

大、小鼠微生物检测质量控制探讨

白 冰, 张 海, 毛峰峰, 赵 勇, 张彩勤, 赵善民, 师长宏

(第四军医大学实验动物中心, 西安 710032)

【摘要】 实验动物质量直接影响科研数据的准确性, 通过定期微生物检测, 可对实验动物质量进行控制, 因此对检测结果进行质量控制是对检测工作进行日常管理和监督的有效和必要的手段。实验室通过总结近年检测工作经验, 对微生物检测质量控制工作进行探讨, 为实验动物质量检测提供相关资料。

【关键词】 大鼠; 小鼠; 检测; 质量控制

【中图分类号】 Q95-331 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)07-0069-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.007.017

Investigation of Microbiological Test Quality Control on Rat and Mouse

BAI Bing, ZHANG Hai, MAO Feng-feng, ZHAO Yong, ZHANG Cai-qin, ZHAO Shan-min, SHI Chang-hong
(Laboratory Animal Center , Fourth Military Medical University , Xi'an 710032 , China)

【Abstract】 The quality of lab animal affected the correct of research data directly, we could control the quality of lab animal through microbiological test regularly, so the microbiological test quality control was the effective and necessary way to manage and supervise daily. We summarized the experiences for the past few years, then we investigated the quality control work to provide some data for lab animal microbiological test.

【Key words】 Rat; Mouse; Test; Quality control

实验动物是生命科学研究的基础和重要支撑条件, 标准化的实验动物和优良的动物实验条件是进行医药卫生研究的基础。在生命科学研究中, 不能用人去做实验, 实验动物作为人类的替身承担药物的安全评价和效果试验, 实验动物的质量直接决定着药品的安全和生命科学研究结果的准确性。随着我国科研水平的不断提高, 研究人员对实验动物的质量要求也越来越严格, 鉴于此, 本文根据当前实验动物质量检测工作的开展和重要性, 结合本人历年工作经验, 从以下 3 方面进行分析与阐述“实验动物微生物检测中结果分析与质量控制”的问题, 希望此文能给从事实验动物质量检测工作的同仁提供借鉴。

1 细菌检测质量控制

细菌检测首先要进行采样, 采样的准确直接影响后续的检测。而生化试验是对采样进行鉴定分析的首要方法, 试验方法的准确与否也同样影响检测结果的准确性。在生化试验中我们首先要用到培养基, 培养基是用于专门测定细菌生理和生化特性的一类培养基, 适用于细菌纯化以后的鉴定和分类, 通过直接检测细菌分泌的酶及酶解产物, 来判定未知细菌的科、属、种。作者所在实验室在近年来的试验中选择了目前国内几个比较大的培养基生产厂家和一个国外知名培养基生产厂家生产的几种常用生化培养基进行比对。考虑到普遍性与

[作者简介] 白冰(1980-), 男, 兽医师, 研究方向: 实验动物微生物学。

[通讯作者] 师长宏(1973-), 男, 副教授, 博士。E-mail: changhong@fmmu.edu.cn。

特殊性的问题,本实验室选择实验动物常见的沙门菌 ATCC:50103;嗜肺巴斯德杆菌 ATCC:35149;鼠棒状杆菌(由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供)进行比对。沙门菌为所有实验动物细菌学检测必须检测的细菌,比对结果表明,其在各个来源的各种生化培养基上的生长情况保持一致,培养基的来源未影响到检测结果的准确判定;嗜肺巴斯德杆菌、鼠棒状杆菌在常规细菌学检测中,因其营养要求较高,常常生长不好,若它们在各个来源的各种生化培养基上的生长情况可比,则对其他营养要求相对不太高的细菌也可应用;同时针对嗜肺巴斯德杆菌、鼠棒状杆菌等一些较难生长的细菌,作者在实际应用中对培养条件进行了摸索,获得一些有应用价值的数据,针对这些数据在实际工作中对检测方法进行了相应的改进。检测中我们发现,嗜肺巴斯德杆菌在各厂家的克氏双糖铁或三糖铁培养基上反应结果有较大差异,究其原因是因为鼠棒状杆菌在培养基上生长的营养要求较高,双糖铁或三糖铁培养基所含的营养成分不能完全提供细菌生长的营养物质,因而生长不好,从而影响了实验结果的观察。通过我们的实验发现,在接种时加大接种量,有利于得出较为准确的结果,同时配合其他生化实验结果进行综合判定,最终确定细菌的种属^[1]。

我们在用乙酸铅纸条法对细菌进行检测时发现,厂家提供的包装是一整袋中放入多个纸条,在实际检测中无法一次使用完,包装袋无法进行密封保存,乙酸铅纸条与空气接触发生变化,影响下次检测结果的判定。我们建议厂家乙酸铅纸条使用单独包装,即一张纸条一个包装,保证使用中不改变纸条生化性质。胆盐硫乳琼脂培养基(DHL)是沙门菌鉴别培养基,在多次检测过程中,培养基上出现部分菌落带黑心货全黑,但其他生化试验结果却与国标 GB/T 14926.1-2001 沙门菌生化反应结果不一致,结果中有一项或两项不符合,按照国标规定应作出阴性报告,但作者认为可以作出阳性报告。因为鉴别培养基上菌落形态完全符合国标规定,而其他可疑菌种在 DHL 培养基上无法生长或菌落形态不符合国标规定,根据多年检测工作经验,作者认为是沙门菌的可能性较大。出现生化指标有不符合项,可能是操作或培养基出现问题,这些影响因素可为其他检测单位提供一些参考资料。

