

粪肠球菌核酸检测试剂国家参考品的研制

王春娥, 石继春, 徐 潇, 刘茹凤, 杜宗利, 龙新星, 徐颖华*, 叶 强*

(中国食品药品检定研究院, 中国医学细菌保藏管理中心, 卫生部生物技术产品检定方法及其标准化
重点实验室, 北京 102629)

摘 要: **目的** 研制粪肠球菌核酸检测试剂的国家参考品。**方法** 将 9 株粪肠球菌和 8 株非粪肠球菌参考品候选菌株分别在各自适宜的培养条件下培养, 收集新鲜培养物进行计数、灭活、稀释和分装, 并对参考品进行均匀性和稳定性评估。组织 3 家实验室对研制的参考品进行了协作标定。**结果** 研制了由 9 份阳性候选参考品、8 份阴性候选参考品、重复性参考品和最低检出限参考品组成的粪肠球菌参考品。阳性参考品、最低检出限参考品和重复性参考品循环阈值(cycle threshold, Ct)的变异系数(coefficient of variation, CV)均在 5.0%以内, 分装均匀性良好; 参考品各成分的稳定性良好(P 值均小于 0.05); 协作标定结果显示阳性参考品符合率及阴性参考品符合率均为 100%, 重复性参考品检测 Ct 值的 CV 均在 5.0%以内, 参考品最低检出限为 1.0×10^3 个/mL。**结论** 研制的参考品可用于粪肠球菌核酸检测试剂的质量评价。

关键词: 粪肠球菌; 核酸; 国家参考品; 均匀性; 稳定性; 协作标定

Development of national reference materials for *Enterococcus faecalis* nucleic acid detection kit

WANG Chun-E, SHI Ji-Chun, XU Xiao, LIU Ru-Feng, DU Zong-Li,
LONG Xin-Xing, XU Ying-Hua*, YE Qiang*

(Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Products, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

ABSTRACT: Objective To develop national reference materials for *Enterococcus faecalis* nucleic acid detection kit. **Methods** Nine strains of *Enterococcus faecalis* and 8 candidate strains of non-*Enterococcus faecalis* reference samples were cultured under their respective suitable culture conditions. Fresh cultures were collected for counting, inactivation, dilution and packing, and the reference samples were evaluated for homogeneity and stability. Three laboratories were organized to calibrate the developed reference. **Results** The coefficient of variation (CV) of cycle threshold (Ct) of positive reference, minimum detection limit reference and repeatable reference were all less than 5.0%, and the distribution uniformity was good. The stability of the reference components was good ($P < 0.05$); the cooperative calibration results showed that the coincidence rate of positive reference and negative reference were

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1603900)、国家科技重大专项(2018ZX10102-001)、国家科技基础条件平台项目(NMRC-2020-2)

Fund: Supported by the National Key R & D Program of China (2018YFC1603900), National Science and Technology Major Project of China (2018ZX10102-001), and National R & D Infrastructure and Facility Development Program of China (NMRC-2020-2)

***通信作者:** 徐颖华, 博士, 研究员, 主要研究方向为细菌性疫苗质量控制与微生物资源标准化研究。E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

叶强, 主任技师, 主要研究方向为医学微生物菌种资源的管理及呼吸道细菌疫苗的质量控制。E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn

***Corresponding author:** XU Ying-Hua, Ph.D, Professor, Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Products, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China. E-mail: xuyh@nifdc.org.cn

YE Qiang, Chief Technician, Key Laboratory of the Ministry of Health for Research on Quality and Standardization of Biotech Products, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 102629, China. E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn

100%, the Ct value of repeatable reference was less than 5.0%, and the minimum limit of detection reference was 1×10^3 /mL. An *Enterococcus faecalis* reference product was prepared, which consisted of 9 positive candidate reference products, 8 negative candidate reference products, repeatable reference products and minimum detection limit reference products. **Conclusion** The developed reference material can be used for the quality evaluation of nucleic acid detection reagent for *Enterococcus faecalis*.

