

# 《种鸡群禽白血病净化检测规程》编制说明

## 一、工作简况

### (1) 任务来源

国家标准计划项目：种鸡群禽白血病净化检测方法【2011024—T—326】。

### (2) 起草单位

略

### (3) 主要工作过程

①2011年6-7月，文献检索和研讨，完成此标准具体设计工作。

②2011年8月—2015年12月 进行实验

③2016年1月—2016年6月 完成初稿撰写，广泛征求意见。

④2016年7月针对专家意见，修改以及一些必要复核工作，形成标准报批。

## 二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

### (一) 标准的编写

本标准主要按照世界动物卫生组织和中国动物卫生标准委员会的相关规定编写。

### (二) 提出本标准的依据

禽白血病是由禽白血病病毒(Avian leukosis virus, ALV)引起的禽类主要肿瘤性疫病之一，针对原种鸡场核心群的外源性ALV净化是预防禽白血病的最主要措施。在2012年国务院颁布的《国家中长期动物疫病防治规划（2012~2020年）》经过数十年的努力，明确提出对

全国种禽场实行禽白血病净化，并提出了净化标准。目前国际上保留下来的不同品系的白羽肉用型种鸡群或蛋用型种鸡群都已基本净化了各种亚群的外源性禽白血病。在我国各地饲养着民族育种蛋鸡品系以及不同品种的地方品种鸡和培育的黄羽肉用型鸡。由于历史原因，这些鸡群大多都不同程度的感染了不同亚群 ALV，甚至还有一些尚未鉴定的亚群，而且又从未做过任何净化工作。我国部分蛋用型种鸡群借鉴发达国家净化经验和检测规程实现了对禽白血病的净化，但目前尚无针对禽白血病净化检测规程的国家标准或行业标准可供参考，为此特制定本标准。

### **（三）制定本标准的基础**

山东农业大学家禽肿瘤病研究室长期从事禽白血病等垂直传播性疾病的流行病学与综合防控研究，先后主持了实施公益性行业（农业）科研专项“鸡白血病流行病学和防控措施的示范性研究”及其滚动项目“种鸡场禽白血病防控与净化技术的集成”，连续五年完成了农业部指派的针对我国大型种禽场禽白血病等垂直传播性疾病的疫情监测工作，主持制订了《禽白血病诊断技术》国家标准，研究成果禽白血病流行病学与防控技术体系先后获得山东省科技进步一等奖和国家科技进步二等奖，依托该技术成功实现了对北京华都峪口禽业有限公司等多家大型育种企业的禽白血病净化工作。

### **（四）实验内容**

种鸡一个培育世代内禽白血病毒检测时间节点的选择；不同样品用于判定鸡感染状态的准确性及其用于净化的适用性；净化过程中的

注意事项与配套体系。

### **（五）实际应用效果**

利用建立的种鸡群禽白血病净化检测规程指导北京华都峪口禽业有限公司、江苏立华牧业有限公司、广东智威农业科技股份有限公司等大型育种企业实现了禽白血病的净化，目前还有很多大型育种企业如河北大午种禽有限公司以及广东温氏家禽育种公司等正在参照该净化检测规程实施禽白血病净化工作，取得了良好的进展。

## **三、主要试验或验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益**

### **（一）主要试验或验证的分析**

#### **1. 不同类型鸡泄殖腔棉拭子及种蛋中禽白血病病毒 p27 抗原检测与病毒分离的相关性分析**

本研究旨在探讨泄殖腔棉拭子或种蛋中禽白血病病毒(ALV)-p27 抗原检测与病毒分离检测的相关性，为我国鸡群禽白血病净化检测提供参考依据。对不同类型鸡只按编号分别采集泄殖腔棉拭子和蛋清后以 ALV-p27 抗原检测试剂盒检测，同时无菌采集抗凝血接种 DF-1 细胞进行 ALV 的分离鉴定，分析比较不同来源鸡只禽白血病的泄殖腔棉拭子和蛋清 p27 检测与细胞培养病毒分离检测之间的灵敏性以及三者之间的相关性。结果显示不同方式人工感染 ALV-A 的 SPF 鸡群泄殖腔棉拭子 ALV-p27 抗原检测与病毒分离有很高的吻合率，相对于病毒分离法，119 次泄殖腔棉拭子 ALV-p27 抗原检测中出现有 1 例假阳性和 3 例假阴性；在从美国进口的 200 只祖代肉鸡中，三次采血

