DOI:10.16016/j.2097-0927.202205062

人乳库捐赠人乳病原学谱分析及关键风险控制

刘 可[1],刘智勇[2],陈旭飞[1],王柔芝[1],王 丹[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院:妇产科[1],检验科[2]

[摘要] **目的** 对人乳库捐赠人乳(donor human milk,DHM)进行病原学谱分析,探讨人乳库运行环节中的风险控制。**方法** 采用液体增菌培养方法,对我院人乳库 DHM 样本进行微生物学检测。选取 2015 年 12 月至 2021 年 12 月在我院人乳库的 DHM 样本共 1 601 例,按照区组随机化分为巴氏消毒前组(n=866)和巴氏消毒后组(n=735),对 2 组样本微生物学检测结果进行病原学谱对比分析。选取 2015-2021 年人乳库环境卫生学检测结果,采用趋势分析法,分析人乳库环境感染控制效果。**结果** 巴氏消毒前 DHM 样本培养出病原体占比 74.36%,无病原体生长占比 25.64%。巴氏消毒后培养出病原体占比 12.52%,无病原体生长占比 87.48%。巴氏消毒后的病原体检出率显著低于消毒前,差异有统计学意义(P<0.05);消毒后致病菌检出率降低,差异有统计学意义(P<0.05)。对 DHM 进行厌氧和需氧培养,在 DHM 中共检出两种厌氧菌:产气荚膜梭菌和第三梭菌;人乳库环境卫生学监测合格率逐年递增,差异有统计学意义(P<0.05)。**结论** DHM 无法通过巴氏消毒完全杀灭病原体,采用液体增菌培养对 DHM 进行微生物学检测提高病原体检出率;规范环境清洁消毒提高人乳库环境卫生检测合格率,是确保人乳库运行安全的关键风险控制点。

[关键词] 人乳库;捐赠人乳病原学谱分析;风险控制

[中图法分类号] R174.4; R197.323; R954 [文献标志码] A

Pathogen spectrum analysis and key risk control of donated human milk in human milk bank

LIU Ke[1], LIU Zhiyong[2], CHEN Xufei[1], WANG Rouzhi[1], WANG Dan[1] [1]Department of Gynecology and Obstetrics, [2]Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To make pathogen spectrum analysis of donor human milk (DHM) in human milk bank and investigate the risk control in the operation of human milk bank. **Methods** Liquid hyperplasia culture was used for microbiological detection of DHM samples in the human milk bank of our hospital. A total of 1 601 DHM samples in the human milk bank of our hospital from December 2015 to December 2021 were selected. The samples were randomly divided into pre-pasteurization group (n=866) and post-pasteurization group (n=735). The results of microbiological detection of the 2 groups of samples were further analyzed with pathogen spectrum analysis. The results of environmental hygiene test for the human milk bank from 2015 to 2021 were selected and trend analysis was applied to analyze the effectiveness of environmental infection control. **Results** Before pasteurization, 74.36% of the DHM samples cultured with pathogens, and 25.64% of them were without pathogens. After pasteurization, 12.52% of the DHM samples had pathogens and 87.48% did not. The pathogen detection rate was significantly lower after pasteurization than before disinfection (P<0.05); After disinfection, the detection rate of pathogenic bacteria was decreased with statistical significance (P<0.05). Two kinds of anaerobic bacteria were detected in the DHM samples after

[通信作者] 王 丹,E-mail:swh_wang@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

anaerobic and aerobic culture: *Clostridium perfringens* and *Clostridium tertiary*. The qualified rate of environmental hygiene monitoring was increased year by year in the human milk bank ($P<0.05$). **Conclusion** Pasteurization can not completely kill the pathogen in the DHM samples. The microbiological detection of the DHM by liquid enrichment culture can improve the pathogen detection rate, and the standardized environmental cleaning and disinfection can improve the qualified rate of environmental health detection in the human milk bank. It is the key risk control point to guarantee the safe operation of the human milk bank.

