

食品检测用大肠埃希氏菌标准物质的研制

瞿洪仁[#], 骆海朋[#], 李景云, 崔生辉^{*}

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 目的 研制食品检测用大肠埃希氏菌标准物质。**方法** 采用冷冻干燥技术制备含量为 $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ CFU/样品的标准物质, 参照 CNAS—GL29:2010《标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法》, 随机抽取 20 件样品进行均匀性检验, 采用单因素方差分析对结果进行统计分析; 将样品分别于 -20、4、25 °C 条件下保藏, 对其储藏稳定性和运输稳定性进行评价; 并组织 3 家实验室进行协同标定; 并使用 20 件食品作为基质, 按照 GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》检验大肠埃希氏菌标准物质的适用性。**结果** 均匀性检测单因素方差分析结果为 $F=1.933$ ($P=0.076$), 符合标准物质的要求。标准物质在 -20 °C 保藏 28 d, 复苏率为 96.2%; 在 4 °C 保藏 14 d, 复苏率为 77.0%; 25 °C 保藏 7 d, 样品中菌含量仍保持在 10^4 CFU/样品的水平。综上所述, 标准物质的短期储藏稳定性、长期储藏稳定性和运输稳定性均符合要求。经 3 家实验室协同标定, 样品中活菌含量均在 10^4 CFU/样品水平, 生化鉴定结果为大肠埃希氏菌; 标准物质在 20 种食品基质的回收率为 54.9%~96.6%。**结论** 本研究所制备的大肠埃希氏菌标准物质的均匀性、储藏稳定性和运输稳定性均符合要求, 适用性良好, 可用于食品检测实验室的质量控制和食品中大肠埃希氏菌检测结果的评价。

关键词: 大肠埃希氏菌; 标准物质; 均匀性; 稳定性

Preparation of *Escherichia coli* reference materials for food detection

QU Hong-Ren[#], LUO Hai-Peng[#], LI Jing-Yun, CUI Sheng-Hui^{*}

(National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: Objective To prepare *Escherichia coli* (*E. coli*) reference materials for food detection. **Methods** The reference materials with a content of $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ CFU/sample were prepared by freeze-drying method, 20 samples were selected randomly for homogeneity determination and the results were analyzed by one-way analysis of variance according to CNAS—GL29:2010 *Reference materials-General and statistical principles for certification*; The samples were stored at -20, 4, and 25 °C to evaluate the storage stability and transport stability, respectively. Then 3 laboratories were organized for collaborative calibration; Additionally, 20 kinds of food samples were selected as the matrices to test the applicability of the reference materials according to the GB 4789.3—2016 *National food safety standard-Food microbiological testing-E. coli population counts*. **Results** The one-way analysis of variance result of homogeneity determination was $F=1.933$ ($P=0.076$), which met the homogeneity requirement for reference

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2018YFC1603900)

[#]瞿洪仁、骆海朋为共同第一作者。

[#]QU Hong-Ren, LUO Hai-Peng are co-first authors.

^{*}通信作者: 崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物。E-mail: cuishenghui@aliyun.com

^{*}Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Ph.D, Professor, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

materials. The recoveries of reference materials reached 96.2% after stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 28 d, and 77.0% after stored at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 14 d; And the content of *E. coli* remained the level of 10^4 CFU/sample after stored at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 7 d. In conclusion, the short-term storage stability, long-term storage stability and transportation stability of the reference materials all met the requirements. The live bacteria content in the samples was all at the level of 10^4 CFU/sample, and the biochemical identification results were confirmed as *E. coli* by the collaborative calibration with 3 laboratories; Additionally, the recoveries of reference materials in 20 kinds of food substrates were 54.9%–96.6%. **Conclusion** The homogeneity, storage stability and transportation stability of *E. coli* reference materials prepared in this study can meet the requirements for reference materials and has good applicability, which can be used for quality control of food testing laboratory and evaluation of detection results of *E. coli* in food.

