

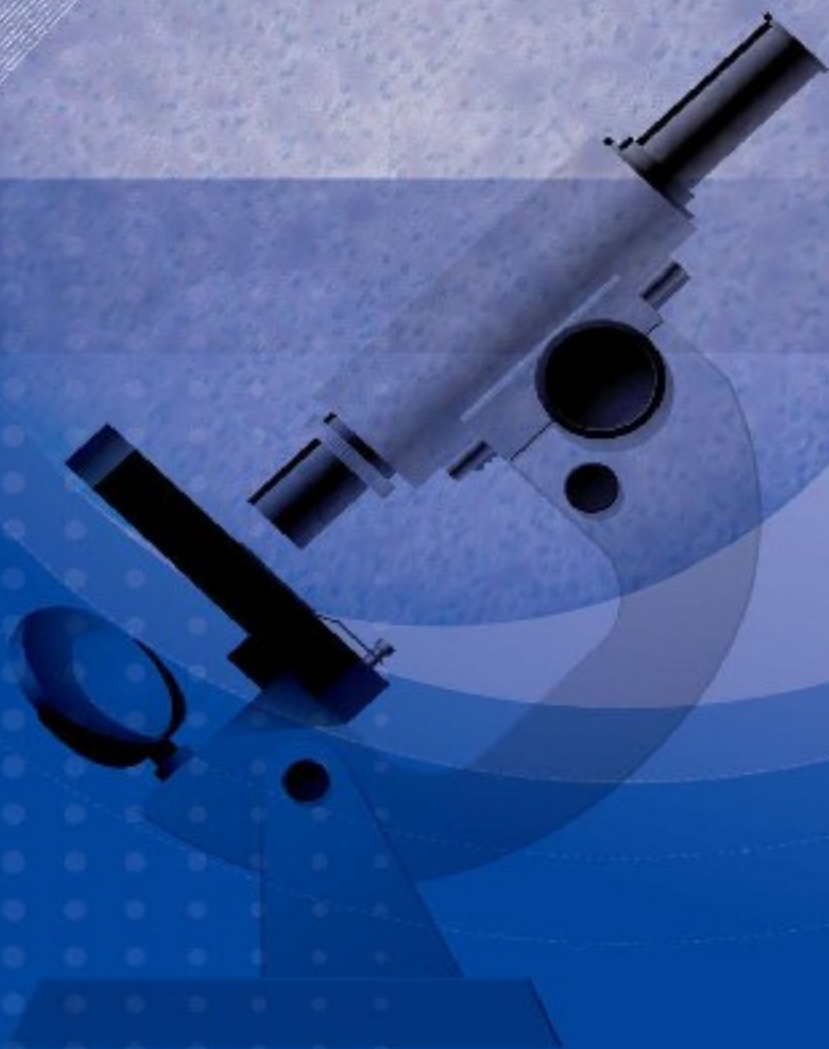


浙江省“十一五”重点教材建设项目

食品微生物检测 实训教程

主 编 陈江萍

副主编 曹雅丽 陈正冬



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS

浙江大学出版社

浙江省“十一五”重点教材建设项目

食品微生物检测实训教程

主 编 陈江萍
副主编 曹雅丽 陈正冬



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

食品微生物检测实训课程 / 陈江萍主编. — 杭州:
浙江大学出版社, 2011. 2

ISBN 978-7-308-08396-6

I. ①食… II. ①陈… III. ①食品微生物—食品检验
—教材 IV. ①TS207.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 013649 号

食品微生物检测实训教程

主 编 陈江萍

副主编 曹雅丽 陈正冬

责任编辑 黄兆宁

封面设计 刘依群

出版发行 浙江大学出版社

(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州中大图文设计有限公司

印 刷 杭州丰源印刷有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 20.75

字 数 505 千

版 印 次 2011 年 2 月第 1 版 2011 年 2 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-08396-6

定 价 38.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部邮购电话(0571)88925591

《食品微生物检测实训教程》编写人员

主 编 陈江萍(台州科技职业学院)

副主编 曹雅丽(台州科技职业学院)

陈正冬(台州科技职业学院)

参编人员(按姓氏笔画排序)

叶春勇(浙江省柑桔研究所)

冯尚坤(台州科技职业学院)

杨文花(台州科技职业学院)

林 媚(浙江省柑桔研究所)

凌代红(台州科技职业学院)

徐海菊(台州科技职业学院)

黄洪舸(浙江黄岩第一罐头食品厂)

蔡 健(台州科技职业学院)

