

# 团 体 标 准

T/CVMA 44-2020

## 犬冠状病毒 RT-PCR 检测方法

Detection of canine coronavirus by RT-PCR

2020-12-22 发布

2020-12-22 实施

中 国 兽 医 协 会 发 布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由青岛农业大学提出。

本文件由中国兽医协会归口。

本文件起草单位：青岛农业大学、中国动物卫生与流行病学中心、中国兽医药品监察所、青岛海润检测股份有限公司、上海基灵生物科技有限公司、莱阳市农业农村局。

本文件主要起草人：张传美、单虎、王媛媛、印春生、刘刚、朱旭、刘佳卉、张洪亮、杨海燕、孙建华、于静静。

# 犬冠状病毒 RT-PCR 检测方法

## 1 范围

本文件规定了犬冠状病毒RT-PCR检测方法的操作步骤和结果判定。

本文件适用于犬、狐狸等犬科动物粪便、肛拭子或肠道组织中犬冠状病毒核酸的实验室检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

GB 19489 实验室生物安全通用要求

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

## 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

RT-PCR: 逆转录-聚合酶链反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction)

CCV: 犬冠状病毒 (canine coronavirus)

RNA: 核糖核酸 (ribonucleic acid)

PBS: 磷酸盐缓冲液 (phosphate-buffered saline buffer)

## 5 试剂和材料

### 5.1 试剂

5.1.1 总则: 除非另有说明, 所用试剂均为分析纯, 试验用水符合 GB/T 6682 的要求, 所有试剂均用无 RNA 酶的容器分装。

5.1.2 市售商品化病毒 RNA 提取试剂盒。

5.1.3 市售商品化一步法 RT-PCR 试剂盒, 包括一步法 RT-PCR 缓冲液、Taq DNA 聚合酶-反转录酶-RNA 酶抑制剂混合物、灭菌去离子水。

5.1.4 PBS 溶液, 按附录 A.1 配制。

5.1.5 TAE 电泳缓冲液: 50×TAE 贮存液, 按附录 A.2 配制, 临用时加蒸馏水配成 1×TAE 缓冲液。

5.1.6 1%琼脂糖凝胶, 按附录 A.3 配制。

5.1.7 Goldview 核酸染料。

5.1.8 DNA 分子量标准: DL2000 DNA marker。

5.1.9 上游引物 CTCGTGGYCGGAAGAATAAT-3'; 下游引物: 5'-GCAACCCAGAMRACTCCATC-3'; 目的片段 280 bp。M、R 为兼并碱基; M: A、C; R: A、G。