

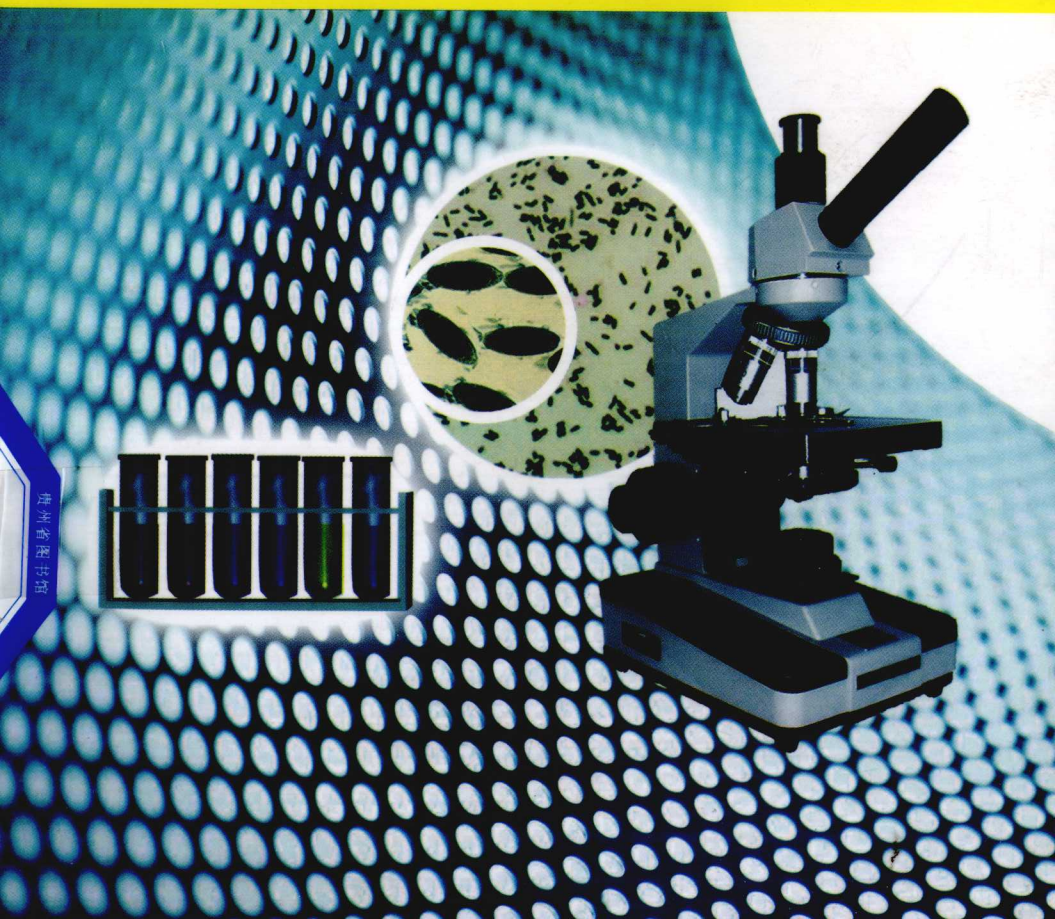
DONGWU YIBING SHIYAN ZHENDUAN YU YANJIU

动物疫病实验诊断与研究

论文
集锦

王焕新 著

LUNWENJIJIN



动物疫病实验诊断与研究
论文集锦

(甘肃省1950~1986年)

