

3.2 评价的科学性: 现行国标方法评价食品安全性时, 仅根据食品的特性不同制定不同的菌量限制。ICMSF 的方法在评价样品时, 加入 4 个参数: 1) n ; 2) c ; 3) m ; 4) M 。参见表 4, 它不仅根据食品特性对不同食品作不同的菌量限制 (即 m 值不同)。还根据处理条件不同将食品分为危害度增加、不变、减少三类, 危害度越大的食品其标准就越严。ICMSF 的方法还考虑到微生物的危害度不同将对象微生物分为五类, 要求也从不得检出 (如沙门氏菌 $c=0, m=0$) 到限量检出 (如冷冻虾中的副溶血性弧菌 $n=5, c=2, m=10^2/g$), 直至允许附加条件下的检出 (如冰激凌中的大肠菌群 $n=5, c=2, m=10^2/g, M=10^3/g$)。这样, 在对食品进行安全性评价时就将食品特性、处理条件和微生物危害度三者结合到一起, 比现行国标方法更科学。

3.3 实施的合理性: ICMSF 的方法充分考虑到微生物危害度不同, 因此对不同的对象微生物制定的菌量限制更合理。如冰激凌中的大肠菌群, 国标规定为 $MPN \leq 450/100g$, 而 ICMSF 的方法其附加条件合格的菌量限制却高达 $M \leq 10^5/100g$ 。运用现行国标方法评价我市某大型商场简装熟食, 过严的菌量限制

就使监测出现了抽检不合格, 送检合格的现象。而事实上, 该商场每天简装熟食卖出达数百份, 全年追踪调查未发现一起食物中毒事件。故我们认为采用 ICMSF 的方法评价食品的安全性, 比现行国标方法更符合实际情况, 对生产厂商与消费者也更合理。

3.4 监测的可行性: 采用 ICMSF 的方法评价食品安全性, 与现行国标方法比较, 样品要求监测件数更多, 项目更全, 难度更大。不仅造成生产厂商承担的费用更高, 也对实验室的工作提出了更高要求。这使得 ICMSF 的方法在操作上比现行国标方法更难。但随着实验室检验技术逐步先进, 手段逐步提高, 设备自动化、快捷化, 检验成本下降, 我们相信不久的将来, ICMSF 的方法会在我国得到推广和应用。

参考文献

- 1 孟昭赫. 食品卫生检验方法注解微生物学部分. 北京: 人民卫生出版社. 1990; 1~23
- 2 中国预防医学科学院标准处. 食品卫生国家标准汇编. 北京: 中国标准出版社. 1987, 159~186, 203~208

(2000-01-04 收稿)

【监测报导】

[文章编号] 1004-8685 (2000) 03-0325-03

Petrifilm 纸片法和国标法检测奶制品细菌总数和大肠菌群数的结果比较

唐漪灵¹ 郭奕芳¹ 吴翊² 沈蕾²

(1 上海虹口区卫生防疫站; 2 上海医科大学卫生微生物学教研室 200032)

[中图分类号] TS201.6

[文献标识码] B

食品与人民的生活、健康密切相关, 因此, 确保食品的质量不容忽视。微生物与食品有着密切的联系, 在食品生产、加工、储存、运输、销售等各个环节中都有污染微生物的可能。一旦污染, 可大量繁殖引起食品腐败变质, 还可导致食源性感染和食物中毒。

为了防止此类事件的发生, 应采用适当的检验方法检测食品微生物。目前, 国内采用的检测方法是中华人民共和国国家标准: GB4789.1~4789.31-94。其准确性、灵敏性均较高, 但是实验的准备工作和收尾工作繁重, 且实验耗时较长, 不适于牛奶、蛋糕等保质期短的食品。常造成产品出厂在前, 报告在后。因此发展快速测试方法是有必要的。美国 3M 公司研制的微生物快速测试纸片具有本身带有培养基, 不需灭菌, 样品可直接加入的优点, 但实际效果如何尚需实验证明。为此我们对其检测结果进行了分析。

