**食品微生物检验复习资料**

**名词解释:**

1.食品微生物检测：应用微生物学的理论与方法，研究外界环境和食品中微生物的种类、数量、性质、活动规律及其对人和动物健康的影响。

2.菌落总数（Aerobic Plate Count）：是指食品检样经过处理，在一定条件下（如培养基、培养温度和培养时间）培养后，所得每g（mL）检样中形成的微生物菌落总数。

3.大肠菌群(coliforms bacteria)：系一群在37℃，24h能发酵乳糖，产酸、产气，需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽胞杆菌。

4.指示菌：又称指标菌，是常规安全卫生监测中，可以用以指示检品（检验样品）卫生状况及安全性的指示性微生物。

5.FDA：食品及药物管理局（Food and Drug Administration ）

6.GLP：良好的实验室操作规范 (Good laboratory practice)

7.生物安全（Biohazard）：一般是指由现代生物技术开发和应用所能造成的对生态环境和人体健康产生的潜在威胁，及对其所采取的一系列有效预防和控制措施。

8.BSL：生物安全水平（Biological Safety Level）

9.灭菌：杀灭物体中或物体上所有微生物（包括病原微生物和非病原微生物）的繁殖和芽孢的过程称为灭菌，即灭菌是杀灭或消灭一定环境中的所有微生物。灭菌的方法分为物理灭菌法和化学灭菌法两大类。

10.消毒：用物理的、化学的或生物学的方法杀灭病原微生物的过程称为消毒。具有消毒作用的药物称为消毒剂，一般消毒剂在常用浓度下，只对细菌的繁殖体有效，对于细菌芽孢则无杀灭作用。

11.ICMSF：国际食品微生物学规范委员会。

12.无菌技术：指在微生物实验工作中，控制或防止各类微生物的污染及其干扰的一系列操作方法和有关措施。

13接种:将微生物接到适于它生长繁殖的人工培养基上或活的生物体内的过程。

14抗原（Antigen,Ag）：是指进入动物体内能刺激动物的免疫系统发生免疫应答，从而引起动物产生抗体或形成致敏淋巴细胞，并能和抗体或致敏淋巴细胞发生特异性反应的物质。（分为完全抗原：既具有免疫原性又具有反应；不完全抗原：只有反应原性而没有免疫原性的物质。）

15.抗体（Antibody，Ab）是由抗原刺激动物的免疫系统后，由免疫系统产生分泌的能和相应抗原发生特异性结合的免疫球蛋白 （immunoglobin，Ig）。通常 Ab 和 Ig 可作为同义词使用。

16菌落（Colony）：细菌经一定时间培养后，在固体培养基表面所形成的，肉眼可见的物体（群落）。

17转录：遗传信息由DNA转换到RNA的过程。

18.MPN：为最大可能数(Most Probable Number)的简称，是基于泊松分布的一种间接计数方法。

19.CFU：菌落形成单位（colony-forming units）

20.商业无菌：罐头食品经过适度的杀菌后，不含有致病微生物，也不含有通常温度下能在其中繁殖的非致病性微生物的状态。

21.平酸腐败：也叫平盖酸败。变质的罐头外观正常，内容物却在细菌活动之下变质，呈轻重不同的酸味，pH值可下降0.1-0.3。

22.病毒：一类能通过细菌滤器，仅含有一种类型核酸(DNA或RNA)，只能在活细胞内生长繁殖的非细胞形态微生物。

23.食物中毒：指摄入了含有生物性、化学性有害物质的食品或把有毒有害物质当作食品摄入后出现的非传染性的急性、亚急性疾病。

**考点及重点**（按PPT顺序给出）**：**

01 食品微生物检验——概述

一．食品微生物检验的目的：为生产出安全、卫生、符合标准的食品提供科学依据。

二．食品微生物检验的特点：

1.研究对象及范围广：食品种类多，各地区有各地区的特色，分布不同，在食品来源、加工、运输等都可能受到各种微生物的污染；微生物的种类非常多，数量巨大。

2.涉及学科多样：以微生物为基础，涉及生物学、生物化学、工艺学、发酵学、兽医学等方面的知识。

3.实用性及应用性强：通过检验，掌握微生物的特点和活动规律，识别有益的、腐败的、致病的微生物，在食品生产和保存过程中，可以充分利用有益的微生物为人类服务，同时控制腐败和病原微生物的活动，防止食品变质和杜绝因食品而引起的病害。

