

## 风险监测

## 婴儿配方粉干法加工过程肠杆菌科和克罗诺杆菌属监测

裴晓燕<sup>1</sup>, 李莹<sup>1</sup>, 遇晓杰<sup>2</sup>, 闫军<sup>2</sup>, 李宁<sup>1</sup>, 刘秀梅<sup>1</sup>, 杨大进<sup>1</sup>

(1. 国家食品安全风险评估中心, 北京 100022;

2. 黑龙江省疾病预防控制中心, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**目的 了解婴儿配方粉干法加工过程中肠杆菌科和克罗诺杆菌属的分布, 掌握终产品中克罗诺杆菌属的污染途径。方法 对4家企业的产品相关样品(原辅料、中间产品和终产品)和环境进行监测, 选择传统分离培养方法对肠杆菌科和克罗诺杆菌属进行检验, 利用脉冲场凝胶电泳技术进行克罗诺杆菌属溯源研究。结果 地面、空调回风口和使用后的清洁工具中肠杆菌科检出率较高, 均在20%左右。产品相关样品、清洁作业区环境相关样品中克罗诺杆菌属检出率分别为2.56% (12/468)和0.27% (6/2 185), 22株分离株共有13种脉冲场凝胶电泳(PFGE)带型, 每个企业的指纹图谱各不相同, 其中有四组分离株分别具有同源性。终产品中克罗诺杆菌属的污染主要来自原辅料, 其次为环境中定植的菌株。结论 该研究对掌握婴儿配方粉加工企业肠杆菌科和克罗诺杆菌属的污染分布及终产品中克罗诺杆菌属的可能污染源, 制定加工过程的卫生控制措施, 确保终产品的安全具有重要意义。

**关键词:** 婴儿配方粉; 干法工艺; 克罗诺杆菌属; 肠杆菌科; 脉冲场凝胶电泳; 食源性致病菌; 监测

**中图分类号:** R155 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2017)05-0610-06

**DOI:** 10.13590/j.cjfh.2017.05.019

### Survey of *Enterobacteriaceae* and *Cronobacter* spp. in the dry-mix process of powdered infant formula

PEI Xiao-yan<sup>1</sup>, LI Ying<sup>1</sup>, YU Xiao-jie<sup>2</sup>, YAN Jun<sup>2</sup>, LI Ning<sup>1</sup>, LIU Xiu-mei<sup>1</sup>, YANG Da-jin<sup>1</sup>

(1. China National Centre for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China; 2. Heilongjiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Heilongjiang Harbin 150030, China)

**Abstract: Objective** To characterize the occurrence of *Enterobacteriaceae* and *Cronobacter* spp. in the powdered infant formula factories with dry-mix process, and study the potential contamination routes of *Cronobacter* spp. **Methods** Raw materials, intermediate products, end products, and environment samples from four factories were surveyed. *Enterobacteriaceae* and *Cronobacter* spp. were detected using traditional culture method. The isolates of *Cronobacter* spp. were profiled by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). **Results** The occurrence rate of *Enterobacteriaceae* was about 20% for the samples from the ground, air conditioning outlet and used cleaning tools. The occurrence rates of *Cronobacter* spp. were 2.56% (12/468) and 0.27% (6/2 185) from the product related samples and environmental samples in cleaning work area respectively. Clonal analysis using PFGE divided 22 *Cronobacter* spp. isolates into 13 patterns, each clone was unique to each factory and only four patterns were homologous respectively. The main source of *Cronobacter* spp. in end products was raw material, followed by environmental colonization strains. **Conclusion** It would help to get the distribution of *Enterobacteriaceae* and *Cronobacter* spp. in the powdered infant formula factories, identify the potential sources of *Cronobacter* spp. in the end products, develop sanitary control measures of the production process and ensure the end product safety.

