

美国农业部 (USDA) 实验室指南 (下)

微生物实验室检测指南

国家质量监督检验检疫总局 编译

蒋原 于文军 赵增连 主编



中国农业科学技术出版社

美国农业部 (USDA) 实验室指南 (下)

微生物实验室检测指南

国家质量监督检验检疫总局 编译

蒋 原 于文军 赵增连 主编

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物实验室检测指南/国家质量监督检验检疫总局编译.

北京: 中国农业科学技术出版社, 2007. 5

[美国农业部 (USDA) 实验室指南]

ISBN 978-7-80233-266-9

I. 微… II. 国… III. 微生物学—实验—指南 IV. Q93-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 047259 号

责任编辑 梅 红

责任校对 贾晓红 王 丽

出版发行 中国农业科学技术出版社

地 址 北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 62150862 (编辑室) (010) 68919704 (发行部)

传 真 (010) 62189012

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 新华书店北京发行所

印 刷 北京忠信诚胶印厂

开 本 880mm×1230mm 1/16

印 张 15.875

字 数 406 千字

版 次 2007 年 5 月第 1 版

印 次 2007 年 5 月第 1 次印刷

印 数 1~1 600 (上·下册)

定 价 160.00 元 (上·下册)

版权所有·翻印必究

编译说明

《美国农业部 (USDA) 实验室指南 (下) ——微生物实验室检测指南》(以下简称《指南》) 是在国家质量监督检验检疫总局进出口食品安全局指导与组织下编译的一部微生物检测技术规范的汇编。

《指南》用于美国农业部对指定肉类、禽类及蛋类产品的微生物检测分析, 这些方法是美国农业部食品安全局日常检验使用的方法, 指南对不同产品和检测试剂都经过大量的方法验证, 在实际应用中有很强的操作性。

《指南》是在日趋严峻的食源性疾病和原有的方法已不适应现有检测需要的情况下, 由美国农业部食品安全局的专家对原有的《指南》进行重新修订后出版的, 《指南》中采用了许多最新的血清学检测技术和分子生物学技术, 大大提高了对食源性病原微生物的鉴别能力。该《指南》的另外一个特点是自 1998 年出版以来, 不断更新, 随时更新、完善检测方法, 以便检测人员及时掌握。本次编译是收集了美国农业部食品安全检验局截至 2006 年公布的最新版本。

为及时了解掌握美国农业部检测技术规范, 国家质量监督检验检疫总局食品安全局组织检验检疫系统的有关专业人员翻译了美国农业部食品安全检验局公布的微生物检测方法, 并汇编为本书。本书的翻译出版对于帮助我检验检疫机构以及出口食品企业按照美国官方检测方法有效进行官方控制与企业自控, 保障我国出口动物源制品符合美国的有关规定, 避免因检测技术方法不一致造成对我国出口食品贸易的影响, 具有重要意义。

本书翻译出版后, 可面向我国检验检疫机构人员、畜牧兽医管理部门以及进出口肉类和蛋制品等食品企业等方面的广大读者, 也可供我国从事食品研究的大专院校、科研院所等单位使用参考。

由于时间仓促, 难免存在不足之处, 恳请各位读者批评指正!

本书编译委员会

2006 年 12 月

序 言

食源性病原微生物是通过食品引发人类疾病的微生物，从人类诞生至今，有关食品安全的一项重要工作就是与这类病原菌作斗争，就像猎人和猎物斗智斗勇一样，几百年来微生物的变异和检测技术的革新上演着一幕又一幕的故事。进入21世纪，食品卫生状况依旧不容乐观，每年因食源性病原微生物引起的食物中毒事件居高不下。由于广泛使用抗生素和病原微生物的自然变异等诸多因素，许多老的病原微生物在基因水平上发生了变化，对人类的致病性越来越强；人类通过对检测技术的不断改进，特别是分子生物学技术和建立在免疫学基础上的血清学技术的发展，给快速准确鉴别食源性病原微生物带来福音。

