

中国营养保健食品协会团体标准

T/CNHFA 232—2023

---

粉状婴幼儿配方食品生产环境中  
克罗诺杆菌属的监控指南

Guidelines for Monitoring *Cronobacter* spp. in The Production  
Environment of Powdered Infant Formula Food

2023 -10 -08 发布

2023- 11-01 实施

---

中国营养保健食品协会 发布

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

有关专利的说明（参考 GB/T 1.1-2020 附录 D）

本文件由中国营养保健食品协会归口。

本文件起草单位：东北农业大学；纽勤生物科技（上海）有限公司；黑龙江飞鹤乳业有限公司。

本文件主要起草人：姜毓君；张微；满朝新；黄炎；赵现明；杨鑫焱；王莉涵；刘英涛。

# 粉状婴幼儿配方食品生产环境中克罗诺杆菌属的监控指南

## 1 范围

本标准适用于以乳类或大豆及其加工制品为主要原料的粉状婴幼儿配方食品（包括粉状婴幼儿配方食品、粉状较大婴儿和幼儿配方食品）的生产企业。

本标准适用于粉状婴幼儿配方食品生产环境中克罗诺杆菌属的监控。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB 4789.40 食品微生物学检验 克罗诺杆菌属（阪崎肠杆菌）检验

GB 23790 粉状婴幼儿配方食品良好生产规范

GB/T 16292 医药工业洁净室（区）悬浮粒子的测试方法

GB/T 16293 医药工业洁净室（区）浮游菌的测试方法

GB/T 16294 医药工业洁净室（区）沉降菌的测试方法

GB 4789.41 食品微生物学检验 肠杆菌科检验

GB14881 食品生产通用卫生规范

GB 19489 实验室生物安全通用标准

婴幼儿配方乳粉生产许可审查细则（2022版）

Q/FMT 0011 S 食品及其加工环境采样通则

T/CNHFA 001 商品化试剂盒检测方法 克罗诺杆菌属（阪崎肠杆菌）方法一

## 3 生物安全措施

为了保证检测结果的准确性和实验室人员的安全，以及防止工作环境的交叉污染，应由具备资格的工作人员检测，所有培养物和废弃物（含实验器皿和工具）的处理应按照 GB 19489 有关规定执行。

## 4 术语和定义

### 4.1 工作人员及其物品 Staff and Their Belongings

生产工厂参与加工过程的人员及其物品，如操作人员的手、工服、手套、鞋、帽子与口罩等。

### 4.2 肠杆菌科 Enterobacteriaceae

在给定条件下发酵葡萄糖产酸、氧化酶阴性的需氧或兼性厌氧革兰氏阴性无芽胞杆菌。

## 5 采样方法

应根据表面类型和采样位点来选择合适的采样工具和方法。

### 5.1 拭子涂抹采样方法

指示菌与致病菌检验采样，使用浸有无菌 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水或无菌缓冲蛋白胨水（根据监测目标不同，参考 GB 4789.40 或 GB 4789.41）的拭子 1 支，在一定区域内（ $10\times 10\text{ cm}^2$ 、 $15\times 15\text{ cm}^2$ 、 $20\times 20\text{ cm}^2$ 、 $25\times 25\text{ cm}^2$  等，根据实际选择能够显示出环境微生物情况的最小面积作为采样面积）水平、垂直与对角线方向各涂抹 10 次，并随之转动拭子。将涂抹后的拭子放入装有 10 mL 采样液的试管中保存或直接送检。或使用带有采样液的商业化采样工具，对表面进行无菌采样，具体使用方法参照商业化采样工具说明书。对于不规则表面应尽量涂抹交叉位置。具体采样方法见附录 A。

采样应符合无菌操作的要求，一件采样器具只能盛装一个样品，防止交叉污染。

采样后，对所采区域进行清洁和消毒，以避免采样过程在采样位点表面处残留营养物质。

### 5.2 海绵涂抹采样方法

指示菌与致病菌检验采样，使用浸有无菌 0.03 mol/L 磷酸盐缓冲液或无菌生理盐水或无菌缓冲蛋白胨水（根据监测目标不同参考 GB 4789.40 或 GB 4789.41）的涂抹海绵，对表面进行无菌采样。在一定区域内（ $20\times 20\text{ cm}^2$ 、 $25\times 25\text{ cm}^2$ 、 $30\times 30\text{ cm}^2$ 、 $35\times 35\text{ cm}^2$ 、 $100\times 100\text{ cm}^2$  等，根据实际选择能够显示出环境微生物情况的最小面积作为采样面积）水平、垂直与对角线方向各涂抹 10 次，并随之转动涂抹海绵，完成采样后仅保留海绵，无菌剪去手接触涂抹棒部分，将涂抹海绵放入装有 10 mL 采样液的采样袋中保存或直接送检。中和缓冲液的选择应满足工厂实际使用的消毒剂种类及供应商提供的该中和缓冲液对工厂使用的消毒剂组分的中和能力。对于不规则表面应尽量涂抹交叉位置。具体采样方法见附录 A。采样要求参考 5.1

