

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4275—2015

国境口岸类鼻疽伯克霍尔德菌的实时 荧光 PCR 检测方法

Detection of *Burkholderia pseudomallei* by real-time PCR at frontier ports

2015-05-26 发布

2016-01-01 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：中华人民共和国四川出入境检验检疫局、中华人民共和国黑龙江出入境检验检疫局、上海之江生物科技股份有限公司。

本标准主要起草人：田绿波、樊学军、鞠文东、陈肖潇、石莹、杨雨、倪卫琴、朱旭平、王宁。

国境口岸类鼻疽伯克霍尔德菌的实时 荧光 PCR 检测方法

1 范围

本标准规定了国境口岸类鼻疽伯克霍尔德菌荧光 PCR 检测的对象,标本的采集、运输和保存,检测程序及结果报告。

本标准适用于国境口岸类鼻疽伯克霍尔德菌的筛选检测。

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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

类鼻疽伯克霍尔德菌 *Burkholderia pseudomallei*

属革兰氏阴性菌,是引起人及动物严重感染性疾病类鼻疽的病原体。该菌广泛分布于东南亚和澳大利亚北部的的水及土壤中。我国疫源地主要分布于海南、广东、广西、湖南、贵州、福建、香港、台湾等省区。人群对该菌普遍易感,临床症状表现复杂多样,分为急性败血症型、亚急性型、慢性型和亚临床型,最严重的症状是合并肺炎和急性败血症。该病病死率高。

3.2

荧光 PCR fluorescence polymerase chain reaction

又名实时荧光 PCR(real-time PCR),实时荧光 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 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。

3.3

Ct 值 cycle threshold

即循环阈值,指每个反应管内所检测到的荧光信号刚好达到设定的阈值时所经历的循环数。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。