Контроль качества гематологических исследований на автоматических анализаторах

Скрипник Виктор Викторович

Санкт-Петербург, 2017

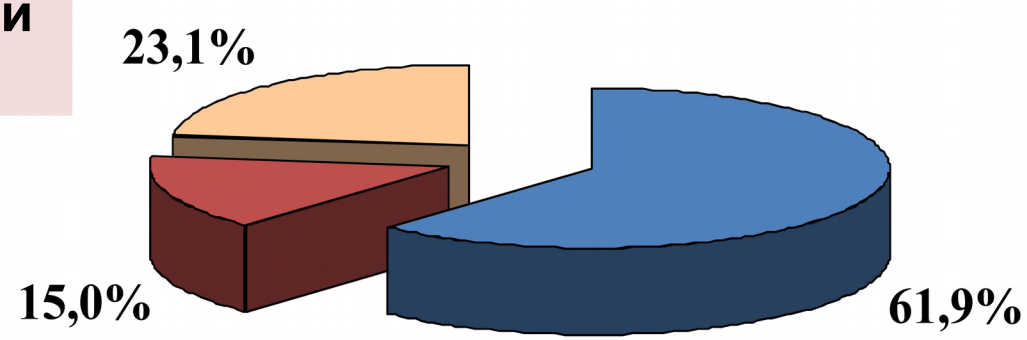
Этапы лабораторного анализа

1. Преаналитический
2. Аналитический
3. Постаналитический

Источники ошибок лабораторного исследования

Постаналитический этап

Аналитический этап



Plebani M. et al., 2007

Преаналитический этап

Источники ошибок на преаналитическом этапе

- ✓ Неправильная подготовка / информирование пациента
- ✓ Чрезмерная эмоциональная или физическая нагрузка перед взятием
- ✓ Нарушение техники взятия
- ✓ Ошибочный тип пробирки
- ✓ Нарушение условий хранения
- ✓ Несоблюдение условий транспортировки

CORMAYGROUP

Основные рекомендации по взятию крови на ОАК

- ✓ Предпочтение отдается венозной крови, взятие рекомендуется проводить с использованием вакуумных систем
- ✓ Взятие осуществляется после 8-12 часового голодания в утренние часы в положении сидя или лежа
- ✓ Исключить физическую и эмоциональную нагрузку

CORMAYGROUP

Последовательность заполнения пробирок при взятии крови

1. Без антикоагулянтов → Сыворотка

2. Цитрат (зеленая крышка) → Плазма

3. Гепарин → Плазма

4. K_2-ЭДТА → Цельная кровь

CORMAYGROUP

Показания к взятию капиллярной крови

1. Новорожденные
2. Обширные ожоги
3. Склонность к тромбозу
4. Выраженные изменения периферических вен
5. Анатомические особенности
6. Выраженное ожирение

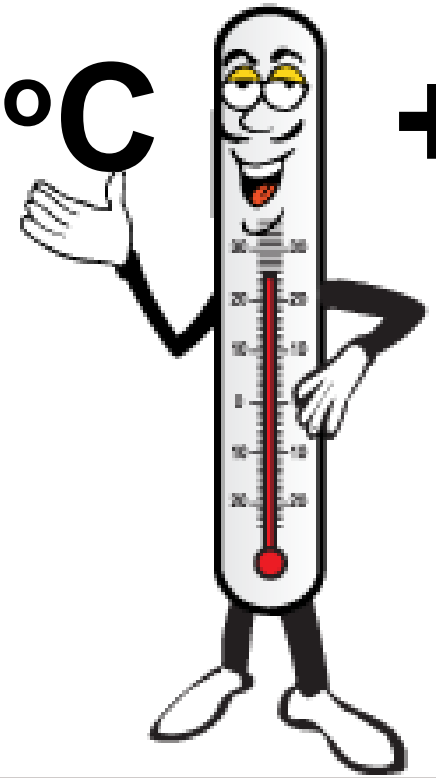
При соблюдении техники взятия капиллярной крови, результаты не должны отличаться от результата исследования венозной крови

CORMAYGROUP

Условия хранения крови до исследования

+4…+25°C

+4°C



Не более 4-х часов

Не более 24-х часов

Для исключения ошибок, вызванных спонтанной агрегацией тромбоцитов, исследование проводят либо сразу после взятия, либо через 30 минут

CORMAYGROUP

Образование пены при встряске

CORMAYGROUP

Аналитический этап

Основные причины ошибок:

1. Ошибки дозирования
2. Дефекты анализатора
3. Дефекты реагентов / калибровок
4. Недобросовестность персонала

CORMAYGROUP

Принцип работы автоматических гематологических анализаторов

Фотометрия – определение гемоглобина

Кондуктометрия – подсчет клеток

MYTHIC 22 AL

Проточная цитометрия – дифференцировка субпопулляций лимфоцитов

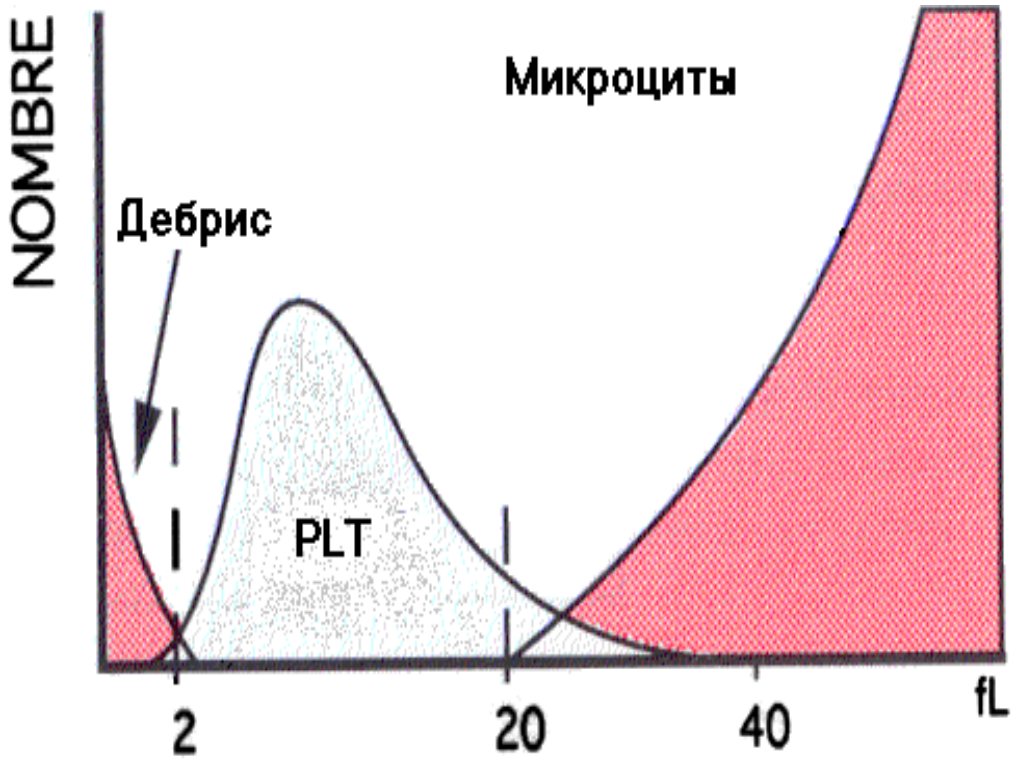
CORMAYGROUP

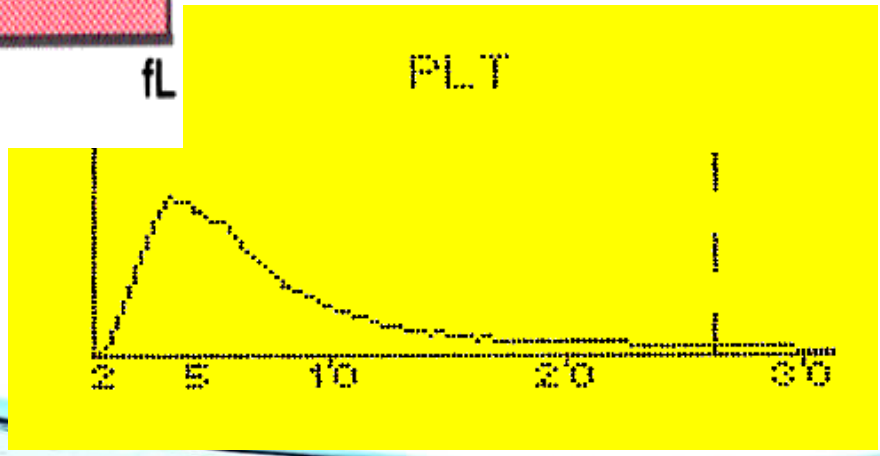
Ошибки измерения гемоглобина

- ✓ Повышенная мутность сыворотки при гиперлипидемии, гипербилирубинемии, криоглобулинемии и др.
- ✓ Присутствии нестабильных гемоглобинов (Hb S, Hb C)
- ✓ Высокие лейкоцитозы (более 100×10^9/л)

