

副鸡嗜血杆菌病的诊断要点

周子涛

辽宁省锦州市农业农村综合服务中心, 辽宁锦州 121004

摘要 副鸡嗜血杆菌病可做涂片镜检呈两极浓染, 分离培养蘸取分泌物的棉拭子直接在鲜血琼脂培养基上进行划线接种, 通过烛缸置于 37 °C 的条件下培养 2 d 即可。药敏试验可分别采用磺胺嘧啶、磺胺米隆以及新诺明等磺胺类药物和氟苯尼考、罗红霉素、土霉素、新霉素等广谱抗菌药物。血清学试验和动物接种试验及 ELISA 和 PCR 也可对本病进行诊断。

关键词 副鸡嗜血杆菌病; 分离培养; 血清学; 药敏试验

1 涂片镜检

无菌采集病鸡鼻腔、眶下窦分泌物并抹片, 依次做革兰染色、瑞氏染色, 通过显微镜放大观察, 能够发现有革兰氏阴性短杆菌的存在, 这些细菌一般是单个排列、散乱排列或者是成对排列, 其间还存在有卵圆形球状菌体, 但是并没有任何荚膜和芽孢, 用美蓝染色时表现为两极浓染^[1]。

2 细菌分离培养

操作过程必须做到无菌, 把蘸取分泌物的棉拭子直接在鲜血琼脂培养基上进行划线接种, 通过烛缸置于 37 °C 的条件下培养 2 d。通过试验可以观察到该菌落外部呈现灰白色状态, 且并不粗糙, 略微显得凸起且并不完全透明, 该菌落的半径为 0.25~0.50 mm, 不与血清相溶, 于普通的液体琼脂培养基上基本不会生长。因此, 该菌对糖类等生化反应的程度并不强^[2]。

3 血清学试验

3.1 平板凝集试验

抽取患病鸡群的血液进行分离处理, 获得血清, 分别抽取 0.05 mL 的 A、B、C 3 种血清型的标准抗原滴在试验用的干净平板上, 然后滴加等量的样

品血清, 设置试验空白对照组以及阴性和阳性对照组。加入样品时, 应该充分搅匀, 确保二者能够完全结合发生反应, 静止 3~5 min 后观察凝集结果, 没有出现凝集的就可以判定为阴性, 反之, 则判定为阳性。

3.2 血凝抑制试验(鉴定血清型)

培养菌落从而制备抗原, 按规定方法进行血凝抑制试验, 能使红细胞完全凝集抑制的血清最高稀释度即为该型血清的 HI 效价。如果被检抗原与一个以上型的阳性血清有凝集抑制, 其与某型阳性血清的 HI 效价最高, 即判定该抗原为该血清型。

3.3 血凝抑制试验(检测副鸡嗜血杆菌抗体)

稀释待检血清, 室温下作用 4 h 或 4 °C 低温过夜, 中间充分振荡, 然后离心, 取上清。用 NaCl 溶液对洁净的血凝板中第 2 个孔位进行稀释, 将每个孔内的样品和对照品按照高倍向低倍度进行稀释, 试验设计的稀释浓度为 2~5 倍。血清孔中加入稀释好的抗原, 充分振荡, 于室温下作用 20~30 min 或者 37 °C 静置 20 min。每孔加入 1% 醛化红细胞, 充分振荡, 于室温下作用 40~60 min 或者 37 °C 静置 40 min。

4 动物接种试验

选取 5 只动物样品, 将细菌注入样品的眼痘