

《犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测技术规范（征求意见稿）》编制说明

一、任务来源（包括目的意义）

犬呼吸道症候群（Canine Respiratory Disease Complex, CRDC），俗称“犬窝咳”，是宠物临床上发病率最高的疾病群之一，其病原复杂多样，混合感染率高，是困扰宠物诊疗行业的核心难题。主要病原包括犬流感病毒（Influenza A virus）、犬副流感病毒（Canine parainfluenza virus, CPiV）、犬瘟热病毒（Canine distemper virus, CDV）、犬支原体（Mycoplasma canis）、犬腺病毒（Canine adenovirus）及支气管败血波氏杆菌（Bordetella bronchiseptica）。

该标准填补国内犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测空白，兼容常规 qPCR 仪、超快速 qPCR 仪及分子 POCT 平台，可同时检测六种病原体，打破单一检测与平台局限，实现实验室批量检测与现场快速筛查全覆盖，提升检测效率与准确性，为疫病精准识别、科学防控提供统一依据，推动行业检测规范化。

东莞市动物疫病预防控制中心于 2026 年 4 月向广东省畜牧兽医学会提出了《犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测技术规范》的团体标准立项申请，广东省畜牧兽医学会组织了对该标准进行了预研，并于 2026 年 7 月 10 日组织专家对该标准进行了立项审查。经过专家充分的研讨论证，专家们一致认为，该项目所提供的资料基本齐全，立项标准符合国家产业政策，所申报的团体标准满足立项条件，同意该标准立项。目前，本标准研究团队已经完成了标准参数指标的验证，形成了标准文本初稿。

二、起草工作简要过程（含主要参加单位及工作组成员）

1. 标准起草阶段

为制定本标准，本项目组织有关技术人员参阅技术专著、国家、地方标准等大量文献，并进行了预讨论工作。本项目主要开展犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 试验方法各项参数的验证，包括了方法的特异性、敏感性、稳定性和临床样品的验证。本研究使用的试剂均为同批次制品或者产品，尽可能确保了各要素效价的稳定性和一致性，保证了试验体系的稳定。2026 年 8 月，我们初步完成了标准的修订并送交同行专家审定。

2. 标准参与单位和参与人员

文件起草单位包括东莞市动物疫病预防控制中心、黄埔海关技术中心、菲鹏生物股份有限公司、东莞鹏佑生物科技有限公司、深圳爱德茂宠物医疗健康管理有限公司、东莞市厚街镇农业技术服务中心、广州国家实验室、超快生物技术（广州）有限公司、东莞市横沥镇农业技术服务中心、广州市派斯特生物技术有限公司、湖南省动物疫病预防控制中心、赣州市畜牧业发展和动物疫病防控中心、上海市金山区动物疫病预防控制中心、上海市奉贤区生态养殖服务中心等多家单位联合起草。

本文件起草人为张险朋、麦晨、黄超杰、杨海芳、陈奕信、龙海鹰、欧阳志良、管知深、徐正华、徐强、周柱辉、林政文、李敏、林源、黄美峰、翁永刚、石慧花文件起草的具体分工如下：

张险朋：项目负责人，负责标准的立项、整体方案确立及宣贯，负责标准的审阅、项目申报建议及相关技术文件的校订。

黄超杰：负责标准中方法建立、实验数据分析起草，负责各版本标准稿的讨论和修订工作

及征求意见后的修改工作；

杨海芳：负责标准中部分实验室方法的建立、优化及验证；

徐正华：负责标准中部分方法的起草、验证；

管知深、杨海芳：负责仪器设备的验证、负责耗材的选择；

欧阳志良、陈奕信：负责部分标准方法的验证及检测方法的推广应用；

龙海鹰、李敏：负责方法的验证；

麦晨：负责标准文本质量的整体把握；

徐强、周柱辉、林政文、李敏、林源、黄美峰、翁永刚、石慧花：负责检测方法的推广和应用。

三、编写原则和确定标准主要内容的依据

（一）框架的确定

根据犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测技术规范的要求，结合标准撰写格式确定标准的框架为适用范围、规范性引用文件、术语和定义、缩略语、试剂和耗材、仪器设备、样品采集与处理、操作方法、结果判定。

（二）标准的编写原则

1. 标准引用

检测样品的采集和用水方面引用了已经发布的国家标准 GB 19489-2008 《实验室 生物安全通用要求》、GB/T 6682 《分析实验室用水规格和试验方法》、GB/T 18088 《出入境动物检疫采样》和行业标准 NY/T 541-2016 《兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范》。

2. 实际科研和检测工作经验

标准编写人为张险朋等，多年来一直从事人畜共患病的流行病学研究和疫病防控工作，在本标准的编写过程中，结合实验室的实际工作经验，对试验操作的具体细节进行编写。

项目组在动物病检测方面具有丰富的经验，在犬猫病原体诊断方面开展了大量的研究工作，东莞市动物疫病预防控制中心在 2003 年通过了中国合格评定国家认可委员会（CNAS）认可，2023 年被认定为“东莞市人兽共患病重点实验室”，连续 5 年通过了全国水产技术推广总站组织的水生动物防疫系统实验室检测能力验证，每年平均检测动物样品近 10 万份，监测项目 70 多个。目前已建立了犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测技术，并应用于临床样品的检测，在犬呼吸道症候群六种常见病原体诊断方面发挥了重要作用。

（三）主要内容及其确定依据

1. 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备

核酸提取仪（上海宝予德科学仪器有限公司）；P810 实时荧光定量 PCR 分析仪（广东润鹏生物技术有限公司）；Nous 30V 全自动核酸检测分析系统（东莞鹏佑生物科技有限公司）；宏石 SLAN 96P 荧光定量 PCR 仪（上海宏石医疗科技有限公司）。

1.1.2 试剂材料与菌株

2×RT-PCR Buffer、快速启动聚合酶、快速逆转录酶、RNase 抑制剂购自东莞鹏佑生物科技有限公司；核酸提取试剂购自广东润鹏生物技术有限公司；犬呼吸道六联荧光 PCR 检测试剂盒购自东莞鹏佑生物科技有限公司；100 份临床样本由宠物医院提供。

1.2 方法

1.2.1 引物、探针设计

选择犬瘟热病毒 L 基因序列（GenBank 登录号：MH496779.1）设计引物、探针，探针 5' 端标记 FAM 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ1 淬灭基团；

选择犬流感病毒 M 基因序列（GenBank 登录号：PX937031.1）设计引物、探针，探针 5' 端标记 VIC 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ1 淬灭基团；

选择犬副流感病毒 P 基因序列（GenBank 登录号：MF170888.1）设计引物、探针，探针 5' 端标记 ROX 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ2 淬灭基团；

选择支气管败血波氏杆菌 flagellin A 基因序列（GenBank 登录号：JX673961.1）设计引物、探针，探针 5' 端标记 FAM 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ1 淬灭基团；

选择犬支原体 16S rRNA 基因序列（GenBank 登录号：MK615066.1）设计引物、探针，探针 5' 端标记 VIC 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ1 淬灭基团；

选择犬腺病毒 hexon gene 基因序列（GenBank 登录号：KP840547.1）设计引物、探针，探针 5' 端标记 ROX 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ2 淬灭基团；

内参引物、探针参考以哺乳动物 β -actin 基因设计引物、探针序列，探针 5' 端标记 Cy5 荧光报告基团，3' 端标记 BHQ3 淬灭基团，详见表 1。所有引物、探针均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

表 1 设计的引物和探针

病原体	引物名称	序列(5' - 3')
犬瘟热病毒	CDV-F	TTAGATTGGGCRAAGTACCCTTATT
	CDV-R	TGGACTGTTGATAAGGACATGCCT
	CDV-P	FAM-CTGCCCTGTGTCCAGAGCATAACCC-BHQ1
犬流感病毒	IVA-F	CAAGACCAATYYTGTACCTHTGACYA
	IVA-R	GGAYAAAGCGTCTACGYTGCA
	IVA-P	VIC-ACGCTCACCGTGCCAGTGAGC-BHQ1
犬副流感病毒	CPIV-F	GGTGGGAGATGARGTCAAGGT
	CPIV-R	ACTGGTGACAAGTGCAATCAAAT
	CPIV-P	ROX-CATCCTGTTCTCCAATCACCGCTGC-BHQ2
支气管败血波氏杆菌	Bb-F	CCAACGCCACCGACATG
	Bb-R	TCTTGATATCGATCGTTTCGTTGT
	Bb-P	FAM-CTGTCGATCCAGGTCGGCGC-BHQ1
犬支原体	M. C-F	CGCTACGGTGAATACGTTCTCG
	M. C-R	CCTTAGGCAGTTGTCTCCGTAGT
	M. C-P	VIC-ACTTCGGGCATTACCAGCTCCCATG-BHQ1
犬腺病毒	CADV-F	CGTCGATGCTGCCACAATGG
	CADV-R	TGGTTGCTTGGGCAAACTGAA

	CADV-P	ROX-CACATTGCTGGCCAGGACGCCG-BHQ2
	β -actin-F	AGTCCGCCTAGAAGCATTG
内标	β -actin-R	TGTCCACCTTCCAGCAGATG
	β -actin-P	Cy5-AGTCCGGCCCCTCCATCGTCCA-BHQ3

1.2.2 重组阳性质粒制备

根据犬瘟热病毒、犬流感病毒、犬副流感病毒、支气管败血波氏杆菌、犬支原体、犬腺病毒特异性基因构建重组阳性质粒，同时构建内源性内参重组质粒，质粒由生工生物工程（上海）股份有限公司构建、纯化，质粒浓度约为 1.24×10^{12} copies/mL（由于质粒浓度过高，防止污染实验室环境，故将其稀释为工作浓度，约 5×10^6 copies/mL）。

1.2.3 核酸提取

本研究用于 P810 和宏石 SLAN 96P 仪器所用核酸均使用宝予德核酸提取仪提取。Nous 30V 自带核酸提取功能。

1.2.4 快速荧光 PCR 反应条件和体系

优化后的快速荧光 PCR 反应体系 40 μ L。引物探针溶解后稀释至 50 μ M，按照表 2-3 进行配置，配置完成后将试剂进行冻干。

表 2 犬呼吸道症候群六种病原体管 1 反应液配置表

序号	名称	用量/test (μ L)
1	2 $\times$ RT-PCR Buffer	20.00
2	快速逆转录酶（2000 U/ μ L）	0.07
3	快速启动聚合酶（25 U/ μ L）	0.40
4	RNase抑制剂（1500 U/ μ L）	0.01
5	CDV-F (50 μ M)	0.2
6	CDV-R (50 μ M)	0.2
7	CDV-P (50 μ M)	0.1
8	IVA-F (50 μ M)	0.2
9	IVA-R (50 μ M)	0.2
10	IVA-P (50 μ M)	0.1
11	CPIV-F (50 μ M)	0.2
12	CPIV-R (50 μ M)	0.2
13	CPIV-P (50 μ M)	0.1
14	β -actin-F (50 μ M)	0.2

15	β -actin-R (50 μ M)	0.2
16	β -actin-P (50 μ M)	0.1
17	灭菌超纯水	1.52
终体积 (μ L)		24