KEY WORDS: *Escherichia coli*; reference materials; homogeneity; stability

0 引言

随着世界工业化水平的提高,食品流通更加便捷,人类对食品安全的关注度也迅速提升。在危害食品安全的多个风险因子中,微生物因其种类多、繁殖快、传播迅速而备受关注^[1-3]。我国卫计委曾通报,在 2015 年全国食物中毒事件中,由于微生物感染引起的食物中毒人数最多,占全年食物中毒总人数的 53.7%^[4]。在微生物感染引起的食物中毒事件中,由肠道致病菌引起的食物中毒事件时有发生,因此监测食品是否被肠道致病菌污染一直是食品监管部门的核心工作内容之一。但是由于肠道致病菌种类繁多,直接检测肠道致病菌的时间成本和人力成本较高,而大肠菌群是食品是否受肠道致病菌污染的重要指示菌^[5-6],在 GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》中被列为卫生指标。大肠菌群是指在一定的培养条件下能发酵乳糖、产酸产气的需氧或兼性厌氧革兰氏阴性无芽孢杆菌,包括埃希氏菌属、柠檬酸菌属、肠杆菌属及部分克雷伯菌属和沙门氏菌属的第 III 亚属^[7-8]。在国家食品安全监督抽检实施细则(2018 年版)中,33 个食品大类中有 29 类抽检食品都需检测是否有大肠菌群污染^[9]。

鉴于我国丰富的饮食文化,食品种类繁多、成分复杂,多样化的食品基质和背景微生物对食源性微生物的检测结果干扰较大,所以在检测中需要稳定性和均一性良好的微生物标准物质对整个检验过程进行质量控制,即从样品处理开始就把标准物质和待测样品进行同步检测,从而评判检测数据是否有效^[10]。食品检测用标准物质还可应用于实验人员的考核,实验室间比对和实验室内部质量控制,从而提高我国食品安全质量检测数据的科学性和有效性。我国在微生物标准物质的研制方面起步较晚,能应用于检验检测机构的相关标准物质非常匮乏^[11]。目前文献报道的食品检测用标准物质分为含有基质的标准物质^[12-13]和不含基质的标准物质^[14-15],其中仅有的 3 个获得证书的大肠埃希氏菌标准物质 GBW(E)091094、

GBW(E)091095 和 GBW(E)091096 均含有乳粉基质^[16]。含有基质的标准物质的适应性受到限制,因此急需研制不含基质的大肠菌群标准物质,从而规范我国检验机构对食品中大肠菌群的检验。

本研究选择大肠菌群中最具代表性的大肠埃希氏菌进行不含基质的标准物质的研制,对样品的稳定性、均一性、食品样品的适用性进行系统分析,并对所生产的样品进行实验室间协作标定,拟制备一批稳定的不含基质的大肠埃希氏菌标准物质,以期提供给食品中大肠菌群检验实验室,用于日常检测的质量控制。

1 材料与方法

1.1 菌株

大肠埃希氏菌 CMCC44102,来源于中国医学细菌保藏管理中心(China Medical Bacterial Species Conservation and Management Center, CMCC)。

1.2 仪器与试剂

FreeZone 12L 冷冻干燥机(德国 LABCONCO 公司); PL2002 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); 1389 生物安全柜、205050GC 恒温培养箱、FORMA 恒温摇床(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); HYC-940 螺旋涂布仪(西班牙 IUL 公司); VITEK 2 Compact 自动微生物分析系统(法国梅里埃公司); Autoflex 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(德国 Bruker 公司)。

煌绿乳糖胆盐(brilliant green lactose bile, BGLB)肉汤、结晶紫中性红胆盐琼脂(violet red bile agar, VRBA)(北京陆桥公司); 胰蛋白胨大豆琼脂(tryptic soy agar, TSA)(美国 BD 公司); 0.85%生理盐水(国药集团容生制药公司); 冻干保护剂(中国食品药品检定研究院)。

