

标准菌株在微生物检测中的作用

罗丽珠^{1*#}, 陈婉娃^{2#}

(1. 海南省食品药品检验所儋州分所, 儋州 571700; 2. 海南省食品药品检验所五指山分所, 五指山 572200)

摘要: 随着国民经济的快速发展和人民生活水平的不断提高, 对食品和药品质量安全的要求也随之提高。在食品和药品生产中, 微生物污染引起的食源性疾病和药物安全问题频出。在质量安全要求方面, 对微生物污染的防控越来越严格, 微生物检测结果的准确性起到至关重要的作用。标准菌株是具有稳定的生物学特性并具有溯源性的, 在微生物检验中可为确保检测结果的准确性提供参考依据。本文综述了标准菌株在检验方法的确认、作为实验对照、培养基和试剂性能验证、仪器设备验证、能力验证等方面的应用, 探讨了商业派生菌株作为标准菌株在微生物检测中的发展应用, 为提高微生物检测技术, 确保检测结果的准确性提供参考依据。

关键词: 标准菌株; 食品微生物; 药品微生物

Function of standard strain in microbial detection

LUO Li-Zhu^{1*#}, CHEN Wan-Wa^{2#}

(1. Hainan Institute for Food and Drug Control Danzhou Branch, Danzhou 571700, China;
2. Hainan Institute for Food and Drug Control Wuzhishan Branch, Wuzhishan 572200, China)

ABSTRACT: With the rapid development of the national economy and the continuous improvement of people's living standards, the requirements for food safety and drug quality safety have also been raised. Food-borne diseases and drug safety problems caused by microbial contamination occur frequently in food and drug production. In terms of safety and quality requirements, the prevention and control of microbial contamination has become more and more strict, and the accuracy of microbial test results has attracted more and more attention. The standard strains have stable biological characteristics and traceability, it can provide reference for ensuring the accuracy of detection results in the microbiological testing. This paper expounded the application of standard strains in the verification of testing methods, as experimental control, performance verification of medium and reagent, equipment verification, ability verification, etc, and explored the development and application of commercially derived strains as standard strains in microbiological testing, in order to provide reference for improving microbial detection technology and ensuring the accuracy of test results.

KEY WORDS: standard strains; food microbiological; drug microbiological

[#]罗丽珠与陈婉娃为并列第一作者。

[#]LUO Li-Zhu and CHEN Wan-Wa are co-first author.

*通信作者: 罗丽珠, 工程师, 主要研究方向为食品药品微生物检验。E-mail: 1039163723@qq.com

*Corresponding author: LUO Li-Zhu, Engineer, Hainan Institute for Food and Drug Control Danzhou Branch, Danzhou 571700, China. E-mail: 1039163723@qq.com

0 引言

近年来,随着社会经济的发展和人们生活水平的提高,食品药品行业也相应地进入快速发展阶段,人们对食品和药品质量安全的要求也随之提高,虽然随着食品监控力度的不断加大,食品添加剂、农药残留等污染问题发生率不断下降,但随着环境污染、饮食方式、生产模式变化,新的病原体不断出现,抗生素滥用导致细菌耐药性产生,使食品被病原体及其毒素污染的可能性增大^[1-2]。据统计由沙门氏菌引起的食物中毒事件已位列世界之首,引起各国的高度重视^[3-4]。副溶血性弧菌是引起腹泻的主要食源性致病菌^[5],2017年韩国爆发大规模的弧菌性胃肠炎是由于鲑鱼制备过程中与紫菜包饭交叉污染后,由副溶血性弧菌引起^[6]。创伤弧菌在2006年被美国列为最危险的细菌,可引起严重的败血症^[7]。虽然在现代的药品生产质量管理规范(good manufacturing practice, GMP)生产条件下,药品微生物污染属于小概率事件,但服用药品的人本身处于健康欠佳的状态,一旦发生药品被微生物污染,其引发的后果也更加严重。食品药品安全质量的要求方面,目前对微生物污染的防控要求较严格,例如在食品工业中常利用欧姆加热^[8]、紫外线杀菌^[9],而且食品和药品生产方面均有相应的国家标准对微生物污染防控做了强制性要求,而识别对微生物的防控是否符合要求,主要通过检测食品药品的微生物含量进行检测。有研究在啤酒生产的灌装区域检测到微生物,这可能导致二次污染^[10],一些发酵食品^[11]、腌制食品^[12]本身就混杂着多种微生物,餐饮行业微生物污染频现^[13-14],在运输过程中也有可能造成微生物污染^[15]。因此必须进行食品药品微生物检测。在微生物的检测中,标准菌株作为检测工作的关键因素,是其内部质量控制的一部分,可贯穿于检测工作的各个环节。标准菌株具有稳定的生物学特性并具有溯源性,其在检测方法确认、培养基和试剂、仪器设备、能力验证等方面可起到内部质量控制作用,对确保检测结果的准确性和提高微生物检测技术具有不可替代的重要作用。本文综述了标准菌株在微生物检测中的作用,以期提高微生物检测技术。