表 3 犬呼吸道症候群六种病原体-管 2 反应液配置表

序号	名 称	用量/test (μ L)
1	2 $\times$ RT-PCR Buffer	20
2	快速启动聚合酶 (25 U/ μ L)	0.27
3	Bb-F (50 μ M)	0.30
4	Bb-R (50 μ M)	0.30
5	Bb-P (50 μ M)	0.15
6	M. C-F (50 μ M)	0.3
7	M. C-R (50 μ M)	0.3
8	M. C-P (50 μ M)	0.15
9	CADV-F (50 μ M)	0.16
10	CADV-R (50 μ M)	0.16
11	CADV-P (50 μ M)	0.08
12	β -actin-F (50 μ M)	0.2
13	β -actin-R (50 μ M)	0.2
14	β -actin-P (50 μ M)	0.1
15	灭菌超纯水	1.33
终体积 (μ L)		24

加入核酸模板 40 μ L 将冻干试剂进行复溶后使用宏石 SLAN 96P 进行扩增。宏石 SLAN 96P 反应条件：50 $^{\circ}$ C 5 min；95 $^{\circ}$ C 1 min；95 $^{\circ}$ C 5 s，60 $^{\circ}$ C 30 s（收集荧光信号），40 个循环。

加入核酸模板 40 μ L 将冻干试剂进行复溶后使用，取 15 μ l 反应液使用 P810 进行扩增。P810 反应条件：50 $^{\circ}$ C 5 min；95 $^{\circ}$ C NA；95 $^{\circ}$ C NA，60 $^{\circ}$ C 10 s（收集荧光信号），40 个循环。

将冻干试剂与提取卡盒进行组装后，使用 Nous 30V 进行核酸提取及扩增。Nous 30V 反应条件：50 $^{\circ}$ C 5 min；95 $^{\circ}$ C 30 s；60 $^{\circ}$ C 3 s（收集荧光信号），100 $^{\circ}$ C 6 s，40 个循环。

1.2.5 灵敏度试验

将阳性质粒（浓度 5×10^6 copies/mL）进行 10 倍梯度稀释，获得 5×10^3 、 5×10^2 、 5×10^1 、copies/mL 的稀释样本。在 Nous 30V 进行检测，每个浓度重复 5 次，依据 100%阳性检出率确定最低检测限。在 P810 进行检测，每个浓度重复 20 次。依据 95%阳性检出率确定最低检测限。在 SLAN 96P 进行检测，每个浓度重复 20 次，依据 95%阳性检出率确定最低检测限。

1.2.6 特异性试验

犬疱疹病毒、犬细小病毒、犬冠状病毒、狂犬病毒、肺炎克雷伯氏菌、犬轮状病毒样本提取核酸后分别用 P810、SLAN 96P 进行检测，Nous 30V 检测直接使用样本进行检测，评价特异性。

1.2.7 重复性试验

将阳性质粒（浓度 5×10^6 copies/mL）分别稀释 10 倍，1000 倍进行检测，每个梯度重复检测 10 次，根据 Ct 值计算变异系数，评价重复性。

1.2.8 临床样本检测

100 份临床样本，包括犬眼鼻口分泌拭子。提取核酸后分别用 P810、SLAN 96P 进行检测，Nous 30V 检测直接使用样本进行检测，比较三种方法的符合率。

2. 结果

2.1. 灵敏度试验结果

将阳性质粒（浓度 5×10^6 copies/mL）进行 10 倍梯度稀释，获得 5×10^3 、 5×10^2 、 5×10^1 、copies/mL 的稀释样本。在 Nous 30V 进行检测，每个浓度重复 5 次。在 P810 进行检测，每个浓度重复 20 次。在宏石 SLAN 96P 进行检测，每个浓度重复 20 次。结果见表 4-6，扩增曲线见图 1-3。在阳性质粒浓度为 500 copies/mL 时，能够 100%检出，将该方法的灵敏度定为 500 copies/mL。

表 4 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 灵敏度试验结果（Nous 30V）

质粒浓度	Ct 值								检出率
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联管 2				
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参	
5×10 ³ copies/mL	29.84	28.64	30.21	23.13	27.7	28.28	28.23	22.48	管 1: 100%; 管 2: 100%
	29.68	28.4	29.92	23.24	27.7	29.19	28.12	22.32	
	29.92	28.44	29.99	23.27	27.98	29.17	28.21	22.03	
	29.00	27.49	29.09	22.18	27.8	28.38	28.25	22.07	
	29.06	27.49	29.09	22.18	27.88	28.06	28.23	22.05	
5×10 ² copies/mL	33.65	31.73	33.69	23.23	31.2	31.27	31.74	22.11	管 1: 100%; 管 2: 100%
	33.46	30.24	33.64	23.28	31.15	31.21	31.81	21.08	
	33.64	32.57	32.71	23.17	32.57	32.77	32.71	22.03	
	33.64	32.07	32.34	23.16	32.49	33.12	32.79	22.03	
	33.62	32.07	32.71	23.34	32.26	33.26	32.62	22.03	
	35.96	36.59	36.34	21.97	NoCt	NoCt	36.75	22.42	

5×10 ¹ copies/mL	36.11	36.65	NoCt	21.93	NoCt	NoCt	36.75	22.42	管 1: 60%; 管 2: 40%
	36.55	NoCt	37.08	23.54	35.97	NoCt	36.05	21.89	
	36.11	36.1	36.41	23.22	36.31	37.4	36.14	22.03	
	36.47	36.52	37.03	23.84	36.62	37.41	36.81	22.03	

表 5 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 灵敏度试验结果（P810）

质粒浓度	Ct 值								检出率
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联-管 2				
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参	
5×10 ³ copies/mL	29.38	28.55	30.81	22.5	28.16	28.72	28.54	22.5	管 1: 100%; 管 2: 100%
	29.11	28.17	30.09	22.51	28.16	29.7	28.12	22.56	
	29.23	27.87	29.69	22.82	28.37	29.44	28.37	21.59	
	28.24	26.89	28.73	21.85	28.1	28.76	28.36	21.54	
	28.24	26.89	28.73	21.85	28.46	28.48	28.54	21.58	
	29.38	28.55	28.74	22.47	28.2	28.82	28.6	21.59	
	29.38	28.55	28.76	22.34	28.53	28.55	28.57	21.63	
	29.38	28.55	28.74	22.4	28.87	29.08	28.59	21.56	
	28.91	27.95	27.57	21.95	28.57	28.73	28.33	22.14	
	27.92	26.93	26.59	20.94	28.22	29.13	28.31	22.08	
	28.91	27.95	29.72	21.97	27.97	28.81	28.55	22.17	
	27.92	26.94	28.76	20.97	28	28.51	28.15	22.21	
	29.82	28.55	28.3	22.19	28.01	28.55	28.42	22.18	
	29.82	28.58	28.26	22.52	28.26	28.37	28.36	22.23	
	29.82	28.6	28.3	22.58	28.27	28.51	28.21	22.18	
	29.81	28.58	28.27	22.56	27.96	28.61	28.28	22.25	
	28.59	28.56	28.36	22.49	28.08	28.36	28.22	21.97	
	28.53	28.58	28.35	22.13	28.09	28.59	28.11	21.99	
	28.48	28.57	28.24	22.18	28.1	28.36	28.28	21.97	
	28.22	28.58	28.36	22.15	27.99	28.51	28.14	21.99	

5×10 ² copies/mL	32.48	31.71	32.13	22.23	31.71	30.88	31.8	23.37	管 1: 100%; 管 2: 100%
	32.16	31.12	31.58	22.18	30.48	30.55	31.49	22.39	
	32.42	32.7	32.34	22.2	31.74	32.37	31.59	21.89	
	32.43	31.58	31.56	22.19	32.00	31.22	31.93	21.91	
	32.38	31.58	32.34	22.32	31.79	30.91	31.35	21.89	
	32.42	31.58	32.34	22.15	31.84	31.54	32.64	21.94	
	32.48	31.56	31.56	22.38	32.51	31.68	32.27	21.97	
	32.41	31.58	32.34	22.24	32.01	32.34	32.1	22.03	
	32.37	31.54	30.95	22.71	31.89	31.74	31.62	21.6	
	32.36	31.53	31.76	22.54	31.96	32.04	31.83	21.59	
	32.4	31.56	30.95	22.83	32.15	32.19	31.18	22.77	
	32.38	31.53	31.76	22.64	31.63	32.02	30.61	22.74	
	32.39	31.56	30.96	22.69	31.94	31.45	29.06	22.76	
	32.41	31.53	30.96	22.61	32.06	31.16	31.06	22.73	
	32.38	31.56	31.79	22.74	32.64	32.16	31.39	21.7	
	32.41	31.54	31.76	22.61	32.21	33.74	31.58	22.72	
	31.82	31.57	30.98	22.4	31.77	31.9	31.9	21.8	
	31.79	31.55	30.97	22.17	31.97	31.04	32.07	21.76	
	31.83	31.47	31.78	22.28	32.17	32.36	31.64	22.76	
	31.79	31.55	30.98	22.1	32.89	33.31	32.33	22.75	
5×10 ¹ copies/mL	36.55	35.53	NoCt	21.31	35.21	35.74	35.63	23.19	管 1: 45%; 管 2: 45%
	37.54	36.73	NoCt	21.18	35.15	35.52	35.59	22.92	
	37.5	36.46	37.24	22.07	NoCt	36.63	NoCt	21.8	
	NoCt	37.93	36.29	22.09	NoCt	NoCt	36.38	21.78	
	37.42	37.86	37.1	22.1	NoCt	37.56	35.5	21.78	
	37.47	NoCt	36.97	22.04	35.48	35.92	35.53	21.73	
	37.54	38.66	36.96	22.08	NoCt	36.33	36.17	21.78	
	37.48	37.52	NoCt	22.01	35.4	36.85	35.81	21.82	
	37.58	NoCt	37.45	21.81	35.36	36.27	NoCt	22.71	
	NoCt	37.98	36.33	21.64	35.88	36.31	35.54	21.68	

	37.59	37.98	37.34	21.72	NoCt	35.57	34.72	21.67	
	37.58	37.98	37.2	21.82	NoCt	35.7	NoCt	21.66	
	NoCt	37.98	37.14	21.43	36.78	NoCt	36.26	21.65	
	37.52	37.94	37.03	21.34	NoCt	37.2	36.21	21.64	
	37.51	NoCt	36.63	21.61	35.18	35.62	36.11	21.63	
	37.57	38.72	37.06	21.54	NoCt	36.27	36.26	22.58	
	38.1	37.87	NoCt	22.49	35.25	36.6	35.5	22.58	
	NoCt	NoCt	38.24	22.17	NoCt	35.85	34.68	21.62	
	38.1	38.18	38.6	22.11	36.68	36.01	36.13	22.59	
	38.24	38.01	37.78	22.61	37.79	35.85	35.75	22.58	