在 DF-1 细胞上分离病毒结果均为阴性，而泄殖腔棉拭子的 ALV-p27 抗原检出阳性数依次是 8、5、4。相对于病毒分离法，不同遗传背景地方品系鸡泄殖腔棉拭子 ALV-p27 抗原检测的假阳性率高达 93.2%~100%。即使如此，还有相当高比例的漏检率即假阴性（1/9、1/4、1/3）。本研究大量一一对应比较的数据表明，相对于血浆病毒分离法，不同类型鸡的泄殖腔棉拭子 p27 检测法不仅有很高的假阳性率，还有一定比例漏检率。这说明仅仅通过泄殖腔棉拭子检测来实现净化是不可靠的，仅仅作为初选进行粗筛较为适宜。

表 1.1 人工感染 ALV-A SPF 鸡群泄殖腔棉拭子 ALV-p27 抗原检测与病毒分离结果

病毒分离组别	1d		1w		2w		3w		4w		
	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	
感染组	+	27	2	23	1	22	0	22	0	19	0
	-	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
空白组	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	-	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12

表 1.2 不同地方品系鸡泄殖腔棉拭子 ALV-p27 抗原检测和病毒分离结果

病毒分离	绿壳蛋鸡		琅琊鸡		仙居鸡		芦花鸡	
	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子
	+	-	+	-	+	-	+	-
+	8	1	3	1	2	1	0	0
-	110	66	97	75	92	84	132	62

表 1.3 不同地方品系鸡泄殖腔棉拭子与蛋清 ALV-p27 抗原检测结果

蛋清	绿壳蛋鸡		琅琊鸡		仙居鸡		芦花鸡	
	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子	泄殖腔棉拭子
	+	-	+	-	+	-	+	-
+	5	0	1	0	0	0	13	1
-	78	48	80	63	79	73	105	55

## 2. 进口品系鸡种蛋禽白血病病毒 p27 抗原检出率与鸡群病毒感染率的相关性

本研究对国内天津、河北、山东、湖北等地 1 个祖代及 6 个父母代鸡群已经实现净化种鸡群所产种蛋的 p27 抗原进行了检测，对其中

一些鸡群的 ALV-J、ALV-A/B 抗体进行了检测和发病鸡的病毒分离鉴定, 对其孵化后下一代鸡群的禽白血病发病状况和客户投诉情况进行了追踪调查, 以观察种蛋中禽白血病病毒 P27 抗原检出率与种鸡群及其子代鸡群发病率的相关性, 从而为 ALV 的流行病学调查、净化防制和风险评估提供一定科学依据。结果显示, 7 个种鸡场所产种蛋中 p27 抗原检出率从 0-12%不等, p27 抗原检出率与种鸡群的发病状况及其下游鸡群的发病状况和客户投诉情况密切相关, 即种蛋中 p27 抗原检出率越高, 种鸡群发病情况越严重, 下游客户鸡群发病率和投诉率越高。种鸡群的种蛋 p27 检出率与种鸡群及其孵化后鸡群的禽白血病感染情况具有较好的吻合性, 可以作为开展 ALV 的流行病学调查和禽白血病感染风险评估的重要指标。因此种蛋中 p27 抗原检出率可以作为评估种鸡群净化状态的重要核心指标, 这一点对于已经实现净化的进口品系和我国部分已经实现净化的蛋鸡品系尤为明确。