KEY WORDS: *Enterococcus faecalis*; nucleic acid; national reference materials; uniformity; stability; collaborative study

0 引言

粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecallis*)属于肠球菌属, 是人和动物肠道中正常菌群的一部分。但近年来, 涉及致病肠球菌的院内感染和食品污染中毒事件不断增多^[1-3]。研究发现粪肠球菌已成为医院内感染最常见的病原菌之一^[4-6], 主要引起尿路感染、腹腔、盆腔感染和心内膜炎等。且随着大量抗生素的广泛使用, 多重耐药粪肠球菌的不断出现, 已成为重要公共卫生问题^[7-8]。此外, 由于粪肠球菌对冷冻和热抵抗力较强, 易在食品及食品加工设备上繁殖, 导致熟肉类和奶制品等腐败引起食物中毒^[9-10]。因此, 对该菌准确、快速鉴定可以有效提高其临床救治的针对性和有效性。细菌培养和基于生化反应鉴定细菌的传统方法是诊断细菌感染的最公认的方法, 但传统方法培养细菌时间较长、且灵敏度较低, 较难达到对感染早期诊断的目的。而核酸诊断技术速度快, 灵敏性和特异性好, 能够更早期地发现突发感染, 包括荧光定量 PCR 方法、生物芯片法、PCR 毛细电泳片段分析法和测序法等核酸检测技术和方法迅速发展^[11-13], 促进了核酸检测试剂盒的研发, 其中以荧光定量 PCR 方法为主, 因不同的试剂盒检测时取用的样本量及检测的目的基因的不同, 其检测结果的一致性及灵敏度存在差异。

目前, 我国尚无用于粪肠球菌分子检测的核酸检测试剂评价用国家参考品^[14], 因此本研究研制了粪肠球菌核酸检测试剂评价用参考品, 以期用于后续粪肠球菌核酸检测试剂的注册管理和质量控制。

1 材料与方法

1.1 菌株

粪肠球菌[CMCC(B)32222、32226、32217、32218、32479、32480、32481、32482、32248 和 32249]、阴性参考品制备菌株[鼠伤寒沙门氏菌 CMCC(B) 50994、单增李斯特菌 CMCC(B) 54023、变形杆菌 CMCC(B) 49266、肠炎沙门氏菌 CMCC(B) 50990、福氏志贺氏菌 CMCC(B) 51572、地衣芽孢杆菌 CMCC(B) 63517、金黄色葡萄球菌 CMCC(B) 26001、屎肠球菌 CMCC(B) 32477]均来源于中国食品药品检定研究院(简称中检院)中国医学细菌保藏管理中心。

1.2 试剂与仪器

2%含糖牛肉琼脂培养基、血琼脂培养基、普通营养琼脂培养基(北京三药科技开发公司); 注射用生理盐水(石家庄四药有限公司); 中国细菌浊度标准国家标准品(批号: 230021-201960, 中国食品药品检定研究院); 粪肠球菌 RT-PCR 实时荧光检测试剂盒(批号: 2020002, 湖南圣湘生物科技有限公司生产); 金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、屎肠球菌核酸三重联检试剂盒(PCR 荧光探针法)(批号: 20200909, 北京卓诚惠生生物科技股份有限公司); 250A 细菌培养箱[中仪国科(北京)科技有限公司]。

1.3 候选参考品灭活菌液的制备

1.3.1 阳性候选参考品灭活菌液

将 9 株粪肠球菌复苏后分别接种至 2%含糖牛肉琼脂培养基中, 于 37 ℃培养箱中培养 18~24 h 后, 用一次性接种环刮取新鲜培养物至灭菌生理盐水中, 制备菌悬液, 使用细菌浊度国家标准品进行计数确定菌悬液浓度。菌悬液经加热灭活处理, 并经验证灭活合格后稀释至适宜浓度, 于-70 ℃保存备用。

1.3.2 阴性候选参考品灭活菌液

将 8 株阴性参考品菌株复苏后接种于各自适宜生长的培养基上, 并于最适温度下进行培养, 采用 1.3.1 项下方法制备菌悬液, 经加热灭活处理, 并经验证灭活合格后稀释至适宜浓度, 于-70 ℃保存备用(表 1)。

