

禽白血病病毒与禽网状内皮组织增殖病病毒联合净化技术规程

Technical regulations for elimination of avian leukosis virus and reticuloendotheliosis virus

地方标准信息服务平台

2021-11-17 发布

2021-12-17 实施

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。

本文件由山东省畜牧兽医局提出并组织实施。

本文件由山东省畜牧业标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：山东省动物疫病预防与控制中心、山东农业大学、山东益生种畜禽股份有限公司。

本文件主要起草人：胡莉萍、成子强、薛婧雯、周德方、陈静、江芳、张心悦。

地方标准信息服务平台

禽白血病病毒与禽网状内皮组织增殖病病毒联合净化技术规程

1 范围

本文件规定了禽白血病病毒和禽网状内皮组织增殖病病毒的实验室检测技术要求和联合净化程序。实验室检测包括抗原的ELISA检测、RT-PCR检测和病毒分离鉴定。

本文件适用于原种鸡群、祖代鸡群和父母代种鸡群的净化。

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。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 禽白血病病毒与禽网状内皮增殖病病毒实验室检测技术

4.1 器材

高温高压灭菌锅（温度范围：105℃～134℃；额定压力：0.23 Mpa）、离心机（转速：2 000 rpm～14 000 rpm）、PCR仪、二氧化碳恒温细胞培养箱、分光光度计、酶标仪、冰箱。

4.2 材料与试剂

4.2.1 无RNase水。

4.2.2 商品化的ALV与REVELISA抗原检测试剂盒。ALV和REVELISA抗原检测试剂盒均通过检测泄殖腔拭子，分别检测ALV所有亚群共有的抗原p27蛋白，或REV的主要免疫原性蛋白p30，从而对ALV和REV的感染情况进行判定。

4.2.3 商品化的RNA提取试剂盒。

4.2.4 商品化的RNA反转录试剂盒。

4.2.5 PBS缓冲液：NaCl 8 g，KCl 0.2 g，Na₂HPO₄ 1.42 g（Na₂HPO₄·12H₂O 3.58 g），KH₂PO₄ 0.27 g溶于蒸馏水，定容为1 000 mL，过滤后高温高压灭菌备用。

4.2.6 细胞生长培养基：商品化的DMEM液，加10%胎牛血清，青霉素、链霉素各250 IU/mL，储存于4℃冰箱备用。

4.2.7 细胞维持培养基：配制方法同4.2.6，使用胎牛血清浓度为1%。

4.2.8 ALV-A gp85、ALV-B gp85、ALV-J gp85及REV gp90基因片段的特异性引物，具体引物序列见附录A。

4.2.9 除特别规定外，在检测中使用的试剂均为分析纯，实验用水应符合GB/T 6682的要求。