

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8406:2010

Xuất bản lần 1

**GIỐNG VI SINH VẬT THÚ Y –
QUY TRÌNH GIỮ GIỐNG VIRUS CƯỜNG ĐỘ GUMBORO**

*Master seed of microorganisms for veterinary use –
The procedure for preservation of virulent Gumboro strain*

HÀ NỘI – 2010

Lời nói đầu

TCVN 8406:2010 do Cục Thú y biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Giống vi sinh vật thú y –

Quy trình nuôi giữ giống virus cường độc Gumboro

Master seed of microorganisms for veterinary use –

The procedure for preservation of virulent Gumboro strain

CẢNH BÁO – Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn sức khỏe thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định quy trình nuôi giữ giống virus cường độc Gumboro chủng CVL 52/70 được sử dụng trong sản xuất và kiểm nghiệm vắc xin.

2 Yêu cầu đối với giống virus cường độc Gumboro chủng CVL 52/70

2.1 Nhận dạng

Giống virus cường độc Gumboro chủng CVL 52/70 được đóng thành lọ hoặc ống dưới dạng đông khô.

Virus này được trung hòa với kháng huyết thanh đặc hiệu sẽ không gây bệnh cho gà mắc cảm.

2.2 Độ thuần khiết

2.2.1 Tạp nhiễm vi khuẩn

2.2.1.1 Môi trường

- 2 ống môi trường thioglycollate
- 2 ống môi trường trypticase đậu tương

TCVN 8406:2010

- 2 ống (hoặc đĩa) thạch máu.

2.2.1.2 Cách tiến hành

Virus đông khô được hoàn nguyên và cấy vào môi trường 2.1.2.1.1 với lượng khoảng từ 1 % đến 2 % dung tích môi trường.

Ủ môi trường đã cấy từ 7 ngày đến 10 ngày ở nhiệt độ 37 °C. Sau đó đọc kết quả.

2.2.1.3 Đọc kết quả

Trên môi trường không có bất cứ vi sinh vật nào mọc thì được xem là đạt tiêu chuẩn.

2.2.2 Tạp nhiễm nấm mốc

2.2.2.1 Môi trường

- Thạch sabouraud hoặc
- Thạch thủy phân casein đậu tương.

2.2.2.2 Cách tiến hành

Virus đông khô được hoàn nguyên và cấy vào môi trường thạch nấm.

Ủ môi trường đã cấy 14 ngày ở nhiệt độ phòng (20 °C đến 25 °C).

2.2.2.3 Đọc kết quả

Trên môi trường không có bất cứ tạp khuẩn nấm mốc nào thì được xem là đạt tiêu chuẩn.

2.3 Độc lực

2.3.1 Với phôi gà

Giống virus pha ở nồng độ 10^{-2} được tiêm vào phôi gà vào túi lòng đỏ (trứng có phôi 6 ngày tuổi đến 8 ngày tuổi) hoặc màng nhung niệu (9 ngày tuổi đến 10 ngày tuổi) với liều 0,2 ml. Soi trứng hàng ngày, loại bỏ phôi chết trước 48 h. Mở khám phôi chết, quan sát bệnh tích: phôi cứng, phù thũng dưới da, xuất huyết. Phôi chết muộn thì gan sưng to có màu xanh, xung và xuất huyết, thường có hoại tử từng mảng.

2.3.2 Với gà

Giống virus pha ở nồng độ 10^{-2} được nhỏ mắt hoặc mũi gà từ 4 tuần tuổi đến 6 tuần tuổi (không có kháng thể Gumboro) với liều 0,1 ml/con. Sau 48 h đến 72 h, mở kiểm tra bệnh tích của gà cho thấy túi

Fabricius phủ nề, có dịch nhầy màu vàng chanh bao quanh, túi bọc bờ, đôi khi có xuất huyết ở vách múi khe. Cơ đùi và bắp thịt ngực thường có xuất huyết.

3 Phương pháp giữ giống

3.1 Phương pháp truyền giống

Giống virus pha ở nồng độ 10^{-1} được nhồi vào mắt hoặc mũi gà từ 4 tuần tuổi đến 6 tuần tuổi (không có kháng thể gumboro) với liều 0,2 ml/con. Theo dõi trong vòng 48 h đến 72 h sau khi nhò. Mổ lấy túi Fabricius và kiểm tra bệnh tích. Chọn những túi có bệnh tích điển hình để giữ đông khô hoặc giữ tươi.

3.2 Phương pháp bảo quản giữ giống

3.2.1 Phương pháp đông khô

Nghiền túi Fabricius, trộn đều với chất bổ trợ (sữa bò tách bơ), lọc bỏ cặn và chia vào lọ nhỏ và tiến hành đông khô.

Sau khi đông khô phải kiểm tra để đảm bảo:

- Lọ kín, không rạn nứt, chế phẩm xốp, màu đồng nhất.
- Độ chân không được kiểm tra bằng máy đo chân không.
- Độ ẩm dưới 4 %.
- Sự hòa tan chế phẩm trở lại dung dịch ban đầu trong nước sinh lý: trong vòng 2 min đến 3 min (lắc nhẹ).
- Giống đông khô phải đạt các yêu cầu trong Điều 2 và được giữ ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng -50°C trong 2 năm.

3.2.2 Phương pháp giữ tươi

Giống giữ tươi sau khi tăng cường qua động vật phải đạt yêu cầu trong 2.1 và được giữ ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng -50°C và cứ 6 tháng tăng cường 1 lần.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Phương pháp pha chế kháng nguyên và kháng huyết thanh

A.1 Phương pháp chế kháng nguyên

Gà từ 3 tuần tuổi đến 6 tuần tuổi (gà không có kháng thể Gumboro), được nhỏ giống virus pha ở nồng độ 10^{-2} vào mắt hoặc mũi, với liều 0,1 ml/con. Mở khám gà sau 3 ngày gây nhiễm, thu hoạch túi Fabricius. Loại bỏ những túi Fabricius không có bệnh tích điển hình (phù nề, có dịch nhầy màu vàng chanh bao quanh, túi bục bờ, đôi khi có xuất huyết ở vách túi khí). Những túi Fabricius còn lại được nghiền nát, cho nước sinh lý hoặc PBS với tỷ lệ thích hợp, trộn và ly tâm lạnh 2000 vòng trong 30 min. Thu lấy nước trong, chia vào các lọ và bảo quản ở (-40°C) .

A.2 Phương pháp chế kháng huyết thanh

Gà từ 3 tuần tuổi đến 6 tuần tuổi (không có kháng thể Gumboro), được nhỏ giống virus pha ở nồng độ 10^{-2} vào mắt hoặc mũi với liều 0,1 ml/con. Sau 4 tuần gây nhiễm, gà được lấy máu chất huyết thanh và bảo quản ở -20°C .

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCN 1006-2006 *Quy trình nuôi giữ giống cường độc Gumboro*
 - [2] OIE: Chapter 2.7.1- *Infectious bursal disease (Gumboro disease)*.
-