

**Особенности результатов диагностики
нарушений системы гемостаза
выполненных на разных тест-системах**

Юлия Васильевна Ершова
Врач КДЛ ГБУЗ НО ГКБ№5 г. НИЖНИЙ НОВГОРОД

ГКБ 5 НИЖНИЙ НОВГОРОД



- ГБУЗ НО Городская клиническая больница №5 проводит обследование и лечение жителей города Нижнего Новгорода.
- В больнице 600 коек из них 36 реанимационных.
- Клиника больницы состоит из хирургических, терапевтических, приемных и реанимационных отделений.
- На базе больницы созданы и работают городской ревматологический центр и кардиологическое диспансерное отделение, а также межрегиональный центр хирургического лечения нарушений ритма и проводимости сердца.
- На базе клиники расположены 6 кафедр Нижегородской медицинской академии.
- С января 2011 года создано первичное сосудистое отделение (ПСО) для лечения больных с нарушением мозгового кровообращения, инфарктом миокарда.
- Централизованная лабораторная служба состоит из клинической, цитологической, биохимической, коагулогической и иммунологической служб, а также экспресс-лаборатории при хирургическом приемном покое работающей круглосуточно и лаборатории реанимации, функционирующей круглосуточно в терапевтическом корпусе.

КОЛЛЕКТИВ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ ГКБ 5 НН



КОЛЛЕКТИВ ЭКСПРЕСС-ЛАБОРАТОРИИ ГКБ 5 НН



Оснащенность оборудованием плановой КДЛ

Наименование оборудования	Страна	Кол, шт.	Год ввода в эксплуатацию
Анализатор электролитов	Германия	2	18.12.2012
Гем.Анализатор Миндрей 5800	Китай	1	2015
Гем .Анализатор Пентра-80	Франция	1	10.12.2014
Автоматиче Биох.Анализ. BI-400	Испания	1	2015
Биох.фотометр Клима-15	Испания	1	18.05.2004
ИФА анализатор Аллегрия	Германия	1	09.07.2009
ИФА анализатор СТАТФАКС -4200	США	1	2014г.
<u>Автоматический коагулометр ACL Elite Pro</u>	США	1	22.12.2011
Анализ. Глюкозы Эко-твенти	Германия	1	15.08.2012
Анализ. Иммунохимич.Кобас 411	Германия	1	18.12.2012
Прибор для электрофореза белков	Франция	1	24.12.2012
Анализатор мочи Урискан БК	Россия	1	12.10.2013

Оснащенность экстренной лаборатории терапии и реанимации

Наименование оборудования	Страна производитель	Кол, шт.	Год ввода в эксплуатацию
Анализатор КЦС	Германия	1	2015г.
Анализатор электролитов	Германия	1	1812.2012
Гем.Анализатор Гемолюкс-19	Китай	1	26.01.2007
Анализ.кардиомаркеров Кобас	Германия	1	06.08.2012
Автоматический коагулометр АК-37	Россия	1	2015г.
Коагулометр ТС-4000	США	1	07.11.2008
Анализ. Глюкозы и лактата Супер дж ль	Германия	1	С 21.06.2006 СПИСАН
Автоматический б/х анализатор А25	Испания	1	2010 г.
Анализатор мочи CL-50	США	1	12.10.2010

Гемостаз в КДЛ 5 ГКБ г Нижний Новгород

- В КДЛ с 2011 года работает автоматический коагулометр ACL Elite Pro Instrumentation Laboratory, реагенты также этого же производителя.
- Количество образцов в день 60-80, спектр исследований: МНО, АЧТВ, ПВ, Фибриноген по Клауссу, Антитромбин-3, Д-димер, ВА.
- В экспресс лаборатории функционирует п/а, на реагентах одного из отечественных производителей.
- В 2015 году предложен на апробацию отечественный автоматический анализатор АК-37, реагенты Технология Стандарт

Цели и задачи исследования

Целью данной работы было проведение апробации анализатора АК-37 и сравнения результатов тестов коагулограммы, полученных на АК-37 с использованием реагентов Российского производства (Технология Стандарт) и ACL Elite Pro (IL).

Тест система ACL Elite Pro (IL) была выбрана как референсная.