4.采用标准化：在食品的卫生质量标准中，有明确的微生物标准。必需达到法规规定的标准。《中华人民共和国国家标准——食品卫生微生物检验方法》中的具体规定，这是法定的检验依据。

三．食品微生物检验的内容：

1. 食品加工过程：包括食品生产环境，原料、加工过程，成品运输和保存；
2. 微生物的对象：各种指标菌的生物学特性和常规检验方法；
3. 食品的对象：每种食品的常见微生物，样品的采集、处理、检验的方法和程序，有关材料和用品。

四．食品微生物检验的范围：

1. 生产环境的检验：车间用水、空气、地面和墙壁；
2. 原辅料检验：食用动物、果蔬、谷物和添加剂；
3. 食品加工、储藏、销售诸环节的检验：食品从业人员的卫生状况、加工工具运输车辆和包装材料；
4. 食品的检验：出厂食品、可疑食品、食物中毒食品的检验。

五．食品微生物检验对食品安全有何意义：

首先，它是衡量食品卫生质量的重要指标之一，也是判定被检食品能否食用的科学依据之一；其次，通过食品微生物检验，可以判断食品加工环境及食品卫生情况，能够对食品被细菌污染的程度作出正确的评价，为各项卫生管理工作提供科学依据，提供传染病和人类、动物的食物中毒的防治措施；再次，食品微生物检验是以贯彻“预防为主”的卫生方针，可以有效地防止或者减少食物中毒和人畜共患病的发生，保障人民的身体健康；同时，它对提高产品质量，避免经济损失，保证出口等方面具有政治上和经济上的重大意义。

六．菌落总数的意义：食品中菌落总数的多少，直接反映着食品的卫生质量。是判断食品卫生质量的重要依据之一 。

（1）可以反应食品的新鲜度。

（2）可以反应食品被细菌污染的程度。

（3）生产过程中食品是否变质。

（4）食品生产的一般卫生状况等。

七．菌落总数的计算方法，包括结果的修约，参见GB4789

八．大肠菌群的卫生学意义：以大肠菌群作为粪便污染食品的卫生指标来评价食品质量具有广泛的意义。

九．GLP内容中的15个准则：1.目标和范围；2.任务和职责；3.人员；4.项目计划，协议和程序，以及GLP研究的实施；5.设备；6.材料；7.检测系统；8.仪器；9.培训，教育和经验；10.文件和记录；11.项目报告；12.审核；13.纠正措施/预防措施；14.持续改进；15.在资助和合同下进行的研究

十．检验技术的一般要求：

1．检验方法中所采用的名词及单位制，均应该符合国家规定的标准要求。

2．检验方法中所使用试剂均为分析纯，所使用水为纯度能满足分析要求的蒸馏水或软化水或其他相当纯度的水，除非特别声明。

3．检验中所用计量器具必须按国家规定及规程计量和校正。

4．称取量取精度要求用数值的有效数位表示。其中准确称取系指用精密天平进行的称量操作，其精度为土0.0001g；吸取系指用移液管、刻度吸量管取液体物质的操作。

5．检验有关要求

(1)检验时必须做空白试验。空白试验是指除不加样品外，采用完全相同的分析步骤、试剂和用量，进行平行操作所得的结果。用于扣除样品中试剂本底和计算检验方法的检出限。(2)检验时必须做平行试验。

