



中华人民共和国国家标准

GB/T 28630.4—2012

白斑综合征(WSD)诊断规程 第4部分:组织病理学诊断法

Diagnostic protocols for white spot disease—
Part 4: Histopathology method

2012-07-31 发布

2012-11-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

GB/T 28630《白斑综合征(WSD)诊断规程》分为五个部分：

- 第 1 部分：核酸探针斑点杂交检测法；
- 第 2 部分：套式 PCR 检测法；
- 第 3 部分：原位杂交检测法；
- 第 4 部分：组织病理学诊断法；
- 第 5 部分：新鲜组织的 T-E 染色法。

本部分为 GB/T 28630 的第 4 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国水产标准化技术委员会(SAC/TC 156)归口。

本部分起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、农业部全国水产技术推广总站。

本部分主要起草人：黄捷、杨冰、陈爱平、宋晓玲、史成银、杨丛海、魏琦、刘莉。

白斑综合征(WSD)诊断规程

第4部分:组织病理学诊断法

1 范围

GB/T 28630 的本部分规定了白斑综合征组织病理学诊断法所需试剂与材料、仪器设备、操作步骤和结果判定。

本部分适用于对发病的对虾或其他敏感宿主的确诊和对怀疑染病宿主的诊断。

本部分不适用于对潜伏性感染或病毒的非感染性携带的标本进行病毒检测。

2 原理

2.1 白斑综合征的病原和病理学特征

白斑综合征(white spot syndrome)又称白斑病(white spot disease)、白斑综合症、对虾暴发性流行病。白斑综合征具有发病急和死亡率高的特征,其症状是发病对虾停止摄食,反应迟钝,或卧于池边或在水面浮游,某些濒死对虾在甲壳上出现白色的斑块,有时伴随对虾腹节微微变红。

白斑综合征的病原是白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)或称白斑病毒(white spot virus, WSV),它是一种双链 DNA(dsDNA)病毒,能对大多数养殖对虾造成有致命的感染。病毒粒子为长椭圆形,具有囊膜和独特的尾状物,直径 120 nm~150 nm,长 270 nm~290 nm,其基因组大小约 300 kb。病毒在细胞核内复制,不形成封闭体(occlusion body)。

濒死虾在全身外胚层和中胚层起源的组织中呈现出病灶,病毒主要感染的组织包括甲壳下上皮(包括体表和附肢的甲壳下表皮、胃上皮和后肠上皮)、造血组织、鳃、结缔组织、触角腺、血细胞和淋巴器官等。感染早期在核内形成的包涵体(inclusion)呈嗜酸性,随着病毒的快速复制,造成核内染色质边移,细胞核肥大,包涵体的嗜碱性也越来越强。

2.2 技术原理

苏木精-伊红(H-E)染色在组织学和病理学中是一种常规染色方法。通过染色液——苏木精-伊红与组织细胞的不同组分分别相结合,使细胞核、细胞质和细胞内其他结构产生反差明显的蓝紫色和红色,而可清晰地观察到各种不同的组织结构病理变化。

3 试剂和材料

- 3.1 除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。
- 3.2 石蜡(熔点 52℃~54℃);切片级。
- 3.3 二甲苯。
- 3.4 无水乙醇。
- 3.5 95%乙醇。
- 3.6 过滤海水:盐度为 20~30 的海水在室内放置 1 周后,经滤纸和 0.22 μm 滤膜过滤。
- 3.7 戴维森氏 AFA(Davidson's AFA)固定液:见附录 A 的规定。