

食品检测用鼠伤寒沙门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** 研制均匀稳定的鼠伤寒沙门氏菌标准物质。**方法** 采用冷冻干燥技术制备含量为 $1.5 \times 10^3 \sim 2.0 \times 10^3$ CFU/样品的菌球, 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 22 件样品, 采用平板计数法进行均匀性检验, 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、37 °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。参照 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》方法, 再使用 45 件食品作为基质检验鼠伤寒沙门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 $F=1.986$, $P=0.059$, 符合标准物质的要求。标准物质在 -20 °C 保藏 28 d, 复苏率为 103.1%; 在 4 °C 保藏 28 d, 复苏率为 102.0%; 在 25 °C 保藏 14 d 或者 37 °C 保藏 7 d, 样品中菌含量仍保持在 10^3 CFU/样品的水平, 说明样品的短期储藏稳定性、长期储藏稳定性和运输稳定性都符合要求。经 3 家实验室协同标定, 样品活菌含量均在 10^3 CFU/样品水平, 生化鉴定结果均符合沙门氏菌的特征; 标准物质加入到 45 种食品基质中, 均可以检出沙门氏菌。**结论** 本研究所制备的鼠伤寒沙门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沙门氏菌检测结果的评价。

关键词: 鼠伤寒沙门氏菌; 标准物质; 均匀性; 稳定性

Preparation of *Salmonella typhimurium* 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 develop homogenous and stable reference materials of *Salmonella typhimurium*. **Methods** The reference materials with content of $1.5 \times 10^3 \sim 2.0 \times 10^3$ CFU/sample were prepared by freeze-drying method, 22 samples were selected randomly, and the homogeneity of reference materials were determined by plate counting method and the results were analyzed statistically by one-way ANOVA according to CNAS—GL29:2010 *Reference materials-General and statistical principles for certification*, the samples were stored at -20, 4, 25 and 37 °C to evaluate the storage stability and transport stability, respectively, Then 3 laboratories were organized for collaborative calibration. Additionally, According to GB 4789.4—2016 *National food safety standard-Food*

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检测。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

microbiological testing-Salmonella testing, 45 ready-to-eat food samples were selected as the matrices to test the applicability of the reference materials. **Results** The one-way analysis of variance result of homogeneity determination was $F=1.986$, $P=0.059$, which indicated that the reference materials prepared in the study could meet the homogeneity requirement for reference materials. The recoveries of reference materials reached 103.1% after stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 28 d, and 102.0% after stored at $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 28 d; and the content of *Salmonella typhimurium* remained the level of 10^3 CFU/sample after storage at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 14 d or $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 7 d. Additionally, which indicated that short-term storage stability, long-term storage stability and transportation stability all met the requirements. The sample was confirmed as *Salmonella* and the content was at the level of 10^3 CFU/sample by the collaborative calibration with 3 laboratories. The *Salmonella* in the reference materials remained detectable when added to 45 ready-to-eat food samples. **Conclusion** The homogeneity, storage stability and transportation stability of *Salmonella typhimurium* reference materials prepared in this study 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 *Salmonella* in food.

KEY WORDS: *Salmonella typhimurium*; reference materials; homogeneity; stability

0 前言

在食物中毒事件中,由食源性致病菌引起的中毒事件比例最大^[1],而沙门氏菌是食源性致病菌中最常见的致病菌。在美国,每年有 140 万人感染沙门氏菌^[2],根据 2010 年世界卫生组织的统计结果,每年由于沙门氏菌感染所引起的死亡人数可达 23 万^[3]。沙门氏菌感染的主要症状有腹泻、发热、菌血症和败血症,严重者甚至会危及生命。沙门氏菌的宿主分布非常广泛,如蔬菜、水果、猪肉、牛肉、家禽、鸡蛋等食品中均有检出,其中家禽及禽制品是沙门氏菌传播及爆发感染的主要宿主^[4]。到目前为止,已鉴定出来的沙门氏菌血清型超过 2610 种^[5],食品分离株中 2 个常见的血清型是肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)和鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)^[6-7]。

