



2011—2017年实验动物遗传质量评价能力验证结果分析

王洪魏杰付瑞巩薇项新华岳秉飞

(中国食品药品检定研究院,北京 102629)

摘要:目的 通过分析2011—2017年实验动物遗传质量评价能力验证计划的结果,旨在发现各实验室在实验动物遗传质量评价方面存在的问题,了解我国实验动物质量控制的发展趋势。**方法** 按照ISO/IEC 17043实施6次能力验证计划,统计各实验室检测能力的变化,对所有参加实验室的能力给予评价。**结果** 全国各实验室累计57次参加了2011—2017年的6次能力验证活动,整体满意率为82.5%。6次能力验证活动的满意率分别为60.0%、80.0%、90.0%、80.0%、90.9%和81.8%,个别实验室出现多次不满意结果。**结论** 通过开展能力验证活动,全国实验动物检测实验室的检测能力得到提升,为我国实验动物质量检测评价体系的建设和发展提供了重要支撑。

关键词:能力验证;实验动物;遗传质量评价

中图分类号: G311 **文献标识码:** C **文章编号:** 1006-6179(2019)01-0001-05

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.01.001

我国的实验动物质量检测体系已经基本形成,在实验动物质量评价领域发挥着积极的作用,为实验动物的质量控制提供保证。但是,在检测体系中,各实验室的检测能力却参差不齐,尤其是进行遗传质量检测的各实验室,少数实验室在设备、人员、管理、设施与环境方面存在严重缺陷,在检测水平以及对新方法的适应性等方面存在着诸多问题。如果长此以往,检测结果的可信度和准确性将受到质疑。因此,迫切需要组织实验动物领域的遗传质量控制实验室参加能力验证活动,来保证实验动物质量控制实验室检测结果的准确性、权威性、公正性和可比性^[1]。

一般通过以下两种方式对实验室的能力进行评价。一,由认可机构(如CNAS)派出评审员,依据ISO/IEC 17025^[2]的相关要求对实验室的能力进行现场评审;二,实验室通过参加能力验证活动来对其能力进行评价。能力验证活动包括能力验证和测量审核^[3]。通过实验室间检测结果的比对来确定或证明实验室的校准、检测能力的方式,即为实验室能力验证(Proficiency Testing,简称PT)。通过开展能

力验证活动有助于发现实验室存在的问题,进一步提高实验室的能力。根据行业发展的需要,中国食品药品检定研究院按照ISO/IEC 17043:2010《合格评定能力验证的通用要求》^[4]于2011—2017年组织实施了6个(含9个项目)实验动物遗传质量检测能力验证计划。能力验证计划的具体名称如下:2011年实验室比对(包括3个项目:酯酶-1,血红蛋白 β 链和酯酶-3),2013年NIFDC-PT-009实验小鼠肾匀浆中碱性磷酸酶-1检测,2014年NIFDC-PT-021实验小鼠肾匀浆中酯酶-3检测,2015年NIFDC-PT-038实验小鼠肾匀浆中苹果酸酶-1和异柠檬酸脱氢酶-1检测,2016年NIFDC-PT-086实验小鼠血清中酯酶-1检测和2017年NIFDC-PT-106实验小鼠肾匀浆中肽酶-3检测。

本研究通过比较各实验室在实验动物遗传质量控制方面的检测能力,旨在发现参加能力验证活动的实验室所存在的问题,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,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。

收稿日期:2018-08-20

作者简介:王洪、魏杰共同为第一作者

王洪(1977—),女,研究员,硕士,研究方向:动物遗传学.E-mail: littstar@163.com

魏杰(1982—),女,副研究员,硕士,研究方向:动物遗传学.E-mail: jane3040320@163.com

通信作者:岳秉飞(1960—),男,研究员,博士,研究方向:动物遗传学.E-mail: y6784@126.com

项新华(1970—),男,主任技师,研究方向:实验室质量管理工作.E-mail: xiangxh@nifdc.org.cn

1 方案与方法

1.1 能力验证方案设计

能力验证活动的两个关键环节是能力验证计划方案设计以及测试项目选择。2011—2017 年的能力验证计划,选择血红蛋白 β 链,碱性磷酸酶-1,酯酶-3(2 次),苹果酸酶-1 和异柠檬酸脱氢酶-1,酯

酶-1(2 次)和肽酶-3 作为测试项目,测试项目的选择参考了实验动物遗传质量控制现状,所选项目均为检测实验室在日常检测工作中的必检项目、方法学稳定的项目以及难度较高的项目。这些项目的检测均依据国家标准 GB/T 14927. 1-2008,旨在考察实验室对这些测试项目的检验能力以及对实验动物遗传质量的控制能力。具体各年份的项目详情见表 1。

表 1 能力验证项目
Table 1 Projects of Proficiency Testing

编码	计划名称	测试参数	样品数	方法
2011	实验室比对	酯酶-1/血红蛋白 β 链/酯酶 3	6	定性
NIFDC-PT-009	实验小鼠肾匀浆中碱性磷酸酶-1 检测	碱性磷酸酶-1	2	定性
NIFDC-PT-021	实验小鼠肾匀浆中酯酶-3 检测	酯酶-3	3	定性
NIFDC-PT-038	实验小鼠肾匀浆中苹果酸酶-1 和异柠檬酸脱氢酶-1 检测	苹果酸酶-1/异柠檬酸脱氢酶-1	3	定性
NIFDC-PT-086	实验小鼠血清中酯酶-1 检测	酯酶-1	3	定性
NIFDC-PT-106	实验小鼠肾匀浆中肽酶-3 检测	肽酶-3	3	定性

1.2 样品制备,均匀性检验和稳定性检验

按照 ISO/IEC 17043 进行能力验证计划的样品制备、均匀性检验和稳定性检验。在样品发放前,组织专家对测试项目的选择、样品均匀性检验方案和稳定性检验方案、以及作业指导书进行审核,只有符合条件的项目才准予发放样品。

1.3 方法

本文讨论的 6 个能力验证计划,均制定了相应

的作业指导书,用于规范实验室对样品的检测、分析与保管,同时,推荐实验室采用常规的检测方法。

1.4 结果评价

本文中的 6 个能力验证计划均为定性结果。定性结果,采用与标准结果一致的方法进行分析。依据各年份实验室提交的检测结果,统计各实验室检测能力的变化^[5-10]。将 15 家实验室编号为:A、B、C、D、E、F、G、H、I、J、K、L、M、N 和 Q。详见表 2。

表 2 各实验室参加能力验证活动的频次

Table 2 Frequency of Laboratories Participating in the Proficiency Testing

序号	年份	项目名称	实验室名称														
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	Q
1	2011	酯酶-1/酯酶-3/血红蛋白			○				○		○		○				○
2	2013	碱性磷酸酶-1	○		○	○	○	○	○		○	○			○	○	
3	2014	酯酶-3	○		○	○	○	○	○		○	○	○		○		
4	2015	苹果酸酶-1 异柠檬酸脱氢酶-1	○		○	○	○	○	○	○	○	○			○		
5	2016	酯酶-1		○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			
6	2017	肽酶-3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○				
总计	-	-	4	2	6	5	5	5	6	3	6	5	4	1	3	1	1

2 结果

全国 15 家实验室累计 57 次参加了 6 个能力验证计划,累计发放样本数 176 份。参加实验室的地域分布主要集中在北京、上海、广州、辽宁、吉林、黑龙江、新疆、陕西、四川、广西、湖南、湖北和重庆等地区。行业分布主要集中在国家实验动物中心、省市

级实验动物质量检测机构和科研院所等领域。因为实验室自身原因未能及时提交检测结果,因此累计提交检测结果 54 份。详见表 2。

对参加实验室提交的检测结果进行了统计分析,总体满意率为 82.5%。各项目的满意率详见表 3。从各计划满意率来看,2 个计划的满意率高于总体满意率;3 个计划的满意率与总体满意率持平;1 个计划的满意率低于总体满意率。满意率最高的计

划出现在 2016 年,满意率最低的计划出现在 2011 年。不满意结果出现 10 次,涉及 8 个实验室。15 个实验室中有 9 个持续参加能力验证活动,其中 6 个实验室持续取得满意结果:G 实验室(6 次),I 实

验室(6 次),J 实验室(5 次)和 D 实验室(5 次),H 实验室(3 次),B 实验室(2 次)。此外,连续两次出现不满意结果的实验室是 K 实验室(2016 年和 2017 年)。

表 3 参加能力验证实验室能力评价结果

Table 3 Capability Evaluation on Laboratories Participating in the Proficiency Testing

年份	2017	2016	2015	2014	2013	2011
项目编号	NIFDC-PT-106	NIFDC-PT-086	NIFDC-PT-038	NIFDC-PT-021	NIFDC-PT-009	2011
不满意	2	1	2	1	2	2
总数	11	11	10	10	10	5
满意率	81. 8%	90. 9%	80%	90%	80%	60%

3 讨论

3.1 能力验证项目的选择

国家标准 GB/T 14927. 1—2008 实验动物近交系小鼠、大鼠生化标记检测方法中包括 14 个生化标记位点的检测,2011—2017 年开展的能力验证计划选择了 7 个生化标记位点作为测试项目,包括:血红蛋白 β 链、碱性磷酸酶-1、酯酶-3、苹果酸酶-1、异柠檬酸脱氢酶-1、酯酶-1 和 肽酶-3,其中酯酶-3 和酯酶-1 分别开展了两次能力验证计划。并非所有 14 个位点都适于作为能力验证项目。样本制备后,需要进行均匀性检验和稳定性检验,必须选择稳定性高和可重复性高的项目。测试项目的选择,经过慎重分析实验动物遗传质量控制的现状,选择的 7 个项目均为质检机构日常检测工作中的必检项目,以及不合格率较高的项目。目的在于考察各实验室对这些测试项目的检验能力以及对实验动物遗传质量的控制能力。发放的样本类型包括小鼠全血、小鼠肾匀浆和小鼠血清。

3.2 实验室未提交检测结果的问题

能力验证是对实验室检测质量进行监控的重要手段,也是政府和社会了解实验室检测能力的重要方法^[11]。在 6 次能力验证活动中,共出现过 3 个实验室未提交检测结果的情况,分别出现在 2011 年,2013 年和 2017 年。实验室报名参加能力验证计划后,如果发现自身并不具备相应的检测能力,可以在样本发放前提出申请,退出能力验证计划;如果实验室在接收样品后未开始实验之前,由于自身原因无法开展相应检测,也可以提交退出申请,并原封退回相应样品;如果实验室已经接收样品并已开展检测工作,便不可以提出退出申请。实验室如果由于自

身原因不提交检测结果,根据评价原则,将判定为不满意结果。实验室由于自身原因没有反馈检测结果,说明实验室的质量管理体系存在一定的问题。出现不满意结果的实验室中有两个实验室(N 实验室和 Q 实验室)均为仅参加了一次能力验证计划,结果均为不满意,实验室便没有再参加过实验动物遗传质量检测的能力验证计划,分析其原因为发现自身不具备该项目的检测能力。因此,建议实验室根据自身条件(人员,设备,资质等)对能否完成能力验证计划的检测做出合理判断,并依据变化及时做出相应调整。能力验证计划的终极目的是提高实验室的质量管理水平和质量控制能力,为数据的准确性和可靠性提供外部的质量保证。

3.3 正确看待不满意结果,积极采取有效纠正措施

在 2011—2017 年的 6 次能力验证活动中,57 个结果的总体满意率为 82. 5%,表明参加能力验证活动的实验室整体检测水平较高。全国共有 15 个实验室不同频次地参加过我们组织实施的能力验证计划。8 个实验室出现过不满意结果,其中 6 个实验室分别出现过 1 次不满意,2 个实验室各自出现过 2 次不满意。实验室应正确看待不满意结果,出现不满意结果,实验室可以采取有效的纠正措施,可以通过参加测量审核对不满意结果进行纠正。如果连续多次出现不满意结果,无疑是给实验室敲响警钟,提示应予以高度重视,采取措施完善质量管理体系,避免更严重问题的出现。能力验证工作的目的在于识别实验室存在的问题,促进实验室检测能力的提高。

3.4 能力验证工作的重要性

近年来,能力验证活动得到越来越多的实验室重视,2011 年,参加能力验证活动的实验室最少,仅有 5 个。之后逐年增加,2016 年和 2017 年达到最

多,均为 11 个。最近 3 年(2015—2017),持续参加的实验室达到最多。本研究发现 C 实验室从 2011—2017 年连续 6 次参加能力验证计划,分别在 2011 年和 2014 年出现过两次不满意结果,实验室高度重视,采取应对措施,开展人员培训,检测能力得到提升,在 2015—2017 年连续 3 年取得满意结果。K 实验室没有持续参加能力验证计划,共参加 4 次能力验证计划,却连续两年(2016 年和 2017 年)出现不满意结果。分析结果发现,该实验室频繁调整检测技术人员,初步分析实验室未开展相关培训工作。值得关注的是,有 3 个实验室(C、G 和 I)连续 6 次参加我们组织实施的所有能力验证计划,其中有 2 个实验室(G 和 I)获得全部满意的结果。说明该两家实验室具有高水平的检测能力和完善的质量管理体系。另外,M 实验室在连续 3 次参加能力验证计划后,由于第三次出现了不满意结果,之后便没有再参加该项目的能力验证活动。F 实验室连续 5 年持续参加,仅在第一次为不满意结果,之后连续 4 次满意结果。应该重视能力验证活动对实验动物质量检测工作起到的督导作用。实验动物质量检测机构是通过国家技术监督部门的资质认定以及 CNAS 的认可,并依据国家科技部颁布的《实验动物质量管理办法》和相关规定,通过一定的程序而设立的。质检机构的实验室具有为社会提供公正、准确检验数据的责任和义务。实验动物质量检测机构对能力验证活动应给予高度重视,通过组织和参加能力验证活动,全面了解实验动物质量检测机构的能力状况,客观评价实验室的检验能力。

3.5 能力验证工作的社会效益和发现的问题

参加能力验证活动,为实验室提供了一个评价和证明其检测能力、出具可信数据和结果的重要机会;同时也为实验室提供了一种有效的外部质量监控的方式,为实验室提供了一个寻求改进的契机^[4]。通过 2011—2017 年 6 项能力验证计划的开展,我们发现:参加能力验证的实验室数量逐年增加;项目的满意率逐年上升;我们协助实验室解决问题,很多实验室的检测能力得到逐步提升;全国各实验室对于能力验证工作的重视程度逐年提高。另外,也发现检测工作中存在诸多问题:1,个别实验室的检测人员专业检测能力不足;2,检测人员对检测方法的掌握程度和理解判断水平不足;3,对能力验证作业指导书和国家标准理解不透彻;4,实验室检

测人员频繁调动;5,缺乏相关技术培训。能力验证活动的开展,可以起到警示作用,促进实验动物行业的质检机构提高风险意识和忧患意识,及时发现问题,提高检测能力,同时提高实验动物质检机构的竞争力。1 次不满意结果不代表实验室不具备相应能力;1 次的满意结果也不代表实验室的检测水平一成不变。建议实验室能够持续参加能力验证活动,提升实验室检测能力。

综上所述,通过分析 2011—2017 年实验动物遗传质量评价能力验证计划的结果,发现各实验室存在的问题,促进了全国实验动物检测实验室检测能力的提升。我们应从整个实验室质量控制的角度,主动开展能力验证活动,充分认识能力验证工作的重要性,建立实验室能力验证的长效机制,做好能力验证工作,这对实验动物质量检测机构能力的持续改进和提高十分重要。

参考文献

- [1] 贺争鸣,李根平.建立和完善全国实验动物质量抽查检验的新机制[J].实验动物科学,2011,28(4):43-45.
- [2] ISO/IEC 17025:2005 检测和校准实验室能力认可准则[S].2005.
- [3] 毛敏,项新华,肖镜.2013 年食品药品系统实验室能力验证结果分析[J].中国药事,2015,29(11):1145-1150.
- [4] 世界标准化组织.ISO/IEC 17043:2010 Conformity Assessment-General Requirements for Proficiency Testing[M].北京:中国计量出版社,2012.
- [5] 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.
- [6] 王洪,魏杰,于鹏丽,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.
- [7] 王洪,贺争鸣,魏杰,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.
- [8] 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.
- [9] 魏杰,王洪,李芳芳,等.实验室能力验证用酯酶-3 标准样品的均匀性和稳定性研究[J],中国药事,2015,29(3):277-280.
- [10] 魏杰,王洪,巩薇,等.实验小鼠血清中酯酶-1 的检测能力验证结果评价[J].中国比较医学杂志,2017,27(3):63-67.
- [11] ISO/IEC 17011:2004 合格评定认可机构通用要求[S].2004.

(下转至第 9 页)

Histopathological Study on Skin Wound Healing of Minipig after Deep Second Degree Burn

QIU Bo¹, WANG Yan², ZHENG Xiaoxia¹, ZHANG HaiJing¹, ZHANG Xin¹, WANG Fengqian¹, HU Jianting¹
(1. Shandong Pharmaceutical Academy, Shandong Provincial Key Laboratory of Chemical Drug, Jinan 250101, China)
(2. Shan Dong Ying Cai University, Jinan 250104, China)

Abstract: Objective To establish the model of porcine deep second degree burn and observe the histopathological changes of the skin at different time points. **Method** Use the constant temperature water bath to prepare minipig deep second degree burn. The morphological changes of the wound were observed and the healing rate was measured on the 1st, 3rd, 7th, 14th, 21st and 28th day, respectively. According to the rule of skin tissue healing and the operability of the experiment, scalded tissue was sampled on the 1st, 14th and 28th day, respectively. The histopathological changes of the skin were observed at different time points by HE, Masson staining and immunohistochemical staining with anti-CD31 antibody on the 1st, 14th and 28th day. **Result** Postburn skin tissue has accumulated into the deep dermis and is confirmed to reach the standard deep second degree burn by using the different methods. On the 14th and 28th day of the postburn, different degrees of tissue repair is performed on the damaged skin respectively. On the 28th day of deep second degree burn, the skin has basically healed, but the skin tissue has not yet fully matured. In addition to the relatively mature layers of the epidermis, the dermis has not yet fully formed the scar tissue. **Conclusion** The healing rate of male pigs is faster than female pigs. **Key words:** minipig; deep second degree burn; skin; histopathology

(上接第 4 页)

Analysis of Proficiency Testing Results of Laboratory Animals' Genetic Quality during 2011—2017

WANG Hong, WEI Jie, FU Rui, GONG Wei, XIANG Xinhua, YUE Bingfei
(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China)

Abstract: Objective Proficiency testing (PT) during 2011—2017 were evaluated in order to find problems of laboratories and to understand the change of the testing capacity of laboratories. **Method** According to ISO/IEC 17043, six PT were carried on and the change of the testing capacity was analyzed. The capacity of all the laboratories was evaluated. **Result** Totally 57 laboratories participated in the six PT. The average satisfaction rate was 82.5%. The satisfaction rate of six PT was 60.0%, 80.0%, 90.0%, 80.0%, 90.9% and 81.8%, respectively. **Conclusion** PT can help laboratories to increase their testing capacity and strengthen the system construction of laboratory animals' quality monitoring. **Key words:** proficiency testing; laboratory animal; genetic quality evaluation