

食品中 3M™ 克罗诺杆菌属分子检测系统评价研究

谢冠东¹, 骆海朋¹, 任秀¹, 刘娜¹, 赵琳娜¹, 孟云², 黄炎²,
陆苏彪², 崔生辉^{1*}

(1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 3M 中国有限公司, 上海 200336)

摘要: **目的** 用不同来源的克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)、非目的菌、人工染菌食品样品, 考核评估 3M™ 分子检测系统对克罗诺杆菌属的检出限、灵敏度、特异性和准确度, 以及与国标法(GB 4789.40-2016)检验结果的一致性。**方法** 用 3M™ 分子检测系统(molecular detection system, MDS)对实验室保存的 50 株已确认克罗诺杆菌属、40 株非目的菌株进行检测, 确定该试剂盒的检出限、灵敏度和特异性; 对 240 份人工污染不同浓度目的菌样品, 用 3M™ MDS 和国标法同时检验, 分析方法的准确度和检验结果的一致性。**结果** 3M™ MDS 对 50 株不同来源的克罗诺杆菌属的检测灵敏度为 100%, 平均检出限为 1.79×10^3 CFU/mL; 对 40 株非目的菌检测结果均为阴性, 特异性为 100%。用 3M™ MDS 与国标方法对人工污染 10^1 、 10^0 、 10^{-1} CFU/100 g 克罗诺杆菌属 FC718 的 240 份不同来源乳粉、糊精、乳清和乳糖样品进行检测, 结果一致性均大于 95%, 方法准确率为 97.5%。**结论** 3M™ MDS 方法具有低检出限、高灵敏和特异性特点, 在不同食品样品基质中, 检验结果呈现良好的准确度, 与国标方法检验结果具有高度一致性, 是一项适合基层、企业推广的快速、可靠方法。

关键词: 环介导等温扩增; 克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌); 培养法

Evaluation of the 3M™ *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) molecular detection system in food samples

XIE Guan-Dong¹, LUO Hai-Peng¹, REN Xiu¹, LIU Na¹, ZHAO Lin-Na¹, MENG Yun²,
HUANG Yan², LU Su-Biao², CUI Sheng-Hui^{1*}

(1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;
2. 3M China Limited, Shanghai 200336, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the detection limit, sensitivity, specificity and accuracy of 3M™ Molecular Detection System for *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) and its consistency with GB method (GB 4789.40-2016) by testing *Cronobacteria* from different sources, non-target bacteria and different spiked food samples. **Methods** Through testing 50 strains of *Cronobacter* and 40 strains of non-target bacteria in the laboratory, the detection limit, sensitivity and specificity of 3M™ MDS were determined. Its accuracy and consistency with GB method were determined by testing 240 *Cronobacter* inoculated samples with different concentrations. **Results** The detection sensitivity of 3M™ MDS to 50 strains of *Cronobacter* from different sources was 100%, with an average detection

基金项目: 科技部“食品安全关键技术研发”重点专项项目(2017YFC1601400)

Fund: Support by the Special Program for Key Technology in Food Safety of the Ministry of Science and Technology of China (2017YFC1601400)

*通讯作者: 崔生辉, 研究员, 主要研究方向为生物与食品安全。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Professor, Laboratory of Microbiology, NIFDC, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

limit of 1.79×10^3 CFU/mL. The test results of 40 strains of non-target bacteria were all negative, and the specificity was 100%. The consistency results of 240 samples of milk powder, dextrin, whey and lactose from different sources of artificially contaminated 10^1 , 10^0 , 10^{-1} CFU/100 g *Cronobacter* FC718 were all more than 95% consistent and the method accuracy was 97.5%. **Conclusion** The 3MTM MDS method is rapid, reliable, sensitive and specific for *Cronobacter* detection. It showed good accuracy and high consistency with GB method in different food matrix and should be promoted in food industries.

