯、平皿、接种环、镊子、普通琼脂培养基或特殊培养基等。

五、实践方法

药敏试验根据美国临床标准委员会(NCCLS)推荐的 K-B 琼脂法进行,药敏结果判定标准按照 NCCLS 手册 2005 版。

(1) 将待检菌接种于普通营养琼脂平板,37℃培养 16~18 小时,然后挑取普通营养琼脂平板上的纯培养菌落,悬于 3ml 生理盐水中,混匀后与菌液比浊管比浊。以有黑字的白纸为背景,调整浊度与比浊管(0.5 麦氏单位)相同。

(2) 用无菌棉拭子蘸取菌液,在管壁上挤压去掉多余菌液。用棉拭子涂布整个 M-H 培养基表面,反复几次,每次将平板旋转 60 度,最后沿周边绕两圈,保证涂均匀。

(3) 待平板上的水分被琼脂完全吸收后再贴纸片。用无菌镊子取药敏纸片贴在平板表面,纸片一贴就不可再拿起。每个平板贴 5 张纸片,每张纸片间距不少于 24mm,纸片中心距平皿边缘不少于 15mm。在菌接种后 15 分钟内贴完纸片。

(4) 将平板反转,孵育 18~24 小时后取出,用游标卡尺测量抑菌圈直径,从平板背面测量最接近的整数毫米数并记录(附表 6)。

抑菌环的边缘以肉眼见不到细菌明显生长为限。有的菌株可出现蔓延生长,进入抑菌环,磺胺药在抑菌环内出现轻微生长,这些都不作为抑菌环的边缘。结果判断依据鉴定所药敏纸片判定标准。

(5) 每次药敏试验必须用 ATCC 25922 大肠杆菌做质控。只有当质控菌株的抑菌圈直径在允许范围内测试菌株的结果才可以报告。ATCC 25922 的结果必须与测试菌株同时记录和报告在附表 6 中。

0.5 麦氏比浊管配制方法:

0.048M BaCl₂ (1.17% W/V BaCl₂ · 2H₂O) 0.5ml

0.36N H₂SO₄ (1%, V/V) 99.5ml

将二液混合,置螺口试管中,放室温暗处保存。用前混匀。有效期为 6 个月。

结果

根据药物纸片周围抑菌圈直径的大小来判断该菌对各种药物的敏感程度。判断标准见下表

抗菌药物	细菌名	抑菌环直径 (mm)			
		纸片含量	耐药	中介度	敏感
青霉素 G					
	葡萄球菌	10U	≤28	-	≥29
	淋病奈瑟菌	10U	≤10	-	≥20
	肠球菌	10U	≤14	-	≥15
	其它革兰阳性球菌	10U	≤19	-	≥28
头孢西丁		30μg	≤14	15-17	≥18
头孢哌酮		75μg	≤15	16-20	≥21
红霉素		15μg	≤13	14-22	≥23
庆大霉素		10μg	≤12	13-14	≥15
	肠球菌 (高水平耐药)		≤6	7-9	≥10
链霉素		10μg	≤11	12-14	≥15
	肠球菌		≤6	7-9	≥10
诺氟沙星		10μg	≤12	13-16	≥17
甲氧苄胺嘧啶		5μg	≤10	11-15	≥16
复合磺胺	1.25/23.75μg		≤10	11-15	≥16
四环素		30μg	≤14	15-18	≥19

2. 注意事项:

(1) 制备 MH 琼脂平板应用直径 90mm 平皿, 在水平的实验台上倾注。琼脂厚为 4 ± 0.5 mm (约 25-30ml 培养基), 琼脂凝固后塑料包装放 4℃ 保存, 在 5 日内用完, 使用前应在 37℃ 培养箱烤干平皿表面水滴。倾注平皿前应用 pH 计测 pH 值是否正确 (pH 应为 7.3)。pH 过低会导致氨基糖苷类, 大环内酯类失效, 而青霉素活力增强。

(2) 药敏纸片长期储存应于 -20℃, 日常使用的小量纸片可放在 4℃, 但应至于含干燥剂的密封容器内。使用时从低温取出后, 放置平衡到室温后才可打开, 用完后应立即将纸片放回冰箱内的密封容器内。过期纸片不能使用, 应弃去。