**Key words:** Powdered infant formula; dry-mix process; *Cronobacter* spp.; *Enterobacteriaceae*; pulsed-field gel electrophoresis; foodborne pathogenic bacteria; monitor

收稿日期: 2017-07-31

基金项目: 基于电子溯源的食品安全风险评估关键技术研究与应用(2015BAK36B04); 国家食品安全风险评估中心高层次人才发展“523”项目

作者简介: 裴晓燕 女 副研究员 研究方向为食品安全风险监测 E-mail: peixiaoyan@cfsa.net.cn

通信作者: 杨大进 男 研究员 研究方向为食品安全风险监测 E-mail: yangdajin@cfsa.net.cn

克罗诺杆菌属(*Cronobacter* spp.)是一种条件致病菌,在免疫力低下的人群特别是新生儿和早产儿中能引起严重的脑膜炎、坏死性小肠结肠炎和菌血症<sup>[1]</sup>。婴儿配方粉是婴儿感染克罗诺杆菌属的主要渠道之一,国内外相关食品安全标准均明确规定婴儿配方食品中不得检出克罗诺杆菌属<sup>[2-5]</sup>。2005年中国零售市场上婴幼儿配方粉克罗诺杆菌属检出率为5.19%<sup>[6]</sup>,随着政府和企业对该菌的关注度不断提高,克罗诺杆菌属的污染逐步降低,但是仍偶有检出<sup>[7-9]</sup>。

肠杆菌科作为卫生指示菌,反映了产品的卫生状况,企业应加强对产品和环境中肠杆菌科的动态监控,防止其出现异常变化,如果其检出率明显升高,提示环境卫生状况变差,可能存在致病菌(包括克罗诺杆菌属)的污染,CAC/RCP 66—2008<sup>[2]</sup>规定生产加工过程中终产品及其未包装成品中,肠杆菌科的控制标准为 $n=10$ 、 $c=2$ 、 $m=0$  CFU/10 g,即每批次检测10份样品,肠杆菌科阳性样品数不得超过2份。GB 23790—2010《食品安全国家标准 粉状婴幼儿配方食品良好生产规范》<sup>[10]</sup>环境监控指南要求对生产环境中的肠杆菌科进行监控。

婴儿配方粉有湿法、干法、干湿法复合3种加工工艺<sup>[10]</sup>,其中干法加工工艺是将粉状婴幼儿配方食品的配料成分在干燥状态下进行处理与混合而制成最终产品的生产工艺,一般包括原辅料验收、备料、倒粉、筛粉、干混、灌装、包装装箱、成品入库、出厂等步骤。本研究在我国东部、西部、南部和北部各选一家使用干法加工工艺的婴儿配方粉生产企业,启动生产加工过程中克罗诺杆菌属和肠杆菌科的监测,以掌握主要企业原辅料、中间产品、终产品和环境的卫生状况,以及克罗诺杆菌属的分布和来源。

## 1 材料与方法

### 1.1 采样

2013—2014年的第二季度和第三季度,在我国东部、西部、南部和北部各选一家使用干法加工工艺的婴儿配方粉生产企业,针对企业某一批次婴儿配方粉生产加工过程的产品相关样品(包括原辅料、中间产品和终产品)和环境相关样品(包括设备、包装、人员、工具等)进行监测。采样区域主要集中在清洁作业区,所有采集的样品均与目标批次的产品相关。同一采样区域,优先选择最容易受微生物污染的部位,如样品种类为地面时,优先选择容易积尘的角落区域。

环境监测时,采用“之”形方法用海绵涂抹棒或棉拭子擦拭。针对地面、墙壁、楼梯、设备表面等较

大区域及工作服,使用海绵涂抹棒擦拭,采样面积一般为 $1\text{ m}^2$ ,工作服包括整个前襟;门把手、开关等面积较小的区域,使用棉拭子擦拭,约 $10\text{ cm}^2$ ,一般采样面积包括整个表面;鞋底、手/手套一般涂抹2只鞋底、双手。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 肠杆菌科检验