KEY WORDS: loop-mediated isothermal amplification; *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*); culture method

1 引言

克罗诺杆菌属 (*Cronobacter*), 旧称阪崎肠杆菌 (*Enterobacter sakazakii*)^[1], 为革兰氏阴性菌, 属肠杆菌科, 兼性厌氧, 有鞭毛, 能运动, 常寄生于健康人和动物肠道内^[2-5]。克罗诺杆菌属为条件致病菌, 主要通过食品感染婴幼儿、老人等免疫力低下人群, 可引起新生儿脑膜炎、菌血症等严重疾病, 并可造成严重的神经系统后遗症, 发病患者死亡率高达 20%~50%^[6]。

研究表明, 克罗诺杆菌属细菌广泛分布于自然界中, 现已从肉制品、水果、蔬菜、婴幼儿配方食品、中草药、环境等多类样品中分离出该菌^[1,7,8]。病例报告分析显示, 婴幼儿配方乳粉是婴幼儿感染该菌的主要来源^[9], 我国国标 GB 10765—2010《食品安全国家标准婴儿配方食品》^[10]中规定了婴儿配方食品中克罗诺杆菌属的限量标准, GB 4789.40—2016《食品安全国家标准食品微生物学检验克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)检验》^[11](以下简称国标法)规定了食品中克罗诺杆菌属的规范检验方法, 该标准采用微生物增菌培养、划线分离和生化鉴定方法对食品中克罗诺杆菌属进行检验^[10,11]。

国标法检测灵敏度高, 特异性好, 能分离到目的菌落, 可为深入研究提供可靠、珍贵的菌种样本资源, 但该方法用于企业原料、环境监测和产品等检验时, 出现了步骤繁琐、耗时长、过于依赖实验室人员经验等问题。随着科学技术发展, 企业开发了许多解决这些问题的快速、便捷检测方法, 主要包括酶联免疫法、金标试纸法、分子生物学方法(基因芯片法、PCR、反转录酶-聚合酶链锁反应和环介导等温扩增技术)等^[12-16]。其中, 环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)是一种等温基因扩增技术^[17], 该方法在恒温条件下, 利用链置换型 DNA 聚合酶进行扩增反应, 可在恒温条件下实现 $10^9 \sim 10^{10}$ 倍的靶标扩增, 具有高特异性、高灵敏度、操作简单的特点, 是一项适合基层、企业的快速检测技术, 具有良好的可推广性^[2,15,16]。3MTM MDS 克罗诺杆菌属分子检测系统(以下简称 3MTM MDS)是基于 LAMP 技术的商业化检测体系, 通过目标分子扩增, 对食品中克罗诺杆菌属污染进行检测。

本研究的目的是使用实验室保存的不同来源克罗诺杆菌属及不同来源非目的菌种, 考核评估 3MTM MDS 方法的检出限、灵敏度和特异性; 用 3MTM MDS 与国标方法对人工污染克罗诺杆菌属乳粉、糊精、乳清和乳糖样品进行检测, 对 3MTM MDS 方法进行系统评价。本研究意义在于通过对 3MTM MDS 与国标方法的对比, 发现两种方法的优劣势, 以期为以后食品中克罗诺杆菌属污染的检测工作提供不同的选择和更加优化的解决方案。

2 材料与方法

2.1 主要仪器设备

PL2002 电子天平、MLS-3780 高压灭菌器、ESCOAC2-2EI 生物安全柜、THERMO SWB25 恒温水浴锅、MIR262 生化培养箱、EDDY JET 螺旋涂布仪、MDS100 3MTM MDS 分子检测系统、SmartSpecTM Plus 紫外分光光度计、BrukerAutoflexII 型质谱仪(德国布鲁克公司)。

2.2 培养基、试剂及菌株

2.2.1 培养基和试剂

生理盐水(国药集团容生制药有限公司); TSA 培养基干粉(美国 BD 公司); BPW(ISO)增菌液(3M 中国有限公司); mLST-Vm 增菌液(北京陆桥技术股份有限公司); DFI 平板(北京陆桥技术股份有限公司)。