1 标准菌株在食品药品微生物检测中的应用

1.1 标准菌株可用于检测方法的确认和证实

CL01 A001-2018《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》^[16]规定,在引入标准方法检测前,实验室应证实能够正确地运用这些标准的方法,在进行方法证实时,样品的选择最好采用自然污染样品或人为添加目标微生物的样品进行方法证实实验。GB/T 27405—2008《实验室质量控制规范 食品微生物检测》规定检测方法的确认应反映出实际检测状况,可以通过使用自然污染产品或人工污染预定微生物的样品实现。

利用核酸试纸条法检测食品中小肠结肠炎耶尔森菌实验^[17]中,其建立的新方法用 26 株小肠结肠炎耶尔森氏菌标准菌株及 26 株其他菌属标准菌株进行特异性实验,利用纯菌稀释法和样品添加法进行灵敏度实验;近几年陆续出现副溶血性弧菌的快速检测方法,如纸片法、PCR 法^[18-21]、环介导等温扩增法^[22-23]、基因芯片法^[24-25]、高效液相色谱法^[24]等,在对这些方法进行确认主要指标时均规定了使用特定目标标准菌株进行指标判定,均用到标准菌株特定的反应结果对检测方法的适用性进行评估。中国药典在无菌检查^[26]和微生物限度检查^[27]前也要求先进行方法适用性实验。在药品的无菌检查中,有的品种具有抑菌性,有的需要加入表面活性剂、灭活剂、中和剂等试剂,如注射用头孢孟多酯钠需加 β -内酰胺酶、注射用甲磺酸左氧氟沙星需加锰离子、黄体酮注射液需加 1%的吐温-80 等,这些试剂的加入,需证明其有效性,且对微生物无毒性;在微生物限度检查中,牛黄解毒片、维生素 B₂ 等具有抑菌作用,其结果的准确性,主要取决于供试品本身在实验条件下是否抑制微生物的生长繁殖,在检测前或过程中,应排除其抑菌性,使之不干扰微生物限度检查,所得结果才有效。在对这些因素是否干扰实验方法的验证中,利用标准菌株的特征性反应可起到确认和证实。

1.2 标准菌株用于实验过程质量控制

在食品微生物检验中,主要的参考 GB 4789 系列,使用标准菌株作为实验的阴、阳性对照。其菌落特征与生化鉴定等应与检验人员预期结果一致,表明结果具有可控性,若不一致,则应及时调整改进,才能保证结果的可靠性。如蜡芽孢杆菌检验^[28]的溶血实验和根状生长实验中,除用蜡芽孢杆菌的标准菌株作为对照,还以苏云金芽孢杆菌、蕈状芽孢杆菌、炭疽芽孢杆菌、巨大芽孢杆菌作为阴性对照;在李斯特氏菌^[29]的检验中,以单增李斯特氏菌、伊氏李斯特氏菌、斯氏李斯特氏菌作为阳性对照菌,以英诺克李斯特氏菌作为阴性对照菌,对比观察溶血反应,而在协同溶血实验中,还需增加马红球菌和金黄色葡萄球菌的标准菌株对照观察溶血增强现象;在大肠埃希氏菌 O157: H7/NM 的初步生化实验中,规定用大肠埃希氏菌株做阳性对照和大肠埃希氏菌 O157: H7/NM 做阴性对照,用于观察比较不同的生化实验现象。

