



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 26436—2010

---

## 禽白血病诊断技术

Diagnostic techniques for avian leukosis

2011-01-14 发布

2011-07-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会

发布

## 前 言

本标准的附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E、附录 F 为规范性附录，附录 G、附录 H 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会(SC/TC 181)归口。

本标准起草单位：山东农业大学、中华人民共和国珠海出入境检验检疫局、华南农业大学。

本标准主要起草人：崔治中、孙淑红、赵鹏、杨素、沙才华、廖明、曹伟胜。

## 引 言

禽白血病病毒(avian leukosis viruses;ALV)为反转录病毒科的 $\alpha$ 反转录病毒属,可诱发鸡不同组织的良性和恶性肿瘤,是鸡群中除马立克氏病病毒(MDV)和禽网状内皮增生症病毒(REV)外的又一类重要的致肿瘤病毒。

禽白血病是一类由ALV相关的反转录病毒引起鸡的不同组织良性和恶性肿瘤病的总称。随发生肿瘤的主要细胞成分不同,分别称之为不同名称的肿瘤。ALV可分为A~J 10个亚群,其中仅A亚群、B亚群、C亚群、D亚群、E亚群、J亚群病毒与鸡相关。A亚群、B亚群、C亚群、D亚群、J亚群属外源性ALV,与禽白血病的不同类型肿瘤发病相关。E亚群病毒基因组可完整地整合进感染鸡的染色体基因组并稳定地遗传下去,也可从中再复制出传染性病毒颗粒,因而称之为内源性病毒。此外,在一些鸡的染色体的不同部位,还可能带有一些ALV的基因组片段。E亚群ALV的致病性很低或没有致病性,不属于净化对象,但很多鸡群中包括一些无特定病原(SPF)鸡群都可能带有E亚群内源性ALV,它的感染不会给鸡群带来不良影响,但会干扰检测。

目前,该病对我国养鸡业的危害很大。在国际种禽贸易中,外源性白血病病毒感染是最主要的检测对象之一。

# 禽白血病诊断技术

## 1 范围

本标准规定了病料中 ALV 特异血清抗体和外源性 ALV 的检测方法。

本标准适用于判断鸡群或病料中是否有外源性 ALV 感染。

## 2 临床症状和病理变化

ALV 主要引起感染鸡在性成熟前后发生肿瘤死亡,感染率和发病死亡率高低不等,死亡率最高可达 20%。一些鸡感染后虽不发生肿瘤,但可造成产蛋性能下降甚至免疫抑制。

淋巴样白血病是最为常见的经典型白血病肿瘤,肿瘤可见于肝、脾、法氏囊、肾、肺、性腺、心、骨髓等器官组织,肿瘤可表现为较大的结节状(块状或米粒状),或弥漫性分布细小结节。肿瘤结节的大小和数量差异很大,表面平滑,切开后呈灰白色至奶酪色,但很少有坏死区。在成红细胞性白血病、成髓性细胞白血病、髓细胞白血病中,多使肝、脾、肾呈弥漫性增大。J 亚群 ALV 感染主要诱发髓细胞样肿瘤,它最常见的特征性变化主要为肝脾肿大或布满无数的针尖、针头大小的白色增生性肿瘤结节。在一些病例中,还可能在胸骨和肋骨表面出现肿瘤结节。

单纯苏木精伊红染色(H. E 染色)的病理组织切片观察在诊断上有一定参考意义。在表现为淋巴样细胞肿瘤结节时,要注意与马立克氏病病毒(MDV)和禽网状内皮增生症病毒(REV)诱发的肿瘤相区别;在表现为髓样细胞瘤时,既要与 REV 诱发的类似肿瘤细胞相区别,也要与嗜中性白细胞浸润性炎症相区别,如鸡戊型肝炎病毒感染引起的肝局部炎症。最终的鉴别诊断以肿瘤组织中的病毒抗原检测或病毒分离鉴定为最可靠依据。

## 3 病毒的分离培养、检测和鉴定

### 3.1 试剂和仪器

#### 3.1.1 试剂

DMEM 液体培养基(pH7.2)、0.25%胰酶、磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L PBS, pH7.2)、抽提缓冲液、青霉素(10 万 U/mL)、链霉素(10 万 U/mL)、抗 ALV 单抗、抗 ALV 单因子鸡血清、异硫氰酸荧光素(FITC)标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体、ALV-p27 抗原酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒、聚合酶链反应(PCR)试剂、RT-PCR 试剂、生理盐水(0.9%氯化钠)、无水乙醇(分析纯)、丙酮(分析纯)、甘油(分析纯)、75%酒精、碘酒、细胞生长液(含有 5%胎牛血清或小牛血清的 DMEM 液体培养基)、细胞维持液(含有 1%胎牛血清或小牛血清的 DMEM 液体培养基)、大肠杆菌(TG1)、蛋白酶 K、70%冷乙醇、乙酸钠(分析纯)、三氯甲烷(分析纯)、异戊醇(分析纯)、异丙醇(分析纯)、10×加样缓冲液、琼脂糖、DL2000 DNA Marker、TAE 电泳缓冲液、氯化钙(0.1 mol/L)、氨苄青霉素(100 μg/μL)、双蒸水、LB 液体培养基、TE 缓冲液、RNase、细胞裂解液、0.1%的 DEPC(焦碳酸乙二酯)水等(除特殊说明外,上述试剂均为分析纯)。

#### 3.1.2 仪器

锥形瓶、荧光显微镜、恒温培养箱,冰冻台式离心机( $\geq 12\ 000$  r/min)、-20℃冰箱、-80℃冰箱、