

Hygicult 载片培养法快速检测表面大肠菌群的效果评价

彭少杰<sup>1</sup> 李 洁<sup>1</sup> 张 磊<sup>1</sup> 傅长鸿<sup>1</sup> 陈 敏<sup>2</sup> 王 颖<sup>2</sup> 孙薇薇<sup>3</sup>

(1. 上海市卫生局卫生监督所,上海 200031;2. 上海市疾病预防控制中心,上海 200336;  
3. 上海基恩科技有限公司,上海 200129)

**摘 要:**为探讨 Hygicult 载片培养法快速检测食品生产加工单位和餐饮单位环节表面大肠菌群的效果,对代表 3 种不同清洁程度的保健品生产单位、裱花蛋糕生产单位和餐饮单位的 636 件环节样品,以及实验室人工污染标准大肠杆菌的样品分别用载片培养法和常规发酵法进行检测,比较两种检测方法的符合率。在现场样品中,两种检测方法的总体符合率为 97.6%,其中,按食品行业分类,保健品生产单位、裱花蛋糕生产单位和餐饮单位样品检测结果的符合率分别为 98.0%、96.2%和 93.8%;按样品种类分类:容器、工具、操作台、手、裱带、碗碟、砧板和刀具检测结果的符合率分别为 100%、100%、100%、100%、96.5%、96.4%、93.2%和 89.2%;按样品材质分类:不锈钢、瓷器、手、塑料、木质和布质检测结果的符合率分别为 100%、100%、96.5%、95.0%、91.8%和 89.2%;上述两法检测结果比较均差异无显著性( $P>0.05$ )。在实验室人工污染样品中,两种检测结果一致。Hygicult 载片培养法可以代替常规发酵法作为食品行业环节表面大肠菌群污染的快速检测方法。

**关键词:**微生物学技术;细菌;大肠杆菌;危险性评估

Evaluation of Hygicult CF Dipslides Method in Rapid Examination of Coliform on Surfaces in Food Production Areas

PENG Shao-jie, LI Jie, ZHANG Lei, FU Chang-hong, CHEN Min, WANG Ying, SUN Wei-wei  
(Shanghai Municipal Institute of Health Inspection, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** To evaluate the Hygicult CF dipslides method in on-site examination of coliform on the surfaces in food production areas and catering places, the hygicult CF dipslides method and traditional zymotechnic method were used to make parallel examinations of coliform on the surfaces of health food production areas, flowered cake shops and catering places which represented three different levels of contamination. The total number of samples was 636. The two methods were also used to examine the coliform on the stainless-steel surfaces artificially contaminated with *E. coli* (ATCC). The results the samples taken from the food production areas: The overall rate of coincidence of the results from the two methods was 98.0%. According to the sampling sites, the rate of coincidence of the results from the two methods on the surfaces of examination was 98.0% in the health food production areas, 96.2% in the flowered cake shops and 93.8% in the catering places. According to the type of the samples, the rate of coincidence of the results from the two methods was 100% on the surfaces of the food containers, cooking utensils and the operating tables, 96.5% on the surface of the conveyer belts, 96.4% on the surface of the bowls, 93.2% on the surface of the cutting-boards and 89.2% on the surface of the cutting-knives. According to the material of the samples, the rate of coincidence of the results from the two methods was 100% on the surface of stainless steel, 96.5% on the surface of chinaware, 95.0% on the worker's hands, 91.8% on the plastic surfaces and 89.2% on the fabric surfaces. There was no statistical difference between the results from the two methods ( $P>0.05$ ). The samples taken from the artificially contaminated stainless-steel surfaces: the two methods got similar results. Therefor, Hygicult CF dipslides method can replace the traditional zymotechnic method in examining the coliform on the surfaces in food production areas.

**Key word:** Microbiological Techniques; Bacteria; *Escherichia coli*; Risk Assessment

大肠菌群作为肠道致病菌污染食品的主要指示菌,已被列为我国餐(饮)具消毒卫生标准的重要指  
标菌,并已制定了相应的检验方法—GB 14934—

1994“食(饮)具消毒卫生标准”(发酵法和纸片法)。对食品加工操作环节大肠菌群指标的监测是评估食品潜在风险,控制和避免致病微生物污染的一个重要手段,也是食品卫生监督的一项重要内容。但环节表面大肠菌群指标按常规发酵法检测需要在实验室内完成,检测时间较长,操作也不方便,纸片法虽

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(044319212)  
作者简介:彭少杰 男 主管医师



然操作简便,但其产品的稳定性和结果的可重复性有待探讨。鉴于此,包括我国在内的世界各国都投入大量的人力、物力研发和推广环节表面卫生的快速检测仪器、试剂和方法。Hygicult 载片是芬兰的 Orion Diagnostica 公司根据欧盟相关法规设计的用于食品生产加工过程和公共场所卫生学指标的快速检测产品,本次研究对 Hygicult 大肠菌群检测载片培养法和国标常规发酵法进行比较,以评估该方法快速检测大肠菌群的效果和现场可操作性。

