

## Внедрение региональной программы внешней оценки качества по выявлению антител к ВИЧ в лабораториях диагностики СПИД ЛПУ Московской области

**Е.Н. Кудрявцева, О.А. Лобанова**

*МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Московская область*

*Головная лаборатория диагностики СПИД и вирусных гепатитов.*

**В**ысокая распространенность ВИЧ-инфекции в Московской области (22 тысячи человек на октябрь 2003 г.) делает актуальным принятие необходимых мер, направленных на улучшение качества лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции. Одним из ведущих разделов по улучшению диагностики ВИЧ-инфекции в лабораториях диагностики СПИД ЛПУ Московской области является региональная программа внешней оценки качества (ВОК) по определению антител к ВИЧ в сыворотке крови.

За 2000-2003 гг. для 28 лабораторий диагностики СПИД ЛПУ Московской области нами было проведено четыре цикла ВОК по определению антител к вирусу иммунодефицита человека (аВИЧ). Каждый участник ВОК получал контрольную панель сывороток, инструкции по применению контрольной панели и бланки протоколов для заполнения результатов исследования.

В четырех циклах ВОК оценивались межлабораторная воспроизводимость, воспроизводимость положительных и отрицательных результатов определения аВИЧ в контрольных образцах, а также ошибки, допускаемые при проведении иммуноферментного анализа и ведении учетной документации. По окончании программы каждый участник ВОК получал результаты исследований контрольной панели сывороток и рекомендации по устранению ошибок, допущенных лабораторией. Также нами проведен семинар по подведению итогов текущего цикла ВОК и сравнительному анализу результатов, полученных при участии в предыдущих циклах.

В качестве контрольного материала было предложено исследовать 10 образцов сыворотки крови. Из них три образца не содержали антител к ВИЧ,

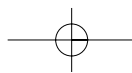
7 – содержали аВИЧ в различных концентрациях. Аттестация контрольных образцов была проведена с использованием иммуноферментных тест-наборов «ДС Джен-скрин Плюс ВИЧ Аг/Ат» и «ДС-Вироностика Аг/Ат» (НПО «Диагностические системы», Н.Новгород) и иммунного блоттинга «Нью Лав Блот ВИЧ 1» (ООО «БиоРад»).

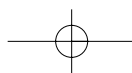
Из 28 лабораторий МО в первом цикле ВОК участвовало 22, во втором – 25, в третьем и четвертом циклах – 28 лабораторий. Прислано ответов в первом цикле – 20, во втором – 22, в третьем и четвертом циклах – 28.

Исследования контрольного материала проводились вместе с исследованием проб пациентов – в тех же сериях, в тех же условиях, с теми же реагентами и на том же оборудовании. В качестве ИФА-наборов использовались 11 тест-систем (табл. №1).

Межлабораторная воспроизводимость в четырех циклах ВОК в разных тест-системах колебалась от 40 до 100%. Лучшей системой по воспроизводимости результатов была тест-система «ДС-Джен-скрин Плюс ВИЧ Аг/Ат» (80-100%). Низкая межлабораторная воспроизводимость (40-70%) была отмечена при работе с тест-системами «Пептоскрин-2», «Амеркард Анти-ВИЧ-1/2К»; «Комби-Бест АнтиВИЧ 1+2» и «ВИЧ-1,2-ИФА-Авиценна». В третьем цикле ВОК в результате грубых ошибок, допущенных при постановке ИФА, низкая воспроизводимость результатов получена при использовании в лабораториях диагностики СПИД МО тест-системы «ДС- Вироностика Аг/Ат» (70%).

90-100% воспроизводимость по отрицательным контрольным сывороткам была получена на тест-системе «Комби-Бест Анти-ВИЧ-1+2» в четырех цик-




**СТАНДАРТИЗАЦИЯ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**
**Табл. 1. Тест-системы, используемые для определения антител к ВИЧ в СПИД-лабораториях Московской области**

Тест-система	Производитель	Кол-во исследований на аВИЧ в первом цикле ВОК	Кол-во исследований на аВИЧ во втором цикле ВОК	Кол-во исследований на аВИЧ в третьем цикле ВОК	Кол-во исследований на аВИЧ в четвертом цикле ВОК
«Пептоскрин-2»	ООО «Амеркард», Москва	15	32	50	29
«АмерКард Анти-ВИЧ-1/2К»	ООО «Амеркард», Москва	2	10	6	29
«ВИЧ-1,2-ИФА-Авиценна»	ООО «Авиценна», С-Петербург	4	11	10	0
«Рекомбинант ВИЧ-1+2»	С-Петербург	0	7	0	0
«РекомбиБест анти-ВИЧ-1+2»	ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская обл.	0	3	0	0
«Комби-Бест Анти-ВИЧ-1+2»	ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская обл.	3	12	9	47
«ДС-Джен-скрин Плюс ВИЧ Аг/Ат»	НПО «Диагностические системы», Н.Новгород	9	18	35	22
«ДС-Вироностика Аг/Ат»	НПО «Диагностические системы», Н.Новгород	4	9	11	0
«ИФА-АНТИ-ВИЧ-УНИФ»	НПО «Диагностические системы», Н.Новгород	0	10	2	2
«Скрин-ВИЧ»	ЗАО «ПКБ» им. И.И.Мечникова, Московская обл.	0	9	0	0
«ЭКОлаб-тест ВИЧ 1,2»	Предприятие «ЭКОлаб», Электрогорск	4	4	0	2
<b>Всего исследований</b>		<b>45</b>	<b>125</b>	<b>123</b>	<b>131</b>

лах ВОК. Воспроизводимость негативных образцов в пределах 70-96% показали тест-системы «ДС-Вироностика Аг/Ат», «ДС-Джен-скрин Плюс ВИЧ Аг/Ат», «АмерКард Анти-ВИЧ-1/2К», «Пептоскрин-2», «ВИЧ-1,2-ИФА-Авиценна».

