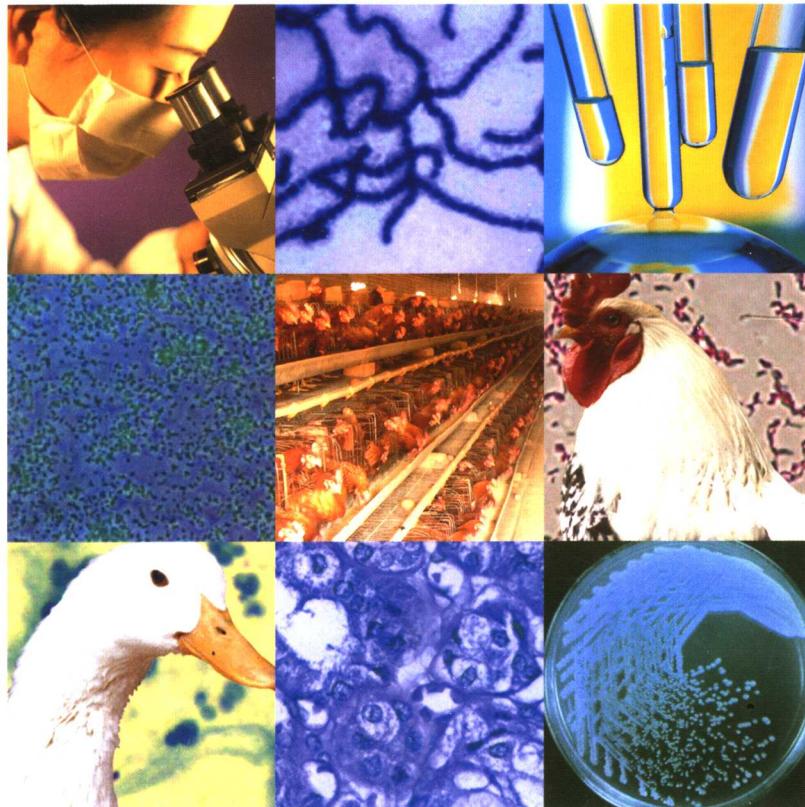


农业生物技术系列

禽传染病 实验诊断技术

马兴树 编著

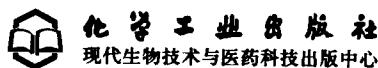


化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

农业生物技术系列

禽传染病实验诊断技术

马兴树 编著



· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

禽传染病实验诊断技术 / 马兴树编著 . —北京：化学工业出版社，2005.12

(农业生物技术系列)

ISBN 7-5025-8042-5

I. 禽… II. 马… III. ①禽病：流行性感冒-实验室诊断②人畜共患病：
流行性感冒-实验室诊断 IV. ①S858.3②R511.704

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 150234 号

农业生物技术系列

禽传染病实验诊断技术

马兴树 编著

责任编辑：梁静丽 邵桂林

责任校对：李 林

封面设计：关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询：(010)64982530

(010)64918013

购书传真：(010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 31 1/2 彩插 2 字数 782 千字

2006 年 2 月第 1 版 2006 年 2 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8042-5

定 价：72.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者，本社发行部负责退换

序

近十多年来，我国养禽业发展十分迅速，家禽的存栏量、屠宰量和禽产品的生产量均居世界前列，目前养禽业已成为农业经济的重要构成部分，并且是农民奔小康的有效途径。

我国养禽业的发展具备很多有利条件，如具有丰富的饲料资源、优良的品种资源以及劳动力资源，但养殖模式和结构急需调整，以加快适应国内和国际市场的需求。当前疾病问题是困扰养禽业的特别受关注的重大问题，而疾病的诊断技术在我国尚需普及与提高。为此，本书作者积多年在兽医微生物学、免疫学与传染病学的教学、科研与生产的实际经验，根据广大畜牧兽医站、养禽场、大专院校兽医诊断室以及商检等单位的需要，特编写了本书，其内容包括细菌学、病毒学、免疫学和病理学的实验诊断技术以及 40 多种禽病的诊断方法。应特别指出的是，本书的可操作性很强，既有实验诊断所需的基本条件与实验的理论基础，又有详细的图表解说，深入浅出，图文并茂，实为禽病工作者的重要参考资料，相信它将对禽病诊断与防治工作有所帮助。愿为其作序。

