



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