

动物免疫 采样与监测技术手册

**Animal Vaccination
Sampling and Surveillance Handbook**

徐百万 主编

 中国农业出版社



动物免疫 采样与监测 技 术 手 册

徐百万 主编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

动物免疫采样与监测技术手册 / 徐百万主编. —北京:
中国农业出版社, 2007. 12

ISBN 978 - 7 - 109 - 12439 - 4

I. 动… II. 徐… III. ①动物学: 免疫学—实验—采样—
手册②动物学: 免疫学—实验—监测—手册 IV.
S852. 4 - 62

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 195730 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

责任编辑 黄向阳

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2007 年 12 月第 1 版 2007 年 12 月北京第 1 次印刷

开本: 880mm×1230mm 1/32 印张: 11.75

字数: 338 千字 印数: 1~10 000 册

定价: 20.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

编写人员

主 编：徐百万

副主编：王功民 田夫林 马世春

参 编：董昕欣 赵浩军 刘 伟 吴 威

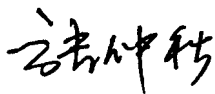
陈 静 张银田 王克文

序

对动物实施免疫是目前我国防控动物疫病的重要措施。我国畜禽饲养量大，饲养方式粗放，疫病种类多且分布复杂，免疫在预防与控制动物疫病发生与流行方面就尤为突出和重要。本书对动物免疫原理、基本技能与操作做了详细阐述，旨在规范免疫操作行为，科学指导免疫工作开展，达到有效预防和控制动物疫病发生的目的。

动物临床样品的采集（保存运输）是疫情监测的重要环节，而疫情监测又是全面做好动物疫病流行病学分析与疫情预警预报的基础。本书对样品采集与实验室监测方法、基本技能与操作做了全面阐述，并引用典型例证加以说明，能规范采样与监测操作行为，科学指导样品采集、保存与运输及实验室监测工作有效开展，达到对动物健康状况及时评价、疫病快速诊断，疫情预警预报和风险评估之目的。

中国动物疫病预防控制中心与山东省兽医诊断中心相关人员经过收集资料、查阅书籍、借鉴典范、深入基层调研等方式，编写了《动物免疫 采样与监测技术手册》一书。该书的出版与发行对规范动物免疫、采样与监测技术具有一定的参考价值。



2007 年 12 月 1 日

目 录

序

第一章 动物免疫基础知识	1
第一节 抗原与抗体	3
一、抗原	3
二、抗体	7
第二节 非特异性免疫	10
一、种的易感性	11
二、屏障结构	11
三、吞噬作用与炎症反应	12
四、体液中的非特异性免疫因素	13
第三节 特异性免疫	14
一、免疫系统	14
二、免疫应答过程	24
三、细胞免疫	26
四、体液免疫	28
五、免疫耐受和免疫麻痹	30
第四节 抗感染免疫	33
一、抗细菌感染免疫	33
二、抗病毒感染免疫	34
三、抗寄生虫感染免疫	35
第五节 变态反应	37
一、变态反应的发生	37
二、变态反应的类型	38
三、变态反应的防治	43

第二章 疫苗的种类与特点	45
第一节 疫苗的功能和作用	45
第二节 疫苗产生的历史	46
第三节 疫苗的种类与特点	50
一、活疫苗	50
二、灭活疫苗	52
三、多肽疫苗	53
四、基因工程疫苗	54
第四节 疫苗的质量指标	63
第五节 目前常用的动物疫苗	64
第三章 疫苗免疫技术	70
第一节 免疫的技术要求	70
一、人员的技术要求	70
二、免疫动物健康状况要求	70
三、疫苗使用过程要求	70
四、免疫废弃物处理要求	71
五、免疫器械要求	71
六、对环境的要求	71
七、免疫时尽可能避免应激	71
第二节 免疫前的准备工作	72
一、免疫用器具、物品的准备	72
二、隔离防护用品的准备	72
三、疫苗的贮藏和运输	72
四、疫苗的使用	72
第三节 免疫方法	73
一、家禽的免疫接种方法	74
二、家畜的免疫接种方法	76
第四节 建立免疫档案	77

