

# 团 体 标 准

T/CVMA 13—2018

## H7N9 亚型禽流感病毒双重实时荧光 RT-PCR 检测方法

**Duplex real-time RT-PCR assay for detection of avian influenza A (H7N9) virus**

2018 - 10 - 24 发布

2018 - 10 - 24 实施

中 国 兽 医 协 会 发 布

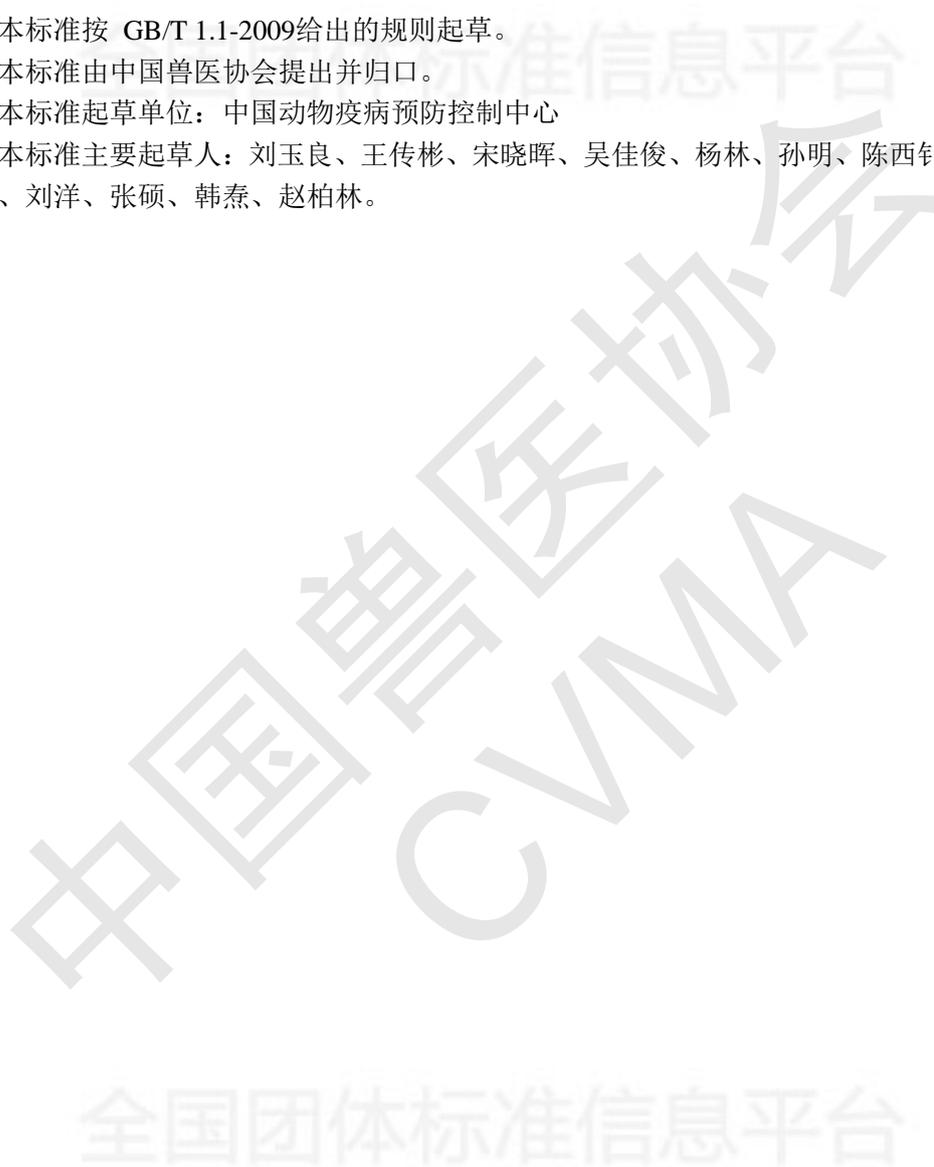
## 前 言

本标准按 GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由中国兽医协会提出并归口。

本标准起草单位：中国动物疫病预防控制中心

本标准主要起草人：刘玉良、王传彬、宋晓晖、吴佳俊、杨林、孙明、陈西钊、乔明明、蒋菲、顾小雪、刘洋、张硕、韩焘、赵柏林。



# H7N9 亚型禽流感病毒双重实时荧光 RT-PCR 检测方法

## 1 范围

本标准规定了H7N9亚型禽流感病毒双重实时荧光RT-PCR检测试剂、仪器设备、实验操作步骤。本标准适用于禽组织、分泌物、排泄物和培养物中H7N9亚型禽流感病毒检测。

## 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。

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

## 3 试剂

### 3.1 RNA 提取试剂

RNA提取试剂详见附录A.1~A.4,或选取商品化的病毒RNA提取试剂盒。

### 3.2 5 × RT-PCR 缓冲液

Tris base	15.14 g
KCl	13.98 g
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1.53 g
DTT	3.86 g

加无核酸酶灭菌蒸馏水至 400 mL,调 pH 值至 8.3(室温下),定容至 500 mL。过滤(0.22 μm)除菌后置于 2℃~8℃保存备用。

### 3.3. 10 × PCR缓冲液的配制

Tris base	6.06 g
KCl	18.64 g
Triton X-100	5.00 mL

加无核酸酶灭菌蒸馏水至400 mL,用HCl调pH值至9.0(室温下),定容至500 mL。高压灭菌冷却后置于2℃~8℃保存备用。

### 3.3 引物和探针