

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 557—2002

## 马鼻疽诊断技术

Diagnostic techniques for glanders

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

## 前　　言

马鼻疽(glanders)是马、骡、驴等单蹄动物的一种高度接触性的传染病,被世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]列为B类疾病,我国农业部把该病列为二类动物疫病。本病以在鼻腔、喉头、气管黏膜或皮肤上形成鼻疽结节、溃疡和瘢痕,在肺、淋巴结或其他实质器官发生鼻疽性结节为特征。

本病的病原为假单胞菌属(*Pseudomonas*)的鼻疽杆菌(*Pseudomonas mallei*)。

本标准的附录A为规范性附录。

本标准由农业部畜牧兽医局提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国人民解放军军需大学。

本标准主要起草人:王世若、王兴龙、韩文瑜、梁焕春、沈广。

## 马鼻疽诊断技术

### 1 范围

本标准规定了鼻疽菌素变态反应试验(含点眼试验皮内注射试验及皮下注射试验),临床检查及补体结合反应的检验方法的技术要求。

本标准适用于马、骡、驴等马属动物产地、集散地、饲养、管理、使用单位(含个体)及国境口岸等地的鼻疽检疫。

### 2 临床症状

感染鼻疽伯克霍尔德菌的马、骡、驴及驴骡(统称马),包括急性鼻疽马、慢性鼻疽马(又称鼻疽菌素阳性马)和开放性鼻疽马。

#### 2.1 急性鼻疽马

鼻疽菌素点眼试验阳性反应(或提纯鼻疽菌素皮内或皮下注射试验阳性反应)及补体结合反应阳性反应。

#### 2.2 慢性鼻疽马

病程较长,可持续数月、数年,甚至十多年,病变仅限于内脏,临床症状不明显,或无症状。鼻疽菌素点眼试验阳性反应。

#### 2.3 开放性鼻疽马

病马鼻黏膜、肺脏或皮肤等处发生典型鼻疽病变,并向外界排带菌的脓性排泄物或脓性分泌物。

### 3 鼻疽菌素点眼试验

#### 3.1 点眼准备

马每次检疫时,点眼2~3次。骡、驴及驴骡每次检疫应点眼3次。点眼试验应于早晨进行,点眼后,于第3 h、6 h、9 h、24 h各检查一次反应强度,而且在第6 h和第24 h应翻眼检查。

#### 3.2 鼻疽菌素点眼试验操作

##### 3.2.1 器材及药品

3.2.1.1 器材:点眼管、煮沸消毒器、脸盆、消毒盘、镊子、工作服、口罩、线手套、记录表格、耳夹子等。

3.2.1.2 药品:鼻疽菌素(如用提纯鼻疽菌素须用生理盐水稀释,使每毫升含0.5 mg)、2%~4%硼酸棉球、75%酒精棉球、3%来苏儿、0.1%新洁尔灭、0.1%洗必泰、脱脂棉、纱布等。

##### 3.2.2 鼻疽菌素点眼试验操作方法

3.2.2.1 点眼前,须详细检查两眼结膜,以及是否单、双眼瞎,眼结膜正常者,方可点眼,以另一只眼作对照,并做记录。

3.2.2.2 点眼时,助手保定马,检查者用左手食指插入上眼睑窝内,使瞬膜露出,以拇指拨开下眼睑,使瞬膜与下眼睑构成凹兜。右手持吸了鼻疽菌素的点眼管,保持水平,手掌下缘支撑额骨之眶部,点眼管尖端距凹兜约1 cm,拇指按压点眼管的胶皮乳头,滴入凹兜鼻疽菌素3~4滴(约0.2 mL~0.3 mL)。注意避免点眼管与眼结膜接触。

3.2.2.3 每回点眼应点于同一眼中,一般应点于左眼,如左眼有疾患,亦可点于右眼,但须在记录上注明。

3.2.2.4 点眼后,注意拴系,并防止风沙侵入和阳光直射,以及磨擦已被点眼的眼睛。

### 3.3 反应强度判定标准

反应强度判定标准如下:

- a) 强阳性反应(十十):眼睑炎症反应特别明显,上下眼睑互相胶着一起,出现大量脓汁。
- b) 阳性反应(十):眼睑浮肿,眼睛呈半开状态,出现中等量的脓性眼眵。
- c) 弱阳性反应(+):眼结膜发炎,浮肿明显,并含有少量的脓性眼眵,或在灰白色粘液眼眵中混有脓性眼眵。
- d) 疑似反应(±):眼结膜潮红,有弥漫性浮肿和灰白色黏液性(非脓性)眼眵。
- e) 阴性反应(-):眼结膜没有反应,或眼结膜轻微充血和流泪。