1.3 大肠埃希氏菌的鉴定

将大肠埃希氏菌(CMCC44102)划线接种于 TSA 平板, $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 12~18 h 后,挑取一代平板上单菌落划线于 TSA 平板, $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养过夜。革兰氏染色后,使用基质辅助

激光解吸电离飞行时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)对菌株进行鉴定, 并利用全自动微生物鉴定系统进行生化鉴定。

1.4 大肠埃希氏菌标准物质的生产制备

将大肠埃希氏菌(CMCC44102)一代新鲜培养物, 划线接种于 TSA 平板, 36 °C 培养 24 h。用无菌棉签从平板上刮取菌苔重悬于由海藻糖和胎牛血清组成的冻干保护剂中, 以 20 μL/球进行冷冻干燥, 冻干后菌球的活菌浓度约为 5×10^4 CFU/球。将冻干后的菌球置于西林瓶中, 真空压盖密封, -20 °C 保存。

1.5 大肠埃希氏菌标准物质的均匀性验证实验

随机抽取冻干标准物质 20 瓶, 参考 GB 4789.3—2016 中的大肠菌群平板计数法进行大肠菌群计数。取 225 mL 的 0.85% 生理盐水加入到无菌均质袋中, 并将标准物质冻干菌球加入到生理盐水中, 充分溶解。取 0.5 mL 上一步样品稀释液与 VRBA 琼脂混匀倾注平皿计数, 每件样品做 2 个平行。根据 CNAS—GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》对结果进行单因子方差分析, 评价样品的均匀性。

1.6 标准物质稳定性的验证实验

1.6.1 运输稳定性检验

将大肠埃希氏菌标准物质存放于 25 °C 温箱, 模拟实验周期为 1 周, 分别于 1、3、5、7 d 对标准物质的菌含量进行测定, 测定方法参照 GB 4789.3—2016(第二法)。

1.6.2 储藏稳定性检验

将制备的大肠埃希氏菌标准物质分别于 -20、4 °C 保存。分别于 4 °C 保存的 1、3、5、7 和 14 d 以及 -20 °C 保存的 7、14 和 28 d, 定期对大肠埃希氏菌的标准物质进行检验, 对不同温度下的储藏稳定性进行评价。在本研究中, 5×10^4 CFU 浓度用于阳性对照样品的检出实验, 当天的计数结果与 0 d 的计数结果的比值即为复苏率, 观察复苏率的变化, 分别验证长期储藏稳定性和短期储藏稳定性。

1.7 标准物质的协作标定

使用大肠埃希氏菌标准物质的制备技术, 生产样品, 按照中国食品药品检定研究院食品和化妆品用标准物质(样品)协作标定操作规程, 发给 3 家实验室, 包括 A: 河北省食品检验研究院、B: 北京三药生物技术有限公司、C: 北京市食品安全监控和风险评估中心。每家实验室收到 10 件样品, 参照协作标定作业指导书对样品中大肠埃希氏菌进行菌落计数及生化鉴定。

1.8 标准物质使用效果的验证

选择 20 件即食食品样品, 包含婴幼儿配方食品、蜂

产品、水果制品、特殊膳食食品、特殊医学用途配方食品和冷冻食品 6 大类, 参照 GB 4789.3—2016(第二法)对大肠埃希氏菌标准物质的回收效果进行验证, 检测步骤为: 每件食品基质称取 2 份, 25 g/份, 将 2 份食品基质分别加入到 225 mL 生理盐水中, 1 份为本底对照, 另 1 份加入标准物质菌球 1 个, 均质器拍打 1 min, 再各取 1 mL 与 15 mL 的 VRBA 混匀倾注平板, 判定是否能检出大肠埃希氏菌。

