

# 禽病的诊断方法

## 一、现场资料的调查与分析

为及时准确地诊断疾病，往往需要对下列某些方面进行详细的调查和了解。

1. 养禽场的历史，饲养家禽的种类，饲养量和上市量，核算方式和经济效益，工作人员文化程度和来源等。
2. 禽场的地理位置和周围环境，是否靠近居民点或交通要道，是否易受台风、冷空气和热应激的影响，地下水位高低或排水系统如何，是否容易积水等。
3. 禽场内禽舍等布局是否合理，尤其应注意宿舍、育雏区、种禽区、孵化房、对外服务部的位置、禽舍的长度、跨度、高度，所用材料及建筑结构，开放式或密闭式，如何通风保温和降温，舍内氨气及其它卫生状况如何？不同季节舍内的温度、湿度如何，采用何种照明方式？如何调节？是否有运动场等。
4. 是平养或笼养，如平养则垫料如何，是否潮湿？采用那种送料方式和那种水槽，如何供水？那一类的饮水器？粪便垫料如何处理等。
5. 饲料方面是自配或从饲料厂购进，其质量和信誉如何？是粉料、谷粒料或颗粒饲料，是干喂还是湿喂？自由采食或定时供应，是否有限饲等，饲料是否有霉变结块等？
6. 饮水的来源和卫生标准，水源是否充足，曾否缺水或断水。
7. 育雏舍的形式，采用保温设施，是地下保温还是地上保温，热源是电、煤气、煤、柴或炭？种苗来源，运输过程是否有失误，何时开始提供饮水？何时开食？何时断喙。
8. 禽群逐日生产记录，包括饮水量、食料量、死亡数或淘汰数，一月龄的育成率，肉鸡成活率，平均体重、肉料比、蛋鸡或后备鸡的育成率、何重、均匀度及与标准曲线的比较，母禽开产周龄，产蛋率、蛋重及与标准曲线的比较。
9. 种蛋产蛋箱的数量、位置、卫生状况、集蛋方法及次数，包装和运输情况，种蛋的保存温度，湿度，是否有消毒，种蛋的大小、形状，蛋壳颜色、光泽、光滑度，有无畸形蛋，蛋白，蛋黄，气室等是否有异常等。

- 10.孵化房的位置、结构、温度和湿度是否恒定，受外界影响程度，孵化机的种类、结构、孵化记录，入孵蛋及受精蛋的孵化率，受精率，啄壳和出壳的时间，完成出壳时间，一日龄幼雏的合格率等。
- 11.养禽场的禽病史，过去曾发生过什么疾病？由何部门作过何种诊断，采用过何种防治措施，效果如何？
- 12.本次发病家禽的种类，群（栏舍）数，主要症状及病理变化。作过何种诊断和治疗，效果如何？是否可能有经饲料或饮水的中毒？
- 13.免疫接种情况，按计划应接种的疫苗种类，接种时间及实际完成情况，免疫程序是否合格，是否有漏接，疫苗的来源、厂家、批号，有效期及外观质量如何？疫苗的转运过程、保存条件等是否有差错？如运输过程中温度过高，保存过程反复停电或长时间停电等。疫苗种类的选择是否合适，疫苗稀释量、稀释液种类及稀释方法是否正确？稀释后在多长时间之内用完，疫苗接种的途径、滴眼滴鼻、饮水、气雾还是注射？是否有漏接错接的可能？免疫接种效果如何？是否进行过何种检测？是否有可能免疫失效？如有可能，则原因何在？
- 14.药物使用情况，饲料中添加过何种抗球虫药或抗菌药物，本场曾使用过何种药物，剂量和使用时间如何？逐只投药或群体投药，经饮水、饲料或注射给药？过去是否曾使用过类似的药物，过去使用该种类的药物时，禽群是否有不正常的形象。
- 15.禽群是否有放牧，牧地的卫生状况，是否施放过农药等。
- 16.禽场和禽群近期内是否还有什么其它与疾病有关的异常情况？