产品相关样品和废粉等:取10 g样品加入盛有90 ml缓冲蛋白胨水(BPW);直接接触产品的包装材料(罐、盖、勺等):无菌操作,直接加入10 ml BPW冲洗罐壁、勺等,冲洗液转入无菌培养瓶;棉拭子:将采样后的棉拭子(已含有10 ml BPW)混匀;涂抹海绵:取10 ml BPW加入含有海绵棒的无菌袋中,混匀。 $(36\pm 1)\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 $(18\pm 2)\text{ h}$ 后,分别取增菌液1 ml,接种于10 ml的肠道菌增菌肉汤(EE)中, $36\text{ }^\circ\text{C}$ 培养 $(24\pm 2)\text{ h}$ 。划线接种至结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂(VRBGA),具体分离、鉴定方法参考ISO 21528-1:2004<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.2 克罗诺杆菌属检验

产品相关样品和废粉等:取100 g样品,或废粉/维生素等微量元素10 g,加入BPW,制成1:10样品匀液;直接接触产品的包装材料:加入10 ml BPW冲洗罐壁、勺等,冲洗液转入无菌培养瓶;棉拭子、海绵涂抹棒:检测方法同肠杆菌科。具体分离、鉴定方法参考GB 4789.40—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)检验》<sup>[12]</sup>。

#### 1.2.3 克罗诺杆菌属脉冲场凝胶电泳(PFGE)分型

对分离株进行PFGE分型,获得的脉冲场电泳图谱用BioNumerics数据库软件进行处理,以进行溯源分析<sup>[13]</sup>。

## 2 结果

共监测3 027份样品。监测环境相关样品2 559份,其中14.62%(374/2 559)的样品采集自一般作业区(107份)和准清洁作业区(267份),85.38%(2 185/2 559)为清洁作业区采样<sup>[10]</sup>。监测产品相关样品468份,包括原辅料、中间产品和终产品。肠杆菌科和克罗诺杆菌属检测结果见表1、2,样品中二者的检测结果无直接相关关系,分析原因应该为食品基质中细菌分布不均匀,且二者对应标准方法的检样量差别较大。

针对2013年不同企业的监测结果进行比对分析,并采取相应措施,结果显示,2014年清洁作业区环境相关样品中肠杆菌科污染率(10.25%,117/1 141)明显下降,尤其是在2014年作为重点关注的采样点,如可移动设备接触地面的部件(如轮

表1 清洁作业区环境相关样品中肠杆菌科和克罗诺杆菌属检测结果

Table 1 Result of *Enterobacteriaceae* and *Cronobacter* spp. in the environmental samples from cleaning work area