药品种类繁多,成分复杂,有些还含有抑菌成分或抗药性,对药品微生物的检查中更着重强调标准菌株的使用。中国药典对药品的无菌检查、微生物限度检查均规定使用对照菌株,这些菌株对保证检验结果准确性具有重要参考作用。标准菌株遗传生物学特征的典型与否直接影响到检验结果的准确性,如果使用发生形态变异、菌落变异、耐药性变异等变异的细菌将会使检验结果出现偏差^[28]。

1.3 标准菌株对培养基的性能验证

培养基是以液体、半固体或固体形式的、含天然或合成成分,用于保证微生物繁殖(含或不含某类微生物的抑菌剂)、鉴定或保持其活力的物质。在 GB 4789.28—2013《食品微生物检验 培养基和试剂的质量要求》附录 D 中依据不同培养基的功能用途以及质控指标,指定相对应标准菌株作为质控菌株,通过判定测试菌株在培养基上的特征性反应、生长情况等指标是否达到标准,评估培养基的性能。目前常用于检测培养基性能的标准菌株有鼠伤寒沙门菌、金黄色葡萄球菌、化脓性链球菌、大肠埃希氏菌、副溶血性弧菌等。正是标准菌株的应用,才能发现单靠一种培养基不能完全地检测出单增李斯特氏菌,至少需要使用 2 种培养基才可增强单增李斯特氏菌检测的效率^[29]。中国药典的无菌检查法中也要求对用于无菌检查的硫乙醇酸盐流体培养基和胰酪大豆胨液体培养基进行无菌性检查及灵敏度检查,在进行灵敏度检查时,要求使用生物学特性稳定的标准菌株;而在微生物计数用的培养基适用性检查中,还要求被检固体培养基上的菌落平均数与对照培养基上的菌落平均数的比值应在 0.5~2 范围内,且菌落形态大小应与对照培养基上的菌落一致。虽然食品药品对培养基的性能验证略有不同,但都强调标准菌株在培养基性能验证方面的重要性。

1.4 标准菌株对相关试剂的性能验证

目前由于工业化的快速发展,用于微生物检测的试剂呈现种类繁多、性质复杂且因在运输、保存方面易受到多种因素影响而出现不稳定的特点,这会导致检测结果的不准确性,出现假阳性或假阴性。为保证结果的准确性,必须使用标准菌株作为质控菌株评价试剂的质量。例如,利用大肠埃希氏菌和金黄色葡萄球菌对革兰氏染色剂的有效成分进行验证^[30],利用沙门氏菌和大肠埃希氏菌 O157:H7/NM 的标准菌株对血清诊断试剂进行验证后再进行实验,以及利用弧菌对氧化酶试剂的有效性进行验证,弧菌作为阳性对照用于测试试纸,若 30 s 内出现紫色或蓝色,说明该氧化酶试剂的有效性得到保证,可用于氧化酶实验中^[31]。在周扬等^[32]的包装饮用水中铜绿假单胞菌快速检测试剂盒研制实验中,用铜绿假单胞菌标准菌株和非铜绿假单胞菌标准菌株,对试剂盒的特异性、灵敏度及准确度进行了验证,证明该试剂盒与传统方法相比具有较高的一致性,检测结果稳定、可靠。随着分子检测相关技术的不断发展,研制高效、简便的快速检测产品是未来的发展趋势,标准菌株是促进试剂创新发展的关键因素。

