



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 22917—2008

---

## 猪水泡病病毒荧光 RT-PCR 检测方法

Protocol of fluorogenic RT-PCR for swine vesicular disease virus

2008-12-31 发布

2009-05-01 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

本标准参考了世界动物卫生组织(OIE)《陆生动物诊断试验和疫苗手册(哺乳动物、禽鸟与蜜蜂)》(第5版)。

本标准的附录 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:中华人民共和国深圳出入境检验检疫局、中华人民共和国云南出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:花群义、卢体康、吕建强、阮周曦、杨云庆、周晓黎、杨素、董俊、陈书琨。

## 猪水泡病病毒荧光 RT-PCR 检测方法

### 1 范围

本标准规定了猪水泡病病毒荧光 RT-PCR 检测的操作方法。  
本标准适用于动物及其产品中猪水泡病病毒的检测。

### 2 缩略语

下列缩略语适用于本标准。

#### 2.1 荧光 RT-PCR

荧光反转录-聚合酶链反应。

#### 2.2 Ct 值

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

#### 2.3 RNA

核糖核酸。

#### 2.4 DEPC

焦碳酸磷酯。

#### 2.5 PBS

磷酸盐缓冲盐水,配方见附录 A。

#### 2.6 Taq 酶

Taq DNA 聚合酶。

#### 2.7 SVDV

猪水泡病病毒。

### 3 原理

根据猪水泡病病毒的基因特定序列,合成一对特异性引物和一条特异性的荧光双标记探针。引物和探针通过严格的设计和筛选,涵盖已报道的所有猪水泡病病毒的毒株。荧光探针的 5'端标记 FAM 荧光素,3'端标记 TAMRA 荧光素,它在近距离内能吸收 5'端报告荧光基团发出的荧光信号。扩增时,由于 Taq 酶的 5'→3'的外切活性,在延伸到荧光探针时,将其切断,两基团分离,淬灭作用消失,荧光信号产生。因此,可以通过检测荧光信号对核酸模板进行检测。

### 4 材料与试剂

#### 4.1 仪器与器材

4.1.1 荧光 RT-PCR 检测仪。

4.1.2 高速台式冷冻离心机(离心速度 12 000 r/min 以上)。

4.1.3 台式离心机或手掌式离心机(离心速度 3 000 r/min)。

4.1.4 混匀器。

4.1.5 冰箱(2℃~8℃和-20℃两种)。

4.1.6 微量可调移液器(5 μL,10 μL,100 μL,1 000 μL)及配套带滤芯吸头。

4.1.7 1.5 mL、0.5 mL 硅化 Eppendorf 管:将 Eppendorf 管和滴头浸泡于含有 0.1% DEPC 的三蒸水中过夜,121℃±2℃ 高压灭菌 15 min,40℃ 烘干备用。市售 Eppendorf 管和滴头已经硅化,可直接