

ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18653—2002

胎儿弯曲杆菌的分离鉴定方法

Methods for isolation and identification of campylobacter fetus

2002-02-19 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准是依据加拿大国家动物疾病研究所的实验室操作规程,结合本国实际情况制定的,通过大量试验,证实该方法准确可靠。

本标准的附录 A 是标准的附录,附录 B 是提示的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:天津动植物检疫局。

本标准主要起草人:秦贞奎、侯艳梅、张碧波。

中华人民共和国国家标准

胎儿弯曲杆菌的分离鉴定方法

GB/T 18653—2002

Methods for isolation and identification of campylobacter fetus

1 范围

本标准规定了胎儿弯曲杆菌的分离鉴定方法。

本标准适用于牛、绵羊、冷冻精液胎儿弯曲杆菌的检验,其他动物可参照使用。

2 胎儿弯曲杆菌的分离鉴定

2.1 设备和材料

2.1.1 混合气体[质量比为 3.5%氧(O₂)、10%二氧化碳(CO₂)、86.5%氮(N₂)]。

2.1.2 厌氧培养罐。

2.1.3 采样棒及吸球。

2.1.4 2 mL 注射器,5 号针头,20 号针头。

2.1.5 灭菌青霉素瓶及生理盐水。

2.1.6 供常规细菌分离鉴定用的基本设备与材料。

2.2 培养基和试剂[见附录 A(标准的附录)]。

2.2.1 增菌运输培养基(TEM)。

2.2.2 半胱氨酸牛心浸膏培养基(CH)。

2.2.3 琼脂培养基(MH)。

2.2.4 巯基乙酸盐肉汤。

2.2.5 相关生化试剂。

2.3 胎儿弯曲杆菌的分离鉴定程序见附录 B(提示的附录)示意图。

2.4 分离培养

2.4.1 样品采集

2.4.1.1 母牛站立或六柱栏保定,用 5%来苏儿消毒牛的外阴部,将采样棒的采样端插入阴道,压扁另一端的吸球,并来回抽动,吸取阴道粘液。取出采样棒后,插入盛有 3 mL 灭菌生理盐水的小瓶中吹吸数次,再将采样棒放入消毒液中。

2.4.1.2 公牛六柱栏保定,用绳子固定采样侧的后肢,剪短阴筒外部的阴毛,用 5%的来苏儿消毒公牛的尿道口,将采样棒的采样端插入阴筒内,将另一端的吸球压扁并来回抽动,吸取包皮液。取出采样棒迅速插入盛有 3 mL 灭菌生理盐水的小瓶中吹吸数次。

2.4.1.3 样品液静置 1 min~2 min,用灭菌注射器吸取上清液 2 mL,分别注入两瓶增菌运输培养基(见附录 A 中 A1)中,每瓶 1 mL。振荡混匀,尽快送至实验室。

2.4.1.4 取样品做革兰氏染色并做湿涂片镜检。也可用棉拭子蘸取样品液直接涂布于含抗菌素的 MH(见附录 A 中 A3)或 CH(见附录 A 中 A2)琼脂平板上。

2.4.2 已接种样品的增菌运输培养基置 37℃培养 72 h。用直径 3 mm 的接种环将增菌液分别划线于两个 MH 或 CH 平板培养基上,将平板放置厌氧培养罐中,将罐内空气抽出,达到 -5.5 kPa 时停止,充