表 1 8 株阴性参考品菌株培养基列表
Table 1 List of medium for 8 strains of non-*E. faecallis*

菌株名称	菌株编号	培养基名称
鼠伤寒沙门氏菌	CMCC(B) 50994	血琼脂培养基
单增李斯特菌	CMCC(B) 54023	血琼脂培养基
变形杆菌	CMCC(B) 49266	血琼脂培养基
肠炎沙门氏菌	CMCC(B) 50990	血琼脂培养基
福氏志贺氏菌	CMCC(B) 51572	血琼脂培养基
地衣芽孢杆菌	CMCC(B) 63517	普通营养琼脂培养基
金黄色葡萄球菌	CMCC(B) 26001	普通营养琼脂培养基
屎肠球菌	CMCC(B) 32477	2%含糖牛肉琼脂培养基

1.4 候选参考品的制备

1.4.1 阳性候选参考品的制备

将 9 株粪肠球菌的阳性候选参考品灭活菌液, 采用灭菌生理盐水稀释至 1.0×10^6 个/mL, 定量分装(0.5 mL/管), 分别记为 P1~P9, -20°C 以下保存。

1.4.2 阴性候选参考品的制备

将 8 株阴性菌株的候选参考品灭活菌液, 采用灭菌生理盐水稀释至 1.0×10^6 个菌/mL, 定量分装(0.5 mL/管), 分别记为 N1~N8, -20°C 以下保存。

1.4.3 重复性参考品和最低检出限参考品的制备

选取粪肠球菌 CMCC(B)32217 灭活菌悬液制备重复性参考品和最低检出限参考品, 使用灭菌生理盐水分别将菌液稀释为 1.0×10^6 个/mL 和 1.0×10^5 个/mL 进行分装 (0.8 mL/支), 分别标记为重复性参考品和最低检出限参考品。

1.5 候选参考品的均匀性分析

分别随机抽取阳性参考品(P1~P9)、重复性参考品和最低检出限参考品各 10 支, 使用粪肠球菌实时荧光 RT-PCR 检测试剂盒进行检测, 计算循环阈值(cycle threshold, Ct 值)的变异系数(coefficient of variation, CV)。

1.6 候选参考品的稳定性分析

1.6.1 冻融稳定性

将阳性参考品(P1~P9)、最低检出限参考品分别于 -20°C 冰箱取出, 于室温放置 4 h 后, 再放于 -20°C 冰箱; 重复此步骤 3 次和 5 次。检测时将阳性参考品(P1~P9)使用灭菌生理盐水分别稀释 10 倍, 最低检出限参考品用灭菌生理盐水 10 倍系列稀释 2 个稀释度, 选取浓度 1.0×10^4 、 1.0×10^3 个/mL, 用粪肠球菌实时荧光(real time PCR, RT-PCR)检测试剂盒进行检测, 同时以 -20°C 保存的候选参考品进行平行测定。

1.6.2 加速稳定性

将候选阳性参考品(P1~P9)、最低检出限参考品分别放置于 $2\sim 8^\circ\text{C}$ 、 25°C 、 37°C 条件 3 d 和 7 d, 检测时将候选阳性参考品(P1~P9)使用灭菌生理盐水分别稀释 10 倍, 最低检出限参考品用灭菌生理盐水 10 倍系列稀释 2 个稀释度, 选取浓度 1.0×10^4 、 1.0×10^3 个/mL, 用粪肠球菌 RT-PCR 检测试剂盒进行检测, 以 -20°C 保存的候选参考品进行平行测定。

1.7 候选参考品的协作标定

组织包括中检院在内的 3 家实验室进行协作标定, 所有参考品均进行盲检测。2 家生产企业分别使用各自生产的试剂进行检测, 中国食品药品检定研究院检测人员(未参与盲测人员)使用粪肠球菌 RT-PCR 检测试剂盒进行检测, 3 个实验室编号分别为 1、2 和 3。参与单位均进行两次独立实验, 所有原始结果返还协作标定组织单位统一分析。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件, 将稳定性评估结果进行统