## 二、临床检查

### 1、群体检查

在进行群体检查时，主要肉眼观察，注意有无如下各种异常：

- 1) 观察群体的营养状况、发育程度、体质强弱、大小均匀度，鸡冠的颜色是呈鲜红或紫蓝、苍白；冠的大小，是否长有水疱、痘痂或冠癣；羽毛颜色和光泽，是否丰满整洁，是否有过多的羽毛断折和脱落；是否有局部或全身的脱毛或无毛，肛门附近羽毛是否有粪污等。

- 2) 禽群精神状况正常否，在添加饲料时是否拥挤向前争抢采食饲料，或有啄无食，将饲料拨落地下，或根本不啄食。在外人进入禽舍走动或有异常声响时家禽是否普遍有受惊扰的反应，是否有振颤，头颈扭曲，盲目前冲或后退，转圈运动，或高度兴奋不停地走动，是否有跛行或麻痹、瘫痪，是否有精神沉郁、闭目、低头、垂翼，离群呆立，喜卧不愿走动，昏睡的。
- 3) 是否流鼻液，鼻液性质如何，是否有眼结膜水肿，上下眼结膜粘连，脸部水肿。浅频呼吸，深稀呼吸，临终呼吸，有无异常呼吸音张口伸颈呼吸并发出怪叫声，张口呼吸而且两翼展开，口角有无粘液、血液或过多饲料粘着，有无咳嗽？
- 4) 食料量和饮水量如何，嗉囊是否异常饱胀？排粪动作过频或困难，粪便是否为圆条状、稀软成堆，或呈水样，粪便是否有饲料颗粒、粘液、血液颜色为灰褐、硫黄色、棕褐色、灰白色、黄绿色或红色，是否有异常恶臭味。
- 5) 发病数、死亡数，死亡时间分布，病程长短，从发病到死亡的时间为几天几小时或毫无前兆症状而突然死亡等。

## 2.个体检查

对家禽个体检查的项目与上述群体检查基本相同，除此之外，还应注意补充对个体作下列一些项目的检查。

- 1) 体温的检查，用手掌抓住两腿或插入两翼下，可感觉到明显的体温异常，精确的体温要用体温计插入肛门内，停留 10 分钟，然后读取体温值。
- 2) 皮肤的弹性、有无结节、软蜱、螨等寄生虫，颜色正常否，是否有紫蓝色或经色斑块，是否有脓肿、坏疽、气肿、水肿、斑疹、水疱等，胫部皮肤鳞片是否有裂缝等。
- 3) 释开眼结膜，眼结膜的粘膜是否苍白、潮红或黄色，眼结膜下有无干酪样物，眼球是否正常，用手指压挤鼻孔，有无粘性或脓性分泌物，用手指触摸嗉囊内容物是否过分饱满坚实，是否有过多的水分或气体，翻开泄殖腔，注意有无充血、出血、水肿、坏死，或有假膜附着，肛门是否被白色粪便所粘结。
- 4) 打开口腔，注意口腔粘膜的颜色，有无发疹、脓疱、假膜、溃疡、异物、口腔和腭裂上是否有过多的粘液，粘液上是否混有血液，一手扒开口腔，另一手用手指将喉头向上顶托，可见到喉头和气管，注意喉气管有无明显的充血、出血、喉头周围是否有干酪样物附着等。

## 三、病理解剖检验

### 1、体外检查

先检查病死鸡的外观，羽毛是否整齐，鸡冠及肉髯和面部是否有痘斑或皮疹，口、鼻、眼有无分泌物或排泄物，量及质如何，泄殖孔附近是否有粪污或白色粪便所阻塞，鸡脚皮肤是否粗糙或裂缝，是否有石灰样物附着，脚底是否有趾瘤等。然后将被检禽放在搪瓷盘上，此时应注意腹部皮下是否有腐败面引起的尸绿。维生素 E 和硒缺乏时，皮上也呈紫蓝色。