生化试验结果较易受外界条件的影响,有些实

验,如硝酸盐实验和靛基质实验非常敏感,产生假阳性结果,因此每次实验设立空白对照和标准菌株对照是非常必要的。本实验室在以往检测中就出现过硝酸盐培养基的试验管和空白对照管均为阳性,使实验结果无法判定的情况。在检测中使用的一些生化培养基为微量生化反应管,通过实验观察发现,使用的微量生化反应管与干粉培养基的效果一样,比干粉培养基使用更为方便实用、且节省培养基的用量,同时因为培养基量少,细菌接种量相对较多,更能保证沙门菌、鼠棒状杆菌和嗜肺巴斯德杆菌等营养要求严格菌的生长发育,便于得出准确的结果。但目前生产微量生化反应管的有些不稳定,而且保存时间较短,品种又很有限,作者建议在实际应用中应对每批次生化管用标准菌株进行鉴定,合格后再用于检测才能确保检测结果的准确性^[2]。

实验动物检测质量控制除了选择合适的培养基,检测方法的选择也是对检测结果进行质量控制的重要途径。在检测过程中,对样本要进行人员比对、仪器比对和实验室比对,达到细菌检测质量控制目标。

2 病毒检测质量控制

在大、小鼠疾病中,病毒性疾病占有重要位置,结合本实验室近年来病毒检测工作中遇到的问题,作者选择检测中遇到的病毒进行探讨,大、小鼠病毒性疾病包括:鼠痘病毒、仙台病毒、小鼠肝炎病毒、汉坦病毒^[3-6]。

作者近年来对大、小鼠病毒检测多使用检测试剂盒进行检测,检测结果经常出现假阳性和假阴性现象。实验室通过人员比对、仪器比对,结果中假阳性和假阴性依然存在。作者分析,人员操作和仪器差异是出现此种结果原因之一,最主要原因可能是使用的试剂盒存在不稳定性,每一批次试剂盒对同一样品的检测结果存在不一致情况。因此,对病毒检测的质量控制必须使用稳定的试剂盒,同时,作者建议使用标准菌株对每批次试剂盒进行鉴定,合格后再用于检测,才能得到准确可靠的结果。另外,作者在检测过程中发现检测试剂盒类型比较单一,若一次样品量较大时,使用试剂盒比较经济,如果样品量较少,在使用试剂盒时会有浪费的可能,因此作者建议试剂盒供应商应该提供不同类型的包装,方便检测单位不同样品量的检测工作。

表 1 大、小鼠病毒性疾病
Tab. 1 The viral disease of rat and mouse

病名 Name	病原 Pathogeny	国内发生情况 Domestic Situation
鼠痘 Ectromelia Virus	鼠痘病毒 Ectromelia Virus	鼠痘以地方性或散在方式流行
仙台病毒感染 Sendai Virus	仙台病毒 Sendai Virus	普通小鼠群中抗体阳性率为 30.49%
小鼠肝炎病毒感染 Mouse Hepatitis Virus	小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus	普通小鼠群中抗体阳性率为 22.1% ~ 22.5%
汉坦病毒感染 Hantavirus	汉坦病毒 Hantavirus	实验大鼠群中检出该病毒抗原或抗体

实验动物病毒检测工作除使用检测试剂盒,作者建议可使用传统的 ELISA 和 IFA 法进行比对检测,虽然这两种方法操作过程比较繁琐,但是相对于试剂盒检测,用 ELISA 和 IFA 法检测结果比较准确可靠,假阳性和假阴性结果出现率较低,重复性较好。

3 质量检测要与国际接轨

作者还认为近年来细菌和病毒检测单位之间应加强交流与合作,定期进行人员、仪器和实验室间比对,将工作好的工作经验积极推广,一方面可以提高检测质量,保证检测工作的顺利进行;另一方面进行比对工作也符合国家质监总局对实验室质量控制的总体要求,将检测工作标准与国际接轨;第三,提倡各检测单位转换工作思路,将被动转主动,提升本单位检测能力,引进专业人才,配备先进仪器,在软硬件上同时下功夫的同时,要与国际专业检测机构进行合作与交流,获取国际认证认

可,这样实验动物检测质量才能得到大幅度的提升,质量控制工作才能高效进行。

参考文献:

[1] 范薇,隋丽华,刘永梅,等. 实验动物细菌检测常用生化培养基的筛选及应用[J]. 中国实验动物学杂志,2001,11(2): 69-71.

[2] 王伙聪,徐海滨,陈建辉,等. 福建省实验动物微生物检测结果分析[J]. 海峡预防医学杂志,2010,16(3):39-40.

[3] 田克恭. 实验动物病毒性疾病[M]. 北京:农业出版社, 1992,57-83.

[4] 杨松涛,夏咸柱,乔军,等. 鼠痘病毒 CC 强毒株的分离与鉴定[J]. 中国病原生物学杂志,2007,2(1):4-7.

[5] 刘怀然,张龄,张天聪,等. 仙台病毒黑龙江省地方株的分离与鉴定[J]. 中国实验动物学报,2006,14(2):132-134.

[6] 刘香梅,张钰,赵维波,等. 广东省屏障设施小鼠群中小鼠肝炎病毒感染情况[J]. 中国比较医学杂志,2009,19(10):72-74.

[修回日期]2012-07-06