

Оценка квалификации ветеринарных лабораторий по результатам межлабораторных сличительных испытаний, организованных ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2018–2019 гг.

А. Ю. Сухарьков¹, З. Б. Никонова², О. П. Бьядовская³, А. С. Першин⁴, М. И. Шульпин⁵, И. А. Чвала⁶

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0001-5326-2440, e-mail: suharkov@arriah.ru

² ORCID 0000-0003-0090-9399, e-mail: nikonova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5099-3050, e-mail: pershin@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0002-1484-2319, e-mail: shulpin@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Важной задачей при проведении комплекса противоэпизоотических мероприятий, направленных на борьбу с заразными болезнями животных, является лабораторная диагностика. Необходимость в постоянном доверии к качеству работы лаборатории важна не только для исполнителей и заказчиков, но и инспектирующих организаций, органов по аккредитации и др., которые устанавливают требования к деятельности диагностических лабораторий. Недостоверные результаты лабораторных исследований могут привести к постановке неправильного диагноза, а значит, и к серьезным последствиям. Одной из форм экспериментальной проверки деятельности лаборатории с целью определения ее компетентности и подтверждения соответствия критериям аккредитации при инспекционном контроле за ее деятельностью являются межлабораторные сличительные (сравнительные) испытания. Обобщая и анализируя результаты участия в межлабораторных сличительных испытаниях, лаборатория может не только подтвердить свою компетентность в конкретный момент, но и наглядно продемонстрировать, насколько стабильно качество результатов ее анализов. Представлен анализ результатов межлабораторных сличительных испытаний, организованных в 2018–2019 гг. ФГБУ «ВНИИЗЖ» для ветеринарных лабораторий России, по программам выявления возбудителей или антител к возбудителям гриппа птиц, ньюкаслской болезни, бешенства, классической чумы свиней, африканской чумы свиней, блютанга, заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота. Результаты показали, что большинство лабораторий успешно справились с испытаниями. Неудовлетворительный результат был получен участниками по отдельным программам межлабораторных сличительных испытаний (выявление вируса бешенства методом флуоресцирующих антител; выявление вирусов гриппа птиц, классической чумы свиней и заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции). Это указывает на необходимость повышения качества лабораторных исследований не справившихся с заданием участников.

Ключевые слова: межлабораторные сличительные испытания, инфекционные болезни животных, полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ, метод флуоресцирующих антител.

Для цитирования: Сухарьков А. Ю., Никонова З. Б., Бьядовская О. П., Першин А. С., Шульпин М. И., Чвала И. А. Оценка квалификации ветеринарных лабораторий по результатам межлабораторных сличительных испытаний, организованных ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2018–2019 гг. *Ветеринария сегодня*. 2020;1 (32): 66–70. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-66-70.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Сухарьков Андрей Юрьевич, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и ВБЕ ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьево, e-mail: suharkov@arriah.ru.

Evaluation of veterinary laboratory proficiency based on results of interlaboratory comparisons organized by FGBI "ARRIAH" in 2018–2019

A. Yu. Sukharkov¹, Z. B. Nikonova², O. P. Byadovskaya³, A. S. Pershin⁴, M. I. Shulpin⁵, I. A. Chvala⁶

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0001-5326-2440, e-mail: suharkov@arriah.ru

² ORCID 0000-0003-0090-9399, e-mail: nikonova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5099-3050, e-mail: pershin@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0002-1484-2319, e-mail: shulpin@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