鉴于沙门氏菌的广泛存在和潜在危害性,我国 2013 年发布常见食品中沙门氏菌的限量要求,并规定沙门氏菌的检测方法依据 GB 4789.4—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 沙门氏菌检验》进行。但是,食品种类繁多,其复杂的成分和背景微生物对检测结果干扰较大,所以在检测中需要稳定的微生物标准物质对整个检验过程进行质量控制,从而保证检测数据的科学性和有效性^[8]。微生物的生长特性对标准物质的制备技术提出了新的要求,能应用于检验检测的微生物相关标准物质较少,尤其是能应用于食品检测的标准物质非常匮乏^[9]。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^[10]和不含基质的标准物质^[11-13],其中肠炎沙门氏菌标准物质和志贺氏菌标准物质含有鸡肉糜基质^[14-15]。含有基质的标准物质的适应性受到一定限制,因此,为规范我国检验机构食品中沙门氏菌的检验,有必要研制能广泛应用于食品检测的不含基质的沙门氏菌标准物质。

本研究选择沙门氏菌中最常见的血清型鼠伤寒沙门氏菌进行标准物质的研制,即制备一批稳定的鼠伤寒沙门氏菌标准物质,并对样品的稳定性、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定值,从而为食品检测实验室提供沙门氏菌检验的阳性对照,用于实验室内部人员考核和日常检测的质量控制。

1 材料与方法

1.1 菌株

鼠伤寒沙门氏菌 CMCC50920,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

LABCONCO FreeZone12L 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); Thermo 1389 生物安全柜、Thermo 205050GC 恒温培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); FORMA 恒温摇床、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)。

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); 木糖赖氨酸脱氧胆酸钠(xylose lysine desoxycholate, XLD)琼脂培养基、亚硫酸铋(bismuth sulfite, BS)琼脂培养基、胰蛋白胨大豆(tryptic soy agar, TSA)琼脂培养基、缓冲蛋白胨水(buffered peptone water, BPW)(美国 BD 公司); 沙门氏菌凝集诊断血清(泰国 S & A Reagents Lab 公司); 革兰氏阴性杆菌鉴定卡(GN 卡,法国生物梅里埃公司)。

1.3 鼠伤寒沙门氏菌的鉴定

将鼠伤寒沙门氏菌(CMCC50920)划线接种于平板, 36 °C培养过夜后, 挑取一代平板上单颗菌落划线于 TSA 平板, 36 °C培养过夜。革兰氏染色后, 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, 再用沙门氏菌凝集诊断血清进行血清型鉴定。

1.4 鼠伤寒沙门氏菌标准物质的生产制备

将鼠伤寒沙门氏菌(CMCC50920)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。先进行少量样品冻干的预实验, 分别在冻干前和冻干后对样品的菌含量进行计数, 并计算冻干复苏率。根据冻干复苏率调整稀释倍数, 使得冻干后菌球的活菌浓度约为 $1.5 \times 10^3 \sim 2.0 \times 10^3$ 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 鼠伤寒沙门氏菌标准物质的均匀性验证实验

随机抽取冻干标准物质 22 瓶, 对标准物质中的沙门氏菌含量进行计算。即向每瓶沙门氏菌标准物质中加入 1 mL 0.85%生理盐水, 将冻干样品充分溶解, 使用全自动微生物螺旋加样系统在 E50 模式下涂布于 TSA 平板, 每个样品做 2 个平行, 置 (36 ± 1) °C培养 24 h 后进行菌落计数, 对结果进行统计分析, 根据 CNAS—GL03:2006《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》对结果进行单因素方差分析, 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

将鼠伤寒沙门氏菌标准物质分别存放于 25、37 °C温箱, 模拟实验周期为 2 周, 分别于 1、3、5、7、14 d 对标准物质的菌含量进行测定, 每个时间点做 3 个平行。以验证此温度下沙门氏菌标准物质的变化能否满足定性样品稳定性要求。

