

食品卫生微生物检验标准手册

主 编 罗雪云 刘宏道
副主编 周桂莲 阳传和

中 国 标 准 出 版 社

1995

图书在版编目(CIP)数据

食品卫生微生物检验标准手册/罗雪云,刘宏道主编.

北京:中国标准出版社,1994.12

ISBN 7-5066-0952-5

I. 食… II. ①罗… ②刘… III. ①食品-卫生监测-微生物检定-手册②食品卫生-国家标准:质量标准-中国-汇编 IV. ①R155-62②R155-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字(94)第 02854 号

*

中国标准出版社出版

北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码:100045

电 话:852112

*

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

版权专有 不得翻印

*

开本 850×1168 1/32 印张 15 1/4 字数 406 千字

ISBN 7-5066-0952-5 1995 年 8 月第一版 1995 年 8 月第一次印刷

印数 1—3 000 定价 24.00 元

*

标 目 248—03



9 787506 609524 >

内 容 提 要

本书由卫生部食品卫生监督检验所组织有关专家、教授根据最新国家标准、科研成果和国外先进标准编撰而成。全书共三十四章，主要内容包括常见细菌、霉菌、酵母、霉菌毒素和各类食品中微生物的检验方法，以及食品中细菌、霉菌限量国家标准。本书除对每一项目的方法原理、检验步骤、操作注意事项详述外，对如何进行结果分析判定亦有详细介绍。其中的霉菌毒素检验、单抗技术、酶联免疫吸附测定以及快速测定方法既先进又切实可行，将会产生重大的社会效益和经济效益。

本书可供食品卫生监督检验所、卫生防疫站、食品企业、食品研究所、进出口商品检验单位、环境监测和毒理研究机构从事微生物检验的人员使用，亦可供卫生、轻工、农业等院校的师生参考。

本书编写成员

主编 罗雪云 刘宏道

副主编 周桂莲 阳传和

编 者(按姓氏笔划顺序排列)

- 冉 陆 卫生部食品卫生监督检验所助理研究员
白竟玉 卫生部食品卫生监督检验所研究员
刘以贤 北京市卫生防疫站主任检验师
刘宏道 卫生部食品卫生监督检验所研究员
李东华 卫生部食品卫生监督检验所助理研究员
李业鹏 卫生部食品卫生监督检验所助理研究员
阳传和 卫生部食品卫生监督检验所助理研究员
周桂莲 卫生部食品卫生监督检验所研究员
罗雪云 卫生部食品卫生监督检验所研究员
侯正宗 河北省卫生防疫站副主任技师
封幼玲 江苏省卫生防疫站副主任技师
徐用宽 上海市卫生防疫站主任医师
高庆仪 卫生部食品卫生监督检验所副主任技师
席培华 青海省卫生防疫站副主任技师
程晓霞 山东省卫生防疫站主任技师
谢茂惠 湖北省卫生防疫站主管技师
曾超鹏 广西壮族自治区卫生防疫站主管技师
魏润蕴 卫生部食品卫生监督检验所副研究员

序

这本手册经过主编和作者的多方努力和辛勤笔耕终于和广大读者见面了。在此以前已于 1986 年出版了《食品卫生检验方法 微生物学部分》，这是我国国家规定的标准方法。其后，于 1989 年由孟昭赫教授主编撰写了《食品卫生检验方法注解——微生物学部分》，对标准方法进行了比较详尽的解说，使读者不仅知其然还了解其所以然。这本注解还对当前国际上发展中的新技术和新方法都有综述性的介绍。本手册在上述两书的基础上，除叙述标准方法外，还根据国外技术的进展，特别加入了多种标准方法之外的参考方法，这些参考方法大多经过国内几年实践证明是可靠的。相信这些方法对广大基层技术人员会有所裨益。

这本手册有以下特点：

1. 本手册除对标准方法给予详细的叙述外，还对如何判定结果介绍了国内外的有关经验。这对从事微生物学检验的专业人员显然是极有帮助的。

2. 本手册对《食品卫生检验方法 微生物学部分》作了大量的补充。在细菌学检验方法中，本手册收录了李斯特氏菌、椰毒假单胞菌酵米面亚种，霉菌方面增加了酵母的鉴定，霉菌毒素方面则补充了青霉酸、交链孢霉毒素、玉米赤霉烯酮、展青霉素、雪腐镰刀菌烯醇、二乙酰蕈草镰刀菌烯醇、串珠镰刀菌素、3-硝基丙酸、T-2 毒素、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、赭曲霉毒素 A 等的测定方法。从这些补充方法中，也可以看出我国霉菌毒素检验方面在最近几年的发展是相当迅速的。可以

