



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3739—2013

国境口岸森林脑炎病毒检测方法
实时荧光 RT-PCR 法

Detection method for tick-borne encephalitis virus at frontier ports—
Real-time fluorescence RT-PCR

2013-11-06 发布

2014-06-01 实施

中 华 人 民 共 和 国
国 家 质 量 监 督 检 验 检 疫 总 局 发 布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国天津出入境检验检疫局、中华人民共和国吉林出入境检验检疫局、上海之江生物科技股份有限公司。

本标准主要起草人：李智慧、詹曦菁、杨春江、杨顺义、窦勇鹰、刘阳、朱旭平、朱勤玮。

国境口岸森林脑炎病毒检测方法

实时荧光 RT-PCR 法

1 范围

本标准规定了国境口岸入出境人员或蜱携带森林脑炎病毒的实时荧光 RT-PCR 检测,包括检测对象、标本采集和处理,检测程序,结果判定。

本标准适用于国境口岸入出境人员或蜱携带森林脑炎病毒的实验室检测。

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。

人间传染的病原微生物名录(卫生部 2006 年)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

森林脑炎病毒 tick-borne encephalitis virus

俄罗斯春夏脑炎病毒 Russian spring-summer encephalitis virus

黄病毒科黄病毒属成员,为单股正链 RNA 病毒,mRNA 全长 10 886 bp。该病毒根据系统发生学分为欧洲亚型、远东亚型和西伯利亚亚型三个亚型。该病毒所引起的森林脑炎为一种自然疫源性疾。本病毒的储存宿主众多,传播媒介主要为蜱,易感人群多因被携带有病毒的蜱叮咬后发病。

3.2

实时荧光 RT-PCR real-time RT-PCR

实时荧光 RT-PCR 方法有多种,本标准采用的是 *TaqMan* 水解探针法,其原理是在常规 RT-PCR 的基础上,加入一条特异性的荧光探针,该探针为一条寡核苷酸,两边分别标记一个荧光报告基团和一个荧光淬灭基团。探针完整时,报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收,PCR 扩增时,利用 *Taq* 酶的 5'-3' 外切酶活性将探针酶切水解,使荧光报告基团和荧光淬灭基团分离,从而荧光监测系统可以接收到荧光信号。每经过一个 PCR 循环,荧光信号也和目的片段一样,有一个同步指数增长的过程,信号的强度与检测对象的核酸含量成正比,可根据数学模型计算出检测对象的含量。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

BHQ: 黑洞淬灭基团(black hole quencher)

Ct 值: 循环阈值,每个反应管的荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数(cycle threshold)

DEPC: 焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate)

FAM: 6-羧基荧光素,一种荧光报告基团(6-carboxy-fluorescein)