**表2.1 不同种鸡场蛋清P27抗原检测、病毒分离和抗体阳性率及子代鸡群发病情况统计**

种鸡场 (品系)	蛋清 P27 (阳性数/种蛋数)	外源性 ALV 分离情况	种鸡群血清抗体检测 (阳性数/样品数)		子代鸡群 发病情况	客户投 诉情况
			ALV-A/ B	ALV-J		
天津某父母代 鸡场 A (海兰)	24/200	ND	8/92	6/92	病死鸡有 明显肿瘤, 有的全群 淘汰	投诉严重
河北某祖代鸡 场 B (海兰)	0/240	ND	0/228	0/228	鸡群正常	未见投诉
山东某父母代 鸡场 C (海兰)	9/200	2/10	ND	ND	病死鸡有 明显肿瘤, 死亡率最 高可达 60%	投诉严重
山东某父母代 鸡场 D (海兰)	1/350	ND	ND	ND	鸡群正常	未见投诉

山东某父母代 鸡场 E (海兰)	0/105	ND	0/105	0/105	鸡群正常	未见投诉
山东某父母代 鸡场 F (京红)	0/100	ND	0/96	0/96	鸡群正常	未见投诉
湖北某父母代 鸡场 G (伊莎)	0/201	0/12	0/100	0/100	鸡群正常	未见投诉

注：ND 表示由于样品的限制等原因该检测项目未做。

### 3. 抗原 ELISA 检测试剂盒和胶体金试纸条用于禽白血病毒检测时的比较

为了准确而快速的诊断 ALV, 已有很多技术应用于 ALV 的检测, 如间接免疫荧光 (IFA) 以及酶联免疫吸附试验 (ELISA) 等, 这些方法各有其优缺点和适用范围, 其中针对 ALV 群特异性抗原 p27 的 ELISA 检测试剂盒一直是针对批量样品检测的首选, 在种鸡群净化和流行病学调查方面发挥了极其重要的作用。随着技术的发展, 新的便捷技术如胶体金试纸条不断问世, 在净化检测中究竟哪种更适宜用于病毒分离鉴定或蛋清样品中 p27 的检测是种禽场非常关心的问题。为比较不同 ALV 抗原 ELISA 检测试剂盒和胶体金试纸条的灵敏度, 本研究将 A、B、J 三种不同 ALV 亚群分别以 50TCID<sub>50</sub>、100TCID<sub>50</sub>、500TCID<sub>50</sub> 三种剂量接种培养于 DF1 细胞上, 接种后第 2-8 天每天收取上清, 每份上清用三种不同的抗原 ELISA 检测试剂盒 (A、B、C) 和两种胶体金试纸条 (D、E) 同时检测。结果显示, 三种亚群三种剂量分别应用 A、B、C 三种 ELISA 检测试剂盒灵敏度基本一致, 但在针对三种亚群的个别剂量时 B 试剂盒灵敏度略高于 A 和 C; 两种胶体金试纸条检测结果完全一致, 但其灵敏度均比 ELISA 试剂盒低, 检出时间延后 1-2 天。同时应用 ELISA 试剂盒 A、B 和胶体金试纸条 D、E 对 60 枚种蛋蛋清进行了检测, 结果显示胶体金试纸条检出率远低于 ELISA 试剂盒检出率, 在某些应用方面还无法完全替代 ELISA

检测试剂盒。本研究通过对 DF1 细胞接种不同亚群不同剂量的 ALV 在不同时间的细胞上清样品进行检测，以及对部分已知感染状态蛋清样品的检测，客观的比较了不同商品化试剂盒或试纸条在检测 ALV 方面的灵敏度，提示对于一些感染剂量较低的样品以及种蛋蛋清样品检测时传统的 ELISA 更为灵敏和特异，为此本标准依旧以 ELISA 方法做为检测蛋清样品或细胞培养上清中 ALV 抗原的标准方法。

表 3.1 不同试剂盒和试纸条对 ALV-A 接种 DF-1 细胞不同天数后的检测结果

接种剂量 (TCID <sub>50</sub> )	检测方法	DF-1 细胞接种 ALV-A 后天数						
		2	3	4	5	6	7	8
50	ELISA-A	-	-	-	-	-	-	+
	ELISA-B	-	-	-	-	-	+	+
	ELISA-C	-	-	-	-	-	-	+
	GDTS-D	-	-	-	-	-	-	-
	GDTS-E	-	-	-	-	-	-	-
100	ELISA-A	-	-	-	+	+	+	+
	ELISA-B	-	-	-	+	+	+	+
	ELISA-C	-	-	-	+	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-E	-	-	-	-	+	+	+
500	ELISA-A	-	+	+	+	+	+	+
	ELISA-B	-	+	+	+	+	+	+
	ELISA-C	-	+	+	+	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	+	+	+	+
	GDTS-E	-	-	-	+	+	+	+

