

ICS 11.220  
B 41



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 18636—2017  
代替 GB/T 18636—2002

---

## 蓝舌病诊断技术

Diagnostic techniques for bluetongue

2017-11-01 发布

2018-05-01 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 .....	III
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 临床诊断 .....	1
3.1 流行病学 .....	1
3.2 临床症状 .....	1
3.3 病理变化 .....	2
3.4 结果判定 .....	2
4 病毒分离 .....	2
4.1 器材 .....	2
4.2 试剂 .....	2
4.3 试验程序 .....	2
4.4 病毒鉴定 .....	4
4.5 结果判定 .....	4
5 免疫酶染色 .....	4
5.1 器材 .....	4
5.2 试剂 .....	4
5.3 试验程序 .....	4
5.4 试验成立条件 .....	5
5.5 结果判定 .....	5
6 抗原捕获酶联免疫吸附试验(AC-ELISA) .....	5
6.1 器材 .....	5
6.2 试剂 .....	5
6.3 样品 .....	5
6.4 试验设计 .....	5
6.5 试验程序 .....	5
6.6 试验成立的条件 .....	6
6.7 结果判定 .....	6
7 定型微量中和试验 .....	6
7.1 器材 .....	6
7.2 试剂 .....	6
7.3 试验准备 .....	7
7.4 筛检试验程序 .....	7
7.5 试验成立的条件 .....	8
7.6 结果判定 .....	8
8 蚀斑及蚀斑抑制定型试验 .....	8
8.1 器材 .....	8

8.2 试剂 ..... 9

8.3 蚀斑试验程序 ..... 9

8.4 蚀斑抑制试验程序 ..... 9

8.5 结果判定 ..... 9

9 反转录聚合酶链式反应(RT-PCR) ..... 9

9.1 器材 ..... 9

9.2 试剂 ..... 10

9.3 试验程序 ..... 10

9.4 试验成立的条件 ..... 11

9.5 结果判定 ..... 11

10 荧光 RT-PCR 检测 ..... 11

10.1 器材 ..... 11

10.2 试剂 ..... 11

10.3 试验程序 ..... 12

10.4 阈值设定 ..... 13

10.5 试验成立的条件 ..... 13

10.6 结果判定 ..... 13

11 琼脂免疫扩散试验(AGID) ..... 13

11.1 器材 ..... 13

11.2 试剂 ..... 13

11.3 试验程序 ..... 14

11.4 结果判定 ..... 14

12 竞争酶联免疫吸附试验(C-ELISA) ..... 15

12.1 器材 ..... 15

12.2 试剂 ..... 15

12.3 试验程序 ..... 15

12.4 读数和抑制率计算 ..... 16

12.5 试验成立的条件 ..... 16

12.6 结果判定 ..... 16

13 诊断结果判定 ..... 16

13.1 疑似病例 ..... 16

13.2 确诊病例 ..... 16

13.3 隐性感染 ..... 16

附录 A (规范性附录) 细胞培养液的制备 ..... 17

附录 B (规范性附录) 免疫酶染色试验用溶液的配制 ..... 18

附录 C (规范性附录) 酶联免疫试验和定型微量中和试验用溶液的配制 ..... 19

附录 D (资料性附录) Karber 方法 ..... 21

附录 E (规范性附录) 蚀斑及蚀斑抑制定型试验 ..... 22

附录 F (规范性附录) RT-PCR 试验用溶液和引物的配制 ..... 23

附录 G (规范性附录) 荧光 RT-PCR 引物和探针的合成与配制 ..... 24

附录 H (规范性附录) 琼脂平板的制备 ..... 25

## 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 18636—2002《蓝舌病诊断技术》，与 GB/T 18636—2002 相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 增加了临床诊断；
- 增加了反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测方法；
- 增加了荧光 RT-PCR 检测方法。

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：云南省畜牧兽医科学院、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：李华春、朱建波、花群义、肖雷、宋建领、李乐、高林、苗海生。

本标准历次版本发布情况为：

- GB/T 18636—2002。

# 蓝舌病诊断技术

## 1 范围

本标准规定了蓝舌病(Bluetongue, BT)诊断的技术方法和试验程序。

本标准适用于反刍动物蓝舌病的诊断、流行病学调查及检疫。所述方法包括临床诊断、病原分离和鉴定、病原核酸检测以及血清学检测,其中:

- 病毒分离适用于从动物的血液、脏器和精液中分离蓝舌病病毒(Bluetongue Virus, BTV);
- 免疫酶染色和抗原捕获酶联免疫吸附试验(Antigen Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, AC-ELISA)适用于对分离到的病毒进行血清群的鉴定;
- 定型微量中和试验和蚀斑及蚀斑抑制型试验适用于对分离到的 BTV 进行血清型的鉴定;
- 反转录聚合酶链式反应(Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)和荧光 RT-PCR 检测适用于动物的血液、脏器和精液中 BTV 核酸的检测,也适用于对分离到的病毒进行血清群鉴定;
- 琼脂免疫扩散试验(Agar Gel Immunodiffusion, AGID)和竞争酶联免疫吸附试验(Competition Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, C-ELISA)适用于血清样品中 BTV 抗体的检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件中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

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

## 3 临床诊断

### 3.1 流行病学

3.1.1 蓝舌病是由呼肠孤病毒科环状病毒属的蓝舌病病毒引起,由库蠓通过叮咬传播,感染反刍动物致其发病的非接触性传播的虫媒病毒病。

3.1.2 BTV 主要引起绵羊发病和死亡,牛和山羊常为隐性感染,偶有发病和死亡。

3.1.3 蓝舌病的发生和分布与库蠓有密切关系,主要爆发于库蠓大量活动的夏秋季节,特别以池塘、河流多的低洼地区多见。

3.1.4 易感动物对口腔途径感染有很强的抵抗力,发病动物的分泌物和排泄物内病毒含量极低,不会引起蓝舌病的传播。

### 3.2 临床症状

3.2.1 潜伏期 3 天~9 天。病初羊体温为 40.5 ℃~42 ℃,呈稽留热型,一般持续 2 天~3 天。

3.2.2 病羊双唇水肿及充血,出现流涎和流鼻涕等现象。口腔充血,后呈青紫或蓝紫色,很快口腔黏膜