



GUIMO QINCHANG SHIYANSHI
GONGZUO SHOUC

张桂枝 靳双星 ©主 编

规模禽场实验室 工作手册



金盾出版社

要 點 容 內

规模禽场实验室工作手册

主 编

张桂枝 靳双星

编著者

张桂枝 靳双星

姬向波 李新正

金 盾 出 版 社

内 容 提 要

本书内容包括:规模化禽场实验室工作基本技术,培养基的制备技术,细菌的分离培养及鉴定技术,抗菌药物的敏感性及消毒药的筛选试验,病毒的分离培养及鉴定技术,常用血清学检验技术,家禽常见细菌性疾病的实验室检测,家禽常见病毒病的实验室检测,其他微生物病的实验室检测,家禽常见寄生虫病的实验室检测,饲料及饮水中微生物的检测等。我国禽类养殖场规模化水平高,禽的疫病日趋复杂多变,对禽场效益影响巨大,因此规模化禽场实验室在疫情监测、检验中发挥着重要作用。本书内容全面,技术实用,操作性强,适合养禽场兽医技术人员和农业院校相关专业的师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

规模禽场实验室工作手册/张桂枝,靳双星主编. — 北京:金盾出版社,2013.10

ISBN 978-7-5082-8330-2

I. ①规… II. ①张…②靳… III. ①养禽场—实验室—工作—手册 IV. ①S83-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 083643 号

金盾出版社出版、总发行

北京太平路 5 号(地铁万寿路站往南)

邮政编码:100036 电话:68214039 83219215

传真:68276683 网址:www.jdcbs.cn

封面印刷:北京精美彩色印刷有限公司

正文印刷:北京万博诚印刷有限公司

装订:北京万博诚印刷有限公司

各地新华书店经销

开本:850×1168 1/32 印张:8.625 字数:208 千字

2013 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

印数:1~7 000 册 定价:18.00 元

(凡购买金盾出版社的图书,如有缺页、
倒页、脱页者,本社发行部负责调换)

前 言

随着我国养禽业的迅速发展,新的疫病不断出现,发病概率也逐年提高,并且混合感染和疾病的非典型化越来越多,随之禽病诊断遇到的新问题也越来越多,传统的模糊诊断已不能满足生产需要,疾病的确诊最后还要依靠实验室诊断。为此,我们在多位专家的指导下,广泛听取基层工作者的意见,并参阅国内外相关资料,结合多年的经验总结,编写了这本《规模禽场实验室工作手册》。

全书共十一章。其中第一章至第六章,为禽病实验室诊断技术,包括实验室工作基本技术、培养基的制备技术、细菌的分离培养及鉴定技术、抗菌药物的敏感性及消毒药的筛选试验;第七章至第十章为家禽常见病的实验室诊断,包括常见细菌性疾病的实验室诊断、病毒性疾病的实验室诊断、其他微生物病的实验室诊断和寄生虫病的实验室诊断;第十一章为饲料及饮水中微生物的检测。

本书适用于大中专院校师生、基层兽医人员、禽场禽病实验室检验工作者。由于时间仓促,编者水平有限,书中定有不足之处,恳请读者批评指正,以便修订。

编 著 者

目 录

第一章 规模禽场实验室工作基本技术	(1)
第一节 实验室的基本条件与结构	(1)
一、基本条件	(1)
二、无菌室的结构与要求	(2)
第二节 实验室的工作守则	(3)
第三节 禽病诊断实验室常用的器材和药品	(5)
一、常用的器材	(5)
二、常用的药品	(9)
第四节 常用仪器的使用与保养	(11)
一、普通生物显微镜	(11)
二、离心机	(18)
三、高压蒸汽灭菌器	(22)
四、干燥箱	(23)
五、培养箱	(24)
六、水浴箱	(25)
七、超净工作台	(25)
第五节 常用玻璃器皿的准备和灭菌	(26)
一、玻璃器皿的洗涤	(26)
二、玻璃器皿的干燥	(28)
三、玻璃器皿的包装	(28)
四、玻璃器皿的消毒	(29)
第六节 常用试剂和溶液的配制	(29)
一、常用酒精溶液的配制	(29)