中国农业大学 教授

郭玉璞

前　　言

知识的精髓在于获取，更在于应用和创新。有效防治禽传染病的前提是科学准确的诊断及实验室各种诊断技术的综合运用。禽传染病的确实诊断虽可采取询问病史（流行病学调查）、临诊检查（症状观察和尸体剖检）等形式，但最可靠的诊断是将待检样品送往实验室查明病原体。实验室检验可用于：①检测与疾病发生有关的病原或毒素；②检测禽群对病原产生的抗体及其滴度；③评估禽群对免疫接种的血清学应答；④验证疾病控制及根除程序的进度和成效；⑤研究疾病的发病机理。由于禽群多为密集、大群饲养，故传染病的诊断与控制要比其他家畜更显得重要。针对特定传染病而进行的试验选择，除取决于送检样品的质量、类型及实验室条件外，试验费用、速度及操作者的素质亦应考虑。有些试验（如细菌或病毒的分离）只有阳性和阴性结果；有些试验（如血清学试验）则产生定量结果，且在禽群间或个体间常存在差异。而微生物学家、病理学家与临床兽医工作者甚至政府官员间的合作对提高疾病诊断的准确性具有重要意义。如何充分利用相对有限的常规设备进行禽传染病诊断并对试验结果给予正确解释，并不意味着仅仅是添置仪器设备，而是着重解决配套的诊断试剂研发和有综合判断能力的技术队伍建设。为此，我们编著了《禽传染病实验诊断技术》一书。

全书共三篇十六章。上篇为禽病实验室诊断技术，包括第一章至第九章，即实验室工作基本技术、培养基的制造与应用、细菌的分离培养及鉴定、细菌 DNA G+C 含量的测定、药物敏感试验、病毒的分离培养及鉴定、杀病毒试验、血清学试验、免疫球蛋白的分离及单克隆抗体技术；中篇为禽病的病理学诊断技术，包括第十章至第十三章，即尸体剖检技术、眼观病理标本的制作技术、病理组织切片制作技术和常见禽病的尸体剖检诊断；下篇为常见禽传染病的实验室诊断，包括第十四章至第十六章，即细菌病的实验室诊断、病毒病的实验室诊断和其他微生物病的实验室诊断。

编著本书旨在阐述诊断禽病的实验室基本操作技术，满足禽病工作者、大专院校师生，全国广大兽医站、动物检疫站、口岸动植物检疫局、动物园、实验动物场的兽医及养禽生产者对禽病实验室诊断技术的需要。本书对禽病实验室常用药品、器械、基本操作技术、试验原理和步骤作了详细的描述，特别是对试验的适用范围、结果判定、可替代的操作程序及易犯错误给予了精辟诠释。

本书是我们从事兽医微生物学、免疫学及禽传染病学教学、科研及生产实践 20 余年来的经验总结，从资料收集整理、拟定提纲直至草稿打印，数易书稿，然则常有“今年所作、明年必悔”之感，几近搁浅，期间幸得河北工程大学宋勤叶博士、呼秀智副教授、米青荣高级实验师及农业部全国畜牧兽医总站质量标准与加工处辛盛鹏博士等同志的无私帮助和支持，远在美国 Auburn 大学的同志民教授常常来电询及此事，给予鼓励，使我信心倍增，终于经十余载寂寞熬出了这本拙著，倘能对我国从事禽传染病实验诊断工作的同志有所裨益，作者由衷地感到欣慰！在此谨向为本书付出辛勤劳动的同事和朋

