

ICS 11.220
B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 538—2002

鸡传染性鼻炎诊断技术

Diagnostic techniques for infectious coryza

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

鸡传染性鼻炎(IC)是由副鸡嗜血杆菌(hpg)引起的一种鸡的急性上呼吸道传染病,本病在世界各地均有发生,主要引起蛋鸡产蛋率下降、生长发育鸡群的生长受阻及淘汰率增加,造成很大的经济损失。

副鸡嗜血杆菌通常分为A、B、C三个血清型,在我国能引起传染性鼻炎的菌型目前为A型和C型,它们具有共同抗原和各自的型特异性抗原,可以通过检测这些型特异性抗原来鉴定hpg的血清型。

本标准提供了多种诊断鸡传染性鼻炎的方法,在使用中应根据鸡群发病后至诊断时的间隔时间长短及使用单位的具体情况选择使用。建议在鸡群发病早期采用病原的分离鉴定或聚合酶链反应(PCR)方法进行诊断,感染一周以后可以采用血清平板凝集试验进行诊断,两周后可以采用琼脂扩散试验、间接酶联免疫吸附试验(ELISA)和阻断ELISA进行诊断,三周后以上各种检查抗体的方法均可使用。

本标准的附录A、附录B、附录C、附录D、附录E、附录F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:北京市农林科学院畜牧兽医研究所。

本标准主要起草人:苗得园、陈小玲、张培君、陈葵、宋程、龚玉梅。

鸡传染性鼻炎诊断技术

1 范围

本标准规定了检测副鸡嗜血杆菌的细菌分离鉴定方法、PCR 技术以及检测副鸡嗜血杆菌特异性抗体的血清平板凝集试验、血凝抑制试验、间接酶联免疫吸附试验、阻断酶联免疫吸附试验的操作方法。

本标准适用于鸡和其他易感动物的传染性鼻炎的诊断。

2 细菌的分离鉴定

2.1 材料准备

2.1.1 无菌棉拭子、鲜血琼脂平板培养基。

2.1.2 产烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(或辅酶 I, NAD)表皮葡萄球菌。

2.2 操作程序

2.2.1 无菌打开可疑病鸡的眶下窦,用灭菌棉拭子蘸取其中粘液或浆液。

2.2.2 用棉拭子在鲜血琼脂平皿上横向划线 5~7 条,然后取产 NAD 表皮葡萄球菌从横线中间划一纵线。

2.2.3 将划种好的平皿置于 5% 的二氧化碳(CO₂)培养箱中 37℃ 培养 18 h~24 h。

2.2.4 观察菌落特点。

2.2.5 取分离物做过氧化氢酶试验,必要时通过进一步的生化反应做详细的特征鉴定。副鸡嗜血杆菌的生化反应特点及过氧化氢酶试验方法见附录 A。

2.2.6 也可采用 PCR 鉴定可疑菌落,同时取病料或可疑菌落进行动物试验,方法见附录 B。

2.3 结果判定与表示方法

若鲜血琼脂培养基上出现“卫星样”生长的露滴状、针头大小的小菌落,即靠近产 NAD 表皮葡萄球菌线处菌落较大,直径可达 0.3 mm,离产 NAD 表皮葡萄球菌线越远,菌落越小,过氧化氢酶阴性,结果判为阳性,记为“+”,若无卫星现象,但有露滴状、针头大小的小菌落出现且过氧化氢酶阴性,则仍需采用 PCR 或动物试验鉴定,以避免漏检不需 NAD 的副鸡嗜血杆菌。若无上述现象,则判为阴性,记为“-”。

3 聚合酶链反应(PCR)技术

3.1 材料准备

3.1.1 PCR 反应液、消化液、阴、阳性对照物,按说明书保存和使用。

3.1.2 石蜡油、生理盐水、蒸馏水、1.5 mL 及 0.5 mL 小离心管、吸头若干,均经灭菌处理。

3.1.3 PCR 仪、56℃ 水浴锅、微量加样器、小型高速离心机、冰块等。

3.1.4 琼脂糖、电泳仪、水平电泳槽、紫外检测仪。

3.1.5 10 mg/mL 溴化乙锭,加样缓冲液,TAE 电泳缓冲液,配制方法见附录 C。

3.2 操作程序

3.2.1 PCR 临床样品的采集

无菌打开可疑病鸡的眶下窦,用灭菌棉拭子蘸取其中粘液或浆液,浸入含 0.8 mL~1.0 mL 生理盐水的 1.5 mL 离心管内,室温放置 0.5 h 后,将棉拭子在管壁上尽量挤干,然后弃至消毒液缸中。