二、碘酊的配制	(30)
三、碘甘油的配制	(31)
四、磷酸盐缓冲液的配制	(31)
五、抗凝剂的配制	(33)
六、重铬酸钾清洗液的配制	(34)
第七节 家禽的剖检技术	(34)
一、放血与消毒	(35)
二、剖检方法和术式	(35)
第二章 培养基的制备技术	(37)
第一节 培养基的分类	(37)
一、按物理状态划分	(37)
二、按用途划分	(38)
第二节 培养基的制备技术	(39)
一、制备培养基的一般程序	(39)
二、常用培养基的制作	(40)
第三章 细菌的分离培养及鉴定技术	(47)
第一节 病料的采集和运送	(47)
一、采集病料的注意事项	(47)
二、采集病料的方法	(48)
三、病料的运送	(50)
第二节 细菌的分离培养	(51)
一、分离培养注意事项	(51)
二、细菌分离培养的方法	(52)
三、纯培养菌的获得与移植	(59)
第三节 细菌的鉴定	(60)
一、形态学检查	(61)
二、培养特性观察	(67)
三、细菌的生化特性检查	(69)

四、细菌血清型鉴定	(76)
第四章 抗菌药物的敏感性及消毒药的筛选试验	(78)
第一节 单价药物对细菌的药敏测定	(78)
一、药物纸片琼脂扩散法	(78)
二、试管稀释法药敏试验	(82)
三、琼脂平板稀释法	(84)
第二节 细菌对抗菌药物的联合药敏试验	(85)
一、纸片法	(86)
二、棋盘法	(88)
第三节 消毒药的筛选及消毒效果检测	(90)
一、消毒药定量杀菌效果的测定	(90)
二、消毒药带鸡消毒后鸡舍空气中细菌含量检测	(92)
第五章 病毒的分离培养及鉴定技术	(94)
第一节 病毒的分离培养	(94)
一、病料的采取	(94)
二、标本的保持	(95)
三、接种材料的制备	(96)
四、病料接种	(96)
第二节 鸡胚接种技术	(97)
一、病料的采取及处理	(98)
二、鸡胚接种	(98)
第三节 动物试验技术	(102)
一、常用的实验动物	(103)
二、动物试验技术	(103)
第四节 病毒的鉴定方法	(105)
一、形态鉴定	(105)
二、培养特性鉴定	(105)
三、理化特性鉴定	(105)

四、生物学特性鉴定	(106)
五、血清学鉴定	(106)
六、其他鉴定方法	(106)
第六章 常用血清学检验技术	(107)
第一节 凝集试验	(107)
一、直接凝集试验	(107)
二、间接凝集试验	(110)
第二节 血凝和血凝抑制试验	(115)
第三节 沉淀试验	(120)
一、环状沉淀试验	(120)
二、琼脂凝胶扩散试验	(120)
三、免疫电泳	(125)
第四节 中和试验	(127)
一、终点法中和试验	(128)
二、交叉保护试验	(132)
第五节 免疫荧光技术	(133)
一、免疫荧光技术的方法	(133)
二、荧光抗体的制备	(135)
三、荧光抗体染色	(139)
第六节 免疫酶技术	(143)
一、免疫酶染色法	(143)
二、免疫酶测定法	(145)
第七章 家禽常见细菌性疾病的实验室检测	(152)
第一节 鸡白痢的实验室检测	(152)
一、病原学特征	(152)
二、实验室诊断	(153)
第二节 禽伤寒的实验室检测	(156)
一、病原学特征	(156)

