

качества и внешнюю оценку качества. Таким образом, был разработан документ, который может быть использован при формировании нормативной базы проведения молекулярно-биологических исследований вирусной нагрузки.

М. Г. Творогова. Проблемы внешней оценки качества молекулярно-биологических исследований. ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

Выявление и определение концентрации ДНК и РНК возбудителей инфекций с помощью молекулярных биологических методов, в первую очередь ПЦР, получили широчайшее распространение в лабораторной практике и в некоторых случаях уже является основным способом выявления инфекционного агента.

Появление ПЦР-исследований в арсенале методов диагностических лабораторий поставило задачи по разработке правил внешнего контроля качества (ВКК), учитывающего их особенности. Важной проблемой правильной организации ВКК является максимальное соответствие матрикса контрольных образцов (КО) биологическим образцам пациента.

Для ВКК-диагностики гематогенных инфекций при создании КО обычно используют плазму крови инфицированных доноров, при создании КО для ВКК других инфекций может быть использован разнообразный биологический материал или его имитация, разведение клеточных культур возбудителя и др. Такое моделирование не всегда в полной мере отражает качество лабораторной диагностики на реальном клиническом материале и может быть причиной неадекватной оценки работы лаборатории.

Обеспечение преемственности результатов, полученных в разных лабораториях с использованием наборов реагентов разных производителей, может быть достигнуто только в условиях выполнения правил ВКК, учитывающего особенности ПЦР-исследований. Сложность и многоэтапность ПЦР-исследований предъявляет особые требования к стандартизации технологий их выполнения, указывает на необходимость использования стандартных образцов, аттестованных относительно международных стандартов, и безусловного применения наборов реагентов, должным образом зарегистрированных на территории РФ.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

А. Б. Добровольский, Е. В. Титаева. Образование тромбина и его функции в системе гемостаза. Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава России, Москва

До конца 80-х годов в активации свертывания крови выделяли 2 пути – внешний, инициатором которого является тканевый фактор (ТФ), и внутренний, все компоненты которого присутствуют в плазме, а инициатором является контактная активация фактора XII (Ф XII). Это деление соответствовало данным о влиянии дефицита факторов свертывания на скорость образования фибрина в одном из 2 скрининговых тестов – активированном частичном тромбопластиновом времени (АЧТВ) или протромбиновом тесте (ПТ-тест), но не позволяло объяснить, почему дефицит Ф XII не связан с кровоточивостью, а дефицит стоящих ниже в каскаде свертывания Ф VIII или IX проявляется в виде тяжелых геморрагий.

Объяснить это противоречие удалось благодаря исследованиям динамики образования тромбина, которые привели к существенной модификации классической схемы реакций активации свертывания крови. Было установлено, что: 1) комплекс ТФ-фактор VIIa (теназа внешнего пути) активирует не только фактор X, но и фактор IX; 2) теназа внутреннего пути (комплекс факторов VIIa и IXa на поверхности активированных тромбоцитов) активирует фактор X со скоростью в 50–100 раз большей, чем теназа внешнего пути; 3) фактор XI активируется тромбином при участии гликопротеина Iba тромбоцитов.

В начальном периоде активации свертывания крови тромбин образуется с низкой скоростью. Затем тромбин активирует тромбоциты, а также Ф V и VIII, и скорость его образования резко возрастает. Соответственно в образовании тромбина выделяют две фазы – инициации и распространения (тромбиновой вспышки). Свертывание фибриногена (образование сгустка в клоттинговых тестах) происходит примерно в точке перехода фазы инициации в фазу распространения, когда количество образовавшегося тромбина составляет всего ~5% от максимального. Тромбин, который образуется уже после свертывания фибриногена, играет важную роль в определении стабильности тромбов. Об этом свидетельствует то, что дефицит факторов VIII или IX (гемофилия А или В), определяющих фазу распространения образования тромбина, связан с кровоточивостью, а дефицит ингибиторов, ограничивающих ее – антитромбина или системы протеина С повышает риск тромбозов.

