



中华人民共和国国家标准

食品微生物学检验





中华人民共和国国家标准

GB 4789.1—2010



2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

图书在版编目(CIP)数据

食品微生物学检验/中国标准出版社编. —北京:
中国标准出版社, 2012 (2012. 9 重印)
ISBN 978-7-5066-6880-4

I. ①食… II. ①中… III. ①食品微生物-食品检验
-高等学校-教材 IV. ①TS207.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 155996 号

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
食品微生物学检验

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100013)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 25.25 字数 776 千字
2012 年 8 月第一版 2012 年 9 月第二次印刷

*

定价 200.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

目 录

GB 4789.1—2010	食品微生物学检验	总则	1
GB 4789.2—2010	食品微生物学检验	菌落总数测定	7
GB 4789.3—2010	食品微生物学检验	大肠菌群计数	15
GB 4789.4—2010	食品微生物学检验	沙门氏菌检验	25
GB 4789.5—2012	食品微生物学检验	志贺氏菌检验	45
GB/T 4789.6—2003	食品卫生微生物学检验	致泻大肠埃希氏菌检验	61
GB/T 4789.7—2008	食品卫生微生物学检验	副溶血性弧菌检验	69
GB/T 4789.8—2008	食品卫生微生物学检验	小肠结肠炎耶尔森氏菌检验	83
GB/T 4789.9—2008	食品卫生微生物学检验	空肠弯曲菌检验	93
GB 4789.10—2010	食品微生物学检验	金黄色葡萄球菌检验	107
GB/T 4789.11—2003	食品卫生微生物学检验	溶血性链球菌检验	123
GB/T 4789.12—2003	食品卫生微生物学检验	肉毒梭菌及肉毒毒素检验	129
GB 4789.13—2012	食品微生物学检验	产气荚膜梭菌检验	135
GB/T 4789.14—2003	食品卫生微生物学检验	蜡样芽胞杆菌检验	145
GB 4789.15—2010	食品微生物学检验	霉菌和酵母计数	151
GB/T 4789.16—2003	食品卫生微生物学检验	常见产毒霉菌的鉴定	159
GB/T 4789.17—2003	食品卫生微生物学检验	肉与肉制品检验	191
GB 4789.18—2010	食品微生物学检验	乳与乳制品检验	195
GB/T 4789.19—2003	食品卫生微生物学检验	蛋与蛋制品检验	201
GB/T 4789.20—2003	食品卫生微生物学检验	水产食品检验	207
GB/T 4789.21—2003	食品卫生微生物学检验	冷冻饮品、饮料检验	211
GB/T 4789.22—2003	食品卫生微生物学检验	调味品检验	215
GB/T 4789.23—2003	食品卫生微生物学检验	冷食菜、豆制品检验	219
GB/T 4789.24—2003	食品卫生微生物学检验	糖果、糕点、蜜饯检验	223
GB/T 4789.25—2003	食品卫生微生物学检验	酒类检验	227
GB/T 4789.26—2003	食品卫生微生物学检验	罐头食品商业无菌的检验	231
GB/T 4789.27—2008	食品卫生微生物学检验	鲜乳中抗生素残留检验	241
GB/T 4789.28—2003	食品卫生微生物学检验	染色法、培养基和试剂	251
GB/T 4789.29—2003	食品卫生微生物学检验	椰毒假单胞菌酵米面亚种检验	293
GB 4789.30—2010	食品微生物学检验	单核细胞增生李斯特氏菌检验	299
GB/T 4789.31—2003	食品卫生微生物学检验	沙门氏菌、志贺氏菌和致泻大肠埃希氏菌的肠 杆菌科噬菌体检验方法	309
GB/T 4789.32—2002	食品卫生微生物学检验	大肠菌群的快速检测	319
GB 4789.34—2012	食品微生物学检验	双歧杆菌的鉴定	329
GB 4789.35—2010	食品微生物学检验	乳酸菌检验	341
GB/T 4789.36—2008	食品卫生微生物学检验	大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 检验	351
GB 4789.38—2012	食品微生物学检验	大肠埃希氏菌计数	367
GB/T 4789.39—2008	食品卫生微生物学检验	粪大肠菌群计数	383
GB 4789.40—2010	食品微生物学检验	阪崎肠杆菌检验	391



