

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 2121—2008

流行性造血器官坏死病 检疫技术规范

Protocol of quarantine for epizootic haematopoietic necrosis

2008-09-04 发布

2009-03-16 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

本标准修改采用了国际兽疫局(OIE)《水生动物疾病诊断手册》(2006版)的第2.1.1章。

本标准与《水生动物疾病诊断手册》(2006版)的第2.1.1章相比,主要差异如下:

- 对样品处理以及试验条件进行了调整和优化,如核酸抽提采用CTAB-酚-三氯甲烷方法;
- 重新编排了格式。

本标准的附录B为规范性附录,附录A、附录C、附录D、附录E均为资料性附录。

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:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国广州出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:刘荭、乌日琴、江育林、叶奕优、何俊强、史秀杰、高隆英。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

流行性造血器官坏死病 检疫技术规范

1 范围

本标准规定了流行性造血器官坏死病病原分离、酶联免疫吸附试验和聚合酶链式反应检测方法。本标准适用于流行性造血器官坏死病的检疫。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

GB/T 18088—2000 出入境动物检疫采样

3 概述

流行性造血器官坏死病(Epizootic haematopoietic necrosis, EHN)是由流行性造血器官坏死病毒(Epizootic haematopoietic necrosis virus, EHNV)引起的有鳍鱼类一种疾病(参见附录 A)。

4 试剂和材料

- 4.1 水:符合 GB/T 6682 中一级水的规格。
- 4.2 EHNV 参考株:由国家质量监督检验检疫总局指定单位提供。
- 4.3 细胞系:BF-2(铜吻鳞鲷太阳鱼成纤维细胞系)、FHM(一种鲤科鱼类的细胞系)、EPC(鲤鱼上皮瘤细胞系)、CHSE(大鳞大麻哈鱼胚胎细胞系)。用 199 培养液(见附录 B 第 B.2 章)培养。
- 4.4 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)。
- 4.5 抗体:由国家质量监督检验检疫总局指定单位提供。
- 4.6 Taq 酶:—20℃保存,不要反复冻融或温度剧烈变化。
- 4.7 dNTPs:含 dCTP、dGTP、dATP、dTTP 各 10 mmol/L。
- 4.8 引物:浓度为 40 μmol/L。其序列如下:
 - M151:5'-AAC-CCG-GCT-TTC-GGG-CAG-CA-3'
 - M152:5'-CGG-GGC-GGG-GTT-GAT-GAG-AT-3'
 - 扩增主要衣壳蛋白基因中 321 bp 的片段。
 - M153:5'-ATG ACC GTC GCC CTC ATC AC-3'
 - M154:5'-CCA TCG AGC CGT TCA TGA TC-3'
 - 扩增主要衣壳蛋白基因中 625 bp 的片段。
- 4.9 异丙醇:分析纯,使用前预冷到—20℃。
- 4.10 矿物油:要求无 DNA 酶和 RNA 酶,用于无热盖的 PCR 扩增仪。
- 4.11 Triton X-100:2%(体积分数)。

5 器材和设备

- 5.1 96 孔细胞培养板、不同规格的细胞培养瓶。