2.2.2 方法验证用菌种

本方法验证共计使用不同来源非目的菌 40 株(表 1), 克罗诺杆菌属细菌 50 株(表 2)。使用前, 将菌种在 TSA 平板上传代两次, 用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)进行种属确认。

2.3 实验方法

2.3.1 3MTM MDS 方法操作流程:

(1)取出试剂盒提供的 LS 裂解管, 置于加热器上, 100 °C 加热 30 s。取样品待测液、BPW 增菌液和阴性对照各 20 μ L, 分别加入 LS 裂解管中, 100 °C 加热 15 min, 置于冷却架上冷却 5 min。

(2)取冷却后 LS 裂解管液体 20 μ L, 分别加入试剂管中。再从阴性对照管中取 20 μ L 液体, 加入一个 RC 试剂管中, 作为试剂对照。

表 1 方法验证用非目的菌信息
Table 1 Non-target bacteria information for method validation

序号	菌株编号	种属	序号	菌株编号	种属
1	FC13125	大肠埃希氏菌	21	FC14245	表皮葡萄球菌
2	FC11671	大肠埃希氏菌	22	FC11188	中间葡萄球菌
3	FC13155	志贺氏菌	23	FC11193	松鼠葡萄球菌
4	FC9640	志贺氏菌	24	FC3453	腐生葡萄球菌
5	FC13182	柠檬酸杆菌	25	FC3451	沃氏葡萄球菌
6	FC10614	柠檬酸杆菌	26	FC12961	肠球菌
7	FC13151	副溶血性弧菌	27	FC11676	盲肠肠球菌
8	FC12980	肺炎克雷伯菌	28	FC13187	粪肠球菌
9	FC13133	小肠结肠炎耶尔森氏菌	29	FC11682	粪肠球菌
10	FC13153	奇异变形菌	30	FC11667	屎肠球菌
11	FC10618	奇异变形菌	31	FC4344	弗氏柠檬酸菌
12	FC10631	阴沟肠杆菌	32	FC4349	蜡样芽胞杆菌
13	FC13127	铜绿假单胞菌	33	FC4472	普通变形杆菌
14	FC4132	铜绿假单胞菌	34	FC13130	绿脓假单胞菌
15	FC13175	单增李斯特氏菌	35	FC13137	枯草芽孢杆菌
16	FC11717	单增李斯特氏菌	36	FC4342	植物乳杆菌
17	FC13159	英诺克李斯特氏菌	37	FC4347	产气肠杆菌
18	FC11296	英诺克李斯特氏菌	38	FC4504	溶藻弧菌
19	FC4327	福氏志贺氏菌	39	FC13191	德氏乳杆菌
20	FC4332	奇异变形杆菌	40	FC13026	干酪乳杆菌

(3)将上述试剂管和试剂对照管置于 3M™ MDS 分子检测系统中, 选择 CR2 程序, 进行检测。

2.4 3M™ MDS 方法检出限和灵敏度评价

取目的菌 TSA 平板二代新鲜培养物, 用无菌生理盐水配制 1.0-1.2 McFarland 菌悬液, 并用生理盐水对菌悬液进行 10 倍梯度稀释, 选取浓度约为 10^4 、 10^3 、 10^2 CFU/mL 的稀释液作为待测液, 使用 3M™ MDS 方法对上述稀释液进行检测, 同时对上述稀释液用 TSA 平板进行菌落计数, 计算 3M™ MDS 方法检出限。按如下公式, 计算 3M™ MDS 方法的灵敏度:

灵敏度=(检测结果阳性菌株数/检测目的菌株总数)×100%。

2.5 3M™ MDS 方法特异性评价

取非目的菌 TSA 平板二代新鲜培养物, 用无菌生理盐水配制 1.0-1.2 McFarland 菌悬液作为待测样品, 使用 3M™ MDS 方法进行检测。根据检测结果, 按如下公式, 计算 3M™ MDS 方法的特异性:

