



中华人民共和国国家标准

GB/T 27531—2011

病毒性脑病和视网膜病病原逆转录-聚合 酶链式反应(RT-PCR)检测方法

Protocol of reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)
for the pathogen of viral encephalopathy and retinopathy

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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
病毒性脑病和视网膜病病原逆转录-聚合
酶链式反应(RT-PCR)检测方法

GB/T 27531—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.gb168.cn

服务热线: 010-68522006

2012年2月第一版

*

书号: 155066·1-44037

版权专有 侵权必究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:刘荃、卢体康、何俊强、史秀杰、郑晓聪、贾鹏、叶奕优、杨锦舜。

病毒性脑病和视网膜病病原逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)检测方法

1 范围

本标准规定了病毒性脑病和视网膜病(viral encephalopathy and retinopathy, VER)病原分离和逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测方法。

本标准适用于 VER 病原的流行病学调查、诊断、检疫和监测。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 18088 出入境动物检疫采样

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CPE:细胞病变(cytopathic effect)

CTAB:十六烷基三甲基溴化铵(hexadecyl trimethyl ammonium bromide)

DEPC:焦碳酸乙二酯(diethylpyrocarbonate)

EB:溴化乙锭(ethidium bromide)

EDTA:乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid)

HEPES:羟乙基呱嗪乙硫磺酸[4-(2-hydroxyethyl) piperazine-1-erhanesulfonic acid]

RNA:核糖核酸(ribonucleic acid)

RNasin:核酸酶抑制剂(ribonuclease inhibitor)

VER:病毒性脑病和视网膜病(viral encephalopathy and retinopathy)

4 试剂和材料

4.1 水:符合 GB/T 6682 中一级水的规格,用 DEPC 处理以除掉 RNA 酶。

4.2 VERV 病毒参考株。

4.3 胰酶-EDTA 混合消化液(见附录 A 中 A.1)。

4.4 L-15 培养液(见附录 A 中 A.2)。

4.5 SSN-1 细胞系:用 L-15 培养液 25 °C 培养。

4.6 E-11 细胞系:用 L-15 培养液 25 °C 培养。

4.7 AMV 逆转录酶:20 U/ μ L, -20 °C 保存,不要反复冻融或温度剧烈变化。

4.8 RNasin:20 U/ μ L, -20 °C 保存,不要反复冻融或温度剧烈变化。

4.9 胰蛋白酶。