



О. А. Клименкова



В. П. Пашкова



Т. В. Вавилова



В. С. Берестовская

Практический подход к управлению гемолизированными образцами в лаборатории

О. А. Клименкова, врач клинической лабораторной диагностики¹

В. П. Пашкова, зам. гл. врача по лабораторной службе¹

Т. В. Вавилова, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики²

В. С. Берестовская, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики и генетики²

¹СПб ГБУЗ «Консультативно-диагностический центр для детей», г. Санкт-Петербург

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Practical approach to managing hemolyzed samples in laboratory

O. A. Klimenkova, V. P. Pashkova, T. V. Vavilova, V. S. Berestovskaya

Consultative and Diagnostic Centre for Children, National Medical Research Centre n.a. V. A. Almazov; Saint Petersburg, Russia

Резюме

В статье рассмотрен новый подход к оценке индекса гемолиза на примере двух аналитов — АЛТ и АСТ, измеренных в образцах сыворотки крови на автоматическом биохимическом анализаторе. Данный подход основан на вычислении величины критической разницы RCV с учетом референсных интервалов для АЛТ и АСТ. Такая оценка позволяет определить статистически значимую достоверность различий между двумя результатами лабораторных исследований у одного пациента и исключить получение ложноположительных результатов.

Ключевые слова: индекс гемолиза (HI), величина критической разницы, референсный интервал.

Summary

The article describes a new approach to the assessment of hemolysis index (HI) on the example of two tests — alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), measured in blood serum samples on an automatic biochemical analyzer cobas 6000. This approach is based on the calculation of the Reference Change Value (RCV) taking into account the reference intervals for ALT and AST. This allows you to define a statistically significant the significance of differences between the two laboratory results from one patient and the deletion of obtaining false positive results.

Key words: hemolysis index (HI), reference change value, reference interval.

Работа с гемолизированными образцами в лаборатории вызывает много вопросов, которые не решены до настоящего времени. Связано это, прежде всего, с отсутствием рекомендаций, позволяющих выявлять образцы сыворотки крови с гемолизом, правильно оценивать степень гемолиза, определять его влияние на достоверность получаемого лабораторного исследования, а также предупреждать его появление [1].

В лабораторном сообществе продолжается дискуссия о том, кто — сама лаборатория или производитель аналитической системы, которая подразумевает под собой совокупность реагента и анализатора, и каким образом должны давать оценку степени влияния свободного гемоглобина на результат измерения аналита. В публикации Lipri G. [1], посвященной организации работы с гемолизированными образцами, предлагается пересматривать максимальное значение индекса гемолиза (HI),

указанное производителем в инструкции к набору реагента, выше которого возможно влияние гемолиза на достоверность полученного результата сотрудниками самой лаборатории. Автор объясняет это тем, что для правильной оценки результатов лабораторных исследований необходимо учитывать влияние многих факторов: матрицу образца (например, сыворотка или плазма), концентрацию свободного гемоглобина в образце, выполняемый тест, используемую аналитическую систему, а также клиническую составляющую, лежащую в основе того или иного заболевания пациента [1]. Согласно стандарту CLSI EP07-A22 [2] каждый производитель набора реагента для конкретной аналитической системы определяет ту концентрацию свободного гемоглобина (индекс гемолиза HI), который отклоняет результат лабораторного исследования на 10 % как в сторону его увеличения, так и снижения [2]. В случае превышения индекса гемолиза для

Таблица 1

Оценка результатов повторного измерения АСТ у пациентов, в образцах сыворотки которых при первичном исследовании был обнаружен недопустимый уровень гемолиза (HI > 40)

№ группы	Первичное измерение; HI > 40 (n = 68)		Повторное измерение; HI < 40 (n = 68)	Процент от общего числа пациентов
1 (n = 11)	АСТ > референсного интервала	→	АСТ в пределах референсного интервала	16,2
2 (n = 6)	АСТ > референсного интервала	→	АСТ > референсного интервала	8,8
3 (n = 51)	В пределах референсного интервала	→	В пределах референсного интервала	75,0

исследуемого анализата выше допустимого, лаборатория должна запросить новый образец для исследования.

Цель исследования: оценить влияние гемолиза на достоверность лабораторного результата аспартатами-нотрансферазы (АСТ) и аланинами-нотрансферазы (АЛТ) с использованием величины критической разницы RCV (Reference Change Value).

Материалы и методы

Для оценки влияния гемолиза, превышающего рекомендуемый уровень, и определения тактики обработки таких проб нами были отобраны 729 образцов сыворотки, в которых была измерена активность аминотрансфераз, а HI превышал допустимый для теста согласно инструкции производителя. Активность АСТ была определена в 576 образцах с индексом гемолиза выше 40, активность АЛТ — в 163 образцах с HI более 200. Все измерения проводились на автоматическом биохимическом анализаторе cobas 6000 (cobas c 501).