前 言

人们食用的食品种类繁多,通过食物所传播的病原微生物也各种各样。民以食为天,食以安为先,食品卫生与人民健康息息相关。在我国人民群众生活水平极大提高的今天,人们对食品已经不再仅仅满足于果腹,而是要好吃,吃得营养健康,吃得安全,吃出令人陶醉的饮食文化。为了保障人民群众对食品高水准的要求,首先应该保证食品的安全卫生。随着我国经济体制改革的不断深入及食品工业出口创汇的需要,对食品安全卫生的要求也是越来越高。1995年正式颁布的《中华人民共和国食品卫生法》,为搞好食品卫生工作,保证食品卫生质量提供了法律依据。2007年10月31日国务院讨论并原则通过《中华人民共和国食品安全法》(草案),于2008年4月20日向社会全文公布,广泛征求社会各界人士的意见和建议,2009年2月28日《中华人民共和国食品安全法》正式公布,自2009年6月1日起施行,表明国家进一步加强了食品卫生和食品安全的法制建设。掌握食品微生物检测技术是食品从业人员和食品卫生监督者的基本要求,是贯彻执行食品卫生法,提高食品质量必不可少的技术保证,是保证食品安全卫生的重要手段。

随着高等教育改革的进一步深入,我国高等职业教育得到迅速发展,已经成为我国高等教育的重要组成部分,一个基本适应我国社会主义现代化建设需要的高等职业教育体系已初步形成。与此同时,高等职业教育的教材规划建设工作也被列入各高职高专院校的重要工作日程,以满足高职高专教育发展的需要。根据教育部《关于全面提高高等职业教育教学质量的若干意见》(教高〔2006〕16号)等文件精神,以及我国颁布的食品卫生微生物学检验方法为基础,结合日常检测及教学工作实践,组织编写了《食品微生物检测实训教程》,作为高职高专食品营养与检测、食品加工技术等相关专业的教材。

本教材力求突出高职高专教育特色,以适应社会行业需要为目标,针对高职高专学生的特点和培养目标,内容符合“理论指导,实践操作”的原则,适合于采用理实一体化、项目教学、任务驱动、工学交替等教学形式,以培养学生的动

手能力、实践创新能力和职业能力。教材内容注重理论知识与实践的紧密结合,突出重点、突出实用,侧重实际操作、实验方法,并对操作经验及食品分析、质量保证做了适当介绍。教材注重培养学生的动手能力和实践创新能力,从事食品卫生检验工作的技术人员通过本书也能在较短的时间内达到学以致用。

本教材由陈江萍担任主编,曹雅丽、陈正冬担任副主编。参加编写人员及具体分工是:陈江萍编写绪论,项目 I 中的任务三,项目 II 中的任务一、任务五、任务六、任务八,并对全书进行编排统稿;蔡健编写项目 I 中的任务一、任务二;曹雅丽编写项目 II 中的任务二、任务三;陈江萍和黄洪舸共同编写项目 II 中的任务四;凌代红编写项目 II 中的任务七;陈江萍和林媚共同编写项目 III 中的任务一;杨文花编写项目 II 中的任务九;陈江萍和杨文花共同编写项目 II 中的任务十;陈江萍和叶春勇共同编写项目 III 中的任务二;冯尚坤编写项目 III 中的任务三;徐海菊编写项目 III 中的任务四;陈正冬编写项目 III 中的任务五、任务六。

由于编者水平有限、时间仓促,书中难免有疏漏与不妥之处,真诚期望广大师生和读者批评指正。

编 者

2010 年 9 月



目 录

绪论	1
一、微生物与食品安全	1
二、引起食源性疾病的病原微生物	2
三、食品微生物检测的意义	4
四、食品微生物检测的范围及指标设定	4
五、微生物检测的要求	6
六、食品微生物检测技术的发展现状及进展	7
项目 I 食品微生物检测前的准备工作	11
任务一 取样	11
模块 1 取样准备工作	11
模块 2 取样计划	13
模块 3 取样方法	19
模块 4 样品的标记和运输	22
任务二 检测样品的制备	28
模块 1 稀释液的选择	28
模块 2 不同类型样品的制备	28
附录 ICMSF 对食品中微生物的危害度分类与抽样方案说明	29
任务三 实验室的准备工作	32
模块 1 实验室常规设备的准备	32
模块 2 无菌操作	32
模块 3 器械的清洗和消毒	33
【知识链接】外科消毒术的建立	35
项目 II 食品中指标菌及常见致病菌的检测	36
任务一 微生物计数及检测	36
模块 1 细菌总数的检测	36
模块 2 霉菌和酵母菌	45
模块 3 嗜热菌	58
【知识链接】显微镜的发明	61
任务二 食品中肠道指标菌及其检测	63
模块 1 大肠菌群	63



