

食品检测用单核细胞增生李斯特氏菌 标准物质的研制

瞿洪仁, 骆海朋, 申静云, 崔生辉*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: 目的 建立食品检测用单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的制备方法, 研制均匀稳定的标准物质。**方法** 利用冷冻干燥法制备 10^3 CFU/样品的标准物质, 参照 CNAS-GL 29《标准物质/标准样品定值的一般原则和统计方法》, 抽取 20 件样品, 利用平板计数法测定标准物质的均匀性, 并对结果进行统计分析; 将样品分别置于 -20 、 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。组织 5 家实验室进行协同标定, 使用 30 种即食熟肉制品作为基质, 并按照国标法检验标准物质的适用性。**结果** 采用单因素方差分析进行均匀性检验, $F=0.922$, 符合标准物质的要求。标准物质在 -20 °C 保藏 28 d, 25 、 37 °C 保藏 7 d, 样品仍然稳定。经 5 家实验室协同标定, 样品含量均在 10^3 CFU/样品的水平; 标准物质加入到 30 种即食熟肉制品中, 均可以检出单核细胞增生李斯特氏菌。**结论** 本研究所制备的单核细胞增生李斯特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单核细胞增生李斯特氏菌检测结果的评价。

关键词: 单核细胞增生李斯特氏菌; 标准物质; 均匀性; 稳定性

Preparation of *Listeria monocytogenes* reference material for food analysis

QU Hong-Ren, LUO Hai-Peng, SHEN Jing-Yun, CUI Sheng-Hui*

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

ABSTRACT: Objective To establish the method for preparing *Listeria monocytogenes* reference material for food analysis, and develop homogenous and stable reference material. **Methods** The standard substance of 10^3 CFU/sample was prepared by freeze-drying method. According to CNAS-GL 29 *General principles and statistical methods for the determination of standard substances/standard samples*, 20 samples were selected, the homogeneity of standard substance was determined by plate counting method and the results were analyzed statistically. The samples were stored at -20 , 25 , and 37 °C, respectively, and their storage stability and transport stability were evaluated, then 5 laboratories were organized for collaborative calibration, 30 ready-to-eat cooked meat products were used as the matrix, and the applicability of the target substance was tested according to the national standard method. **Results** The homogeneity was analyzed by one-way anova, $F=0.922$, which indicated the reference material prepared in the study could meet the requirement of homogeneity for reference material. The reference material remained stable after

基金项目: 科技部“国家重点研发计划”项目(2017YFC1601400)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of the Ministry of Science and Technology (2017YFC1601400)

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

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

storage at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 28 d, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 14 d. Additionally, the sample was confirmed at the level of 103 CFU/sample by the collaborative calibration with 5 laboratories. Added to 30 kinds of ready-to-eat meat products, the *Listeria monocytogenes* in the reference material remained detectable. **Conclusion** The homogeneity, storage stability and transportation stability of *Listeria monocytogenes* reference material prepared in this study all meet the requirements and have good applicability, which can be used for quality control of food testing laboratory and evaluation of detection results of *Listeria monocytogenes* in food.

KEY WORDS: *Listeria monocytogenes*; reference material; homogeneity; stability

1 前言

食源性致病菌污染是世界性食品安全问题,单核细胞增生李斯特氏菌是其中一种食源性致病菌,能够引起李斯特氏菌病^[1]。李斯特氏菌病是一种非常罕见但具有致死性的肠道疾病,据报道,该病的致死率可高达 24%^[2]。鉴于单核细胞增生李斯特氏菌的广泛存在和潜在危害性,我国 2013 年发布了规定食品中常见致病菌的限量要求的国家标准^[3],其中增加了对熟肉制品和即食生肉制品中单核细胞增生李斯特氏菌的限量标准,并规定了单核细胞增生李斯特氏菌的检测方法是依据 GB 4789.30-2016 进行^[4]。但是我国食品种类繁多,食品成分复杂,食品中复杂的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^[5]。

