

蛋鸡血液采集、血清分离与保存方法

杨红建 张秀静 范荣俊 何萍 马晶
徐梅 牛水才 孔艳 金鹏 祁雁
云南省通海县动物疫病控制中心,云南通海 652700

摘要 采集血液和血清进行实验室病原学和免疫效果的检测已成为研判蛋鸡疫病或疫病动态的重要依据之一。本文介绍了蛋鸡血液采集的要求、血样采集和处理方法、血清分离与保存方法以及注意事项,供同行参考。

关键词 蛋鸡;血液采集;血清分离

近年来,随着蛋鸡养殖业的日益发展,蛋鸡及其产品流通频繁,疫病传播机率加大,病情日趋复杂,防控难度增加。在实际工作中,仅仅依靠临床症状、病理剖检等感观检查和流行病学调查等手段已不能全面、客观地对疫病或疫病动态作出准确的分析和研判。因此,采集血液和血清进行实验室病原学和免疫效果的检测已成为研判蛋鸡疫病或疫病动态的重要依据之一。血样采集、血清分离与保存作为一项基础性和常规性工作,其重要性和必要性日益凸显。而如何做好各个环节关系到检测结果的准确性和可靠性,决定着是否能够对疫病防控提供有效的技术支持。笔者根据多年的工作实践,对蛋鸡血样采集、血清分离与保存方法进行介绍,与同行商榷。

1 血样采集

1.1 采血前的准备工作

1)采血人员要求。熟练掌握采样技巧,遵循无菌操作规程,口罩、乳胶手套、工作服(必要时防护帽、防护服、防护鞋等)穿戴整齐。

2)主要器材。冷藏箱、采样整理箱、5 mL 一次性塑料注射器、2.5~5.0 mL 塑料离心管、试管架、抗凝剂、2.5%碘伏(75%乙醇)棉球、干棉球、标签纸、记号笔、监测采样相关记录表、消毒壶等。

1.2 采样场地、时间的选择

选择相对避风、光线充足、场地平整干净、适于

操作的地方。若是规模场尽可能在大门外或场内生活区,不到养殖区内。尽量避开集中加料、饮水时段,根据实际生产情况,多在早上和中午。

1.3 采样鸡只选择

采样布点应有代表性、合理性和科学性。一般一个批次的鸡群至少采集 10~15 份样品,同一鸡舍内选择 4 个角落、中间位置采样。而散养鸡则参照采样或随机捕采。

1.4 采血方法

1)采血方法的种类。主要有翼下静脉采血法、鸡冠采血法、颈静脉采血法、心脏采血法、跖骨内侧静脉采血法。

2)采血方法的选择。视实际情况而定,主要取决于实验室检验目的、所需样品(血样或血清)及数量、鸡只日龄等。如:雏鸡最好采用颈静脉采血法;青年鸡、育成鸡比较多地应用翼下静脉采血法、心脏采血法。凡用量较少的,如血涂片,多以鸡冠采集为主;中等血量的,可从静脉血管采集,血量较多的,可以从心脏采集等。

3)常用采血具体操作方法。在工作中常用翼下静脉采血法、颈静脉采血法、鸡冠采血法、心脏采血法。

①翼下静脉采血法。翼下静脉位于鸡翅腋窝部,明显易找,可采血 10~20 mL,操作简便,单、双人均可完成,此法是鸡采血方法中最常用的方法之一。

双人操作。助手左手抓鸡的两只脚,右手抓鸡的两只翅膀,将鸡侧放于地面,并用大拇指压迫翅膀根部静脉,使静脉充分充血,以方便采血操作。采血者棉球消毒翅静脉窝区后,将针头的切口面向上,距静脉血管旁一侧 0.3 cm 左右斜刺进针,再与血管平行轻轻刺入血管,使针管与近心端血管的夹角为 45°,轻缓回抽,见有回血便可采集。采血完成后用干棉球(或周围羽毛)压迫血管创口约 30 s 止血。

