

GB/T 27644—2011

C.3.2.2 在整个本区的实验操作过程中,操作者应戴手套。工作结束后应立即对工作区进行清洁。本工作区的实验台表面应可耐受诸如次氯酸钠等的化学物质的消毒清洁作用。

C.3.3 检测区

C.3.3.1 在本区进行荧光 PCR 检测。

C.3.3.2 PCR 扩增产物不能在本实验室开盖,PCR 管应抛弃在远离本实验室的垃圾箱中。

C.3.3.3 实验完成后采用紫外灯对实验室进行充分照射。

GB/T 27644—2011

ICS 11.220  
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 27644—2011

## 禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测方法

Protocol of real-time PCR for detecting Gallid Hepers Virus 2



GB/T 27644—2011

版权专有 侵权必究

\*

书号:155066·1-44332

定价: 16.00 元

2011-12-30 发布

2012-04-01 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

## 附录 C

(规范性附录)

## 禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测方法的实验室规范

## C.1 实验室设置要求

- C.1.1 实验室分为三个相对独立的工作区域:样本制备区、PCR 反应混合物配制区和检测区,并且明确标识。
- C.1.2 每一区域须有专用的仪器设备,并且明确标识。
- C.1.3 进入各个工作区域严格遵循单一方向顺序,即只能从样本制备区、PCR 反应混合物配制区至检测区。
- C.1.4 在不同的工作区域应使用不同颜色或有明显区别标志的工作服,工作服不能穿离各特定区域。
- C.1.5 实验室清洁时应按 PCR 反应混合物配制区、样本制备区至检测区的顺序进行。
- C.1.6 不同的实验区域应有其各自的清洁用具以防止交叉污染。

## C.2 工作区域仪器设备配置

## C.2.1 样本制备区仪器设备配置

2℃~8℃冰箱;—20℃冰箱,—80℃超低温冰箱;冰冻台式离心机( $\geq 12\,000$  r/min);混匀器;微量加样器(0.5  $\mu\text{L}$ ~10  $\mu\text{L}$ ,5  $\mu\text{L}$ ~20  $\mu\text{L}$ ,20  $\mu\text{L}$ ~200  $\mu\text{L}$ ,200  $\mu\text{L}$ ~1 000  $\mu\text{L}$ );可移动紫外灯。

## C.2.2 PCR 反应混合物配制区仪器设备配置

2℃~8℃冰箱;—20℃冰箱;台式离心机( $\geq 3\,000$  r/min);混匀器;微量加样器(0.5  $\mu\text{L}$ ~10  $\mu\text{L}$ ,5  $\mu\text{L}$ ~20  $\mu\text{L}$ ,20  $\mu\text{L}$ ~200  $\mu\text{L}$ ,200  $\mu\text{L}$ ~1 000  $\mu\text{L}$ );可移动紫外灯。

## C.2.3 检测区仪器设备配置

荧光 PCR 仪;可移动紫外灯;打印机。

## C.3 各工作区域功能及注意事项

## C.3.1 样本制备区

- C.3.1.1 标本的保存,核酸提取、贮存及其加入至扩增反应管在样本制备区进行。
- C.3.1.2 可在本区内设立正压条件以避免邻近区的气溶胶进入本区造成污染。
- C.3.1.3 用过的加样器吸头应放入专门的消毒(例如含次氯酸钠溶液)容器内。实验室桌椅表面每次工作后都要清洁,实验材料(原始样本、提取过程中样本与试剂的混合液等)如出现外溅,应作清洁处理并作出记录。
- C.3.1.4 对实验台适当的紫外照射(254 nm 波长,与工作台面近距离)可以帮助灭活病毒和消除核酸的污染。工作后通过移动紫外线灯管来确保对实验台面的充分照射。

## C.3.2 PCR 反应混合物配制区

- C.3.2.1 试剂的分装和反应混合液的制备在本区进行。

中华人民共和国  
国家标准  
禽疱疹病毒 2 型荧光 PCR 检测方法  
GB/T 27644—2011

\*

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(100013)  
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn  
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235  
读者服务部:(010)68523946

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 17 千字  
2012 年 3 月第一版 2012 年 3 月第一次印刷

\*

书号:155066·1-44332 定价 16.00 元

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)68510107

附录 B  
(规范性附录)  
试剂的配制

B.1 1%肝素钠

称取肝素钠 1.0 g,溶于三蒸水中,定容至 100 mL,0.22 μm 过滤除菌,4℃保存。

B.2 磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L PBS, pH7.2)

先配制 A 液、B 液:

A 液 (0.2 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  溶液):

称取一水合磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) 27.6 g,或二水合磷酸二氢钠 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 31.2 g,溶于蒸馏水中,定容至 1 000 mL。

B 液 (0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  溶液):

称取十二水合磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) 71.6 g,或二水合磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 35.6 g,溶于蒸馏水中,定容至 1 000 mL。

称取 8.5 g 氯化钠,用适量蒸馏水溶解,量取 14 mL A 液和 B 液 36 mL,调节 pH 值至 7.2,用蒸馏水定容至 1 L。

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 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:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、扬州大学、河南农业大学。

本标准主要起草人:詹爱军、刘文博、王新卫、卢体康、花群义、陈书琨、秦智锋、陈兵、高小博。