### 3.4 点眼试验结果判定

呈现“十十”、“十+”、“+”均判定为阳性反应。“±”和“-”者,经过5 d~6 d后要进行第二次点眼,如仍呈“±”、“+”或以上反应者,均判为阳性反应。“-”者虽判为阴性反应,但间隔5 d~6 d后,对“-”者要进行第三次点眼,如仍呈“-”者判定为阴性反应,呈“±”、“+”或以上反应者则判定为阳性反应。最后结果的判定,应以连续两次或三次点眼中任何一次的最高反应为准。

## 4 鼻疽临床检查

### 4.1 操作

#### 4.1.1 器材及消毒药

4.1.1.1 器材:工作服、胶手套、线手套、防护面具、口罩、风镜、反光镜、手电筒、煮沸消毒器、脸盆、耳夹子、记录表格等。

4.1.1.2 消毒药:0.1%升汞水、3%来苏儿、0.1%新洁尔灭、75%酒精棉球等。

#### 4.1.2 检查方法

4.1.2.1 检查者及助手均须穿全套工作服,带好胶手套及线手套、口罩、风镜及防护面具,然后在马旁侧,选择适当位置,对妥为保定后的马进行检查。

4.1.2.2 按要求,逐项检查马的鼻腔、皮肤、颌下淋巴结及睾丸等。注意观察是否有结节、溃疡、鼻漏、皮下浮肿、颌下淋巴结肿胀、睾丸炎及咳嗽、异常消瘦等症状。

4.1.2.3 检查鼻腔时,先以消毒药水(如3%来苏儿)洗净鼻腔内外的鼻漏,然后以双手打开鼻孔,用反光镜或手电筒将光线射入鼻腔深部,仔细检查黏膜上有无鼻疽特有的病变(见4.2.1)。

4.1.2.4 检查结束,检查者及助手的手需用0.1%升汞水或3%来苏儿或0.1%新洁尔灭或75%酒精棉球彻底消毒,工作服及用过的器材分别用3%来苏儿等浸泡1 h,或煮沸10 min消毒。检疫现场用10%石灰乳、2%热火碱水、10%~20%漂白粉消毒。

### 4.2 鼻疽的主要临床症状

4.2.1 鼻腔有脓性鼻漏,呼吸带哮鸣音;鼻中隔有大小不等的灰白色鼻疽性结节,周围有红晕,或有大小不等深浅不一边缘隆起的溃疡;或发生溃疡已愈者,见到星芒状、冰花状的瘢痕。皮肤有结节,进而形成深陷的火山口状溃疡,排出灰黄色或混有血液的黏稠脓汁,溃疡底面似猪油状,结节和溃疡附近的淋巴管肿大、硬固,粗如绳索(索状肿),沿索状肿可发现串珠状结节和溃疡。上述症状为典型的鼻疽临床症状,这种马不进行鼻疽菌素点眼试验,即可定性,此均判定为开放性鼻疽马。

4.2.2 鼻腔有鼻漏、颌下淋巴结肿胀、皮下浮肿、咳嗽、睾丸炎、消瘦等疑似鼻疽症状者,除其中确有大量脓性鼻漏,马体异常消瘦,同时鼻疽菌素点眼试验呈现阳性反应者,判为开放性鼻疽马外,其他如鼻疽菌素点眼试验和补体结合反应均呈阳性反应者,判定为急性鼻疽马。

## 5 鼻疽补体结合反应

### 5.1 材料准备

#### 5.1.1 被检血清的采取及处理

被检血清的采取及处理见附录 A(规范性附录)。

#### 5.1.2 各种要素的配制及效价测定

##### 5.1.2.1 各种要素的配制

5.1.2.1.1 生理盐水:100 mL 蒸馏水中加入 0.85 g 氯化钠(化学纯),充分搅匀后,用滤纸过滤。经 107 kPa 15 min 灭菌后使用。

##### 5.1.2.1.2 绵羊红细胞悬液:

绵羊脱纤血的制备:采健康绵羊颈静脉血至装有玻璃珠的灭菌脱纤瓶内,振荡 15 min~20 min,脱去纤维蛋白,使其失去凝固性,即为脱纤血。

绵羊红细胞泥的制备:将脱纤血用两层纱布滤过后,移入离心管内,加 2 倍~3 倍量的生理盐水,混匀,以 2 000 r/min 离心沉淀 10 min 后,吸去上清液,再加生理盐水,用玻璃棒搅匀,再离心沉淀,如此反复三次(第一次除外),直到上清液透明为止,然后吸去上清液,所剩沉淀,即为红细胞泥(压积红细胞)。