表 3.2 不同试剂盒和试纸条对 ALV-B 接种 DF-1 细胞不同天数后的检测结果

接种剂量 (TCID <sub>50</sub> )	检测方法	DF-1 细胞接种 ALV-B 后天数						
		2	3	4	5	6	7	8
50	ELISA-A	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-B	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-C	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	-	-	+	+
	GDTS-E	-	-	-	-	-	+	+
100	ELISA-A	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-B	-	-	-	+	+	+	+
	ELISA-C	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-E	-	-	-	-	+	+	+

	ELISA-A	-	-	+	+	+	+	+
	ELISA-B	-	-	+	+	+	+	+
500	ELISA-C	-	-	+	+	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	+	+	+	+
	GDTS-E	-	-	-	+	+	+	+

表 3.3 不同试剂盒和试纸条对 ALV-J 接种 DF-1 细胞不同天数后的检测结果

接种剂量 (TCID <sub>50</sub> )	检测方法	DF-1 细胞接种 ALV-J 后天数						
		2	3	4	5	6	7	8
50	ELISA-A	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-B	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-C	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	-	-	+	+
	GDTS-E	-	-	-	-	-	+	+
100	ELISA-A	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-B	-	-	-	-	+	+	+
	ELISA-C	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	-	+	+	+
	GDTS-E	-	-	-	-	+	+	+
500	ELISA-A	-	-	+	+	+	+	+
	ELISA-B	-	+	+	+	+	+	+
	ELISA-C	-	-	+	+	+	+	+
	GDTS-D	-	-	-	+	+	+	+
	GDTS-E	-	-	-	+	+	+	+

表 3.4 种蛋蛋清应用不同试剂盒和试纸条的检测结果

检测方法	ELISA-A	ELISA-B	GDTS-D	GDTS-E
阳性率	65.0% (39/60)	55.0% (33/60)	38.3% (23/60)	40.0% (24/60)
与病毒分离吻合率	97.5% (39/40)	82.5% (33/40)	57.5% (23/40)	60.0% (24/40)

#### 4. 净化过程中病毒分离用细胞的选择

ALV 可以在多种鸟类细胞培养上复制，如鸡胚或其他鸟胚成纤维细胞。但是，不同亚群的 ALV 对细胞的易感性即在细胞上的复制能力与细胞来源禽的种类密切相关。即使都是来自鸡的六个亚群，不仅对不同种禽类细胞易感性不同，而且对不同遗传背景鸡的细胞的易感性也有很大差异。例如，表型为 C/O 的细胞，对鸡的所有六个亚群 ALV 都易感。表型为 C/E 的细胞则只对 A、B、C、D、J 五个亚



群 ALV 易感，但对 E 亚群 ALV 不易感，即 E 亚群 ALV 不能在表型为 C/E 的细胞上复制。例如，在实验室里常用的鸡胚成纤维细胞系 DF1 细胞的表型就是 C/E，E 亚群 ALV 不能在 DF1 细胞上复制。ALV 在细胞培养上一般不引起细胞病变，因此很难根据感染细胞的细胞形态变化来判断有无病毒复制。只有少数病毒分离株感染的细胞单层可能出现合胞体或其它轻度细胞病变。因此，对于大多数 ALV 分离株来说，必须用抗 ALV 的单克隆抗体或单因子血清作荧光抗体反应时，或检测 p27 抗原后，才能显示细胞培养中是否有 ALV 感染和复制。

