

实验动物四种呼吸道病原菌实验室检测能力验证结果分析

冯育芳, 王洪, 付瑞, 张雪青, 高强, 岳秉飞, 邢进

(中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所, 国家啮齿类实验动物资源库, 北京 102629)

[摘要] **目的** 通过实施实验动物支气管鲍特杆菌、嗜肺巴斯德杆菌、多杀巴斯德杆菌和鼠棒状杆菌检测能力验证活动, 达到评估实验动物检测机构的检验能力, 提高实验动物质量检测水平的目的。**方法** 2021年和2022年按照中国合格评定国家认可委员会(China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS)相关准则设立NIFDC-PT-309和NIFDC-PT-363两个项目(分别检测实验动物样品中呼吸道病原菌支气管鲍特杆菌/嗜肺巴斯德杆菌、鼠棒状杆菌/多杀巴斯德杆菌), 开展能力验证活动。制备4种实验动物呼吸道病原菌和阴性对照大肠埃希菌的冷冻干燥样品; 均匀性和稳定性检验合格后, 随机分组编号, 将样品发放给参加单位, 要求在规定时限提交检验报告和原始记录。反馈的结果与样品设置一致的判定为满意结果, 不一致或未按时提交的判定为不满意结果。**结果** 2021年共有29家实验室参加了NIFDC-PT-309项目, 获得满意结果的实验室为27个, 满意率为93.1%。2022年共有30家实验室参加了NIFDC-PT-363项目, 满意率为100%。**结论** 国内大多数实验动物质量检测机构具备较强的呼吸道病原菌检测能力, 并且通过开展能力验证活动这一检测能力正在稳步提升。

[关键词] 支气管鲍特杆菌; 嗜肺巴斯德杆菌; 多杀巴斯德杆菌; 鼠棒状杆菌; 能力验证

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)06-0498-07

Result Analysis of Proficiency testing for Four Respiratory Pathogens in Laboratory Animals

FENG Yufang, WANG Hong, FU Rui, ZHANG Xueqing, GAO Qiang, YUE Bingfei, XING Jin

(National Rodent Laboratory Animal Resources Center, Institute for Laboratory Animal Resources, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Correspondence to: XING Jin (ORCID: 0000-0001-8397-5732), E-mail: xjvet@nifdc.org.cn

[ABSTRACT] **Objective** To assess the ability of the inspection institutions of laboratory animals and to improve their detection levels through the implementation of the proficiency testing for the detection ability of *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pasteurella multocida* and *Corynebacterium kutscheri* in laboratory animals. **Methods** According to the proficiency testing scheme approved by China National Accreditation Service for Conformity Assessment (CNAS), the two projects, NIFDC-PT-309 and NIFDC-PT-363 in 2021 and 2022 were set up, respectively. The samples of respiratory tract pathogens in laboratory animal were prepared by freeze-drying at low temperature. The samples were randomly grouped and numbered through the CNAS platform and issued to participating units after passing the homogeneity and stability tests. A work instruction was attached with each sample set. The inspection reports and original records were required to be submitted within the specified time. If the feedback results were consistent with the sample setting, the results were deemed as satisfactory, and if the feedback results were inconsistent or not submitted on time, the results were deemed as unsatisfactory. **Results** There were 29 laboratories joined to NIFDC-PT-309, 27 laboratories (93.1%) achieved satisfactory test results. There were 30 laboratories joined to NIFDC-PT-363, the satisfaction

[基金项目] 国家重点研发计划“基础科研条件与重大科学仪器设备研发”重点专项“实验动物新发病原检测与抗体评价关键技术体系建立”(2021YFF0703100)

[第一作者] 冯育芳(1981—),女,博士,副研究员,研究方向:实验动物微生物学。E-mail:fengyufang@nifdc.org.cn。

[通信作者] 邢进(1979—),男,博士,研究员,研究方向:实验动物微生物学。E-mail:xjvet@nifdc.org.cn。ORCID: 0000-0001-8397-5732

rate is 100%. **Conclusion** Laboratory animal quality inspection institutions have the ability to detect respiratory pathogens, which gets steadily improved through the ability verification activities.