2 结果与分析

2.1 菌株的鉴定

挑取大肠埃希氏菌二代平板上菌落进行质谱鉴定及生化鉴定, 质谱鉴定的分值为 2.146。生化鉴定的结果为大肠埃希氏菌(*E. coli*), 可信度为 99.5%。综上, 目标菌株确定为大肠埃希氏菌(*E. coli*)。

2.2 标准物质的均匀性检验

随机抽取 20 瓶标准物质, 参照 GB 4789.3—2016(第二法)在 VRBA 平板上进行菌落计数, 每个标准物质进行 2 个平行, 计数结果如表 1 所示。

表 1 标准物质的均匀性计数结果
Table 1 Homogeneity counting results of the reference materials

样品编号	菌含量 /(CFU/样品)	对数值	菌含量 /(CFU/样品)	对数值
1	3.6×10^4	4.559	4.9×10^4	4.686
2	4.6×10^4	4.660	3.5×10^4	4.548
3	6.5×10^4	4.810	5.4×10^4	4.731
4	5.2×10^4	4.713	4.2×10^4	4.625
5	4.0×10^4	4.602	3.3×10^4	4.519
6	5.5×10^4	4.741	6.6×10^4	4.821
7	3.8×10^4	4.581	5.2×10^4	4.716
8	4.5×10^4	4.657	3.6×10^4	4.555
9	4.1×10^4	4.616	3.4×10^4	4.528
10	4.4×10^4	4.644	3.4×10^4	4.532
11	4.5×10^4	4.654	5.4×10^4	4.729
12	3.0×10^4	4.481	4.3×10^4	4.632
13	4.7×10^4	4.674	5.4×10^4	4.729
14	3.8×10^4	4.577	4.9×10^4	4.686
15	4.6×10^4	4.663	5.4×10^4	4.729
16	4.8×10^4	4.680	4.1×10^4	4.612
17	5.5×10^4	4.741	4.9×10^4	4.689
18	5.3×10^4	4.724	4.4×10^4	4.641
19	3.3×10^4	4.519	4.3×10^4	4.629
20	4.7×10^4	4.669	5.4×10^4	4.734
F 值			1.933	
结果			均匀	

SPSS 软件分析结果 $F=1.933$, 查表 $FINV(0.05,19,20)$, $F_{\text{临界值}}=2.137$, $F < FINV(0.05,19,20)$ 临界值, 表明在显著水平为 0.05 时, 本研究制备的大肠埃希氏菌标准物质的均匀性无显著性差异 ($P=0.076$), 满足 CNAS—GL003:2018 中对均匀性的要求。

2.3 标准物质的稳定性检测结果

2.3.1 运输稳定性结果

将所制备的大肠埃希氏菌标准物质存放于 25 °C 温箱, 分别于 1、3、5、7 d 对标准物质的菌含量进行测定, 测定结果如表 2 所示。

结果表明, 在 25 °C 条件下, 7 d 内样品中菌含量仍能保持在 10^4 CFU/球的水平, 所以大肠埃希氏菌标准物质在非高温季节, 可以常温运输; 根据实验室之前的经验, 在 4 cm 泡沫箱内放置 2 kg 干冰和 1.5 kg 冰袋于 37 °C 放置 4 d, 泡沫箱内温度处于 4 °C 以下, 因此高温季节可以采用泡沫箱加冰袋的方式进行低温运输。

2.3.2 储藏稳定性结果

将制备的大肠埃希氏菌标准物质分别存放于 -20、4 °C, 定期对标准物质的活菌含量进行检验, 通过与 0 d 时的数据比较计算复苏率, 结果如表 3 所示。

由表 3 的数据可以看出, -20 °C 保藏 28 d 复苏率为 96.2%, 表明 -20 °C 可以作为标准物质的长期储藏条件; 4 °C 条件下, 保藏 7 d 复苏率为 107.2%, 保藏 14 d 复苏率为 77.0%, 说明 4 °C 可以作为短期储存条件。

