



中华人民共和国国家标准

GB/T 35900.2—2018

动物流感检测 第2部分：H3亚型流感 病毒核酸荧光 RT-PCR 检测方法

Animal influenza detection—Part 2: Method of real-time RT-PCR for
the detection of H3 subtype influenza virus

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 第2部分：H3亚型流感
病毒核酸荧光 RT-PCR 检测方法**

GB/T 35900.2—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：155066·1-59534

版权专有 侵权必究

前 言

GB/T 35900《动物流感检测》目前分为 3 个部分：

——第 1 部分：H1 亚型流感病毒核酸荧光 RT-PCR 检测方法；

——第 2 部分：H3 亚型流感病毒核酸荧光 RT-PCR 检测方法；

——第 3 部分：H1 和 H3 亚型流感病毒核酸双重荧光 RT-PCR 检测方法。

本部分为 GB/T 35900 的第 2 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本部分起草单位：中华人民共和国北京出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：刘环、乔彩霞、蒲静、张伟、高志强、谷强、张鹤晓、张利峰、韩晶。

引 言

本文件的发布机构提请注意,声明符合本文件时,可能涉及到本文件 4.1.8 与“检测 H1 和 H3 亚型流感病毒的核苷酸序列和试剂盒”相关的专利的使用。

本文件的发布机构对于该专利的真实性、有效性和范围无任何立场。

该专利持有人已向本文件的发布机构保证,他愿意向任何申请人在合理且无歧视的条款和条件下,就专利授权许可进行谈判。该专利持有人的声明已在本文件的发布机构备案。相关信息可以通过以下联系方式获得:

专利持有人:中华人民共和国北京出入境检验检疫局。

地址:北京市朝阳区甜水园街 6 号。

请注意除上述专利外,本文件的某些内容仍可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

动物流感检测 第2部分:H3亚型流感病毒核酸荧光 RT-PCR 检测方法

1 范围

GB/T 35900 的本部分规定了 H3 亚型流感病毒核酸的荧光 RT-PCR 操作方法。
本部分适用于禽、猪和马及其产品中 H3 亚型流感病毒核酸的检测。

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 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。

荧光 RT-PCR 实时荧光反转录聚合酶链反应(real-time reverse transcript polymerase chain reaction)

C_t (或 C_p)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(cycle threshold, or crossing point)

cRNA 互补 RNA(complement RNA)

DEPC 焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate)

FAM 羧基荧光素(carboxy fluorescein)

MGB 小沟结合物(minor groove binder)

PBS 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline)

RNA 核糖核酸(ribonucleic acid)

4 试剂和材料

4.1 试剂

4.1.1 总则:除非另有说明,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:见附录 A 中 A.1。

4.1.6 75 %乙醇:用新开启的无水乙醇和 DEPC 水配制,-20 ℃预冷。