

食品微生物学样品采集操作规程的探讨

黄启红*, 熊娟, 蔡大川, 张志军, 黄璇莹, 陈敏儿, 伍玲燕

(中国广州分析测试中心, 广东省化学危害应急检测技术重点实验室, 广州 510070)

摘要: 鉴于微生物学样品采集在食品检验过程中的重要性, 探讨微生物样品的无菌采集操作标准化规程, 规范操作, 确保检测结果的准确性。本文综合多种情况多种参考方法进行归纳总结, 方便实验人员了解食品微生物学样品的采集和抽样, 使样品的采集更规范更严谨, 确保检测质量。

关键词: 微生物学样品; 采集; 操作; 规程

Discussion on the operating rules for sample collection of food microbiology

HUANG Qi-Hong*, XIONG Juan, CAI Da-Chuan, ZHANG Zhi-Jun, HUANG Xuan-Ying,
CHEN Min-Er, WU Ling-Yan

(China National Analytical Center, Guangzhou, Guangdong Provincial Key Laboratory of Emergency Test
for Dangerous Chemicals, Guangzhou 510070, China)

ABSTRACT: In view of the importance of microbiological sample collection in food inspection, standardized procedures for aseptic sampling of microbial samples were discussed to standardize the operation and ensure the accuracy of detection results. This paper summarized a variety of conditions and reference methods to facilitate experimenter to understand the collection and sampling of food microbiology samples, so as to make the sample collection more standardized and rigorous and ensure the quality of testing.

KEY WORDS: microbiological samples; collection; operation; rules

1 引言

在食品卫生监督管理和科研工作中, 为了了解生产部门的卫生质量或查明在生产经营过程中的工作场所及食品卫生问题, 均需综合分析样品采集和检验结果, 才能找出规律或做出综合分析评价, 作为指导工作的依据。在食品安全事故中, 为查明食物中毒的原因需准确地进行样品的采集, 为判定食品的污染途径提供科学的依据^[1-4]。

样品采集作为检验的第一步是获得检验数据的基础, 若抽样或采样不合理, 会导致实验结果失准, 不能获得有效的数据^[5,6]。故在食品的卫生监督检验中, 样品采集起着

举足轻重的作用, 尤其是微生物样品的采集。检验过程中的采样、运送、保存或制备等任何一步操作不当均可导致样品不具有代表性^[7], 直接影响实验室微生物检验结果的准确性, 导致检验工作无效^[8]。样品采集过程中的无菌操作是食品微生物样品采集和保存的先决条件, 与微生物检验遵循的无菌操作原则一致^[9]。准确的检验结果来自于样品采集方法的准确, 包括采集样品技术、样品贮存运输保存方法、样品的制备技术和前处理方法等, 每一个环节都保证样品在从采样到制备整一流程的一致性^[10], 以此同时, 样品的选择还要有代表性、采集袋做好密封、做好标记、把握采集与运送过程的注意事项、贮存和运输期间尽可能

基金项目: 广东省专业镇中小微企业服务平台建设项目(2013B091604003)

Fund: Supported by Construction Project of Service Platform for Small and Medium-Sized Enterprises in Specialized Towns of Guangdong Province (2013B091604003)

*通讯作者: 黄启红, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为微生物分析测试。E-mail: 39341441@qq.com

*Corresponding author: HUANG Qi-Hong, Master, Assistant Professor, China National Analytical Center, Guangzhou, Guangdong Provincial Key Laboratory of Emergency Test for Dangerous Chemicals, Guangzhou 510070, China. E-mail: 39341441@qq.com

做到保证样品的原始状态^[11,12]等, 这些均是提高样品采集质量的手段。

鉴于食品微生物学样品在采集操作方面的重要性, 本研究探讨制定了一套适合食品微生物学样品的无菌采集抽样标准化操作规程, 以供基层检验人员参考, 既有必要性又富有意义。

