

АНАЛИЗ ИТОГОВ ВНЕШНЕЙ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЗА 2007-2008ГГ

Н.В. Минеева¹, Н.Н. Бодрова¹, Е.В. Елхина¹, И.Л. Хайдукова², В.Н. Малахов²

¹ФГУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России,
Санкт-Петербург

²ФГУ ГНИЦ Профилактической медицины, г. Москва,
Некоммерческое партнерство «Центр внешнего контроля качества
клинических лабораторных исследований», г. Москва

Резюме

Проведен анализ результатов внешней оценки качества иммуногематологических исследований, полученных участниками Федеральной системы внешней оценки качества. Количество ошибок, допущенных участниками при определении группы крови АВО, составило 2,2% и было связано с затруднениями при диагностике слабого варианта антигена А, неправильным выявлением анти-А, анти-В антител и интерпретацией результатов исследования. Процент ошибочных результатов при определении резус-принадлежности составил 2,2%, а при типировании антигенов эритроцитов - 2,3%. Наибольшие проблемы возникли у участников при выявлении антител к антигенам эритроцитов. Правильно антитела и их специфичность была выявлена только 34,3% исследователями. По результатам анализа ошибок даны рекомендации по повышению достоверности иммуногематологических исследований.

Ключевые слова: группы крови АВО, резус-принадлежность, типирование антигенов эритроцитов, антитела, внешний контроль качества.

Введение

Внешняя оценка качества иммуногематологических исследований в рамках Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК) в нашей стране осуществляется с 2002 года.

Анализ результатов оценки качества иммуногематологических исследований, полученных участниками раздела «Иммуногематология» (ФСВОК) в 2002-2006 гг. опубликован в журнале «Клиническая лабораторная диагностика» [1].

В данном сообщении мы приводим анализ результатов за 2007-08 гг.

Материалы и методы

Наборы контрольных образцов были изготовлены в лаборатории изосерологии Российского НИИ гематологии и трансфузиологии (г. Санкт-Петербург). Каждый набор был представлен шестью образцами: тремя парами из сыворотки крови и суспензии эритроцитов, каждая пара получена из крови одного донора.

Участники ФСВОК получали в течение года 2 набора. Таким образом, каждый участник ФСВОК в течение года проводил исследование крови шести доноров. Всего за период 2007-2008 гг. в качестве материала для приготовления контрольных образцов ФСВОК была использована кровь 18 доноров. Среди заготовленных образцов было 4 образца группы крови А, 2 образца – А₂, 3 образца – группы крови В, 9 образцов - группы крови 0. Резус-положительную и резус-отрицательную принадлежность имели по 9 образцов крови. Антитела к антигенам эритроцитов содержались в 6 образцах.

В зависимости от вида исследований, проводимых в обычной рутинной практике, участники ФСВОК представляли результаты определения группы крови АВО, резус-принадлежности, типирования антиге-

нов эритроцитов другой специфичности и исследования ауто- и аллоантител.

Результаты аттестации контрольных образцов в лаборатории изосерологии Российского НИИ гематологии и трансфузиологии (г. Санкт-Петербург) принимались в качестве экспертных. Качество исследований контрольных образцов оценивалось путем сопоставления результатов лаборатории с экспертными образцами. При этом качество исследований участников оценивалось удовлетворительно, если результаты по определению групповой и резус-принадлежности полностью совпадали с экспертными, а выявленные антигены присутствовали в перечне антигенов, выявленных в референтной лаборатории. При исследовании антител качество исследований оценивалось удовлетворительно, если специфичность антител соответствовала таковой, выявленной в экспертной лаборатории, или антитела были выявлены при скрининге, но специфичность их не устанавливалась в виду отсутствия возможности идентификации антител в лаборатории.

Результаты и обсуждение

Число участников ФСВОК по разделу «Иммуногематология» в 2007 г. составило 269 лабораторий, в 2008 – 379 лабораторий. В таблице 1 приведено распределение участников указанного раздела ФСВОК по типу лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ).

Таблица 1.

Перечень ЛПУ, чьи лаборатории принимали участие в ФСВОК в 2008г.

№ п/п	Тип медицинского учреждения	Количество участвующих
1.	Научно-исследовательские институты	16
2.	Станции переливания крови	122
3.	Коммерческие медицинские учреждения	20
4.	Клинические больницы	126
5.	Детские больницы	13
6.	Родовспомогательные учреждения	21
7.	Центральные районные больницы	28
8.	Поликлиники	21
9.	Диагностические центры	12
<u>Р</u>	ВСЕГО	379

Е

Результаты определения группы крови АВО

За указанный период времени участникам было разослано 18 образцов для исследования. Принадлежность образцов к группам крови О, А, В, АВ, в основном, участники определили правильно. Как и в предыдущие годы, наибольшие трудности наблюдались при тестировании образцов А₂, имеющих и не имеющих экстра агглютинин анти-А₁.