微生物标准物质是生物标准物质中较为特殊的一类,微生物的生长特性决定了微生物标准物质制备技术的特殊性,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^[6,7]。有文献报道已研制出鸡肉中单核细胞增生李斯特氏菌标准物质^[8]和乳粉中阪崎肠杆菌标准物质^[9],但此类标准物质的适用范围有一定的局限性。目前我国缺乏适用性较强的不含基质的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质,尤其是定量标准物质的研制仍处于空白状态,因此急需研制不含基质的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质,以保证单核细胞增生李斯特氏菌检测结果的准确性和可靠性。

本研究建立不含基质的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的研制方法,研制均匀性和稳定性较好且适用性较强的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质,应用于食品检测机构的质量控制和人员考核,从而提高我国食品安全检测水平。

2 材料与方法

2.1 菌株

单核细胞增生李斯特氏菌 CMCC54008,来源于中国医学细菌保藏管理中心,菌株经过 VITEK 生化鉴定为单核

细胞增生李斯特氏菌。

2.2 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); Thermo1389 生物安全柜(美国 Thermo 公司); Thermo 205050GC 恒温培养箱(美国 Thermo 公司); FORMA 恒温摇床、HYC-940 螺旋涂布仪(西班牙 IUL 公司); VITEK Compact 2 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)。

单核细胞增生李斯特氏菌显色培养基(法国科玛嘉公司); 胰蛋白胨大豆琼脂(tryptose soya agar, TSA, 美国 BD 公司); 生理盐水(国药集团); LB1 增菌液(北京陆桥公司)。

2.3 单核细胞增生李斯特氏菌的鉴定

单核细胞增生李斯特氏菌标准物质制备所用菌株来源于中国医学细菌保藏管理中心(China Medical Bacterial Species Conservation and Management Center, CMCC),编号为 CMCC54008。将单核细胞增生李斯特氏菌(CMCC54008)划线接种于 TSA 平板, $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养过夜,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 Auto flex 飞行质谱仪对菌株进行质谱鉴定,并利用全自动微生物鉴定系统进行生化鉴定。

2.4 单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的生产制备

将单核细胞增生李斯特氏菌(CMCC54008)一代新鲜培养物,划线接种于 TSA 平板, $36\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 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 $20\text{ }\mu\text{L}$ /球进行冷冻干燥,冻干后菌球的活菌浓度为 1000 CFU/球。将冻干后的菌球置于西林瓶中,真空压盖密封, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.5 单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的均匀性验证实验

从制备的一批 300 瓶标准物质中随机抽取 20 瓶,向每瓶标准物质中加入 1 mL 生理盐水溶液,使标准物质冻干菌球充分溶解,应用螺旋涂布仪以 E50 模式涂布于 TSA 平板,每个样品做 2 个平行。置 $36\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24~48h 后进行菌落计数。根据 CNAS-GL 03 对结果进行单因子方

差分析, 评价样品的均匀性^[10,11]。

2.6 标准物质稳定性的验证实验

2.6.1 运输稳定性检验

将单核细胞增生李斯特氏菌标准物质分别存放于 25 °C 和 37 °C 温箱, 模拟实验周期为 2 周, 分别于 1、3、5、7、14 d 对标准物质的含菌量进行测定。

2.6.2 储藏稳定性检验

将制备的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质于 -20、4 °C 保存。定期对单核细胞增生李斯特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 10³ CFU 浓度用于阳性对照样品的检出实验, 通过计数培养, 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。

2.7 标准物质的协作标定

使用单核细胞增生李斯特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 5 家实验室, 代码分别为 A、B、C、D 和 E, 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单核细胞增生李斯特氏菌进行检验, 包括菌落计数及生化鉴定。