### 5.3 空气采样

空气采样方法依据《婴幼儿配方乳粉生产许可审查细则》（2022 版），参照 GB/T 12693 与 GB/T 12694。

### 5.3.1 自然沉降法

沉降菌采样方法参考 GB/T 12694，沉降菌测试的最少采样点数目可参照 GB/T 12692。工作区采样位置离地 0.8~1.5 m 左右，可在关键设备或关键工作活动范围处增加测点。

### 5.3.2 撞击法

浮游菌采样使用撞击法进行，具体采样方法参考 GB/T 12693。最少采样点数目要求与 5.3.1 相同。

## 6 采样位点

样品采集前，对采样工具及采样位点进行标记和编号，并拍摄对应采样位点照片，便于结果的溯源。在生产期间不得对设备内表面进行样本采集。推荐监测位点参见附录 C，企业可根据生产规模、生产工艺、设施布局等自身情况进行相应调整。

### 6.1 地面与相关物品

采样布点：室内面积不超过 30 m<sup>2</sup>，在对角线上均匀设置三点，位点距墙 1 m；室内面积超过 30 m<sup>2</sup>，设东、西、南、北、中五点，周围 4 点距墙 1 m，详细布点方法见附录 B。

机台粉、扫地粉及吸尘器：对清洁和准清洁作业区的机台粉、扫地粉及移动吸尘器的吸尘管或积尘器进行涂抹和检验。

### 6.2 门把手

各个车间进出门把手内外分别采用涂抹采样方式，对整体面积进行采样。

### 6.3 墙壁和天花板

采样布点：采样点布置规则参见附录 B。

## 6.4 工作人员及其物品

### 6.4.1 手

员工手部采样方法参考 Q/FMT 0011 S，五指并拢，用 1~2 支采样拭子在掌心面从指尖到指端来回涂抹 10 次，覆盖手部全面积。

### 6.4.2 工作服

在最可能接触产品的工作服的部位（如：袖口、门襟处）进行涂抹采样。

### 6.4.3 手套

手套样本包括生产车间工人的 2 只手套，使用采样拭子对手套全部位置进行擦拭。

#### 6.4.4 工作鞋

取样面积为 100 cm<sup>2</sup>，鞋底缝隙中加强涂抹，并随之旋转采样工具。

#### 6.4.5 工帽

使用拭子对工帽全部面积进行擦拭。

#### 6.4.6 口罩

使用拭子对口罩内外侧全部面积进行擦拭。

#### 6.5 残留物

使用无菌采样工具刮取表面残留物至无菌采样袋中或使用真空吸尘器里的粉尘作为有效样品。

#### 6.6 室内空调风口

采样布点：室内空调风口监测点位置距离送风面 30 cm 左右。同时，对于室内空调风口表面整体进行涂抹采样。

#### 6.7 工作台与生产设备

按照整体生产流程，对各个生产设备进行采样，设置三个位点，即生产进口、中段（如加料口或测温口）、末端出口。每处选取触碰频率最高及最难清洗的部位作为采样点，另外，移动设备与地面接触的部位应作为采样点。

#### 6.8 水源样本

水源样本一般包括洗手用水、生产用水、杀菌前管路滞水、杀菌后的物料泵的冷凝水、洁净区冰箱的冷凝水等，均采用无菌采样管（带刻度）进行接取，在采样前应使用 75%酒精对双手进行消毒，使用无菌采样管（带刻度）接取 20-30 mL 水样，记录采样位点及水源用途。

#### 6.9 非固定采样位点

采样点：外部通风口、排水口、死角、落灰落粉处、设备外露电线、接触产品包装材料、维修工具、开关机按钮、采样房间的称量工具、装小料的箱子内表面等。对于非固定采样位点在条件允许情况下应拍摄照片，或进行详细文字记录说明。

### 7 采样时间

一般来说，在消毒处理后（4 小时）或生产过程中（3 小时后），可根据工厂实际生产

情况，评估所采集样品的高风险时间段。当常规采样中发现阳性结果，存在于高风险区域、或是可以预见成为高风险区域时（如维修后、停产后重新开工及其他突发事件）进行调查采样。对于工作人员的手部采样，则在生产工人进入车间之前的消毒后进行采集。工作手套、工作服、工作鞋和工作帽的采样时间，则在生产工人上班换工作手套、工作服、工作鞋和工作帽之后和加工过程中进行采集。口罩则在生产工人加工过程结束后进行样品采集。

