



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 27539—2011

---

## 动物流感检测 A 型流感病毒 通用荧光 RT-PCR 检测方法

Animal influenza detection—Method of real-time RT-PCR for detection of  
influenza virus A

2011-11-21 发布

2012-03-01 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

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物防疫标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:中华人民共和国北京出入境检验检疫局、中华人民共和国广东出入境检验检疫局、深圳匹基生物工程有限公司。

本标准主要起草人:汪琳、林志雄、周琦、高志强、陈茹、乔彩霞、蒲静、杨伟、梁成珠。

# 动物流感检测 A 型流感病毒 通用荧光 RT-PCR 检测方法

## 1 范围

本标准规定了 A 型流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测的操作方法。  
本标准适用于活动物及其产品中 A 型流感病毒的检测。

## 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 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  
GB/T 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求  
GB/T 27401 实验室质量控制规范 动物检疫  
SN/T 1330 进出口生、熟毛皮检验规程

## 3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

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(Ct value)  
DEPC:焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate)  
PBS:磷酸盐缓冲液(配方见附录 A)(phosphate buffer saline)  
RNA:核糖核酸(ribonucleic acid)  
RT-PCR :反转录-聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction)

## 4 原理

流感病毒(influenza virus)属正粘病毒科,根据抗原特性及其基因特性的不同,流感病毒分为甲(A)、乙(B)、丙(C)型。乙型变异性较弱、丙型抗原性比较稳定,仅感染人类;甲(A)型抗原变异性最强,感染人类和其他动物,常引起世界性大流行。编码基质蛋白的 M 基因是 A 型流感病毒共有且较保守。采用 Taqman 技术,针对 M 基因中特定序列,合成一对特异性引物和一条特异性的荧光双标记探针,探针的 5'端标记报告荧光基团(R),3'端标记淬灭荧光基团(Q)。在 PCR 退火阶段,一对引物和一条探针同时与目的基因片段结合,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;在 PCR 延伸阶段,Taq 酶在引物的引导下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,Taq 酶发挥 5'→3'外切核酸酶的功能,将探针水解成单核苷酸,标记在探针上的 R 基团就游离出来,R 所发出的荧光不为 Q 所吸收而被检测仪所接收,随着 PCR 反应的进行,PCR 产物量与荧光信号呈现正比关系。