2 微生物学样品采集要素

2.1 采样人员

微生物学样品采集对抽样人员、采样人员以及制备样品人员均要求具备微生物检验基础知识、无菌操作、灭菌等相关专业知识; 样品采集过程中避免样品的污染和样品间的交叉污染, 保证样品的一致性和代表性, 因此, 采样人员应熟悉微生物样品采集抽样的基本知识, 并经过组织专业培训取得微生物上岗证。现场抽样或采样时, 必须有至少 2 人参加, 并对抽样或采样工具如剪刀、镊子、勺子等进行严格消毒或灭菌。采样时需穿白大褂或指定用无菌工作服, 佩戴无菌手套和口罩做到无菌操作采样, 采样完成后立即填写采样记录, 尽快送达实验室。

2.2 采样的要求

样品的采集一般应遵循随机性、代表性、真实性的原则。从整体中采集可代表其组成和质量的一小部分, 通过样本来判断整批产品是否合格, 不能任意抽取一部分作为分析样品, 必须保证物质的代表性。随机性一般采用整群随机抽样、分层随机抽样、分段随机抽样和系统随机抽样, 有时根据检验的目标, 兼顾检样的代表性和随机性^[13]。利用简单随机抽样法, 通常情况下需将个体一一编号利用随机号码表或其他随机方法, 作放回或不放回抽样, 抽取特定号码的个体, 因此总体容量不大时, 简单随机抽样是一种有效的抽样方法; 分层随机抽样必须满足总体中的任一 m 个体都必定属于且只属某一层, 每一层的个体数目是确切的, 在任何两层进行的抽样都相互独立, 一般当获得的资料分布不均或呈偏态分布时, 分层抽样是一种有效的抽样方法; 分段随机抽样时, 要求每个区域内部的差异大些, 区域之间的差异要小些, 这样的效果才会比较好; 系统随机抽样是从总体中每隔 K 个个体抽取一个样本, K 为抽样比值, 比值是总容量 N 与样本容量 n 之比, 即 $K = N/n$ 。当比值 K 已知时, 利用随机数或随机号码确定随机起点, 于是, 可从总体中抽取部分个体组成样本。采用过程中为防止带入杂质或污染, 采样方法要尽量简单, 处理装置尺寸适当。微生物采样过程应严格遵循无菌操作程序, 采用干热或湿热等方法对采样工具进行灭菌或消毒, 处理后包装完好以备采样使用, 采样用的工具不能重复使用, 防止交叉和一切有可能带来的外界污染。容器必须清洁、防漏、灭菌、广口、干燥, 大小适合以方便盛放各种检样, 准备多种款式

以备不时之需。

2.3 各类食品的采样方案

2.3.1 各类食品的采样方案按食品安全相关标准的规定执行

根据检验适用范围、目的、批量、食品特点、检验方法、规范要求和微生物的危害程度等确定采样方案。采样方案可以分为二级采样方案和三级采样方案, 二级采样方案设有 n 、 c 和 m 值, 三级采样方案设有 n 、 c 、 m 和 M 值。其中 n 为同一批次产品应采集的样品件数; c 为最大允许超出 m 值的样品数; m 为微生物指标可接受水平限量值(三级采样方案)或最高安全限量值(二级采样方案); M 为微生物指标的最高安全限量值。按照三级采样方案设定的指标, 在 n 个样品中, 允许全部样品中相应微生物指标检验值小于或等于 m 值; 允许有 $\leq c$ 个样品其相应微生物指标检验值在 m 值和 M 值之间; 不允许有样品相应微生物指标检验值大于 M 值。例如: $n=5$, $c=2$, $m=100$ CFU/g, $M=1000$ CFU/g。含义是从一批样品中采集 5 个样品, 若 5 个样品的检验结果均小于或等于 m 值(≤ 100 CFU/g), 则这种情况是允许的; 若 ≤ 2 个样品的结果 X 位于 m 值和 M 值之间(100 CFU/g $< X \leq 1000$ CFU/g), 则这种情况也是允许的; 若有 3 个及以上样品的检验结果位于 m 值和 M 值之间, 则这种情况是不允许的; 若有任一样品的检验结果大于 M 值(> 1000 CFU/g), 则这种情况也是不允许的; 按照二级采样方案设定的指标, 在 n 个样品中, 允许有 $\leq c$ 个样品其相应微生物指标检验值大于 m 值^[14,15]。

