

阪崎克罗诺杆菌标准物质研制

骆海朋, 瞿洪仁, 申静云, 任 秀, 陈怡文, 谢冠东, 余 文, 刘 娜, 丁 宏, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘 要: 目的 采用冷冻干燥技术制备均匀性和稳定性符合要求的阪崎克罗诺杆菌标准物质, 用于实验室内部质量控制。**方法** 对使用菌株阪崎克罗诺杆菌(45403)的生化特征、16SrRNA 序列、质谱特征进行确认。采用冷冻干燥技术制备含量为 10^3 CFU/样品的菌球。参照 CNAS-GL29《标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法》, 对 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、2、37 °C 条件下保藏, 对其储藏稳定性和运输稳定性进行评价。组织 5 家实验室进行协同标定。使用 20 件婴儿配方乳粉作为基质对阪崎克罗诺杆菌标准物质的使用效果进行确认。**结果** 阪崎克罗诺杆菌(45403)生化鉴定结果、16SrRNA 序列的 NCBI Genbank 比对结果、质谱鉴定结果均为阪崎克罗诺杆菌(*Cronobactersakazakii*)。采用单因素方差分析进行均匀性检验, $F=1.067$, $P=0.442$, 符合标准物质的要求。于-20 °C 保藏 170 d, 于 25、37 °C 保藏 14 d 后, 样品仍然稳定。经 5 家实验室协同标定, 样品含量均为 10^3 CFU/样品。20 件婴儿配方乳粉作为基质加入阪崎克罗诺杆菌标准物质进行检验, 均可以检出。**结论** 阪崎克罗诺杆菌(CMCC45403)的生化特征、16SrRNA 序列分析、蛋白飞行质谱特征均符合克罗诺杆菌属的典型特征。均匀性、储藏稳定性、运输稳定性及适用性的验证实验结果均符合标准物质的要求。

关键词: 微生物标准物质; 克罗诺杆菌属; 阪崎肠杆菌

Development of microbial reference materials for *Cronobactersakazakii*

LUO Hai-Peng, QU Hong-Ren, SHEN Jing-Yun, REN Xiu, CHEN Yi-Wen,
XIE Guan-Dong, YU Wen, LIU Na, DING Hong, CUI Sheng-Hui*

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

ABSTRACT: Objective To develop the *Cronobactersakazakii* standard substance with uniformity and stability by freeze-drying technique, which is used for internal quality control in the laboratory. **Methods** The biochemical, 16SrRNA sequence and mass spectrometric characteristics of the strain *Cronobactersakazakii* (45403) were confirmed. Microspheres with a content of 10^3 CFU/sample was developed by freeze-drying technique. Referring to CNAS-GL29 *Reference materials-General and statistical principles for certification*, uniformity tests were performed on 20 samples, and the results were statistically analyzed by one-way ANOVA. The samples were stored at -20, 2, and 37 °C, respectively, and their storage stability and transport stability were evaluated. Five laboratories were organized for collaborative calibration. Using 20 infant formulas substrate, the use effect of the standard substance of *Cronobactersakazakii* was confirmed. **Results** The biochemical identification of *Cronobactersakazakii* (45403), the

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

*Corresponding author: CUI Sheng-Hui, Professor, Laboratory of Microbiology, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China. E-mail: cuishenghui@aliyun.com

NCBI genebank alignment of 16SrRNA sequences, and the results of mass spectrometry were all *Cronobactersakazakii*. The homogeneity was analyzed by one-way ANOVA, $F=1.067$, $P=0.442$, and the homogeneity met the requirements of standard materials. The sample was still stable when storing at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 170 d and storing at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 7 d. The samples were co-calibrated by 5 laboratories and the sample content was 10^3 CFU/sample. Twenty infant formulas with *Cronobactersakazakii* all could be checked out all. **Conclusion** The biochemical characteristics, 16SrRNA sequence analysis and protein flight mass spectrometry of *Cronobactersakazakii* (CMCC45403) developed in this research are consistent with the typical characteristics of *Cronobacter*. Its uniformity, storage stability, transport stability and suitability are in accordance with the requirements of standard materials.