1.5 标准菌株对相关仪器设备的性能验证

在微生物检测工作中,常用到高压灭菌器、干热灭菌器对玻璃器皿、培养基等进行灭菌或使用紫外灯管对环境进行灭菌,而灭菌效果可靠性是检测结果数据准确性的重

要保证。因此,检验人员应定期对这些可影响检测结果准确性的仪器设备的性能进行验证,而标准菌株就是仪器设备性能验证的关键因素。此外,根据乔宁等^[33-36]的研究,标准菌株还可用于 VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统的正确度和重复性评价。目前常利用商品化的生物指示剂代替标准菌株对仪器设备性能进行验证,生物指示剂一般是由标准菌株和载体组成。CL01 A001-2018《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》^[16]中规定应定期使用生物指示剂检查灭菌设备的效果并记录,根据 GB 15981—1995《消毒与灭菌效果的评价方法与标准》,嗜热脂肪芽孢杆菌作为压力蒸汽灭菌效果指示剂;大肠杆菌、枯草杆菌黑色变种芽胞作为评价紫外线表面消毒效果的指示剂;枯草芽孢杆菌作为检测干热灭菌器灭菌效果的生物指示剂^[37]。在中国药典^[38]规定中,无菌检查用隔离系统表面灭菌效果确认,要求用于隔离系统、试验物品的表面灭菌方法应能达到使生物指示剂下降 3~6 个对数值的效应。

1.6 标准菌株可用于内部质量控制和外部质量评估

在食品药品微生物检测中,常利用可溯源的标准菌株加标样品验证检验人员的检测能力。在微生物定量检测项目,应定期使用有证标准物质/标准样品如菌落总数标准物质、大肠菌群标准物质等进行监控或使用质控样品开展内部质量控制活动;在微生物定性检测项目中,应定期使用标准物质/标准样品、质控样品或用标准菌种人工污染的样品开展内部质量控制^[37]。

在参与各实验室间能力比对的外部质量评估中,标准菌株在实验开展过程对质量控制起到很重要的作用。常用的质控方式,比如常利用标准菌株作为独立对照样品,或添加到待测样品的平行实验中,利用标准菌株的再现性结果,验证和评价实验每一流程步骤的准确性,从而为外部质量评估结果的定论提供参考依据。根据高晗等^[39-41]研究,在能力验证中使用标准菌株,可以保证样品的均匀性和稳定性,尤其是沙门氏菌要进行血清分型鉴定^[42-44],标准菌株的使用能更有效地进行质量控制,保证结果的准确性。

2 使用标准菌株的注意事项

2.1 注重期间核查,确保质量可控和溯源性

标准菌株是一种易发生变异、退化或失活可能性的有生命标准参照物。为保证标准菌株的质量、确保其可溯源性,应定期对标准菌株进行期间核查。期间核查主要包括标准菌株的活性、纯度、稳定性及关键生化特性等关键指标。在进行期间核查时,实验室可直接参照相关国家标准进行确认和核查,但也存在某些标准菌株的检测没有相应的国家标准。例如食品检测中,作为血浆凝固酶实验阴性对照的表皮葡萄球菌,作为单核细胞增生李斯特氏菌检

测中参与协同溶血实验的马红球菌等。对这些国家标准中无鉴定方法的菌株,实验室应根据其纯度检查、关键生化特征等关键指标制定作业指导书。根据许金榜^[45]的研究所述,标准菌株核查采用关键生化特性确认的方法能满足质量要求、易于操作、节约核查时间及成本。因此,实验室应根据自身实际情况对不同标准菌株建立完整的菌种确认和制定合适的核查方法。

2.2 严格执行管理和实验操作,注重生物安全

标准菌株在使用过程中应注重生物安全操作,避免泄露和交叉污染,对标准菌株的操作,应严格执行《中华人民共和国传染病防治法实施办法》^[46]和 GB 19489—2004《实验室生物安全通用要求》管理和实验操作。标准菌株的销毁处理,应参照 GB 19489—2008《实验室生物安全通用要求》中对废弃物处置相关要求,对标准菌株进行销毁处理,并形成销毁记录,避免发生类似甘肃兰州 2019 年底因使用过期消毒剂而导致布鲁氏菌泄露事件。

2.3 注重标准菌株的来源和管理

标准菌株应来源于具有可溯源性的专业菌种保藏机构或专业的权威机构,应收集标准菌。需按照规定的复苏和培养方法对标准菌株进行培养,按照规定的时间转种,所有标准菌株的传代培养次数原则上不得超过 5 次,但标准方法另有明确要求,或实验室能够证明相关的关键生化特征指标未发生改变,并对菌株的名称、编号、来源及保存日期等信息进行详细记录。