2.3.2 食品安全事故中的样品采集

食品安全事故中食品样品的采集, 主要目的是查明疾病暴发流行的原因或突发公共卫生事件, 因此样品的代表性显得就不那么重要了, 所以这种情况代表性就不作要求, 而更强调针对性。为直接找准目的, 尽一切可能采集到足够检测所需要的样品量和含病原微生物量最多的部位^[16], 采集正确的有针对性的样品, 可以根据流行病学调查资料和疾病表现进行指导。

2.3.3 批量生产加工的食品污染安全事故中的样品采集

因批量生产加工的食品污染导致的食品安全事故, 食品样品的采集方法操作步骤程序以及判定依据参考 2.3.2 执行。同批次食品样品作为重点采集对象。

2.3.4 家庭烹调加工的食品或餐饮单位食品导致的食品安全事故中的样品采集

因家庭烹调加工的食品或餐饮单位食品导致的食品安全事故, 现场剩余食品样品为重点采集对象, 也为了满足病原确证以及食品安全事故病因判定的要求。

2.4 各类食品的采样方法

2.4.1 预包装食品采集

预包装食品应采集相同批次、独立包装、适量件数的食品样品, 每件样品的采样量应满足微生物指标检验的要求。

2.4.2 独立包装不大于1000 mL的液态食品或不大于1000 g的固态食品采集

独立包装不大于1000 mL的液态食品或不大于1000 g的固态食品,取相同批次的包装。

2.4.3 固态食品大于1000 g,液体食品独立包装且大于1000 mL的样品采集

固态食品大于1000 g的,从同一包装不同部位使用无菌采样器分别采取适量样品,再装入同一个无菌采样容器内作为一件食品样品;液体食品独立包装的而且大于1000 mL的,应在采样前晃动或用无菌棒无菌搅拌器等方法对液体进行搅拌,混匀均质后再进行适量样品的采集,将采集的样品放入同一个提前准备好的灭菌采样容器内作为一件食品样品^[15-17]。

2.4.4 散装食品或现场制作食品的样品采集

散装食品或现场制作食品,从 n 个不同部位使用无菌采样工具在现场采集样品,再装入 n 个无菌采样容器内作为 n 件食品样品。每件样品的采样量应满足微生物指标检验单位的要求。平均样品:粮,按3层(表、中、下)5点采样法;油,抽取表层与底层油,混样检测;正常样品与异常样品:除采正常样品外,如发现有异常样品时,应分别进行检测。

2.4.5 现场采样

现场采样具有其特殊性,应遵循以下原则:注意采样种类和时间;注意生物安全;注意采样的代表性或针对性^[14-18],一般原则根据临床的表现和不同疾病的特点,确定标本种类和采集样本的时间,样品作为病毒抗原和病毒分离检测的标本,最好在发病1~2 d内采取,发病初期和急性期是采样的最佳时候,因为检出率高,此时病毒在体内大量繁殖,同时注意避免带来新的污染应避免污染源或者还要注意对微生物的外在杀灭因子;样品以分离培养污染细菌调查为目的,应尽量在使用抗生素之前和急性发病期采集标本,如果已使用抗生素,采样和分离培养应进行相应的办法处理使抗生素失效或加入对应有效的中和剂,避免抗菌药物对细菌培养的干扰,注意对样品进行详细标记^[19]。

2.5 操作环节的采样

2.5.1 食品生产设备、工具的采样

对食品生产设备、工具的采样,可用经过灭菌的小刀,在机械设备、管道或工具上刮下黏附在表面的污物,放入灭菌采样管或采样瓶中。

2.5.2 食品用具、盛器的采样

对食品用具、盛器的采样,可用经过灭菌的棉拭,蘸取灭菌的生理盐水等,在刀、砧板、抹布、碗盆等容器,冰箱、水池、下水道口、设备、工具或操作人员的手上,直接抹擦后,放入采样管中并及时将试管盖好。

