

国家标准

《实验动物 兔出血症病毒检测方法》

编制说明

联系人：付瑞

联系电话：13810793009

编制单位：中国药品检定研究院

时 间： 2026 年 8 月 31 日

《实验动物 兔出血症病毒检测方法》编制说明

（一） 工作简况，包括任务来源、协作单位；

1、任务来源：

2024 年，全国实验动物标准化技术委员会和中国实验动物学会接到了推荐性国家标准 GB/T 14926.21《实验动物兔出血症病毒检测方法》修订任务，组织国内专家开展标准修订工作。该标准的制修订，主要由中国药品检定研究院（国家药品监督管理局医疗器械标准管理中心、中国药品检验总所）承担，协作单位包括中国医学科学院医学实验动物研究所、上海实验动物研究中心及苏州西山生物技术有限公司。

（二） 主要工作过程、标准主要起草人及其所做的工作等；

该标准修订工作由中国实验动物学会实验动物检测技术专业委员会负责组织，修订组成员包括：中国药品检定研究院付瑞、李晓波、邢进；中国医学科学院医学实验动物研究所向志光、上海实验动物研究中心魏晓峰及苏州西山生物技术有限公司郭连香。具体过程如下：

2025 年 2 月 17 日于北京召开了标准修订的第一次工作会议，明确了修订的要点和责任分工；

2025 年 4 月-8 月，对标准方法中涉及的试剂和新增方法进行测试和评价；

2025 年 12 月，召开了标准修订的第二次工作会议，明确了修订工作的流程，确定了征求意见稿的格式和要求，并做方法验证工作的计划；

2026 年 6 月至 2026 年 8 月，开展了检测新增方法的第三方验证；

（三） 标准编写背景；

兔出血症病毒是我国实验动物国家标准 GB14922 中兔需要排除的病原项目。GB/T 14926.21 兔出血症病毒检测方法是 2008 年首次发布。标准实施以来，成为我国国家及省级实验动物质量检测机构对实验动物进行质量监督检测的主要方法，对我国实验动物质量的提高起到了非常重要的作用。

2008 版国标实施至今已有 10 余年。随着兔出血症病毒检测技术的发展，旧版标准已经越来越满足不了实际检测工作的需要。例如标准中对兔出血症病毒抗体的检测仅规定了血凝抑制法，该法一是需要兔感染出血症病毒，制备兔肝匀浆，不利于方法的推广；二是前期血清操作繁琐、时间长、不利于大量样本检测；三是肉眼观察结果的人为影响很大，且结果不能以数据的形式保存等问题。另外，在 2010 年法国报道了新的兔出血症病毒型别，即兔出血症病毒 2 型，该型病毒致病性强，并且 1 型疫苗对其产生不了交叉保护，在短短 10 余年间已经席卷全球，我国也在 2020 年发现了兔出血症病毒 2 型的传播，目前已成为威胁兔生产及实验的重要病原。

中国药品检定研究院等单位在从事实验动物质量检测的同时，也关注了检测技术的进步，基于实验动物的特殊性，参考兔出血症病毒国内外标准，选取适用于实验动物兔出血症病毒检测的方法，作为新增方法纳入新版实验动物兔出血症病毒检测标准中。同时也联合国内的多个检测机构，开展了检测方法的比对和技术验证工作，在检测方法的可行性上有非常丰富的数据支持。

（四） 标准编制原则；

本标准的编制主要遵循以下原则：

- 1、科学性原则。在尊重科学、亲身实践、调查研究的基础上，制定本标准。
- 2、可操作性原则。本标准新增核酸检测方法，无论是从样品采集，处理，PCR 反应，均操作简单，具有可操作性和实用性。
- 3、协调性原则。以切实提高我国实验动物布鲁氏菌检测技术水平为核心，符合我国现行有关法律、法规和相关的标准要求。

（五） 确定国家标准的主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）的论据（包括试验、统计数据），修订标准时，应增列新旧标准水平的对比；

1、修订内容

对《实验动物 兔出血症病毒检测方法》（GB/T 14926.21-2008）部分内容

进行了修订。

文字修订：

因 GB14922-2022《实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测》标准的修订，对文字表述的修订。如“清洁级、SPF 兔”修改为“SPF 兔”，“基础级兔”修改为“普通级兔”。

2、补充内容

增加了兔出血症病毒 2 型核酸实时荧光 PCR 检测方法，对引物设计、核酸提取、核酸扩增条件和结果判定做出了规定。增加了兔出血症病毒抗体酶联免疫法，对抗原制备做出了规定。