特异性=(检测结果为阴性菌株数/检测非目的菌株总数)×100%。

2.6 方法一致性和准确度评价

按 2.4 方法, 配制克罗诺杆菌属菌种 FC718 10^1 、 10^0 、 10^{-1} CFU/mL 浓度菌悬液, 分别取上述浓度菌悬液 1 mL 添加至 100 g 不同企业来源的乳粉、糊精、乳清和乳糖样品中, 制备不同人工污染浓度的待测样品(10^1 、 10^0 、 10^{-1} CFU/100 g), 每个浓度水平制备 20 个样品。将制备的人工污染样品和未污染的对照样品分别使用 3M™ MDS 和国标方法进行检测, 按如下公式计算方法的一致性和准确度, 通过卡方检验比较 3M™ MDS 方法检验结果与国标方法的差异。

方法一致性= $[1 - (|3M™ MDS 和国标法均确证为阳性的数量 - 国标法确证为阳性的数量| / 检测样品总数)] \times 100\%$ 。

方法准确度= $3M™ MDS 阳性结果数 / 3M™ MDS 或国标法阳性结果数 \times 100\%$ 。

3 结果与分析

3.1 3MTM MDS 方法检出限和灵敏度

3MTM MDS 方法对 21 株克罗诺杆菌属生理盐水菌悬液的检出限为 10^2 CFU/mL, 29 株菌的检出限为 10^3 CFU/mL, 对 50 株菌的平均检出限为 1.79×10^3 CFU/mL(表 2)。3MTM MDS 方法对 50 株克罗诺杆菌属菌株检测的灵敏度为 $50/50 \times 100\% = 100\%$ 。

3.2 3MTM MDS 方法特异性

用 3MTM MDS 方法对 40 株非目的菌种的生理盐水悬液进行检测, 所有菌株的检测结果均为阴性。3MTM MDS 方法对 40 株非目的菌检测特异性结果为: $40/40 \times 100\% = 100\%$ 。

3.3 方法一致性和准确度

对人工污染不同浓度克罗诺杆菌属 FC718 的 240 份乳粉、糊精、乳清和乳糖样品和 80 份对照样品使用 3MTM MDS 和国标方法进行检验, 见表 3。3MTM MDS 方法检测阳性样品为 116 份, 国标法检测阳性样品为 119 份, 两方法检测均为阳性的样品为 116 份, 3 份染菌浓度为 10^{-1} CFU/100 g 的乳糖样品仅国标法检测为阳性。有 5 份乳糖样品, 两方法检测结果在各染菌浓度均为阴性。基于上述数据计算, 两方法对乳粉、糊精、乳清和乳糖样品检验结果一致性分别为: 100%、100%、96.25%、100%, 总体一致性为 99.06%; 方法准确度结果分别为: 100%、100%、92.31%、100%, 总体准确度为 97.48%。两方法检验结果间未见显著性差异($P > 0.05$)。

表 2 3MTM MDS 方法对于 50 株克罗诺杆菌属菌株检出限
Table 2 Detection limit of 50 *Cronobacter* strains by 3MTM MDS molecular detection system

