

ICS 65.020.30
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 19167—2003

传染性囊病诊断技术

Diagnostic techniques for infectious bursal disease

2003-06-02 发布

2003-11-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

传染性囊病(IBD)又名鸡传染性法氏囊病、腔上囊炎、甘布罗病,是由双 RNA 病毒科禽双 RNA 病毒属的传染性囊病病毒(IBDV)引起的鸡和火鸡的一种急性、高度接触传染性疫病。

本标准参考了世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]的《哺乳动物、禽、蜜蜂 A 和 B 类疾病诊断试验和疫苗标准手册》所推荐的方法。

本标准的附录 A 为规范性附录。

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。

本标准由北京市农林科学院畜牧兽医研究所负责起草,由广西兽医研究所协作起草。

本标准主要起草人:刘有昌、刘爵、周蛟、姚炜光、张方亮、贺荣莲、吴健敏、兰美益、黄红梅、蒋冬福、韦志锋。

传染性囊病诊断技术

1 范围

本标准规定了传染性囊病病毒的病原分离、抗原的检测和检测特异性抗体的琼脂凝胶免疫扩散试验、病毒血清微量中和试验、酶联免疫吸附试验的技术要求。

本标准适用于传染性囊病的诊断与检疫。

2 病毒的分离及其鉴定

2.1 材料准备

灭菌组织研磨器、离心机、37℃温箱、孵化器、灭菌吸管、橡胶吸头、灭菌小瓶、灭菌6#针头、灭菌注射器、石蜡。

2.2 病料的采集和处理

采集具有病变的新鲜法氏囊,用加有抗生素(3 000 IU/mL青霉素和3 000 μg/mL链霉素)的胰蛋白酶磷酸缓冲液或生理盐水制成20%的组织匀浆液,在37℃作用30 min~60 min,1 500 r/min离心20 min,收集上清液。经菌检培养为阴性后作为接种材料。

2.3 鸡胚接种

2.3.1 接种

将收集的上清液以每只0.2 mL的量经绒毛尿囊膜接种9日龄~11日龄无传染性囊病母源抗体鸡胚或SPF鸡胚(无特定病原体鸡胚),接种后用石蜡封住接种孔。37℃孵育,每天照蛋检查,弃去24 h内死亡的鸡胚。

2.3.2 鸡胚剖检结果判定

2.3.2.1 标准IBDV分离物接种后判定:标准的IBDV分离物接种鸡胚后3 d~5 d可致鸡胚死亡。死亡鸡胚充血,在羽毛囊、趾关节和大脑有血斑性出血。肝脏多可见坏死,也可见色淡似熟肉样。

2.3.2.2 IBDV变异株分离物接种后判定:IBDV变异株经绒毛尿囊膜接种鸡胚,一般不致死鸡胚,接种后5 d~6 d剖检,可见鸡胚大脑和腹部皮下水肿、发育迟缓、呈灰白色或奶油色,肝脏常有胆汁着色或坏死,脾脏通常肿大2倍~3倍,但颜色无明显变化。

2.4 易感雏鸡接种试验

2.4.1 接种

取2.2述及的病料上清液0.5 mL,经点眼、口服感染5只14日龄~21日龄无IBDV母源抗体鸡或SPF鸡。同时设健康对照组。接种3 d后将鸡剖杀,检查法氏囊及脾脏。

2.4.2 剖检接种结果

2.4.2.1 标准IBDV接种结果:接种后偶见鸡死亡,剖检可见接种鸡法氏囊水肿、色黄,有时可见出血。脾脏有时可见轻度肿大,表面有灰色点状病变。健康鸡则正常。

2.4.2.2 IBDV变异株接种结果:接种后不出现死亡,3 d剖检可见法氏囊萎缩、质度硬,脾脏可见肿大1倍~2倍。健康鸡则正常。

2.5 IBD病毒的鉴定

2.5.1 琼脂凝胶免疫扩散(AGID)试验

用已知的特异性的鸡传染性囊病标准阳性血清,用分离株的法氏囊匀浆制备待检抗原,同时制备正常法氏囊匀浆作对照抗原,按AGID常规法滴加抗原和血清进行扩散,如在抗原孔和血清孔之间出现白色沉淀线者判分离物为阳性。