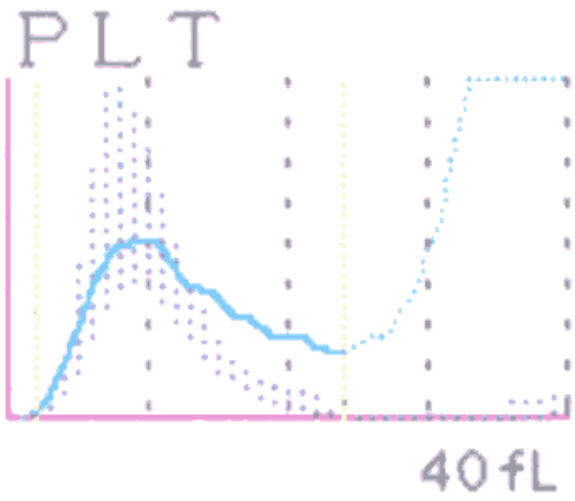
CORMAYGROUP

Тромбоцитарная гистограмма



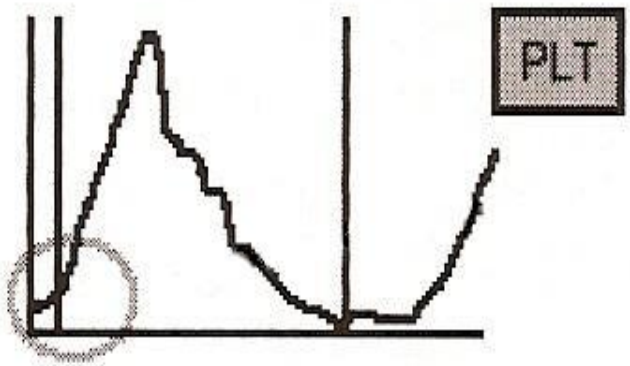


Причины изменения тромбоцитограмм



Тромбоцитарная гистограмма не оканчивается на базисной линии:

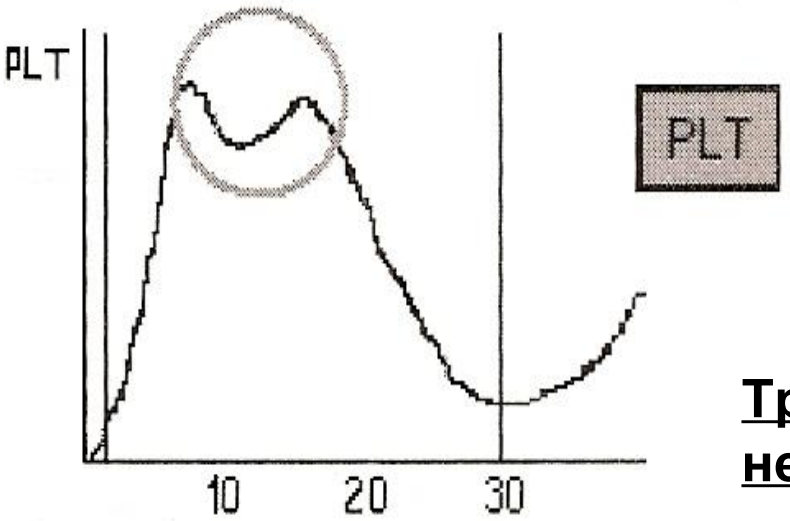
- ✓ Микроэритроциты
- ✓ Шизоциты
- ✓ Макротромбоциты
- ✓ Агрегация тромбоцитов



Тромбоцитарная гистограмма не начинается на базисной линии:

- ✓ Высокое фоновое значение (загрязнение реагентов)
- ✓ Фрагменты клеток (эритроцитов, лейкоцитов)
- ✓ Высокое количество бактерий в крови

Причины изменения тромбоцитограмм



<u>Тромбоцитарная гистограмма имеет несколько пиков:</u>

- ✓ **Анизоцитоз тромбоцитов**
- ✓ **Восстановление тромбоцитарного звена после химиотерапии**
- ✓ **Агрегация тромбоцитов (часто наблюдается «Зигзаг»-кривая)**

