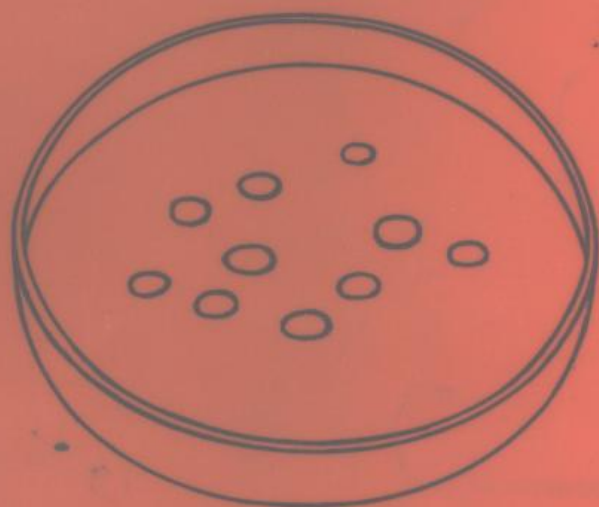


FDA

细菌学分析手册

甄宏太 俞平 译

郝士海 校



轻工业出版社

细菌学分析手册

美国食品与药品管理局 编

甄宏太 俞 平 译

郝士海 校

轻工业出版社

内 容 提 要

本书是美国食品与药品管理局编写的有关食品卫生检验的一本工具书。书中介绍了有碍食品卫生的主要细菌的取样、检验及鉴定方法和步骤,并附有培养基和试剂的配制方法。此外,对罐头食品及化妆品检验也有专门论述。内容充实具体,基本上反映了近年来该领域内的重要研究成果;叙述简明扼要,条理性强,是一本较好的食品卫生检验参考书。本书可供食品工业、卫生防疫、临床化验、商检、兽医等部门从事微生物学检验的科技人员和有关高等院校师生参考。

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION BUREAU OF FOODS DIVISION OF MICROBIOLOGY Bacteriological Analytical Manual

细菌学分析手册

甄宏太 俞平 译
郝士海 校

轻工业出版社出版

(北京阜成路8号)

北京新华印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

787×1092毫米1/32 印张:15²⁴/₃₂ 字数:348千字

1986年2月 第一版第一次印刷

印数:1—6,000 定价:3.70元

统一书号:15042·1986

译者的话

对食品中有害微生物的检验，是实行食品卫生监督、维护人民身体健康的重要手段。近十余年来，随着现代医学和生物学的飞速发展，国际食品微生物学检验技术有了很大改进，检验对象也增添了不少新的内容。深入了解这些情况，对于推动我们的工作，赶超世界先进技术水平，无疑是有益的。为此，我们把美国食品与药品管理局编写的《细菌学分析手册》介绍给读者。

美国食品与药品管理局是美国卫生部下属管理食品、药品和化妆品的专职机构。本书就是他们执行管理任务所遵循的检验方法。书中涉及内容比较广泛，除一般常规检验的细菌外，还包括有新近确定为食物中毒菌的结肠炎耶尔森氏菌、各种肠毒素、肠道病毒和寄生虫等。此外，对罐头和化妆品检验也有专门论述。

本书曾经多次修改补充，广采博引，及时萃精更新，为其优点。所译本为1983年春得到的现行本，因此书中所列各种方法基本上反映了这一领域的国际先进水平。

根据近年来对欧美和亚洲一些主要国家考察所知，本书在国际上具有一定影响，不仅亚大地区一些国家，就是欧美不少国家也以它为蓝本。这就更增加了我们了解本书的必要性。

本书共有二十四章及三篇附录。其中第一章至第二十章及附录A、B、C、D由甄宏太翻译，第二十一章至第二十四章由俞平翻译。全书由郝士海校订。

限于水平，译文不免有错误、欠妥之处，敬希读者批评指正。

甄宏太

序 言

编写本细菌学分析手册〔Bacteriological Analytical Manual (BAM)〕的目的,是为了给食品及药物领域的试验室提供一套有效的检测食品中微生物的方法。该手册的第五版反映了包括病毒分离、寄生虫和化妆品检验在内的更广泛的现行分析工作。由于包含这些内容,手册的范围已超出了它的书名,但为了便于识别起见,仍将传统的书名保留下来。