2.8 标准物质使用效果的验证

根据 GB 29921-2013《食品安全国家标准 食品中致病菌限量》^[3]选择 30 种熟肉制品和即食生肉制品, 对单核细胞增生李斯特氏菌标准物质的使用效果进行验证。先将单核细胞增生李斯特氏菌 10³ CFU 浓度的标准物质溶于 1 mL 生理盐水中, 每种样品各称取 2 份, 25 g/份, 一份为样品本底, 一份为实验组, 2 份样品均加入到 225 mL 的 LB1 增菌液中, 用拍击式均质器均质 1 min。取出 10 mL 的 LB1 均质液加入到无菌试管中, 样品本底不加入菌液直接按照国标方法检测, 实验组加入 100 μL 标准物质溶液, 即实验组中单核细胞增生李斯特氏菌的浓度为 10 CFU/mL, 然后依据 GB 4789.30-2016 的第一法进行单核细胞增生李斯特氏菌的定性检验^[4]。

3 结果与分析

3.1 菌株的鉴定

挑取单核细胞增生李斯特氏菌二代平板上菌落进行质谱鉴定、使用 GN 卡利用 VITEK Compact 2 进行生化鉴定, 质谱鉴定和生化鉴定的结果均为单核细胞增生李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)。

3.2 标准物质的均匀性检验结果

随机抽取 20 瓶标准物质, 将制备的标准物质冻干菌球涂布平板后进行菌落计数, 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
Table 1 Uniformity of the reference material

样品编号	样品中单核细胞增生李斯特氏菌含量 (/×10 ³ CFU/样品)	
1	2.45	2.22
2	2.14	2.26
3	1.41	2.20
4	2.20	2.11
5	2.48	2.62
6	2.09	2.10
7	1.87	2.30
8	2.44	2.28
9	2.24	1.95
10	2.06	1.85
11	2.33	2.43
12	2.07	1.74
13	1.99	2.24
14	2.16	2.45
15	1.89	1.86
16	2.31	2.37
17	2.02	2.09
18	2.60	2.19
19	2.11	2.16
20	2.43	2.29
F 值		0.922
$F_{(0.05, 19, 20)}$		2.137
结果		均匀

根据 CNAS-GL03^[10], 对上述均匀性检测结果进行单因子方差分析。样品间均方 $MS_1=3.60 \times 10^4$, 样品内均方 $MS_2=3.90 \times 10^4$, $F = \frac{MS_1}{MS_2} = 0.922$, 查表 $FINV(0.05, 19, 20)$ 临界值=2.137, $F < F_{\text{临界值}}$, 表明在显著水平为 0.05 时, 本次所制备的单核细胞增生李斯特氏菌的标准物质样品内和样品间无显著性差异, 样品均匀性满足要求。

3.3 标准物质的稳定性检测结果

3.3.1 运输稳定性结果

将所制备的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质分别存放于 25 °C 和 37 °C 温箱, 分别于 1、3、5、7、14 d 对标准物质的含菌量进行测定, 测定结果如表 2。

表2 标准物质的运输稳定性结果

Table 2 Results of transport stability of reference material

时间/d	25 °C含菌量 /(CFU/样品)	37 °C含菌量 /(CFU/样品)
0	1750	1750
1	2100	2240
3	1820	1740
5	2250	2040
7	2080	1480
14	2140	1180

从表2可以看出,本次制备的标准物质在25 °C保存14 d后依然很稳定,活菌含量没有下降,标准物质在37 °C保存7 d后含菌量有下降趋势,但其中菌含量仍能保持在 10^3 CFU水平。上述数据表明,单核细胞增生李斯特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。

3.3.2 储藏稳定性结果

将制备的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质于-20 °C、4 °C保存。定期对单核细胞增生李斯特氏菌的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,从而评价储藏稳定性。

由表3的数据可以看出,-20 °C保藏28 d复苏率为105.1%,表明-20 °C作为标准物质的储藏条件可以满足稳定性要求,后期实验表明此批标准物质在-20 °C保存9个月复苏率仍可达到85%(数据没有展示),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28 d复苏率为101.9%,说明4 °C可以作为短期储存条件。