在目前检验工作中,很多实验室考虑到成本、时间、人员的因素,会使用商业派生菌株,其也是由标准菌株派生出来的,具有可溯源性。商业派生菌株一般是 3~5 代的菌种,不需要复活化、保藏和传代,即得即用。由于商业派生菌株一般会选取处于对数生长期的活菌作为原料,含菌数相对稳定。如在做药品微生物方法适用性实验时,含菌数稳定的菌悬液可以避免因接种量的差别而对回收率产生影响,提高方法的可靠性,更能体现各类样品检验方法的差异,在药品微生物限度控制菌检查方法适用性实验中还可以减少因接种量不同而导致的结果差异。刘婷婷等^[47]的研究中,采用金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌、黑曲霉 5 种商业定量标准菌株与常规标准菌株进行对比,比较回收结果,结果显示 2 种菌液回收结果差异无统计学意义,可用于药品微生物限度方法适用性实验。但商业派生菌株也存在一些缺点,例如有效期较短,多数为 6~18 个月,以及同样规格但不同的生产厂家,甚至不同生产批次之间的商业派生菌株可能会有差异等。因此应当根据需求进行采购,避免过量采购造成浪费,采购时应尽量选择同一厂家同一批次的产品,减少实验误差。另外,根据李趣嫦等^[48]的研究,商业定量菌株用于含有抑菌成分的药品微生物计数法方法的建立时,应对其进

行质量考察和风险评估。与标准菌株相同的是,商品派生菌株使用完毕后,废弃的菌液及菌种的包装瓶和瓶盖等也须按适当的方法灭活后方可丢弃^[49]。

3 结束语

由于微生物具有体积小、繁殖快、易变异的特殊性,在微生物检测中具有较高的挑战性,因此具有稳定遗传学特性并具有溯源性的标准菌株在微生物检测领域的应用显得更加重要。标准菌株的应用贯穿整个实验过程,起到内部质量和外部质量控制的作用,可以保证检测结果的准确性。实验室应充分了解、掌握标准菌株在微生物检测领域中的应用并严格遵守标准的操作规程,熟练掌握标准菌株的使用、保存、销毁等各环节,充分发挥标准菌株的作用,确保检验结果的准确性。

参考文献

- [1] 柳宏斌, 胡鹏, 王银平. 浅议食品微生物检验及其质量控制[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(9): 2624-2628.
- [2] LIU HB, HU P, WANG YP. Discussion on the inspection and quality control of microorganism in food [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(9): 2624-2628.
- [3] GALLO M, FERRARA L, CALOGERO A, et al. Relationships between food and diseases: What to know to ensure food safety [J]. Food Res Int, 2020, 137: 109414.
- [4] ALLARD M, BELL R, FERRERIA CM, et al. Genomics of foodborne pathogens for microbial food safety [J]. Curr Opin Biotech, 2018, (49): 224-229.
- [5] OCTAVIA S, ZULAINA S, SEET SK, et al. Whole-genome sequencing of the rare *Salmonella enterica* serovar anfo isolated from food handlers [J]. J Med Microbiol, 2019, 68(3): 429-431.
- [6] GULELGT, MARTINEZ-URTAZA J. Molecular characterizations of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood from the black sea, turkey [J]. Lett Appl Microbiol, 2016, 62(6): 494-500.
- [7] JUNG SW. A foodborne outbreak of gastroenteritis caused by *Vibrio parahaemolyticus* associated with cross-contamination from squid in Korea [J]. Epidemiol Health, 2018, 40: e2018056.
- [8] CHUNG PH, CUHNG SK, TSANG T, et al. Cutaneous injury and *Vibrio vulnificus* infection [J]. Emerg Infect Dis, 2006, 12(8): 1302-1303.
- [9] SHIN MJ, KIM SS, KANG DH. Application of ohmic heating for the inactivation of microbiological hazards in food products [J]. J Food Saf, 2020, 40(6): e12787.
- [10] SINGH H, BHARDWAJ SK, KHTRI M, et al. UVC radiation for food safety: An emerging technology for the microbial disinfection of food products [J]. Chem Eng J, 2020, 15: 128084.
- [11] MAGALY RS, DOLORES GDL, VICTORIA MAM. Beer spoilage lactic acid bacteria from craft brewery microbiota: Microbiological quality and food safety [J]. Food Res Int, 2020, 138: 109762.
- [12] LIN FK, CAI F, LUO BS, et al. Variation of microbiological and biochemical profiles of laowo dry-cured ham, an indigenous fermented food, during ripening by GC-TOF-MS and UPLC-QTOF-MS [J]. J Age Food Chem, 2020, 68(33).