序号	菌株编号	来源	检出限/(CFU/mL)	序号	菌株编号	来源	检出限/(CFU/mL)
1	FC718	福建谷类辅食, 2013	3.32×10^3	26	FC4163	黑龙江谷类辅食, 2013	2.94×10^2
2	FC719	福建谷类辅食, 2013	2.29×10^3	27	FC4164	江西谷类辅食, 2013	1.85×10^2
3	FC720	福建谷类辅食, 2013	2.94×10^2	28	FC4165	江西谷类辅食, 2013	2.32×10^3
4	FC721	福建谷类辅食, 2013	3.07×10^3	29	FC4166	江西谷类辅食, 2013	1.82×10^2
5	FC722	福建谷类辅食, 2013	3.35×10^3	30	FC4167	江西谷类辅食, 2013	4.52×10^3
6	FC723	福建谷类辅食, 2013	2.85×10^3	31	FC4171	江西谷类辅食, 2013	2.94×10^2
7	FC724	福建谷类辅食, 2013	2.70×10^3	32	FC4172	江西谷类辅食, 2013	3.39×10^3
8	FC725	福建谷类辅食, 2013	4.40×10^3	33	FC4173	江西谷类辅食, 2013	3.18×10^3
9	FC2222	广东谷类辅食, 2013	3.80×10^2	34	FC4178	江西幼儿配方食品, 2013	2.26×10^3
10	FC2223	广东谷类辅食, 2013	3.45×10^2	35	FC4179	江西幼儿配方食品, 2013	2.17×10^3
11	FC2942	广东谷类辅食, 2013	1.27×10^3	36	FC4180	江西谷类辅食, 2013	3.05×10^2
12	FC4139	广东谷类辅食, 2013	2.27×10^3	37	FC4185	江西谷类辅食, 2013	1.59×10^3
13	FC4140	广东谷类辅食, 2013	1.98×10^3	38	FC4186	江西谷类辅食, 2013	3.02×10^2
14	FC4141	广东谷类辅食, 2013	4.16×10^3	39	FC4194	江西谷类辅食, 2013	2.60×10^3
15	FC4147	广东谷类辅食, 2013	2.97×10^3	40	FC4211	江西谷类辅食, 2013	1.92×10^3
16	FC4148	广东谷类辅食, 2013	1.71×10^2	41	FC11366	江西谷类辅食, 2013	3.43×10^3
17	FC4149	广东谷类辅食, 2013	4.23×10^2	42	FC11367	江西谷类辅食, 2013	3.19×10^2
18	FC4155	贵州谷类辅食, 2013	3.11×10^2	43	FC11368	江西婴幼儿食品, 2013	3.92×10^2
19	FC4156	贵州谷类辅食, 2013	4.13×10^3	44	FC11369	云南谷类辅食, 2013	1.98×10^3
20	FC4157	贵州幼儿配方食品, 2013	3.17×10^2	45	FC11370	云南谷类辅食, 2013	4.20×10^3
21	FC4158	贵州谷类辅食, 2013	3.03×10^2	46	FC11371	云南谷类辅食, 2013	2.34×10^2
22	FC4159	湖北谷类辅食, 2013	2.88×10^2	47	FC11537	云南谷类辅食, 2013	2.42×10^2
23	FC4160	湖南谷类辅食, 2013	2.81×10^3	48	FC13095	黑龙江谷类辅食, 2013	2.33×10^3
24	FC4161	陕西谷类辅食, 2013	2.98×10^3	49	FC14148	黑龙江谷类辅食, 2013	2.22×10^2
25	FC4162	云南谷类辅食, 2013	3.91×10^2	50	FC29161	黑龙江谷类辅食, 2013	2.87×10^3

表 3 3M™ MDS 和国标方法对人工染菌样品的检测结果
Table 3 Test results of spiked samples by 3M™ MDS and national standard method

种类	染菌浓度/(CFU/100 g)	阳性结果 (3M™ MDS/国标法)
乳粉	阴性对照(n=20)	0/0
	10 ¹ (n=20)	20/20
	10 ⁰ (n=20)	8/8
	10 ⁻¹ (n=20)	0/0
糊精	阴性对照(n=20)	0/0
	10 ¹ (n=20)	20/20
	10 ⁰ (n=20)	10/10
	10 ⁻¹ (n=20)	0/0
乳清	阴性对照(n=20)	0/0
	10 ¹ (n=20)	20/20
	10 ⁰ (n=20)	16/16
	10 ⁻¹ (n=20)	0/3
乳糖	阴性对照(n=20)	0/0
	10 ¹ (n=20)	15/15
	10 ⁰ (n=20)	7/7
	10 ⁻¹ (n=20)	0/0