[**Key words**] human milk bank; pathogenic spectrum analysis of donated human milk; risk control

Corresponding author: WANG Dan, E-mail: swh_wang@163.com

婴儿喂养首选母乳,当亲母母乳不能成为新生儿喂养的第一选择时,世界卫生组织(WHO)推荐选择来自健康的产妇或人乳库(human milk bank)的捐赠人乳(donor human milk,DHM)[1]。人乳库是收集DHM,并负责人乳消毒、加工、检测、储存、分配使用等的专业机构。建立人乳库是收集DHM的重要方式,可使母乳缺失或母乳不足的新生儿能获得母乳喂养。自1909年奥地利建立首家人乳库以来,全球已建立600余家人乳库[2],截止2019年我国大陆地区共建立19家人乳库[3]。

人乳是一种生物产品,从采集、储存、加工到食用的过程中出现污染很常见,DHM的分享存在病毒或病原体传播的风险。中国大陆地区人乳库运行质量与安全管理专家的建议中提出巴氏消毒是DHM质量的关键风险控制点[4]。微生物学检测可对DHM巴氏消毒效果进行验证及筛选,人乳库环境感染控制可保障DHM灭菌条件[5]。2020年7月中国营养学会发布了医疗机构人乳库建立与管理规范团体标准[6],但目前各地人乳库DHM微生物学检测方法及环境感控效果检测尚无统一规范,DHM病原学谱分析及人乳库环境卫生相关研究较为缺乏。因此,本研究回顾性分析我院人乳库DHM的微生物学检测结果及环境卫生学监测结果,探讨采用液体增菌培养方法对DHM进行微生物学检测,并对人乳库进行环境感控监测,以期有效预防、消除DHM的潜在风险,为人乳库运行质量安全管理、风险控制措施提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2015年12月至2021年12月在陆军军医大学第一附属医院人乳库捐赠的1 601例DHM,均为本院住院分娩的健康产妇无偿捐赠,并签署捐乳知情同意书。纳入标准:①捐赠资格符合《2013年北美母乳库建立和运行管理指南》及T/CNSS 2020-003《医疗机构人乳库建立与管理规范》中捐赠筛查要求;②冷冻储存不超过3个月,冷藏储存不超过24 h;③捐赠乳储存环境符合要求:独立区域放置且冷藏储存温度为4 ℃,冷冻储存温度为-20 ℃。排除标准:①储奶容器有破损或可疑污染;②外观可见异物或性状异常。本研究已获得陆军军医大学第一附属医院伦理委员会的批准[(B)KY202239]。

1.2 方法

1.2.1 微生物学检测方法 采用液体增菌培养法进行DHM微生物学检测,培养皿使用血培养瓶。随机抽取同一捐赠者的同一批次DHM,全部混装后用无菌注射器抽吸乳汁样本,分别注入厌氧培养瓶及需氧培养瓶各8~10 mL进行孵育。培养基采用Thermo Scientific液体微生物培养基,35~37 ℃孵育120 h,检测仪器使用Thermo Scientific™、VersaTREK™ 528、VITEK 2 COMPACT全自动微生物鉴定系统及VITEKMS质谱鉴定系统对标本进行菌种鉴定。参照全国临床微生物检验操作标准流程进行采样及细菌的分离培养,药敏标准参照美国抗微生物药物敏感性试验操作方法和判断标准(CISIM-100)。

