

Part 10: *Yersinia enterocolitica*

前 言

1 范围	1	第1部分：总则
2 规范性引用文件	2	第2部分：规范性引用文件
3 术语和定义	3	第3部分：术语和定义
4 检测原理	4	第4部分：检测原理
5 检测步骤	5	第5部分：检测步骤
6 结果判定	6	第6部分：结果判定
7 检测记录	7	第7部分：检测记录
8 检测报告	8	第8部分：检测报告
9 检测环境	9	第9部分：检测环境
10 检测人员	10	第10部分：检测人员
11 检测设备	11	第11部分：检测设备
12 检测试剂	12	第12部分：检测试剂
13 检测标准	13	第13部分：检测标准
14 检测流程	14	第14部分：检测流程
15 检测记录	15	第15部分：检测记录
16 检测报告	16	第16部分：检测报告
17 检测环境	17	第17部分：检测环境
18 检测人员	18	第18部分：检测人员
19 检测设备	19	第19部分：检测设备
20 检测试剂	20	第20部分：检测试剂
21 检测标准	21	第21部分：检测标准
22 检测流程	22	第22部分：检测流程
23 检测记录	23	第23部分：检测记录
24 检测报告	24	第24部分：检测报告
25 检测环境	25	第25部分：检测环境
26 检测人员	26	第26部分：检测人员
27 检测设备	27	第27部分：检测设备
28 检测试剂	28	第28部分：检测试剂
29 检测标准	29	第29部分：检测标准
30 检测流程	30	第30部分：检测流程
31 检测记录	31	第31部分：检测记录
32 检测报告	32	第32部分：检测报告
33 检测环境	33	第33部分：检测环境
34 检测人员	34	第34部分：检测人员
35 检测设备	35	第35部分：检测设备
36 检测试剂	36	第36部分：检测试剂
37 检测标准	37	第37部分：检测标准
38 检测流程	38	第38部分：检测流程
39 检测记录	39	第39部分：检测记录
40 检测报告	40	第40部分：检测报告
41 检测环境	41	第41部分：检测环境
42 检测人员	42	第42部分：检测人员
43 检测设备	43	第43部分：检测设备
44 检测试剂	44	第44部分：检测试剂
45 检测标准	45	第45部分：检测标准
46 检测流程	46	第46部分：检测流程
47 检测记录	47	第47部分：检测记录
48 检测报告	48	第48部分：检测报告
49 检测环境	49	第49部分：检测环境
50 检测人员	50	第50部分：检测人员
51 检测设备	51	第51部分：检测设备
52 检测试剂	52	第52部分：检测试剂
53 检测标准	53	第53部分：检测标准
54 检测流程	54	第54部分：检测流程
55 检测记录	55	第55部分：检测记录
56 检测报告	56	第56部分：检测报告
57 检测环境	57	第57部分：检测环境
58 检测人员	58	第58部分：检测人员
59 检测设备	59	第59部分：检测设备
60 检测试剂	60	第60部分：检测试剂
61 检测标准	61	第61部分：检测标准
62 检测流程	62	第62部分：检测流程
63 检测记录	63	第63部分：检测记录
64 检测报告	64	第64部分：检测报告
65 检测环境	65	第65部分：检测环境
66 检测人员	66	第66部分：检测人员
67 检测设备	67	第67部分：检测设备
68 检测试剂	68	第68部分：检测试剂
69 检测标准	69	第69部分：检测标准
70 检测流程	70	第70部分：检测流程
71 检测记录	71	第71部分：检测记录
72 检测报告	72	第72部分：检测报告
73 检测环境	73	第73部分：检测环境
74 检测人员	74	第74部分：检测人员
75 检测设备	75	第75部分：检测设备
76 检测试剂	76	第76部分：检测试剂
77 检测标准	77	第77部分：检测标准
78 检测流程	78	第78部分：检测流程
79 检测记录	79	第79部分：检测记录
80 检测报告	80	第80部分：检测报告
81 检测环境	81	第81部分：检测环境
82 检测人员	82	第82部分：检测人员
83 检测设备	83	第83部分：检测设备
84 检测试剂	84	第84部分：检测试剂
85 检测标准	85	第85部分：检测标准
86 检测流程	86	第86部分：检测流程
87 检测记录	87	第87部分：检测记录
88 检测报告	88	第88部分：检测报告
89 检测环境	89	第89部分：检测环境
90 检测人员	90	第90部分：检测人员
91 检测设备	91	第91部分：检测设备
92 检测试剂	92	第92部分：检测试剂
93 检测标准	93	第93部分：检测标准
94 检测流程	94	第94部分：检测流程
95 检测记录	95	第95部分：检测记录
96 检测报告	96	第96部分：检测报告
97 检测环境	97	第97部分：检测环境
98 检测人员	98	第98部分：检测人员
99 检测设备	99	第99部分：检测设备
100 检测试剂	100	第100部分：检测试剂