## 8 采样频率

企业可根据历史检测数据的趋势和污染的严重程度及生产周期来调整频率。当污染风险增加时，如存在工厂维护、施工和湿清洁等情况，应增加取样频率，清洁作业区、准清洁作业区与一般作业区的划分参考 GB 23790。

### 8.1 清洁作业区和准清洁作业区

涂抹采样：清洁作业区最低监控频次为每周一次，采样点数量可基于房间面积和风险评估视具体情况而定，不应一直在一周的同一天取样。准清洁作业区每 2 周一次，采样点数量可基于房间面积和风险评估视具体情况而定，且不应一直在一周的同一天或同一周内取样。采样过程应覆盖所有需采样位点。

空气采样：清洁作业区空气沉降菌和浮游菌最低监控频次为每周一次，每个月全面覆盖区域一次。

水源采样：每周一次或每月 2 次，每次 5 个样品。

### 8.2 一般作业区

每月一次。

### 8.3 工作人员相关物品

每周一次，或每月两次，根据人员所处作业区进行采样频率的选择，要求覆盖生产操作过程中人员及其使用物品。

## 9 样本采集后整理、保藏及运输方法

将采集完成并标注位点序号及位点具体名称的样品封口后，按照不同清洁分级区域或不同生产车间进行分类，并将同一区域或车间内所采样本进行分类分装（地面、墙面、空气、设备、非固定采样位点样本），装入无菌样品袋中封口，并于袋身标注清洁分级区域或不同生产车间名称、日期时间（年/月/日）以及工厂名称，正向保藏于 4°C 恒温恒湿环境中，以避免微生物在储存运输过程中繁殖，待进一步微生物检验工作的开展。如需长途运输样品至第三方实验室，需将样品放置于低温储运箱或恒温冰箱中进行运输，低温储运箱中放入 3-4 个标准型号冰袋，建议运输时长不超过 24 h。

## 10 监测项目

在监测清洁作业区、准清洁作业区、一般作业区与工作人员相关物品的克罗诺杆菌属时，需将肠杆菌科作为指示菌共同检验。肠杆菌科的数量作为设备设施中卫生程序的有效性验证，当采样相关位点的肠杆菌科数量出现异常波动时应进行克罗诺杆菌属的全面检验。

## 11 检验方法

### 11.1 克罗诺杆菌属检测方法

按照 GB 4789.40 的规定进行，或按照 T/CNHFA 001 的规定进行。

### 11.2 肠杆菌科检测方法

按照 GB 4789.41 的平板计数法计数，或使用 Petrifilm™ 肠杆菌科测试片计数。

## 12 监测要求

清洁作业区如检出克罗诺杆菌属阳性，应停产整顿，深入调查，进行根本原因分析。检查阳性样本采样点及其所有方向和周围的区域，寻找克罗诺杆菌属的潜在来源，尤其注意有利于克罗诺杆菌属的栖息地，并对可疑区域进行清洁消毒。工厂应将任何涉及的设备 and 部件进行有效地拆卸和清洁消毒，将阳性位点及周围可疑区域的环境监控频率增加到每周，直到环境监控连续 3 次取得阴性结果。

准清洁作业区如检出克罗诺杆菌阳性，应重点关注阳性样本采样位点及相关区域，采取清洁卫生以消除该区域的污染，以避免污染到清洁作业区。

一般作业区存在污染时，也需采取措施以消除该区域的污染，以避免污染扩散到准清洁作业区与清洁作业区。



## 附录 A

(资料性)

A 涂抹取样方法：在取样区域内水平方向涂抹 10 次，垂直方向涂抹 10 次，对角线方法再涂抹 10 次，取样时间 30 s 左右。（见图 A）

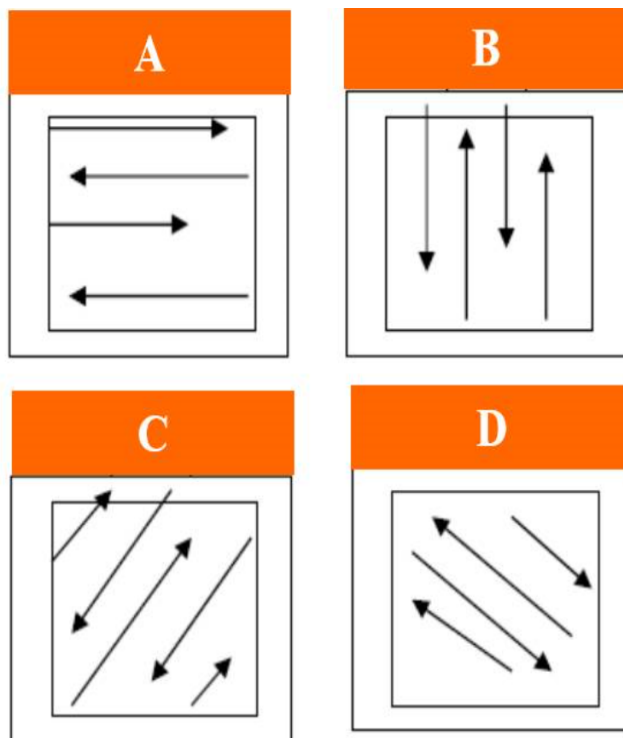


图 A 涂抹取样方法

## 附录 B

(资料性)