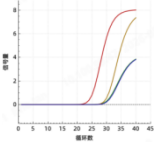
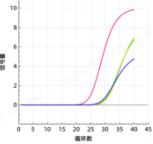
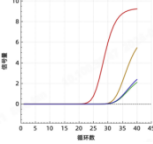
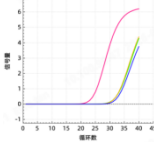
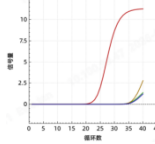
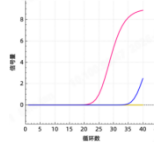
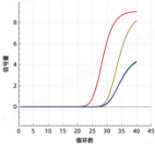
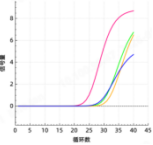
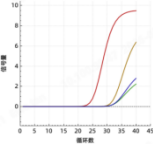
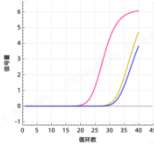
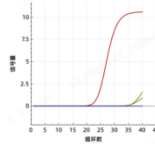
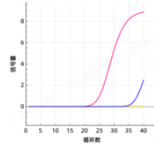
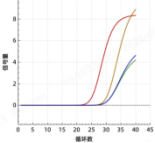
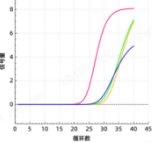
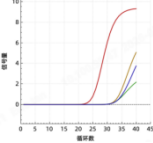
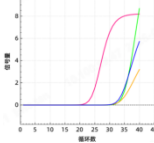
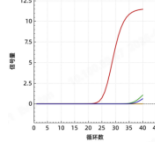
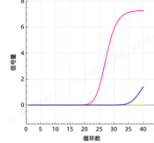
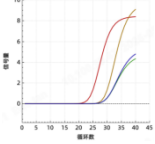
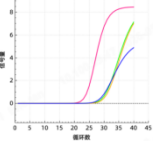
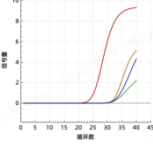
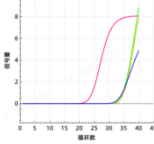
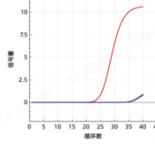
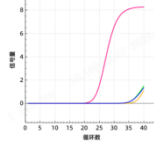
表 6 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 灵敏度试验结果（SLAN 96P）

质粒浓度	Ct 值								检出率
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联-管 2				
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参	
5×10 ³ copies/mL	29.48	28.94	28.79	22.79	28.85	28.83	29.07	21.96	管 1: 100%; 管 2: 100%
	29.54	28.93	28.87	22.82	28.91	28.87	29.14	22.03	
	29.45	29.02	29.02	22.75	28.73	28.68	29.04	22.08	
	29.58	29.05	29.1	22.83	28.99	28.91	29.06	22.02	
	29.31	28.74	28.73	22.64	28.88	28.74	29.01	22.05	
	29.39	28.9	28.77	22.69	29.14	29.08	29.05	22.11	
	29.31	28.83	28.79	22.71	29.23	28.95	29.36	22.21	
	29.39	28.89	29.01	22.65	29.25	29.19	29.05	22.03	
	29.37	28.79	28.73	22.74	28.94	29.00	28.88	21.94	
	29.31	28.73	28.77	22.82	28.86	28.81	29.06	22.02	
	29.51	28.98	28.95	22.82	28.88	28.83	28.89	21.87	
	29.33	28.79	28.77	22.88	28.83	28.71	29.00	22.03	
	29.49	28.92	28.76	22.72	28.92	28.82	29.04	22.03	
	29.41	28.81	28.91	22.85	28.95	28.87	28.99	22.01	
	29.34	28.95	28.79	22.69	28.83	28.8	29.19	22.03	

	29.47	28.84	28.85	22.76	28.93	28.97	28.96	22.02	
	29.52	28.78	28.88	22.83	29.01	28.81	29.01	21.98	
	29.38	28.91	28.74	22.74	28.9	28.99	28.95	22.06	
	29.44	28.8	28.93	22.79	28.96	28.86	29.05	22.01	
	29.5	28.86	28.81	22.87	28.84	28.93	29.00	21.97	
5×10 ² copies/mL	32.98	32.26	32.38	22.71	32.1	32.28	33.31	22.2	管 1: 100%; 管 2: 100%
	32.85	32.14	32.34	22.69	32.44	32.55	33.17	22.22	
	32.64	31.89	32.04	22.69	32.5	32.46	33.62	22.45	
	32.77	31.87	31.85	22.75	32.43	32.26	34.38	21.86	
	32.44	31.52	31.83	22.76	32.7	33.26	34.04	22.11	
	33.02	32.41	32.43	22.72	32.66	32.84	33.42	21.95	
	32.7	32.12	32.45	22.75	32.73	32.8	33.64	22.05	
	32.79	31.79	31.94	22.78	32.09	31.78	33.05	22.21	
	32.4	31.63	31.91	22.77	31.72	31.74	33.99	22.14	
	32.77	31.7	31.77	22.65	32.44	33.06	32.43	22.15	
	32.8	31.94	32.57	22.91	32.35	32.02	32.93	22.13	
	32.74	31.77	31.98	22.75	32.18	32.15	33.21	21.93	
	32.89	32.02	32.23	22.71	31.95	31.91	32.88	22.08	
	32.68	31.78	31.89	22.79	32.57	32.33	33.45	21.92	
	32.78	31.91	32.08	22.73	33.02	32.07	33.09	22.13	
	32.85	31.82	32.17	22.7	31.46	31.84	32.94	21.97	
	32.71	31.96	31.93	22.76	32.88	32.42	33.33	22.25	
	32.92	31.76	32.05	22.78	33.41	32.21	33.58	22.36	
	32.76	31.88	32.28	22.72	30.87	31.96	33.12	22.25	
	32.82	32.07	31.99	22.75	32.31	32.28	32.79	22.34	
5×10 ¹ copies/mL	37.91	35.69	35.71	22.01	36.08	36.69	37.21	21.77	管 1: 65%; 管 2: 60%
	NoCt	37.92	38.54	22.1	37.04	36.57	37.31	21.91	
	36.88	35.32	36.3	22.04	NoCt	NoCt	NoCt	21.75	
	NoCt	NoCt	NoCt	22.1	NoCt	NoCt	NoCt	21.77	
	37.17	35.42	34.87	22.07	35.11	34.63	36.4	22.05	

	NoCt	36.9	NoCt	22.05	35.03	35.12	36.76	21.98	
	37.46	35.76	36.01	22.1	NoCt	NoCt	37.14	21.83	
	36.88	35.24	35.97	22.15	36.32	35.73	NoCt	21.9	
	37.09	36.08	35.59	22.11	35.98	35.51	35.68	21.68	
	39.04	NoCt	NoCt	22.12	36.04	35.51	37.17	21.74	
	38.45	38.81	38.84	22.26	NoCt	NoCt	37.28	21.78	
	NoCt	NoCt	41.37	22.25	35.21	34.62	NoCt	21.77	
	37.83	37.36	35.45	22.22	35.67	35.88	36.85	22.02	
	39.65	NoCt	NoCt	22.25	36.41	36.24	37.03	21.87	
	39.04	36.78	37.23	22.08	35.89	35.47	36.47	21.86	
	41.37	38.6	35.32	22.12	36.12	35.96	37.28	22.04	
	37.92	35.58	36.07	22.18	35.33	36.51	36.62	22.14	
	NoCt	NoCt	38.89	22.07	NoCt	NoCt	NoCt	22.54	
	38.56	37.52	36.91	22.13	35.95	36.03	NoCt	22.13	
	37.38	36.24	35.63	22.09	36.27	35.69	35.92	21.93	

《犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测技术规范（征求意见稿）》（编制说明）

5×10 ³ copies/mL		5×10 ² copies/mL		5×10 ¹ copies/mL	
犬呼吸道六联管 1	犬呼吸道六联-管 2	犬呼吸道六联管 1	犬呼吸道六联-管 2	犬呼吸道六联管 1	犬呼吸道六联-管 2
					
					
					
					

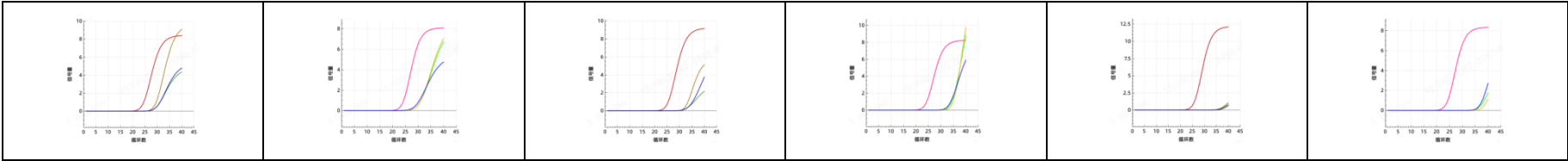
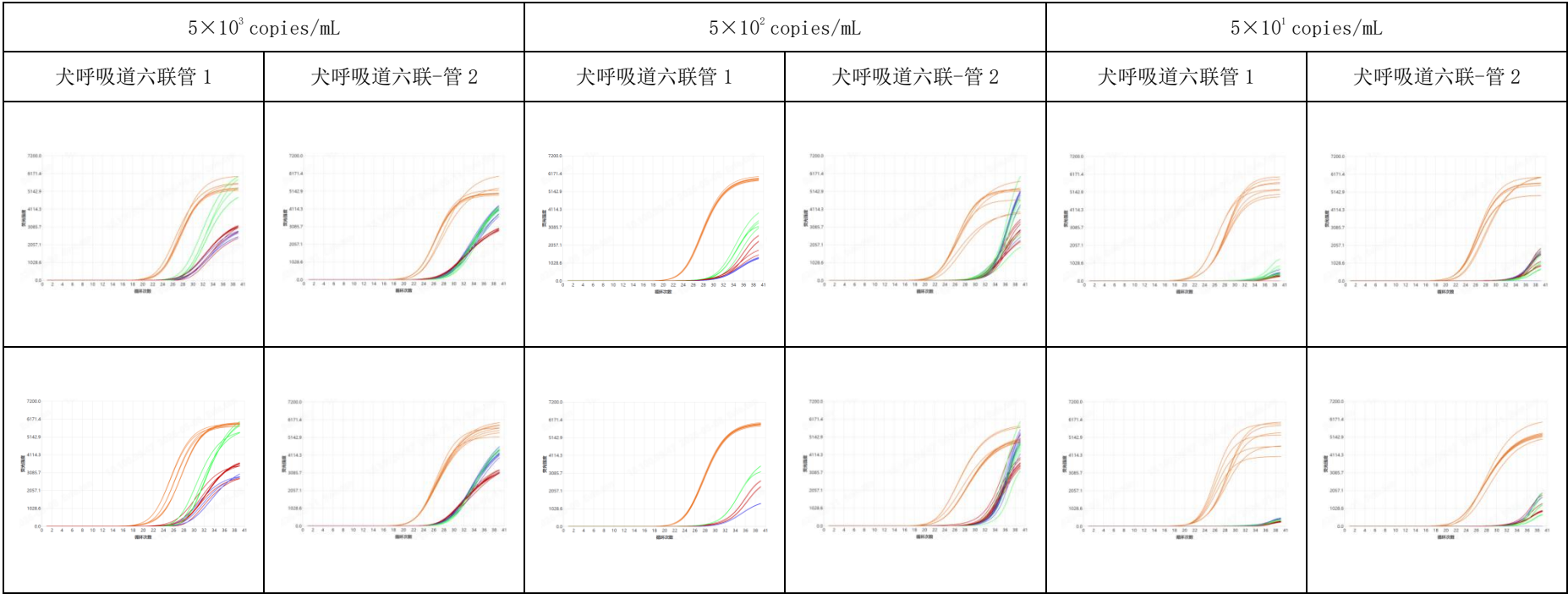