Процент ошибок при определении АВО принадлежности в пересчете на все контрольные образцы приведен на рис.1.

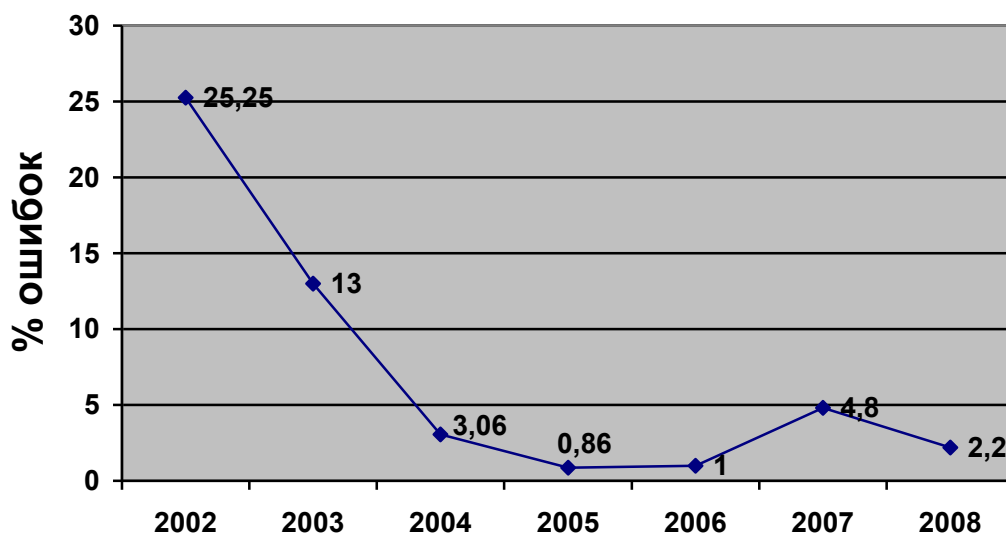


Рис.1. Динамика ошибочных результатов при проведении внешней оценки качества определения группы крови АВО

Видно, что доля ошибочных результатов при определении группы крови увеличилась с 1,0 % в 2006 году до 4,8% в 2007г, а затем снизилась до 2,2% в 2008г. Увеличение ошибок в 2007г связано с включением в контроль сразу трех образцов эритроцитов доноров, имеющих слабые варианты антигена А, диагностика групповой принадлежности в которых представляла трудности. В 2008г из шести разосланных образцов только один являлся сложно-диагностируемым, поэтому количество ошибок при определении группы крови было меньше.

Большинство ошибок в определении группы крови было связано с не выявлением слабого варианта антигена А в образце А₂В. В результате чего участниками в 30 случаях (5%) было сделано неправильное заключение о принадлежности данных образцов к группе крови В.

При анализе результатов не считалось ошибкой, если группа крови А₂В трактовалась участниками как АВ, т.к. современные требования трансфузиологии не предполагают дифференциации антигенов А и А₂. Это обусловлено переосмыслением клинической значимости последст-

вий трансфузий реципиентам крови доноров, содержащей указанные антигены. Многочисленные исследования за рубежом показали, что если донор имеет антиген A_2 , но идентифицирован как A , то трансфузии A_2 эритроцитов донора реципиенту A не приводят к осложнениям. С другой стороны, трансфузии эритроцитов A реципиенту A_2 также не приводили к посттрансфузионным осложнениям. Это обусловлено низкой вероятностью гемолиза эритроцитов A анти- A_1 антителами. Указанные антитела, во-первых, имеют клиническое значение только, если являются иммуноглобулинами G. Во-вторых, имеют низкую частоту встречаемости и чаще являются иммуноглобулинами M. В третьих, если реципиент A_2 идентифицирован как A , но имеет анти- A_1 антитела, они выявляются при использовании перекрестного метода определения групповой принадлежности или постановке пробы на совместимость. Таким реципиентам проводят индивидуальный подбор донора в соответствии с требованиями нормативной документации.

Гораздо больше клинических последствий может наступить в том случае, когда у донора, имеющего антиген A_2 , группа крови ошибочно идентифицируется как 0 (из-за не выявления антигена A_2). Если реципиенту, имеющему группу крови 0, под видом крови 0 будет перелит образец крови донора A_2 , возникнет посттрансфузионное осложнение, обусловленное групповой несовместимостью.