Результаты

В соответствии с рекомендациями производителя для всех указанных результатов в лабораторной информационной системе было сформировано сообщение «Повторить. Гемолиз выше допустимого». В течение последующих двух недель повторное исследование АЛТ и АСТ было назначено лечащим врачом и выполнено для 109 паци-

ентов. Определение АСТ проведено повторно 68 пациентами, АЛТ — 41 пациенту, что составило 11,8 и 25 % от первоначальных проб с гемолизом соответственно. Ни в одном из повторных образцов уровень гемолиза не превышал допустимого. Сравнение результатов измерения аминотрансфераз показало, что медиана разницы между двумя измерениями для АЛТ составила 23 %, а для АСТ — 20 %, что в половине случаев превышает 10-процентное отклонение результата исследования в образце сыворотки крови без гемолиза и с гемолизом, а значит, может быть клинически значимым [2].

Для определения клинического значения разницы между активностью изучаемых ферментов в двух образцах было выполнено сравнение полученных результатов с референсными интервалами в гемолизированных (первичных) и негемолизированных (после повторного взятия) образцах сыворотки крови. Данные представлены в табл. 1 и 2.

Анализ результатов парных измерений позволил разделить пациентов на три группы для каждого анализата.

Группы 1 и 4 составили пациенты, для которых повторное измерение оказалось клинически важным: патологический результат при повторном исследовании в пробе с допустимым уровнем гемолиза не был подтвержден, что позволило сомневаться в наличии патологического процесса. Таким образом, примерно для 10–15 % пациентов повторным

измерением анализатов на основании предупреждения в ЛИС, вероятно, были исключены ложноположительные результаты.

В группы 2 и 5 вошли пациенты, результат измерений у которых может быть расценен как истинно положительный: повторное исследование подтвердило наличие патологии, и для них влияние гемолиза не сыграло существенной роли.

Наибольшее количество пациентов оказались в группах 3 и 6: результаты измерения аминотрансфераз находились в пределах референсного интервала как при первичном, так и повторном измерении. Выявленный гемолиз не имел клинически значимого влияния на результаты, которые можно расценивать как истинно отрицательные.

Для получения количественной характеристики значимости разницы между двумя измерениями была рассчитана величина критической разницы (RCV) в соответствии с формулой

$$RCV = 2^{1/2} \times 1,96 \times (CVa^2 + CVi^2)^{1/2},$$

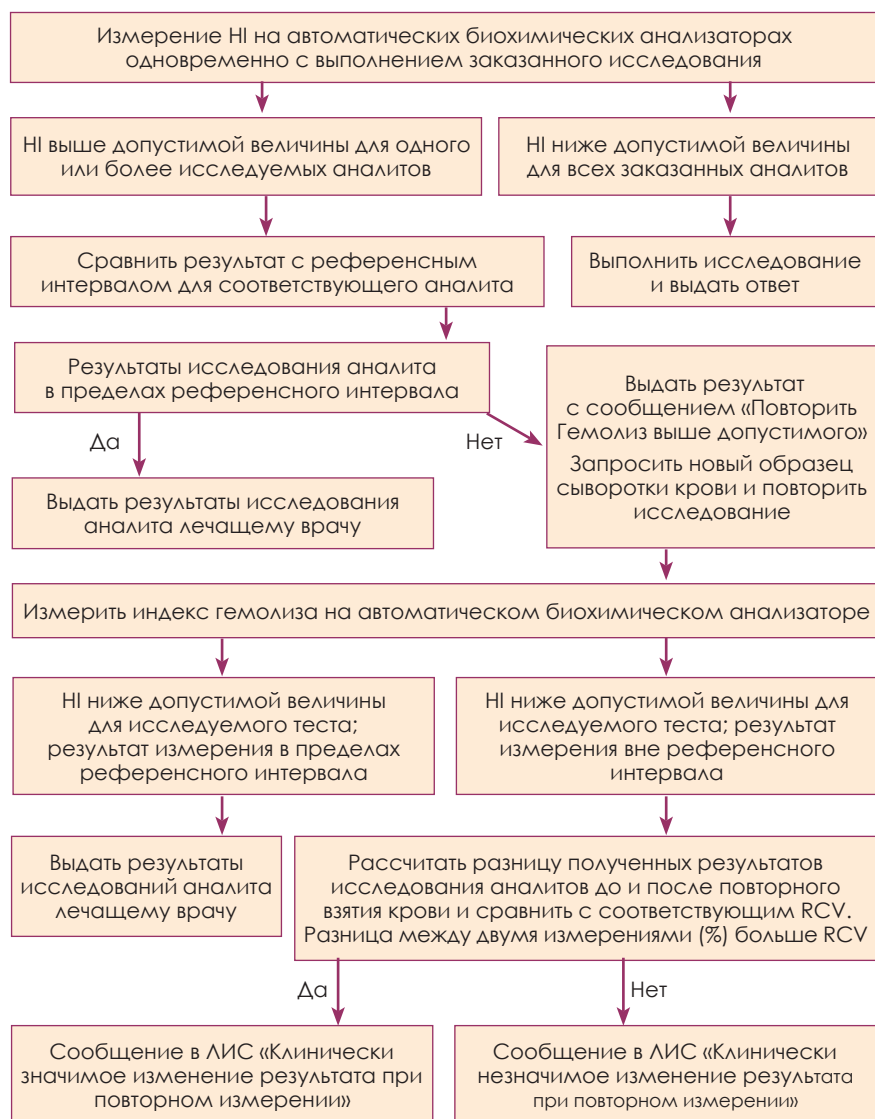
где CVi — это долгосрочный коэффициент аналитической вариации (100 точек), полученный из данных проведения внутрिलाбораторного контроля качества; CVi — коэффициент внутрииндивидуальной биологической вариации для АЛТ и АСТ [3]; 1,96 — константа, соответствующая 95-процентной вероятности доверительного интервала при двустороннем распределении с $p < 0,05$.