3.4 标准物质的实验室协作标定结果

将制备的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质,寄送给5家协作标定单位,每家单位10件样品。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。

表3 标准物质的储藏稳定性结果

Table 3 Results of storage stability of reference material

时间/d	-20 °C活菌含量/ $(\times 10^3$ CFU/样品)	-20 °C复苏率/%	4 °C活菌含量/ $(\times 10^3$ CFU/样品)	4 °C复苏率/%
0	1.75		1.75	
1	1.98	113.1	2.05	117.1
3	1.92	109.7	2.16	123.4
7	1.84	105.1	1.96	112.0
14	1.68	96.0	1.70	97.1
28	1.84	105.1	1.78	101.7

表4 标准物质的协作标定结果

Table 4 Result of collaborative calibration for reference material

样品序号	A		B		C		D		E	
	活菌含量 /(CFU/ 样品)	单增鉴定 结果								
CODE: 1	1600	是	2000	是	1800	是	1600	是	1300	是
CODE: 2	2000	是	1900	是	2000	是	1600	是	1400	是
CODE: 3	1900	是	1800	是	1900	是	1600	是	1600	是
CODE: 4	1900	是	1900	是	1800	是	1500	是	1200	是
CODE: 5	1900	是	2000	是	1800	是	1500	是	1800	是
CODE: 6	1600	是	1900	是	1800	是	1400	是	1500	是
CODE: 7	2000	是	2000	是	1700	是	1800	是	1600	是
CODE: 8	1100	是	2000	是	2000	是	1600	是	1700	是
CODE: 9	1800	是	1900	是	1800	是	1400	是	1600	是
CODE: 10	1600	是	1800	是	2000	是	1600	是	1800	是
平均值	1740	/	1920	/	1860	/	1560	/	1600	/
总平均值	1770									

本次制备的单核细胞增生李斯特氏菌标准物质, 设计目标菌的含量为 10^3 CFU/样品, 5 家实验室协作标定的结果, 样品活菌含量均在 10^3 CFU/样品的水平, 生化鉴定结果均符合单核细胞增生李斯特氏菌的特征。表明目前的单核细胞增生李斯特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。

3.5 标准物质在样品中检验的使用效果验证

选择 30 种熟肉制品和即食生肉制品, 对单核细胞增生李斯特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 4789.30-2016 进行单核细胞增生李斯特氏菌定性检验, 检验结果如表 5。

表 5 标准物质的应用
Table 5 Application of reference material

样品名称	样品本底	实验组
特级牛肉刺身	-	+
上级牛肉刺身	-	+
万威客脆皮热狗肠(蜜糖味)	-	+
双汇上海风味红肠	-	+
万威客至尊芥辣肠	-	+
万威客精致培根切片	-	+
万威客加拿大风味烟肉卷	-	+
双汇岭南风味脆皮肠黑胡椒风味	-	+
万威客料理培根	-	+
万威客台式香肠	-	+
万威客小热狗肠	-	+
万威客切片火腿	-	+
万威客口口香脆皮肠(原味)	-	+
双汇配餐金火腿	-	+
三富烟熏圆火腿	-	+
香肠先生脆皮黑椒热狗肠	-	+
万威客老北京风味火腿	-	+
双汇脆皮肠	-	+
万威客脆皮热狗肠(黑椒味)	-	+
双汇润口香玉米风味香肠	-	+
雨润玉米脆皮肠	-	+
双汇 Q 趣儿玉米风味香肠	-	+
双汇奥尔良风味精致香肠	-	+
双汇火腿肠	-	+
雨润香辣香脆肠	-	+
双汇王中王优级火腿肠	-	+
万威客卤肉风味火腿	-	+
香肠先生金装猪肉肠	-	+
万威客口口香脆皮肠(黑椒味)	-	+
双汇爆炒王	-	+

