



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 19438.2—2004

---

## H5 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法

Method of the real-time RT-PCR for the detection of  
avian influenza virus subtype H5

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

## 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 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：刘环、张鹤晓、赖平安、周琦、刘宁。

# H5 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 检测方法

## 1 范围

本部分规定了 H5 亚型禽流感病毒荧光 RT-PCR 操作方法。  
本部分适用于活禽及其产品中 H5 亚型禽流感病毒的检测。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本部分的引用而成为本部分的条款。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部分,然而,鼓励根据本部分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部分。

GB/T 19438.1—2004 禽流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法

## 3 缩略语

下列缩略语适用于本部分。

### 3.1

#### 荧光 RT-PCR

荧光反转录-聚合酶链反应。

### 3.2

#### 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。

### 3.3

#### RNA

核糖核酸。

### 3.4

#### Taq 酶

Taq DNA 聚合酶。

### 3.5

#### PBS

磷酸盐缓冲生理盐水。

### 3.6

#### DEPC

焦碳酸乙二酯。

## 4 原理

采用 TaqMan 方法,在比对禽流感病毒血凝素基因的基础上,设计一对仅在 H5 亚型禽流感病毒血凝素基因间保守的特异性引物和一条特异性的荧光双标记探针。该探针的结合部位位于目的扩增片段内部。其中 5'端标记 FAM 荧光素为报告荧光基团(用 R 表示),3'端标记 TAMRA 荧光素为淬灭荧光基团(用 Q 表示),它在近距离内能吸收 5'端荧光基团发出的荧光信号。反应进入退火阶段时,引物和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,仪器检测不到荧光信号;而反应进行到延伸阶段时,Taq 酶发挥 5'→3'的外切核酸酶功能,将探针降解。这样探针上的