图 1 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 灵敏度试验扩增图（Nous 30V）



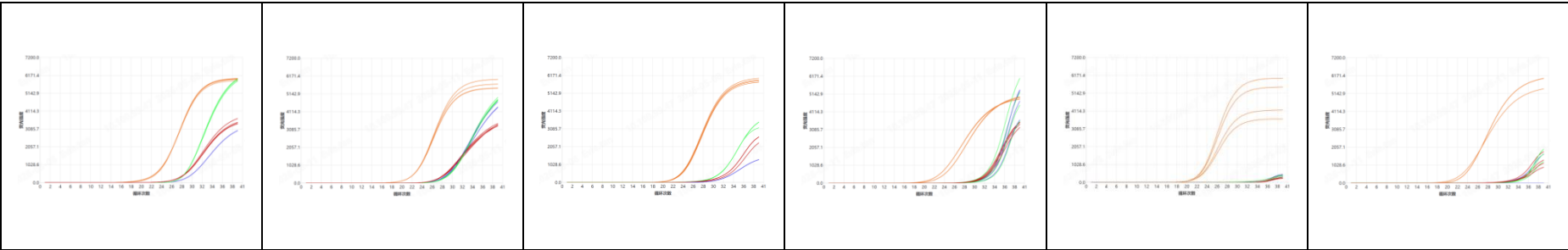


图 2 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 灵敏度试验扩增图（P810）

质粒浓度	犬呼吸道六联管 1	犬呼吸道六联-管 2
5×10^3 copies/mL		

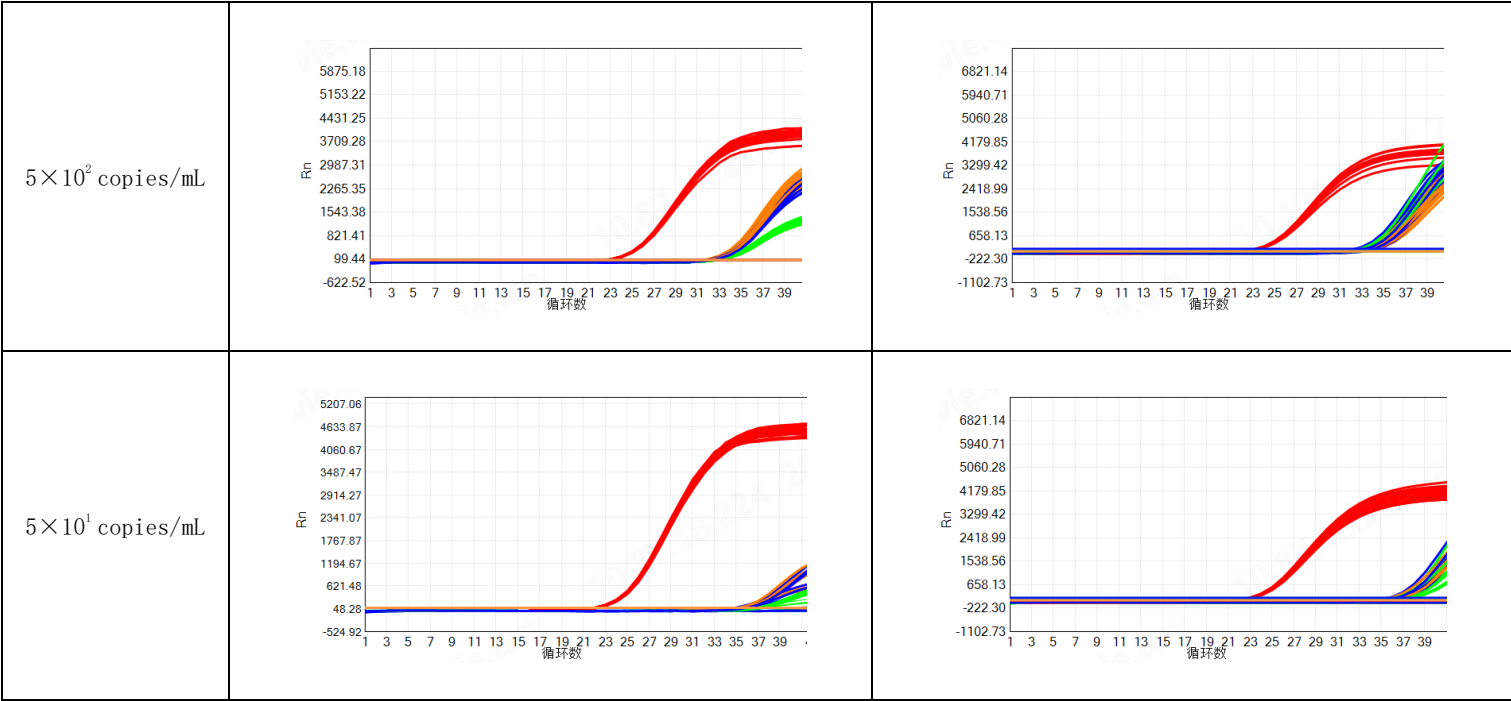


图 3 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 灵敏度试验扩增图（SLAN 96P）

2.2 特异性试验结果

对样本核酸进行检测，以内标质粒为阴性对照，结果见表 7-9，扩增曲线见图 4-6。仅内参和质粒有扩增曲线，其余样本均未检出靶点，说明该方法对犬呼吸道症候群六种病原体具有较好的特异性。

表 7 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 特异性试验结果（Noue 30V）

样本名称	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联-管 2			
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参
犬疱疹病毒	NoCt	NoCt	NoCt	22.43	NoCt	NoCt	NoCt	22.19
犬细小病毒	NoCt	NoCt	NoCt	24.2	NoCt	NoCt	NoCt	24.99
犬冠状病毒	NoCt	NoCt	NoCt	28.68	NoCt	NoCt	NoCt	29.48
狂犬病毒	NoCt	NoCt	NoCt	26.5	NoCt	NoCt	NoCt	24.43
肺炎克雷伯氏菌	NoCt	NoCt	NoCt	21.92	NoCt	NoCt	NoCt	20.67
犬轮状病毒	NoCt	NoCt	NoCt	26.41	NoCt	NoCt	NoCt	24.9
阴性对照	NoCt	NoCt	NoCt	28.96	NoCt	NoCt	NoCt	29.38
阳性对照	25.22	24.95	27.0	21.92	24.56	5.06	25.44	22.03

表 8 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 特异性试验结果（P810）

样本名称	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联-管 2			
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参
犬疱疹病毒	NoCt	NoCt	NoCt	23.31	NoCt	NoCt	NoCt	22.76
犬细小病毒	NoCt	NoCt	NoCt	24.58	NoCt	NoCt	NoCt	25.88
犬冠状病毒	NoCt	NoCt	NoCt	28.47	NoCt	NoCt	NoCt	29.88
狂犬病毒	NoCt	NoCt	NoCt	26.51	NoCt	NoCt	NoCt	25.76
肺炎克雷伯氏菌	NoCt	NoCt	NoCt	23.43	NoCt	NoCt	NoCt	21.04
犬轮状病毒	NoCt	NoCt	NoCt	27.26	NoCt	NoCt	NoCt	25.95
阴性对照	NoCt	NoCt	NoCt	28.88	NoCt	NoCt	NoCt	31.68
阳性对照	25.7	23.99	26.58	22.58	25.8	25.91	25.07	21.33

表 9 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 特异性试验结果（SLAN 96P）

样本名称	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联管 2			
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参
犬疱疹病毒	NoCt	NoCt	NoCt	21.29	NoCt	NoCt	NoCt	21.61
犬细小病毒	NoCt	NoCt	NoCt	24.78	NoCt	NoCt	NoCt	24.96
犬冠状病毒	NoCt	NoCt	NoCt	28.11	NoCt	NoCt	NoCt	29.98
狂犬病毒	NoCt	NoCt	NoCt	25.76	NoCt	NoCt	NoCt	23.77
肺炎克雷伯氏菌	NoCt	NoCt	NoCt	21.88	NoCt	NoCt	NoCt	20.78
犬轮状病毒	NoCt	NoCt	NoCt	25.56	NoCt	NoCt	NoCt	24.05
阴性对照	NoCt	NoCt	NoCt	29.36	NoCt	NoCt	NoCt	30.75
阳性对照	25.62	25.3	25.33	22.09	25.7	25.71	25.56	21.96

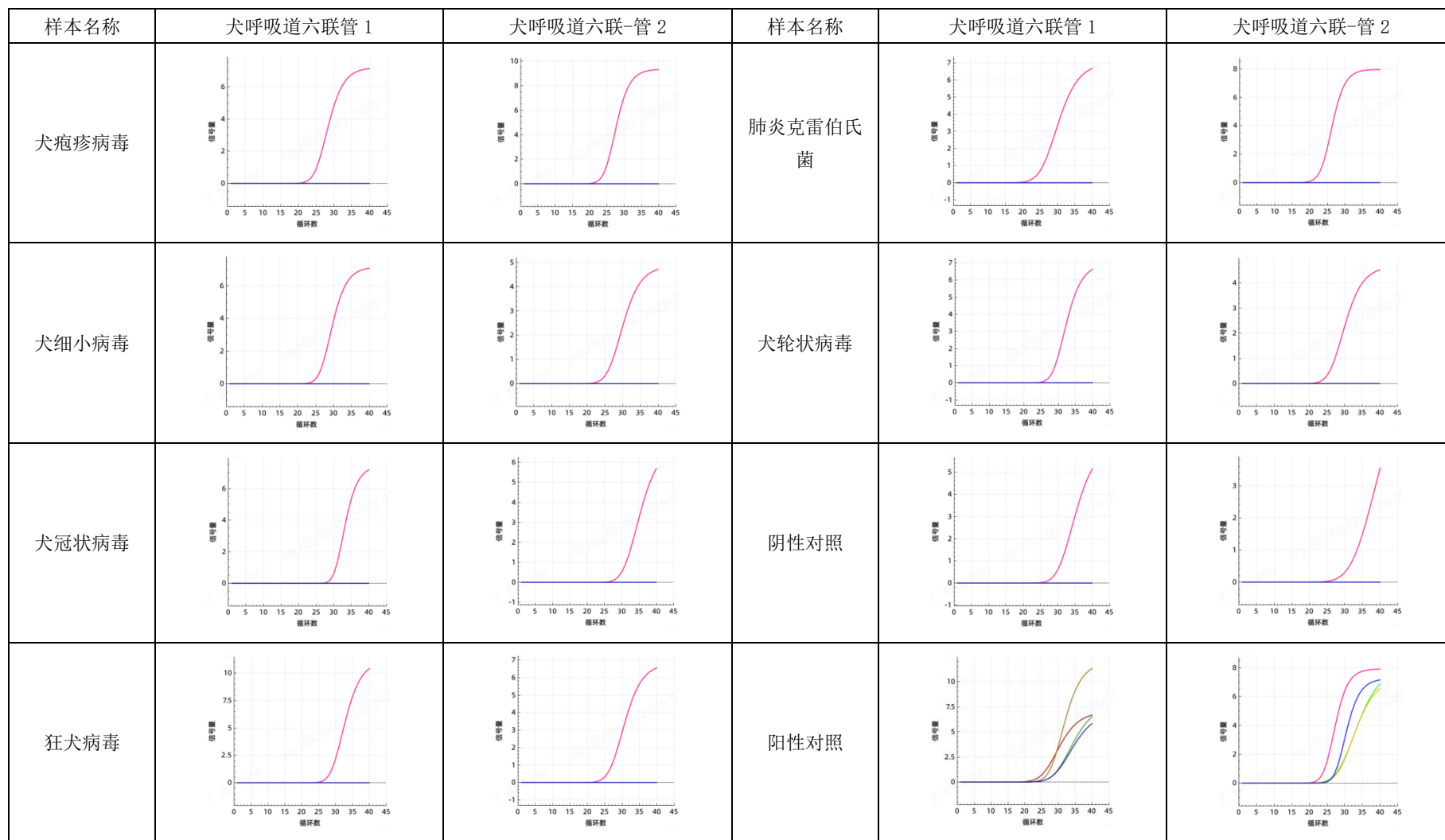


图 4 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 特异性试验扩增图 (Nous 30V)

