

ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ АНТИТЕЛ КЛАССА G К ВИРУСУ КОРИ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА С ПОМОЩЬЮ КОНТРОЛЬНОГО ПРЕПАРАТА

© 2019 г. М. А. Смердова^{1,2}, Т. А. Мамаева¹, М. А. Наумова¹,
К. А. Корецкий², Д. С. Иванов², А. П. Топтыгина^{1*}

*E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

¹ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва, Россия;

²ЗАО «Вектор-Бест-Европа», Москва, Россия

Поступила: 25.06.2019. Принята: 25.08.2019

Корь – высоко контагиозное инфекционное заболевание, чреватое тяжелыми осложнениями вплоть до смертельных исходов. Принятая ВОЗ программа элиминации кори дала ощутимые плоды, однако корь все еще не побеждена. На этапе элиминации кори особенно актуальными становятся меры по повышению достоверности результатов и качества лабораторных исследований антител к вирусу кори. Целью данных исследований явилась валидация препарата «ВЛК Корь-IgG» для определения коревых антител класса G в сыворотке крови иммуноферментным методом и отработка параметров учета для качественного и количественного вариантов проведения исследований. Материалом исследования являлись коммерческие наборы реагентов для определения концентрации антител к вирусу кори «ВектоКорь-IgG» (ЗАО Вектор-Бест, Новосибирск, Россия), с помощью которых определяли концентрацию искомого анализа в сыворотках крови 654 случайно выбранных условно здоровых жителей г. Москвы и Московской области в возрасте от 0 до 60 лет. При проведении внутрилабораторного контроля качества для оценки внутри- и межсерийной сходимости анализа использовали «ВЛК Корь-IgG» (лиофильно высушенный препарат, содержащий IgG к вирусу кори). Показано, что аттестованный на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» образец «ВЛК Корь-IgG» пригоден для внутрилабораторного контроля качества при определении коревых IgG в сыворотке крови с использованием наборов «ВектоКорь-IgG» качественным (ОП о.е.) и количественным (МЕ/мл) способом. Установлено, что при оценке сходимости и воспроизводимости результатов «ВЛК Корь-IgG» значения CV не должны превышать 8% и 19% соответственно, а показатели ОП (о.е.) и МЕ/мл рабочих растворов «ВЛК Корь-IgG» (цельный или разведенный 1:2) не должны находиться в зоне значений (точек) тестовых калибровочных образцов.

Ключевые слова: корь, внутрилабораторный контроль качества, иммуноферментный метод, антитела, сходимость, воспроизводимость

DOI: 10.31857/S102872210007043-2

Адрес: 125212 Москва, ул. Адм. Макарова, д. 10, ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, лаборатория цитокинов, Топтыгина Анна Павловна. Тел.: +7(495) 452-18-01 факс: +7(495) 452-18-30, 8916 389 66 05 (моб.). E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Авторы:

Смердова М. А., аспирант лаборатории цитокинов ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия, ведущий специалист по продукции ЗАО «Вектор-Бест-Европа», Москва, Россия;

Мамаева Т. А., к.б.н, ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Наумова М. А., к.м.н, старший научный сотрудник лаборатории прикладной иммунохимии ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия;

Корецкий К. А., старший менеджер по продукции ЗАО «Вектор-Бест-Европа», Москва, Россия;

Иванов Д. С., к.б.н, специалист по продукции ЗАО «Вектор-Бест-Европа», Москва, Россия;

Топтыгина А. П., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Россия; профессор кафедры иммунологии Биологического факультета ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова», Москва, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Корь — высоко контагиозное заболевание, широко распространенное в разных возрастных группах [1]. В нашей стране принята Программа «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» 2016–2020 гг.» [2], основанная на стратегическом плане Всемирной Организации здравоохранения по глобальной ликвидации кори и краснухи на 2011–2020 гг. Целью Программы является достижение заболеваемости корью на уровне единичных случаев на территории Российской Федерации. В свете реализации данной программы особенно актуальны меры по повышению достоверности результатов и качества лабораторных исследований на наличие антител к вирусу кори как скрининговых, для выявления не иммунной прослойки населения и прогнозирования заболеваемости, так и с целью оценки эффективности вакцинации.

Метод иммуноферментного анализа (ИФА) основан на высокой избирательности и специфичности иммунологической реакции антиген-антитело. Но, несмотря на его простоту исполнения, в основе иммуноферментного анализа лежат сложные биологические и физико-химические процессы, влияющие на характер полученных данных. Для полноценного осуществления всей программы по контролю качества необходимо строго выполнять предписания приказов Минздрава России от 07.02.2000 № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации» и от 26.05.2003 № 220 «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов» (ОСТ91500.13.0001-2003)» [3, 4, 5]. Согласно этим приказам в клинико-диагностических лабораториях при проведении каждой серии лабораторных исследований необходимо выполнять контрольные измерения ежедневно, отображать их результаты на контрольных картах и на основании полученных данных принимать решение о возможности выдачи результатов данной аналитической серии лечащим врачам.

