病毒病的微生物学检验程序。

(一)样品采集和递送及处理

(二)镜检

1、光学显微显镜检查包涵体

2、电子显微镜检查：形态、大小、构造

(三)病毒分离培养鉴定

分离培养：动物接种——原动物/实验动物

鸡胚接种——卵黄囊、尿囊腔、尿囊膜、羊膜腔等

细胞培养——原代细胞

二倍体细胞技术克隆/扩增

传代细胞

组织块培养——肠管、气管环等

鉴定：生物学特性鉴定；血清学鉴定（对病毒）；病毒特性：如血凝性；

(四)血清学检查：

HA、HI、补反、

放射元素\荧光\酶标记

中和试验

(五)分子生物学技术

核酸探针

PCR技术等

送检一病(死)猪，临床诊断怀疑是仔猪黄痢，如何进行微生物学诊断？

怀疑是仔猪黄痢，即怀疑其病原为致病性大肠杆菌，微生物学诊断如下:

1. 涂片镜检：G-，杆菌
2. 分离培养：

麦康凯平板（红色菌落）

血平板（β溶血，灰色圆形，特征性气味）

1. 生化鉴定：
2. I：+
3. M：+红
4. Vi：-不变色
5. C：-
6. 三糖铁琼脂（上下都黄：发酵葡萄糖、乳糖）
7. 触酶+
8. 氧化酶+
9. 尿素酶-
10. 硫化氢-
11. 麦芽糖、甘露糖产酸产气
12. 血清型鉴定：单因子抗O血清作血清型鉴定
13. 动物试验：用灭菌生理盐水洗下纯培养物，0.2-0.5ml注射易感动物（家兔或仔猪），死亡后剖检，分离培养鉴定以确诊

送检一病(死)鸡，怀疑是禽霍乱，请你给出一份详细的微生物学诊断报告

怀疑是禽霍乱，即怀疑其病原为禽多杀性巴氏杆菌,微生物学诊断如下:

（1）涂片镜检：G-，瑞氏/美兰，两极着色杆菌

（2）分离培养：

1. LB（不生长）
2. 麦康凯（不生长）
3. 血平板（不溶血，灰白色，表面光滑，边缘整齐的露滴状小菌落）

（3）生化鉴定：生化培养基和单糖发酵管中，进行吲哚试验、MR试验、VP试验和单糖发酵试验等

（4）动物试验：用灭菌生理盐水洗下纯培养物，取0.1-0.2ml注射小白鼠，死亡后剖检，镜检分离培养鉴定以确诊

猪丹毒杆菌诊断。

1. 涂片镜检：G+，纤细小杆菌
2. 分离培养：
3. 麦康凯（不生长）
4. 血平板（α溶血，灰白色透明露滴状菌落）
5. 明胶穿刺（横向四周生长，试管刷状）
6. 动物试验：用灭菌生理盐水洗下纯培养物，注射小白鼠，死亡，镜检发现纤细的革兰氏阳性小杆菌即可确诊

炭疽杆菌诊断与鉴定

疑似炭疽杆菌的牛严谨解剖，取材注意消毒

1. 涂片镜检：G+，荚膜竹节状大杆菌
2. 分离培养：
3. LB（灰白不透明，大而扁平，干燥粗糙，边缘卷发状）
4. 血平板（不溶血）
5. 明胶穿刺（倒立的雪松）
6. 串珠反应
7. 动物试验：用灭菌生理盐水洗下纯培养物，注射小白鼠，死亡，镜检有竹节状大杆菌，则可确诊

请写出至少2种鸡白痢沙门氏菌与鸡致病性大肠杆菌的微生物学鉴别方法。

（1）麦康凯：红色菌落，鸡致病性大肠杆菌；灰白色菌落，鸡白痢沙门氏菌

（2）乳糖发酵管：变黄，鸡致病性大肠杆菌；不变，鸡白痢沙门氏菌

（3）三糖铁培养基：底层和斜面均变黄，鸡致病性大肠杆菌；底层变黄，斜面变红，鸡白痢沙门氏菌

NDV的诊断

病毒分离：取脾、脑和肺匀浆，接种10日龄鸡胚尿囊腔分离病毒

血清学试验或者RT-PCR：血吸附和HI试验鉴别

测定毒力：ICPI＞0.7或者F0酶切位点的氨基酸序列符合强毒株特点，向OIE通报病情

某鸡场20日龄肉用仔鸡，怀疑发生了传染性法氏囊炎，请用微生物学方法确诊？

答：

1. 检测程序

（1）症状观察和病理解剖，观察剖检病变；（0.5分）

（2）采样：以无菌方式采集病变严重和含毒量高的组织(法氏囊、脾、肾等)进行实验室诊断；（1分）

（3）细菌分离：对病料进行平板培养分离细菌；（0.5分）

（4）病料的无菌预处理：将病料加入5-10倍的生理盐水研磨均匀，离心取上清并加入一定浓度的抗生素作用一段时间或直接通过过滤除菌，进行无菌预处理；（1分）

（5）病毒分离：绒毛尿囊膜接种9-11日龄SPF或无抗IBDV抗体的鸡胚，接种后24h照胚，弃去死胚，留下24h以后死亡鸡胚，并收集尿囊膜和尿囊液进行下述检测；（1分）

1. 病毒特异性检测

（1）使用已知的抗IBDV多抗或单抗与临床分离的病毒进行琼脂扩散试验（2分）；

（2）对所分离的病毒，也可通过其它特异的实验室方法鉴定病毒，如病毒中和试验、免疫荧光试验、ELISA、核酸检测试验（PCR、核酸杂交检测法）等。（1分）

1. 判定标准

（1）通过症状与剖检病变进行初步诊断（1分）；

（2）细菌分离培养为阴性（1分）；

（3）如果琼脂扩散试验中的抗原孔和抗体孔之间出现白色沉淀线，或其它特异的诊断结果为阳性，即可判定所分离的病毒为IBDV（1分）。

综上所述，可确断为传染性法氏囊炎。