



中华人民共和国国家标准

GB/T 35806—2018

动物流感检测 H7N9 亚型流感病毒 双重荧光 RT-PCR 检测方法

Animal influenza detection—Protocol of duplex real-time RT-PCR
for influenza virus subtypes H7 and N9

2018-02-06 发布

2018-09-01 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
**动物流感检测 H7N9 亚型流感病毒
双重荧光 RT-PCR 检测方法**

GB/T 35806—2018

*

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(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.spc.org.cn

服务热线: 400-168-0010

2018年2月第一版

*

书号: 155066·1-59180

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。

本标准由农业部提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:北京出入境检验检疫局检验检疫技术中心、中国出入境检验检疫协会、中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:蒲静、高志强、汪琳、乔彩霞、张锡全、周琦、张鹤晓、张伟、尹羿、柏亚铎、刘艳华、刘环、王秀荣、包红梅、韩雪清、王慧煜。

动物流感检测 H7N9 亚型流感病毒 双重荧光 RT-PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了同时检测 H7 和 N9 亚型动物流感病毒核酸的 TaqMan 双重荧光 RT-PCR 操作方法。

本标准适用于 H7 和 N9 亚型动物流感病毒核酸的快速检测和筛查。

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 19438.1—2004 禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Ct(或 Cp)值:每个反应管内的荧光信号量达到设定的阈值所经历的循环数(Threshold Cycle, or Crossing Point)

DEPC:焦碳酸二乙酯(Diethylpyrocarbonate)

FAM:羧基荧光素(Carboxyfluorescein)

HA:血凝素(Hemagglutinin)

HEX:六氯-6-甲基荧光素(Hexachloro fluorescein)

MGB:小沟结合物(Minor Groove Binder)

NA:神经氨酸酶(Neuraminidase)

TAMRA:羧基四甲基罗丹明(Carboxytetramethylrhodamine)

荧光 RT-PCR:实时荧光反转录聚合酶链反应(Real-time RT-PCR)

4 试剂和材料

4.1 试剂

4.1.1 总则:除另有说明,所用试剂均为分析纯,所用液体试剂均需使用无 RNA 酶的容器进行分装。

4.1.2 TRIzol:2 ℃~25 ℃保存。

4.1.3 氯仿:2 ℃~8 ℃预冷。

4.1.4 异丙醇:-20 ℃预冷。

4.1.5 DEPC 水:配方见 A.1。