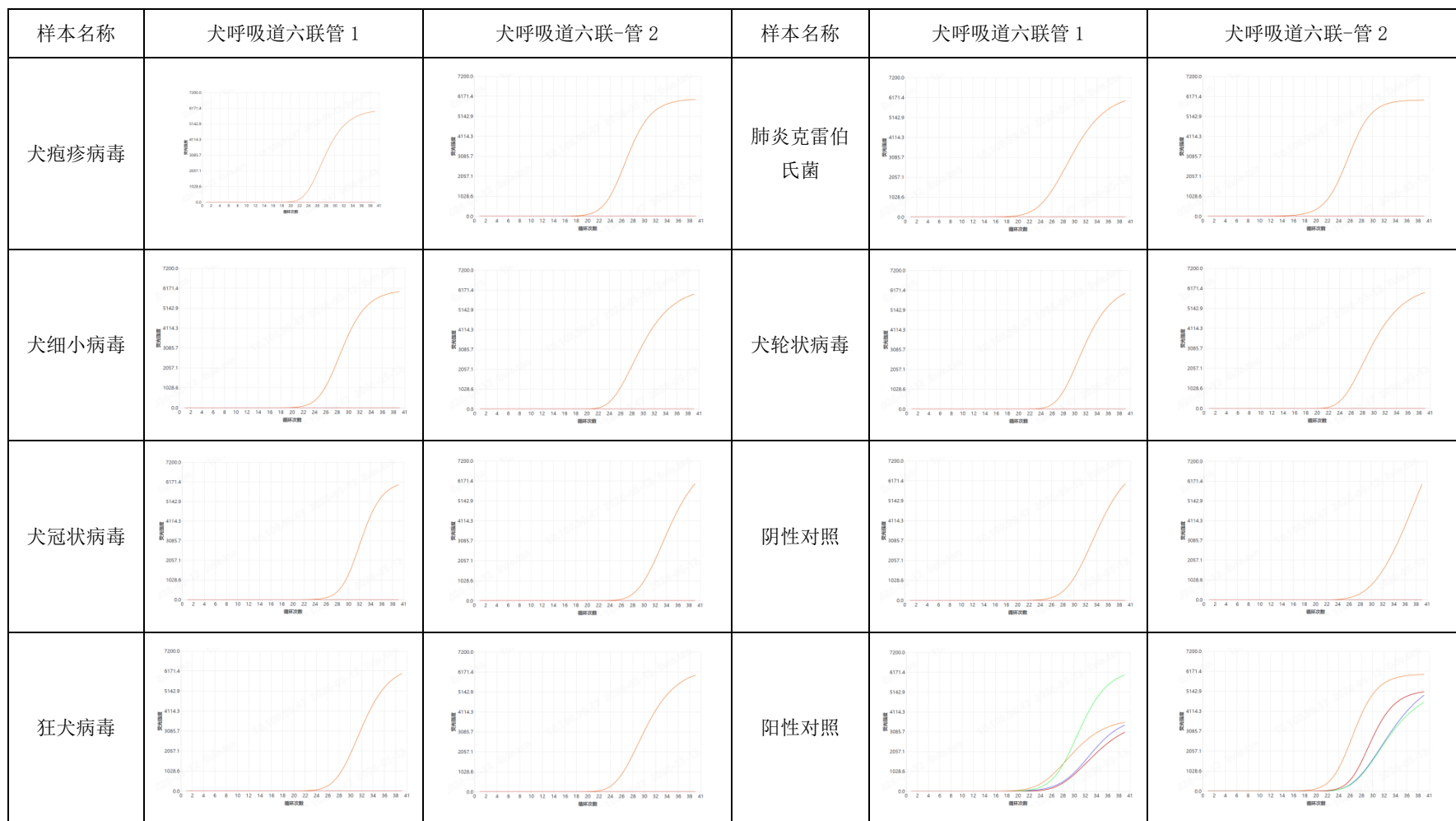


图 5 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 特异性试验扩增图（P810）

《犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 检测技术规范（征求意见稿）》（编制说明）

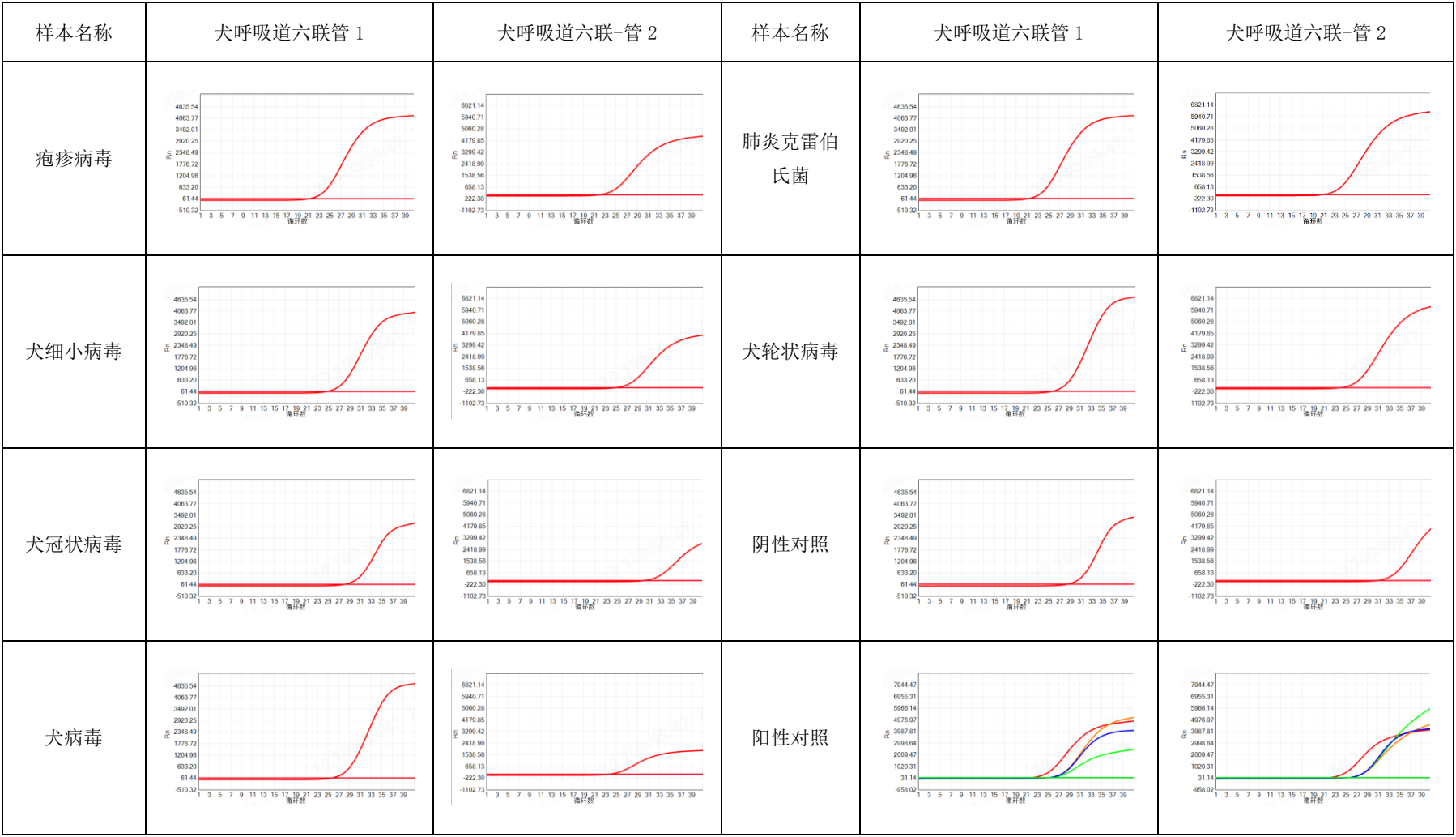


图 6 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 特异性试验扩增图（SLAN 96P）

2.4 重复性试验结果

分别计算质粒稀释 10 倍、1000 倍检测结果的 CV 值，结果见表 10-12，扩增曲线见图 7-9。所有结果的 CV 值均小于 5%，说明该方法具有非常好的重复性。

表 10 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 重复性试验结果（Nous 30V）

质粒稀 释度	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联-管 2			
	犬流感病 毒	犬副流感 病毒	犬瘟热病 毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败 血波氏杆 菌	内参
10 倍	25.56	25.09	24.5	22.43	25.63	25.58	25.59	22.73
	25.62	25.43	24.96	22.72	24.99	25.45	25.67	22.42
	24.46	24.01	25.6	21.93	25.67	25.63	25.53	22.03
	22.57	24.37	24.74	21.92	25.27	24.98	25.59	22.05
	25.37	24.96	27.35	21.92	24	25.07	25.5	22.01
	25.33	24.94	27.2	21.92	24.71	25.07	25.53	22.03
	25.28	24.73	27.39	21.91	24.56	25.08	25.47	22.03
	25.22	24.84	24.85	21.92	24.64	24.94	25.47	22.05
	25.28	24.79	24.54	21.91	24.42	24.98	25.45	22
	25.33	24.84	27.22	21.9	24.71	25.16	25.5	21.88
均值	25.00	24.80	25.84	22.05	24.86	25.19	25.53	22.12
标准差	0.91	0.39	1.29	0.29	0.53	0.26	0.07	0.25
CV 值	3.64%	1.56%	4.99%	1.30%	2.14%	1.03%	0.27%	1.15%
1000 倍	31.66	33.38	32.03	23.13	32.17	33.2	33.69	22.03
	31.98	32.54	32.39	22.06	32.4	33.36	31.43	22.05
	31.94	32.54	32.2	22.05	32.35	33.21	32.36	22.04
	31.98	32.36	32.35	22.05	32.44	33.21	33.5	22.03
	31.88	32.48	31.93	22.06	32.53	33.15	31.49	22.02
	31.5	31.93	32.67	23.24	32.63	32.8	33.95	21.98
	31.9	32.4	32.3	22.04	32.63	32.77	33.42	22
	31.94	32.46	32.28	22.04	32.09	33.01	33.85	21.94
	31.88	32.49	31.94	22.05	31.97	33.02	33.36	21.91
	31.95	32.37	32.32	22.05	32.18	32.99	31.61	22.05

均值	31.86	32.50	32.24	22.28	32.34	33.07	32.87	22.01
标准差	0.16	0.36	0.23	0.48	0.23	0.19	1.03	0.05
CV 值	0.49%	1.10%	0.70%	2.15%	0.71%	0.57%	3.14%	0.22%