美国是我国最大的贸易伙伴之一，我国每年都向美国出口农产品，同时每年也从美国进口大量的肉类产品。食品安全一直是中美两国食品安全主管机构关注的焦点。

多年来我国几代食品安全科技工作者，创造性地研究出大量新的检测技术方法，为食品安全检测做出了重大贡献。中国有句俗语“谦受益，满招损”，因此及时了解与掌握美国官方机构的检测技术规范，对提升我国出口产品的竞争力具有重大的现实意义，也有利于增强中美两国检测技术部门对相互间检测技术水平的了解。

《微生物实验室检测指南》是由美国农业部食品安全检验局编写的技术规范，通常在对肉类和蛋类产品进行安全性和标识符合性检查时使用。这次国家质量监督检验检疫总局组织编译的美国农业部食品安全检验局微生物检测技术规范，是美国农业部食品安全局多年来对许多技术方法进行验证后形成的一系列技术规范，值得我们广大食品安全检测人员和从事食品安全研究人员以及对外出口农产品的企业学习和借鉴。我衷心希望该书的出版能对从事食品微生物检验和研究的工作人员有所帮助，从技术层面进一步提升食品安全工作的力度，有利于促进中美两国农产品的贸易。

国家质量监督检验检疫总局副局长

2006年12月

《美国农业部 (USDA) 实验室指南 (下) ——微生物实验室检测指南》

编译委员会

顾问 葛志荣

主任 李元平

副主任 (按姓氏笔画为序)

车文毅 李春风 吴毅 陈思刚 陈建东 林伟

编委 (按姓氏笔画为序)

于文军 车文毅 刘坚 刘晓辉 毕克新 李元平

李春风 吴毅 陆永贵 陈思刚 陈建东 林伟

赵增连 郭喜良 蒋原

主编 蒋原 于文军 赵增连

副主编 唐英章 陈忘名 蔡宝亮 蒋鲁岩

编译 (按姓氏笔画为序)

王匀 王丽 王振国 石建华 卢行安 刘中学

刘军义 吕敬章 许龙岩 李卫华 李远钊 李晓虹

余兵 余晓峰 沈涛 张海滨 张惠媛 陈广全

陈颖 邵景东 林祥梅 赵贵明 郭桂萍 祝长青

徐邦兴 徐宝梁 栾军 高旗利 黄文胜 蒋原

蒋鲁岩 雷质文 魏海燕

审校 邵景东 祝长青 刘一军

总 则

应用本指南微生物分析方法前，分析人员应注意下列事项：

指南所示各类分析方法应用过程中，为确保达到最佳实验效果，操作人员应尽可能按照规定方式进行试验。应留意示例分析中提及的需特别注意的细节操作。分析过程中（如运用同种方法同时处理大量相似样品时）不应随意变更或删减实验步骤。

使用任何化学用品、介质、免疫试剂及商用试验仪或检测盒前，应确定其尚属保质期内，并应进行相应的质量保证及控制体系检测，以确保其性能的正常发挥。

所有仪器及设备应定期检修、适当维护，确保实验顺利进行。如示例分析所示，所有试验均需进行阳性及阴性控制。实验分析结果、试验控制、质量保证及控制体系、仪器维修事项，以及所有与上述示例试验结果有偏差或操作方法有差异的，均应存档记录。

为确保获取最佳的试验结果，本指南所述分析方法都带有特定的性能参数值，如重量、体积、pH值、时间及温度等；然而，一定范围内的参数偏差也可使试验获取最佳效果。下列参数范围应适用于所有本指南所列的分析方法（特别说明不适用者除外）：