1.2.2 环境卫生学检测方法 医院感控专职人员每月对人乳库进行环境卫生学检测,检测项目包括室内空气、物体表面、人乳库工作人员手、咽拭子共4项。①空气采样:消毒或规定通风换气后且无人走动的情况下静止10 min采样,采样高度距离地面0.8~1.5 m,放在采样位置暴露5 min,采样完成后标记培养区域及时送检;②物体表面:用5 cm×5 cm灭菌规格板放在被检物体表面,用浸有无菌0.03 mol/L磷酸盐缓冲液棉拭子在规格板内横竖往返各涂5次,连续采样1~4个规格板面积,将棉拭子放入装有10 mL无菌检验用洗脱液的试管内送检;③工作人员手:人乳库工作人员进行卫生手消毒后,用浸有无菌0.03 mol/L磷酸盐缓冲液棉拭子在手指曲面从指根到指端来回涂擦各2次,一只手涂擦面积约30 cm^2,将棉拭子放入10 mL

采样液试管内及时送检;④咽拭子:选择人乳库工作人员,使其暴露喉咙,无菌拭子轻柔迅速擦拭双侧咽扁桃体和咽后壁 3 次,将拭子垂直放入试管内,避免擦拭瓶口,及时送检。

1.3 统计学方法

所有原始数据采用 IBM SPSS 23.0 进行数据整理与分析,描述性统计方法,分类数据采用例数和百分率 n(%),两组间分类资料比较采用卡方检验,不同年份间分类资料间分布采用卡方趋势检验,$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 DHM 微生物学检测结果

2.1.1 消毒前 DHM 病原体分布情况 共送检 1 601 例 DHM 样本,巴氏消毒前组共 866 例。消毒前 DHM 样本共培养出病原体 644 株,占比 74.36%,无病原体生长 222 例,占比 25.64%。检出革兰阳性菌 334 株,占比 51.86%,革兰阴性菌 235 株,占比 36.49%,疑似污染 73 例,占比 11.34%,真菌 2 株,占比 0.31%。共检出两种厌氧菌:产气荚膜梭菌(3 株)、第三梭菌(1 株),菌种分布见表 1。消毒前 DHM 样本病原体检出株数最多的前 10 位中,前 3 位分别是表皮葡萄球菌(89 株)、鲍曼不动杆菌(59 株)、金黄色葡萄球菌(18 株),病原体检出株数前 10 位统计情况见图 1。

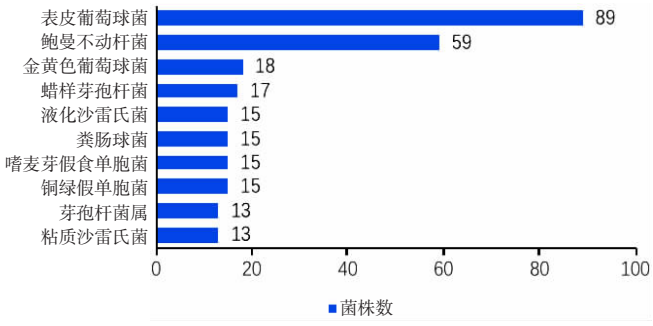


图 1 消毒前 DHM 病原体检出株数前 10 位统计情况

2.1.2 消毒后 DHM 病原体分布情况 巴氏消毒后组共 735 例 DHM 样本,培养出病原体 92 株,占比 12.52%,无病原体生长 643 例,占比 87.48%。检出病原体中革兰阳性菌 59 株,占比 64.13%,革兰阴性菌 33 株,占比 35.87%。消毒后 DHM 样本检出两种厌氧菌:产气荚膜梭菌(1 株)、第三梭菌(1 株),菌种分布见表 2。病原体检出株数最多的前 10 位中,前 3 位分别是蜡样芽孢杆菌(23 株)、芽孢杆菌属(12 株)、表皮葡萄球菌(7 株),检出病原体株数前 10 位统计情况见图 2。

表 1 消毒前 DHM 菌种分布情况及构成比($n=644$)