У проблемы качества лабораторных анализов есть и формально юридический аспект — в случае врачебной ошибки, или даже подозрения на такую ошибку, достоверность лабораторных данных, является одним из определяющих моментов, на основе которых принимается реше-

ние. В ряде документов регламентируется порядок проведения внутрилабораторного контроля качества (ВКК) для количественных и неколичественных исследований [3, 4, 5, 6]. Однако в этих документах отсутствуют методические подходы по оценке качества лабораторных тестов количественного определения антител класса IgG не только к вирусу кори, но и к другим вирусам и бактериям.

На первый взгляд нет необходимости в проведении контроля качества с использованием внутрилабораторного контроля (ВЛК) для количественного определения IgG к вирусу кори, так как в наборе имеется контрольный образец (КО) с известной концентрацией. Кроме того, для каждого планшета каждой аналитической серии, обязательно строится калибровочная кривая, согласно которой проводится учет результатов. Тем не менее, следует учитывать, что эти критерии не контролируют стадию разведения исследуемых образцов и межсерийные различия наборов, так как калибровочные образцы и КО в наборах используются неразведенными т.е. готовыми к использованию.

В связи с вышеизложенным, целью данных исследований явилась валидация препарата «ВЛК Корь-IgG» для определения коревых антител класса G в сыворотке крови методом ИФА и отработка параметров учета для качественного и количественного вариантов проведения исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования являлись коммерческие наборы реагентов для определения концентрации антител к вирусу кори «ВектоКорь-IgG» (ЗАО Вектор-Бест, Новосибирск, Россия), с помощью которых определяли концентрацию искомого аналита в сыворотках крови пациентов. Для этого на основании оптических плотностей (ОП) калибровочных тестовых образцов, содержащих коревые IgG в концентрации: 0,0; 0,15; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 МЕ/мл, строят калибровочный график зависимости «ОП (о.е.) — концентрация (МЕ/мл)». Основными критериями достоверности получаемых результатов являются:

- соответствие полученной концентрации IgG в тестовом КО диапазону значений, указанному на этикетке флакона КО или в паспорте к набору;
- выполнение следующих условий: $ОП_0 \leq 0,2$ о.е.; $ОП_5 \geq 1,0$ о.е., где $ОП_0$ и $ОП_5$ являются средними значениями оптической плотно-

сти в лунках с калибровочными образцами 0 и 5 МЕ/мл соответственно.

С помощью наборов были исследованы сыворотки крови 654 случайно выбранных условно здоровых жителей г. Москвы и Московской области с неизвестным прививочным анамнезом в возрасте от 0 до 60 лет с целью сероэпидемиологического обследования. Исследования проводились на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского». При проведении ВЛК для оценки внутри- и межсерийной сходимости (далее сходимость и воспроизводимость) анализа использовали «ВЛК Корь-IgG» (лиофильно высушенный препарат, содержащий IgG к вирусу кори), аттестованный в референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» [7].

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel. Для каждого показателя была подтверждена статистическая гипотеза о нормальности распределения данных по критерию о равенстве дисперсий. Для оценки сходимости и воспроизводимости результатов измерений «ВЛК Корь-IgG», построения контрольных карт использовали параметры вариационной статистики согласно ГОСТ Р 53133.1-4-2008, часть 2 [8, 9]. Для расчета среднего значения \bar{X} (1), среднеквадратичного отклонения S (2), коэффициента вариации CV (3) образцов «ВЛК-корь-IgG», использовали формулы:

$$\bar{X} = (\sum Xi) / n \quad (1)$$

$$S = \sqrt{(\sum (Xi - \bar{X})^2) / (n - 1)} \quad (2)$$

$$CV = s / \bar{X} \times 100\% \quad (3)$$

Где:

X_i – значения измерений ОП (о.е.) или концентрация (МЕ/мл);

\bar{X} – среднее значение ОП (о.е.) или концентрация (МЕ/мл);

S – среднее квадратичное отклонение ОП (о.е.) или концентрация (МЕ/мл);

CV – коэффициент вариации ОП (о.е.) или концентрация (МЕ/мл);

В инструкции к набору указано, что результаты можно оценивать как количественным, так и качественным способом. Так, исследуемый образец сыворотки крови следует считать отрицательным, если его оптическая плотность менее $0,8 \times ОП_{0,15}$ ($ОП_{сыв} < 0,8 \times ОП_{0,15}$). Исследуемый образец сыворотки крови следует считать положительным, если его оптическая плотность более $1,2 \times ОП_{0,15}$ ($ОП_{сыв} \geq 1,2 \times ОП_{0,15}$). Исследуемый образец сыворотки крови следует считать неопределенным, если его оптическая плотность более $0,8 \times ОП_{0,15}$ и менее $1,2 \times ОП_{0,15}$ ($0,8 \times ОП_{0,15} \leq ОП_{сыв} < 1,2 \times ОП_{0,15}$). В дальнейшей работе с ВЛК, мы использовали два способа учета – качественный (ОП, о.е.) и количественный (МЕ/мл). В связи с тем, что подходы к проведению работы с ВЛК совпадают как для качественного, так и для количественного анализа, в дальнейшем оба варианта рассматривались параллельно.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Подбор и определение концентрации ВЛК

