

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4055—2014
代替 SN/T 1635—2005

贝类中诺如病毒检测方法 普通 RT-PCR 方法和实 时荧光 RT-PCR 方法

Detection method of norovirus in shellfish—
Conventional RT-PCR and real-time RT-PCR

2014-11-19 发布

2015-05-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 发 布
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 SN/T 1635—2005《贝类中诺沃克病毒检测方法 普通 RT-PCR 方法和实时荧光 RT-PCR 方法》。

本标准与 SN/T 1635—2005 相比,主要技术变化如下:

- 修改了标准的中文名称;
- 修改了病毒名称,即由诺沃克病毒修改为诺如病毒。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国广西出入境检验检疫局、中华人民共和国上海出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:刘军义、潘良文、李想、吕蓉、韦梅良、陈立军、罗兆飞。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- SN/T 1635—2005。

贝类中诺如病毒检测方法

普通 RT-PCR 方法和实 时荧光 RT-PCR 方法

1 范围

本标准规定了贝类中诺如病毒普通 RT-PCR 和实时荧光 RT-PCR 检测方法。
本标准适用于贝类中诺如病毒的检测。

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 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实时荧光 RT-PCR real-time fluorescence RT-PCR

实时荧光 RT-PCR 方法是在常规 RT-PCR 的基础上,加入了一条特异性的荧光探针。该探针为一寡核苷酸,两端分别标记一个报告基团和一个淬灭荧光基团。探针完整时,报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收;PCR 扩增时,*Taq* 酶的 5'-3' 外切酶活性将探针酶切降解,使报告基团和淬灭荧光基团分离,从而荧光监测系统可接收到荧光信号,即每扩增一条 DNA 链,就有一个荧光分子形成,实现了荧光信号的累积与 PCR 产物形成完全同步。

3.2

Ct 值 cycle threshold

每个反应管内的荧光信号达到设定的域值时所经历的循环数。

4 试剂

所有实验用试剂均为分析纯;除特别说明外,实验用水为蒸馏水或去离子水。

- 4.1 诺如病毒阳性标本:由国家质量监督检验检疫总局指定单位提供。-80℃低温冰箱保存。
- 4.2 甘氨酸缓冲液:见 A.1.1。
- 4.3 PEG 8000 溶液:见 A.1.2。
- 4.4 50×TAE 缓冲液:见 A.1.3。
- 4.5 溴化乙锭溶液(10 μg/μL):见 A.1.4。
- 4.6 含 0.5 μg/mL 溴化乙锭的 1.5%琼脂糖凝胶:见 A.1.5。
- 4.7 10×加样缓冲液:见 A.1.6。