



中华人民共和国国家标准

GB/T 15805.2—2008
部分代替 GB/T 15805.1—1995

鱼类检疫方法 第 2 部分：传染性造血器官坏死病毒 (IHNV)

Quarantine methods of fish—
Part 2: Infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV)

2008-07-31 发布

2008-11-01 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

GB/T 15805《鱼类检疫方法》分为下列部分：

- 第 1 部分：传染性胰脏坏死病毒(IPNV)；
- 第 2 部分：传染性造血器官坏死病毒(IHNV)；
- 第 3 部分：病毒性出血性败血症病毒(VHSV)；
- 第 4 部分：斑点叉尾鲷病毒(CCV)；
- 第 5 部分：鲤春病毒血症病毒(SVCV)；
- 第 6 部分：杀鲑气单胞菌；
- 第 7 部分：脑粘体虫；

.....

本部分为 GB/T 15805 的第 2 部分。

本部分代替 GB/T 15805.1—1995《淡水鱼类检疫方法 第一部分》中的第 4 章。

本部分与 GB/T 15805.1—1995 的第 4 章相比主要变化如下：

- 增加了用 PCR 方法鉴定 IHNV；
- 增加了资料性附录“IHNV 病毒 N 基因的全序列(1 176 bp)”；
- 结构格式按 GB/T 1.1—2000 的规定，作为部分编写。

本部分的附录 A 为规范性附录，附录 B 为资料性附录。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国水产标准化技术委员会归口。

本部分起草单位：农业部全国水产技术推广总站、中华人民共和国深圳出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：孙喜模、江育林、陈爱平、陈辉、朱泽闻。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 15805.1—1995。

鱼类检疫方法

第 2 部分：传染性造血器官坏死病毒 (IHNV)

1 范围

GB/T 15805 的本部分规定了用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测传染性造血器官坏死病毒(IHNV)的方法。

本部分适用于 IHNV 的分离与鉴定, IHN 的流行病学调查、诊断、疫情监测, 以及口岸出入境、国内跨区域移动的检疫。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 15805 的本部分的引用而成为本部分的条款。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部分, 然而, 鼓励根据本部分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部分。

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法(neq ISO 3696:1987)

GB/T 18088—2000 出入境动物检疫采样

3 试剂和材料

- 3.1 IHNV 参考毒株: 由农业部指定的动物病原微生物菌(毒)种保藏机构提供。
- 3.2 水: GB/T 6682—1992, 一级, 并用焦碳酸二乙酯(DEPC)处理, 除去 DNA 和 RNA 酶。
- 3.3 Taq 酶: $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 不要反复冻融或温度剧烈变化。
- 3.4 逆转录酶 AMV: $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 不要反复冻融或温度剧烈变化。
- 3.5 RNA 酶抑制剂(Rnase): $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 不要反复冻融或温度剧烈变化。
- 3.6 dNTP(含 dCTP、dGTP、dATP、dTTP 各 10 mmol/L)。
- 3.7 引物: 所选取的基因为 IHNV 的 N 基因中的片段, 两对引物, 浓度为 $40\text{ }\mu\text{mol/L}$, F1 和 R1 扩增该基因中的 786 bp 片断, 而 F2 和 R2 则从 786 bp 片断中再扩增 323 bp 片断。
上游引物 F1: 5'-TCA-AGG-GGG-GAG-TCC-TCG-A-3';
下游引物 R1: 5'-CAC-CGT-ACT-TTG-CTG-CTA-C-3';
上游引物 F2: 5'-TTC-GCA-GAT-CCC-AAC-AAC-AA-3';
下游引物 R2: 5'-GCG-CAC-AGT-GCC-TTG-GCT-3'。
- 3.8 无水乙醇: 分析纯, 使用前预冷到 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.9 矿物油: 分析纯。
- 3.10 溴酚蓝。

4 仪器和设备

- 4.1 PCR 扩增仪。
- 4.2 电泳仪。
- 4.3 紫外透射仪。
- 4.4 普通冰箱。