



中华人民共和国国家标准

GB/T 19915.9—2005

猪链球菌 2 型溶血素基因 PCR 检测方法

Detection method of the hemolysin gene for
Streptococcus suis type 2 by PCR

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

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
猪链球菌 2 型溶血素基因 PCR
检 测 方 法

GB/T 19915.9—2005

*

中国标准出版社出版发行
北京西城区复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码:100045

<http://www.spc.net.cn>

电话:63787337、63787447

2005 年 12 月第一版 2005 年 12 月电子版制作

*

书号: 155066 · 1-26848

版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533

前 言

猪链球菌 2 型是链球菌属的成员,其致病菌株可致猪链球菌病,引起猪败血症、脑膜炎等。近年来,随着我国养猪业的发展,该病流行日趋严重,给养猪业带来巨大损失。人可通过伤口感染该菌,并导致死亡。溶血素是猪链球菌 2 型一种重要毒力因子。通过检测猪及其产品中分离菌株是否含有猪链球菌 2 型溶血素基因,可以作为区分猪链球菌 2 型无毒菌株与致病菌株的一个指标,特制定本标准。

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技术委员会归口。

本标准主要起草单位:中华人民共和国江苏出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

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

猪链球菌 2 型溶血素基因 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了猪链球菌 2 型溶血素基因 PCR 检测的操作方法。

本标准适用于猪及其产品中分离菌株的猪链球菌 2 型溶血素基因的检测。

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 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

猪链球菌 2 型 *Streptococcus suis* type 2

猪链球菌是属于链球菌属的一种细菌,根据其荚膜多糖抗原的差异,可分为 1~34 及 1/2 共 35 个血清型。猪链球菌 2 型是猪链球菌的一个血清型,不仅对猪致病性很强,而且可以感染特定的人群,是一种重要的人畜共患病病原菌。

4 缩略语

PCR	polymerase chain reaction, 聚合酶链式反应
DNA	deoxyribonucleic acid, 脱氧核糖核酸
dNTP	deoxyribonucleoside triphosphate, 脱氧核苷酸三磷酸
bp	base pair, 碱基对

5 测定方法

5.1 方法提要

以可疑细菌培养物提取的核酸,作为 DNA 模板进行 PCR 扩增,琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,与标准分子量标记比较,来确定扩增产物的大小。

5.2 试剂和材料

除另有规定,所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682—1992 的灭菌双蒸水。

5.2.1 猪链球菌 2 型溶血素基因 PCR 反应混合物:10×PCR 缓冲液 2.5 μL、25 mmol/L MgCl₂ 2.0 μL、2.5 mmol/L dNTP 2 μL、上下游引物各 1 μL,用双蒸水补至 20 μL。引物序列如下,其目的片段长度为 495 bp。

sly1:5'CCC,AAG,TTC,AAG,CCG,CAT,TTA 3'(1542)

sly2:5'GAA,GAT,TGC,GAG,CAT,TTC,CTG 3'(2036)

5.2.2 *Taq* DNA 聚合酶。