Задачей первого этапа работы было изучение возможности использования цельного и разведенного образца «ВЛК Корь-IgG» для проведения количественного и качественного учета результатов ИФА. Для решения этой задачи были приготовлены двукратные разведения ВЛК (цельный-1:8) с использованием сыворотки, не содержащей антитела класса IgG к вирусу кори. Каждое разведение было протестировано в триплетах на двух разных сериях набора «ВектоКорь-IgG» (табл. 1). Следует отметить, что абсолютные величины ОП (о.е.) для тестов-

Таблица 1. Результаты сравнения оптической плотности и концентрации ВЛК в двух сериях

Показатели	Серия № 88		Серия № 103	
	ОП, о.е.	МЕ/мл	ОП, о.е.	МЕ/мл
ВЛК цельный	1,217	0,81	0,896	0,80
ВЛК 1/2	0,534	0,44	0,312	0,40
ВЛК 1/4	0,177	0,22	0,284	0,38
ВЛК 1/8	0,096	0,14	0,103	0,20
КО*	2,227	1,56 (1,22–2,0)*	1,720	1,32 (1,05–1,71)*

Примечание: КО* – контрольный образец, входящий в состав набора, в скобках указаны пределы концентрации для контрольного образца (паспортные данные).

вых калибраторов и образцов ВЛК: цельного (ВЛК₁) и разведенного 1:2 (ВЛК₂) отличались, в то время как, независимо от серий наборов, концентрация (МЕ/мл) ВЛК₁ и ВЛК₂ была одинаковой. Для разведений 1:4 и 1:8 наблюдались существенные различия, что, вероятно, связано не только с погрешностями при приготовлении серийных разведений, но и с измерением низких значений ОП меньше 0,2 о.е. На основании полученных данных были построены калибровочные кривые для 2-х разных серий набора реагентов с использованием метода от точки к точке (рис. 1). Показано, что калибровочные графики практически совпадают. Коэффициент корреляции (R²) оказался равным 0,669, что говорит о положительной корреляции средней силы (рис. 2). поэтому в дальнейшей работе мы использовали ВЛК₁ и ВЛК₂.

Полученные результаты позволяют сделать заключение о возможности использования ВЛК₁ и ВЛК₂ для качественного (ОП о.е.) и количественного (МЕ/мл) способа учета результатов.

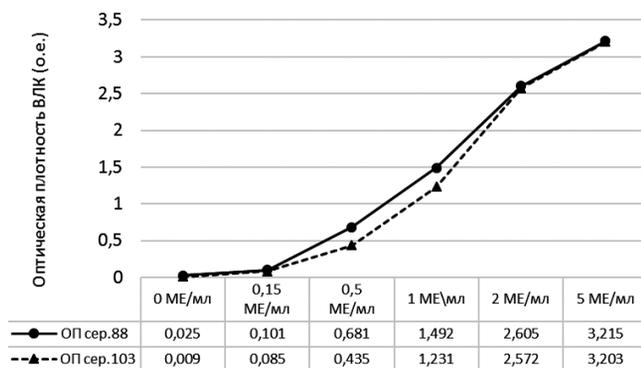


Рис. 1. Калибровочные графики ВЛК для определения концентрации содержания IgG к вирусу кори для двух серий.

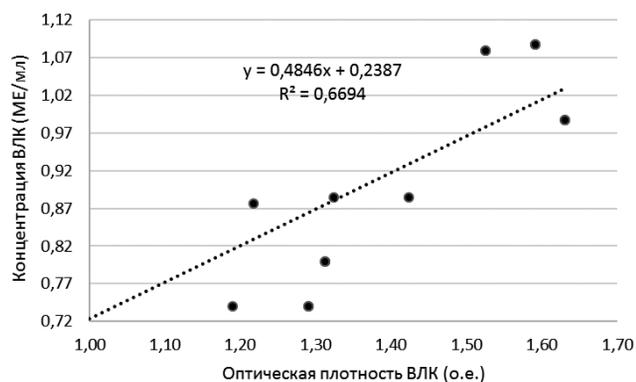


Рис. 2. Корреляция между оптической плотностью и концентрацией при измерении ВЛК₁.

Определение некоторых параметров вариационной статистики тестовых контролей, ВЛК₁ и ВЛК₂

Как было сказано ранее, особенностью данного набора является то, что тестовые контроли (калибраторы, КО) не подвергаются процедуре разведения т.е. они готовы к использованию, тогда как исследуемые материалы и образцы ВЛК при постановке разводятся 1:100. В связи с этим была сформулирована следующая задача: определить CV как для калибраторов и КО так и для образцов ВЛК₁ и ВЛК₂. Для этого были использованы данные 20 аналитических серий каждого исследуемого материала и рассчитаны их средние значения ОП (о.е.) и CV (табл. 2). Из таблицы следует, что CV для разных калибраторов достоверно отличаются, (p < 0,05). При этом, чем ниже ОП, а значит и концентрация образца, тем выше CV. Интересно, что для калибратора, выполняющего роль cut-off (0,15 МЕ/мл), CV равен 17%, что практически совпадает с указанным производителем значением (+ 20%), так называемой серой зоной (12–18 МЕ/мл). Такой CV в области cut-off, возможно, является одной из причин феномена «мигания образцов», т.е. для образцов с низкой концентрацией аналита при повторных постановках могут получаться разноречивые результаты – как положительные, так и сомнительные и даже отрицательные. Кроме того, на примере ВЛК₁ и ВЛК₂ видно, что наличие стадии разведения увеличивает погрешность измерения концентрации (МЕ/мл) – для ВЛК₁ погрешность ОП (о.е.) составила 19,0%, в МЕ/мл – 16,8%, тогда как для ВЛК₂ эти показатели увеличились до 23,5% и 26,7% соответственно. Вероятно, это объясняется как появлением дополнительной стадии разведения, так и смещением ОП (о.е.) в область более низких значений.