说,目前国内对主要霉菌毒素都已经能够检验了,而且有些检验方法已与某些先进国家相媲美,有的方法其灵敏度甚至还超过国外的方法。

3. 本手册介绍了国际上的高新技术,如单抗技术,酶联免疫吸附测定(ELISA)方法等。这方面,我国已经配备了某些霉菌毒素检验的ELISA试剂盒。这在食品卫生检验方面是一大突破。虽然,ELISA方法在其他领域中已广泛应用,但在我国食品卫生微生物检验方面还是刚刚开始。

4. 本手册引进了适用于现场监测的快速方法,如菌落总数快速测定法、大肠菌群纸片检测法等。后一方法在我国已研究了多年,但迄今未得到广泛应用。现该法已经卫生部批准作为餐(饮)具大肠菌群检验的标准方法,本手册对其步骤给予详尽的介绍。相信这一方法的推广应用,将会产生重大的社会、经济效益。此外,霉菌毒素的酶联免疫吸附测定法也都比一般化学测定方法快速灵敏。

综上所述,本手册的特点可概括为详、多、新、快。这些也正是国内这方面专业人员所需要而迄今未能解决的。希望本手册能在这方面做出一些贡献。

还应指出的是本书的主编和作者大多是从事微生物学、真菌学、真菌毒素研究检验三十多年的专家、教授,不少同志多已年近或已年过花甲,在这本手册中闪烁着他们为祖国愿意贡献终生的赤子之心。参加本手册撰写的年青同志,成长在改革开放的年代,虽然年仅而立或不及,但都已专心辛勤研究多年,既专又精,因而能写出具有一定水平的检验方法。

虽然作者们都尽了自己的努力,但难免挂一漏万,加之客观要求永无止境,因此请广大读者在实践中对本手册提出批评指正,以冀修正于再版。

最后,还应说明本手册中的参考方法只能是参考方法,它不是法定方法,除被国家有关权威机关认可后,一般不得作为法律依据。

卫生部食品卫生监督检验所名誉所长
食品卫生标准分技术委员会主任委员

戴寅

1993.6

编者的话

食品是人类赖以生存的必要条件。提供安全卫生、营养丰富的食品，保证人类生存和健康是食品卫生的根本任务。食品在生产、加工、贮存、运输、销售过程中可能被微生物和化学物质污染，而国内外的资料都说明食品的微生物污染是非常重要的卫生问题。从我国1986～1990年食物中毒分析来看，不论从起数或人数统计，均以微生物性食物中毒占的比例大，微生物性食物中毒占中毒人数的61.7%，而化学性食物中毒人数仅占26.2%，两者比例为2.4：1。因此，确保食品的安全卫生，防止微生物的污染至关重要。

判断食品是否安全卫生，食品卫生微生物检验是食品卫生监测必不可少的重要组成部分。1984年我国颁布了《食品卫生检验方法 微生物学部分》(GB 4789.1～4789.28—84)。国家标准检验方法的颁布，对提高食品卫生质量，保证消费者健康，促进国内外贸易起到了积极的、重要的作用。近十多年来，国际上食品卫生微生物检验有不少新技术和新方法。为了进一步提高我国食品的卫生质量和检验技术的水平，迅速赶上和超过国际水平，以适应当前和今后发展的需要，我们特编写了本手册。

根据国家技术监督局国家标准管理办法第二十七条“国家标准实施后，应当根据科学技术的发展和经济建设的需要，由该国家标准的主管部门组织有关单位适时进行复审，复审周期一般不超过五年”的规定，《食品卫生检验方法 微生物学部分》于1992年完成了复审任务并提出修订本。本手册除了根据修订的标准检验方法介绍细菌检验方面的指标菌和致病菌的检验外，还补充了李斯特氏菌和椰毒假单胞菌酵米面亚种的检验。在霉菌检验方面，增加了酵母的鉴定，以及青霉酸、玉米赤霉烯酮、展毒霉素、雪腐镰刀菌烯醇、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、T-2霉

素、赭曲霉毒素 A、3-硝基丙酸、二乙酰薰草镰刀菌烯醇、串珠镰刀菌素和交链孢霉毒素等霉菌毒素的检测方法。这些方法绝大部分是参考国外方法建立的，并经 3~5 个食品检验机构或医学院校验证以及样品实测，证明在我国是可以推广应用的方法。霉菌毒素检测方法除薄层色谱外，还介绍了薄层扫描、气相色谱和高效液相色谱等方法，后几种方法的灵敏度和准确性均比薄层色谱法高。传统的大肠菌群测定方法比较繁琐、费时，难以满足现场食品卫生监测的需要。我国的食品卫生科技工作者和检验人员经过多年的努力，建立了适用于现场检测食品和餐具的快速检测大肠菌群的纸片法。它的建立对加强食品和餐具的卫生监督管理，保证食品和餐具的安全卫生，保护消费者健康具有重要作用。

