



动物检验检疫技术

专业教学资源库

动物病毒病的实验室诊断



动物病毒病的实验室诊断

- ◆ 回顾：病毒的特点
- ◆ 病毒病的实验室诊断方法



病毒的特点（一）

- ◆ 病毒粒子个体极微小
 - 必须用电子显微镜才能看得见
- ◆ 病毒必须在活的易感宿主细胞内增殖
 - 病毒培养的方法：动物接种、禽胚培养、组织细胞培养
- ◆ 病毒感染可刺激机体产生免疫应答
 - 血清学试验可检测病毒抗原或抗体
- ◆ 病毒单一核酸型（RNA或DNA）
 - RNA病毒—RT-PCR DNA病毒—PCR



病毒的特点（二）

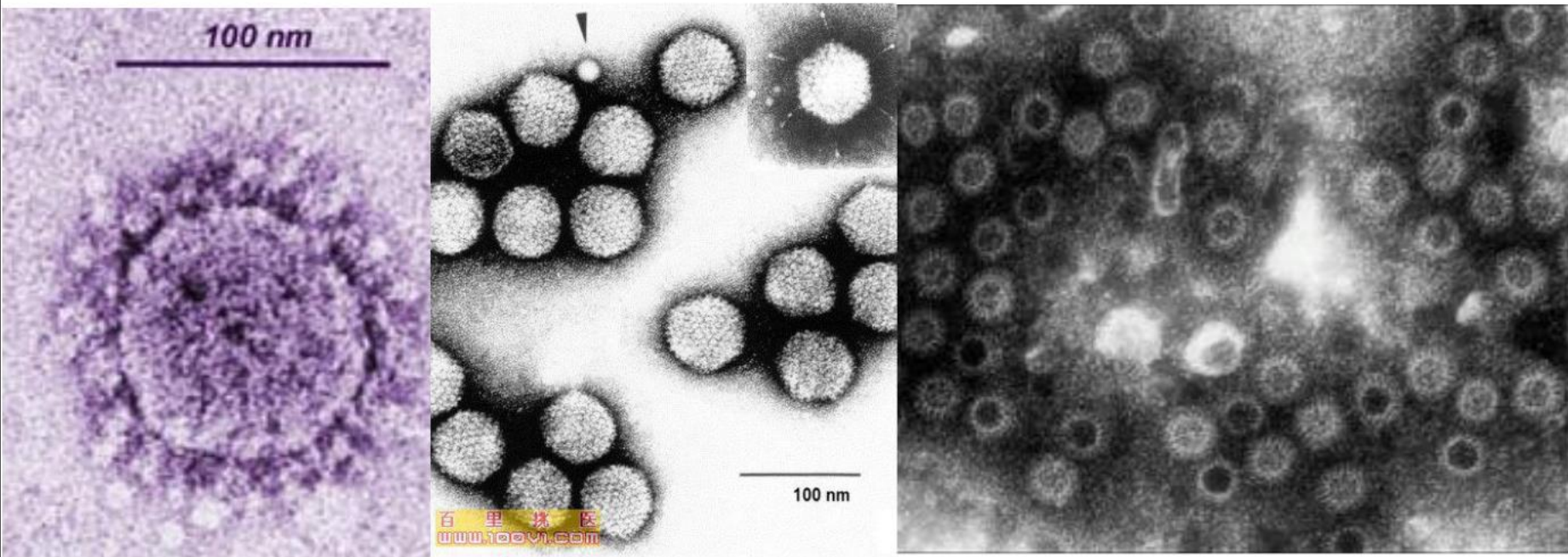
- ◆ 有的病毒能在感染细胞中形成包涵体
 - 病理学技术检测包涵体
- ◆ 有的病毒具有凝集动物红细胞的特性
 - HA-HI 检测病毒或其抗体



- ◆ 病料的采集、保存和送检
- ◆ 病毒的分离培养
- ◆ 包涵体检查
- ◆ 血清学诊断
- ◆ 动物试验
- ◆ 分子生物学诊断



电镜下的病毒粒子



本页图片来自百度搜索



电子显微镜及其报价



排序方式

关注度

价格

更新

新品

促销

每页显示数量 ▶



对比已勾选的产品

对已勾选的产品留言

比较	图片	产品名称	供应商	报价
<input type="checkbox"/>		200kV场发射透射电子显微镜 (JEM-2100F)	日本电子株式会社 (JEOL)	1500000\$
<input type="checkbox"/>		【Hitachi】日立透射电子显.. (HT7700)	天美科技有限公司 Techcomp LTD.	面议
<input type="checkbox"/>		原子分辨分析型透射电镜 (JEM-ARM200F)	日本电子株式会社 (JEOL)	4000000\$
<input type="checkbox"/>		200kV六硼化钨透射电子显微.. (JEM-2100)	日本电子株式会社 (JEOL)	700000\$
<input type="checkbox"/>		120kV高衬度透射电子显微镜 (JEM-1400)	日本电子株式会社 (JEOL)	300000\$