KEY WORDS: microbial reference material; *Cronobacter*; *Cronobactersakazakii*

1 引言

克罗诺杆菌(*Cronobacter.spp*)是一种周生鞭毛,能运动,无芽孢,兼性厌氧的革兰氏阴性杆菌。在1980年以前,克罗诺杆菌被称为产黄色阴沟肠杆菌^[1];近年,IVERSEN等^[2-4]根据16SrRNA基因序列、核糖体分型、荧光扩增片段长度多态性和DNA-DNA杂交试验对克罗诺杆菌重新进行系统学分类,定义为克罗诺菌属(*Cronobacterspp.*)。克罗诺杆菌广泛分布在土壤、水和日常食品中,是一种条件致病菌,宿主和传播途径不明确,引起新生儿感染的主要渠道是婴幼儿配方奶粉^[5]。虽然克罗诺杆菌引起的发病率不高,但导致的疾病死亡率较高,其中婴儿克罗诺杆菌感染的死亡率高达20%~50%,幸存婴幼儿(特别是患有细菌性脑膜炎和大脑炎的患儿)克罗诺杆菌感染后可导致严重的神经系统后遗症^[6]。在我国2004年安徽阜阳的“大头娃娃”事件中,87份劣质奶粉样品中有11个样品检出克罗诺杆菌^[7]。

GB 10765-2010《食品安全国家标准婴儿配方食品》^[8]规定0~6月龄婴儿食用的配方食品需要进行克罗诺杆菌的检验。检验方法依照GB 4789.40进行,该方法通过前增菌、增菌、分离培养、生化鉴定等过程对克罗诺杆菌进行检测。

目前,国内食品克罗诺杆菌检验的标准方法为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检验》^[9],同时还有很多其他的快速检测方法,如以聚合酶链式反应(polymerase chain reation, PCR)为基础的检测方法^[10]、环介导等温扩增技术^[11,12]等多种检测方法,其中分离培养法仍然是应用最广泛的方法。

食品中克罗诺杆菌检验过程中会受到很多因素的影响,如培养基、试剂、人员的操作等。而微生物标准物质可以用于实验室检验过程中的培养基质量、阳性对照、方法确认、人员考核等质量控制。通过研制含有一定数量,且均匀性和稳定性良好的克罗诺杆菌标准物质可以加强对食品克罗诺杆菌检验的质量控制。目前国内阪崎克罗诺杆菌标准物质的研究不多^[13,14]。本研究制备了菌含量为 10^3 CFU/样品且均匀性、稳定性良好、使用方便的微生物

标准物质,用于实验室内部质量控制。

2 材料与方法

2.1 材料、仪器与试剂

克罗诺杆菌标准菌株(CMCC45403)(中国医学菌种保藏中心)。

LABCONCO FreeZone12L 冷冻干燥机(德国LABCONCO公司); PL2002 电子天平(中国梅特勒-托利多公司); Thermo1389 生物安全柜(美国 Thermo 公司); Thermo205050GC 恒温培养箱(美国 Thermo 公司); IUL 螺旋加样系统(西班牙 IUL 公司); VITEK 2 COMPACT 60 自动微生物分析系统(法国梅里埃公司); Auto flex 飞行质谱(德国 Bruker 公司)。

TSA 培养基(2254319, 美国 BD 公司); BPW(1504152, 北京陆桥技术有限责任公司); mLST(1436689)、DFI(1615681, 英国 OXOID 公司); Vitek GN(241241940, 中国梅里埃生物公司)。

乳粉样品信息如表 1 所示。

2.2 实验方法

2.2.1 克罗诺杆菌标准物质的制备

质控样的制备过程:将新鲜培养的二代菌株于 N-0 保护剂的菌悬液。对上述菌悬液进行稀释,加入到 N-01 冻干保护剂中,然后以 $20\text{ }\mu\text{L/球}$ 的方式进行速冻,然后进行于冷冻干燥机中进行冷冻干燥,最终制备成克罗诺杆菌含量为 10^3 CFU/样品的菌球。

将冻干后的菌球放入 2 mL 的西林瓶中,将胶塞虚掩的盖在西林瓶上,然后用冷冻干燥机进行真空压盖。

2.2.2 运输稳定性检验

将阪崎克罗诺杆菌微生物标准物质于 25 、 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,分别与 0 、 1 、 3 、 5 、 7 、 14 d , 抽取 3 个样品,进行计数。对稳定性进行评价。