出口食品中致病菌的分子分型

MLST 方法

第 10 部分 大肠埃希氏菌和沙门氏菌

肠埃希氏菌和沙门氏菌

1 范围

实验室 MLST 检测方法

SN/T 4525 的本部分规定了食品中肠埃希氏菌和沙门氏菌的分子分型检测方法。

本部分适用于出口食品中肠埃希氏菌和沙门氏菌的分子分型检测。

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。

凡是引用不带日期的引用文件,其最新版本适用于本文件。

GB/T 4789.8—2008 食品卫生微生物学检验 大肠埃希氏菌检验

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

GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测

3 术语和定义、缩略语

3.1 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1.1

管家基因 *house-keeping genes*

所有细胞共有的基因,其产物是细胞代谢所必需的基本生命活动所必需的,其基因序列高度保守并且在大多数情况下持续表达。又称看家基因、持家基因。

3.1.2

Taq-DNA 酶 *Thermus aquaticus* DNA polymerase从 *Thermus aquaticus* 细菌中提取的耐热 DNA 聚合酶。

3.2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

dNTP:脱氧核糖核苷三磷酸(deoxy-ribonucleoside triphosphate)

EDTA:乙二胺四乙酸(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid)

MLST:多位点序列分型(multilocus sequence typing)

ST:序列型(Sequence Type)

Tris:三(羟甲基)氨基甲烷[tris(hydroxymethyl)aminomethane]

心片段的核苷酸序列,对其组合进行索引编

MLST 是通过测定多个管家基因中长约 470 bp 核

[illegible]

除有族號以外，所有支派皆做清楚，為方便地或字數太多，和靈燈東面有念之字，即面之，在云為之

要求：所有试剂均用于DNA-酶污染的容器分装。

5.4.4.2.2. DNA-取込能

卷三 目錄

5-2 dNTP, dATP, dCTP, dGTP

5.3 DNA 提取试剂: DNA 提取试剂盒

UNCLASSIFIED//FOR OFFICIAL USE ONLY

—526— 附 錄 二

2 mol/L Tris-HCl (pH 8.4), 1 mol/L ZnCl₂, 100 mol/L EDTA,

5.6 TAE 缓冲液

肠炎耶尔森氏菌 *Y. enterocolitica* 8081(CNCICT3174)。

5.7 参考菌株: 小肠结肠炎

6-1 PCR 17-1442

6.2 离心机

6.3 数据管理

6.6 微量移液器和灭菌吸头: 10 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L

6.7 恒温培养箱。

6.8 恒温水浴锅

69 天平

6-10 灭滴三角烧瓶, 500 mL, 250 mL.

—6577— 東洋文庫蔵書目録

灭菌风管:内径 3 mm,长 5 cm

6.12 3

则程序：

7 检测

对《物权法》颁布前已存在的房屋所有权、林木所有权、土地承包经营权、建设用地使用权等不动产，按照公示的时间先后确定其效力。

這齣結果明確的精品進行「除劇展」，在斯高利的小腸胃腸及那小傷風，和「紅豆家集園棚」結果「加

序如整合后得到完整序列,将测序结果上传至 MIST 网站(<http://www.mist.net>)进行在线数据分析。

与 iB-MIST 数据库中菌株的资料进行比较。在确定 ST 的 16S rDNA 序列型 (Sequence Type, ST) 并与 iB-

在 MIST 数据库由菌株的资料进行比较。在确定 STs 的, 将菌株的序列型 (Sequence Type, ST) 与 IP 基础上应用 MEGA 程序对菌株进行聚类分析 (参见附录 B)。

