

实验小鼠血清中酯酶-1 的检测能力验证结果评价

魏 杰,王 洪,巩 薇,于鹏丽,岳秉飞*

(中国食品药品检定研究院,北京 100050)

【摘要】 目的 通过实验小鼠血清中酯酶-1 项目的检测比对,促进全国实验动物质量检测实验室加强质控管理,提升检测能力。**方法** 按标准程序制备能力验证样品,随机编号,冷链运输发放给参加单位。参与者在规定时限提交检验结果和原始记录复印件。所得结果与样品预检结果完全一致的判为满意结果,否则为不满意结果。**结果** 共 11 个实验室报名参加本次比对试验,其中满意结果的有 10 个实验室,占参加比对实验室的 90.9%;不满意结果 1 个实验室,占参加比对实验室的 9.1%。**结论** 本次能力验证项目反映出各参与实验室在实验小鼠肾匀浆中酯酶-1 的总体检测水平较高,但仍需注重标准规范和检测细节。

【关键词】 能力验证;质量控制;酯酶-1

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 03-0063-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.03.012

Evaluation report of the proficiency testing of serum esterase-1 in laboratory mice

WEI Jie, WANG Hong, GONG Wei, YU Peng-li, YUE Bing-fei*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective To strengthen the quality control management and enhance the detection capacity of the experimental animal quality control laboratories in our country through the detection of serum esterase-1 (Es-1) in the experimental mice. **Methods** The samples were prepared according to the standard procedure, and then were randomly numbered and distributed to participating units by cold-chain transport. Before the deadline, the participants submitted the results and the copies of original records. When the results were completely consistent with the standard results, the results were regarded as satisfactory, otherwise were unsatisfactory. **Results** A total of 11 laboratories participated in this program, of which 10 laboratories were regarded as satisfactory (90.9%) and one laboratory obtained unsatisfactory result (9.1%). **Conclusions** The results of this proficiency testing project demonstrate that the overall detection level of Es-1 in laboratory mice is high of the participating laboratories. However, more attention still should be paid to standard specifications and some test details.

【Key words】 Proficiency testing; Quality control; Esterase-1

血清酯酶-1 及其同工酶在实验动物的免疫防御、遗传育种及特性筛选发挥着重要作用^[1-3]。在国家标准近交系大小鼠的遗传检测中,均有酯酶-1 项目的检测要求^[4]。该位点多态性明确,结果容易

判断,是近交系大小鼠的遗传监测中不可或缺的目标之一。

实验室间的能力验证 (proficiency testing) 是一种国际通行的实验室质量控制方法,在评价实验室

[作者简介] 魏杰(1982-),女,硕士,助理研究员。研究方向:免疫遗传检测。E-mail:jane3040320@163.com

[通讯作者] 岳秉飞(1960-),男,博士,研究员。研究方向:动物遗传学。E-mail:y6784@126.com

的工作能力,加强实验室的质控管理及提升实验室的检测水平等方面具有积极的意义与影响^[5]。中国食品药品检定研究院一直致力于推进实验室间的能力验证评价工作。2013 年开始与中国合格评定国家认可委员会(China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS)合作,组织开展全国范围实验室能力验证活动;2014 年获得能力验证提供者资质,在 CNAS 的监督指导下,独立组织实施能力验证项目。历经三年的积累,仅在实验动物遗传检测能力验证项目上,已完成了碱性磷酸酶-1 等 4 个项目的比对^[6-8]。为进一步提升不同实验室的管理检测水平,发现和解决实际工作中的问题,2016 能力验证计划 NIFDC-PT-086 “实验小鼠血清中酯酶-1 的检测”落地实施。

1 材料和方法

1.1 比对样品的制备

本项目提供的待测样为小鼠血清冻干样品。BALB/c、C57BL/6 两个品系小鼠各 20 只,8 周龄,均来自中国食品药品检定研究院【SCXK(京)2014-0013】。动物取材实验均在中国食品药品检定研究院动物设施内完成【SYXK(京)2011-0008】。小鼠眼球采血并分离血清,按照品系分别称取实验动物血清总重量,加入一定比例的蔗糖溶液作为保护剂混匀,按照 50 μL/管的装量分装,放入-20℃冰箱中冷冻 2 h,置于冻干机中冻干。所制样品均需进行均匀性和稳定性检验。

1.2 均匀性检验

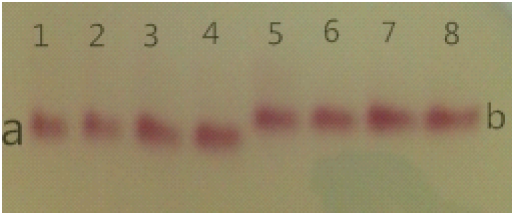
根据样品数量,随机抽取 4% 的样品进行均匀性检验。共抽样 6 管,每品系 3 管,实验条件参见 GB/T14927.1-2008。各样品实验时均需加入 50 μL 蒸馏水进行还原。如所得基因型与标准基因型保持一致,且清晰可读,即认为符合样品的均匀性要求。否则需重新制样检测直至合格,备用于稳定性实验和样品发放。本研究中所制样品均满足均匀性要求。结果参加图 1。

1.3 稳定性检验

1.3.1 存放稳定性检验

分别将时间和温度设为观测的横纵坐标,设定 4℃、室温(RT)这 2 个温度观测点,1、3、7、14、30 d 为观测时间,在每个坐标交点,每个型别的样品分别随机抽取 1 管进行编号。如发现任何 1 管发生条带模糊不可读,则认为在该点已经发生了样品的稳

定性变化,即在该时间温度条件下该型别样品不稳定。记录各型别不稳定结果出现的时间和温度,当不稳定点出现后,其之后的时间温度观测点随之取消。但即使一直稳定,本测定的观测周期也仅为 30 d 时长。汇总稳定性结果,填写各自时间温度稳定性结果报告单。稳定用“○”表示,不稳定用“×”表示。经检验,A、B 型样品均可在 4℃ 及室温(RT)条件稳定存在 30 d。结果可参见表 1。



注:1-3 为 A 型样品,4、5 为标准 A、B 型,6-8 为 B 型样品。

图 1 酯酶-1 的均匀性检验结果

Note. 1-3 are samples of type A. 4 and 5 stand for the standard of type A and B. 6-8 are samples of type B

Fig.1 Results of the esterase-1 homogeneity test

表 1 酯酶-1 样品不同温度时间稳定性结果

Tab.1 Stability of esterase-1 under different time and temperature conditions

温度/T	1 d	3 d	7 d	14 d	30 d
4℃	○	○	○	○	○
RT	○	○	○	○	○

注:“○”表示样品稳定。
Note. “○”indicates that the sample is stable.

1.3.2 冻融稳定性检验

分别抽取两个型别的样品各 3 管,加 50 μL 抽取蒸馏水还原。充分溶解混匀后,放入-20℃冰箱中冷冻 2 h。置于室温融化后点样(点样后继续冷冻 2 h),按照 GB/T14927.1-2008 对样品进行检测,观测冻融 1 次的稳定性结果。如出现与标准型不符,即判定为冻融不稳定,终止实验。如稳定则按照上述方法进行第 2 次和第 3 次冻融稳定性监测。经检验,冻融三次 a、b 型酯酶-1 样品均能稳定存在。所制样品的冻融稳定性良好。

1.4 参加实验室

全国共 11 家实验室报名参加本次能力验证计划,11 家实验室反馈结果。其中,省级实验动物质检系统实验室 7 家(含国家质检中心),省级疾病预防控制中心实验室 2 家,科研院所 2 家;在地域分布上,涵盖了北京、上海、黑龙江、吉林、辽宁、新疆、四川、陕西、湖北、广东和广西。

1.5 样品的编号和发放

能力验证样品为小鼠血清冻干样品,每份 3 管,每管装量 50 mg/管,性状为白色固体。由中国食品药品检定研究院加工并经过均匀性和稳定性检验,采取随机编号的原则抽样发放,全程冷链运输。

1.6 检测项目和要求

检测项目为小鼠血清中的酯酶-1a 基因型和 b 基因型。结果判读可参见国标 GB/T 14927.1 – 2008。检测方法选择推荐但不局限与国标方法。参与者需登录网上报名系统进行报名、样品确认、下载作业指导书及上报结果。原始记录需在规定时间内寄回。

1.7 结果评价

本次能力验证的结果是一个定性的结果。依据 GB/T14927.1 – 2008,对各实验室提供的原始记录和检测结果进行判定。如参加的实验室提供的检测结果与标准结果完全一致,则参加者结果为满意结果;如实验室提供的结果与标准结果不一致,则为不满意结果。另,未按时限反馈结果、不能提供实验记录中原始图片或其扫描件的参加者,结果为不满意。

2 结果

11 家参与项目的单位中,获满意结果的实验室 10 家,占参加单位的 90.9%;不满意结果有 1 家,占参加单位的 9.1%。详见表 2。

表 2 能力验证酯酶-1 结果一览表
Tab.2 Comparison of the results of proficiency testing of esterase-1

序号 Number	实验室代码 Code of Laboratory	样品编号 Sample number	设定结果 Standard results	检测结果 Results	备注 Remarks
1	562	CBG0090011	b	b	
		CBG0090021	a	a	
		CBG0090022	a	a	
		CBG0090029	a	a	
2	815	CBG0090038	b	b	
		CBG0090039	b	b	
		CBG0090024	a	a	
3	386	CBG0090030	a	a	
		CBG0090032	b	b	
		CBG0090001	a	a	
4	634	CBG0090026	a	a	
		CBG0090040	b	b	
		CBG0090020	b	b	
5	049	CBG0090023	a	a	
		CBG0090031	b	b	
		CBG0090002	a	a	
6	733	CBG0090007	a	a	
		CBG0090034	b	b	
		CBG0090006	a	aa	
7	259	CBG0090015	b	bb	
		CBG0090016	b	bb	
		CBG0090009	a	a	
8	333	CBG0090013	b	a	*
		CBG0090017	b	b	
		CBG0090014	b	b	
9	620	CBG0090027	a	a	
		CBG0090035	b	b	
		CBG0090008	a	a	
10	277	CBG0090010	a	a	
		CBG0090019	b	b	
		CBG0090028	a	a	
11	626	CBG0090036	b	b	
		CBG0090037	b	b	

注: * 表示不满意结果。
Note. * means an unsatisfactory result.

3 讨论与建议

3.1 方法的选择

作业指导书中详细描述了样品在测试前需要加入蒸馏水 50μL 溶解样品。未限制测定方法,推荐使用 GB/T14927.1-2008 实验动物近交系小鼠、大鼠生化标记检测方法,参加本次能力验证的实验室集中采用了国标方法。

3.2 不满意结果原因分析

判定为不满意结果的实验室有 1 家:代码为 333 的实验室将样品 CBG0090013 的酯酶-1 判断为 a 型,而标准结果是 b 型。该实验室提供的结果与标准结果不一致,判定为不满意结果。代码为 333 的实验室提供的原始结果图,条带可见,但条带区分度较差,分析可能为电泳时间不够,或者电泳基质、缓冲液存在问题,使得电泳后的条带区分不明显,A、B 带型判断有误。

另,代码为 333 的实验室提供的图片上只有条带截图,不能看到点样原点及电泳方向标识,这对于不满意结果分析是一个不利因素(见图 2)。

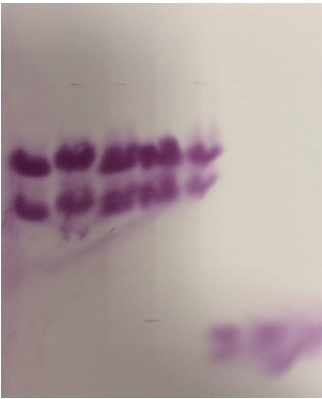


图 2 代码 333 实验室的原始记录
Fig.2 Original records of Laboratory No. 333

3.3 发现的问题

3.3.1 适用标准没有及时更新

本次能力验证具体实验方法的参考依据为国家标准的 GB/T14927.1-2008,遗传质量控制参考总原则为 GB14923-2010。有 3 家实验室引用了质控总则没有更新,仍为 GB14923-2001,或者写为 GB/T14923-2001,或者 GB14923-2011。(如图 3~图 5 所示)

3.3.2 打印错误或者上报错误

本次能力验证计划中,有 1 家实验室将检验依据 GB/T 14927.1-2008 打成了 GB/T 4927.1-

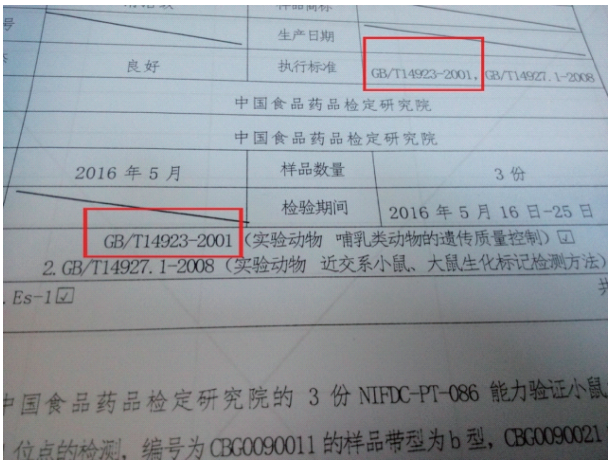


图 3 代码 562 实验室的原始记录
Fig.3 Original record of Laboratory No. 562

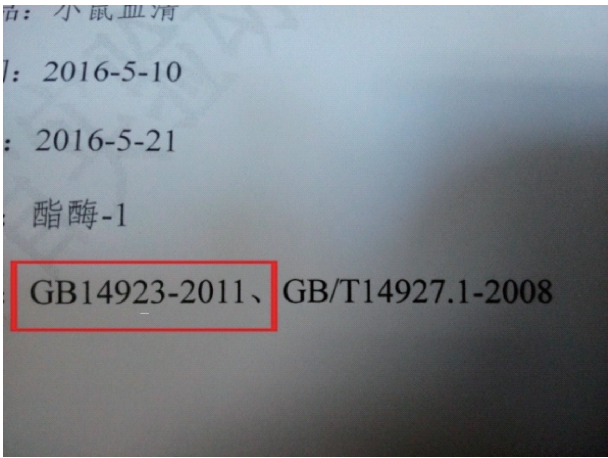


图 4 代码 634 实验室的原始记录
Fig.4 Original record of Laboratory No. 634

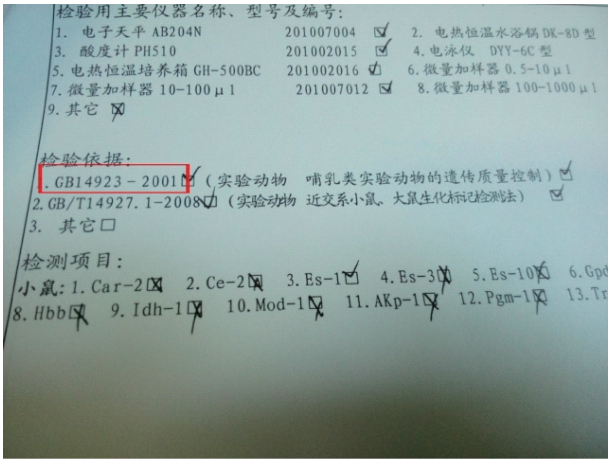


图 5 代码 259 实验室的原始记录
Fig.5 Original record of Laboratory No. 259

2008(图 6)。另有代码为 562 的实验室原始记录及报告均为正确结果,但在网络上报系统中填写结果

时,将 CBG0090021 的 a 型误填为 b 型。

第 1 页 共 2 页		
SXLA (2016) 第 9 号		
冻干样品	样品等级	/
中国食品药品检定研究院	样品编号	CBG0090001、 CBG0090026、 CBG0090040
Es1 位点	检测依据	GB/T 4927.1-2008
委托	送检日期	2016.05.09
3	送样人	王 洪
冻干		

图 6 代码 634 实验室的原始记录

Fig. 6 Original record of Laboratory No. 634

3.3.3 原始记录样品内容与实际不一致

实际样品为小鼠血清冻干样品,并非实验小鼠,代码 259 的实验室在样品定义上不够严谨(见图 7)。

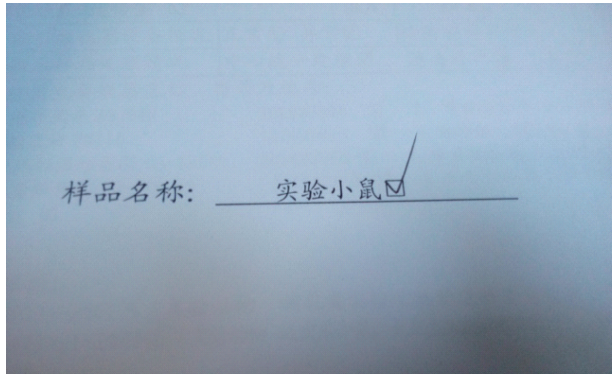


图 7 代码 259 实验室的原始记录

Fig. 7 Original record of Laboratory No. 259

3.4 细节规范还需注意

多数实验室在多次参加能力验证的基础上总结经验,避免了往年如无中生有的错误,并且如代码 049 的实验室原始记录在样品的前后处理都做了详细说明,代码为 620 的实验室进行了样品的复检,这些都值得我们借鉴。但是除了标准适用的集中问题之外,如书写错误等小问题仍需多加注意。代

码 259 的实验室上报结果为 AA、BB 等带型,虽然结果也可以视为正确,但是在作业指导书中明确写着结果上报为 a、b 型,应当进一步注意规范。

3.5 实验室质量控制建设需不断加强

能力验证活动的实质是提高实验室的质量管理水平和质量控制能力,为数据的准确、可靠提供外部的质量保证活动。组织单位需要做好组织和宣传工作,参加单位应当做好足够的准备,以便项目能够顺利实施,增进实验室间的交流学习,发现问题,提升各自的检测水平。

从结果反馈来看,多数实验室在多次参加能力验证的基础上总结经验有了很大提高,但是在细节及管理管理规范上仍有待加强。需要加强实验体系的管理及标准的宣贯,充分利用参加能力验证的机会检验所有相关环节的质量活动,发现问题及时整改,从而使质量体系得到完善。

参考文献:

[1] 孙虎山,王宜艳,王慧丽. 栉孔扇贝血淋巴中酯酶活性及其性质[J]. 中国水产科学, 2006,13(1): 39-44.

[2] 卢黎. 威宁鸡与贵州黄鸡血清酯酶-1 的多态性比较研究[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2012, 29(5): 46-48.

[3] 李爱华,张慧茹,侯玲. 滩羊血清酯酶-1 同工酶与肌肉脂肪酸含量的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005, 7: 22-23.

[4] GB/T 14927.1-2008. 实验动物近交系小鼠、大鼠生化标记检测法[S].

[5] 席静,张思群,刘静宇,等. 论能力验证活动对实验室能力建设的作用和意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(6): 1576-1578.

[6] 王洪,魏杰,李芳芳,等. 实验动物质检机构碱性磷酸酶-1 测定能力验证评价[J]. 中国药事, 2014, 28(12): 1339-1341.

[7] 魏杰,王洪,巩薇,等. 实验小鼠肾匀浆中酯酶-3 的实验室测定能力验证结果评价[J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(2): 204-207.

[8] 王洪,魏杰,于鹏丽,等. 实验小鼠肾匀浆中苹果酸酶-1 和异柠檬酸脱氢酶-1 实验室检测能力验证结果评价[J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(2): 199-203.