

中华人民共和国国家标准

GB/T 27621-2011

马鼻肺炎病毒 PCR 检测方法

Protocol of PCR for equine rhinopneumonitis virus

2011-12-30 发布 2012-04-01 实施

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:新疆农业大学。
- 本标准主要起草人:冉多良、单文鲁、马伟、王传锋、张伟。

马鼻肺炎病毒 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了马鼻肺炎病毒的 PCR 检测方法。

本标准适用于马匹的流通和进出境检疫实施马鼻肺炎的现场检疫和后续监管工作。一步法 PCR 检测技术适用于实验室细胞毒样品检测;巢式 PCR 检测技术适用于临床疑似样品及细胞毒样品检测。

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

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

EHV: equine rhinopneumonitis,马传染性鼻肺炎。

RNA: ribonucleic acid,核糖核酸。

CPE:cytopathic effect,细胞病变。

EB:ethidium bromide, 溴化乙锭。

EDTA: ethylene diaminetetraacetic acid, 乙二胺四乙酸。

SDS: sodium dodecyl sulfate,十二烷基磺酸钠。

BHK-21:baby hamster kidney cell,仓鼠幼肾细胞。

PBS:phosphate buffer sodium,磷酸盐缓冲液。

4 试剂和材料(试剂不经注明,均为分析纯)

- 4.1 水:符合 GB/T 6682 中一级水的规格。
- 4.2 RNA酶A。
- 4.3 酚-三氯甲烷。
- 4.4 2%琼脂糖凝胶:见 A.1。
- 4.5 溴化乙锭(10 μg/μL):见 A.2。
- 4.6 DNA 聚合酶(5 U/μL)。
- 4.7 50×TAE 电泳缓冲液(pH 8.5):见 A.3。
- **4.8** $10 \times PCR$ Buffer (plus Mg^{2+}).
- **4.9** 2.5 mmol/mL dNTP.
- 4.10 蛋白酶 K(20 mg/mL)。
- 4.11 BHK-21细胞。
- 4.12 含 2% 犊牛血清的 MEM 维持液。