2.2.3 保藏稳定性检验

将阪崎克罗诺杆菌微生物标准物质于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 28 d , 于 0 、 1 、 3 、 5 、 7 、 14 、 28 d 分别抽取 3 个样品,进行计数,并对稳定性进行评价。

表 1 乳粉样品信息表
Table 1 Milk powder sample information table

样品序号	名称	样品序号	名称
1	美素力 1 段 0~6 个月	11	雅士利婴儿配方奶粉
2	美素佳儿 2 段 6~12 个月	12	飞鹤超级飞帆婴儿配方IV(盒装)
3	美素佳儿 3 段 1~3 岁	13	惠氏 S-26 金装爱儿乐
4	美素佳儿 3 段 1~3 岁	14	伊利金装婴儿配方奶粉
5	美素佳儿 4 段 3~6 岁	15	金领冠婴儿配方奶粉
6	澳珍索普新生婴儿配方奶粉 1 段	16	安婴儿 A+婴儿配方奶粉
7	雅士利 α -金装婴儿配方奶粉	17	完达山金装婴儿配方奶粉
8	雅士利能慧金装婴儿配方奶粉	18	贝因美爱+新生儿配方奶粉
9	欧世蒙牛白金佳智	19	雅培金装喜康宝婴儿配方奶粉
10	飞鹤超级飞帆婴儿配方IV(桶装)	20	圣元优博婴儿配方奶粉

2.2.4 均匀性检验

随机抽取 20 件阳性样品, 将样品溶于 1 mL 生理盐水, 然后使用螺旋涂布加样系统于 TSA 琼脂平板进行涂布计数, 每件样品测试 2 次, 于 36 °C 培养 48 h, 进行计数。使用 SPSS 19 软件对计数的结果进行单因素方差分析。

2.2.5 协同标定

组织 5 家实验室对阪崎克罗诺杆菌杆含量为 10^3 CFU 的样品(乳粉基质), 进行协同标定, 每家实验室对 10 件样品进行标定。标定方法: 将样品加入到含 1 mL 生理盐水的 1.5 mL EP 管中, 使用涡旋振荡器充分混匀, 取 100 μ L 原液, 加入 900 μ L 生理盐水, 混匀制成 1:10 稀释液; 将上述稀释液, 分别取 100 μ L 加入到 TSA 琼脂平板上, 每个稀释度需要平行做 2 份, 使用 L 棒涂布均匀至吸收, 于 36 °C 培养 48 h。将所有稀释度的平板取出, 参照《GB 4789.2-2016 食品安全国家标准食品微生物学检验菌落计数检验》选择合适的稀释度对样品进行计数。每件样品, 至少挑取一个典型的克罗诺杆菌属的菌落进行生化鉴定。

2.2.6 克罗诺杆菌标准物质使用效果验证

将阪崎克罗诺杆菌杆 45403 标准物质(样品), 每粒 (10^3 CFU/样品)加入 1 mL 无菌生理盐水, 混匀待用。选取乳粉样品 20 件(详细信息见表 1), 每件样品称取 2 份, 一份正常检验作为本底对照, 一份加入标准物质水溶液 100 μ L, 根据国家标准 GB4789.40-2016^[9]进行操作, 增菌后划线分离平板观察是否有典型菌落生长, 以验证标准物质样品是否适用于日常样品检测的质量控制。

3 结果与分析

3.1 使用菌株的确认结果

使用 GN 卡及 API50 CHE 补充生化进行鉴定, 生化特

征符合阪崎克罗诺杆菌特征, 生化谱参照 FDA BAM 手册, 16SrRNA 序列的 NCBI Genbank 比对结果、质谱鉴定结果均为阪崎克罗诺杆菌(*Cronobactersakazakii*)。

3.2 样品均匀性的检验结果

对 20 瓶阪崎克罗诺杆菌杆标准物质进行计数, 每件样品测试 2 次, 检测结果见表 2, 将计数结果转化为对数值后, 使用 SPSS 软件, 采用单因素方差分析方法, 对样品的均匀性进行检验, $F_{INV}(0.05, 19, 20)$ 临界值=2.137, 根据 SPSS 软件计算的结果 $P=0.442$, $F=1.067 < F_{INV}(0.05, 19, 20)$ 临界值, 表明该样品符合均匀性的要求。

