

АВТОМАТИЗАЦИЯ КОАГУЛОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ВЫБОР АНАЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ



А.В. Багаев,

*к.м.н., начальник группы
биохимии/коагулологии
отдела продукции
ЗАО «АНАЛИТИКА»*

В рамках реализации Приоритетного национального проекта «Здоровье» и программ модернизации многие медицинские учреждения были оснащены современным высокотехнологичным оборудованием, а лаборатории получили производительные автоматизированные системы различного назначения. Предполагалось, что результатом автоматизации станет стандартизация процедуры выполнения анализа, повысится качество и сопоставимость лабораторных исследований, снизится их себестоимость. Однако, последний опубликованный отчет ФСВОК по разделу «Гемостаз» [1] не демонстрирует существенного роста качества результатов. Наряду с техническим оснащением должно уделяться внимание дополнительным методическим аспектам, которые связаны с эксплуатацией современного оборудования. Только техническое перевооружение КДЛ не способно поднять качество работы на новый уровень, требуется гармоничное взаимодействие в системе «человек-автоанализатор».

Массовая поставка современных лабораторных измерительных приборов, в том числе автоматических коагулометров, не ставила целью удовлетворить запросы абсолютно всех лабораторий. Однако для большинства лабораторий амбулаторно-поликлинического звена полученные приборы стали первыми автоматическими анализаторами, а опыт работы позволил сформировать у персонала лабораторий представление о том, каким образом реализуется и какие возможности открывает на практике автоматизация рутинных процедур.

Если не ограничиваться рамками исследования плазменного звена гемостаза, которое выполняется практически в любой лаборатории, и взглянуть на проблему шире, то, по-прежнему, актуальным и одним из обсуждаемых является вопрос о том, какая аналитическая система предпочтительнее — «закрытая» или открытая? Основываясь на результатах анализа тенденций развития глобального рынка лабораторного оборудования и реагентов, можно констатировать, что ведущие мировые производители в процессе развития и совершенствования своей продукции неизбежно сталкиваются с необходимостью внедрения «закрытых» систем, потому что это наиболее очевидный путь для максимально эффективного использования возможностей системы «прибор-реагент» без существенных материальных затрат. И это подтверждает опыт разработки и использования специализированных анализаторов (определе-

ние глюкозы и гликогеоглобина, электролитов и газов крови, анализ мочи и т.д.). Так называемая «закрытость» — это не что иное, как гарантия соблюдения рекомендаций, разработанных компанией-изготовителем. Она накладывает на производителя прямую ответственность за конечный результат анализа и ограждает его от необоснованных претензий, связанных с некорректным использованием автоанализатора или реагентов. Преимущество «закрытых» систем косвенно подтверждает анализ данных ФСВОК, где было установлено, что доля случаев, когда смещение среднего или коэффициент вариации установочной серии не удовлетворяет нормативным документам, достоверно выше, если контрольный материал изготовлен другим производителем, нежели набор используемых реагентов [2].

Несмотря на ряд очевидных преимуществ в нашей стране лаборатории очень неохотно соглашаются работать с «закрытыми» системами, чаще всего, приводя следующие аргументы: ориентированность только на конкретного производителя зачастую не позволяет выбрать другой метод или процедуру анализа; монополия производителя (цены, качество, регулярность поставок реагентов и расходных материалов); ограниченное число дистрибьюторов (авторизованных дилеров); проблемы с оперативным авторизованным сервисом (отсутствие сертифицированных инженеров в регионах). Поэтому «закрытые» системы, органично вписывающиеся в лаборатории, могут выпускать без риска потерять позиции на рынке, только известные фирмы-изготовители с безупречной репутацией, имеющие при этом развитую дилерскую сеть. Как правило, компании на такой шаг идут после того, как будут отработаны все методические вопросы, и качество работы аналитической системы «реагент-прибор-калибратор-контрольный материал» будет доведено до совершенства.

