



食品卫生中的微生物检测和 简易快速检测法的有效运用

Presenter

国立研究開発法人
農業・食品産業技術総合研究機構
食品研究部門
食品流通・安全研究領域 高級研究員
川崎 晋先生



【演讲者简介】

2001年于東京水産大学研究生院食品生产学专业博士毕业。同年入职独立行政法人食品総合研究所(现農研機構),在食品安全研究领域担任主管研究员并于2021年起担任现职。目前广泛活跃于微生物检测相关领域,担任筑波大学的教授和迅速検査研究会的会长等。

Contents

- 前言
~食品微生物的“检测”“控制”“预测”~ 02
- HACCP和一般卫生管理的关系
~环境检测的重要性与日俱增~ 02
- 微生物检测(培养法)的现状 04
- 关于有效运用简易快速检测法的见解 04
- 环境监测型思维方式 07
- 结语 07

前言

~食品微生物的“检测”“控制”“预测”~

讲者所属的食品研究部门的研究领域大致分为三个，①食品健康功能研究领域、②食品加工和素材研究领域、③食品流通和安全研究领域。①主要负责食品的风味和健康相关的研究；②主要负责开发新型加工技术、料理技术和生物质能利用技术；③主要负责农产品在食品流通、加工和消费阶段中的质量和安全性相关的科学评价研究等等。讲者所属于③食品流通和安全研究领域部门，主要负责食品微生物（特别是食物中毒细菌）和食品卫生相关的研究。

讲者的实验室将“微生物的检测”和“微生物的控制”视为一个整体问题。例如，在保健所或食品企业的检测中检测出微生物时，需采取某种控制技术进行处理。相反，当使用了某种微生物控制技术时，则需要使用检测技术评估其效果。由此可见，“检测”和“控制”是“同舟共济”的关系。此外，预测微生物行为的研究领域最近也取得了进展(图1)。

在食品微生物研究中，“检测”“控制”“预测”这三个概念密不可分。这三个领域的知识积累不仅能有效用于预防食物中毒，还有望为食品创造“新的附加价值”。

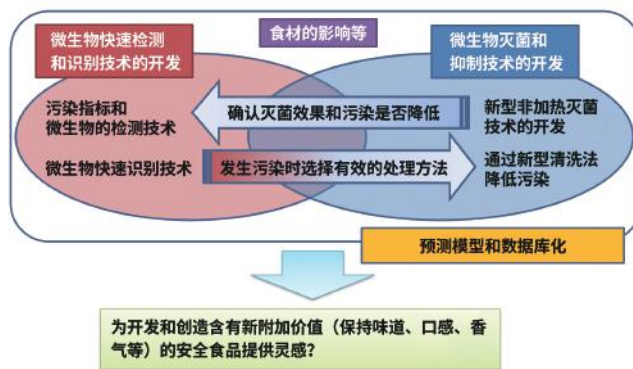


图1 将微生物的检测、控制和预测知识与“创造食品的附加价值”相联系

1.HACCP和一般卫生管理的关系

~环境检测的重要性与日俱增~

(1) HACCP和一般卫生管理的作用

接下来，探讨一下微生物检测在HACCP中的作用。

日本从2021年6月开始全面推行HACCP体系，原则上所有的食品经营者都需要制定卫生管理计划，并开展“符合HACCP的卫生管理”（“基于HACCP的卫生管理”或“采用HACCP概念的卫生管理”）工作。其中的关键在于“若没有落实一般卫生管理，将难以稳定地实施HACCP”。

如图2所示，一般卫生管理（也称为前提方案，PRP）相当于HACCP的基础。一般情况下，HACCP是针对各个产品或生产线建立的标准，而一般卫生管理的定位是“处理食品时应具备的基础卫生环境”。