菌种	检出(株)	构成比(%)
革兰阴性菌	235	36.49
鲍曼不动杆菌	59	9.16
液化沙雷氏菌	15	2.33
嗜麦芽假食单胞菌	15	2.33
铜绿假单胞菌	15	2.33
粘质沙雷氏菌	13	2.01
乌尔新不动杆菌	9	1.40
琼氏不动杆菌	8	1.24
产酸克雷伯菌	8	1.24
阴沟肠杆菌	7	1.09
肺炎克雷伯菌	7	1.09
洛菲不动杆菌	6	0.93
霍氏肠杆菌	4	0.62
荧光假单胞菌	4	0.62
放射根瘤菌	4	0.62
少动鞘氨醇单胞菌	3	0.47
奥斯陆摩拉菌	3	0.47
其他	55	8.54
革兰阳性菌	334	51.86
表皮葡萄球菌	89	13.82
金黄色葡萄球菌	18	2.79
蜡样芽孢杆菌	17	2.64
粪肠球菌	15	2.33
芽孢杆菌属	13	2.01
葡萄球菌属	11	1.71
枯草芽孢杆菌	7	1.09
唾液链球菌	7	1.09
棒状杆菌属	4	0.62
溶血葡萄球菌	4	0.62
产气荚膜梭菌	3	0.47
第三梭菌	1	0.16
其他	145	22.51
真菌	2	0.31
近平滑念珠菌	1	0.155
黄曲霉菌	1	0.155
≥3 种菌生长,疑似污染	73	11.34

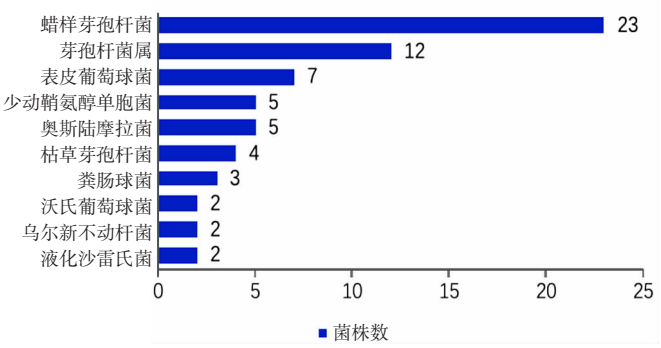


图 2 消毒后 DHM 病原体检出株数前 10 位统计情况

表 2 消毒后 DHM 菌种分布情况及构成比（$n=92$）

菌种	检出(株)	构成比(%)
革兰阴性菌	33	35.87
奥斯陆摩拉菌	5	5.44
少动鞘氨醇单胞菌	5	5.44
乌尔新不动杆菌	2	2.17
液化沙雷氏菌	2	2.17
阴沟肠杆菌	2	2.17
琼氏不动杆菌	2	2.17
鲍曼不动杆菌	1	1.09
其他	14	15.22
革兰阳性菌	59	64.13
蜡样芽孢杆菌	23	25.00
表皮葡萄球菌	12	13.04
枯草芽孢杆菌	7	7.61
芽孢杆菌属	4	4.35
粪肠球菌	3	3.26
沃氏葡萄球菌	2	2.17
产气荚膜梭菌	1	1.09
第三梭菌	1	1.09
其他	6	6.52

2.1.3 DHM 消毒前后微生物学检测结果对比 巴氏消毒后的病原体检出率明显低于巴氏消毒前,差异具有统计学意义($\chi^2=612.283$,$P<0.01$)。消毒后致病菌检出率降低,差异有统计学意义($\chi^2=418.154$,$P<0.01$),见表 3。

表 3 DHM 消毒前后微生物学检测结果对比［n(%)］

组别	n	检出病原体	检出致病菌	未检出病原体
巴氏消毒前	866	644(74.4)	488(75.8)	222(25.6)
巴氏消毒后	735	92(12.5)	57(61.9)	643(87.5)
χ^2			418.154	612.283
P			<0.01	<0.01