2.4 标准物质的实验室协作标定结果

3 家协作标定单位根据协作标定作业指导书, 对 10 件样品进行计数, 并进行生化鉴定, 结果见表 4。本次制备的大肠埃希氏菌标准物质, 设计目标菌的含量为 5×10^4 CFU/样品, 使用的菌株为 CMCC44102 大肠埃希氏菌。通过协

作标定实验室的标定, 3 家实验室测定的结果中活菌含量均在 10^4 CFU/样品水平, 生化鉴定结果均同时符合大肠埃希氏菌的特征, 表明本研究制备的大肠埃希氏菌标准物质经多家实验室协作定值与预期结果一致。

2.5 标准物质在样品中检验的使用效果验证

选择 20 件即食食品样品, 对大肠埃希氏菌标准物质的使用效果进行验证, 每件样品设置一份样品本底和一份实验组, 实验组加入标准物质溶液, 按照 GB 4789.3—2016(第二法)进行大肠埃希氏菌检验, 检验结果如表 5。

表 5 的结果表明, 在婴幼儿配方食品、特殊医学用途配方食品、特殊膳食食品、蜂产品、水果制品和冷冻饮品 6 类共 20 件常见食品样品中, 加了标准物质的实验组均能够检出大肠埃希氏菌, 说明本研究制备的标准物质在食品样品中适应性良好。与均匀性检验平均值 (4.6×10^4 CFU/样品) 相比, 大肠埃希氏菌标准物质在食品基质中的平均回收率能达到 76.1%。上述数据证明该标准物质可以满足食品中大肠埃希氏菌检验的质控要求。

表 2 标准物质的运输稳定性结果 ($n=3$, 平均值±标准偏差)
Table 2 Results of transport stability of reference materials ($n=3$, mean±sd)

时间/d	菌含量/(CFU/样品)	对数值
0	$(4.6 \pm 0.5) \times 10^4$	4.651±0.084
1	$(4.3 \pm 0.9) \times 10^4$	4.629±0.105
3	$(3.7 \pm 0.7) \times 10^4$	4.570±0.091
5	$(3.4 \pm 0.7) \times 10^4$	4.529±0.095
7	$(3.4 \pm 0.1) \times 10^4$	4.529±0.017

表 3 标准物质的储藏稳定性结果 ($n=3$, 平均值±标准偏差)
Table 3 Results of storage stability of reference materials ($n=3$, mean±sd)

时间/d	-20 °C 活菌含量/ $(\times 10^4)$ CFU/样品)	-20 °C 复苏率/%	4 °C 活菌含量/ $(\times 10^4)$ CFU/样品)	4 °C 复苏率/%
0	4.6±0.5	100±10.8	4.6±0.5	100±10.8
1	/	/	3.7±0.3	81.6±8.1
3	/	/	3.9±0.4	84.8±10.3
5	/	/	3.4±0.3	74.0±8.8
7	5.9±0.4	91.7±6.8	4.9±0.4	107.2±8.2
14	4.1±0.4	90.4±9.8	3.5±0.2	77.0±5.7
28	4.4±0.3	96.2±6.8	/	/

注: “/”表示未检测。

表 4 标准物质的协作标定结果($n=10$)
Table 4 Results of collaborative calibration for reference materials ($n=10$)

样品序号	A		B		C	
	活菌含量/(CFU/样品)	鉴定结果	活菌含量/(CFU/样品)	鉴定结果	活菌含量/(CFU/样品)	鉴定结果
CODE: 1	2.5×10^4	是	3.6×10^4	是	3.9×10^4	是
CODE: 2	6.1×10^4	是	4.2×10^4	是	3.5×10^4	是
CODE: 3	2.5×10^4	是	4.4×10^4	是	2.4×10^4	是
CODE: 4	1.6×10^4	是	5.0×10^4	是	1.0×10^4	是
CODE: 5	5.0×10^4	是	4.8×10^4	是	1.2×10^4	是
CODE: 6	1.1×10^4	是	3.8×10^4	是	4.5×10^4	是
CODE: 7	1.6×10^4	是	3.4×10^4	是	2.0×10^4	是
CODE: 8	2.6×10^4	是	3.7×10^4	是	1.3×10^4	是
CODE: 9	2.0×10^4	是	3.3×10^4	是	1.4×10^4	是
CODE: 10	2.3×10^4	是	3.2×10^4	是	1.8×10^4	是
平均值	2.7×10^4	/	3.9×10^4	/	2.3×10^4	/
总平均值			3.0×10^4			