3.3 阪崎克罗诺杆菌标准物质运输稳定性结果

根据实验结果(表 3), 于 37 °C 环境下保存 14 d 内, 阪崎克罗诺杆菌标准物质(样品)活菌数量在 5 d 后有一定的波动, 但仍能保存在 10^3 CFU/样品水平, 可以满足阪崎克罗诺杆菌定性微生物标准物质的要求。在 25 °C 保存环境下, 14 d 内活菌含量非常稳定, 含量没有下降, 可以满足定性样品的要求。结合上述数据阪崎克罗诺杆菌杆标准物质(样品)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低温进行运输。

3.4 阪崎克罗诺杆菌标准物质储藏稳定性结果

对本批次生产的阪崎克罗诺杆菌杆进行 270 d 的保藏稳定性监测, 结果如表 4 所示, -20 °C 保藏 270 d 复苏率为 60.4%, 样品中均含量仍保持在 10^3 CFU/样品水平, 表明 -20 °C 条件下保藏 270 d, 阪崎克罗诺杆菌杆标准物质(样品)仍然稳定, 可以作为长期储存条件; 4 °C 条件下, 保藏 28 d 复苏率为 91.1%, 样品中菌含量仍保持在 10^3 CFU/样品水平, 样品仍然稳定, 所以 4 °C 条件可以作为短期储存条件。

表 2 20 瓶阪崎克罗诺杆菌标准物质(样品)计数结果
Table 2 Count results of 20 bottles of *Cronobactersakazakii* reference material

样品中阪崎克罗诺杆菌杆测试结果				
序号	测试 a/($\times 10^3$ CFU/样品)	测试 a 对数值	测试 b/($\times 10^3$ CFU/样品)	测试 b 对数值
1	6.2	3.792	6.1	3.785
2	6.2	3.792	5.6	3.748
3	6.4	3.806	5.5	3.740
4	5.4	3.732	5.9	3.771
5	6.3	3.799	6.0	3.778
6	7.4	3.869	7.0	3.845
7	7.0	3.845	5.9	3.771
8	6.7	3.826	6.2	3.792
9	5.9	3.771	6.3	3.799
10	5.4	3.732	6.0	3.778
11	6.6	3.820	4.9	3.690
12	6.1	3.785	5.8	3.763
13	5.5	3.740	6.0	3.778
14	5.8	3.763	5.5	3.740
15	6.3	3.799	6.0	3.778
16	6.9	3.839	5.5	3.740
17	5.5	3.740	5.9	3.771
18	6.13	3.787	5.6	3.748
19	6.4	3.806	5.5	3.740
20	7.0	3.845	6.1	3.785

表 3 阪崎克罗诺杆菌标准物质运输稳定性的结果
Table 3 Results of transport stability of *Cronobactersakazakii* reference material

时间	37 °C/($\times 10^3$ CFU/样品)	37 °C对数值	25 °C/($\times 10^3$ CFU/样品)	25°C对数值
0	6.1	3.782	6.1	3.782
1	3.8	3.577	3.6	3.560
3	4.4	3.645	4.2	3.625
5	2.6	3.410	3.4	3.526
7	1.8	3.243	3.4	3.540
14	3.5	3.549	4.5	3.657

表 4 阪崎克罗诺杆菌储藏稳定性试验结果
Table 4 Results of storage stability test of *Cronobactersakazaki*reference material

时间(d)	-20 °C活菌含量/($\times 10^3$ CFU/样品)	复苏率/%	4 °C活菌含量($\times 10^3$ CFU/样品)	复苏率/%
0	6.1	/	/	/
1	5.0	82.3%	3.9	64.1%
3	5.3	88.1%	6.2	102.0%
5	/	/	5.4	88.8%
7	5.5	90.9%	4.3	71.1%
14	6.1	101.0%	5.6	92.6%
28	6.2	101.7%	5.5	91.1%
270	3.7	60.4%	/	/

3.5 协同标定结果

通过协作标定实验室的标定, 5 家实验室测定的结果如表 5 所示, 样品活菌含量均为 10^3 CFU/样品, 与研制的目标值一致, 生化鉴定结果菌同时符合克罗诺杆菌属的特征。表明阪崎克罗诺杆菌标准物质含量稳定, 制备技术可以用于定性样品参考物质的制备。