1.6.2 储藏稳定性检验

将制备的鼠伤寒沙门氏菌标准物质分别于 -20 、4 °C 保存。定期对鼠伤寒沙门氏菌的标准物质的菌含量进行测定, 对不同温度下的储藏稳定性进行评价。在本研究中, $1.5 \times 10^3 \sim 2.0 \times 10^3$ CFU 浓度用于阳性对照样品的检出实验, 计算当天的计数结果与 0 d 的计数结果的比值即得到复苏率, 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

使用鼠伤寒沙门氏菌标准物质的制备技术, 生产样品, 按照国家药品标准物质协作标定实施细则, 发给 3 家

实验室, 代码分别为 A、B 和 C, 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的沙门氏菌进行, 菌落计数及生化鉴定。

1.8 标准物质使用效果的验证

选择 45 件食品样品, 包含 6 大类食品, 分别是婴幼儿配方食品、冷冻食品、调味品、豆制品、粮食加工品和肉制品, 参照 GB 4789.4—2016 对标准物质的使用效果进行验证, 检测本研究制备的鼠伤寒沙门氏菌标准物质能否从食品基质中回收。检测步骤是: 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 BPW 中, 一份为本底对照, 另一份加入标准物质菌球 1 个, 均质器拍打 1 min, 置 (36 ± 1) °C培养 8~18 h 后进行检验, 判定是否能检出沙门氏菌, 分析标准物质的适应性。

2 结果与分析

2.1 菌株的鉴定

挑取鼠伤寒沙门氏菌二代平板上菌落进行 MALDI-TOF MS 鉴定, 使用革兰氏阴性杆菌鉴定卡利用 VITEK 2 Compact 进行生化鉴定, 质谱鉴定和生化鉴定的结果均为沙门氏菌(*Salmonella*), 再利用沙门氏菌凝集诊断血清鉴定血清型 O:1,4,5,12;H:i:1,2, 即为鼠伤寒沙门氏菌。

2.2 标准物质的均匀性检验结果

随机抽取 22 瓶制备的标准物质, 在 TSA 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。根据 SPSS 软件计算的结果 $F=1.986$, 查表 $\text{FINV}(0.05, 21, 22)$ 临界值 $=2.059$, $F < \text{FINV}(0.05, 21, 22)$ 临界值, 表明在显著水平为 0.05 时, 本研究制备的鼠伤寒沙门氏菌标准物质无显著性差异($P=0.059$), 均匀性满足要求。

2.3 标准物质的稳定性检测结果

2.3.1 运输稳定性结果

将所制备的鼠伤寒沙门氏菌标准物质分别存放于 25、37 °C温箱, 在不同时间点对标准物质的菌含量进行测定, 测定结果如表 2 所示。表 2 运输稳定性测定的结果表明, 在 37 °C 环境下保存 7 d 内, 活菌数量虽然在存储期间内有一定的波动, 但活菌数量均能保存在 10^3 CFU/样品水平, 而在 25 °C 保存环境下, 14 d 内活菌含量非常稳定, 含量无明显下降, 可以满足定性样品的要求。结合上述数据, 鼠伤寒沙门氏菌标准物质在非高温季节, 可以常温运输, 而在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

将制备的鼠伤寒沙门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, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保藏 28 d 复苏率为 103.1%, 表明 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 可以作为标准物质的长期储藏条件; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 保藏 28 d 复苏率为 102.0%, 说明 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

将制备的食品检测用鼠伤寒沙门氏菌标准物质寄送给 3 家协作标定单位, 每家单位 10 件样品。根据协作标作业指导书, 对 10 件样品进行计数, 并进行生化鉴定确认是否符合沙门氏菌特征, 结果见表 4。

本次制备的鼠伤寒沙门氏菌标准物质, 设计目标菌

含量为 $1.5\times 10^3\sim 2.0\times 10^3$ CFU/样品, 使用菌株为 CMCC 50920 鼠伤寒沙门氏菌。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 10^3 CFU/样品水平, 生化鉴定结果均符合沙门氏菌的特征, 表明目前的鼠伤寒沙门氏菌标准物质的制备技术可以用于定性样品标准物质的制备。