二、实验室诊断	(156)
第三节 禽副伤寒的实验室检测	(158)
一、病原学特征	(159)
二、实验室诊断	(159)
第四节 大肠杆菌病的实验室检测	(162)
一、病原学特征	(162)
二、实验室诊断	(163)
第五节 禽霍乱的实验室检测	(165)
一、病原学特征	(166)
二、实验室诊断	(166)
第六节 鸭传染性浆膜炎的实验室检测	(169)
一、病原学特征	(169)
二、实验室诊断	(170)
第七节 传染性鼻炎的实验室检测	(172)
一、病原学特征	(173)
二、实验室诊断	(173)
第八节 鸡葡萄球菌病的实验室检测	(176)
一、病原学特征	(176)
二、实验室诊断	(177)
第九节 鸡绿脓杆菌病的实验室检测	(178)
一、病原学特征	(178)
二、实验室诊断	(179)
第十节 鸡坏死性肠炎的实验室检测	(180)
一、病原学特征	(180)
二、实验室诊断	(180)
第十一节 禽链球菌病的实验室检测	(183)
一、病原学特征	(183)
二、实验室诊断	(183)

第十二节 禽弯曲杆菌性肝炎的实验室检测	(185)
一、病原学特征	(185)
二、实验室诊断	(186)
第八章 家禽常见病毒病的实验室检测	(188)
第一节 新城疫的实验室检测	(188)
一、病原学特征	(188)
二、实验室诊断	(189)
第二节 禽流感的实验室检测	(191)
一、病原学特征	(191)
二、实验室诊断	(192)
第三节 鸡传染性支气管炎的实验室检测	(194)
一、病原学特征	(194)
二、实验室诊断	(194)
第四节 鸡传染性喉气管炎的实验室检测	(197)
一、病原学特征	(198)
二、实验室诊断	(198)
第五节 鸡传染性法氏囊病的实验室检测	(200)
一、病原学特征	(200)
二、实验室诊断	(201)
第六节 鸡马立克氏病的实验室检测	(204)
一、病原学特征	(204)
二、实验室诊断	(205)
第七节 禽痘的实验室检测	(207)
一、病原学特征	(207)
二、实验室诊断	(208)
第八节 禽脑脊髓炎的实验室检测	(209)
一、病原学特征	(210)
二、实验室诊断	(210)

第九节 产蛋下降综合征的实验室检测	(212)
一、病原学特征	(212)
二、实验室诊断	(212)
第十节 鸡病毒性关节炎的实验室检测	(213)
一、病原学特征	(214)
二、实验室诊断	(214)
第十一节 鸭瘟的实验室检测	(215)
一、病原学特征	(216)
二、实验室诊断	(217)
第十二节 鸭病毒性肝炎的实验室检测	(218)
一、病原学特征	(218)
二、实验室诊断	(219)
第十三节 小鹅瘟的实验室检测	(221)
一、病原学特征	(221)
二、实验室诊断	(221)
第九章 其他微生物病的实验室检测	(223)
第一节 禽支原体病的实验室检测	(223)
一、鸡败血支原体病的实验室检测	(223)
二、滑液囊支原体感染的实验室检测	(227)
第二节 禽曲霉菌病的实验室检测	(229)
一、样品采集	(229)
二、显微镜检查	(230)
三、分离培养	(230)
四、动物试验	(231)
五、血清学诊断	(232)
第十章 家禽常见寄生虫病的实验室检测	(233)
第一节 禽蠕虫病的实验室检测	(233)
一、禽主要的蠕虫病	(234)

二、蠕虫病的实验室检验技术	(236)
第二节 禽原虫病的实验室检测	(240)
一、鸡球虫病	(240)
二、禽组织滴虫病	(244)
三、禽住白细胞虫病	(244)
第三节 鸡螨病的实验室检测	(247)
一、鸡皮刺螨病	(247)
二、鸡羽管螨病	(247)
三、鸡膝螨病	(248)
第四节 鸡球虫耐药性检测技术	(249)
第十一章 饲料及饮水中微生物的检测	(254)
第一节 饲料中微生物的检测	(254)
一、概述	(254)
二、饲料中细菌总数的检验方法 GB/T 13093—2006	(256)
三、饲料中霉菌的检验方法 GB/T 13092—2006	(259)
第二节 水中细菌总数的测定	(261)
一、基本原理	(261)
二、器材	(262)
三、操作步骤	(262)
主要参考文献	(264)

