



中华人民共和国国家标准

GB/T 32945—2016

牛结核病诊断 体外检测 γ 干扰素法

Bovine tuberculosis diagnosis—Assay on IFN- γ in vitro

2016-08-29 发布

2017-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	I
引言	II
1 范围	1
2 缩略语	1
3 原理	1
4 IFN- γ 体外检测法	1
4.1 仪器与耗材	1
4.2 试剂	2
4.3 操作步骤	2
附录 A (规范性附录) 试剂配制	4
附录 B (资料性附录) 采样与样品处理注意事项	6

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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:华中农业大学、武汉科前动物生物制品有限责任公司、北京出入境检验检疫局、广西壮族自治区动物疫病预防控制中心。

本标准起草人:郭爱珍、陈颖钰、涂玲玲、胡长敏、晁金、马贵平、胡巧云、陈焕春。

引 言

牛结核病是主要由牛分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*, *M. bovis*)引起的一种人兽共患慢性传染病,呈世界性分布。世界动物卫生组织(OIE)将其列为必须通报疫病与国际贸易必检对象,我国将其列为二类动物疫病,是“国家中长期动物疫病防治规划(2012~2020年)”16种优先防治的国内重大动物疫病之一。临床上牛结核病以肺结核最为常见,但也可发生乳腺结核和肠结核等。健康牛可通过被污染的空气、饲料和饮水等经呼吸道和消化道感染;此外,牛结核病是人结核的重要传染源之一。由于牛分枝杆菌感染谱广、持续感染普遍、牛结核病程缓慢、临床症状不典型等原因,牛结核病净化相对困难。随着近年来我国现代奶牛业和肉牛业的蓬勃发展以及国内牛群交易日益频繁,我国牛结核病呈上升趋势。

国内外通用的牛结核病控制策略是“检疫—扑杀”,因此,准确检测是控制和净化牛结核病的前提。目前法定的检疫方法为牛结核菌素皮内变态反应,该方法的优点是灵敏度高,缺点是:操作费时繁琐,结果判断主观性强,可与环境分枝杆菌感染出现交叉反应,免疫抑制者或结核病后期对结核菌素的反应性降低。牛结核病诊断体外检测 IFN- γ 法是用牛结核菌素与禽结核菌素分别刺激外周血淋巴细胞释放 IFN- γ 、通过检测 IFN- γ 浓度判断牛结核病感染状态的一种方法,是一种敏感性与特异性均高的方法,且能实现高通量检测。发达国家已成功利用该方法辅助诊断与监测牛结核病。建立我国牛结核病诊断 IFN- γ 体外检测法国家标准,能为牛结核病的早期诊断、检疫、监测和流行病学调查等提供技术支撑,促进我国牛结核病的控制和净化,保障我国养牛业的健康可持续发展。

牛结核病诊断 体外检测 γ 干扰素法

1 范围

本标准规定了牛结核病诊断 体外检测 γ 干扰素法的缩略语、原理、试剂、采样和操作步骤。
本标准适用于牛结核病的早期诊断、检疫、监测与流行病学调查。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

A-PPD:禽结核菌素(avian purified protein derivative)

B-PPD:牛结核菌素(bovine purified protein derivative)

ELISA:酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay)

HRP:辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase)

IFN- γ : γ -干扰素(interferon gamma)

IgG:免疫球蛋白 G(immunoglobulin G)

PBS:磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution)

OD:光密度值(optical density)

3 原理

感染牛分枝杆菌的结核阳性牛,其外周血淋巴细胞已被牛分枝杆菌致敏并产生免疫记忆。当体外遇到牛分枝杆菌特异性抗原(牛结核菌素)刺激时,淋巴细胞将被激活,发生再次细胞免疫反应,大量释放 IFN- γ 。通过夹心 ELISA 检测 IFN- γ 浓度水平,即可诊断牛分枝杆菌感染。禽分枝杆菌属于非结核分枝杆菌,以禽结核菌素刺激淋巴细胞作为对照,可有效排除环境分枝杆菌感染导致的非特异性反应。

4 IFN- γ 体外检测法

4.1 仪器与耗材

4.1.1 II 级生物安全柜。

4.1.2 二氧化碳培养箱。

4.1.3 酶标仪。

4.1.4 混匀器。

4.1.5 冰箱。

4.1.6 天平。

4.1.7 高压消毒锅。

4.1.8 微量可调移液器及枪头。

4.1.9 一次性无菌离心管(2 mL)。

4.1.10 一次性肝素钠抗凝采血管。

4.1.11 一次性注射器(5 mL)。