分类	样品种类	2013年			2014年		
		样品份数	肠杆菌科阳性率/%	克罗诺杆菌属阳性率/%	样品份数	肠杆菌科阳性率/%	克罗诺杆菌属阳性率/%
设备	设备外表面(包括角落)	141	14.18(20/141)	0.71(1/141)	84	3.57(3/84)	0.00(0/84)
	操作台	36	11.11(4/36)	0.00(0/36)	43	6.98(3/43)	0.00(0/43)
	可移动设备接触地面的部件(如轮子等)	21	28.57(6/21)	0.00(0/21)	23	4.35(1/23)	0.00(0/23)
	设备内表面(管道、干混器、粉仓出口等)	7	14.29(1/7)	0.00(0/7)	15	20.00(3/15)	0.00(0/15)
人员	手/手套表面	54	5.56(3/54)	0.00(0/54)	52	1.92(1/52)	0.00(0/52)
	工作服	58	46.55(27/58)	0.00(0/58)	59	16.95(10/59)	0.00(0/59)
	工作鞋底	56	39.29(22/56)	0.00(0/56)	50	20.00(10/50)	0.00(0/50)
工具	称量相关工具	44	6.82(3/44)	0.00(0/44)	59	5.08(3/59)	0.00(0/59)
	凳子	7	14.29(1/7)	0.00(0/7)	17	23.53(4/17)	0.00(0/17)
	使用后的清洁工具(抹布等)	88	18.18(16/88)	0.00(0/88)	41	21.95(9/41)	0.00(0/41)
	通讯工具(电话等)	17	5.88(1/17)	0.00(0/17)	37	5.41(2/37)	0.00(0/37)
	维修工具	7	0.00(0/7)	0.00(0/7)	20	0.00(0/20)	0.00(0/20)
	吸尘器	3	0.00(0/3)	0.00(0/3)	24	8.33(2/24)	0.00(0/24)
包装	其他	31	3.23(1/31)	0.00(0/31)	39	5.13(2/39)	0.00(0/39)
	直接接触产品的包装材料	50	22.00(11/50)	0.00(0/50)	37	5.41(2/37)	0.00(0/37)
其他	地面	80	35.00(28/80)	0.00(0/80)	107	24.30(26/107)	0.00(0/107)
	墙壁	58	24.14(14/58)	1.72(1/58)	55	10.91(6/55)	0.00(0/55)
	楼梯(包括地面和扶手)	37	24.32(9/37)	0.00(0/37)	58	6.90(4/58)	0.00(0/58)
	传递窗	10	20.00(2/10)	0.00(0/10)	15	0.00(0/15)	0.00(0/15)
	门把手	72	2.78(2/72)	0.00(0/72)	70	0.00(0/70)	0.00(0/70)
	空调送风口	10	0.00(0/10)	0.00(0/10)	40	5.00(2/40)	0.00(0/40)
	空调回风口	52	19.23(10/52)	0.00(0/52)	70	21.43(15/70)	0.00(0/70)
	开关机按钮	31	0.00(0/31)	0.00(0/31)	38	2.63(1/38)	0.00(0/38)
	空气浮游菌	48	0.00(0/48)	0.00(0/48)	73	0.00(0/73)	0.00(0/73)
	吸尘器粉尘	9	55.56(5/9)	22.22(2/9)	6	100.00(6/6)	16.67(1/6)
	生产线周围的地面粉尘	7	28.57(2/7)	0.00(0/7)	7	14.29(1/7)	0.00(0/7)
	废粉	7	42.86(3/7)	0.00(0/7)	2	50.00(1/2)	0.00(0/2)
	冲机粉	3	33.33(1/3)	33.33(1/3)	—	—	—
合计	—	1 044	18.39(192/1 044)	0.48(5/1 044)	1 141	10.25(117/1 141)	0.09(1/1 141)

注:—表示未检测该类样品或该项不进行合计

表2 产品相关样品中肠杆菌科和克罗诺杆菌属检测结果

Table 2 Results of *Enterobacteriaceae* and *Cronobacter* spp. in the product related samples

分类	样品种类	2013年			2014年		
		样品份数	肠杆菌科阳性率/%	克罗诺杆菌属阳性率/%	样品份数	肠杆菌科阳性率/%	克罗诺杆菌属阳性率/%
原辅料	基粉	55	27.27(15/55)	0.00(0/55)	35	11.43(4/35)	0.00(0/35)
	蛋白类(乳清粉等)	49	22.45(11/49)	6.12(3/49)	25	20.00(5/25)	4.00(1/25)
	核苷酸	—	—	—	2	0.00(0/2)	0.00(0/2)
	矿物质或其预混料	—	—	—	5	0.00(0/5)	0.00(0/5)
	碳水化合物	10	20.00(2/10)	10.00(1/10)	8	0.00(0/8)	0.00(0/8)
	维生素或其预混料	3	0.00(0/3)	0.00(0/3)	5	0.00(0/5)	0.00(0/5)
	脂肪类	7	28.57(2/7)	0.00(0/7)	11	0.00(0/11)	0.00(0/11)
	营养素	—	—	—	3	0.00(0/3)	0.00(0/3)
	其他	5	0.00(0/5)	0.00(0/5)	2	50.00(1/2)	0.00(0/2)
中间产品	粉仓中的半成品	—	—	—	13	7.69(1/13)	0.00(0/13)
	干混后产品(干法)	3	0.00(0/3)	0.00(0/3)	9	11.11(1/9)	0.00(0/9)
	流化床自落粉	—	—	—	2	0.00(0/2)	0.00(0/2)
	预混料(干法)	18	0.00(0/18)	0.00(0/18)	13	15.38(2/13)	0.00(0/13)
	振动筛上的粉块	4	100.00(4/4)	75.00(3/4)	4	0.00(0/4)	0.00(0/4)
终产品	其他	3	66.67(2/3)	0.00(0/3)	—	—	—
	阶段性采样	106	29.25(31/106)	3.77(4/106)	68	4.41(3/68)	0.00(0/68)
合计	—	263	25.48(67/263)	4.18(11/263)	205	8.29(17/205)	0.49(1/205)

