

Инструкция
по применению набора для внутрилабораторного контроля качества ИФА
«Сыворотка, содержащая HBsAg»
(ВЛК HBsAg)

1. Назначение

Набор «ВЛК HBsAg» предназначен для оценки сходимости и воспроизводимости исследований по выявлению HBsAg в лабораториях для диагностики *in vitro*. Использование ВЛК позволяет выявить ошибки при постановке иммуноферментного анализа (ИФА).

2. Характеристика набора

2.1. Общие положения.

- сыворотка, содержащая HBsAg, получена от доноров-носителей HBsAg;
- сыворотка инактивирована прогреванием, не содержит антител к ВИЧ-1,2 и ВГС.

2.2. В состав набора входят:

- образец ВЛК HBsAg, на основе инактивированной сыворотки крови человека, содержащей HBsAg, лиофилизированный – 24 фл. (*комплект 1*) или 20 фл. (*комплект 2*);
- инструкция по применению.

3. Аналитические характеристики

Максимальное отклонение оптической плотности ВЛК флаконов одной серии от её среднего значения не превышает 10%.

4. Меры предосторожности

При подготовке и проведении анализа следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках и респираторе;
- для предотвращения выброса материала при разгерметизации флаконов пробку следует сначала слегка приоткрыть, а лишь затем извлечь полностью;
- не использовать повреждённые флаконы с образцом ВЛК HBsAg;
- все использованные материалы подвергать дезинфекции в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113-00.

5. Оборудование и материалы

- оборудование, необходимое при постановке ИФА, в соответствии с инструкцией по применению используемого набора реагентов для иммуноферментного выявления HBsAg;
- пипетка полуавтоматическая одноканальная с переменным объёмом со сменными одноразовыми наконечниками, позволяющая отбирать объём жидкости от 100 до 1000 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (*погрешность не более 5%*);
- холодильник бытовой;
- перчатки резиновые хирургические;
- вода дистиллированная;

– дезинфицирующие средства, разрешенные к применению в соответствии с указаниями СП 1.3.2322-08.

6. Проведение контроля

6.1. Подготовка к применению.

При использовании ВЛК HBsAg в наборе «Вектогеп В – HBs-антиген» (*ЗАО «Вектор-Бест»*) во флакон с лиофильно высушенным образцом ВЛК HBsAg внести 0,5 мл (*комплект 1*) или 2,0 мл (*комплект 2*) дистиллированной воды одноразовым наконечником. Раствор тщательно перемешать до полного растворения образца и выдержать при комнатной температуре не менее 15 минут, затем ещё раз перемешать.

Использование ВЛК HBsAg в других наборах, выявляющих HBsAg, требует дополнительного подбора объёма воды для растворения образца ВЛК HBsAg. Возможно разведение восстановленного ВЛК HBsAg в отрицательной донорской сыворотке («ОДС», *D-3020*, *ЗАО «Вектор-Бест»*), не содержащей HBsAg, анти- HBs. Рекомендуемый диапазон оптической плотности в ИФА от 0,5 до 1,5 ед. опт. пл.

Восстановленный образец ВЛК HBsAg хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 24 часов. Допускается однократное замораживание восстановленного образца ВЛК HBsAg при минус 20±2°С под контролем температуры в низкотемпературной камере с последующим хранением при указанной температуре до 14 дней.

6.2. Проведение анализа и учёт результатов.

Внесение образца ВЛК HBsAg в лунки планшета осуществляется с помощью одноразовых наконечников, не использовавшихся ранее, в количестве, указанном в «Инструкции по применению» используемого набора реагентов для ИФА.

Учёт результатов следует проводить только в том случае, если величины оптической плотности (ОП) положительного, отрицательного и слабopоложительного контролей укладываются в пределы, регламентируемые нормативно-технической документацией на используемый набор реагентов.

Полученное для образца ВЛК HBsAg значение оптической плотности следует использовать для оценки качества проводимых исследований в соответствии с требованиями, принятыми в лаборатории (*см. Приложение 1*).

7. Условия хранения и транспортирования

7.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°С. Допускается транспортирование при температуре до 25°С не более 10 суток.

7.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8°С.