计分析, 统计学方法为 Kruskal-Wallis 非参数检验, 结果以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 候选参考品的灭活效果及浓度确定

全部候选参考品菌液经灭活验证, 血琼脂平板培养基上均无细菌生长, 表明候选参考品菌液灭活合格。根据比浊结果, 采用灭菌生理盐水将阳性参考品、阴性参考品及重复性参考品稀释至浓度为 1.0×10^6 个/mL, 最低检出限参考品浓度为 1.0×10^5 个/mL, 并进行分装。

2.2 候选参考品的均匀性分析

均匀性结果显示, 阳性参考品、最低检出限参考品和重复性参考品 Ct 值的 CV 均在 5.0% 以内, 表明参考品的分装均匀度良好, 见表 2。

2.3 候选参考品的稳定性分析

2.3.1 冻融稳定性

经反复冻融 3 次和 5 次处理后, 与 -20°C 保存的各参考品检测结果相比, Ct 值差异无统计学意义(冻融 3 次 $P = 0.078$ 、冻融 5 次 $P = 0.319$, $P > 0.05$), 表明参考品的冻融稳定性良好。

2.3.2 加速稳定性

将各参考品分别于 $2\sim 8^\circ\text{C}$ 、 25°C 、 37°C 放置 3、7 d 后, 与 -20°C 保存的参考品检测结果相比, Ct 值差异无统计学意义($2\sim 8^\circ\text{C}$ 放置后 P 值分别为 0.160、0.443, $P > 0.05$; 25°C 放置后 P 值分别为 0.143、0.410, $P > 0.05$; 37°C 放置后 P 值分别为 0.219、0.514, $P > 0.05$), 表明本参考品在加速破坏条件下, 具有较好的稳定性, 见表 3。

2.4 候选参考品的协作标定

3 家实验室的阳性参考品符合率和阴性参考品符合率均符合要求, 各实验室重复性参考品各稀释度样品检测 Ct 值的 CV 值均在 5.0% 以内, 最低检出限参考品的结果中, 2 个实验室最低检出限实验结果为 1.0×10^3 个/mL, 而另外一个实验室最低检测限为 1.0×10^2 个/mL, 见表 4。建议参考品的最低检出限定为 1.0×10^3 个/mL。

3 结论与讨论

本研究从中国医学细菌保藏管理中心选取了 9 株粪肠球菌和 8 株非粪肠球菌作为粪肠球菌核酸检测试剂参考品的候选菌株。阴性参考品菌株的选择充分考虑与粪肠球菌感染部位相同或感染症状相似且常见的其他病原体, 以及感染源相同的如食源性病原体^[15-16], 并设置同属不同种的菌株, 包括鼠伤寒沙门氏菌、单增李斯特菌、变形杆菌、肠炎沙门氏菌、福氏志贺氏菌、地衣芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和屎肠球菌。

表 2 候选参考品的均匀性分析
Table 2 Uniformity of the candidate reference

检测项目	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	最低检出限	重复性
Ct 值	27.35	24.24	28.41	24.73	26.62	32.24	28.66	28.74	28.22	25.28	26.54
	27.27	24.08	28.04	27.18	25.97	32.20	27.24	28.87	28.55	26.02	26.56
	26.95	23.78	28.25	25.93	24.25	31.45	25.32	28.16	27.85	26.58	27.33
	27.13	24.51	27.11	26.91	26.08	31.47	25.68	29.03	27.81	25.43	27.09
	27.68	24.50	28.44	26.05	26.06	32.29	26.62	29.38	27.06	25.69	27.02
	27.44	24.37	28.04	26.13	26.04	31.79	27.10	28.43	28.13	25.79	27.80
	28.02	24.27	28.37	26.22	25.91	32.34	26.55	28.57	28.04	26.36	27.35
	26.70	24.56	29.01	26.52	27.03	32.02	26.08	29.11	27.65	25.80	26.93
	28.25	24.42	28.73	27.13	25.21	31.70	26.89	28.32	28.31	26.18	27.27
	26.18	24.43	28.25	28.16	27.29	32.11	28.42	28.42	28.26	26.51	26.87
均值	27.30	24.32	28.27	26.50	26.05	31.96	26.86	28.70	27.99	25.96	27.08
SD	0.61	0.24	0.50	0.92	0.87	0.34	1.08	0.39	0.42	0.44	0.39
CV/%	2.2	1.0	1.8	3.5	3.3	1.1	4.0	1.4	1.5	1.7	1.4