1 材料和方法

1.1 Hygicult —CF 载片 即大肠菌群快速检测载片,由芬兰 Orion Diagnostica 公司在中国的产品代理商—基恩科技有限公司提供。该产品是一种结晶紫中性红胆盐琼脂载片,它把适合于大肠菌群快速生长的琼脂培养基浇注在一块带折叶设计的塑料片上,使培养基能方便、充分地与环境表面进行接触采样。载片每一面面积是 9.6 cm<sup>2</sup>,片连着帽盖,可以使载片在无污染情况下放回到无菌培养管中进行转运和培养。大肠菌群细菌能够分解琼脂载片上的乳糖,产酸、产气并产生其它特征性的形态、颜色变化,从而通过目测对大肠菌群菌落数进行定性或定量的快速检测。

1.2 人工污染大肠杆菌标准菌株不锈钢平板 首先在实验室配置低浓度(数量级约 10<sup>2</sup> CFU/ml)和高浓度(数量级约 10<sup>4</sup> CFU/ml)大肠杆菌(标准号:ATCC25922)菌悬液,依次吸取 2 种浓度菌悬液 0.3 ml 到 10 cm ×10 cm 无菌不锈钢表面各 10 块,再用 L 型玻璃棒在其表面涂抹均匀,然后将不锈钢放至层流通风橱中干燥 5 min 作为采样对象<sup>[2]</sup>,依干燥时间顺序两两随机配对编号后立即由 2 个试验员分别用载片培养法和常规发酵法对不锈钢表面平行样进行检验,配置的菌悬液的准确浓度用平板浇注法得出,再换算成相应不锈钢平板上大肠菌群浓度。

1.3 采样与检验

1.3.1 样品来源 选择分别代表不同清洁程度的 3 种行业——餐饮单位、裱花蛋糕生产单位和益生菌类保健品生产单位为采样对象。其中餐饮单位采取操作间自然状况下的碗碟、砧板、刀具、工作人员手,裱花蛋糕生产单位采取裱带、容器、台面、工具、手,益生菌类保健品生产单位采取容器、工具、台面、手。

1.3.2 常规发酵法(采样与检验) 将 2.0 cm ×2.5 cm(5 cm<sup>2</sup>)灭菌滤纸片 10 张(总面积 50 cm<sup>2</sup>)紧贴采样对象表面 1 min,然后置于 50 ml 灭菌盐水试管中,充分振摇后制成原液,按 GB 4789.3—2003 进行检验。

1.2.3 载片培养法(采样与检验) 选择上述样品同一区域边缘间距小于 1 cm 的相邻部位进行采样,从无菌密封采样培养管中旋出载片,立即把载片两面紧紧地压向被测表面,使之与表面完全接触 10 s 左右,然后将载片放回培养管,带回实验室在 36 培养箱中培养 24 h 进行菌落计数和结果判断。

1.4 结果判定 以食(饮)具消毒卫生标准(GB 14934—94)为参考,将两种方法检测结果中大肠菌群 3 CFU/100 cm<sup>2</sup> 的判定为阳性<sup>[1]</sup>。

检验由培训合格的卫生监督员严格按照标准化操作规程对样品进行采样、转运和培养,载片培养法检测结果判读由 1 名专业人员独立完成,常规发酵法检测由上海市疾病预防控制中心完成。

每批载片检测分别设置 1 个空白对照和阳性对照。

1.5 数据统计与分析 用 Excel 对数据进行录入,用 SAS6.12 对数据进行分析。

在用两种方法对标准菌株检测的定量对比试验分析中,由于常规发酵法得出的是根据统计方法得到的大肠菌群最大可能数(MPN),载片培养法得出的是大肠菌群实际菌落数,不能直接进行比较,因此以实际菌落数是否在 MPN 95 %可信区间内来进行比较。

2 结果

2.1 两种方法检测不同清洁度食品行业大肠菌群符合率比较 共检测代表 3 种不同清洁程度食品行业的 636 件样品,常规发酵法和载片培养法的阳性率分别为 22.0 %和 22.8 %,符合率为 97.6 %((135 + 486)/636),两法比较差异无显著性(P > 0.05),其中,保健品生产单位,裱花蛋糕生产单位和餐饮单位的两法比较的符合率分别为 98.5 %、97.0 %和 97.6 %,两法比较差异均无显著性(P > 0.05)。详见表 1。