4 讨论与结论

3M™ MDS 方法是基于 LAMP 原理的检测方法, 该方法通常对靶标通常具有较低的检出限^[17]。本研究数据显示, 3M™ MDS 方法对 50 株克罗诺杆菌属生理盐水菌悬液的检出限为 10²~10³CFU/mL, 当克罗诺杆菌属细菌浓度达到 10³CFU/mL 以上时, 3M™ MDS 方法的检测结果呈现了良好的重复性和灵敏度, 对高浓度的非克罗诺杆菌属细菌也呈现了良好的特异性。由于该方法检出限很低, 这对实验室布局、设备和器具规范使用提出了严格要求, 检验实验室务必执行分子生物学检验分区要求^[18], 以避免假阳性结果出现。鉴于婴幼儿培养食品中菌落总数通常低于 10³CFU/g^[10], 当这类食品中出现低浓度克罗诺杆菌属细菌污染(如 1 CFU/100 g)时, 使用缓冲蛋白胨水前增菌后, 克罗诺杆菌属细菌理论上可达到 10³CFU/mL 以上^[19], 故此 3M™ MDS 方法可直接用于婴幼儿配方食品缓冲蛋白胨水前增菌后的检测, 从而大大缩短检测时间。

本次方法比对选择了较低的染菌浓度 10¹、10⁰、10⁻¹CFU/100 g, 所使用的 80 份乳粉、糊精、乳清和乳糖均采集自不同企业, 具有充分的代表性。在此条件下, 3M™ MDS 与国标方法相比, 对不同样品中人工污染的克罗诺

杆菌属细菌的检测呈现良好的一致性均和准确度。与国标法检测不一致的 3 份染菌浓度为 10⁻¹CFU/100 g 乳糖样品是由于染菌浓度过低而出现的随机性结果。两方法在 10⁰CFU/样品、10¹CFU/样品染菌水平的检验结果高度一致。有 5 份乳糖样品, 两方法检测结果在各染菌浓度均为阴性, 可能是样品中存在抑菌物质引起。这些数据显示, 3M™ MDS 方法的检验结果与国标方法高度一致, 可满足实验室对乳粉、常见原料快速检测需求, 从而提高检测效率。

本研究结果显示, 3M™ MDS 方法对克罗诺杆菌属检验具有良好的灵敏度和特异性, 在乳粉、糊精、乳清和乳糖样品中, 与国标法相比, 该方法呈现了良好的一致性和准确度。鉴于该方法具有操作简单、对经验依赖少的特点, 3M™ MDS 方法是一项适合基层、企业的快速检测方法, 具有良好的可推广性。

参考文献

- [1] 徐湾, 姜华, 张逸飞, 等. 我国克罗诺杆菌污染现状与预防控制措施研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10(9): 848–851.
Xu W, Jiang H, Zhang YF, et al. Advances in research on *Cronobacter* spp.: Current contamination status and preventive measures in China [J]. J Parasit Biol, 2015, 10(9): 848–851.
- [2] 鲁曦, 师宝忠, 王彬, 等. LAMP 法检测乳粉中的阪崎肠杆菌[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 540–543.
Lu X, Shi BZ, Wang B, et al. Rapid detection of *Enterobactersakazakii* in infant formula by loop-mediated isothermal amplification [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, 26(5): 540–543.
- [3] 李艳娟, 李朝旭, 房新平, 等. 婴幼儿乳粉中阪崎肠杆菌污染防控及检验技术的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2015, 43(5): 38–42.
Li YJ, Li CX, Fang XP, et al. Review on pollution controlling of *Enterobacter sakazakii* in infant milk powders and its identification technology [J]. Chin Dairy Ind, 2015, 43(5): 38–42.
- [4] Iversen C, Mullane N, Mccardell B, et al. *Cronobacter* gen. nov. a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobactersakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov. comb. nov. *Cronobacter malonaticus* sp. nov. *Cronobacter turicensis* sp. nov. *Cronobacter muytjensii* sp. nov. *Cronobacter dublinensis* sp. nov. *Cronobacter genomospecies* 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2008, 58(Pt 6): 1442–1447.
- [5] Townsend SM, Hurrell E, Gonzalez-Gomez I, et al. *Enterobactersakazakii* invades brain capillary endothelial cells, persists in human macrophages influencing cytokine secretion and induces severe brain pathology in the neonatal rat [J]. Microbiology, 2007, 153(10): 3538–3547.
- [6] Joseph S, Cetinkaya E, Drahovska H, et al. *Cronobacter condimenti* sp. nov. isolated from spiced meat, and *Cronobacter universalis* sp. nov. a species designation for *Cronobacter* sp. genomospecies 1, recovered from a leg infection, water and food ingredients [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2012, 62(Pt 6): 1277.
- [7] Singh N, Goel G, Raghav M. Prevalence and characterization of *Cronobacter* spp. from various foods, medicinal plants, and environmental