重量及体积计算： $\pm 1\%$

pH值： ± 0.2 单位

时间：小时 ± 1 小时；分钟 $\pm 1\%$

温度： $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$

目 录

1. 肉、禽和巴氏消毒蛋制品样品的制备	(1)
2. 肉和禽类制品的感官检验	(3)
3. 新鲜、冷却和冷冻加工肉类、禽肉及巴氏杀菌蛋品的检验	(7)
4. 分离和鉴定肉类、家禽和蛋类产品中的沙门氏菌	(14)
4C.01 PCR 法 BAX 系统筛检生肉、海绵状样本、漂洗的整鸟、 即食肉类、禽类产品和巴氏灭菌的蛋产品中沙门氏菌的 FSIS 操作规程	(22)
5A.00 FSIS 大肠杆菌 O157:H7 和 O157:NM(无动力型) 的筛选检测步骤	(24)
5.03 肉制品中大肠杆菌 O157:H7 和 O157:NM 检测、分离和鉴定方法	(27)
6. 畜肉和禽肉中空肠/结肠弯曲杆菌的分离与鉴定	(34)
7. 肉和禽类产品中气单胞菌属的分离与鉴定	(40)
8.05 分离鉴定肉类、禽类、蛋类和环境中的单核细胞增生李斯特氏菌	(44)
8A.01 FSIS 应用 BAX 筛选系统检测单增李斯特氏菌的方法	(54)
9. 肉和禽类产品中致病性小肠结肠炎耶尔森菌的分离和鉴定	(57)
10. 密封熟肉禽制品的检验	(69)
11. 肉及肉制品中酶的检验	(79)
12. 肉和家禽制品中蜡样芽孢杆菌的检验	(82)
13. 肉和禽产品中产气荚膜梭菌的检验	(85)
14. 畜肉和禽肉产品中肉毒梭菌毒素的检测	(89)
15. 免疫测定	(93)
16. 琼脂糖薄层等电聚焦 (TLIEF) 电泳技术鉴定不同来源动物的肌肉组织	(101)
17.02 实验室指导有关修订的通知	(106)
18. 种类鉴别的现场检测	(122)
19. 竞争性酶联免疫吸附法定量测定氯霉素	(125)
32.01 检测和鉴定肉类和含禽类产品中的外来物质	(132)
33. 肉和禽肉中抗菌素残留的筛查方法	(150)

34.01 肉禽组织中抗生素残留定性定量分析的生物学方法	(178)
35. 肉类中抗生素及磺胺类药物残留的测定——商业免疫试剂盒法	(206)
36. 设备校准、维护和性能检定	(209)
附录 1	(217)
附录 2	(235)
附录 3	(241)

1. 肉、禽和巴氏消毒蛋制品样品的制备

1.1 概述

对肉类和禽类样品进行微生物检测是为了获得信息，这些信息来自定性或定量分析的结果，分析样品来自取样方案的实施。许多微生物在样品中的数量很少，常需要进行一次或多次增菌。当细菌细胞损伤时，还需要用非选择性增菌对细胞进行恢复，然后再进行选择性的增菌。

样品检测前应先对取样记录和样品信息进行研究。在保存和处理样品时要特别小心，保证样品与取样时的性状一致，没有改变。做过的样品应妥善保管，保持其完整性以备进一步的分析。

进行样品分析时应十分小心，减少非特定菌株的生长和环境的污染，保证所分离的菌株来自样品而不是外界。按以下步骤严格操作，就能有效控制外部污染。

有效地组织样品的操作过程，操作前对所有的器具和物品进行有效消毒。理想的取样条件是在无气流的环境中无菌操作。

对所有工作表面进行清洗和消毒。

用于处理样品的所有器具使用前必须消毒并进行适当的保护，以防止再次污染。

直接接触的容器的外部必须彻底消毒。

所有进行样品操作的实验人员必须十分熟悉无菌操作技术以及灭菌、清洁和消毒原理。从事取样任务的人员应当了解所用的取样方法。手头应常备一本参考书，以备发生时使用。

1.2 工作区域的清洁

工作区域必须清洁无尘；清洁消毒剂应符合清洁要求。工作前先清洁工作区域，涂抹消毒剂并使之充分作用。四铵离子化合物、次氯酸钠和苯化合物是常用的消毒剂，应按照使用说明书上提供的消毒剂浓度和作用时间进行操作。