图2 HACCP 和一般卫生管理（前提方案）的相关性

(2) 从产品检测到环境检测

在实施HACCP时,需要利用PDCA循环来持续改善卫生标准。PDCA循环的具体操作为,制定卫生管理计划(Plan)、实施(Do)、确认卫生管理的实施情况(Check),以及定期确认和验证卫生管理计划的效果并根据需求改善计划内容(Act)。在运行PDCA循环时,检测结果的重要性不言而喻。

在HACCP普及之前,微生物检测的主要作用是“确认成品质量”,即在成品的检测结果中发现问题时(基于检测结果)查明原因、进行现场改善等。但如今通过PDCA循环来持续改善HACCP和一般卫生管理已经成为了大前提,在这一前提下只有成品的检测结果是不够的,还需掌握工序管理的运行情况和生产环境的卫生状态等等。

若调查食物中毒的原因,会发现大部分都是由于一般卫生管理不善造成的。因此最近,“环境卫生检测非常重要”的意识也越来越普遍。

(3) 检测中的“目的”和“策略”非常重要

检测的目的会根据检测者的立场发生改变。在政府(保健所)和私营企业(食品企业)中,检测的目的也各不相同。而根据目的不同,检测的方法也会有所差异。

例如,发生食物中毒时,需通过检测查明引起食物中毒的物质和原因。从政府的角度出发,检测的结果可能会用于法庭裁决等场合,所以结果必须是“经得起审判的证据”。因此,无论需要花费多少时间和精力,都必须按照法律规定的方法(官方检测法)进行检测。

另一方面,食品企业的首要目的是“防患于未然”。即通过向现场管理人员反馈检测结果,提高卫生管理水平。

检测目的和检测结果的应用事例如图3所示。例如,很多工作场所会通过检测来确认工作人员的个人卫生管理状态、清洗步骤的效果等。关键在于明确“检测的目的”,以及制定达成这个目的的策略。也就是说,提前从“如何有效运用检测结果?”的视角出发,决定检测方法和取样方法至关重要。

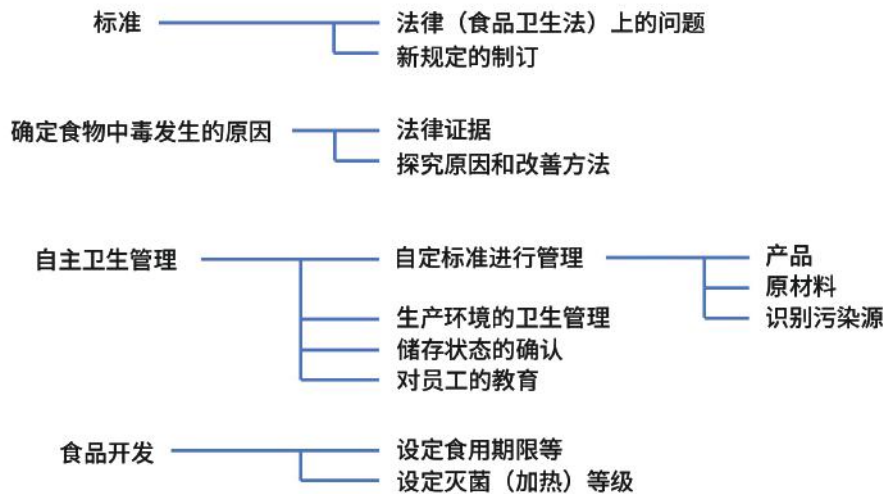


图3 有效运用检测结果

2. 微生物检测(培养法)的现状

(1) 微生物检测的难点

计划开始进行微生物检测时,首先需要面对各种困难。例如必须根据培养方法准备相应的设备和材料,还需要花费时间和精力进行样品的前处理、梯度稀释和无菌操作,甚至检测后的器材清洗和废弃也需要费一番功夫。此外,食品生产的现场需要严格规避微生物引入的风险,因此还需考虑将生产现场和检测室分开。而且,让具有微生物检测知识和经验的负责人留任也并非易事。