友致以最诚挚的感谢！

本书虽经作者反复核实校对，但因全书涉及面较广，更限于作者水平，些许疏忽或遗漏甚至错误之处在所难免。恳请广大读者给予指正。

最后，承蒙我国禽病学界前辈、著名禽病学家、中国畜牧兽医学会禽病学分会名誉理事长、中国农业大学教授、博士生导师郭玉璞先生为本书作序，谨致作者最衷心的感谢！

马兴树 谨识

2006年1月

目 录

上篇 禽传染病实验室诊断技术

第一章 实验室工作基本技术	3
第一节 实验室工作注意事项及防护处理	3
一、实验室工作注意事项	3
三、意外事件的预防和处理	4
第二节 常用药械的准备及使用方法	5
一、常用器材和药品	5
二、物品订购、贮藏及财产登记	8
三、常用仪器设备的使用方法	9
第三节 菌(毒)种保存法及保存培养基	21
一、菌(毒)种保存法	21
二、菌(毒)种保存培养基	23
第四节 其他技术	24
一、冻干菌(毒)种的启封	24
二、棉塞的制作	25
三、移液管的包装	25
四、使用吸管的技术	25
参考文献	26
第二章 培养基的制造与应用	27
第一节 培养基的分类	27
一、以成分区分	27
二、以形态区分	27
三、以用途区分	28
第二节 制造培养基前的准备	29
一、常用玻璃器皿的准备	29
二、原材料的准备	30
第三节 培养基制造程序	36
一、材料用量的计算	36
二、培养基的制造记录	36
三、投料、配制	36
四、培养基 pH 的调节	37
五、过滤和分装	43
六、培养基的灭菌和贮存	44
七、培养基的质量检验	47
参考文献	48
第三章 细菌的分离培养及鉴定	49
第一节 病料的采集和运送	49
一、采集病料的注意事项	49
二、采集病料的方法	49
三、病料的运送	50
第二节 细菌的分离培养	51
一、待检材料的处理	51
二、分离培养注意事项	52
三、细菌的分离和接种	53
四、细菌的培养方法	55
五、获取纯菌的方法	57
六、细菌计数法	58
第三节 细菌的鉴定	60
一、形态学检查	60
二、培养特性检查	67
三、生化特性检查	71
四、细菌血清型鉴定及血清学试验	96
第四节 细菌毒力测定	97
参考文献	98
第四章 细菌 DNA G+C 含量的测定	100
一、细菌 DNA 的提取	100
二、细菌 DNA G+C 含量的测定——热变性温度法	101
参考文献	104
第五章 药物敏感试验	105
第一节 药物敏感试验的目的和原理	105
一、药物敏感试验的目的	105
二、药敏测定的原理	106
第二节 单价药物对细菌的药敏测定	106
一、试管两倍稀释法	106
二、微量稀释法	107
三、琼脂平板稀释法	108
四、药物纸片琼脂扩散法(纸片法)	108
五、Stokes 纸片比较法	116
六、影响药敏试验结果的因素	116
七、敏感度的划分及临床意义	117
八、药敏试验的改进	117
第三节 细菌对抗菌药物的联合药敏试验	118

一、纸片法	118	第三节 间接血凝试验	170
二、棋盘法	120	一、原理	170
三、联合药敏抗菌药物组合的选择	121	二、优点	171
第四节 药敏试验结果的评价与剂量计算		三、缺点	171
方法	122	四、醛化红细胞的制备	172
一、药敏试验结果的评价	122	五、间接血凝试验程序	173
二、剂量计算方法	122	第四节 沉淀试验	176
第五节 影印培养法测定最低杀菌浓度 (MBC)	122	一、琼脂凝胶沉淀试验 (AGPT)	176
参考文献	123	二、对流免疫电泳 (CIEP)	178
第六章 病毒的分离培养及鉴定	124	三、火箭免疫电泳 (RIE)	179
第一节 病毒的分离	124	第五节 中和试验	180
一、样品的采集与保存	124	一、常规中和试验	180
二、样品的处理	125	二、微量细胞培养中和试验	183
三、样品的接种	125	三、空斑减少试验	185
第二节 细胞培养技术	134	第六节 免疫酶技术	186
一、器材准备	134	一、免疫酶技术的分类	186
二、细胞培养用溶液的配制	136	二、免疫酶技术的原理	187
三、常用细胞培养物的制备	141	三、免疫酶技术的条件	187
四、细胞培养常见问题及解决方法	143	四、标记物的制备	188
五、细胞的保存、复苏及运送	145	五、酶底物的配制	192
六、细胞培养中污染的消除	146	六、检测方法	193
第三节 病毒的鉴定	147	七、常见免疫酶测定法	194
一、核酸类型鉴定	148	第七节 免疫荧光技术	200
二、脂溶剂敏感试验	150	一、IF技术的特点	201
三、病毒粒子大小测定	150	二、IF技术的必备条件	201
四、核衣壳的对称	152	三、荧光抗体的制备	202
五、病毒感染力的测定	153	四、荧光抗体染色法	204
六、其他方法	155	参考文献	208
参考文献	156	第九章 免疫球蛋白分离及单克隆抗体技术	210
第七章 杀病毒试验	158	第一节 免疫球蛋白的分离技术	210
第一节 杀病毒试验的条件	158	一、盐析法	210
一、试验病毒株的选择	158	二、离子交换层析法	211
二、灭活水平的确定	158	三、凝胶过滤法	213
三、对杀病毒试验的评估	159	第二节 免疫血清的制备、浓缩及保存	217
第二节 杀病毒试验的方法	159	一、免疫血清的制备	217
一、载体试验	159	二、免疫血清的浓缩	217
二、悬浮试验	161	三、免疫血清的保存	218
参考文献	163	第三节 鸡蛋黄 IgY 的制备与提纯	218
第八章 血清学试验	164	一、蛋黄的组成及形成	219
第一节 凝集试验	164	二、IgY 的性质	219
一、试剂准备	164	三、IgY 的免疫制备	220
二、几种常用的凝集试验	165	四、IgY 的提纯	220
第二节 血凝和血凝抑制试验	168	第四节 单克隆抗体技术	222
		一、McAb 的制备	222