SUMMARY

Laboratory diagnosis is a crucial component in implementation of the set of anti-epidemic measures aimed at contagious animal disease control. The need for unswerving trust in the quality of laboratory performance is a matter of importance not only for service providers and customers, but also for inspecting organizations, accreditation bodies, etc. that establish performance requirements for diagnostic laboratories. Incorrect laboratory test results can lead to a misdiagnosis and, therefore, to grave consequences. One of the forms of experimental verification of a laboratory's performance with a view to determine the laboratory's competence and to verify its compliance with accreditation criteria as part of inspection control of the laboratory's activities is interlaboratory comparison. The laboratory can prove its competence at a particular time, as well as clearly demonstrate how stable the quality of its test results is by summarizing and analyzing the results of its participation in interlaboratory comparisons. The analysis of the results of the interlaboratory comparisons (programmes for detection of causative agents or antibodies to the causative agents of avian influenza, Newcastle disease, rabies, classical swine fever, African swine fever, bluetongue, lumpy skin disease) organized by the FGBI "ARRIAH" for the veterinary laboratories of the Russian Federation in 2018–2019 is presented. The results showed that most of the laboratories had passed the tests successfully. The results submitted by participants were unsatisfactory in some interlaboratory comparison programmes (rabies virus detection using fluorescent antibody technique; detection of avian influenza, classical swine fever and lumpy skin disease viruses using polymerase chain reaction). That highlights the need for those participants who failed the tests to improve their laboratory testing quality.

Key words: interlaboratory comparisons, infectious animal diseases, polymerase chain reaction, enzyme-linked immunosorbent assay, fluorescent antibody technique.

For citation: Sukharkov A. Yu., Nikonova Z. B., Byadovskaya O. P., Pershin A. S., Shulpin M. I., Chvala I. A. Evaluation of veterinary laboratory proficiency based on results of interlaboratory comparisons organized by FGBI "ARRIAH" in 2018–2019. *Veterinary Science Today*. 2020;1 (32): 66–70. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-66-70.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Andrey Yu. Sukharkov, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: suharkov@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Отдельные регионы России сохраняют статус неблагополучных по ряду инфекционных болезней животных. Для эффективной борьбы с заразными болезнями необходим полноценный комплекс противоэпизоотических мероприятий, одной из важнейших задач которого является лабораторная диагностика. Недостовверные результаты лабораторных исследований могут привести к серьезным последствиям. Необходимость в постоянном доверии к качеству работы лаборатории важна не только для исполнителей и заказчиков, но и инспектирующих организаций, органов по аккредитации и др., которые устанавливают требования к деятельности диагностических лабораторий [1].

Одним из способов оценки характеристик функционирования лабораторий являются межлабораторные сличительные (сравнительные) испытания (МСИ). Данный вид проверки компетентности лаборатории широко используется, в том числе и в международной практике [2]. Кроме мониторинга достоверности результатов исследований, к задачам МСИ относится также выявление проблем в функционировании лаборатории, различий между лабораториями, установление эффективности и сравнимости методов испытаний или измерений и некоторые другие. Успешное участие в МСИ обеспечивает дополнительное доверие к лаборатории у заказчиков. Кроме того, участие в МСИ является обязательным условием для аккредитованных в национальной системе аккредитации лабораторий [3, 4].

Подведомственный Россельхознадзору ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») аккредитован в национальной системе аккредитации в качестве провайдера МСИ по ГОСТ ISO/IEC 17043-2013 (номер аттестата аккредитации RA.RU.430258, дата внесения в реестр аккредитованных лиц 16.03.2018 г.). В 2019 г. компетентность

ФГБУ «ВНИИЗЖ» в качестве провайдера МСИ была подтверждена на основании результатов выездной экспертизы (приказ Федеральной службы по аккредитации (Росаккредитация) № ПК1-1180 от 21.06.2019 г.).

Разработанные провайдером программы МСИ в соответствии с утвержденной областью аккредитации позволяют проводить проверку квалификации лабораторий в области диагностики особо опасных инфекционных болезней животных методами полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуноферментного анализа (ИФА) и методом флуоресцирующих антител (МФА).

Целью работы являлся анализ результатов, полученных в ходе проведения раундов МСИ, организованных ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2018–2019 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали результаты МСИ, организованных в 2018–2019 гг. ФГБУ «ВНИИЗЖ» для ветеринарных лабораторий России, по 10 программам:

- выявление РНК вируса гриппа птиц типа А;
- выявление антител к вирусу гриппа птиц типа А с использованием ИФА;
- выявление антител к вирусу ньюкаслской болезни с использованием ИФА;
- выявление антигена вируса бешенства МФА;
- выявление антител к вирусу африканской чумы свиней с использованием ИФА;
- выявление генома вируса африканской чумы свиней;
- выявление антител к вирусу классической чумы свиней с использованием ИФА;
- выявление генома вируса классической чумы свиней;
- выявление антител к вирусу блютанга с использованием ИФА;
- выявление генома вируса заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота.