1.3 器具的灭菌

- 用于样品分析的所有器具和容器必须灭菌，所用器具的材料应满足灭菌要求。灭菌后的器具中应不存在任何活的微生物，可以用适当的培养方法进行检测。
- 当使用的器具较少（如凿子）且检测方法中不含有产孢子微生物时，可以不进行器具检测。这时，可将器具先用肥皂水洗涤，清水淋洗后确认在缝隙或接合部不存在有机物质，然后在器具消毒器中放置 30 分钟或沸水中放置 2 分钟消毒。
- 不要将器具泡到酒精中然后再灼烧，这种方法无效，不能取代加热灭菌方法，也不能取代上述其他方法。

1.4 样品包装容器外表面的消毒

- 必须保证样品包装外表面的盖无污染，尤其是包装和容器的开口处。
- 可用过氧化氢（双氧水）、碘酊或 2 500mg/kg 的次氯酸钠溶液进行上述包装外表面的

消毒。用消毒液充分消毒后再打开容器，开启容器前无菌清除所有的消毒剂残留物，防止其进入容器中。

1.5 切取和称量样品

- a. 操作过程中不允许用裸手接触样品，在对直接接触样品的容器消毒时，操作者应佩戴无菌手套。
- b. 切割、移取和操作样品应全部使用灭菌的器具。
- c. 按照取样方法无菌取样，并将样品放到无菌容器中以待进一步操作。将剩余的样品采用无菌方法包裹好，并进行无菌保存。
- d. 称量样品时，要将天平放在洁净和无强气流的环境中。
- e. 若条件允许，可将样品直接称量至无菌的容器中，并进行稀释、混合、搅拌和/或均质。
- f. 称量结束后，用与对工作区域消毒相同的消毒剂进行消毒，与样品直接接触的器具、容器、手套和其他材料在清洗和弃置前必须焚烧或灭菌。

1.6 参考文献

Block, S.S. (ed.) 1984. Desinfection, Sterilization and Preservation, 3rd Edition. Lea & Febiger, Philadelphia, PA.

2. 肉和禽类制品的感官检验

2.1 概述

与肉类和禽类制品相关的微生物可分为3类,有益的、腐败的和致病的。每种产品中有一种特性微生物简称为“正常菌群”,通常通过简单的感官观察可快速获得“正常菌群”变化的信息。这种观察可称为感官观察,感官观察指利用感觉来决定产品是否被接触,其中也包括了直接的微生物检验。

感官分析在特定食品的问题分析方面十分有用,如检查罐装产品加工前后的变化情况。另外感官观察还能确定错误操作和产品储存过程中所发生的变化。

为了通过一两项感官观察做出有效的判断,操作人员必须清楚地了解“正常”产品的特性。这种知识需要经验和专业训练。每个实验室必须具备描述样品被接收或拒绝的标准操作规范(sops)。

若判断一个产品是否正常,可能时应将可疑产品与正常产品进行比较。这可以减少主观判断的错误,从而正确得出一批产品是否“变味”、“变色”或有其他感官异常。应避免用嘴尝的方法进行微生物的感官检验。当决定产品是否腐败时,产品的味道是最重要的判定标准。化学和细菌学检测结果则能够进一步的支持和证明感官判定结果。

2.2 检验

以下是对样品进行特性分析的实验室操作指南:

- a. 外观:颜色变化,脂肪降解,是否存在金属、头发、鸡毛、沙子、木炭等外界物质。
- b. 质地:一致性变化,黏液的变化,结构分解(蛋白水解)等。
- c. 气味:用于描述异味的情况,变酸(酸的)、霉味、鱼腥味、臭味、果味、酵母味(啤酒味)和腐烂味。若操作人员无法区分具体是哪种味变,可简单地说成“变味”或“变坏”。并按变味的严重程度依次用符号进行表示。