注: “是”表示鉴定结果为大肠埃希氏菌。

表 5 大肠埃希氏菌标准物质的应用
Table 5 Application of *E. coli* reference materials

样品名称	样品本底检测结果	实验组检测结果	实验组菌含量/(CFU/样品)	回收率/%
惠氏铂臻较大婴儿配方奶粉(6~12 月龄, 2 段)	-	+	3.8×10^4	83.5
宝素力幼儿配方奶粉(12~36 月龄, 3 段)	-	+	3.2×10^4	70.3
贝因美绿爱较大婴儿配方奶粉(6~12 月龄, 2 段)	-	+	3.4×10^4	74.7
美赞臣铂睿婴儿配方奶粉(0~6 月龄, 1 段)	-	+	4.0×10^4	87.9
中农航天油菜花粉	-	+	3.5×10^4	76.9
中农航天玫瑰花粉	-	+	3.9×10^4	85.7
五台山蜜蜂园荞麦蜂花粉	-	+	3.8×10^4	83.5
老山油菜花粉	-	+	2.8×10^4	61.5
怡江黄金耳荔枝干	-	+	3.9×10^4	85.7
遥记桂圆干	-	+	3.5×10^4	76.9
禾煜臻粹荔枝干	-	+	2.8×10^4	61.5
禾煜小禾说桂圆干	-	+	3.0×10^4	65.9
优博启能特殊医学用途婴儿配方食品母乳营养补充剂	-	+	4.2×10^4	92.3
亨利元婴幼儿营养米乳	-	+	2.5×10^4	54.9
婴之素婴幼儿益生菌营养米粉	-	+	3.0×10^4	65.9
奥雪芥末抹茶巧克力口味雪糕	-	+	3.3×10^4	72.5
蒙牛绿色心情雪糕	-	+	4.4×10^4	96.6
伊利苦咖啡雪糕	-	+	3.8×10^4	83.5
德式黑啤酒酿黑麦冰淇淋	-	+	2.6×10^4	57.1
伊利来只椰子冰淇淋	-	+	3.9×10^4	85.7
平均值			3.5×10^4	76.1

注: -表示未检出大肠埃希氏菌, +表示检出大肠埃希氏菌。

3 结论与讨论

自《中华人民共和国食品安全法》颁布以来,我国民众对食品安全的重视程度日益提高,有关部门也逐步健全完善我国食品监督抽检工作,因此,我国食品检测机构对食源性微生物标准物质的需求更加迫切。国内最早获得批号的食物微生物标准物质是关于菌落总数的,分别是食品微生物冻干菌落总数标准物质(GBW100044)和鱼粉菌落总数标准物质(GBW100045),随后研制的含基质的标准物质有鸡肉中单核细胞增生李斯特氏菌标准物质^[12]、乳粉中阪崎肠杆菌标准物质^[17]、以鸡肉为基质的志贺氏菌标准物质和肠炎沙门氏菌标准物质^[18-19],关于不含基质的标准物质也有报告,如金黄色葡萄球菌、单核细胞增生李斯特氏菌、阪崎克罗诺杆菌和阴沟肠杆菌等^[13-15,20]。含基质的标准物质的制备工艺相对要求更高,而且由于冻干样品中除了冻干保护剂外,还含有基质,菌株不是被冻干保护剂全方位包裹,冻干保护效果仅为50%左右,而且冻干标准物质在室温条件下的短期稳定性(12 d内)显著下降,所以上述标准物质必须要求低温运输^[12,17,20]。

