

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 554—2002

鸭病毒性肝炎诊断技术

Diagnostic techniques for duck viral hepatitis

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

鸭病毒性肝炎(duck viral hepatitis,简称 DVH)是雏鸭的一种急性接触传染性疾病,以肝炎为主要特征,世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]把该病列为 B 类疫病,我国农业部列为二类疫病。DVH 的病原为鸭肝炎病毒(DHV),根据病毒的特性不同,DHV 分为 3 种类型(DHV_I、DHV_{II}、DHV_{III})。最常见的为 DHV_I属肠道病毒(我国仅有此型);DHV_{II}为星状病毒;DHV_{III}为小核糖核酸病毒。

本标准规定的雏鸭接种/保护试验和鸭(鸡)胚接种/中和试验与 OIE 推荐的相应方法一致。

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:华南农业大学、江苏省农业科学院。

本标准主要起草人:贺东生、黄引贤、张则斌、罗函禄、刘福安。

鸭病毒性肝炎诊断技术

1 范围

本标准规定了鸭病毒性肝炎的雏鸭接种/保护试验和鸭(鸡)胚接种/中和试验的技术要求。
本标准适用于鸭病毒性肝炎的诊断及检疫。

2 雏鸭接种/保护试验

2.1 材料准备

2.1.1 研钵或平皿,玻璃匀浆器,10 mL 带胶塞玻璃瓶。

2.1.2 1 mL 和 5 mL 注射器及针头。

2.1.3 0.22 μm 微孔滤膜及滤头。

2.1.4 离心管、手术剪刀和手术镊子。

2.1.5 0.85%生理盐水:在使用前加入青霉素和链霉素,使其最终浓度分别为 2 000 IU/mL 和 2 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.1.6 DHV 高免血清(在国内诊断检疫仅用 DHV₁,对进境鸭的检疫还应加上 DHV₁、DHV₂ 抗血清)。

2.1.7 雏鸭:1~5 日龄 75 只易感健康雏鸭。

2.2 操作方法

2.2.1 病料处理

在无菌室内超净台上无菌采取数例病鸭的肝脏组织 10 g,于研钵或平皿中剪碎,用玻璃匀浆器制备组织匀浆,按 1:10(W/V)加入生理盐水。将匀浆液转至离心管中,3 000 r/min 离心 10 min。弃去上层脂肪,抽取中间清亮的液体,再经过 0.22 μm 的灭菌微孔滤膜过滤,收集滤过的液体,作为病料样品直接接种;或装入 10 mL 玻璃瓶中,盖上胶塞,置专用的密闭铁盒里,于-20℃保存待检,保存期不超过 1 年。

2.2.2 试验

选取 75 只健康雏鸭,分为 A、B 和 C 三组,每组 25 只,做如下处理:

A 组(攻毒保护组):每只鸭颈背部皮下注射 1 mL DHV 高免血清。24 h 后,每只鸭皮下注射 0.2 mL 的待检样品。

B 组(攻毒组):每只鸭颈背部皮下注射 0.2 mL 的待检样品。

C 组(对照组):每只鸭颈背部皮下注射 0.2 mL 的生理盐水。

将上述三组鸭置于相同的管理条件下,隔离饲养,连续观察。

2.3 结果判定

当 C 组没有任何一只雏鸭死亡时,对照试验才成立,可进行如下判定,否则应重检。

阳性(+):B 组特征性死亡¹⁾的鸭只总数达 30%以上(含 30%),而 A 组死亡的鸭只总数低于 10%(含 10%)。

可疑(±):B 组特征性死亡的鸭只总数低于 30%,而 A 组的鸭只不死亡。此可疑结果应重检,仍为可疑时则判为阳性。

1) 特征性死亡指死亡的胚胎出现如下任何一种病变:尿囊液变绿、肝脏肿大、肝有出血斑点或有坏死灶。

阴性(一):B组的鸭只均不死亡。

3 鸭(鸡)胚接种/中和试验

3.1 材料准备

3.1.1 1 mL 注射器及针头 4 套。

3.1.2 生理盐水:在使用前加入青霉素和链霉素,使其最终浓度分别为 2 000 IU/mL 和 2 000 μ g/mL。

3.1.3 DHV 高免血清。

3.1.4 鸭(鸡)胚:75 枚 12~14 日龄的易感健康鸭胚;也可选用 9~10 日龄的无特定病原(SPF)鸡胚。

3.2 操作方法

3.2.1 取 0.5 mL 病料样品,加入 4.5 mL 的生理盐水,制备成 100 倍稀释的待检病毒液。

3.2.2 选取 75 只鸭或鸡胚,分为 A、B 和 C 共三组,每组 25 只胚,处理如下:

A 组(中和试验组):取 2 mL 高免血清和 2 mL 的待检病毒液,混合均匀。置于 37℃ 温箱中作用 30 min 后,每胚经尿囊腔接种 0.2 mL。

B 组(接种试验组):取 2 mL 的生理盐水,加入 2 mL 待检病毒液,混匀,每只胚经尿囊腔接种 0.2 mL。

C 组,对照组:每只胚经尿囊腔接种 0.2 mL 的生理盐水。

将上述三组接种的鸭(鸡)胚用石蜡或无菌胶布封口后,置于 37℃ 孵化箱内继续孵化,每天照蛋 2 次,剔除接种后 24 h 内 A、B、C 三组因细菌污染而死亡的胚,分组记录其死亡情况及胚胎剖检病变。观察至第 7 d(如用鸡胚,则为 10 d)。

3.3 结果判定

当 C 组中没有任何胚胎死亡,才可进行如下判定,否则应重检。

阳性(+):B 组特征性死亡的鸭(鸡)胚总数达 20% 以上(含 20%),而 A 组的胚不死亡。

可疑(±):B 组特征性死亡的鸭(鸡)胚总数低于 20%,而 A 组的胚不死亡。此可疑结果应重检,仍为可疑时则判为阳性。

阴性(一):B 组和 A 组的胚均不死亡。