模块 2 粪大肠菌群	75
模块 3 大肠杆菌	78
模块 4 肠球菌	99
【知识链接】微生物学奠基人——巴斯德	109
任务三 沙门氏菌及其检测	111
模块 1 沙门氏菌概述	111
模块 2 沙门氏菌的检测	116
【知识链接】美国沙门氏菌感染事件	129
任务四 金黄色葡萄球菌及其检测	132
模块 1 金黄色葡萄球菌概述	132
模块 2 金黄色葡萄球菌的检测	137
模块 3 金黄色葡萄球菌的计数	142
【知识链接】血清学试验简介	154
任务五 空肠弯曲菌及其检测	156
模块 1 空肠弯曲菌概述	156
模块 2 空肠弯曲菌的检测	159
【知识链接】格林-巴利综合征	168
任务六 副溶血性弧菌及其检测	170
模块 1 副溶血性弧菌概述	170
模块 2 副溶血性弧菌的检测	173
【知识链接】创伤弧菌食物中毒	180
任务七 肉毒梭菌及肉毒毒素的检测	181
模块 1 肉毒梭菌概述	181
模块 2 肉毒梭菌的检测	184
【知识链接】啤酒的历史	190
任务八 蜡样芽孢杆菌及其检测	192
模块 1 蜡样芽孢杆菌概述	192
模块 2 蜡样芽孢杆菌的检测	194
【知识链接】单克隆抗体及生物导弹	202
任务九 志贺氏菌及其检测	204
模块 1 志贺氏菌概述	204
模块 2 志贺氏菌的检测	208
【知识链接】爱吃蜡的微生物——石油酵母	218
任务十 小肠结肠炎耶尔森氏菌及其检测	219
模块 1 小肠结肠炎耶尔森氏菌概述	219
模块 2 小肠结肠炎耶尔森氏菌的检测	223
【知识链接】抗生素的发展历程	230



项目Ⅲ 综合实训	232
任务一 肉与肉制品中的微生物及其检测	232
模块1 肉与肉制品概述	232
模块2 鲜肉中的微生物及其检测	234
模块3 冷藏肉中的微生物及其检测	236
模块4 肉制品中的微生物及其检测	238
附录 我国对肉及肉制品要求的微生物检测项目和限量要求	243
【知识链接】 HACCP 食品安全管理体系认证简介	244
任务二 蛋与蛋制品中的微生物及其检测	246
模块1 蛋与蛋制品中的微生物污染	246
模块2 蛋与蛋制品中致泻大肠埃希氏菌的检测	247
【知识链接】 “无孔不入”的微生物	260
任务三 乳与乳制品中的微生物及其检测	261
模块1 鲜乳中的抗生素及其检测	261
模块2 婴儿乳粉中阪崎肠杆菌及其检测	266
模块3 乳制品中乳酸菌及其检测	273
【知识链接】 话说奶酪	280
任务四 水产品中的微生物及其检测	282
模块1 水产品中的微生物污染	282
模块2 水产品中单核细胞增生李斯特氏菌的检测	285
【知识链接】 罗伯特·科赫	293
任务五 罐头食品商业无菌检测	295
模块1 引起罐头食品腐败的原因	295
模块2 罐头食品商业无菌的检测	298
【知识链接】 罐头食品是谁发明的?	306
任务六 调味品和酱腌制品中的微生物及其检测	307
模块1 调味品中的微生物及其检测	307
模块2 酱腌制品中的微生物及其检测	312
【知识链接】 长寿——从养好肠道内的 2 斤微生物开始	317
参考文献	318



绪 论



知识目标

- 认识微生物与食品安全的密切联系；
- 认识食品微生物检测的重要性；
- 初步了解微生物检测的范围和技术进展。



能力目标

- 掌握食品微生物检测的基本原则和要求。

近年来,食品质量安全问题日益突出,已经成为一大社会问题,有人甚至将食品安全列为资源、环境、人口之后的第四大社会问题。近些年来,食品安全方面的恶性、突发性事件屡屡发生,食源性疾病造成的死亡人数逐年上升。食品安全问题已经成为国际组织、各国政府和广大消费者关注的焦点。根据世界卫生组织(WHO)的估计,全球每年发生食源性疾病约10亿人次,包括美国在内的一些经济发达国家发生食源性疾病的概率也相当高,平均每年有三分之一的人群感染食源性疾病。由此表明,工业化程度高并不能保证降低食源性疾病暴发的危险性。而另一方面,随着工业化程度的发展,食品在生产、需求、供应体系等方面有了较大的变化,食物供应链变得越来越复杂和难以控制,一旦发生食品安全问题,其影响和波及面会更大。由于工业化产品的规模大,以及某一食品的消费群体的增大,导致不安全食品的召回、销毁所带来的经济损失和社会影响也会更大。在食品安全问题中,儿童、孕妇、年老体弱者和免疫力低下人群更容易感染食源性疾病,成为最主要的受害人群。