特别要提出的是本手册介绍了目前在食品卫生微生物检验中应用的单克隆抗体技术和酶联免疫吸附测定(ELISA)方法等高新技术内容。免疫学方法具有简单、快速、灵敏、特异性强等特点，这些新方法和新技术的应用推动了我国食品卫生微生物检验技术的发展。

参加本手册编写的有：卫生部食品卫生监督检验所从事多年食品卫生微生物检验研究的专家和中青年科技工作者，北京、上海、河北、江苏、山东、湖北、广西、青海等省、市、自治区食品卫生监督检验所的高、中级专业技术人员。本手册虽具有理论知识和实践经验相结合的特点，但疏漏和错误在所难免，恳切希望广大读者给予批评指正。

编者

1993. 6

目 录

绪论	1
一、食品卫生微生物检验标准的修订情况.....	1
二、食品卫生微生物检验中样品的采集和采样数量.....	5
第一章 菌落总数测定	11
一、检验方法	11
二、结果分析判定	14
三、培养基	16
第二章 大肠菌群测定	18
第一节 大肠菌群标准检验方法	18
一、检验方法	18
二、结果分析判定	23
三、培养基	28
第二节 大肠菌群参考检验方法	29
一、方法 1(FDA, 1984)	29
二、方法 2(厚生省生活卫生局, 1990)	30
三、方法 3(纸片法, 食具消毒检验专用)	31
四、方法 4(纸片法, 食品检验用)	32
第三章 沙门氏菌检验	34
第一节 沙门氏菌标准检验方法	34
一、检验方法	34
二、结果分析判定及注意事项	36
三、培养基	46
第二节 沙门氏菌参考检验方法	56
一、肠杆菌噬菌体分属诊断方法	56
二、肠杆菌科分属诊断噬菌体应用于沙门氏菌诊断方法	56
第四章 志贺氏菌检验	58
第一节 志贺氏菌标准检验方法	58
一、检验方法	58
二、结果分析判定	59

三、培养基	62
第二节 志贺氏菌参考检验方法	66
一、志贺氏菌属各菌型与生化型鉴别	66
二、志贺氏噬菌体分型鉴定方法	67
第五章 致泻大肠埃希氏菌检验	69
第一节 致泻大肠埃希氏菌标准检验方法	69
一、检验方法	69
二、结果分析判定	74
三、培养基和试剂	74
第二节 致泻大肠埃希氏菌参考检验方法	81
第六章 副溶血性弧菌检验	83
第一节 副溶血性弧菌标准检验方法	83
一、检验方法	83
二、结果分析判定及注意事项	84
三、培养基	88
第二节 副溶血性弧菌参考检验方法	92
一、日本食品微生物检验方法	92
二、耐热溶血毒检验方法	96
三、致病性试验方法	96
四、血清学检验	97
第七章 小肠结肠炎耶尔森氏菌检验	99
第一节 小肠结肠炎耶尔森氏菌标准检验方法	99
一、检验方法	99
二、结果分析判定及注意事项	100
三、培养基	105
第二节 小肠结肠炎耶尔森氏菌参考检验方法	108
一、生物学分型法	108
二、日本食品卫生微生物检查方法(摘要)	110
第八章 空肠弯曲菌检验	112
一、空肠弯曲菌标准检验方法	112
二、结果分析判定	116
三、培养基	117

第九章 变形杆菌检验	121
一、检验方法	121
二、结果分析判定	122
三、培养基	125
第十章 椰毒假单胞菌酵米面亚种及其毒素检验	126
一、标准检验方法	126
二、结果分析判定	133
三、培养基	135
第十一章 单核细胞增生李斯特氏菌检验	137
一、标准检验方法	137
二、结果分析判定	139
三、培养基	141
第十二章 葡萄球菌检验	146
第一节 葡萄球菌标准检验方法	146
一、检验方法	146
二、结果分析判定	147
三、培养基	148
第二节 葡萄球菌参考检验方法	150
一、一般培养	150
二、MPN 计数方法	150
三、生化试验	151
第十三章 溶血性链球菌检验	153
第一节 溶血性链球菌标准检验方法	153
一、检验方法	153
二、结果分析判定	154
三、培养基	155
第二节 溶血性链球菌参考检验方法	157
一、一般培养	157
二、生化试验	157
第十四章 肉毒梭菌及肉毒毒素检验	159
一、标准检验方法	159
二、结果分析判定	162