2.6 采集样品的标记

采集到的样品应进行及时、准确的标记并记录,记录

的内容包括采样人、采样时间、采样地点、样品名称、数量、批号、来源、保存条件等全部信息,必要时注明采样温度、湿度、现场卫生状况以及是否无菌操作^[20]。

2.7 采集样品的贮存和运输

应尽快将样品送往实验室检验,一般不得超过3 h,如路途遥远,可将检样保存在0~5℃环境中,在运输过程中应保持样品的完整性,应在接近原有贮存温度条件下贮存样品,如冷冻样品仍需保持在冷冻状态,非冷冻样品可放0~5℃中保存,为保证样品的原有状态,除以上方法还可以采用防止微生物的数量变化的其他措施办法。

3 结论

综上所述,保证食品安全工作重点内容是避免和降低食品受到微生物污染。微生物污染食品具有不确定性和广泛性的特点,受周围环境、工作台面、操作人员、操作过程、水质、材料等方面因素的影响,为保证检验数据准确和保障食品安全,需要现场采样人员正确无菌的操作以及实验人员在实际检验工作中专业规范严谨的操作^[11],微生物学样品的采集操作保存是食品检验工作中非常重要的基础工作^[21]。专业的采样人员,样品采集过程的正确操作,样品的选择、样品的标记、记录及贮存运输,以上任何环节在整个微生物学样品采集操作规程中都紧密相扣,缺一不可。

参考文献

- [1] 李琳, 琚会艳, 范存峰. 《检验检测机构资质评审准则》与地表水环境监测样品采集质量控制[J]. 能源与环境, 2019, (2): 94-96.
- [2] Li L, Ju HY, Fan CF. Criteria for qualification assessment of inspection and testing institutions and quality control of surface water environmental monitoring sample collection [J]. Energy Environ, 2019, (2): 94-96.
- [3] 张涛. 临床样品采集送检注意事项[J]. 兽医导刊, 2019, (7): 72-73.
- [4] Zhang T. Notes for clinical sample collection and inspection [J]. Vet Guide, 2019, (7): 72-73.
- [5] 杨芝慧, 魏显珍. 环境空气和废气样品采集细节问题探讨[J]. 中国资源综合利用, 2019, 37(2): 142-144, 147.
- [6] Yang ZH, Wei XZ. Discussions on the details of sample collection of ambient air and exhaust gas [J]. Compr Utilizat Res China, 2019, 37(2): 142-144, 147.
- [7] 李锋. 突发公共卫生事件检验的质量控制的有效策略研究[J]. 中国卫生产业, 2019, 16(5): 190-191.
- [8] Li F. Effective strategies for quality control of public health emergencies testing [J]. China Health Ind, 2019, 16(5): 190-191.
- [9] 张文馨. 食品微生物检验样品采集和保存的注意事项及检验技术[J]. 现代食品, 2018, (21): 43-44, 47.
- [10] Zhang WX. Notes and inspection techniques for sampling and preservation of food microbiological test samples [J]. Mod Food, 2018, (21): 43-44, 47.
- [11] 吕波. 水质环境监测中样品采集及保存过程中的质量控制方法研究[J].