一、建立免疫档案的意义	77
二、免疫档案类型	77
三、免疫档案内容	78
四、如何建立免疫档案（纸制档案）	78
第五节 免疫程序	79
一、制定免疫程序需考虑的因素	79
二、鸡的免疫程序	80
三、鸭的免疫程序	82
四、鹅群的免疫程序	84
五、种鸽的免疫程序	85
六、牛的免疫程序	85
七、羊的免疫程序	86
八、猪的免疫程序	87
九、皮毛动物的免疫程序	89
十、犬、猫的免疫程序	90
十一、重大动物疫病的免疫程序	90
第四章 影响疫苗免疫效果的因素	94
第一节 疫苗因素	94
一、疫苗的质量	94
二、疫苗的类型	95
三、疫苗的保存及运输条件	96
第二节 免疫操作不当	97
一、冻干疫苗稀释不当	97
二、免疫途径不当	98
三、免疫剂量过大	98
四、免疫剂量不足	99
五、免疫程序不合理	99
六、错用药物	102
第三节 动物方面的因素	102

一、动物品种	103
二、日龄	103
三、健康状况	103
四、动物营养状况	105
第四节 环境因素	105
一、气候因素	106
二、饲养管理技术	106
三、隔离消毒条件	106
第五节 社会因素的影响	107
一、养殖方式落后	107
二、兽医管理体系不健全	107
三、动物防疫意识不够	108
第六节 疫苗免疫效果的评价	108
一、流行病学（临床）评价	109
二、血清学评价	109
三、攻毒试验	110
第七节 提高免疫接种效果的对策	110
一、建立科学的免疫程序	110
二、选择适当的疫苗	112
三、严格按照规定运输、保存疫苗	112
四、正确使用疫苗	112
五、充分利用免疫监测结果	114
六、提高营养水平	114
七、加强饲养管理	114
第五章 动物疫病监测的采样技术	116
第一节 采样的一般原则与采样方法	116
一、采样的一般原则	116
二、采样方法	117
三、采样时机	117

目 录

四、采样数量	117
第二节 采样器械物品的准备	118
一、器械	118
二、采样纪录用品	119
三、保存液	119
四、人员防护用具	119
第三节 血液样品的采集方法及技术要求	119
一、禽的采血方法	120
二、猪的采血方法	120
三、牛、羊的采血方法	121
四、其他动物血液采集	122
五、血液样品的制备	122
第四节 动物活体样品的采集及技术要求	123
一、家禽活体的样品采集	123
二、猪活体的样品采集	123
三、牛、羊活体的样品采集	124
四、粪便样品的采集	125
五、生殖道样品采集	125
六、皮肤样品采集	126
七、脓汁	126
八、尿液样品	126
九、关节及胸腹腔积液的采集	126
十、乳汁	127
十一、脊髓液采集方法	127
第五节 病死畜禽的解剖与病变组织器官的采集及技术要求	127
一、小家畜或家禽活体或尸体的采取	128
二、实质器官的采取	128
三、畜禽肠管及肠内容物样品采集与制备方法	129
四、眼睛样品采集	129
五、皮肤样品采集	129

六、骨样品采集	130
七、脑采集	130
八、其他	131
第六节 样品的记录、保存、包装和运送	131
一、采样记录	131
二、样品包装要求	132
三、样品的保存	133
四、样品的运送	134
第六章 动物疫病的监测技术	139
第一节 血清学监测技术	139
一、凝集试验	139
二、免疫扩散试验	157
三、酶联免疫吸附试验 (ELISA)	161
四、荧光抗体病毒中和实验 (FAVN) (狂犬病)	183
五、监测结果评价	187
第二节 病原监测技术	189
一、细菌的分离与鉴定	189
二、病毒的分离与鉴定	205
三、猪瘟荧光抗体染色法	209
四、分子生物学技术	210
五、中和试验	223
六、变态反应	229
七、胶体金免疫监测技术	236
第七章 动物免疫、采样和检测过程的生物安全	239
第一节 兽医生物安全的发展	239
第二节 个人防护装备设施	240
第三节 免疫及接种的生物安全隐患与措施	245
一、免疫及接种的生物安全隐患	245

目 录

二、免疫及接种的生物安全措施	246
第四节 采样生物安全隐患与措施	247
一、采样生物安全隐患	247
二、采样的生物安全措施	248
第五节 样品保存、运输过程中的生物安全	249
第六节 兽医实验室监测的生物安全	252
一、把兽医卫生风险评估作为一项基本制度	252
二、制定兽医生物安全管理有关的法律法规	254
三、加强兽医生物安全实验室建设	255
四、良好的操作技术规范	255
五、良好的防护措施	258
六、动物尸体、废弃物的无害化处理	260
七、病原体痕迹的监测	261
八、医疗监督与保健	262
九、暴露事故的处理	262
附录 法规与技术规范	263
1. 中华人民共和国动物防疫法	263
2. 重大动物疫病应急条例	278
3. 病原微生物实验室生物安全管理条例	286
4. 国家突发重大动物疫情应急预案	303
5. 一、二、三类动物疫病病种名录	311
6. 高致病性动物病原微生物实验室生物安全管理审批办法	313
7. 动物病原微生物分类名录	319
8. 高致病性禽流感防治技术规范	320
9. 口蹄疫防治技术规范	328
10. 猪瘟防治技术规范	335
11. 新城疫防治技术规范	342
12. 高致病性猪蓝耳病防治技术规范	350
13. 小反刍兽疫防治技术规范	355

