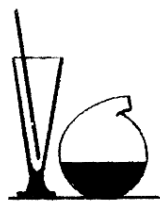


中华人民共和国国家标准

食品卫生微生物学 检验方法

(征求意见稿)



负责单位

中国预防医学中心卫生研究所

卫生部食品卫生监督检验所

一九八三年十一月十五日

中华人民共和国国家标准
食品卫生微生物学检验方法

目 录

1、食品卫生微生物学检样(采集、运送、登记、检验、 报告 and 保存)总则	3
2、菌落总数测定	10
3、大肠菌群测定	15
4、沙门氏菌检验	23
5、志贺氏菌检验	49
6、病原性大肠埃希氏菌检验	56
7、付溶血性弧菌检验	63
8、小肠结肠炎耶尔森氏菌检验	68
9、空肠弯曲杆菌检验	74
10、葡萄球菌检验	81
11、溶血性链球菌检验	84
12、肉毒梭菌检验	93
13、产气荚膜梭菌检验	94
14、蜡样芽胞杆菌检验	98
15、多杀性巴氏杆菌(出血性败血病杆菌)检验	104
16、红斑丹毒丝菌(猪丹毒杆菌)检验	108
17、霉菌孢子数测定	114
18、霉菌毒性鉴定	118
19、肉与肉制品卫生微生物学检验	128
20、乳与乳制品卫生微生物学检验	126

21. 鲜乳中抗生素残留检验	128
22. 蛋与蛋制品卫生微生物学检验	134
23. 水产食品卫生微生物学检验	137
24. 罐 头	150
25. 清凉饮料	141
26. 调味品	143
27. 冷食菜、豆制品	145
28. 糕点、果脯、糖果	147
29. 酒 类	148
30. 附录目录	154
31. 附录 I 染液配制及染色法	154
32. 附录 II 生化试验培养基和试剂	154
33. 附录 III 一般培养基和专用培养基	155
34. 附录 IV 食品卫生微生物国家标准	228

中华人民共和国国家标准

食品卫生微生物学检样(采集、运送、登记、检验、报告和保存)

总则

GB

样品的采集

1.1 在食品检验中, 采样是极关重要的, 所采集的样品, 必需有代表性。食品因其加工批号, 原料情况(来源、种类、地区、季节等), 加工方法、运输、保藏条件、销售中的各个环节(例如有无防蝇、防污染、防蟑螂及防鼠等)及销售人员的责任心和卫生认识水平等无不影响着食品卫生质量, 因此必需周密予以考虑。

1.2 样品种类: 可分为大样、中样和小样三种。大样系指一整批, 中样是从样品各部分取得的混合样品, 小样系指做分析用称为检样。检样一般以20g, 中样以200g为准。

1.3 采样方法

1.3.1 采样必需在无菌操作下进行采样。

1.3.2 采样用具, 必需是灭菌的, 如探子、铲子、匙、采样器、试管、剪子和开罐器等。

1.3.3 根据样品种类如袋、瓶和罐装者, 应取完整的未开封的。如果样品很大则需用无菌采样器取样, 样品是固体粉末, 应边取边混和, 是液体的通过振摇即可混匀; 检样是冷冻食品应保持在冷冻状态(可放在冰内、冰箱的冰盒内或低温冰箱内保存), 非冷冻食品需保持在0—5℃中保存。

1.4 采样数量: 根据不同品种, 采样有所不同见表1

1.5 采样标签: 采样前或后应立即贴上标签, 每件样品必需标记清楚(如品名、来源、数量、采样地点、采样人及采样年、月、日)。

1.6 采样存放地点的温度 必需证明。

2、送 检

2.1 送样品到食品卫生微生物检验室应越快越好，一般应不超过3小时。如果路途遥远，可将不需冷冻样品保持在1—5℃环境中（如水壶）。如需保持冷冻状态则需保存在泡沫塑料隔热箱内（箱内有干冰可维持在0℃以下）

2.2 送检时，必须认真填写报告单，以供检验人员参考。（附件2）

3、检 验

3.1 食品卫生微生物检验室，接到送检报告单，应立即登记，填写实验序号，按着检样要求，立即将样品放在水箱或冰盒中，积极准备条件进行检验。

3.2 各食品卫生微生物检验室，必需备有专用冰箱存放样品。一般阳性样品，发出报告后三天，始能处理样品。进口食品的阳性样品，需保存六个月，方能处理。阴性样品可及时处理。

4、报 告

检验完了后，检验人员应及时填写报告单签名后，送主管人员核实签字，加盖单位印章以示生效，立即发出通知或寄送到送检单位。

表 1.

