



中华人民共和国国家标准

GB/T 44613—2024

牛羊副流感病毒 3 型诊断技术

Diagnostic techniques for bovine and caprine parainfluenza virus type 3

2024-09-29 发布

2025-04-01 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	III
引言	IV
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 临床诊断	2
6 样品采集、处理与保存	2
7 病毒分离鉴定	4
8 RT-PCR 试验	5
9 Real-time RT-PCR 试验	6
10 cELISA 试验	7
11 病毒中和试验	9
12 综合判定	11
附录 A（规范性） 试剂配制	12
附录 B（规范性） 病毒核酸检测用引物和荧光探针序列	13
附录 C（规范性） RT-PCR 和 Real-time RT-PCR 用阳性对照品制备、引物及序列	14
附录 D（规范性） RT-PCR 和 Real-time RT-PCR 反应体系及反应程序	16
附录 E（资料性） RT-PCR 和 Real-time RT-PCR 试验结果图	18
附录 F（资料性） 病毒标准阳性血清、标准阴性血清和抗原包被酶标板的制备	20
附录 G（资料性） 酶标单克隆抗体的制备	21

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。

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：吉林农业科技学院、江苏省农业科学院、吉林省动物疫病预防控制中心、吉林大学、中国动物卫生与流行病学中心。

本文件主要起草人：郭利、孙亮、李文良、张金玉、宋建德、刘茂军、杨蕾蕾、毛立、李基棕、程悦宁、郝飞、孙敏、王楠、王振军、孙娜、冯晓宇。

引 言

牛副流感病毒 3 型 (Bovine parainfluenza virus type 3, BPIV3) 和山羊副流感病毒 3 型 (Caprine parainfluenza virus type 3, CPIV3) 同属于副黏病毒科 (Paramyxoviridae) 副黏病毒亚科 (Paramyxovirinae) 呼吸道病毒属 (Respirovirus), 两者核苷酸同源性接近 81%, 血清学有交叉反应。2022 年, 国际病毒分类委员会 (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) 将 BPIV3 和 CPIV3 分别重新命名为牛呼吸道病毒 3 型 (Bovine Respirovirus 3) 和山羊呼吸道病毒 3 型 (Caprine Respirovirus 3), 考虑到我国相关标准的延续性, 为便于使用者查询和应用, 本文件仍采用原病毒命名名称。

BPIV3 主要感染牛, 也可能感染鹿、猪、羊等; CPIV3 主要感染山羊和绵羊。易感动物感染病毒后均以发热、咳嗽、流鼻涕为主要临床症状, 确诊需进行实验室诊断。本文件给出了 BPIV3 和 CPIV3 感染的临床诊断、病原学检测 (病毒分离鉴定、RT-PCR、Real-time RT-PCR)、血清学检测 (cELISA 和病毒中和试验) 的操作规范。在对牛源样品进行病原学检测时, 推荐采用 RT-PCR 或 Real-time RT-PCR 方法检测 BPIV3; 对羊源样品进行病原学检测时, 推荐采用 RT-PCR 或 Real-time RT-PCR 方法同时检测 CPIV3 和 BPIV3。两种病毒在血清学有交叉反应, 因此, 本文件中的血清学方法能同时检测 CPIV3 和 BPIV3 感染的抗体。

牛羊副流感病毒 3 型诊断技术

1 范围

本文件描述了牛副流感病毒 3 型感染和山羊副流感病毒 3 型感染的临床诊断、病毒分离鉴定、RT-PCR 检测方法、实时荧光 RT-PCR 检测方法、竞争酶联免疫吸附试验和病毒中和试验的诊断方法。

本文件适用于牛副流感病毒 3 型感染和山羊副流感病毒 3 型感染的诊断与检测。

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。

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

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。

BPIV3: 牛副流感病毒 3 型 (Bovine parainfluenza virus type 3)

cELISA: 竞争酶联免疫吸附试验 (Competitive enzyme-linked immunosorbent assay)

CPE: 细胞病变效应 (Cytopathic effect)

CPIV3: 山羊副流感病毒 3 型 (Caprine parainfluenza virus type 3)

Ct 值: 循环阈值 (Cycle threshold)

DEPC: 焦碳酸二乙酯 (Diethyl oxydiformate)

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

FBS: 胎牛血清 (Fetal bovine serum)

FITC: 异硫氰酸荧光素 (Fluorescein isothiocyanat)

HAT: 选择培养基 (Hypoxanthine 次黄嘌呤, Aminopterin 氨基蝶呤, Thymidine 胸腺嘧啶核苷)

HRP: 辣根过氧化物酶 (Horseradish peroxidase)

MDBK 细胞: 牛肾细胞 (Madin darby bovine kidney cell)

MEM: 基础培养基 (Minimum essential medium)

MOI: 感染复数 (Multiplicity of infection)

OD 值: 光密度 (Optical density)

PBS: 磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffered saline)

PBST: 洗涤缓冲液 (Phosphate buffered saline with tween 20)

PIV3: 副流感病毒 3 型 (Parainfluenza virus type 3)