



中华人民共和国国家标准

GB/T 18648—2020
代替 GB/T 18648—2002

非洲猪瘟诊断技术

Diagnostic techniques for African swine fever

2020-12-14 发布

2020-12-14 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 | V |
| 1 范围 | 1 |
| 2 规范性引用文件 | 1 |
| 3 缩略语 | 1 |
| 4 生物安全措施 | 1 |
| 5 临床诊断 | 1 |
| 5.1 易感动物和宿主 | 1 |
| 5.2 临床表现 | 2 |
| 5.3 病理变化 | 2 |
| 5.4 临床诊断结果判定 | 2 |
| 6 实验室诊断样品采集及处理 | 2 |
| 6.1 试剂 | 2 |
| 6.2 采样用具 | 2 |
| 6.3 样品采集 | 2 |
| 6.4 样品处理 | 3 |
| 7 普通 PCR 方法 | 3 |
| 7.1 试剂 | 3 |
| 7.2 仪器设备 | 3 |
| 7.3 引物序列 | 4 |
| 7.4 试验程序 | 4 |
| 7.5 试验成立条件 | 4 |
| 7.6 普通 PCR 结果判定 | 5 |
| 8 荧光 PCR 方法 | 5 |
| 8.1 试剂 | 5 |
| 8.2 仪器设备 | 5 |
| 8.3 引物和探针 | 5 |
| 8.4 试验程序 | 5 |
| 8.5 试验成立条件 | 6 |
| 8.6 荧光 PCR 结果判定 | 6 |
| 9 荧光 RAA 方法 | 6 |
| 9.1 试剂 | 6 |
| 9.2 仪器设备 | 6 |
| 9.3 引物 | 6 |

| | | |
|------|-------------------|----|
| 9.4 | 试验程序 | 6 |
| 9.5 | 试验成立条件 | 7 |
| 9.6 | 荧光 RAA 结果判定 | 7 |
| 10 | 高敏荧光免疫分析法 | 7 |
| 10.1 | 试剂 | 7 |
| 10.2 | 仪器设备 | 7 |
| 10.3 | 试验程序 | 8 |
| 10.4 | 高敏荧光免疫分析结果判定 | 8 |
| 11 | 夹心 ELISA 抗原检测方法 | 9 |
| 11.1 | 试剂 | 9 |
| 11.2 | 仪器设备 | 9 |
| 11.3 | 试验程序 | 9 |
| 11.4 | 试验成立条件 | 10 |
| 11.5 | 夹心 ELISA 抗原检测结果判定 | 10 |
| 12 | 间接 ELISA 抗体检测方法 | 10 |
| 12.1 | 试剂 | 10 |
| 12.2 | 仪器设备 | 10 |
| 12.3 | 试验程序 | 10 |
| 12.4 | 试验成立条件 | 11 |
| 12.5 | 间接 ELISA 抗体检测结果判定 | 11 |
| 13 | 阻断 ELISA 抗体检测方法 | 12 |
| 13.1 | 试剂 | 12 |
| 13.2 | 仪器设备 | 12 |
| 13.3 | 试验程序 | 12 |
| 13.4 | 阻断率计算方法 | 13 |
| 13.5 | 试验成立条件 | 13 |
| 13.6 | 阻断 ELISA 抗体检测结果判定 | 13 |
| 14 | 夹心 ELISA 抗体检测方法 | 13 |
| 14.1 | 试剂 | 13 |
| 14.2 | 仪器设备 | 14 |
| 14.3 | 试验程序 | 14 |
| 14.4 | 试验成立条件 | 15 |
| 14.5 | 夹心 ELISA 抗体检测结果判定 | 15 |
| 15 | 间接免疫荧光方法 | 15 |
| 15.1 | 试剂 | 15 |
| 15.2 | 仪器设备 | 16 |
| 15.3 | 试验程序 | 16 |

| | | |
|--------------|-----------------------|----|
| 15.4 | 试验成立条件 | 16 |
| 15.5 | 间接免疫荧光结果判定 | 17 |
| 16 | 综合判定 | 17 |
| 附录 A (规范性附录) | 样品保存液的配制方法 | 18 |
| 附录 B (规范性附录) | 聚合酶链式反应溶液的配制方法 | 19 |
| 附录 C (规范性附录) | 酶联免疫吸附试验溶液的配制方法 | 20 |

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 18648—2002《非洲猪瘟诊断技术》，与 GB/T 18648—2002 相比，除编辑性修改外，主要技术变化如下：

- 增加了缩略语(见第 3 章)；
- 增加了生物安全措施(见第 4 章)；
- 增加了临床诊断(见第 5 章)；
- 增加了实验室诊断样品采集及处理(见第 6 章)；
- 增加了荧光 PCR 方法(见第 8 章)、荧光 RAA 方法(见第 9 章)、高敏荧光免疫分析法(见第 10 章)、夹心 ELISA 抗原检测方法(见第 11 章)、阻断 ELISA 抗体检测方法(见第 13 章)、夹心 ELISA 抗体检测方法(见第 14 章)、间接免疫荧光方法(见第 15 章)等实验室诊断方法；
- 增加了综合判定(见第 16 章)；
- 增加了样品保存液的配制方法(见附录 A)、聚合酶链式反应溶液的配制方法(见附录 B)；
- 修改了酶联免疫吸附试验溶液的配制方法(见附录 C, 2002 年版的附录 C)。

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农村部提出。

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：中国动物卫生与流行病学中心。

本标准主要起草人：吴晓东、李林、胡永新、樊晓旭、邹艳丽、任炜杰、张永强、戈胜强、王清华、李金明、包静月、赵永刚、徐天刚、李岭、刘珊、蒋正军、王树双、马洪超、王志亮。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 18648—2002。

非洲猪瘟诊断技术

1 范围

本标准规定了 ASF 的临床诊断,实验室诊断样品采集及处理,以及普通 PCR 方法、荧光 PCR 方法、荧光 RAA 方法、高敏荧光免疫分析法、夹心 ELISA 抗原检测方法、间接 ELISA 抗体检测方法、阻断 ELISA 抗体检测方法、夹心 ELISA 抗体检测方法、间接免疫荧光方法等实验室诊断方法。

本标准适用于家猪和野猪 ASF 的诊断与监测。

2 规范性引用文件

下列文件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 19489 实验室 生物安全通用要求

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

ASF:非洲猪瘟(African Swine Fever)

ASFV:非洲猪瘟病毒(African Swine Fever Virus)

DEPC:焦碳酸二乙酯(Diethy Pyrocarbonate)

EDTA:乙二胺四乙酸(Ethylenediaminetetraacetic Acid)

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

FAM:6-羧基荧光素(6-Carboxy-Fluorescein)

OD:光密度(Optical Density)

PBS:磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffered Saline)

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

RAA:重组酶介导的等温核酸扩增技术(Recombinase Aided Amplification)

SPF:无特定病原体(Specific Pathogen Free)

TMB:四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethyl-Benzidine)

4 生物安全措施

进行 ASF 实验室诊断时,如样品处理、核酸提取等,应按照 GB 19489 执行。

5 临床诊断

5.1 易感动物和宿主

猪科动物是 ASFV 的易感动物。家猪和欧亚野猪对 ASFV 高度易感,且表现出相似的临床症状和死亡率;而非洲野猪,例如疣猪、丛林猪、红河猪和巨林猪,感染 ASFV 后很少或者不出现临床症状,是