二、McAb 的生产	226	参考文献	227
三、试剂配制	226		

中篇 禽病的病理学诊断技术

第十章 尸体剖检技术	231	四、脱水	259																										
一、尸检的目的	231	五、透明	260																										
二、尸检的时间、地点、用具及注意事项	231	六、浸蜡	260																										
三、尸检程序和方法	232	七、包埋	261																										
四、尸检记录	248	八、切片	261																										
参考文献	250	九、附贴	262																										
第十一章 眼观病理标本的制作技术	251	十、染色	263																										
一、标本的选择与清理	251	参考文献	266																										
二、非原色标本制作	251	第十三章 常见禽病的尸体剖检诊断	267																										
三、原色标本制作	253	参考文献	254	一、细菌性传染病	267	第十二章 病理组织切片制作技术	255	二、病毒性传染病	270	一、取材	255	三、其他微生物病	272	二、固定和固定液	256	四、寄生虫病	273	三、水洗	259	五、营养代谢病	273			六、中毒性疾病	275			参考文献	275
参考文献	254	一、细菌性传染病	267																										
第十二章 病理组织切片制作技术	255	二、病毒性传染病	270	一、取材	255	三、其他微生物病	272	二、固定和固定液	256	四、寄生虫病	273	三、水洗	259	五、营养代谢病	273			六、中毒性疾病	275			参考文献	275						
二、病毒性传染病	270																												
一、取材	255	三、其他微生物病	272	二、固定和固定液	256	四、寄生虫病	273	三、水洗	259	五、营养代谢病	273			六、中毒性疾病	275			参考文献	275										
三、其他微生物病	272																												
二、固定和固定液	256	四、寄生虫病	273	三、水洗	259	五、营养代谢病	273			六、中毒性疾病	275			参考文献	275														
四、寄生虫病	273																												
三、水洗	259	五、营养代谢病	273			六、中毒性疾病	275			参考文献	275																		
五、营养代谢病	273																												
		六、中毒性疾病	275			参考文献	275																						
六、中毒性疾病	275																												
		参考文献	275																										

下篇 常见禽传染病的实验室诊断

第十四章 细菌病的实验室诊断	279	第四节 鸭疫里默菌感染 (riemerella anatipestifer infection)	299																																																																														
第一节 沙门菌病 (avian Salmonellosis)	279	一、样品采集和保存	280	一、样品采集和保存	300	二、形态学镜检	280	二、形态学镜检	300	三、分离培养	280	三、分离培养	300	四、生化试验	282	四、生化特性	300	五、血清学诊断	282	五、血清学诊断	300	六、类症鉴别	288	六、类症鉴别	302	第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302	一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309
一、样品采集和保存	280	一、样品采集和保存	300																																																																														
二、形态学镜检	280	二、形态学镜检	300	三、分离培养	280	三、分离培养	300	四、生化试验	282	四、生化特性	300	五、血清学诊断	282	五、血清学诊断	300	六、类症鉴别	288	六、类症鉴别	302	第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302	一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309						
二、形态学镜检	300																																																																																
三、分离培养	280	三、分离培养	300	四、生化试验	282	四、生化特性	300	五、血清学诊断	282	五、血清学诊断	300	六、类症鉴别	288	六、类症鉴别	302	第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302	一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309										
三、分离培养	300																																																																																
四、生化试验	282	四、生化特性	300	五、血清学诊断	282	五、血清学诊断	300	六、类症鉴别	288	六、类症鉴别	302	第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302	一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309														
四、生化特性	300																																																																																
五、血清学诊断	282	五、血清学诊断	300	六、类症鉴别	288	六、类症鉴别	302	第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302	一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																		
五、血清学诊断	300																																																																																
六、类症鉴别	288	六、类症鉴别	302	第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302	一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																						
六、类症鉴别	302																																																																																
第二节 大肠杆菌病 (colibacillosis)	289	第五节 传染性鼻炎 (infectious coryza)	302																																																																														
一、样品采集和保存	289	一、样品采集和保存	302	二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																														
一、样品采集和保存	302																																																																																
二、形态学镜检	289	二、形态学镜检	303	三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																		
二、形态学镜检	303																																																																																
三、分离培养	290	三、分离培养	303	四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																						
三、分离培养	303																																																																																
四、生化特性	290	四、生化特性	304	五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																										
四、生化特性	304																																																																																
五、血清学鉴定	290	五、血清学诊断	304	六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																														
五、血清学诊断	304																																																																																
六、类症鉴别	296	六、类症鉴别	306	第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306	一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																		
六、类症鉴别	306																																																																																
第三节 禽霍乱 (fowl cholera)	296	第六节 葡萄球菌病 (staphylococcosis)	306																																																																														
一、样品采集和保存	296	一、样品采集和保存	307	二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																										
一、样品采集和保存	307																																																																																
二、形态学镜检	297	二、形态学镜检	307	三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																														
二、形态学镜检	307																																																																																
三、分离培养	297	三、分离培养	307	四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																																		
三、分离培养	307																																																																																
四、生化特性	298	四、生化特性	308	五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																																						
四、生化特性	308																																																																																
五、血清学诊断	298	五、血浆凝固酶试验	309	六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																																										
五、血浆凝固酶试验	309																																																																																
六、类症鉴别	299	六、血清学诊断	309																																																																														
六、血清学诊断	309																																																																																

七、动物试验	309	第十三节 结核 (tuberculosis)	335
八、类症鉴别	310	一、样品采集和处理	335
第七节 链球菌病 (streptococcosis)	310	二、形态学镜检	336
一、样品采集和保存	310	三、分离培养	337
二、形态学镜检	311	四、生化特性	337
三、分离培养	311	五、血清学诊断	338
四、生化特性	312	六、结核菌素试验	339
五、血清学诊断	313	七、类症鉴别	339
六、类症鉴别	314	第十四节 波氏杆菌病 (Bordetellosis)	339
第八节 铜绿假单胞菌病 (infection of <i>pseudomonas aeruginosa</i>)	314	一、样品采集和保存	340
一、样品采集	314	二、形态学镜检	340
二、形态学镜检	314	三、分离培养	340
三、分离培养	314	四、生化特性	341
四、生化特性	315	五、血清学诊断	341
五、血清学诊断	316	六、类症鉴别	343
六、动物试验	316	参考文献	343
七、类症鉴别	317	第十五章 病毒病的实验室诊断	345
第九节 弯曲杆菌病 (campylobacteriosis)	317	第一节 禽流感 (avian influenza)	346
一、样品采集和保存	317	一、样品采集和保存	346
二、形态学镜检	318	二、分离培养	347
三、分离培养	318	三、形态结构	348
四、生化特性	319	四、理化特性	349
五、血清学诊断	320	五、血清学诊断	351
六、类症鉴别	320	六、类症鉴别	358
第十节 梭状芽孢杆菌病 (clostridiosis)	320	第二节 新城疫 (newcastle disease)	359
一、坏死性肠炎 (necrotic enteritis)	320	一、样品采集和处理	359
二、溃疡性肠炎 (ulcerative enteritis)	323	二、分离培养	360
三、坏疽性皮炎 (gangrenous dermatitis)	324	三、形态结构	360
四、肉毒中毒 (botulism)	325	四、理化特性	361
第十一节 李氏杆菌病 (Listeriosis)	329	五、病型和毒力测定	361
一、样品采集和处理	330	六、血清学诊断	365
二、形态学镜检	330	七、类症鉴别	367
三、分离培养	330	第三节 传染性法氏囊病 (infectious bursal disease)	368
四、生化特性	331	一、样品采集和保存	369
五、血清学诊断	332	二、分离培养	369
六、类症鉴别	332	三、形态结构	370
第十二节 丹毒 (erysipelas)	332	四、理化特性	371
一、样品采集和保存	333	五、血清学诊断	371
二、形态学镜检	333	六、类症鉴别	376
三、分离培养	333	第四节 传染性支气管炎 (infectious bronchitis)	377
四、生化特性	334	一、样品采集和保存	378
五、血清学诊断	334	二、分离培养	378
六、类症鉴别	335		