另一方面,时至今日,传统培养法作为微生物检测金标准的这一定位依旧没有改变。因此,经常会听到“虽然想导入以微生物为指标的污染调查体系,但却难以落实”的烦恼。

(2) 微生物检测需要相应的知识和经验

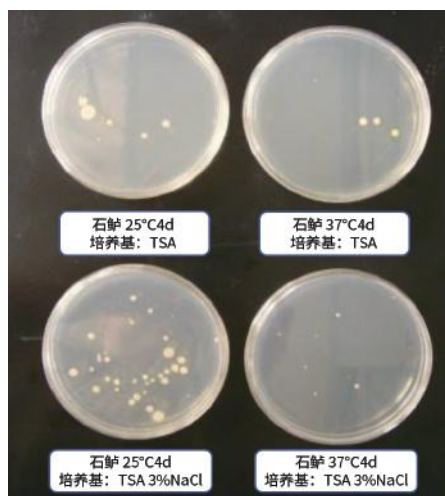
在进行微生物检测时,某些情况下需要微生物相关的基础知识。例如,照片1是将鱼(石鲈)中的细菌涂布在培养基上进行培养的结果。

下方的2个培养基中添加了3%的盐,上方的2个培养基没有添加。一般来说鱼类身上携带了大量海洋来源的微生物,因此通过添加盐来模拟海水更有利于检测鱼身上携

带的细菌。

另外,右边的2个培养条件为37°C、左边的2个为25°C。由于海洋环境温度比人体内环境温度更低,所以在25°C条件下培养比37°C更适合细菌繁殖。

综上所述,在微生物检测中还需要考虑“检测目的”和“对象(指标)微生物”的性质,并根据实际情况调整检测方法(培养条件的优化)。但是,实际进行调整也需要具备相应的知识和判断力。



照片1 即使是同一样品,培养条件不同其结果也会产生差异(以鱼类的活菌总数检测为例)

3. 关于有效运用简易快速检测法的见解

(1) 如何选择检测指标

近年来,越来越多的企业开始使用市售的简易快速检测试剂盒,但要注意这些试剂盒的检测原理和用途也是多种多样的。图4列举了各种检测法的目的(需求)和具体手法。图4的上半部分列举了部分检测的目的,右侧(红框内)为问题发生后(为查明原因等)进行的检测,左侧(蓝框内)为出于预防目的(现场的卫生改善等)进行的检测。由此可以看出,检测目的还是十分多样的。

图4的下半部分列举了部分检测技术的案例。中间的“传统方法”即为传统培养法,也就是金标准(标准方法)。但如前文所述,在实际运用传统培养法时需要花费大量的

时间和精力。



图4 多种多样的简易快速检测法的需求和方法

(2) 如何选择不同等级的检测

图5是讲者整理的示意图，图中概括了简易快速检测的目的和定位，以及引入时所需的技术水平。根据检测的目的，对于“我们的目标是什么”这一问题的回答也会自然有所不同。

如果只是“想要减少日常产生的污染”这种等级的需求，图5左下方所示的ATP荧光检测(A3法)和蛋白质法均为简单有效且容易上手的方法。由于仅需10秒即可现场获得检测结果，因此多用于清洗后和洗手后的现场清洁度评估，在教育 and 改善活动中也能获得良好效果。不过，需要注意的是这些方法并不是检测微生物的数量，而是将微生物和食品残渣等视为“污垢”的检测方法。

如果是能完成“日常污染检测”(图5左下所示)的企业，也许会考虑更进一步的“以指示菌为目标进行的检测”(图5中间所示)。由于微生物检测可以分离并识别出细菌，所以可以确定污染源和污染途径。