В случае если донор имеет фенотип A_2B , существует опасность ошибочной идентификации его группы крови, как B. Поэтому, для избежания ошибок выявления разновидностей антигена A при исследовании АВ0 принадлежности крови, в последние годы подбираются реактивы, выявляющие наиболее часто встречающиеся слабые варианты антигена A: A_2 , A_x , A_3 . При этом перечисленные варианты выявляются как антиген A. Эта стратегия реализована при изготовлении реактивов импортного производства.

Известно, что проблемы с определением вариантов антигена А чаще всего обусловлены низкой активностью анти-А антител в типизирующих реагентах. Для предотвращения таких ошибок в повседневной практике необходимо использовать постановку внутренних контролей с использованием эритроцитов, группа крови которых известна, а так же включением в контроль образцов со слабым антигеном А.

Анализ показал, что остается высоким количество ошибок, когда участники правильно выявили антигены групп крови, но неправильно определили антитела анти-А, анти-В, (в 2007г - 3%, в 2008г -1,5%).

Наиболее вероятной причиной ошибок в этом случае явилось низкое качество используемых для исследования тест-эритроцитов АВО.

Многие участники использовали тест-эритроциты собственного производства, которые недостаточно стандартизированы. Большое значение имеет также соблюдение срока годности и условий транспортировки при использовании тест-эритроцитов коммерческого производства.

Кроме того, в среднем 5% участников не использовали перекрестный способ, а определяли группу крови только с реактивами анти-А, анти-В, анти-АВ. Применение перекрестного способа определения групповой принадлежности крови со стандартными эритроцитами А, В и 0 позволяет не только подтвердить соответствие выявленных антигенов и антител в образце, но также обнаружить анти-А₁ антитела. Это исследование является обязательным при определении группы крови и входит в перечень требований при лицензировании учреждений.

Результаты определения резус-принадлежности крови

Все образцы, разосланные в 2007г, имели хорошо выраженный антиген D, поэтому ошибок в определении резус-принадлежности не было. В 2008г в состав контрольных образцов был включен один образец, имеющий антиген D слабый. Определение резус-принадлежности в данном образце представляло трудности, в результате чего из 322 участников

внешнего контроля 188 правильно идентифицировали образец как D положительный образец и 81 участник - как D слабый (или D парциальный). Неправильно как отрицательную D принадлежность образца идентифицировали 53 участника.

В другом контрольном образце эритроцитов, имеющем резус-отрицательную принадлежность, 3 участника выявили резус-принадлежность неправильно как положительную.

В пересчете на общее количество исследований резус-принадлежности в 18 контрольных образцах, сделанных всеми участниками, процент ошибочных результатов в 2008г составил 2,2.

Известно, что при рутинном исследовании резус-принадлежности крови трудно отличить варианты и слабые антигены D, так как это требует применения специальных реактивов [2].

Достоверная диагностика D слабого антигена зависит от качества типизирующего реактива. Исследование образца D слабого желатиновым методом или экспресс методом на плоскости с моноклональными реактивами IgM может не выявить D антиген и привести к заключению о резус-отрицательной принадлежности. В случае получения отрицательного результата, необходимо продолжить исследование резус-принадлежности другим методом и (или) другими реактивами. Наличие D слабого антигена в образце было не сложно установить при проведении исследования с сывороткой анти-D крови человека в непрямом антиглобулиновом тесте.

Результаты типирования антигенов эритроцитов

Доля правильных результатов типирования антигенов эритроцитов разной специфичности составила 97 - 99%.

Количество ошибочных результатов, полученных при типировании антигенов эритроцитов, повысилось в 2007 - 2008г г до 2,5% , хотя в 2006г составляла 1,8% (рис.2).

При проведении исследования антигенов были выявлены ложноположительные и ложноотрицательные реакции. Так, например, в 2007г ошибочные результаты составили 2,8% от всех исследований. При этом в 1,9% случаях зарегистрированы ложноположительные результаты, когда исследователи делали заключение о наличии антигена, который в контрольном образце на эритроцитах не присутствовал. В 0,9% исследований присутствующий на эритроцитах антиген не был выявлен (ложноотрицательный результат).