三、形态结构	379
四、理化特性	379
五、血清学诊断	380
六、类症鉴别	382
第五节 禽传染性喉气管炎 (infectious laryngotracheitis)	382
一、样品采集和保存	382
二、分离培养	383
三、形态结构	383
四、电镜观察和病理组织学检查	384
五、理化特性	384
六、血清学诊断	384
七、类症鉴别	387
第六节 病毒性关节炎 (viral arthritis)	387
一、病料采集和保存	387
二、分离培养	387
三、形态结构	388
四、理化特性	388
五、血清学诊断	389
六、类症鉴别	392
第七节 鸡传染性贫血 (chicken infectious anemia)	392
一、样品采集和保存	393
二、分离培养	393
三、形态结构	393
四、理化特性	394
五、组织病理学诊断	394
六、血清学诊断	394
七、类症鉴别	396
第八节 禽痘 (avian pox)	397
一、病料采集和保存	397
二、分离培养	397
三、形态结构	398
四、理化特性	398
五、包涵体检查	399
六、血清学诊断	399
七、类症鉴别	400
第九节 腺病毒感染 (avian adenovirus infection)	400
一、蛋减综合征-1976(egg drop syndrome-1976)	401
二、包涵体肝炎 (inclusion body hepatitis)	405
三、鹌鹑支气管炎 (quail bronchitis)	407
四、火鸡出血性肠炎 (hemorrhagic enteritis of turkeys)	408
第十节 禽脑脊髓炎 (avian encephalomyelitis)	409
一、样品采集和保存	410
二、分离培养	410
三、形态结构	410
四、理化特性	410
五、血清学诊断	411
六、病理组织学诊断	412
七、类症鉴别	412
第十一节 禽白血病 (avian leukosis)	413
一、样品采集和保存	414
二、分离培养	414
三、形态结构	415
四、理化特性	416
五、血清学诊断	416
六、类症鉴别	420
第十二节 马立克病 (Marek's disease)	421
一、样品采集和保存	421
二、分离培养	422
三、形态结构	423
四、理化特性	423
五、毒株分类	424
六、血清学诊断	424
七、类症鉴别	427
第十三节 网状内皮组织增生病 (reticuloendotheliosis)	428
一、样品采集和保存	428
二、分离培养	428
三、形态结构	429
四、理化特性	429
五、血清学诊断	429
六、类症鉴别	431
第十四节 鸭瘟 (duck plague)	431
一、样品采集和保存	431
二、分离培养	432
三、形态结构	432
四、理化特性	433
五、血清学诊断	433
六、类症鉴别	435
第十五节 鸭肝炎 (duck hepatitis)	435
一、样品采集和保存	436
二、分离培养	436

三、形态结构	437	五、类症鉴别	456
四、理化特性	437	参考文献	456
五、血清学诊断	437	第十六章 其他微生物病的实验室诊断	461
六、类症鉴别	439	第一节 禽支原体病 (avian mycoplasmosis)	461
第十六节 小鹅瘟 (gosling plague)	440	一、样品采集和保存	462
一、样品采集和保存	440	二、形态学镜检	463
二、分离培养	440	三、分离培养	463
三、形态结构	441	四、生化特性	465
四、理化特性	441	五、血清学诊断	465
五、血清学诊断	441	六、类症鉴别	471
六、类症鉴别	444	第二节 禽衣原体病 (avian chlamydiosis)	473
第十七节 雏番鸭细小病毒病 (muscovy duckling parvovirus)	444	一、样品采集和保存	473
一、样品采集和保存	445	二、形态学镜检	474
二、分离培养	445	三、分离培养	476
三、形态结构	446	四、种株鉴别	477
四、理化特性	446	五、血清学诊断	478
五、血清学诊断	446	六、类症鉴别	482
六、类症鉴别	449	第三节 螺旋体病 (spirochetosis)	483
第十八节 禽轮状病毒感染 (avian rotavirus infection)	450	一、样品采集和保存	483
一、样品的采集和保存	450	二、形态染色	483
二、分离培养	450	三、分离培养	484
三、形态结构	451	四、血清学诊断	484
四、理化特性	452	五、类症鉴别	485
五、血清学诊断	453	第四节 真菌病 (mycoses)	485
六、电镜技术	453	一、禽曲霉菌病 (avian aspergillosis)	
七、聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)	453	概述	485
八、类症鉴别	454	二、样品采集	485
第十九节 禽肾炎 (avian nephritis)	454	三、显微镜检查	486
一、样品采集与保存	455	四、分离培养	486
二、分离培养	455	五、动物试验	488
三、形态结构与理化特性	455	六、血清学诊断	488
四、血清学诊断	456	七、类症鉴别	488
		参考文献	489

禽传染病实验室诊断技术

- 第一章 实验室工作基本技术
- 第二章 培养基的制造与应用
- 第三章 细菌的分离培养及鉴定
- 第四章 细菌 DNA G+C 含量的测定
- 第五章 药物敏感试验
- 第六章 病毒的分离培养及鉴定
- 第七章 杀病毒试验
- 第八章 血清学试验
- 第九章 免疫球蛋白分离及单克隆抗体技术

