



中华人民共和国国家标准

GB/T 19915.8—2005

猪链球菌 2 型毒力因子荧光 PCR 检测方法

Protocol of real-time PCR assay for virulence factors of
Streptococcus suis type 2

2005-09-27 发布

2005-11-01 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

本标准的附录 A 为规范性附录。

本标准由国家标准化委员会提出。

本标准由全国动物防疫标准化管理委员会归口。

本标准由中国检验检疫科学研究院和江苏出入境检验检疫局负责起草。

本标准主要起草人：林祥梅、吴绍强、韩雪清、贾广乐、刘建、梅琳、陈国强、张敬友、姜焱、唐泰山。

本标准首次发布。

猪链球菌 2 型毒力因子荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了猪链球菌 2 型毒力因子 MRP 和 EF 检测的荧光 PCR 操作方法。

本标准适用于检测生猪拭子、增菌培养物、疑似病料及猪组织样品中猪链球菌 2 型菌株的致病力。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

毒力因子 virulence factor

猪链球菌 2 型菌株的致病力与其毒力因子直接相关。猪链球菌 2 型的毒力因子有溶菌酶释放蛋白(MRP)、胞外因子(EF)、溶血素、荚膜多糖以及 44 kDa 蛋白、IgG 结合蛋白、纤毛粘着素等。其中,溶菌酶释放蛋白(MRP)和胞外因子(EF)是最主要的两个毒力因子,可作为判定菌株毒力的指标。一般认为表型 MRP + EF + 为强致病株,MRP + EF - 为弱致病株,MRP - EF - 为非致病株,未发现 MRP - EF + 表型。

3 缩略语

本标准采用下列缩略语:

荧光 PCR	荧光聚合酶链反应
MRP	溶菌酶释放蛋白
EF	胞外因子
C_t 值	荧光信号到达设定的阈值所经历的循环数
FAM	6-羧基荧光素
TAMRA	四甲基罗丹明

4 实验材料与仪器

4.1 实验试剂

实验试剂包括:

- 猪链球菌 2 型毒力因子荧光 PCR 检测引物、探针、阳性对照及常规 PCR 反应试剂;
- 商品化的组织基因组 DNA 提取试剂盒,具体提取操作参照说明书进行。

4.2 仪器

所用仪器包括:

- 荧光 PCR 仪;
- 高速冷冻离心机;
- 台式离心机;
- 旋涡混匀器;
- 冰箱(2℃~8℃和-20℃两种);
- 微量可调移液器(0.1 μL~2 μL、2 μL~20 μL、20 μL~200 μL、100 μL~1 000 μL 等规格)和相应配套的吸头。