

ICS 11.220  
B 41

**NY**

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 539—2002

---

## 副结核病诊断技术

**Diagnostic techniques for paratuberculosis**

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

---

中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

副结核病(paratuberculosis, Johne's disease)是由副结核分枝杆菌(*Mycobacterium paratuberculosis*)引起的以反刍动物为主的一种慢性、消耗性传染病,其临床症状以持续性腹泻和慢性消瘦为特征。该病广泛地分布于世界各国,引起较大的经济损失。世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]将其划为B类传染病,我国也将其划为Ⅱ类传染病。

副结核病潜伏期长,有的终生感染而不表现出临床症状。至目前为止,尚无治疗该病的有效方法,防治该病的主要方法是监测、隔离和淘汰病畜。目前该病的检疫方法有细菌学检查和免疫学检查。后者主要是包括皮内变态反应、琼脂扩散试验、间接红细胞凝集试验、淋巴细胞转化试验、补体结合反应和酶联免疫吸附试验(ELISA)。本标准提出的补体结合反应、皮内变态反应和ELISA方法与OIE推荐的可选择方法基本一致。

本标准的附录A为规范性附录,附录B为资料性附录。

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:吉林农业大学、吉林省兽医研究所。

本标准起草人:何昭阳、吴玉环、顾万钧、钱爱东。

## 副结核病诊断技术

### 1 范围

本标准规定了副结核病的诊断技术。

本标准的细菌学检查、皮内变态反应、补体结合反应适用于牛、羊、鹿等动物的副结核病诊断；ELISA 检疫方法适用于牛的副结核病诊断。

### 2 细菌学检查

#### 2.1 材料准备

0.5%氢氧化钠液、水浴槽、离心机等。

抗酸染色法试剂：配制及染色方法见附录 A。

#### 2.2 操作方法

取待检粪样(尽可能取带有粘液或血丝的粪便)15 g~20 g,加约 3 倍量的 0.5%氢氧化钠液,混匀,55℃水浴乳化 30 min,以 4 层纱布过滤,取滤液 1 000 r/min 离心 5 min,去沉渣后,再以 3 000 r/min 4 000 r/min 离心 30 min,去上清,用沉淀涂片。也可以直肠刮取物、病变肠段粘膜直接涂片。火焰固定,抗酸染色(见附录 A)后镜检。

#### 2.3 结果判定

发现在细胞内有被染成红色、成丛排列的短杆菌即为细菌检查阳性(+),否则判为细菌检查阴性(-)。

### 3 皮内变态反应试验

#### 3.1 材料准备

##### 3.1.1 器材

游标卡尺、灭菌的 1 mL 注射器及针头、75%酒精棉、记录本等。

##### 3.1.2 变应原

副结核分枝杆菌提纯蛋白衍生物(副结核 PPD)或禽分枝杆菌提纯蛋白衍生物(禽结核 PPD)。

#### 3.2 操作方法

3.2.1 将被检动物编号,在颈侧中三分之一处中部的健康皮肤处剪毛,直径约 10 cm,将注射部位的皮肤用手捏起,以卡尺测量皮肤皱褶厚度并记录。局部消毒。

3.2.2 将变应原以灭菌生理盐水稀释至 0.5 mg/mL,与皮肤呈 15°~20°的角度进行皮内注射。注射后注射部位应呈现绿豆至黄豆大小的小包。无论动物种类及大小一律皮内注射 0.1 mL。如注至皮下或溢出,应于离原注射点 8 cm 以远处补注一针,并在记录中加以说明。

3.2.3 羊在尾根无毛的皱褶部进行皮内注射。

#### 3.3 结果判定

注射 72 h 观察反应,检查注射部位有无热、肿、痛等炎性反应,并以卡尺测量注射部位的皮肤皱褶厚度。

##### 3.3.1 判定标准如下:

a) 变态反应阳性(+):局部有炎性反应,皮厚差 $\geq 4$  mm。