Особенности анализатора АК-37 :

- Тест-система АК-37 Российского производства, недавно получены (в 2013 году) разрешительные документы - Регистрационное Удостоверение.
- Анализатор открытого типа
- Оптическая система детекции сгустка
- ПО позволяет выполнять основные коагулогические тесты

Методы исследования

Пробы:

В сравнение были включены пробы пациентов различных отделений ГБУЗ НО «Городская клиническая больница №5», в том числе получающих непрямые и прямые антикоагулянты.

Статистический анализ:

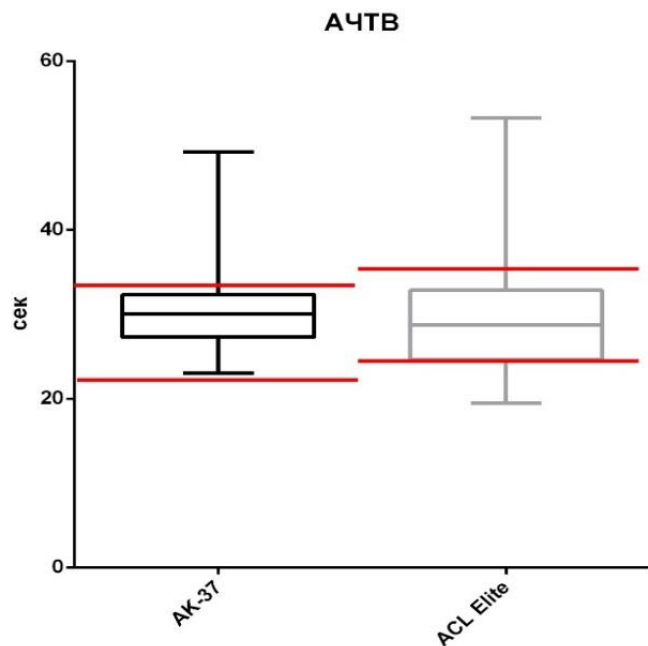
- Статистический обсчет результатов проводили при поддержке сотрудников компании «ЗАО ФИРМА ГАЛЕН»
- Для сравнения методик была выбрана стандартная методология международного стандарта CLSI EP9 (User Comparison of Quantitative Clinical Laboratory Methods Using Patient Samples) применяемая для проведения сравнений результатов тестов на 2-х независимых методиках.

Результаты АЧТВ

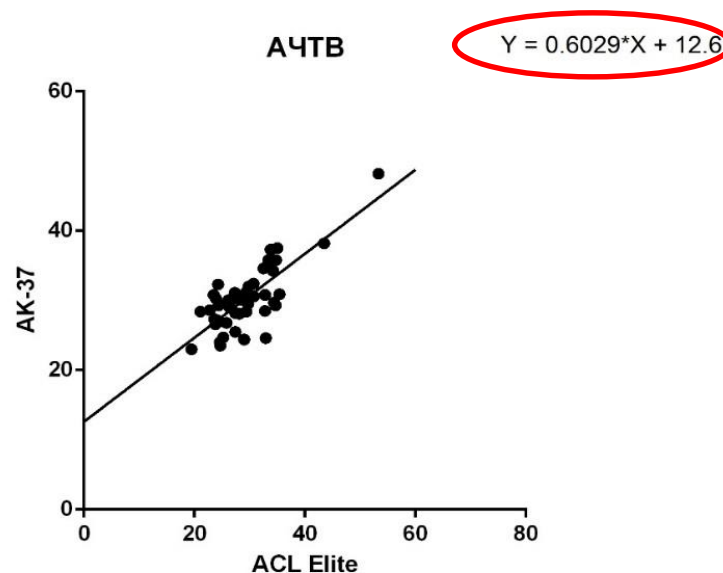
На анализаторе АК-37 используется реагент АРТВ-Эл-тест . Референсный интервал- 22-33 сек.

На анализаторе ACL Elite Pro использовался реагент АРТТ SP (IL). Референсный интервал - 24.3 - 35.0 сек.