基于上述基础，部分企业可能也想进行“食物中毒细菌的检测”。最近，TOF-MS(飞行时间质谱)和PCR等可以识别微生物类型的先进分析法也已经开始普及。

无论如何，重要的是明确“检测目的”，并根据目的选择合适的检测法。

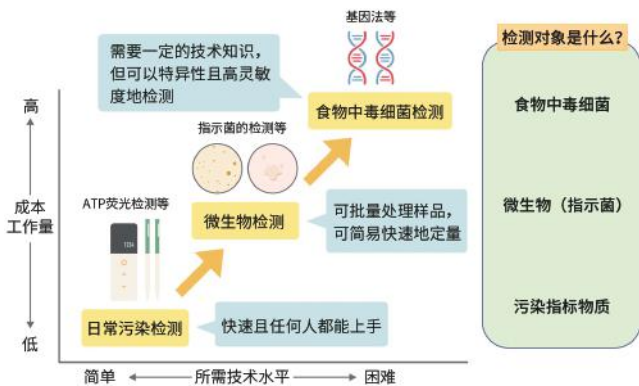


图5 需要何种等级的检测？

(3) 通过检测可视化“看不见的污垢”

在卫生管理中实施PDCA循环时，重点之一为“污垢的可视化”。表1是在某食品生产现场同一场所进行简易检测法(蛋白质法)和微生物检测，以及现场监督人员目测判断后的结果。在152个场所分别进行取样后，确认到大约有30%的场所(表1红框中)在被现场监督人员通过目测判定为合格之后，仍然发现了同时存在食品来源的污染(蛋白质法)和微生物污染(微生物检测)。

肉眼无法看见微生物，目测有时也难以发现微小的食

物残渣。“可视化看不见的污垢”无论是在改善卫生管理层面，还是在工作人员的卫生教育和意识提高方面都非常重要。

表1 检测中的“可视化”非常重要
(比较“污染检测结果”和“现场监督人员的目测判断”)

+ : 阳性 ; - : 阴性			
简易检测 (蛋白质法)	微生物检测	凭借现场监督人员 的经验进行的判断	测试数量
+	+	+	9
+	+	-	44
+	-	+	15
+	-	-	5
-	+	-	3
-	-	-	76
			152

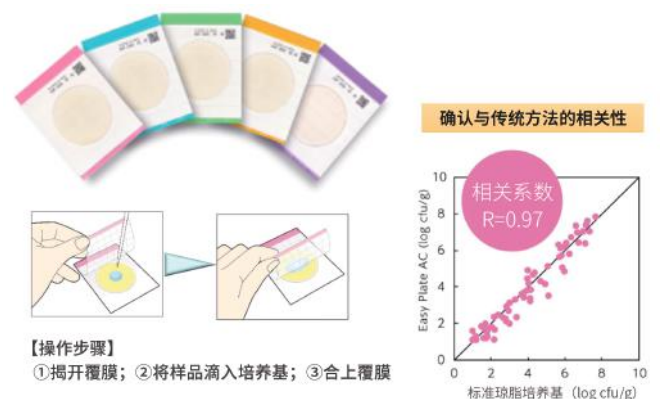
44/152=约29%的结果显示仅凭目测判断是不充分的

(4) 使用测试片培养基进行微生物检测

如上述表1所示，即使以“污垢”为指标的快速检测方法已被用于改善卫生管理，但不少企业仍希望导入微生物检测法进行检测。因为重要微生物可以直接作为食品卫生的安全指标，这也是在环境卫生调查中进行微生物检测的意义。

但如前文所述，与培养相关的微生物检测往往在培养基的制备和无菌操作等步骤上花费大量的时间和精力。因此，最近越来越多的现场开始引入测试片培养基。照片2为测试片培养基的示例之一，具有无需制备培养基、即开即用、可大幅缩短作业时间的特点，有望提高检测工作的效率。此外，测试片培养基还具有“不占用培养空间”、“培养基可长期储存”、“易于进行菌落计数和识别”等优点。

不过，引入测试片培养基时需要确认其与检测样品的适应性(与传统检测法的相关性)。一般来说，会使用检测样品进行引入前验证，不过如果测试片已取得AOAC-PTM认证，也可参考第三方机构提供的验证(validation)数据。