第一章 实验室工作基本技术

第一节 实验室工作注意事项及防护处理

一、实验室工作注意事项

作为禽传染病诊断实验室的工作人员，应该有身在手术室的精神状态，遵守实验室规则，防止污染，这是要求终身养成的习惯。禽传染病实验诊断工作的主要对象是病原微生物，实验人员在工作过程中常有被感染的可能，必须注意安全，并遵守下述注意事项。

① 工作时应穿好工作服，必要时还应戴口罩、工作帽、胶靴、围裙、袖套、手套、眼镜。工作服应放置在指定的地方，切勿随意带到别处，且需随时更换、洗涤及消毒。

② 当致病性细菌材料污染台面、地面、衣着或器械时，应立即用3%煤酚皂溶液或0.1%升汞溶液消毒。如手指及皮肤被污染，应立即用2%~3%来苏尔或其他消毒药洗涤，或用酒精棉球及碘酒擦拭；如溅入眼中，应立即用5%硼酸溶液冲洗；吸人口中时可用1%硼酸溶液漱口；被污染的衣帽可用5%石炭酸、10%中性福尔马林等浸湿消毒；桌面、地板或土地被污染时，应用5%石炭酸或10%中性福尔马林或其他消毒药沾湿布片覆盖，经数小时后拭去洗净，或倾注多量药液，使其充分湿透。

③ 病料化验要体现快而准的原则，采集或接到病料时应尽可能及时进行检查和病原分离培养。作细菌学检查的病料冬季在室温下不得超过2d，夏日不得超过1d，需暂时放入冰箱时，病料中不得加防腐消毒剂。供血清学检查待分离血清的血液，一般不加防腐剂。

④ 实验室应经常保持清洁、整齐、安静，禁止在室内吸烟、饮食，勿以手指或其他器械接触口唇、眼、鼻及面部。操作时必须严肃认真、聚精会神。如要求严格时，应在无菌室（经紫外线消毒）或超净工作台中进行。除平时进行一般打扫外，每隔一星期应大扫除一次。

⑤ 接种环或接种针每次使用前后，必须通过火焰烧红灭菌，待冷却后，方可接种培养物，以免将待检的细菌灭杀，影响效果。使用后，亦需烧灼灭菌；含菌量多或含油质培养物时，需先浸入消毒药水中洗一下，再行烧灼灭菌，以免爆散。吸取菌液时，必须用加有橡皮吸头的吸管，切勿直接用口吸取。吸管下端使用前亦需通过火焰灭菌，这样较为可靠。

⑥ 实验完毕，整理桌面，两手应用肥皂和水洗净，必要时先用苏尔（浓度不低于3%）消毒，然后用水冲洗。需消毒的器皿置消毒盘内，已接种好的培养基置培养箱中。显微镜用毕拭净放入箱内。同时应做好实验记录，如病禽脏器的剖检变化，细菌及病毒的各种化验结果等，都应如实填写和记录。

⑦ 试验后的鸡胚应煮沸消毒0.5h以上；实验动物尸体焚化；小白鼠排泄物及鼠缸内垃圾经103kPa(15磅)15min高压灭菌或焚烧；家兔、豚鼠粪尿混合物1份加漂白粉5份，充分搅拌，消毒处理2h。

⑧ 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，在实验中注意药品（特别是易燃、易爆物品）的存放，节约水电。离开实验室时应对自来水、电

源、煤气、门窗等检查一遍，注意安全。

二、意外事件的预防和处理

从事实验室工作的人员必须认真细致，如不小心就有遭遇意外危险的可能，如剖检感染动物和检验细菌标本时受感染，不慎吸入菌液或腐蚀性毒物，发生烫伤或割伤等。这类事件多发生于缺乏经验或初从事实验室工作的人员。有时因谈话或其他事务分心，思想不集中，即使有经验的工作者，亦有可能发生意外。为避免临时慌张，熟悉预防与处理方法实为必要。

(一) 意外事件的预防

1. 重要设备及精密仪器

温箱、冰箱（柜）、干燥箱、离心机、高压蒸汽灭菌器、显微镜、分析天平等应注意保护，使用前应熟悉使用方法及注意事项，并经常检查，如有损坏，立即修理，以免发生危险。精密仪器应由专人负责。