6．检验方法的选择：同一检验项目，如有两个或两个以上检验方法时，可根据不同条件选择使用。但必须以国家标准(GB)方法的第一法为仲裁方法。

7．采样必须注意样品的生产日期、批号、代表性和均匀性。采集的数量应能反映该食品的卫生质量和满足检验项目对样品量的需要。

8．一般样品在检验结束后，应保留1个月，以备需要时复查。保留期限从检验报告单签发日起计算。易变质食品不宜保留。保留样应加封存放在适当地方，并尽可能保持其原装。

十一．微生物检验实验室的总要求、基本条件及具体要求：

总要求：对各室的共同要求是高度的清洁卫生，也就是要尽可能地创造无菌条件。

基本条件：微生物检验实验室必须具备显微镜工作，微生物分离培养工作及基本化学工作顺利进行的基本条件。

具体要求：

1、光线明亮，但避免阳光直射室内；

2、洁净无菌，地面与四壁平滑，便于清洁和消毒；

3、空气清新，应有防风、防尘设备；

4、要有安全，适宜的电源和充足的水源；

5、具备整洁、稳固、适用的实验台，台面最好有耐酸碱、耐腐蚀的黑胶板；

6、显微镜及实验室常用的工具、药品应设有存放橱柜。

十二．几种意外情况的处理：

（1）皮肤破伤：先除尽异物，用蒸馏水和生理盐水洗净后，涂以2％碘酒。

（2）灼烧伤：涂以凡士林、5％的鞣酸或2％的苦味酸。

（3）化学药品腐蚀伤：若为强酸腐蚀，先用大量清水冲洗后，再用50g/L碳酸氢钠或氢氧化铵溶液洗涤中和；若为强碱腐蚀，也先用大量清水冲洗后，再用5％醋酸或5％硼酸溶液洗涤中和。若受伤的是眼部，经过上述处理后，最后滴入橄榄油或液体石蜡1～2滴。

十三．生物安全的标志：

十四．食品微生物检验实验室为二级生物安全水平。

十五．BSL-1：进行试验研究用的物质都是已知的所有特性都已清楚并且已证明不会导致疾病的多种微生物物质，在这样的环境下并不需要生物安全柜的存在。BSL-2：进行试验研究用的物质是一些已知的中等程度危险性的并且与人类某些常见疾病相关的物质，一些可能涉及或者产生有害生物物质的操作过程都应该在二级生物安全柜内进行，如：流感病毒。BSL-3：进行试验研究的物质一般都是本土或者外来的有通过呼吸传染使人们致病或者有生命危险可能的物质，通常使用二级或者三级的生物安全柜是必需的，如：炭疽芽孢杆菌、鼠疫杆菌、结核分枝杆菌。BSL-4：进行试验研究的物质是一些极高危险性并且可以致命的有毒物质，在这样的实验研究中三级的生物安全柜是必需的，如：埃博拉病毒、马尔堡病毒、拉沙病毒。

十六．灭菌工作状态的化学检验法：利用某些化学药品的特定熔点可检查灭菌室内是否达到预定的温度，即利用药品做温度指示剂。取少量药品，封于试管中，然后夹在灭菌物品内，进行常规灭菌。灭菌后取出观察，如药品呈现出溶解后再结晶的状态，即表示灭菌器的温度已达到或超过它的熔点。实用上，常将两种指示剂结合实用，以便确切的了解灭菌器内温度。常用的指示剂有：焦性儿茶酚（104oC）、氨基比林（107-109oC）、安替比林（110-112oC）、乙酰苯胺（113-114oC）、化学纯硫磺粉S8B（119.25oC）及S8Y（120oC）、苯甲酸（121oC）、β-萘酚（121oC）等。

十七．活菌计数培养皿规格：原则上用90mm×10mm规格。

十八．ICMSF取样方案：在选择抽样方案之前，必须考虑诸多因素，包括检验目的，产品及被抽样品的性质以及分析方法。ICMSF方法中包括二级法及三级法两种。二级法只设有n、c及m值，三级法则有n、c、m及M值。M即附加条件后判定合格的菌数限量。其中，n：系指同一批次产品应采集的样品件数。

c：最大可允许超出m值的样品数。

m：微生物指标可接受水平的限量值。

M：微生物指标的最高安全限量值。

二级抽样方案:自然界中材料的分布曲线一般是正态分布，以其一点作为食品微生物的限量值，只设合格判定标准m值，超过m值的，则为不合格品。检查在检样是否有超过m值的，来判定该批是否合格。以生食海产品鱼的副溶血性弧菌为例，n=5，c=0，m=100，n=5即抽样5个，c=0即意味着在该批检样中，不得有超过m值（100）的检样，此批货物为合格品。如果c ≧0表明该批产品不合格。

三级抽样方案：例如，冷冻生虾的细菌数标准n=5，c=3，m=10，M=100，其意义是从一批产品中，取5个检样，经检样结果，允许≤3个检样的菌数是在m~M值（10~100）之间，如果有3个以上检样的菌数是在m~M值（ 10~100 ）之间或一个检样菌数超过M值（100）者，则判定该批产品为不合格品。

ICMSF对食品中微生物的危害度分类与抽样方案说明：在中等或严重危害的情况下使用二级抽样方案，对健康危害低的则建议使用三级抽样方案。

1. FDA和ICMSF的取样方案关于严重指标菌的区别：食品药品管理局(FDA)的取样方案与ICMSF的取样方案基本一致，所不同的是严重指标菌所取的15、30、60个样可以分别混合，混合的样品量最大不超过375g。也就是说所取的样品每个为100g，从中取出25g，然后将15个25g混合成一个375g样品，混匀后再取25g作为试样检验，剩余样品妥善保存备查。
2. 食品微生物检验采样原则：能采取完整包装的样品就不拆开取样，必须拆开包装取样的应按无菌操作进行取样。
3. 采样标签的主要内容：编号、样品名称、生产单位、生产日期、产品批号、产品数量、存放条件、采样时间、采样人姓名，现场情况。
4. 致病菌检验参考菌群的选择：

