



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1151.1—2011
代替 SN/T 1151.1—2002

虾桃拉综合征检疫技术规范

Quarantine protocol for shrimp taura syndrome

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

SN/T 1151 系列标准共分为六部分：

- 虾桃拉综合征检疫技术规范；
- 对虾白斑病检疫技术规范；
- 斑节对虾杆状病毒(MBV)诊断方法；
- 虾黄头病检疫技术规范；
- 对虾杆状病毒(BP)检验方法；
- 对虾白斑病毒斑点杂交和原位杂交检测操作规程。

本部分为 SN/T 1151 的第 1 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 SN/T 1151.1—2002《对虾 Taura 综合征病毒(TSV)逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)诊断方法》。本部分与 SN/T 1151.1—2002 相比,主要技术内容变化如下：

- 整合和优化 RT-PCR 检测方法；
- 新增 Real-time RT-PCR 检测方法。

本部分修改采用世界动物卫生组织(OIE)的《水生动物疾病诊断手册》(2009 版)第 2.2.4 章,并对虾桃拉综合征 RT-PCR 检测方法进行了整合和优化。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位:中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国福建出入境检验检疫局。

本部分主要起草人:熊炜、张强、刘荭、郑腾、蒋静、李健、邱璐、王巧全、黄忠荣、胡永强。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- SN/T 1151.1—2002。

虾桃拉综合征检疫技术规范

1 范围

SN/T 1151 的本部分规定了虾桃拉综合征 RT-PCR 和 Real-time RT-PCR 检测的操作方法。本部分适用于虾桃拉综合征的流行病学调查、诊断、检疫和监测。

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/T 18088 出入境动物检疫采样

3 概述

桃拉综合征(Taura syndrome)是一种由桃拉综合征病毒(Taura syndrome virus, TSV)感染而引起的严重威胁虾养殖的重要疫病,它是世界动物卫生组织(OIE)规定的需上报的水生动物疫病。TSV 几乎能感染所有类型的养殖虾,如:南美白对虾、红额角对虾、褐对虾、白对虾、斑节对虾等,并感染孵化期的虾苗,其致死率高。TSV 感染有三个明显的阶段:急性期、过渡期和慢性期。在急性期,虾表皮上皮的组织切片中可以看到典型的病理损伤,而在过渡期和慢性期,却没有典型的病理损伤;虾发病死亡主要发生在急性期,急性感染后的幸存者在经过短暂的过渡期后,进入长时间的慢性感染期,处于慢性感染期的虾的淋巴器官终生持续有病毒存在,这些携带有病毒的虾可把病毒水平传播给其他易感虾。病毒学研究证实,TSV 是一种小的正二十面体无色膜病毒,直径 32 nm,其基因组为单正链 RNA 由 10 205 个核苷酸组成,含有两个大的开放阅读框(Open read frame, ORF),ORF1 编码非结构蛋白如解旋酶、蛋白酶和 RNA 依赖性 RNA 聚合酶等,ORF2 编码结构蛋白如衣壳蛋白 VP1、VP2、VP3(其分子量大小分别为 55kDa、40kDa、24kDa)。

4 试剂和材料

4.1 Taq 酶及 10 倍 Taq 酶浓缩缓冲液: Taq 酶浓度为 5 U/ μ L, -20°C 保存,避免反复冻融。

4.2 逆转录酶及 10 倍逆转录酶浓缩缓冲液: 逆转录酶浓度为 50 U/ μ L, -20°C 保存,避免反复冻融。

4.3 RNA 酶抑制剂: 浓度为 40 U/ μ L, -20°C 保存,避免反复冻融。

4.4 dNTP: 含 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 各 10 mmol/L, -20°C 保存。

4.5 RT-PCR 引物: 引物浓度均为 20 μ mol/L; 引物有两对,可任选其一使用; 引物 9992F 和 9195R 为 OIE 推荐引物,其扩增基因片段的大小为 231 bp,引物 TSVF 和 TSVR 扩增的基因片段大小为 295 bp,其序列如下:

上游引物(9992F): 5'-AAG-TAG-ACA-GCC-GCG-CTT-3'

下游引物(9195R): 5'-TCA-ATG-AGA-GCT-TGG-TCC-3'

上游引物(TSVF): 5'-ATT-GAA-TAC-TTA-GCA-CAG-CGA-CC-3'

下游引物(TSVR): 5'-GAA-CAC-CAC-TAC-CAT-AGG-GGA-G-3'