



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 19438.1—2004

---

## 禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法

Method of the real-time RT-PCR for the detection  
of avian influenza virus

2004-02-14 发布

2004-02-15 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

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
禽 流 感 病 毒 通 用 荧 光  
RT-PCR 检 测 方 法

GB/T 19438.1—2004

\*

中国标准出版社出版发行  
北京西城区复兴门外三里河北街16号

邮政编码:100045

<http://www.bzcs.com>

电话:63787337、63787447

2004年2月第一版 2004年11月电子版制作

\*

书号:155066·1-20518

如有排版错误 本社负责解决

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

## 前 言

GB/T 19438—2004《禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法》分为以下四个部分：

- GB/T 19438.1—2004《禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法》；
- GB/T 19438.2—2004《H5 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法》；
- GB/T 19438.3—2004《H7 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法》；
- GB/T 19438.4—2004《H9 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法》。

本部分的附录 A、附录 C 是规范性附录，附录 B 是资料性附录。

本部分由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局提出。

本部分起草单位：中华人民共和国北京出入境检验检疫局、深圳市匹基生物工程股份有限公司。

本部分主要起草人：赖平安、张鹤晓、谷强、王甲正、周琦、杨伟、赖少梅。

# 禽 流 感 病 毒 通 用 荧 光 RT-PCR 检 测 方 法

## 1 范围

本部分规定了禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测的操作方法。  
本部分适用于活禽及其产品中禽流感病毒的检测。

## 2 缩略语

下列缩略语适用于本部分。

### 2.1

#### 荧光 RT-PCR

荧光反转录-聚合酶链反应。

### 2.2

#### Ct 值

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

### 2.3

#### RNA

核糖核酸。

### 2.4

#### DEPC

焦碳酸乙二酯。

### 2.5

#### PBS

磷酸盐缓冲盐水(配方见附录 A)。

### 2.6

#### Taq 酶

Taq DNA 聚合酶。

## 3 原理

禽流感病毒各亚型均属 A 型流感病毒,根据 A 型流感病毒共有基因特定的序列,合成一对特异性引物和一条特异性的荧光双标记探针。该探针与禽流感病毒特有的共同基因特异性结合,结合部位位于引物结合区域内。探针的 5'端和 3'端分别标记不同的荧光素,如 5'端标记 FAM 荧光素,它发出的荧光能够被检测仪器接收,称为报告荧光基团(用 R 表示),3'端一般标记 TAMRA 荧光素,它在近距离内能吸收 5'端报告荧光基团发出的荧光信号,称为淬灭荧光基团(用 Q 表示)。

当 PCR 反应在退火阶段时,一对引物和一条探针同时与目的基因片段结合,此时探针上 R 基团发出的荧光信号被 Q 基团所吸收,仪器检测不到 R 所发出的荧光信号;当 PCR 反应进行到延伸阶段时,Taq 酶在引物的引导下,以四种核苷酸为底物,根据碱基配对的原则,沿着模板链合成新链;当链的延伸进行到探针结合部位时,受到探针的阻碍而无法继续,此时的 Taq 酶发挥它的 5'→3'外切核酸酶的功能,将探针水解成单核苷酸,消除阻碍,与此同时标记在探针上的 R 基团游离出来,R 所发出的荧光再