- samples [J]. *Curr Microbiol*, 2015, 71(1): 31–38.
- [8] 黄忠梅, 王翀, 田延河, 等. 新疆部分进出口食品中阪崎肠杆菌的污染调查[J]. *中国食品卫生杂志*, 2007, 19(6): 543–544.
Huang ZM, Wang C, Tian YH, *et al.* Investigation on import and export food polluted by *Enterobacter sakazakii* in Xinjiang [J]. *Chin J Food Hyg*, 2007, 19(6): 543–544.
- [9] Healy B, Cooney S, O'Brien S, *et al.* *Cronobacter (Enterobactersakazakii)*: An opportunistic food borne pathogen [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2010, 7(4): 339–350.
- [10] GB 10765—2010 食品安全国家标准 婴儿配方食品[S].
GB 10765—2010 National food safety standard-Infant formula [S].
- [11] GB 4789. 40—2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)检验[S].
GB 4789. 40—2016 Food safety national standard-Microbiological examination of foods: *Cloacobacilli (Enterobacter sakazakii)* [S].
- [12] 吴清平, 叶应旺, 郭伟鹏, 等. 阪崎肠杆菌的生物学特性及其检测技术[J]. *微生物学通报*, 2006, (6): 102-106.
Wu QP, Ye YW, Guo WP, *et al.* The Biologic characteristic of *Enterobactersakazakii* and its detection techniques [J]. *Microbiol China*, 2006, (6): 102-106.
- [13] Joseph S, Sonbol H, Hariri S, *et al.* Diversity of the *Cronobacter* genus as revealed by multilocus sequence typing [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(9): 3031–3039.
- [14] 陈万义, 任婧, 刘振民, 等. 婴幼儿配方粉中克罗诺杆菌属菌株检测方法研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2015, (2): 23–28.
Chen WY, Ren J, Liu ZM, *et al.* A review of detection methods for *Cronobacter* spp. in powder infant formula [J]. *J Dairy Sci Technol*, 2015, (2): 23–28.
- [15] 徐晓可, 吴清平, 张淑红, 等. 阪崎肠杆菌 LAMP、PCR 与传统检测方法的比较[J]. *现代预防医学*, 2013, 40(9): 1715–1717.
Xu XK, Wu QP, Zhang SH, *et al.* Comparison of LAMP, PCR and traditional method for detection on *Enterobacter sakazakii* [J]. *Mod Prev Med*, 2013, 40(9): 1715–1717.
- [16] 何晓华, 顿玉慧, 卢力, 等. 环介导等温扩增技术在肠杆菌科致病菌检测中的研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(19): 312–317.
He XH, Dun YH, Lu L, *et al.* Recent progress in application of loop-mediated isothermal amplification method for detection of enterobacteriaceae pathogens [J]. *Food Sci*, 2014, 35(19): 312–317.
- [17] Tsugunori M, Hiroto O, Harumi M, *et al.* Loop-mediated isothermal amplication of DNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(12): 63.
- [18] GB/T 27405—2008 实验室质量控制规范 食品微生物检测[S].
GB/T 27405—2008 Criterion on quality control of laboratories-Microbiological testing of food [S].
- [19] 高飞, 骆海朋, 任秀, 等. 食品检测即用型液体培养基产品的评价研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2016, 7(7): 2770–2774.
Gao F, Luo HP, Ren X, *et al.* Research and evaluation on the ready-to-use culture medium in food detection [J]. *J Food Saf Qual*, 2016, 7(7): 2770–2774.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



谢冠东, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: 478835590@qq.com



崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com