蛋及蛋制品：沙门氏菌、葡萄球菌、变形杆菌等

水产品海产品：链球菌、副溶血性弧菌

乳制品：沙门氏菌、志贺氏菌、葡萄球菌、链球菌、蜡样芽胞杆菌

畜禽肉类：肠道致病菌和致病性球菌

米面类：蜡样芽胞杆菌、变形杆菌、酵母菌、霉菌等

罐头：耐热性芽胞杆菌、嗜热脂肪杆菌、大芽胞杆菌、凝值芽胞杆菌

02 食品微生物检验——基础

1. 消毒灭菌常用的试剂：甲醛、乳酸、过氧乙酸（常用于熏蒸）；新洁尔灭（用于擦拭地面和墙壁）。
2. 无菌操作各种技巧及错误示范见PPT
3. 由于大多数细菌所需的温度均是35～37℃，所以细菌的培养方法仅以细菌对气体需求不同进行分类。据此可将细菌培养分为三种，即需氧培养法、CO2培养法、厌氧培养法。
4. 细菌的生长现象：
5. 细菌在营养琼脂平板上的生长现象：包括菌落形状、菌落大小、表面性状、边缘情况、颜色、透明度、质地、粘度、乳化性等方面，观察的方法是将平皿培养物放在自然光或白炽灯光的前面，从不同角度进行观察。

菌落形态学：有荚膜的细菌菌落较大并且表面光滑，而没有荚膜的则表面较粗糙；具有芽孢的细菌菌落表面常有褶皱并且不透明；没有鞭毛不运动的细菌，特别是球菌，常形成较小、较厚、边缘较整齐的菌落；有鞭毛的细菌则较大而扁平，边缘波状、锯齿状等。

细菌在鉴定培养基上的特征：

（1）在血平板上的溶血特征

α溶血：在菌落周围出现狭窄的草绿色的半透明区域，而红细胞外形完整。

β溶血：在菌落周围出现一个大小不一的完全透明清楚的宽带。

γ溶血：看不到溶血带的溶血。

双环：菌落周围完全溶解的晕圈外有一部分溶血的圆圈。

(2)卵黄琼脂中的反应

此培养基用于检查细菌是否产生卵磷脂酶和脂酶，前者是在菌落周围出现一沉淀环，后者则是出现“珍珠包膜”，即在菌落周围出现“珍珠层”，通过反射光可见菌落周围有一层闪光膜。

(3)蛋白水解作用：在菌落周围出现清晰的环。

(4)色素：细菌在生长过程中可产生色素，包括水溶性和脂溶性。水溶性色素溶在培养基中，使培养基着色，如绿脓色素、荧光色素等；脂溶性色素则使细菌菌落着上颜色，如金黄色葡萄球菌的金黄色菌落。

(5)气味：有些细菌在生长过程中可产生气味，有助于细菌的鉴定。能产生特殊气味的细菌有：假单胞菌属细菌可产生葡萄汁味；变形杆菌产生巧克力烧焦的臭味；链球菌产生地窖里的霉臭；梭菌可产生粪臭、腐败味；产黑色素类杆菌属细菌产生辛辣味等。

2.细菌在液体培养基中的生长现象：细菌在液体培养基中一般以培养18～24h，观察生长特性为好。细菌在液体中生长特性包括：

(1)发育程度：以有无生长，微弱、中等、旺盛来表示。

(2)浑浊度：有无浑浊以及浑浊的程度(一般以混、中等、微浑、透明表示)；均匀浑浊、有颗粒；絮状生长。

(3)沉淀：细菌由于重力而下沉，如链球菌的链与链相互缠绕而下沉，出现肉眼可见的沉淀，而上层的液体仍清澈透明，或者由于发酵分解糖产生酸，而使基质中的蛋白质发生沉淀。

(4)液体表面性状：有无表面生长以及生长的性状，如膜状(厚薄)、环状、皱状、是否光滑或呈颗粒状。

(5)其他：有无色素，有无气味，有无产酸情况，有无气体产生。

3.细菌在半固体培养基中的生长现象：半固体培养基主要用于细菌动力的观察。有动力的细菌在穿刺线处有生长线外，在穿刺线的周围均可见浑浊和细菌生长的小菌落；无动力的细菌仅在穿刺线上有生长，周围的培养基透明清晰。