(3) 不稳定药物如亚胺培南, 头孢克洛, 克拉维酸复合药等, 应冷冻保存, 最好在 -40℃ 以下。

(4) 保证质控菌株不变异的简便方法, 将新得到的冻干菌株接种含血的 M-H 平板复活。然后每株细菌接种 10 支高层琼脂管, 放置冰箱保存。每月取出一支, 传出细菌供常规用。待用剩至最后一支, 可传种在 M-H 平板上, 再接种一批高层琼脂管备用。如此可保证原始菌种永不接触抗菌素。

3. 质量控制

质量控制方法 是用与常规实验相同的操作方法, 测定质控菌株的抑菌环。应使用新鲜传代的菌种。接种菌液的涂布方法等均同常规操作, 测定的抗菌素种类也应与常规测定的种类相同。

六、作业与思考

简述药敏试验的操作方法？

附录：

1. 试管法 本法较纸片法复杂,但结果较准确、可靠。此法不仅能用于各种抗菌药物对细菌的敏感性测定,也可用于定量检查。

(1) 试验方法 取试管10支,排放在试管架上,于第一管中加入肉汤1.9毫升,其余各管均各加1毫升。吸取配好的抗菌药物0.1毫升,加入第一管,混合后吸取1毫升放入第二管,混合后再由第二管移1毫升到第三管,如此倍比稀释到第九管,从中吸取1毫升弃掉,第十管不加药物作为对照。然后各管加入幼龄试验菌0.05毫升(培养18小时的菌液,Ig 1000稀释)。置37℃温箱内培养18~24小时观察结果。必要时也可对每管取0.2毫升分别接种于培养基上,经12小时培养后计数菌落。

(2) 结果判定 培养18个小时后,凡无菌生长的药物最高稀释管,即为该菌对药物的敏感度。若药物本身浑浊而肉眼不易观察的,可将各稀释度的细菌涂片镜检,或计数培养皿上的菌落。

2. 琼脂扩散法 利用药物可以在琼脂培养基中扩散的原理,进行抗菌试验,其目的是测定药物的质量,初步判断药物抗菌作用的强弱,用于定性,方法较简便。

(1) 试验材料 被测定的抗菌药物(例如青霉素,选择不同厂家生产的几个品种,以作比较),试验用的菌株(例如链球菌),营养肉汤,营养琼脂平皿,棉拭子,微量吸管等。

(2) 试验步骤 ①将试验细菌接种到营养肉汤中,置37℃温箱培养12小时,取出备用。②用无菌棉拭子蘸取上述菌液均匀涂于营养琼脂平皿上。③用各种方法将等量的被测药液(如同样的稀释度和数量),置于含菌的平板上,培养后,根据抑菌圈的大小,初步判定该药物抑菌作用的强弱。④药物放置的方法有多种:第一,直接将药液滴在平板上;第二,用滤纸片蘸药液置于含菌的平板上;第三,在平板上打孔(用琼脂沉淀试验的打孔器),然后将药液滴入孔内;第四,先在无菌平板上划出一道沟,在沟内加入被检的药液,沟上方划线接种试验菌株。以上药物放置方法可根据具体条件选择使用。

3. 药敏试验的药品名称与临床抗生素名称对应表

1. 青霉素类		2. 头孢菌素类	
药敏试验名称(通用名)	药品名称	药敏试验名称(通用名)	药品名称
苯唑西林	苯唑西林注射剂	头孢羟氨苄(缺)	欧意颗粒
青霉素或氨苄西林	青霉素注射剂	头孢他啶	复达欣注射剂
	安必仙胶囊		舒而欣注射剂
	恩普洛胶囊		英贝齐注射剂
	氨苄西林注射剂	头孢曲松	头孢曲松钠注射剂
哌拉西林或美洛西林	哌拉西林注射剂		罗氏芬注射剂
	力扬注射剂	头孢米诺(缺)	头孢米诺钠注射剂钠
	奇立定注射剂	头孢孟多(缺)	艾可诺注射剂
阿莫西林/克拉维酸	强力阿莫仙片	3. 磺胺类	
	君尔清分散片	药敏试验名称(通用名)	药品名称
阿洛西林	阿洛西林注射剂	复方磺胺甲恶唑	复方新诺名
阿莫西林(缺)	阿莫西林注射剂	4. 喹诺酮类	
	阿莫仙干糖浆	药敏试验名称(通用名)	药品名称
阿莫西林/舒巴坦(缺)	威奇达注射剂	帕珠沙星	派斯欣注射剂
	倍舒林注射剂	呋喃妥因	呋喃妥因片
2. 头孢菌素类		莫西沙星	拜复乐注射液

