

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1632.2—2005

SN/T 1632.2—2005

奶粉中阪崎肠杆菌检验方法 第2部分:PCR方法

Detection of *Enterobacter sakazakii* from dehydrated powdered milk—
Part 2: PCR method

中华人民共和国出入境检验检疫
行业标准
奶粉中阪崎肠杆菌检验方法
第2部分:PCR方法
SN/T 1632.2—2005

*
中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
网址 www.bzcbbs.com
电话:68523946 68517548
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 15 千字
2005年11月第一版 2005年11月第一次印刷

*
书号: 155066·2-16476 定价 8.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



SN/T 1632.2-2005

2005-08-18 发布

2006-02-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

A.3.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热溶解,调节 pH 至 7.4 ± 0.1 。分装,121℃高压灭菌 15 min。

A.4 结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂(VRBGA)**A.4.1 成分**

酵母提取物	3.0 g
蛋白胨	7.0 g
氯化钠	5.0 g
3号胆盐	1.5 g
乳糖	10.0 g
中性红	0.03 g
结晶紫	0.002 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.4.2 制法

将各成分加入蒸馏水中(染料配成 1%的水溶液过滤后加入),加热并不断搅拌至沸腾,使各成分完全溶解,调节 pH 至 7.4 ± 0.1 。冷却至 45℃倾注直径 15 cm 平板,可放置 2℃~8℃冷藏柜保存,4 周内使用。

A.5 显色培养基琼脂(X α -GIC):**A.5.1 成分**

蛋白胨	20.0 g
牛肉膏	5.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	20.0 g
月桂基硫酸钠	0.25 g
5-溴 4-氯 3 吡啶 α -D 葡萄糖苷	0.08 g
蒸馏水	1 000.0 mL

A.5.2 制法

将各成分加入蒸馏水中,加热溶解,调节 pH 至 7.3 ± 0.1 ,分装适当容器,121℃高压灭菌 3 min。

前 言

SN/T 1632《奶粉中阪崎肠杆菌检验方法》分为三个部分:

- 第 1 部分:分离与计数方法;
- 第 2 部分:PCR 方法;
- 第 3 部分:荧光 PCR 方法。

本部分为 SN/T 1632 的第 2 部分。

本部分的附录 A 为规范性附录,附录 B 为资料性附录。

本部分由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本部分起草单位:中国检验检疫科学研究院、中华人民共和国天津出入境检验检疫局。

本部分主要起草人:高旗利、张霞、罗茂凰、张海滨、张海英、赵贵明、姚霞。

本部分系首次发布的出入境检验检疫行业标准。

5 结果及判断

5.1 PCR 扩增产物电泳检验结果

阪崎肠杆菌 PCR 扩增产物为 282 bp。

5.2 结果判断

阴性对照和空白对照均未出现条带；阳性对照出现预期大小的扩增条带；待测样品出现预期大小的扩增条带，怀疑存在阪崎肠杆菌，需进一步确证；待测样品未出现预期大小的扩增条带，为阴性结果。

5.3 确证试验

取 36℃±1℃ 恒温培养的相应 BHI 增菌液接种于 VRBGA 及 Xα-GlcA 中，按照 SN/T 1632.1 规定，挑取可疑菌落并进行鉴定。

5.4 结果表述

PCR 扩增产物电泳检验结果阳性，且经确证为非假阳性，每 100 g 奶粉中检出阪崎肠杆菌。

PCR 扩增产物电泳检验结果阴性，每 100 g 奶粉中未检出阪崎肠杆菌。

6 废弃物处理和防止污染的措施

检验过程中的废弃物，收集后焚烧处理。

检验过程中防止交叉污染的措施参见附录 B。

奶粉中阪崎肠杆菌检验方法 第 2 部分：PCR 方法

1 范围

SN/T 1632 的本部分规定了奶粉中阪崎肠杆菌的 PCR 检验方法。

本部分适用于奶粉中阪崎肠杆菌的快速检验，其他食品可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 SN/T 1632 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。

SN/T 1632.1 奶粉中阪崎肠杆菌检验方法 第 1 部分：分离与计数方法

3 定义、术语和缩略语

下列术语、定义和缩略语适用于 SN/T 1632 的本部分。

3.1

阪崎肠杆菌 *Enterobacter sakazakii*

阪崎肠杆菌为肠杆菌科肠杆菌属革兰氏阴性无芽孢杆菌，周身鞭毛有动力，大多数产黄色素，具有 α-葡萄糖苷酶活性。

3.2

聚合酶链式反应 *polymerase chain reaction*

聚合酶链式反应，简称 PCR。使用两段（通常长度为 15 个～25 个核苷酸）寡脱氧核苷酸作为反应的引物，这两段寡脱氧核苷酸引物的序列应不发生互补作用，但它们可以和称为模板的待测 DNA 两条链上的特定位点分别发生互补。反应液包括含有镁离子的反应缓冲液、4 种脱氧核苷三磷酸（dNTP）、模板 DNA、引物及热稳定 DNA 聚合酶组成。在 DNA 聚合酶催化下，通过温度数十个循环的反复变化（DNA 变性、退火及延伸）而获得两个互补位点之间 DNA 片段的大量拷贝。

3.3 缩略语

3.3.1 PCR: polymerase chain reaction, 简称 PCR。

3.3.2 DNA: deoxyribonucleic acid, 脱氧核糖核酸。

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

3.3.4 dATP: deoxyadenosine triphosphate, 脱氧腺苷三磷酸。

3.3.5 dCTP: deoxycytidine triphosphate, 脱氧胞苷三磷酸。

3.3.6 dGTP: deoxyguanosine triphosphate, 脱氧鸟苷三磷酸。

3.3.7 dTTP: deoxythymidine triphosphate, 脱氧胸苷三磷酸。

3.3.8 dUTP: deoxyuridine triphosphate, 脱氧尿苷三磷酸。

3.3.9 UDG: uracil DNA glycosylase, 尿嘧啶 DNA-糖基酶。

3.3.10 bp: base pair, 碱基对。

3.3.11 *Taq*: *Thermus aquaticus*, 水生栖热菌。