

【微生物检测方法】

SN 标准和 3M Petrifilm 法检测水产品卫生指标菌的比较

林彩华, 许如苏, 曾梅锦, 许业莉, 陈冠武, 杨梓坚

(汕头出入境检验检疫局, 广东汕头 515041)

【摘要】 目的:探讨 3M Petrifilm 检测纸片法能否代替 SN 标准应用于出口水产品的检测。方法:采用 SN 标准和 3M Petrifilm 法同时对随机挑选的出口水产品样品进行细菌总数、大肠菌群和大肠杆菌的检测比对。结果:用两种方法检测水产品的细菌总数结果无显著性差异,而两种方法检测水产品的大肠菌群检出率有显著差异,大肠杆菌检出率有极显著差异。结论:3M Petrifilm 法具有快速简便的优点,但检测成本高,检测大肠菌群、大肠杆菌的灵敏度不够。

【关键词】 SN 法;3M Petrifilm 法;细菌总数;大肠菌群;大肠杆菌

【中图分类号】 R446.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1004-8685(2006)10-1218-02

随着食品安全卫生事件的不断曝光和人们生活水平的提高,食品的安全卫生已成为全球普遍关心的问题,更是各国设置技术壁垒,保护国内生产和经济安全的理由。食品在生产、加工、储藏和运输等过程都可能受到环境中各种因素的影响或污染,其中微生物污染尤为常见,因此,细菌总数、大肠菌群、粪大肠菌群和大肠杆菌的检验成为食品安全卫生检测的主要内容。

近几年来,水产品出口已成为汕头市主要的创汇产品之一,在汕头的经济发展中发挥了很大作用。目前,出口水产品检验项目菌落总数、大肠菌群、粪大肠菌群和大肠杆菌等,按现行的 SN 标准进行检验周期较长,完成上述项目检验一般要 4 d 以上,大肠杆菌检出阳性至少 7 d 以上,这与目前推行的“大通关”提速不相适应。因而,有必要寻求快速的检验方法。

近年来,微生物的快速检测方法有了很大发展,相继出现生物发光法、电阻抗法、免疫学方法和 PCR 方法等一系列快速检测方法,并得到了一定程度的应用,但在应用过程中不足之处也经常暴露出来^[1]。3M Petrifilm 法是一种简便快速的检测纸片法,是否也存在这样或那样的不足,能否代替 SN 标准应用于出口水产品的检测需要通过试验比对来进行探讨。

我们随机挑选了出口水产品样品,采用 SN 标准和 3M Petrifilm 法同时对样品进行细菌总数、大肠菌群和大肠杆菌的检测比对。现将情况报告如下:

1 材料与方

1.1 样品来源

采集自出口水产品送检样品。冷冻保存。

1.2 培养基和试剂

试验所需培养基和生化试剂购自北京陆桥技术有限责任公司,在有效期内使用。

1.3 3M Petrifilm 检测片

由 3M 中国有限公司提供。

1.4 检验项目

细菌总数,大肠菌群,大肠杆菌。

1.5 检验方法

1.5.1 SN 标准检测法 细菌总数—操作方法和结果判定按 SN0168-1992 出口食品平板菌落计数^[2];大肠菌群、大肠杆菌—操作方法和结果判定按 SN0169-1992 出口食品中大肠

菌群、粪大肠菌群和大肠杆菌检验方法^[3]。

1.5.2 3M Petrifilm 检测纸片法 细菌总数—25 g 样品加入 225 ml 磷酸盐缓冲蛋白胨水中,均质后作 10 倍稀释,取适宜稀释度稀释液 1 ml 接种于 3M Petrifilm 细菌总数检测纸片,35℃ ± 1℃ 培养 24 ± 3 h,计数红色菌落数为细菌总数。大肠菌群、大肠杆菌—25 g 样品加入 225 ml 磷酸盐缓冲蛋白胨水中,均质后作 10 倍稀释,取适宜稀释度稀释液 1 ml 接种于 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群快速检测纸片,35℃ ± 1℃ 培养 24 ± 2 h,计数红色和蓝色带有气泡的菌落数为大肠菌群数,计数蓝色带有气泡的菌落数为大肠杆菌数。

2 结果

结果见表 1。

表 1 菌落总数检测结果(cfu/g)

样品名称	SN0168-1992 检测法	3M Petrifilm 细菌总数
		检测纸片法
鱿鱼	9.5×10^4	9.9×10^4
沙尖鱼片	1.2×10^5	1.3×10^5
凤尾虾	5.9×10^5	6.5×10^5
虾仁	7.0×10^4	1.2×10^5
凤尾虾(熟)	2.2×10^3	2.7×10^3
鱿鱼	2.7×10^4	2.1×10^4
蟹肉	3.7×10^3	2.8×10^3
鱿鱼	9.5×10^2	8.5×10^2
烤鳗	35	<10
烤鳗片	20	10
海鲜杂锦	4.8×10^4	4.1×10^4
海鲜杂锦	6.8×10^4	6.8×10^4
鱿鱼条	1.3×10^4	1.2×10^4
鱿鱼排	6.5×10^4	8.0×10^4
鱿鱼	1.2×10^5	1.1×10^5
鱿鱼	1.0×10^5	1.0×10^5
制作保藏虾仁	4.1×10^4	4.4×10^4
制作保藏去皮鱿鱼	5.0×10^4	6.0×10^4
冻熟海鲜杂锦	1.5×10^4	1.4×10^4
冻去皮鱿鱼	1.3×10^4	1.3×10^4
冻去皮鱿鱼	4.9×10^4	4.5×10^4
冻蟹肉	5.0×10^2	3.0×10^2
冻养殖红鼓鱼片	2.0×10^2	2.0×10^2
冻养殖牛蛙腿	8.0×10^2	8.0×10^2