表 11 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 重复性试验结果（P810）

质粒稀 释度	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联-管 2			
	犬流感病 毒	犬副流感 病毒	犬瘟热病 毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败 血波氏杆 菌	内参
10 倍	24.72	24.88	23.48	22.43	26.53	26.47	24.46	22.86
	24.62	24.5	23.47	22.9	24.72	27.09	24.42	22.59
	23.67	23.92	23.27	22.05	26.15	26.35	25.18	21.41
	23.61	23.57	24.67	22.15	26.13	25.87	25.16	21.41
	25.56	24.18	25.17	21.85	25.5	25.96	25.04	21.43
	25.5	24.24	25.07	22.07	25.88	25.98	25.13	21.4
	25.34	23.7	25.23	21.89	25.7	25.95	25.05	21.41
	25.2	23.98	24.79	22.09	25.7	25.93	25.06	21.4
	24.87	24.31	25.56	21.8	24.93	25.43	25.75	21.2
	25.05	24.43	25.99	21.86	24.92	25.56	25.83	21.15
均值	24.81	24.17	24.67	22.11	25.62	26.06	25.11	21.63
标准差	0.69	0.39	0.95	0.33	0.60	0.48	0.45	0.59
CV 值	2.79%	1.62%	3.84%	1.51%	2.34%	1.83%	1.80%	2.73%
1000 倍	31.75	32.42	32.23	22.86	31.37	31.29	32.38	21.3
	32.03	32.42	32.23	21.47	31.84	31.71	31.28	21.27
	32.01	32.47	31.96	21.48	31.79	31.53	30.94	21.28
	32.16	31.96	32.28	21.6	31.8	31.27	32.22	21.29
	31.63	32.36	31.63	21.4	32.14	32.57	31.31	21.28
	31.47	31.99	32.42	22.86	32.07	32.06	32.6	21.29
	31.76	32.08	32.17	21.3	32.12	32.01	31.97	21.29
	32.03	32.35	32.17	21.29	31.37	30.69	32.5	21.28
	31.94	32.23	31.54	21.81	31.16	30.91	32.19	21.56

	32.27	31.85	32.04	21.63	31.94	32.58	31.74	21.53
均值	31.91	32.21	32.07	21.77	31.76	31.66	31.91	21.34
标准差	0.25	0.22	0.28	0.60	0.35	0.65	0.57	0.11
CV 值	0.78%	0.70%	0.89%	2.73%	1.09%	2.04%	1.79%	0.52%

表 12 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 重复性试验结果（SLAN 96P）

质粒稀 释度	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联管 2			
	犬流感病 毒	犬副流感 病毒	犬瘟热病 毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败 血波氏杆 菌	内参
10 倍	25.01	25.42	25.03	21.82	25.77	25.68	25.61	22.03
	25.17	25.49	25.15	21.94	25.94	25.74	25.71	21.96
	25.32	25.66	25.32	22.12	25.72	25.74	25.55	21.95
	25.33	25.62	25.3	22.09	25.7	25.71	25.56	21.96
	24.99	25.56	25.17	22.06	25.8	25.73	25.64	21.94
	25.58	25.6	25.35	22.04	25.81	25.8	25.63	22
	25.07	25.63	25.2	22.02	25.76	25.76	25.68	22
	25.31	25.6	25.26	22.02	25.84	25.77	25.68	22.02
	26.45	25.58	25.5	22.32	25.75	25.71	25.63	22
	26.37	25.48	25.33	21.93	25.81	25.83	25.72	22.06
均值	25.46	25.56	25.26	22.04	25.79	25.75	25.64	21.99
标准差	0.53	0.08	0.13	0.13	0.07	0.04	0.06	0.04
CV 值	2.09%	0.30%	0.52%	0.60%	0.26%	0.17%	0.23%	0.18%
1000 倍	32.82	32.52	33.13	22.02	32.32	32.26	33.24	22.11
	32.89	32.15	32.56	22.08	32.32	32.36	33.23	22.53
	32.79	32.11	32.68	21.98	32.06	31.14	32.58	21.96
	32.81	32	32.2	22.06	32.2	30.98	32.41	21.97
	32.71	32.08	32.48	21.94	33.06	32.36	31.73	21.95
	32.56	32.14	32.65	21.92	31.58	31.24	32.01	22.03
	32.77	32.39	32.69	21.77	32.25	31.68	31.77	21.97

	32.34	32.14	32.24	21.95	32.23	31.96	32.7	22.05
	33.12	32.21	32.36	22	31.62	31.11	32.23	21.99
	33.76	32.75	32.71	22.87	31.68	31.65	32.05	21.98
均值	32.86	32.25	32.57	22.06	32.13	31.67	32.40	22.05
标准差	0.38	0.23	0.27	0.30	0.44	0.54	0.54	0.17
CV 值	1.15%	0.72%	0.83%	1.35%	1.37%	1.71%	1.68%	0.79 %