同以前各期手册一样,因为新知识在不断增长,所以列出的方法不是也永远不会是最终的。例如,手册没有充分地论述使受伤微生物恢复活力的方法,就是一个需要改进的例子。同样,关于分离和鉴定产毒和侵袭性肠杆菌的方法,无疑地也需要在有关方面的知识取得进展之后广泛地加以修订。尽管存在这些缺点,但手册中的方法可以说是当前食品与药品管理局〔Food and Drug Administration(FDA)〕在实施食品、药品和化妆品检验中最有用的方法。

手册中的方法是通过许多人的工作,尽最大努力而写成的。FDA微生物学分部的成员Arvey博士作为本版的编辑作出了突出的贡献。各章的作者为了最大限度地减少差错,对手稿进行了缮写和反复核对。我们也要感激FDA驻各地区的微生物学家对本版手册的评价和提出的改进意见。最后我们还要感谢FDA技术编辑组的Betty Johnson和Helen L. Reynolds为手册的出版所做的准备工作。

如果对手册的内容有什么问题和意见,请随时与各章有关的作者联系。我们对您以改进手册为目的的批评和建议表示欢迎。

目 录

第一章	食品取样方案和原始样品处理·····	(1)
第二章	试验室内的样品处理和均质样品的制备·····	(9)
第三章	食品的显微镜检查·····	(16)
第四章	需氧平板计数·····	(21)
第五章	大肠菌群·····	(34)
第六章	沙门氏菌的分离和鉴定·····	(42)
第七章	沙门氏菌的荧光抗体检验法·····	(70)
第八章	志贺氏菌·····	(84)
第九章	副溶血性弧菌的分离和鉴定·····	(92)
第十章	肠道致病性大肠杆菌·····	(105)
第十一章	金黄色葡萄球菌·····	(150)
第十二章	葡萄球菌肠毒素·····	(158)
第十三章	食品中的寄生动物·····	(173)
第十四章	肉毒梭菌·····	(185)
第十五章	韦氏梭菌：计数、鉴定和毒素测定·····	(202)
第十六章	蜡样芽孢杆菌·····	(221)
第十七章	酵母和霉菌的计数及所产毒素·····	(238)
第十八章	小肠结肠炎耶尔森氏菌、耶尔森氏假性结核杆菌及其相关的杆菌·····	(243)
第十九章	病毒的分离·····	(258)
第二十章	乳中青霉素G的测定·····	(268)

第二十一章	罐头食品的检验·····	(278)
第二十二章	金属容器完整性的检验·····	(305)
第二十三章	化妆品的微生物学检验方法·····	(340)
第二十四章	霍乱弧菌的分离和鉴定·····	(387)
附录A	培养基·····	(406)
附录B	试剂和稀释剂·····	(455)
附录C	染色剂和染色方法·····	(468)
附录D	最近似数 (MPN) ·····	(472)

第一章 食品取样方案和原始样品处理

Wallace H. Andrews和Ralston B. Read, Jr.

食品与药品管理局微生物学分部

从实验室的效果出发，收到的样品或标本是否适当以及其状态如何，是首要的问题。如果取样和对样品的处理不当，或所取样品没有代表性，得出的检验结果可能毫无意义。如果要根据一小份样品的检验结果去说明一大批食品的质量，就必须始终如一地按既定的取样方法取样。当食品中病原菌或毒素的含量稀少或根据已查明的细菌含量依法处置一批产品时，样品的代表性是必不可少的条件。

从指定的一批食品中取一份具有代表性的样品时，构成这份样品的单元的数量必须具有统计学的意义。每批食品的成分和性状影响着样品整体的均匀性和一致性。采集样品的人员必须在取样时根据食品是固体、半固体、粘性物体、液体等性状，运用“检验操作手册”^[1]来确定适当的统计学的取样方法。在食品微生物学规范国际委员会 (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) 出版的一份文献^[2]中对取样和样品方案有详细的论述。