Однако, если вопрос выбора автоанализатора открытого или закрытого типа актуален для биохимических исследований, то автоматические коагулометры практически всех известных производителей позиционируются как «открытые», т.е. способны работать на реагентах разных производителей. Такой подход не является маркетинговым приемом и не противоречит общей тенденции развития, так как, по сути, анализаторы этого класса не требуются «закрывать» де-юре, и тому есть объективные причины. Реагенты, обычно используемые для исследования гемостаза, как правило, имеют компоненты животного и растительного происхождения, поэтому они сложны по составу и практически не поддаются стандартизации. При анализе одной и той же пробы с помощью реагентов разных производителей результаты коагулологических исследований будут иметь большую вариабельность, нежели чем при биохимических тестах. Поэтому вопрос контролируемой и стабильной работы аналитической системы при выполнении коагулологических исследований приобретает первостепенное значение. Любой грамотный специалист КДЛ знает, что только при использовании оригинальных реагентов и анализаторов одного изготовителя он может рассчитывать на

получение качественных и сопоставимых результатов. Даже в рамках одного производства различия характеристик лотов коагулологических реагентов могут быть значимыми, поэтому тщательное тестирование и аттестация каждого нового лота предусмотрена технологическим процессом. Известные мировые производители в обязательном порядке указывают корректировочные значения для определенных показателей, обусловленные межлотовой вариацией свойств реагентов. Если речь идет об использовании наборов реагентов на анализаторах собственного производства, то обычно приводятся новые калибровочные значения, полученные на этапе предпродажных испытаний в сети сертифицированных центров именно на этом оборудовании. Использование произвольной аналитической системы, в которой хотя бы один из компонентов не принадлежит единому производителю, исключает такую возможность и лаборатория должна каждый раз заново самостоятельно уточнять диапазон референтных значений, среднее нормальное протромбиновое время (СНПВ), строить калибровочные графики для расчета активности по Квику и концентрации фибриногена по Клаусу и т.д. Пренебрежение такой практикой чревато появлением серьезных ошибок, что может привести к постановке неверного диагноза. Существующие ГОСТы в области качества лабораторных исследований призваны помочь лабораториям организовать такую работу. Дополнительная проблема, связанная с использованием неоригинальных реагентов, касается верификации результатов внутрिलाбораторного контроля качества, полученных в установочной серии измерений. В этом случае можно отследить только очень грубые ошибки, поскольку диапазон допустимых значений контрольных материалов будет слишком широк и простирается от самой нижней до самой верхней границы, которые указаны для перечня аттестованных приборов/реагентов. В то же время, для оригинальной системы реагентов допустимый диапазон значений уже, что позволяет выявить возможные ошибки измерений на начальном этапе исследований.

Сопоставимость результатов, полученных с использованием различных произвольных аналитических систем, является более сложной задачей и требует, чтобы все лабораторий-участники придерживались определенных алгоритмов на аналитическом и преаналитическом этапах исследования. Участие на постоянной основе в системе внешней оценки качества полезно, однако не решает всех проблем сопоставимости результатов. Регулярно публикуемые отчеты ФСВОК наглядно показывают, что абсолютные значения могут значительно отличаться для результатов, полученных с использованием реагентов и приборов разных производителей [1]. Разумеется, в этом случае для сравнения результатов целесообразно использовать относительные значения и дополнительно указывать время свертывания плазмы здоровых доноров. Сопоставлять результаты нужно только для конкретного пула лабораторий, работающих на аналогичных системах. Однако, правильно определить пулы лабораторий, работающих на аналогичных аналитических системах, не так просто, как может показаться на первый взгляд. Использование реагентов одного производителя явно не достаточно, так как результаты клоттинговых тестов являются методспецифичными, критерия «наименование реагента — метод»

не достаточно, так как на сегодняшний день оптический метод имеет ряд модификаций, а для механического метода производители произвольно устанавливают критические значения вязкости. Поэтому более правильным критерием является «Наименование реагента — наименование прибора», но даже в этом случае не может быть абсолютной уверенности, что лаборатории, отнесенные по данному признаку к определенному пулу, полностью выполняют требования, позволяющие корректно использовать неоригинальные реагенты (калибраторы, контрольные материалы) на том или ином типе оборудования. Высокая межлабораторная варибельность результатов внутри пула подтверждает такое подозрение. Поэтому на сегодняшний день критерии внешней оценки качества ФСВОК для коагулологических исследований плазмы крови занижены по сравнению с требованиями CLIA 88 (США) практически в 2 раза.