注:—表示未检测该类样品或该项不进行合计

子等)、人员相关样品(工作服、工作鞋底)。然而,部分样品的肠杆菌科检出率一直相对较高,2013和2014年地面检测样品的肠杆菌科检出率分别为35.00%(28/80)和24.30%(26/107),空调回风口的检出率分别为19.23%(10/52)和21.43%(15/70),使用后的清洁工具检出率一直在20%左右。

3 027份样品中共有22份样品检出克罗诺杆菌属,其中产品相关样品的检出率为2.56%(12/468);清洁作业区环境相关样品为0.27%(6/2 185),包括墙壁1份、吸尘器粉尘3份、冲机粉1份、传送带表面1份。此外,在准清洁作业区监测

267份环境样品(包括工具25份、设备32份、人员19份、其他191份),仅从地面涂抹样品中检出1份克罗诺杆菌属阳性样品;一般作业区监测107份样品(包括设备27份、工具12份、其他68份),仅从地面涂抹样品中检出3份克罗诺杆菌属阳性样品。

以BioNumerics分析22株克罗诺杆菌属分离株PFGE的图谱,如图1所示,共13种PFGE带型,其中四组分离株(GF05和GF06,GF07~GF11,GF13~GF15,GF17、GF18和GF21)的PFGE酶切图谱分别相同,进一步分析发现,各组内API 20E生化编码也一致,且来自同一批次的相关样品,可判断每组分离株具有同源性。

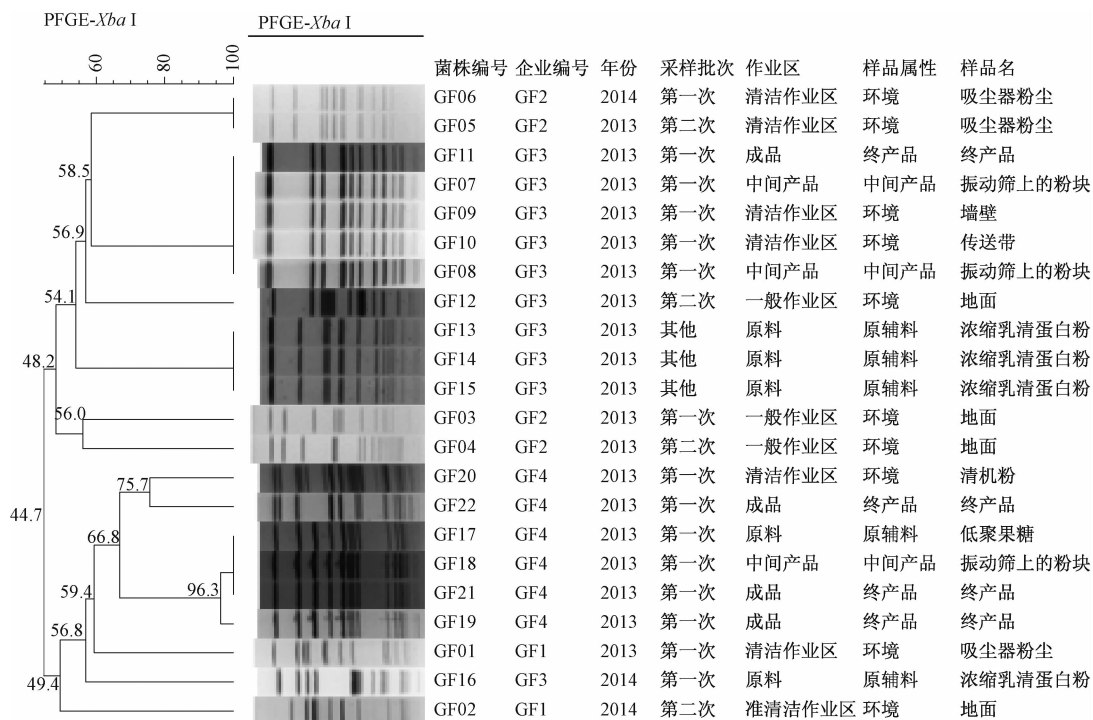


图1 克罗诺杆菌属 PFGE 分型树状图

Figure 1 PFGE dendrogram of *Cronobacter* spp.