各种样品采样数量

检样种类	采样数量	备 考
进口粮油	粮：按三层五点采样法进行（表、中、下三层） 油：重点采取表层及底层油。	每增加一万吨 增加一个混样
肉及肉制品	生肉：取屠宰后两腿内侧肌或背最长肌 100 g/支。 脏器：根据检验目的而定 光禽：采取腿肌或胸肌 50 g 熟肉：卤烤制品：大块者应取 50 cm ² 小块者取样应不得少于 100 g。 熟禽：每份样品 1 支。 肉松：每份样品 1 代。 香肠：每份样品 1 个。	要在容器的不同 部位采取
乳及乳制品	生乳： 1 瓶 消毒乳： 1 瓶 奶粉： 1 袋或 1 瓶 大包装 200 g 奶油：一包大包装 200 g 酸奶：一瓶或一罐 炼乳：一瓶或一听	每批样品按千分 之一采样。不足 千件者抽 1 件

表 1.

各种样品采样数量

检样种类	采样数量	备 考
	淡炼乳：一罐	
蛋 品	全蛋粉 巴氏消毒全蛋粉 蛋黄粉 蛋白片 } 每件 200g	一日或一班生产 为一批检验沙门 氏菌按 5% 抽样 但每批不少于 2 个 检样。 测菌落总数大肠菌 群： 每批装听前中 后取样三次每次 取样 50g 每批 合为一个样品。
	冰全蛋 冰蛋黄 冰蛋白 } 每件 200g	在装听时流动采 样。检验沙门氏 菌每 250kg 取 样一件。
	巴氏消毒冰全蛋	检验沙门氏菌 每 500kg 取样 一件。
		测定菌落总数和大

		肠菌群时每批装听过程提前中后取样三次，每次50g。
水产品	鱼：一条 虾：200g 蟹：2只 贝壳类：按检验目的而定 鱼松：1袋	不足200g者加量
罐 头	a、按生产班次取样，取样数为1/8000尾数超过1000罐者增取一罐但每班每个品种取样基数不得少于8罐。 b、某些产品生产量较大，则按班产量总罐数20000罐为基数，其取样数为1/8000，超过20000罐时，其取样数可为1/10000尾数超过1000罐者增取一罐。 c、个别产品生产量过少同品种、同规格者可合并班次取样但并班总罐数不超过5000罐	

	<p>每生产班次取样数不少于1罐，并班后取样不少于8罐。</p> <p>a、按杀菌锅取样，每锅采取1罐，但每批每个品种不得少于3罐，违反操作规程或卫生制度生产的罐头，应适当增加抽样数量。在仓库或商店贮存的成批罐头中有变形、膨胀、凹陷、罐壁裂缝、生锈和破损等可疑情况时，应根据情况决定抽样数量。</p>	
<p>清凉饮料</p>	<p>冰棍：每批不得少于8件 每件不得少于8支</p> <p>冰激凌：原装2杯的一件 散装200g</p> <p>汽水、果子汁等： 原装2瓶为一件 散装500g</p> <p>食用冰块：500g为一件 散装饮料500ml为一件 固体饮料：原装一袋</p>	<p>班产量20万支以下者一班为一批，以上者以工作台为一批。</p> <p>每批3件每件2瓶</p>

<p>调味品</p>	<p>酱油、醋等，原装 1 瓶 散装 500 ml 酱类：250 g 味精：100 g 1 袋</p>	
<p>冷食菜 豆制品</p>	<p>采取 200 g</p>	
<p>糕点 果脯 糖果等</p>	<p>糕点、果脯采取 200 g 糖果 100 g</p>	
<p>酒 类</p>	<p>采取 2 瓶为一件 散状 500 ml</p>	

中华人民共和国国家标准

菌落总数测定

G B

菌落总数是指食品检样经过处理，在一定条件下培养后，所得1 g或1 ml检样中所含细菌菌落的总数。

菌落总数主要作为判定食品被污染程度的标志，也可以应用这一方法观察细菌在食品中繁殖的动态，以便对被检样品进行卫生学评价时提供依据。

每种细菌都有它一定的生理特性，培养时，应用不同的营养条件及其他生理条件（如温度、培养时间、PH、需氧性质等）去满足其要求才能分别将各种细菌都培养出来。但在实际工作中，一般都只用一种常用的方法去作细菌菌落总数的测定，所得结果，只包括一群能在营养琼脂上发育的嗜中温性需氧菌的菌落总数。