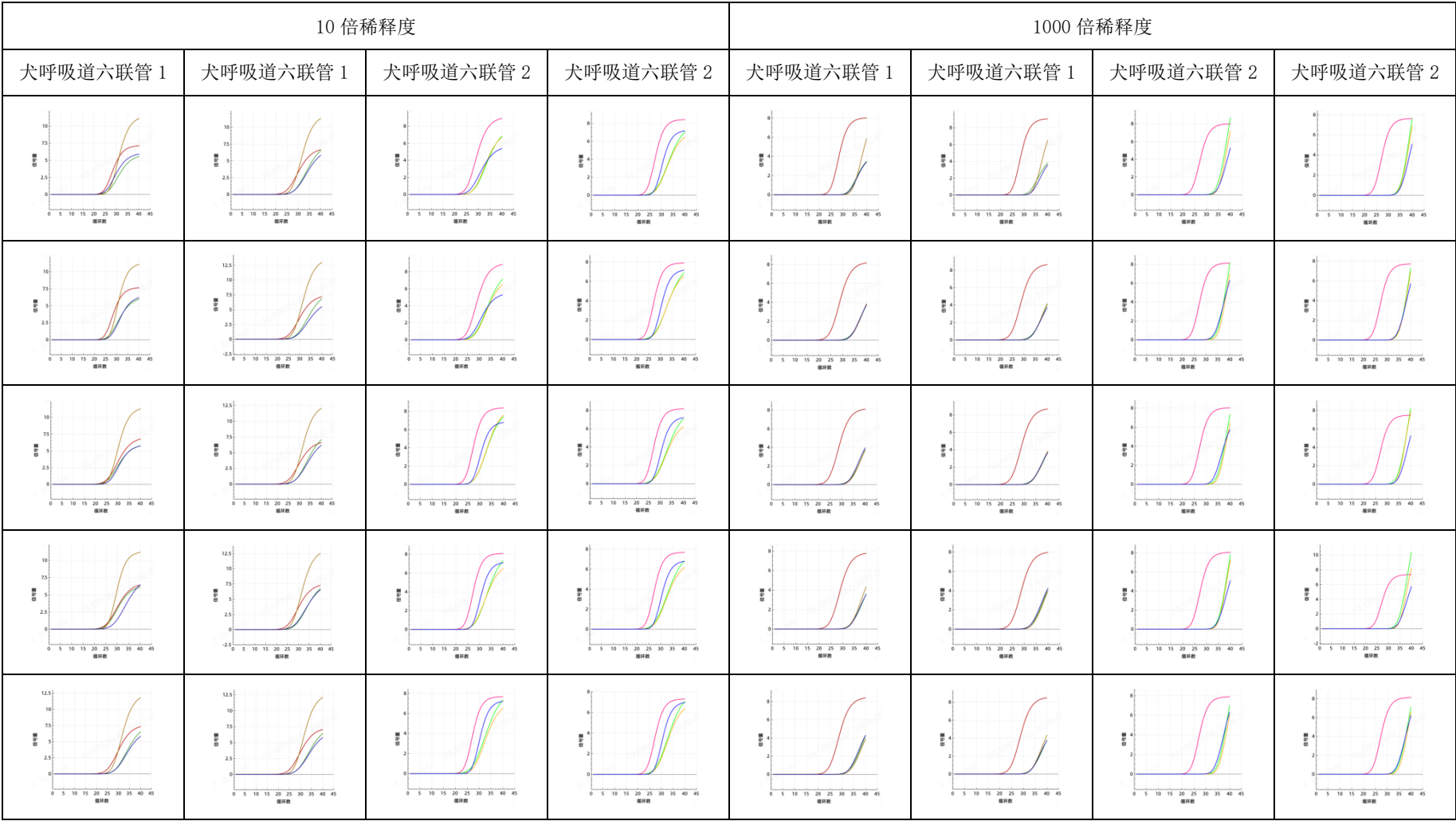


图 7 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 重复性试验扩增图（Nous 30V）

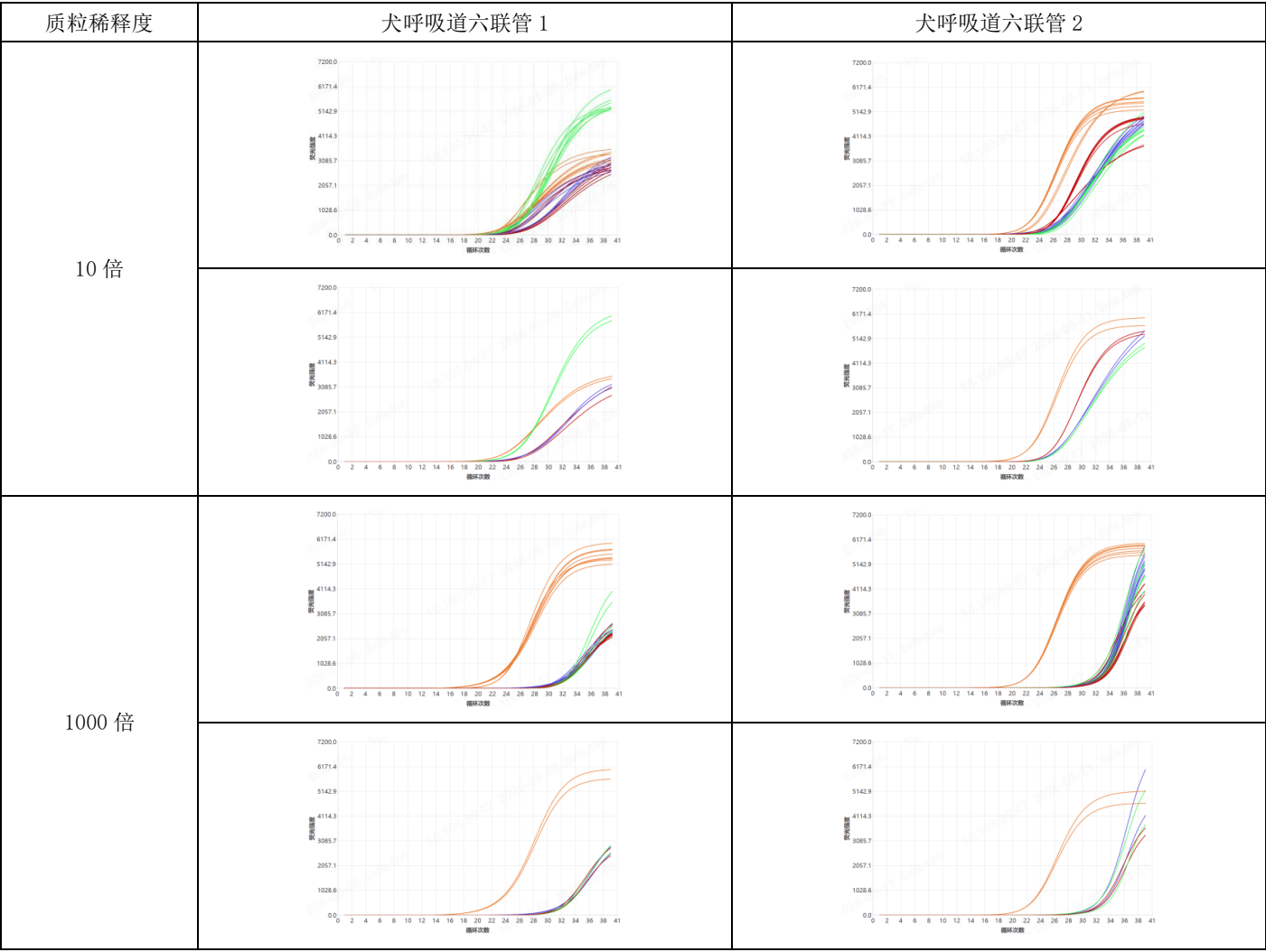


图 8 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 重复性试验扩增图（P810）

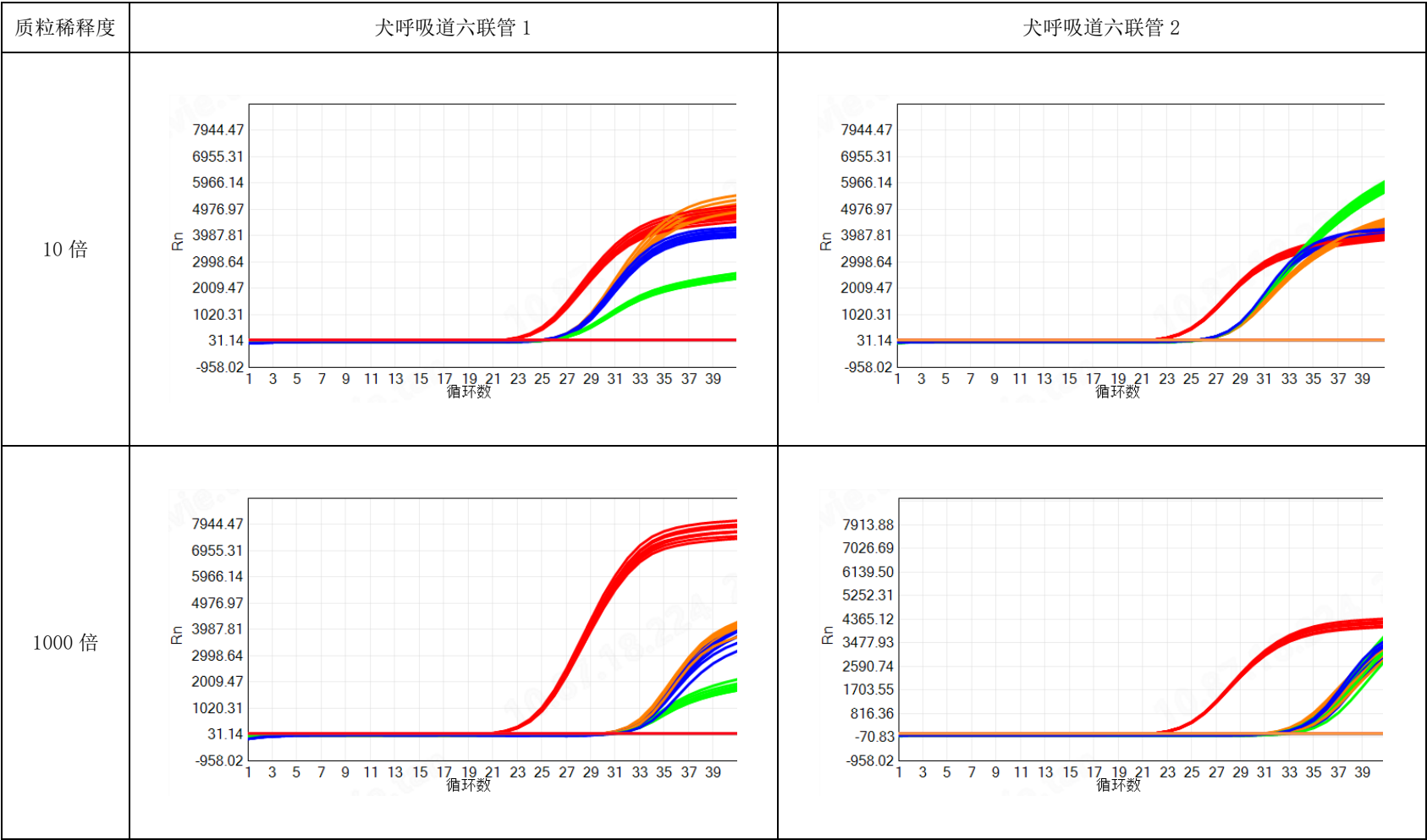


图 9 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 重复性试验扩增图（SLAN 96P）

2.5 临床样品检测结果

用本实验室常用的犬呼吸道六联核酸检测试剂盒，与快速荧光 PCR 方法（SLAN 96P、P810、Nous 30V）同时检测 100 份临床样本，两者检测结果完全一致，符合率 100%，见表 13。说明该方法适用于临床常规样本检测。表 14-16 仅展示前 10 例样本，扩增曲线见图 11-13。

表 13 犬呼吸道六联核酸检测试剂盒与快速荧光 PCR 方法检测结果统计

结果统计		对照试剂	
		阴性	阳性
考核方法	阴性	32	0
	阳性	0	68
统计分析： 阳性符合率：68/68 × 100% = 100% 阴性符合率：32/32 × 100% = 100% 总符合率（诊断准确率）：100/100 × 100% = 100%。			

表 14 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 临床样品检测结果（Nous 30V）

样本 编号	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联管 2			
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参
1	NoCt	NoCt	33.93	22.43	NoCt	NoCt	NoCt	23.28
2	27.74	25.92	25.6	28.68	24.73	25.56	27.71	28.2
3	26.69	25.75	24.88	22.72	25.85	25.43	25.67	22.32
4	NoCt	NoCt	NoCt	25.06	25.57	NoCt	NoCt	25.13
5	NoCt	NoCt	NoCt	21.92	32.53	30.08	31.81	22.22
6	NoCt	NoCt	NoCt	23.01	28.67	29.19	28.23	22.24
7	33.6	33.93	32.69	21.93	NoCt	34.56	NoCt	22.05
8	NoCt	NoCt	NoCt	29	NoCt	NoCt	NoCt	28.2
9	NoCt	31.59	NoCt	20.82	NoCt	NoCt	NoCt	21.78
10	32.91	31.79	31.81	22.99	NoCt	NoCt	NoCt	25.42

表 15 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 临床样品检测结果（P810）

样本 编号	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联管 2			
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参
1	NoCt	NoCt	34.06	23.24	NoCt	NoCt	NoCt	23.27
2	27.62	26.35	25.57	28.39	25.99	27.18	27.21	28.31
3	26.63	26.05	27.53	23.59	27.39	27.77	25.24	23.12
4	NoCt	NoCt	NoCt	26.38	27.01	NoCt	NoCt	24.41
5	NoCt	NoCt	NoCt	23.09	32.46	31.05	32.28	22.57
6	NoCt	NoCt	NoCt	24.31	29.86	30.32	28.44	22.59
7	32.92	33.41	32.95	23.29	NoCt	34.83	NoCt	22.2
8	NoCt	NoCt	NoCt	28.69	NoCt	NoCt	NoCt	28.31
9	NoCt	30.64	NoCt	21.93	NoCt	NoCt	NoCt	21.11
10	31.58	30.26	31.63	23.84	NoCt	NoCt	NoCt	23.67

表 16 犬呼吸道症候群六种病原体快速荧光 PCR 临床样品检测结果（SLAN 96P）

样本 编号	Ct 值							
	犬呼吸道六联管 1				犬呼吸道六联管 2			
	犬流感病毒	犬副流感病毒	犬瘟热病毒	内参	犬支原体	犬腺病毒	支气管败血波氏杆菌	内参
1	NoCt	NoCt	33.55	22.21	NoCt	NoCt	NoCt	22.01
2	26.04	25.85	25.7	28.41	25.9	25.93	27.09	28.45
3	26.03	25.74	25.61	22.71	25.77	25.68	25.61	22.03
4	NoCt	NoCt	NoCt	24.78	24.37	NoCt	NoCt	24.91
5	NoCt	NoCt	NoCt	21.29	32.17	31.82	32.84	21.56
6	NoCt	NoCt	NoCt	22.26	28.85	28.83	29.07	21.96
7	33.22	32.28	32.86	21.78	NoCt	35.02	NoCt	21.22
8	NoCt	NoCt	NoCt	28.11	NoCt	NoCt	NoCt	27.59
9	NoCt	30.11	NoCt	20.98	NoCt	NoCt	NoCt	20.78
10	32.79	31.79	31.94	22.78	NoCt	NoCt	NoCt	24.96

