



中华人民共和国国家标准

GB/T 21674—2008

猪圆环病毒聚合酶链反应试验方法

Detecting porcine circovirus with polymerase chain reaction

2008-04-09 发布

2008-06-01 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

前 言

本标准附录 A 为规范性附录。

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归口。

本标准起草单位：农业部兽医诊断中心。

本标准主要起草人：田克恭、王宏伟、孙明、王传彬、陈西钊。

引 言

猪圆环病毒依据其致病性和基因组差异分为无致病性的猪圆环病毒 I 型 (porcine circovirus type1, PCV-1) 和有致病性的猪圆环病毒 II 型 (porcine circovirus type2, PCV-2)。PCV-2 是引发仔猪断奶后多系统衰弱综合征 (post-weaning multisystem wasting syndrome, PMWS) 的主要病原。该病主要以患畜生长迟缓、进行性消瘦和多系统病理损伤为特征, 给世界各国主要养猪地区的规模化养猪业造成了一定的经济损失。

猪圆环病毒聚合酶链反应试验方法

1 范围

本标准规定了猪圆环病毒(PCV)聚合酶链反应(PCR)检测方法的技术要求。

本标准适用于猪血清和组织中的猪圆环病毒检测,以及其 I 型(PCV-1)和 II 型(PCV-2)的鉴别。

2 实验室生物安全要求

试验操作应在生物安全 II 级(BSL-2 级)以上的实验室进行。

3 实验材料、仪器设备和试剂

3.1 实验材料

眼科剪、眼科镊、称量纸、10 mL 一次性注射器、1.5 mL 灭菌离心管、0.2 mL 薄壁 PCR 管、琼脂糖、500 mL 量筒、500 mL 锥形瓶、吸头(10 μ L、200 μ L、1 000 μ L)、灭菌双蒸水。

3.2 仪器设备

分析天平、高速离心机、真空干燥器、PCR 扩增仪、电泳仪、电泳槽、紫外凝胶成像仪(或紫外分析仪)、液氮罐或-70℃冰箱、微波炉、组织研磨器、-20℃冰箱、水浴锅、可调移液器(最大量程为 2 μ L、20 μ L、200 μ L、1 000 μ L)。

3.3 试剂

本标准所用试剂,除特殊标注外,均为分析纯。

3.3.1 消化液(见第 A.1 章)。

3.3.2 2%蛋白酶 K 溶液(见第 A.2 章)。

3.3.3 酚-三氯甲烷-异戊醇混合液(见第 A.3 章)。

3.3.4 2.5 mmol/L dNTP(见第 A.4 章)。

3.3.5 10 pmol/ μ L PCV 引物(见第 A.5 章)。

3.3.6 0.5 U/ μ L Taq DNA 聚合酶(见第 A.6 章)。

3.3.7 10 倍 PCR 缓冲液(见第 A.7 章)。

3.3.8 溴化乙锭(EB)溶液(见第 A.8 章)。

3.3.9 电泳缓冲液(50 倍)(见第 A.9 章)。

3.3.10 1%琼脂糖凝胶(见第 A.10 章)。

3.3.11 上样缓冲液(见第 A.11 章)。

3.3.12 异丙醇。

3.3.13 75%乙醇(见第 A.12 章)。

3.3.14 15 mmol/L 氯化镁(见第 A.13 章)。

3.3.15 灭菌双蒸水(见第 A.14 章)。

3.3.16 电泳缓冲液(1 倍)(见第 A.15 章)。

4 操作程序

4.1 样品的采集与处理

4.1.1 样品的采集:濒死猪、扑杀的成年猪和流产胎儿取肺脏和淋巴结;幼龄猪取心脏;待检活猪,用注射器取血 2 mL~4 mL,立即送往实验室。