表 3 候选参考品的冻融稳定性及加速稳定性结果
Table 3 Stability results of freeze-thaw test and accelerated test for candidate reference

编号	Ct 值									
	-20 ℃	冻融		-20℃	2~8 ℃		25 ℃		37 ℃	
		3 次	5 次		3 d	7 d	3 d	7 d	3 d	7 d
P1	26.41	29.42	26.54	26.41	29.35	27.85	31.08	27.3	28.99	27.60
P2	23.43	25.61	24.47	23.43	26.19	24.31	26.66	23.87	25.98	24.17
P3	26.14	31.36	30.24	26.14	29.70	27.50	29.30	25.1	28.76	25.82
P4	28.14	33.89	29.24	28.14	28.36	30.37	33.09	30.00	33.03	29.57
P5	29.09	33.81	31.50	29.09	29.94	31.60	31.17	32.01	31.37	31.01
P6	33.45	35.30	33.73	33.45	34.10	33.08	33.06	34.02	34.22	33.69
P7	29.63	31.62	32.00	29.63	32.60	31.93	32.27	32.83	34.53	33.21
P8	30.23	29.39	30.15	30.23	29.79	29.93	29.09	30.12	30.41	29.82
P9	26.59	27.60	29.15	26.59	28.78	28.52	28.01	28.34	28.15	28.06
R	27.74	27.66	27.34	27.74	27.57	27.42	26.73	28.15	27.46	26.89
S1	28.60	32.10	30.41	30.55	30.28	30.48	30.43	30.47	30.12	31.25
S2	32.32	34.69	33.70	33.39	32.96	32.43	34.07	34.24	33.05	34.89

注: R 为重复性参考品; S1、S2 分别为最低检出限参考品经稀释处理后浓度为 1.0×10⁴ 个/mL、1.0×10³ 个/mL 的样品。

表 4 候选参考品协作标定结果
Table 4 Collaborative calibration results of candidate reference

编号	P1~P9	N1~N8	重复性(CV/%)			S1	S2	S3
			R1	R2	R3			
1	+/+ (9/9)	-/- (8/8)	0.39	0.68	1.22	+	+	-
2	+/+ (9/9)	-/- (8/8)	0.96	0.92	1.73	+	+	-
3	+/+ (9/9)	-/- (8/8)	0.43	0.54	0.86	+	+	+

注: +分别表示检出; -表示未检出。R1, R2, R3 和 S1, S2, S3 分别为重复性参考品和最低检出限参考品的 10 倍, 100 倍, 1000 倍稀释样品。

标准物质均匀性和稳定性是评价参考品质量的重要指标^[17-19], 按照标准物质研制的相关要求^[20-21]进行了评估, 结果显示参考品均匀性良好, 满足研制要求。考虑到参考品在运输、分发、使用过程中, 存在反复冻融、保存温度变化等风险, 对参考品进行了稳定性分析, 结果显示参考品在反复冻融及加速破坏条件下稳定性良好, 能够满足运输及正常的使用。重复性参考品用于评价检测试剂及参考品的重复性, 对于核酸检测试剂, 批内精密度应采用至少高、低 2 个浓度水平的样本各重复检测 10 次, Ct 值的变异系数应在 5% 以内, 协作标定结果显示 3 家实验室采用 2 种试剂盒对重复性参考品的 10 倍、100 倍、1000 倍稀释样品检测 Ct 值的 CV 均在 5% 以内, 说明检测试剂和参考品的重复性良好。3 家实验室的最低检测限结果显示 2 种检测试剂具有较好的灵敏度, 一家试剂盒的检测限为 1×10^3 个/mL, 另外一家检测限可达 1×10^2 个/mL。