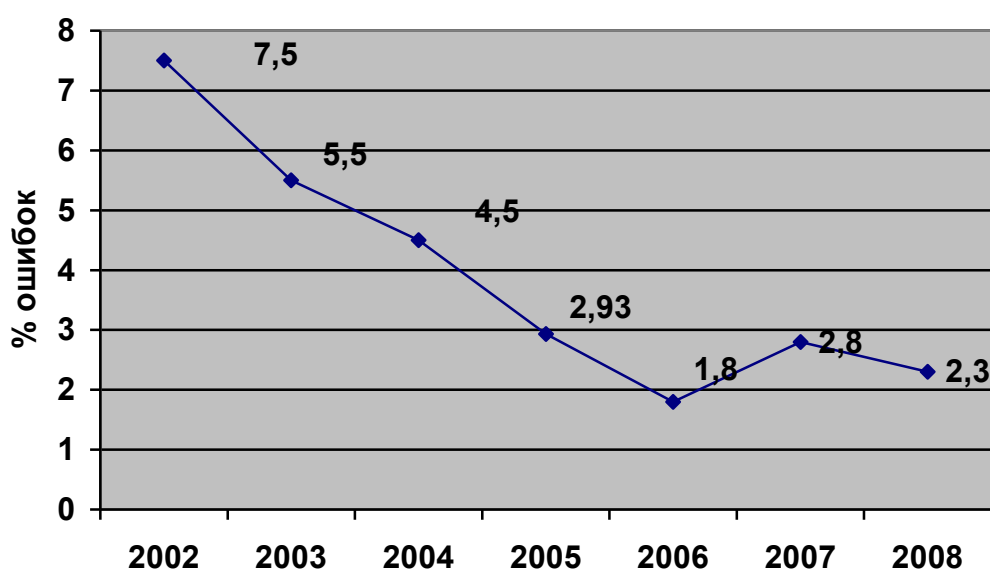


Рис.2. Процент ошибочных результатов при проведении внешней оценки качества типирования антигенов эритроцитов

Количество ошибочных результатов при типировании зависело от специфичности антигенов эритроцитов. В 2007г участниками было выполнено 2643 исследования антигенов и сделано 74 ошибки, из них 34 – при выявлении антигена С и 26 ошибок при выявлении антигена К, в то время, как при исследовании антигенов Е,е,с суммарно получено 14 неправильных результатов.

Вероятной причиной ложноотрицательных результатов могла быть недостаточно высокая активность антител в типизирующих реактивах.

Ложноположительные результаты выявления антигенов эритроцитов при применении сывороток, приготовленных из крови человека, могли быть обусловлены наличием в них антител сопутствующей специфичности, а при использовании моноклональных антител могли быть следствием неспецифической агглютинации за счет компонентов реактива, используемых для разведения и стабилизации антител.

Участники, получившие ошибочные результаты, использовали для типирования как реактивы, приготовленные на основе сыворотки крови человека, так и реактивы на основе моноклональных антител отечественного и импортного производства.

Результаты исследования специфичности антител

За анализируемый период было разослано 6 контрольных образцов крови, содержащих антитела. Специфичность антител в образцах сывороток была следующей: анти-D+C, анти-D+E, анти-C, анти-K, анти-c, анти-e.

От 15 до 22% лабораторий, участвующих в ФСВОК, не осуществляют скрининг антител, однако данный вид исследований является обязательным для ЛПУ. Часть лабораторий проводит только первичный скрининг антител, а для их идентификации образцы направляются в другие лаборатории, что допускается действующими нормативными документами.

Анализ показал, что правильно антитела и их специфичность выявлена в 35,6% исследований. Антитела выявили, а специфичность не устанавливали 27,6% участников. Присутствие антител выявили, но специфичность антител определили неправильно 28,2% участников. В 8,5 % исследований антитела не были выявлены.

Большинство участников, не выявивших антитела, использовали эритроциты собственного производства или применяли низко-чувствительные методы исследования.

Для получения достоверного результата при определении антител, перед включением эритроцитов в тест-панель необходимо провести повторное типирование антигенов эритроцитов другим методом и другими реактивами.

Кроме того, при исследовании антител не всегда возможно установить их специфичность по результатам первичного скрининга с тремя образцами тест-эритроцитов. Поэтому при получении положительного результата скрининга, необходимо продолжить исследование сыворотки с расширенной панелью типированных эритроцитов (провести идентификацию).

Обращает внимание, что увеличилось количество ложноположительных результатов при исследовании антител в сыворотках: 3,4% участников сделали заключение о наличии антител в образцах при их отсутствии. Полученные ложноположительные результаты обусловлены неспецифическими реакциями и могут быть следствием недостаточного качества используемых для исследования тест-эритроцитов (неправильная идентификация антигенов при изготовлении тест-эритроцитов, нарушение условий хранения и температурного режима при доставке). Кроме того, неспецифическая агглютинация тест-эритроцитов сывороткой в образцах, не содержащих антител, могла быть также следствием использования свежезаготовленных тест-эритроцитов и полиспецифической антиглобулиновой сыворотки (обусловлена взаимодействием антикомплементарных антител антиглобулинового реактива с компонентами комплемента, адсорбированными на эритроцитах).