绵羊红细胞悬液的配制及检定:用生理盐水将红细胞泥配成 2.5% 的浓度,即为试验用的红细胞悬液。应用前须进行检定,看其浓度是否适当。其方法是,取 2 mL 生理盐水放入反应管中,然后加入 2.5% 红细胞悬液 0.5 mL,混匀后,如呈现微红色即为合格,倘若色淡,需酌量补加红细胞泥予以校正(必要时应计算红细胞数,以每立方毫米中含 50 万个左右为度)。

##### 5.1.2.1.3 溶血素。

5.1.2.1.4 补体:可用冻干补体。也可应用豚鼠的新鲜血清作补体,新鲜补体须在实施反应的前一天,自 3 只以上健康豚鼠心脏采血,根据体重不同,每头采血 5 mL~8 mL 左右。将采集的血液置培养皿中凝固(每个约盛 15 mL 为宜),随后,用玻璃棒划破血凝块,放 37℃ 水浴箱中 15 min 后再放于冰箱中过夜,次日吸取血清,离心沉淀后,其上清即为补体,新采集的补体只能当天使用,置于 4℃~8℃ 冰箱,可使用 2 d;如置 -20℃~-25℃ 冰箱冷冻保存,可供一个月使用。

##### 5.1.2.1.5 标准血清:鼻疽阴、阳性血清。

##### 5.1.2.1.6 鼻疽抗原。

#### 5.1.2.2 各种要素的效价的测定

##### 5.1.2.2.1 溶血素效价测定(通常一个月左右测定一次)

5.1.2.2.1.1 稀释溶血素:先将溶血素稀释成 1:100 的基础液(如溶血素以石炭酸防腐时,则取 0.1 mL 加 9.9 mL 生理盐水,如为甘油防腐,则取 0.2 mL 加 9.8 mL 生理盐水,混合即成),再按表 1 进一步稀释。

表 1 溶血素稀释法

要 素/mL	稀 释 倍 数								
	1:500	1:1 000	1:1 500	1:2 000	1:2 500	1:3 000	1:3 500	1:4 000	1:5 000
1:100 溶血素/mL	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
生理盐水/mL	0.8	0.9	1.4	1.9	2.4	2.9	3.4	3.9	4.9
全量/mL	1.0	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	5.0

5.1.2.2.1.2 补体:1:20 稀释的补体,每管 0.5 mL。

5.1.2.2.1.3 溶血素效价测定的方法:按表 2 实施。

表 2 溶血素效价测定法

要 素/mL	稀释倍数(1:X)									对 照		
	500	100	1 500	2 000	2 500	3 000	3 500	4 000	5 000	1:500 溶血素	补体	红细胞
稀释的溶血素/mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—	—
生理盐水/mL	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	1.5	2.0
1:20 补体	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—	—	0.5	—
2.5%红细胞悬液/mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
感 作	37℃水浴 15 min											
结 果	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	—	—	—

注: ++++ 为 100% 溶血; +++ 为 75% 溶血; ++ 为 50% 溶血; + 为 25% 溶血; - 为不溶血。

5.1.2.2.1.4 溶血素效价确定: 能使 0.5 mL 的 2.5% 红细胞悬液在 37℃~38℃ 水浴箱内 10 min 完全溶血的最小量溶血素, 称为一个溶血素单位, 或溶血素效价。测定补体、抗原和做正式试验时, 溶血素的用量须提高一倍, 即两个单位。

例如表 2 的测定结果, 0.5 mL 1:2 500 为一个溶血素单位, 则 1:1 250 的稀释液 0.5 mL, 即为两个单位。

### 5.1.2.2.2 补体效价测定

每次进行补体结合反应时, 应于当天按表 3 的程序在阳性血清和阴性血清的参与下, 测定补体效价。

表 3 补体效价测定法

要 素/mL	试 管 号										对照
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1:20 补体	0.19	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.40	0.43	0.46	—
生理盐水	0.31	0.28	0.25	0.22	0.19	0.16	0.13	0.10	0.07	0.04	0.5
1:10 阴性 血清组	抗原一列 血清	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	抗原二列 血清	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
1:10 阳性 血清组	抗原三列 血清	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	抗原四列 血清	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
感 作	置 37℃~38℃ 水浴箱中 20 min										
溶血素(2 单位) 2.5% 红细胞悬液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
感 作	置 37℃~38℃ 水浴箱中 20 min										
结果 (例)	1:10 阴性 血清组	一列	—	+	++	+++	++++	++++	++++	++++	—
	二列	—	+	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	—
	1:10 阳性 血清组	三列	—	—	—	—	—	—	—	++	—
	四列	—	+	++	+++	+++	++++	++++	++++	++++	—

