



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 27637—2011

---

## 副结核分枝杆菌实时荧光 PCR 检测方法

Real-time PCR method for the detection of  
*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*

2011-12-30 发布

2012-04-01 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

中 华 人 民 共 和 国  
国 家 标 准  
**副结核分枝杆菌实时荧光 PCR 检测方法**  
GB/T 27637—2011

\*

中国标准出版社出版发行  
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100013)  
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址: [www.gb168.cn](http://www.gb168.cn)

服务热线: 010-68522006

2012 年 3 月第一版

\*

书号: 155066 · 1-44345

版权专有 侵权必究

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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:中华人民共和国广东出入境检验检疫局、吉林农业大学、北京盈九思科技发展有限公司。

本标准主要起草人:刘中勇、陈茹、杨国海、高云航、曾碧健、朱道中、吴晓薇、高小博。

## 副结核分枝杆菌实时荧光 PCR 检测方法

### 1 范围

本标准规定了副结核分枝杆菌(*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*)实时荧光 PCR 检测方法的技术要求和操作规范。

本标准适用于快速检测培养物、血样、奶样、粪便和组织等临床样品中副结核分枝杆菌。

### 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—2008 分析实验室用水规格和试验方法

GB 19489—2008 实验室 生物安全通用要求

### 3 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

Ct 值:荧光信号量达到设定的阈值时所经历的循环数。

dNTP:deoxyribonucleoside triphosphate,脱氧核苷三磷酸。

DMSO:dimethyl sulfoxide,二甲基亚砷。

EDTA:ethylene diaminetetraacetic acid,乙二胺四乙酸。

PBS:phosphate buffer solution,磷酸盐缓冲液。

PCR:polymerase chain reaction,聚合酶链式反应。

Taq 酶:Taq DNA 聚合酶。

UDG 酶:uracil DNA glycosylase,尿嘧啶 DNA 糖基化酶。

### 4 原理

本标准方法采用了 TaqMan 探针实时荧光 PCR 技术原理。反应体系中包括一对用于扩增 DNA 的引物,和一条能与 PCR 产物特异杂交的荧光标记探针。探针的 5'端标记了被称为报告基团的荧光素,3'端标记了淬灭基团。在进行 PCR 延伸反应时,Taq 酶的 5'外切酶活性将 5'端荧光基团从探针上切割下来,使其与淬灭基团分离,从而仪器能检测到 5'端荧光基团所发出的荧光信号,一分子 PCR 扩增产物的生成伴随一分子荧光信号的产生。随着扩增循环次数的增加,仪器检测到的荧光信号的累积反应了扩增产物量的变化。本标准方法以副结核分枝杆菌特异的 F57 基因序列为模板,设计特异扩增引物和探针建立荧光 PCR 反应体系。

### 5 材料与试剂

#### 5.1 仪器与耗材

##### 5.1.1 接种棒。