

ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18636—2002

蓝舌病诊断技术

Diagnostic techniques for bluetongue

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

前 言

本标准根据我国近二十年对蓝舌病诊断的研究成果和技术的发展,参考世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]标准性文件《世界动物卫生组织推荐的诊断方法和生物制品标准手册》2.1.9条“蓝舌病”和澳大利亚动物疫病标准诊断方法“Bluetongue”一章而编写的。本标准引用了GB/T 18089—2000《微量中和试验及病毒分离和鉴定方法》有关规定方法。

蓝舌病是由库蠓传播、蓝舌病病毒引起的侵害反刍动物的严重传染病。蓝舌病病毒系呼肠孤病毒科环状病毒属B群成员。国际已知有24个血清型,在血清学上与环状病毒属相关病毒有交叉反应;该病毒主要引起绵羊发病和死亡,牛及其他反刍动物常为隐性感染,但可通过媒介昆虫传播本病。鉴于该病的诊断和检疫技术复杂,因此应建立该病的综合诊断技术标准,这是制定本标准的宗旨。

本标准规定的方法,分别适用于病毒分离鉴定、病原检测、病毒血清型鉴定和抗体检测等不同需要。

本标准的附录A、附录B都是标准的附录,附录C是提示的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

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:云南省热带亚热带动物病毒病重点实验室、农业部动物检疫所、天津动植物检疫局。

本标准主要起草人:张念祖、杨承谕、李志华、张富强、胡玉玲、张开礼、马洪超、赵祥平、向文彬。

中华人民共和国国家标准

蓝舌病诊断技术

GB/T 18636—2002

Diagnostic techniques for bluetongue

1 范围

本标准规定了蓝舌病的诊断技术和程序。

本标准适用于蓝舌病的诊断和检疫。4、5、6 章用于病毒分离鉴定和病原检测,7、8 章用于病毒的血清型鉴定,9、10 章用于抗体检测。

2 引用标准

下列标准所包括的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB/T 18089—2000 蓝舌病微量血清中和试验及病毒分离和鉴定方法

3 病毒分离和鉴定

3.1 器械和设备

3.1.1 96 孔组织培养板(平底,简称 96 孔板),单道微量加样器(0.5 μL ~10 μL ,5 μL ~10 μL ,40 μL ~200 μL ,200 μL ~1 000 μL)及滴头,八道连续加样器(50 μL ,100 μL ,150 μL ,200 μL)及滴头。

3.1.2 4℃、-20℃、-80℃冰箱,普通恒温培养箱及二氧化碳培养箱。

3.1.3 鸡胚开孔器,照蛋箱或鸡胚用灯,组织捣碎器及擦镜纸(高压灭菌备用)。

3.1.4 超声波粉碎器,低速离心机,倒置显微镜及荧光显微镜。

3.2 试剂与材料

3.2.1 肝素抗凝血采血管。

3.2.2 细胞:蚊子细胞(C6/36)、仓鼠肾细胞(BHK₂₁)或非洲绿猴肾细胞(Vero)。

3.2.3 细胞培养液及分散液(按常规配方配制)。

3.2.4 蓝舌病单克隆抗体(8A3B6、7D3A2)。

3.2.5 蓝舌病荧光抗体。

3.2.6 10~11 日龄鸡胚。

3.3 病毒分离

3.3.1 样品的采集和制备见 GB/T 18089—2000 中 8.1。

3.3.2 鸡胚接种见 GB/T 18089—2000 中 8.2。

3.3.3 接种细胞

3.3.3.1 将捣碎的鸡胚肝组织离心,2 000 r/min,10 min,取上清液。为避免不必要的“盲传”,先对待分离材料进行捕获酶联免疫吸附(ELISA)试验(见第 6 章),将呈阳性的反应材料接种 C6/36 细胞,每份样品接两管(瓶),每管(瓶)接 0.2 mL。将接种细胞置于 30℃温箱培养 7 d。

3.3.3.2 吹打接种的 C6/36 细胞,接种于 BHK₂₁细胞,每份 C6/36 接种八管(瓶)BHK₂₁,每管 0.2 mL,接种的 BHK₂₁细胞置于 37℃环境中,吸附 1 h,加入维持液,37℃继续培养,逐日观察细胞病变。出现细