[Key words] *Bordetella bronchiseptica*; *Pasteurella pneumotropica*; *Pasteurella multocida*; *Corynebacterium kutscheri*; Proficiency testing

支气管鲍特杆菌、嗜肺巴斯德杆菌、多杀巴斯德杆菌和鼠棒状杆菌均属于国家标准规定的实验动物需要检测的呼吸道病原菌。这4种病原菌对不同的实验动物危害程度不等：支气管鲍特杆菌主要感染大鼠、豚鼠和兔等动物，仔兔感染后症状严重，可发生急性死亡，成年兔和其他动物多表现为鼻炎、支气管炎等呼吸道疾病^[1]；嗜肺巴斯德杆菌主要感染啮齿类实验动物和兔，引起肺炎、中耳炎、结膜炎等症状，日常检出率较高^[2]；多杀巴斯德杆菌感染宿主范围广泛，实验豚鼠、仓鼠、兔、鸡和猪需要排除多杀巴斯德杆菌感染，日常检测中兔的急性或亚急性死亡常由该菌引起^[3]；鼠棒状杆菌往往呈隐性感染，多由于实验操作或感染因子引起机体免疫功能异常而发病，在大鼠中表现为肺脓肿，在小鼠中多见肾脏和肝脏脓肿，会对呼吸系统等方面的研究造成严重影响^[4]。这4种病原菌或对动物危害很大，或感染率较高，因此要求全国各省市实验动物检测机构具备相应的检测能力。定期参加实验室能力验证活动可以检验机构自身检测能力、及时发现问题并进行针对性的提升，为把控实验动物质量提供技术保障。

通过比较各实验室在实验动物细菌质量控制方面的检测能力，可以发现参加能力验证活动的实验室所存在的问题，从而深入分析全国各省市质检机构的实验动物质量评价体系现状，并探讨实验动物行业的实验室如何通过参与能力验证活动来促进检测水平的提升^[5-6]。近2年来，中国食品药品检定研究院（以下简称中检院）依据ISO/IEC 17043：2018《合格评定 能力验证的通用要求》开展了2次检测能力验证活动。2021年的项目为“NIFDC-PT-309-实验动物样品中呼吸道病原菌（支气管鲍特杆菌和嗜肺巴斯德杆菌）的检测”，2022年的项目为“NIFDC-PT-363-实验动物样品中呼吸道病原菌（鼠棒状杆菌和多杀巴斯德杆菌）的检测”。通过组织4种呼吸道病原菌的检测能力验证，初步评价参加实验室对实验动物呼吸道病原菌的检测能力。现将这2次验证情况报告如下。

1 材料与方法

1.1 菌株

支气管鲍特杆菌（*Bordetella bronchiseptica*）ATCC 19395 购自美国标准培养物保藏中心，鼠棒状杆菌（*Corynebacterium kutscheri*）CMCC65013 和大肠埃希菌（*Escherichia coli*）CMCC44110 购自中国医学细菌保藏管理中心，嗜肺巴斯德杆菌（*Pasteurella pneumotropica*）200077 和多杀巴斯德杆菌（*Pasteurella multocida*）200061 为本实验室分离菌株。上述5种验证菌株均由本实验室保存，用于2次能力验证活动。其中大肠埃希菌作为阴性对照运用于能力验证。

1.2 培养基及试剂

哥伦比亚血琼脂培养基（英国Oxoid公司，CM0331），胆硫乳琼脂培养基（deoxycholate hydrogen sulfide lactose agar, DHL）（青岛海博生物技术有限公司，HB4087），脱纤维羊血（北京陆桥技术股份有限公司），生理盐水（石家庄四药有限公司），细菌鉴定仪用鉴定肉汤管（246001）、革兰阴性菌鉴定板（448007）和阳性菌鉴定板（448911）（美国BD公司），葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、尿素、明胶等生化鉴定培养基（北京三药科技有限公司）。DNA提取试剂盒（德国Qiagen公司，51306），PrimeSTAR[®] HS（Premix）（R040A）和琼脂糖（5261）（日本TaKaRa公司）。