### 2、剖检操作顺序及注意观察的项目

先用消毒药水将羽毛擦湿，将腹壁连接两侧腿部的皮肤剪开，用力将两大腿向外翻转，直至股关节脱臼，尸体即平稳地立在搪瓷盘上。用剪刀分别沿上述腹部两侧的切线向前剪至胸部，另在泄殖孔腹侧作一横的切线，使与腹侧切线相接，用手在泄殖孔腹侧切口处将皮肤拉起，向上向前拉使胸腹部皮肤与肌肉完全分裂。此时可检查皮下是否有出血、胸部肌肉的粘稠度，颜色是否有出血点或灰白色坏死点等。

在泄殖腔腹侧将腹壁横向剪开，再沿肋软骨交接处向前剪，然后一只手压住鸡腿，另一只手握龙骨后缘向上拉，使整个胸骨向前翻转露出胸腔和腹腔，此时应先看气囊，所囊内浆液膜，正常为一透明的薄层，注意有无混浊，增厚或被复渗出物等，其次注意胸腔内的液体是否增多，器官表面是否有冻胶状或干酪样渗出物等。

继而剪开心包囊，注意心包囊是否混浊或有纤维性渗出物粘附，心包液是否增多，心包囊与心外膜是否粘连等，然后顺次将心脏和肝摘出，再将腺胃和肌胃、胰、脾及肠管一起摘出并逐一检查。再回头检查肺和肾脏是否正常。

继而用剪刀将下颌骨剪开并向下剪开食道和嗦囊，另将喉头气管剪开和检查。

最后剖开头皮，取出颅顶骨，小心摘下大脑和小脑检查。

### 3、病理组织学检查

对一些需要作病理组织学检查的组织，可采取组织材料作显微切片，取材的刀剪要锋利，用镊子镊住一块组织器官的一角，用锋利的剪刀剪下一小块，浸入

固定液中固定，最常用的组织固定液是 10% 的福尔马林，然后按需要作切片染色和镜检。

有关现场调查，临诊检查和病理解剖检验中，某些症状和病变在诊断上的意义，可参考附表。

## **四、微生物学诊断**

### **1、采集病料**

为了准确的微生物学诊断结果，首先必须正确地采集病料，只能从濒死亡或死亡几小时内的家禽中采取病料，以使病料新鲜，应按无菌操作的要求进行，用具应严格消毒，可根据对临床初步诊断所怀疑的若干种疾病，作确诊或鉴别诊断时应检查的项目来确定采集病料的种类。较易采取的病料是血液、肝、脾、肺、肾、脑、腹水、心包液、关节滑液等。

### **2、涂片镜检**

少数的传染病，例如曲霉菌病等，可通过采集病料直接涂片镜检而作出确诊。

### **3、病原的分离培养与鉴定**

可用人工培养的方法将病原从病料中分离出来，细菌、真菌、霉形体和病毒需要用不同的方法分离培养，例如使用普通培养基、特殊培养基、细胞、禽胚和敏感动物等，对已分离出来的病原，还需要作形态学、理化特性、毒力和免疫学等方面的鉴定，以确定致病病原物的种属和血清型等。

### **4、动物接种试验**

如一些有明显临床症状或病理变化的禽病，可将病料作适当处理后接种敏感的同种动物或对可疑疾病最为敏感的动物。将接种后出现的症状，死亡率和病理变化与原来的疾病作比较，作为诊断的论据，必要时可从病死家禽中采集病料，再作涂片镜检和分离鉴定。较常使用的实验动物是鸡、鹅、鸭、家兔、小白鼠等。

