

# SN

## 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1686—2005

SN/T 1686—2005

### 新城疫病毒中强毒株检测方法 荧光 RT-PCR 法

Detection of mesogenic and velogenic strains of newcastle disease virus—  
Method of the real-time RT-PCR

中华人民共和国出入境检验检疫  
行业标准  
新城疫病毒中强毒株检测方法  
荧光 RT-PCR 法  
SN/T 1686—2005

\*

中国标准出版社出版  
北京复兴门外三里河北街 16 号  
邮政编码:100045

网址 [www.bzchs.com](http://www.bzchs.com)

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

\*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字

2006 年 1 月第一版 2006 年 1 月第一次印刷

印数 1—2 000

\*

书号: 155066·2-16610 定价 8.00 元



SN/T 1686-2005

2005-09-30 发布

2006-05-01 实施

中华人民共和国  
国家质量监督检验检疫总局 发布

**附 录 B**  
(资料性附录)

**中强毒株新城疫病毒荧光 RT-PCR 试剂盒组成、说明及使用时的注意事项**

**B.1 试剂盒的组成**

试剂盒的组成见表 B.1。

**表 B.1 试剂盒组成**

组成(48 tests/盒)	数 量
裂解液	30 mL×1 盒
中强毒株新城疫病毒荧光 RT-PCR 反应液	750 $\mu$ L×1 管
RT-PCR 酶颗粒(带盖 PCR 反应管装)	1 颗/管×12 管
<i>Taq</i> 酶/(5 U/ $\mu$ L)	12 $\mu$ L×1 管
DEPC 水	1 mL×1 管
阴性对照	1 mL×1 管
阳性对照(非感染体外转录 RNA)	1 mL×1 管

**B.2 说明**

**B.2.1** 裂解液的主要成分为异硫氰酸胍和酚,为 RNA 提取试剂,外观为红色,于 4℃ 保存。

**B.2.2** DEPC 水,是用 1%DEPC 处理后的去离子水,用于溶解 RNA。

**B.2.3** RT-PCR 反应液中含有特异性引物、探针及各种离子。

**B.3 使用时的注意事项**

**B.3.1** 由于阳性样品中模板浓度相对较高,检测过程中不得交叉污染。

**B.3.2** 反应液分装时应尽量避免产生气泡,上机前注意检查各反应管是否盖紧,以免荧光物质泄漏污染仪器。

**B.3.3** RT-PCR 酶颗粒极易吸潮失活,RT-PCR 酶在室温条件下必须置于干燥器内保存,使用时取出所需数量,剩余部分立即放回干燥器中。

**B.3.4** 除裂解液外,其他试剂-20℃ 保存。有效期为 6 个月。

## 前 言

本标准的附录 A 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。

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:中华人民共和国北京出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:张鹤晓、刘环、高志强、张利峰、谷强、王甲正。

本标准系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

### 9.3 结果描述及判定

#### 9.3.1 阴性

无 Ct 值并且无扩增曲线,表明样品中无中强毒株新城疫病毒。

#### 9.3.2 阳性

Ct 值 $\leq$ 30.0,且出现特定的扩增曲线,表示样本中存在中强毒株新城疫病毒。

## 新城疫病毒中强毒株检测方法 荧光 RT-PCR 法

### 1 范围

本标准规定了新城疫病毒中强毒株 TaqMan 实时荧光 RT-PCR 检测方法。

本标准适用于禽类及其产品新城疫病毒中强毒株的检测。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。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标准,然而,鼓励根据本标准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标准。

GB/T 19438.1—2004 禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法

### 3 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

- 3.1 荧光 RT-PCR 荧光反转录-聚合酶链反应。
- 3.2 Ct 值 每个反应管内的荧光信号量达到设定的阈值时所经历的循环圈数。
- 3.3 RNA 核糖核酸。
- 3.4 Taq 酶 Taq DNA 聚合酶。
- 3.5 PBS 磷酸盐缓冲生理盐水。
- 3.6 DEPC 焦碳酸乙二酯。

### 4 原理

采用 TaqMan 方法,在比对新城疫病毒 F 基因序列的基础上,设计针对 F 基因的特异性引物和特异性的荧光双标记探针进行配对。探针 5'端标记 FAM 荧光素为报告荧光基团(用 R 表示),3'端标记 TAMPA 荧光素为淬灭荧光基团(用 Q 表示),它在近距离内能吸收 5'端荧光基团发出的荧光信号。PCR 反应进入退火阶段时,引物和探针同时与目的基因片段结合,此时探针上 R 基团发出的荧光信号被 Q 基团所吸收,仪器检测不到荧光信号;而反应进行到延伸阶段时,Taq 酶的 5'→3'的外切核酸酶功能将探针降解。这样探针上的 R 基团游离出来,所发出的荧光不再为 Q 所吸收而被检测仪所接收。随着 PCR 反应的循环进行,PCR 产物与荧光信号的增长呈现对应关系。

### 5 检测实验室的设置与管理

中强毒株新城疫病毒荧光 RT-PCR 检测实验室的标准化设置与管理见 GB/T 19438.1—2004 附录 C。

### 6 试剂和仪器

#### 6.1 试剂

除另有说明,所用试剂均为分析纯;所有试剂均用无 RNA 酶的容器分装。