



中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4545.2—2016

商品化试剂盒检测方法 沙门氏菌 方法二

Commercial kit method—*Salmonella*—Test method II

2016-08-23 发布

2017-03-01 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

本部分是 SN/T 4545 的第 2 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

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：中华人民共和国北京出入境检验检疫局、中华人民共和国福建出入境检验检疫局。

本部分主要起草人：曾静、张西萌、付溥博、韩笑、王紫薇、汪琦、郑晶。

商品化试剂盒检测方法 沙门氏菌 方法二

1 范围

SN/T 4545 的本部分规定了食品中沙门氏菌显色培养筛选和乳胶凝集快速检测方法。

本部分适用于食品中沙门氏菌的定性检测。

本部分应用的显色筛选培养基可检测所有血清型的沙门氏菌；乳胶凝集反应只适用于除 A 群和 F 群外的沙门氏菌。

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 4789.4 食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

SN/T 2775 商品化食品检测试剂盒评价方法

SN/T 3266 食品微生物检验方法确认技术规范

3 生物安全措施

为了保护实验室人员的安全和防止污染，应由具备资格的工作人员检测沙门氏菌。所有培养物、DNA 提取物和废弃物应按照 GB 19489 和 GB/T 27403 中的有关规定执行。

4 方法原理

首先，利用显色筛选培养基来判定是否存在沙门氏菌，显色筛选培养基中添加 C8 酯酶和 β -D 葡萄糖苷酶，C8 酯酶在 24 h 内使沙门氏菌呈现紫红色菌落， β -D 葡萄糖苷酶使非沙门氏菌呈其他颜色，即可通过菌落颜色进行判定。然后，利用乳胶凝集实验(latex agglutination test)来对除部分 A 群和 F 群以外的沙门氏菌进行确认，乳胶颗粒表面包被与除部分 A 群和 F 群以外的沙门氏菌的特异性抗原具有特异性的多价抗血清，可通过是否凝集对非 A 群和 F 群沙门氏菌进行判定，部分 A 群和 F 群沙门氏菌则需进一步实验确证。

5 试剂和材料

5.1 沙门氏菌快速检测试剂盒

本试剂盒参考 SN/T 2775 和 SN/T 3266 由国家认监委商品化食品检测试剂盒评价专家委员会组织评价。具体评价结果参见附录 A。试剂盒组成如下：

- a) 缓冲蛋白胨水(BPW);
- b) 显色筛选培养基:伯乐生命医学产品(上海)有限公司的产品;
- c) 抑菌胶囊:伯乐生命医学产品(上海)有限公司的产品;
- d) 乳胶凝集试剂:伯乐生命医学产品(上海)有限公司的产品。

试剂盒储存于 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$,有效期 14 个月。

5.2 沙门氏菌质控菌株

沙门氏菌标准菌株。

6 仪器和设备

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

- a) 冰箱: $2^{\circ}\text{C}\sim 5^{\circ}\text{C}$ 。
- b) 恒温培养箱: $41.5^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。
- c) 均质器、振荡器。
- d) 电子天平:感量 0.1 g。
- e) 无菌锥形瓶:容量 500 mL,250 mL。
- f) 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。
- g) 无菌培养皿:直径 90 mm。
- h) pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸。