细菌保护液基础液由中检院食品化妆品检定所提供，加入10%无菌脱纤维羊血，制成此次比对样品保护液。

1.3 主要仪器

A2级生物安全柜（NUAIR-NU-437-400S），恒温培养箱（Thermo IGS180），全自动细菌鉴定仪（BD Phoenix-100），冷冻离心机（Hettich 22R），冷冻干燥机（Labconco 4.5L），电子天平（Mettler Toledo ML4002），PCR仪（ABI VeritiTM96）。

1.4 菌株验证

取出冻存的5株验证菌株，用接种环分别接种于血琼脂平皿（含5%脱纤维羊血，下同）复苏，36℃培养48 h。分别挑取初代平皿中单个菌落再转种

至血琼脂平皿, 过夜培养后用于鉴定。鉴定方法采用生化鉴定和序列测定2种方式。参考国家标准 GB/T 14926.5、6、9、12—2001^[7], 对4株阳性菌株进行手工生化鉴定, 同时采用全自动细菌鉴定仪上机鉴定; 并提取5株细菌的基因组DNA, 扩增其16S rDNA^[8], 经测序后与GenBank数据库比对, 验证菌株的准确性^[5]。

1.5 样品制备

1.5.1 菌液制备

将已复苏、验证后的菌株分别接种于直径90 mm的5%血琼脂平皿, 36℃培养48 h。用无菌棉签分别刮取培养后菌落, 混悬于无菌生理盐水中, 分别制成 1×10^{10} CFU/mL的菌液。

吸取细菌保护液, 分装于离心管中, 50 mL/管, 分别加入500 μ L相应菌液(样品中的菌体最终浓度约为 1×10^8 CFU/mL)。

1.5.2 样品分装与冻干

吸取相应样品混悬液300 μ L分装至1.5 mL螺口冻存管, 套上封口袋, 至-20℃冰箱冷冻2 h后转入-80℃冰箱冻存过夜; 样品冻实后, 取出并快速移至冷冻干燥机中过夜冻干; 冻干完成后, 放至-80℃冰箱保存备用。

1.6 样品检验

1.6.1 均匀性检验

分别随机抽取10套样品用于样品的均匀性检验。每管样品加入300 μ L灭菌水, 充分混匀, 取10 μ L混悬液涂布于血琼脂平皿, 36℃培养48 h后观察, 根据文献[9]的方法进行菌落计数。判定规则: 有目标菌生长, 且不可计数时, 记录为“+++”; 有目标菌生长, 菌落数约为100~300 CFU时, 记录为“++”; 有目标菌生长, 菌落数小于100 CFU时, 记录为“+”; 无目标菌生长时, 记录为“-”。当目标菌落数均达到“++”以上时, 判为合格。

1.6.2 稳定性检验

分两部分。温度稳定性检验操作方法: 设置5种温度条件(37℃、23℃、4℃、-20℃和-80℃)对所制备样品进行稳定性监测, 其中37℃每天取样, 25℃每2天取样, 4℃每周取样, -20℃每月取样, -80℃每月取样。运输稳定性检验操作方法: 分别随机抽取制备好的样品4支, 双层封口袋包装, 置于密封的聚丙烯泡沫盒中, 并加低温冰袋后密封, 室温放置8 d。样品取出后, 按照均匀性检验方法观察

并进行菌落计数, 计算活菌浓度。

1.7 样品编号及实验室分组

2021年和2022年这2次能力验证活动项目的样品编号及实验室分组, 均采用随机编号生成。参照文献[10-11], 通过随机组合的方式, 为参与活动的每家实验室准备3份样品, 包括2份阳性样品和1份阴性样品。

1.8 检测方法

2个检测能力验证项目均要求实验室按照自身质量检测程序, 分别检测所供样品中的4种目标菌。推荐的检测方法为国家标准 GB/T 14926.5、6、9、12—2001^[7], 但不做强制要求, 也可自行选择检测方法。