与前期报道的含基质标准物质相比,本研究制备的不含基质的标准物质有3大优点。首先,本研究的标准物质在室温条件下7 d内的稳定性良好,表明可进行常温运输,经济环保。其次,前期研究中报道的标准物质均以粉末形式冻干,本研究的标准物质是以菌球的形式进行冻干。相比于粉末样品,菌球样品更便于操作,易于溶解,节省了操作人员的时间成本。再次,本研究的标准物质稳定性良好,可用于食品中大肠埃希氏菌及大肠菌群的定性和定量检测,也可用于实验室间比对、实验室内部人员考核等质量控制环节,可在一定程度上提升我国食品安全监测数据的准确性。

参考文献

- [1] HAVELAAR AH, KIRK MD, TORGERSON PR, *et al.* World Health Organization global estimates and regional comparisons of the burden of foodborne disease in 2010 [J]. *PLoS Med*, 2015, 12(12): e1001923.
- [2] 崔生辉, 赵琳娜, 路勇. 食品微生物追踪溯源网络分析探讨[J]. *食品安全质量检测学报*, 2018, 9(13): 3514-3517.
CUI SH, ZHAO LN, LU Y. Analysis and discussion on traceability network of food microorganism [J]. *J Food Saf Qual*, 2018, 9(13): 3514-3517.
- [3] SCALLAN E, HOEKSTRA RM, ANGULO FJ, *et al.* Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens [J]. *Emerg Infect Dis*, 2011, 17(1): 7-15.
- [4] 国家卫生计生委办公厅. 国家卫生计生委办公厅关于2015年全国食物中毒事件情况的通报 [EB/OL]. [2016-04-01]. <http://www.nhc.gov.cn/yjb/s7859/201604/8d34e4c442c54d33909319954c43311c.html> [2021-04-07].
- [5] National Health and Family Planning Commission Emergency Office. Bulletin of the national food poisoning cases in 2015 issued from national health and family planning commission general office [EB/OL]. [2016-04-01]. <http://www.nhc.gov.cn/yjb/s7859/201604/8d34e4c442c54d33909319954c43311c.html> [2021-04-07].
- [6] ATHERHOLT TB, PROCOPIO NA, GOODROW SM. Seasonality of coliform bacteria detection rates in New Jersey domestic wells [J]. *Ground Water*, 2017, 55(3): 346-361.
- [7] INVIK J, BARKEMA HW, MASSOLO A, *et al.* Total coliform and *Escherichia coli* contamination in rural well water: Analysis for passive surveillance [J]. *J Water Health*, 2017, 15(5): 729-740.
- [8] ZHANG X, CHEN L, SHEN Z. Impacts of rapid urbanization on characteristics, sources and variation of fecal coliform at watershed scale [J]. *J Environ Manage*, 2021, 286: 112195.
- [9] 国家食品药品监督管理总局科技和标准司. 微生物检验方法食品安全国家标准实操指南[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017.
Department of Science, Technology and Standards of China Food and Drug Administration. Food microbiological examination, operation manual [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2017.
- [10] 食品药品监管总局办公厅. 总局办公厅关于印发国家食品安全监督抽检实施细则(2018年版)的通知 [EB/OL]. [2018-01-18]. http://www.gov.cn/xinwen/2018-01/24/content_5260165.htm [2021-03-26].
General Office of State Food and Drug Administration. Notice of the General Office of SFDA on Printing and Distributing the Implementation Rules for Sampling Inspection of National Food Safety Supervision (2018 Edition) [EB/OL]. [2018-01-18]. http://www.gov.cn/xinwen/2018-01/24/content_5260165.htm [2021-03-26].
- [11] 胡小玲, 杨更发. 微生物检测质量控制标样在微生物实验室内质量控制中的应用[J]. *中国卫生检验杂志*, 2007, 17(12): 2320-2321.
HU XL, YANG GF. The application of microbiological detecting reference material in internal quality control of microbiological laboratories [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2007, 17(12): 2320-2321.
- [12] 丁丽霞, 周海钧. 生物标准物质的研究和技术要求(上)[J]. *中国药师*, 2007, 10(3): 229-232.
DING LX, ZHOU HJ. Study and technological requirements of biological reference materials [J]. *China Pharm*, 2007, 10(3): 229-232.
- [13] 吴谦, 黄晓蓉, 王晶, 等. 鸡肉中单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的研制[J]. *计量学报*, 2010, 31(z1): 9-13.
WU Q, HUANG XR, WANG J, *et al.* The preparation of reference materials of *Listeria monocytogenes* in the matrix of chicken [J]. *Acta Metrol Sin*, 2010, 31(z1): 9-13.
- [14] 薛蕾, 隋志伟, 张玲, 等. 金黄色葡萄球菌标准物质的研制[J]. *食品科学*, 2015, 36(8): 44-48.
XU L, SUI ZW, ZHANG L, *et al.* Preparation of *Staphylococcus aureus* reference material [J]. *Food Sci*, 2015, 36(8): 44-48.
- [15] 瞿洪仁, 骆海朋, 申静云, 等. 食品检测用单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的研制[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(1): 65-70.