中华人民共和国国家标准

GB 4789.1—2010



2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准代替 GB/T 4789.1—2008《食品卫生微生物学检验 总则》。

本标准与 GB/T 4789.1—2008 相比,主要修改如下:

- 修改了标准的中英文名称;
- 修改了检验方法的选择。

本标准所代替标准的历年版本发布情况为:

- GB 4789.1—1984、GB 4789.1—1994、GB/T 4789.1—2003、GB/T 4789.1—2008。

食品安全国家标准

食品微生物学检验 总则

1 范围

本标准规定了食品微生物学检验基本原则和要求。

本标准适用于食品微生物学检验。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本标准。

3 实验室基本要求

3.1 环境

3.1.1 实验室环境不应影响检验结果的准确性。

3.1.2 实验室的工作区域应与办公室区域明显分开。

3.1.3 实验室工作面积和总体布局应能满足从事检验工作的需要,实验室布局应采用单方向工作流程,避免交叉污染。

3.1.4 实验室内环境的温度、湿度、照度、噪声和洁净度等应符合工作要求。

3.1.5 一般样品检验应在洁净区域(包括超净工作台或洁净实验室)进行,洁净区域应有明显的标示。

3.1.6 病原微生物分离鉴定工作应在二级生物安全实验室(Biosafety level 2,BSL-2)进行。

3.2 人员

3.2.1 检验人员应具有相应的教育、微生物专业培训经历,具备相应的资质,能够理解并正确实施检验。

3.2.2 检验人员应掌握实验室生物检验安全操作知识和消毒知识。

3.2.3 检验人员应在检验过程中保持个人整洁与卫生,防止人为污染样品。

3.2.4 检验人员应在检验过程中遵守相关预防措施的规定,保证自身安全。

3.2.5 有颜色视觉障碍的人员不能执行涉及到辨色的实验。

3.3 设备

3.3.1 实验设备应满足检验工作的需要。

3.3.2 实验设备应放置于适宜的环境条件下,便于维护、清洁、消毒与校准,并保持整洁与良好的工作状态。

3.3.3 实验设备应定期进行检查、检定(加贴标识)、维护和保养,以确保工作性能和操作安全。

3.3.4 实验设备应有日常性监控记录和使用记录。

3.4 检验用品

3.4.1 常规检验用品主要有接种环(针)、酒精灯、镊子、剪刀、药匙、消毒棉球、硅胶(棉)塞、微量移液器、吸管、吸球、试管、平皿、微孔板、广口瓶、量筒、玻棒及L形玻棒等。

3.4.2 检验用品在使用前应保持清洁和/或无菌。常用的灭菌方法包括湿热法、干热法、化学法等。

3.4.3 需要灭菌的检验用品应放置在特定容器内或用合适的材料(如专用包装纸、铝箔纸等)包裹或加塞,应保证灭菌效果。

3.4.4 可选择适用于微生物检验的一次性用品来替代反复使用的物品与材料(如培养皿、吸管、吸头、试管、接种环等)。

3.4.5 检验用品的储存环境应保持干燥和清洁,已灭菌与未灭菌的用品应分开存放并明确标识。

3.4.6 灭菌检验用品应记录灭菌/消毒的温度与持续时间。

3.5 培养基和试剂

3.5.1 培养基

培养基的制备和质量控制按照 GB/T 4789.28 的规定执行。

3.5.2 试剂

检验试剂的质量及配制应适用于相关检验。对检验结果有重要影响的关键试剂应进行适用性验证。

3.6 菌株

3.6.1 应使用微生物菌种保藏专门机构或同行认可机构保存的、可溯源的标准或参考菌株。

3.6.2 应对从食品、环境或人体分离、纯化、鉴定的,未在微生物菌种保藏专门机构登记注册的原始分离菌株(野生菌株)进行系统、完整的菌株信息记录,包括分离时间、来源、表型及分子鉴定的主要特征等。

