



中华人民共和国国家标准

GB/T 19180—2020
代替 GB/T 19180—2003

牛海绵状脑病诊断技术

Diagnostic techniques for bovine spongiform encephalopathy

2020-12-14 发布

2020-12-14 实施

国家市场监督管理总局
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 19180—2003《牛海绵状脑病诊断技术》。本标准与 GB/T 19180—2003 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- 增补了 H·E 组织病理染色法、免疫组织化学方法和免疫印迹方法的适用范围,删除了“也可用于其他动物的传染性海绵状脑病的诊断”(见第 1 章);
- 优化了临床症状的描述(见 4.3);
- 优化了 H·E 组织病理染色法操作步骤(见 5.1)和免疫组织化学方法操作步骤(见 5.2);
- 增补了免疫印迹方法(见 5.3)。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出。

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:中国动物卫生与流行病学中心。

本标准主要起草人:王志亮、刘雨田、孙成友、迟田英、宋芳芳、邹艳丽、于小静、吴晓东、王树双。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB/T 19180—2003。

引 言

牛海绵状脑病(Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE)是由朊病毒引起的牛的一种慢性致死性神经性疾病,对动物和人构成较大危害。世界动物卫生组织(OIE)将其列为严重影响国际贸易的动物疫病之一,我国将其归为一类动物疫病。我国现行《牛海绵状脑病诊断技术》(GB/T 19180—2003)系2003年6月4日由原国家质量监督检验检疫总局发布,2003年12月1日起实施。该标准仅包括临床症状、组织病理学、免疫组织化学等三种诊断方法,未包括OIE陆生动物手册指定的另一种确诊方法即免疫印迹。免疫印迹方法比免疫组织化学方法更灵敏,特异性更好。因此,免疫印迹方法是牛海绵状脑病诊断技术中一种更好的确诊方法,它能更好地服务于我国疯牛病的监测工作。

BSE分为典型BSE和非典型BSE。典型BSE是由于牛采食污染牛羊朊病毒的肉骨粉或者饲料而引起,非典型BSE为自然发生的一种散发性BSE。自然条件下,BSE经由消化道传播,未发现水平和垂直传播的证据。典型BSE的潜伏期一般为2年~8年,平均为4年~5年,多发于4~6岁的牛,2岁以下罕见,6岁以上明显减少。根据病原的分子量大小,非典型BSE又分为H型和L型。非典型BSE的平均发病年龄为11岁。BSE病程多为数月至一年,最终死亡。

大多数BSE病牛无典型临床症状,因此BSE的诊断应通过实验室检测来实现。BSE的病原是动物机体内朊蛋白的异构体,在病牛血清里检测不到BSE朊病毒抗体,所以血清学检测方法对于BSE来说是无意义的。目前,实验室诊断方法多以检测BSE病原为目的,包括免疫组织化学方法、免疫印迹方法、ELISA方法等,其中免疫组织化学方法和免疫印迹方法是OIE手册规定的BSE确诊方法。BSE病牛的中枢神经被朊病毒侵害会出现海绵状空泡变性,在中枢神经保存良好且未发生自溶的情况下,应用H·E组织病理染色法可以观察到这些病变情况。OIE手册规定H·E组织病理染色法是确诊BSE的辅助方法,在使用免疫组织化学方法诊断BSE时应同时使用H·E组织病理染色法予以辅助确诊;在使用免疫印迹方法诊断BSE时,如果样品适合进行H·E组织病理染色,那么也应同时使用H·E组织病理染色法予以辅助确诊。

牛海绵状脑病诊断技术

1 范围

本标准规定了 BSE 诊断的临床诊断、实验室诊断及综合判定技术要求。

本标准适用于 BSE 的诊断,其中临床诊断适用于 BSE 的监测和流行病学调查,H·E 组织病理染色法适用于 BSE 中枢神经系统的病理诊断,免疫组织化学方法和免疫印迹方法适用于 BSE 的病原学诊断。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

BSE:牛海绵状脑病(Bovine Spongiform Encephalopathy)

H·E:苏木精伊红(Hematoxylin and eosin)

HRP:辣根过氧化物酶(Horseradish peroxidase)

PBS:磷酸盐缓冲溶液(Phosphate buffered solution)

PK 酶:蛋白酶 K(Proteinase K)

PVDF:聚偏氟乙烯(Polyvinylidene fluoride)

SDS:十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate)

TBST:等渗缓冲盐溶液(Tris-HCl buffered solution with Tween)

3 临床诊断

3.1 易感动物

牛科和猫科动物,包括各种牛、各种羊和各种猫科动物。

3.2 临床症状

3.2.1 行为异常

表现为不安、恐惧、异常震惊或沉郁;不自主运动,如磨牙、震颤;不愿经过有缝隙的地面或进入畜栏等。

3.2.2 感觉或反应过敏

表现为视、听、触三觉过于敏感。对光线的明暗变化、外部声响以及颈部触摸过度敏感,这是 BSE 病牛的特征性临床表现。

3.2.3 运动异常

病牛步态呈“鹅步”状,共济失调,四肢伸展过度,有时倒地,难以站立。

3.2.4 体重和体况下降

病牛的体重和体况下降,表现出异常消瘦,体质虚弱。