- QU HR, LUO HP, SHEN JY, *et al.* Preparation of *Listeria monocytogenes* reference material for food analysis [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(1): 65–70.
- [15] 骆海朋, 瞿洪仁, 申静云, 等. 阪崎克罗诺杆菌标准物质研制[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 54–59.
- LUO HP, QU HR, SHEN JY, *et al.* Development of microbial reference materials for *Cronobacter sakazakii* [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(1): 54–59.
- [16] 刘思渊, 王梓权, 甄啸啸, 等. 用于培养基生长率评价的大肠杆菌标准物质研制[J]. 中国测试, 2020, 46(10): 48–53.
- LIU SY, WANG ZQ, ZHEN XX, *et al.* Development of reference materials of *Escherichia coli* for productivity ratio evaluation of microbiological media [J]. *China Meas Test*, 2020, 46(10): 48–53.
- [17] 陈彬, 郑晶, 黄晓蓉, 等. 乳粉中阪崎肠杆菌标准物质的研制[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(12): 16–18.
- CHEN B, ZHENG J, HUANG XR, *et al.* Preparation and certification of reference material for *Enterobacter sakazakii* in milk powder [J]. *China Dairy Ind*, 2012, 40(12): 16–18.
- [18] 柯璐, 戴晓丽, 林杰, 等. 志贺氏菌标准物质的制备方法[J]. 食品科学, 2015, 36(24): 253–259.
- KE L, DAI XL, LIN J, *et al.* Preparation of reference materials for *Shigella* [J]. *Food Sci*, 2015, 36(24): 253–259.
- [19] 柯璐, 林杰, 戴晓丽, 等. 肠炎沙门氏菌活菌标准物质的研制[J]. 食品研究与开发, 2015, (5): 111–115.
- KE L, LIN J, DAI XL, *et al.* The reference materials of preparation about *Salmonella enteritidis* [J]. *Food Res Dev*, 2015, (5): 111–115.
- [20] 陈敏璠, 傅博强, 林婧, 等. 阴沟肠杆菌定量标准物质的研制[J]. 计量学报, 2017, 38(5): 527–531.
- CHEN MF, FU BQ, LIN J, *et al.* Development of quantitative reference material of *Enterobacter cloacae* [J]. *Acta Metrol Sin*, 2017, 38(5): 527–531.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



瞿洪仁, 助理研究员, 主要研究方向为食品微生物学。

E-mail: hrqu0909@126.com



崔生辉, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品微生物。

E-mail: cuishenghui@aliyun.com