

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3984—2014

犬细小病毒实时荧光 PCR 检疫技术规范

Quarantine protocol for canine parvovirus by real-time PCR

2014-11-19 发布

2015-05-01 实施

中 华 人 民 共 和 国
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局 发 布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国四川出入境检验检疫局、西南民族大学。

本标准主要起草人：陈世界、杨苗、林华、胡娟、杨晓农、张焕容、杨发龙、薛昌华、于学辉、牟静、王斌、黄河、余华。

犬细小病毒实时荧光 PCR 检疫技术规范

1 范围

本标准规定了犬细小病毒实时荧光 PCR 检测方法的技术要求。
本标准适用于易感动物犬细小病毒的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

SN/T 2123 出入境动物检疫实验样品采集、运输和保存规范

3 仪器和试剂

3.1 主要仪器

3.1.1 荧光定量 PCR 仪。

3.1.2 高速冷冻离心机。

3.1.3 旋涡混匀器。

3.1.4 恒温循环水浴槽。

3.1.5 低温冰箱。

3.1.6 可调单头微量移液器。

3.2 主要试剂

试剂为分析纯或生化试剂,用于实时荧光 PCR 的试剂均用无 DNA 酶污染的容器分装。所有试验用水均为灭菌超纯水,应符合 GB/T 6682 中的三级水要求。

3.2.1 动物粪便 DNA 提取试剂盒。

3.2.2 动物血液与组织 DNA 提取试剂盒。

3.2.3 荧光定量 PCR 反应预混液。

3.2.4 犬细小病毒阳性质粒,DNA 序列为 GGCCTGGGAACAGTCTTGACCAAGGAGAACCAACT AACCCTTCTGACGCCGCTGCAAAAGAACACGACGAAGCTTACGCTGCTTATCTTCGC。

3.2.5 实时荧光 PCR 扩增所用的引物和探针的序列见表 1。

表 1 引物和 TaqMan 探针

引物和探针	序列	长度/bp	T _m 值/℃	GC/%
上游引物	5'-GGCCTGGGAACAGTCTTGAC-3'	20	55.9	60.0
下游引物	5'-GCGAAGATAAGCAGCGTAAGC-3'	21	54.4	52.4
Taqman 探针	5'-FAM-CCAACTAACCCTTCTGACGCCGCTG-TAMRA-3'	25	62.6	60.0