- [12] MISHA AP. Effect of physical and microbiological parameters on ready-made pickles: A Review [J]. *Int J Food Sci Nutr Eng*, 2019, 9(2): 6.
- [13] DOERSCHER DR, LUTZ TL, WHISENANT SJ, *et al.* Microbiological testing results of boneless and ground beef purchased for the national school lunch program, 2011 to 2014 [J]. *J Food Protect*, 2015, 78(9): 1656–1663.
- [14] 李惠, 孙晓岩, 郭素英, 等. 2015-2018年营口市食品安全风险微生物检测结果分析[J]. *社区医学杂志*, 2019, 17(19): 1181–1184.
LI H, SUN XY, GUO SY, *et al.* Analysis of microbiological test results of food safety risk monitoring in Yingkou city during 2015–2018 [J]. *J Community Med*, 2019, 17(19): 1181–1184.
- [15] BARBOSA J, ALBANO H, SILVA CP, *et al.* Microbiological contamination of reusable plastic bags for food transportation [J]. *Food Control*, 2019, 99: 158–163.
- [16] CL01 A001—2018 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].
CL01 A001—2018 Description of the application of accreditation criteria for testing and Calibration laboratories in the field of microbiological testing [S].
- [17] 张宏伟, 莎日娜, 郑文杰, 等. 核酸试纸条法检测食品中小肠结肠炎耶尔森菌[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(24): 119–123.
ZHANG HW, SHA RN, ZHENG WJ, *et al.* Detection of *Yersinia enterocolitica* in food by PCR-immunoblotting strips method [J]. *Food Res Dev*, 2018, 39(24): 119–123.
- [18] 曹润冬, 王睿, 林立超. 副溶血性弧菌国家标准检测方法 with 快速检测方法的对比研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(6): 811–813.
CAO RD, WANG R, LIN LC. Comparison between the national standard test and rapid test for *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2017, 27(6): 811–813.
- [19] ZHAN X, ZHENG Q, FU J, *et al.* A rapid multiplex PCR-DHPLC method of detection and identification of pathogenic bacteria in aquatic products [J]. *J Food Saf*, 2015, 35(1): 50–58.
- [20] MCGUINNESS S, MCCABE E, O'REGAN E, *et al.* Development and validation of a rapid real-time PCR based method for the specific detection of *Salmonella* on fresh meat [J]. *Meat Sci*, 2009, 83(3): 555–562.
- [21] DE FREITAS CG, SANTANA AP, DA SILVA PH, *et al.* PCR multiplex for detection of *Salmonella enteritidis*, typhi and typhimurium and occurrence in poultry meat [J]. *Int J Food Microbiol*, 2010, 139(1-2): 15–22.
- [22] LETCHUMANAN V, CHAN KG, LEE LH. *Vibrio parahaemolyticus*: A review on the pathogenesis, prevalence, and advance molecular identification techniques [J]. *Front Microbiol*, 2014, 5(705): 1–13.
- [23] 罗茗月, 熊礼宽. 恒温扩增技术在病原体检测中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2015, 36(7): 972–976.
LUO MY, XIONG LK. Application of isothermal amplification in pathogen detection [J]. *Int J Lab Med*, 2015, 36(7): 972–976.
- [24] WANG R, HUANG J, ZHANG W, *et al.* Detection and identification of *Vibrio parahaemolyticus* by multiplex PCR and DNA-DNA hybridization on a microarray [J]. *J Genet Genom*, 2011, 8(3): 129–135.
