

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1674—2011
代替 SN/T 1674—2005

锦鲤疱疹病毒病检疫技术规范

Quarantine protocol for *Koi herpesvirus* disease

2011-05-31 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替了 SN/T 1674—2005《锦鲤疱疹病毒分离和聚合酶链反应操作规程》。

本标准与 SN/T 1674—2005 相比,主要技术变化如下:

- 修改了标准的名称;
- 增加了“病理变化观察”、“电镜观察”及“间接免疫荧光(IFAT)”方法;
- 修改了原标准的 PCR 方法。

本标准修改采用国际兽疫局(OIE)《水生动物疾病诊断手册》(2009 版)中第 2.3.6 章,主要修改如下:

- 原文中“Disease information”内容经修改简缩后作为本标准附录 A;
- 原文第 5 节内容删去;
- 原文格式及内容顺序排版上作了调整。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国湖北出入境检验检疫局、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:郭明星、江育林、刘荭、陈建军、黄晟、罗志萍、朱堂明、赵晖。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- SN/T 1674—2005。

锦鲤疱疹病毒病检疫技术规范

1 范围

本标准规定了锦鲤疱疹病毒病诊断的临床症状、采样、间接免疫荧光、组织病理学观察、病毒分离、电镜观察、PCR 检测等检疫技术规范。

本标准适用于进出境锦鲤疱疹病毒病的检疫。

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

3 试剂和材料

3.1 锦鲤疱疹病毒(*Koi herpesvirus*, KHV):标准毒株由 OIE 参考实验室或国家质量监督检验检疫总局指定的实验室提供。

3.2 细胞系:锦鲤鳍细胞(KF-1)、脑组织(CCB)细胞系由国家质量监督检验检疫总局指定实验室提供。

3.3 引物

3.3.1 KHV 胸腺嘧啶脱氧核苷激酶(TK)基因 PCR 扩增引物序列:

上游引物:5'-GGG TTA CCT GTA CGA G-3'

下游引物:5'-CAC CCA GTA GAT TAT GC-3'

扩增产物大小为 410 bp。

3.3.2 基于检测 KHV Gray *SphI* 基因建立 PCR 方法的引物序列为:

KHV *SphI* 5F:5'-GAC ACC ACA TCT GCA AGG AG-3'

KHV *SphI* 5R:5'-GAC ACA TGT TAC AAT GGT CGC-3'

扩增产物大小为 292 bp。

3.4 *Taq* 酶。

3.5 dNTPs:含 dCTP、dGTP、dATP、dTTP 各 10 mmol/L。

3.6 无水乙醇:使用前预冷到-20℃。

3.7 蛋白酶 K。

3.8 DNA Marker。

3.9 溴化乙锭。

4 器材和设备

4.1 PCR 扩增仪。

4.2 电泳仪及电泳槽。