

2024 年河北省职业院校技能大赛高职组“食品安全与质量检测”竞赛

食品微生物检验技能考核

任务 1 菌落总数测定（样品 1） 现场操作规程及要求

赛位号：

【注意事项】：

1. 考虑竞赛的时间要求以及公平公正的大赛原则，本项目操作规程在参照国家标准 GB 4789.2-2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》的基础上略有改动。
2. 大赛提供的所有玻璃器材均是经过严格灭菌的，达到无菌要求。竞赛由组委会统一准备质控样品，每位选手独立一份质控样，能够保证检测结果准确度的可评价性。
3. 选手提前 10 分钟进场。选手入场后可检视仪器设备，如有问题可提出更换；比赛正式开始后不再处理任何仪器设备问题，一切后果选手自负。
4. 比赛过程中请做好相应的安全防护措施，并进行设备使用登记。
6. 比赛时间：50 分钟，每超时 1 分钟扣 1 分，超时 10 分钟停止操作。

质控样（模拟食品）菌落总数测定

由组委会统一准备样品，在参照 GB 4789.2-2022《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》基础上略有改动，完成质控样（模拟食品）中菌落总数的测定。

1. 准备工作

根据微生物检验工作相关要求，利用比赛现场提供仪器和材料等，独立完成各项准备工作及正确标识。

2. 样品稀释

按现场提供的质控样作业指导书进行处理，制成待测样品原液。用 10 毫升改良吸管吸取原液 25 毫升至盛有 225 毫升的灭菌生理盐水中，制成 10^{-1} 样品匀液。用 1 毫升的改良吸管吸取 1 毫升 10^{-1} 匀液至 9 毫升生理盐水试管中制成 10^{-2} 样品匀液，依次稀释至 10^{-3} 、 10^{-4} 等。同时选择 3 个适宜稀释度（**举手示意**）分别吸取 1 毫升样品匀液至两个无菌培养皿中。用 9 毫升的生理盐水试管作为空白使用。

3. 倾注培养基

样品稀释完成后索要培养基（**举手示意**），每个培养皿倾注约 15-20 毫升的培养基，待凝固后，倒置放入培养袋。在培养袋上写上批次号和赛位号及相关记录。经裁判确认后（**举手示意**），培养袋放在超净工作台上即可。

（4）培养

每一批次结束后由志愿者统一放入培养箱中培养， $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 培养 24 ± 1 小时左右，即置冰箱保存备用。

2024 年河北省职业院校技能大赛高职组“食品安全与质量检测”竞赛
食品微生物检验技能考核

任务 2 细菌染色鉴别（样品 1） 现场操作规程及要求

赛位号：

注意事项：

1. 大赛统一提供标准菌株供选手染色镜检使用，注意每位选手限做 1 片，镜检结果需举手示意裁判确认。
2. 选手提前 10 分钟进场。选手入场后可检视仪器设备，如有问题可提出更换；比赛正式开始后不再处理任何仪器设备问题，一切后果选手自负。
3. 比赛过程中请做好相应的安全防护措施，并进行设备使用登记。
4. 比赛时间：30 分钟，每超时 1 分钟扣 2 分，超时 5 分钟停止操作。

细菌染色鉴别

正确挑取给定菌株典型菌落进行革兰氏染色、镜检（每种菌限做 1 片），并对菌株形态进行判断。

1. 制片

取菌种培养物常规涂片、干燥、固定。

2. 革兰氏染色

依次用结晶紫初染、碘液媒染、酒精脱色、番红复染。

革兰氏染色溶液 A——结晶紫染色液

革兰氏染色溶液 B——革兰氏碘液

革兰氏染色溶液 C——95%乙醇

革兰氏染色溶液 D——番红复染液

3. 镜检

依次使用低倍镜，高倍镜和油镜进行观察，油镜镜检结果需举手示意裁判。

载玻片需写上批次号和赛位号，无需清理，放置桌面即可。完成相应整理工作。

4. 完成菌株形态鉴别报告

2024 年河北省职业院校技能大赛高职组“食品安全与质量检测”竞赛

食品微生物检验技能考核

任务 3 菌落总数测定（样品 1）结果报告

赛位号：

注意事项：

1. 本环节一共包括 2 个子任务，子任务 1 为选手前一天做的菌落总数测定培养后平板菌落计数及报告；子任务 2 为完成给定情景样品的菌落总数测定结果记录填写、计算、报告以及判定。
2. 子任务 1 选手完成计数后需举手示意裁判，确认后计数结果才有效。
3. 比赛过程中请做好相应的安全防护措施。
4. 比赛时间：40 分钟，时间到即停止操作。

子任务 1：完成选手前一天菌落总数测定培养后平板菌落计数及相关计算，按要求如实填写相关记录表格和检测报告。

子任务 2：已知某批次鲜牛奶（巴氏杀菌乳，样品编号 20240008）检样菌落总数测定数据及产品微生物限量要求（书面统一提供），分别完成该样品菌落总数测定结果记录填写、计算、报告以及单项判定。

2024 年河北省职业院校技能大赛高职组“食品安全与质量检测”竞赛

食品微生物检验技能考核

任务 4 致病菌检验（虚拟仿真）（样品 1） 操作规程

赛位号：

【注意事项】

1. 请按照顺序完成操作，操作结束之前，请勿退出软件，一旦退出，后果自负。
2. 电脑或软件出现异常，请及时报告现场裁判。
3. 操作完成后，系统自动打分。在报告第一页空白处签署“赛位号，我已确认”字样。选手在赛位上安静等待至比赛结束，现场裁判宣布比赛结束前不得离场。
4. 比赛时间 60 分钟，到时立刻停止，否则视为作弊。

致病菌检验（虚拟仿真）

利用信息化技术手段，依据 GB 4789.4-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》；SN/T 1870-2016《出口食品中食源性致病菌检测方法 实时荧光 PCR 法》完成沙门氏菌的检测，包括预增菌、增菌、分离培养、生化试验、血清学鉴定和分子生物学检验等。

一、实验室安全排查及规范操作

1. 生物安全实验室的防护要求
2. 生物实验室隐患查找、意外情况的紧急处理等

二、沙门氏菌检验

- 1、预增菌
- 2、增菌
- 3、分离
- 4、生化试验
- 5、血清学鉴定

三、实时荧光法检验沙门氏菌

- 1、模板 DNA 的制备
- 2、DNA 浓度和纯度的测定
- 3、实时荧光 PCR 仪检测