### 3 讨论

与2013年比较,2014年企业在产品和环境相关样品中肠杆菌科检出率明显下降,克罗诺杆菌属污染得到控制。

#### 3.1 产品相关样品

2013年原辅料中克罗诺杆菌属和肠杆菌科的检出率分别为3.10%(4/129)、23.26%(30/129),2014年二者的检出率均明显降低,分别为1.04%(1/96)、10.42%(10/96)。样品采集以基粉和蛋白类(乳清粉等)最多,肠杆菌科的污染率在2014年明显降低。仅从5份原辅料中检出克罗诺杆菌属,分别为GF3企业进口自2家供货商的4份乳清蛋白粉、GF4企业采购的1份国产碳水化合物(低聚果糖)。

从监测的中间产品(除流化床自落粉)中均检出肠杆菌科(见表2),2013和2014年中间产品中克罗诺杆菌属的检出率分别为10.71%(3/28)和0.00%(0/41),3份阳性样品均为振动筛上的粉块,分离自GF3和GF4企业。

2013年终产品中克罗诺杆菌属和肠杆菌科的检出率分别为3.77%(4/106)和29.25%(31/106),2014年分别为0.00%(0/68)和4.41%(3/68)。2014年GF3企业的终产品中未检出克罗诺杆菌属,但从其原料浓缩乳清蛋白粉中检出阳性菌株,干法加工工艺缺乏高温杀菌步骤,因此相应的终产品中必然存在该菌的污染,但是由于批次检验存在采样偏移导致终产品未检出,企业应严把原辅料的进厂检验,严格控制微生物安全指标,避免

被克罗诺杆菌属污染的原辅料进入加工环节。

### 3.2 清洁作业区环境相关样品

#### 3.2.1 设备

仅从1份传送带表面检出克罗诺杆菌属。设备外表面、操作台和可移动设备接触地面的部件(如轮子等)肠杆菌科检出率在2014年均有明显下降。肠杆菌科作为指示菌,反映了整体环境的卫生状况,尤其是设备内表面的肠杆菌科污染易通过各种途径污染终产品。

#### 3.2.2 人员

人员相关样品中均未检出克罗诺杆菌属,工作人员手/手套表面肠杆菌科的检出率最低,仅为3.77%(4/106),应该与企业严格执行在岗期间操作人员手部定时消毒制度有关。员工工作服和鞋底的肠杆菌科污染率远高于手/手套表面,提示不仅要重视员工手/手套表面的清洁,还要关注工作服和鞋底,加强对所有员工卫生知识的宣教,强化个人卫生意识。

#### 3.2.3 包装材料

共监测87份直接接触终产品的包装材料,均未检出克罗诺杆菌属,但肠杆菌科的检出率为14.94%(13/87),其中2013和2014年检出率分别为22.00%(11/50)和5.41%(2/37)。作为直接接触终产品的包装材料,在制作过程中一般经过高温处理,且其材质不适合细菌增殖,但如果其高温工序后的加工、运输甚至配方粉企业储藏及拆封等过程卫生控制不严,则很有可能导致细菌污染,从而污染终产品,其卫生状况仍需重视。

#### 3.2.4 其他样品

仅从墙壁和吸尘器粉尘中检出克罗诺杆菌属,工具和其他环境样品均未检出。GF4企业在第一次生产后的1份冲机粉中检出克罗诺杆菌属,但从本次生产的原辅料、中间产品和终产品中均未检出,提示冲机粉中可能存在该菌的污染。