第一章 规模禽场实验室 工作基本技术

第一节 实验室的基本条件与结构

一、基本条件

禽病检验室通常包括实验室和无菌室(无菌室包括缓冲间和操作间)。这样划分并不是绝对的,可根据具体条件而定。对各室的共同要求是高度的清洁卫生,也就是要尽可能地创造无菌条件。为了达到这个目的,房屋的墙壁和地板、使用的各种柜具都要符合便于清洗的要求。另外,检验室还必须具备以下基本条件。

①光线明亮,但避免阳光直射室内;

②洁净无菌,地面与四壁平滑,便于清洁和消毒;

③空气清新,应有防风、防尘设备;

④要有安全、适宜的电源和充足的水源;

⑤具备整洁、稳固、适用的实验台,台面最好有耐酸碱、防腐蚀的黑胶板;

⑥显微镜及实验室常用的工具、药品应设有相应的存放柜。

二、无菌室的结构与要求

(一) 无菌室的结构

无菌室通常包括缓冲间和操作间两大部分。为了便于无菌处理,无菌室的面积和容积不宜过大,以适宜操作为准,面积一般不超过 10m^2 ,不小于 5m^2 ,高度不超过 2.4m 。缓冲间与操作间二者的比例可为 $1:2$ 。操作间内设有固定的工作台、紫外线灯、空气过滤装置及通风装置;较为理想的应有空调设备、空气净化装置,以便在进行微生物操作时切实达到无尘无菌。操作间的门与缓冲间的门不应直对,力求迂回,减少无菌室内的空气对流,以便保持操作间的无菌条件。窗户应装有两层玻璃,以防外界微生物的进入。

(二) 无菌室的要求

① 无菌室内部装修应平整、光滑,无凹凸不平或棱角等,四壁及屋顶应用不透水之材质,便于擦洗及杀菌。

② 无菌室应保持密封、防尘、清洁、干燥。

③ 无菌室、缓冲走廊及缓冲间均设有日光灯及供消毒空气用紫外线灯,杀菌紫外线灯离工作台以 1m 为宜,其电源开关均应设在室外。

④ 无菌室应保持清洁整齐,室内仅存放必需的检验用具,如酒精灯、酒精棉球、火柴、镊子、接种针、接种环、玻璃铅笔等。不要放与检测无关的物品。

⑤ 室内检验用具及桌凳等保持固定位置,不随便移动。

⑥ 每周用 2% 石炭酸溶液或其他消毒药,如 0.1% 新洁尔灭、 75% 乙醇、 2% 戊二醛水溶液等擦拭工作台、门、窗、桌、椅及地面,然后用 3% 石炭酸溶液喷雾消毒空气,最后紫外线灯杀菌 30min 。

⑦ 定期检查室内空气无菌状况,发现不符合要求时,应立即彻

底消毒灭菌。

⑧无菌室杀菌前,应将所有物品置于操作之部位(待检物例外),然后打开紫外线灯杀菌 30min,时间一到,关闭紫外线灯待用。

⑨进入无菌室前,必须于缓冲间更换经消毒的工作服、工作帽及工作鞋。

⑩操作应严格按照无菌操作规定进行,操作中少说话,不喧哗,以保持环境的无菌状态。

(三)无菌室洁净度的测定

一般采用平板法测定,方法是:以无菌方式将 3 个营养琼脂平板(平板直径均为 9cm)带入无菌操作室,在操作区台面左、中、右各放 1 个。打开平板盖在空气中暴露 30min 后将平板盖好,然后置 $32.5^{\circ}\text{C} \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养 48h。取出检查,3 个平板上生长的菌落数平均小于 1 个即为合格。