Использование только высококачественных реагентов не может существенно улучшить работу аналитической системы, т.к. объективные показатели точности, воспроизводимости, стабильности и др., отраженные в документации и рекламных материалах, производитель гарантирует только при использовании конкретной аналитической системы, которая включает определенные прибор, реагент, калибратор и контрольный материал. Поэтому не случайно в настоящее время авторитетные российские лаборатории используют для работы автоматические аналитические системы единого производителя, крупнейшими из которых являются Stago, Instrumentation Laboratory, Siemens-Systemex и Tcoag (последняя недавно стала аффилированным членом группы Stago). Благодаря тому, что эти компании на протяжении длительного времени выпускают весь спектр продукции, необходимой для исследования параметров гемостаза (оборудование, реагенты, калибраторы, контрольные материалы), они добились наибольших успехов в продвижении своей продукции во всем мире. Практический опыт использования аналитических систем единого производителя в нашей стране также подтверждает целесообразность такого подхода к автоматизации, а лаборатории, работающие на однотипных системах, образуют практически единое диагностическое пространство, получают действительно сопоставимые результаты, избавляются от дополнительных и повторных исследований и в целом показывают более высокое качество работы. С другой стороны, нельзя не отметить, что тщательное предпродажное тестирование новых лотов продукции и выполнение жестких требований стандартов являются объективными факторами, влияющими на стоимость наборов.

Компания Tcoag (Ирландия) не так известна, как три другие из глобального рейтинга. И тому есть объективные причины. Дело в том, что под этим брендом за последние полтора десятилетия были объединены известные производители, реагенты и оборудование которых поставлялось в нашу страну под торговыми марками Amelung, Organon Teknika, bioMerieux, Biopool, Amax-Sigma. Автоматизация коагулологических исследований и становление фирмы Tcoag неразрывно связаны. Чтобы оценить сегодняшний потенциал компании и ее роль в развитии данного направления будет уместным привести несколько фактов.

В 1950 году в г. Лемго (Западная Германия) Генрихом Амелунгом (*Heinrich Amelung*) была образована производственная

компания. В 1955 году Генрих Шнитгер (*Heinrich Schnitger*) создал первый коагулометр на основе механического принципа измерения (метод крючка) и заключил контракт с компанией Amelung на его производство (*Рисунок 1*). Первые коагулометры выпускались под маркой Шнитгер и Гросс (*Schnitger & Gross*). С 1956 по 1971 год было налажено производство 2-х и 4-х канальных коагулометров, оборудованных автоматической стартовой пипеткой. В 1974 году коагулометры были снабжены калькулятором и могли рассчитывать концентрацию фибриногена по Клаусу и активность по Квику. В 1979 году компанией Amelung был запатентован механический метод детекции сгустка, основанный на регистрации движения металлического шарика в наклонной кювете, который используется и в современных анализаторах. К 1980 году, благодаря высокой точности измерений, а также простой и надежной конструкции, анализатор КС 10 занял ведущие позиции на мировом рынке полуавтоматических коагулометров. В 1987 году с появлением коагулометра КС 40 началась эра полностью автоматических коагулометров. 1991-1993 годы ознаменовались внедрением микрокювет для выполнения измерений. Благодаря внедрению кювет с вдвое уменьшенным рабочим объемом популярность анализаторов Amelung поднялась на новый уровень. Теперь процедура исследования стала не только точнее и проще, но и экономичнее. В 1994 году на автоанализаторе Аmax CS 190 был впервые использован универсальный тип измерительных кювет с металлическим шариком, в которых можно было выполнять фотометрические измерения и регистрировать время образования сгустка по скорости перемещения шарика. Теперь на одном приборе стало возможным выполнение всего спектра исследований — клоттинговых, турбидиметрических и с использованием хромогенных субстратов.

С 1999 по 2006 год компания Trinity Biotech (Ирландия) объединила под своей маркой активы компаний Amelung Instrumentation, Biopool Reagents, Sigma Diagnostics (отделение гемостаза и биохимии), bioMérieux Haemostasis Products (отделение продукции для гемостаза). В 2010 году отделение гемостаза Trinity Biotech становится частью концерна Stago (Франция). Произошло слияние крупнейшего изготовителя реагентов и старейшего производителя коагулометров. В результате постоянного процесса ребрендинга, связанного со сменой собственника, потребители практически потеряли возможность идентификации продукции выпускающейся под новыми торговыми марками с предыдущими брендами, проверенными и завоевавшими авторитет в лабораторном сообществе. С другой стороны, и производственные процессы были оптимизированы, в результате чего из всего многообразия продукции нескольких отдельных фирм, объединенных под одним новым брендом, были выбраны и получили развитие только самые качественные и проверенные временем линейки реагентов. В настоящее время вся продукция марки Stago и Tcoag выпускается в соответствии с едиными стандартами производства и контроля качества продукции: ISO 9001, ISO 13485, IEC UL 61010, FDA и Health Canada Clearance.