2.2.1 检测小组进行气味检测

有时,当气味的检查结果可疑时,可由检测小组进行确认,检测小组最少应包括3个人。检测小组主要是检测气味,而不去考虑产品的外观,检测小组成员应该是对气味敏感的人。

其他不属于检测小组的人的主要任务是准备样品和确保以下实验条件:

- a. 在有良好的通风和无强烈气味的环境中检测。
- b. 检测样品中至少应有15~20%是正常的、有益的样品相似物。正常的控制应与产品的有关原料、加工过程、包装、体积使用年限和处理过程相似。
- c. 给气味检测小组准备的样品应放在玻璃罐或聚乙烯袋中,体积形状相似,在相同温度下(约35℃),重量相同。将正常和有问题的产品与样品差开、随机摆放。不要用灼烧或加热罐头的方法灭菌,这样会改变内容物味道或使样品带有其他气味。
- d. 开始检测前,检测小组应先闻取并讨论正常产品的气味。但切记仅作为参考,因为正常产品在气味和强度上可能会产生轻微的变化。然后,检测人员进行适当休息,直到恢复味觉后再进行检测。

- e. 在检测实际产品时,检测人员应揭开盖子或打开袋子,闻取内容物气味,而不要目视内容物。盖上盖子或封上袋子,将容器交给协作人员。然后检测人员将检测的味道记录到得分本上,以确定气味的强弱等。
- f. 在检测过程中,小组成员不能评论、判断或用肢体语言将其对气味的感受传达给其他小组成员。

注意:包括实验室人员在内的检测小组成员不一定都要受到专业的气味分析培训。检测小组中加入实验室人员的主要目的是检测产品腐烂的气味或混入带气味产品时的其他气味。

2.3 肉和禽类产品的 pH 测定

电位测量仪可检测食品的 pH 值。pH 计的精度为 0.1 单位,重复性为 0.005pH 单位。通常使用合成电极检测。为得到准确的结果,用于校准的缓冲液和样品应为同一温度,测定时的温度范围应为 20~30℃。

2.3.1 仪器和试剂

- a. 均质器。
- b. 烧杯(100ml)。
- c. 分液漏斗。
- d. pH 计,读数为 0~14,增量值为 0.1,使用适合于肉制品和禽类产品测定的合成电极。平头合成电极很适合测定罐装食品表面 pH。
- e. 蒸馏水。
- f. 使用 pH7.0 和 pH4.0 或 pH10.0 的标准缓冲液,缓冲液的选择应包括所测定的 pH 范围。

2.3.2 测定步骤

- a. 按仪器使用说明校准 pH 计,使用 pH7.0 和 pH4.0 或 pH10.0 的标准缓冲液。
- b. 多数产品为固态,需要均质,在洁净的均质杯中用蒸馏水对样品进行 1:5 或 1:10 的稀释。样品应均质成细碎均匀的混悬液,并测定 pH 值,为避免油或脂肪污染电极,则可以将样品混悬液倒入一无菌的分液漏斗中,并放出水相。有些产品则需要通过离心来获得可检测的水相。
- c. 调整 pH 计上的温度设定值使之与样品悬液的温度相同(理想状态为 25℃)并将电极浸到液相中。
- d. 对于一些表面较平的固体低脂产品,可以使用表面电极进行测定。测定时要确保电极和产品表面接触良好。
- e. 记录 pH 值,并精确到 0.1 单位。