Ежегодно проводили по одному раунду МСИ по каждой программе согласно утвержденному плану МСИ. Для проведения МСИ использовалась «Программа разделенных выборок», предусматривающая испытание идентичных контрольных образцов, сделанных из одного материала или специальным образом подготовленного материала, разделенного на две и более части с тем, чтобы каждый участник МСИ выполнил испытания контрольных образцов из этой выборки [1]. Все контрольные образцы проходят проверку на соответствие приписанным значениям, однородность и стабильность в строгом соответствии с утвержденной провайдером МСИ процедурой.

Полученные данные по каждой из программ МСИ подробно представлены в отчетах на сайте провайдера МСИ ФГБУ «ВНИИЗЖ» в соответствующем разделе «Проведение МСИ» (<http://www.arriah.ru/main/lprovedenie-msi>). Информация об участниках представлена в обезличенном виде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Квалификацию 46 ветеринарных лабораторий из 37 регионов Российской Федерации по диагностике семи опасных болезней животных (гриппа птиц, ньюкаслской болезни, бешенства, классической чумы свиней (КЧС), африканской чумы свиней (АЧС), заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота (ЗУД КРС), блютанга) с использованием методов ПЦР, ИФА и МФА оценивали на основании результатов, полученных при реализации программ МСИ. Критерием для оценки было соответствие предоставленных результатов исследований приписанным значениям контрольных образцов с учетом шифрования. Удовлетворительным результатом признавали правильное определение всех контрольных образцов в панели. Все использованные программы МСИ основаны на качественном определении показателя приписанного контрольного образца. При наличии несоответствия приписанному значению хотя бы одного контрольного образца ре-

зультат МСИ оценивали как неудовлетворительный.

В таблице 1 представлено общее количество лабораторий-участников по каждой программе МСИ за 2018–2019 гг. и количество участников, допустивших ошибки и не справившихся с заданием.

Как видно из представленных в таблице 1 данных, несоответствия были выявлены в результатах МСИ по 4 из 10 реализованным программам. Выполнение этих программ предусматривает использование МФА или ПЦР. При этом участники всех программ МСИ по выявлению антител к возбудителям инфекционных болезней животных методом ИФА успешно справились с заданием, используя в работе коммерческие наборы как зарубежного, так и отечественного производства.

Наибольшее количество ошибок было выявлено у участников проверки квалификации по выявлению антигена вируса бешенства методом флуоресцирующих антител – основного метода диагностики данного заболевания (с заданием справились 90,7% лабораторий). С учетом неблагоприятной эпизоотической обстановки по бешенству на большей части территории России неудовлетворительные результаты МСИ по диагностике этого смертельного заболевания животных и человека вызывают особую тревогу. Важно отметить, что МФА требует высокой квалификации и опыта персонала, а также постоянного поддержания флуоресцентного микроскопа в должном техническом состоянии (своевременная замена ламп и пр.). Кроме того, к интерпретации результатов МФА рекомендуется привлекать не менее двух специалистов.

В программах МСИ по выявлению вирусов гриппа птиц, КЧС и ЗУД КРС методом ПЦР доля справившихся с заданием лабораторий составила соответственно 96,2, 94,1 и 93,9% от общего числа участников. Метод ПЦР состоит из нескольких этапов (подготовка образца, выделение нуклеиновых кислот, непосредственно ПЦР, интерпретация и анализ результатов), что повышает вероятность ошибки на каждом из них и получения итогового неудовлетворительного результата.

Таблица 1
Результаты реализации программ МСИ за 2018–2019 гг.