一、微生物与食品安全

根据世界卫生组织掌握的资料,在食源性疾病危害因素中,微生物性食物中毒仍是首要危害。尽管近年来发生了苏丹红、孔雀石绿、氯霉素等事件,但在危害的程度和发生范围方面,病原微生物引起的中毒和感染仍占据首要地位。沙门氏菌是最常见引发食源性疾病的病原菌,也是全球报告最多的、公认的食源性疾病的首要病原菌。根据FAO/WHO微生物危险性评估专家组织报告的资料,沙门氏菌在各国发病率分别为:澳大利亚每10万人中38例,德国每10万人中120例,日本每10万人中73例,荷兰每10万人中16例,美国每10万人中14例。而近年来空肠弯曲菌引起疾病的危险性在国际范围内受到广泛关注,很多发达国家,如美国、丹麦、芬兰、爱尔兰、荷兰、瑞典、瑞士和英国等,都有空肠弯曲菌病流行的报道。在我国沿海地区和大部分内地省区,副溶血性弧菌引起的食物中毒已跃居



沙门氏菌之上,其次是葡萄球菌肠毒素、变形杆菌、蜡样芽孢杆菌和致病性大肠埃希氏菌等。还应关注一些有害微生物产生的生物性毒素,如黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等真菌毒素和肠毒素等细菌毒素,它们已经成为食品中有害物质污染和中毒的重要因素。

食品加工的实质,一是保持和产生食品营养风味的可食性,二是防止微生物的生长而导致食品腐败变质,丧失食品的商品价值。随着我国食品业的快速发展,如何控制有害微生物这一最普遍、最基本的质量安全问题一直困扰着食品业。当今有关农业产业、食品加工、检测和控制等技术已有相当大的发展,有关食品安全的法规也日趋成熟和完备,但我们仍面临更多新的和更为严重的食品安全问题。在食品生产流通过程中,如何用正确的方法确保食品免受有害和腐败微生物的污染,是不容忽视的关键环节。一些食品企业缺乏预防和控制有害微生物的正确技术,以滥用添加剂来达到防腐保鲜的目的,有的甚至以防腐剂来实施控制。一些工厂违规违法生产,使监管难以做到疏而不漏,导致在食品生产的源头、过程和最终产品上安全问题时有发生。

我国食品加工企业绝大多数规模较小,全国现有的700多万家小型食品加工作坊、摊点中,80%以上为10人以下的手工作坊,有的工艺落后,卫生条件差。许多食品加工企业,并未形成整体性的食品生产和安全管理体系。有些食品企业不注重产地原料生产和管理,只按市场机制进行农产品和食品原料收购,原料来源不一或来源不清,导致在食品生产的源头出现管理缺失。有的食品则是由多家生产企业分头或分步生产,在质量要求、管理技术水平和食品安全控制方面都存在差别。

微生物在自然环境的大量存在和其多样性、多种存在方式以及快速繁殖、产毒等特点,使微生物的存在和污染始终贯穿在整个食品生产过程中,使得对微生物进行有效控制一直是食品加工的难题,很多企业为加工食品的微生物超标和保质期问题大伤脑筋。食品生产最重要的方面是采用多种方式控制微生物对食品产生的腐败,保持食品的可食性和商品性。

现代人需要更多更丰富的自然新鲜和原味的食品,而现代社会大量的食品贸易需求更是要求食品在更长的许可时间内保持其新鲜和原有的品质,过度的消毒杀菌加工方式会大大丧失食物原有的风味和营养,使食品失去商品价值。这些需求在技术和管理等方面对现代食品加工业提出新的挑战,控制食品中的微生物和保证其安全性已经成为各国食品加工业的重大课题。

二、引起食源性疾病的病原微生物

引起食物中毒的微生物通常分为两类:第一类是指在人类肠道中增殖的微生物,如沙门氏菌属、弯曲菌属、致病性大肠埃希氏菌等,部分肠道致病微生物的感染剂量见表1;第二类是指可在食物中或通过肠道产生毒素(细菌毒素、真菌毒素)的微生物,如蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、肉毒梭菌等。热处理可以杀死细菌的营养体,但对芽孢却无能为力,即当这些食物被无效地热处理或冷处理后,存活的芽孢就会萌发。

表 1 部分肠道致病微生物的感染剂量

微生物	感染剂量/个	微生物	感染剂量/个
空肠弯曲菌	1000	大肠埃希氏菌	$10^6 \sim 10^7$
沙门氏菌	$10^4 \sim 10^{10}$	大肠埃希氏菌 O157 : H7	10~100
福氏志贺氏菌	$10^2 \sim 10^9$	霍乱弧菌	1000
痢疾志贺氏菌	$10 \sim 10^4$	副溶血性弧菌	$10^6 \sim 10^9$
小肠结肠炎耶尔森氏菌	10^7	产气荚膜梭菌	$10^6 \sim 10^7$
枯草芽孢杆菌	$10^4 \sim 10^8$	甲型肝炎病毒	<10 粒子
肉毒梭菌	10^3 (能产生生理反应的数量)	诺沃克病毒	<10 粒子

还可以根据引起疾病的严重程度对食物中毒进行分类,这对于确定微生物标准(抽样方案)和风险分析十分有用。国际食品微生物标准委员会(ICMSF)将微生物的危害度、食品的特性及处理条件三者综合在一起进行食品中微生物危害程度分类(见表 2)。