王 焕 新 著

甘肃省畜牧兽医学会

编 著

二〇〇〇年八月

前 言

这本小册子是收集作者从事多年的实验室诊断，畜禽疫病检验工作中具有代表性的诊断报告；或解决畜牧业生产中的某项疑难问题的研究论文；或国内鲜有见闻的某种特殊传染病的报导。其中一部分已在畜牧兽医期刊上发表，一部分手稿因历史原因未能如期面世实属遗憾。家兔、绵羊、猪、马等动物的李氏杆菌病，它不仅是罕见的疫病，且又在国内首先报导，并引起国内专家学者的极大兴趣和关注，还索要菌种。又如马属动物（马、骡、驴）肠毒血症，它不仅填补了畜（禽）感染本病的畜种类别的空白，还提供了有效的防治措施和经验。再如驴鼻疽诊断方法的研究，它集中反映了国内若干省区和科研院校在实施驴鼻疽大面积检疫时，均发现驴对鼻疽菌素（马来因）点眼反应不敏感，检不出阳性反应病例，作者通过人工（复制）病例的多次点眼试验，初步摸清驴鼻疽病畜多次马来因点眼试验，检不出阳性病例的征结所在。又如骡驹“尿红病”研究论文的披露，为国内某些马场提供了难得的和有益的借鉴并邀请为该场作技术指导。因此出版本书的目的，意欲通过传媒作用，使这些资料能够为畜牧业生产；制定畜禽疫病防制规划；出台畜禽疫病监控预案；科学实验；教书育人；著书立说；编纂畜禽疫病流行史等等诸多方面有所借鉴和参考，乃将如愿以偿。书中所阐述的观点、结论或论断或提供的某项具体措施，因限于本人理论和业务水平，错误和谬论之处在所难免，敬请斧正。

序

王焕新老先生早于1951年毕业于西北畜牧兽医学院兽医系，毕生致力于甘肃省动物疫病防治技术的推广应用与科学研究，建树颇多，特别是在动物疫病实验诊断技术的应用与研究上很有造诣。

近期，他不辞年高体弱，精心汇集编写了一册兽医科技资料——《甘肃省50~80年代部分动物疫病诊断检验与研究集锦》。统览所收集的23份资料，可见其有如下效应：其一是在一定程度上展现了甘肃省建国至80年代初主要动物疫病的发病史与诊断防治史；其二是结合我省实际，率先摸索实践和研究积累了主要动物疫病的诊断检验及有效防治的技术与经验；其三是这册融理论性、科学性、技术性与可操作性为一体的科技资料，不仅可供动物防疫部门与兽医科研机构长期参考借鉴，而且可供相关院校作为经典实例引入教材之列。作为同行同事，本人深切地期望王老先生一生的辛劳心血能够再发余辉，他渴望为甘肃的兽医科技事业再奉献一份余热的良好心意如愿实现。

甘肃省动物防疫总站原站长、研究员、政府特贴享受者张国盛

2006年7月20日

目 录

猪丹毒病例报告(1954年)	(1)
羊快疫实验诊断报告(1955年)	(7)
牛副伤寒病例报告(1955年)	(12)
马副伤寒性流产(1956年)	(18)
绵羊溶血性巴氏杆菌病一例(1956年)	(25)
绵羊副伤寒(1958~1960年)	(29)
猪瘟、猪丹毒、猪肺疫三种疫(菌)苗同时免疫试验 (1959~1960年)	(36)
驴鼻疽诊断方法的研究——I. 变态反应与补体结合反应 试验(1961—1962年)	(38)
驴鼻疽诊断方法的研究——II. 血清学诊断法比较试验 (1962年)	(45)
绵羊李氏杆菌病调查研究报告(1961年)	(51)
家兔李氏杆菌病病例诊断报告(1958年)	(56)
骡(马)驹“尿红病”(新生幼畜溶血性黄疸)调查研究报告 (1961~1962年)	(61)
仔猪李氏杆菌病调查研究报告(1958~1960年)	(76)
马李氏杆菌病一例(1962年)	(83)
马副伤寒病例诊断报告(1974年)	(88)

甘肃环县地区羊“黑水泻”(寄生性胃肠炎)病原的研究

(1979~1981 年) (93)

庆阳地区牛“瘸腿病”(骨软症)调查研究(1975 年)

..... (117)

由阴沟肠杆菌引起绵羊传染性胸膜肺炎的调查研究

(1959~1960 年) (130)

牛肠毒血症诊断报告(1980 年) (136)

马属动物肠毒血症的诊断与防治(1973~1975 年) (140)

家畜钩端螺旋体病血清学调查(1981~1982 年) (147)

接种六价浓缩钩端螺旋体菌苗预防马周期性眼炎效果的

观察(1982~1983 年) (152)

怀孕母羊流产及羔羊拉稀病原的研究(1981~1982 年) (155)

动物病毒的分类(1964 年) (159)

绵羊和牛血清与 BRSV 病毒感染细胞在荧光抗体染色中的

差异性 (182)

猪丹毒病例报告

(1954年)

王焕新

(甘肃省畜牧厅兽医诊断实验室)