B 采样点布置应均匀，避免采样点在局部区域过于稀疏。下列采样点布置图示可作参考。

(见图 B)

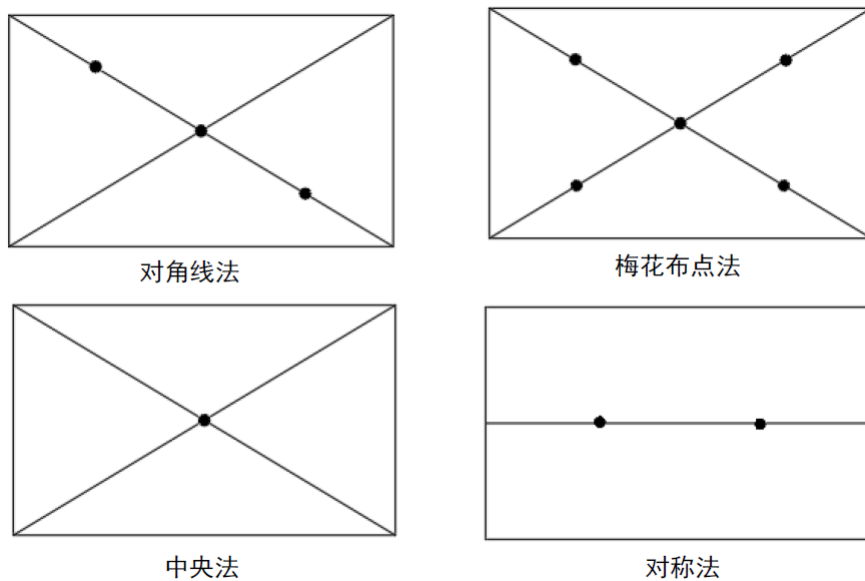


图 B 平面采样点布置图

## 附录 C

(资料性)

表 1 推荐监测位点

	区域	位点
1	清洁作业区	洁净间入口
2		门把手
3		门上沿
4		风淋间
5		地面
6		地漏口
7		墙面
8		湿度计上沿
9		钟表上沿
10		消防柜内
11		电机柜内
12		流化床表面(缝隙)
13		流化床旋钮
14		流化床螺母
15		流化床残粉
16		干混机表面
17		干混机内壁
18		粉塔表面
19		喷雾干燥塔检修口
20		管道中的定位孔
21		预混机内壁
22		塔口内壁
23		出粉口
24		粉仓表面
25		粉仓内壁
26		管道表面
27		吸粉管内壁口
28		振筛表面
29		灌装机表面
30		灌装机计量器表面
31		灌装机输送带表面
32		管道空隙
33		大包粉表面
34		电子秤表面
35		杀菌隧道表面
36		筛面
37		灌装机内壁
38		大包粉管道内

39		大包粉车间封口机
40		大包粉车间接粉机口和乳粉接触的位置
41		大包粉车间封袋时残粉
42		大包粉车间空气
43		大包粉车间包材、线圈
44		清洁工具
45		空调回风口
46		排风口、送风口滤网
47		洁净服
48		洁净鞋底部
49		人员手
50		工服
51		工鞋
52		手套
53		口罩
54		工帽
55		楼梯夹缝
56		张贴板缝隙
57		安全门缝隙
58		衣柜同墙壁的缝隙
59		设备表面粘贴的胶带
60		设备连接的螺母缝隙
61		灯罩积粉
62		墙壁压力表连通处缝隙
63		传送带外出口
64		传递窗
65		风管凹隙处
66		卫生死角
67		工具车
68		工具箱
69		洗手液
70	准清洁作业区	杀菌隧道
71		超巴杀设备表面
72		配料缸表面
73		均质机表面
74		浓奶缸表面
75		喷粉平衡缸表面
76		粉塔表面
77		高压泵表面及管道
78		墙面
79		地面
80		包材风淋间
81		准洁净货梯
82		门把手

83		工器具
84		超巴杀内壁
85		配料缸内壁
86		平衡缸内壁
87		浓奶缸内壁
88		粉塔内表面
89		管道内壁
90		工服
91		工鞋
92		人员手
93		手套
94		口罩
95		工帽
96		便鞋工位

注：人流物流及其相关的区域应作为推荐监测位点