

# 中华人民共和国国家标准

**GB/T 18638—2021** 代替 GB/T 18638—2002

## 流行性乙型脑炎诊断技术

Diagnostic techniques for Japanese encephalitis

2021-03-09 发布 2021-10-01 实施

## 目 次

	音	
引言	青 ······	$\prod$
1	范围	• 1
2	规范性引用文件	• 1
3	缩略语	• 1
4	临床诊断	• 1
5	实验室诊断样品采集及处理	• 2
6	病毒分离鉴定	• 3
7	病毒 RT-PCR 检测方法 ······	• 5
8	补体结合试验检测方法	• 7
9	血凝抑制试验检测方法	• 9
10	间接 ELISA 抗体检测方法······	11
11	间接免疫荧光试验(IFA)检测方法 ·······	13
12	病毒中和试验检测方法	14
13	综合判定	16
附表	录 A (规范性附录) 病毒 RT-PCR 检测方法试验用试剂配制	17
附表	录 B (规范性附录) 补体结合试验检测方法和血凝抑制试验检测方法用试剂配制 ·············	18
附表	录 C (规范性附录) 补体结合试验检测方法的预备试验 ······	20
附表	录 D (资料性附录) 补体结合试验检测方法及血凝抑制试验检测方法结果判定示意图 ·········	23
附表	录 E (规范性附录) 间接 ELISA 抗体检测方法试验用试剂配制	24
附表	录 F (规范性附录) 间接免疫荧光试验(IFA)检测方法试验用试剂配制 ····································	26

### 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 18638-2002《流行性乙型脑炎诊断技术》,与 GB/T 18638-2002 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- ——增加了"规范性引用文件"(见第2章);
- ——增加了"缩略语"(见第3章);
- ——增加了"病毒 RT-PCR 检测方法"(见第7章);
- ——增加了"间接 ELISA 抗体检测方法"(见第 10 章);
- ——增加了"间接免疫荧光试验(IFA)检测方法"(见第 11 章);
- ——增加了"病毒中和试验检测方法"(见第 12 章);
- ——增加了病毒 RT-PCR 检测方法试验用试剂配制(见附录 A);
- ——增加了补体结合试验检测方法及血凝抑制试验检测方法结果判定示意图(见附录 D);
- ——增加了间接 ELISA 抗体检测方法试验用试剂配制(见附录 E);
- ——增加了间接免疫荧光试验(IFA)检测方法试验用试剂配制(见附录 F)。

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:军事科学院军事医学研究院军事兽医研究所、温州大学、华中农业大学、吉林大学。

本标准主要起草人:金宁一、肖朋朋、鲁会军、曹胜波、黄少梅、张英、田明尧、李霄、李昌。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 18638—2002。

## 引 言

流行性乙型脑炎(Japanese encephalitis)又称日本乙型脑炎,是由流行性乙型脑炎病毒引起的一种蚊媒性人兽共患传染病。马呈现脑炎症状,猪表现流产、死胎和睾丸炎,其他家畜和家禽大多呈隐性感染。有明显的季节性,于夏、秋季多发。本病分布很广,主要存在亚洲地区,给人畜健康和国民经济造成很大的危害和损失。

引起本病的病原体为流行性乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus),该病毒属于黄病毒科 (Flaviviridae)黄病毒属(Flavivirus),是一种单股 RNA 病毒,病毒粒子呈球形,有脂蛋白的囊膜,具有血凝活性,能凝集鸡、鸭、鹅及绵羊红细胞。该病毒对外界抵抗力不强,对化学药品较敏感,常用消毒药都有良好的灭活作用,对胰酶、乙醚、三氯甲烷等亦敏感。

世界动物卫生组织(OIE)推荐采用病毒分离鉴定、免疫荧光试验、血凝抑制试验、补体结合试验、血清中和试验等方法进行诊断。我国对该病的研究报道较多,目前比较常用的诊断方法仍是本标准规定的临床诊断、病毒分离鉴定、血凝抑制试验、补体结合试验、RT-PCR试验、间接 ELISA 试验、间接免疫荧光试验和病毒中和试验。进行病毒分离鉴定时,要求所有样品处理应在可保证生物安全的相应级别实验室内进行操作;处理样品使用过的容器、物品、实验材料均应经有效消毒处理后方可运离实验室。

本标准的修订参考了 OIE《陆生动物诊断试验和疫苗标准手册》2018 版(Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals,2018),并结合了我国相关技术研究新成果。本标准的实施,对提高流行性乙型脑炎的诊断和疫情预测水平,及时采取防制措施,保证人畜健康,将起到重要作用。

### 流行性乙型脑炎诊断技术

#### 1 范围

本标准规定了流行性乙型脑炎(Japanese encephalitis, JE)的临床诊断和实验室诊断的技术要求。 本标准适用于猪、马、骡、驴、牛、羊、狗、鸭、鹅和鸟等动物的流行性乙型脑炎的诊断和检疫。

#### 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 18088 出入境动物检疫采样

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。

BBS 硼酸盐缓冲液(borate buffered saline)

CFT 补体结合试验(complement fixation test)

CPE 细胞病变效应(cytopathic effect)

DEPC 焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate)

DNA 脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid)

dNTP 脱氧核糖三磷酸(deoxy-ribonucleoside triphosphate)

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

FITC 异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate)

HRP 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase)

JEV 流行性乙型脑炎病毒(Japanese encephalitis virus)

PBS 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline)

RNA 核糖核酸(ribonucleic acid)

RT-PCR 反转录-聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction)

TCID50 半数组织培养感染剂量(median tissue culture infective dose)

#### 4 临床诊断

#### 4.1 易感动物

猪、马、骡、驴、牛、羊、狗、鸭、鹅和鸟等多种动物均可被感染,其中猪的感染最为常见。

#### 4.2 临床症状

- 4.2.1 猪感染后出现发热,少数猪会出现神经症状。怀孕母猪可引起流产、产死胎,公猪出现睾丸肿大。
- **4.2.2** 马感染后体温升高(39  $\mathbb{C}$   $\sim$  41  $\mathbb{C}$ ),出现神经症状(沉郁或狂躁不安),姿势异常,走路摇晃或转圈,四肢呈游泳状态。