表 1 两种方法检测不同食品行业大肠菌群符合率比较

单位	样品数	载片培养法	常规发酵法		符合率 %	P 值
			阳性	阴性		
保健品生产单位	134	阳性	4	2	98.5	> 0.05
		阴性	0	128		
裱花蛋糕生产单位	166	阳性	16	3	97.0	> 0.05
		阴性	2	145		
餐饮单位	336	阳性	115	5	97.6	> 0.05
		阴性	3	213		
合计	636	阳性	135	10	97.6	> 0.05
		阴性	5	486		

2.2 两种方法检测不同种类样品大肠菌群符合率比较 对 636 件食品行业环节表面样品按种类——容器、工具、操作台、手、裱带、碗碟、砧板和刀具进行



检测,常规发酵法和载片培养法检测的符合率分别为 100 %、100 %、100 %、100 %、96.5 %、96.4 %、93.2 %和 89.2 %,两法比较差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。详见表 2。

表 2 两种方法检测不同种类环节大肠菌群符合率比较						
环节种类	试样数	载片培养法	常规发酵法		符合率 %	P 值
			阳性	阴性		
容器	67	阳性	7	0	100.0	>0.05
		阴性	0	60		
刀具	77	阳性	26	0	100.0	>0.05
		阴性	0	51		
操作台	92	阳性	3	0	100.0	>0.05
		阴性	0	89		
碗碟	106	阳性	19	0	100.0	>0.05
		阴性	0	87		
手	142	阳性	52	3	96.5	>0.05
		阴性	2	85		
工具	56	阳性	4	2	96.4	>0.05
		阴性	0	50		
砧板	59	阳性	21	3	93.2	>0.05
		阴性	1	34		
裱带	37	阳性	3	2	89.2	>0.05
		阴性	2	30		
合计	636	阳性	135	10	97.6	>0.05
		阴性	5	486		

2.3 两种方法检测不同材质样品大肠菌群符合率比较 对 636 件食品行业环节表面样品按材质——不锈钢、瓷器、手、塑料、木质和布质进行检测,常规发酵法和载片培养法检测的符合率分别为 100 %、100 %、96.5 %、95.0 %、91.8 %和 89.2 %,两法比较差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。详见表 3。

表 3 两种方法检测不同材质环节表面大肠菌群符合率比较						
材质种类	试样数	载片培养法	常规发酵法		符合率 %	P 值
			阳性	阴性		
不锈钢	282	阳性	46	0	100.0	>0.05
		阴性	0	236		
瓷器	86	阳性	14	0	100.0	>0.05
		阴性	0	72		
手	142	阳性	52	3	96.5	>0.05
		阴性	2	85		
塑料	40	阳性	4	2	95.0	>0.05
		阴性	0	34		
木质	49	阳性	16	3	91.8	>0.05
		阴性	1	29		
布质	37	阳性	3	2	89.2	>0.05
		阴性	2	30		
合计	636	阳性	135	10	97.6	>0.05
		阴性	5	486		

2.4 载片培养法阳性菌落的证实试验 将载片培

养结果中判读为大肠菌群的紫红色菌落随机挑取 60 个,无菌接种到复发酵培养基中,37 培养 24 h,产酸、产气者再用 EMB 平板分离培养,37 18 h 后做革兰染色及靛基质、甲基红、V - P、柠檬酸盐、H<sub>2</sub>S、明胶、动力、44 乳糖发酵试验,验证结果全部证实为大肠菌群菌落。

2.5 两种方法对标准菌株检测的定量对比试验 从表 4 结果中看出,载片培养法检测的结果均落在常规发酵法检测结果上下 95 %的可信区间内,符合率达 100 %。载片法在低浓度时采样率[ (载片培养法实际检测浓度/ 样品理论浓度) ×100 %]为 15.5 %,在高浓度时采样率为 2.9 %;常规发酵法在低浓度时采样率[ (常规发酵法实际检测 MPN/ 样品理论浓度) ×100 %]为 10.2 %,在高浓度时采样率为 2.4 %。

表 4 两种方法对人工污染大肠杆菌标准菌株 不锈钢平板的检测结果						
平行样 品编号	理论浓度 (CFU/100 cm <sup>2</sup> )	载片培养法 (CFU/100 cm <sup>2</sup> )	常规发酵法 (CFU/100 cm <sup>2</sup> )			是否 符合
			MPN	95 %下限	95 %上限	
1 号	510	83	40	<5	200	是
2 号	510	94	70	10	230	是
3 号	510	73	40	<5	200	是
4 号	510	62	40	<5	200	是
5 号	510	83	70	10	230	是
6 号	51000	1040	930	150	3800	是
7 号	51000	1976	930	150	3800	是
8 号	51000	1612	2400	360	13000	是
9 号	51000	1175	930	150	3800	是
10 号	51000	1591	930	150	3800	是