本页图片来自百度搜索



病毒性病料的采集

采集原则

防止污染、无菌采样、适当时机、适当部位

采集方法

同细菌病料采集方法

保存和送检

保存：短期保存于4℃；长期保存于-20℃以下的冰箱。

送检：做好记录，尽快送检

病料的处理：不同检测方法，处理方法不同



病毒的分离培养

- 方法

- 动物接种、禽胚培养、细胞培养

- 病毒增殖具有一定的细胞特异性，因此培养时应选择适当的方法

- 能否增殖？能否获得高的滴度？能否产生明显病变？



病毒培养的病料处理

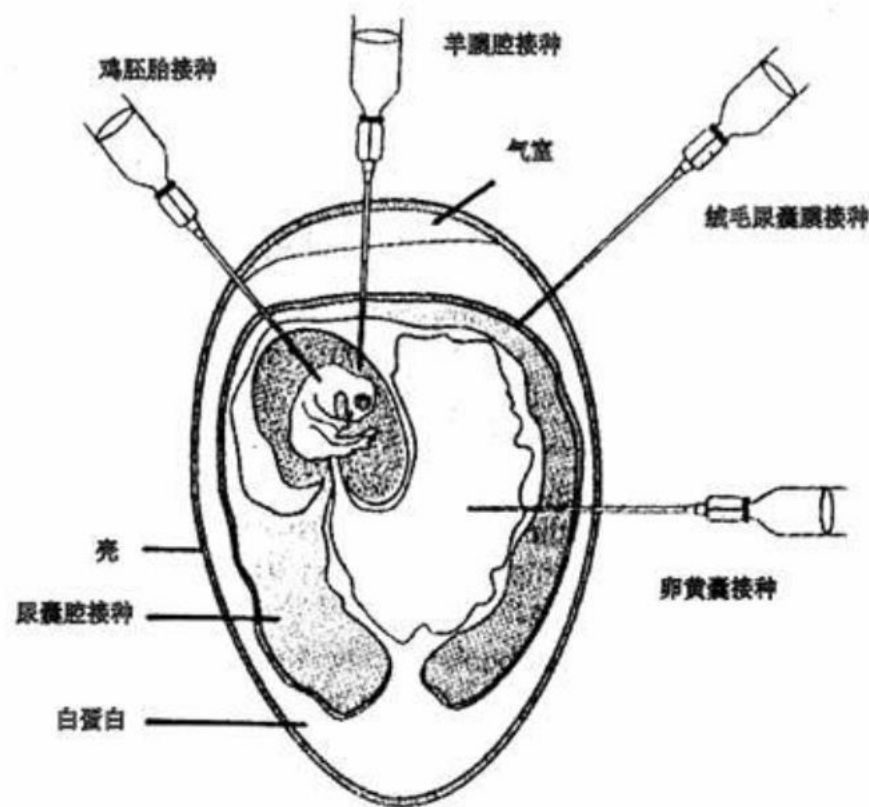
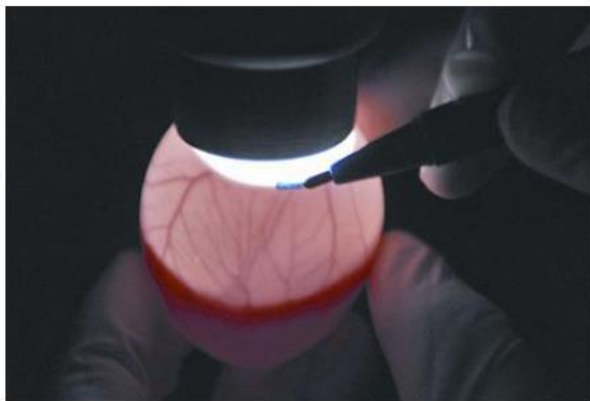
- 匀浆 破碎组织，释放病毒
 - 称重，加入生理盐水（组织:生理盐水=1:4）
 - 剪碎
 - 匀浆（匀浆管或研钵）
- 冻融 进一步释放病毒
 - 反复冻融3-5次
- 离心 除去细胞碎片
 - 低速离心
- 除菌 除去样品中的细菌
 - 高速离心、抗生素处理、过滤除菌