7 检测程序

食品中沙门氏菌快速检测方法二的流程图见图 1。

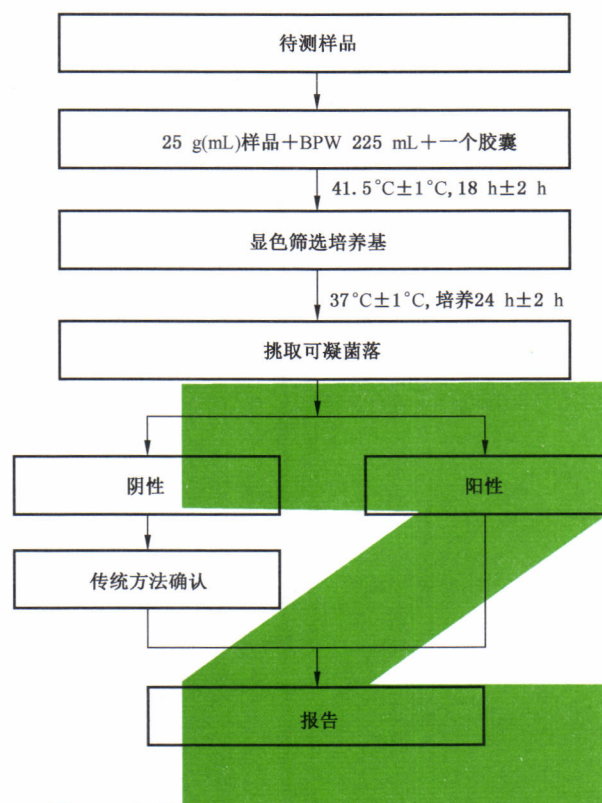


图1 食品中沙门氏菌快速检测方法流程图

8 操作步骤

8.1 样品制备、增菌培养

称取 25 g(mL) 样品放入盛有 225 mL BPW 的无菌均质杯中, 加入一个抑菌胶囊, 以 8 000 r/min~10 000 r/min 均质 1 min~2 min, 或置于盛有 225 mL 的无菌均质袋中, 加入一个抑菌胶囊, 用拍击式均质器拍打 1 min~2 min。若样品为液态, 不需要均质, 振荡混匀。若样品为固态, 加入一个抑菌胶囊后, 振荡混匀。测定 pH 值, 用 1 mol/mL 无菌氢氧化钠或盐酸调 pH 至 6.8 ± 0.2 。无菌操作将样品转至 500 mL 锥形瓶中; 如使用均质袋, 可直接进行培养, 于 $41.5^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $18\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 。

如为冷冻产品, 在 45°C 以下不超过 15 min, 或 $2^\circ\text{C} \sim 5^\circ\text{C}$ 不超过 18 h 解冻。

8.2 分离

用接种环取增菌液 1 环, 划线接种于显色筛选平板, 于 $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 培养 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 。观察平板上生长的菌落, 沙门氏菌典型菌落特征为紫红色。

8.3 乳胶凝集

自显色筛选培养基上挑取两个以上典型或可疑菌落, 作为乳胶凝集试验用的抗原。凝集即为阳性反应, 可报告阳性结果。

如凝集为阴性反应, 应采用其他标准方法进行结果确认。

SN/T 4545.2—2016

9 结果判定与报告

综合以上显色筛选平板、乳胶凝集和其他确认实验的结果,报告 25 g(mL)样品中检出或未检出沙门氏菌。

附 录 A
(资料性附录)

沙门氏菌显色培养筛选和乳胶凝集快速检测试剂盒评价结果¹⁾

A.1 包容性和排他性

选择 100 株经确认的沙门氏菌标准菌株和分离菌株,用显色培养筛选和乳胶凝集快速检测试剂盒方法进行测试,结果全部为阳性。

选择 30 株经确认的非沙门氏菌的标准菌株,用试剂盒方法进行测试,结果全部为阴性。

A.2 灵敏度、特异性、准确度及检测限

选择 5 个食品种类,15 个食品类型的样品,采用人工污染的方式分别制备未接种(L₀)、低(L₁)、高(L₂)三个污染水平试验样品,分别用显色培养筛选和乳胶凝集快速检测方法和 GB 4789.4 方法进行测试,相对灵敏度、特异性、准确度及检测限结果如表 A.1。

表 A.1 灵敏度、特异性、准确度及检测限

序号	食品基质	相对准确度 AC	相对特异性 SP	相对灵敏度 SE	检出限/(CFU/g)
1	肉类	99%	99%	100%	0.34
2	家禽	95%	97%	95%	0.052
3	鱼与海产制品	99%	98%	100%	0.052
4	蔬菜与水果	99%	99%	100%	0.34
5	奶制品	98%	98%	99%	0.34

A.3 耐变性

分别对增菌温度(正常设置为 41.5 ℃)、增菌时间(正常设置为 18 h)、显色筛选平板培养温度(正常设置为 37 ℃)和显色筛选平板培养时间(正常设置为 24 h)四个变量进行耐变性实验,检测结果表明,该试剂盒增菌培养温度和时间,平板培养温度和时间在一定的波动范围内,对检测结果不影响,与说明书标示相符。

A.4 批间变异

取 3 个不同批号试剂盒分别对含目标菌和非目标菌样品进行批间变异实验,检测结果表明,该试剂盒的批间差异不显著。

1) 本评价结果仅适用于伯乐生命医学产品(上海)有限公司的沙门氏菌显色培养筛选和乳胶凝集快速检测试剂盒。

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
商品化试剂盒检测方法
沙门氏菌 方法二
SN/T 4545.2—2016

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

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 12 千字
2017 年 11 月第一版 2017 年 11 月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066 • 2-32121 定价 16.00 元



SN/T 4545.2—2016