



中华人民共和国国家标准

GB/T 18645—2020
代替 GB/T 18645—2002

动物结核病诊断技术

Diagnostic techniques for animal tuberculosis

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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
动物结核病诊断技术
GB/T 18645—2020

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.spc.org.cn

服务热线: 400-168-0010

2020年12月第一版

*

书号: 155066·1-66405

版权专有 侵权必究

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 缩略语	1
4 临床诊断	1
4.1 流行特点	1
4.2 临床症状	2
4.3 病理变化	2
5 细菌学检查	2
5.1 器材	2
5.2 试剂	2
5.3 病料的采集、运送与处理	2
5.4 染色镜检	3
5.5 分离培养和生化鉴定	4
6 结核菌素皮内变态反应试验	5
6.1 器材	5
6.2 试剂	5
6.3 牛分枝杆菌 PPD 皮内变态反应	5
6.4 禽分枝杆菌 PPD 皮内变态反应	6
6.5 其他动物结核皮内变态反应	6
7 PCR 检测	6
7.1 器材	6
7.2 试剂	6
7.3 采样及样品处理	7
7.4 PCR 扩增反应	7
7.5 电泳检测 PCR 扩增产物	8
7.6 质控	8
7.7 结果分析及判定	8
7.8 PCR 检测结果的确证	8
8 γ -干扰素(IFN- γ)体外检测法(体外 IFN- γ 释放试验检测法)	8
8.1 器材	8
8.2 试剂	8
8.3 操作方法	8
9 诊断结果判定	10

附录 A (资料性附录)	试剂的配方	11
附录 B (资料性附录)	标本消化浓缩法	17
附录 C (规范性附录)	采样及样品处理(PCR 检测用)	18
附录 D (资料性附录)	DNA 提取液	20
附录 E (资料性附录)	常规 PCR 扩增产物核酸序列	21
附录 F (规范性附录)	样品采集、包装和运输的要求	22

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 18645—2002《动物结核病诊断技术》。与 GB/T 18645—2002 相比,主要技术内容变化如下:

- 增加了引言;
- 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);
- 增加了警示内容,对于剖检、采样及实验室开展相关病原检测部分及实验室接触有毒物质部分给以警示(见 4.3);
- 增加了其他动物皮内变态反应(见 6.5);
- 增加了 PCR 检测(见第 7 章);
- 增加了 γ -干扰素(IFN- γ)体外检测法(见第 8 章);
- 增加了诊断结果判定(见第 9 章);
- 删除了动物接种试验的内容(见 2002 年版的 2.3.1);
- 增加了常规 PCR 扩增产物核酸序列(见附录 E);
- 增加了样品采集、包装和运输要求(见附录 F)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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:中国兽医药品监察所、中国动物卫生与流行病学研究中心。

本标准主要起草人:朱良全、丁家波、沈青春、孙明军、毛开荣、魏荣、许冠龙、冯宇。

本标准所代替标准的历次发布版本情况为:

- GB/T 18645—2002。

引 言

动物结核病是由分枝杆菌属的细菌引起的一种慢性、人兽共患性传染病,在全世界范围内严重威胁人类健康并影响畜牧业发展。分枝杆菌属主要由结核分枝杆菌复合群、麻风分枝杆菌以及非结核分枝杆菌所组成。而牛分枝杆菌、结核分枝杆菌是结核分枝杆菌复合群的成员,禽分枝杆菌属于非结核分枝杆菌成员。牛结核病是国家二类动物疫病,也是《国家中长期动物疫病防治规划(2012—2020年)》中16种优先防治的国内动物疫病之一,其病原主要为牛分枝杆菌。牛分枝杆菌的宿主谱广,几乎包括所有的温血脊椎动物。除牛最易感外,还可感染鹿、猪等多种动物;结核分枝杆菌主要导致人结核病,但也可感染牛;禽分枝杆菌禽亚种主要引起禽结核病。