表 2 ICMSF 微生物危害分类

危害程度	病原菌	
常见食源菌的危害分类(1986年)	(1)温和的、直接的、有限传染,很少引起死亡	蜡样芽孢杆菌、空肠弯曲菌、产气荚膜梭菌、金黄色葡萄球菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌、牛肉绦虫、弓形虫
	(2)温和的、直接的、潜在广泛传染,可能引起死亡或者造成严重后遗症	致病性大肠埃希氏菌、肠炎沙门氏菌和其他不包括伤寒沙门氏菌和副伤寒沙门氏菌的沙门氏菌,除痢疾志贺氏菌的志贺氏菌,单核细胞增生李斯特氏菌
	(3)严重的、直接的	A、B、E 和 F 型肉毒梭菌,甲型肝炎病毒,痢疾志贺氏菌,伤寒沙门氏菌,A、B 和 C 型副伤寒沙门氏菌
食源菌的危害分类(2000年)	(1)食物中毒微生物引起的,缓和的,没有生命危险的,没有后遗症,通常病程较短	蜡样芽孢杆菌(包括引起呕吐的毒素),A 型产气荚膜梭菌,诺沃克病毒,大肠埃希氏菌(EPEC、EPEC),金黄色葡萄球菌,非 O1 和非 O139 型霍乱弧菌,副溶血性弧菌
	(2)严重危害的,引起残疾但没有生命危险,较少有后遗症,中等病程	空肠弯曲菌,大肠埃希氏菌,肠炎沙门氏菌,鼠伤寒沙门氏菌,志贺氏菌,甲型肝炎病毒,单核细胞增生李斯特氏菌,小球隐孢子虫,致病性小肠结肠炎耶尔森氏菌,圆孢子虫
	(3)对一般人群危害严重,有生命危险,有慢性后遗症,病程长	布鲁氏菌,肉毒梭菌,肠出血性大肠埃希氏菌(EHEC),伤寒沙门氏菌,副伤寒沙门氏菌,肺结核,痢疾杆菌,黄曲霉毒素,O1 和 O139 型霍乱弧菌
	(4)对特殊人群危害严重,有生命危险,有慢性后遗症,病程长	空肠弯曲菌 O : 19 (GBS),C 型产气荚膜梭菌,甲型肝炎病毒,小球隐孢子虫,创伤弧菌,肠致病性大肠埃希氏菌(EPEC),单核细胞增生李斯特氏菌,阪崎肠杆菌

食品是一些疾病(特别是病毒性疾病)传播的重要媒介。通过食品传播的食源型病毒性疾病包括甲型肝炎、脊髓灰质炎以及由轮状病毒、诺沃克病毒(小圆形结构病毒)等引起的肠炎。

目前国际上通常把各类微生物实验室所处理的生物因子(微生物和生物毒素)根据其



危害程度从小到大分为生物安全一级微生物、生物安全二级微生物、生物安全三级微生物和生物安全四级微生物。中华人民共和国国务院令(第424号)《病原微生物实验室生物安全管理条例》中也将其分为四级,即危害程度从小到大分为第一病原微生物、第二病原微生物、第三病原微生物和第四病原微生物。在食品微生物实验室的监测对象中,具体分类如下。

①生物危害一级(无或极低的个体和群体危险):双歧杆菌、乳酸菌。

②生物危害二级(中度的个人危险,低度的群体危险):沙门氏菌、副溶血性弧菌、蜡样芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、假单胞菌、大肠埃希氏菌 O157、空肠弯曲菌、创伤弧菌(海产软体动物、牡蛎等海产品)、小肠结肠炎耶尔森氏菌、古典生物型霍乱弧菌、气单胞菌(熟肉类)、溶藻弧菌(海产品)、产毒素菌(黄曲霉、寄生曲霉、杂色曲霉、构巢曲霉、赭曲霉、黄绿青霉、桔青霉、圆弧青霉、岛青霉、纯绿青霉、皱褶青霉、产紫青霉、串珠镰刀菌、禾谷镰刀菌、三线镰刀菌、雪腐镰刀菌、梨孢镰刀菌、拟枝孢镰刀菌、木贼镰刀菌、茄病镰刀菌、尖孢镰刀菌、头孢霉、单端孢霉等)(粮食、水果、蔬菜、调味品和油料等)、脊髓灰质炎病毒、轮状病毒。

