



中华人民共和国国家标准

GB/T 27517—2011

鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性 与经典毒株复合 RT-PCR 方法

A multiplex RT-PCR method to differentiate the highly
pathogenic and classical porcine reproductive and
respiratory syndrome virus

2011-11-21 发布

2012-03-01 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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性
与经典毒株复合 RT-PCR 方法
GB/T 27517—2011

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100013)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址: www.gb168.cn

服务热线: 010-68522006

2012 年 2 月第一版

*

书号: 155066 · 1-44035

版权专有 侵权必究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:河南省动物疫病预防控制中心。

本标准主要起草人:吴志明、闫若潜、张志凌、张健、荆汝顶、刘光辉、赵明军、曹杰伟、钱勇、程俊贞、赵雪丽、张盼。

鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 方法

1 范围

本标准规定了检测以基因组非结构蛋白 Nsp2 编码区缺失 30 个氨基酸为特征的猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性毒株与非缺失 30 个氨基酸的猪繁殖与呼吸综合征病毒经典毒株复合 RT-PCR 鉴别诊断方法。

本标准适用于疑似猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 感染猪血清及临床病料等样品中的病毒核酸检测。

2 试剂和仪器设备

除另有规定外,所用生化试剂均为分析纯。提取 RNA 所用试剂均应使用无 RNA 酶的容器进行分装。

2.1 试剂

2.1.1 拭子悬液(见附录 A),组织悬液(见附录 A),以上试剂常温保存。

2.1.2 阿氏液(见附录 A),裂解液(TriZol), $1\times$ TAE 核酸电泳缓冲液(见附录 A),氯仿,0.01 mol/L (pH7.2)的 PBS(见附录 A),DEPC 处理水(见附录 A),以上试剂 4℃ 保存。

2.1.3 异丙醇,75%乙醇,DNA 分子量标准, $6\times$ 电泳上样缓冲液,以上试剂-20℃ 保存。

2.1.4 阳性对照、阴性对照(见附录 A)。

2.1.5 复合 RT-PCR 扩增用上、下游引物序列参见附录 B。

2.1.6 鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 反应体系组成、说明及使用注意事项参见附录 C。

2.2 仪器设备

PCR 扩增仪,高速冷冻离心机(离心力在 12 000g 以上),核酸电泳仪和水平电泳槽,恒温水浴锅,2℃~8℃ 冰箱,-20℃ 冰箱,单道微量移液器(0.5 μL~10 μL;2 μL~20 μL;20 μL~200 μL;100 μL~1 000 μL),组织匀浆器或研钵,凝胶成像系统(或紫外透射仪),真空干燥器(非必备)。

3 样品的采集、处理、存放及运输

3.1 样品采集及处理过程的注意事项

采样过程中样本不得交叉污染,采样及样品处理过程中应戴一次性手套、口罩、帽子。

3.2 样品的采集及处理

3.2.1 拭子样品

3.2.1.1 鼻腔拭子:采样时要将棉拭子深入鼻腔来回刮 3~5 次,取鼻腔分泌物。