3.6.3 实验室应保存能满足实验需要的标准或参考菌株,在购入和传代保藏过程中,应进行验证试验,并进行文件化管理。

4 样品的采集

4.1 采样原则

4.1.1 根据检验目的、食品特点、批量、检验方法、微生物的危害程度等确定采样方案。

4.1.2 应采用随机原则进行采样,确保所采集的样品具有代表性。

4.1.3 采样过程遵循无菌操作程序,防止一切可能的外来污染。

4.1.4 样品在保存和运输的过程中,应采取必要的措施防止样品中原有微生物的数量变化,保持样品的原有状态。

4.2 采样方案

4.2.1 类型

采样方案分为二级和三级采样方案。二级采样方案设有 n 、 c 和 m 值,三级采样方案设有 n 、 c 、 m 和 M 值。

n :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。

注1:按照二级采样方案设定的指标,在 n 个样品中,允许有 $\leq c$ 个样品其相应微生物指标检验值大于 m 值。

注2:按照三级采样方案设定的指标,在 n 个样品中,允许全部样品中相应微生物指标检验值小于或等于 m 值;允许有 $\leq c$ 个样品其相应微生物指标检验值在 m 值和 M 值之间;不允许有样品相应微生物指标检验值大于 M 值。

例如: $n=5$, $c=2$, $m=100$ CFU/g, $M=1\ 000$ CFU/g。含义是从一批产品中采集 5 个样品,若 5 个样品的检验结果均小于或等于 m 值(≤ 100 CFU/g),则这种情况是允许的;若 ≤ 2 个样品的结果(X)位于 m 值和 M 值之间(100 CFU/g $< X \leq 1\ 000$ CFU/g),则这种情况也是允许的;若有 3 个及以上样品的检验结果位于 m 值和 M 值之间,则这种情况是不允许的;若有任一样品的检验结果大于 M 值($> 1\ 000$ CFU/g),则这种情况也是不允许的。

4.2.2 各类食品的采样方案

按相应产品标准中的规定执行。

4.2.3 食源性疾病及食品安全事件中食品样品的采集

4.2.3.1 由工业化批量生产加工的食品污染导致的食源性疾病或食品安全事件,食品样品的采集和判定原则按 4.2.1 和 4.2.2 执行。同时,确保采集现场剩余食品样品。

4.2.3.2 由餐饮单位或家庭烹调加工的食品导致的食源性疾病或食品安全事件,食品样品的采集按 GB 14938 中卫生学检验的要求,以满足食源性疾病或食品安全事件病因判定和病原确证的要求。

4.3 各类食品的采样方法

采样应遵循无菌操作程序,采样工具和容器应无菌、干燥、防漏,形状及大小适宜。

4.3.1 即食类预包装食品

取相同批次的最小零售原包装,检验前要保持包装的完整,避免污染。

4.3.2 非即食类预包装食品

原包装小于 500 g 的固态食品或小于 500 mL 的液态食品,取相同批次的最小零售原包装;大于 500 mL 的液态食品,应在采样前摇动或用无菌棒搅拌液体,使其达到均质后分别从相同批次的 n 个容器中采集 5 倍或以上检验单位的样品;大于 500 g 的固态食品,应用无菌采样器从同一包装的几个不同部位分别采取适量样品,放入同一个无菌采样容器内,采样总量应满足微生物指标检验的要求。

4.3.3 散装食品或现场制作食品

根据不同食品的种类和状态及相应检验方法中规定的检验单位,用无菌采样器现场采集 5 倍或以上检验单位的样品,放入无菌采样容器内,采样总量应满足微生物指标检验的要求。

