

ICS 65.020.30

B 44



中国实验动物学会团体标准

T/CALAS 43—2017

实验动物 鼠放线杆菌检测方法

Laboratory animal - Method for detection of *Actinobacillus muris*

2017-12-29 发布

2018-01-01 实施

中国实验动物学会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则编写。

本标准附录 A 为规范性附录。

本标准由中国实验动物学会归口。

本标准由全国实验动物标准化技术委员会（SAC/TC281）技术审查。

本标准由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草。

本标准主要起草单位：广东省实验动物监测所。

本标准主要起草人：袁文、陈梅玲、张钰、黄韧、闵凡贵。

实验动物 鼠放线杆菌检测方法

1 范围

本标准规定了实验动物鼠放线杆菌检测方法。

本标准适用于啮齿类实验动物中鼠放线杆菌的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 19489 《实验室 生物安全通用要求》

GB/T 14926.42 《实验动物 细菌学检测 标本采集》

GB/T 14926.43 《实验动物 细菌学检测 染色法、培养基和试剂》

3 检测方法原理

鼠放线杆菌为革兰氏阴性杆菌，在血琼脂平皿上形成特殊的菌落形态，有独特的生化反应，据此可进行该菌的分离培养和检测。

4 主要设备和材料

4.1 恒温生化培养箱。

4.2 生物显微镜。

5 培养基和试剂

5.1 血琼脂平皿

5.2 氧化酶试剂或试纸条。

5.3 革兰氏染色液。

5.4 生化试验试剂：核糖、甘露醇、果糖、葡萄糖、甘露糖、纤维二糖、麦芽糖、蜜二糖、蔗糖、海藻糖、棉子糖、水杨苷、ONPG、靛基质、山梨醇、木糖、尿素、硝酸盐还原试剂。

6 检测程序

鼠放线杆菌检测程序见图 1。

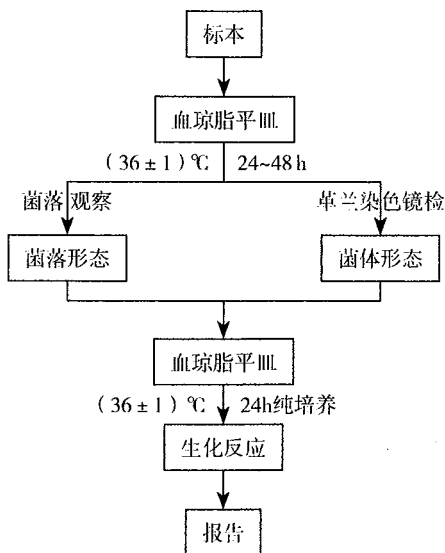


图 1 鼠放线杆菌检测程序

7 操作步骤

7.1 生物安全措施

实验操作及处理按照 GB 19489 的规定，由具备相关资质的工作人员进行相应操作。

7.2 采样

无菌采取动物的呼吸道分泌物。

7.3 分离培养

将样本接种血琼脂平皿置 $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ，培养 24~48 h。

7.4 鉴定

挑选血琼脂平皿上可疑鼠放线杆菌菌落，染色镜检，镜检符合鼠放线杆菌菌体特征的样品接种血琼脂平皿纯培养，置 $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ，培养 24 h。从血琼脂平皿上挑取新鲜菌落做生化反应试验。

7.4.1 菌落特征

本菌在血琼脂平皿上 $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ 、培养 24 h 后可形成圆形、突起、边缘整齐光滑、有光泽、灰白色、直径 1.5~2 mm、不溶血的菌落。培养 48 h 的菌落可长到 3.5~4 mm。菌落质地似黄油，容易乳化。

7.4.2 菌体特征

革兰氏阴性小杆菌，常单在或成对，偶尔呈链状。

7.4.3 氧化酶试验

氧化酶试验阳性。

7.4.4 过氧化氢酶试验

过氧化氢酶试验阳性。

7.4.5 生化鉴定

发酵核糖、甘露醇、果糖、葡萄糖、甘露糖、纤维二糖、麦芽糖、蜜二糖、蔗糖、海藻糖、棉子糖和水杨苷。ONPG、靛基质、山梨醇和木糖试验阴性。尿素酶和硝酸盐还原试验阳性。也可以使用商品化生化鉴定试剂盒进行生化鉴定。

7.5 结果判定

经鉴定符合 7.4 中各项检测结果的, 或根据生化鉴定试剂盒鉴定为鼠放线杆菌, 可判定为鼠放线杆菌。

7.6 鉴别诊断

鼠放线杆菌与嗜肺巴斯德杆菌的鉴别见表 1。

表 1 鼠放线杆菌与嗜肺巴斯德杆菌的鉴别

项目	鼠放线杆菌	嗜肺巴斯德杆菌
核糖	+	+
甘露醇	+	-
果糖	+	+
葡萄糖	+	+
甘露糖	+	-
纤维二糖	+	-
麦芽糖	+	+
蜜二糖	+	+/-
蔗糖	+	+
海藻糖	+	+
棉子糖	+	+/-
水杨苷	+	-
ONPG	-	+
靛基质	-	+/-
山梨醇	-	-
木糖	-	+/-
磷酸酶	-	+

注: +, 阳性; -, 阴性; -/+, 大多数菌株阴性; +/-, 大多数菌株阳性。

8 结果报告

凡符合上述各项检测结果者为阳性, 不符合者为阴性。

参 考 文 献

- Ackerman JJ, Fox JG. 1981. Isolation of *Pasteurella ureae* from reproductive tracts of congenic mice. *J Clin Microbiol*, 13: 1049-1053.
- GB/T 14926.43—2001 实验动物 细菌学检测 标本采集.
- GB/T 14926.43—2001 实验动物 细菌学检测 染色法、培养基和试剂.
- GB/T 14926.42~14926.43—2001 实验动物 微生物学检测方法 (1).
- Holt JG. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, ninth edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.