各类工具中,使用后的清洁工具和凳子表面肠杆菌科的检出率相对较高,分别为19.38%(25/129)和20.83%(5/24);涂抹面积较大的地面、墙壁和楼梯比较,地面肠杆菌科的检出率最高(28.88%,54/187),其次为墙壁(17.70%,20/113)和楼梯(13.68%,13/95)。空调回风口的肠杆菌科检出率为20.49%(25/122),高于空调送风口的检出率4.00%(2/50);受关注较高的开关机按钮和门把手表面肠杆菌科的污染率较低,分别为1.45%(1/69)和1.41%(2/142)。吸尘器粉尘中肠杆菌科和克罗诺杆菌属的检出率均较高,共监测15份吸尘器粉尘样品,其中11份检出肠杆菌科,3份检出克

罗诺杆菌属,吸尘器中的粉尘来源于同一作业区不同区域的积尘,具有较高的风险,如果操作不当或处理不及时,可导致二次污染,建议清洁作业区避免使用吸尘器。

2007年约旦的SHAKER等<sup>[14]</sup>从8个婴儿配方粉生产企业的8份终产品中检出2份克罗诺杆菌属阳性样品,但未从26份环境样品中检出该菌。CRAVEN等<sup>[15]</sup>对澳大利亚的5个奶粉加工厂进行监测,环境样品中克罗诺杆菌属的检出率为32%,其中非加工区和加工区分别为49%和29%,但研究中未描述清洁作业区和非清洁作业区的具体结果。

### 3.3 克罗诺杆菌属的溯源

克罗诺杆菌属是环境和食品中普遍存在的细菌,非清洁作业区容易发现该菌,通常不会马上对工厂的关键区域或产品造成污染,但是如果发现该菌阳性,则必须采取卫生措施以避免克罗诺杆菌属进入清洁作业区对产品造成污染<sup>[3]</sup>,因此需关注加工环境中不同作业区该菌的检出情况,并进行溯源研究以探索终产品的可能污染途径。

CRAVEN等<sup>[15]</sup>对克罗诺杆菌属分离株进行PFGE指纹图谱分析,结果显示45株菌是每个奶粉加工厂所特有的指纹图谱,7株菌从终产品奶粉和环境相关样品(蒸发间、员工鞋和屋顶等)中同时检出,主要流行株多分离自喷雾干燥器、空气处理区、人员流动频繁的区域。本研究中4个企业的分离株指纹图谱均为各企业所特有,不同企业间分离株PFGE图谱的最大相似度仅为66.8%,主要分离株来自地面、吸尘器粉尘、原辅料和振动筛上的粉块,分析原因应该与各企业的距离较远、原辅料来源各不相同有关。

分离自GF3企业的5株相同PFGE图谱的克罗诺杆菌属GF07~GF11,来源于第一次采样洁净区走廊墙壁、罐装间传送带外表面、不同时间段采集的振动筛上粉块及终产品,但未从其原辅料中分离到,针对发现的问题对环境彻底消毒处理并更换原料,后续监测中未再发现该菌,分析原因可能为厂房空间存在该菌的定植,在适宜的温度湿度环境中不断增殖,并通过空气流动、人员走动、灰尘扩散等污染加工环境和生产线。针对该问题,企业进一步加强进厂原辅料的检验,并在某批次的浓缩乳清蛋白粉中检出该菌(GF13~GF15),及时预防了问题产品的再次出现。

GF4企业在第一次监测中,采集的终产品中同时分离到3株具有不同PFGE带型的阪崎肠杆菌(GF19、GF21、GF22),GF21与辅料低聚果糖、振动筛上粉块分离株(GF17、GF18)的生化特征和酶切

图谱完全一致,可以初步确定污染源为低聚果糖;GF19与GF17、GF18及GF21的相似度达96.3%,具有较强的同源性,推测其可能来源于低聚果糖;GF22未从其他原辅料和环境等样品中分离到,因此尚不能确定该菌的污染源。