2.5 标准物质在样品中检验的使用效果验证

选择 45 件食品样品, 对鼠伤寒沙门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 4789.4—2016 进行沙门氏菌检验, 检验结果如表 5。

表 1 标准物质的均匀性($n=2$)
Table 1 Homogeneity of the reference materials ($n=2$)

样品编号	鼠伤寒沙门氏菌含量/(CFU/样品)		样品编号	样品中鼠伤寒沙门氏菌含量/(CFU/样品)	
1	1720	1280	12	1630	1950
2	1720	1880	13	1690	1530
3	1720	1690	14	1790	1730
4	2220	2030	15	1720	1600
5	1650	1860	16	1770	1700
6	1850	1690	17	1250	1430
7	1770	1290	18	1640	1760
8	1550	1740	19	2000	1750
9	1920	1780	20	1820	1810
10	2000	1710	21	1720	1280
11	1670	1670	22	1720	1880

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

时间/d	37 $^{\circ}\text{C}$ /(CFU/样品)	37 $^{\circ}\text{C}$ 对数值	25 $^{\circ}\text{C}$ /(CFU/样品)	25 $^{\circ}\text{C}$ 对数值
0	1718 \pm 55	3.235 \pm 0.018	1718 \pm 55	3.235 \pm 0.018
1	1632 \pm 40	3.213 \pm 0.011	1563 \pm 28	3.194 \pm 0.007
3	1402 \pm 12	3.147 \pm 0.004	1797 \pm 35	3.254 \pm 0.009
5	1462 \pm 99	3.165 \pm 0.030	1762 \pm 48	3.246 \pm 0.012
7	1447 \pm 67	3.160 \pm 0.020	1755 \pm 32	3.244 \pm 0.009
14	/	/	1772 \pm 28	3.248 \pm 0.008

注: /表示无此项, 下同。

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

时间/d	$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 活菌含量/(CFU/样品)	$-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 复苏率/%	$4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 活菌含量/(CFU/样品)	$4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 复苏率/%
0	1718 \pm 55	/	1718 \pm 55	/
1	1717 \pm 46	99.9 \pm 2.7	1563 \pm 25	91.0 \pm 1.5
3	1792 \pm 38	104.3 \pm 2.2	1797 \pm 34	104.6 \pm 2.0
5	1730 \pm 52	100.7 \pm 3.0	1762 \pm 37	102.6 \pm 2.2
7	1709 \pm 39	99.5 \pm 2.3	1755 \pm 41	102.2 \pm 2.4
14	1711 \pm 29	99.6 \pm 1.7	1772 \pm 53	103.1 \pm 3.1
28	1771 \pm 61	103.1 \pm 3.6	1752 \pm 40	102.0 \pm 2.3

表4 标准物质的协作标定结果
Table 4 Results of collaborative calibration for reference materials

样品序号	A		B		C	
	活菌含量/ (CFU/样品)	沙门氏菌鉴定结果	活菌含量/ (CFU/样品)	沙门氏菌鉴定结果	活菌含量/ (CFU/样品)	沙门氏菌鉴定结果
CODE: 1	2000	是	1302	是	1200	是
CODE: 2	1600	是	1438	是	1600	是
CODE: 3	2200	是	1492	是	1500	是
CODE: 4	1700	是	1298	是	1600	是
CODE: 5	1500	是	1370	是	1800	是
CODE: 6	2200	是	1485	是	1500	是
CODE: 7	1800	是	1305	是	1600	是
CODE: 8	2200	是	1310	是	1600	是
CODE: 9	2300	是	1605	是	1600	是
CODE: 10	2300	是	1322	是	1700	是
平均值	1980	/	1390	/	1570	/
总平均值			1647			

表5 鼠伤寒沙门氏菌标准物质的应用
Table 5 Application of *Salmonella typhimurium* reference materials

