



中华人民共和国国家标准

GB/T 22332—2008

鸭病毒性肠炎诊断技术

Diagnostic techniques for duck virus enteritis

2008-08-22 发布

2008-12-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准部分技术采用 OIE《陆生动物诊断试验和疫苗手册》(2004)推荐的试验方法,并把具体操作程序予以细化。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:华南农业大学、中华人民共和国广东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:郭霄峰、廖明、洪洁心。

鸭病毒性肠炎诊断技术

1 范围

本标准规定了鸭病毒性肠炎病毒(DVEV)分离和鉴定及聚合酶链式反应(PCR)试验的诊断技术要求。

本标准适用于鸭病毒性肠炎的诊断。

2 临床症状和病理变化

家养的鸭和雏鸭从7日龄至成年均可感染发病。在易感鸭群,初始症状通常为突发持续性高死亡现象,产蛋量明显下降。由于感染禽的品种、年龄、性别以及病毒毒力的不同,暴发鸭病毒性肠炎(DVE)后临床症状、剖检病变有很大的差异。种鸭临床症状为流泪、怕光、烦渴、缺乏食欲、共济失调、水样腹泻和流鼻涕。通常病鸭羽毛蓬乱,肛门粘有污物。病鸭借助翅膀支撑方能保持平衡,整个外观虚弱、精神沉郁。但2周~7周龄鸭中损失比成鸭低,其症状为脱水、体重下降,喙呈蓝色,肛门染有血迹。

剖检时发现,死亡的鸭并不消瘦。性成熟的公鸭的阴茎可能脱垂。性成熟母禽的卵巢滤泡出血。特征性大体病变以血管受损,带有组织出血和体腔游离血液,消化道粘膜表面有环状出血和白喉样损坏,淋巴样器官受损,实质器官呈退行性病变为特征。白色北京鸭的特征性病变是血管及内脏器官损伤,消化道上皮细胞出现嗜酸性核内包涵体和胞浆内包涵体。

3 病毒分离

3.1 材料准备

3.1.1 病料的采集:一般应在感染初期或发病急性期从濒死期禽或活禽采取。濒死期禽采集肝、脾、脑等组织样品。活禽用灭菌的棉拭子涂抹泄殖腔。带有分泌物的棉拭子放入每毫升含有1 000 IU青霉素,1 000 μg 链霉素,pH7.2~7.6的磷酸盐缓冲液(PBS)中。送检病料应置于50%的甘油生理盐水中。

3.1.2 病料的保存:采集的样品若在48 h内处理,可于4 $^{\circ}\text{C}$ 保存;否则应放-20 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存(-70 $^{\circ}\text{C}$ 贮存最好)。

3.1.3 病料的处理:将棉拭子充分捻动、拧干后除去拭子。样品液经3 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心30 min,取上清液作为接种材料。组织样品先用pH7.2~7.6的PBS制成5倍~10倍乳剂,3 000 r/min 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心30 min,取上清液作为接种材料。为防止细菌污染,可在样品液中加入青霉素(1 000 IU/mL),链霉素(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$),卡那霉素(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$),37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱中作用30 min。进行无菌检验。

3.1.4 鸭胚:10日~11日龄的非DVE疫苗免疫鸭胚。

3.2 实验操作

3.2.1 胚胎接种:取经处理并且无菌检验合格的样品,以0.2 mL/胚的量经绒毛尿囊膜接种10日~11日龄的非DVE疫苗免疫的鸭胚,每个样品接种4个~5个胚,于38 $^{\circ}\text{C}$ ~38.5 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中孵育。72 h前每天照胚1次~2次,以后每天照胚5次。弃去72 h前死亡的胚胎,冻存72 h~120 h内的死胚或活胚。

3.2.2 病毒收获:无菌收取72 h~120 h内的死胚或活胚的绒毛尿囊膜和尿囊液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

3.2.3 如第一代分离结果为阴性,需盲传三代。