病毒的鸡胚接种

- 接种方法：

- 尿囊腔接种、绒毛尿囊膜接种、卵黄囊接种等

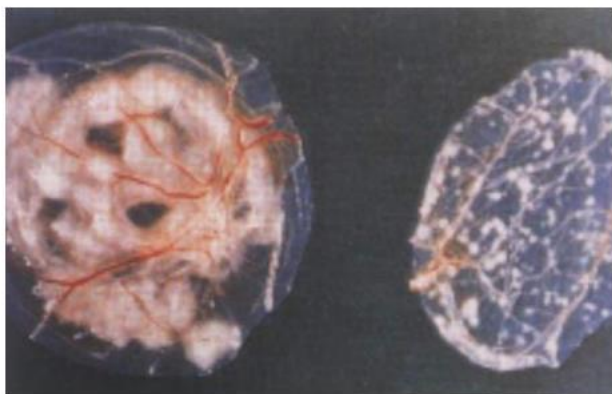


本页图片来自百度搜索



病毒在鸡胚中增殖的表现

- 鸡胚死亡、出血、发育迟缓、畸形、痘斑等
- 鸡胚无变化。通过检测 病毒的某些特性



ILTV导致的痘斑



IBDV导致的鸡胚胚体出血（左）



IBV引起的鸡胚发育迟缓

本页图片来自百度搜索



病毒的细胞培养

- 将细胞在体外容器中进行培养，将病毒接种于体外培养的细胞中使病毒增殖。



细胞培养的环境和设备要求



洁净室



生物安全柜

本页图片来自百度搜索



二氧化碳培养箱

本页图片来自百度搜索



细菌滤器





血清学检测

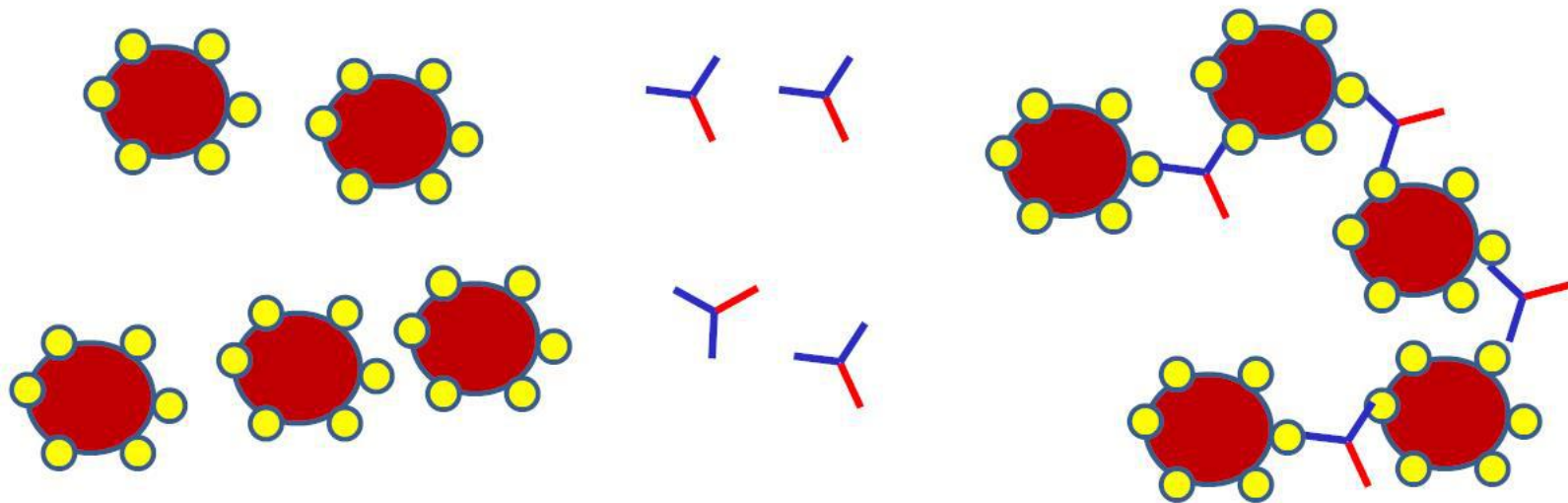
- 样品采集
 - 检测抗原：组织或病理性液体
 - 检测抗体：血清
- 常用方法
 - 间接凝集试验
 - 琼脂扩散试验
 - 免疫标记技术
 - 中和试验
 - 血凝-血凝抑制试验（HA-HI）