2.4 肉和禽制品的水活度的测定

食品中游离水的水平被称为水活度(a_w),这些游离水能支持微生物在食品中生长。采用脱水或加入盐和糖等水结合因子的方式可以降低水活度。可以通过改变水活度的方式来控制不同种类的微生物在食品中的生长。有很多这方面的例子,如水活度 a_w 在 0.9345 和 0.945 之间可以限制肉毒梭菌的生长。FDA 罐头食品法规规定水活度 $a_w \leq 0.85$ 的罐头可以放行,而不含亚硝酸盐的腌肉的水活度 a_w 应 ≤ 0.92 ,食品中水活度十分重要,所以应进行准确的测定。第八章食品微生物测定方法手册中详细列出了不同微生物生长所需的极限水活度值。

食品样品中水活度的测定受到时间和温度的影响,一般需要将食品在密闭的容器中放置足够的时间让水分蒸发,从而使其水活度与容器中空气的水活度达到平衡。当需要孵育达到平衡时一定要对培养箱进行准确的温度控制,以保证食品的水活度。另外放置足够的时间使样品的水活度与所在空间的湿度达到平衡也十分重要。

2.4.1 Decagon

Decagon CX-2 水分测定仪能在 5 分钟之内测定样品的水活度 a_w , 这种仪器具有快速蒸汽平衡系统, 测定时不需要进行温度平衡, 而且需要很少的样品的量 (约 5g 食品)。仪器不需要校准, 但测定时要进行样品量的控制, 并对去离子水的均一性和盐浓度的变化进行记录。当测定完一个干的样品紧接着测定又一个湿的样品时, 在记录第三个读数前应先记录中间的两个数据。当读数完成后, 仪器会不停地发出“嘟嘟”声。唯一影响 Decagon 读数的物质是丙二醇。含有丙二醇的食品不能用该仪器测定。

2.4.2 设备和材料

- Decagon CX-2 水活度测定仪 Decagon Devices 公司生产, 地址: pullma, WA99163-0835。
- 均质器和均质杯。
- 移液管。

2.4.3 测定步骤

- 取约 100 ~ 200g 样品均质以获得代表性样品。
- 取两份样品, 每份约 5g 进行水活度测定。
- 测定时严格按照 Decagon 手册中提供的使用说明进行操作。
- 用饱和盐溶液作为参考物质, 通常情况下使用以下 25℃ 时饱和盐溶液的水活度值:

Na-----	0.755
KBr-----	0.811
KCl-----	0.845
(NH ₄) H ₂ PO ₃ -----	0.934

注: 读数后及时将样品取出, 禁止将样品放在仪器中。

2.4.4 美国电液体比重计

电液体比重计也能测定样品的 a_w , 据报道这种仪器能准确测定食品的水活度。严格按操作说明的方法进行操作。

仪器通过锂氯传感器测定电阻的变化。仪器电器部分十分坚固, 不需要特殊保护。传感器类似 pH 电极, 十分敏感, 可受到水密度、干燥、水银蒸气等腐蚀性化合物, 酮等不稳定化合物, 卤素气体以及硫化氢和二氧化硫等化合物的持久的影响。用氨、胺乙醇、乙二醇和丙三醇等极性气体进行恢复。

极性气体可以通过汽化作用被除去, 从而使传感器指针达到平衡。

2.4.5 仪器和材料

- 电液体比重计 (No.30-87 型或类似型号) 由 Newport 科学公司有限生产。地址: 8246E Sandy Court, Jessup, MD20794。
- 传感器颜色为灰色 (货号 4822W)。

可从一些生产厂购买到。厂家根据不同的湿度范围配备了不同型号的传感器。这种传感器最适合肉和禽类制品的测定, 它的水活度范围大约是 0.81 ~ 0.99。每种传感器都是唯一的, 并且有一条校准曲线。灰色传感器水活度的指定值为 0.9 ~ 0.94, 这个值被附加到标准曲线上。另外每个传感器在 30℃ 时的校准因子要加入校准曲线中。