В процессе сравнения было проанализировано **49 пар результатов**



Регрессионный анализ данных, полученных на коагулометре АК-37/ТС, против данных, полученных на ACL Elite Pro и реагентах IL



Коэффициент корреляции результатов АЧТВ АК-37 относительно ACL Elite Pro/IL составил **$r = 0,78$**

Сдвиг результатов АЧТВ на системе АК-37/ТС составляет более 12 секунд относительно ACL Elite Pro/IL. Наклон кривой также значительно отклоняется от 45 градусов, величина $a = 0,6$, по сравнению с необходимым $a \approx 1$

АЧТВ – выводы

- Коэффициент корреляции результатов АЧТВ на системе АК-37/ТС относительно ACL Elite Pro/IL составил $r = 0,78$
- По данным регрессионного анализа результаты АЧТВ полученные на системе АК-37/ТС показывают среднюю корреляцию с результатами ACL Elite Pro/IL
- Результаты АЧТВ тест-системы АК-37/ТС укладываются в значительно более узкий диапазон, чем АЧТВ ACL Elite Pro/IL, что может указывать на низкую чувствительность реагента АПТВ-Эл-тест к изменению активности факторов внутреннего пути свертывания, в том числе вызванных действием приемом антикоагулянтов

Результаты Протромбиновое Время

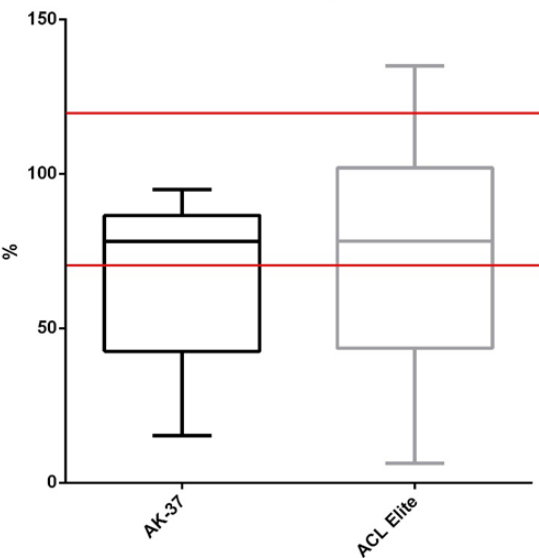
Результаты Протромбина выдаем в процентах активности по Квику (%) и в единицах МНО.

На анализаторе АК-37 используется реагент Техпластин-Тест. Диапазон нормальных значений 70-120%.

На анализаторе ACL Elite Pro использовался реагент Рекомбипластин 2G. Нормальный диапазон - 70-130%.

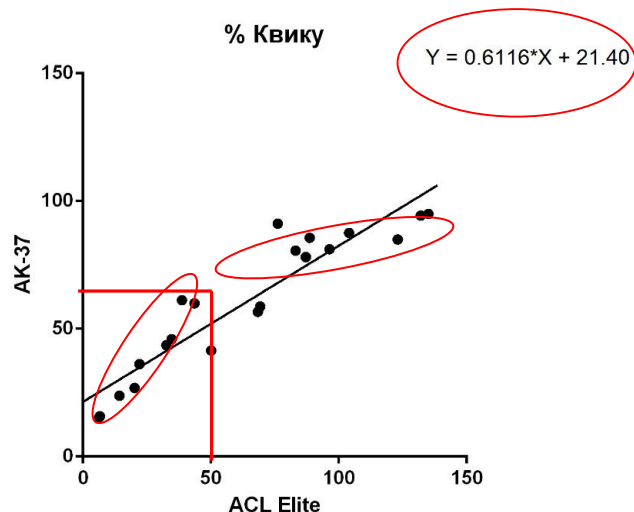
В процессе сравнения было проанализировано **21 пара результатов** протромбиновой активности.

% Квику



Коэффициент корреляции результатов ПВ с системой АК-37/ТС относительно ACL Elite Pro/IL составил $r = 0,93$

Регрессионный анализ данных, полученных на коагулометре АК-37 и реагенте Техпластин, против данных, полученных на ACL Elite Pro и реагентах IL



Сдвиг результатов % Активности по Квику на системе АК-37/ТС составляет более 21% относительно ACL Elite Pro/IL. Наклон кривой также значительно отклоняется от 45 градусов ($a = 0,61$ по сравнению с рекомендованным $a \approx 1$).

Зависимость результатов носит нелинейный характер. В области патологических значений ($< 50\%$ протромбиновой активности) система АК-37/ТС показывает более высокие значения, чем ACL Elite Pro/IL. В области значений $> 100\%$ протромбиновой активности система АК-37/ТС, наоборот, показывает более низкие результаты, чем ACL Elite Pro/IL.