При анализе результатов количественного учета установлено, что результаты ВЛК₂, практически совпали по концентрации (МЕ/мл) с тестовым калибратором 0,5 МЕ/мл, и именно для этой точки получен высокий CV для ВЛК₂. Вероятно, это связано с тем, что при количественном расчете (МЕ/мл), согласно инструкции производителя, калибровочная кривая строится от точки к точке. Зависимость величины регистрируемого сигнала от содержания аналита при проведении ИФА практически всегда имеет в той или иной степени нелинейный характер, поэтому на каждом участке от точки к точке будет свое уравнение, по которому в автоматическом ре-

Таблица 2. Результаты средних значений и коэффициента вариации оптической плотности калибровочных образцов, контрольного образца, входящего в состав набора и ВЛК

	0 МЕ/мл	0,15 МЕ/мл	0,5 МЕ/мл	1 МЕ/мл	2 МЕ/мл	5 МЕ/мл	КО	ВЛК ₁ ОП/ (МЕ/мл)	ВЛК ₂ ОП/ (МЕ/мл)	ВЛК _{2*} ОП/ (МЕ/мл)
ОП сред.	0,025	0,108	0,689	1,492	2,605	3,215	2,12	1,29/0,86	0,534/0,57	0,298/0,420
CV _{оп} ,%	30	17	15,4	11,3	5	1,9	12,5	19,0/16,8	23,5/26,7	17,7/10,6

Примечание: ВЛК₁ – цельный, ВЛК₂ – разведенный 1:2, ВЛК_{2*} – другая серия разведений 1:2.

Таблица 3. Параметры для построения контрольной карты

Показатель	ВЛК ₁		ВЛК _{2*}	
	МЕ/мл.	ОП.	МЕ/мл.	ОП.
X _{ср} ВЛК	0,862	1,287	0,398	0,298
Ст. откл(S)	0,145	0,244	0,042	0,053
CV, %	16,78	18,98	10,55	17,68
X+1S	1,007	1,531	0,440	0,351
X-1S	0,718	1,043	0,356	0,245
X+2S	1,152	1,775	0,482	0,403
X-2S	0,573	0,798	0,314	0,193
X+3S	1,296	2,020	0,524	0,456
X-3S	0,428	0,554	0,272	0,140

жиме рассчитывается концентрация (МЕ/мл) антител в образцах крови пациентов. В нашем эксперименте значения 0,418–0,722 МЕ/мл (ср.зн. 0,57 МЕ/мл) образца ВЛК₂ оказались по обе стороны от данных калибровочного образца с концентрацией 0,5 МЕ/мл т.е. попали в зону «точки калибратора». Следовательно, расчет по данным ВЛК₂, расположенным справа и слева от «точки калибратора» производился по разным уравнениям, что и дало более высокий CV (26,7%) по сравнению с ВЛК₁, который не попал в зону «точки калибратора», CV которого составил 16,8%. Справедливость заключений о значимости попадания значений ВЛК₂ в зону «точки калибратора» была подтверждена:

– результатами исследования вновь приготовленного разведенного контроля – ВЛК_{2*}, интервал значений которого составил 0,375–0,465 МЕ/мл и был вне зоны «точки калибратора». При этом были показаны лучшие значения CV (10,6%) по МЕ/мл и по ОП CV 17,7% (табл. 2).

– результатами значений ВЛК₁+2S, которые попали в зону «точки калибратора» 1,0 МЕ/мл,

но согласно нормальному распределению 68,2% значений попадают в интервал +1S, это объясняет полученные CV для ВЛК₁, которые больше чем для ВЛК_{2*} и меньше, чем для ВЛК₂.

Полученные данные показали, что при создании рабочего раствора ВЛК необходимо учитывать значимость попадания значений ВЛК в зону «точки калибратора», так как расчет концентрации (МЕ/мл) при этом будет происходить по двум уравнениям в зависимости от того, с какой стороны окажется измеренное значение ОП (о.е.) ВЛК и следовательно разброс значений по концентрации (МЕ/мл) будет больше. Кроме того, для определения реальных погрешностей при определении содержания антител к вирусу кори и проведения оперативного контроля качества образец ВЛК должен проходить те же стадии разведения, что и исследуемые образцы пациентов. Данный подход позволит контролировать правильность стадии предварительного разведения исследуемых образцов, а значит и достоверность получаемых результатов.

Учитывая полученные данные, в дальнейшей работе были использованы ВЛК₁ (цельный)

и ВЛК_{2*} (разведенный 1:2), значения которого не совпадали с «точками калибраторов».

Проведение внутрилабораторного контроля качества

Проведение ВКК осуществляли в три стадии: Стадия 1 – оценка сходимости результатов измерений ВЛК;

Стадия 2 – оценка воспроизводимости результатов измерений ВЛК и построение контрольных карт;

Стадия 3 – проведение оперативного внутрилабораторного контроля качества.

