

**Результаты пилотной программы по
разработке и применению
референс-панели
сухой капли крови
для серологического этапа ДЭН
в Республике Казахстан**

Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД
Министерства здравоохранения Республики Казахстан
к.б.н. Васильева С.А.

Москва 2008

Цель

Разработать интегрированную референс-панель из образцов сухой капли крови (СКК) для проведения внутрилабораторного контроля качества и внешней оценки качества.

Задачи

- 1. Разработать референс-панель из образцов СКК.**
- 2. Испытать созданную референс-панель в пилотной программе внешней оценки качества.**

Материалы и методы

1. Сыворотка крови содержащая антитела к ВИЧ (полный профиль белков в ИБ).
2. Сыворотка крови содержащая антитела к ВГС (полный профиль белков в ИБ).
3. Сыворотка крови содержащая антитела к возбудителю сифилиса.
4. Сыворотка крови АВО O+, не содержащая антитела к ВИЧ, ВГС, T.Pallidum.
5. Эритроциты крови АВО O+, не содержащие антитела к ВИЧ, ВГС, T.Pallidum.
6. Физиологический раствор (NaCl₂).
7. Фильтровальная бумага S&S.
8. Тест системы адаптированные для тестирования СККК.

Результаты

Создание референс-образцов СКК

1. Сыворотку крови содержащую антитела к ВИЧ титровали на сыворотке АВО О+ не содержащую антител к ВИЧ, ВГС, Т.Pallidum (1:10; 1:100; 1:200; 1:400; 1:800; 1:1600).
2. Эритроциты крови АВО О+ отмывали физ. раствором до показателей гематокрита 94%.
3. По 5,8 мл сывороток с титром антител к ВИЧ (1:400; 1:800; 1:1600) смешивали с 8,2 мл отмытых эритроцитов.
4. На фильтровальную бумагу S&S наносили по 110 мкл созданных образцов цельной крови.
5. Сушили при комнатной температуре в течение 24 часов.
6. По аналогичной схеме были созданы образцы СКК содержащие антитела к ВГС, Т.Pallidum.
7. Для создания «отрицательного образца» смешивали сыворотку не содержащую антител к ВИЧ, ВГС, Т.Pallidum с отмытыми эритроцитами.

Результаты

Элюирование референс-образцов СКК

- 1. Из СКК вырезали один диск для исследований на ВИЧ и ВГС, а для исследований на сифилис – два диска диаметром 5 мм при помощи канцелярского дырокола.**
- 2. Вырезанные диски помещали в чистый плоскодонный планшет (96 лунок) для предварительного разведения.**
- 3. В каждую лунку с диском СКК вносили по 200 мкл фосфатно-солевого буфера с твином.**
- 4. Элюировали в течение 18 – 20 часов при комнатной температуре.**
- 5. Полученный элюат исследовали в иммуноферментных тест-системах адаптированных для тестирования СКК по ранее отработанным методикам.**

Характеристика референс-панели СКК

Номер образца	маркеры	ДСМ ВИЧ	Рекомби Бест ВГС	Сиф ДСМ
1	анти ВИЧ (высоко +)	8,0	отр	отр
2	анти ВИЧ (средне +)	4,2	отр	отр
3	анти ВИЧ (слабо +)	2,3	отр	отр
4	анти ВГС (высоко +)	отр	7,9	отр
5	анти ВГС (слабо +)	отр	3,5	отр
6	анти T. pallidum (высоко +)	отр	отр	6,8
7	анти T. pallidum (слабо +)	отр	отр	3,0
8	отрицательный	отр	отр	отр