动物结核病主要通过呼吸道和消化道感染,可侵害多种动物,家畜中奶牛最易感,其次为黄牛、牦牛、水牛、猪和家禽,野生动物中以鹿较为常见。该病临床上主要特征是病程缓慢、渐进性消瘦、咳嗽、衰竭,并在多种组织器官(如肺、肝、脾和肠道等)形成肉芽肿和干酪样钙化结节。

近年来国内外对动物结核病防控十分重视,如发病率高、危害较为严重的牛结核病被世界动物卫生组织(OIE)列为必须通报疫病,也是国际贸易必检对象。随着国际贸易的蓬勃发展,动物结核病可在人及多种动物间传播,对畜牧业及公共卫生安全危害严重。目前我国采用的动物结核病的诊断技术标准 GB/T 18645—2002《动物结核病诊断技术》,其受当时知识和技术条件所限,内容已不能满足当前动物结核病诊断、检疫检测需求。主要存在以下突出问题:1)对于人兽共患性动物结核病诊断的国家标准,缺少必要的生物安全要求,以及流行病学、临床症状和病理变化等临床诊断的相关内容。2)诊断方法涉及动物接种实验内容,因确诊时间长(至少1个月)和动物福利的因素,国际上现已很少使用。3)诊断方法缺少新的通用成熟技术(如PCR、体外检测 γ 干扰素法等)。4)需要对标准中涉及的烟酸试验或硝基苯甲酸试验的生化方法进行规范统一。如GB/T 18645—2002《动物结核病诊断技术》与SN/T 1310—2011《动物结核病检验检疫技术规范》中涉及生化试验方法不统一。前者采用烟酸试验毒性较大,而后者采用对硝基苯甲酸试验相对安全。5)需要增加适用范围,以满足出入境检验检疫工作发展的需要。因此,修订完善适用于我国动物结核病诊断的国家标准,对于临床兽医、检验检疫等科研工作者及时、准确做好诊断,从而对疫病防控和疫情处置采取快速、合理有效的应对措施,意义重大。

动物结核病诊断技术

1 范围

本标准规定了动物结核病的临床诊断、细菌学检查、皮内变态反应、PCR 和 γ -干扰素 (IFN- γ) 体外检测的技术方法、操作程序和判定标准。

本标准适用于动物结核病的诊断,其中流行特点、临床症状、病理变化以及皮内变态反应适用于动物结核病的临床诊断;细菌学检查中染色镜检适用于动物结核病病原学初步诊断,细菌学检查中分离培养和生化鉴定、病原分离和 PCR 试验适用于动物结核病病原学确诊; γ -干扰素 (IFN- γ) 体外检测法适用于牛结核病的辅助诊断。

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 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)

PPD:提纯蛋白衍生物(Purified Protein Derivative)

IU:国际单位(International Unit)

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

ELISA:酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked Immuno-sorbent Assay)

TCH:噻吩-2-羧酸肼培养基(Thiophen-2-carboxylic Acid Hydrazide)

IFN- γ :伽马干扰素(Gamma Interferon)

PNB:对硝基苯甲酸(P-nitrobenzoic Acid)

DNA:脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid)

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

EDTA:乙二胺四乙酸(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)

4 临床诊断

4.1 流行特点

多种动物对牛分枝杆菌、结核分枝杆菌、禽分枝杆菌等易感,动物中奶牛最易感,其次为黄牛、牦牛、水牛、猪和家禽,野生动物中以鹿较为常见。结核分枝杆菌主要侵害人,少见于牛、猪;牛分枝杆菌主要侵害牛,亦可感染人、绵羊、山羊、猪及犬;禽分枝杆菌主要侵害家禽和水禽,其中鸡和鸽最易感染,鹅和鸭次之,牛、猪和人也可感染。实验动物中,豚鼠对牛分枝杆菌和结核分枝杆菌敏感,对禽分枝杆菌有抵抗力,通常只能形成局部病灶;家兔对禽分枝杆菌高度敏感,对牛分枝杆菌敏感,结核分枝杆菌虽可使家