第一章 动物免疫基础知识

现代免疫的概念是指动物机体对自身和非自身的识别，即识别自己、排除异己，从而维护机体的生理平衡和稳定的一种生理性反应。执行这种功能的是动物机体的免疫系统，它是动物在长期进化过程中形成的与自身内（肿瘤）、外（微生物）敌人斗争的防御系统，能对非经口途径进入机体的非自身大分子物质产生特异性的免疫应答，从而使机体获得特异性的免疫力，同时又能对内部的癌变细胞产生免疫反应加以清除，从而维持自身稳定。对于各级从事动物疫病预防的人员来说，与工作密切相关的是动物机体对外（微生物）的防御。

应该认识到免疫反应通常是对机体有利的，但是在保护动物机体的同时会产生不同程度的副作用，甚至在某些条件下也可能是有害的，因而了解相关的免疫常识，在工作中扩大对动物机体有利的免疫反应，减小有害的免疫反应是必需的。

（一）免疫的基本特性

1. 识别自身与非自身 免疫功能正常的动物机体能识别自身与非自身的大分子物质，这是机体产生免疫应答的基础。动物机体识别的物质基础是存在于免疫细胞（T淋巴细胞、B淋巴细胞）膜表面的抗原受体，它们能与一切大分子抗原物质的表位（epitope）即抗原决定簇结合。免疫系统的识别功能是相当精细的，不仅能识别存在于异种动物之间的一切抗原物质，而且对同种动物不同个体之间的组织和细胞的微细差别也能加以识别。

2. 特异性 机体的免疫应答和由此产生的免疫力具有高度特异性，即具有很强的针对性，一种抗原引入机体只能引起针对该种抗原物质的机体免疫应答。如接种新城疫疫苗可使鸡产生对新城疫病毒的抵抗力，而对其他病毒如鸡马立克氏病病毒无抵抗力。

3. 免疫记忆 免疫具有记忆功能。动物机体在初次接触抗原物质的同时，除刺激机体形成产生抗体的细胞（浆细胞）和致敏淋巴细胞外，也形成了免疫记忆细胞，对再次接触的相同抗原物质可产生更快更强的免疫应答。动物患某种传染病康复后或用疫苗接种后，可产生长期的免疫力，归功于免疫记忆。所以在疫苗免疫的实践中，我们通常对重要疫病首次免疫 1 个月后再加强免疫，规模化养殖场则采取程序化免疫，使动物机体保持高水平的抗体和抵抗力。

（二）免疫的基本功能

1. 抵抗感染 又称免疫防御，是指动物机体抵御病原微生物的感染和侵袭的能力。动物的免疫功能正常时，能充分发挥对进入动物体内的各种病原微生物的抵抗力，通过机体的非特异性和特异性免疫，将病原微生物消灭。若免疫功能异常亢进时，可引起变态反应，而免疫功能低下或免疫缺陷，可增加机体对微生物的易感性。

2. 自身稳定 又称免疫稳定。在动物的新陈代谢过程中，每天可产生大量的衰老死亡的细胞，这些细胞如果积累在体内，就会毒害正常细胞的生理功能。免疫的第二个重要功能就是将这些细胞清除出体内，以维持机体的生理平衡。若自身稳定功能失调，就会引起自身免疫性疾病。

3. 免疫监视 机体内的细胞常因物理、化学和病毒等致癌因素的作用变为肿瘤细胞。动物机体免疫功能正常时，即可对这些细胞加以识别，然后清除，这种功能即为免疫监视。若机体免疫功能低下或失调，异常细胞就会大量增殖，则可导致肿瘤的发生。

表 1-1 免疫反应的功能

功能	抗原的来源	作用	功能	
			反应过高	反应低下
免疫防御	外源性	抵御病原体侵袭、清除其代谢产物的有害物质	变态反应	反复感染
自身稳定	内源性	清除衰老、死亡、破坏的细胞	自身免疫病	
免疫监视	内源性	清除突变细胞		肿瘤发生

