

普通级实验用猫病原微生物监测

Conventional experimental cat: pathogenic microorganism surveillance

地方标准信息服务平台

2016 - 12 - 22 发布

2017 - 04 - 01 实施

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由吉林省科学技术厅提出并归口。

本标准起草单位：吉林大学。

本标准主要起草人：任文陟、袁宝、陈健、张锐、刘殿峰、张嘉保、高巍、胡进平、俞先峰、权福实、丁瑜、张金玉。

地方标准信息服务平台

普通级实验用猫病原微生物监测

1 范围

本标准主要规定了普通级实验用猫的病原微生物监测的术语和定义、检测项目、检测程序、检测方法、检验规则。

本标准适用于普通级实验用猫病原微生物的监测。

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，仅所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 14926.1 实验动物沙门菌检测方法
- GB/T 14926.4 实验动物皮肤病原真菌检测方法
- GB/T 14926.42 实验动物 细菌学检测 标本采集
- GB/T 14926.46 实验动物钩端螺旋体检测方法
- GB/T 14926.50 实验动物酶联免疫吸附试验
- GB/T 14926.56 实验动物狂犬病检测方法
- NY/T 541 动物疫病实验室检验采样方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实验用猫 experimental cat

用于科学研究、教学、生产和检定以及其他科学实验用猫。

3.2

普通级实验用猫 conventional (CV) cat

不携带所规定的重要人兽共患病病原和烈性传染病病原的实验用猫。

4 检测项目

检测项目见表1。

表1 普通级实验用猫检测项目

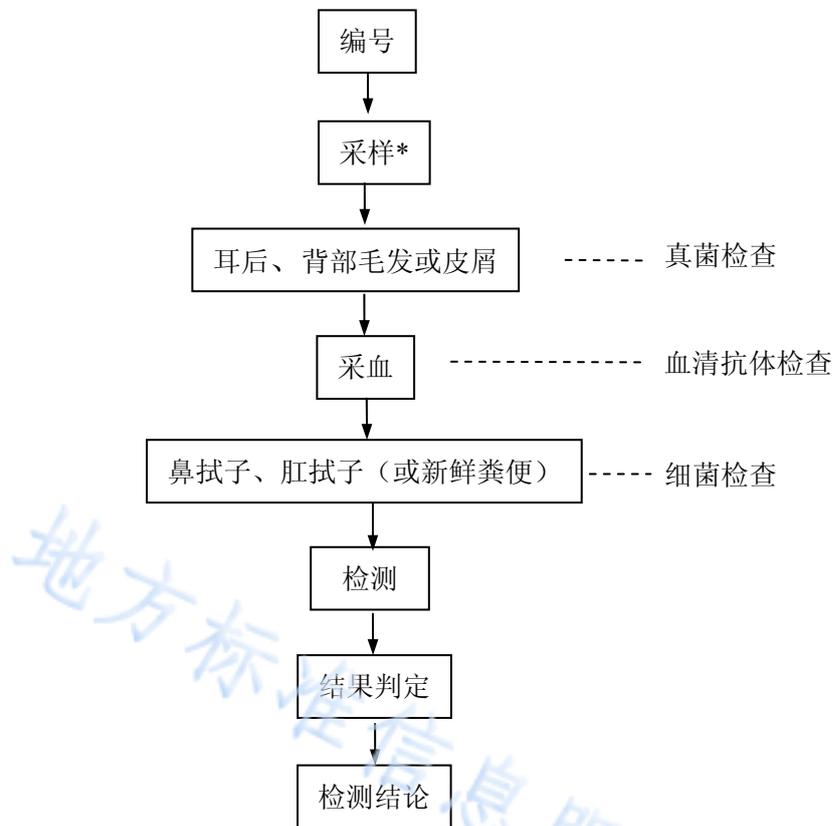
动物等级	检测项目	检测要求
普通级	猫泛白细胞减少症病毒	▲
	猫鼻气管炎病毒	▲
	猫杯状病毒	▲
	猫狂犬病毒	▲
		不得检出

