

ICS 11.220
B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 575—2002

牛传染性鼻气管炎诊断技术

Diagnostic techniques for infectious bovine rhinotracheitis

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

牛传染性鼻气管炎(infectious bovine rhinotracheitis,简称 IBR)是由牛疱疹病毒 1 型(BHV-1)感染家养牛和野生牛引起的一种病毒性传染病,被世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizooties(法),OIE]列为 B 类疾病,我国农业部列为二类动物疫病。该病广泛分布于世界各地,该病死亡率较低,许多感染牛呈亚临床症状经过,往往由于细菌继发感染导致更为严重的呼吸道疾病。本标准所规定的技术与 OIE 推荐的相应技术一致。

本标准的附录 A、附录 B 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:农业部动物检疫所。

本标准主要起草人:封启民、李昌琳、李晓成、李其平。

牛传染性鼻气管炎诊断技术

1 范围

本标准规定了牛传染性鼻气管炎(IBR)诊断技术要求。

本标准规定的病毒分离方法适用于牛传染性鼻气管炎病毒的分离;微量血清中和试验和酶联免疫吸附试验适用于牛群检疫、流行病学调查及牛群抗体水平的检测。

2 牛传染性鼻气管炎病毒分离鉴定

2.1 材料准备

2.1.1 病料的采集

2.1.1.1 呼吸道拭子:用灭菌拭子伸入鼻道采取分泌物,然后放入含青霉素1 000 IU/mL,链霉素1 000 μ g/mL,pH7.2的Earles液中。也可用棉拭子刮取眼分泌物,并用相同的方法处理。

2.1.1.2 阴道拭子:用棉拭子采集脓疱性外阴阴道炎早期病变的阴道黏液,放入含青霉素1 000 IU/mL,链霉素1 000 μ g/mL,pH7.2的Earles液中。

2.1.1.3 脑组织样品:在剖检时无菌采集脑组织。

2.1.1.4 流产胎儿组织样品:刚死亡的胎儿,无菌采集肺、肾、脾等各种组织样品,放入每1.0 mL含有1 000 IU青霉素,1 000 μ g链霉素,pH7.2的Earles液中。

2.1.1.5 精液:至少采集新鲜精液,或冷冻精液0.5 mL,置液氮中保存备用。

2.1.2 样品的运送

采集的样品立即放入4℃冰箱保存,在24 h内送到实验室。

2.1.3 样品处理

2.1.3.1 收到棉拭子样品后,先经冻融两次,并充分振动,拧干棉拭子,将样品液经10 000 r/min离心10 min,取上清液作为组织培养的接种分离材料。

2.1.3.2 组织样品先用Earles液或Hanks液(pH7.2)制成20%的匀浆悬浮液,再经10 000 r/min离心10 min,取上清液作为接种分离材料。

2.1.3.3 精液冻融两次或超声波裂解,再经10 000 r/min离心10 min,新鲜精液通常对细胞有毒性,在接种前应预先作稀释处理,用Earles液作1:15稀释。

2.2 操作方法

样品接种:取经处理过的样品0.2 mL接种到已形成良好单层的牛肾或睾丸原代或次代细胞培养瓶中。每份样品接种4瓶,于37℃吸附1 h后,倾去接种液,用Earles液洗三次,最后加入含3%(不含IBR抗体)的犊牛血清细胞维持液1 mL。置37℃培养,逐日观察细胞病变;若7天仍不出现致细胞病变,则收获培养物继代于新制备的细胞上,盲传三代后,观察细胞病变,出现病变者收获培养物,保存于-70℃待鉴定。

2.3 病毒鉴定

病毒致细胞病变特点是细胞变圆,聚合,呈葡萄串状、拉网状,最后脱落。取出现上述病变的细胞培养物,经冻融、裂解两次后,以10 000 r/min离心10 min,取上清再作下列试验。