五．细菌的生化反应检查（原理及阳性判断）见PPT。

03 免疫学基础（浏览一下，做了解）

04 食品卫生细菌检验

1. 菌落总数的测定：测定方法（培养基和试剂，检验程序，计算方法，结果与报告）
2. 大肠菌群的测定
3. 大肠菌群主要是由肠杆菌科（Enterobacteriaceae）中四个菌属内的一些细菌所组成，即埃希氏菌属（Escherichia）、柠檬酸杆菌属（Citrobacter）、克雷伯氏菌属（Klebsiella）及肠杆菌属（Enterobacter）。
4. 大肠菌群中大肠埃希氏菌I型和Ⅲ型的特点是，对靛基质、甲基红、V-P和枸橼酸盐利用四个生化反应分别为“++--”，通常称为典型大肠杆菌；而其他类大肠杆菌则被称为非典型大肠杆菌。
5. 大肠菌群并非细菌学分类命名，而是卫生细菌领域的用语，它不代表某一个或某一属细菌，而指的是具有某些特性的一组与粪便污染有关的细菌，这些细菌在生化及血清学方面并非完全一致。一般认为可包括大肠埃希氏菌、柠檬酸杆菌、克雷白氏菌和肠杆菌等（总大肠菌群系指一群在37℃培养24小时能发酵乳酸、产酸产气、需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽胞杆菌）。大肠杆菌是人和温血动物肠道内普遍存在的细菌，是粪便中的主要菌种。一般生活在人大肠中并不致病，但它侵入人体一些部位时，可引起感染。
6. 一般认为大肠菌群都直接或间接来自于人或温血动物的粪便，主要也以该菌群的检出情况来表示食品有否粪便污染。
7. 大肠菌群作为粪便污染指标菌也有一些不足之处：①饮用水中含有较少量大肠菌群的情况下，有时仍能引起肠道传染病的流行。②大肠菌群在一定条件下能在水中生长繁殖。③在外界环境中，有的沙门氏菌比大肠菌群更有耐受力。
8. 大肠菌群测定的国家标准（GB 4789.3-2010），培养基的成分和作用以及是否需要灭菌，检验程序，计算，结果与报告）
9. 初发酵试验：蛋白胨提供细菌生长发育所需的氮源、维生素和氨基酸；乳糖提供发酵所需的碳源；磷酸氢二钾维持缓冲体系；月桂基硫酸盐：硫胺素二月桂基硫酸盐，无色至白色或白色结晶性粉末，几乎无臭，熔点150-160℃，对碱、热及在空气中稳定，有强表面活性作用，微溶于水分散于热水中形成溶胶，易溶于乙醇、氯仿，难溶于乙醚、丙酮。

LST（月桂基硫酸盐胰蛋白胨）：提供了磷酸盐缓冲体系，氯化钠可维持渗透压，月桂基硫酸钠可抑制非大肠菌群的生长，这个缓冲蛋白胨乳糖肉汤允许“缓慢乳糖发酵”来促进菌体产气。

（2）复发酵试验：

BGLB（煌绿乳糖胆盐）：胆盐和煌绿可以抑制革兰氏阳性细菌和大肠菌群以外的很多革兰氏阴性细菌，再根据发酵乳糖的情况判断大肠菌群。

胆盐（猪、牛或羊胆盐）：是用猪、牛或羊的胆汁制成的各种胆盐，对不同的菌类有不同的溶菌或抑菌作用，借以鉴别某些球菌、肠道菌或抑制一些革兰氏阳性菌类。因为第一次直接从检样中接种的液体可能含有多种菌，所以利用胆盐抑制其他菌的生长。

1. VRBA（结晶紫中性红胆盐）：不需要灭菌，因为其中一些成分受热易分解，有些成分有益菌作用。
2. 平板计数法与MPN计数法的差别：平板计数法相对于MPN法，结果更精确，反映了实际样品的菌含量。平板计数法适用于污染严重的样品，如果是污染少的样品，采用MPN法更有优势。
3. 两种方法lgx1—lgx2应小于等于0.5