2. 对有毒及传染性物质的操作

① 强酸、强碱及活菌液应以移液管、滴定管、注射器、量筒计量，如用吸管吸取时，可将吸管的吸口塞以棉花，或用细软橡皮管（球）套于管端，以免吸取液直接接触吸球。

② 研磨病料或接种细菌时，应于接种橱、无菌室或超净工作台中进行。

3. 废品及污物的处理

① 化学药品的废液应倒入池中，但强酸必须用水冲淡后再行倒入，废弃固体物置污物桶中。如培养标本需暂时保留的，必须罩好。注意严格防止污染下水道。

② 细菌污染的废物、检验标本、培养物以及污染的玻璃器皿等，应放入盛有消毒药的桶内过夜，再用高压蒸汽灭菌消毒，或用水煮沸后，再清洗。污染用具（如吸管、玻片等）置盛有5%苯酚溶液的消毒缸中，消毒后再行洗涤；试管、平皿等需高压灭菌或煮沸消毒后再行洗涤。

③ 实验工作服应经常消毒洗涤，实验台（桌）工作后以3%来苏尔或0.2%过氧乙酸湿布擦抹消毒，这对抵抗力较强的病毒作用效果较好。

4. 易燃物品

醚、醇、二甲苯等易燃物品必须远离可能发生燃烧的地方。实验室中应该有防火设备，如灭火器、沙土等。

5. 水、电、门、窗

工作人员每天离开实验室前必须检查一次水、电、门、窗。闲人不能随便出入实验室，尤其是细菌室和病毒室，下班后需由负责人关锁。

(二) 意外事件的处理

(1) 火险。发生火险时，关闭电源、切断煤气，使用灭火器、沙土、湿布灭火，如系乙醇、乙醚、汽油等燃烧切勿以水灭火；衣服着火可就地靠墙滚转。

(2) 烧伤。烧伤时可涂5%鞣酸、2%苦味酸、龙胆紫溶液、风油精等。

(3) 破伤。不慎弄伤皮肤，先除尽血污，用蒸馏水洗净，涂以碘酒。

(4) 灼伤

① 强酸、溴、氯、磷或其他酸性化学药品所致的灼伤，先以大量清水洗涤，再用5%碳酸氢钠或5%氢氧化铵溶液洗涤中和。

② 强碱、氢氧化钠、金属钠、金属钾或其他碱性化学药品所致的灼伤，先以大量清水洗涤，再以5%硼酸或乙酸洗涤中和。

③ 石炭酸灼伤以酒精洗涤。

④ 眼灼伤应以大量清水冲洗，然后，如为碱灼伤用5%硼酸溶液洗涤，如为酸灼伤用5%碳酸氢钠溶液洗涤，最后再滴入橄榄油或液体石蜡1~2滴滋润。

(5) 食入酸碱或腐蚀性物质

① 食入酸立即以大量清水漱口，并服石灰水或牛奶等，勿服催吐药。

② 食入碱立即以大量清水漱口，并服食醋、5%乙酸或服油类皂化。

③ 食入石炭酸或来苏尔，以30%~40%乙醇漱口，并喝大量烧酒或50%乙醇，再用催吐剂使之吐出。

(6) 吸入菌液

吸入葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌等，立即以大量热水漱口，再以消毒液1:5000米他芬、3%过氧化氢或1:1000高锰酸钾漱口；如吸入其他细菌，除用上法处理外，可适当使用抗生素防治。

第二节 常用药械的准备及使用方法

禽传染病实验室需配备一些常用且必需的仪器设备和药品。

一、常用器材和药品

在基层实验室常用的一些仪器和药品列表如下（表1-1~表1-6），各实验室可根据自身的人力、财力条件及工作范围适当增减。

表 1-1 仪器类

品名	数量	品名	数量	品名	数量
电热培养箱	1	组织捣碎机	1	超净工作台	1
电热干烤箱	1	恒温磁力搅拌器	1	真空泵	1
电冰箱	1	菌落计数器	1	恒温水浴锅	1
电冰柜	1	电动离心机	1	酶标仪	1
生物显微镜	1	配套离心管	16	电泳仪	1
倒置显微镜	1	微量振荡器	1	切片机	1
高压消毒锅	1	药用天平	1		
蒸馏水器	1	分析天平	1		

表 1-2 器械类

品名	数量	品名	数量	品名	数量
带盖搪瓷盘	4	眼科剪	4	眼科镊子	4
移液器	2	长镊子(22cm)	2	铝饭盒	2
96孔V形塑料板	6	有齿镊子(13cm)	6	乳钵	4套
解剖剪(14cm,尖头)	4	无齿镊子(13cm)	6	温度计(100℃,水银)	4