药敏试验名称(通用名)	药品名称	加替沙星	先奎沙片	
头孢唑啉	头孢唑啉钠注射剂		百科沙胶囊	
头孢呋辛钠	西力欣注射剂		誉快注射剂	
	丽扶欣注射剂		艾尔嘉注射剂	
	达力新注射剂		罗欣严达注射剂	
	信立欣注射剂		乐来注射剂	
头孢克洛或头孢丙烯	帅先缓释片	诺氟沙星或洛美沙星	诺氟沙星胶囊	
	施复捷片		百夜星分散片	
头孢尼西	定凯洛注射剂			奥美星注射剂
头孢氨苄(缺)	申嘉胶囊	氧氟沙星或环丙沙星或左氧 氟沙星	氧氟沙星片	
头孢拉定(缺)	泛捷复胶囊		环丙沙星注射液	
	新达德雷干混悬剂		佐科注射液	
头孢替唑 (缺)	特子社复注射剂		强派注射剂	
	替拉姆注射剂		得尔夫星注射液	
	益替欣注射剂		可乐必妥注射液	
头孢哌酮/舒巴坦	头孢克肟干混悬剂			同林注射液
	舒普深注射剂			长富宜泰注射液
	新瑞普欣注射剂		司帕沙星	力贝尔片
	康利必欣		依诺沙星	诺佳注射液
	普得欣	瑞美林注射剂		
	希刻劳胶囊		瑞美星注射液	
5. 其他抗菌抗生素		8.大环内酯类		
药敏试验名称(通用名)	药品名称	药敏试验名称(通用名)	药品名称	
磷霉素	磷霉素钠注射剂	阿奇霉素	希舒美片	
克林霉素	德宝生(克林霉素)注射剂		齐宏注射液	
	克林霉素氯化钠注射剂		维路得注射剂	
	欣普风注射剂		阿奇霉素颗粒剂	
万古霉素	稳可信注射剂		君洁分散片	
亚胺培南或美罗培南	泰能注射液	克拉霉素	克拉霉素胶囊	
		红霉素	红霉素注射剂	
6.氨基糖苷类		琥乙红霉素	利君沙片	
药敏试验名称(通用名)	药品名称	罗红霉素	倍沙片	
阿米卡星	阿米卡星注射液	乙酰螺旋霉素	乙酰螺旋霉素片	
庆大霉素	庆大霉素注射液	9.抗真菌药		
7.氟喹诺酮类		药敏试验名称(通用名)	药品名称	
药敏试验名称(通用名)	药品名称	伊曲康唑(缺)	斯匹仁诺胶囊	
氯霉素	氯霉素注射剂	酮康唑(缺)	里素劳片	
		氟康唑	大扶康片	
			氟康唑片	
			弗仑特胶囊	
			大扶康注射液	
			氟康唑注射液	
硝基咪唑类(甲硝唑)可不药敏试验直接使用				

药敏试验快速测定试剂盒

我公司与山东省畜牧兽医检验技术中心联合推出专利产品--药敏试验快速测定试剂盒

[试剂盒检测的意义和原理]

细菌性病害由动物群体中的致病菌感染、传播引起。致病菌的抗生素敏感性变化很快，仅凭以往的经验用药往往无效。因此药敏试验显得至关重要，然而传统的药敏试验受到药敏片、药物浓度等限制而不能快速准确的达到选药的目的，从而延误了疫情的控制。我公司与山东省畜牧兽医检验技术中心在改进传统药敏试验的基础上，设计完成了专利产品--药敏试验快速测定试剂盒，从而为临床药敏试验提供了理想的工具。

原理：在新型药敏试剂盒的底面凹槽内包埋入一定量的已配浓度的待测药物溶液，覆盖灭菌的营养琼脂，将组织病料或细菌直接接种于培养基上，培养 24h 后，观察抑菌圈的大小，判定敏感药物。

[操作方法]

1 药物的稀释与包埋 按照药敏的治疗浓度或参考标准浓度将药物稀释，用微量移液器定量取液，包埋于试剂盒凹槽内。然后倒入灭菌的营养琼脂，12ml/个，进行最后包埋。(注：我公司产品已制作成药物包埋好的试剂盒，只需倒入灭菌的营养琼脂便可应用。)

2 接种 将组织病料或细菌按照传统药敏试验的方法直接接种于培养基上。放入恒温培养箱培养。

3 培养与药敏判定 在恒温培养箱内培养 24h，然后按照传统的药敏试验方法判定药物敏感性。

[保质期]