1.9 参加实验室要求

参加2次检验能力验证活动的实验室均应具有实验室资质认定(计量认证)或实验室认可资质, 有较完善的质量管理体系; 具备完成实验动物细菌质量检测所需的仪器设备, 如生物安全柜等相关设备; 遵守能力验证的政策和程序; 在检验时限内出具检测结果报告^[12-13]。

1.10 结果评价原则

2021年和2022年的2次能力验证活动中, 每个参加实验室均得到3份样品。3份样品的测定结果与标准结果完全一致时, 即判定为满意结果; 任何1份样品的测定结果与标准结果不一致时, 即判定为不满意结果; 实验室如未按时限反馈结果, 亦判定为不满意结果^[6]。

2 结果

2.1 菌株鉴定

5株能力验证用菌株分别观察菌落形态, 记录革兰氏染色结果, 并通过手工生化、全自动鉴定仪和16S rDNA测序进行鉴定。鉴定结果见表1。

2.2 样品均匀性

抽取的样品在血琼脂平皿上生长的菌落数均为“+++”, 5种样品组间均无肉眼可见差异, 样品均匀性符合要求。

2.3 样品稳定性

所制备的支气管鲍特杆菌、多杀巴斯德杆菌、鼠棒状杆菌、大肠埃希菌样品在37℃存放10 d、25℃存放20 d, 4℃、-20℃和-80℃存放2个月, 均未发生活菌浓度下降现象; 嗜肺巴斯德杆菌在37℃存放10 d、25℃存放20 d时活菌浓度均下降至 $1 \times 10^3 \sim 1 \times$

表1 5株能力验证用病原菌株的鉴定结果

Table 1 Identification results of 5 pathogens strains used for the proficiency testing

鉴定项目 Identification item	支气管鲍特杆菌 <i>B. bronchiseptica</i>	嗜肺巴斯德杆菌 <i>P. pneumotropica</i>	多杀巴斯德杆菌 <i>P. multocida</i>	鼠棒状杆菌 <i>C. kutscheri</i>	大肠埃希菌 <i>E. coli</i>
菌落形态 Colonial	灰白色, 小, α溶血	灰黄色, 中等, 露滴样	灰白色, 中等, 露滴样	白色, 小, 微凸	灰白色, 大
革兰氏染色 Gram stain	-	-	-	+	-
DHL生长试验 DHL growth test	+	-	-	-	+
生化检测 Biochemical testing					
硫化氢	-	+	+	-	-
靛基质	-	+	+	-	+
尿素	+	+	-	+	-
三糖铁	K/K	A/A	A/A	A/A	A/A
半固体	+	-	-	-	+
明胶	-	-	-	+	-
硝酸盐	+	+	+	+	+
赖氨酸脱氢酶	-	-	-	/	+
鸟氨酸脱氢酶	-	+	+	/	+
过氧化氢酶	+	+	+	/	+
氧化酶	+	+	+	-	-
西蒙氏柠檬酸盐	-	/	/	/	-
葡萄糖	-	+	+	+	+
蔗糖	-	+	+	+	+
乳糖	/	/	+	-	+
麦芽糖	-	/	+	+	/
甘露糖	/	/	/	+	/
甘露醇	-	/	/	-	+
甲基红	-	-	-	+	+
VP	-	-	-	-	-
细菌鉴定仪 Bacterial identification instrument	<i>B. bronchiseptica</i>	<i>P. pneumotropica</i>	<i>P. multocida</i>	<i>C. kutscheri</i>	<i>E. coli</i>
16S rDNA (GenBank accession)	<i>B. bronchiseptica</i> MN082542.1	<i>P. pneumotropica</i> MH990317.1	<i>P. multocida</i> CP030096.1	<i>C. kutscheri</i> LR134407.1	<i>E. coli</i> MN704501.1

注: DHL, 胆硫乳琼脂培养基。“+”表示阳性;“-”表示阴性;“/”表示未做此项。

Note: DHL, deoxycholate hydrogen sulfide lactose agar; +, positive; -, negative; /, the test has not been done.

