



中华人民共和国国家标准

GB/T 21675—2022

代替 GB/T 21675—2008

非洲马瘟诊断技术

Diagnostic techniques for African horse sickness

2022-12-30 发布

2023-07-01 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 | I |
| 引言 | II |
| 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 生物安全措施 | 2 |
| 6 临床诊断 | 2 |
| 6.1 易感动物 | 2 |
| 6.2 临床症状 | 2 |
| 6.3 病理变化 | 3 |
| 6.4 临床判定 | 3 |
| 7 样品采集与处理 | 3 |
| 7.1 样品采集 | 3 |
| 7.2 样品处理 | 3 |
| 8 实验室诊断 | 3 |
| 8.1 病原分离和鉴定 | 3 |
| 8.2 RT-PCR 方法 | 4 |
| 8.3 通用型 Real-time RT-PCR 方法 | 6 |
| 8.4 型特异性 Real-time RT-PCR 方法 | 7 |
| 8.5 间接 ELISA 抗体检测方法 | 8 |
| 8.6 阻断 ELISA 抗体检测方法 | 9 |
| 9 综合判定 | 10 |
| 附录 A (规范性) 病毒分离相关溶液的配制 | 11 |
| 附录 B (资料性) 核酸检测用引物、探针序列信息 | 12 |
| 附录 C (规范性) 核酸检测相关溶液的配制 | 14 |
| 附录 D (规范性) 酶联免疫吸附试验相关溶液的配制 | 15 |

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 21675—2008《非洲马瘟诊断技术》，与 GB/T 21675—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“缩略语”一章(见第 4 章)；
- 增加了“生物安全措施”(见第 5 章)；
- 增加了“通用型 Real-time RT-PCR 方法”(见 8.3)；
- 增加了“型特异性 Real-time RT-PCR 方法”(见 8.4)；
- 增加了“阻断 ELISA 抗体检测方法”(见 8.6)；
- 删除了“乳鼠分离”(见 2008 年版的 4.1.4)；
- 删除了“微量补体结合反应”(见 2008 年版的 4.2.2)。

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、内蒙古自治区动物疫病预防控制中心。

本文件主要起草人：吴晓东、李林、徐天刚、胡永新、邹艳丽、包静月、李金明、任炜杰、赵永刚、王淑娟、刘珊、巩明霞、左媛媛、于小静、马立峰、王建龙、王志亮。

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 21675—2008；
- 本次为第一次修订。

引 言

非洲马瘟(African horse sickness, AHS)是由非洲马瘟病毒(African horse sickness virus, AHSV)引起的马科动物的一种非接触性传染的病毒性传染病,以呼吸系统和循环系统变化为特征,常使马、骡等致死,至少有2种库蠓可传播本病。AHSV属呼肠孤病毒科环状病毒属。目前已知该病有9个血清型。世界动物卫生组织(WOAH)将其列为须通报动物疫病。我国将其规定为一类动物疫病。

本病发生有一定的季节性和地域性,多见于温热潮湿季节,一旦传入常呈地方流行或暴发流行,传播迅速。厚霜、地势高燥、自然屏障等影响媒介昆虫繁殖或活动的气候、地理条件,可使本病显著减少。

本文件诊断技术内容包括临床诊断、病原学诊断方法和血清学诊断方法。

本文件的修订参考了WOAH《陆生动物诊断试验和疫苗标准手册》(2019),并结合了我国相关技术研究新成果。

非洲马瘟诊断技术

1 范围

本文件规定了非洲马瘟的临床诊断、样品采集与处理,以及病毒分离和鉴定、RT-PCR、通用型 Real-time RT-PCR、型特异性 Real-time RT-PCR、间接 ELISA 抗体检测、阻断 ELISA 抗体检测等实验室诊断方法的技术要求。

本文件适用于马、骡、驴和其他马科动物 AHS 的诊断、检测、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)适用于本文件。

GB 19489 实验室生物安全通用要求

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。

ABTS: 2, 2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (2, 2'-azino-di-[3-ethyl-benzothiazoline]-6-sulphonic acid)

AHS: 非洲马瘟 (African horse sickness)

AHSV: 非洲马瘟病毒 (African horse sickness virus)

CPE: 细胞病变效应 (cytopathic effect)

Ct: 循环阈值 (cycle threshold)

Cy5: 花青色荧光染料 (cyanine 5)

DMAB: 二甲胺硼烷 [3-(dimethylamino) benzoic acid]

DEPC: 焦碳酸二乙酯 (diethyl pyrocarbonate)

EDTA: 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid)

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

FAM: 6-羧基荧光素 (6-carboxy-fluorescein)

HRP: 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase)

MBTH: 3-二甲基氨基苯甲酸 (3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazine)

MEM: 最低限度必需氨基酸营养液 (minimum essential medium)

MGB: 脱氧核糖核酸小沟结合物 (minor groove binder)

OD: 光密度 (optical density)