分离自GF2企业的2株菌GF05和GF06,分别来源于同一清洁作业区不同年份的吸尘器粉尘,可判定该生产环境中长期存在该菌的污染。

本研究了解了我国婴儿配方粉干法生产企业加工过程肠杆菌科和克罗诺杆菌属的分布,并对克罗诺杆菌属进行了有效溯源,发现需要重点关注的高风险点(如原料、可移动设备接触地面的部件、空调回风口、员工工作服和鞋底、地面、吸尘器、振动筛上的粉块等),对降低肠杆菌科和克罗诺杆菌属的污染、制定生产加工过程的卫生控制措施、确保终产品的安全具有重要意义。婴儿配方粉的原辅料不是无菌产品,厂房环境也不可能做到彻底无菌,对于缺乏高温杀菌步骤的干法加工工艺,风险因素无处不在,加工过程微生物的控制不容忽视。企业在遵守良好生产规范的同时,应逐步增强从业人员的食品安全意识,提高实验室检验水平,不断完善原辅料和环境监控体系,提高婴儿配方粉生产全过程的监控、结果分析和风险评估能力。

## 参考文献

[1] HUNTER C J, BEAN J F. *Cronobacter*: an emerging opportunistic pathogen associated with neonatal meningitis, sepsis and necrotizing enterocolitis [J]. J Perinatol, 2013, 33(8): 581-585.

[2] Codex Committee on Food Hygiene. Code of hygienic practice for powdered infant formulae for infants and young children: CAC/RCP 66-2008 [S/OL]. 2009 [2017-04-30]. [http://www.codexalimentarius.org/standards/list-standards/en/?no\\_cache=1](http://www.codexalimentarius.org/standards/list-standards/en/?no_cache=1).

[3] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 婴儿配方食品: GB 10765—2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.

[4] European Union. Commission regulation (EC) No. 1441/2007 amending regulation (EC) No. 2073/2005 on microbiological

criteria for foodstuffs[EB/OL]. (2007)[2017-04-30]. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/eur75857.pdf>.

[5] Board of Food Standards Australia New Zealand. Food standards (proposal P1039—microbiological criteria for infant formula) variation [EB/OL]. (2016)[2017-04-30]. <https://www.legislation.gov.au/Details/F2016L00784>.

[6] 裴晓燕,刘秀梅. 中国市售配方粉中阪崎肠杆菌和其它肠杆菌的污染状况[J]. 中国食品学报,2006,6(5):6-10.

[7] 国家食品药品监督管理总局. 国家食品药品监督管理总局关于2批次婴儿配方乳粉不合格的通告:2015年第51号[A/OL]. (2015-08-06)[2017-05-04]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0050/126160.html>.

[8] 国家食品药品监督管理总局. 总局关于2017年2月1批次婴幼儿配方乳粉不合格的通告:2017年第50号[A/OL]. (2017-03-28)[2017-05-04]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL1687/171213.html>.

[9] PEI X Y, YAN L, ZHU J H, et al. The survey of *Cronobacter* spp. (formerly *Enterobacter sakazakii*) in infant and follow-up powdered formula in China in 2012 [J]. Biomed Environ Sci, 2016, 29(2):99-106.

[10] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 粉状婴幼儿配方食品良好生产规范:GB 23790—2010[S]. 北京:中国标准出版社,2010.

[11] ISO. ISO 21528-1:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs—horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*—Part 1: detection and enumeration by MPN technique with pre-enrichment [EB/OL]. (2004)[2017-04-30]. <https://www.iso.org/standard/34565.html>.

[12] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 克罗诺杆菌属(阪崎肠杆菌)检验:GB 4789.40—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.

[13] 裴晓燕,郭云昌,刘秀梅. 阪崎肠杆菌脉冲场凝胶电泳分型的研究[J]. 卫生研究,2008,37(2):179-182,186.

[14] SHAKER R, OSAILI T, OMARY W A, et al. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments [J]. Food Control, 2007, 18(10):1241-1245.

[15] CRAVEN H M, MCAULEY C M, DUFFY L L, et al. Distribution, prevalence and persistence of *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) in the nonprocessing and processing environments of five milk powder factories [J]. J Appl Microbiol, 2010,109(3):1044-1052.