Т. В. Вавилова. Алгоритм начальной диагностики нарушений в системе гемостаза. ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

Отклонения в функционировании системы гемостаза, приводящие к клиническим проявлениям в виде геморрагических и/или тромботических эпизодов, широко распространены в клинической практике. С ними сталкивается врач любой специальности, и начальные шаги в диагностике нарушений должны быть сделаны уже в лаборатории первичного звена или любого стационара. Характер этих шагов зависит от клинической ситуации и рабочей гипотезы, от вовлечения тех или иных механизмов системы гемостаза.

При наличии или риске кровотечений необходимо определить характер и степень изменений в тромбоцитарном или коагуляционном звене для построения модели дальнейшего поиска. С этой целью необходимо выполнить основные скрининговые тесты и оценить функцию тромбоцитов.

Более сложной и комплексной задачей является определение причин состоявшегося венозного и артериального тромбоза или невынашивания беременности. К сожалению, в данном случае скрининговые тесты неинформативны. В соответствии с клинической ситуацией должны быть предприняты шаги по исследованию маркеров активации свертывания, гиперактивности тромбоцитов (что само по себе является трудной лабораторной задачей без должной стандартизации), направленный поиск наследственной тромбофилии, антифосфолипидного синдрома, определен гомоцистемии. Если тромбоэмболических осложнений нет, но предполагается их высокий риск, то степень риска оценивается главным образом клинически в соответствии с диагнозом, по семейному и индивидуальному анамнезу и лишь в некоторой степени может быть дополнен лабораторными данными – характеристика прогрессирования атеросклероза, сердечной недостаточности, воспалительного процесса и т. д.

В диагностике синдрома ДВС должны быть использованы простые, надежные и доступные в любой лаборатории тесты – количество тромбоцитов, протромбиновое время, уровень фибриногена, с меньшей надежностью – маркеры активации свертывания крови. Все исследования должны проводиться неоднократно и оцениваться в динамике.

А. С. Андреева. Современная стратегия диагностики тромбофилии. ЗАО «Фирма Гален», Москва

В настоящее время не существует общепризнанного определения тромбофилии. На протяжении многих лет этот термин использовался для обозначения тех нарушений гемостаза, которые способны провоцировать тромбообразование. Позднее она была определена, как тенденция к тромбообразованию из-за провоцирующих факторов, генетически обусловленных или/и приобретенных. Последнее определение может быть полезнее, так как учитывает ситуации, которые, по-видимому, не связаны с системой гемостаза напрямую (например, гипергомоцистеинемия). Однако, какое бы определение не использовалось, важно, что тромбофилия может быть осложнением многих состояний, поддающихся исследованию лабораторными методами. Необходимость в лабораторном исследовании тромбофилии существенно растет в последнее время. Однако не всегда эта необходимость оправдана и все потому, что нет четкого определения тех групп пациентов, которым показано такое исследование. Кроме того, нет однозначности в подходящем времени проведения анализа и типе необходимого тестирования, поэтому перед клинико-диагностическими лабораториями стоит перспектива потратить значительное количество времени на анализы, которые не вполне оправданы. Целью данного сообщения будет обобщение существующей информации по состояниям, связанным с тромбофилией, выведение алгоритма диагностики, включающего следующие аспекты: какими могут быть основания для проведения тестирования, кто должен стать его объектом, когда и где такое тестирование должно быть осуществлено, какие тесты необходимо выполнить и, наконец, какая стратегия (если таковая существует) поможет сделать тестирование рентабельным.

А. Л. Берковский, Е. В. Сергеева, А. В. Суворов, А. А. Козлов. **Преаналитический этап в гемостазиологии.** Гематологический научный центр, Москва

Высокое качество лабораторных исследований в основном достигается стандартизацией проведения диагностических анализов и должно соответствовать требованиям, разработанным ВОЗ, профильными международными организациями, приказам Минздравсоцразвития и положениям ГОСТ, правилам надлежащей медицинской и лабораторной практики. В гемостазиологических исследованиях на необходимость стандартизации дополнительно указывают такие сложности получения корректных, «правильных» результатов, как высокая биологическая вариабельность и нестабильность факторов системы гемостаза, проблемы вычленения определяемого показателя из каскада взаимосвязанных реакций, отсутствие во многих случаях методической и инструментальной унификации.

