



中华人民共和国国家标准

GB/T 28630.2—2012

白斑综合征(WSD)诊断规程 第2部分:套式PCR检测法

Diagnostic protocols for white spot disease—
Part 2: Nested PCR method

2012-07-31 发布

2012-11-01 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

GB/T 28630《白斑综合征(WSD)诊断规程》分为五个部分：

- 第 1 部分：核酸探针斑点杂交检测法；
- 第 2 部分：套式 PCR 检测法；
- 第 3 部分：原位杂交检测法；
- 第 4 部分：组织病理学诊断法；
- 第 5 部分：新鲜组织的 T-E 染色法。

本部分为 GB/T 28630 的第 2 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分由中华人民共和国农业部提出。

本部分由全国水产标准化技术委员会(SAC/TC 156)归口。

本部分起草单位：中国水产科学研究院黄海水产研究所、农业部全国水产技术推广总站。

本部分主要起草人：黄捷、杨冰、陈爱平、宋晓玲、史成银、杨丛海、魏琦、刘莉。

白斑综合征(WSD)诊断规程

第2部分:套式PCR检测法

警告:使用本标准的人员应有正规实验室工作的实践经验,本标准并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

GB/T 28630 的本部分规定了白斑综合征病原的套式 PCR 检测方法所需试剂与材料、仪器设备、操作步骤和结果判定。

本部分适用于在对虾的各种样品、环境生物和饵料生物的各种样品,以及其他各种非生物样品中对白斑综合征病原带毒情况的高灵敏度定性检测,以进行病原筛查和疾病的确诊。

本部分单独使用时不适用于对病毒量或感染活性的估测以及宿主感染程度的评估。

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。凡不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有修改单)适用于本文件。

GB/T 28630.4—2012 白斑综合征(WSD)诊断规程 第4部分:组织病理学诊断法

3 原理

3.1 白斑综合征的病原和病理学特征

见 GB/T 28630.4—2012 的 2.1。

3.2 技术原理

聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)是以待测样品的一段 DNA 作为模板,以与模板两端序列互补的一对特异性寡核苷酸序列作为引物,在四种脱氧核糖核苷三磷酸存在下,利用依赖 DNA 的 DNA 聚合酶的合成作用。经过数十次变性、退火和延伸的反应循环,使模板上介于两个引物之间的 DNA 片段得到特异性地指数扩增,再通过电泳等手段检测到被特异性扩增的片段,从而可揭示微量病毒 DNA 的存在。套式 PCR 是在第一步 PCR 扩增的产物内,再用一对引物进行第二步 PCR 扩增。套式 PCR 可大大增加 PCR 检测的灵敏度和反应特异性。

4 试剂和材料

- 4.1 除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的化学试剂和蒸馏水或去离子水或相当纯度的水。
- 4.2 无水乙醇。
- 4.3 液体石蜡。
- 4.4 含氯消毒剂:医用品或水产药物。
- 4.5 琼脂糖:电泳级。