



中华人民共和国国家标准

GB/T 18641—2018
代替 GB/T 18641—2002

伪狂犬病诊断方法

Diagnostic method for pseudorabies

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

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 18641—2002《伪狂犬病诊断技术》。与 GB/T 18641—2002 相比,主要技术变化如下:

——增加了检测猪伪狂犬病病毒 gB 抗体的阻断 ELISA 方法;

——增加了检测伪狂犬病病毒野毒 gE-PCR 方法。

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:华中农业大学、中国动物卫生与流行病学中心。

本标准主要起草人:何启盖、库旭钢、吴斌、陈品、方六荣、李晓成、姜雯、孟宪荣、范盛先、刘正飞、吴发兴、吴美洲、陈焕春。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 18641—2002。

引 言

伪狂犬病(Pseudorabies, Pr; Aujeszky's disease, AD)是由伪狂犬病病毒(Pseudorabies virus, PrV)引起的一种多种动物共患传染病,可危害猪、牛、羊、犬、猫、家兔、小鼠、狐狸和浣熊等多种动物,呈世界性分布。该病对养猪业的危害最为严重,病毒感染后,妊娠母猪出现流产、产死胎和木乃伊胎;15日龄内仔猪出现神经症状,致死率100%;断奶仔猪出现神经症状和呼吸道症状,致死率10%~20%;生长猪和育肥猪出现呼吸道症状,增重缓慢、饲料报酬低;种母猪发生返情和空怀,屡配不孕;公猪出现睾丸炎性肿胀或萎缩,失去种用能力。除猪外,其他动物感染伪狂犬病病毒后,可出现体温升高、奇痒和脑脊髓炎等临床症状,最终死亡,但呈散发形式。

本标准规定的常规血清学技术可用于非免疫动物的诊断、血清流行病学调查和免疫动物抗体检测。其中,中和试验特异性强,是国际贸易中通用的法定方法,用于口岸进出口检疫;乳胶凝集试验简便快速、敏感性高,适用于基层单位对该病的现场检测和筛查;酶联免疫吸附试验(ELISA)包括全病毒抗原ELISA(PrV-ELISA)和gB-ELISA方法,适用于实验室开展大批血清样品抗体检测。本标准中的gE-ELISA鉴别诊断方法,可区分伪狂犬病病毒gE基因缺失疫苗免疫猪和自然感染猪,因此,可用于猪群野毒感染的诊断和流行病学调查。本标准中规定的3种ELISA方法仅用于检测猪血清中的伪狂犬病病毒抗体,不适用于检测其他动物血清中伪狂犬病病毒抗体。

本标准规定的病原学诊断方法用于检测死亡和剖检动物的病料、流产胎儿组织(如扁桃体、肺脏和脑组织等)、活体动物的扁桃体、鼻拭子和公猪精液中的伪狂犬病病毒。其中,病毒分离鉴定限于有条件的实验室使用,聚合酶链式反应具有快速和灵敏的特点,可同时检测大批样品,但需注意样品交叉污染。家兔接种试验需在有隔离和消毒条件的动物房中进行。

伪狂犬病诊断方法

1 范围

本标准规定了伪狂犬病的血清中和试验、乳胶凝集试验、伪狂犬病病毒抗体 ELISA(PrV-ELISA)、猪伪狂犬病 gB-ELISA(阻断法)和 gE-ELISA(阻断法)等抗体检测方法及病毒分离鉴定、聚合酶链式反应和家兔接种试验等病原检测方法。

本标准适用于猪、牛、羊、犬、猫及其他易感动物的伪狂犬病诊断、检疫、免疫抗体评估和流行病学调查等。

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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 678 猪伪狂犬病免疫酶试验方法

3 血清中和试验(采用固定病毒稀释血清法)

3.1 仪器

3.1.1 二氧化碳培养箱。

3.1.2 生物安全柜。

3.1.3 微量移液器。

3.2 耗材

3.2.1 细胞培养瓶。

3.2.2 96孔细胞培养板。

3.2.3 吸管。

3.2.4 移液器吸头。

3.3 试剂

3.3.1 DMEM 培养液(见附录 A)。

3.3.2 0.25%胰酶(见附录 A)。

3.3.3 PK-15 细胞。

3.3.4 伪狂犬病阳性血清。

3.3.5 阴性血清。

3.3.6 伪狂犬病病毒(野毒株)。