本研究研制的粪肠球菌检测试剂国家参考品各项检测指标均符合规定, 具有良好的均匀性和稳定性。本参考品可用于评价不同企业粪肠球菌核酸检测试剂的阳性参考品符合率、阴性参考品符合率、重复性和最低检出限等关键指标, 可用于粪肠球菌核酸检测试剂盒的质量控制和评价。

参考文献

- [1] ARIAS CA, MURRAY BE. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance [J]. Nat Rev Microbiol, 2012, 10(4): 266–78.
- [2] 吕倩, 王伟, 赖晓全, 等. 细菌性肝脓肿 102 例病原菌分布及耐药性分析[J]. 安徽医药, 2021, 25(2): 254–257.
LV Q, WANG W, LAI XQ, et al. Analysis of pathogen distribution and drug resistance with bacterial liver abscess: 102 cases [J]. Anhui Med Pharm J, 2021, 25(2): 254–257.
- [3] 刘文静, 徐英春, 杨启文, 等. 2019 年北京协和医院细菌耐药性分析[J]. 协和医学杂志, 2021, 12(2): 202–209.
LIU WJ, XU YC, YANG QW, et al. Analysis of antimicrobial resistance in peking union medical college hospital in 2019 [J]. Union Med J, 2021, 12(2): 202–209.
- [4] AKHTR N, SULTAN F, NIZAMUDDIN S, et al. Risk factors and clinical outcomes for vancomycin-resistant *Enterococcus bacteraemia* in hospitalised cancer patients in Pakistan: A case control study [J]. J Pak Med Assoc, 2016, 66(7): 829–836.
- [5] RICE LB. The *Enterococcus*: A model of adaptability to its environment [J]. Clin Microbiol Rev, 2019, 32(2): e00058.
- [6] KUENYOUL P, YUN SJ, JEONGHYUN C, et al. Emergence of opera-mediated linezolidno susceptible *Enterococcus faecalis* in a tertiary care hospital [J]. Ann Lab Med, 2020, 40: 321–325.
- [7] 郭伟, 黄江华, 吴蓓, 等. 某县医院肠球菌临床分离株耐药性及毒力基因携带情况分析[J]. 检验医学, 2020, 35(12): 1267–1271.
GUO W, HUANG JH, WU B, et al. Drug resistance and virulence distribution characteristics of clinical isolates of *Enterococcus* in a hospital [J]. Lab Med, 2020, 35(12): 1267–1271.
- [8] WANG S, GUO Y, LV J, et al. Characteristic of *Enterococcus faecium* clinical isolates with quinupristin/dalfopristin resistance in China [J]. BMC Microbiol, 2016, 16(1): 246.
- [9] 陈夏威, 蔡春生, 何彬洪, 等. 一起粪肠球菌引起食源性疾病暴发流行病学分析及分子溯源调查[J]. 中国食品卫生杂志, 2020, 32(1): 99–102.
CHEN XW, CAI CHSH, HE HB, et al. Epidemiological and molecular survey of a foodborne disease outbreak caused by *Enterococcus faecalis* [J]. Chin J Food Hyg, 2020, 32(1): 99–102.
- [10] 单文清, 戴志芳, 何艳, 等. 一起粪肠球菌食物中毒的调查[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(2): 212.
DAN WQ, DAI ZHF, HE Y, et al. A food poisoning accident caused by *Enterococcus faecalis* [J]. Exp Lab Med, 2008, 26(2): 212.
- [11] CLARISSA O, MARCUS P, PHILIP B, et al. PCR for the detection of pathogens in neonatal early onset sepsis [J]. PLoS One, 2020, 15(1): e0226817.
- [12] PETERSENA, BISGAARD M, CHRISTENSEN H. Real-time PCR detection of *Enterococcus faecalis* associated with amyloid arthropathy [J]. Lett Appl Microbiol, 2010, 51(1): 61–64.
- [13] 吴晨曦, 施春雷, 周敏, 等. 食源性肠球菌荧光定量 PCR 检测方法的建立与评价[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(5): 779–787.
WU CHL, SHI CHL, ZHOU M, et al. Development and evaluation of a real-time PCR system for *Enterococcus spp.* detection in food samples [J]. J Food Biotechnol, 2011, 30(5): 779–787.
- [14] 体外诊断试剂注册管理办法[EB/OL]. [2014-07-30]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/fgwj/bmgzh/20140730170001489.html> [2021-03-22].
Measures for Administration of registration of *in vitro* diagnostic reagents [EB/OL]. [2014-07-30]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/fgwj/bmgzh/20140730170001489.html> [2021-03-22].
- [15] 梁莹, 杜潇利, 张妹中, 等. 综合医院食源性疾病病原学监测结果分析[J]. 中国公共卫生管理, 2021, 37(1): 102–105.
LIANG Y, DU XL, ZHANG MZ, et al. Analysis of surveillance results of foodborne disease etiology in a comprehensive hospital [J]. Public Health Manage China, 2021, 37(1): 102–105.
- [16] 井燕平. 2016 年至 2019 年某市食品中李斯特菌污染状况调查[J]. 临床研究, 2021, 29(3): 5–7.
JING YP. Survey of Liszt contamination in food in a city from 2016 to 2019 [J]. Clin Res, 2021, 29(3): 5–7.
- [17] 刘东来, 周海卫, 石大伟, 等. 细菌感染多重核酸检测试剂参考品的建立[J]. 传染病信息, 2018, 31(3): 209–214.
LIU DL, ZHOU HW, SHI DW, et al. Establishment of reference material of multiplex nucleic acid assay for bacterial infection [J]. Infect Dis Inform, 2018, 31(3): 209–214.
- [18] 张园园, 张平平, 王春娥, 等. 布鲁氏菌抗原检测试剂用国家参考品的研制[J]. 中国医药生物技术, 2020, 15(3): 255–259.
ZHANG YY, ZHANG PP, WANG CE, et al. Preparation of national reference for detection reagent of *Brucella antigen* [J]. Chin Med Biotechnol, 2020, 15(3): 255–259.