Table 1
Results of interlaboratory comparison programmes carried out in 2018–2019

№ п/п	Показатель в соответствии с областью аккредитации (соотносится с конкретной программой МСИ)	Метод исследования	Количество участников*	Справившиеся с МСИ участники	
				количество	% от общего количества
1	РНК вируса гриппа птиц типа А	ПЦР	26	25	96,2
2	Антитела к вирусу гриппа птиц типа А	ИФА	10	10	100
3	Антитела к вирусу ньюкаслской болезни	ИФА	6	6	100
4	Антиген вируса бешенства	МФА	43	39	90,7
5	Антитела к вирусу АЧС	ИФА	10	10	100
6	Геном вируса АЧС	ПЦР	17	17	100
7	Антитела к вирусу КЧС	ИФА	34	34	100
8	Геном вируса КЧС	ПЦР	51	48	94,1
9	Антитела к вирусу блютанга	ИФА	6	6	100
10	Геном вируса ЗУД КРС	ПЦР	49	46	93,9

* Участие в МСИ одной лаборатории дважды (2018 и 2019 гг.) учитывали как двух участников.

Таблица 2
Ошибки участников раундов МСИ в 2018–2019 гг.

Table 2
Mistakes made by participants of interlaboratory comparison rounds in 2018–2019

№ п/п	Показатель в соответствии с областью аккредитации (соотносится с конкретной программой МСИ)	Метод исследования	Количество не справившихся с МСИ участников	Характер ошибки	
				ложно-положительный результат	ложно-отрицательный результат
1	РНК вируса гриппа птиц типа А	ПЦР	1	0	1
2	Антиген вируса бешенства	МФА	4	1	3
3	Геном вируса КЧС	ПЦР	3	0	3
4	Геном вируса ЗУД КРС	ПЦР	3	0	3

Данный метод требует особенно высокой квалификации персонала и наличия специализированных помещений.

При получении неудовлетворительного результата лаборатории-участнику рекомендуется провести анализ принятой процедуры исследования, выявить возможные причины ошибок и разработать адекватные корректирующие действия (повышение квалификации персонала; усиление контроля за проведением испытаний; ремонт или замену оборудования и средств измерения; смену диагностического набора и др.). Результативность корректирующих действий должна быть подтверждена повторным участием лаборатории в МСИ в возможно короткие сроки.

В таблице 2 представлены ошибки, допущенные участниками раундов МСИ в 2018–2019 гг.

Из представленных в таблице 2 данных следует, что большинство ошибок было связано с получением ложноотрицательного результата, то есть контрольный образец, содержащий возбудитель болезни или антитела к нему, был охарактеризован как негативный. Такие ошибки в лабораторной диагностике опасных болезней животных могут привести к серьезным последствиям: несвоевременной постановке диагноза, недооценке риска распространения заболевания и, как следствие, снижению эффективности противоэпизоотических мероприятий.

Даже в хорошо управляемой лаборатории с опытным персоналом иногда могут быть получены неудовлетворительные результаты испытаний. Особое значение для оценки достоверности результатов исследований играет мониторинг, который может осуществляться посредством не только МСИ, но и внутрилабораторного контроля (повторные исследования образцов в стандартных условиях, использование альтернативного оборудования, исследование другим сотрудником, исследование с использованием диагностического набора другого производителя и пр.). Однако, несмотря на наличие внутреннего контроля, лаборатория обязана осуществлять мониторинг своей деятельности путем сравнения с результатами других лабораторий, то есть посредством участия в МСИ [3]. Оценка квалификации лаборатории должна проводиться с учетом результатов предыдущих раундов испытаний, периодичности участия лаборатории в МСИ, уровня охвата области деятельности лаборатории программами проверок квалификации, умения персонала

использовать результаты участия в МСИ для улучшения деятельности и др. [5]. О высокой компетентности лаборатории в проведении конкретных видов исследований могут свидетельствовать стабильно удовлетворительные результаты участия в МСИ.