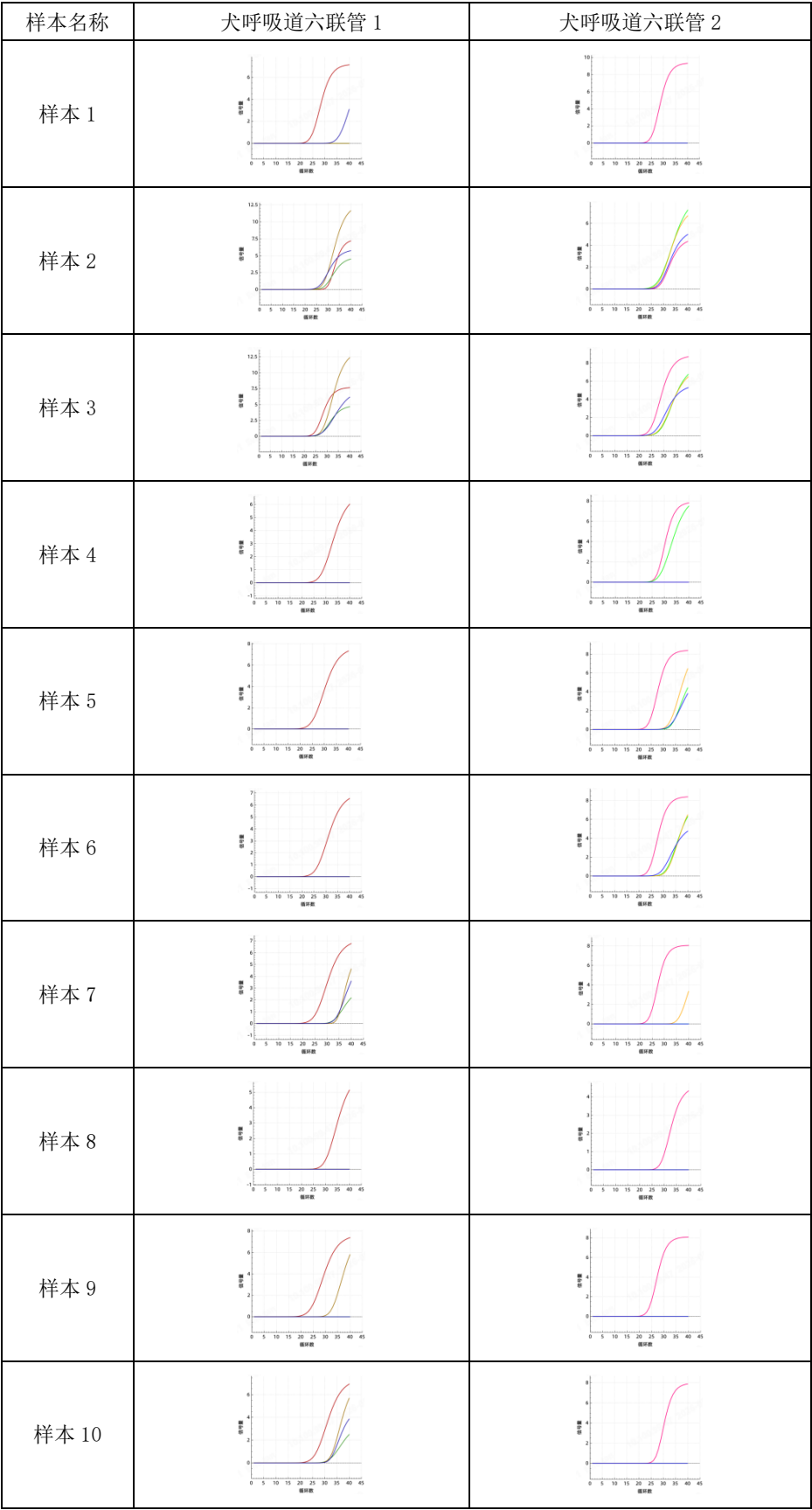


图 11 10 例临床样本试验扩增图（Nous 30V）

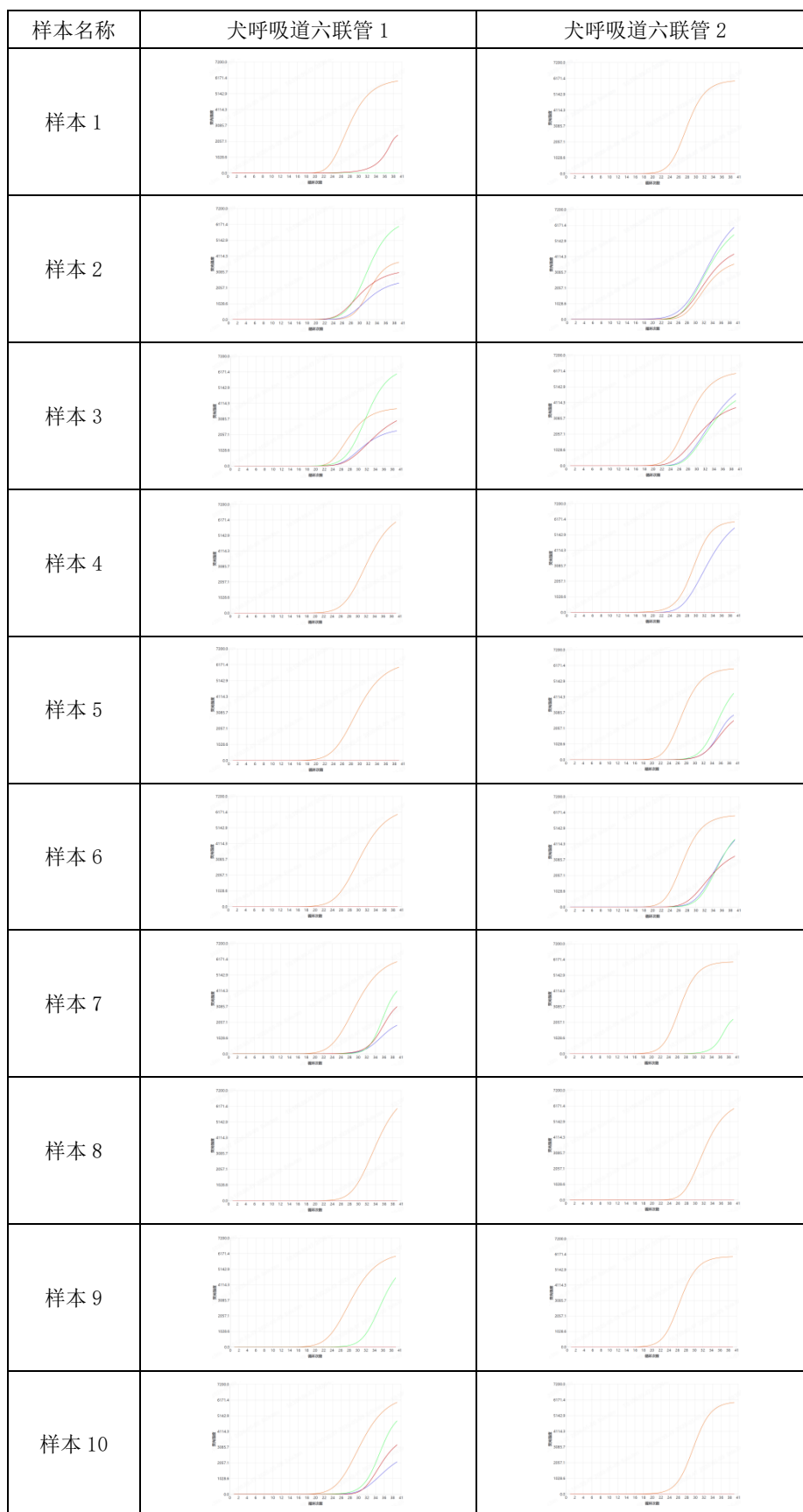


图 12 10 例临床样本试验扩增图（P810）

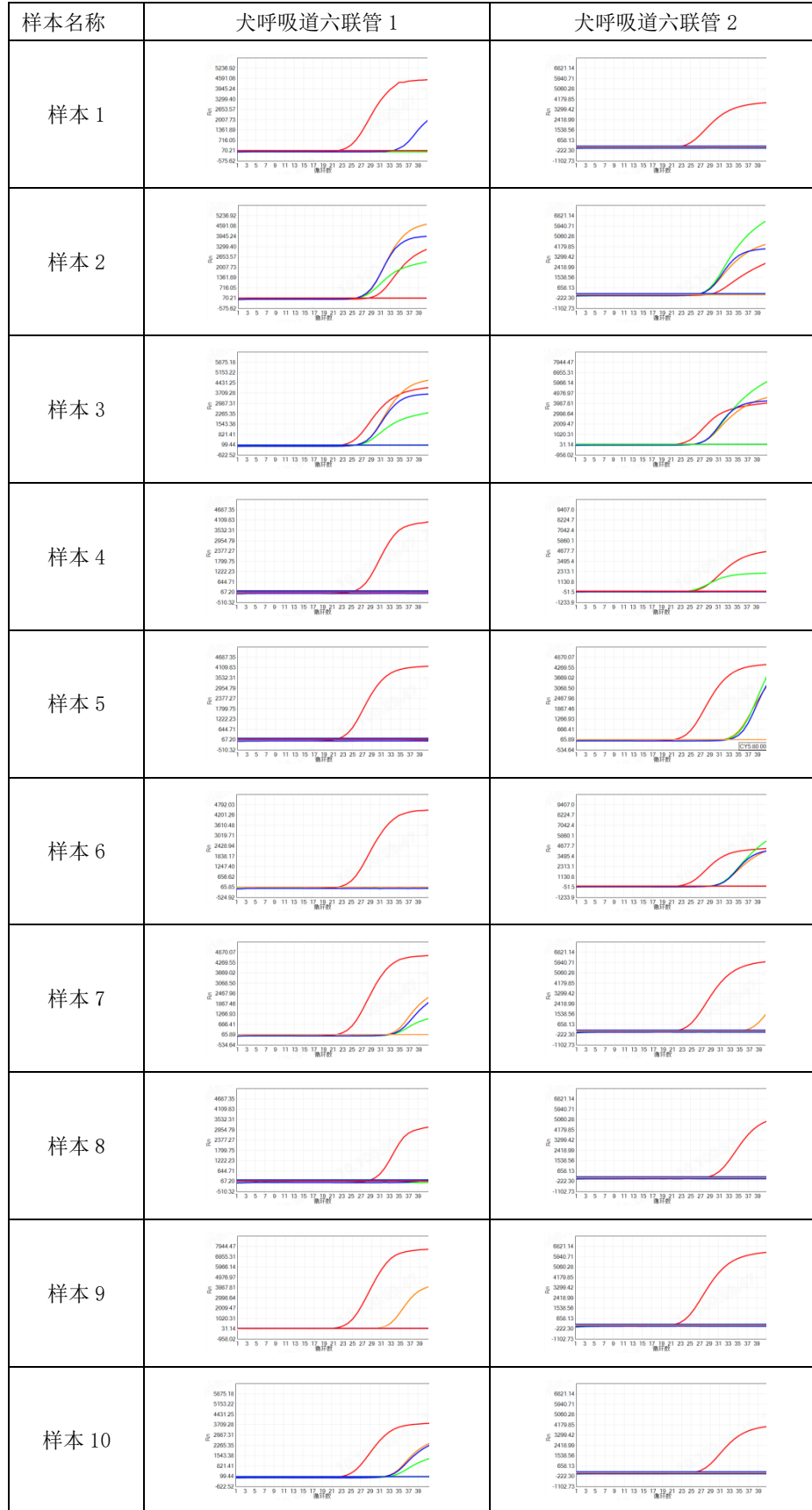


图 13 10 例临床样本试验扩增图（SLAN 96P）

四、技术经济分析论证和预期的经济效益

本项目建立的犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 方法，可以在 15-60 min 内完成犬流感病毒、犬副流感病毒、犬瘟热病毒、犬支原体、犬腺病毒 2 型、支气管败血波氏杆菌核酸检测，规范检测市场秩序，强化疫病防控效果，减少传播风险，保障宠物健康及公共卫生安全。文本的发布对降低宠物诊疗与养殖损失，节约检测时间及成本，带动相关试剂、设备产业发展，助力宠物诊疗行业提质增效，推动宠物产业健康可持续发展。

五、采用国际标准和国外先进标准情况及水平对比

本文本所建立的犬呼吸道症候群六种常见病原体实时荧光 PCR 方法为国内、外首创，未采用国际标准。

六、与现行法律、法规、政策及相关标准的协调性

与现行法律法规、强制性标准等上位标准关系没有冲突。

国内发布了 4 项团体标准 T/CVMA 205-2024《犬呼吸道症候群六种病原荧光 RAA 检测方法》、T/SHAAV 017-2024《犬呼吸道病原检测微流控芯片法》、T/CVMA43-2020《犬副流感病毒 RT-PCR 检测方法》、T/CVMA45-2020《犬腺病毒 PCR 检测方法》

国内虽有症候群检测方法，但为 RAA 和 LAMP 方法学，缺乏针对犬呼吸道症候群六种主要病原荧光 PCR 检测的专用标准，同时也缺乏针对于超快速 qPCR 仪、一体化快速核酸检测仪等不同设备上的统一检测方法。国际上虽广泛应用分子诊断技术，但方法不统一；国内检测市场缺乏规范化指导。因此，制定本团体标准具有填补空白的创新价值。

本标准建立是针对宠物犬呼吸道感染症状的六种常见的病原体开发的 2 管多重 qPCR 检测方法，扩增试剂采用针对于超快速扩增程序设计了特异性引物探针序列，并结合快速扩增酶体系在超快速 qPCR 仪平台最快实现 15 分钟左右完成扩增检测，扩增试剂结合冻干工艺技术，可以实现常规 qPCR 仪、超快速 qPCR 仪、一体化快速核酸检测仪等跨平台检测，适用范围可以得到更广泛的拓展。

七、贯彻实施标准的措施和建议

本标准发布后，可以通过相关部门组织宣贯，推荐给有相应检测设施和检测项目的实验室使用，也可以委托项目起草单位或其他相关单位组织技术培训的方式推广应用本检测标准。

八、其它应予说明的事项

无。