10^4 CFU/mL, 4 °C、-20 °C和-80 °C存放2个月未发生活菌浓度下降现象。在运输稳定性检验过程中, 鼠棒状杆菌、支气管鲍特杆菌和大肠埃希菌未发生活菌浓度下降现象, 多杀巴斯德杆菌和嗜肺巴斯德杆菌在运输稳定性检验结束时, 活菌浓度下降至 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ CFU/mL, 所有样品稳定性均符合要求。

2.4 参加实验室分布

2021年共有29家实验室报名参加NIFDC-PT-309的能力验证活动, 2022年共有30家报名参加NIFDC-PT-363的能力验证活动。参加实验室行业及地区分布见表2和表3。

2.5 验证结果反馈

2.5.1 满意率

2021年获满意结果的实验室有27家, 结果不满意

的有2家, 满意率为93.1%; 2022年获满意结果的实验室有30家, 满意率100%。

2.5.2 检测方法

NIFDC-PT-309(2021年)和NIFDC-PT-363(2022年)推荐方法为实验动物国家标准中的检测方法, 但不强制规定, 各参加单位可自行选择检测方法, 实际选择的检测方法见表4。有一些实验室同时采用不同方法进行鉴定, 其中2021年有3家实验室同时采用2种或2种以上方法鉴定, 2022年同时使用2种及2种以上方法的实验室数量达到了16家。

3 讨论

3.1 整体情况汇总

参加2021年和2022年实验动物呼吸道病原菌检测

表2 两次实验动物呼吸道病原菌检测能力验证活动中参加实验室的行业分布

Table 2 Industry distribution of laboratories participating in the two proficiency testing activities of respiratory pathogens of laboratory animals

行业 Industry	参加实验室数量/个 Quantity of participating laboratories	
	NIFDC-PT-309 (2021)	NIFDC-PT-363 (2022)
	实验动物检测机构 Laboratory animal detecting facility	17
疾病预防控制中心 Center for disease control and prevention	1	4
科研院所 Scientific research institution	4	5
企业实验室 Enterprise laboratory	6	7
药检系统 Drug inspection system	1	/
总计 Total	29	30

表3 两次实验动物呼吸道病原菌检测能力验证活动中参加实验室的地区分布

Table 3 Regional distribution of laboratories in the two proficiency testing activities of respiratory pathogens of laboratory animals

省/市 Province/city	参加实验室数量/个 Quantity of participating laboratories	
	NIFDC-PT-309 (2021)	NIFDC-PT-363 (2022)
	江苏 Jiangsu	2
北京 Beijing	5	3
浙江 Zhejiang	2	2
湖北 Hubei	2	2
陕西 Shaanxi	1	1
新疆 Xinjiang	/	1
河南 Henan	1	1
山东 Shandong	1	/
河北 Hebei	1	/
广东 Guangdong	6	5
上海 Shanghai	2	3
四川 Sichuan	2	2
湖南 Hunan	/	1
黑龙江 Heilongjiang	1	1
江西 Jiangxi	1	1
吉林 Jilin	1	1
辽宁 Liaoning	1	/
总计	29	30

能力验证活动的实验室中, 实验动物检测机构占比较大, 说明国内实验动物检测机构具有较强意愿提升自身检测能力。通过实施实验动物支气管鲍特杆菌、嗜肺巴斯德杆菌、多杀巴斯德杆菌和鼠棒状杆菌检测的能力验证活动, 参加机构可以发现检测上述4种呼吸道病原菌过程中存在的问题, 从而针对性地加以改正; 并通过评估自己实验室对于实验动物呼吸道病原菌的

表4 两次实验动物呼吸道病原菌检测能力验证项目中实验室进行病原菌检测的方法

Table 4 Detection methods of laboratories in the two proficiency testing activities of respiratory pathogens of laboratory animals