2.2 环境卫生学检测结果

2015-2021 年人乳库空气、物体表面、工作人员手、咽拭子进行Ⅱ类环境监测,检测结果经过卡方趋势检验,人乳库空气合格率显著提升,差异有统计学意义($P<0.05$),物体表面、工作人员手检测、工作人员咽拭子检测合格率逐年递增,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 人乳库Ⅱ类环境卫生学检测结果

年份	空气			物体表面			工作人员手			工作人员咽拭子		
	检测数	合格数	合格率(%)	检测数	合格数	合格率(%)	检测数	合格数	合格率(%)	检测数	合格数	合格率(%)
2015	12	7	58.3	24	18	75.0	12	8	66.7	16	10	62.5
2016	12	8	66.7	22	20	90.9	12	9	75.0	15	12	80.0
2017	13	11	84.6	23	20	87.0	12	10	83.0	17	15	88.2
2018	12	11	91.6	24	22	91.7	12	11	91.7	16	15	93.8
2019	12	12	100.0	25	23	92.0	13	12	92.3	16	15	93.8
2020	12	12	100.0	34	33	97.1	16	16	100.0	12	12	100.0
2021	12	12	100.0	31	31	100.0	16	16	100.0	12	12	100.0
合计	85	73	85.9	183	167	91.3	93	82	88.2	104	91	87.5
χ^2			14.180			11.436			10.826			11.019
P			0.005			0.036			0.032			0.036

3 讨论

3.1 巴氏消毒是保证 DHM 质量安全的关键环节

母乳并非无菌,研究表明采集人乳中,>75%的人乳样本有细菌生长[7]。本次调查结果显示,74.36%的 DHM 在巴氏消毒前存在病原体。检出的病原体中 75.8%为致病菌,检出菌株数的前三位中包括鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌两种致病菌。鲍曼不动杆菌是临床最重要的致病菌之一,可引起医院获得性肺炎、血流感染、腹腔感染、中枢神经系统感染、泌尿系统感染、皮肤软组织感染等[8]。若喂养污染的 DHM 可能导致新生儿败血症、坏死性小肠结肠炎等不良后果,尤其对早产儿及低体重出生儿危害更大。疑因喂养污染采集母乳引起的新生儿败血症及坏死性小肠结肠炎的病例报道并非少见[9-10]。本次调查结果显示,经巴氏消毒后 DHM 病原体检出率明显降低,且消毒后检出的病原体中,致病菌检出率降低。因此,对 DHM 进行巴氏消毒,有效消灭人乳中本身存在或加工处理过程中可能污染的细菌,是保证 DHM 质量安全的关键环节。

3.2 采用严格的微生物学检测方法,提高 DHM 病原体检出率是关键控制点

采用液体增菌培养法对 DHM 进行严格的微生物

学检测筛选,可提高病原体检出率,有利于监控巴氏消毒效果,筛选出不合格 DHM 进行丢弃销毁。本次调查中 12.5%的 DHM 因消毒后仍存在细菌而被丢弃。澳大利亚 Perron Rotary Express 人乳库 4 年间数据显示,有 26%的巴氏消毒人乳因严格微生物学检测筛选被丢弃[11]。本次调查中发现 DHM 中检出了金黄色葡萄球菌及坂崎肠杆菌,食品安全国家标准微生物检验技术[12-14]中对于该类细菌均推荐进行增菌培养。同时,延长细菌培养时间,可降低假阴性风险。本次调查检出细菌中包括苛养菌诺卡菌属,此类细菌生长速度缓慢,一般 5~7 d 可见菌落,所需培养时间较长[15]。并且对 DHM 样本同时进行需氧和厌氧培养,可以提高厌氧菌检出率。本次调查中 DHM 检出产气荚膜梭菌和第三梭菌两种厌氧菌,其中产气荚膜梭菌是人类气性坏疽的主要细菌,所致疾病包括气性坏疽、食物中毒,引起坏死性结肠炎等严重后果。该菌需在厌氧环境进行培养,可形成芽孢,能耐受 100 ℃、30 min 的加热[16],无法通过巴氏消毒完全杀灭。本次调查结果显示,产气荚膜梭菌生长的 DHM 样本消毒前后的微生物检测结果中,需氧培养基结果均为阴性,而厌氧培养基结果为阳性,我院检验科立即报危急值,人乳库启动追溯及召回程序,对 DHM 紧急溯源、召回,人乳库封库采样后终末消毒,未造成不良后果。因此,对 DHM 进行严格的微生物学检测,使用液体增菌培养,延长培养时间,需氧和厌氧培养同时进行,严格病原体筛选,是控制 DHM 质量的最后环节,可预防及消除 DHM 安全危害,是保证 DHM 质量安全的关键控制点。