7.3. Срок годности – 5 лет со дня выпуска.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Рекомендации по оценке качества ИФА-исследований с помощью образца ВЛК

8. Оценка внутрисерийной сходимости

Проводится 10 измерений ВЛК-НВsAg в одной аналитической серии (в одном планшете). Из полученных 10 значений ОП ВЛК-НВsAg рассчитывается среднее арифметическое значение ОП_{ср}, среднеквадратическое отклонение S, коэффициент вариации CV₁₀ согласно формулам:

$$\text{— среднее арифметическое значение } ОП_{ср} = \frac{\sum ОП_i}{n};$$

$$\text{среднеквадратическое отклонение } S = \sqrt{\frac{\sum (ОП_i - ОП_{ср})^2}{n-1}},$$

где **n** – число измерений; ОП_i – значение ОП ВЛК i-ого измерения;

коэффициент вариации $CV = S/ОП_{ср} \times 100\%$.

– Рассчитанный коэффициент внутрисерийной вариации методики CV₁₀ сравнивается с табличным (таблица 1). Если вычисленный CV₁₀ для данного серологического маркера превышает табличное значение CV_{сход}, следует провести работу по снижению внутрисерийной вариации данного вида анализа.

9. Оценка межсерийной воспроизводимости

- Проводится 20 измерений ВЛК НВsAg в течение 20 дней (не менее 5 дней при проведении 4 аналитических серий в день) на одной и той же серии используемого набора реагентов. Рекомендуем проводить ИФА с использованием контрольных материалов для контроля чувствительности анализа (например, МИНИпол-2, D-3002, «Вектор-Бест»).

- Из полученных 20 значений ОП ВЛК-НВsAg рассчитывается среднее арифметическое значение ОП_{ср}, среднеквадратическое отклонение S, коэффициент вариации CV₂₀ согласно формулам, описанным в разделе 8.

- Рассчитанный коэффициент межсерийной вариации CV₂₀ не должен превышать установленных допустимых пределов CV_{воспр} (таблица 1). Если рассчитанный CV₂₀ превышает допустимое значение для данного серологического маркера, необходимо исследовать причины плохой воспроизводимости и устранить их.

Предельно допустимые значения CV, рассчитанные по результатам выявления НВsAg в контрольных материалах, содержащих НВsAg, в лабораториях России (по данным ПВОК ЗАО «Вектор-Бест»).

Серологический маркер	CV _{сход}	CV _{воспр}
НВsAg	11.3%	14.2%

10. Построение контрольной карты

- На контрольной карте в качестве центральной линии (ось X) наносится ОП_{ср} ВЛК НВsAg и параллельно ей две предупредительные границы карты ОП_{ср} + 2s, ОП_{ср} – 2s и две контрольные границы ОП_{ср} + 3s, ОП_{ср} – 3s.
- Если какой-нибудь результат отклоняется от среднего больше, чем на 3s, он должен быть исключён из расчёта. После этого среднее арифметическое значение ОП_{ср}, среднеквадратическое отклонение S и CV рассчитать заново.

11. Оперативный контроль

– С использованием построенных контрольных карт осуществляют оперативный (текущий) контроль качества результатов определения исследуемого показателя. С этой целью в каждой аналитической серии (каждом планшете) проводится измерение ВЛК НВsAg. Полученное значение ОП ВЛК НВsAg наносится на контрольную карту, оно должно укладываться в предупредительные границы ОП_{ср} ± 2s.

– Если одно контрольное измерение оказалось за предупредительными границами контрольной карты ОП_{ср} ± 2s (предупредительное правило), то последовательно проверяют наличие контрольных признаков **1 3s, 2 2s, R 4s, 4 1s, 10x** (контрольные правила). Если контрольные правила не нарушены, то результат анализа может быть выдан, но необходимо провести тщательный анализ условий проведения анализа, чтобы установить причину выброса **1 2s**.

– Если после выявления предупредительного признака **1 2s** обнаруживают хотя бы одно нарушение контрольных правил, все результаты этого анализа считают неприемлемыми. Необходимо провести тщательную проверку всех условий ИФА, устранить причину и повторно провести анализ (Приказ МЗ РФ от 07.02.2000 № 45).

12. За справками и консультацией обращаться:

в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,

тел. (383) 332-24-45, тел/факс (383) 332-94-44, 332-94-47,

e-mail: vbobtk@vector-best.ru