检测方法 Detection method	参加实验室数量/个 Quantity of participating laboratories	
	NIFDC-PT-309 (2021)	NIFDC-PT-363 (2022)
	手工生化 Manual biochemical	16
自动生化 Automatic biochemical	8	9
普通PCR Normal PCR	5	2
实时荧光定量 PCR Quantitative real-time PCR	1	2
质谱 Mass Spectrum	1	1
生化鉴定条 Biochemical identification bar	/	1
测序 Sequencing	3	9

检测能力, 发现与同行之间的差异, 从而促进自身质量保证体系的完善。

样品的质量是能力验证活动成败的关键。近两年设置的目标菌支气管鲍特杆菌、嗜肺巴斯德杆菌、多杀巴斯德杆菌和鼠棒状杆菌均为呼吸道病原菌, 对外界抵抗力较弱, 极有可能在运输环节受到温度的影响, 导致活菌浓度下降。因此, NIFDC-PT-309 (2021年) 和 NIFDC-PT-363 (2022年) 2次项目中, 所有样品都经过了严格的均匀性和稳定性验证, 确保能力验证活动的顺利开展。

能力验证活动一般推荐使用实验动物相关国家标准中的检测方法, 但不强制规定, 各参加单位可自行选择检测方法。通过反馈的结果可见, 采用手工生化和自动生化鉴定的机构占比过半, 说明生化鉴定仍是

各机构使用的常规方法；同时PCR、实时荧光定量PCR和质谱的使用也呈现出上升趋势，快速检测方法已逐步应用于实际工作中。呈现这种情况的原因主要有2个方面：一是实验动物检测机构的检测能力以国家标准为依据，始终保持着分离培养和生化鉴定的传统检测能力；二是非实验动物检测机构多以效率为导向，以采用快速有效的分子生物学方法为主，从而为实验动物饲养和实验工作提供依据。分离鉴定的方法成熟经典，但需要丰富的检测经验，而分子检测的方法快速有效，且操作简便，在实际工作中两种方法可互为补充。但应看到成熟可靠的快速检测方法具有更好的实际应用前景。

3.2 不满意结果分析

2021年出现不满意结果的有2家实验室。其中1家实验室使用胰酪蛋白胨水对样品进行了增菌，导致目标菌支气管鲍特杆菌生长受到抑制；而且在后续使用法国Biomérieux公司生产的API®生化鉴定条鉴定时鉴定错误，也未采用其他方法验证。另一家实验室未检出支气管鲍特杆菌和嗜肺巴斯德杆菌样品，其采用手工生化方式，遇到个别生化反应结果与国家标准不符时未进行复试，也未采用其他方法验证。在日常工作中不难发现不同厂家、不同批次生化试剂的反应结果可能存在差异，所以当采用手工生化方式检测时，每次实验均需设立标准菌株作为对照，以避免因试剂问题引起结果判定的错误。

参加实验室如获得不满意结果，应自行暂停在相应项目的证书/报告中CNAS认可标识，并按照合格评定机构体系文件的规定在180d（自能力验证最终报告发布之日起计）内完成纠正措施和验证活动，在验证纠正措施有效后，合格评定机构自行恢复使用认可标识。纠正措施有效性的验证方式包括再次参加能力验证活动（测量审核属于能力验证的一种）或通过CNAS评审组的现场评价^[14-16]。

3.3 存在问题

3.3.1 检测试剂未标明

检测试剂品牌、批号等信息不全是历年能力验证活动中普遍存在的问题。2021年有6家实验室在原始记录中未提供试剂信息，2022年有13家实验室在原始记录中未体现试剂信息。实际上我们要求原始记录中应涵盖试剂厂家、批号等完整信息。

3.3.2 网络操作不熟练

2022年有1家实验室出现网络填写错误，但查阅纸质报告及原始记录发现纸质版结果正确，经沟通获

知上述错误为该实验室检验人员使用网络不熟练导致，实验室根据指导修改后，最终判定为满意结果。建议实验室网络提交时可安排不同人员进行审核后行提交。当遇到网络和软件等非检测问题时，可电话咨询相关项目联系人，确认无误后再行提交，避免出现此类错误。