Стадия 1. Оценка сходимости результатов измерений ВЛК

Согласно ГОСТ Р 53133.1-4-2008, были проведены 10 измерений двух вариантов ВЛК₁ и ВЛК_{2*} в одной аналитической серии на одном планшете [8]. Результаты учитывали двумя способами: качественным (ОП (о.е.)) и количественным (МЕ/мл). На основе полученных

10 значений был рассчитан CV₁₀ для ВЛК₁, который оказался равным 8,0% для качественного учета (ОП (о.е.)) и 7,1% для количественного (МЕ/мл); для ВЛК_{2*} эти показатели составили 7,7% и 6,4% соответственно.

Стадия 2. Оценка воспроизводимости результатов измерений ВЛК и построение контрольных карт

На второй стадии проводили по 20 измерений ВЛК₁ и ВЛК_{2*}. Для сокращения продолжительности построения контрольной карты проводили измерение два раза в день в течение 10 дней. Фиксировали ОП (о.е.) ВЛК₁ и ВЛК_{2*} и рассчитывали концентрацию (МЕ/мл). По результатам рассчитывали средние показатели ОП(о.е.) и МЕ/мл, S и его контрольные пределы + 1S, + 2S, + 3S и CV₂₀ согласно ГОСТ Р 53133.1-4-2008 [8]. По полученным результатам были построены контрольные карты по показателям ОП(о.е.) и концентрации (МЕ/мл) для ВЛК₁ и ВЛК_{2*} (табл. 3).

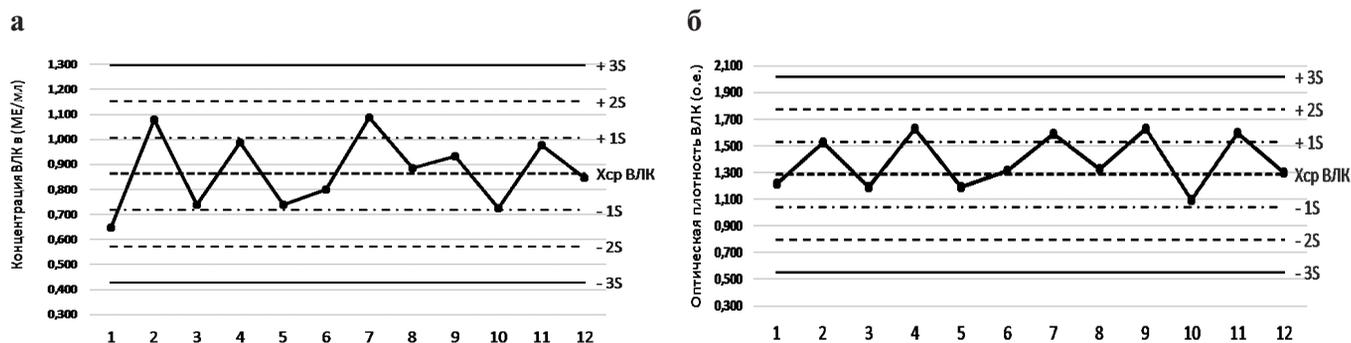


Рис. 3. Оперативный контроль качества для определения концентрации антител класса IgG к вирусу кори для цельного ВЛК. **а** – по оси ординат отложена концентрация в МЕ/мл ВЛК₁, **б** – по оси ординат отложена ОП ВЛК₁.

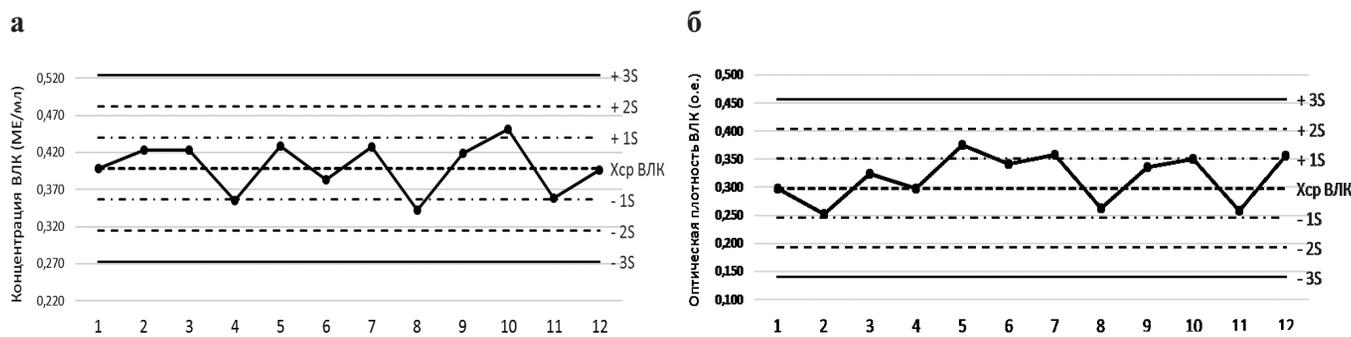


Рис. 4. Оперативный контроль качества для определения концентрации антител класса IgG к вирусу кори для ВЛК, разведенного 1:2. **а** – по оси ординат отложена концентрация в МЕ/мл ВЛК_{2*}, **б** – по оси ординат отложена ОП ВЛК_{2*}.