照片2 测试片培养基“Easy Plate”
(生产/销售：龟甲万百欧凯米株式会社)

(5) 如何选择取样位点

本节将围绕取样方法进行探讨,探讨选取取样位点时需考虑的几个要点。

首先,需要思考“应该重点检测的位点是哪里?”。例如,如果在生产过程中存在加热等可设为CCP的步骤,那么加热后的生产线应保持洁净。此时建议在洁净区或者在产品线加热步骤之后产品暴露区域中取样来进行数据积累。若是检测经验缺乏且检测数据较少的生产现场,也可以先单纯地对所有需要关注的位点都进行检测。

基于上述的思考方向,进一步思考“污染可能来自于哪里?”将会有所裨益。例如,手指和料理器具等与食品直接接触的位点可能需要重点管理,并且还需根据情况,将空调的气流等因素纳入考量。如图6所示,调查可能与成品的细菌数相关的因素,并考虑哪些因素对成品的影响较大也可以为选择取样位点提供有用的提示。

建议时常思考“哪些位点容易残留污垢?”。例如,裂缝和缝隙等难以清洁的位点,很可能会残留细菌。橡胶密封圈的内侧和机械的接缝处也可能是“容易残留污垢的位点”。

思考污染路径时,也可以“假设自己是食物”,尝试从食物的视角出发观察现场,思考自己“接触到了什么?”“进入了哪些地方?”,也许能发现需要重点进行检测的位点。

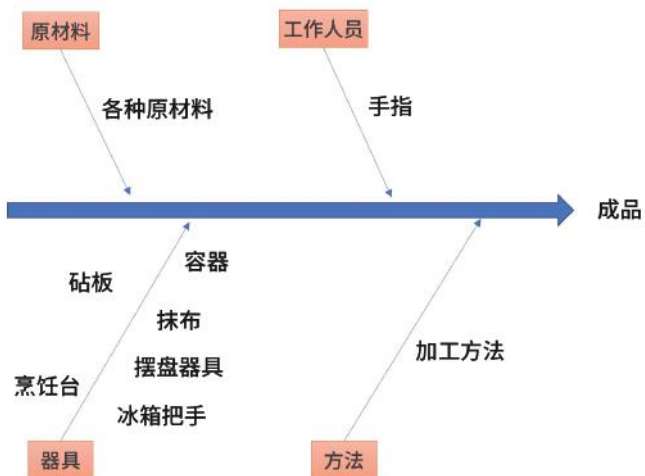


图6 制作生产工序中的特定要素图
(改编自日本防菌防霉学会誌 27 (3), 153-158, 1999-03)

(6) 从检测结果推断趋势

在决定“重点检测位点”和“希望定点检测的位点”时,建议记录随时间变化的数据。通过掌握这一数据,可以观察到“平时发生了何种程度的污染”的趋势,并在探讨污染容许范围(不合格基准)时提供帮助。

定量检测污染指标(掌握污染趋势)有助于提前发现问题的迹象。如图7所示,左侧箭头的偏差可能会被认为是一次性事件,但右侧箭头的偏差则是(偏差发生前)污染逐渐累积的结果。通过掌握趋势并捕捉偏差的迹象,可以为解决根本上的问题提供线索。

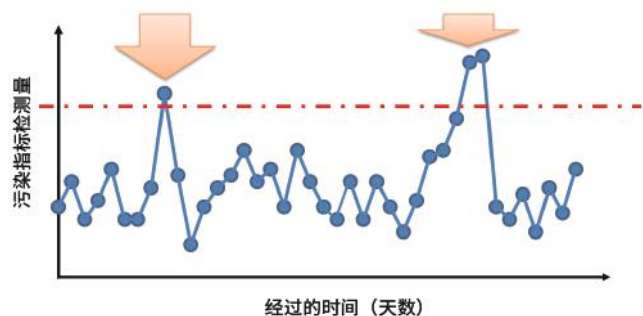


图7 从检测结果了解趋势(示例)