- c. 传感器盖和八孔插盒。这种类型的盖适用于标准（品脱）尺寸的罐头桶。八孔插盒适合同时测定 8 个样品。与插盒相连接的传感器分别标明 1~8 号。
- d. 将样品放置到 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 进行强需氧培养。必要时，在培养容器上开一个直径 1.5 英寸的孔，将连接传感器的电线放入培养箱中，并用密封剂将孔封住。
- e. 对玻璃瓶罐头进行清洁和干燥，确保边缘没有碎片和裂缝，开罐取样。
- f. 移液管。
- g. 制备饱和磷酸铵，单价 $[(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4]$ 碱性水溶液：

$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	试剂级	200g
硫柳贡		25ml
蒸馏水（玻璃器皿蒸馏）		

将磷酸二氢铵和硫柳贡放到新的、干净的一品脱大小的广口瓶中，缓缓加入蒸馏水（每次大约加入 2~3ml），当大约一半晶体溶解后用药勺用力搅拌。操作时要小心，尽量避免将盐溶液溅到广口瓶的外部或边缘。将配好的盐溶液在 30°C 放置 2~3 天，以达到平衡。

- h. 制备饱和的镉酸钾溶液（ K_2CrO_4 ）制备方式与 g 相同，溶液中不加硫柳贡。
- i. 将配置好的溶液长期在 30°C 保存。
- j. 盐溶液的水活度如下：（使用校准的灰色传感器）

$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液	30°C	0.929
(K_2CrO_4) 溶液	30°C	0.865

2.4.6 测定步骤

- a. 用该方法检测时要严格按照仪器使用说明操作。
- b. 先将电极浸放在 $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液中，然后再浸放到溶液中。将读数记录在结果单上，样品的测定结果记录在同一张记录单上，不要使用水活度精度小于 0.01 的传感器测量。
- c. 如果水活度的测定范围超出了灰色传感器的测定范围，则要选择超出范围的适当的传感器，并且需配制适用于这个范围的标准盐溶液。第八章的表中列出了一些盐溶液的水活度值，“水活度（aw）和酸度的测定”参见《食品微生物检测方法概要》。

2.5 参考文献

- [1] Greenspan, L. 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. J. Res. Nat. Bur. Stand. 81A:89-96.
- [2] Prior, B. A. 1979. Measurement of water activity in foods: review. J. Food Prot. 42:668-674.
- [3] Troller, J. A., and V. N Scott. 1992. Measurement of water activity (aw) and acidity, 135-151. In C. Vanderzant and D. F. Splittstoesser (ed.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd Edition. Amer. Publ. Hlth. Assoc. Washington, D.C.

3. 新鲜、冷却和冷冻加工肉类、禽肉及巴氏杀菌蛋品的检验

3.1 引言

本节所述及的实验室方法用于联邦政府检查肉类、禽肉和蛋品加工企业时所采样品中目标微生物进行的检测,以及需要时对这些微生物进行的计数。这些方法基本与食品微生物学检验方法注解和 AOAC 官方分析方法一致。本节所提供的方法可以用于对如下样品的分析:

- a. 新鲜、冷冻、熏制、腌制或脱水的肉类和禽肉制品。
- b. 加工/即食制品,如馅饼、午餐肉、正餐、挂糊或裹面包屑的肉和禽肉制品。
- c. 冷藏的肉或禽肉色拉。
- d. 含有肉或禽肉的脱水汤料和酱料。
- e. 肉类快餐、餐前开胃食品、皮萨饼和各种特制食品。
- f. 与肉和禽肉制品混合的各种配料,如香料、蔬菜、面包裹料、乳粉、干蛋、植物蛋白。
- g. 巴氏杀菌的蛋制品。
- h. 在上述食品的加工或生产区域采集的环境样品。

这些产品之中或表面的嗜温微生物数量和类型为评价加工阶段的卫生状况提供了依据。如果检验结果显示大肠菌群、埃希氏大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的数量过多,可能会促使官方采取某种后续行动。后续行动中所做的所有检验都将采用在最新版本 AOAC 官方分析方法或其增刊中公布的适当的仲裁方法。在 AOAC 第十六版中的相关章节为:

- a. 需氧平板计数 (APC): 966.23。
- b. 大肠菌群和大肠杆菌: 966.24。
- c. 金黄色葡萄球菌: 987。

3.1.1 与 AOAC 方法的比较

本章后面几节中的方法有的与 AOAC 公布的方法相同,有的是基本遵循了 AOAC 的方法。下面是一个修改清单:

- a. 大肠菌群和大肠杆菌计数方法和 AOAC 有如下不同:
 - i. 每稀释度使用 1 管月桂基磺酸盐胰蛋白胨 (LST) 肉汤,而不是使用 3 管。
 - ii. LST 和 EC 肉汤接种后培养 24 ± 2 小时。
 - iii. 认定 LST 和 EC 肉汤产气分别为大肠菌群和大肠杆菌阳性,不需进一步的确认实验。
- b. 金黄色葡萄球菌计数方法与 AOAC 方法的不同在于测定估定值时用 1 支试管而不是 3 支。

3.1.2 鲜或加工食品检验通则

- a. 不要将组合食品如冷冻正餐的不同组分混合起来作为一个样品。应尽最大可能将其蔬菜或非肉组分和肉类组分分开,作为独立的样品检验。
- b. 样品的数量、状况和适宜性非常重要。
 - i. 数量应足以完成检验并有合理数量留存以备复检。
 - ii. 接收时的状况应符合检验所需的良好微生物学规范。

iii. 采样时, 应尽最大可能使样品代表整批产品。

iv. 适宜时和可能时, 样品应当在其原始未开封的包装中(完整样品)被运送至实验室。

3.1.3 本节所述及的实验

- a. 需氧平板计数。
- b. 大肠菌群和大肠杆菌估计计数。
- c. 金黄色葡萄球菌。

3.2 设备和材料

- a. 天平, 量程 $\geq 2\text{kg}$, 灵敏度 $\pm 0.1\text{g}$ 。
- b. 均质器和灭菌均质杯。
- c. Stomacher™ 和无菌均质袋。
- d. 培养箱, $35 \pm 1.0^\circ\text{C}$, $20 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 。
- e. 水浴, $45.5 \pm 0.05^\circ\text{C}$ 。
- f. 水浴, $37 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 。
- g. 手动或自动菌落计数器和手持计数器。
- h. 灭菌的一次性或可重复使用的碟子、平底锅或盘子, 用于样品切割。
- i. 灭菌的镊、勺、刀、剪和其他无菌取样设备。
- j. 灭菌的 1ml、5ml、10ml 吸管。
- k. 灭菌 $100\text{mm} \times 15\text{mm}$ 平皿。
- l. 接种环, 3mm。
- m. 显微镜和洁净载玻片。
- n. 冷冻离心机。
- o. 冰箱。
- p. pH 计。

3.2.1 培养基

- a. 平板计数琼脂 (PCA), 装于适合倾注平板的容器中。
- b. 月桂基磺酸盐胰蛋白胨 (LST) 肉汤, 带发酵管。
- c. EC 肉汤, 带发酵管。
- d. 表面干燥的 Baird-Parker 平板 (卵黄亚碲酸盐甘氨酸丙酮酸盐琼脂, ETGPA)。
- e. 脑心浸汁 (BHI) 肉汤。
- f. 加 10% 氯化钠和 1% 丙酮酸钠的胰蛋白胨大豆肉汤。
- g. 甲苯胺蓝 DNA 琼脂。

3.2.2 试剂

- a. Butterfield 氏磷酸盐稀释液。
- b. 革兰氏染色试剂。
- c. 干燥的兔血浆 (凝固酶) EDTA。
- d. Tris 缓冲液。
- e. 硫酸铵 $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, 试剂纯。
- f. Triton X-100。
- g. 3mol/L 三氯乙酸溶液。