## 5、免疫学诊断

根据抗原与抗体的特异性反应的原理可以用已知的抗原检测未知的抗体，也可用已知的抗体检测未知的抗原，目前较常使用的有血凝试验与血凝抑制试验，沉淀试验、中和试验、溶细胞试验、补体结合试验、以及免疫酶技术免疫荧光技术，和放射免疫等，可根据需要和可能进行某些项目的试验。

## 五、寄生虫学诊断

一些家禽寄生虫病的临床症状和病理变化是比较明显和典型的，有初诊的意义，但大多数禽寄生虫病生前缺乏典型的特征，往往需要从粪便、血液、皮肤、羽毛、气管内容物等被检材料中发现虫卵、幼虫、原虫或成虫之后才确诊。

## 六、营养分析

对怀疑营养缺乏或代谢障碍的疾病，可以检测饲料中能量、蛋白质和氨基酸、维生素矿物质和微量元素等的实际含量，再与相应的营养标准作比较，以确定营养缺乏的种类和缺乏程度等。

## 七、毒物检验

对某些怀疑为中毒的疾病，可运用分析学等方法，采取血液、粪便、胃肠内容物、空气、饲料和饮水等作毒物的定性与定量分析以确定毒物的种类和中毒的原因等。

## 八、对比治疗试验

有时候虽然经过某些项目的检验，仍未能对疫病作出确诊，而疾病又比较急，在实验室确诊之前往往需要先作治疗处理，此时可根据临床症状和病理变化先作出初步诊断，并分组作相应的治疗试验，如治疗效果明显，也可作为确认依据之一。

## 九、分子生物学诊断技术

分子生物学技术将在禽病的快速、准确诊断中扮演重要角色。二十一世纪，一方面由于科学技术的不断进步和广大禽病工作者的持续努力，一些老的禽病将逐渐得到控制；然而另一方面新疾病的出现或者由于抗原的漂移或漂变产生了新的抗原型又将困扰养禽业。常规方法虽然具有许多优点，但其费时、敏感性低、繁琐、漏诊、误诊的缺点也同样明显。对于集约化养禽业，在疾病诊断上要体现二个字，即“快”和“准”。“快”即快速，诊断迅速，时间就是金钱，在诊断时间上的延误将导致损失的进一步扩大；“准”即准确，误诊的后果是可想而知的。通过快速、准确对疾病作出诊断，才可为防治疾病提供信息，做到对疾病作出诊断，才可为防治疾病提供信息，做到对症下药，避免损失扩大。

用于禽病诊断的分子生物学方法主要有聚合酶链式反应（Polymerase Chain-Reaction PCR），也称基因诊断，核酸探针技术（Nucleic Probe），限制性内切酶片段长度多态性分析（Restriction Fragment Length Polymorphism RFLP），序列分析（Sequencing）。

### 1、PCR技术在禽病诊断和研究中的应用

PCR 体外基因扩增方法是根据体内 DNA 复制的基本原理而建立的，首先针对扩增的目的基因区的两侧序列，设计并经化学合成一对引物，长度为 16~30 个碱基，在引物的 5'端可以添加与模板序列不相互补的序列，如限制性内切酶识别位点或启动子序列，以便 PCR 产物进一步克隆或表达之用。

自从 PCR 发明以来，已经在生命科学领域得到了广泛应用，在人类医学上，基因诊断已经十分普遍，在禽病学上目前也先后报道了许多病毒和细菌的 PCR 检测方法。具体有：沙门氏菌、大肠杆菌、AIV、NDV、IBV、ILTV、IBDV、MDV、鸡 CAA 、鸡 MG、EDS-76 病毒。

由于 PCR 技术不仅具有简便、快速、敏感和特异的优点，而且结果分析简单，对样品要求不高，无论新鲜组织或陈旧组织、细胞或体液、粗提或纯化 RAN 和 DNA 均可，因而 PCR 非常适合于感染性疾病的监测和诊断。近年来 PCR 又和其它方法组合成了许多新的方法，例如用于 ILT 诊断的着色 PCR（Coluric-PCR），抗原捕获 PCR（AC-PCR）等，进一步提高了 PCR 的简便性、敏感性和特异性，