Требования, предъявляемые к клинико-лабораторным исследованиям, делятся на соответствующие стадии, а именно: преаналитический (ПЭ) и лабораторный этапы. В настоящее время именно ПЭ является основным источником диагностических ошибок. ПЭ можно разделить на вне- и внутрилабораторную составляющие. Внелабораторный компонент ПЭ относится к постановке диагноза, определяющего проведение конкретного анализа, и к оценке состояния больного на момент взятия анализируемой пробы. На внутрилабораторном этапе необходимо следовать требованиям к взятию опытных образцов, к их обработке, транспортировке и хранению, к учету динамики изменения величины анализируемого показателя, качества планируемых к использованию реагентов и их применимости к типу анализатора. Параметры ПЭ в гемостазиологии можно суммировать по трем категориям:

состояние пациента, взятие проб крови для анализа, доаналитическая работа с пробой.

К основным положениям внелабораторной части ПЭ относятся: правильность направления на лабораторные исследования; учет физиологического статуса пациента и его гематокрита в момент взятия крови, суточных вариаций активности измеряемого параметра, факторов «стиля жизни» (курение, алкоголь, характер рациона питания, медикация).

К основным положениям внутрилабораторного компонента ПЭ относятся: идентификация проб крови; соответствие планируемому анализу используемых емкостей при работе с пробой; правильность подбора типа и количества антикоагулянта (концентрация, объемное соотношение кровь/антикоагулянт, учет гематокрита пациента); адекватные анализу методы взятия проб крови (как венозной, так и капиллярной), их транспортировки и получения плазмы центрифугированием (одно- и двукратное центрифугирование), время хранения плазмы при комнатной температуре и в замороженном состоянии; необходимым требованием является также систематическая проверка оборудования.

Так как для ПЭ принципиально отсутствует возможность проведения контроля качества, для стандартизованного проведения ПЭ авторы рекомендуют разработку инструкций (руководств) по всем стадиям и положениям ПЭ и строгому их следованию в рутинной работе.

Е. В. Заикин, А. Б. Добровольский, А. Б. Косырев, А. Л. Берковский, В. Н. Малахов. **Аналитические погрешности методов исследования системы гемостаза по данным ФСВОК.** НП Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований, Москва

Исследование контрольных образцов плазмы крови человека в рамках Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК) представляет собой межлабораторный эксперимент, позволяющий, помимо проведения регулярной оценки качества лабораторий, количественно оценить различные источники аналитических погрешностей методов исследования системы гемостаза. В 2011 г. в разделе «Коагулология-6» ФСВОК приняли участие 1842 лаборатории. Контроль проводился по 6 показателям: протромбиновое время, процент протромбина по Квику, МНО, АЧТВ, тромбиновое время и фибриноген. Было проведено 3 контрольных цикла, в которых лаборатории получали по 2 флакона одного контрольного образца. В разных циклах уровни определяемых показателей в образцах варьировали. Из каждого флакона требовалось провести по 2 параллельных определения каждого показателя. Такая схема эксперимента позволяла оценить методом дисперсионного анализа 4 самостоятельных источника аналитических погрешностей: аналитической методики (конкретного набора реагентов одной фирмы), лаборатории, междневную (2 флакона контрольного образца анализировались в разные дни) и внутриведенную погрешность (по разнице между двумя параллельными определениями). Основным источником погрешности при определении протромбинового времени, процента протромбина по Квику, МНО и фибриногена была межлабораторная дисперсия. Для МНО она составляла от 59 до 73% от величины общей погрешности единичного измерения. Будучи выраженной в виде коэффициента межлабораторной вариации она составляла 9,9% на нормальном образце (МНО 1,06), 14,7% на образце со слабо выраженной патологией (МНО 1,86) и 18,9% на патологическом образце (МНО 2,68), демонстрируя увеличение погрешности по мере отдаления от нормы.