- [25] CHEN W, YU S, ZHANG C, *et al.* Development of a single base extension-tag microarray for the detection of pathogenic *Vibrio* species in seafood [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 89(6): 1979–1990.
- [26] 中华人民共和国药典 2020年版 四部, 1101 无菌检查法[S].
Pharmacopoeia of the People's Republic of China, the 2015 edition four-part, 1101 Sterility test [S].
- [27] 中化人民共和国药典 2020年版 四部, 1105 非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法[S].
Pharmacopoeia of the People's Republic of China, the 2015 edition four-part, 1105 Microbial limit test for non-sterile products: Microbial count [S].
- [28] 朱亚虹, 黄凯, 曾环想. 药品微生物检测的质量保证[J]. *中国医药指南*, 2010, 8(33): 176, 349.
ZHU YH, HUANG K, ZENG HX. Quality assurance of drug microbiological testing [J]. *Guide of China Med*, 2010, 8(33): 176, 349.
- [29] ANDRITSOS ND, MATARAGAS M, PARAMITHIOTIS S, *et al.* Quantifying *Listeria monocytogenes* prevalence and concentration in minced pork meat and estimating performance of three culture media from presence/absence microbiological testing using a deterministic and stochastic approach [J]. *Food Microbiol*, 2013, 36(2): 395–405.
- [30] 刘静, 舒静. 标准菌株在食品微生物检测中的重要作用[J]. *食品安全导刊*, 2017, (27): 89.
LIU J, SHU J. The important role of standard strain in food microbiological detection [J]. *Chin Food Saf Magaz*, 2017, (27): 89.
- [31] 朱麟亚. 标准菌株在进行食品微生物检测中的应用价值分析[J]. *当代医药论丛*, 2019, 17(12): 199–200.
ZHU LY. Analysis of the application value of standard strain in food microbiological detection [J]. *Contem Med Symposium*, 2019, 17(12): 199–200.
- [32] 周杨, 万强, 蔡芷荷, 等. 包装饮用水中铜绿假单胞菌快速检测试剂盒的研制与评价[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(6): 1982–1992.
ZHOU Y, WAN Q, CAI ZH, *et al.* Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification-based kit for rapid detection of *Pseudomonas aeruginosa* in packaged drinking water [J]. *Microbiol China*, 2020, 47(6): 1982–1992.
- [33] 乔宁, 喻华, 殷琳, 等. VITEK 2 COMPACT 全自动微生物分析仪性能分析[J]. *淮海医药*, 2012, 30(3): 211–212.
QIAO N, YU H, YIN L, *et al.* Performance analysis of VITEK 2 COMPACT automatic microbiology analyser [J]. *J Huaihai Med*, 2012, 30(3): 211–212.
- [34] 杨晶, 王伟欢. VITEK 2 Compact 系统的应用及鉴定结果分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(18): 2643–2645.
YANG J, WANG WH. Application of VITEK 2 Compact system and its identification results analysis [J]. *Chin J Health Lab Tech*, 2016, 26(18): 2643–2645.
- [35] 孙燕萍, 彭浩, 凌霞, 等. VITEK2 Compact 全自动微生物分析系统的应用及鉴定结果分析[J]. *现代预防医学*, 2010, 37(20): 3891–3893.
SUN YP, PENG H, LING X, *et al.* Application of VITEK2 Compact automatic microbial analysis system and its identification results analysis [J]. *Mod Prev Med*, 2010, 37(20): 3891–3893.
- [36] 王燕, 钱耀先, 陈俊, 等. VITEK2-COMPACT 全自动微生物分析仪的准确度验证[J]. *现代医药卫生*, 2015, 31(10): 1524–1528.
WANG Y, QIAN YX, CHEN J, *et al.* Verification of accuracy of VITEK2-COMPACT automatic microbial analyzer [J]. *J Mod Med Health*, 2015, 31(10): 1524–1528.
- [37] 陈茵茵, 李娟. 质控品在食品微生物检测中的应用[J]. *食品与发酵科技*, 2019, 55(6): 130–135.