③生物危害三级(高度的个人危险,低度的群体危险):肉毒梭菌(发酵制品、肉制品)、炭疽杆菌(肉类)、肝炎病毒(水产品、肉类等)。

④生物危害四级(高度个人和群体危险):鼠疫耶尔森氏菌(畜肉)、埃尔托生物型霍乱弧菌(海产品、各类食品)。

三、食品微生物检测的意义

食品中丰富的营养成分为微生物的生长、繁殖提供了充足的物质基础,是微生物良好的培养基,因此,微生物污染食品后很容易生长繁殖,导致食品变质,失去其应有的营养成分,同时产生有害、有毒物质,一旦人们食用了被微生物污染的食物,会发生各种急性和慢性中毒,甚至有致癌、致畸、致突变作用的远期效应。所以,食品在食用之前必须对其进行微生物检测,这是确保食品质量和食品安全的重要手段,也是食品卫生标准中的一项重要内容。食品微生物检测是食品质量监督管理必不可少的重要组成部分:

①它是衡量食品卫生质量的重要指标之一,是判断被检食品能否食用的科学依据之一。

②通过食品微生物检测,可以判断食品加工环境及食品卫生环境,能够对食品被细菌污染程度作出正确的评价,为各项卫生管理工作提供科学依据,为传染病和食物中毒提供防治措施。

③食品微生物检测坚持贯彻“预防为主”的卫生方针,可以有效地防止或减少食物中毒、人畜共患病的发生,保障人民的身体健康。同时,它对提高产品质量、避免经济损失、保证出口等方面具有重要意义。

四、食品微生物检测的范围及指标设定

1. 食品微生物检测的范围

食品微生物检测的范围包括以下几个方面:

①生产环境的检测,包括生产车间用水、空气、地面、墙壁、操作台等。



②原、辅料的检测,包括动植物食品原料、食品添加剂、包装材料等原辅料。

③食品加工过程、贮藏、销售等环节的检测,包括从业人员的健康及卫生状况、加工工器具、管道设备、运输车辆等。

④食品的检测,包括对中间产品、出厂食品、可疑食品及食物中毒食品的检测。

2. 食品微生物检测的指标设定

“指标菌”是在分类学或生态学上相似的一群微生物,能用来指示样品过去或现在所具有的而不能直接证明的某些特征。指标菌的检测结果可评价食品的安全卫生状况,在食品检测工作中十分重要。指标菌分为三种类型:

第一类型是为了评价被检样品的一般卫生质量、污染程度以及安全性,最常用的是菌落总数、霉菌和酵母菌数;

第二类型特指粪便污染的指标菌,主要指大肠埃希氏菌和大肠菌群,其他还有肠球菌、亚硫酸盐还原梭菌等,它们的检出标志着样品受到人、畜粪便的污染,而且有肠道病原微生物存在的可能性;

第三类型是不能或不易检出的某些特定菌类(如特定菌、某些致病菌或其他指示性微生物),而“指标菌”指示以上菌类存在的可能性,所以此时以“指标菌”的监测代替某些特定菌类的监测,有着特殊的、不同的指示意义。

我国卫生部颁布的食品微生物检测指标有菌落总数、大肠菌群和致病菌三大项。具体检测的主要指标如下:

(1)菌落总数

菌落总数是指食品检样经过处理,在一定条件下培养后 1g [1mL 或 1cm^2 (表面积)] 检样中所含细菌菌落的总数。菌落总数可以反映食品的新鲜度、被细菌污染的程度和食品生产的一般卫生状况。因此它是判断食品卫生质量的重要依据之一。

(2)大肠菌群

大肠菌群是指一群在 37°C 培养 24h 能发酵乳糖、产酸、产气,需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽孢杆菌。这些细菌是人及温血动物肠道内的常居菌,随着大便排出体外。如果食品中大肠菌群数越多,说明食品受粪便污染的程度越大。故以大肠菌群作为粪便污染食品的卫生指标来评价食品的卫生质量,具有广泛的意义。

(3)致病菌

致病菌是指能够引起人们发病的细菌。食品中不允许有致病菌的存在,这是食品卫生质量标准中必不可少的标准之一。致病菌种类繁多,食品加工、贮藏条件不同,被污染的情况也不同。一般根据不同食品可能污染的情况做针对性的检测。对不同的食品,选择一定的指标菌进行检测。例如,海产品以副溶血性弧菌作为指标菌,蛋与蛋制品以沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、变形杆菌等作为指标菌,米、面类食品以蜡样芽孢杆菌、变形杆菌、霉菌作为指标菌,罐头食品以耐热性芽孢杆菌作为指标菌等。

(4)霉菌及其毒素

鉴于有很多霉菌能够产生毒素,引起疾病,因此应该针对性地对产毒霉菌进行检测。例如曲霉属的黄曲霉、寄生曲霉等,青霉属的桔青霉、岛青霉等,镰刀霉属的串珠镰刀霉、禾谷镰刀霉等。



(5)其他指标

微生物指标还应包括病毒,如肝炎病毒、猪瘟病毒、鸡新城疫病毒、马立克病毒、狂犬病病毒、口蹄疫病毒、猪水疱病毒等与人类健康有直接关系的病毒微生物,在一定场合下也是食品微生物检测的指标。

另外,从食品检测的角度考虑,寄生虫也被很多学者列为微生物检测的指标。

五、微生物检测的要求

1. 微生物检测室的基本要求

微生物检测室的基本要求如下:

