

ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18649—2002

牛传染性胸膜肺炎(牛肺疫)诊断技术

Diagnostic techniques for contagious bovine pleuropneumonia

2002-02-19 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
牛传染性胸膜肺炎(牛肺疫)诊断技术
GB/T 18649—2002

*

中国标准出版社出版发行
北京西城区复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

<http://www.bzcbs.com>

电话:63787337、63787447

2002年7月第一版 2004年11月电子版制作

*

书号: 155066·1-18548

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

前 言

牛肺疫是由丝状支原体丝状亚种(PG1)引起的一种牛属动物的传染病。健康牛和病牛接触由呼吸道吸入病牛的“飞沫”，是本病的主要传染方式和感染途径。暴发流行时多呈急性病演，呼吸系统症状非常明显，体温在 41℃ 以上稽留。但在病的常在地区多见亚急性和慢性病程，以地方流行性为特点。急性期病变为浆液渗出性纤维素性胸膜肺炎，肺间质多孔多汁，肺小叶出现各期肝变、多色，呈大理石样肺，肺胸膜和肋胸膜粘连，以及胸腔渗出液大量潴留为特征。转为慢性后逐渐形成肺包膜或坏死块。慢性病牛长期带菌，成为隐蔽的传染源。

在新发的地区对此病的检验应采取流行病学、临床学、血清学、病理学和病原学综合诊断方法为宜。世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]于 1986 年和 1992 年推荐采用稍加改进的 Campbell 和 Turner 的补体结合试验作为牛肺疫血清学诊断的方法，但常出现非特异性反应。新中国成立后一直采用补体结合试验检验牛肺疫，并于 1979 年将该法列入农业部颁布的《动物检疫操作规程》中，但这种方法常出现 1%~2% 非特异性反应。近年来我国研制成功了特异性高的微量凝集反应检验方法，它不但降低了非特异性反应率，而且操作简便，容易判定，应用效果良好。病原学诊断主要取病牛肺脏，胸腔渗出液和肺门淋巴结接种马丁培养基，即可分离出牛肺疫病原体，此法对急性期病例的检出率可达 100%。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E 都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

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：中国农业科学院哈尔滨兽医研究所。

本标准主要起草人：白文彬。

牛传染性胸膜肺炎(牛肺疫)诊断技术

Diagnostic techniques for contagious bovine pleuropneumonia

1 范围

本标准规定了牛传染性胸膜肺炎的病原学检查、补体结合试验、微量凝集试验诊断技术要求。

本标准适用于牛传染性胸膜肺炎的检验。病原学检查适用于急性、亚急性及慢性病牛分离病原体，补体结合试验和微量凝集试验适用于牛肺疫抗体的检测。

2 病原学检查

2.1 材料准备

培养基:10%马血清马丁肉汤,10%马血清马丁琼脂[见附录 A(标准的附录)]。

2.2 病料采集

2.2.1 用灭菌器械(剪刀、镊子、吸管、青霉素瓶等)无菌采集肺脏、胸腔渗出液、肺门淋巴结,并将肺病料剪成 3 cm~5 cm 方块。胸部淋巴结,以整个淋巴结为好,胸腔渗出液用吸管吸入青霉素瓶内。

2.2.2 受检病料的保存:肺和淋巴结保存在用茶色广口瓶盛装的灭菌的 40%~50%甘油生理盐水中,胸腔渗出液不加任何保存液。病料均放入冰箱内保存,并应尽快送往实验室检验。

2.3 培养方法

在无菌条件下剪肺病料或淋巴结小块,用铂金耳钩入 10%马血清马丁肉汤内;胸腔渗出液用灭菌吸管吸取 0.1 mL~0.3 mL 接种于马丁肉汤中即可。同时取剪碎病料小块或直接取胸腔渗出液,用铂金耳在 10%马血清马丁琼脂培养皿上划线接种,培养皿用胶布封口,置 37℃~38℃培养,每天观察一次,5 d~7 d 后判定。

2.4 结果判定

2.4.1 培养特征

2.4.1.1 培养性状和菌落形态:牛肺疫病原微生物在 10%马血清马丁肉汤内生长初期呈轻微混浊或呈白色点状、丝状生长,以后逐渐均匀混浊,半透明稍带乳光,不产生菌膜或沉淀,也无颗粒悬浮。在 10%马血清马丁琼脂培养皿上生长迟缓,为极小的水滴状圆形略带灰色的微细菌落,中央有乳头状突起。菌落直径约 0.2 mm~0.5 mm,小的不易看见,需用放大镜或低倍显微镜观察。

2.4.1.2 染色镜检取马丁肉汤培养物涂片放温箱中干燥,后在酒精灯上轻微火焰固定,再用 3%~5%铬酸蒸馏水溶液固定 1 min~2 min,水洗,浸入用蒸馏水稀释的 1:30 的姬姆萨氏染液中染色,染片时染色缸放入普通冰箱内过夜,染色后取出用蒸馏水轻洗,自然干燥后用 800~1 000 倍显微镜观察。菌形为多形态,以球形最常见,大小在 125 nm~250 nm。

2.4.2 生化特性

2.4.2.1 糖发酵试验

2.4.2.1.1 取蛋白胨水(pH7.8~8.0)100 mL,氯化钠 0.5 g 所需各种糖类 0.5 g~1.0 g。溶解各成分,加入 1.6%溴甲酚紫酒精溶液指示剂 0.1 mL 混匀,分装三分管内装 2 mL,管内装有倒置的小玻璃