

ICS 11.220
B 41



中华人民共和国国家标准

GB/T 27982—2011

GB/T 27982—2011

小反刍兽疫诊断技术

Diagnostic techniques for peste des petits ruminants

中华人民共和国
国家标准
小反刍兽疫诊断技术
GB/T 27982—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

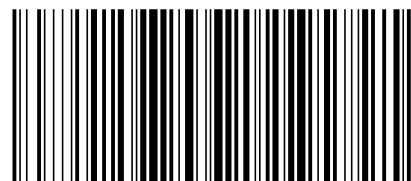
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 21 千字
2012年4月第一版 2012年4月第一次印刷

*

书号: 155066·1-44356 定价 18.00 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



GB/T 27982-2011

2011-12-30 发布

2012-06-01 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)

竞争酶联免疫吸附试验溶液的配制

C.1 包被缓冲液——0.05 mol/L pH9.6 碳酸盐/重碳酸盐缓冲液

Na ₂ CO ₃	0.318 g
NaHCO ₃	0.588 g
去离子水	200 mL

用 0.22 μm 膜过滤除菌,室温保存备用。

C.2 洗涤缓冲液——pH7.4 PBST (0.05%吐温-20)

吐温-20	0.5 mL
pH7.4 PBS	1 000 mL

C.3 封闭缓冲液(含 3%BSA 的 pH7.4 PBS)

BSA	30 g
pH7.4 PBS	1 000 mL

封闭液要临用前配制。

C.4 底物溶液

C.4.1 A 液

Na ₂ HPO ₄	3.682 g
柠檬酸	1.021 g
过氧化氢尿素	0.06 g
去离子水	100 mL

临用前配制,避光 4℃~8℃保存。

C.4.2 B 液

柠檬酸	1.05 g
EDTA	14.6 mg
TMB (3,3'-二氨基联苯胺)	25.0 mg
去离子水	100 mL

用 0.45 μm 滤膜过滤,临用前配制,避光 4℃保存。

C.4.3 用法

使用时,将 A 液、B 液按 1:1 的比例混合。

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:农业部热带亚热带动物病毒学重点实验室、中国动物卫生与流行病学中心、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人:包静月、吴晓东、王志亮、李林、刘春菊、王清华、赵文姬、邹艳丽、郑东霞、徐天刚、李金明、姚李四、张乐、林祥梅、吴绍强、韩雪清。

附 录 A
(规范性附录)
病毒分离鉴定溶液的配制

A.1 pH7.4 磷酸盐缓冲液(PBS)

NaCl	8.00 g
KCl	0.20 g
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	1.44 g
KH ₂ PO ₄	0.24 g

用 HCl 调节溶液的 pH 值至 7.4, 加去离子水至 1 000 mL, 在 1.034×10^5 Pa 高压下蒸汽灭菌 20 min。保存于室温。PBS 一经使用, 于 4 °C 保存不超过 3 周。

A.2 高糖型 DMEM 培养液

高糖型 DMEM	13.37 g
碳酸氢钠(NaHCO ₃)	3.7 g
超纯水	1 000 mL

充分溶解后, 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌。4 °C 保存。

A.3 细胞培养液

高糖型 DMEM 培养液	950 mL
胎牛血清	50 mL

加入青霉素至终浓度 200 IU/mL, 链霉素至终浓度 200 μg/mL, 两性霉素 B 至终浓度 2.5 μg/mL 充分混匀。4 °C 保存。

小反刍兽疫诊断技术

1 范围

本标准规定了小反刍兽疫的临床诊断和实验室诊断的技术要求。
本标准适用于小反刍兽疫的诊断。

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
GB 19489—2008 实验室 生物安全通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

荧光定量反转录-聚合酶链式反应 **real time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction**

荧光定量 RT-PCR 反应

在 RT-PCR 反应体系中加入荧光基团, 利用荧光信号积累实时监测整个 RT-PCR 进程, 最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。

3.2

荧光阈值 **threshold**

荧光定量 RT-PCR 反应的前 15 个循环的荧光信号作为荧光本底信号, 荧光阈值的缺省设置是 3 个~15 个循环的荧光信号的标准偏差的 10 倍。

3.3

Ct 值 **Ct value**

每个反应管内的荧光信号到达设定的荧光阈值时所经历的循环数。

4 生物安全措施

进行小反刍兽疫实验室检测时, 如病毒分离、血清处理等, 按照 GB 19489—2008。

5 临床诊断

5.1 临床症状

5.1.1 突然发热, 第 2 天~第 3 天体温达 40 °C~42 °C 高峰。发热持续 3 d 左右, 病羊死亡多集中在发热后期。