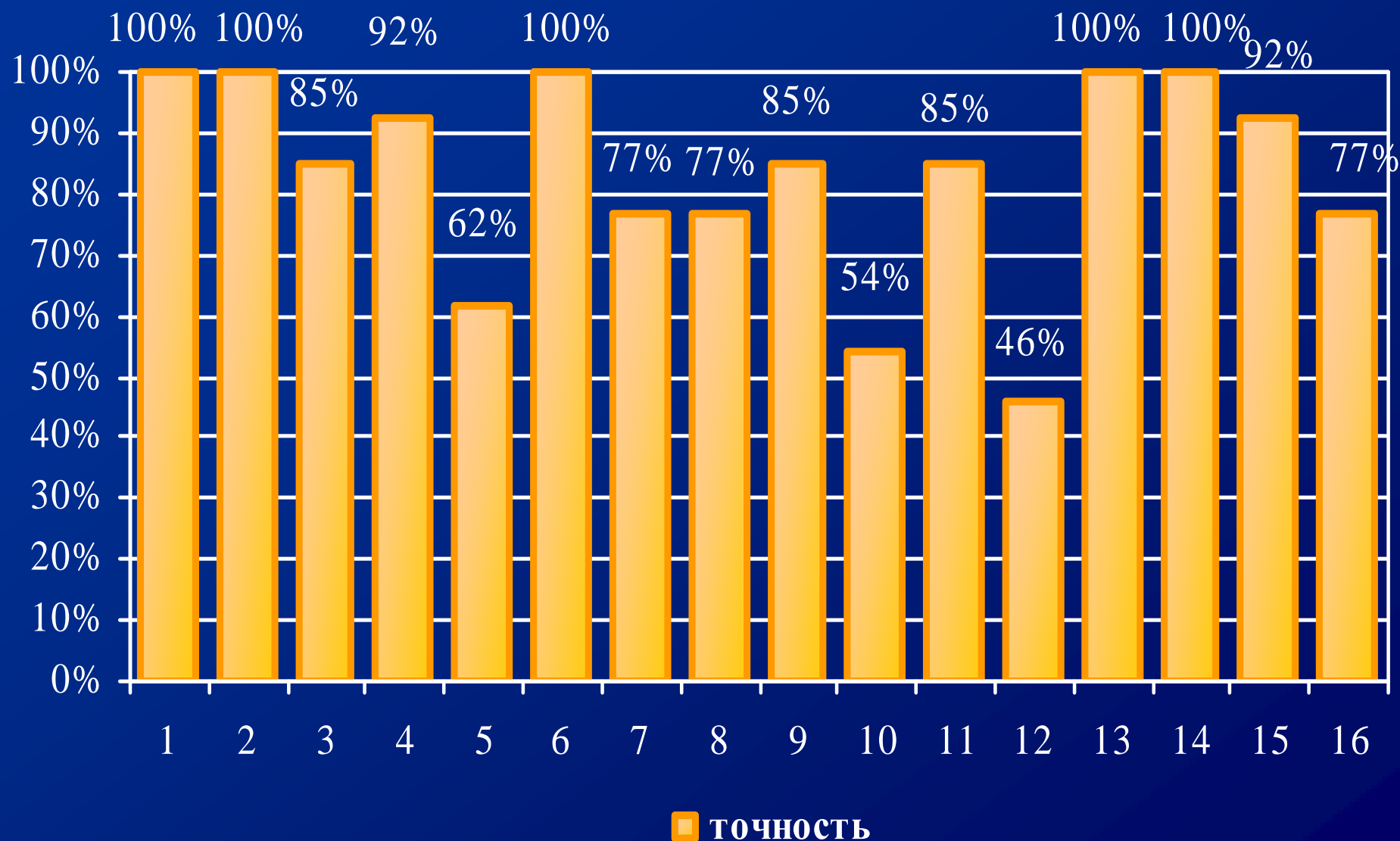
Референс панель аттестована на экспертных тест-системах производства АБВОТТ, США.

Статус положительных образцов на ВИЧ, ВГС подтвержден ИБ.

