



中华人民共和国国家标准

GB/T 22915—2008

口蹄疫病毒荧光 RT-PCR 检测方法

Protocol of universal fluorogenic RT-PCR for foot and mouth disease virus

2008-12-31 发布

2009-05-01 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
口 蹄 疫 病 毒 荧 光 RT-PCR 检 测 方 法
GB/T 22915—2008

*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行
北 京 复 兴 门 外 三 里 河 北 街 16 号
邮 政 编 码 : 100045

网 址 www.spc.net.cn

电 话 : 68523946 68517548

中 国 标 准 出 版 社 秦 皇 岛 印 刷 厂 印 刷
各 地 新 华 书 店 经 销

*

开 本 880×1230 1/16 印 张 0.75 字 数 16 千 字
2009 年 4 月 第 一 版 2009 年 4 月 第 一 次 印 刷

*

书 号 : 155066 · 1-36447

如 有 印 装 差 错 由 本 社 发 行 中 心 调 换
版 权 专 有 侵 权 必 究
举 报 电 话 : (010)68533533

前 言

本标准参考了世界动物卫生组织(OIE)《陆生动物诊断试验和疫苗手册(哺乳动物、禽鸟与蜜蜂)》(第5版)。

本标准的附录 A、附录 C 为规范性附录,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。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国云南出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:花群义、杨云庆、秦智锋、周晓黎、卢体康、董俊、陶虹、阮周曦、叶弈优、林祥梅、吴绍强。

口蹄疫病毒荧光 RT-PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了口蹄疫病毒荧光 RT-PCR 检测的操作方法。
本标准适用于动物及其动物产品中口蹄疫病毒的检测。

2 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

2.1 荧光 RT-PCR

荧光反转录-聚合酶链反应。

2.2 Ct 值

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

2.3 RNA

核糖核酸。

2.4 DEPC

焦碳酸磷酯。

2.5 PBS

磷酸盐缓冲盐水,配方见附录 A。

2.6 Taq 酶

TaqDNA 聚合酶。

2.7 FMDV

口蹄疫病毒。

3 原理

根据口蹄疫病毒各型共有的基因特定序列的保守片段,合成一对通用的特异性引物和一条通用的特异性探针。荧光探针的 5'端标记 FAM 荧光素,3'端标记 TAMRA 荧光素,3'端的淬灭基团在近距离内能吸收 5'端报告荧光基团发出的荧光信号。但在扩增时,由于 Taq 酶的 5'→3'的外切活性,在延伸到荧光探针时,将其切断,两基团分离,淬灭作用消失,荧光信号产生。因此,可以通过检测荧光信号对核酸模板进行检测。

4 材料与试剂

4.1 仪器与器材

4.1.1 荧光 RT-PCR 检测仪。

4.1.2 高速台式冷冻离心机(离心速度 12 000 r/min 以上)。

4.1.3 台式离心机(离心速度 3 000 r/min)。

4.1.4 混匀器。

4.1.5 冰箱(2 ℃~8 ℃和-20 ℃两种)。

4.1.6 微量可调移液器(5 μL,10 μL,100 μL,1 000 μL)及配套带滤芯吸头。

4.1.7 Eppendorf 管(1.5 mL)、透明薄壁 PCR 管(0.2 mL)。