单人操作:采血者左手将鸡双翅抓紧,右侧位置于地面,左手大拇指拨开并压住覆盖静脉的羽毛,大拇指与其他指头协调好姿势后进行消毒,待鸡只安静时,右手持注射器或采血针,在静脉窝远心端血管旁侧 0.3 cm 左右沿近心端方向斜刺进针,与血管平行后刺入血管,使针管与近心端血管的夹角为 45°,缓慢回抽,见有回血便可采集。采血完成后用干棉球(或周围羽毛)压迫 30 s 止血。

②鸡冠采血法。多用于采血量较少的采血,用针刺破或用剪子剪破鸡冠即可。吸取血液时用手挤压鸡冠 1 次,可吸取 30~80 μ L 血液。此法操作简便,但采完血后要用消毒棉球涂抹创口止血,既防感染,又防因出血而引起的啄冠。

③颈静脉采血法。鸡右侧颈静脉较左侧粗,故常采用右侧颈静脉采血。左手以食指和中指夹住鸡头部,并使头偏向左侧,无名指、小指和手掌握住躯干、拇指轻压颈椎部以便静脉充血怒张。常规消毒后,右手持注射器,针头沿血管旁侧 0.3 cm 左右刺入静脉,再与血管平行进针 0.2~0.3 cm 抽取血液。采血完毕后,压迫创口处止血。

④心脏采血法。此法采血速度快、血量多、效率高,适宜多量血液时使用。但是心脏采血难度大,对心脏有损伤,也易伤及肺脏等其他脏器,影响鸡的生长发育,甚至会造成死亡。加之养鸡户难以接受,所以在常规监测中一般少用,仅在特殊情况下使用。心脏采血有侧卧法和仰卧法,多采用侧卧法。

侧卧采血法:助手右手抓住鸡双腿,左手握住两翅膀,使鸡右侧卧,左侧面向上放置。采血者自龙骨突起前缘引一直线到翅基,再由此中点向髓关节引一直线,此线前 1/3 和中 1/3 的交界处有一凹陷,即是心脏采血进针部位。消毒后,7# 针头刺入时,如触及胸骨可稍拔出,针头向右偏一点避开胸骨,再将针头向里刺入,边刺边抽动活塞,若刺入心脏,便

有血液涌入注射器。采毕,局部消毒。

2 血样处理与血清分离

将装有血样的注射器、采血管或离心管整理,编号登记并核对,避免剧烈颠簸、振动。

2.1 采集制作鸡红细胞悬液

直接选用带抗凝剂的采血管,或采血前注射器里先吸入抗凝剂,按每 10 mL 血液使用 1% 肝素 0.1~0.2 mL,或 10% EDTA 钠 0.1~0.2 mL 等。待采集完成后,将针头拔掉,把注射器内的血液沿着离心管壁徐徐推入,置于试管架,放在冷藏箱中防止变质,运送过程中尽量避免剧烈振荡。

2.2 血清分离

1)直接分离法。采集血样后将注射器往后抽吸空气,预留 2~3 mL 的空间,待凝固后放在冷藏箱中带回实验室,取出在常温下 45° 倾斜静置 1~2 h,也可以置于 25~37 °C 恒温箱中 1 h,任其自然凝固析出血清,取出血清便可。若将血清再次离心便分离出上好的血清样品。此法简捷、成本低,工作中经常使用。

2)离心法。首先将装有血液样品的采血管或离心管室温下静置,待其凝固后,用离心机 2 000~3 000 r/min 离心 5~10 min,管内上清液即为分离出的血清,用移液器移入 2.5 mL 离心管,标记备用。若特殊情况急用时,采血后立即用离心机 2 000~2 500 r/min 离心 5 min 左右便可。

3 血清保存

合格的血清应清亮透明、无溶血、无腐败。血清若短期内使用,应在 2~8 °C 的冰箱中保存,可存 7~15 d;长期保存则在 -15 °C 以下,可保存 2 年。一般不加入防腐剂和抗生素,切记不可反复冻融。