的保存方法见附录A.1.1。

附录A.1.1.1 附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1

附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1

附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1

的选择

8.3—PCR引物和测序引物

附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1

附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1 附录A.1.1.1.1

保存备用

物在使用前按照相应分子量进行稀释到1.0 μmol/L。

为了保护实验室人员的安全,应由具备资格的工作人员检测小肠结肠炎耶尔森氏菌,所有培养物和废弃物应按照 GB 19489 中的有关规定执行。

9.2 防污染措施

防止污染措施应符合 GB/T 27403 的规定。

附录 A

规范性附录

小肠结肠炎耶尔森氏菌管家基因及引物序列

表 A.1 小肠结肠炎耶尔森氏菌管家基因

基因名称	基因表达产物
putative ubiquinol	glutaminyl-tRNA synthetase
glnS	glutaminyl-tRNA reductase
hemA	arginine decarboxylase
speA	bifunctional heptose 7-phosphate kinase/heptose 1-phosphate adenylyltransferase
rfaE	

基因名称	PCR 产物长度	引物
glnS	638 bp	5'-TTCATGCGACATATGCAATCC-3' 5'-CCACGACCTATAGTGTAGC-3'
hemA	547 bp	5'-GAGGAACTG-3' 5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3'
speA	648 bp	5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3' 5'-ATTCGAAACGGTTTACCA-3'
rfaE	557 bp	5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3' 5'-ATTCGAAACGGTTTACCA-3'
glnS	602 bp	5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3' 5'-ATTCGAAACGGTTTACCA-3'
hemA	550 bp	5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3' 5'-ATTCGAAACGGTTTACCA-3'
speA	509 bp	5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3' 5'-ATTCGAAACGGTTTACCA-3'
rfaE	550 bp	5'-GATCCAGTGGCGTTTACCA-3' 5'-ATTCGAAACGGTTTACCA-3'

附录 B

《资料性附录》

系统遗传进化树的构建

依次非致密度大和度小等家系和家系后首先对DNA序列进行MLSA分析,然后将所得的本场家系
 外谱系确定为所结场及非致密度小家系的下一型MLSA。在确定“SA”的基础上,根据家系所对应的家系基因
 优势家系“clonal complex”构建系统遗传进化树。图 B.1 为家系“10909”和“10903”的遗传进化树。

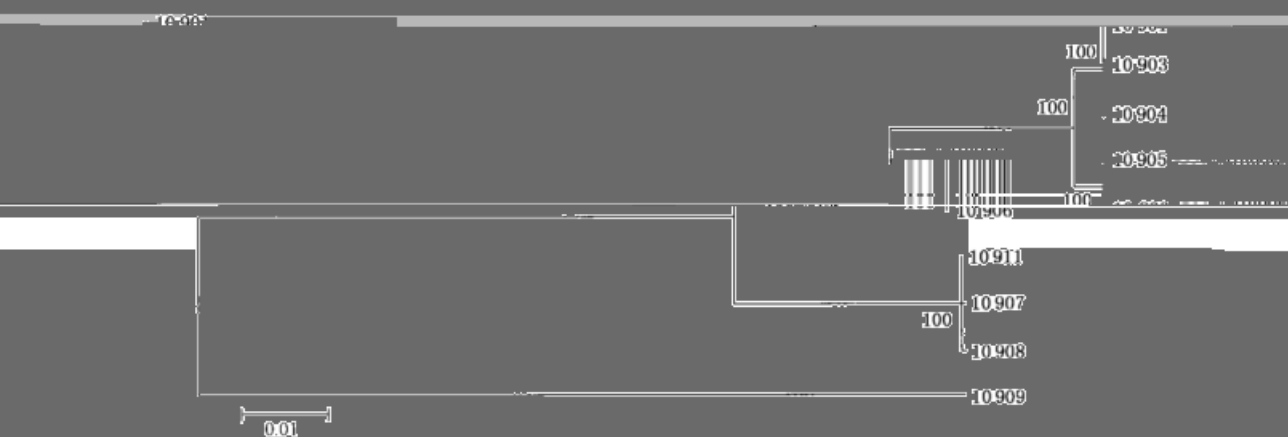


图 B.1 部分小册结肠炎的水株式图系统遗传进化树