只要有可能，应当将样品放在原封未打开过的容器内送交试验室。如果产品是散装的或放在过大不便于送交试验室

的容器内，应在无菌条件下将其代表性部分移放到适当的灭菌容器内。

灭菌工具和无菌操作手续是必不可少的。整套不锈钢勺子、镊子、刮板和剪刀应当高压灭菌。用丙烷喷灯或将工具浸入酒精或用灼烧的办法处置工具是危险的，可能达不到灭菌的目的。

容器必须清洁、干燥、防漏、广口、灭菌，其大小适合于盛放被检样品。有些容器，如塑料瓶或金属罐，可以进行密封（玻璃容器破裂而可能污染食物样品，应尽可能地避免使用）。对于干物质，用灭菌的金属盒、罐头、袋子或小包加以适当的封闭即可。生产线上的样品用灭菌的塑料袋或塑料瓶比较合适。每个样品应当贴上适当的编码条以资识别。在塑料容器上不能使用毡笔（felt pen），因为墨水可以将容器浸染。可能的话，每个样品至少应100克。

样品应尽可能保持在原有的贮存条件下迅速发送到试验室。对于采集的液体样品，应另取一份作为温度对照；对照样品的温度，应在采集的当时和试验室收到后加以核定。必须把所有样品的采集和到达试验室的日期和时间记录下来。如果产品是干燥的或是罐头食品，则不需要冷藏。如果是冰冻或冷藏的食品，必须用能保温的、结构坚固的容器运送，以保证样品到达试验室后不变样。这样，冰冻样品就必须收藏在预冷的容器内，放在具有充分冷冻条件的冰箱中，使样品在运送过程中一直保持冻结状态。对于冷藏样品，应先在冰中冷却至 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ ，然后转放到适当的冷藏盒中，使样品一直保持在 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ ，直到到达试验室。冷藏样品不得冻结。关于样品处理和运送的更详细的说明见“检验操作手册”^[1]和“分析者操作手册”（Analyst Operations Manual）^[3]。

(一) 检验沙门氏菌的取样方案

由于在食品中不断出现沙门氏菌，所以对该菌的取样方案受到了国家和国际组织有关会议的重视^[2, 4]。每个这样的会议都按照食品的种类推荐了许多不同的取样数量。通常，食品的种类系根据不同消费者（年老、体弱和婴儿）的感受性、食品的历史状况以及在工厂加工和消费者家中是否经受杀灭沙门氏菌的处置而确定。在这些准则中，消费者的感受性和在加工及消费者家中是否通常经受杀菌处置两项，在取样方案的选择上显得尤其重要。食品的历史状况对确定是否取样而不是考虑取多少样品方面更为重要。在此将修订后的沙门氏菌取样方案作一介绍。三类食品的区分如下：

第Ⅰ类食品——此类食品通常应属于第二类，但指定为老年人、体弱者和婴儿食用者。

第Ⅱ类食品——此类食品通常不需要在取样后和食用前经受杀灭沙门氏菌的处置。

第Ⅲ类食品——此类食品通常需要在取样后和食用前经受杀灭沙门氏菌的处置。

此取样方案可应用于按规章要求需要进行监测和/或放行的检查的成品的采样。此方案也可应用于工厂识别加工单位的原料和有可能按规章行事的成品的采样。但不得应用于不同生产阶段作业线上样品的采集，因为这些样品对于生产中的食品来说，不一定有代表性。取样的实际操作技术在“检验操作手册”^[1]中有详细介绍，这里不再讨论。

一个样品至少为100g，通常即置于一个大小适于食用的容器的产品。样品应随机抽取，尽可能保证其对批货的代表性。当用样品容器采集样品时，必须有作对照用的空样品容器，并使其接受与取样容器同等的条件。当所需样品的数量