3.3 加强环境清洁消毒,提高人乳库环境卫生检测合格率,是确保人乳库运行安全的关键风险控制点

对 DHM 的处理区域进行清洁和消毒的过程及评价应依照医疗机构环境表面清洁与消毒管理规范和医院感染预防与评价规范执行[6]。2019 年我院人乳库改为使用医用等离子体空气消毒器每日进行 2 次空气循环消毒,环境卫生学检测结果显示自 2019 年起人乳库空气培养合格率显著提高。2020 年我院人乳库参照我国最新颁布的人乳库团体标准对操作区域物体表面、超净台、冰箱、巴氏消毒水浴箱等仪器设备校准和消毒方式以及人乳库操作人员工作规范进行了调整和细化,环境卫生学检测结果显示,2020 年起,我院人乳库物体表面和操作人员手卫生及咽拭子检测合格率均逐年上升。规范人乳库环境清洁与消毒,按照Ⅱ类环境进行环境卫生学监测,是保障 DHM 在加工、消毒、储存和分装等环节的质量安全的关键控制点。

3.4 研究局限及结论

本研究的不足之处在于,只对 DHM 微生物检测实验方法进行了探讨,未观测 DHM 微生物检测时机及采样方式是否对检测结果及 DHM 质量造成影响。例如 DHM 微生物检测是采用随机抽样混装后采样,还是全批次混装后采样进行检测,仍需进一步探索。

综上所述,本研究表明:对 DHM 进行严格的微生物学检测,加强人乳库环境卫生学监测可以提高 DHM 质量,有效预防、消除 DHM 安全危害。我国人乳库发展建设正处于起步阶段,也是快速发展阶段,对潜在危害因素进行风险评估,确定控制措施,才能切实保障人乳库运行质量,保证提供更安全优质的 DHM,推动人乳库可持续发展,使新生儿受益。

参考文献:

[1] SAADEHM R. A new global strategy for infant and young child feeding[J]. Forum Nutr, 2003, 56: 236-238.

[2] 韩树萍, 余章斌, 陈小慧. 2013 年北美母乳库的建立和运行管理指南[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2014, 29(23): 1838-1840. DOI: 10.3760/j.issn.2095-428X.2014.23.022.
HAN S P, YU Z B, CHEN X H. Guidelines for the establishment and operation of adonorhumanmilkbanking in 2013[J]. Chin J Appl Clin Pediatr, 2014, 29(23): 1838-1840. DOI: 10.3760/j.issn.2095-428X.2014.23.022.

[3] 寸待丽. 全球母乳库运行管理模式探讨[J]. 国际儿科学杂志, 2019, 46(2): 123-126. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2019.02.013.
CUN D L. Human milk bank operation and management mode[J]. Int J Pediatr, 2019, 46(2): 123-126. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4408.2019.02.013.

[4] 中国医师协会儿童健康专业委员会母乳库学组, 中华医学会儿科学分会儿童保健学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 中国大陆地区人乳库运行质量与安全管理专家建议[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(8): 577-579. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.08.006.
Breast Milk Bank Group of Child Health Professional Committee of Chinese Medical Doctor Association, Child Health Care Group of Scientific Branch of Chinese Medical Doctor Association, Editorial Committee of *Chinese Journal of Pediatrics*. Recommendations of experts on the operation and management of human milk banks in Chinese Mainland[J]. Chin J Pediatr, 2017, 55(8): 577-579. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.08.006.

