

GLP 实验室对实验动物血液分析的要求

许丽, 潘琦, 刘向云, 孟祥, 蒋秀蓉, 孙祖越

(上海市计划生育科学研究所药理毒理室, 中国生育调节药物毒理检测中心; 上海 200032)

[中图分类号] R322.6 Q95-33 [文献标识码] C [文章编号] 1674-5817(2011)06-0466-04

1970年代以来, 世界各国对出具化学品(尤其是药品)安全性数据的实验室开展了药物非临床研究质量管理规范(GLP)管理工作。我国自1980年代就着手开展GLP研究, 其重中之重则是药品管理系统。本文则就临床检验室对动物血液分析的规范情况进行讨论。

1 GLP 实验室及其认证机构

GLP, 英文全称为“Good Laboratory Practice for Non-clinical Laboratory Studies”, 中文译为: 药品非临床研究质量管理规范。符合GLP规范的实验室即称为GLP实验室^[1]。我国自1991年11月1日颁布实施了《药品非临床研究质量管理规范(试行)》(GLP), 标志着我国临床前实验开始步入了法制轨道。2001年起, 国家药品监督管理局(SFDA)研究制订了有关GLP认证工作的配套办法, 并逐步试点实施了GLP认证工作的配套办法, 逐步实施了GLP的认证制度。2003年9月1日正式颁布《药品非临床研究质量管理规范》, 2007年1月1日起我国开始强制实行GLP认证, 首批确定的产品是创新药, 中药注射剂和生物制品。经过20余年的努力, 目前全国范围内, 通过SFDA认证的GLP实验室一共有41家。涉及范围从药品领域, 已拓展至食品添加剂、色素添加剂、动物饲料添加

剂、人用药物和兽用药物、人用医疗器械、生物制品和电子产品等新领域^[2]。

我国与GLP建设相关的政府管理部门主要有: 负责认证管理的行政单位为国家食品药品监督管理局(State Food and Drug Administration-SFDA)、组织现场调查机构为SFDA直属单位-药品认证管理中心(Drug Certification Administration Center-CCD), 日常监督管理机构为省级食品药品监督管理局(x Food and Drug Administration-xFDA)^[3]。GLP认证是指国家食品药品监督管理局对药物非临床安全性评价研究机构的组织管理体系、人员、实验设施、仪器设备、试验项目的运行与管理等进行检查, 并对其是否符合GLP作出评定。

首先, 由SFDA委托CCD进行具体GLP检查工作, 再由CCD委派检察员对GLP实验室进行检查工作, 以下是一条工作链。CCD对省级FDA进行指导工作, 省级FDA可以将检查情况随时直接报告SFDA, 受检GLP也可将随时接受检查的情况直接汇报给SFDA(图1)。

2 如何开展实验动物血液分析

2.1 实验室血液分析方法的发展

血液学检测是临床实验室最早开展的检测项目。1950年代初始, 一架显微镜、几支吸血管、一块血细胞计数板、一个目视比色计加上一些玻璃片、染色液等, 就是血液学检验的“全部家当”。这种纯手工方法对血细胞及白细胞进行计数、分类, 不仅实验数据的准确性、可靠性受到一定影响, 且检验人员费时费力^[4]。1960年代末血细胞分析仪除可进行血细胞计数外, 还可以同时测定血红蛋白(HBG)。1970年代, 得益于快速发展的计算机技术, 血小板计数的繁琐手续(手工分离富血