5 讨论

大肠菌群作为人、畜粪便污染的指示菌而成为食品及食品加工环节表面卫生学评价的重要指标,也是卫生监督部门的常规监测指标。常规发酵法作为大肠菌群的常规检测方法,需要配套的实验室和专业人员,操作较复杂,所需时间较长,不利于环节表面卫生的日常监督监测工作。本次采用两种方法对 3 种不同行业 636 件环节表面样品的定性检测结果表明,Hygicult 载片培养法与常规发酵法无论按食品行业分类,或按样品种类分类,或按样品材质分类,大肠菌群定性检测结果的符合率均较高,2 种方法差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。

载片培养法检验结果和采用方法密切相关,本次对环节表面的采用均采用接触法进行,从两法检验结果的比较得知,对于表面光滑平坦,接触面大的样品,如不锈钢容器、刀具、瓷器碗、碟等,由于载片的琼脂表面能与采样对象的表面充分接触,两法的

GFAAS 中有机基体改进剂消除食盐基体干扰的研究

彭荣飞<sup>1</sup> 黄 聪<sup>1</sup> 黎淑端<sup>1</sup> 张展霞<sup>2</sup>

(1. 广州市疾病预防控制中心,广东 广州 510080;2. 中山大学化学与化学工程学院,广东 广州 510275)

**摘 要:**为探讨有机基体改进剂消除食盐基体干扰的效果和作用机理,采用维生素 C、草酸、酒石酸和草酸作为基体改进剂,比较加入有机基体改进剂前后石墨炉原子吸收光谱法测定 Pb、Cu 和 Cd 3 个元素的信背比、原子吸收信号与背景的峰值信号的峰型、原子化温度、回收率和精密度。结果表明:采用有机基体改进剂后,原子化信号和背景信号分离,原子化温度降低了 100~450 ,信背比提高了 5.1~45.8 倍。精密度优于 5.2%,实际样品的回收率为 91.0%~107%。说明有机基体改进剂可有效消除食盐的基体干扰,其作用机理为由于有机基体改进剂本身的表面活性和络合作用,分解产物形成强还原气氛。  
**关键词:**氯化钠,膳食;分光光度法,原子吸收;铅;铜;镉

Study of Organic Matrix Modifiers for Elimination of Salt Matrix Interference in GFAAS

PENG Rong-fei, HUANG Cong, LI Shu-duan, ZHANG Zhan-xia

(Guangzhou municipal center for disease control and prevention, Guangdong Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** To study the effect of organic reagent as matrix modifier for eliminating the salt matrix interference and its mechanism, ascorbic acid, citric acid, tartaric acid and oxalic acid were used as matrix modifier in the determination of Pb, Cu and Cd by GFAAS. The analytical information before and after adding organic matrix modifiers were compared. After the addition of organic matrix modifiers, the atomization signal and background signal were separated, atomization temperatures decreased enormously, the ratios of atomization signal to background signal increased and the RSDs and recoveries of practical samples improved obviously. It was concluded that organic matrix modifiers can eliminate salt matrix interference effectively, The mechanism of the effect of the organic matrix modifiers is suggested to be caused by the reductive substances produced by the decomposition of the organic additives as well as the complexing action and the melt-assisting action of the organic additives.  
**Key word:** Sodium Chloride, Dietary; Spectrophotometry, Atomic Absorption;Lead; Copper; Cadmium

检验结果完全一致。相反,对于某些表面粗糙或不平整的样品如砧板、裱带等,由于采样缺乏一定的代表性,导致载片培养法检测结果和常规发酵法有一定的出入,但以定性结果作为评价依据,两种检测方法差异未达到统计学显著性。

本次采用 2 种方法对实验室人工污染标准大肠杆菌的不锈钢平板检测发现,载片培养法检测的结果均落在常规发酵法检测结果上下 95% 的可信区间内,在低浓度大肠杆菌污染的不锈钢平板上,载片培养法的采样率要略高于常规发酵法,在高浓度大肠杆菌污染的不锈钢平板上,两法的采样率基本一致。

本次作为阴性对照的样品均无任何菌落生长,阳性样品均有大肠菌群所特有的典型菌落生长,载

片培养法作为一种大肠菌群的快速检测方法,其携带方便,操作简单,省时省力,结果可靠,适合各级卫生监督部门对环节表面卫生的监督监测和食品生产加工单位的自检自控。

参考文献

[1] 中国预防医学科学院标准处. 食品卫生国家卫生标准汇编(3) [M]. 北京:中国标准出版社, 1995.  
[2] Validation of the microbiological methods Hygicult dipslide, contact plate and swabbing in surface Hygiene control: A nordic collaborative study [J]. Journal of AOAC International, 2000, 83(6).

[收稿日期:2005-08-24]

中图分类号:R15;TS207.4 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2006)02-0119-04

基金项目:广东省医学科学技术研究基金(A20040586)  
作者简介:彭荣飞 男 硕士 主管技师