三、培养基	163
第十五章 产气荚膜梭菌检验	166
第一节 产气荚膜梭菌标准检验方法	166
一、检验方法	166
二、结果分析判定	167
三、培养基和试剂	169
第二节 产气荚膜梭菌参考检验方法	172
一、肠毒素检验方法	172
二、血清分型	174
三、结果分析判定	174
四、培养基和试剂	175
第十六章 蜡样芽胞杆菌检验	176
第一节 蜡样芽胞杆菌标准检验方法	176
一、检验方法	176
二、结果分析判定	180
三、培养基	181
第二节 蜡样芽胞杆菌参考检验方法	183
一、生化分型	183
二、血清学分型	183
第十七章 霉菌和酵母计数	184
第一节 霉菌和酵母计数标准检验方法	184
一、检验方法	184
二、结果分析判定	188
三、培养基	190
第二节 霉菌和酵母计数参考检验方法	192
一、表面涂布平板法	192
二、粮食和其他粒状或块状食品的霉菌检验方法	192
第十八章 常见霉菌和酵母鉴定	194
第一节 常见霉菌鉴定	194
一、培养和鉴定方法	194
二、常见霉菌特征	197
三、培养基及试剂	241

四、曲霉属“群”检索表	243
五、青霉属“系”检索表	247
六、镰刀菌分类系统检索表(柏斯)	251
第二节 常见酵母鉴定	257
一、培养和鉴定方法	257
二、常见酵母的特征	261
三、培养基	269
四、食品中常见酵母菌分属检索表	272
第十九章 黄曲霉毒素检测	275
第一节 黄曲霉毒素标准检测方法	276
一、食品中黄曲霉毒素 B ₁ 的薄层色谱测定法	276
二、食品中黄曲霉毒素 M ₁ 与 B ₁ 的薄层色谱测定法	286
三、食品中黄曲霉毒素 B ₁ 、B ₂ 、G ₁ 、G ₂ 的薄层色谱测定法	292
四、微柱筛选法	296
第二节 黄曲霉毒素参考检验方法	299
一、酶联免疫吸附测定法	299
二、高压液相色谱测定法	301
第二十章 赭曲霉毒素 A 检测	304
第一节 赭曲霉毒素 A 标准检测方法	305
一、薄层色谱法	305
二、酶联免疫吸附测定法	310
第二节 赭曲霉毒素 A 参考检测方法	313
第二十一章 杂色曲霉毒素检测	317
第二十二章 展青霉素检测	323
一、薄层色谱法	324
二、双向薄层扫描测定法	326
第二十三章 青霉酸检测	329
第二十四章 脱氧雪腐镰刀菌烯醇检测	333
一、薄层色谱法	334
二、气相色谱法	340
三、微柱法	343
四、酶联免疫吸附测定法	345

第二十五章 T-2 毒素检测	348
一、薄层色谱法	349
二、气相色谱-质谱法	352
三、酶联免疫吸附测定法	354
第二十六章 雪腐镰刀菌烯醇检测	358
一、薄层色谱法	358
二、气相色谱法	362
第二十七章 二乙酰薰草镰刀菌烯醇检测	363
一、薄层色谱法	364
二、气相色谱法	365
第二十八章 玉米赤霉烯酮检测	368
一、薄层色谱法	369
二、液相色谱法	372
第二十九章 串珠镰刀菌素检测	375
一、薄层色谱法	376
二、液相色谱法	377
第三十章 交链孢霉毒素检测	380
第一节 交链孢醇、交链孢酚单甲醚、交链孢烯检测	383
一、薄层色谱法	383
二、高效液相色谱法	385
三、气相色谱法	388
第二节 细交链孢菌酮酸检测	390
一、高效液相色谱法	390
二、气相色谱法	391
第三节 交链孢毒素 I 、 II 、 III 检测	393
第三十一章 3-硝基丙酸检测	395
第三十二章 各类食品微生物检验	399
第一节 肉与肉制品检验	399
一、样品的采取和送检	399
二、检样的处理	400
三、检验方法	401
四、注意事项	401

第二节 乳与乳制品检验	402
一、样品的采取和送检	402
二、检样的处理	403
三、检验方法	404
四、注意事项	404
第三节 蛋与蛋制品检验	405
一、样品的采取和送检	405
二、检样的处理	406
三、检验方法	407
四、注意事项	407
第四节 水产食品检验	408
一、样品的采取和送检	408
二、检样的处理	409
三、检验方法	410
四、注意事项	410
第五节 清凉饮料检验	412
一、样品的采取和送检	412
二、样品采取数量	412
三、检样的处理	412
四、检验方法	413
五、注意事项	413
第六节 调味品检验	413
一、样品采取和送检	413
二、样品采取数量	413
三、检样的处理	413
四、检验方法	413
五、注意事项	415
第七节 冷食菜、豆制品检验	415
一、样品的采取和送检	415
二、样品采取数量	416
三、检样的处理	416
四、检验方法	416