[收稿日期] 2011-04-01

[作者简介] 许丽(1985-), 女, 仪器与设备应用专业,

E-mail: lucifer2412@163.com

[通讯作者] 孙祖越(1964-), 男, 研究员, 博导, 从事前列腺药理毒理学和药物临床前安全性评价,

E-mail: sunzy64@163.com

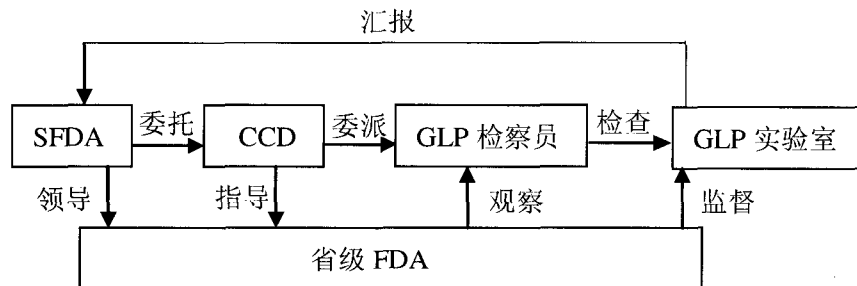


图 1 GLP 认证机构、检查员及实验室间关系示意图

小板血浆后在进行血小板计数),改进成为血小板与红细胞同时计数。1980年代,白细胞三分类血细胞分析仪问世,在原有的8项检测基础上加上红细胞指数、三个直方图的报告,不仅可直观判断实验对象是否贫血,且可对贫血的类型和原因进行分析;其中,血小板参数对止血和血栓疾病的诊断及一些疾病的疗效观察也有着重要的参考价值。1990年代,开发出五分类血液分析仪和对网状红细胞进行计数的血细胞分析仪,同时,将激光、射频、化学染色计数应用于细胞检测,发展成为更成熟的血细胞分析流水线^[5,6]。

2.2 实验室血液分析系统

随着医学的发展和各门学科的相互渗透,当代的血液学检验已经发生了翻天覆地的变化。就检验科室而言,它已然成为一个业务内容广泛、拥有大量自动化精密仪器、并由许多具备血液学及临床知识且实验操作技术娴熟的人员组成的专业科室^[7]。但就检测系统的根本而言,仍旧是专业技术人员与血液学检验仪器搭配的组合。尽管血液学分析仪日益精密也日趋普及,但仪器分类结果仍旧不能完全取代人工分类。随着仪器的推陈出新,对技术人员的要求也与以往不同,不仅是实验操作时的仔细、认真,更是要具备对仪器的性能、质量控制、局限性、及常出现的故障;特别对三分类的直方图和五分类的散点图有深刻的了解的技能。这一切都有待于通过实验师熟练掌握仪器的性能和不断提高自己的知识水平,通过扎实的显微镜下对血细胞形态学认识和临床检验学的基本功来解决问题。

2.3 如何选择动物血细胞分析仪

人的血细胞和动物的血细胞形态有很大差异,最大区别是红细胞的体积及白细胞的分类组成。如:很多动物的红细胞有核,然而人的成熟红细胞

无核,同剂量同浓度的溶血剂可能可以完全破坏人血细胞,但对某些动物细胞却无能为力,所以检测淋巴细胞时,可能会出现白细胞计数增高的“假象”,致使单项分类偏高。但若改变溶血剂浓度或者剂量,那么白细胞的破坏也会变得明显,这样就会造成分类严重不准确。

三分类和五分类的血细胞分析仪的区别,主要体现在正常值范围、分类原则、选用试剂和检测时间等方面^[8]。目前市场上主流的动物血球分析仪,只有专为动物血细胞分析开发的五分类仪能够提供较为准确的计数和分类,其他二分类、三分类的动物血球或者动物模式血球仪仅仅起到筛查参考作用,正如人用血球仪一样,血球仪本身就是筛查机器,确诊需结合其他方法。

动物学标准计数和分类采用五分类方法。选用五分类血球仪的原则,以实验角度评估,则需满足操作简便、测样所需时间短、可测动物及样本种类多、维修便捷、数据库容量大和扩展功能齐全等要求。

2.4 现代血液分析仪检测工作原理

1990年代中期以来,国外许多厂家已经不满足于三分类的血细胞分析仪,逐步开始研制和推出具有五分类或更多项白细胞分类技术的全自动型血液分析仪。各厂家使用的白细胞分类技术多样化、复杂化,使得白细胞分类技术更加成熟和可靠。主要检测方法有以下几大分类:(1)采用体积、电导、激光散射法(Volume、Conductivity、Scatter-VCS)技术进行五分类的仪器;(2)采用电阻抗、射频与细胞化学联合检测技术;(3)激光散射和细胞化学染色技术;(4)多角度偏振光散射法应用于白细胞五分类(Multi-Angle Polarisated Scatter Separation of white cell-MAPSS技术)。