1954年6月间,武威县城及其附近等地发生猪病,相继流行达六个月之久,至同年11月始渐停止。据估计约死亡猪200多只。防治过程中曾应用青霉素治疗效果很好。为了解这次猪病的性质和类型,曾将一只疑似猪丹毒的病猪未予治疗,使其自行死亡,采取了脾脏、肝脏、肾脏及肠系膜淋巴结等脏器组织,保存于40%甘油盐水中,寄省兽医诊断实验室进行病原微生物检查,经系统检验及鉴定,确诊为由猪丹毒杆菌(*Erysipelothrix rhusiopathiae*)引起的猪丹毒。兹报导有关资料,其目的在于澄清作者在学校读书时,老师们当时认为猪丹毒是长江流域及四川等地特有的疾病,西北,甘肃等地不会有猪丹毒不正确的引导,并证明甘肃省确有猪丹毒发生和流行。

一、病史、病状及尸体解剖病理变化

家畜种类: 土种猪,白色。性别: 雌性约五个月大。

解剖地点: 武威县城某街。

畜主: 郝振玉。

死亡日期: 1954年11月19日晚。

病史: 11月18日上午发病,下午检查体温升高 41.1°C ,呼吸粗而快,每分钟60次。精神不振,食欲减退,被毛粗乱,便秘。眼结膜潮红,口粘膜苍白呈青色。19日上午检查,体温 39.8°C ,呼吸36次,脉搏176次,全身震战,耳部及体表均见充血性红斑,如大姆指头大,

另在腹股沟间皮肤,亦发现约大拇指头大的充血斑数块,呈紫红色,触之有热感。午前曾食麸皮汤约半脸盆。下午检查,体温 39.1℃,脉搏 168 次,呼吸 34 次,其他症状同前,当日夜间死亡。

20 日早晨 10 时解剖,眼、鼻、口粘膜正常。皮下无出血,血液凝固良好,尸僵正常。淋巴结充血呈紫红色。喉头粘膜轻度充血,气管粘膜充血并有大量粉红色泡沫。心脏不肿大,心耳有少量小点出血,瓣膜正常,心血凝固。胸腔有积水,并有酸败臭味,呈稻草黄色。肝脏肿大,肝组织间隙发生混浊肿胀,呈灰黄色,胆囊正常。胃大弯部粘膜充血。肠道全部发炎增厚,尤以大肠及直肠较重,大肠内有如粟粒大之溃疡,边缘稍凸起。膀胱正常。肾脏肿大,皮质部有出血点,小如针尖大。脾脏肿大厚而长,约 35~40 公分,脾小梁景象模糊,质软如泥。

二、细菌学鉴定

甲、显微镜检查:以实质器官组织脾脏、肝脏、肾脏等制作抹片,用瑞特氏染色法染色后,置显微镜下观察,见有细长的、直的或弯曲的小杆菌,呈单个、人字形或丛状排列。

乙、细菌培养及形态观察:以武威寄来的病理材料脾脏、肝脏、淋巴结等,各接种普通肉汤、普通琼脂、鲜血琼脂和厌气肉肝汤等培养基,置 37℃ 恒温箱内,培养 18~24 小时检查,除普通琼脂未生长外,其他培养物生长发育情况如下:

厌气肉肝汤:呈轻微混浊,无气体产生。

普通琼脂:无生长。

普通肉汤:呈轻微混浊,不形成壁环及菌膜,经 72 小时培养后,则肉汤上三分之二变为清朗透明,并在管底部形成灰尘样沉淀,震荡试管,沉淀物浮起且容易破碎。

鲜血琼脂: 在鲜血琼脂斜面上,形成凸起、表面光滑、边缘整齐、针尖大的、灰白色细小菌落。

以上培养物,经染色后显微镜观察,该菌为革兰氏阳性,无运动力,不形成芽胞及荚膜,呈细小,正直或弯曲的杆菌。呈单个、钝角或丛状排列。

丙、生化特性: 以18~24小时鲜血琼脂培养菌,接种下列各种培养基,作生化特性试验。

糖发酵试验: 葡萄糖、单奶糖、果糖(左旋)、乳糖、甘露糖、木胶糖产酸不产气。麦芽糖、棉实糖和阿拉伯胶糖培养24小时微产酸,48小时后培养基恢复原来颜色。蔗糖、糊精、卫茅醇、鼠李糖、菊淀粉及杨苷培养两周后无作用。

牛乳培养基: 培养三日后微产酸。

靛基质试验: 阴性。

硝酸盐还原试验: 不还原硝酸盐为亚硝酸盐。

硫化氢试验: 不产生。

M. R. 试验: 阴性。

V. P. 试验: 阴性。

产氨试验: 阳性。

过氧化氢酶试验: 阴性。

美兰还原试验: 阴性。

马铃薯培养基: 不生长。

筋胶培养基:

筋胶倾注培养: 筋胶倾注培养中,培养48小时后,在筋胶培养基深部,形成雪花片状之菌

落,在低倍显微镜下观察,菌落中央呈粗颗粒状结构,周围为丝网状区,呈分枝状,向四周辐射。

筋胶穿刺培养: 在培养基表面稍下处开始生长,10日后,呈试管刷状之生长,但不液化筋胶。

三、 抗猪丹毒免疫血清保护性试验

用已知之抗猪丹毒免疫血清,与可疑或未知之猪丹毒细菌注射于鸽子或小白鼠体内,进行抗猪丹毒免疫血清之特异性保护试验,观察(证明)抗猪丹毒免疫血清对猪丹毒细菌的保护性能,以鉴别可疑菌株或未知菌株是否为猪丹毒杆菌。

试验方法: 用健康成年鸽六只,各注射抗猪丹毒免疫血清0.3毫升,经24小时后,再注射18~24小时培养之可疑猪丹毒细菌培养物0.2毫升;同时用健康成年鸽三只作对照,仅注射可疑猪丹毒细菌培养物0.2毫升,共同观察其存活或死亡情况。若试验组鸽子全部健活,而对照组鸽子全部死亡,即可证明该可疑菌株为猪丹毒杆菌,试验结果见附表。

抗猪丹毒免疫血清特异性保护试验结果表明,武威县死猪病理材料中(脾脏、肝脏、淋巴结等)分离出的细菌,不能致死注射过抗猪丹毒免疫血清之试验组鸽群;而能致死未注射过抗猪丹毒免疫血清之对照组鸽群,因此从武威县病死猪分离出的细菌,鉴定为猪丹毒杆菌,本例猪病确诊为由猪丹毒杆菌引起的猪丹毒症。

四、 对 实 验 动 物 之 致 病 力

用由脾脏分离之猪丹毒杆菌,接种于普通肉汤,置37℃温箱培养

附表：抗猪丹毒免疫血清保护性试验

试验组别		试 验 组						对 照 组		
试验类别	试验编号	P1号	P2号	P3号	P4号	P5号	P6号	P7号	P8号	P9号
体重 (克)		440	430	441	442	435	455	412	423	451
注射方法与部位		胸肌肌肉注射	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左	同左
抗猪丹毒免疫血清注射量 (毫升)		0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	—	—	—
经 24 小 时 后										
可疑菌株营养肉汤培养物 (毫升)		0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
观察时间或日期(天)		30	30	30	30	30	30	66小时	68小时	71小时
观察结果		健活	同左	同左	同左	同左	同左	死亡	死亡	死亡

注：“—”未注射抗猪丹毒免疫血清

18~24 小时,接种下列实验动物,进行致病性试验。

- 1、小白鼠两只: 皮下接种肉汤培养物0.1 毫升,一只于70 小时死亡,另一只于80 小时死亡。
- 2、鸽子两羽: 胸部肌肉接种肉汤培养物0.1 毫升,一羽于54 小时死亡,另一只于60 小时死亡。
- 3、天竺鼠两只: 皮下接种肉汤培养物0.5 毫升,观察一月尚健活。

于以上死亡之小白鼠和鸽子的心血、肝脏、脾脏等脏器组织中均分离出猪丹毒杆菌纯培养物。

五、猪丹毒的预防和治疗

本病的有效预防是在春、冬两季,对未发病或安全区的猪只接种猪丹毒氢氧化铝甲醛菌苗,每只猪耳根皮下注射5 毫升,经三周后再进行第二次接种,可获得可靠的免疫力,免疫期可达5~7 个月。

