

ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18643—2002

鸡马立克氏病诊断技术

Diagnostic techniques for Marek's disease

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

鸡马立克氏病诊断技术

GB/T 18643—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.bzcb.com>

电话:63787337、63787447

2002年6月第一版 2004年11月电子版制作

*

书号: 155066·1-18477

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

前 言

马立克氏病(Marek's disease 简称 MD)是鸡的一种由马立克氏病疱疹病毒(简称 MDV)引起的传染性肿瘤性疾病。其病理组织学特征为外周神经、性腺、虹膜、各种内脏器官、肌肉和皮肤的单个或多个组织器官发生肿瘤性淋巴细胞浸润。病鸡表现为消瘦、肢体麻痹,并常有急性死亡。MD 传染性强,死亡率高,是鸡的主要传染病之一。

我国 70 年代末研究和建立了 MD 琼脂扩散特异性血清学诊断方法,先后研制和改进了用于 MD 血清学诊断用的 MD 皮肤抗原和 MDV 细胞培养抗原。这两种抗原用于 MD 的检测与国外同类进口抗原相比,具有同样的敏感性。

然而由于 MD 疫苗的使用,仅能预防 MD 肿瘤的发生,不能阻止环境中 MD 野外毒株的感染及在体内的复制;同时 MD 血清 I 型疫苗的应用,也可以刺激机体产生相应的抗体,并可以检测到病毒抗原的存在。因此,尽管 MD 琼脂扩散试验具有良好的特异性,MD 琼脂扩散试验的检测结果,对于 MD 的临床诊断仅具有参考价值。

MDV 广泛存在于自然界中。除 SPF 鸡群外,几乎所有的鸡场都不同程度的存在着 MDV 野外毒株的流行。MDV 野外毒株致病力强弱存在着差异,因此病鸡临床主要表现为神经型(古典型)和内脏型(急性型);此外,比较少见的还有皮肤型和眼型,有时可以混合发生。大多数死于 MD 的鸡剖检时,在各内脏器官中可以见到单发或多发性肿瘤,最常见的肿瘤发生部位有肝脏、肾脏、性腺等内脏器官。值得注意的是,其他一些禽病也可以导致内脏肿瘤的发生,如禽白血病(LL)和网状内皮增生病(RE)。其肿瘤的外观形态与 MDV 引起的肿瘤在临床剖检时无法区别,应通过病理组织学变化进行判定。

另外,MD 的临床诊断还可以通过 MD 特征性的临床症状和病理变化作为诊断依据。如病鸡临床症状表现为两腿前后伸展,呈“劈叉”姿势;尸体剖检时可见到坐骨神经单侧或双侧肿大、横纹消失、皮肤发生肿瘤、虹膜褪色和瞳孔不规则。这些变化在其他传染病很难见到,可以作为 MD 的临床诊断指征。

总之,由于 MD 发病机理及致病过程比较复杂,其血清学诊断方法应用范围有一定的局限性,对于临床诊断仅具有参考价值。而 MD 的特征性的临床症状及剖检病理变化在发病鸡群中并不常见,MD 的临床诊断一般需要病理组织学检查进行确诊。

本标准的附录 A、附录 B 都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提示。

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:赵晓岩、吴东来。

鸡马立克氏病诊断技术

Diagnostic techniques for Marek's disease

1 范围

本标准规定了鸡马立克氏病(MD)的诊断技术。

本标准适用于 MD 的流行病学普查、产地和口岸检疫、SPF 鸡群的疫病监测。

2 MD 琼脂扩散试验检测技术

鸡马立克氏病琼脂扩散试验既可以用于马立克氏病病毒抗原的检出,也可以用于马立克氏病病毒抗体的检出。该方法一般在马立克氏病病毒感染 14 d~24 d 后检出病毒抗原;抗体的检出一一般在病毒感染 3 周后。

2.1 材料准备

2.1.1 抗原和标准阳性血清。

2.1.2 溶液配制:

- a) pH7.4 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液;
- b) 1%硫柳汞溶液;
- c) 生理盐水。

以上各种溶液配制方法见附录 A(标准的附录)。

2.1.3 琼脂板的制备:见附录 B(标准的附录)。

2.2 操作方法

2.2.1 马立克氏病病毒抗原检测

2.2.1.1 打孔

2.2.1.1.1 在已制备的琼脂板(见附录 B)上,用直径 4 mm 或 3 mm 直径的打孔器按六角形图案打孔,或用梅花形打孔器打孔。中心孔与外周孔距离为 3 mm。

2.2.1.1.2 将孔中的琼脂用 8 号针头斜面向上从右侧边缘插入,轻轻向左侧方向挑出,勿损坏孔的边缘,避免琼脂层脱离平皿底部。

2.2.1.2 封底

用酒精灯火焰轻烤平皿底部至琼脂轻微溶化为止,封闭孔的底部,以防样品溶液侧漏。

2.2.1.3 加样

用微量移液器吸取用灭菌生理盐水稀释的标准阳性血清(按产品使用说明书的要求稀释)滴入中央孔,标准阳性抗原悬液分别加入外周的第 1、第 4 孔中,在外周的第 2、3、5、6 孔处(不打孔)按顺序分别插入被检鸡的羽毛髓质端(长度约 0.5 cm);或在第 2、3、5、6 孔中加入被检的羽髓浸出液,每孔均以加满不溢出为度,每加一个样品应换一个吸头。

2.2.1.4 感作

加样完毕后,静止 5 min~10 min,将平皿轻轻倒置,放入湿盒内,置 37℃温箱中反应,分别在 24 h