多数种鸡场反应 DF-1 细胞培养技术要求较高，建议以鸡胚成纤维细胞代替 DF-1 进行 ALV 的分离鉴定。除了上述提到 CEF 无法区分内外源外，我们对于 CEF 和 DF-1 细胞分离病毒的效率进行了比较。将 ALV-J 传染性克隆株 rNX0101 病毒原液以细胞维持液做 10 倍梯度稀释 ( $10^{-1}$ - $10^{-9}$ )，每个稀释度分别接种 DF-1 细胞板和 CEF 细胞板上各 8 个孔，每孔接种 100ul。接种后置于 37℃，5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 7 天。然后将各孔上清液取出存放于 -20℃ 备用，细胞以冷冻的丙酮-乙醇(6:4) 固定液固定 5-10 min。对所收集的细胞培养上清严格按照 ELISA 试剂盒说明书开展操作测定 p27 抗原，确定阳性孔数后按照 Reed-Muench 法分别计算该病毒在 DF-1 和 CEF 上测定的 TCID<sub>50</sub>。固定的细胞用 PBS 洗涤三次，自然晾干后进行间接免疫荧光 (IFA) 检测。具体步骤为：首先加入 1:150 倍稀释的 ALV-J 特异性单抗 JE9 作为第一抗体，37℃ 孵育 45 min，然后弃去单抗用 PBS 洗涤三次；再加入 FITC 标记的羊抗鼠二抗，37℃ 孵育 45min，弃去二抗后用 PBS 洗

涂三次；最后加一滴 50% 甘油于各孔内，在荧光显微镜下观察实验结果。确定阳性孔数后按照 Reed-Muench 法分别计算该病毒在 DF-1 和 CEF 上测定的 TCID<sub>50</sub>。结果显示不管是应用 ELISA 作为判定标准，还是 IFA 作为判定标准，按照 Reed-Muench 法计算 ALV-J 在 DF-1 细胞上的 TCID<sub>50</sub> 均要显著高于在 CEF 细胞上的 TCID<sub>50</sub> (表 4.1、表 4.2)。应用 IFA 检测 ALV-J 在 DF-1 细胞上的复制，在 10<sup>-5</sup> 和 10<sup>-6</sup> 两个稀释度均可以检测到非常明显的阳性孔，并且在 10<sup>-5</sup> 这一同等稀释度下，在 DF-1 细胞上的 IFA 检测阳性细胞比例要显著高于 CEF (图 1)，显示 ALV-J 在 DF-1 细胞上的复制能力要显著高于在 CEF 上的复制能力，因此 DF-1 细胞是进行 ALV 净化时最佳细胞选择。

表 4.1 ALV-J 在 DF-1 细胞上测定 TCID<sub>50</sub> 时 ELISA 和 IFA 判定结果的比较

检测 方法	不同病毒稀释度下的阳性孔数/总孔数									对 照	TCID <sub>50</sub> /0.1ml	
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>			
p27-ELISA	8/8	8/8	8/8	8/8	6/8	<b>1/8</b>	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	10 <sup>-5.42</sup>
IFA	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	<b>6/8</b>	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	10 <sup>-6.333</sup>

表 4.2 ALV-J 在 CEF 细胞上测定 TCID<sub>50</sub> 时 ELISA 和 IFA 判定结果的比较

检测 方法	不同病毒稀释度下的阳性孔数/总孔数									对 照	TCID <sub>50</sub> /0.1ml	
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>			
p27-ELISA	8/8	8/8	8/8	8/8	2/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	10 <sup>-4.666</sup>
IFA	8/8	8/8	8/8	8/8	5/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	10 <sup>-5.2</sup>

## (二) 综述报告

根据国际跨国育种公司在过去二十多年中对鸡白血病净化的成

功经验，他们总结出一套从血浆分离病毒为主，同时结合胎粪棉拭子检测 p27 抗原从核心种鸡群中检出和淘汰外源性 ALV 感染鸡的标准方法，这一套方法虽然都是经典的技术，也很繁琐，但却是最可靠的。在这一标准方法中，最基本的是从核心群每只种鸡采集血浆接种于 DF1 细胞，在接种血浆样品后一天换液，再将细胞持续培养 9 天后收集培养上清液用 ELISA 检测试剂盒检测是否检出 p27 抗原。这一检测要在 10 周龄、25 周龄和 40 周龄左右作 2-3 次检测。对于原种鸡场核心群的 ALV 净化来说，由于不可能将所有带毒鸡在一次检测中全都检出，对一个污染了外源性 ALV 的鸡群来说，往往需要 4-5 个生产周期。如果能提高检出率即减少每一生产周期的漏检率，就可能缩短周期。因此在本标准推荐的四个检测周期内严格按照要求实施检测和淘汰则能在最短的周期内实现 ALV 的净化，而不同的企业因其技术水平和硬件设施的限制仅仅选择其中一个或两个检测时间节点则仅仅可以达到控制和降低 ALV 感染的目的，却无法实现净化 ALV 的目标。