- 环境与发展, 2018, 30(7): 138-140.
- Lv B. Study on quality control methods in sample collection and preservation in water quality environmental monitoring [J]. Environ Dev, 2018, 30(7): 138-140.
- [7] 邵伟. 环境监测水质样品采集注意事项的思考[J]. 环境与发展, 2018, 30(9): 144-145.
- Shao W. Considerations on matters needing attention in sampling water quality samples for environmental monitoring [J]. Environ Dev, 2018, 30(9): 144-145.
- [8] 李艳芳, 杨晚晴, 韦艳琳, 等. 食品微生物检验样品采集和保存的相关问题与检验[J]. 食品安全导刊, 2019, (6): 112.
- Li YF, Yang WQ, Wei YL, *et al.* Problems and examination of sample collection and preservation for food microbiological inspection [J]. Chin Food Saf Magaz, 2019, (6): 112.
- [9] 陈亚阳. 基于 ZigBee 技术的计量数据采集系统在食品溯源监管中的应用[J]. 质量技术监督研究, 2019, (1): 54-56, 60.
- Chen YY. Application of measurement data acquisition system based on ZigBee technology in food traceability supervision [J]. Res Qual Tech Superv, 2019, (1): 54-56, 60.
- [10] 黄亚楠, 吴艳芳, 于慧颖. 食品微生物检验样品的采集和保存及检验方法[J]. 现代食品, 2018, (23): 70-71, 78.
- Huang YN, Wu YF, Yu HY. Collection and preservation of food microbiological test samples and test methods [J]. Mod Food, 2018, (23): 70-71, 78.
- [11] 李岩. 食品微生物检验样品采集和保存的注意事项及其检验技术[J]. 中国卫生产业, 2017, 14(6): 39-40.
- Li Y. Matters needing attention in the collection and preservation of food microbial test samples and their inspection techniques [J]. China Health Ind, 2017, 14(6): 39-40.
- [12] 马天华. 浅谈食品微生物检验样品的采集和保存[J]. 求医问药(学术版), 2012, 10(2): 78.
- Ma TH. Discussion on the collection and preservation of food microbial test samples [J]. Seek Med Ask Med (Acad Ed), 2012, 10(2): 78.
- [13] GB 14934-2016 食品安全国家标准 消毒餐(饮)具[S].
- GB 14934-2016 National food safety standard-Sterilizing tableware [S].
- [14] GB 4789.1-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验总则[S].
- GB 4789.1-2016 National food safety standards-General provisions for food microbiology inspection [S].
- [15] GB 15979-2002 一次性使用卫生用品卫生标准 生产环境采样与测试方法[S].
- GB 15979-2002 Hygienic standard for disposable sanitary goods production environment sampling and testing method [S].
- [16] 刘晓敏. 食品微生物检验的内容特点和检验质量控制措施[J]. 中国医药指南, 2015, (15): 276-277.
- Liu XM. Content characteristics and quality control measures of food microorganism inspection [J]. Guide China Med, 2015, (15): 276-277.
- [17] 邓磊, 董婷. 浅议食品微生物检验的质量控制[J]. 中国调味品, 2017, 42(4): 178-180.
- Deng L, Dong T. Discussion on quality control of food microbiological test [J]. China Condiment, 2017, 42(4): 178-180.
- [18] 李冬冬. 食品微生物检验质量控制分析[J]. 中国卫生标准管理, 2015, (7): 1-2.
- Li DD. The analysis and control of the quality of inspection on food microorganism [J]. China Health Stand Manag, 2015, (7): 1-2.
- [19] 林耀文, 范安妮, 刘海卿, 等. 浅谈加强食品微生物检验质量控制措施[J]. 生物技术世界, 2014, (8): 53.
- Lin YW, Fan AN, Liu HQ, *et al.* Discussion on the measures to strengthen the quality control of food microorganism inspection [J]. Biotech World, 2014, (8): 53.
- [20] 耿丹丹, 康伟涛, 米松. 强化食品微生物检验质量的实践思路分析与讨论[J]. 现代食品, 2016, 3(5): 77-78.
- Geng DD, Kang WT, Mi S. Analysis and discussion on the practice of strengthening the quality of food microbe inspection [J]. Mod Food, 2016, 3(5): 77-78.
- [21] 郭庆华. 食品微生物检验样品采集和保存的注意事项及其检验技术[J]. 大科技, 2018, (11): 344-345.
- Guo QH. Matters needing attention in the collection and preservation of food microbial test samples and their inspection techniques [J]. Super Sci, 2018, (11): 344-345.

(责任编辑: 徐 梅)

作者简介

黄启红, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为微生物分析测试。
E-mail: 39341441@qq.com