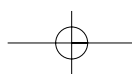
100% воспроизводимость по положительным контрольным сывороткам в четырех циклах ВОК показала тест-система «ДС-Джен-скрин Плюс ВИЧ Аг/Ат». При использовании остальных тест-систем процент воспроизводимости позитивных результатов варьировал от 49,7 до 97%.

При оценке ошибок, допущенных при постановке ИФА, отметим, что часто пропускаются положительные образцы как контрольной панели, так и образцы сыворотки крови. Выявляются ложноположительные образцы контрольной панели, не содержащие аВИЧ. Неправильно оцениваются результаты ИФА – при значениях оптической плотности

больше «cut off» выдается результат «+» – сомнительный. Часто наблюдается значительное различие оптической плотности одинаковых контрольных образцов при постановке ИФА на одном планшете, а также большое различие оптической плотности при постановке одной и той же серии сывороток разными операторами (табл.2).

**Табл. 2. Пример плохой воспроизводимости результатов при постановке одинаковой панели сывороток разными операторами (оптическая плотность пробы)**

Сыворотка	Оператор 1	Оператор 2	Оператор 3	Оператор 4
№2	0,342	0,272	0,462	0,331
№5	0,209	0,281	0,808	1,354
№6	0,526	0,373	1,502	1,352
№7	0,713	0,599	2,602	2,263
№9	0,234	0,295	0,998	1,320



По сравнению с первыми циклами ВОК по выявлению антител к ВИЧ, в третьем и четвертом циклах участвовали все лаборатории диагностики СПИД ЛПУ Московской области. Использовалось большее количество тест-систем для исследования контрольного материала. Например, если в первом цикле на тест-системе «Пептоскрин-2» контрольная панель была протестирована в 13 лабораториях, 15 постановках, то в 3-ем цикле – уже в 27 лабораториях и 50 постановках, т.е. лаборатории не ограничиваются только однократным тестированием панели, а стараются проверить постановку ИФА как врачами, так и лаборантами.

По сравнению с первым и вторым циклами ВОК, к третьему и четвертому циклам ВОК в работе лабораторий выявлены четкие положительные тенденции:

1. почти все участники 3-го и 4-го циклов ВОК правильно оформляют бланки протоколов для заполнения результатов исследования;
2. большинство участников правильно ведет учетную документацию;
3. уменьшено количество пропущенных положительных результатов;
4. уменьшено количество пропущенных пустых лунок;
5. улучшена отмывка планшетов;
6. большинство участников ВОК правильно рассчитывают «cut off»;
7. все участники учитывают результаты при длине волны 450 нм для субстратной смеси ТМБ или 490 нм – для ОФД;
8. при учете результатов используется 2-я длина волны 620–630 нм.

Несмотря на положительные сдвиги в работе лабораторий диагностики СПИД ЛПУ Московской области, сохраняются грубые ошибки при постановке ИФА, как случайные, так и систематические, которые можно разделить на три группы:

1. не соблюдаются инструкции по постановке тест-наборов (не выдерживаются режимы инкубации и отмывки, неправильно разводятся реактивы, неправильно учитываются результаты ИФА, неправильно рассчитывается «cut off»). Результат таких ошибок – пропуск слабоположительных и положительных результатов, а также пустых лунок. Источник типичных ошибок – невнимательное изучение инструкции по применению тест-наборов;

2. следующая категория ошибок при постановке ИФА – плохие навыки работы с автоматическими дозаторами или использование пипеток, требующих ремонта, калибровки и поверки, или полной замены. Итог работы с такими дозаторами – неодинаковый объем вносимого образца и реагентов, и нарушение воспроизводимости результатов;

3. в некоторых лабораториях неправильно ведется учетная документация: неверно расписываются сетки-трафареты для ИФА; не выделяются положительные результаты в показаниях спектрофотометра и сетках-трафаретах. В результате происходят ошибки при отборе образцов для повторного тестирования.

Таким образом, третий и четвертый циклы внешней оценки качества выявления аВИЧ показали как улучшение работы лабораторий диагностики СПИД ЛПУ Московской области, так и сохранение типичных ошибок при постановке ИФА и ведении учетной документации. При исследовании одних и тех же проб сыворотки крови примерно в одинаковых условиях (оборудование, тест-системы) в 28 лабораториях МО полученные результаты значительно отличаются друг от друга. Также значительно отличаются результаты тестирования контрольной панели и внутри лабораторий разными операторами.

Результаты четырех циклов ВОК доказывают необходимость участия лабораторий в региональной программе внешней оценки качества по выявлению антител к ВИЧ. Это позволяет оперативно выявлять и устранять возникающие ошибки и вопросы при диагностике ВИЧ-инфекции, а также оказывать специализированную помощь лабораториям по повышению качества лабораторного тестирования.

## Литература:

1. Гаранина Е.Н. Качество лабораторного анализа. М., Лабинформ, 1997.
2. Долгов В.В., Мошкин А.В., Малахов В.Н. и др. Обеспечение качества в лабораторной медицине. Москва, 1997.
3. Мясяго А.В. Некоторые ошибки при постановке ИФА. Кольцово, 2004.
4. Султанов Л.В., Белых С.И., Дюканова О.И. и др. Контроль качества в иммуноферментном анализе. Методические рекомендации. 1995.