1、设备和材料

温箱： $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$

冰箱： $0 \sim -4^{\circ}\text{C}$

恒温水浴： $46 \pm 1^{\circ}\text{C}$

天平

电炉：可调式

吸管：容量为1和1.0 ml，标有0.1 ml单位的刻度

广口瓶或三角烧瓶：容量为500 ml

玻璃珠：直径为5~6 mm

平皿：皿底直径为9 cm

试管：18×200 mm

酒精灯

~10~

均质器或乳钵

试管架

灭菌刀或剪

灭菌镊子

酒精棉球

登记簿

玻璃蜡笔

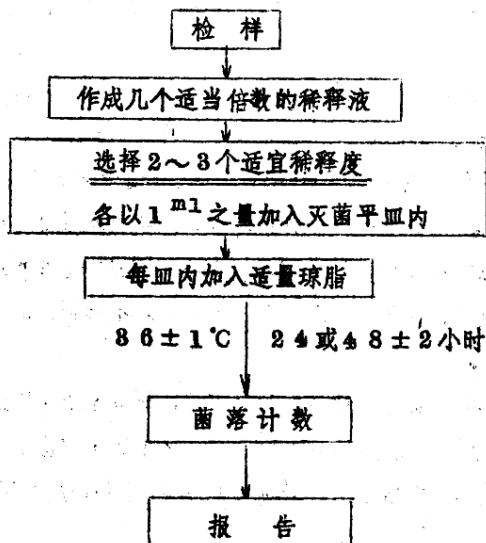
2、培养基和试剂

营养琼脂培养基 (■-7)

70%酒精

生理盐水或其他稀释液：定量分装于玻瓶和试管内灭菌

3、检验程序 菌落总数的检验程序



4、操作步骤

4.1 检样稀释及培养

4.1.1 以无菌操作，将检样 25 g (或 25 ml) 剪细放于含有 225 ml 灭菌生理盐水或其他稀释液的灭菌玻璃瓶内 (瓶内预置适当数量的玻璃珠) 或灭菌乳钵内，经充分振摇或研磨作成 1:10 的均匀稀释液。

固体检样在加入稀释液后，最好置灭菌均质器中以 8000 ~ 10000 rpm 的速度处理 1 分钟，做成 1:10 的均匀稀释液。

4.1.2 用 1 ml 灭菌吸管，吸取 1:10 稀释液 1 ml，沿管壁徐徐注入含有 9 ml 灭菌生理盐水或其他稀释液的试管内 (注意吸管尖端不要触及管内稀释液)，振摇试管混合均匀，作成 1:100 的稀释液。

4.1.3 另取 1 ml 灭菌吸管，按上项操作顺序，作 10 倍递增稀释液，如此每递增稀释一次，即换用 1 支 1 ml 灭菌吸管。

4.1.4 根据食品卫生标准要求或对标本污染情况的估计，选择 2~3 个适宜稀释度，分别在作 10 倍递增稀释的同时，即以吸取该稀释度的吸管移 1 ml 稀释液于灭菌平皿内，每个稀释度作两个平皿。

4.1.5 稀释液移入平皿后，应即时将凉至 46℃ 营养琼脂培养基 (可放置于 46 ± 1℃ 水浴保温) 注入平皿约 15 ml，并转动平皿使混合均匀。同时将营养琼脂培养基倾入不加样品的灭菌平皿内作一空白对照。

4.1.6 待琼脂凝固后，翻转平板，置 36 ± 1℃ 温箱内培养 24 ± 2 小时 (肉、乳和蛋品为 48 ± 2 小时) 取出，计算平板内菌落数目，乘以稀释倍数，即得每 g (或 ml) 样品所含菌落总数。

4.2 菌落计数方法

作平板菌落计数时，可用肉眼观察，必要时用放大镜检查，以防遗漏。在记下各平板的菌落数后，求出同稀释度的各平板平均菌落数。

4.3 菌落计数的报告

4.3.1 平板菌落数的选择

选取菌落数在30~300之间的平板作为菌落总数测定标准。一个稀释度使用两个平板应采用两个平板平均数，其中一个平板有载大片状菌落生长时，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2以代表全皿菌落数。