超过批货的容器数量时，可从大的规装或统装容器中取一份以上的样品。当批货中的容器小于100g时，一个样品可包含一个以上的容器（如4个25g的容器构成一个样品）。

下表表明各类食品应取样品的数量：

<u>食品种类</u>	<u>样品数量</u>
I	60
II	30
III	15

采集的所有样品，都供试验室分析之用。

(二) 样品分析

试验室按照本手册或《法定分析法》(Official Methods of Analysis) [6] 所述方法，分析每份样品有无沙门氏菌。

应从每100g样品中随机取25g作为一个分析单元。当一个样品含于一个以上的容器时，应在取25g分析单元之前将各容器的内容物以无菌手续混合一起。为了减轻分析工作量，可将几个分析单元混合为一个。混合的样品量最大不超过375g或15个分析单元。各类食品应试的混合样品的最低数量如下：

<u>食品种类</u>	<u>混合样品的最低数</u>
I	4
II	2
III	1

样品的剩余部分应保存在无菌容器内，以便按照702(b)供放行检查之用。易腐样品和细菌容易繁殖的样品应予冷藏。每份试验样品需要有分析对照。已取样的批货，只有当其所有的混合样品都未检出沙门氏菌时，方可被接收。如

果在一个或更多个混合样品中发现沙门氏菌，而分析对照未检出沙门氏菌时，这批货就要被拒收。该批货不能再次取样作沙门氏菌检验，除非分析对照也发现有沙门氏菌。

所有的沙门氏菌阳性样品，其分离出的每个细菌都应做沙门氏菌（菌体）群测定。有关这些培养菌的进一步处理的资料，可参见第六章。在正式按规章对产品进行处置之前，可根据沙氏门菌群的鉴定结果提出有关行事规章的意见，而勿需定出明确的血清型别。

（三）进口商品

这些取样方案适用于供人类食用的进口食品。

（四）以取样为目的的食品分类

将划归上述三类按规章取样的食品，按其类别、产品代号和名称排列成表。列表不一定意味着这些产品有类似的沙门氏菌来源。当发生问题时，食品与药品管理局下属食品局规章指导分部，可根据需要提供表内未列入的适当的食品分类。

第Ⅰ类食品——通常不需要在取样后和食用前经受杀灭沙门氏菌处置的食品。举例如下：

<u>产品代号</u>	<u>食 品</u>
03	面包、面包圈、小甜圆面包、加糖面包、薄饼干、牛奶蛋糕和填充乳脂的甜食品
05	用谷类做的早餐食品，现成食品
07	椒盐饼干、炸马铃薯片和其他特制食品
09	奶油和奶油制品；巴氏消毒的牛乳和生牛乳及食用牛乳制品；巴氏消毒和未经巴氏消毒的食用浓缩牛乳制品；乳粉和食用乳粉制品

- 12 干乳酪及其制品
- 13 用巴氏消毒的牛乳和巴氏消毒的有关食品加工的冰淇淋；供食用的生冰淇淋粉和未经巴氏消毒的有关制品
- 14 巴氏消毒和未经巴氏消毒的食用仿乳制品
- 15 巴氏消毒蛋、用巴氏消毒蛋加工的蛋制品；未经巴氏消毒的蛋及其供食用不需进一步烹调的制品
- 16 制成罐头和腌制的鱼、蔬菜；其他鱼制品；新鲜和冷冻的生牡蛎以及生蛤、贝和甲壳类动物制品；食用熏鱼、贝和甲壳类动物
- 17 未加佐料的明胶
- 20~22 新鲜、冷冻和制成罐头的水果、果汁、浓缩制品和果露；果酱、果胶、蜜饯和果泥
- 23 核果和食用核果制品
- 26 可直接食用的油；人造奶油
- 27 酱油和酱料（包括蛋黄酱）、色拉调料、醋
- 28 调味品（包括盐）；香料和精浸汁
- 29 不含酒精的饮料和饮用水
- 30 饮料剂
- 31 咖啡和茶
- 33 糖果、橡皮糖
- 34 巧克力和可可制品
- 35 食用前无须烹调的布丁混合制品、明胶制品