05 其他微生物

1. 常见产毒的霉菌有：曲霉属的黄曲霉、寄生曲霉，青霉属的桔青霉、岛青霉，镰刀霉属的串珠镰刀霉、禾谷镰刀霉，木霉属，头孢霉属，单端孢霉属，葡萄状穗霉属。
2. 胖听：由于罐头内微生物活动或者化学作用产生气体，形成正压，使一端或两端外凸的现象。
3. 泄漏：罐头密封结构有缺陷，或由于撞击而破坏，或罐壁腐蚀而穿孔致使微生物入侵的现象。
4. 造成罐头腐败变质的原因：

化学因素，酸性罐头容器的马口铁与内容物相作用引起的氢膨胀、败坏；

物理因素，贮存温度过高、排气不良造成金属容器腐蚀穿孔；

微生物，是导致罐头腐败变质的主要原因，这些微生物的污染来源有两种情况：一是杀菌不够，残存的微生物在罐内继续生长；二是杀菌后发生漏罐，导致外界微生物侵入而生长。

1. 罐藏食品腐败的类型：罐头由于微生物作用而造成的腐败变质，可分为嗜热芽胞细菌、中温芽胞细菌、不产芽胞细菌、酵母菌、霉菌等引起的腐败变质。
2. 嗜热芽胞细菌引起的腐败变质通常发生三种类型的腐败变质现象，①平酸腐败，必须通过开罐检查或细菌分离培养才能确定（典型菌：嗜热脂肪芽胞杆菌和凝结芽胞杆菌，嗜热脂肪芽胞杆菌耐热性很强，能在49℃-55℃温度中生长，最高生长温度在65℃，一般pH6.8-7.2的条件下生长良好，当pH值接近5时不能生长，因此，这种菌只能在pH5以上的罐头中生长；凝结芽胞杆菌是肉类和蔬菜罐头腐败变质的常见菌，它的最高生长温度是54℃-60℃，该菌的突出特点是能在pH4.0或酸性更低的介质中生长，所以又称为嗜热酸芽胞杆菌，在酸性罐头，如番茄汁或番茄酱罐头腐败变质时常见此菌）；②TA菌腐败，TA菌是不产硫化氢的嗜热厌氧菌的缩写，是一类能分解糖，专性嗜热，产芽胞的厌氧菌，它们在中酸或低酸罐头中生长繁殖后，产生酸和气体，气体主要有二氧化碳和氢气（典型菌：嗜热解糖梭状芽胞杆菌，它的适宜生长温度是55℃，温度低于32℃时生长缓慢。由于TA菌在琼脂培养基上不易生成菌落，所以通常只采用液体培养法来检查它）；③硫化物腐败，腐败的罐头内产生大量黑色的硫化物，沉积于罐内壁和食品上，致使罐内食品变黑并产生臭味，罐头的外观一般保持正常，或出现隐胀和轻胀，敲击时有浊音（典型菌：致黑梭状芽胞杆菌，此菌属厌氧性嗜热芽胞杆菌，生长温度在35℃-70℃之间，最适宜生长温度是55℃，耐热力较前面几种菌弱，分解糖的能力也较弱，但能较快地分解硫含的氨基酸而产生硫化氢气体）。
3. 中温芽胞细菌引起的腐败变质：中温芽胞细菌最适宜的生长温度是37℃，包括需氧芽胞细菌和厌氧芽胞细菌两大类型。中温需氧芽胞细菌引起的腐败变质（典型菌：枯草芽胞杆菌、巨大芽胞杆菌和蜡样芽胞杆菌等，它们能分解蛋白质和糖类，分解产物主要有酸及其他一些物质，一般不产生气体，少数菌种也产生气体）；中温厌氧梭状芽胞细菌引起的腐败变质（典型菌：肉毒梭菌）。
4. 不产芽胞细菌引起的腐败变质：如罐头中发现不产芽胞细菌，常常是由于漏气而造成的，冷却水是重要的污染源；不产芽胞细菌的检出有时是由于杀菌温度不够而造成的。罐头中污染的不产芽胞细菌有两大类群，一类是肠道细菌，如大肠杆菌，它们的生长可造成罐头膨胀；另一类不产芽胞的细菌主要是链球菌，特别是嗜热链球菌、乳链球菌、粪链球菌等。
5. 酵母菌引起的腐败变质：这类变质往往发生在酸性罐头或高酸性罐头中。主要种类有圆酵母、假丝酵母和啤酒酵母等。酵母菌及其孢子一般都容易被杀死。
6. 霉菌引起的腐败变质：说明罐内有较多的气体，可能由于罐头真空度不够，或者漏罐造成，因为霉菌属需氧性微生物，它的生长繁殖需要一定的气体。引起罐头变质的霉菌主要有青霉、曲霉、柠檬酸霉属等。