经过多年的发展,特别是近年来电子计算机技术的发展,血细胞分析仪无论在技术上、形式上、功能上、参数上、用户界面上等许多方面都有很大的改观和进步。

3 血液分析的 GLP 规范性要求

3.1 技术人员的要求

首先,在机构负责人(Facility Manager-FM)指导下采购符合本单位使用要求的血液分析仪,采购过程及对设备的要求必须遵守科学性、正确性、规范性的原则。其次,由质量保证部门负责人(Quality Assurance Manager-QAM)定期检查血液分析仪的规范性(包括 SOP 的制定、仪器使用记录的登记及仪器保养)^[9]。再次,作为一名称职的临床检验部门负责人,需遵循以下原则:①严谨的科学作风和良好的职业道德以及相应的学历,经过专业培训,具备所承担的研究工作需要的知识结构、工作经验和业务能力;②熟悉实验室规范的基本内容,严格履行职责,熟练掌握并严格执行与所承担工作有关的标准操作规程(Standard Operating Procedure, SOP);③及时准确和清楚地进行试验观察记录,对实验中发生的可能影响实验结果的任何情况应及时向专题负责人书面报告;④根据工作岗位的需要着装,遵守健康检查制度,确保供试品、对照品和实验系统不受污染;⑤定期进行体检,患有影响研究结果疾病者,不得参加研究工作;⑥经过培训、考核,并取得上岗资格。

3.2 仪器设备及使用管理的要求

仪器设备具有购置、安装、验收、使用、保养校正、维修的记录并存档,且具有安装验证(Installation Qualification-IQ)、操作验证(Operational Qualification-OQ)、性能验证(Performance Qualification-PQ)的记录并存档。根据研究工作的需要配备相应的仪器设备,放置地点合理,并有专人负责保管,定期进行检查、清洁保养、测试和校正,确保仪器设备的性能稳定可靠。需要进行计量认定的仪器,有计量检定证明。实验室内应备有相应仪器设备保养、校正及使用方法的**标准操作规程(SOP)^[10]。对仪器设备的使用、检查、测试、校正及故障修理,应详细记录日期、有关情况**及操作人员的姓名等。所有数据的记录应做到及时、直接、准确、清楚和不易消除,并应注明记录日

期,记录者签名。记录的数据需要修改时,应保持原记录清楚可辨,并注明修改的理由及修改日期,修改者签名。

4 血液分析仪的验证及校验

4.1 仪器验证和校验的基本概念

仪器验证:是指以一定的程序或实测样品对仪器是否可以得到预期的性能、结果指标进行检查,根据目的不同,一般可分为 DQ、IQ、OQ 和 PQ^[10]。校验:不仅包括校正过程,也包含对校正工作其结果的检验,一般以符合标准物或标准方法所测结果为准,一些分析仪器如生化分析仪还包括质控结果的检查,这里的质控与日常检测时的质控为同一物质,但测试目的不尽相同。

4.2 DQ、IQ、OQ、PQ 基本概念

DQ-设计验证:根据实验方案用于数据生产生成,度量,数据评估和用于实验设施环境调控的仪器设备必须具有相应的设计及开发验证。

IQ-安装验证:仪器安装时是否按照说明书要求进行。产生安装报告,同时仪器的配件清单,安装说明等也要存档,一般由供应商和使用者共同完成。

OQ-操作验证:紧接在 IQ 之后对仪器功能、参数是否按说明书所述的一种检查,根据仪器特点不同,OQ 之前可能需要/或不需要进行校正、调节。由装机及操作人员进行。包括对操作人员的培训。整个过程记录并存档。

PQ-性能验证:需要在完成仪器校验的基础上对仪器的各种测试方法进行检查,并通过一定量的重复检查和一些极端情况下的测试来评价仪器的稳定性、准确性、灵敏度等指标。有时对样品的不同保存、采集条件对测试结果的影响,测试方法改变均可作为 PQ 的一项内容^[11]。

