



中华人民共和国国家标准

GB/T 18643—2021
代替 GB/T 18643—2002

鸡马立克氏病诊断技术

Diagnostic techniques for Marek's disease

2021-04-30 发布

2021-11-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	I
引言	II
1 范围	1
2 缩略语	1
3 临床诊断	1
4 病毒分离	3
5 琼脂免疫扩散试验检测	4
6 PCR 检测	6
7 荧光定量 PCR(q-PCR)检测	7
8 综合判定	8
附录 A (规范性附录) 病毒分离用溶液配制	9
附录 B (规范性附录) 琼脂免疫扩散试验用溶液配制	11
附录 C (规范性附录) PCR 检测用引物、反应条件及溶液配制	12
附录 D (规范性附录) q-PCR 检测用引物、探针和反应条件	15

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 18643—2002《鸡马立克氏病诊断技术》。本标准与 GB/T 18643—2002 相比主要技术变化如下：

- 修改了鉴别诊断部分的描述(见 3.4, 2002 年版的 3.4)；
- 增加了病毒分离检测方法(见第 4 章, 附录 A)；
- 增加了 PCR 检测方法(见第 6 章, 附录 B)；
- 增加了荧光定量 PCR 检测方法(见第 7 章, 附录 C)。

本标准的修订参考了 OIE《陆生动物诊断实验和疫苗标准手册》(2017 版), 并结合国内外技术研究成果, 与国际先进技术保持一致。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位: 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、中国动物卫生与流行病学中心。

本标准主要起草人: 刘长军、龚振华、张艳萍、路平、王笑梅、李阳、高玉龙、祁小乐、李凯、王志亮。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 18643—2002。

引 言

鸡马立克氏病(Marek's disease, MD)是一种鸡的高度传染性、以淋巴细胞增生为特征的肿瘤性疾病,由鸡疱疹病毒 2 型(Gallid herpesvirus 2, GaHV-2),即鸡马立克氏病病毒(Marek's disease virus, MDV)引起。MD 一般发生于 3 周龄以上的禽只,多发生于 12 周龄~30 周龄。MD 可引起多种严重的病症,其中淋巴组织增生是最常见也是最重要的一种。经典型 MD 主要侵害神经组织,死亡率很少超过 10%~15%,可持续数周至数月。急性型 MD 可使发病鸡内脏器官产生淋巴瘤,发病率一般为 10%~30%,暴发流行时发病率可高达 70%。死亡率可能在数周内迅速增加,然后死亡停止,也可能在数月内保持稳定的死亡率,并逐渐下降。目前,最常见的是产生广泛内脏器官淋巴瘤的急性型 MD。

MD 在临床诊断上容易与鸡的其他肿瘤性疾病,禽白血病(Avian leukosis, AL)和禽网状内皮组织增生病(Reticuloendotheliosis, RE),发生混淆。一般需要通过流行病学和病理组织学进行鉴别诊断。MD 可通过活疫苗免疫预防,免疫属于非清除性免疫,不能清除病原,也不能阻止环境中 MDV 野毒的感染和感染鸡排毒。由于 MD 疫苗普遍应用,以及疫苗的自身特点,临床上 MD 疫苗毒株的接种和野毒株的感染情况复杂,需要实验室诊断技术进行确诊。

从感染鸡组织中分离 MDV 可用于该病的检测。通常选用从抗凝血样中分离的淋巴细胞、肾细胞或脾细胞悬液作为分离病毒用的材料,也可以用羽髓组织浆液作为 MDV 分离材料。细胞悬液或羽髓组织浆液可接种鸡肾细胞(Chicken kidney cells, CKC)、鸭胚成纤维细胞(Duck embryo fibroblast, DEF)或鸡胚成纤维细胞(Chicken embryo fibroblast, CEF)进行病毒分离。应用琼脂免疫扩散试验(Agar gel immunodiffusion, AGID)对羽髓 MDV 抗原进行血清学检测,可以确定 MDV 感染。AGID 是检测抗体最常用的方法,然而由于 MD 疫苗毒株也可以刺激机体产生相应的抗体,抗体的检测对于 MD 的临床诊断仅具有参考价值。PCR(Polymerase chain reaction, PCR)方法可以用于检测 MDV, PCR 法还可以鉴别 MDV 血清 I 型野毒株和疫苗毒株。

鸡马立克氏病诊断技术

1 范围

本标准规定了鸡马立克氏病临床诊断,以及病毒分离、琼脂免疫扩散试验、PCR 检测和荧光定量 PCR 检测等实验室检测的技术要求和综合判定。

本标准适用于鸡马立克氏病的检测、诊断、检疫和流行病学调查等。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

AGID:琼脂免疫扩散试验(Agar gel immunodiffusion)

AL:禽白血病(Avian leukosis)

CEF:鸡胚成纤维细胞(Chicken embryo fibroblast)

CKC:鸡肾细胞(Chicken kidney cells)

DEF:鸭胚成纤维细胞(Duck embryo fibroblast)

CPE:致细胞病变效应(Cytopathic effect)

DEF:鸭胚成纤维细胞(Duck embryo fibroblast)

DNA:脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid)

EB:溴化乙锭(Ethidium bromide)

FBS:胎牛血清(Fetal bovine serum)

LL:禽淋巴性白血病(Lymphoid leukosis)

M199:M199 培养基(M199 Medium)

MD:鸡马立克氏病(Marek's disease)

MDV:鸡马立克氏病病毒(Marek's disease virus)

PCR:聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate-buffered saline buffer)

RE:禽网状内皮组织增生病(Reticularendotheliosis)

3 临床诊断

3.1 临床症状

在鸡群中,病鸡临床症状表现为严重消瘦,瘫痪且两腿前后伸展呈“劈叉”姿势,皮肤毛囊结节以及眼盲症等,一般可以作为 MD 的示病症状,可初步推测为 MD。

3.2 剖检变化

3.2.1 内脏型

内脏型 MD 的病理变化为肝、性腺、脾、肾、肺、前胃及心脏出现广泛的弥漫性淋巴瘤。青年鸡的肝脏一般中度肿大,但成年鸡肝脏严重肿大。