3.6 克罗诺杆菌标准物质使用效果验证

检验结果显示, 20 件不同品牌乳粉正常检验(作为本底对照)的样品分离平板上未见可疑菌落, 而加入标准物质(样品)水溶液 100 μ L 的样品分离平板上均有可疑菌落生长。因此, 阪崎克罗诺杆菌标准物质(样品)在此 20 件样品中均可回收, 适用于样品检验。

4 结论与讨论

随着 2015 年 10 月 1 日新修订《中华人民共和国食品安全法》正式实施, 对食品安全监管的要求更加严格, 国家对食品监督抽检的力度逐年加大。以 2015 年为例, 涉及到婴幼儿配方乳粉和婴幼儿辅助食品共 2030 批次^[15], 数量巨大, 需保证抽检样品数据的可靠性。但是各级微生物实验室的检验水平参差不齐, 需要加强实验室的微生物检

验质量控制。

在 GB4789.1-2016《食品安全国家标准食品微生物学检验总则》^[16]中明确要求定期使用阳性对照对检验过程进行质量控制。同时在 CNAS-CL09-2013《检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明》^[17]中也明确要求使用微生物标准物质或者质控样品对微生物检验过程进行质量控制。

为了保证实验室检验结果的准确可靠, 需要加强实验室的质量控制, 急需要数量一定, 均匀性和稳定性良好的微生物标准品。

本研究制备的阪崎克罗诺杆菌标准物质均匀性良好, 经单因素方差分析符合标准物质的要求, 经 25、37 $^{\circ}$ C 运输稳定性测试, 14 d 仍能保持样品中菌含量在 10^3 CFU/样品水平, 可以保证样品在非极端的高温天气下运输不受影响, -20 $^{\circ}$ C 条件下样品可以长期储存, 样品的储藏温度建议保持在 -20 $^{\circ}$ C 以下。相对于冻干粉形式的微生物标准物质使用方便, 使用时可以将菌球直接加入到样品中使用。

本此研究制备的克罗诺杆菌标准物质菌均匀性和稳定性良好, 使用方便, 可以帮助检验人员在检验过程中进行质量控制, 提高检验的可靠性。

表 5 阪崎克罗诺杆菌杆协作标定结果

Table 5 Coordination calibration results of *Cronobactersakazaki* reference material

协作标定单位 代码	A		B		C		D		E	
样品序号	活菌含量 /($\times 10^3$ CFU/样 品)	克罗诺 杆菌属 鉴定 结果	活菌含量 /($\times 10^3$ CFU/样品)	克罗诺杆 菌属鉴定结 果	活菌含量 /($\times 10^3$ CFU/样品)	克罗诺 杆菌属 鉴定结 果	活菌含量 /($\times 10^3$ CFU/样品)	克罗诺杆 菌属鉴定 结 果	活菌含量 /($\times 10^3$ CFU/样品)	克罗诺杆 菌属鉴定 结 果
CODE: 1	3.6	是	4.2	是	4.6	是	2.7	是	4.1	是
CODE: 2	4.2	是	3.0	是	4.0	是	3.0	是	2.5	是
CODE: 3	3.7	是	3.0	是	5.1	是	2.8	是	2.9	是
CODE: 4	4.0	是	4.3	是	3.9	是	2.2	是	3.7	是
CODE: 5	4.2	是	2.8	是	4.0	是	2.1	是	3.2	是
CODE: 6	4.0	是	3.1	是	4.8	是	2.6	是	1.4	是
CODE: 7	4.4	是	2.8	是	3.9	是	2.4	是	2.7	是
CODE: 8	3.9	是	3.2	是	3.5	是	2.9	是	4.7	是
CODE: 9	3.9	是	2.3	是	3.9	是	2.7	是	2.5	是
CODE: 10	3.9	是	3.1	是	4.3	是	2.6	是	4.2	是
平均值	4.0	/	3.2	/	4.2	/	2.6	/	3.2	/
总平均值					3.4					