表 1 (续)

动物等级	检测项目	检测要求	
普通级	沙门氏菌	●	不得检出
	皮肤病原真菌	○	
	钩端螺旋体	○	
注：▲ 指在进行实验用猫质量评价时应检测的项目，可以免疫。 ● 指在进行实验用猫质量评价时应检测的项目。 ○ 指引进实验用猫时或怀疑本病流行等必要时要求检测的项目。			

5 检测程序

检测程序见图1。



注：*：结合临床症状和实验室检查结果，需要进一步确证时，可取特定样本进行检测。

图1 检测程序

6 检测方法

检测方法见表2。

表2 普通级实验用猫病原微生物检测方法

微生物	方法
猫泛白细胞减少症病毒	抗体按 GB/T 14926.50 检测 病原采用 PCR 法检测, 见附录 A
猫鼻气管炎病毒	抗体按 GB/T 14926.50 检测 病原采用 PCR 法检测, 见附录 B
猫杯状病毒	抗体按 GB/T 14926.50 检测 病原采用 RT-PCR 法检测, 见附录 C
猫狂犬病毒	抗体按 GB/T 14926.56 检测 病原采用巢式 RT-PCR 法, 见附录 D
沙门氏菌	按 GB/T 14926.1 检测
皮肤病原真菌	按 GB/T 14926.4 检测
猫钩端螺旋体	按 GB/T 14926.46 检测

7 检验规则

7.1 监测频率

每 6 个月至少检测一次。

7.2 抽样

7.2.1 方法

采取随机抽样。应在每一生产繁殖单元的不同方位（如四角和中央）选取动物。

7.2.2 数量

抽样数量见表3。

表3 抽样数量

群体大小（只）	抽样数量
<100	不少于5 只
100~500	不少于10 只
>500	不少于15 只

7.2.3 试样采集

按 GB/T 14926.42 和 NY/T 541 进行。

7.3 结果判定

在检测的动物中, 如有某项指标不符合标准指标要求, 则判该群体不符合标准。

附 录 B
(规范性附录)
猫鼻气管炎病毒 PCR 检测方法

B.1 病毒DNA的提取与保存

按照DNA快速提取试剂盒操作方法进行DNA提取。冻存于-70℃冰箱备用。

B.2 PCR反应引物

上游引物序列(5'-3')：GCGGATTACACCACCACTCT。

下游引物序列(5'-3')：AAAGGCTAAGGGCGTGTACC。

B.3 PCR反应条件

PCR反应试剂盒，退火温度为 60℃。

B.4 PCR产物**B.4.1 产物大小**

401 bp。

B.4.2 产物参考序列

GCGGATTACACCACCACTCTCGATTGGATTGTATTCGGCGAGCTTGGTAATATTAGCAGCCAGAACAGAAATGTTACTCGTAAGC
ATCTGCGGGGTAAACTAGTAACTCCCAAAATTCTCAGACCGCGCTGCGGATAAATGCCAATATGGGTATTAGAGTGAGCTTCTCCC
CCCTGGTGGTAGAATCTTGGTTATTAACCACAGAACTGTGAATGTTTCAAACCTCACGACGTTGAATGTCTTTACTAGTTGTAT
CCATATTTTTGAAAAACGACACGTTTTTCAGCTCAATTAGAAAACATATACCACCCCTTCTCCCTCAAATTGTATAGTACATACACAA
TCAGGTCGGCGACGCCAAGTTAACCTCACATGCTAGGTACACGCCCTTAGCCTTT。