Стадия 3. Проведение оперативного внутрилабораторного контроля качества

Серологическое исследование 654 сывороток крови методом ИФА проводили с использованием ВЛК₁ и ВЛК_{2*}, охарактеризованных как показано выше. Все точки ВЛК₁ и ВЛК_{2*}, для качественного (ОП о.е.) и количественного вариантов (МЕ/мл), наносили на построенные контрольные карты и оценивали приемлемость полученных результатов с применением контрольных правил Вестгарда [3, 8]. Полученные результаты находились в соответствии с контрольными правилами, что свидетельствует о практической пригодности контрольного материала «ВЛК Корь-IgG» и использовании его в виде цельного препарата (ВЛК₁) и разведенного 1:2 (ВЛК_{2*}). (рис. 3а, б, 4а, б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно ГОСТ Р 53022.3-2008 значения результатов лабораторных исследований отражают содержание искомым компонентов с некоторой степенью неопределенности, вызванной факторами случайных и систематических погрешностей аналитических процедур. Поэтому, для получения достоверных результатов, особенно в области принятия решения, необходимо учитывать полученное значение коэффициента вариации в каждой лаборатории [10].

Полученные результаты свидетельствуют, что использование «ВЛК Корь-IgG» при тестировании сывороток крови на наличие IgG к вирусу кори методом ИФА позволяет повысить надежность и качество метода и исключить некоторые ошибки при проведении исследований. Преимуществом используемого препарата «ВЛК-корь IgG» является то, что один и тот же препарат может быть использован как при количественном, так и при качественном формате постановки эксперимента. В приказах и ГОСТах на территории РФ нет определенных рекомендаций, какую ОП (о.е.) должен иметь ВЛК, используемый в ИФА для определения коревых Ig G. В ГОСТе Р 53133.2-2008, часть 2 [8] есть указания о нормальном и патологическом значении антител, но для нашей задачи это не применимо, так как нет понятия «нормальное» и «патологическое» значение концентрации антител к вирусу кори у здоровых лиц. В работе Kim J. с соавторами предлагается использование 2-х образцов ВЛК с низкой ОП, один из которых, близкий к значению cut-off, используется для определения

чувствительности тест-систем [11]. ВОЗ в рамках программы элиминации кори и краснухи рекомендует использование рабочего разведения контрольного материала в пределах 2–3 cut-off для неколичественных методов определения IgM [12]. В то же время, в работе И. Г. Нетесовой с соавторами, при определении HBsAg и антител к гепатиту С, ВИЧ и сифилису указаны значения ОП (о.е.) выбранного образца ВЛК, коммерчески доступного либо изготовленного самостоятельно, в пределах 0,5–1,5 о.е., а CV сходимости от 11 до 15% [6]. Коэффициент вариации (CV), по данным ГОСТ Р 53133.1-4-2008, не должен превышать показателя 25% для количественных методов [8]. Этот показатель регламентирован также и в ГОСТе Р 51352-2013 [13]. Как видно из приведенных выше литературных данных по вопросу использования ВЛК, мнения весьма разрознены и противоречивы. Именно поэтому наши исследования были посвящены валидации препарата «ВЛК Корь-IgG» для определения коревых антител класса G в сыворотке крови методом ИФА с помощью тест-систем «Векто Корь-IgG» и отработке параметров учета качественного (ОП о.е.) и количественного (МЕ/мл) вариантов проведения исследований. С этой целью были сопоставлены два варианта ВЛК: цельный (ВЛК₁), согласно паспортным данным который имеет значение ОП $0,811 \pm 0,132$, и (ВЛК_{2*}) разведенный 1:2. При этом ВЛК₁ соответствовал критериям, предложенным Нетесовой И. Г. с соавторами [6] – 0,5–1,5 о.е. [6], а показатели ВЛК_{2*} – критериям ВОЗ в 2–3 cut-off – 0,4 о.е., что находилось в соответствии с данными Долгова В. В. о том, что при ОП меньше 0,2 о.е. резко возрастает погрешность измерения современных фотометров, рабочий (линейный) интервал измеряемых оптических плотностей которых равен 0,2–2,0 о.е. [14].

Таким образом, опираясь на вышеприведенные сведения и полученные нами результаты, можно считать, что использованные нами препараты ВЛК₁ и ВЛК_{2*} пригодны для проведения рутинного контроля качества в клинико-диагностических лабораториях, проводящих обследование на антитела к вирусу кори. Для оценки сходимости результатов, построения контрольных карт и проведения оперативного контроля целесообразно использовать цельный «ВЛК Корь-IgG» с ОП $0,811 \pm 0,132$ о.е., поскольку эти значения оказываются в линейной части калибровочной кривой, что способствует повышению точности расчетов. Проведение ВЛК

с использованием ОП (о.е.) позволит заметить и снижение результатов всего планшета (например, при снижении температуры инкубации или уменьшении времени инкубации), в то время как при количественном варианте (МЕ/мл) данный процесс будет нивелирован снижением ОП (о.е.) тестовых калибровочных образцов, что приведет к изменению и всей калибровочной кривой. Тем не менее, в обоих случаях результаты пациентов будут достоверные, так как ОП_{крит.} в данном наборе не рассчитывается от ОП (о.е.) отрицательного контроля и некоего постоянного коэффициента, а равен измеряемой в каждом протоколе ОП (о.е.) калибровочного образца с 0,15 МЕ/мл.