参考文献

- [1] Nazarowec-White M, Farber JM. *Enterobacter sakazakii*: a review [J]. Inter J Food Microbiol, 1997, (34): 103–113.
- [2] Iversen C, Lehner A, Mullane N, et al. Identification of *Cronobacter* spp. (*Enterobacter sakazakii*) [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(11): 3814–3816.
- [3] Iversen C, Lehner A, Mullane N, et al. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: proposal of a new genus *Cronobacter* gen. nov. and descriptions of *Cronobacter sakazakii* comb. nov., *Cronobacter sakazaki* subsp. *malonicus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter mytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter genomospecies 1* [J]. BMC Evol Bio, 2007, (7): 64.
- [4] Iversen C, Mullane N, Mccardell B, et al. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazaki* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonicus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter mytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter genomospecies*, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridis* subsp. nov. [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2008, 58(6): 1442–1447.
- [5] Asakura H, Morita-Ishihara T, Yamamoto S, et al. Genetic characterization of thermal tolerance in *Enterobacter Sakazakii* [J]. Immunology, 2007, 51(7):671–678.
- [6] 裴晓燕, 刘秀梅. 阪崎肠杆菌的生物学性状和健康危害[J]. 中国食品卫生杂志, 2004, 16(6): 550–555.
Pei XY, Liu XM. Biological characteristics and health hazards of *Enterobacter sakazakii*: a review [J]. Chin J Food Hyg, 2004, 16(6): 550–555.
- [7] 潘蓓蕾. 2005 中国食品工业与科技蓝皮书[M]. 北京: 中国食品学报出版社, 2005
Pan BL. 2005 China food industry and science and technology blue book [M]. Beijing: Chinese Institute of Food Science and Technology, 2005.
- [8] 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].
- [9] 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检验[S].
GB 4789.40-2016 National food safety standard-Food microbiological examination-*Cronobacter* Spp. (*Enterobacter sakazakii*) [S].
- [10] SN/T 1632.2-2013 出口奶粉中阪崎肠杆菌(克罗诺杆菌属)检验方法第 2 部分: PCR 方法[S].
SN/T 1632.2-2013 Determination of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* Spp.) from dehydrated powdered milk for export-Part2:PCR method [S]
- [11] 马寅众, 陈江源, 房国梁, 等. 环介导等温扩增法快速检测阪崎肠杆菌[J]. 食品科学, 2010, 31(22): 322–325.
Ma YZ, Chen JY, Fang GL, et al. Rapid detection of *Enterobacter sakazakii* by LAMP [J]. Food Sci, 2010, 31(22): 322–325.
- [12] 鲁曦, 师宝忠, 王彬, 等. LAMP 法检测奶粉中的阪崎肠杆菌[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 540–543.
Lu X, Shi BZ, Wang B, et al. Rapid detection of *Enterobacter sakazakii* in infant formula by loop-mediated isothermal amplification [J]. Mod Food Sci Technol, 2010, 26(5): 540–543.
- [13] 王娜, 钱和. 阪崎肠杆菌能力验证样品均匀性和稳定性的研究[J]. 中国微生物学杂志, 2010, 22(7): 606–608.
Wang N, Qian H. The homogeneity and stability of samples used for *E. sakazakii* proficiency testing [J]. Chin J Microecol, 2010, 22(7): 606–608.
- [14] 陈彬, 郑昌, 黄晓曹, 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 XC, et al. Preparation and certification of reference material for *Enterobacter sakazakii* in the milk powder [J]. China Dairy Ind, 2012, 40(12): 16–18.
- [15] 吕冰峰, 罗飞亚, 王学硕, 等. 2015 年国家食品安全监督抽检数据的归类分析与思考[J]. 中国药事, 2017, 31(11): 1304–1310.
Lv BF, Luo FY, Wang XS, et al. Classified analysis and reflection on the data from national food safety supervision and sampling inspection in 2015 [J]. Chin Pharm Aff, 2017, 31(11): 1304–1310.
- [16] GB 4789.1-2016 食品安全国家标准食品微生物学检验总则[S].
GB 4789.1-2016 National food safety standard-Food microbiological examination-General guidelines [S].
- [17] CNAS-CL09-2013 检测和校准实验室能力认可准则在微生物检测领域的应用说明[S].
CNAS-CL09-2013 Guidance on the application of testing and calibration laboratory competence accreditation criteria in the field of microbiological testing [S].

(责任编辑: 陈雨薇)

作者简介



骆海朋, 硕士, 副主任检验技师, 主要研究方向为食品微生物检验。
E-mail: haipengluo123@sina.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