



中华人民共和国国家标准

GB/T 27532—2011

犬瘟热诊断技术

Diagnostic techniques for canine distemper

2011-11-21 发布

2012-03-01 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 和附录 B 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(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:青岛农业大学动物科技学院、中华人民共和国上海出入境检验检疫局、中华人民共和国山东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:单虎、黄娟、熊炜、温建新、秦晓冰、朱来华、宫文妮、袁小远、孙园园、马晶。

犬瘟热诊断技术

1 范围

本标准规定了犬瘟热的临床诊断、犬瘟热病毒的病原分离、免疫酶检测、免疫组织化学检测、RT-PCR 检测的操作方法。

本标准适用于犬瘟热的鉴定及其流行病学调查、诊断和监测。其中病毒分离、免疫酶检测、免疫组织化学检测、RT-PCR 检测适用于犬瘟热的病原诊断。

2 试剂和材料

- 2.1 改良最低要素营养液(DMEM)培养基:配方参见附录 A。
- 2.2 非洲绿猴肾细胞(Vero 细胞)。
- 2.3 磷酸盐缓冲液(PBS):配制参见附录 A。
- 2.4 青霉素、链霉素:配方参见附录 A。
- 2.5 CDV 阳性血清:中和抗体效价 1 : 1 024。
- 2.6 CDV 阴性血清:无 CDV 感染的犬血清。
- 2.7 酶结合物:HRP 标记的葡萄球菌 A 蛋白(SPA)。
- 2.8 底物溶液:配制参见附录 A。
- 2.9 过氧化氢甲醇溶液:配制参见附录 A。
- 2.10 盐酸酒精溶液:配制参见附录 A。
- 2.11 胰蛋白酶溶液:配制参见附录 A。
- 2.12 Taq 酶及 10 倍 Taq 酶反应缓冲液:Taq 酶浓度为 5 U/ μ L, -20 °C 保存。
- 2.13 逆转录酶及 10 倍逆转录酶反应缓冲液:逆转录酶浓度为 50 U/ μ L, -20 °C 保存。
- 2.14 RNA 酶抑制剂(40 U/ μ L): -20 °C 保存。
- 2.15 dNTP:含 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 各 10 mmol/L, -20 °C 保存。
- 2.16 引物:浓度为 20 μ mol/L, 其序列如下:
上游引物(CDVF): 5' CGA GTC TTT GAG ATA GGG TT 3';
下游引物(CDVR): 5' CCT CCA AAG GGT TCC CAT GA 3'。
- 2.17 随机引物:含有 9 个碱基的随机序列引物,浓度为 50 μ mol/L, -20 °C 保存。
- 2.18 DEPC 水:自配(参见附录 A),或购买商品化 DEPC 水。
- 2.19 Trizol 试剂:4 °C 保存。
- 2.20 异丙醇:使用前预冷至 -20 °C。
- 2.21 75%乙醇:用新开启的无水乙醇和 DEPC 水配制,使用前预冷至 -20 °C。
- 2.22 1.5 mL 无 RNA 酶的 Eppendorf 管。
- 2.23 0.2 mL 无 RNA 酶的 PCR 薄壁管。

3 器材和设备

- 3.1 细胞培养瓶(中号瓶)。
- 3.2 二氧化碳培养箱。
- 3.3 恒温水浴箱(5 °C ~ 100 °C)。
- 3.4 普通光学显微镜。