ПВ – выводы

- Коэффициент корреляции результатов протромбиновой активности на тест-системе АК-37/ТС относительно ACL Elite Pro/IL составил $r = 0,93$.
- Однако, результаты линейной регрессии носят не линейный характер и показывают низкую корреляцию результатов тест-системы АК-37/ТС с результатами ACL Elite Pro/IL
- Часть результатов ниже нормального диапазона (ниже 70%) полученных ACL Elite Pro/IL были в норме на тест-системе АК-37/ТС
- На анализаторе АК-37 не было результатов выше 100%, что может указывать на технические особенности прибора

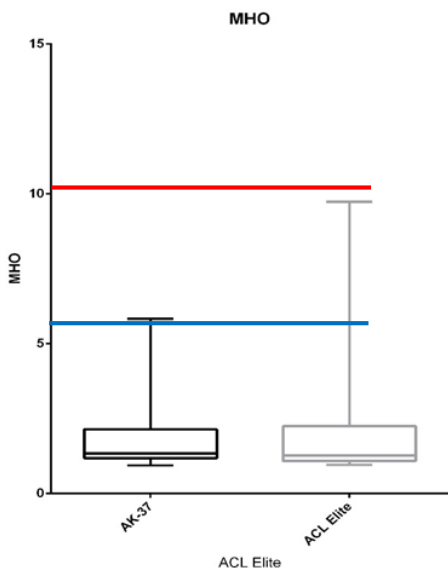
Результаты МНО

В процессе сравнения было проанализировано **55 пар результатов** МНО

Валидация МНО с использованием внешних контролей с известными значениями МНО, определенными в референсной лаборатории.

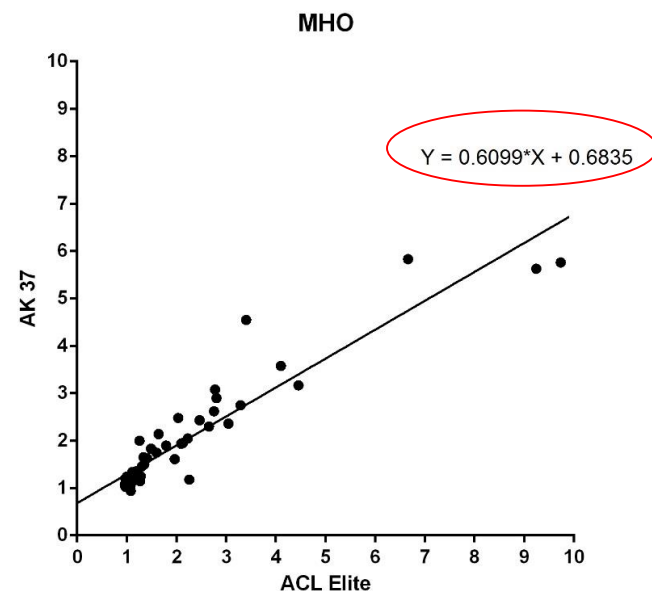
	Паспортные значения МНО	ACL Elite Pro				AK-37/TC		
		Пов. 1	Пов. 2	Пов. 3	Различие	Пов. 1	Пов. 2	Различие
№ 1	2,11	2,126	2,064	2,034	< 15%	1,95	1,94	< 15%
№ 2	3,13	3,047	3,016	2,922	< 15%	2,36	2,23	< 15%
№ 3	4,49	4,454	4,4	4,432	< 15%	3,17	3,01	> 15%

Система ACL Elite Pro/IL - ✓
Система АК-37/ТС - ✗



Тест-система АК-37/ТС не дает высоких значений результатов МНО. Коэффициент корреляции результатов МНО на АК-37/ТС относительно ACL Elite Pro/IL составил **r = 0,936**.

Регрессионный анализ данных, полученных на коагулометре АК-37 и реагентах ТС, против данных, полученных на ACL Elite Pro и реагентах IL



Сдвиг результатов МНО на системе АК-37/ТС составляет 0,68 единиц МНО относительно ACL Elite Pro/IL. Наклон кривой также значительно отклоняется от 45 градусов ($\alpha = 0,61$, по сравнению с рекомендованным $\alpha \approx 1$).