4.3.4 食源性疾病及食品安全事件的食品样品

采样量应满足食源性疾病诊断和食品安全事件病因判定的检验要求。

4.4 采集样品的标记

应对采集的样品进行及时、准确的记录和标记,采样人应清晰填写采样单(包括采样人、采样地点、时间、样品名称、来源、批号、数量、保存条件等信息)。

4.5 采集样品的贮存和运输

采样后,应将样品在接近原有贮存温度条件下尽快送往实验室检验。运输时应保持样品完整。如不能及时运送,应在接近原有贮存温度条件下贮存。

5 样品检验

5.1 样品处理

5.1.1 实验室接到送检样品后应认真核对登记,确保样品的相关信息完整并符合检验要求。

5.1.2 实验室应按要求尽快检验。若不能及时检验,应采取必要的措施保持样品的原有状态,防止样品中目标微生物因客观条件的干扰而发生变化。

5.1.3 冷冻食品应在 45℃ 以下不超过 15 min,或 2℃~5℃ 不超过 18 h 解冻后进行检验。

5.2 检验方法的选择

5.2.1 应选择现行有效的国家标准方法。

5.2.2 食品微生物检验方法标准中对同一检验项目有两个及两个以上定性检验方法时,应以常规培养方法为基准方法。

5.2.3 食品微生物检验方法标准中对同一检验项目有两个及两个以上定量检验方法时,应以平板计数法为基准方法。

6 生物安全与质量控制

6.1 实验室生物安全要求

应符合 GB 19489 的规定。

6.2 质量控制

- 6.2.1 实验室应定期对实验用菌株、培养基、试剂等设置阳性对照、阴性对照和空白对照。
- 6.2.2 实验室应对重要的检验设备(特别是自动化检验仪器)设置仪器比对。
- 6.2.3 实验室应定期对实验人员进行技术考核和人员比对。

7 记录与报告

7.1 记录

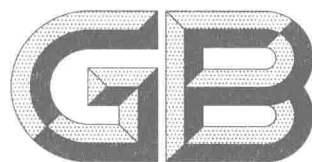
检验过程中应即时、准确地记录观察到的现象、结果和数据等信息。

7.2 报告

实验室应按照检验方法中规定的要求,准确、客观地报告每一项检验结果。

8 检验后样品的处理

- 8.1 检验结果报告后,被检样品方能处理。检出致病菌的样品要经过无害化处理。
 - 8.2 检验结果报告后,剩余样品或同批样品不进行微生物项目的复检。
-



中华人民共和国国家标准

GB 4789.2—2010

食品安全国家标准

食品微生物学检验 菌落总数测定

National food safety standard

Food microbiological examination: Aerobic plate count

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准代替 GB/T 4789.2—2008《食品卫生微生物学检验 菌落总数测定》。

本标准与 GB/T 4789.2—2008 相比,主要修改如下:

- 修改了标准的中英文名称;
- 修改了菌落总数计算公式中的解释;
- 修改了培养基和试剂;
- 删除了“第二法 菌落总数 Petrifilm™测试片法”。

本标准的附录 A 是规范性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

- GB 4789.2—1984、GB 4789.2—1994、GB/T 4789.2—2003、GB/T 4789.2—2008。

食品安全国家标准

食品微生物学检验 菌落总数测定

1 范围

本标准规定了食品中菌落总数(aerobic plate count)的测定方法。
本标准适用于食品中菌落总数的测定。

2 术语和定义

2.1 菌落总数 aerobic plate count

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等)培养后,所得每 g(mL)检样中形成的微生物菌落总数。

3 设备和材料

除微生物实验室常规灭菌及培养设备外,其他设备和材料如下:

- 3.1 恒温培养箱: $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $30\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.2 冰箱: $2\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.3 恒温水浴箱: $46\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 3.4 天平:感量为 0.1 g。
- 3.5 均质器。
- 3.6 振荡器。
- 3.7 无菌吸管:1 mL(具 0.01 mL 刻度)、10 mL(具 0.1 mL 刻度)或微量移液器及吸头。
- 3.8 无菌锥形瓶:容量 250 mL、500 mL。
- 3.9 无菌培养皿:直径 90 mm。
- 3.10 pH 计或 pH 比色管或精密 pH 试纸。
- 3.11 放大镜或/和菌落计数器。