4.环境监测型思维方式

近年来,为掌握工厂整体的污染,“环境监测”这一思维方式逐渐为大众所知。这是一种为掌握工厂内“哪里的卫生管理重要度高”,“哪里容易成为微生物滋生的温床”等而进行调查的思维方式。

环境监测通过将工厂内“食品直接接触的部分=最重要的区域”设定为区域1,接近区域1的区域设定为区域2,区域2附近的区域设定为区域3,工厂加工区域外的地方设定为区域4,并以此进行区分(表2)。在此基础上,以“禁止将污染带入区域1”的思路展开调查。污染在进入区域1前需先经过区域2~4,因此若能提前察觉,就能阻止污染入侵区域1。

若在区域1发现了污染,可能需要暂停生产线,查明原因并排除污染。另一方面,若在区域2发现了污染,则必须阻止污染进入区域1,为此可能需要构建并落实相应的卫生对策(例如增加清扫的次数和检查的频率等)。预先决定对策有助于迅速根据检测结果采取相应的措施。当然,如果在后续的监测中观察到情况有所改善,也可以考虑将卫生对策恢复到之前的水平。

如果将人的运动轨迹(通过人进行传播的污染)纳入考量,将更有利于环境监测。例如,在区域3发现污染时,若存在经由人将污染带入区域1~2的可能性,那么限制人的活动将是有效的对策。

表2 以食品接触面为中心的分区概念

【区域1】

工厂内直接接触食品的表面

例如:绞肉机、传送带、料理器具、作业台等

【区域2】

工厂内的非食品接触区域,但距离食品以及食品接触面非常近的表面

例如:机器、框架、保养工具、防滴水罩等

【区域3】

非食品接触面,但有可能将污染引至区域1和2的表面

例如:墙壁、地板、排水口等

【区域4】

加工区域以外,但有可能将环境致病菌带入加工环境的食品非接触面

例如:办公区域、员工更衣室、维修室等

5.结语

本演讲强调了在卫生管理中实施PDCA循环的基础上,明确“出于何种目的进行检测”的重要性。实施PDCA循环时,检测结果是有力的情报来源。为了有效运用检测结果,重要的是提前制定“如何运用检测结果改善卫生状况”的方针。

如果有方法能够查明“污染从哪里来?”,“发生污染时预计会有哪些风险?”,“这些风险通过工序管理能降低到何种程度?”等问题,将有助于HACCP持续改善。只要发现了改善的突破口,也算是“检测成功”了。在检测结果较差时,不应该以消极的态度去面对(更不应该隐瞒),而是应该积极面对,因为找到了改善的突破口,并能够采取相应的行动来进行改善。

不过,为此可能需要扩大检测对象的范围。在这种情况下,就需要可以同时处理多数样品的能力。为了建立一个能应对多样品处理的检测系统,简易快速检测法这一选择将会越来越重要。

可能仍有许多人认为“微生物检测很困难”,但其实最近已经开发出了各种各样的简易快速检测法。对于“想开始进行某种检测”的企业来说,“迈出第一步的门槛”比起过去已经大幅度降低了。不妨考虑先从“能做到的事情开始”,通过简易、快速的卫生检查试剂盒和测试片培养基开展检测吧。



龟甲万百欧凯米发株式会社

(Kikkoman Biochemifa Company)

东京 〒 105-0003 东京都港区西新桥2-1-1

E-mail: biochemifa@mail.kikkoman.co.jp

U R L: <https://biochemifa.kikkoman.co.jp/c/>

富士胶片 and 光 (广州) 贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼
3002-3003室

北京 Tel: 13611333218

上海 Tel: 021 62884751

广州 Tel: 020 87326381

香港 Tel: 852 27999019

询价: wkgz.info@fujifilm.com

官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn

化学分析微信



目录价查询



- 1) 本资料是由Kikkoman中国代理商富士胶片和光制作
- 2) 本资料所刊载的内容和数据, 皆来自生产商Kikkoman