Возможные причины ошибок измерения тромбоцитов

Ложное повышение

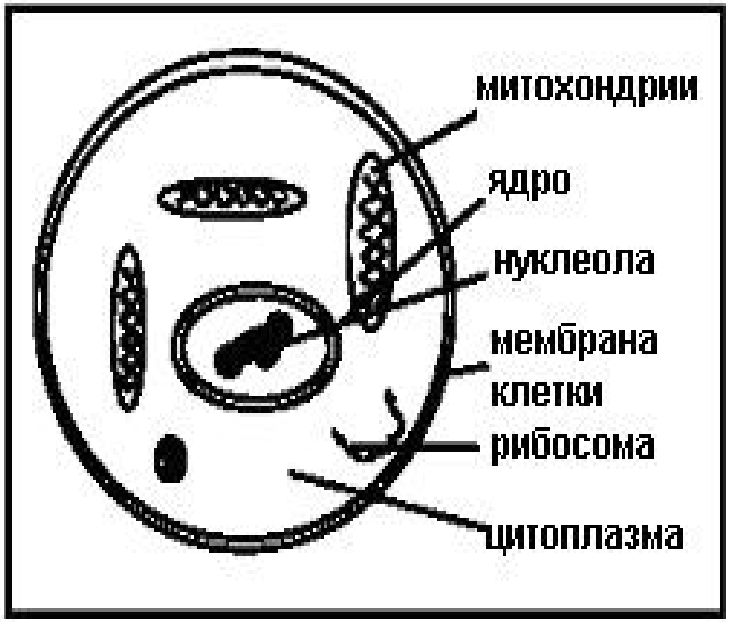
- Микроцитоз
- Криоглобулинемия
- Гемолизированные образцы крови
- Фрагменты эритроцитов и лейкоцитов

Ложное понижение

- Агрегация или агглютинация тромбоцитов
- Тромбоцитарный "сателлизм"
- Гигантские тромбоциты
- Агглютинация эритроцитов
- Тромбообразование
- Взятие крови с гепарином
- Гипертромбоцитоз (>1.000 x10^9/л)

CORMAYGROUP

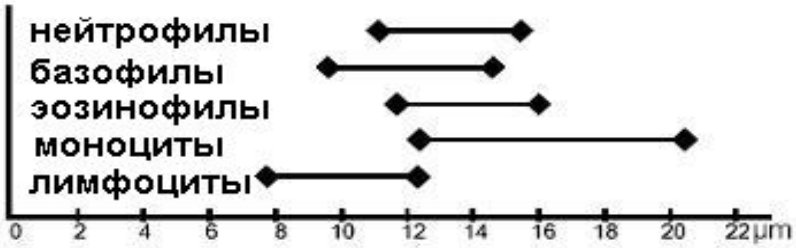
Дифференцировка лейкоцитов на основе метода Культера



После лизиса

Дифференцировка лейкоцитов на основе метода Культера

До добавления лизирующего реагента

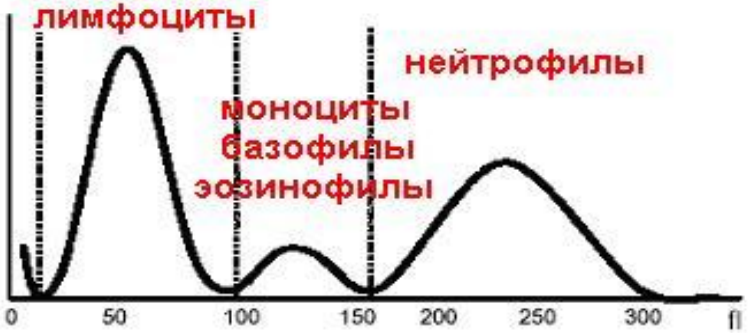


Диаметр клеток в µм

	10 - 15
	9 - 14
	11 - 16
	12 - 20
	7 - 12

После добавления лизирующего реагента

Действие лизирующего реагента приводит к потере цитоплазмы моноцитами и разбуханию нейтрофилов, тем самым изменяются размеры клеток



Объем клеток в фл

лимфоциты	30 - 80
моноциты	60 - 120
базофилы	70 - 130
эозинофилы	80 - 140
нейтрофилы	120 - 250

CORMAYGROUP

Возможные причины ошибок измерения лейкоцитов

Ложное завышение числа лейкоцитов при автоматическом анализе возможно при наличии в крови:

- ✓ **ядерных красных клеток или устойчивых к лизису эритроцитов;**
- ✓ **агрегатов тромбоцитов;**
- ✓ **криоглобулинов или криофибриногена**

