



中华人民共和国国家标准

GB/T 18646—2018
代替 GB/T 18646—2002

动物布鲁氏菌病诊断技术

Diagnostic techniques for animal brucellosis

2018-02-06 发布

2018-09-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 18646—2002《动物布鲁氏菌病诊断技术》。本标准与 GB/T 18646—2002 相比，主要技术变化如下：

- 增加了规范性引用文件(见第 2 章)；
- 增加了缩略语(见第 3 章)；
- 增加了临床诊断方法,包括流行特点、临床症状和病理变化(见 4.1、4.2 和 4.3)；
- 增加了试管凝集试验中的微量法(见 4.6.1)；
- 增加了补体结合试验中的微量法,并规定了其稀释液的制备、溶血素效价的测定、补体效价的测定、溶血标准比色的制备方法(见 4.7.1、附录 B、附录 C、附录 D 和附录 E)；
- 增加了间接酶联免疫吸附试验,并规定了酶联免疫吸附试验抗原包被板的制备、酶标抗体的制备、酶联免疫吸附试验用试剂的配制(见 4.8、附录 G、附录 H 和附录 I)；
- 增加了竞争酶联免疫吸附试验,并规定了酶联免疫吸附试验抗原包被板的制备、酶标抗体的制备、酶联免疫吸附试验用试剂的配制(见 4.9、附录 G、附录 H 和附录 I)；
- 增加了病原的涂片染色镜检(见 4.10)；
- 增加了病原的分离培养,规范了培养细菌所用的培养基及病料采集需采集的样本名称(见 4.11、附录 J 和附录 K)；
- 增加了病原的生化特性鉴定方法,并规定了不同生化试验的培养基制备(见 4.12.1~4.12.5、附录 L 和附录 M)；
- 增加了病原的因子血清试验鉴定方法,以表格形式列出单因子血清试验结果(见 4.12.6 和表 4)；
- 增加了病原的噬菌体溶解试验鉴定方法,以表格形式列出各菌种噬菌体溶解试验结果(见 4.12.7 和表 5)；
- 增加了布鲁氏菌种的 PCR 扩增图谱鉴定技术,并规范了其 8 对引物序列,以图谱形式列出布鲁氏菌种 10 个种的扩增条带和 3 个疫苗株的扩增条带(见 4.13、附录 N 和图 1)；
- 增加了警告内容,对于剖检、采样及实验室开展相关病原活动部分及实验室接触有毒物质部分给以警告。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:辽宁省动物疫病预防控制中心(辽宁省动物医学研究院)、中国动物卫生与流行病学中心、中国农业科学院哈尔滨兽医研究所。

本标准主要起草人:李璐、赵晓彤、曹东、范伟兴、段亚良、田莉莉、步志高、顾贵波、杨作丰、赵凤菊、谷志大、狄栋栋、闫明媚、张慧、魏澍、郑洪玲、张喜悦、胡森。

引 言

布鲁氏菌病(简称布病)是由布鲁氏菌属细菌感染导致人兽共患的传染病,在全世界范围内严重威胁人类健康并影响畜牧业发展。布鲁氏菌属包括羊种布鲁氏菌(*B.melitensis*)、牛种布鲁氏菌(*B.abortus*)、猪种布鲁氏菌(*B.suis*)、绵羊附睾种布鲁氏菌(*B.ovis*)、犬种布鲁氏菌(*B.canis*)、沙林鼠种布鲁氏菌(*B.neotomae*)、鲸种布鲁氏菌(*B.ceti*)、鳍种布鲁氏菌(*B.pinnipedialis*)和田鼠种布鲁氏菌(*B.microti*)及新报道的 *B.inopinata*,其中动物布病主要是由羊种布鲁氏菌、牛种布鲁氏菌和猪种布鲁氏菌感染羊、牛和猪等动物呈急性或慢性经过,是人布病的主要传染来源。其临床主要特征是生殖器官和胎膜发炎,母畜流产、乳腺炎、不育和各种组织(如睾丸、关节)的炎症。世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]将布病列为法定报告的传染病,我国《一、二、三类动物疫病病种名录》规定布病为多种动物共患的二类动物疫病。

本标准参考了 OIE《陆生动物诊断试验和疫苗手册》,转化了其相关的布病诊断方法并引入到本标准中。本标准修订了原有血清学诊断方法,引入了 ELISA 诊断方法,建立了我国微量凝集反应,补充了病原学和分子生物学诊断方法,不仅适用于我国布鲁氏菌病诊断需求,也达到了国际诊断水平。

动物布鲁氏菌病诊断技术

1 范围

本标准规定了动物布鲁氏菌病的临床诊断、血清学和病原学诊断的技术方法、操作程序和判定标准。

本标准规定的流行特点、临床症状、病理变化适用于动物布鲁氏菌病的临床诊断。

虎红平板凝集试验和间接酶联免疫吸附试验,适用于动物布鲁氏菌病的初筛试验;

乳牛全乳环状试验,适用于泌乳母牛布鲁氏菌病的初筛试验;

试管凝集试验、补体结合试验和竞争酶联免疫吸附试验适用于牛种、羊种和猪种布鲁氏菌病的血清学确诊;

病原的显微镜检查、分离培养适用于布鲁氏菌病的病原学初步诊断;病原的鉴定和 PCR 试验适用于动物布鲁氏菌病的病原学确诊。

本标准规定的乳牛全乳环状试验,不适用于检测患乳房炎及其他乳房疾病母牛的乳、初乳、脱脂乳和煮沸过的乳,也不适用于腐败、变酸和冻结过的乳。

本标准规定的虎红平板凝集试验、试管凝集试验和补体结合试验,不适用于犬种和绵羊附睾种布鲁氏菌的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 18088 出入境动物检疫采样

GB 19489—2008 实验室生物安全通用要求

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

OIE 世界动物卫生组织(World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法))

RBT 虎红平板凝集试验(Rose Bengal Test)

MRT 乳牛全乳环状试验(Milk Ring Test)

SAT 试管凝集试验(Serum Agglutination Test)

CFT 补体结合试验(Complement Fixation Test)

iELISA 间接酶联免疫吸附试验(Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

cELISA 竞争酶联免疫吸附试验(Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

PCR 聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction)

DNA 脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid)

dNTPs 脱氧核苷三磷酸(Deoxy-Ribonucleoside Triphosphate)

TBE 三羟甲基氨基甲烷硼酸乙二胺四乙酸缓冲液(Tris Boric Acid EDTA)