第二节 实验室的工作守则

实验室检验是一项精确、细致、耐心的工作,作为禽病诊断实验室的工作人员,在工作过程中既要遵守实验室的规则,防止污染,同时又必须注意安全,防止被病原微生物感染。在开展检验工作时,应注意下列事项:

①进入实验室应穿着工作服,进入无菌室应戴口罩、帽子,换专用鞋。

②实验室内要保持安静、有秩序,不要高声谈笑,影响实验。不准吸烟、饮食和会客。

③病料检验要体现快而准的原则,采集或接收到病料时应及时进行检查和病原分离培养。

④实验室应保持整洁和卫生。样品检验完毕后及时清理桌

面,凡是要丢弃的培养物应经高压蒸汽灭菌后处理,污染的玻璃仪器经高压蒸汽灭菌后再洗刷干净。器械使用后及时清洗干净并纳归整理,需要灭菌的器械应及时灭菌。药品和试剂使用后放回原处,有毒和腐蚀性大的药剂残液应妥善处理,不得污染环境。

⑤实验室内应备有镊子、剪刀、接种针、接种环等,每次使用前和使用后应在酒精灯火焰上烧灼灭菌。

⑥实验室内应备有盛放 3% 来苏儿或 5% 石炭酸溶液的玻璃缸,内浸纱布数块;备有 70% 酒精棉球,用于样品表面消毒及意外污染消毒,无菌室每次使用前后,用紫外线灯照射。

⑦当致病性病原微生物材料污染台面、地面、衣着和器械时,应立即用 3% 来苏儿或 5% 石炭酸液消毒。如手指或皮肤被污染,应立即用 0.1% 新洁尔灭或 0.05% 百毒杀溶液洗涤,或用碘酊、酒精棉球擦拭。

⑧实验完毕,整理桌面,两手应用肥皂水洗净,必要时先用消毒液(0.1% 新洁尔灭或 0.05% 百毒杀)消毒,然后用清水冲洗。

⑨各种贵重仪器平时按要求保管好,加盖防尘和避光罩,使用时应严格遵守操作规程,使用完毕擦洗后放回原处。

⑩各种试剂必须贴牢标签,写明品名、规格、配制时间和使用有效期,有秩序地按规定保存。

⑪诊断液等生物制剂应先登记,按说明要求的温度放入冰箱或贮藏箱(柜),注意有效期及效价变化,保证试验结果准确无误。

⑫实验室要定期消毒。消毒液可选择 3% 来苏儿、5% 石炭酸、0.5% 过氧乙酸及 0.05% 百毒杀等。

⑬废品、污物和污水放入指定的污物桶内妥善处理,不得随意乱扔。

⑭对操作和观察结果应详细记录,注明检验员姓名和日期,以

便核查。

⑮注意安全。实验室最易发生着火、漏水及触电事故,工作人员应本着认真负责的态度,注意物品(特别是易燃、易爆药品)的存放,节约用电。离开实验室时应对自来水、电源、门窗检查一遍,认为妥善后方可离去。

⑯几种意外情况的处理

皮肤破伤:先除尽异物,用蒸馏水或生理盐水洗净后,涂以2%碘酊。

烧灼伤:涂以凡士林、5%鞣酸或2%苦味酸。

化学药品腐蚀伤:若为强酸腐蚀,先用大量清水冲洗后,再用50g/L碳酸氢钠或氢氧化铵溶液洗涤中和;若为强碱腐蚀,先用大量清水冲洗后,再用5%醋酸或5%硼酸溶液洗涤中和。

第三节 禽病诊断实验室 常用的器材和药品

一、常用的器材

禽病诊断实验室常用的器材见表1-1至表1-4。各实验室可根据自身的人力、财力及工作范围适当增减。

表 1-1 禽病诊断实验室仪器类

品 名	数 量	品 名	数 量
电热恒温培养箱	1	恒温磁力搅拌器	1
电热鼓风干燥箱	1	电动离心机	1
电冰箱	2	微量振荡器	1