- CHEN YY, LI J. Application of quality control products in food microbial detection [J]. Food Ferment Sci Technol, 2019, 55(6): 130-135.
- [38] 中华人民共和国药典 2020 年版 四部, 9026 无菌检查用隔离系统验证和应用指导原则[S].
Pharmacopoeia of the people's republic of China the 2020 edition four-part, 9206 guiding principles for validation and application of isolation systems for sterility testing [S].
- [39] 高晗, 何娟, 严礼. 3 种沙门氏菌检测方法能力验证[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(2): 513-514.
GAO H, HE J, YAN L. Capability verification of three detection methods of *Salmonella* [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(2): 513-514.
- [40] 张红莉, 欧露真. 能力验证试验中沙门氏菌的分离与鉴定[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(12): 4996-4999.
ZHANG HL, OU LZ. Isolation and identification of *Salmonella* in proficiency testing [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(12): 4996-4999.
- [41] 江志杰, 张光华, 刘文杰, 等. CNAS T0781 药品的无菌检查(薄膜过滤法)能力验证结果与分析[J]. 首都食品与医药, 2018, 25(16): 104-105.
JIANG ZJ, ZHANG GH, LIU WJ, *et al.* Verification results and analysis of sterility test (membrane filtration method) of CNAS T0781 drug [J]. Capital Food Med, 2018, 25(16): 104-105.
- [42] WATTIAU P, BOLAND C, BERTRAND S. Methodologies for *Salmonella* enterica subsp. enterica subtyping: Gold standrads and alternatives [J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(22): 7877-7885.
- [43] CARDONA-CASTRO N, SANCHEZ-JIMENEZ M, LAVALETT L, *et al.* Development and evaluation of a multiplex polymerase chain reaction assay to identify *Salmonella* serogroups and serotypes [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 65(3): 327-330.
- [44] FAVIER GI, ESTRADA CSML, OTEROVL, *et al.* Prevalence, antimicrobial susceptibility, and molecular characterization by PCR and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) of *Salmonella* spp. isolated from foods of animal origin in San Luis, Argentina [J]. Food Control, 2013, 29(1): 49-54.
- [45] 许金榜. 食品微生物实验室标准菌株期间核查[J]. 现代食品, 2019, 24: 48-50.
XU JB. Intermediate verification of standard strains in food microbiological laboratory [J]. Mod Food, 2019, 24: 48-50.
- [46] 卫生部令第 17 号, 中华人民共和国传染病防治法实施办法[S].
Ministry of Health Order No. 17, Measures for the implementation of the law of the people's republic of China on the prevention and treatment of infectious diseases [S].
- [47] 刘婷婷, 牛萌萌, 张捷. 定量标准菌株在药品微生物限度检查方法适用性试验中的应用[J]. 中国药师, 2020, 23(5): 965-967.
LIU TT, NIU MM, ZHANG J. Application of quantitative standard strains in the suitability experiment of microbial limit test methods [J]. China Pharmacist, 2020, 23(5): 965-967.
- [48] 李趣嫦, 张帆, 李文靖, 等. 商业定量菌株用于药品微生物计数法建立的可行性探讨[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(11): 2093-2097.
LI QC, ZHANG F, LI WQ, *et al.* Discussion on the feasibility of commercial quantitative strains used in the establishment of microbial count method of drugs [J]. Chin J Pharm Anal, 2020, 40(11): 2093-2097.
- [49] 张帆. 商业派生菌株在药品微生物检验中的应用[J]. 药物资讯, 2020, 9(2): 35-39.
ZHANG F. Application of commercially derived strains in pharmaceutical microbiological testing [J]. Pharm Inform, 2020, 9(2): 35-39.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



罗丽珠, 工程师, 主要研究方向为食品药品微生物检验。
E-mali: 1039163723@qq.com



陈婉娃, 主管药师, 主要研究方向为食品药品微生物检验。
E-mali: 411211247@qq.com