3.3.3 细菌名称特别说明

目前，美国生物技术信息中心（National Center for Biotechnology Information, NCBI）的数据库中，嗜肺巴斯德杆菌标准菌株ATCC 35149和ATCC 12555，即Jawetz和Heyl生物型，已经分别被重新分类为*Rodentibacter pneumotropicus*和*Rodentibacter heylii*两个不同的菌种。据此，2021年所设置的嗜肺巴斯德杆菌分离株的准确名称应为*Rodentibacter heylii*。因现行国家标准尚未变更，本次能力验证活动仍沿用嗜肺巴斯德杆菌的菌名。

3.4 特殊情况处理

2022年的能力验证活动最初报名的实验室有32家，受疫情影响，有一家实验室无法参加，故申请退出NIFDC-PT-363计划。2021年和2022年均设置为2个目标项目，即报名就视为同时参加全部项目。还有1家实验室计划只参加鼠棒状杆菌的能力验证，不参加多杀巴斯德杆菌的能力验证，不符合2022年的报名要求，导致无法参加2022年能力验证活动；此后经与中检院质管处及参加实验室协商，该实验室退出此次能力验证活动，改为参加鼠棒状杆菌的单项测量审核活动，调整后满足了该参加单位的需求。以上情况提示在未来的能力验证方案设计时应考虑项目选择的灵活性。

3.5 总结

2020年前开展的实验动物细菌能力验证活动均设置为单一病原项目，2021年和2022年连续2年将能力验证项目增加至2项。通过2021和2022年的对比发现，2年间参加实验室的病原菌检测准确率从93.1%提升到100%，表明能力验证活动对于提升检测能力具有良好效果。能力验证活动是重要的外部质量评价活动，CNAS-RL02规定兽医及动植物检验检疫领域微生物检验子领域的实验室需每年参加1次能力验证活动^[13]。由中检院组织实施的实验动物能力验证活动可以满足CNAS-RL02规定的频次要求。作为能力验证提供者，中检院将不断总结经验，进一步提高样品质量，优化组织实施流程，与各参加单位共同进步，努力提升我国实验动物质量检测整体水平。

[作者贡献 Author Contribution]