Все участники организованных ФГБУ «ВНИИЗЖ» раундов МСИ, не справившиеся с заданием в 2018 г., после устранения имевшихся ошибок повторно участвовали в испытаниях в 2019 г. и получили удовлетворительные результаты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проверки квалификации ветеринарных лабораторий, организованной в 2018–2019 гг. ФГБУ «ВНИИЗЖ», показал, что большинство участников успешно справились с испытаниями. Недовлетворительная оценка квалификации некоторых лабораторий в программах МСИ была связана в основном с получением ими ложноотрицательных результатов исследований. Наибольшее количество ошибок допустили участники МСИ по программе «Выявление антигена вируса бешенства методом флуоресцирующих антител», с заданием справились 90,7% лабораторий. Кроме того, неудовлетворительные результаты были получены участниками программ МСИ по выявлению вирусов гриппа птиц, КЧС и ЗУД КРС методом ПЦР (с заданием справились 96,2, 94,1 и 93,9% лабораторий соответственно). Полученные данные указывают на наличие ошибок в лабораторной диагностике инфекционных болезней животных у отдельных участников, не справившихся с МСИ, и свидетельствуют о необходимости мероприятий, направленных на улучшение качества их лабораторных исследований. Диагностическим лабораториям следует больше уделять внимания внутреннему контролю качества исследований (желательно с использованием стандартных образцов) и контролю применяемых диагностических наборов, проводить верификацию используемых диагностических методов и обеспечивать необходимый уровень знаний и навыков персонала, проводящего работу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ ISO/IEC 17043-2013. Оценка соответствия. Основные требования к проведению проверки квалификации. М.: Стандартинформ; 2014. 34 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200108187>.
- Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26 января 2016 г. № 12 «Об утверждении Порядка организации

проведения межлабораторных сравнительных испытаний (межлабораторных сличений)». Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/420333646>.

3. ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009 (ISO/IEC 17025-2005). Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. М.: Стандартинформ; 2012. 28 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/gost-iso-mek-17025-2009>.

4. Приказ Минэкономразвития России от 30 мая 2014 г. № 326 «Об утверждении Критериев аккредитации, перечня документов, подтверждающих соответствие заявителя, аккредитованного лица критериям аккредитации, и перечня документов в области стандартизации, соблюдение требований которых заявителями, аккредитованными лицами обеспечивает их соответствие критериям аккредитации» (с изменениями на 19 августа 2019 г.). Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/420203443>.

5. Карташова А. В., Халиков М. Р. МСИ как критерий аккредитации. *Контроль качества продукции*. 2015; 1: 27–30.

REFERENCES

1. GOST ISO/IEC 17043-2013. Conformity assessment. General requirements for proficiency testing. М.: Стандартинформ; 2014. 34. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200108187>. (in Russian)

2. Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission No. 12 dated January 26, 2016 on approval of the Procedure for organization of interlaboratory comparison tests (interlaboratory comparisons). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/420333646>. (in Russian)

3. GOST ISO/IEC 17025-2009 (ISO/IEC 17025-2005). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. М.: Стандартинформ; 2012. 28. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/gost-iso-mek-17025-2009>. (in Russian)

4. Order of the Ministry of Economic Development and Trade of the Russian Federation No. 326 dated May 30, 2014 on approval of Criteria for accreditation, the list of documents confirming the compliance of the applicant, accredited person with accreditation criteria and the list of documents in the field of standardization, the requirements of which shall be observed by applicants, accredited persons to ensure their compliance with accreditation criteria (as amended on August 19, 2019). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/420203443>. (in Russian)

5. Kartashova A. V., Khalikov M. R. Interlaboratory comparisons as criterion for accreditation. *Kontrol' kachestva produktsii*. 2015; 1: 27–30. (in Russian)

Поступила 10.01.20

Принята в печать 27.02.19

Received on 10.01.20

Approved for publication on 27.02.19

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сухарьков Андрей Юрьевич, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Никонова Зоя Борисовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Бьядовская Ольга Петровна, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией болезней КРС ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Першин Андрей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шульпин Михаил Иванович, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Чвала Илья Александрович, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и мониторингу ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Andrey Yu. Sukharkov, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Zoya B. Nikonova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Viral Avian Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga P. Byadovskaya, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Andrey S. Pershin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Mikhail I. Shulpin, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Rabies and BSE, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ilya A. Chvala, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.