对病猪早期应用青霉素和磺胺噻唑钠治疗,有良好效果。

参 考 文 献

1. 盛彤笙译:兽医细菌学(中册). 中国畜牧兽医学会出版部发行,1944 年
2. 盛彤笙,朱晓屏著:兽医细菌学实习指导(第二版). 国立兽医学院出版组发行,1948 年
3. 杜世杰译:怎样预防猪丹毒病
4. 夏鸿业译:兽医微生物学实验. 高等教育出版社,1953 年
5. 廖延雄编:兽医微生物实验诊断讲义

羊快疫实验诊断报告

(1955 年)

王焕新

(甘肃省畜牧厅兽医诊断实验室)

1955 年 8 月,国营甘盐池牧场,邮寄来羊病理材料(血液、肝脏、脾脏、肾脏和淋巴结等)两份,要求作病原菌检验。从病理材料(血液、肝脏、脾脏)中分得革兰氏阳性、能运动的、有芽胞的大杆菌两株,对分离菌株进行了培养特性、生化特性和生物学特性等试验,鉴定为腐败梭菌(*clostridium septicum*),由此诊断两只死亡羊是该菌所致的羊快疫。兹将有关两病例的临床表现、病理解剖变化和病原菌鉴定结果报导,供参考和指正。

一、 病史、病状和病理解剖变化

病例一: 绵羊,新蒙二代,公羊,两岁。

病史及临床症状: 该羊于 1955 年 8 月 6 日上午剪毛后突然发病,腹部膨胀不甚安静,拱腰起卧示腹疼,行走时两后腿弯曲,体温 39.3°C ,后降至 38.8°C ,肛门附近染有稀粪,颜色正常。心跳快而弱,脉搏快如颤动。呼吸困难而深长,呼气时带哼声。肠蠕动极微弱,表面粘膜渐显贫血,继之,腹部逐渐增大,精神极端萎顿,不久即倒地死亡。发病至死亡约五小时。

尸体解剖变化: 尸体臃胀,肛门因腹内阴压增加而突出,腐败甚速具恶嗅,眼结膜苍白。剖开腹腔,腹水深红色,约千余毫升。第一胃及全部肠管极度膨胀,盲肠尤甚,并呈黑红色,肠道浆膜大块淤血,肠系膜充血黑红色,肠系膜淋巴结黑红色。肠粘膜呈弥漫性黑红

色,内容物红色。肝脏胆囊肿大约三倍。脾脏肿大,充血质地脆软。肺脏正常。右心室内膜有出血斑痕一处,左心室内膜散布大小不等的出血斑。

病例二: 绵羊新蒙二代,公羊,老满口。

病史及临床症状: 8月18日午后放牧归圈时,未见异常表现,19日早晨死于圈内。

尸体解剖病理变化: 患羊尸体营养情况尚佳,外表检查,眼结膜有紫红色出血斑,腹部臌气甚剧,肛门突出并流出少量带有气泡状的粘液。剖开腹腔,有少量红色腹水,具恶臭。肠、胃高度臌气,肠系膜血管内有大量气泡及凝血条,肠系膜有出血斑,大如铜币。第四胃呈出血性炎症。肝脏呈暗青色甚脆软。脾脏肿大,边缘钝厚,并有出血点,质地软呈黑红色。肾脏软化与包膜粘连,肺脏水肿间质增厚。心外膜散布出血点。

二、细 菌 学 检 验

自两例死亡羊的心血、脾脏、肝脏等实质器官中,均分离出革兰氏阳性,短粗有芽胞的大杆菌,其培养特性、生化特性和对实验动物的致病力分述如下:

(一) 形态染色和培养特性:

