

ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18637—2018
代替 GB/T 18637—2002

牛病毒性腹泻/粘膜病诊断技术规范

Technical specifications for diagnosis of bovine viral diarrhea / mucosal disease

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
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 18637—2002《牛病毒性腹泻/粘膜病诊断技术》，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 增加了“临床诊断”方法(见第 4 章)；
- 增加了“实时荧光 RT-PCR 检测”(见 5.4)。

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、中华人民共和国北京出入境检验检疫局、扬州大学、中华人民共和国宁夏出入境检验检疫局、中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中国动物卫生与流行病学中心。

本标准主要起草人：李俊平、刘环、印春生、陶洁、郝俊虎、蒲静、范学政、吴华伟、孙森、王建华、宋建德、朱国强。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 18637—2002。

引 言

牛病毒性腹泻/粘膜病(Bovine Viral Diarrhea / Mucosal Disease, BVD/MD, 简称 BVD), 是由牛病毒性腹泻/粘膜病病毒(Bovine Viral Diarrhea / Mucosal Disease Virus, BVD/MDV, 简称 BVDV)感染牛引起的以发热、粘膜糜烂溃疡、白细胞减少、腹泻、咳嗽及怀孕母牛流产或产出畸形胎儿为主要特征的一种传染病。BVDV 在分类学上属黄病毒科(*Flaviviridae*), 瘟病毒属(*Pestivirus*), 是瘟病毒属的代表种, 目前国际病毒分类委员会确定的 BVDV 有二个基因型(或种), 分别是 BVDV-1 和 BVDV-2。它们与同属的猪瘟病毒(Classical Swine Fever Virus, CSFV)及羊边界病病毒(Border Disease Virus, BDV)之间存在着结构与抗原相关性, 在血清学上有部分交叉反应。BVDV-1 引起的疫病呈全球分布, 较为常见, 而 BVDV-2 引发的疫病不多见。二个基因型的病毒均可根据其在培养细胞上能否产生细胞病变而被分为二个生物型, 即致细胞病变型(Cytopathic type, CP)和非致细胞病变型(Non-cytopathic type, NCP)。NCP 毒株是引起所有感染和发病类型的生物型, 而 CP 毒株主要出现在粘膜病病例。

目前, 该病在世界范围内广泛流行, 我国于 1983 年首次分离到了 BVDV。近年来, 病原学调查表明我国牛、羊、鹿、猪等均不同程度的感染 BVDV, 该病已严重影响着我国畜牧业的健康发展。

本标准中所描述的方法均为近几年我国在 BVD 诊断过程中常用的方法, 包括临床诊断、病原学诊断及血清学诊断技术。血清学诊断技术为病毒中和试验。病原学诊断技术包括病毒分离鉴定和实时荧光 RT-PCR(Real-time RT-PCR)检测方法, 本标准中的 Real-time RT-PCR 检测方法具有 BVDV 特异性, 能够同时检测 BVDV-1 和 BVDV-2, 且能特异区分 BVDV 与 CSFV。

结合我国动物防疫相关法律、法规和政策, 本标准能够有效地诊断和监测我国 BVD/MD 的发生和流行。

牛病毒性腹泻/粘膜病诊断技术规范

1 范围

本标准规定了牛病毒性腹泻/粘膜病的流行病学、临床症状、病理变化等临床诊断,及样品采集与处理、病毒分离与鉴定、Real-time RT-PCR 检测及病毒中和试验等实验室诊断的技术要求和操作规范。

本标准适用于检测不同样品中的 1 型和 2 型牛病毒性腹泻/粘膜病病毒、核酸及抗体水平。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 19438.1—2004 禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27401 实验室质量控制规范 动物检疫

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

BT:牛鼻甲骨细胞(Bovine Turbinate cell)

BVD/MD:牛病毒性腹泻/粘膜病(Bovine Viral Diarrhea / Mucosal Disease)

BVD/MDV:牛病毒性腹泻/粘膜病病毒(Bovine Viral Diarrhea / Mucosal Disease Virus)

CPE:致细胞病变效应(Cytopathic Effect)

CP:致细胞病变型(Cytopathic type)

cRNA:互补 RNA(Complement RNA)

Ct(Cp):每个反应管内的荧光信号量达到设定的阈值所经历的循环数(Cycle Threshold, or Crossing Point)

DEPC:焦碳酸二乙酯(Diethyl Pyrocarbonate)

FAM:羧基荧光素(Carboxyfluorescein)

FBS:胎牛血清(Fetal Bovine Serum)

FITC:异硫氰酸荧光素(Fluorescein Isothiocyanate)

MDBK:牛肾继代细胞(Madin-Darby Bovine Kidney cell)

MEM:基础培养基(Minimum Essential Medium)

NCP:非致细胞病变型(Non-cytopathic type)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffer Saline)

PBST:吐温磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffer Solution with Tween20)

PI:持续性感染(Persistent Infection)

Real-time RT-PCR:实时荧光反转录聚合酶链反应(Real-time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)