4 体会

1)蛋鸡生性胆小易惊,在抓鸡和保定时要小心谨慎,并保持场面安静。否则,鸡只受惊挣扎会抓伤人员或弄断翅膀或导致采血失败。

2)为避免出血过多、皮下出现血肿,进针技巧与止血相当关键。血管旁侧进针能明显减少血肿;干棉球或羽毛压迫止血效果好。

3)在集中采血时,应尽量分组进行,避免交叉。一旦发现鸡群状况有异常,该组则终止当天采样,

禽巴氏杆菌病的诊断及综合防控

李艳梅

青海省西宁市畜牧兽医站, 青海西宁 810003

摘要 禽巴氏杆菌病(Avian pasteurellosis)又称禽霍乱或禽出血性败血症,是一种由多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)引起的以发病急、剧烈腹泻和出现急性败血性为主要特征的接触性传染病。该病流行快、死亡率高,给养禽业造成极大的经济损失。基于此,笔者结合工作实践,简要阐述了本病的病原、流行特点、临床症状、病理变化和诊断,同时提出综合防治措施,旨在为诊治本病提供参考。

关键词 禽巴氏杆菌病;临床症状;诊断;防治

1 病原

多杀性巴氏杆菌是两端钝圆,中央微凸的球杆菌或短杆菌,无鞭毛、无运动性,不形成芽胞,革兰氏染色阴性的需氧兼性厌氧菌。本菌对热的抵抗力差,在干燥及日光直射下,可迅速死亡,60℃经10 min可灭活;本菌对消毒药剂也无较强抵抗力,0.1%升汞水、50%乙醇、3%石炭酸、5%生石灰及1%漂白粉等可在1 min内将其灭活。

2 流行特点

1)本病对多种禽类均具有感染性。相对野禽而言,家禽有更高感染率,尤其是鸡、火鸡和鸭等家禽最易感染,鹅易感性不高;雏鸡对巴氏杆菌的抵抗力较强,极

少感染;较容易感染的是3~4月龄的鸡和成年鸡。

2)巴氏杆菌可存在于鸡只呼吸道中,是一种条件病原菌;本病的发生可由内、外源性感染所致,其感染途径较为广泛,可经呼吸道、消化道和损伤皮肤等感染;本病的主要传染媒介有感染鸡群的排泄物、使用的器械及皮肤组织脱落物等。

3)饲养管理不当、气候剧变、体温失调、营养不良和机体抵抗力下降是本病的主要发病因素,而饲料突变、长途运输和某些疾病的存在也可诱发本病;本病一年四季均可发生,无显著季节性,常见于天气骤然变化、高温高湿时节发病,多呈地方流行或散发。

3 临床症状

本病自然感染潜伏期通常为2~9 d,人工感染

收稿日期:2016-01-18

李艳梅,女,1980年生,助理兽医师。

并做好防治指导和自身消毒。

4)出入每场(户)时要做好消毒,采血所产生的废弃物处理进行集中焚烧或消毒、深埋等无害化处理。

5)做好现场记录,规范填写表格,做好样品标记。

6)应注意避免溶血现象。①注射器针头不可反复穿刺而损伤组织;②抽动注射器动作不宜过猛过快;③采集好血样后注入离心管时要卸下针头,否则注入时细胞受挤压易破裂;④注入离心管时不能产生多量泡沫,不然待气泡破裂后,导致细胞破裂

而溶血。

7)每批或每几批血清在集中检测后,要统一装存,简要标记、注明检测日期,检测内容等,并有相应台帐,建立血清库。

参 考 文 献

- [1] 罗承金. 畜禽免疫抗体监测血样采集与血清分离保存技术[J]. 山东畜牧兽医, 2012, 33(2): 48-49.
- [2] 邓卉. 影响蛋鸡血清指标检测的因素及解决措施[J]. 四川畜牧兽医, 2013, 40(9): 29-30.