样品名称	样品本底检测结果	实验组检测结果
茵童时光幼儿配方奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
茵童时光较大婴儿配方奶粉(6~12月龄, 2段)	-	+
美仑加幼儿配方奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
美仑加较大婴儿配方奶粉(6~12月龄, 2段)	-	+
菁恬较大婴儿配方奶粉(6~12月龄, 2段)	-	+
菁恬幼儿配方奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
菁恬婴儿配方奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
美仑加婴儿配方奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
茵童时光婴儿配方奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
金领冠塞纳牧婴儿配方奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
亲舒幼儿配方奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
金领冠塞纳牧较大婴儿配方奶粉(6~12月龄, 2段)	-	+
金领冠塞纳牧幼儿配方奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
致护婴儿配方奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
致护幼儿配方奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
欧士达幼儿配方羊奶粉(12~36月龄, 3段)	-	+
欧士达婴儿配方羊奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
欧士达较大婴儿配方羊奶粉(6~12月龄, 2段)	-	+
智旭贝滋较大婴儿配方奶粉(6~12月龄, 2段)	-	+
智旭贝滋婴儿配方奶粉(0~6月龄, 1段)	-	+
和路雪清优香草口味冰淇淋	-	+
伊利甄稀香草口味冰淇淋	-	+
八喜芒果口味冰淇淋	-	+

表 5(续)

样品名称	样品本底检测结果	实验组检测结果
海天海鲜酱油	-	+
李锦记精选生抽	-	+
六月鲜特级原汁酱油	-	+
亨氏小轻纯沙拉酱	-	+
口维可原味沙拉酱	-	+
亨氏千岛沙拉酱	-	+
白玉豆泡	-	+
太太乐宴会酱特级生抽	-	+
白玉真空熏干	-	+
雨润五香豆干	-	+
高碑店黑豆豆腐丝	-	+
丘比香甜味沙拉酱	-	+
韩恩彩荞麦冷面	-	+
韩恩彩小麦冷面	-	+
福泽海蜇丝香辣味	-	+
福泽海蜇丝海鲜味	-	+
福泽海蜇丝麻辣味	-	+
哈尔滨风味红肠	-	+
德州脱骨扒鸡(五香味)	-	+
特嫩烤火腿(斜切)	-	+
手撕牛肉(原味)	-	+
风干牛肉	-	+

注: -未检出沙门氏菌, +检出沙门氏菌。

表 5 的结果表明, 在婴幼儿配方食品、冷冻食品、调味品、豆制品、粮食加工品和肉制品 6 类共 45 件常见食品样品中, 加了标准物质的实验组均能够检出沙门氏菌, 说明本研究制备的标准物质在食品样品中适应性良好。上述数据证明该标准物质可以满足食品中沙门氏菌检验的质控要求。

3 结论与讨论

沙门氏菌是引起食物中毒的常见致病菌, 在家禽、水禽及肉制品中分离率很高。沙门氏菌感染严重影响着家禽养殖业的发展, 也威胁着人类的健康^[6,16-17]。因此, 监管部门必须提高沙门氏菌的检测技术, 加强检验人员的检测能力, 并需要相应的标准物质来规范检测过程。

针对国内外沙门氏菌标准物质的匮乏现状, 本研究采用冷冻干燥技术和实验室协作标定定值, 制备了菌含量在 $1.5 \times 10^3 \sim 2 \times 10^3$ CFU/样品的鼠伤寒沙门氏菌标准物质。有文献报道过含鸡肉基质的肠炎沙门氏菌, -20°C 保藏 7 d 的复苏率仅为 50%, 缺乏短期储存稳定性和运输稳定性的数据, 其稳定性有待继续考察^[15]。而本研究制备的鼠伤寒沙门氏菌标准物质的稳定性有明显改善, 在 4°C 和 -20°C