对氧气的需要: 不需氧严格厌氧。

普通肉汤: 不生长。

普通琼脂: 不生长。

熟肉基培养基: 培养24~48小时后,培养基变为淡红色,产气而不消化。

厌气肉肝汤: 培养18~24小时后,生长旺盛呈均匀一致混浊,并产生大量气体,两昼夜后生长逐渐停止,

培养基变清朗，管底有粉末状沉淀。

Seissler 氏葡萄糖血液琼脂：培养 24 小时后，该菌发育成无色的、薄膜样、蔓延扩展的、边缘不齐的花纹斑的生长、菌苔周围呈清晰的溶血现象。

血清琼脂高层培养：菌落呈圆形的絮状生长。

培养菌以革兰氏染色法镜检，为革兰氏阳性，独立散在、两端钝圆、中央膨大有芽胞之短粗大杆菌，芽胞位于中央或偏于一端，本菌能运动，不产生荚膜。

（二）生化特性：

I. 糖发酵试验：本菌能发酵葡萄糖，单奶糖、果糖、乳糖、麦芽糖及杨甘产酸产气；对甘油，甘露醇、卫茅醇、鼠李糖、菊糖及蔗糖无作用。

II. 牛乳培养基：培养两周后，始渐产酸凝固，并部分胨化和产生气体。

III. 筋胶培养基：于五日内液化筋胶。

IV. Loeffler's 凝固血清：在此培养基生长良好，培养三周后仍不液化。

V. Hibler's 脑培养基：培养三周后生长良好，但不使培养基变黑。

（三）对实验动物之致病力：

以分离菌株的 18 小时厌气肉肝汤纯培养物，接种小白鼠、海豚、家兔及鸽子各两只，结果如下：

1. 小白鼠：腹腔接种培养物 0.25 毫升，于 18 小时左右死亡。
2. 海豚：肌肉注射 0.5 毫升培养物，结果同上。
3. 鸽子：肌肉注射 0.25 毫升培养物，结果同上。

4. 兔 子： 肌肉注射1毫升培养物，结果同上。

死亡海豚的解剖病理变化，注射部位及周围的被毛极易脱落，皮肤呈显粉红色或紫红色，压之有捻发音，易与肌肉剥离，有大量粉红色液体及气泡，具特异臭味；肌肉呈粉红色或深红色，有大量浆液性出血性浸润，并杂有气泡，特别是鼠蹊部肌肉尤甚，肠膨胀，肠粘膜呈现程度不同的炎症。肝脏极度肿大呈灰色。脾脏肿大，边缘呈紫红色。胸腔内有多量红色渗出液，肺脏呈轻度气肿色较淡，心脏微肿大。

于死亡海豚的肝脏、脾脏、肠系膜淋巴结及注射部位的渗出液中，均分离出纯培养物。死亡豚鼠的肝脏触片，腹膜浆膜面触片中，染色后镜检，本菌菌体呈长链或特长链状排列，此乃本菌的一大特点。

三、预 防 和 治 疗

羊快疫的预防应用肠毒血症、羊快疫，猝狙三联菌苗，不论羊只年龄大小，均皮下或肌肉注射5~10毫升。免疫期可维持6~8个月。

药物治疗可试用青霉素及磺胺类药物。据Long及Bliss两氏的试验报告，sulfanilamide治疗该病效果极佳，牛马20~45克，分作两剂，每4小时口服一次。小家畜每体重一磅，用药一英厘但不可超过60~70英厘，服法与大家畜相同。

四、讨 论 和 结 论

羊快疫是一种急性和伴发性的传染病，其主要特征是胃和十二指肠肠粘膜呈现出血性炎症。主要流行于秋末和冬季。以一岁的绵羊较易感染，羔羊和三岁以上者则感染较少。发病后病程短促，往往死于数小时内，无明显之症状。但病程较慢性者，可见病畜呈昏迷状态，磨蹭、呼吸困难，迅即死亡。亦有表现口流泡沫性液体及剧烈腹疼。尸

体剖检病理变化最明显者,为消化道及实质器管的炎症变化。

本文所述之死亡羊病例,发病羊年龄为两岁和两岁以上,发病季节为八月中秋季节,特别是 I 号病羊为刚剪毛后突然发病,以及尸体解剖变化的主要病变为胃、肠消化道和肝脏、脾脏等实质器管,与羊快疫的流行病学及其发病诱因诸多方面相一致,病理变化特点也与羊快疫死亡病畜的尸体中或实验感染动物的肝脏及腹膜表面的触片中,显微镜检查,细菌菌体呈长链状之排列之特征相符合。两例死亡羊的病是由腐败梭菌感染之羊快疫所致。

参 考 文 献

1. 罗清生编:家畜传染病学. 1948 年版
2. Frany Hutrya 等:Special pathology Therapeutics of the disease of domestic animals
3. 翟三性译:羊快疫. 畜牧与兽医, 1955 年第一期
4. 杨本升等译:麦氏兽医细菌学. 1948 年第一版
5. 房晓文:内蒙古羊猝狙及羊快疫病原诊断报告. 畜牧兽医学报, 第一卷, 第一期, 19—31 页, 1956 年