3、修订补充的依据及说明

3.1 增加兔出血症病毒 2 型核酸实时荧光 PCR 检测方法

兔出血症病毒（rabbit hemorrhagic disease virus, RHDV）具有高度传染性和致死率的病毒，病兔的死亡率可达 70%~90%。在国家标准《GB 14922-2022 实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测》中明确规定兔出血症病毒为实验兔必须要排除的参数。

间接血凝法（IHA）、酶联免疫吸附试验法（ELISA）、免疫荧光试验法（IFA），免疫酶试验法（IEA），是检测 RHDV 抗原和抗体的常规经典方法，具有简便、快速等优点。但相对来讲，敏感性低于其他检测方法，干扰因素较多，影响检测结果的判定。

随着分子生物学技术的发展，国内外已有诸多核酸检测方法应用于实验动物病原的检测，其中也包括 RHDV。实时荧光 PCR 方法成熟，敏感性高，可以在分子水平上保证检测方法的特异性，保证检测结果的可靠性。因此，在这次《实验动物 兔出血症病毒检测方法》（GB/T 14926.21-2008）的修订中，补充了兔出血症病毒的实时荧光 PCR 检测方法。

3.2 增加兔出血症病毒酶联免疫吸附试验（ELISA）方法

在《实验动物 兔出血症病毒检测方法》（GB/T 14926.21-2008）中规定的

RHDV 抗体检测方法为血凝抑制试验，这些经典方法一是需要兔感染出血症病毒，制备兔肝匀浆，不利于方法的推广；二是前期血清操作繁琐、时间长、不利于大量样本检测；三是肉眼观察结果的人为影响很大，且结果不能以数据的形式保存等问题。

目前对于病毒抗体检测来说，ELISA 方法是主流方法，该方法操作简便，便于推广，适合大批量检测。因此，在这次《实验动物 兔出血症病毒检测方法》（GB/T 14926.21-2008）的修订中，补充了兔出血症病毒的酶联免疫吸附法实验（ELISA）方法。

（六） 主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益；

1、兔出血症病毒 2 型荧光 RT-PCR 法第三方验证情况

1.1 验证单位

国家禽类实验动物资源库、杭州医学院和广东省实验动物监测中心。

1.2 验证样本

样本编号	名称	提供量	来源
P1	RHDV2 阳性肝匀浆上清	0.3mL	中国药品检定研究院
P2	RHDV1 阳性肝匀浆上清	0.3mL	中国药品检定研究院
P3	混合 RHDV2 肝匀浆上清的兔血清	0.3mL	中国药品检定研究院
P4	SPF 兔血清	0.3mL	中国药品检定研究院

1.3 作业指导书

实验动物兔出血症病毒 2 型荧光 RT-PCR 检测标准验证 作业指导书

国标《实验动物 兔出血症病毒检测方法》GB/T 14926.21-202X由中国药品检定研究院牵头，负责该项标准的修订工作，对于标准中新增的兔出血症病毒2型（RHDV2）荧光RT-PCR检测方法需要进行验证，验证相关信息如下：

1 样本

样本编号	名称	提供量	来源
P1	RHDV2 阳性肝匀浆上清（阳性对照）	0.3mL	本室保存
P2	RHDV1 阳性肝匀浆上清	0.3mL	本室保存
P3	混合 RHDV2 肝匀浆上清的兔血清	0.3mL	本室保存
P4	SPF 兔血清（阴性对照）	0.3mL	本室保存

2 试剂耗材

序号	名称	提供量
1	qPCR Mix（2×）	100 μL
2	RT Mix（50×）	10 μL
3	上游引物 RHDV2-F(10 μmol/L)	20 μL
4	上游引物 RHDV2-R(10 μmol/L)	20 μL
5	探针 RHDV2-P(10 μmol/L)	10 μL

注：无 RNA 酶水、核酸提取试剂、PCR 管等试剂或耗材需实验室自备。

3 主要设备

生物安全柜、离心机、荧光定量 PCR 仪。

4 操作方法

4.1 引物探针序列见表 1。

表 1 引物探针序列

引物探针名称	引物序列
RHDV2-F	TGGAAGCTGGCTTGAGTGTGGA
RHDV2-R	ACAAGCGTGCCTGTGGACGG
RHDV2-P（探针）	FAM-TGTCAGAACTTGTGACATCCGCC-TAMRA

4.2 提取核酸

每份样本取 200 μL，使用商品化试剂盒提取 RNA，提取的 RNA 如不立即扩增需在-70℃以下保存。

4.3 反应体系

反应体系见表 2。

表 2 反应体系

反应组分	20 μL 体系
qPCR Mix（2×）	10
RT Mix（50×）	0.4
RHDV2-F（10 μmol/L）	2
RHDV2-FR（10 μmol/L）	2
RHDV2-P（10 μmol/L）	0.4
待检 RNA	4
Nuclease-Free Water	1.2