### （三）预期的经济效果

2013 年，中国动物疫病预防控制中心启动了《规模化养殖场主要动物疫病净化和无害化排放技术集成与示范项目》，2014 年起组织开展了首批规模化养殖场主要动物疫病净化示范创建活动。从 22 个省首批申报的 280 家养殖场中初步筛选出 42 家养殖场后进行评估，确定北京市华都峪口家禽育种有限公司和宁夏晓鸣农牧股份有限公司黄羊滩（闽宁）生态养殖基地（祖代养殖场）2 个种鸡场为“禽白

血病净化示范场”，有效期 3 年；确定佛山市高明区新广农牧有限公司（育种场）和广东温氏南方家禽育种有限公司（河头育种场）等五家育种场为“动物疫病净化场创建场”，有效期 5 年。其中北京市华都峪口家禽育种有限公司已经根据本净化规程实现了 ALV 净化，佛山市高明区新广农牧有限公司（育种场）和广东温氏南方家禽育种有限公司（河头育种场）正在按照本净化规程实施 ALV 净化。北京市华都峪口家禽育种有限公司自实施净化以来国内市场占有率稳步提高，接近高达 50%。宁夏晓鸣农牧股份有限公司自 2010 年进一步实施动物疫病净化工作以来，平均一只鸡可多产 8 枚蛋，2014 年度销售收入较上年同期增长了 69.65%，净利润增长了 137.81%。本标准的制订和推出将进一步带动我国大型育种公司实施疾病净化，提高我国民族育种品牌竞争力，降低因为疾病带来的直接和间接损失数十亿元。

#### 四、采用国际标准和国外先进标准的程度

目前，针对禽白血病的净化检测并无国际标准，但是发达国家大型育种公司如海兰蛋鸡和 AA 肉鸡等按照本综述报告所列的检测时间节点和检测方法成功实现了禽白血病的净化，这一检测规程被行业称为禽白血病净化的“金标准”。本标准的制订充分借鉴了发达国家的成功经验，同时随着技术的进步和相关理论问题研究的深入，对于不同时间节点相应检测的要求进行了改进和简化，以适应目前我国特殊的国情和不同企业的检测技术水平。

## 五、与现行的法律、法规和强制性国家标准的关系

目前，针对禽白血病检测相关的标准可参考的为山东农业大学牵头制订的国家标准《禽白血病诊断技术》（GBT26436-2010），国家标准《禽白血病诊断技术》关注的主要是针对禽白血病毒的实验室检测技术和禽白血病诊断所制定的具体技术性标准，它所规定的检测技术和检测规范可以针对任何疑似感染禽白血病的鸡群体或个体，不管是种鸡群还是商品鸡群。而本标准所规定的仅仅是对需要实施禽白血病净化的核心育种群体实施禽白血病净化的规程，主要包括检测时间节点和检测样品种类以及操作涉及技术，具体的检测操作规范可参照国家标准《禽白血病诊断技术》（GBT26436-2010）。目前所制订标准与国家标准《禽白血病诊断技术》不存在矛盾，对相关标准做了有益补充，是《禽白血病诊断技术》在疾病净化中的应用。