1 实验材料与方法

1.1 样品

消毒奶、酸奶、乳酸饮品、黄油、冰淇淋、脱脂奶粉、奶酪、布丁、生奶 (未消毒奶)、淡奶等十种奶制品, 均购于上海市场。除因市场供应的缘故淡奶只有一份样品外, 其余奶制品均选取 3 个不同的品牌, 共有 28 份样品。

万方数据

1.2 培养基

普通营养琼脂、伊红美兰琼脂由上海伯奥生物科技有限公司提供。

乳糖胆盐培养基、乳糖培养基由中国腹泻病控制上海试剂供应研究中心提供。

Petrifilm 细菌总数测定纸片 (Petrifilm Aerobic Count Plates)、Petrifilm 大肠杆菌及大肠菌群测定纸片 (Petrifilm Coliform & E-coli Count Plates) 由美国 3M 公司提供。

1.3 菌种

催产克雷伯杆菌购自上海市疾病预防控制中心。

大肠杆菌 (8099)、产气肠杆菌、金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538)、均为上海医科大学卫生微生物学教研室保存。

1.4 菌悬液的制备

将 37℃ 培养 24h 的大肠杆菌、产气肠杆菌、金黄色葡萄球菌、催产克雷伯杆菌斜面分别挑取适量于无菌生理盐水中, 混合、逐步稀释, 取两种浓度细菌悬液 (浓度分别为 $10^3 \sim 10^6$ cfu/ml、 $10^5 \sim 10^6$ cfu/ml) 待用。

1.5 样品处理

自然菌: 用无菌手续称取样品 25g, 置 225ml 无菌生理盐水中, 振荡混匀, 调 pH 至 7.0 左右, 取悬液检验自然状态下的细菌总数、大肠菌群。

人工污染:将低浓度、高浓度细菌悬液分别污染食品后,无菌称取样品 25g,置 225ml 无菌生理盐水中,振荡混匀,调 pH 至 7.0 左右,取悬液检验污染状态下的细菌总数、大肠菌群(生奶因原始菌量极高而不进行污染)。

1.6 微生物检测方法

每份样品均用两种方法同时检验。

国标法(GB法):按中华人民共和国国家标准(GB4789.2-94、GB4789.3-94)进行。

Petrifilm 纸片法(PF法):揭起覆盖的胶片,将 1ml 样品悬液滴于培养基中央后盖回,用压板轻轻压下,将样品均匀地覆盖于培养基上。静置约 1min 使培养基中的凝胶固化。测试片水平放于 37℃ 恒温箱内培养。细菌总数测试片培养 48±3h

后计数红色菌落数作为细菌总数;大肠菌群测试片培养 24±3h 后计数蓝色和红色带气泡菌落数作为大肠菌群数。

1.7 数据分析

细菌总数计数结果首先转换为常用对数,用配对 t 检验分析两种方法在检测结果上的差别。

国标法得出的是根据统计方法得到的大肠菌群最可能数(MPN),PF 法得出的为大肠菌群实际菌落数,不能直接比较,故以实际菌落数是否在 MPN95% 可信区间内来进行分析。

2 实验结果:

2.1 细菌总数计数结果比较

续表:

类别	PF cfu/g	GB		是否符合
		大肠菌群 最可能数/g	上限 下限	
酸奶	3	<5	<3 9	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
乳酸饮品	3	<5	4 20	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	5	<3 9	<0.5 T
奶油	3	<5	<3 9	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
奶酪	3	<5	<3 9	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
冰淇淋	3	<5	<3 9	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
布丁	3	<5	<3 9	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
奶粉	3	<5	<3 9	<0.5 T
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
淡奶	3	<5	23 120	4 F
	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	<3 9	<0.5 T
生奶	3	63000	110000 480000	15000 T
	2	14000	9300 38000	1500 T
	3	92000	24000 130000	3600 T