4.4 反应条件

将上述加入各分组的 PCR 管，置于荧光定量 PCR 仪内进行反应。

反应条件如下：45℃逆转录 15min，95℃聚合酶活化 2min；40 个循环：95℃，15sec，60℃，1min（收集信号）。

5 结果判定

5.1 结果分析条件设定

综合分析仪器给出的各项结果，基线以仪器给出的默认值作为参考。阈值设定原则以阈值线刚好超过正常阴性对照扩增曲线的最高点为准，具体根据仪器噪音情况进行调整。选择 FAM 通道进行分析。

5.2 质控标准

阳性对照样品有对数扩增曲线，而且 Ct 值<30。

阴性对照和空白对照（无 RNA 酶水）无 Ct 值并且无扩增曲线。

二者均成立才可判定试验成立。

5.3 结果描述及判定

被检样品 Ct 值≤35，且出现典型扩增曲线，判为 RHDV2 阳性；35<Ct 值≤40 且出现典型扩增曲线，判为可疑，需复检，复检仍出现 35<Ct 值≤40，并且曲线有明显的对数增长期，判为阳性；否则判为阴性。无 Ct 值或 Ct 值>40 且无特

1.4 验证结果

4 份样本经国家禽类实验动物资源库、杭州医学院和广东省实验动物监测中心验证，结果均一致：样本 P1、P3 RHDV2 为阳性；P2、P4 RHDV2 为阴性，具体如下：

1.4.1 国家禽类实验动物资源库验证报告

标准项目验证报告

项目名称: 实验动物血源病毒检测方法 (qPCR) 验证计划

委托单位: 中国药品检定研究院实验动物资源研究所

委托日期: 2026年8月11日

完成日期: 2026年8月24日

测试单位: 国家禽类实验动物资源库

该报告共 5 页

Sample ID	Target	Result	Notes
Sample 1	Target 1	Undetermined	
Sample 2	Target 1	Undetermined	
Sample 3	Target 1	Undetermined	
Sample 4	Target 1	Undetermined	
Sample 5	Target 1	Undetermined	

图 2 实验动物血源病毒 RT-qPCR 检测结果

6. 验证结论

样品编号	CI 值	RHDV2 检测结果
1	18.138	+
2	Undetermined	—
3	19.158	+
4	Undetermined	—
5	Undetermined	—