注: — 完全不溶血; + 为 25% 溶血; ++ 为 50% 溶血; +++ 为 75% 溶血; ++++ 为 100% 溶血。

从表 3 看出, 第二、四列分别为第一、三列的对照, 其结果应该是除前几管因为补体量不足, 不发生

或轻微发生溶血外,其余各管应完全溶血,在此前提下,确定补体效价,即第三列完全不溶血与第一列完全溶血的最小量补体对应管所用的补体量,即为补体效价,如表 3 之例,补体效价为 1:20 稀释的补体 0.34 mL(第六管)。

正式试验使用的工作补体用量可按比例换算成使用 0.5 mL 的稀释倍数。如上例:

$$20 : X = 0.34 : 0.5$$

$$0.34X = 20 \times 0.5$$

$$X = \frac{10}{0.34} = 29.4 \text{ (倍)}$$

即补体作 1:29.4 稀释,每管 0.5 mL。

为了方便,现将不同效价的补体,做正式试验使用 0.5 mL 时,原补体应稀释的倍数列于表 4。

表 4 补体使用换算表

补体效价(1:20 倍的毫升数)	使用 0.5 mL 时原补体应稀释的倍数
0.19	1: 52.6
0.22	1: 45.5
0.25	1: 40.0
0.28	1: 35.7
0.31	1: 32.2
0.34	1: 29.4
0.37	1: 27.0
0.40	1: 25.0
0.43	1: 23.2
0.46	1: 21.7

#### 5.1.2.2.3 抗原效价测定

按表 5 进行抗原效价测定。

表 5 抗原效价测定

要 素/mL	抗原稀释倍数									对照
	1: 10	1: 50	1: 75	1: 100	1: 150	1: 200	1: 300	1: 400	1: 500	
被测抗原	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
稀释的阳性血清	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	—
(10, 25, 50, 75, 100 倍) 工作补体	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
生理盐水										0.5
感 作	置 37℃~38℃ 水浴箱中 20 min									
2 单位溶血素	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2.5% 红细胞悬液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
感 作	置 37℃~38℃ 水浴箱中 20 min									

注: 每一血清稀释度(1:10, 1:25, 1:50, 1:75, 1:100)各做一列,共计 5 列。

按表 5 操作结束后,自水浴箱中取出反应管,在室温下静置一夜,次日观察记录结果。现举例说明如表 6。

表 6 抗原效价测定结果

血清稀释倍数	被测抗原稀释倍数									对照
	1: 10	1: 50	1: 75	1: 100	1: 150	1: 200	1: 300	1: 400	1: 500	
1: 10(一列管)	0	0	0	0	0	0	10	20	30	100
1: 25(二列管)	10	0	0	0	0	0	10	30	60	100
1: 50(三列管)	10	10	0	0	0	10	20	40	60	100
1: 75(四列管)	20	10	10	10	0	10	40	60	100	100
1: 100(五列管)	30	20	20	20	10	40	100	100	100	100