【作者简介】 林彩华(1968-),女,工程师,主要从事出入境动物及动物产品、食品及化妆品微生物检验工作。

表 1 两种方法的检测结果经 t 检验, $P > 0.05$,说明这两种方法的检验结果无显著性差异。

表 2 大肠菌群检验结果(单位:cfu/g)

样品名称	SN0169 - 1992 检测法		3M Petrifilm 大肠杆菌/ 大肠菌群检测纸片法
	MPN 法	VRB 固体培养基法	
鱿鱼	23	<10	<10
沙尖鱼片	93	40	30
凤尾虾	<3	10	<10
虾仁	9.1	<10	<10
凤尾虾	<3	<10	<10
鱿鱼	<3	<10	<10
蟹肉	<3	<10	<10
鱿鱼	<3	<10	<10
烤鳗	<3	<10	<10
烤鳗片	<3	<10	<10
海鲜杂锦	<3	15	<10
海鲜杂锦	7.3	<10	<10
鱿鱼排	23	<10	30
鱿鱼条	9.1	<10	<10
鱿鱼	23	<10	<10
鱿鱼	3.6	<10	<10
检出率	50.00%	25.00%	12.50%

以上 3 种方法检出大肠菌群的样品数与总样品数的比值为检出率。将检出率的百分数进行 *t* 检验,结果 MPN 法与 VRB 固体培养基法差异不显著($P>0.05$);MPN 法与 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群快速检测纸片法差异显著($P<0.05$);VRB 固体培养基法与 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群快速检测纸片法差异不显著($P>0.05$)。

表 3 大肠杆菌检验结果(cfu/g)

样品名称	SN0169 - 1992 MPN 法	3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠 菌群检测纸片法
鱿鱼	<3	<10
沙尖鱼片	9.1	<10
凤尾虾	<3	<10
虾仁	<3	<10
凤尾虾	<3	<10
鱿鱼	<3	<10
蟹肉	<3	<10
鱿鱼	<3	<10
烤鳗	<3	<10
烤鳗片	<3	<10
海鲜杂锦	<3	<10
海鲜杂锦	3.6	<10
鱿鱼排	23	<10
鱿鱼条	3.6	<10
鱿鱼	<3	<10
鱿鱼	<3	<10
检出率	25.00%	0.00%

以上两种方法检出大肠杆菌的样品数与总样品数的比值为检出率。将检出率的百分数进行 *t* 检验,结果 MPN 法与 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群快速检测纸片法差异极显著($P<0.01$)。

3 结论与讨论

用 SN0168 - 1992 出口食品平板菌落计数和 3M Petrifilm 细菌总数检测纸片法检测水产品的细菌总数结果无显著性差异。两种方法检测所需时间一样,然而 3M Petrifilm 法因不需配制培养基和准备消毒平皿而显出快速简便的优势,又因培养后细菌显示颜色而方便计数,可避免漏计而减少人工计数误差,但成本较高。

从表 2、表 3 可看出,SN0169 - 1992 标准中的 MPN 法检测下限为 3 cfu/g 样品,但 VRB 固体培养基法和 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群检验纸片法的检测下限一样,均为 10 cfu/g 样品,因此,对于每克样品大肠菌群数/大肠杆菌数在 10 个以下的样品极可能出现阴性结果。故 VRB 固体培养基法和 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群检验纸片法不适合于限量标准为每克样品大肠菌群数/大肠杆菌数在 10 个以下的样品的检测。

从表 2、表 3 可看出,MPN 法检验大肠菌群、大肠杆菌不但检测下限低,而且比较敏感,同样的样品检出的细菌数偏高,大肠菌群检出率与 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群检验纸片法有显著差异,大肠杆菌检出率与 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群检验纸片法有极显著差异。这与 MPN 法进行二步增菌,第一步的弱选择性增菌,有利于受伤菌复活是一致的。但 VRB 固体培养基法与 3M Petrifilm 大肠杆菌/大肠菌群检验纸片法的检出率无显著差异。

3M Petrifilm 法具有快速简便,最快 24 h,最迟 48 h 出结果的优点,但缺点是检测成本高,检测大肠杆菌/大肠菌群的灵敏度不够,无法检测每克样品含菌量 10 个以下。

[参考文献]

[1] 吴清平,周艳红,蔡芷荷. 卫生微生物特异性显色培养基的研究与应用[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(1):124.
[2] SN0168 - 1992. 出口食品平板菌落计数[S].
[3] SN0169 - 1992. 出口食品中大肠菌群、粪大肠菌群和大肠杆菌检验方法[S].

(收稿日期:2006 - 03 - 23)