经验证, qPCR 检测结果与样品信息一致。

实验人: [Signature]
复核人: [Signature]
日期: 2026年8月11日

1.4.2 杭州医学院验证报告

标准项目验证报告

项目名称: 实验动物血源病毒 2 型荧光 RT-PCR 检测标准验证计划

委托单位: 中国药品检定研究院

委托日期: 2026年8月6日

完成日期: 2026年8月21日

测试单位: 杭州医学院

该报告共 4 页

Well	Plate	Target	Content	Sample	CI
P1	96	Flu	Flu Ctrl	P1	15.86
P2	96	Flu	Flu Ctrl	P2	15.86
P3	96	Flu	Flu	P3	N/A
P4	96	Flu	Flu	P4	N/A
P5	96	Flu	Flu	P5	15.86
P6	96	Flu	Flu	P6	15.86
P7	96	Flu	Flu	P7	15.86
P8	96	Flu	Flu	P8	15.86
P9	96	Flu	Flu	P9	15.86
P10	96	Flu	Flu	P10	15.86
P11	96	Flu	Flu	P11	15.86
P12	96	Flu	Flu	P12	15.86
P13	96	Flu	Flu	P13	15.86
P14	96	Flu	Flu	P14	15.86
P15	96	Flu	Flu	P15	15.86
P16	96	Flu	Flu	P16	15.86
P17	96	Flu	Flu	P17	15.86
P18	96	Flu	Flu	P18	15.86
P19	96	Flu	Flu	P19	15.86
P20	96	Flu	Flu	P20	15.86
P21	96	Flu	Flu	P21	15.86
P22	96	Flu	Flu	P22	15.86
P23	96	Flu	Flu	P23	15.86
P24	96	Flu	Flu	P24	15.86
P25	96	Flu	Flu	P25	15.86
P26	96	Flu	Flu	P26	15.86
P27	96	Flu	Flu	P27	15.86
P28	96	Flu	Flu	P28	15.86
P29	96	Flu	Flu	P29	15.86
P30	96	Flu	Flu	P30	15.86
P31	96	Flu	Flu	P31	15.86
P32	96	Flu	Flu	P32	15.86
P33	96	Flu	Flu	P33	15.86
P34	96	Flu	Flu	P34	15.86
P35	96	Flu	Flu	P35	15.86
P36	96	Flu	Flu	P36	15.86
P37	96	Flu	Flu	P37	15.86
P38	96	Flu	Flu	P38	15.86
P39	96	Flu	Flu	P39	15.86
P40	96	Flu	Flu	P40	15.86
P41	96	Flu	Flu	P41	15.86
P42	96	Flu	Flu	P42	15.86
P43	96	Flu	Flu	P43	15.86
P44	96	Flu	Flu	P44	15.86
P45	96	Flu	Flu	P45	15.86
P46	96	Flu	Flu	P46	15.86
P47	96	Flu	Flu	P47	15.86
P48	96	Flu	Flu	P48	15.86
P49	96	Flu	Flu	P49	15.86
P50	96	Flu	Flu	P50	15.86
P51	96	Flu	Flu	P51	15.86
P52	96	Flu	Flu	P52	15.86
P53	96	Flu	Flu	P53	15.86
P54	96	Flu	Flu	P54	15.86
P55	96	Flu	Flu	P55	15.86
P56	96	Flu	Flu	P56	15.86
P57	96	Flu	Flu	P57	15.86
P58	96	Flu	Flu	P58	15.86
P59	96	Flu	Flu	P59	15.86
P60	96	Flu	Flu	P60	15.86
P61	96	Flu	Flu	P61	15.86
P62	96	Flu	Flu	P62	15.86
P63	96	Flu	Flu	P63	15.86
P64	96	Flu	Flu	P64	15.86
P65	96	Flu	Flu	P65	15.86
P66	96	Flu	Flu	P66	15.86
P67	96	Flu	Flu	P67	15.86
P68	96	Flu	Flu	P68	15.86
P69	96	Flu	Flu	P69	15.86
P70	96	Flu	Flu	P70	15.86
P71	96	Flu	Flu	P71	15.86
P72	96	Flu	Flu	P72	15.86
P73	96	Flu	Flu	P73	15.86
P74	96	Flu	Flu	P74	15.86
P75	96	Flu	Flu	P75	15.86
P76	96	Flu	Flu	P76	15.86
P77	96	Flu	Flu	P77	15.86
P78	96	Flu	Flu	P78	15.86
P79	96	Flu	Flu	P79	15.86
P80	96	Flu	Flu	P80	15.86
P81	96	Flu	Flu	P81	15.86
P82	96	Flu	Flu	P82	15.86
P83	96	Flu	Flu	P83	15.86
P84	96	Flu	Flu	P84	15.86
P85	96	Flu	Flu	P85	15.86
P86	96	Flu	Flu	P86	15.86
P87	96	Flu	Flu	P87	15.86
P88	96	Flu	Flu	P88	15.86
P89	96	Flu	Flu	P89	15.86
P90	96	Flu	Flu	P90	15.86
P91	96	Flu	Flu	P91	15.86
P92	96	Flu	Flu	P92	15.86
P93	96	Flu	Flu	P93	15.86
P94	96	Flu	Flu	P94	15.86
P95	96	Flu	Flu	P95	15.86
P96	96	Flu	Flu	P96	15.86

图 2 RHDV2 qPCR 方法验证数据

6. 验证结论

表 4 样品结果判定

样品编号	CI 值	RHDV2 结果判定
P1	15.86, 15.81	P
P2	N/A, N/A	N
P3	15.75, 16.07	P
P4	N/A, N/A	N
NTC	N/A	N

注: P 阳性; N 阴性。

经验证, qPCR 检测结果判定见表 4, 与样品信息结果一致。

实验人: [Signature]
复核人: [Signature]
日期: 2026年08月21日

VRL
Laboratories
ANIMAL HEALTH

检测报告

TEST REPORT

报告编号:

RD0405-245424

Report No.