条件下保藏 28 d 的复苏率均能保持在 100% 左右。对于冻干标准物质而言, 影响冻干菌株的存活率和复苏率的因素较多, 包括冻干保护剂的配方、冻干程序的设置和冻干机的真空度。传统的保护剂配方主要由脱脂奶和蔗糖或者海藻糖组成^[18-19], 本研究的保护剂成分有所创新, 主要包含海藻糖和胎牛血清, 复苏率和稳定性的结果证明此保护剂的效果优于传统配方。

与前期报道的标准物质相比, 本研究制备的标准物质易于溶解、便于操作, 节省了 time 成本。作为沙门氏菌代表血清型之一, 该标准物质既可以应用于 GB 4789.4—2016 中的沙门氏菌检测, 也可作为阳性对照应用于聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 方法和探针法^[20]对沙门氏菌的检测。综上, 本研究所研制的鼠伤寒沙门氏菌标准物质为食品检验、临床、环境监测等领域沙门氏菌检验的方法验证、质量控制和人员考核提供参考。

参考文献

- [1] 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].

- 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/yjbs/7859/201604/8d34e4c442c54d33909319954c43311c.html> [2021-04-07].
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] MOHAMED T, ZHAO S, WHITE D, *et al.* Molecular characterization of antibiotic resistant *Salmonella* typhimurium and *Salmonella* Kentucky isolated from pre- and post-chill whole broilers carcasses [J]. *Food Microbiol*, 2014, 38: 6–15.
- [5] GUIBOURDENCHE M, ROGGENTIN P, MIKOLEIT M, *et al.* Supplement 2003—2007 (No.47) to the White-Kauffmann-Le minor scheme [J]. *Res Microbiol*, 2010, 161(1): 26–29.
- [6] WANG Y, YANG B, WU Y, *et al.* Molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar enteritidis in retail raw poultry in six provinces and two national cities in China [J]. *Food Microbiol*, 2015, 46: 74–80.
- [7] MEZAL E, SABOL A, KHAN M, *et al.* Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica* serovar enteritidis from poultry house and clinical samples during 2010 [J]. *Food Microbiol*, 2014, 38: 67–74.
- [8] 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.
- [9] 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. The study and technological requirements of biological reference materials [J]. *China Pharm*, 2007, 10(3): 229–232.
- [10] 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
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.* The preparation of *Shigella* reference material [J]. *Food Sci*, 2015, 36(24): 253–259.
- [15] 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.
- [16] WANG Y, CAO C, ALALI WQ, *et al.* Distribution and antimicrobial susceptibility of foodborne *Salmonella* serovars in eight provinces in China from 2007 to 2012 (Except 2009) [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2017, 14(7): 393–399.
- [17] ZHANG Z, CAO C, LIU B, *et al.* Comparative study on antibiotic resistance and DNA profiles of *Salmonella enterica* serovar typhimurium isolated from humans, retail foods, and the environment in Shanghai, China [J]. *Foodborne Pathog Dis*, 2018, 15(8): 481–488.
- [18] 柯璐, 戴晓丽, 徐珊, 等. 大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 标准物质制备[J]. *质量与安全检验检测*, 2019, 29(6): 10–17.
KE L, DAI XL, XU S, *et al.* The reference materials of preparation about *Escherichia coli* O157:H7/NM [J]. *Qual Saf Inspect Test*, 2019, 29(6): 10–17.
- [19] 柯璐, 黄晓蓉, 戴晓丽, 等. 肠炎沙门氏菌标准物质冻干保护剂的设计[J]. *质量与安全检验检测*, 2014, (3): 37–40.
KE L, HUANG XR, DAI XL, *et al.* The design of protective agents of reference materials preparation of *Salmonella enteritidis* [J]. *Qual Saf Inspect Test*, 2014, (3): 37–40.
- [20] 郭紫娟, 洪智骏. 食品微生物检验的影响因素及质量控制方法[J]. *现代食品*, 2020, (12): 163–165, 169.
GUO ZJ, HONG ZJY. Influencing factors and quality control methods of food microbiological inspection [J]. *Mod Food*, 2020, (12): 163–165, 169.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

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检测。
E-mail: cuishenghui@aliyun.com