试剂盒常温 3 个月，4℃ 冷藏保存 12 个月。

[需要仪器] 恒温培养箱 冰箱

[与传统药敏试验的区别]

1 方便、快速 省却自制药敏片的环节。十分容易携带，可在疫病现场直接操作药敏试验。

2 准确 传统药敏片的药物含量不能准确测定，对试验结果影响较大，而本法药物的浓度皆定量移取，比较准确。

[注意事项]

1 本品适于大多数细菌性病害或因病毒、寄生虫等引起的继发细菌病，但不能用于病毒、真菌、寄生虫等病害。

2 对继发性细菌感染，如病毒、寄生虫等因素没去除，则用药后只能缓解病情，不能彻底治愈病害。

参考文献：

(王京仁)

《动物疾病学》实验所需主要试剂（2010）

	试剂名称	数量(瓶、块)	出售单位	说明
	鸡新城疫浓缩抗原	1	同上	
	鸡新城疫标准阳性血清	1	同上	
	鸡新城疫标准阴性血清	1	同上	
	猪伪狂犬病乳胶凝集试验抗体检测试剂盒(021-57405700 魏勇)	1	260.00	玻片凝集试验
	鸡白痢全血平板凝集反应抗原	1	同上	
	鸡白痢标准阳性血清	1	同上	
	鸡白痢标准阴性血清	1	同上	
	鸡传染性法氏囊病抗原	1		琼脂扩散试验
	鸡传染性法氏囊病标准阳性血清	1		
	鸡传染性法氏囊病标准阴性血清	1		
	伊氏锥虫病胶乳诊断液	1	上海家畜寄生虫研究所	胶乳凝集试验
	伊氏锥虫病标准阳性血清	1	上海家畜寄生虫研究所	
	伊氏锥虫病标准阴性血清	1	上海家畜寄生虫研究所	
	胶乳凝集反应板	10	上海家畜寄生虫研究所	

			虫研究所		
	牛日本血吸虫病致敏红细胞诊断液	1	上海家畜寄生虫研究所	间接血凝试验	
	牛日本血吸虫病标准阳性血清	1	上海家畜寄生虫研究所		
	牛日本血吸虫病标准阴性血清	1	上海家畜寄生虫研究所		
S1075	成套纸片△	2 盒	杭州微生物试剂有限公司 87962181 87972934	药敏试验	
M0003	药物敏感琼脂	2 瓶	同上		
B0272	侵袭性大肠埃希氏菌诊断血清	1 套	同上		
B0268	沙门氏菌诊断血清 (IIA) (兰州 30 种)	1 套	同上	病源分离鉴定★ (去实验 1)	
J2009	三种常见葡萄球菌生化鉴定管	2 套	同上		
J2002	肠杆菌科细菌生化编码鉴定管	2 套	同上		
J2004	非发酵细菌生化编码鉴定管	2 套	同上		
J2173	成套试剂	4 套	同上		
M0021	四硫磺酸钠增菌液	2 瓶	同上		
M0011	沙门氏志贺氏菌属琼脂	2 瓶	同上		
M0032	亚硫酸铋琼脂 (BS)	2 瓶	同上		
M0033	亚硫酸铋指示剂	2 瓶	同上		
	猪繁殖与呼吸综合征病毒 ELISA 抗体检测试剂盒 021-57405700 魏勇	1 盒	1300.00		ELASE 实验
	沙门氏菌鉴定				
	沙门氏菌 A-F 多价 O	1 套			

	血清			
	沙门氏菌多价荧光抗体	1套		
	A群(O ₂)因子血清	1套		
	B群(O ₄)因子血清	1套		
	C ₁ 群(O ₇)因子血清	1套		
	C ₂ 群(O ₈)因子血清	1套		
	D群(O ₉)因子血清	1套		
	E群(O ₃ , O ₄)因子血清	1套		
	F群(O ₁₁)因子血清	1套		
	H因子血清	1套		
	Vi因子血清	1套		
《动物诊断技术》设备和药品				
	听诊器	10		
	体温计	10		
	叩诊锤	4		
	叩诊板	4		
	桶子	4		
	大号麻绳	2		
	铁制金属注射器	8		10ml, 20ml
	洗肠器	2		
	大号塑料胃导管	2		
	石蜡油	2		
	放气套管针	2		