4 培养基和试剂

- 4.1 平板计数琼脂培养基:见附录 A 中 A.1。
- 4.2 磷酸盐缓冲液:见附录 A 中 A.2。
- 4.3 无菌生理盐水:见附录 A 中 A.3。

5 检验程序

菌落总数的检验程序见图 1。

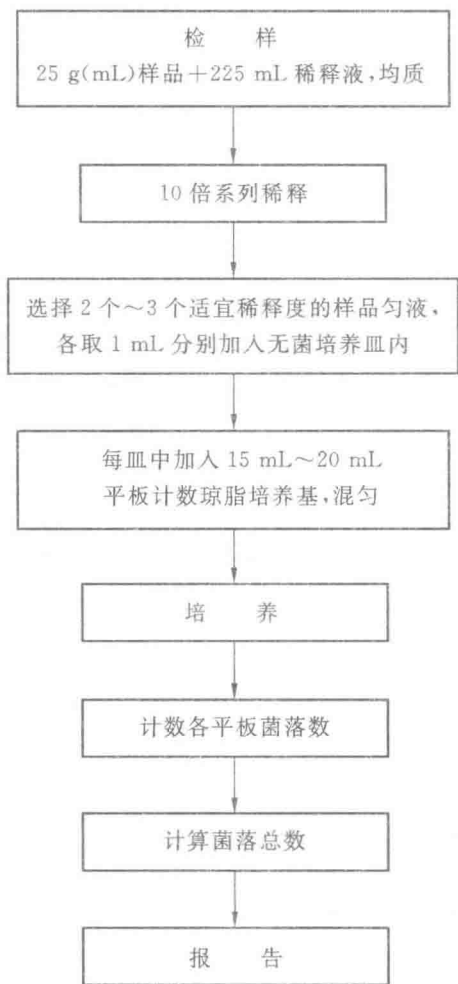


图 1 菌落总数的检验程序

6 操作步骤

6.1 样品的稀释

- 6.1.1 固体和半固体样品:称取 25 g 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌均质杯内, 8 000 r/min~10 000 r/min 均质 1 min~2 min,或放入盛有 225 mL 稀释液的无菌均质袋中,用拍击式均质器拍打 1 min~2 min,制成 1 : 10 的样品匀液。
- 6.1.2 液体样品:以无菌吸管吸取 25 mL 样品置盛有 225 mL 磷酸盐缓冲液或生理盐水的无菌锥形瓶(瓶内预置适当数量的无菌玻璃珠)中,充分混匀,制成 1 : 10 的样品匀液。
- 6.1.3 用 1 mL 无菌吸管或微量移液器吸取 1 : 10 样品匀液 1 mL,沿管壁缓慢注于盛有 9 mL 稀释液的无菌试管中(注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面),振摇试管或换用 1 支无菌吸管反复吹打使其混合均匀,制成 1 : 100 的样品匀液。
- 6.1.4 按 6.1.3 操作程序,制备 10 倍系列稀释样品匀液。每递增稀释一次,换用 1 次 1 mL 无菌吸管或吸头。
- 6.1.5 根据对样品污染状况的估计,选择 2 个~3 个适宜稀释度的样品匀液(液体样品可包括原液),在进行 10 倍递增稀释时,吸取 1 mL 样品匀液于无菌平皿内,每个稀释度做两个平皿。同时,分别吸取 1 mL 空白稀释液加入两个无菌平皿内作空白对照。
- 6.1.6 及时将 15 mL~20 mL 冷却至 46 ℃ 的平板计数琼脂培养基(可放置于 46 ℃ ± 1 ℃ 恒温水浴箱中保温)倾注平皿,并转动平皿使其混合均匀。

6.2 培养

- 6.2.1 待琼脂凝固后,将平板翻转,36℃±1℃培养48h±2h。水产品30℃±1℃培养72h±3h。
- 6.2.2 如果样品中可能含有在琼脂培养基表面弥漫生长的菌落时,可在凝固后的琼脂表面覆盖一薄层琼脂培养基(约4mL),凝固后翻转平板,按6.2.1条件进行培养。

6.3 菌落计数

可用肉眼观察,必要时用放大镜或菌落计数器,记录稀释倍数和相应的菌落数量。菌落计数以菌落形成单位(colony-forming units,CFU)表示。

- 6.3.1 选取菌落数在30CFU~300CFU之间、无蔓延菌落生长的平板计数菌落总数。低于30CFU的平板记录具体菌落数,大于300CFU的可记录为多不可计。每个稀释度的菌落数应采用两个平板的平均数。
- 6.3.2 其中一个平板有较大片状菌落生长时,则不宜采用,而应以无片状菌落生长的平板作为该稀释度的菌落数;若片状菌落不到平板的一半,而其余一半中菌落分布又很均匀,即可计算半个平板后乘以2,代表一个平板菌落数。
- 6.3.3 当平板上出现菌落间无明显界线的链状生长时,则将每条单链作为一个菌落计数。