МНО – выводы

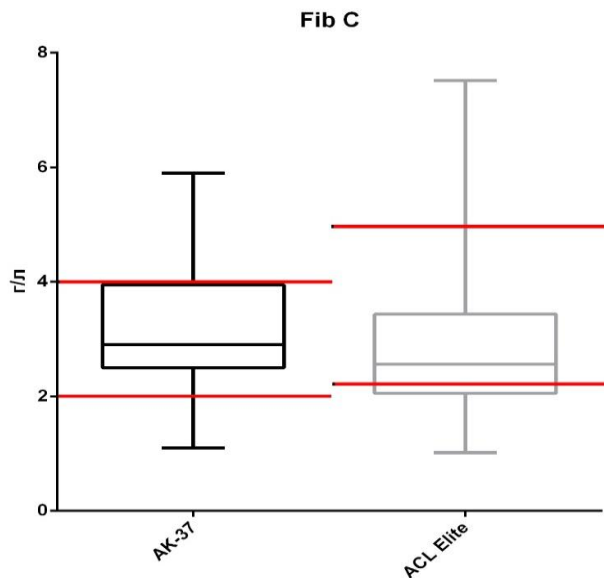
- В исследование были включены пациенты принимающие Варфарин, так и пациенты без Варфарина.
- Для пациентов, получающих Варфарин в большинстве клинических ситуаций рекомендованный терапевтический диапазон составляет от 2 до 3 единиц МНО, при некоторых показаниях от 2,5 до 3,5.
- В совокупности, результаты исследования показывают, что в области значений МНО больше 2, тест-система АК-37/ТС дает более низкую чувствительность чем ACL Elite Pro и чем выше значение МНО, тем больше отклонения результатов между ACL Elite Pro и АК-37/ТС
- Полученные данные показали, что использование тест-системы АК-37/ТС для мониторинга МНО пациентов принимающих Варфарин на сегодняшний день вызывает сомнения

Результаты Фиб-С

На анализаторе АК-37 используется модифицированный метод Клаусса. Референсный интервал - 2-4,0 г/л.

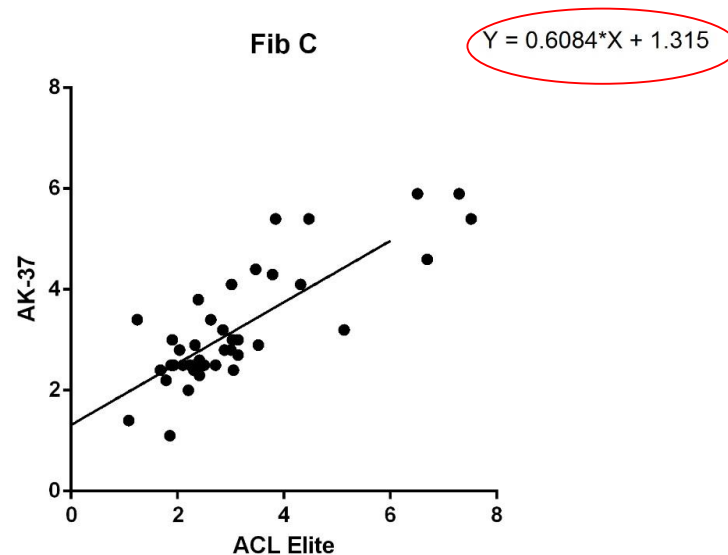
На анализаторе ACL Elite Pro используется метод Клаусса. Референсный интервал - 2,2-5,0 г/л.

В процессе сравнения было проанализировано **41 пара результатов** фибриногена по Клауссу.



На системе АК-37/ТС было получено 2 результата ниже нижней границы референсного диапазона, тогда как для ACL Elite Pro/IL было зафиксировано 10 результатов ниже нижней границы референсного диапазона. Коэффициент корреляции результатов Фибриногена по Клауссу на АК-37/ТС относительно ACL Elite Pro/IL составил **r = 0,81**

Регрессионный анализ данных, полученных на коагулометре АК-37/ТС, против данных, полученных на ACL Elite Pro и реагентах IL



Сдвиг результатов Фиб-С на АК-37/ТС составляет более 1,3 г/л относительно ACL Elite Pro/IL. Наклон кривой также значительно отклоняется от 45 градусов ($a = 0,6$ по сравнению с рекомендованным $a \approx 1$).