06 病毒

1.食源性肠道病毒按照免疫血清分类，大约有60多种人类肠道病毒能引起人类感染，包括脊髓灰质炎病毒、甲肝病毒、轮状病毒、诺沃克病毒、戊型肝炎病毒、热柯萨奇病毒、埃柯病毒、肠道病毒、性状病毒等。

2.常见的RNA病毒有：甲型肝炎病毒（HAV）；戊型肝炎病毒（HEV）；口蹄疫病毒（Footand Mouth DiseaseVirus，FMDV，该病毒有七个血清型，各型之间无交叉保护反应）；禽流感病毒（AIV，属于RNA病毒的正黏病毒科，分甲、乙、丙3个型，其中甲型流感病毒多发于禽类）；轮状病毒（双链RNA，ABC组引起人畜共患的腹泻）。

3.朊病毒，特性——蛋白质，临床表现——脑灰质呈海绵状空泡，库鲁病（Kuru）、克雅氏综合症（CJD）、格斯特曼综合症（GSS）及致死性家庭性失眠症（FFI）。

4.诺如病毒（Norovirus），是一组杯状病毒属病毒。

07六种主要病原微生物的检验

1. 食物中毒

1.特点：潜伏期短，来势急剧，短时多人同时发病；临床表现大致相同；与吃某种有毒食品有关；发病率高，人与人之间并不传染。

2.分类：微生物性（细菌性、真菌性），化学性，动、植物性，以细菌性最常见。

3.细菌性食物中毒：由于食入被病原菌或其毒素污染的食物后所引起的以急性肠胃炎为主的疾病。分为感染型、毒素型、不定型。

二．六种主要病原微生物的检验：1.沙门氏菌 2.葡萄球菌 3.溶血性链球菌4.志贺氏菌5.副溶血性弧菌6.肉毒梭状芽孢杆菌

主要记的内容：是革兰氏阴性还是阳性菌，培养特性、生化特性，抗原构造及变异，是否产毒素与酶、产毒素和酶的种类，抵抗力，致病性及发病机理，检验原理。特别是沙门和金葡的检验程序、培养基成分及其作用、是否需要灭菌，计算等应背下来。

1. 沙门氏菌的检验
2. 前增菌：用无选择性的培养基使处于濒死状态的细菌恢复活力;BPW

BPW（碱性蛋白胨水）：用于修复受损伤的沙门氏菌，但由于其不具有选择性，因此增菌时间过长会导致杂菌生长过多干扰鉴定结果，故建议最好控制在4h为好。需要灭菌

经前增菌后的样品与选择性培养基按1：10加入，例如1mL样品加入10mL SC中未经前增菌而直接进行选择性增菌的样品最好与增菌液按1：1稀释，而不可按1：10稀释，因为食品中沙门氏菌数量较少，1：10稀释将降低检出率。

1. 选择性增菌：使沙门氏菌优势繁殖，其它细菌受到抑制;SC+TTB

主要杂菌为大肠埃希氏菌，而两者区别在于是否发酵乳糖，故加入乳糖、酸碱指示剂两个指针来判断可疑菌落。加入硫化氢是因为第III属产硫化氢而缓慢发酵乳糖。

TTB（四硫磺酸钠煌绿）：增菌液，四硫磺酸钠和煌绿均有抑菌作用，培养及含硫代硫酸钠、碘液、0.5%煌绿和牛胆盐。部分成分煮沸，灭菌

SC（亚硒酸盐胱氨酸）：亚硒酸盐抑菌，胱氨酸促生长。基础液需要灭菌，然后无菌操作向其中加入一些成分。

1. 选择性平板分离培养：BS+XLD/HE/显色培基

BS（亚硫酸铋）：选择性最强，可延长时间以免沙门菌生长亦被抑制（不灭菌）。多采用BS搭配DHL/SS/HE/WS，互补防漏检。

HE：蓝绿色或蓝色，不灭菌

XLD（木糖赖氨酸脱氧胆盐）：红色，不灭菌

生化试验：鉴定分离出来的细菌是否符合沙门氏菌的生化谱，可采用API 20E 等成套生化试剂。主要包括三糖铁（TSI）试验、赖氨酸脱羧酶试验、NA、靛基质（不灭菌）、尿素（pH7.2）、KCN试验。