ЗАО «Аналитика» является авторизованным дистрибьютором в РФ компании Tcoag и представляет весь ассортимент продукции, который включает полуавтоматы КС-1 Delta (одноканальный) и КС-4 Delta (4-х канальный), а также автоана-

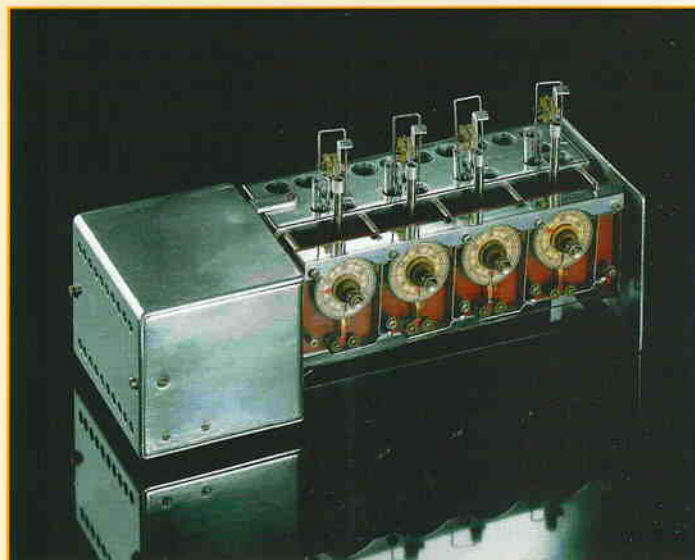


Рисунок 1. Прототип первого коагулометра Schnitger & Gross.

лизаторы Destiny Plus и Destiny Max (*Рисунок 2*), которые изготавливаются в Германии на заводе, ранее выпускавшем приборы под маркой Amelung. Заводы компании, расположенные на территории Франции, Ирландии и США выпускают калибраторы, контрольные материалы, реагенты для клоттинговых, иммунотурбидиметрических, хромогенных тестов, а также наборы для исследования параметров гемостаза иммуноферментным методом и реагенты для определения агрегации тромбоцитов.

Удовлетворяя потребности современных лабораторий и придавая особое значение качеству и стабильности реагентов, в последнее время компания разработала 3 типа наборов для определения протромбинового времени, 3 типа для АЧТВ, 2 типа для определения антитромбина III (по активности ф. II и ф. X), 2 типа наборов для определения D-димера (для коагулометров и биохимических анализаторов). Для существенного повышения качества исходного сырья и уменьшения межлотковой вариации компания использует уникальную технологию приготовления тромбопластина из культуры клеток тканей человека, которая позволяет применять в протромбиновом тесте физиологически близкие компоненты, и тем самым исключить влияние на результат возможных видовых особенностей.

Автоматические коагулометры всегда позиционируются производителем как центральный компонент аналитической системы. Для компании Tcoag это автоматы Destiny Plus (для средних лабораторий, производительность — до 180 тестов/час) и Destiny Max (для крупных лабораторий и диагностических центров, производительность — до 350 тестов/час). Уникальная особенность и главное преимущество коагулометров Destiny — возможность выбора метода измерения для клоттинговых тестов — механического или оптического. Другие производители аналитических систем мирового уровня используют для клоттинговых тестов только один метод (IL — оптический, Stago — механический, Siemens — метод бокового светорассеяния.) Реализация в одном анализаторе двух разных методов существенно расширяет диапазон решаемых задач, позволяет совмещать надежность и экономич-



Рисунок 2. Универсальный автоматический коагулометр Destiny Max.

