

ICS 11.220
B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 556—2002

鸡传染性喉气管炎诊断技术

Diagnostic techniques for avian infectious laryngotracheitis

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

鸡传染性喉气管炎是鸡的重要疫病之一,世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]将本病定为B类动物疾病,我国定为二类动物疫病。

本标准主要参照OIE推荐的鸡传染性喉气管炎(ILT)诊断方法制定。

本标准的附录A、附录B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:农业部动物检疫所。

本标准主要起草人:范根成、王永玲、刘相娥、王红。

鸡传染性喉气管炎诊断技术

1 范围

本标准规定了鸡传染性喉气管炎病毒分离及琼脂凝胶免疫扩散试验的技术要求。

本标准规定的病毒分离技术,适用于本病的确诊。琼脂凝胶免疫扩散试验,适用于传染性喉气管炎的血清学诊断及用传染性喉气管炎疫苗免疫后的抗体检测。

2 病毒分离鉴定技术

2.1 材料准备

2.1.1 病料的准备

2.1.1.1 活体采样:用灭菌棉拭子伸入口咽或气管采集分泌物,放入含青霉素 4 000 IU/mL,链霉素 4 000 μ g/mL 的无菌生理盐水中。也可用棉拭子刮取眼分泌物,处理方法同上。

2.1.1.2 尸体采样:无菌采取病死鸡喉头和气管,放入无菌的平皿或烧杯中,密封。

2.1.2 样品的运送

采集的样品应立即放入 4℃ 冰箱保存,24 h 内送到实验室;不能在 24 h 内送到实验室时,应将所采样品冷冻保存和运输。

2.1.3 样品处理

2.1.3.1 收到棉拭子样品后,先经冻融两次,并充分振动、挤干棉拭子,将样品液经 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,加入青霉素 4 000 IU/mL、链霉素 4 000 μ g/mL,于 37℃ 作用 30 min,作为接种材料。

2.1.3.2 组织样品:无菌条件下将组织剪碎,按 1:4 加入生理盐水后用研磨器研磨制成 20% 的匀浆悬浮液,再经 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,加入青霉素 4 000 IU/mL,链霉素 4 000 μ g/mL,于 37℃ 作用 30 min,作为接种材料。

2.2 操作方法

2.2.1 样品接种

取经处理过的样品,接种 9~12 日龄的鸡胚绒毛尿囊膜。每枚 0.2 mL,接种后的鸡胚在 37℃ 孵育,每天观察鸡胚 2 次,连续观察 7 d,弃去 24 h 内死亡的鸡胚,24 h~120 h 内死亡的鸡胚,放 4℃ 冷却后,观察鸡胚绒毛尿囊膜上无痘斑形成;120 h 仍不死亡的鸡胚,亦取出,置 4℃ 冷却后,观察鸡胚绒毛尿囊膜上无痘斑形成。有痘斑者,取出鸡胚绒毛尿囊膜和尿囊液,无菌研磨后,置 -20℃ 冻存储备用;无痘斑者,亦取出鸡胚绒毛尿囊膜和尿囊液,无菌研磨,反复冻融,离心后,接种 9~12 日龄的鸡胚绒毛尿囊膜盲传。如此盲传 3 代以上,如仍无病变,则判为鸡传染性喉气管炎阴性。

2.2.2 病毒鉴定

病毒分离物的鉴定:用鸡传染性喉气管炎标准阳性血清(效价在 1:32 以上)和标准阴性血清与分离物作鸡胚中和试验,固定血清,稀释病毒法中和试验操作方法。

血清处理:将传染性喉气管炎标准阳性血清和标准阴性血清 56℃ 灭活处理 30 min。

病毒稀释:将病毒分离物用含青霉素 1 000 IU/mL、链霉素 1 000 μ g/mL 的灭菌生理盐水稀释,稀释方法见表 1。