注：表中的数字为溶血百分数（%），0 为完全阻止溶血。

工作抗原效价确定：应以最高稀释度的鼻疽阳性血清与最高稀释度的抗原发生最强反应域的顶点为准，确定该抗原的工作效价，如上述为 1: 150。

## 5.2 正式试验

### 5.2.1 要素准备

按 5.1.2 项的测定结果对各种要素作稀释。

5.2.1.1 被检血清（见附录 A），每管滴加 0.5 mL。

5.2.1.2 工作抗原：按测定的效价稀释后，用 0.5 mL。

5.2.1.3 工作补体：按测定的效价稀释后，用 0.5 mL。

5.2.1.4 溶血素：2 单位，每管加 0.5 mL。

5.2.1.5 红细胞悬液：2.5% 悬液，每管加 0.5 mL。

5.2.1.6 鼻疽阳性血清：灭活后，1: 10 稀释，用 0.5 mL。

5.2.1.7 鼻疽阴性血清：灭活后，1: 10 稀释，用 0.5 mL。

### 5.2.2 实施反应

按表 7、表 8 的程序实施。

表 7 马血清检查法

要素/mL	对照管		对照组				抗原	溶血素
	1	2	1: 10 阴性血清	1: 10 阳性血清				
生理盐水	1.35	—	—	—	—	—	—	1.0
被检血清	0.15	0.5	0.5	0.5	—	—	—	—
工作抗原	—	0.5	0.5	0.5	1.0	—	—	—
工作补体	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
感 作	置 37℃~38℃ 水浴箱中放置 20 min							
溶血素(2 单位)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
2.5% 红细胞悬液	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
感 作	置 37℃~38℃ 水浴箱中放置 20 min							
结 果	完全溶血	待定	完全溶血	不溶血	完全溶血	完全溶血		

因为骡、驴、驴骡血清在灭活时，已作了 1: 10 稀释，所以在进行正式试验时，可按照表 8 直接添加被检血清即可。

表 8 骡、驴及驴骡血清检查法

要 素/mL	对 照 管	检 查 管
1:10 被检血清	1.0	0.5
工作抗原	—	0.5
工作补体	0.5	0.5
感 作	37℃~38℃水浴箱中放置 20 min	
溶血素(2 单位)	0.5	0.5
2.5% 红细胞悬液	0.5	0.5
感 作	37℃~38℃水浴箱中放置 20 min	
结 果	完全溶血	待定

### 5.3 结果判定

#### 5.3.1 标准比色管配制

为能正确判定反应的最终结果,应按以下方法配制标准比色管,供第二天终判反应时与反应管比色用。

配制标准比色管时,应于正式试验的同时实施,所用反应管的管径大小和管壁厚薄,以及各种要素都应与正式试验时使用的相同。

5.3.1.1 0.5%溶解红细胞液的配制:取红细胞泥 2.5 mL 加于 47.5 mL 蒸馏水内,使红细胞完全溶解后,再加 1.7%盐水 50 mL,制成 2.5%溶解红细胞液,然后再用生理盐水稀释 5 倍,即 0.5%溶解红细胞液。为了方便,也可将当天测定补体等的完全溶血的各管液体(就是 0.5%溶解红细胞液)收集起来,供配制标准比色管用。

5.3.1.2 0.5%红细胞悬液的配制:于 2.5 mL 的 2.5%红细胞悬液内加 10 mL 生理盐水即成,然后按表 9 加 0.5%溶解红细胞液和 0.5%红细胞悬液,摇匀后,静置室温下,次日待用。

表 9 标准比色管的配制

要 素/mL	反应管溶血百分比/ (%)								
	10	20	30	40	50	60	70	80	90
0.5%溶解红细胞液/mL	0.25	0.5	0.75	1.0	1.25	1.5	1.75	2.0	2.25
0.5%红细胞悬液/mL	2.25	2.0	1.75	1.5	1.25	1.0	0.75	0.5	0.25

#### 5.3.2 第一次判定(初判)

自水浴箱中取出反应管后,即可进行。先观察总对照 1、2、3、4 管,应呈现下述结果,方说明所用要素完全合格,才可判定被检血清的反应结果。

对照管 1:阴性血清对照,完全溶血。

对照管 2:阳性血清对照,完全不溶血。

对照管 3:抗原对照,完全溶血。

对照管 4:溶血素对照,完全溶血。

然后观察被检血清的第一管(即被检血清对照管)完全溶血时,说明反应正确,再检查第二管,完全溶血,即判定为阴性,并登记结果,若第二管不完全溶血或不溶血,则应将反应管留置室温内(置冷暗处并盖以红黑布)12 h 后,再作第二次判定。

#### 5.3.3 第二次判定(终判)

取被检血清的第二管与制备的上述标准比色管进行比色。按其上液色调和沉淀红细胞的量,决定溶血程度,再按下述标准对被检血清作终判:

a) 阳性反应:0~10%溶血者为十十十;

11%~40%溶血者为十十+;

- 41%~50%溶血者为十。  
b) 可疑反应:51%~70%溶血者为十;  
71%~90%溶血者为±。  
c) 阴性反应:91%~100%溶血者为-。

## 6 鼻疽菌素皮内注射试验

无鼻疽症状马,鼻疽菌素点眼试验阴性反应,补体结合反应阳性反应者,须做鼻疽菌素皮内或皮下注射试验。

皮内注射试验,即以生理盐水稀释的提纯鼻疽菌素于马颈部皮内注射0.1 mL,经72 h,用卡尺检查皮肤的增厚度及炎症反应,如局部皮肤炎症反应明显,皮肤增厚4 mm以上者,判定为阳性反应(+);如局部炎症反应明显,皮肤增厚2.1 mm~3.9 mm者,判为疑似反应(±);如局部皮肤无炎症反应,皮肤增厚2 mm以下者,判定为阴性反应(-)。对于疑似反应的马可在对侧部位,用同一批鼻疽菌素再做第二回皮内注射试验,注射后经72 h,仍呈疑似反应或以上者,判定为阳性反应。