注: - : 未检出单核细胞增生李斯特氏菌; + : 检出单核细胞增生李斯特氏菌。

根据检测, 熟肉制品和即食生肉制品的实验组均检出单核细胞增生李斯特氏菌, 而样品本底均不能检出, 证明该标准物质可以满足食品中单核细胞增生李斯特氏菌检验的质控要求。

4 结论与讨论

随着 GB 29921-2013^[3]的实施和我国对食品安全的重视, 政府监管部门对食源性微生物的定量检测也提出新的要求, 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。目前, 国内相关的微生物标准物质的研制起步较晚, 尤其是微生物的生长特性受环境条件影响较大, 定量检测用相关食品微生物标准物质极其匮乏^[12,13]。

国内最早获得标准物质批号的是关于菌落总数的标准物质, 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^[8], 乳粉中阪崎肠杆菌标准物质^[14], 和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^[15,16], 近期有报道不含基质的标准物质的研制^[9,17,18]。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, 所以这些标准物质要求运输条件是低温运输^[8,14,18]。

本研究研制的标准物质有 3 大优点, 首先本研究的标准物质在室温条件下 28 d 内的稳定性良好, 表明可进行常温运输, 经济环保, 从而可节约大量运输成本。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, 在国内属于首创, 目前国际上商业化的菌球只有生物梅里埃公司生产的 BioBall。相比于粉末样品, 菌球样品的优点有便于操作, 易于溶解, 定量更准确, 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, 可用于单核细胞增生李斯特氏菌的定量检测及实验室间比对, 从而为食品安全监测和疾病预防控制提供理论依据。

参考文献

- [1] Jordan K, Mcauliffe O. *Listeria monocytogenes* in foods [J]. *Adv Food Nutr Res*, 2018, (86): 181-213.
- [2] Noordhout CM, Devleeschauwer B, Angulo FJ, et al. The global burden of *Listeriosis*: A systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2014, 14(11): 1073-1082.
- [3] GB 29921-2013 食品安全国家标准 食品中致病菌限量. GB 29921-2013 National food safety standard-Limit of pathogenic bacterial in food [S].
- [4] GB 4789.30-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 单核细胞增生李斯特氏菌检验.

- GB 4789.30-2016 National food safety standard-Food microbiological examination-*Listeria monocytogenes* [S].
- [5] 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.
- [6] 丁丽霞, 周海钧. 生物标准物质的研究和技术要求[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.
- [7] 曹丽梅. 我国生物检测用国家标准物质现状与思考[J]. 中国生物制品学杂志, 2015, 28(8): 886-888.
Cao LM. Current situation and thinking of national standard substance for biological testing in China [J]. Chin J Biol, 2015, 28(8): 886-888.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] CNAS-GL 03 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].
CNAS-GL 03 2006 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing [S].
- [11] CNAS-GL 29 标准物质/标准物质(样品)定值的一般原则和统计方法[S].
CNAS-GL 29 Reference materials-General and statistical principles for certification [S].
- [12] 叶子弘, 赵煦泓, 邹克琴, 等. 生物标准物质研究简析[J]. 中国计量, 2009, (4): 67-69.
Ye ZH, Zhao XH, Zou KQ, et al. The analysis of biological reference material study [J]. China Metrol, 2009, (4): 67-69.
- [13] 张洁. 生物标准物质的制备、发展及管理[J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20(8): 630-632.
Zhang J. The preparation, development and administration of biological reference material [J]. Chin J Biol, 2007, 20(8): 630-632.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] 薛蕾, 林婧, 隋志伟, 等. 大肠杆菌定量检测用标准物质的研制[J]. 计量学报, 2015, 36(6): 652-656.
Xue L, Lin J, Sui ZW, et al. Preparation of reference material for quantitative detection of *Escherichia coli* [J]. Acta Metrol Sin, 2015, 36(6): 652-656.
- [18] 陈敏瑾, 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: 韩晓红)

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安全检测。

E-mail: cuishenghui@aliyun.com