Для оценки чувствительности метода целесообразнее использовать «ВЛК Корь-IgG», разведенный 1:2 с ОП (о.е.) равной 2–3 cut-off, поскольку эти значения также находятся в линейной части калибровочной кривой, но близки по значению к «серой зоне», что позволяет точнее интерпретировать результаты с низкими концентрациями исследуемого анализа.

ВЫВОДЫ

1. Аттестованный на базе референс-лаборатории ЕРБ ВОЗ, ФБУН «МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского» образец «ВЛК Корь-IgG» пригоден для проведения ВКК при определении коревых IgG в сыворотке крови с использованием наборов «ВектоКорь-IgG» качественным (ОП о.е.) и количественным (МЕ/мл) способом.

2. При оценке сходимости и воспроизводимости результатов «ВЛК Корь-IgG», построения контрольных карт, значения CV не должны превышать 8% и 19% соответственно.

3. При построении контрольных карт показатели ОП (о.е.) и МЕ/мл рабочих растворов «ВЛК Корь-IgG» (цельный или разведенный 1:2) не должны находиться в зоне значений (точек) тестовых калибровочных образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. *Топтыгина А.П., Смердова М.А., Наумова М.А., Владимировна Н.П., Мамаева Т.А.* Влияние особенностей популяционного иммунитета на структуру заболеваемости корью и краснухой. Инфекция и иммунитет 2018, 3, 341–348. [*Toptygina A. P., Smerdova M. A., Naumova M. A., Vladimirova N. P., Mamaeva T. A.* Influence of populational immunity peculiarities on measles and rubella morbidity. Infection and immunity 2018, 3, 341–348.]
2. Национальная программа элиминации кори и краснухи в Российской Федерации (2016–2020). Утв. руководителем федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А. Ю. Поповой 28.12.2015 г., министром здравоохранения Российской Федерации В. Ю. Скворцовой 31.12.2015. Электронный доступ: http://rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/bcf/programma_elyuminatsii_kori_i_krasnukhi_v_rf_2016_2020_gg.pdf. [National measles and rubella elimination program of Russian Federation (2016–2020). Approved by A. Popova, the head of the Federal service for supervision of consumer rights protection and human welfare, on 28.12.2015, V. Skvortsova, the Minister of healthcare of Russian Federation, on 31.12.2015. Available from: http://rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/bcf/programma_elyuminatsii_kori_i_krasnukhi_v_rf_2016_2020_gg.pdf.]
3. Приказ Минздрава России от 07.02.2000 № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации». Электронный доступ: <http://docs.cntd.ru/document/901755005>. [Directive of the Ministry of healthcare of Russian Federation of 07.02.2000, № 45 “On the system of measures to improve the quality of clinical laboratory studies in healthcare institutions of the Russian Federation”. Available from: <http://docs.cntd.ru/document/901755005>.]
4. Приказ от 26 мая 2003 г. № 220. Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов». Электронный адрес: <http://docs.cntd.ru/document/901868423>. [Directive No. 220 of May 26, 2003. On approval of the industry standard “Rules of carrying out intralaboratory quality control of quantitative methods for clinical laboratory testing with the use of control materials”. Available from: <http://docs.cntd.ru/document/901868423>.]
5. Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов ОСТ91500.13.0001–2003. Электронный адрес: http://www.hemltd.ru/export/sites/HemLtd/.galleries/publications_nd_kdl/23.Prikaz_26.05.03-220.pdf. [Rules for conducting intralaboratory quality control of quantitative methods for clinical laboratory testing using control materials OST91500.13.0001–2003. Available from: http://www.hemltd.ru/export/sites/HemLtd/.galleries/publications_nd_kdl/23.Prikaz_26.05.03-220.pdf.]
6. *И.Г.Нетесова, М.Р.Бобкова.* Проведение внутрилабораторного контроля качества неколичественных методов иммуноферментного анализа. Справочник заведующего КДЛ 2011, 6, 9–15. [*I. G. Netesova, M. R. Bobkova.* Conducting intralaboratory quality control of non-quantitative methods of enzyme immunoenzymatic analysis. Handbook of the head of KDL 2011, 6, 9–15]
7. *Смердова М.А., Мамаева Т.А., Наумова М.А., Топтыгина А.П.* Разработка стандартных образцов для внутрилабораторного контроля, используемых