[5] 中国医师协会儿童健康专业委员会母乳库学组, 中华医学会儿科学分会儿童保健学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 中国大陆地区人乳库运行质量与安全管理专家建

议[J]. 中华儿科杂志, 2017,55(8): 577-579. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.08.006.
Breast Milk Bank Group of Child Health Professional Committee of Chinese Medical Doctor Association, Child Health Care Group of Scientific Branch of Chinese Medical Association, Editorial Committee of *Chinese Journal of Pediatrics*. Expert suggestions on the operation quality and safety management of human milk banks in Chinese Mainland[J]. Chin J Pediatr, 2017, 55(8): 577-579. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2017.08.006.

[6] 中国营养学会.医疗机构人乳库建立与管理规范: T/CNSS 2020-003[S/OL]. (2020-07-31)[2022-04-27]. https://www.cnsoc.org/notice/files/@CmsXh_1646ee69-066d-4f76-be2b-3e1dbb8cb3de.pdf.
Chinese Nutrition Society. Establishment and operation standard of human milk bank in medical institutions: T/CNSS 2020-003[S/OL]. (2020-07-31)[2022-04-27]. https://www.cnsoc.org/notice/files/@CmsXh_1646ee69-066d-4f76-be2b-3e1dbb8cb3de.pdf.

[7] COSSEY V, JEURISSEN A, THELISSEN M J, *et al*. Expressed breast milk on a neonatal unit: a hazard analysis and critical control points approach[J]. Am J Infect Control, 2011, 39(10): 832-838. DOI: 10.1016/j.ajic.2011.01.019.

[8] 陈佰义, 何礼贤, 胡必杰, 等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中国医药科学, 2012, 2(8): 3-8.
CHEN B Y, HE L X, HU B J, *et al*. Consensus of Chinese experts on diagnosis, treatment and prevention of *Acinetobacter baumannii* infection[J]. China Med Pharm, 2012, 2(8): 3-8.

[9] BHATIA J. Human milk and the premature infant[J]. Ann Nutr Metab, 2013, 62(Suppl 3): 8-14. DOI: 10.1159/000351537.

[10] MURGUIA-PENICHE T, KIRSTEN G F. Meeting the challenge of providing neonatal nutritional care to very or extremely low birth weight infants in low-resource settings[J]. World Rev Nutr Diet, 2014, 110: 278-296. DOI: 10.1159/000358476.

[11] SIMMER K, HARTMANN B. The knowns and unknowns of human milk banking[J]. Early Hum Dev, 2009, 85(11): 701-704. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2009.08.054.

[12] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准,食品微生物学检验,金黄色葡萄球菌检验: GB 4789.10-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National standard for food safety, microbiological examination of food, Examination of *Staphylococcus aureus*: GB 4789.10-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.

[13] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 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[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National standard for food safety, microbiological examination of food, Examination of *Listeria monocytogenes*: GB 4789.30-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.

[14] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准,食品微生物学检验,克罗诺杆菌属: GB 4789.40-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National standard for food safety, microbiological examination of food, Examination of *Cronobacteria*: GB 4789.40-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.

[15] 王桂琴, 强华. 医学微生物学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2016: 154-155.
WANG G Q, QIANG H. Medical microbiology[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2016: 154-155.

[16] JUNEJA V K, NOVAK J S, HUANG L H, *et al*. Increased thermotolerance of Clostridium perfringens spores following sublethal heat shock[J]. Food Control, 2003, 14(3): 163-168. DOI:10.1016/S0956-7135(02)00060-9.

(**收稿**:2022-05-12;**修回**:2022-06-10)
(编辑 张艺霖)