表 3 PF 法和 GB 法检测低污染水平奶制品中大肠菌群的结果

类别	PF cfu/g	GB		是否符合
		大肠菌群 最可能数/g	上限 下限	
消毒奶	1	575	1100 4800	150 T
	2	555	460 2400	71 T
	3	285	290*	T
酸奶	1	250	460 2400	71 T
	2	150	23 120	4 F
	3	85	21 47	4 F
乳酸饮品	1	60	43 210	7 T
	2	30	43 210	7 T
	3	55	43 210	7 T

表 1 PF 法和 GB 法检测奶制品中细菌总数的结果比较 (log₁₀cfu/g)

类别	1		2		3		P	
	PE	GB	PE	GB	PE	GB		
消毒奶	自然	0	1	1.699	1.740	0.699	0.699	
	低污染	2.712	2.866	3.740	3.813	3.716	3.544	P>0.2
	高污染	4.597	4.597	4.176	4.176	4.574	4.519	
酸奶	自然	0	0.699	0	1.477	0	1	
	低污染	3.903	4.021	4.161	3.987	3.462	3.431	P>0.1
	高污染	4.384	4.342	4.193	4.199	4.104	4.114	
乳酸饮品	自然	0	0	2.114	2.097	0	0	
	低污染	1.699	1.699	2.279	2.415	0	1.740	P>0.2
	高污染	3.740	3.740	3.771	3.785	3.613	3.732	
奶油	自然	0	0	1.301	0.699	3.599	3.608	
	低污染	1.477	0.699	1.653	1.398	3.602	3.663	P>0.1
	高污染	3.591	3.505	3.398	2.954	3.633	3.908	
冰淇淋	自然	1.778	1.653	0.699	1	1	1.176	
	低污染	3.443	3.505	3.511	3.580	3.359	3.331	P>0.1
	高污染	5.491	5.487	5.582	5.542	5.319	5.413	
奶粉	自然	3.175	3.148	3.109	3.066	1.929	2	
	低污染	3.152	3.207	3.141	3.097	3.456	3.397	P>0.5
	高污染	3.477	3.519	3.462	3.398	5.478	5.481	
布丁	自然	0	0	0	0	0.699	1.740	
	低污染	2.597	2.623	2.602	2.362	2.255	2.555	P>0.5
	高污染	4.638	4.423	4.260	4.217	3.740	3.623	
奶酪	自然	2.672	2.686	3.483	3.491	3.079	3.148	
	低污染	2.833	2.845	3.919	3.892	3.291	3.192	P>0.1
	高污染	3.505	3.398	3.799	3.799	3.079	2.845	
淡奶	自然	0.699	0					
	低污染	0.699	1.176					P>0.5
	高污染	3.398	3.544					
生奶	自然	6.164	6.124	6.964	6.869	6.851	6.708	P>0.5

对两种方法的结果进行配对 t 检验: t=1.286 P>0.2。

2.2 大肠菌群检测结果比较

表 2 PF 法和 GB 法检测自然状态下奶制品中大肠菌群的结果

类别	PF cfu/g	GB		是否符合
		大肠菌群 最可能数/g	上限 下限	
消毒奶	1	<5	<3 9	<0.5 T
	2	<5	3 13	<0.5 T

续表:

类别	PF cfu/g	GB		是否符合	
		大肠菌群 最可能数/g	上限 下限		
奶油	1	25	43	210 7	T
	2	5	21	47 4	T
	3	5	4	20 <0.5	T
奶酪	1	145	93	380 15	T
	2	40	93	380 15	T
	3	60	43	210 7	T
冰淇淋	1	285	150	440 33	T
	2	370	240 *	1300 360	T
	3	230	29		F
布丁	1	455	150	440 30	F
	2	310	460	2400 71	T
	3	85	93	380 15	T
奶粉	1	25	150	440 30	F
	2	50	43	210 7	T
	3	255	460	2400 71	T
淡奶	1	5	4	20 <0.5	T