签发日期:

2024-10-24

Date of Issue

送样单位:

中国食品药品检定研究院
National Institutes for Food and Drug Control

Submitted By

委托单位:

中国食品药品检定研究院
National Institutes for Food and Drug Control

Requested By

委托地址:

北京市大兴区华佗路 31 号
No. 31, Huatuo Road, Daxing District, Beijing

Address

苏州西山生物技术有限公司

SUZHOU XISHAN BIOTECHNOLOGY INC. (VRL-ASIA)

检验检测专用章

VRL
Laboratories
ANIMAL HEALTH

报告编号 Report No: RD0405-245424

报告页数 Page Of Report: 3/4

检测汇总

SUMMARY

样品信息:

血清

接样日期:

2024-10-14

Specimen Info

Serum

Date Received

动物信息:

犬

检测日期:

2024-10-22

Animal Info

Dog (Canis lupus familiaris)

Date Tested

样本状态:

浅黄色澄清液体

Specimen Status

Yellowish Clear Liquid

No.	检测项目 TEST ITEM	检测依据 TEST BASIS	检测结果 TESTED				结果 RESULTS		
			TESTED	POS(+)	NEG(-)	PENIT	IND(+)	NEG(-)	PENIT
1	犬布鲁氏菌抗体 (BCAN Ab) (初筛型)	RBT	GBT 14926.45-202X	2	1	0	1	0	0
2	犬布鲁氏菌抗体 (BCAN Ab) (复检型)	RBT	GBT 14926.45-202X	2	1	0	1	0	0
3	犬布鲁氏菌抗体(BCAN Ab)	ELISA-IgG	GBT 14926.45-202X	2	1	0	1	0	0
4	犬布鲁氏菌抗体(BCAN Ab)	GICA	GBT 14926.45-202X	2	2	0	0	0	0

签发人

Issued by:

郭建青

日期

Date:

2024-10-24

2.1 技术上是必要且可行的：修订采用了成熟、先进的检测技术，能有效解决现行标准的痛点，符合行业发展方向。

2.2 经济上是合理且高效的：尽管有前期投入，但其带来的风险规避和效率提升效益远远大于成本，具有极高的投资回报率。

2.3 操作上是可实施的：技术平台普及，人员基础具备，实施障碍小。

GB/T 14926.21 的修订优化整合现有抗原抗体方法，形成一套快速、灵敏、特异、安全的现代化检测标准。这项修订不仅是一个技术文件的更新，更是对我国实验动物质量保障体系、生物医药研发基础和创新体系的一次重要战略性投资，其产生的综合效益将深远而持久。

3、预期的经济效益、社会效益和生态效益

GB/T 14926.21 的修订，远不止是一项技术文件的更新。它是一项具有战略意义的基础性工作：

在经济上，它通过“预防为主”的策略，以较小的检测投入，避免了巨大的潜在经济损失，并赋能高附加值的生物医药产业。

在社会上，它筑牢了实验室生物安全的防线，保护了人员健康，并捍卫了科学研究的生命线——数据的可靠性。

在生态上，它作为一道关键屏障，防止了危险病原体向自然环境的泄漏，维护了生态平衡和国家生物安全。

因此，这项标准的修订是一项投入产出比极高的工作，其产生的综合效益将深远地影响我国的科技创新、公共安全和可持续发展。

（七）采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况；

本标准在制定过程中，新增兔出血症病毒 2 型核酸实时荧光 PCR 检测方法参考了世界动物卫生组织（WOAH）《陆生动物诊断试验与疫苗手册》中关于兔出血症病毒 2 型的诊断方法，同时结合我国实验动物管理的具体情况进行了细化和补充，以适应我国国情。

（八）与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系；

本标准与《中华人民共和国动物防疫法》、《实验动物管理条例》等国家法律法规的要求相一致。与 GB 19489《实验室 生物安全通用要求》、GB 14925《实验动物 环境及设施》等强制性国家标准协调配套，共同构成实验动物质量和生物安全标准体系的重要组成部分。本标准与其它实验动物微生物学检测标准共同使用，不存在冲突。

（九）重大分歧意见的处理经过和依据；

在标准征求意见和审查过程中，未出现重大分歧意见。

(十) 标准作为强制性标准或推荐性标准的建议；

(十一) 贯彻标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）；

在标准发布后，组织全国检测机构进行技术培训，标准宣贯，需要时组织实验室间检测技术比对，原标准 **GB14926.21-2008** 在新标准发布实施后废止。

(十二) 废止现行有关标准的建议；

(十三) 其他应予说明的事项。