



中华人民共和国国家标准

GB/T 36789—2018

动物狂犬病病毒核酸检测方法

Nucleic acid detection of animal rabies virus

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

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农村部提出。

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:军事医学科学院军事兽医研究所。

本标准主要起草人:冯焯、郭焕成、许运斌、江禹、涂长春。

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 4.4 与套式 RT-PCR 检测方法相关的专利的使用。

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,他愿意同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:

专利持有人姓名:江禹、涂长春

地址:吉林省长春市净月经济开发区柳莺西路 666 号军事医学科学院军事兽医研究所

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。

动物狂犬病病毒核酸检测方法

1 范围

本标准规定了检测动物狂犬病病毒核酸的套式 RT-PCR 和荧光定量 RT-PCR 方法。

本标准适用于临床疑似狂犬病病毒感染动物脑组织、脊髓、脑脊液、唾液腺、唾液以及狂犬病病毒细胞培养物中病毒核酸的检测(参见附录 A)。

2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

RT-PCR: 反转录-聚合酶链式反应(Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction)

DNA: 脱氧核糖核酸(Deoxyribonucleic Acid)

RNA: 核糖核酸(Ribonucleic Acid)

DEPC: 焦碳酸乙二酯(Diethylpyocarbonate)

PBS: 磷酸盐缓冲液(Phosphate Buffer Solution)

Ct 值: 达到阈值的循环数(Cycle Threshold)

EDTA: 乙二胺四乙酸(Ethylene Diaminetetraacetic Acid)

dNTP: 三磷酸脱氧核糖核苷(Deoxy-Ribonucleoside Triphosphate)

Taq 酶: 耐热 DNA 聚合酶(Thermus Aquaticus Polymerase)

3 器材和试剂

3.1 器材

3.1.1 仪器

II 级生物安全柜、4 ℃离心机、冰箱(-20 ℃)、冰柜(4 ℃)、分析天平、PCR 扩增仪、荧光定量 PCR 扩增仪、电泳仪、电泳槽、紫外凝胶成像仪(或紫外分析仪)、微波炉、震荡混匀器、组织研磨器、单道可调移液器(10 μL、200 μL、1 000 μL)。

3.1.2 耗材

手术剪、医用镊子、称量纸、棉签、琼脂糖、量筒(500 mL)、锥形瓶(500 mL)、一次性无 RNase 枪头(10 μL、200 μL、1 000 μL)、无 RNase 离心管(1.5 mL)、与荧光定量 PCR 扩增仪配套的 PCR 管(0.2 mL)、组织研磨棒。

3.2 试剂

3.2.1 总 RNA 提取试剂。

3.2.2 磷酸盐缓冲液(1 mol/L PBS, pH 7.4)。配制方法见附录 B。

3.2.3 TAE 电泳缓冲液。配制方法见附录 B。

3.2.4 其他试剂: 200 IU/μL 反转录酶、10×反转录酶缓冲液、40 U/μL RNA 酶抑制剂、5 IU Taq 酶、