冯育芳负责能力验证活动的策划实施、结果分析、报告编写、样品的制备和验证、论文构思及初稿撰写；王洪负责能力验证活动协调与能力验证报告修改；付瑞负责能力验证报告审签；张雪青和高强负责样品的发放；岳秉飞负责能力验证项目的质量控制；邢进负责能力验证活动的策划实施、结果分析、报告编写，以及样品的制备和验证。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] 张自强, 王佳佳, 任玉莹, 等. 兔源支气管败血波氏杆菌和肺炎克雷伯菌的分离鉴定及其对抗菌药物的敏感性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2021, 52(8):2254-2264.
ZHANG Z Q, WANG J J, REN Y Y, et al. Isolation and identification of rabbit-derived *Bordetella bronchiseptica* and *Klebsiella pneumoniae* and their antimicrobial susceptibility analysis[J]. Acta Vet Zootechnica Sin, 2021, 52(8):2254-2264.
- [2] 邢进, 岳秉飞, 赵德明. 利用 AFLP 方法研究嗜肺巴斯德杆菌的遗传多态性[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6):92-98. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.015.
XING J, YUE B F, ZHAO D M. Study of genetic polymorphism of *Pasteurella pneumotropica* using an AFLP method[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6):92-98. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.015.
- [3] 黄树武, 王静, 潘金春, 等. 兔源多杀巴斯德杆菌基因分型研究[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(2):71-76. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2020.02.011.
HUANG S W, WANG J, PAN J C, et al. Genotyping of *Pasteurella multocida* isolated from laboratory rabbits[J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(2):71-76. DOI:10.3969/j.issn.1671-7856.2020.02.011.
- [4] BAKER D G. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research[J]. Clin Microbiol Rev, 1998, 11(2):231-266. DOI:10.1128/CMR.11.2.231.
- [5] 邢进, 冯育芳, 王洪, 等. 实验动物支气管鲍特杆菌检测能力验证结果与分析[J]. 实验动物科学, 2019, 36(3):30-34.
XING J, FENG Y F, WANG H, et al. Results and analysis of proficiency testing of detection of *Bordetella bronchiseptica* in laboratory animals[J]. Lab Animal Sci, 2019, 36(3):30-34.
- [6] 冯育芳, 邢进, 王洪, 等. 实验动物小肠结肠炎耶尔森菌的实验室检测能力验证结果评价[J]. 实验动物科学, 2022, 39(2):55-58.
FENG Y F, XING J, WANG H, et al. Evaluation of the detection ability of *Yersinia enterocolitica* in laboratory animal[J]. Lab Animal Sci, 2022, 39(2):55-58.
- [7] 国家市场监督管理总局. 实验动物 微生物学检测方法(2). GB/T 14926.5-6, 9, 12—2001[S]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Microbiological detection methods for laboratory animals (2): GB/T 14926.5-6, 9, 12—2001[S]. Beijing: China Standards Press, 2001.
- [8] WEISBURG W G, BARNES S M, PELLETIER D A, et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study[J]. J Bacteriol, 1991, 173(2): 697-703. DOI: 10.1128/jb.173.2.697-703.1991.
- [9] 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 菌落总数测定: GB4789.2—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
National Health and Family Planning Commission, State Food and Drug Administration. National food safety standard, Food microbiological examination-Aerobic plate count: GB4789.2—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016.
- [10] 王吉, 李晓波, 王洪, 等. 实验小鼠细小病毒(MMV)抗体的实验室检测能力验证结果评价[J]. 实验动物科学, 2020, 37(2):5-13.
WANG J, LI X B, WANG H, et al. The evaluation of proficiency testing for minute virus of mice antibody in laboratory mice detection[J]. Lab Animal Sci, 2020, 37(2):5-13.
- [11] 李晓波, 付瑞, 王洪, 等. 实验大鼠仙台病毒抗体检测能力验证结果评价[J]. 实验动物科学, 2017, 34(1):1-6.
LI X B, FU R, WANG H, et al. Laboratory proficiency testing for rat Sendai virus antibody detection[J]. Lab Animal Sci, 2017, 34(1):1-6.
- [12] 刘雅丹, 张河战, 于欣, 等. 2013—2018年全国药品检验机构能力验证的回顾性研究[J]. 中国药师, 2020, 23(7):1401-1403.
LIU Y D, ZHANG H Z, YU X, et al. Retrospective study on the proficiency testing progress of medicines control laboratories in China[J]. China Pharm, 2020, 23(7):1401-1403.
- [13] 中国合格评定国家认可委员会. 实验室认可规则: CNAS-RL01[S]. 2019.
China National Accreditation Committee for Conformity Assessment. Rules for the accreditation of laboratories: CNAS-RL01[S]. 2019.
- [14] 中国合格评定国家认可委员会. 能力验证规则: CNAS-RL02[S]. 2018.
China National Accreditation Committee for Conformity Assessment. Rules for proficiency testing: CNAS-RL02[S]. 2018.
- [15] 王洪, 贺争鸣, 魏杰, 等. 2013—2015年实验动物质量检测机构实验室能力验证结果分析[J]. 实验动物科学, 2016, 33(1):45-48.
WANG H, HE Z M, WEI J, et al. Proficiency testing results of laboratory animals'quality monitoring laboratories in 2013—2015[J]. Lab Animal Sci, 2016, 33(1):45-48.
- [16] 贺争鸣, 岳秉飞, 巩薇, 等. 加强实验动物质量检测实验室参与能力验证工作[J]. 实验动物与比较医学, 2014, 34(5):393-395. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.010.
HE Z M, YUE B F, GONG W, et al. Strengthen the experimental animal quality testing laboratory to participate in the ability verification work[J]. Lab Animal Comp Med, 2014, 34(5):393-395. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5817.2014.05.010.

(收稿日期: 2022-09-01 修回日期: 2022-12-07)

(本文编辑: 张俊彦, 富群华)