随着愈来愈多的目的基因序列的明了，PCR 应用范围必将更加广泛。相信不久的将来，用于家禽疾病诊断的 PCR 试剂盒将在禽病诊断实验室得到广泛应用。

## 2、核酸探针技术在禽病诊断和研究中的应用

核酸探针已被广泛应用于筛选重组克隆，检测感染性疾病的致病因子和诊断遗传疾病，其基本原理即为核酸分子杂交，双链核酸分子在溶液中若经高温或高 pH 处理时，即变性解开为两条互补的单链。当逐步使溶液的温度或 pH 恢复正常时，两条碱基互补的单链便会变性形成双链，所以核酸探针是按核酸碱基互补的原则建立起来的。因此，核酸杂交的方式可在 DNA 与 DNA 之间，DNA 与 RNA 之间以及 RNA 与 RNA 之间发生。当我们标记一条链时，便可通过核酸分子杂交方法检测待查样品中有无与标记的核酸分子同源或部分同源的碱基序列，或“钩出”同源核酸序列。这种被标记的核酸分子称之为探针（Probe）。

自从探针这个方法建立以来，已经对许多禽类病毒和细菌进行了检测，目前已报道了包括 NDV、MDV、IBV、ILTV、EDS-76、CAA、IBDV、GPV、DPV、DHV、E.coli、Sal 等多个病毒和细菌的探针检测方法，由于探针与常规检测方法相比，具有高度的敏感性、特异性及可重复性，因而容易在禽病诊断室推广。从总体上看，放射性同位素标记探针将逐渐为非放射性标记探针所取代是一种发展趋势，随着时间的推移，探针必将为推动禽病诊断水平再上新台阶而发挥重大作用。

## 3、RFLP技术在禽病诊断和研究中的应用

借助于 PCR 技术，对目的基因进行的扩增，然后用酶切的方法对病毒的 PCR 产物进行分析，如果该病毒有不同血清型，则酶切产物电泳图谱会呈现差异；反之，根据酶切图谱的差异，也可以判定病毒的血清型，从而对该病作出诊断。

由于 IBDV 血清型众多及变异株的出现，使得常规疫苗不能产生交叉保护，对 IBV 血清型的快速鉴定是有效防治 IB 的关键。但常规的诊断方法如中和试验等难以满足临床诊断的需要，RFLP 只需 1~2d 就可对其毒株的基因进行分型，因而在指导 IBV 的流行病学调查和疾病防治上比常规方法更有优势。RFLP 对于 IBDV、MDV 不同血清型的鉴别也有同样的参考价值，因而也是值得推广的一种基因诊断方法。



## 4、序列分析在禽病诊断和研究中的应用

对禽病诊断实验室分离的野毒，进行随机克隆，然后用 Sanger 的双脱氧法对其进行序列测定，接着将序列分析结果输入电脑，与 Genbank 中已经发现的禽病基因序列进行比较，从而作出判断。

随着现代分子生物技术的发展，用序列分析对禽病作出诊断已经不是一件太遥远的事情了，由于商业化的克隆及测序试剂盒很多，在发达国家中，如果一旦分离到了病毒，则在一天之内就能完成病毒基因组的克隆及测序工作。而且由于这些方法都可以自动进行，因而给工作人员带来了许多自由。序列分析可以说是最准确的方法，但目前由于实验条件和经费等问题，在普通禽病诊断室开展这一研究尚不够条件，但是在不久的将来，相信将逐渐得到普及。

## 十、其它检验

在禽病诊断过程中，必要时还可进行下列某些项目的检验：

血常规检验、血液生化检验、血液中酶活性的测定、肝功能和肾功能检验等。常见禽病鉴别诊断详见表。

扬州大学兽医学院预防兽医学教研室

成大荣