- ①微生物检测室要求周围环境良好,避开易污染及嘈杂环境。
- ②检测室的窗户尽量朝南开,以便有充足的自然光线,室内照明灯要有足够的亮度。
- ③检测室整洁,工作台和地面易于清洁,窗户配备纱窗,以防止蚊蝇等。
- ④检测室的设备和辅助用具要根据工作顺序、清洁与污染情况进行安排,避免交叉污染。
- ⑤检测室工作区域与办公区域明显分开,检测室与准备室分开,两室地面及墙面材料便于冲洗,工作台铺胶垫或其他防震易清洗材料,检测室安装空调设备。
- ⑥一般样品检测操作必须在洁净区域(无菌室内的超净工作台)进行,洁净区域应有明显的标识。
- ⑦病原微生物分离鉴定工作应在二级生物安全实验室中进行。
- ⑧所有培养物、被污染玻璃器皿及阳性检测标本,都必须用消毒水浸泡过夜、煮沸或高压蒸汽灭菌等方法处理,然后清洗玻璃器皿。

2. 微生物检测人员的要求

微生物检测人员的要求如下:

- ①要有高度的事业心和强烈的责任感。
- ②操作技术熟练,同时具有不断学习和掌握新理论、新方法和新技术的能力。
- ③耐心、细致,严格按照规范的操作程序和方法进行。
- ④掌握检测室生物检测安全操作知识和消毒知识。
- ⑤在检测过程中保持个人整洁与卫生,防止人为污染样品。
- ⑥在检测过程中遵守相关预防措施的规定,保证自身安全。
- ⑦有颜色视觉障碍的人员不能执行涉及辨色的实验。

3. 检测用品的要求

检测用品的要求如下:

- ①常规检测用品主要有接种环(针)、酒精灯、镊子、剪刀、药匙、消毒棉球、硅胶(棉)塞、微量移液器、吸管、吸球、试管、平皿、微孔板、广口瓶、量筒、玻棒及L形玻棒等。
- ②检测用品在使用前应保持清洁和(无菌)。常用的灭菌方法包括湿热法、干热法、化学法等。
- ③需要灭菌的检测用品应放置在特定容器内或用合适的材料(如专用包装纸、铝箔纸等)包裹或加塞,应保证灭菌效果。
- ④可选择适用于微生物检测的一次性用品替代反复使用的物品与材料(如培养皿、吸管、吸头、试管、接种环等)。



⑤检测用品的储存环境保持干燥和清洁,已灭菌与未灭菌的用品应分开放并有明确标识。

⑥灭菌检测用品应记录灭菌/消毒的温度与持续时间。

4. 微生物检测的质量控制

微生物检测的质量控制要求如下:

①准确、快速。食品加工后,应尽快进入市场,这就要求检测工作尽快获得结果,保证食品的安全性。

②建立规范的操作程序和方法。每个检测室应根据国家有关标准和规定,制定检测程序 and 操作规程,以及检测室的各项管理制度,使检测工作正规化、标准化。

③仪器和设备性能完好准确。检测室设备置于适宜的环境条件下,便于维护、保养、清洁、消毒,并保持整洁与良好的工作状态;建立定期的仪器性能监测及校验制度(检定设备加贴标识),保持检测室仪器设备性能的完好,并做好日常性监控记录和使用记录。

④试剂和培养基的质量。严格控制培养基、生化反应试剂、染色液及诊断试剂的质量标准,注意制备的原料、配制记录、外观及无菌检查。对检测结果有重要影响的关键试剂(血清、抗生素等)应进行适应性验证,培养基还应检查其颜色和透明度,有无混浊或沉淀。

⑤实验室应定期对实验用菌株、培养基、试剂和水等设置阳性对照、阴性对照和空白对照。

5. 检测记录与报告要求

检测记录与报告要求如下:

①检测过程中应即时、准确地记录观察到的现象,结果和数据等信息。

②实验室应按照检测方法中规定的要求,准确、客观地报告每一项检测结果。

③检测结果报告后,被检样品方能处理。检出致病菌的样品要经过无害化处理。

六、食品微生物检测技术的发展现状及进展

目前我国食品卫生微生物学检验机构所采用的常规检测方法主要是传统的培养法,如平皿培养法、发酵法等,然后进行菌落计数、形态结构观察、生化试验、血清学分型、噬菌体分型、毒性试验及血清凝聚等。这些检测程序存在操作繁琐、费时、手工操作为主、卫生指导反馈慢等缺点,不能适应食品生产、流通和消费的需求。

为适应社会发展之需求,食品微生物检测必须向自动化检测和快速检测方向发展,要求灵敏、特异性强、重复性大、快速、简便和经济等。近年来,随着分子生物学和微电子技术的发展,快速、准确、特异检测微生物的新技术、新方法不断涌现,微生物检测技术由培养水平向分子水平迈进,并向仪器化、自动化、标准化方向发展,从而提高了食品微生物检测工作的效率,以及准确度和可靠性。以下简要介绍几种食品微生物检测新技术设备。

