



中华人民共和国国家标准

GB/T 17494—2023

代替 GB/T 17494—2009

马传染性贫血诊断技术

Diagnostic techniques for equine infectious anemia

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

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	1
5 实验室生物安全措施	2
6 临床诊断	2
7 样品采集、保存与运输	3
8 实时荧光 PCR	4
9 病毒分离与鉴定	5
10 琼脂凝胶免疫扩散试验	6
11 间接 ELISA	8
12 竞争 ELISA	10
13 免疫印迹试验	11
14 综合判定	13
附录 A (规范性) 试剂的配制	14
附录 B (资料性) 实时荧光 PCR 引物和探针	16
附录 C (资料性) 实时荧光 PCR 阳性对照质粒的制备	17

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 17494—2009《马传染性贫血病间接 ELISA 诊断技术》，与 GB/T 17494—2009 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 增加了马传染性贫血临床诊断(见第 6 章)；
- 增加了马传染性贫血病毒实时荧光 PCR 检测(见第 8 章)；
- 增加了马传染性贫血病毒分离与鉴定(见第 9 章)；
- 增加了马传染性贫血琼脂凝胶免疫扩散试验(见第 10 章)；
- 更改了马传染性贫血间接 ELISA(见第 11 章,2009 年版的第 4 章、第 5 章)；
- 增加了马传染性贫血竞争 ELISA(见第 12 章)；
- 增加了马传染性贫血免疫印迹试验(见第 13 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：中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、新疆维吾尔自治区动物疾病预防控制中心、中华人民共和国广州海关、中国农业大学、中华人民共和国北京海关。

本文件主要起草人：胡哲、王晓钧、郭巍、林跃智、王雪峰、王文、陈茹、王勤、柏亚铎。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 2009 年首次发布为 GB/T 17494—2009；
- 本次为第一次修订。

引 言

马传染性贫血(Equine Infectious Anaemia, EIA)是由反转录病毒科、慢病毒属成员马传染性贫血病毒(Equine Infectious Anaemia Virus, EIAV)引起的马、驴、骡等马属动物传染病。该病被世界动物卫生组织(World Organization for Animal Health, WOA)列为通报性疫病,是我国《一、二、三类动物疫病病种名录》(2022)规定的二类动物疫病。

EIAV 只感染马属动物,其中马最易感。感染动物是主要的传染源。EIAV 感染宿主后,病毒将自身基因组整合到宿主细胞基因组,造成宿主持续感染和终身带毒。临床上发病动物可表现为反复发热、贫血、黄疸、出血、水肿和消瘦等特征,但一定比例的马和大多数驴、骡感染后不表现明显的临床症状,成为隐性病毒携带者。本病目前没有适用的疫苗。本病的确诊需要依靠实验室诊断。EIAV 属于反转录病毒, EIAV 进入宿主细胞后复制早期在病毒反转录酶的作用下形成双链病毒 DNA(通常称为前病毒 DNA),前病毒 DNA 在病毒编码的整合酶的作用下进一步整合到宿主染色体上。EIAV 前病毒 DNA 在感染宿主体内相对稳定,常常作为病毒核酸检测的靶标。世界上不同地区 EIAV 基因组序列存在较大差异,本文件采用的核酸检测方法为适用于目前不同毒株的通用型实时荧光 PCR 方法。

马传染性贫血诊断技术

1 范围

本文件描述了 EIA 的临床诊断、实时荧光 PCR、病毒分离与鉴定、琼脂凝胶免疫扩散试验、间接 ELISA、竞争 ELISA、免疫印迹试验的方法。

本文件适用于 EIA 的诊断、检疫、监测和流行病学调查。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款,其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用本文件。

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 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。

BCA:二辛可宁酸(Bicinchoninic Acid)

DAB:3,3-二氨基联苯胺(3,3-*N*-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride)

DNA:脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid)

EIA:马传染性贫血(Equine Infectious Anaemia)

EIAV:马传染性贫血病毒(Equine Infectious Anaemia Virus)

ELISA:酶联免疫吸附试验(Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

HRP:辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase)

OD 值:光密度值(Optical Density)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline)

PCR:聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction)

PBMC:外周血单核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cell)

SDS-PAGE:十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis)