



中华人民共和国国家标准

GB/T 22910—2023

代替 GB/T 22910—2008

痒病诊断技术

Diagnostic techniques for scrapie

2023-09-07 发布

2024-04-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 GB/T 22910—2008《痒病诊断技术》，与 GB/T 22910—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 增加了组织病理染色法、免疫组织化学方法和免疫印迹方法的适用范围(见第 1 章)；
- 更改了临床症状的描述(见 6.2, 2008 年版的第 2 章)；
- 更改了 H·E 组织病理染色法操作步骤(见第 8 章, 2008 年版的 3.1)和免疫组织化学方法操作步骤(见第 9 章, 2008 年版的 3.2)；
- 增加了免疫印迹方法(见第 10 章)。

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专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出。

本文件由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本文件起草单位：中国动物卫生与流行病学中心。

本文件主要起草人：刘雨田、王志亮、孙成友、邹艳丽、迟田英、宋芳芳、于小静、刘春菊、任炜杰、戈胜强、徐天刚、左媛媛、吴晓东、孙涛、王树双。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2008 年首次发布为 GB/T 22910—2008；
- 本次为第一次修订。

引 言

痒病(Scrapie)是由朊病毒(prion)引起的自然发生于绵羊和山羊的一种进行性、致死性、神经退行性传染病,对多种动物健康构成威胁,世界动物卫生组织(WOAH)将其列为严重影响国际贸易的动物疫病之一,我国将其归为一类动物疫病。毒株和宿主的不同决定了痒病表型。典型痒病自然条件下具有水平传播和垂直传播的能力,多发于2岁~5岁的绵羊,潜伏期一般为1年~3年,山羊的潜伏期一般不超过1年,18月龄以下和5岁以上的绵羊和山羊罕见。非典型痒病的潜伏期明显长于典型痒病的潜伏期,多发生在5岁以上的绵羊,有的甚至发生在10岁以上的绵羊,且具有散发性特点,自然条件下不具备水平传播和垂直传播的能力。

大多数痒病病羊具有典型的临床症状,但是确诊需结合实验室诊断来实现。痒病的病原是动物体内正常朊蛋白的异构体,在病羊血清里无法检测出痒病朊病毒抗体,所以血清学检测在痒病诊断方面没有意义。目前,实验室诊断方法多以检测痒病病原为目的,包括免疫组织化学方法、免疫印迹方法、酶联免疫吸附试验(ELISA)方法等,其中,免疫组织化学方法和免疫印迹方法是WOAH《陆生动物诊断试验和疫苗手册》规定的痒病确诊方法。痒病病羊的中枢神经被朊病毒侵害会出现海绵状空泡变性,在中枢神经保存良好且未发生自溶的情况下,应用H·E组织病理染色法可以观察到这些病变。WOAH《陆生动物诊断试验和疫苗手册》规定在使用免疫组织化学方法诊断痒病时,同时使用H·E组织病理染色法予以辅助确诊;在使用免疫印迹方法诊断痒病时,如果样品适合进行H·E组织病理染色,那么也同时使用H·E组织病理染色法予以辅助确诊。

GB/T 22910—2008发布实施已十余年,其仅包括临床诊断、组织病理学检查、免疫组织化学检查等3种诊断方法,未包括WOAH《陆生动物诊断试验和疫苗手册》指定的免疫印迹方法。相较于免疫组织化学方法,免疫印迹方法灵敏性和特异性更强,是痒病诊断技术中一种更优的确诊方法。本次修订增加的免疫印迹方法是参照WOAH《陆生动物诊断试验和疫苗手册》(2018年版)第3.7.11章和《英国WOAH痒病参考实验室痒病诊断手册》而制定,技术方法与WOAH推荐的方法一致,能更好地服务于我国痒病的监测工作。

痒病诊断技术

1 范围

本文件规定了痒病的临床诊断,描述了 H·E 组织病理染色法、免疫组织化学方法、免疫印迹方法。本文件适用于痒病的诊断、检测、检疫、监测和流行病学调查。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

AEC:3-氨基-9-乙基咔唑(3-amino-9-ethyl carbazole)

H·E:苏木精伊红(hematoxylin and eosin)

HRP:辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase)

PBS:磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution)

PK 酶:蛋白酶 K(proteinase K)

PrP:朊蛋白(prion protein)

PVDF:聚偏氟乙烯(polyvinylidene fluoride)

SDS:十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate)

TBST:含吐温的三羟甲基氨基甲烷盐酸盐缓冲液(Tris-HCl buffered solution with Tween)

5 生物安全措施

样品采集与处理、H·E 组织病理染色法、免疫组织化学、免疫印迹的试验操作应在生物安全 II 级及以上的实验室进行,组织匀浆、消化以及变性的试验步骤需在负压罩下操作。

6 临床诊断

6.1 易感动物

绵羊和山羊,但绵羊的易感性与 PrP 基因的多态性有关。