

ICS 11.220

B 41

DB33

浙 江 省 地 方 标 准

DB33/T 2269—2020

猪圆环病毒 2 型与 3 型双重荧光定量 PCR 检测方法

Duplex fluorescence quantitative PCR method for the detection of porcine
circovirus type 2 and type 3

地方标准信息服务平台

2020 - 06 - 30 发布

2020 - 07 - 30 实施

浙江省市场监督管理局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由浙江省农业农村厅提出。

本标准由浙江省畜牧兽医和饲料标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：浙江农林大学。

本标准主要起草人：宋厚辉、邵春艳、周莹珊、王晓杜、孙静、姜胜、杨永春、程昌勇、章先、杨杨、卫芳芳。

地方标准信息服务平台

猪圆环病毒 2 型与 3 型双重荧光定量 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了猪圆环病毒 2 型与 3 型双重荧光定量 PCR 的检测方法。
本标准适用于猪圆环病毒 2 型与 3 型的核酸检测。

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，仅所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 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Ct 值：达到阈值的循环数 (Cycle threshold)
DNA：脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid)
PBS：磷酸盐缓冲液 (Phosphate Buffer Solution)
PCR：聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction)
PCV-2：猪圆环病毒 2 型 (Porcine Circovirus 2)
PCV-3：猪圆环病毒 3 型 (Porcine Circovirus 3)
Taq 酶：Taq DNA 聚合酶 (Taq DNA polymerase)

4 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯，灭菌水，0.01 mol/L PBS 和 8 mmol/L NaOH 配制中所使用的水应符合 GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法中一级水的要求。

- 4.1 DNAzol Reagent：DNA 抽提试剂，2 ℃~8 ℃保存。
- 4.2 无水乙醇：4 ℃预冷。
- 4.3 75%乙醇：用无水乙醇和灭菌水配制，-20 ℃预冷。
- 4.4 8 mmol/L NaOH 溶液：配制方法见附录 A。
- 4.5 0.01 mol/L PBS，pH 7.2：配制方法见附录 A。
- 4.6 2×Premix HS Taq（内含 PCR buffer，HS Taq，dNTPs，Mg²⁺，RNaseH 等）。
- 4.7 阳性对照：猪圆环病毒 2 型灭活疫苗和猪圆环病毒 3 型阳性克隆质粒。PCV-3 目的基因 (ORF2) 序列见附录 A。
- 4.8 空白对照：灭菌水。
- 4.9 用于荧光定量 PCR 的引物浓度为 10 μmol/L，Taqman 探针浓度 5 μmol/L，其序列分别为：
——PCV-2-F：5'-TCACCTATGACCCCTATG-3'；