



中华人民共和国国家标准

GB/T 15805.5—2008
部分代替 GB/T 15805.1—1995

GB/T 15805.5—2008

鱼类检疫方法 第 5 部分：鲤春病毒血症病毒(SVCoV)

Quarantine methods of fish—
Part 5: Spring viraemia of carp virus(SVCoV)

中华人民共和国
国家标准
鱼类检疫方法
第 5 部分：鲤春病毒血症病毒(SVCoV)
GB/T 15805.5—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 12 千字
2008 年 10 月第一版 2008 年 10 月第一次印刷

*
书号：155066·1-34024 定价 14.00 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)68533533



GB/T 15805.5—2008

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 5 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 7 章。

本部分与 GB/T 15805.1—1995 的第 7 章相比主要变化如下：

- 删除了临床检查；
- 改用 PCR 方法代替中和试验鉴定 SVCV；
- 增加资料性附录 B“SVC 病毒 G 基因的全序列(1588 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。

附录 A
(规范性附录)
试剂配制

标准中所有试剂,除特别注明外,全部采用分析纯的试剂。

A.1 CTAB 溶液

按 CTAB(hexadecyl trimethyl ammonium bromide)2%,氯化钠(NaCl) 1.4 mol/L,EDTA 20 mmol/L, Tris-HCl 20 mmol/L pH=7.5 配制。用前加巯基乙醇至终浓度为 0.25%。

A.2 抽提液 1

将三氯甲烷:异戊醇按 24:1 的比例混合,密闭避光保存。

A.3 抽提液 2

1 mol/L Tris 水溶液饱和的酚:三氯甲烷:异戊醇=25:24:1 混合,密闭避光保存。

A.4 TBE 电泳缓冲液(5 倍浓缩液)

Tris	54 g
硼酸(HBO ₃)	27.5 g
EDTA	2.922 g
水	1 000 mL

用 5 mol/L 的盐酸(HCl)调到 pH 8.0

A.5 逆转录酶 AMV 的 5 倍浓缩缓冲液

Tris-HCl	250 mmol/L, pH 8.3
氯化钾(KCl)	250 mmol/L
氯化镁(MgCl ₂)	50 mmol/L
DTT	50 mmol/L

A.6 氯化镁(MgCl₂)溶液

浓度为 25 mmol/L。

A.7 Taq 酶用 10 倍浓缩缓冲液

Tris-HCl	500 mmol/L, pH 8.8
氯化钾(KCl)	500 mmol/L
Triton X-100	1%

A.8 EB(ethidium bromide, 核酸染色剂)

用水配制成 10 mg/mL 的浓缩液。用时每 10 mL 电泳液或琼脂中加 1 μL。

A.9 样品缓冲液

每 100 mL 水溶液中含:溴酚蓝 0.25 g,蔗糖 40 g。

A.10 细胞培养液

TC199 培养基,按说明书的要求配制。然后加入 10%的胎牛血清,抽滤除菌,-20 °C 保存。

鱼类检疫方法

第 5 部分:鲤春病毒血症病毒(SVCV)

1 范围

GB/T 15805 的本部分规定了细胞分离病毒后,用 RT-PCR 技术检测 SVCV 的方法。

本部分适用于 SVCV 的分离和鉴定,SVC 的流行病学调查、诊断,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 水:GB/T 6682—1992,一级。用于 RT-PCR(包括核酸抽提)时所用的水要用焦碳酸二乙脂(DEPC)处理以除掉 RNA 酶。

3.2 SVCV 参考株:由农业部指定的动物病原微生物菌(毒)种保藏机构提供。

3.3 Taq 酶:-20 °C 保存,不要反复冻融或温度剧烈变化。

3.4 逆转录酶 AMV:10 U/mL。-20 °C 保存,不要反复冻融或温度剧烈变化。

3.5 RNA 抑制剂(RNasin):40 U/μL。-20 °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:该试验选用 SVCV 的糖蛋白基因作为 PCR 的模板。该基因长 1 588 bp,在这里用了两对引物:F1 和 R2 扩增该基因中的 714 bp 片断,而 F1 和 R4 则从该片断中再扩增 606 bp 片断。所以实际上是“半套式”的 PCR(semi-nested PCR)。使用时浓度为 40 μmol/L。其序列如下:

R2: 5'-AGA TGG TAT GGA CCC CAA TAC ATH ACN CAY-3'。

R4: 5'-CTG GGG TTT CCN CCT CAA AGY TGY-3'。

F1: 5'-TCT TGG AGC CAA ATA GCT CAR RTC-3'。

3.8 无水乙醇:分析纯,使用前预冷到-20 °C。

3.9 矿物油:要求无 DNA 酶和 RNA 酶。

3.10 DNA 分子质量标准(Marker)。

4 器材和设备

4.1 96 孔细胞培养板。

4.2 倒置显微镜。

4.3 恒温培养箱。

4.4 普通冰箱和低温冰箱。