- мых при оценке специфических антител к кори и краснухе иммуноферментным методом. Российский иммунологический журнал 2016, 10(19), 2, 396–397. [Smerdova M. A., Mamaeva T. A., Naumova M. A., Toptygina A. P. Internal verification standard development for internal quality control using in measles and rubella specific antibodies evaluation by enzyme-linked immunosorbent assay. Russian immunological journal 2016, 10(19), 2, 396–397].
8. Янцев А. В. Выбор статистических критериев. Фолиант. Симферополь, 2012, 138. [Yantsev A. V. Choice of statistical criteria. Folio. Simferopol, 2012, 138].
 9. ГОСТ Р 53133.2–2008. Технологии лабораторные клинические. Контроль качества клинических лабораторных исследований. Москва, Стандартинформ, 2009, 20. [GOST R53133.2–2008. Laboratory clinical technologies. Quality control of clinical laboratory tests. Moscow, STANDARTINFORM, 2009, 20].
 10. Кочетов А. Г., Лянг О. В., Масенко В. П., Жиров И. В., Наконечников С. Н., Терещенко С. Н. Методы статической обработки медицинских данных. Москва, 2012, 42. [Kochetov A. G., Liang O. V., Masenko V. P., Zhiron I. V., Nakonechnikov S. N., Tereshchenko S. N. Methods for statistical processing of medical data. Moscow, 2012, 42].
 11. ГОСТ Р 53022.3–2008. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Москва, Стандартинформ, 2009, 17. [GOST R53022.3–2008. The requirements for quality of clinical laboratory tests. Moscow, STANDARTINFORM, 2009, 17].
 12. Kim J., Swantee C., Lee B., Gunning H., Chow A., Sidaway F., Sherlock C., Garceau R., Dimech W., Malloch L.; CAHCLSLaboratories. Identification of performance problems in a commercial human immunodeficiency virus type 1 enzyme immunoassay by multiuser external quality control monitoring and real-time data analysis. J. Clin. Microbiol. 2009, vol. 47, no. 10, 3114–3120. doi: 10.1128/JCM.00892–09.
 13. WHO. Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome. 3-end. Geneva, Switzerland: WHO.— 2018.—P. 583. Available from: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/laboratory/manual/en/
 14. ГОСТ Р 51352–2013. Медицинские изделия для диагностики ин витро. Москва, Стандартинформ, 2014, 23. [GOST R51352–2013. Medical products for in-vitro diagnostics. Moscow, STANDARTINFORM, 2014, 23].
 15. Долгов В. В., Ованесов Е. Н., Шетникович К. А. Фотометрия в лабораторной практике. Фолиант, Москва, 2004, 142. [Dolgov, V. V., Ovanesov E. N., Shetnikovich K. A. Photometry in laboratory practice. Folio, Moscow, 2004, 142].

EXPERIENCE OF INTRA-LABORATORY QUALITY CONTROL APPLICATION AT DETERMINATION OF CLASS G ANTIBODIES TO MEASLES VIRUS BY IMMUNE-ENZYME ANALYSIS METHOD USING CONTROL DRUG

© 2019 M. A. Smerdova^{1,2}, T. A. Mamaeva¹, M. A. Naumova¹,
K. A. Koretsky², D. S. Ivanov², A. P. Toptygina^{1*}

*E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

¹G.N.Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

²CJSC "Vector-Best-Europe", Moscow, Russia

Received: 25.06.2019. Accepted: 25.08.2019

Measles is a highly contagious infectious disease, fraught with serious complications and even death. The measles elimination program adopted by WHO has produced tangible benefits, but measles is still not defeated. At the stage of measles elimination, measures to increase the reliability of the results and quality of laboratory tests of antibodies to the measles virus become particularly relevant. The purpose of these studies was the validation of the drug "ILC measles-IgG" for the determination of measles antibodies of class G in serum by ELISA and the development of accounting parameters for qualitative and quantitative research options. The study material was commercial reagent kits for determining the concentration of antibodies to the measles virus VectoMeasles-IgG (JSC Vector-Best, Novosibirsk, Russia), which determined the concentration of the desired analyte in blood serums of 654 randomly selected conditionally healthy residents of Moscow and the Moscow region in age from 0 to 60 years. When conducting laboratory quality control, "ILC measles-IgG" (lyophilized preparation containing IgG to measles virus) was used to assess the intra- and inter-series convergence of the analysis. It is shown that certified on the basis of the reference laboratory of WHO / Europe of G. N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology sample "ILC-measles IgG" is suitable for conducting internal laboratory quality control in determining measles IgG in serum using the "VectoMeasles-IgG" kits by the qualitative (OU) and quantitative (IU / ml) method. When assessing the convergence and reproducibility of the results of "ILC IgG-measles", the CV values should not exceed 8% and 19%, respectively, and the OD values (OU) and IU / ml of "ILC measles-IgG" working solutions (native or diluted 1: 2) should not be in the range of values (points) of test calibration samples.

Key words: measles, intra-laboratory quality control, enzyme immunoassay, antibodies, convergence, reproducibility

Authors:

Smerdova M. A., graduate student of the cytokine laboratory G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia; leading product specialist of JSC "Vector-Best-Europe", Moscow; Russia;

Mamaeva T. A., PhD (Biology) Leading researcher, Laboratory of immunochemistry, G. N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

Naumova M. A., PhD, Senior Researcher, Laboratory of immunochemistry, G. N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

Koretsky K. A., Senior Product Manager, Vector-Best-Europe, Moscow, Russia;

Ivanov D. S., PhD (Biology), Product Specialist, CJSC Vector-Best-Europe, Moscow, Russia;

Toptygina A. P., ✉ PhD, MD (Medicine), ScD, leading researcher of the cytokine laboratory G. N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia; Professor of the Department of Immunology, Faculty of Biology, Moscow State University. M. V. Lomonosov, Moscow, Russia. **E-mail:** toptyginaanna@rambler.ru