4.3.2 稀释度的选择

a、应选择平均菌落数在30~300之间的稀释度，乘以稀释倍数报告之（见表1例1）。

b、若有两个稀释度，其生长的菌落数均在30~300之间，则视二者之比如何来决定，若其比值小于2，应报告其平均数；若大于2则报告其中较小的数字（见表1例2及3）。

c、若所有稀释度的平均菌落数均大于300，则应按稀释度最高的平均菌落数乘以稀释倍数报告之（见表1例4）

d、若所有稀释度的平均菌落数均小于30，则应按稀释度最低的平均菌落数乘以稀释倍数报告之（见表1例5）。

e、若所有稀释度均无菌落生长，则以小于（<）1乘以最低稀释度报告之（见表1例6）。

f、若所有稀释度的平均菌落数均不在30~300之间，其中一部分大于300或小于30时，则以最接近30或300的平均菌落数乘以稀释倍数报告之（见表1例7）。

4.3.3 菌落数的报告

稀释度选择及菌落数报告方式

表 1

平均菌落数 例次	稀释倍数		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	两稀释 数之 比	菌落总数 (个/g或mL)	报告方式 (个/g或mL)
	10^{-1}	10^{-2}						
1	多不可计	164	20	20	—	16400	16400 或 1.6×10^4	
2	多不可计	295	46	271	1.6	57750	38000 或 3.8×10^4	
3	多不可计	271	60	多不可计	2.2	27100	27000 或 2.7×10^4	
4	多不可计	多不可计	513	多不可计	—	513000	51000 或 5.1×10^4	
5	27	11	5	5	—	270	270 或 2.7×10^4	
6	0	0	0	0	—	$< 1 \times 10$	< 10	
7	多不可计	305	12	305	—	30500	31000 或 3.1×10^4	

菌落数在100以内时，按其实有数报告；大于100时，采用二位有效数字，在二位有效数字后面的数值，以四舍五入方法计算，为了缩短数字后面的零数，也可用10的指数来表示（见表1“报告方式”栏）。

中华人民共和国国家标准

大肠菌群测定

GB

大肠菌群系指一群能发酵乳糖、产酸产气，需氧和兼性厌氧的革兰氏阴性无芽胞杆菌。该菌主要来源于人畜粪便，故以此作为粪便污染指标来评价食品的卫生质量，具有广泛的卫生学意义。

食品中大肠菌群数系以每100 ml (g) 检样内大肠菌群最可能数(MPN)表示。

1、设备和材料

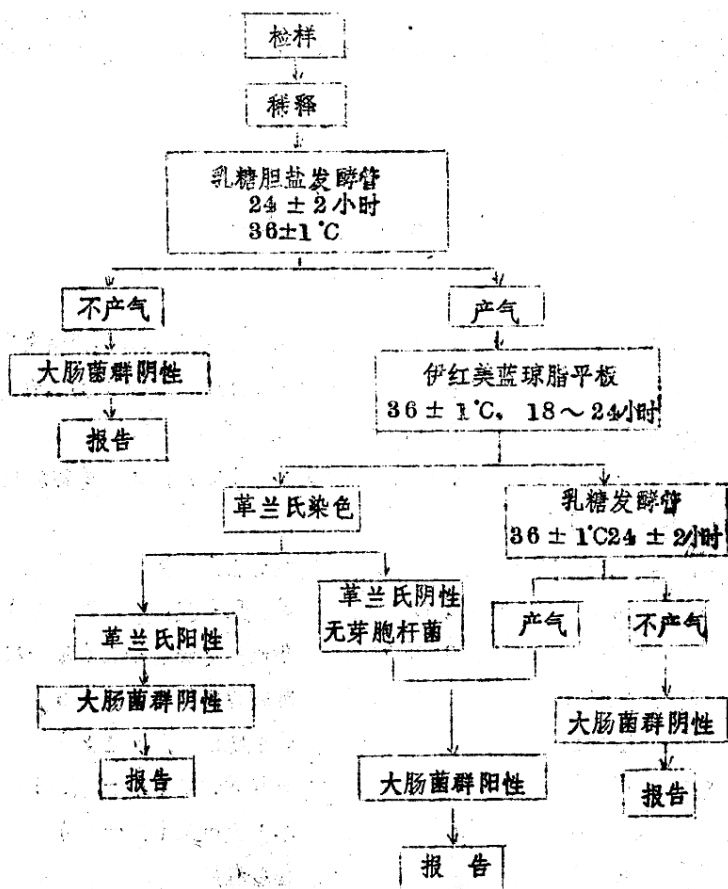
温箱	36 ± 1°C
水浴	44 ± 0.5°C
显微镜	
温度计	
平皿	
试管	
吸管	
载玻片	

2、培养基及试剂

乳糖胆盐发酵管(Ⅲ-9)
伊红美蓝琼脂平板(Ⅲ-23)
乳糖发酵管(Ⅲ-10)
蛋白胨水(Ⅰ-13)
柯凡克试剂(Ⅱ-13)
革兰氏染液(Ⅰ-2)

3、检验程序

大肠菌群检验程序



4. 操作步骤

4.1. 检样稀释