- [19] 周海卫, 沈舒, 石大伟, 等. 人细小病毒 B19 IgG 抗体检测试剂国家参
考品的建立及应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(2): 282–285,
292.
ZHOU HW, SHEN SH, SHI DW, *et al.* Establishment and application of
the reference panel for human parvovirus B19 IgG detection kits [J].
Labeled Immunoassays Clin Med, 2018, 25(2): 282–285, 292.
- [20] 全国标准物质管理委员会. 标准物质的研制、管理与应用[M]. 北京:
中国计量出版社, 2010.
National Administrative Committee for GRM's. Development,
management, and application of reference materials [M]. Beijing: China
Measuring Press, 2010.
- [21] 陈亚飞, 肖新月, 何平, 等. 标准物质稳定性考察规范解读和有效期管
理方式的研究[J]. 中国药事, 2018, 32(3): 317–322.
CHEN YF, XIAO XY, HE P, *et al.* Interpretation of reference material
stability investigation requirements and study on expiry date management
methods [J]. Chin Pharm Aff, 2018, 32(3): 317–322.

(责任编辑: 王 欣 张晓寒)

作者简介



王春娥, 硕士, 副研究员, 主要研究方
向为医学微生物菌种资源的标准化研究及
肺炎球菌疫苗的质量控制。

E-mail: wangce@nifdc.org.cn



徐颖华, 博士, 研究员, 主要研究方向
为细菌性疫苗质量控制与微生物资源标准
化研究。

E-mail: xuyh@nifdc.org.cn



叶 强, 硕士, 主任技师, 主要研究方
向为医学微生物菌种资源的管理及呼吸道
细菌疫苗的质量控制。

E-mail: qiangyee@nifdc.org.cn