



中华人民共和国国家标准

GB/T 28642—2012

饲料中沙门氏菌的快速检测方法 聚合酶链式反应(PCR)法

Rapid determination of *Salmonella* spp. in animal feeding stuffs—
PCR method

2012-07-31 发布

2012-11-01 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

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC76)归口。

本标准起草单位:农业部饲料质量及畜产品安全监督检验测试中心(沈阳)。

本标准主要起草人:张秀芹、张建勋、杜柏林、李欣南、杨希国、马俊驰、陈晓月。

饲料中沙门氏菌的快速检测方法

聚合酶链式反应(PCR)法

1 范围

本标准规定了饲料中沙门氏菌的快速检测的 PCR 方法。

本标准适用于饲料中沙门氏菌的定性筛选。

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/T 13091 饲料中沙门氏菌的检测方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

SN/T 1193 基因检验实验室技术要求

SN/T 1870 食品中致病菌检测方法 实时 PCR 法

3 原理

利用沸水浴使菌体细胞破裂,释放基因组 DNA,离心使细胞壁等有形物沉淀,以上清液为模板进行扩增,琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物。

4 试剂和材料

除另有规定外,试剂为分析纯或生化试剂,试验用水符合 GB/T 6682 的要求。

4.1 沙门氏菌检测用引物(对)序列为:

Sal F:5'-TCG CAC CGT CAA AGG AAC CGT AAA GC-3'

Sal R:5'-GCA TTA TCG ATC AGT ACC AGC CGT CT-3'

4.2 Premix Taq 缓冲液(2×):内含 Taq DNA 聚合酶 1.25 U/25 μL,4 mmol Mg²⁺,dNTP 各0.4 mmol。

4.3 琼脂糖:电泳级。

4.4 Marker 2000。

4.5 缓冲蛋白胨水(BPW):见 A.1。

4.6 大豆蛋白胨肉汤(RVS):见 A.2。

4.7 亚硒酸盐胱氨酸增菌液(SC):见 A.3。

4.8 10 倍上样缓冲液(10×loading buffer):0.05%的溴酚蓝,50%丙三醇溶液,1%的 SDS。

4.9 质控菌株:沙门氏菌阳性标准菌株。

4.10 50×TAE 缓冲液:见 A.4。