



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 25878—2010

---

## 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV)检测 PCR法

Polymerase chain reaction (PCR) method for infectious hypodermal and  
haematopoietic necrosis virus (IHHNV)

2011-01-10 发布

2011-06-01 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。

本标准由全国水产标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、农业部全国水产技术推广总站。

本标准主要起草人：黄捷、杨冰、朱泽闻、宋晓玲、孙喜模、赵红萍、刘莉。

# 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV)检测 PCR 法

**警告:**使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验,本标准并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关法规规定的条件。

## 1 范围

本标准规定了对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)聚合酶链式反应(PCR)检测方法的原理、所需试剂和材料、仪器和设备、操作步骤和结果判定。

本标准适用于对虾、环境生物、饵料生物和其他各种非生物样品中传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)的定性检测。不适用于对病毒量或感染活性的估测以及宿主感染程度的评估。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

SC/T 7202.1—2007 斑节对虾杆状病毒诊断规程 第1部分:压片显微镜检查法

SC/T 7202.2—2007 斑节对虾杆状病毒诊断规程 第2部分:PCR 检测法

## 3 原理

### 3.1 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒及其流行特征

传染性皮下及造血组织坏死病毒(infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus, IHHNV)粒子大小为20 nm~22 nm,是无囊膜二十面体,在氯化铯中的浮力密度为1.40 g/mL,含线状单链DNA,长度为4.1 kb,衣壳由4个分子质量分别为74 kD、47 kD、39 kD、37.5 kD的多肽组成。

IHHNV可感染世界各地的养殖对虾,其感染细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)会引起急性传染病和高死亡率(90%),稚虾受到的危害最严重。IHHNV感染凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)会引起慢性“矮小残缺综合症”(RDS),主要影响是患病对虾生长缓慢,畸形,受感染存活对虾终生带毒,通过垂直和水平传播。

### 3.2 技术原理

IHHNV的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是以IHHNV的一段389个碱基(b)长度的特异性DNA序列作为模板,以与模板两端序列互补的一对特异性寡核苷酸序列作为引物,在四种脱氧核糖核苷三磷酸存在下,利用依赖DNA的DNA聚合酶的合成作用,经过数十次变性、退火和延伸的反应循环,使模板上介于两个引物之间的DNA片段得到特异性地指数扩增,再通过电泳等手段检测到被特异性扩增的片段,从而揭示微量IHHNV DNA的存在。

## 4 试剂和材料

4.1 所需试剂除引物、阳性对照和阴性对照以外,按照SC/T 7202.2—2007中第5章的规定。

4.2 100 ng/ $\mu$ L引物F:5'-CGG-AAC-ACA-ACC-CGA-CTT-TA-3', -20℃保存。

4.3 100 ng/ $\mu$ L引物R:5'-GGC-CAA-GAC-CAA-AAT-ACG-AA-3', -20℃保存。

4.4 阳性对照为已知IHHNV阳性的组织样品的DNA模板, -20℃保存。