4.3 对实验动物血液分析开展 DQ、IQ、OQ 和 PQ 的重要性和意义

食品药品监督管理局(FDA)对验证的定义为:“建立可高度保证某一生产工艺能稳定地生产出符合预定标准和质量属性的产品的书面证据。”这表明作为 GLP 实验室,仪器的 3Q 验证书面报告,已经成为必不可少的原始资料档案。对动物血液分析开展的验证,它的规范并不仅仅局限于对仪器性能、测量范围、稳定性等的要求,更是对操作人员整体素质的一种要求。不同于普通实验室, GLP

实验室人员应该具备更高的操作水平及更为扎实的理论水平。

5 总结

近年来我国的 GLP 工作快速发展, 截止目前为止已有 43 家安全评价机构通过了认证。做为最早开展于临床检验实验室的血液分析技术, 如何选择合适的动物血细胞分析仪成为保障分析工作顺利开展的关键。而血液分析的 GLP 规范性, 不单单是对操作人员的要求, 更是对仪器设备使用管理的要求。血液分析仪的验证和校验, 且对验证报告等原始资料的保存, 不仅是 GLP 实验室的规范性活动, 更为日后资料的溯源提供了方便。

[参考文献]

[1] 车礼东, 郭兵, 陶强, 等. 我国良好实验室规范实施现状及发展[J]. 中国标准化, 2010, 7:21-23.

- [2] 刘贤进. “良好实验室规范”初探[J]. 农药科学与管理, 2010, 31(1):14-16.
- [3] 王宏涛. 药物安全性评价与 GLP 建设[J]. 中南药学, 2010, 8(10):775-777.
- [4] 段玲艳. 如何通过检验自动化提高临床检验质量[J]. 中国中医药咨询, 2010, 2(28):237.
- [5] 李敬. 全自动五分类与三分类血球仪的检测结果比较[J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(12):-71.
- [6] 任学梅, 李小东, 马彩霞. 全自动五分类血液分析仪与手工显微镜检测婴幼儿白细胞分类结果的比较[J]. 宁夏医学杂志, 2009, 31(10):951-952.
- [7] 景永宏, 高惠琪. 实验室设备管理问题及系统升级的探讨分析[J]. 吉林医学, 2010, 31(27):4843-4844.
- [8] 张旭凯, 陆海峰. 五分类血液细胞分析仪的原理及应用[J]. 中国医疗器械信息, 2006, 12(10):52-56.
- [9] 于志瀛, 朱庆, 王焱. 浅谈 GLP 实验室仪器设备 SOP 的制定[J]. 中国药事, 2010, 24(2):144-146.
- [10] 马璟, 杨琛懋. GLP 实验室仪器设备管理分析 [J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4):285.
- [11] 国家食品药品监督管理局. 药物非临床研究质量管理规范 GLP 法规-2 号令[S]. 1-15.

(上接第 465 页)

3 动物实验室管理工作的细化分类

动物实验室管理涉及的工作内容主要有: 动物饲养管理、仪器设备管理、药品管理、规章制度与 SOP、人员管理、生物安全管理、国标与质控、福利伦理审查、实验监控记录等。只有实现对动物实验室内部的实验动物饲养及其相关的人、财、物进行全面、综合的管理, 才能使管理工作更加合理化、管理方式更加科学化。

实现的途径主要是通过制定实验室规章制度和 SOP, 生物安全手册。修订涉及到动物实验各个环节的表格, 从动物实验的申请到开展实验研究, 一直到结束, 实现全程监管, 实现规范化管理^[4]。

4 结语

动物实验室作为医院科研教学工作中的一个不

可替代部门。医院实验动物共享服务平台的建立, 整合了医院的优势资源, 提高了科研资源的使用率和科研能力, 对于科研产出的提高至关重要。提高动物实验室的内部管理主要是通过细化工作内容, 规范操作流程, 通过行业资质认证来提升实验室水平。

[参考文献]

- [1] 王秋宇, 孟霞, 肖迎秋, 等. 实验动物机构的成本管理系统设计[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(11):62-66.
- [2] 何宏星, 黄黎玲, 肖力, 等. 建立标准化动物实验技术服务平台的初探[J]. 实验室科学, 2009, 4:41-43.
- [3] 张潇, 谭德讲, 杜颖, 等. “动物实验室管理系统”软件的构建及功能[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(8):74-77.
- [4] 李萌, 张潇, 谭德讲. 动物实验室的量化管理初探[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(6):78-81.