ность исследований. Выполнение клоттинговых тестов механическим методом позволяет корректно определять время свертывания при анализе гемолизированных, липемичных и иктеричных проб, работать с цельной кровью. Такое свойство механического метода нашло отражение в официальных руководствах и нормативных документах [3, 4, 5]. С другой стороны, механический метод измерения чрезвычайно экономичный — для автоанализаторов Destiny минимальный объем реакционной смеси составляет всего 75 мкл, что является рекордным показателем среди автоматических коагулометров. Для некоторых тестов, а также при анализе патологических проб, когда образуется слабый фибриновый сгусток предпочтительно использовать оптический метод регистрации, когда время свертывания рассчитывается математическим методом из анализа динамики оптической плотности смеси. Для реализации в одном приборе клоттинговых, хромогенных и турбидиметрических принципов измерения в анализаторе Destiny Max можно выбрать любую из четырех длин волн от 340 до 705 нм.

Известно, чем сложнее система, тем больше вероятность ее отказа. Автоанализаторы Destiny могут продолжать работу при неполадках отдельных измерительных каналов — измерения будут перенаправлены на работающие каналы. В анализаторе Destiny Plus — 8 измерительных каналов (4 оптических и 4 механических), в анализаторе Destiny Max измерительных каналов в 2 раза больше. Стабильность работы автоанализатора Destiny Max обеспечивается управляющей системой нового поколения, в которой реализован принцип дублирования основных функций, — даже при сбое работы внешнего компьютера прибор продолжит выполнение анализов под управлением встроенного микропроцессора и сохранит результаты. Чтобы обезопасить и упростить работу лаборанта Destiny Max снабжен устройством для прокола крышек и может работать с первичными пробирками различных типов и размеров. Анализаторы Destiny начинают измерения только после закрытия защитной крышки, таким образом, исключается возможность травмирования оператора. Значительный запас чистых кювет (для 880 тестов), дублирование флаконов с реагентами, большая емкость отделения для проб увеличи-

вают время, в течение которого анализатор может работать автономно. Даже при максимальной производительности это время превышает 2 часа. Использование режима автоматического расчета параллельности мультиразведенной пробы и калибраторов обеспечивает высокую точность результатов при определении активности факторов и выявлении ингибиторов.

Кроме упомянутых ранее преимуществ работы с аналитическими системами единого производителя особо стоит отметить контроль технического состояния анализатора. Как показывает опыт практического взаимодействия с лабораториями, отсутствие должного внимания к регулярным процедурам технического обслуживания однозначно приводит к ухудшению качества результатов. Поэтому для «закрытых» моносистем, и анализаторов Destiny в том числе, процедуры обслуживания включаются в рабочий регламент работ, выполняемый перед началом измерений или перед выключением анализатора. Расписание таких процедур встроено в программное обеспечение, а текущее состояние прибора оценивается по объективным данным самотестирования. Подключение прибора к Интернету позволяет в режиме on-line передавать данные в авторизованный сервисный центр производителя и контролировать функционирование системы в целом, а также получать необходимые рекомендации по обслуживанию и ремонту.

Таким образом, внедрение в практику исследования гемостаза аналитических моносистем в наибольшей степени отвечает идее формирования единого диагностического пространства в региональной сети КДЛ. При соблюдении лабораторией условий, обеспечивающих надлежащее функционирование такой системы, эффективно решается главная диагностическая задача — своевременное получение стабильных и правильных результатов, столь необходимых в клинике.

Литература

1. Заикин Е.В. Основные источники аналитических погрешностей коагулологических исследований по данным ФСВОК за 2011 год (29/3/2012). Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований, Москва. <http://www.fsvok.ru/publics/publica3/default.asp>
2. Каримова И.Н., Заикин Е.В., Малахов В.Н. Выполнение положений ОСТа 91500.13.0001-2003 «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов» при проведении клинико-биохимических исследований. М. Лабораторная служба, № 1, 2012.
3. Falatoro E.J., Funk D.M., Lippi G. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated With Diagnostic Errors in Hemostasis. *Labmedicine*, Feb 2012, v.43, (2), p.1-10.
4. Adcock D.M. Sample integrity and preanalytical variables. *Quality in Laboratory Hemostasis and Thrombosis*, 1st edition. By S. Kitchen, J.D. Olson, F.E. Preston. Blackwell Publishing, 2009.
5. Processing Suitable Specimens for Plasma-Based Coagulation Assays. CLSI Guideline Document H21-A5, 6.2, 2008.