

实验技术与方法

食品中金黄色葡萄球菌平板计数不确定度评定

包芳珍

(杭州市江干区疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310004)

摘要:目的 为更好地评估食品中金黄色葡萄球菌指标。方法 按 GB 4789.10—2010 方法检验食品中金黄色葡萄球菌,按 JJG 196—2006 对菌落平板计数结果进行不确定度评定。结果 测量结果的扩展不确定度为 $U = 0.072 \times \lg T$ (T —食品中金黄色葡萄球菌菌落数), $k=2$ 。结论 测量不确定度评定可更为准确地评价食品质量,确保出厂食品的安全。

关键词:食品;金黄色葡萄球菌;平板计数;不确定度;食源性致病菌

中图分类号:R155.5 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)S-0007-03

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.S.003

The uncertainty evaluation of plate counting measurement of *Staphylococcus aureus* in foods

BAO Fang-zhen

(Hangzhou Jianggan Center for Disease Control and Prevention, Zhejiang Hangzhou 310004, China)

Abstract: Objective To better assess the indicators of *Staphylococcus aureus* in foods. **Methods** According to JJF 1059.1-2012, the uncertainty of plate counting measurement of *Staphylococcus aureus* in foods was evaluated. **Results** The expanded uncertainty of measurement was $U = 0.072 \times \lg T$ (T —the colony count of *Staphylococcus aureus* in foods), $k=2$. **Conclusion** The uncertainty evaluation of measurement can accurately evaluate the food and ensure the safety of the food from factory.

Key words: Food; *Staphylococcus aureus*; plate counting measurement; uncertainty of measurement; foodborne pathogens

金黄色葡萄球菌广泛分布于自然界,极易污染食品,由其引起的食物中毒时有报道^[1-3],故准确评估食品中金黄色葡萄球菌污染数量意义重大。金黄色葡萄球菌进行平板计数时,实验过程存在诸多不确定因素。本文就单份样品单次计数结果的不确定度进行评定。

1 材料和方法

1.1 仪器

250 ml 量筒;电子天平;10 ml 分度吸管;1 ml 分度吸管。

1.2 方法

1.2.1 检验方法

按照 GB 4789.10—2010 中金黄色葡萄球菌检验方法^[4],以固体样本为例,无菌下称取检样 25 g 至 225 ml 稀释液中,均质,制成 1:10 样品匀液。吸取 1 ml 1:10 样品匀液至 9 ml 稀释液,制成 1:100 样品匀液,依次递增 10 倍稀释。选择 2 ~

3 个适宜连续稀释度的样品匀液,取 1 ml 以 0.3、0.3、0.4 ml 接种量分别加入 Baird-Parker 平板,用无菌 L 棒涂布整个平板,等样品匀液吸收后于 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 45 ~ 48 h。选择 3 个平板上合计菌落数在 20 ~ 200 cfu 的稀释度,计数典型菌落数,从典型菌落中任选 5 个菌落(小于 5 个全选),分别作证实试验,最后进行结果计算。

1.2.2 建立数学模型

选择 1:10 和 1:100 两个稀释度且合计菌落数均在 20 ~ 200 cfu 的条件下建立数学模型:

$$T = \frac{A_1 B_1 / C_1 + A_2 B_2 / C_2}{1.1d}$$

式中: T 为食品中金黄色葡萄球菌菌落数; A_1 为 1:10 稀释度典型菌落的总数; A_2 为 1:100 稀释度典型菌落的总数; B_1 为 1:10 稀释度血浆凝固酶阳性的菌落数; B_2 为 1:100 稀释度血浆凝固酶阳性的菌落数; C_1 为 1:10 稀释度用于血浆凝固酶试验的菌落数; C_2 为 1:100 稀释度用于血浆凝固酶试验的菌落数; 1.1 为计算系数; d 为稀释因子 (10^{-1})。

收稿日期:2015-5-12

作者简介:包芳珍 女 副主任技师 研究方向为微生物检验

E-mail:snakebfz@126.com

2 结果

2.1 不确定度分量的来源

主要来源于3个方面,包括样液制备、递增稀释和加样体积。

2.2 不确定度各分量分析

2.2.1 样液制备相对标准不确定度($u_{rel(制备)}$)

主要由2个分量组成,即称量25 g时电子天平相对标准不确定度($u_{rel(称)}$)及量取225 ml稀释液时量筒相对标准不确定度($u_{rel(量)}$)。