Ложноположительные результаты были так же получены и при исследовании аутоантител: за анализируемый период в 19 случаях из 578 исследований выявлены аутоантитела при их отсутствии.

Таким образом, представленные данные показывают, что количество ошибочных результатов, получаемых участниками ФСВОК при тестировании контрольных образцов, в целом, остается достаточно высоким. Наибольшие проблемы существуют при выявлении антител к антигенам эритроцитов. В данном виде исследований процент ошибочных результатов находится на высоком уровне и не проявляет тенденции к снижению.

Высокий процент ошибок при проведении иммуногематологических исследований обусловлен несколькими причинами. Во-первых, шесть из 12 присланных на контроль образцов (50%) имели сложнодиагностируемые варианты антигенов или антител, что значительно выше, чем встречается в повседневной практике. Во-вторых, из-за ограниченного количества материала у участников не было возможности повторить исследование.

За анализируемый период отмечено увеличение количества ошибочных заключений о результатах исследования: антигены или антитела были определены правильно, а вывод о групповой или резус-принадлежности сделан неправильно. Ошибки при интерпретации результатов исследования, вероятно, обусловлены не достаточно высокой квалификацией специалистов. Поэтому эффективным путем сокращения количества ошибок при проведении иммуногематологических исследований является постоянное обучение персонала для повышения уровня знаний. Качество используемых реактивов также имеет большое значение для получения достоверного результата. Поскольку не существует реактивов идеального качества, целесообразно иметь в лаборатории тест-реактивы различных производителей. Зачастую требуется использование высокочувствительных методов диагностики.

Внедрение в повседневную работу лабораторий внутрилабораторного контроля качества с использованием образцов тест-эритроцитов и антител известной специфичности позволит ежедневно контролировать правильность получаемых результатов и оперативно принимать меры по устранению источников выявляемых ошибок.

Несмотря на отмеченные недостатки, необходимо положительно оценить стремление лабораторий участвовать в ФСВОК и совершенствовать качество иммуногематологических исследований в своих учреждениях.

Литература

1. Минеева Н.В., Бодрова Н.Н., Заварзина О.А., Елхина Е.В., Хайдукова И.Л., Малахов В.Н. Результаты внешней оценки качества иммуногематологических исследований. //Клинич. лабор. диагностика.-2008.-№7.- С.34-37.
2. Минеева Н.В., Елхина Е.В., Бодрова Н.Н., Заварзина О.А., Приезжева Л.С., Поединенко И.В. Разновидности антигена D и определение резус-принадлежности крови //Клинич. лабораторная диагностика.-2009.-№3.- С.17-19.

Annotation

RESULTS OF AN EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SCHEME FOR LABORATORIES PERFORMING BLOOD GROUPING DURING 2007-2008 YEARS

N. Mineeva¹, N. Bodrova¹, E. Elkhina¹, I. Khaydukova², V. Malakhov²

¹Russian Institute Haematology & Transfusiology, Saint-Petersburg

The results of External Quality control for blood group serology testing have been analysed. The parameters under investigation were: the ABO and Rh grouping, RBC-phenotyping, antibody identification. The ABO-grouping was made correctly 97.8% participants. Some participants detected blood group incorrectly: misinterpreted A₂B as group B, made transcription errors, have not detected ABO antibodies. Mistakes in RhD grouping were made by 2.2% participants. RBC phenotyping was made correctly by 97,5% participants. 8.5% participants could not defined antibodies. Antibodies identification was not made by 27.6 % participants. Wrong specificity was detected by 28.2 % participants. Correctly alloantibody specificity have been detected by 34.3% participants. The reason for the errors in antigen & antibodies detection was low quality of typing reagents and screening cells.

Thus, results of External Quality control demand the improvement in the quality of red cell reagents used in Russia and staff training.

Key words: ABO & Rh typing, antibodies& antigen typing, external quality control.

Опубликовано в журнале «Трансфузиология» ,2010,том 11,№3, 37-45

Адрес для корреспонденции

Минеева Наталья Витальевна,

д.б.н.. профессор, руководитель лаборатории ФГУ РосНИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России

191024 Санкт-Петербург, 2-я Советская,16. НИИ гематологии и трансфузиологии.

тел.(812) 717 44 66,

RNIINT@mail.ru