- 36 糖浆、蔗糖和蜂蜜
- 38 肉汁
- 39 配制好的色拉

第Ⅱ类食品——通常需要在取样后和食用前经受杀灭沙门氏菌处置的食品。举例如下：

<u>产品代号</u>	<u>食 品</u>
02	整粒谷物，供人类食用的加工谷物和淀粉制品
04	通心粉和面条制品
16	新鲜和冷冻鱼；脊椎动物（生食的除外）；新鲜和冷冻贝类和甲壳类（供食用的牡蛎和蛤除外）；其他水生动物（包括青蛙腿）
24	新鲜蔬菜、冷冻蔬菜、干菜、食用前需烹调的腌制和加工蔬菜
26	植物油、油料和植物性起酥油
35	食用前需烹调的餐后点心干粉和布丁混合粉
37	冷冻正餐食品、多种食品的正餐
45~46	食用化学制品（直接添加剂）

参 考 文 献

1. Food and Drug Administration. 1976. Inspection operations manual. Food and Drug Administration, Washington, DC.
2. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1974. Microorganisms in foods. 2.

Sampling for microbiological analyses, principles and specific applications. University of Toronto Press, Toronto, Ontario, Canada.

3. Food and Drug Administration. 1977. Analyst operations manual. Food and Drug Administration, Washington, DC.
4. National Academy of Sciences. 1969. An evaluation, of the Salmonella problem. National Academy of Sciences, Washington, DC.
5. Official Methods of Analysis. 1975. 12th Ed. AOAC, Washington, DC

第二章 试验室内的样品处理 和均质样品的制备

Wallace H. Andrews

食品与药品管理局微生物学分部

由食品与药品管理局的检验员或拣样员采集的法定样品，当其被送到化验室之后，即由化验者负责。此时化验人员应注意样品的一般物理状态和记录样品的温度。如果样品不立即检验，必须加以适当的贮存。对于冷冻样品，无论立即检验还是迟些时候检验，都要采取尽量少使细菌数改变的方法将样品融化。然后将样品（固体的和液体的）充分混合，使细菌分布更加均匀。最后，要使样品达到均质。搅拌是已采用的一种适宜的制备均质样品的方法，近来又介绍一种新方法，胃蠕动均质法^[1]。在样品制备的开始阶段，要特别注意保持样品的原有性状。

（一）仪器和材料

- ① 组织捣碎机。有几种适用的型号。可用分几个工作速度的或带有一个变阻器的。
- ② 灭菌的玻璃或金属的组织捣碎瓶，1000ml，带盖。
- ③ 天平，称量2000g，感量0.1g。
- ④ 灭菌烧杯，250ml，浅式，用铝箔盖。
- ⑤ 灭菌刻度吸管，1.0、1.1、10.0和11.0ml的。
- ⑥ 磷酸盐缓冲稀释液(附录B24)，装于瓶内灭菌，最终

液量90或99 ± 1ml。

⑦ 灭菌刀、叉、抹刀、镊子、剪刀、汤匙和舌压板（取样品用）。

（二）样品的接收

1. 取样容器的情况

检查取样容器有无明显的物理学缺陷。仔细检查塑料袋和瓶有无撕裂、针眼和穿孔。如果样品搜集在塑料瓶内，应检查瓶有无破口和是否将瓶盖丢失。如果用塑料袋取样，应查清扎口用的金属丝是否将其周围的袋刺破。由上述一种或多种缺陷引起的任何交叉污染问题，都将使样品无效，此时应把情况通知取样地区（附录B6）。

2. 标记和号码

每个样品应附有完整的取样报告单（根据FD-464）副本，并用胶布做法定封识（根据FD-415 a），其上注明样品号、取样机关名称和取样日期。每份样品所包含的样品单元，应注明各自的单元号，此号在整个分析过程中应予保留，不得相混（第一章所说的混合样品除外）。

3. 温度控制

如样品是未冷冻的易腐品，应将其温度记录下来。如发送时为冷冻的样品，到达试验室后仍应处于冻结状态。鲜的易腐样品应登记的温度为0~4℃。要注意记录单上有无任何不相符的地方（根据FD-431）。

4. 取样方案

大多数食品是按照现行政策规划中的某种分类取样方案取样的。但检查沙门氏菌的食品系根据专为该致病菌设计的统计学取样方案取样。

应根据食品的种类和要检验的项目检查已取样的食品是