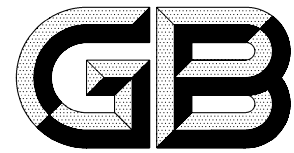


ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18637—2002

牛病毒性腹泻/粘膜病诊断技术

Diagnostic techniques for bovine viral diarrhea/mucosal disease

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

牛病毒性腹泻/粘膜病(bovine viral diarrhea/mucosal disease, BVD/MD)是由牛病毒性腹泻病毒(BVDV)引起的牛的一种以粘膜发炎、糜烂、坏死和腹泻为特征的疾病。

应用微量血清中和试验检查 BVD/MD 抗体,具有其特殊意义,它不仅可以定性,而且还可以定量,并从抗体量的动态变化中,可以判定病牛是以前感染过本病,还是现在正在感染过程中,从而为防治本病提供科学依据。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 都是标准的附录。

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:中国兽药监察所、农业部动物检疫所。

本标准主要起草人:邵振华、郑志刚。

牛病毒性腹泻/粘膜病诊断技术

Diagnostic techniques for bovine viral diarrhea/mucosal disease

1 范围

本标准规定了牛病毒性腹泻/粘膜病(BVD/MD)的诊断技术要求。
本标准适用于 BVD/MD 的流行病学调查和检疫。

2 定义

本标准采用下列定义。

细胞玻片

放置在莱顿氏(Leighton's)管或其他用作培养细胞的小瓶中,长有单层细胞的盖玻片。

3 BVD/MD 病毒分离与鉴定

3.1 材料准备

3.1.1 阳性参照毒株为牛粘膜病病毒俄勒冈毒株(Oregon C₂₄V)。

3.1.2 BVD/MD 荧光抗体(BVD/MD-FA)、阳性血清。

3.1.3 荧光显微镜:采用蓝紫光为激发光的透射式或落射式荧光显微镜。

3.1.4 犊牛(或胎牛)血清:无 BVD/MD 抗体和无污染。

3.1.5 细胞培养瓶扁瓶、Leighton's 管、0.17 mm 厚度的盖玻片(1.0 cm × 3.8 cm 或 0.8 cm × 2.4 cm),0.8 mm~1.0 mm 厚的普通玻璃载片,带盖湿盒。

3.1.6 溶液配制:pH7.0~7.2 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液,pH9.0~9.5 0.5 mol/L 碳酸缓冲甘油〔见附录 A(标准的附录)〕。

3.1.7 细胞培养液:见附录 B(标准的附录)。

3.1.8 原代细胞培养物:见附录 C(标准的附录)。

3.2 病毒分离

3.2.1 样品的采集

3.2.1.1 对于牛群、种公牛的检疫,无菌采血液或精液。

3.2.1.2 对怀疑为急性感染期或持续感染的牛,采血或鼻分泌物。

3.2.1.3 对流产、死胎,采胎儿的组织。

3.2.1.4 对怀疑为死于粘膜病的牛,可采集血块和各组织,尤其是肠道集合淋巴组织。如果肠道样品已发生自溶,可采扁桃体或淋巴结。

3.2.2 样品处理

3.2.2.1 血液用常规方法分离血清。

3.2.2.2 凝血块:冻融数次后,取析出的上清液(加入适量的双抗即青链霉素)。

3.2.2.3 组织样品用含 1 000 IU/mL 双抗的细胞培养液作 1:10 倍的乳剂,离心取上清液。