Таблица 2

Оценка результатов повторного измерения АЛТ у пациентов, в образцах сыворотки которых при первичном исследовании был обнаружен недопустимый уровень гемолиза (HI > 200)

№ группы	Первичное измерение; HI > 200 (n = 41)		Повторное измерение; HI < 200 (n = 41)	Процент от общего числа пациентов
43 (n = 4)	АЛТ > референсного интервала	→	В пределах референсного интервала	9,8
5 (n = 7)	АЛТ > референсного интервала	→	АЛТ > референсного интервала	17,0
6 (n = 30)	В пределах референсного интервала	→	В пределах референсного интервала	73,2

Схема
Алгоритм работы с образцами крови, поступившими в лабораторию
для биохимических исследований



RCV для АСТ составила 34,2%, для АЛТ — 54,0%. Для каждого пациента с повторным измерением мы сравнили разницу между результатами первичного и повторного исследования, выраженную в процентах, с уровнем RCV. В случае, если полученный процент отклонения повторного результата был выше величины RCV, данное отклонение признавалось достоверным [4].

Оказалось, что повторные значения АСТ в группе 1 достоверно отличались от первичного результата в 54,5% случаев и соответствовали референсному интервалу. Это позволило исключить ложноположительный результат первичного исследования. У оставшихся 45,5% пациентов не наблюдалось достоверно значимых различий в результатах АСТ между первичным

и повторным измерением, что может быть связано с вкладом внутрииндивидуальной биологической вариации у пациента и аналитической вариацией данного исследования в лаборатории. Во второй группе верифицировано достоверно значимое повышение уровня АСТ в 16,7%, что указывает на наличие патологического процесса.

Сопоставление результатов двух измерений АЛТ дало важные, хотя и не столь однозначные результаты: 25% достоверных отличий в группе 4, то есть у 25% пациентов исключены ложноположительные результаты и 14,2% достоверных отличий в группе 5. В образцах группы 5, включающей оба измерения с превышением референсного значения, сравнение на основе RCV позволило судить

о динамике показателей с соответствующим достоверным изменением в пределах патологического процесса.

Исходя из полученных данных, можно сделать заключение о том, что в случае нахождения результатов измерения АСТ или АЛТ в пределах референсного интервала даже при наличии уровня гемолиза, выше заявленного производителем как допустимого, повторное измерение не требуется, и сообщение в ЛИС о его необходимости передавать не надо. В тех случаях, когда первичные результаты исследований АСТ и АЛТ, полученные в гемолизированных образцах, превышают референсный интервал, необходимо оповестить врача о повторном взятии крови. Полученные результаты повторного измерения необходимо оценивать на основании RCV, который позволит определить статистическую достоверность различий между двумя результатами лабораторных исследований АЛТ и АСТ. Алгоритм работы с образцами крови, поступившими в лабораторию для биохимических исследований, в соответствии с такой идеологией представлен на схеме.

Предложенная модель управления гемолизированными образцами на основе определения RCV, позволяет избежать повторного проведения лабораторного исследования в образцах при нахождении результата АСТ и АЛТ в пределах референсных значений, а также подтвердить результаты, имеющие клиническую значимость и свидетельствующие о наличии патологического процесса у пациента. Меры, направленные на повышение достоверности результата, являются вкладом лаборатории в повышение безопасности пациентов.

Список литературы

1. Lippi G., Cervellin G., Favaloro E. J., Plebani M. In vitro and in vivo hemolysis. Management of hemolyzed specimens. // Berlin / Boston: De Gruyter. — 2012. — P. 63–79 — ISBN 978-3-11-024614-8.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. CLSI document EP07-A22nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
3. Desirable Biological Variation Database specifications [Электронный ресурс] // Westgard-QC. URL: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm> (дата обращения: 01.09.2018).
4. Фрейзер К. Г. Биологическая вариация: от теории к практике. Пер. с англ. М.: Медиздат; 2010. ISBN: 978-5-902943-12-9, пер. с англ. И. А. Арефьевой.