(1)电子天平不确定度包括示值误差和重复性引入的不确定度。根据检定证书,0~50 g量程时示值最大允许误差为 ± 0.05 g,取均匀分布得标准不确定度为 $\frac{0.05}{\sqrt{3}} = 2.89 \times 10^{-2}$ g;重复性最大允许误差为 ± 0.15 g,取均匀分布得标准不确定度为 $\frac{0.15}{\sqrt{3}} = 8.66 \times 10^{-2}$ g。

则 $u_{rel(称)} = \frac{\sqrt{(2.89 \times 10^{-2})^2 + (8.66 \times 10^{-2})^2}}{25}$
 $= 3.65 \times 10^{-3}$

(2)根据JJG196—2006方法^[5]得250 ml量筒容量允许误差为 ± 2.0 ml,取均匀分布。

则 $u_{rel(量)} = \frac{2.0}{225 \times \sqrt{3}} = 5.13 \times 10^{-3}$ 。

(3) $u_{rel(称)}$ 和 $u_{rel(量)}$ 是相互独立的2个分量,

则 $u_{rel(制备)} = \sqrt{u_{rel(称)}^2 + u_{rel(量)}^2} = 6.30 \times 10^{-3}$ 。

2.2.2 递增稀释相对标准不确定度($u_{rel(稀释)}$)

主要由10 ml分度吸管和1 ml分度吸管引入的不确定度。在制备1:100样品匀液时,10和1 ml分度吸管各用了1次。根据检定证书,10和1 ml分度吸管准确度等级均为A级,查JJG196—2006得到10和1 ml分度吸管的容量允差分别为 ± 0.05 和 ± 0.008 ml,取均匀分布。

则 $u_{rel(稀释)} = \sqrt{\left(\frac{0.05}{9 \times \sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0.008}{1 \times \sqrt{3}}\right)^2}$
 $= 5.62 \times 10^{-3}$

2.2.3 加样体积相对标准不确定度($u_{rel(加样)}$)

1:10和1:100稀释度均取1 ml以0.3、0.3、0.4 ml接种量分别加入Baird-Parker平板,2个稀释度1 ml分度吸管均用了3次。

1:10和1:100稀释度加样时相对标准不确定度均为:

$\sqrt{\left(\frac{0.008}{0.3 \times \sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0.008}{0.3 \times \sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0.008}{0.4 \times \sqrt{3}}\right)^2}$
 $= 2.46 \times 10^{-2}$
 $u_{rel(加样)} = \sqrt{(2.46 \times 10^{-2})^2 + (2.46 \times 10^{-2})^2}$

$= 3.48 \times 10^{-2}$

2.3 不确定度的合成

$u_{rel(制备)}$ 、 $u_{rel(稀释)}$ 和 $u_{rel(加样)}$ 是相互独立的分量,则:

$u_{crel} = \sqrt{u_{rel(制备)}^2 + u_{rel(稀释)}^2 + u_{rel(加样)}^2} = 3.58 \times 10^{-2}$

2.4 扩展不确定度

取 $k=2$, $U_{rel} = k \times u_{crel} = 2 \times 3.58 \times 10^{-2} = 0.072$

$U = U_{rel} \times \lg T = 0.072 \times \lg T$

假设 $T = 900$ cfu/g, $\lg 900 = 2.95$, $U = 0.21$,则该份样品金黄色葡萄球菌平板计数取值区间为 $10^{2.95 \pm 0.21}$,即在550~1445 cfu/g区间。

3 讨论

金黄色葡萄球菌普遍存在于外环境和20%~40%的成人体表^[6],极易污染食品,易引起食物中毒。该菌进行平板计数时,实验过程中存在诸多不确定因素,不确定分量来源包括样品均匀性、样液制备、递增稀释、加样体积和培养条件等,其中有些分量或无法确定或影响较小而不予考虑,本文重点评定样液制备、递增稀释和加样体积所引入的不确定度。

金黄色葡萄球菌平板计数不确定度评定方法多样。本文进行的是单份样品单次计数不确定度评定,有的笔者就同一份样品多次计数进行了不确定度评定^[7-8],另有同一份样品不同人员测量进行不确定度评定^[9]。三种方法各有用处,前两种方法主要用于样品测量评定,第三种方法主要用于盲样考核评定,在实际工作中可根据需要选择适宜的评定方法。