第一节 抗原与抗体

一、抗 原

(一) 抗原的概念

抗原：凡能刺激人或动物机体的免疫系统，产生抗体或致敏淋巴细胞，并能与之发生特异性结合的物质称为抗原（antigen）。

抗原性：完整抗原应具有两种特性，一是能刺激机体产生抗体和致敏淋巴细胞；另一是与相应抗体和致敏淋巴细胞发生特异性反应的，前者称为免疫原性（immunogenicity），后者称反应原性（reactinogenicity）。两种特性统称为抗原性（antigenicity），具有抗原性的物质称为抗原性物质。

完全抗原与半抗原：根据抗原的性质可分为完全抗原和不完全抗原（半抗原）。既具有免疫原性又具有反应原性的物质称为完全抗原。一般蛋白质、细菌、病毒均为良好完全抗原。只具有反应原性，没有免疫原性的物质称为不完全抗原（半抗原）。半抗原多为简单的小分子物质，大多数的多糖、类脂、某些药物等属于半抗原。

半抗原可分为简单半抗原和复合半抗原。既不能单独刺激机体产生抗体，在与相应抗体结合后也不能出现可见反应，但却能阻止该抗体再与相应抗原结合，这种半抗原称为简单半抗原。抗生素、酒石酸等简单化学物质就为简单半抗原。不能刺激机体产生免疫应答，但可与相应的抗体结合，在一定条件下出现肉眼可见的反应，这种抗原称为复合半抗原。如细菌的荚膜多糖、类脂质、脂多糖等都属于复合半抗原。

免疫原：在具有免疫应答的机体中，能使机体产生免疫应答的物质称为免疫原，故抗原物质又可称为免疫原，但半抗原不是免疫原。

抗原表位：抗原物质的分子并非所有基团均能引起免疫反应，而决定其免疫活性只有其中一部分，存在抗原分子表面活性的化学基团，称抗原决定簇（conformational determinants），又称抗原表位。抗原决定

簇是决定抗原特异性，即决定着与抗体发生特异性结合的能力。抗原决定簇的化学基团种类、基团的构象、基团连接顺序不同，其特异性也不同。

只有一个决定簇的抗原分子称单价抗原，含有多个决定簇的抗原分子称多价抗原。在抗原分子表面的抗原决定簇才能刺激机体产生特异性抗体，与抗体发生特异性反应，这些决定簇称功能性表位，即功能价，而隐藏在抗原内部的决定簇称为隐蔽表位，即非功能价。天然的抗原是非常复杂的，抗原价与分子量大小有关，据认为分子量 5ku 大约会有一个决定簇，例如牛血清蛋白（BSA）分子量 69ku，约有 18 个决定簇。

半抗原—载体现象：小分子的半抗原不具有免疫原性，不能诱导产生免疫应答，但当与大分子物质（载体）连接后，就能诱导机体产生免疫应答，并能与相应的抗体结合，这种现象称为半抗原载体现象。大多数天然抗原都可以看成是半抗原与载体的复合物，半抗原实质上就是抗原决定簇。大分子物质即为载体。

在免疫应答中，抗体的特异性决定于半抗原的决定簇，但大分子载体对于抗体产生质和量有影响。如用半抗原（二硝基苯，DNP）与载体（卵蛋白，OA）结合后首次免疫，可测得抗 DNP 的抗体，但当第二次免疫时，分三组分别再次注射 DNP-BGC（半 γ 球蛋白）、DNP+OA、OA，间隔一段时间后，检测血清中的抗 DNA 抗体，结果 DNP-BGC 组产生初次反应抗体，而 DNP-OA 产生再次反应的抗体，这种现象称为载体效应。本质上，任何一个完全抗原都可看成半抗原与载体复合物，在免疫系统识别中，T 细胞识别载体，B 细胞识别半抗原决定簇，因此载体在细胞免疫应答中起重要作用。

抗原特异性与属类性：抗原刺激机体产生抗该种抗原的抗体，并与该抗体发生特异性反应，如猪瘟病毒刺激机体产生抗猪瘟的抗体，两者能发生特异性结合反应。这种特异性针对性很强，很敏感，这就是抗原的特异性。但是自然界中存在着无数种抗原物质，不同抗原物质之间、不同种属的微生物间，微生物与其他抗原物质之间，有相同或相似的抗原组成或结构，也可能存在共同的抗原表位，这种现象称为抗原的交叉