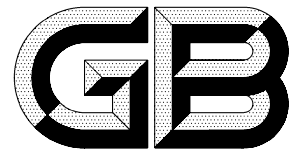


ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 18638—2002

流行性乙型脑炎诊断技术

Diagnostic techniques for epidemic encephalitis B

2002-02-19 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

流行性乙型脑炎又称日本乙型脑炎(Japanese B encephalitis),是由流行性乙型脑炎病毒引起的一种蚊媒性人兽共患传染病。成年动物和人常呈隐性感染,幼龄动物特别是马感染后,可发生脑炎症状,妊娠母猪可引起流产、死胎及木乃伊胎,公猪睾丸肿大,儿童可发生严重的脑炎。多发生于7~9月份。我国许多省(市)都有本病发生,特别是六七十年代,发病率最高。对人畜的健康可造成严重的威胁。世界动物卫生组织和日本的资料,都采用病毒分离鉴定、免疫荧光试验、血凝抑制试验、补体结合试验、血清中和试验等进行诊断。我国对本病的研究报道较多,而比较常用的诊断方法仍是本标准规定的病毒分离鉴定、血凝抑制试验、补体结合试验。病毒分离鉴定适用于流行性乙型脑炎新疫区的确定和病畜的确诊。间接免疫荧光试验适用于可疑流行性乙型脑炎病毒标本的快速检测和病毒分离株的初步鉴定。补体结合试验,由于补体结合抗体一般在病后2~3周出现,5~6周达高峰,并可维持1年以上,故可适用于流行性乙型脑炎的较早期诊断和流行病学调查,是最常用的方法。根据当时的实际需要,可任选一种或两种检疫方法,以达到准确诊断的目的。

本标准的实施,对提高乙型脑炎的诊断和疫情预测水平,及时采取防制措施,保证人畜健康,将起到重要的作用。

本标准的附录A、附录B都是标准的附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中国人民解放军农牧大学。

本标准主要起草人:李佑民、宣华、李金中、刘振润。

中华人民共和国国家标准

流行性乙型脑炎诊断技术

GB/T 18638—2002

Diagnostic techniques for epidemic encephalitis B

1 范围

本标准规定了流行性乙型脑炎的病毒分离与鉴定、间接免疫荧光试验、补体结合试验、血凝抑制试验等技术要求。

本标准适用于口岸、产地及集散地、饲养单位(或个人)的猪、马、骡、驴、牛、羊等的流行性乙型脑炎的诊断和检疫。

2 病毒的分离与鉴定

2.1 材料准备

2.1.1 器材:细胞培养瓶(或管),吸管,中试管,三角烧瓶,37℃水浴箱,37℃恒温箱,普通冰箱及低温冰箱,离心机及离心管,研磨器械,普通光学显微镜,G5级玻璃滤器,孔径0.45 μm的微孔滤膜,0.25 mL注射器及针头。

2.1.2 试剂:汉克氏(Hanks)液,0.5%水解乳蛋白 Hanks 液,2万 IU/mL 青霉素液,2万 μg/mL 链霉素液,7%碳酸氢钠液,1%胰蛋白酶液,1%酚红(中性)液,伊格尔氏(Eagle)最低必要成分培养液(EMEM),小牛血清。

2.1.3 小动物:小鼠(6 g~8 g)、乳鼠。

2.1.4 鸡胚细胞、绿猴肾传代细胞(Vero)、仓鼠肾传代细胞(BHK₂₁)、白蚊伊蚊 C6/36 传代细胞等。

2.2 病毒分离

2.2.1 样品的采取和运送

2.2.1.1 在流行的早期和发病的早期(即病毒血症阶段),无菌采取病畜的血液或脑脊髓液。

2.2.1.2 应在病畜死亡后3 h内(越早越好)采取脑组织(选大脑皮质、脑干、中脑、海马回及桥脑)数小块放于灭菌玻璃瓶。

2.2.1.3 猪应采取流产死胎的脑组织,置冰箱内立即送检。

2.2.1.4 不能立即检查者,应放-25℃~-30℃冰箱,或加50%甘油生理盐水,4℃保存送检。

2.2.2 样品的处理

2.2.2.1 血液应分离出血清或血浆。

2.2.2.2 脑脊髓液可直接应用。

2.2.2.3 脑组织应研磨成糊状,加入0.5%水解乳蛋白 Hanks 液(或碱性肉汤或10%脱脂奶生理盐水),制成10%悬液,3 000 r/min离心30 min,吸取上清液,加入青霉素500 IU/mL和链霉素500 μg/mL,在4℃处理3 h~4 h(无污染者可不加青、链霉素处理),即得接种样品。

2.2.2.4 怀疑有污染的样品,也可用0.45 μm微孔滤膜过滤法处理。

2.2.3 动物分离法

2.2.3.1 取6 g~8 g小鼠10只(或3~5日龄乳鼠一窝),用左手固定,在耳与眼之间用碘酒消毒。右手持吸取接种样品的0.25 mL注射器在消毒部刺入硬脑膜下,每只6 g~8 g小鼠注射0.03 mL(乳鼠