随着国家对食品安全重视程度的提高,评价某些食品中金黄色葡萄球菌指标是否合格由定性转向定量。如GB 29921—2013《食品安全国家标准食品中致病菌限量》中规定,每批即食豆类制品抽检5份样品进行金黄色葡萄球菌检测,至多只能有1份超出可接受水平的限量值,即食豆类制品可接受水平的限量值是100 cfu/g,最高安全限量值是1000 cfu/g。新标准对产品合格与否的判断更科学更规范,而一份完整且有意义的计数结果需附有不确定度说明^[10]。为了能更准确地评估一批食品是否合格,尤其是当计数结果处于最高安全限量值附近时,对其结果进行不确定度评定意义重大。假设有一批即食豆类制品,从中抽检5份样品,其中4份样品 $T \leq 100$ cfu/g,1份样品 $T = 900$ cfu/g。在不确定度评定前可判为合格产品,而在不确定度评定后,取值区间是550~1445 cfu/g,存在不合格的可能。对于此种情况,判定时应更谨慎,可对同一批产品重新抽样检验,确保出厂食品的安全。

参考文献

- [1] 孙晓冰,艾丽艳,芭蕾,等.一起由金黄色葡萄球菌引起的食物中毒事件调查[J].职业与健康,2008,24(13):1268-1269.
- [2] 王晓红.由金黄色葡萄球菌肠毒素引起食物中毒的实验室检测和耐药性分析[J].中国消毒学杂志,2012,29(3):247-248.
- [3] 崔莹,张丁,张秀丽.一起由金黄色葡萄球菌及其肠毒素引起的食物中毒实验室分析[J].中国卫生检验杂志,2014,24(8):1162-1164.
- [4] 中华人民共和国卫生部.GB 4789.10—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [5] 国家质量监督检验检疫总局.JJG 196—2006 中华人民共和国计量检定规程 常用玻璃量器[S].北京:中国计量出版社,2007.
- [6] 刘锡光.现代诊断微生物学[M].北京:人民卫生出版社,2002:320-324.
- [7] 王李宝,凌云,刘绿叶,等.水产品金黄色葡萄球菌检验结果不确定度的评定[J].食品科学,2010,31(10):212-215.
- [8] 张洪军,张铭华.食品中金黄色葡萄球菌平板计数不确定度的评定[J].微生物学杂志,2013,33(2):39-42.
- [9] 徐丽萍,商晓春,舒青青.质控金黄色葡萄球菌计数结果不确定度评定[J].中国卫生检验杂志,2011,21(3):654-656.
- [10] 王以铭.测量不确定度评定与表示指南[M].北京:中国计量出版社,2005.

· 科普园地 ·

中国健康促进联盟健康生活行为指导建议 ——关于减盐

过量摄入食盐是引发高血压、冠心病、中风等慢性病的重要因素之一。减少食盐摄入具有明确的降压效果,并能因此降低相关疾病的发病率。

减盐应从企业、单位、家庭和个人做起,改进传统的食品加工、烹饪方法和就餐习惯,做菜少放盐,就餐选低盐,不购买高盐成品食物。成人每日摄入食盐总量不超过6克(啤酒瓶盖一平盖)。儿童摄入食盐量应相应酌减。

相关主要证据:

高血压既是一种疾病,同时也是诸多慢性病如冠心病、中风等心脑血管病的危险因素,与心脑血管病的发病和死亡关系最为密切。我国现有2亿多高血压患者,患病人数还在以每年新增1000万人的速度上升,已成为迫切需要解决的重大公共卫生问题。减少食盐摄入是预防高血压最具成本效果的人群策略。

盐摄入与血压升高呈正相关,减少食盐摄入具有明确的降压效果。根据世界卫生组织2013年1月发布的《成人与儿童钠摄入指南》,每人每天如能减少5克盐,成年人的收缩压将平均下降约5.5 mmHg,高血压患病率下降7个百分点,可减少24%的中风和18%的冠心病。如此每年可避免36万人因中风和冠心病死亡,可减少150亿元的直接医疗成本。

中国人须尽快减少食盐摄入。2002年中国居民营养与健康状况调查结果表明,我国人均每日摄盐量为12克;2010年全国疾病监测地区慢性病及危险因素监测主要结果显示城市居民每日摄盐量为10.6克,都远高于《中国居民膳食指南》的推荐量(6克/天)和世界卫生组织的推荐量(5克/天)。(来源:中国疾病预防控制中心)

(相关链接:http://www.chinacdc.cn/jkzt/yyhspws/yyyyk/zstd_1703/201311/t20131113_90150.htm)