间接血凝试验

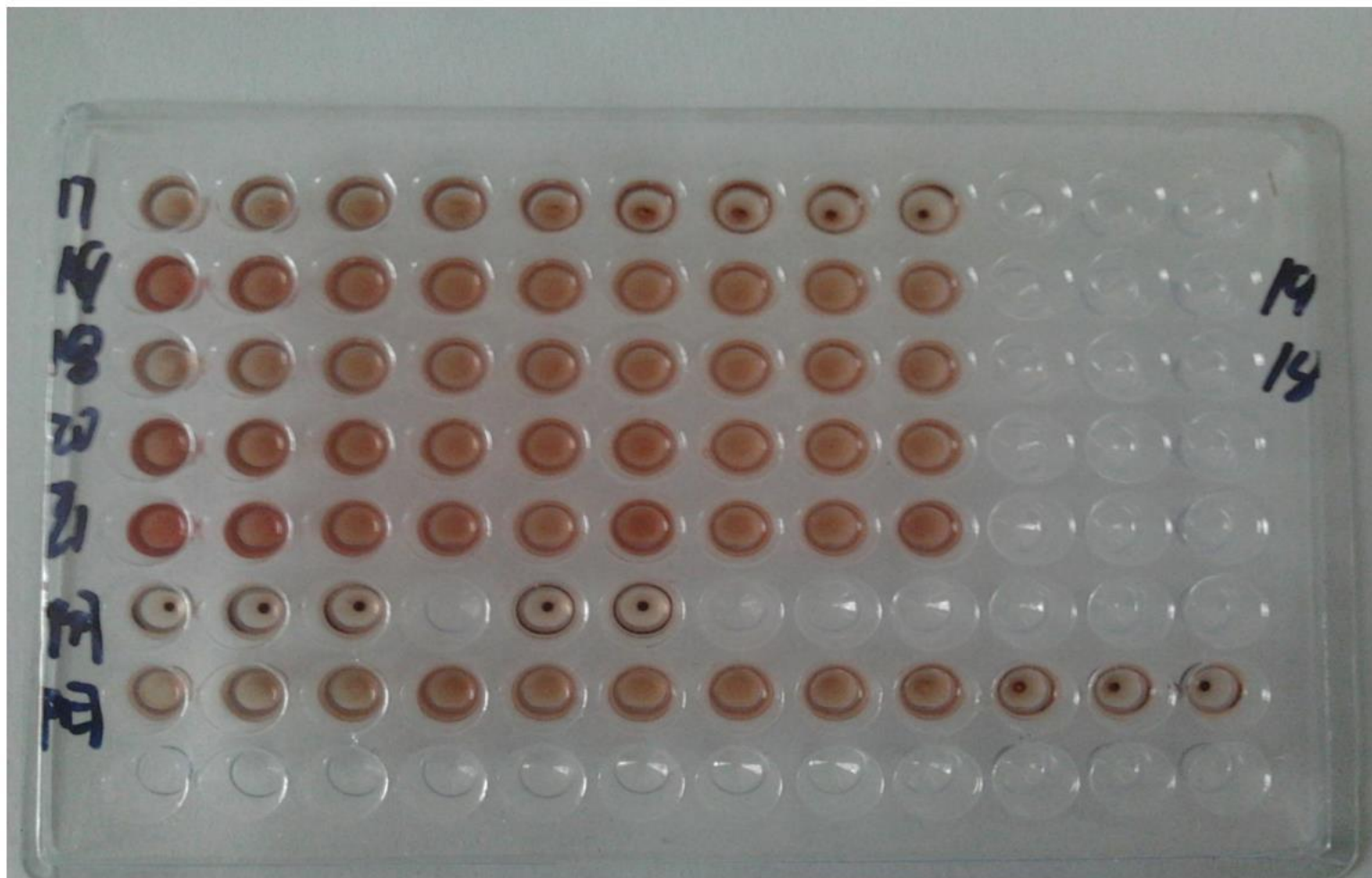
- 例：正向间接血凝试验检测猪瘟抗体

- 原理：猪瘟病毒的抗原结合与红细胞制成正向间接血凝抗原；被检血清中如有猪瘟抗体可与红细胞表面的病毒相结合，出现红细胞凝集。



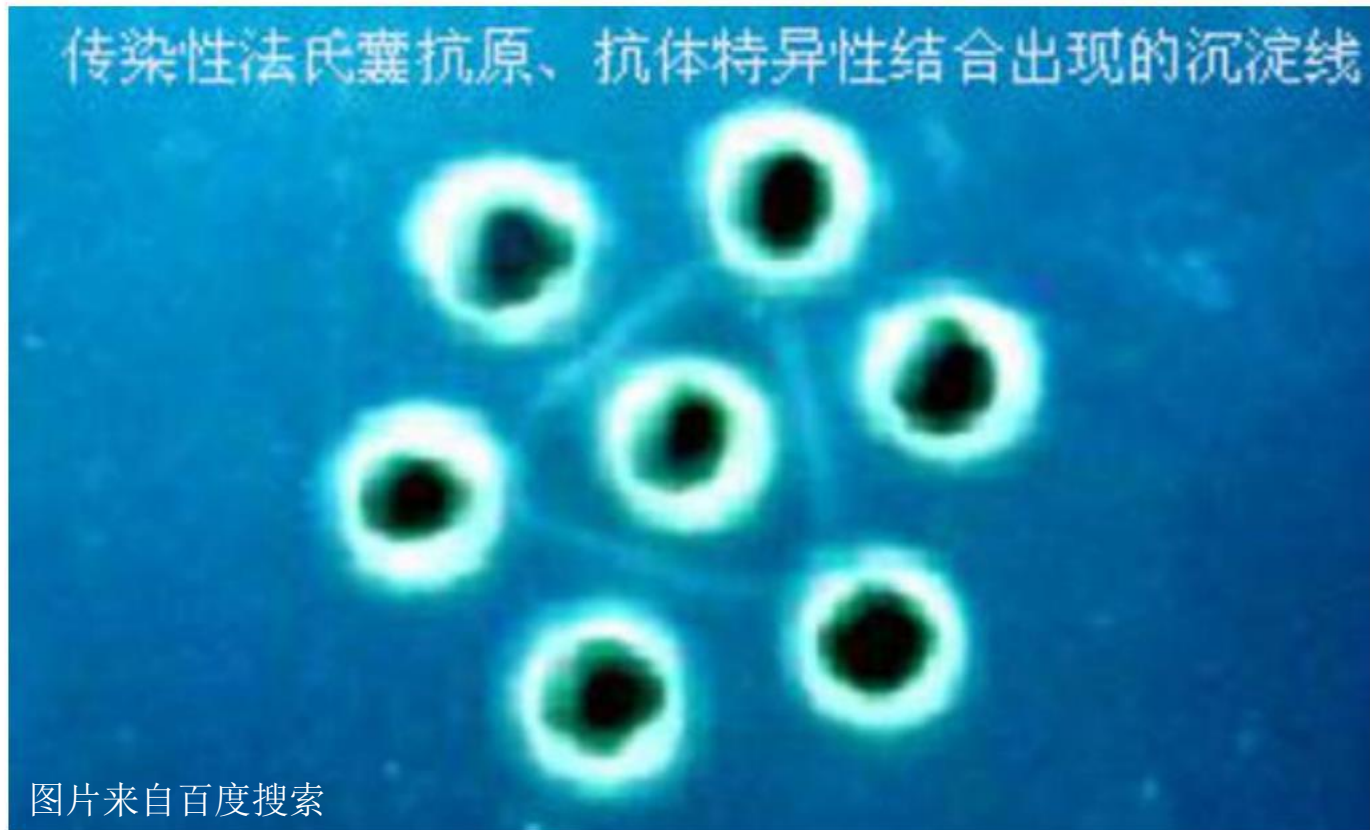


正向间接血凝检测猪瘟抗体结果





琼脂扩散试验



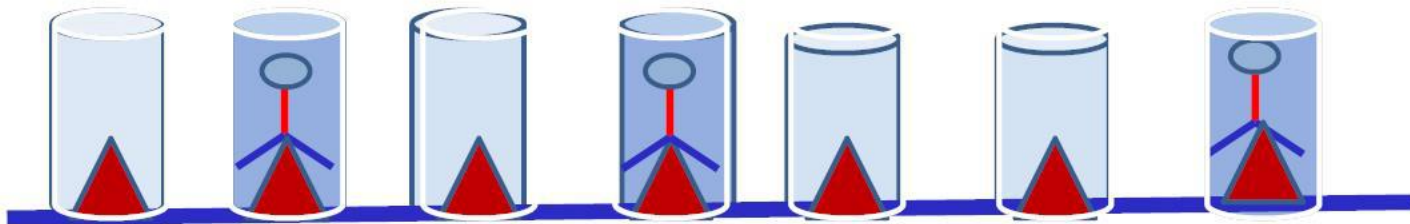


酶联免疫吸附试验

(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

原理:

加底物显色



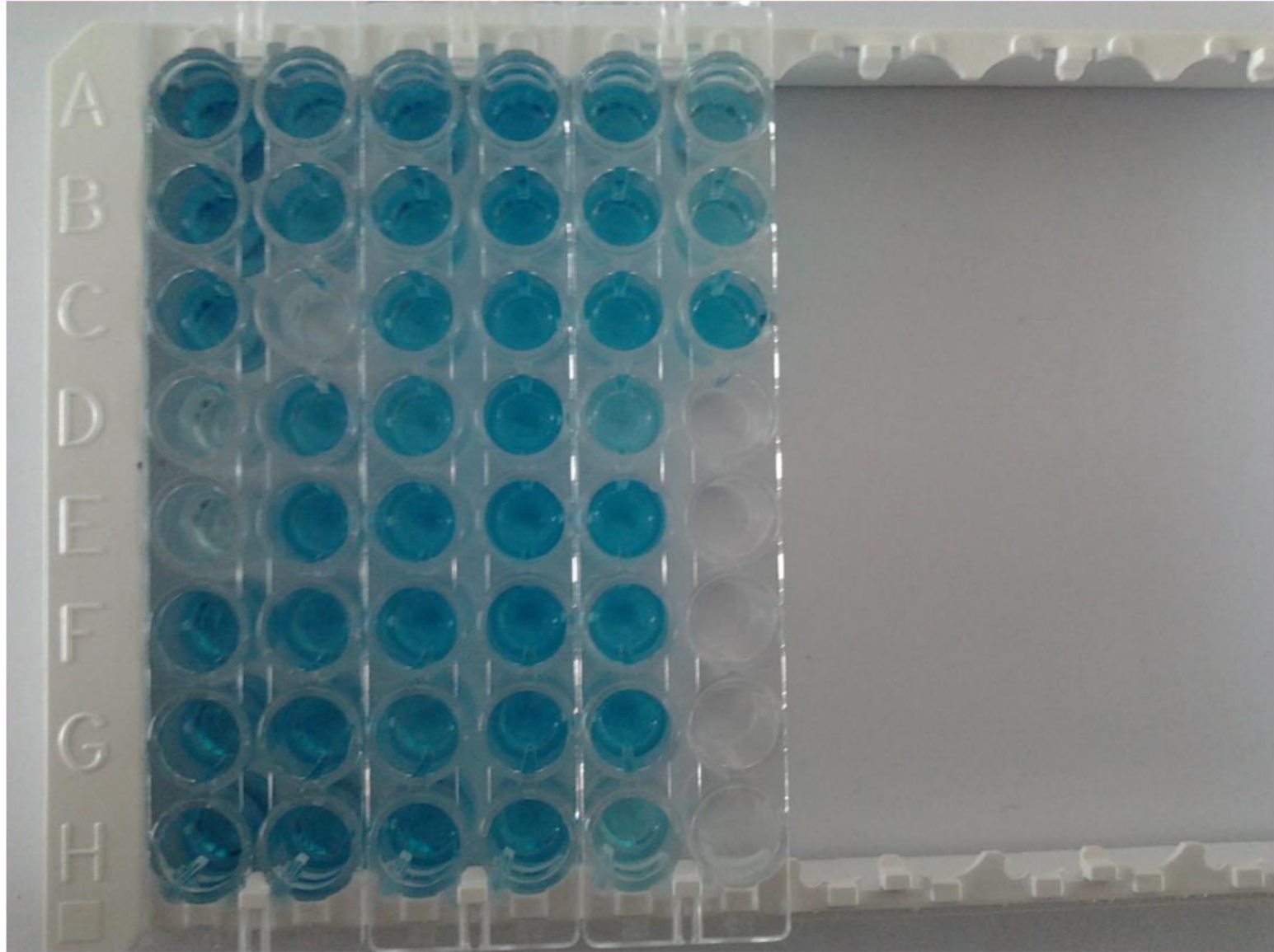
酶标PRRSV抗体



被检抗原吸附



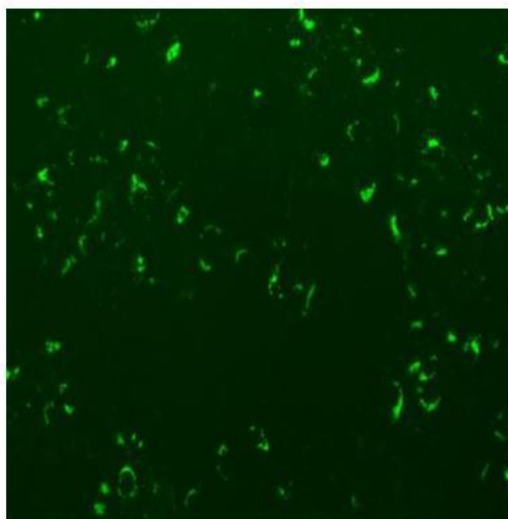
ELISA结果



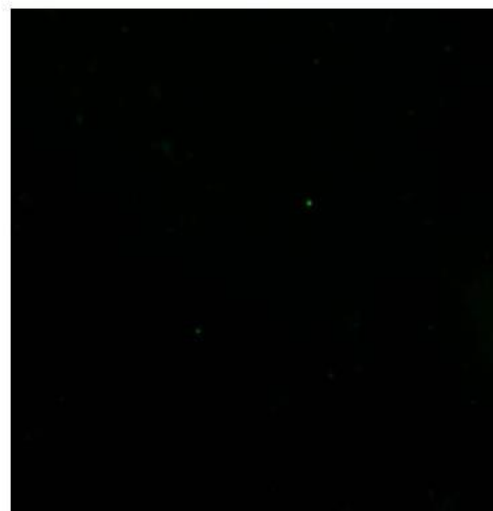


免疫荧光技术

(Immunofluorescence assay, IFA)



阳性 12/15(4°C)