## 7 鼻疽菌素皮下注射试验

由于这种试验干扰以后的血清学诊断,所以一般选用上述两种鼻疽菌素试验,有些国家也不接受此试验。试验前的前一天和注射时,以及注射后9 h、12 h和15 h,马体温应不高于38.8℃。将颈中部10 cm<sup>2</sup>的面积剪毛消毒后,于其中心皮下注射2.5 mL稀释的马来因。如为阳性马,则在注射后头15 h内出现40℃或高于40℃的高热,注射部位在24 h内出现边缘隆起、坚实、有痛感的肿胀。没有感染鼻疽的马,不出现反应,或者出现轻微的暂时性局部肿胀。可疑马在14 d后用双倍剂量的马来因重检。

## 8 马鼻疽的综合判定

- 8.1 有鼻疽临床症状的马,按本标准4.2的规定,判定为开放性鼻疽马或急性鼻疽马。  
8.2 有疑似鼻疽症状马,鼻疽菌素点眼试验或鼻疽菌素皮内注射试验阳性反应,补体结合反应阳性反应者,判定为急性鼻疽马。  
8.3 无鼻疽症状马,鼻疽菌素点眼试验或鼻疽菌素皮内(皮下)注射试验阳性反应,补体结合反应阴性反应者,判定为慢性鼻疽马(又称鼻疽菌素阳性马或马来因马)。  
8.4 无鼻疽症状马,鼻疽菌素点眼试验(或鼻疽菌素皮内、皮下注射试验)及补体结合反应均阴性反应者,判定为非鼻疽马。

## 9 鉴别诊断

在确定为鼻疽马之前,须与以下三种疾病作鉴别。

### 9.1 流行性淋巴管炎

在皮肤、皮下组织和粘膜上发生结节、溃疡和淋巴管囊肿;结节常呈串珠状,溃疡常突出于周围皮肤表面,呈蘑菇状;取脓汁或分泌物做压片检查,可见到呈椭圆形或西瓜籽状,有双层菌膜,胞浆内有2~4个能回旋运动的闪亮小颗粒,即流行性淋巴管炎囊球菌。

### 9.2 马腺疫

颌下淋巴结肿胀,初硬固、热痛,达鸡蛋至拳头大,继而成熟变软,最后破溃,流出黄色粘稠脓汁;取脓汁革兰氏染色镜检,可见40~50个或更多菌体构成的长链状革兰氏阳性球菌,即马腺疫链球菌。

### 9.3 类鼻疽

主要发生在热带和亚热带地区,为自然疫源性疾病,当在疫区发现可疑病畜有不可解释的化脓性疾病时,取脓性渗出物革兰氏染色镜检,发现菌体两极浓染,革兰氏阴性短杆菌,有鞭毛,能运动;在甘油琼脂平板上形成同心圆菌落,表面有皱纹,似蜂窝状等特征,即类鼻疽杆菌。

**附录 A**  
(规范性附录)  
**被检血清的采取和处理**

**A.1 马匹采血局部的消毒处理及采血**

在被检马匹颈部前三分之一处,静脉沟部剪毛后,用碘酒及酒精消毒,将灭菌的采血针沿静脉沟刺入颈静脉内,使血液沿试管壁流入管内,应防止血液直接滴入,引起溶血。

**A.2 被检血液的运送**

采集的血液,冬天应防止冻结,夏天应防腐烂,并迅速送往化验室。如在 72 h 内不能送到,应先用铂金耳将凝固血液与试管壁间划离,待血清自血液中分离出,倒入另一支灭菌试管内,并按 1 mL 血清加入 5% 石炭酸生理盐水 1 滴~2 滴,进行防腐,然后送检。

**A.3 被检血清的处理**

马血清可先不作稀释,直接在 58℃~60℃ 水浴箱中加温 30 min,使其灭活。骡、驴及驴骡血清则需先用生理盐水作 1:10 稀释后,再置 63℃~64℃ 水浴箱中,灭活 30 min。

---