



中华人民共和国国家标准

GB/T 39602—2020

牛结节性皮肤病诊断技术

Diagnostic techniques for Lumpy skin disease

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
牛 结 节 性 皮 肤 病 诊 断 技 术

GB/T 39602—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: 155066·1-66556

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 易感动物	1
4.2 临床症状	2
4.3 病理变化	2
4.4 结果判定	2
5 实验室诊断样品采集	2
5.1 器材	2
5.2 试剂	2
5.3 样品采集	3
5.4 样品的送检与保存	3
5.5 样品处理	3
6 电镜观察	4
6.1 器材	4
6.2 试剂	4
6.3 操作步骤	4
6.4 结果判定	4
7 病毒分离与鉴定	4
7.1 器材	4
7.2 细胞与试剂	4
7.3 病毒分离	5
7.4 病毒鉴定	5
8 实时荧光聚合酶链式反应(实时荧光 PCR)	5
8.1 器材	5
8.2 试剂	5
8.3 引物及探针	5
8.4 标准毒株和细胞	6
8.5 样品的处理	6
8.6 病毒 DNA 的提取和纯化	6
8.7 实时荧光 PCR 检测	6
8.8 结果判定	7
9 聚合酶链式反应(普通 PCR 方法)	7

9.1	器材	7
9.2	试剂	7
9.3	引物	8
9.4	样本的制备	8
9.5	PCR 检测	8
9.6	结果判定	9
10	微量中和试验(VN)	9
10.1	器材	9
10.2	细胞株	9
10.3	标准毒株	9
10.4	操作步骤	9
10.5	阴阳性对照	10
10.6	结果判定	10
10.7	结果解释	10
11	综合判定	10
11.1	疑似	10
11.2	确诊	10
附录 A (规范性附录)	试剂的配制	11
附录 B (资料性附录)	引物扩增序列	14

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准对应于 OIE 最新公布的《陆生动物诊断试验和疫苗手册》(2018 版)的 3.4.12 牛结节性皮肤病(LSD)有关内容,且与该条标准的一致性程度为非等效。

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:中华人民共和国重庆海关、中国动物卫生与流行病学中心、中华人民共和国上海海关、重庆澳龙生物制品有限公司。

本标准主要起草人:聂福平、李林、李应国、吴晓东、王昱、杨俊、樊晓旭、王国民、李贤良、南文龙、史梅梅、张雷、邹艳丽、王志亮、李键、冉智光。

引 言

本文件的发布机构提请注意,声明符合本文件时,可能涉及到 8.3 引物及探针中引物对 2 和探针 2 与《牛结节性皮肤病病毒野毒株 TaqMan-MGB 实时荧光定量 PCR 检测用引物、试剂盒及检测方法》相关的专利的使用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证,他愿意同任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下,就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人姓名:聂福平、王昱、杨俊、李贤良、王国民、李应国。

地址:重庆市江北区红黄路 8 号。

请注意除上述专利外,本文件的某些内容仍可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

牛结节性皮肤病诊断技术

1 范围

本标准规定了牛结节性皮肤病(LSD)的临床诊断、实验室诊断技术和程序。

本标准适用于牛结节性皮肤病的诊断。病毒分离与鉴定适用于个体动物移动前的无感染证明或临床病例确诊;电镜观察适用于临床病例确诊;实时荧光 PCR 与普通 PCR 适用于个体动物移动前的无感染证明、临床病例确诊和监测感染流行率;血清中和试验适用于个体动物移动前的无感染证明、确诊临床病例、监测感染流行率和免疫效果评估。

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 19489 实验室 生物安全通用要求

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CPE:细胞病变(Cytopathic effect)

DNA:脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic acid)

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

GMEM:生长营养需要培养基(Glasgow's Modified Eagle's Medium)

LSD:牛结节性皮肤病(Lumpy skin disease)

LSDV:牛结节性皮肤病病毒(Lumpy skin disease virus)

LTc:羔羊睾丸细胞(Lamb testis cell)

ORF:开放阅读框(Open reading frame)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate buffered saline)

PCR:聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction)

TCID₅₀:半数组织培养感染量(Median tissue culture infective dose)

Vero:非洲绿猴肾细胞(African green monkey kidney cell)

VN:病毒中和试验(Virus neutralisation test)

4 临床诊断

4.1 易感动物

各种品种的牛,包括黄牛、奶牛、亚洲水牛、瘤牛、牦牛均易感,绵羊、山羊及野生动物长颈鹿、黑斑羚、长角羚羊可人工感染。