附 录 C
(规范性附录)
猫杯状病毒 RT-PCR 检测方法

C.1 病毒RNA的提取与保存

按照病毒RNA快速提取试剂盒操作方法进行RNA提取。冻存于-70℃冰箱备用。

C.2 PCR反应引物

上游引物序列(5'-3')：AACCTGCGCTAACGTGCTT。

下游引物序列(5'-3')：CAGTGACAATACACCCAGAA。

C.3 反转录

使用反转录试剂盒对所提取的总RNA进行反转录，制备cDNA。

C.4 PCR反应条件

PCR反应试剂盒，退火温度为55℃。

C.5 PCR产物

C.5.1 产物大小

922 bp。

C.5.2 产物参考序列

AACCTGCGCTAACGTGCTTAAATACTATGATTGGGATCCCCACATCAGATTGGTTATCAACCCCAATAAATTTCTTCTATTGGT
TTCTGTGATAATCCTCTAATGTGTTGCTACCCAGAATTGCTCCAGAATTCGGAAGTGTGTGGGATTGTGATCAATCCCCACTGCAAAT
CTACCTGGAGTCAATCCTTGGTGATGATGAATGGGCTTCAACTTACGATGCCATTGACCCTGTTGTTCCACCAATGCACTGGGACGATG
CAGGCAAGATCTTCCAACCTCACCTGGAGTTCTGATGCATTTTCTAATAAATGAAGTTGCAAAGGGCTGGGATCCAAGTTTGCCATCC
TTCCGTTTGGGAAGCAGATGACGGATCCATAACCACACCTGAACAGGGTACTGCGGTTGGTGGCGTCATTGCCAACCCAGCGCTCAAAT
GTCGGCAGCTGCAGACATGGCATCTGGTAAGAGTGTGACTCTGAGTGGGAGGAATCTTTTCTTCCATACTAGTGTCAACTGGAGCA
CAACTGAAACACAAGGAAAGATTCTGTTCAAACAGTCACTGGGACCCCTTCTCAACCCTTACCTTGAACACTTATCTAAACTCTATGTT
GCTTGGTCAGGCTCTATAGATGTTAGGTTTTCTATCTCTGTTCTGTTGCTTTGGGGGAAAACTAGCCGCAATAGTGTCCACCTGG
TGTCGATCCTGTCCAAAGCACTTCCATGCTACAATACCCTCATGTGTTGTTGATGCTCGACAGGTTGAACCAGTGATCTTTTCTCTCC
CTGATCTGAGGAATTCACTATATCACCTCATATCTGATACTGATACTACATCTCTGGTAATAATGGTTTACAATGATCTTATTAACCC
TATGCAAATGAAGCTAACTCTTCTGGGTGATTGCTACTG。

附 录 D
(规范性附录)
猫狂犬病病毒巢式 RT-PCR 检测方法

D.1 病毒RNA的提取与保存

按照病毒RNA快速提取试剂盒操作方法进行RNA提取。冻存于 -70 °C 冰箱备用。

D.2 PCR反应引物

D.2.1 第1次PCR反应引物

上游引物序列 (5'-3') : GTGTAACACCTCTACAATGG。

下游引物序列 (5'-3') : ACAGTCTCYTCNGCCATCT。

D.2.2 第2次PCR反应引物

上游引物序列 (5'-3') : CAAGATGTGYGCYAAAYTGGAG。

下游引物序列 (5'-3') : AGCCCTGGTTCGAACATTCT。

(简并引物, 其中Y=C/T, N=A/C/G/T)

D.3 反转录

使用反转录试剂盒对所提取的总RNA进行反转录, 制备cDNA。

D.4 PCR反应条件

使用PCR反应试剂盒, 首先使用第1次PCR反应引物, 退火温度为 56 °C, 以第1次PCR反应产物为模板, 使用第2次PCR反应引物, 退火温度为 56 °C。

D.5 PCR产物

D.5.1 产物大小

255 bp。

D.5.2 产物参考序列

CAAGATGTGCGCTAACTGGAGTACCATCCCGAACTTTAGATTCTTAGCTGGAACCTACGACATGTTTTCTCTCGGATTGAGCAT
TTGTACTCAGCTATAAGAGTGGGCACAGTTGTCACCTGCTTATGAAGACTGCTCAGGGTTGGTATCGTTCACAGGGTTCATAAAGCAAAT
AAATCTCACC GCGAGAGGCAATCCTATATTTCTTCCACAAGAACTTTGAGGAAGAAATAAGAA。