Фиб-С - анализ прецизионности результатов (ГОСТ Р ИСО 15189-2009)

- Фиб-С - высокий риск контаминации тромбина от одного образца в другой.
- Требуется тщательной очистки пробозаборников при выполнении его на автоматических коагулометрах.
- Анализатор АК-37 - один пробозаборник для проб и реагентов.

В соответствии с правилами проведения лабораторных исследований был проведен анализ прецизионности результатов измерений Фибриногена по Клауссу на ACL Elite Pro/IL и анализаторе АК-37, а также для проверки возможной контаминации реагента Фиб-С.

*ГОСТ Р ИСО 15189-2009: Методы и процедуры, избранные для применения, должны быть оценены и должны продемонстрировать удовлетворительные результаты перед их использованием для медицинских исследований. Рассмотрение методик заведующим лабораторией или назначенным им лицом должно осуществляться как первоначально, так и периодически (обычно ежегодно). Результаты такого рассмотрения должны быть документированы. ГОСТ Р 53133.1-2008: Настоящим стандартом вводятся рекомендуемые ПДЗ внутрилабораторных погрешностей: лабораторной составляющей относительной систематической погрешности δ и прецизионности γ результатов. **Величина коэффициента вариации внутрилабораторной прецизионности γ не должна превышать половины коэффициента внутрииндивидуальной вариабельности. ПДЗ погрешностей для Фибриногена $\delta = \pm 4,8$, $\gamma = 5,4$.***

Фиб-С - анализ прецизионности результатов (ГОСТ Р ИСО 15189-2009)

Были проведены 10 измерений фибриногена по Клауссу в сливной плазме на ACL Elite Pro/IL Werfen и анализаторе АК-37

Число измерений	Фибриноген по Клауссу (г/л), Анализатор АК-37			Фибриноген по Клауссу (г/л), ACL Elite Pro/IL		
	Результат измерения (Xi)	(Xi-Xcp)	(Xi-Xcp) ²	Результат измерения (Xi)	(Xi-Xcp)	(Xi-Xcp) ²
1	1,9	0,27	0,0729	1,765	0,02	0,00024964
2	1,6	-0,03	0,0009	1,724	-0,03	0,00063504
3	1,7	0,07	0,0049	1,734	-0,02	0,00023104
4	1,4	-0,23	0,0529	1,754	0,00	2,304E-05
5	1,5	-0,13	0,0169	1,754	0,00	2,304E-05
6	1,4	-0,23	0,0529	1,744	-0,01	2,704E-05
7	1,6	-0,03	0,0009	1,765	0,02	0,00024964
8	1,7	0,07	0,0049	1,744	-0,01	2,704E-05
9	1,8	0,17	0,0289	1,754	0,00	2,304E-05
10	1,7	0,07	0,0049	1,754	0,00	2,304E-05
n = 10	Xcp ₁₀ = 1,63		SUM (Xi-X) ² = 0,24	Xcp ₁₀ = 1,75		SUM (Xi-X) ² = 0,00
	γ _{допустимое} = 5,4		γ = 10,04		γ = 0,74	
	δ _{допустимое} = 4,8		δ = -6,81454		δ = 0	

Из таблицы можно видеть, что для системы АК-37/ТС допустимое значение γ превышено почти в 2 раза. Тогда как значения, полученные на ACL Elite Pro/IL укладываются в рекомендованные пределы.

ВЫВОДЫ:

В сравниваемых тестах (ПВ, МНО, АЧТВ, Фибриноген) тест-система АК-37/ТС показала низкую и среднюю корреляцию с референсным методом (коэффициент корреляции был ниже 0,975)

Регрессионный анализ также показал существенное отличие результатов всех методик на тест-системе АК-37/ТС от ACL Elite Pro/IL

Данные исследования показывают, что результаты, полученные на тест-системе АК-37/ТС по оценке тестов АЧТВ и ПВ проб пациентов получающих гепарины, или из отделений реанимации где высок процент патологических результатов на сегодняшний день вызывают сомнения

Полученные данные показали, что использование тест-системы АК-37/ТС для мониторинга МНО пациентов принимающих Варфарин на сегодняшний день вызывает сомнения

Оценка результатов теста Фиб-С на тест-системе АК-37/ТС в соответствии с ГОСТ Р ИСО 15189-2009 вызывает вопросы к производителям системы и пожелание провести дальнейшее усовершенствование тест-системы АК-37



**Instrumentation
Laboratory**

A Werfen Company

Спасибо за внимание