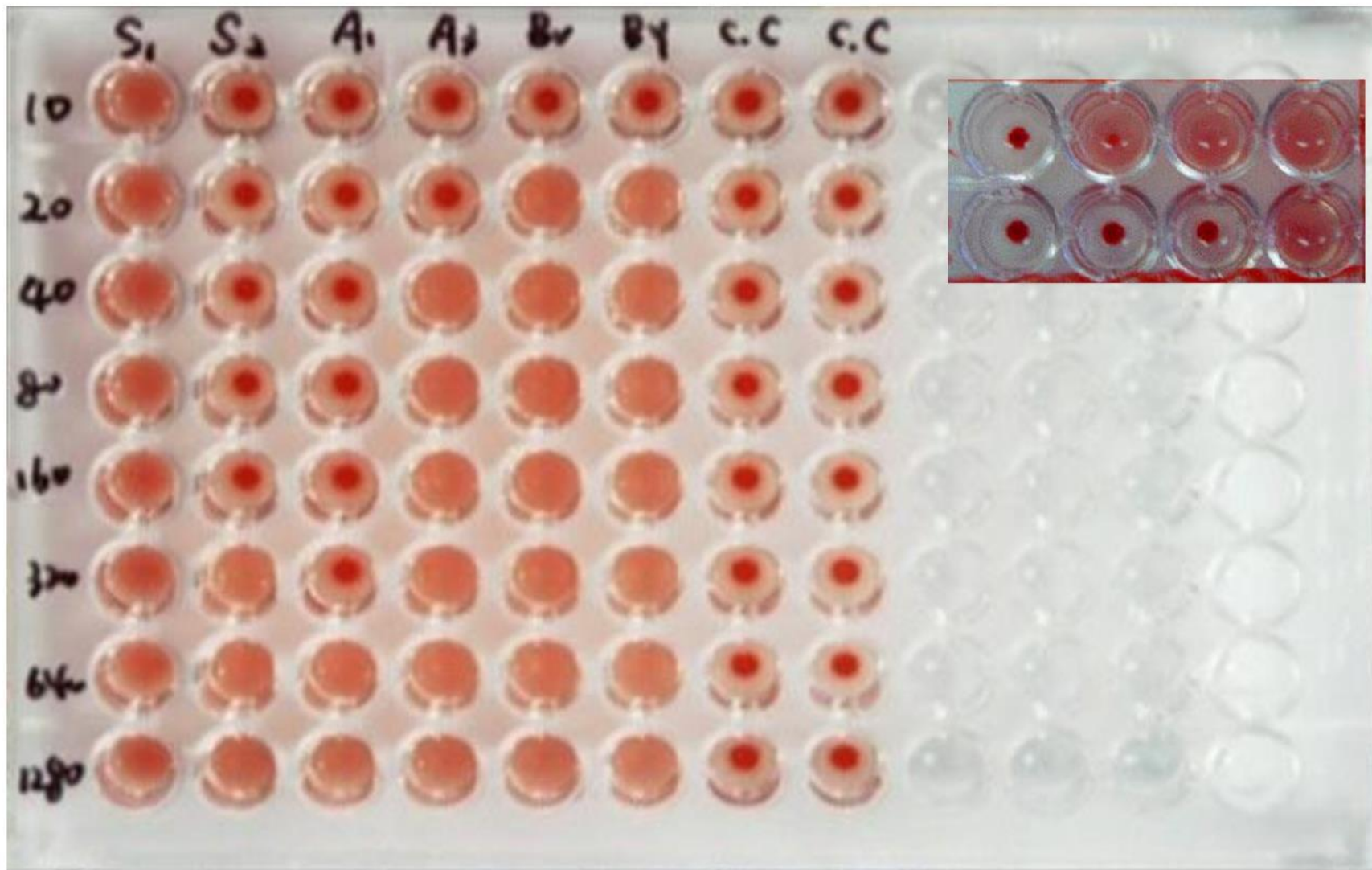


阴性



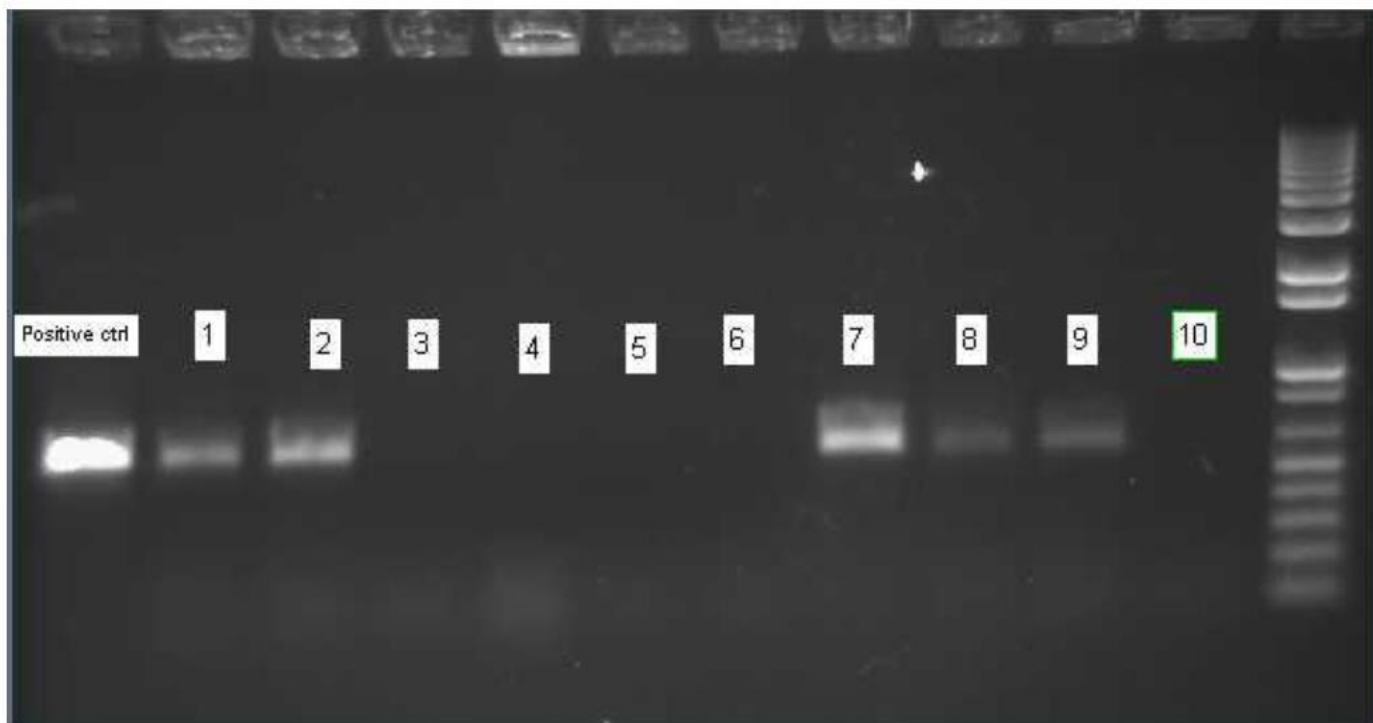
HA-HI

- 用于具有血凝性的病毒鉴定和抗体检测
 - NDV、AIV、EDS-76、兔瘟病毒等





PCR检测病毒





其他方法

- 包涵体检查：多用于研究中。
- 动物接种：敏感动物接种，观察发病情况。



动物检验检疫技术

专业教学资源库

Thank You!