三糖铁（TSI）试验：主要是测定细菌对葡萄糖、乳糖和蔗糖的分解能力，以及产气、产酸和分解硫化氢的情况。三糖铁培养基成分除牛肉膏、蛋白胨外，主要有葡萄糖(1g/L)、乳糖(10g/L)、蔗糖(10 g/L)、二价铁盐、酚红等，pH为7.4。培养基做好后，摆成高层斜面，培养基颜色为砖红色。使用时先将待检菌株穿刺接种，然后再将待检菌株划线接种于高层斜面上，36℃培养18～24h。

国标中采用靛基质、尿素、氰化钾和赖氨酸四项生化试验。若硫化氢＋、靛基质－、尿素－、氰化钾－、赖氨酸＋，可判断为沙门氏菌属，这是典型沙门氏菌的反应。

5.血清学鉴定：特异性诊断血清鉴定到种。

1. 金葡的检验

1.检验程序GB 4789.10-2010：第一法定性（适用于食品中金黄色葡萄球菌的定性检验）；第二法Baird Parker平板法（适用于金黄色葡萄球菌含量较高的食品中金黄色葡萄球菌的计数）；第三法MPN法（适用于金黄色葡萄球菌含量较低而杂菌含量较高的食品中金黄色葡萄球菌的计数）。

2.典型菌落计数和确认：金黄色葡萄球菌在BP平板上，菌落致敬为2mm-3mm，颜色呈灰色到黑色，边缘为淡色，周围为一浑浊带，在其外层有一透明圈。用接种真接触菌落有似奶油至树胶样的硬度，偶然会遇到非脂肪溶解的类似菌落；但无浑浊带及透明圈。长期保存的冷冻或干燥食品中所分离的菌落比典型菌落所产生的黑色较淡些，外观可能粗糙并干燥。

3.培养基和试剂

10%氯化钠胰酪胨大豆肉汤：氯化钠浓度高，抑菌作用很好，仅葡萄球菌和弧菌可以存活，这两类菌再通过镜检即可区分；灭菌

7.5%氯化钠肉汤：一般浓度在7%以上的氯化钠就能抑制大肠、沙门，10%以上大部分菌都被灭了；灭菌

血琼脂平板：制备时不能边煮边加入兔血，也不能冷却太久才加，会凝块，一般冷至50℃加兔血，制好后一天开始被污染；不灭

BP平板：灭菌，临用时加热溶化琼脂，冷至50℃加入预热至50℃的卵黄亚碲酸钾增菌剂，培养基应是致密而不透明的；

BHI（脑心浸出液）：增菌作用；

营养琼脂小斜面：灭菌

1. 金黄色葡萄球菌可产生凝固酶，凝固酶可使血浆中的血浆蛋白酶原变成血浆蛋白酶，使血浆凝固，这是鉴定致病性金黄色葡萄球菌的重要指标。每30~40min观察一次，持续观察6h左右，看是否凝固。

08 分子生物学技术在食品微生物检测中的应用

做了解，重点看看DNA复制的特点PCR 技术、基因探针技术和基因芯片技术

09 标准

1. 国家食品药品监督管理总局令第16号《食品生产经营许可管理办法》其中第四章-许可证管理第二十九条规定：食品生产经营许可编号由SC（“生产”的汉语拼音字母缩写）和14位阿拉伯数字组成。数字从左至右依次为：3位食品类别编码、2位省（自治区、直辖市）、2位市（地）代码、2位县（区）代码、4位顺序码、1位检验码。
2. 标准制定的目的、原则与制定过程，标准的实施要求、适用范围、主要内容，以及标准适用的主要食品类型和标准中的致病菌指标设置作为了解。

3.国际食品法典委员会（CAC）、国际食品卫生法典委员会（CCFH）是制定和协调全球食品微生物标准的国际政府间技术委员会，负责提出微生物风险评估的优先领域以及需要解决的问题，制定并审议食品微生物风险管理措施等。

国际食品微生物标准委员会（ICMSF）在食品微生物标准的制定和应用原则（1995）以及国际贸易食品中微生物安全标准采样方案（1996）中提出分级采样方案，被国际社会广泛认可和采纳。ICMSF《食品中的微生物（第八卷）》对18类食品中的微生物危害及其潜在风险进行了系统分析，按照食品类别及加工工艺特点提出了应该加以控制的主要致病菌及其限量值。

4.欧盟、美国、澳大利亚和新西兰、日本、加拿大等国家和地区参照CAC的标准制定原则，对即食食品和生食食品制定了致病菌限量标准。欧盟、澳大利亚和新西兰、加拿大等国家和地区还针对食品中常见的微生物制定公布食品微生物限量通用标准。