Испытание референс-панели в пилотной программе

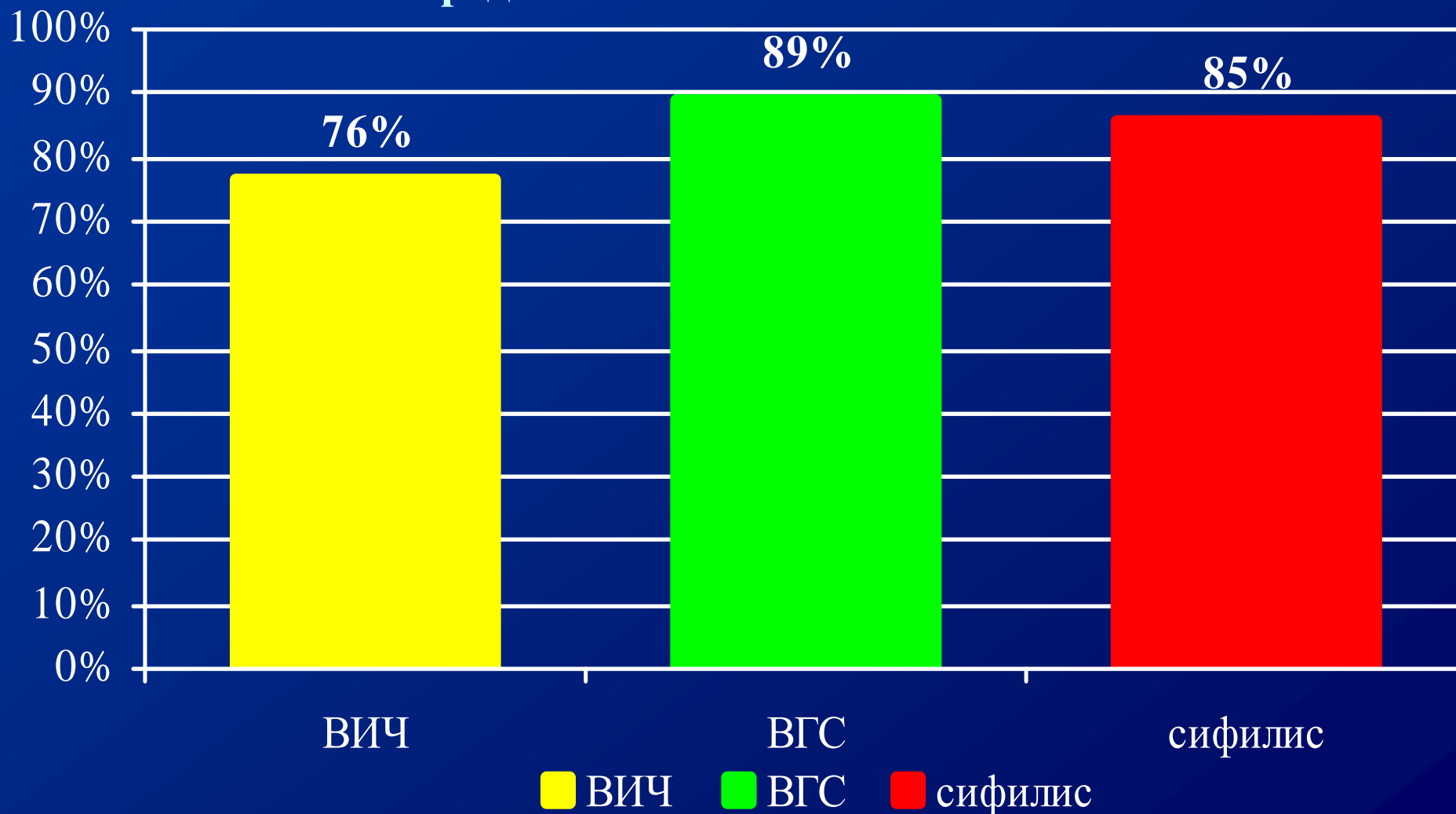
Разработанная референс-панель была испытана в пилотной программе внешней оценки качества, в которой участвовали 16 лабораторий службы по профилактике и борьбе со СПИД Республики Казахстан.

Результаты ВОК по тестированию СККК в скрининговых тест-системах



Результаты ВОК по тестированию СККК в скрининговых тест-системах

Средние показатели точности



Выводы:

- 1. Разработанная референс-панель поможет идентифицировать качество тестирования сухой капли крови и выявлять допущенные погрешности для их последующего устранения.**
- 2. Отработанная методика создания образцов СКК может быть использована при разработке референс-панели для внедрения внутрилабораторного контроля качества и проведения программы внешней оценки качества для лабораторной службы СПИД Республики Казахстан.**

Спасибо за внимание