* 无明确上下限, 参照接近数进行分析

表 4 PF 法和 GB 法检测高污染水平奶制品中大肠菌群的结果

类别	PF cfu/g	GB		是否符合	
		大肠菌群 最可能数/g	上限 下限		
消毒奶	1	1000	2300	12000 400	T
	2	27500	46000	240000 7100	T
	3	30000	46000	240000 7100	T
酸奶	1	11000	24000	130000 3600	T
	2	5500	9300	38000 1500	T
	3	5500	1500	4400 300	F
乳酸饮品	1	5000	4300	21000 700	T
	2	4100	2400	130000 3600	T
	3	4500	9300	38000 1500	T
奶油	1	2300	2300	12000 400	T
	2	500	2300	12000 400	T
	3	400	2300	12000 400	T
奶酪	1	2500	2300	12000 400	T
	2	9000	2300	12000 400	T
	3	4000	2100	4700 400	T
冰淇淋	1	8500	4300	21000 700	T
	2	21500	9300	38000 1500	T
	3	1600	46000	240000 7100	T
布丁	1	32000	15000	44000 3000	T
	2	11000	24000	130000 3600	T
	3	2500	1100	3600 300	T
奶粉	1	4500	4300	21000 700	T
	2	5500	4300	21000 700	T
	3	175000	110000	480000 15000	T
淡奶	1	400	900	3600 100	T

用 PF 法检测而得到的菌落数 cfu/g, 若落在国标法查出的大肠菌群最可能数 (MPN) 95% 可信限内, 则认为两种方法的结果相符。在奶制品大肠菌群检测结果方面, 两者的符合率为 93.59%。

3 讨论

本次实验对 petrifilm 纸片法和国标法在奶制品微生物检测中的检测结果进行了比较。表 1 显示了两种方法检测奶制品细菌总数的结果, 统计分析表明两种结果间无明显差异 ($P > 0.2$)。所检测 10 类奶制品的分类统计结果也无明显差异。

表 2、3、4 显示了两种方法大肠菌群检测结果, 其符合率达 93.59%。不符合的样品共 7 份, 其中酸奶 3 份, 且均为 PF 法结果高于 GB 法结果上限, 这可能与酸奶中有乳酸菌存在的特殊生境有关。

PF 试纸是一种制备完成的培养基系统, 以一层亲水性的吸附物质作为培养基质, 含有测试菌生长所需的营养物质, 还加入了染色剂、显色剂, 增强了菌落的目视效果。故与国标方法比较, 省却了繁重的准备、收尾工作; 体积轻巧、便于携带; 操作简单、快速省时。另外避免了热琼脂法不适宜受损细菌恢复的缺陷。在大肠菌群的检测方面。国标方法报告的是 MPN 值而不是每克食品中的大肠菌群数, PF 法则可以得出精确数据, 但是否准确尚需进一步研究。同时, PF 纸片法还可区分大肠菌群中的大肠杆菌 (蓝色产气) 和非大肠杆菌 (红色产气)。

PF 试纸法还存在一些有待改进的问题。(1) PF 试纸上覆盖一层薄膜, 当细菌产气、产粘液过多时会出现菌落扩散、融合的现象, 影响计数。(2) PF 试纸面积较小, 当菌量大于 250 时, 准确计数已较困难。(3) 某些奶制品中包含的有机物可能使显色减缓, 使目视效果下降, 导致计数偏低。故 48h 计数结果高于 24h 计数结果, 实际检验时应培养 48h。

总之, 在奶制品微生物检测中 PF 法有其优越之处, 省时省力, 检测结果与国标法无差异。有一定的替代国标方法的可能性。在其它食品中效果是否相同, 需要更多的实验来证明。

参 考 文 献

- 1 Michael S, Curiale et al. Dryrehydratable films for enumeration of coliforms and aerobic bacteriain dairy products J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM. 1989, 72 (2): 312~318,
- 2 潘跃顺, 等. 食 (饮具) 大肠菌群快检纸片的质量检测及现场考核. 中国卫生检验杂志, 1997, 7 (6): 344~346
- 3 孙光剑, 等. 大肠菌群快速纸片应用的体会. 中国公共卫生, 1996, 12 (1): 46

(2000-02-14 收稿)