1. Petrifilm™ 菌落计数自动判读仪

采用 Petrifilm™ 菌落总数测试片代替平板计数琼脂培养基,按操作规程进行接种培养,然后用 Petrifilm™ 菌落计数自动判读仪计数。适用于菌落总数、大肠菌群、金黄色葡萄球菌等计数,方便、快速、准确度高。

2. API 20E 生化鉴定试剂盒

由一组 20 只塑料小管,固定在一卡片纸上。每管含有供不同试验的脱水底物。从营养琼脂平板上挑取可疑菌落,用生理盐水制备成适当的菌悬液,用吸管分注于各管内,滴加无



菌石蜡油,然后把卡片垫板放至塑料盘中,于 36℃培养 18~24h,按照 API 20E 操作手册判读结果。适用于沙门氏菌、副溶血性弧菌、小肠结肠炎耶尔森氏菌等肠科细菌的鉴定和非发酵菌的鉴定。

2010 年来,为适应食品微生物快速检测的需要,国内外生物制剂公司开发了各种满足不同微生物卫生检测需要的生化试剂盒,检测机构可根据需要选用。

3. VITEK 全自动微生物鉴定系统

VITEK 全自动微生物分析系统是法国 biosMerieux(生物梅里埃)生产的全自动微生物分析仪的一个系列,包括 VITEK-32、VITEK-60、VITEK-120 等。试验 2~6h 能出报告。判断某种菌的可能性是百分之几。有时也需要进行其他一些试验来进一步确定,比如血清学反应等。VITEK 自动化微生物分析仪由充填机/封口机、读取器/恒温器、电脑主机及打印机组成,充填机/封口机三分钟内把样本注入试验卡中及封口,读取器/恒温箱自动恒定培养温度并同时读取卡内生化反应变化(系统依据不同型号,容纳 32 至 480 张卡不等),电脑主机负责分析资料的储存、系统的操作及分析程式的运作。

(1)原理

仪器的原理其实就是我们进行细菌鉴定中使用的生化反应。不过仪器把 30 个对细菌鉴定必需的生化反应培养基固定到卡片上,然后通过培养后仪器对显色反应进行判断,利用数值法进行判定。根据需要鉴定的微生物的种类的不同,设计了不同的鉴定卡片,比如革兰氏阴性菌卡、革兰氏阳性菌卡、酵母菌卡等。

(2)一般步骤(见图 1 至图 5)

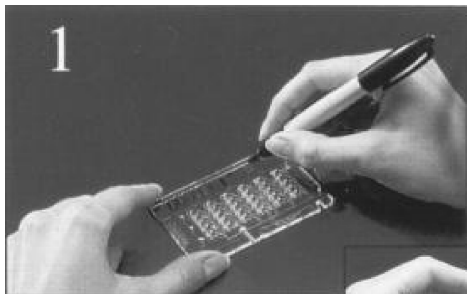


图 1 在试卡上填上标本号,VITEK 会自动识别此号码

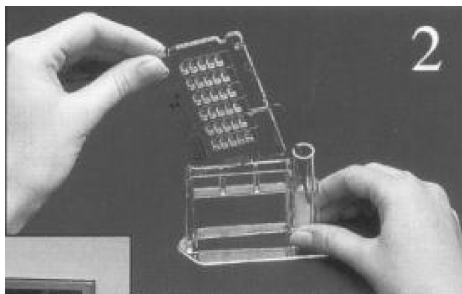


图 2 将菌落分离,加盐水后利用一支 L 形吸管,准备将菌液传送到卡内

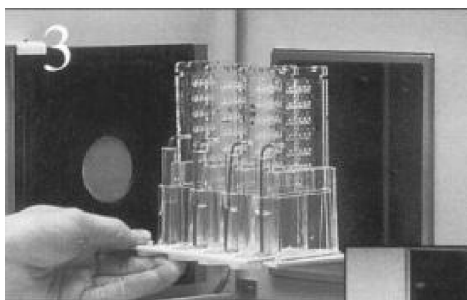


图 3 将试卡放入充填器,用真空原理,菌液会吸进试卡的每个小孔内,将底物溶解,然后封口

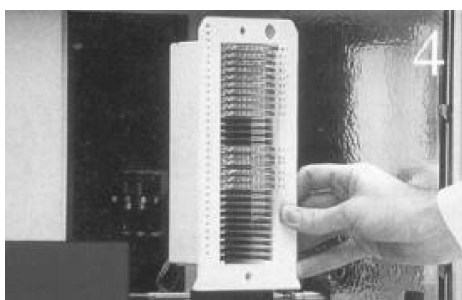


图 4 将鉴定或药敏试卡放入培养/读数箱内