



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 19915.4—2005

---

## 猪链球菌 2 型三重 PCR 检测方法

Method of detecting *Streptococcus suis* type 2 by triple-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

## 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。人可通过伤口感染该菌,并导致死亡。为了区别正常猪所携带的猪链球菌 2 型无毒菌株与发病猪分离的致病菌株,特制定本标准。本标准是采用现代分子生物学诊断技术制定的。

本标准由农业部畜牧兽医局提出。

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:南京农业大学。

本标准主要起草人:陆承平、姚火春、范红结、何孔旺。

## 猪链球菌 2 型三重 PCR 检测方法

### 1 范围

本标准规定了猪链球菌 2 型荚膜基因(*cps2*)、溶菌酶释放蛋白基因(*mrp*)和 *orf2* 这三个毒力基因的三重 PCR 检测技术。

本标准适用于由猪链球菌 2 型致病基因和致病菌株的检测。

### 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 测定方法

#### 4.1 方法提要

挑取可疑细菌培养物菌落,加入 PCR 反应管中,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。

#### 4.2 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。

4.2.1 *cps2*、*mrp* 和 *orf2* 的上下游引物,按合成说明书使用。

4.2.2 *Taq* DNA 聚合酶。

4.2.3 琼脂糖:电泳级。

4.2.4 溴化乙锭。

4.2.5 分子量标记:DL-2000。

4.2.6 TE 缓冲液:10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0),1 mmol/L EDTA(pH 8.0)。

4.2.7 10×PCR 缓冲液:100 mmol/L KCl,160 mmol/L(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,20 mmol/L MgSO<sub>4</sub>,200 mmol/L Tris-HCl(pH 8.8),1% TritonX-100,1 mg/mL BSA。

4.2.8 电泳缓冲液:242 g Tris 碱,57.1 mL 冰乙酸,100 mL 0.5 mol/L EDTA(pH8.0),加蒸馏水至 1 000 mL,使用时 10 倍稀释。

4.2.9 加样缓冲液:0.25% 溴酚蓝,40% 蔗糖。

4.2.10 阳性对照猪链球菌 2 型 HA9801 株基因组 DNA 模板,阴性对照马链球菌兽疫亚种 ATCC 35246 株和金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 株基因组 DNA 模板。