## 六、重大分歧意见的处理经过和依据

无

## 七、标准性质（强制性，推荐性）的建议，特别是对建议批为强制性标准的理由应充分说明

考虑到不同企业的净化需求和技术水平的差异，本标准为推荐性标准。

## 八 贯彻标准的要求和建议措施（组织实施、技术措施、过渡办法等）

1 组织实施：

2 技术措施：

## 九、废除现行有关标准的建议；

无

## 十、其他应予说明的事项。

无

## 十一、征求意见情况与采纳情况

(1) 对选留鸡使用的弱毒疫苗，必须按照相关规定进行严格检测，按照相关规定不明确。

采纳情况：鉴于尚无针对禽用弱毒疫苗中禽白血病毒检测的国家标准或行业标准，本标准界定为经《中国兽药典》规定检验程序检验合格的市售商品化疫苗

(2) 将每只母鸡的种蛋置于同一标母鸡号的专用纸袋中，置于出雏箱中出雏。

附件未见纸袋说明

采纳情况：目前国内不同的种鸡厂采用了多种多样的专用纸袋或专用纸盒，没有特定的标准，其主要目的为同一母鸡所产种蛋孵化出的雏鸡，为防止带毒母鸡所产雏鸡在出雏时水平感染的高风险，特使用一定的隔离措施，因此，在确保不影响雏鸡呼吸的情况下所用专用纸袋或专用纸盒封闭性越高越好。

(3) 本方法要求对鸡群逐只检测、检测结果与鸡只一一对应、淘汰阳性鸡。这种净化方法工作量太大，费用太高，检测周期太长，种鸡生产企业无法执行。费用低廉的快速检测技术在生产实践中才能推广应用。建议本方法可在原种场和曾祖代场试行。祖代场和父母代场因鸡群规模大数量多，本方法不具有可操作性。

采纳情况：本标准界定了用于实施净化的主要是或建议为种鸡核心群，因为从可操作性和性价比考虑对数量巨大的祖代及其以下鸡群实施禽白血病净化是不合算的，但同时安徽科技学院提出本标准所列净化检测规程适用于国家认定的种鸡标准品种的原种鸡群（或称核心群）净化，从源头净化和经济上考虑是对的，也是必须的，但从技术上来讲，为什么不能包括祖代、父母代、商品代等数量巨大的低代次鸡群？虽然从试剂材料、人员和技术条件等成本上考虑，越往上一代越佳也越高效节省，但至少从技术和综合成本上可以供其监测与净化的参照，以减少病原的散播与危害。因此，作为标准不应有这样的非技术性规定。为此标准

修改为：本标准所列净化检测规程适用于种鸡的原种鸡群（或称核心群）净化，从经济角度和实际生产可操作性方面考虑不建议对祖代、父母代、商品代等数量巨大的低代次鸡群实施净化，但祖代、父母代、商品代也可参照本净化检测规程实施净化。

**（4）建议加一条跟踪监测。从曾祖代到祖代鸡要逐只全程跟踪监测，特别是对进口种鸡雏进行严格检测，到父母代实行定期抽检。**

采纳情况：本标准所指的净化程序主要指从阳性鸡群通过检测淘汰成为阴性鸡群的过程，而意见所提出的跟踪检测属于综合防控的范畴，不予采纳。

**（5）取初产蛋 3 枚，表述上能否换成取开产后的前 3 枚蛋，更通俗易懂一些**

采纳情况：为使更加通俗易懂，已经按照提出意见修改为开产后的前 3 枚蛋。

**（6）对规范性引用文件，“病害动物和病害动物产品生物安全处理规程”可以不注日期，但对 GB/T 26436 和 NY/T 680，建议应予以注明版本时间，因其涉及到引用其特定的技术与方法，并与其后的具体检测项和附录相统一，但其在今后的新版本中未必存留或被替代。**

采纳情况：已注明规范性引用文件涉及相关标准的日期。

**（7）对选留的阴性雏鸡，以母鸡为单位，同一母鸡的雏鸡放于一个笼，建议用隔离器或隔离房间。**

采纳情况：尽管使用隔离器或隔离房间能够更好的阻止带毒的雏鸡通过水平传播传给其它的雏鸡，但这一措施在实际生产中不可行，对于数量如此巨大的母鸡所产的不同雏鸡，我们无法每只母鸡所产雏鸡使用一个单独的隔离器，更不可能每只母鸡所产雏鸡使用一个单独的隔离房间，所以本建议不予采纳。