7 结果与报告

7.1 菌落总数的计算方法

- 7.1.1 若只有一个稀释度平板上的菌落数在适宜计数范围内,计算两个平板菌落数的平均值,再将平均值乘以相应稀释倍数,作为每g(mL)样品中菌落总数结果。
- 7.1.2 若有两个连续稀释度的平板菌落数在适宜计数范围内时,按式(1)计算:

$$N = \sum C / (n_1 + 0.1n_2) d \dots\dots\dots (1)$$

式中:

N——样品中菌落数;

∑C——平板(含适宜范围菌落数的平板)菌落数之和;

n₁——第一稀释度(低稀释倍数)平板个数;

n₂——第二稀释度(高稀释倍数)平板个数;

d——稀释因子(第一稀释度)。

示例:

稀释度	1:100(第一稀释度)	1:1000(第二稀释度)
菌落数(CFU)	232,244	33,35

$$N = \sum C / (n_1 + 0.1n_2) d$$
$$= \frac{232 + 244 + 33 + 35}{[2 + (0.1 \times 2)] \times 10^{-2}} = \frac{544}{0.022} = 24\,727$$

上述数据按7.2.2数字修约后,表示为25000或2.5×10⁴。

- 7.1.3 若所有稀释度的平板上菌落数均大于300CFU,则对稀释度最高的平板进行计数,其他平板可记录为多不可计,结果按平均菌落数乘以最高稀释倍数计算。
- 7.1.4 若所有稀释度的平板菌落数均小于30CFU,则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数计算。
- 7.1.5 若所有稀释度(包括液体样品原液)平板均无菌落生长,则以小于1乘以最低稀释倍数计算。
- 7.1.6 若所有稀释度的平板菌落数均不在30CFU~300CFU之间,其中一部分小于30CFU或大于300CFU时,则以最接近30CFU或300CFU的平均菌落数乘以稀释倍数计算。

7.2 菌落总数的报告

- 7.2.1 菌落数小于100CFU时,按“四舍五入”原则修约,以整数报告。

- 7.2.2 菌落数大于或等于 100 CFU 时,第 3 位数字采用“四舍五入”原则修约后,取前 2 位数字,后面用 0 代替位数;也可用 10 的指数形式来表示,按“四舍五入”原则修约后,采用两位有效数字。
- 7.2.3 若所有平板上为蔓延菌落而无法计数,则报告菌落蔓延。
- 7.2.4 若空白对照上有菌落生长,则此次检测结果无效。
- 7.2.5 称重取样以 CFU/g 为单位报告,体积取样以 CFU/mL 为单位报告。

附录 A
(规范性附录)
培养基和试剂

A.1 平板计数琼脂(plate count agar, PCA)培养基

A.1.1 成分

胰蛋白胨	5.0 g
酵母浸膏	2.5 g
葡萄糖	1.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1 000 mL
pH7.0±0.2	

A.1.2 制法

将上述成分加于蒸馏水中,煮沸溶解,调节 pH。分装试管或锥形瓶,121 °C 高压灭菌 15 min。

A.2 磷酸盐缓冲液

A.2.1 成分

磷酸二氢钾(KH_2PO_4)	34.0 g
蒸馏水	500 mL
pH7.2	

A.2.2 制法

贮存液:称取 34.0 g 的磷酸二氢钾溶于 500 mL 蒸馏水中,用大约 175 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH,用蒸馏水稀释至 1 000 mL 后贮存于冰箱。

稀释液:取贮存液 1.25 mL,用蒸馏水稀释至 1 000 mL,分装于适宜容器中,121 °C 高压灭菌 15 min。

A.3 无菌生理盐水

A.3.1 成分

氯化钠	8.5 g
蒸馏水	1 000 mL

A.3.2 制法

称取 8.5 g 氯化钠溶于 1 000 mL 蒸馏水中,121 °C 高压灭菌 15 min。