Ложное занижение количества лейкоцитов наблюдается при разрушении клеток при длительном хранении крови (более 24 часов) или грубом перемешивании

CORMAYGROUP

Возможные причины ошибок постаналитического этапа

Гипо- и гиперволюмия

Фармакотерапия

CORMAYGROUP

Контроль качества

Контроль качества (КК) - система мер, направленных на количественную оценку точности, воспроизводимости и правильности лабораторных исследований

Сущность КК - сопоставление результатов исследования проб с результатами исследования контрольного материала и измерение величины отклонения

Цели КК:

- ✓ Устранение систематических ошибок и сведение до минимума числа случайных ошибок
- ✓ Достижение оптимальных стандартных условий исследования биологических жидкостей во всех КДЛ

CORMAYGROUP

Контроль качества должен быть:

- ✓ Систематическим и повседневным **- анализ контрольных проб должен включаться в обычный ход работы лаборатории**
- ✓ Охватывать все области измерений **(норма, высокие и низкие патологические значения)**
- ✓ Производиться в реальных условиях работы лаборатории **(так же, как обычные пробы пациентов, т.е. тем же персоналом и в тех же условиях)**
- ✓ Объективным **(желательно «шифровать» контрольный материал, что бы исполнитель не знал, где опыт, а где контроль)**

CORMAYGROUP

2 типа контроля качества:

Внутренний контроль качества	Внешний контроль качества
✓ Организует и проводит лаборатория	✓ Проводит некая организация
✓ Проводится ежедневно	✓ Проводится периодически
✓ Лучше выявляет случайные ошибки	✓ Лучше выявляет систематические ошибки

Методы внутрилабораторного контроля качества:

Контрольные материалы

1. Метод контрольных карт
2. Метод контрольных правил Westgard
3. Метод “Cusum”

Данные пациентов

1. Метод параллельных проб
2. Метод «средней нормы»
3. Метод дельта-контроля
4. Метод смешивания
5. Метод добавки
6. Сравнение методов

CORMAYGROUP

Типы контрольных материалов для гематологических исследований

Наименование	Контроль параметров	Срок годности
Стандартный раствор гемоглобина	Гемоглобин	1 год
Гемолизат	Гемоглобин	1 год
Консервированная кровь	Параметры, указанные в паспорте к контрольному материалу	От 21 дня до 6 мес.
Суспензии (фиксированные клетки)	Эритроциты, тромбоциты, лейкоциты	От 6 мес. до 1 года
Окрашенные мазки крови	Лейкоцитарная формула	Несколько лет

CORMAYGROUP

Нормативная документация

Приказ № 45 МЗРФ от 07.02.2000

«О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения РФ»

Приказ МЗ РФ №220 от 26 мая 2003

«Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов»

CORMAYGROUP

Нормативная документация

- ✓ Внутренний контроль качества (ВКК) является обязательным в отношении всех выполняемых в КДЛ количественных исследований для которых существуют контрольные материалы
- ✓ ВКК должен осуществляться в каждой лаборатории ежедневно
- ✓ Наличие системы ВКК является одним из критериев при аккредитации лаборатории
- ✓ Допускается использование для ВКК только таких компьютерных программ, которые разрешены к использованию в КДЛ МЗ РФ

CORMAYGROUP

Расчет внутрисерийной воспроизводимости методики

- Проводят **10 измерений** определяемого показателя **в одном и том же материале** (контрольный материал или проба пациента) **в одной и той же аналитической серии**
- Из полученных 10 результатов рассчитывается коэффициент внутрисерийной вариации методики ($CV_{ВС}$) по формуле:

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$$

S - среднеквадратическое отклонение

$\bar{X}$ - среднее арифметическое значение результатов

Оценка внутрисерийной воспроизводимости методики

- **Внутрисерийная вариация методики отвечает установленным нормам если выполняется неравенство:**

$$CV_{ВС} \leq 0,5 \bullet CV_{10}$$

CV_{10} - коэффициент общей аналитической вариации для 10 измерений

Оценка смещения и коэффициента общей аналитической вариации методики

- ✓ **В течение 10 дней производят измерение определяемого показателя в двух (нормальном и патологическом) аттестованных контрольных материалах (по 1 измерению каждого в день)**

- ✓ **По результатам 10 измерений каждого КМ рассчитывают величину относительного смещения (B_{10}) по формуле:**

$$B = \frac{\overline{X} - УЗ}{УЗ} \times 100\%$$

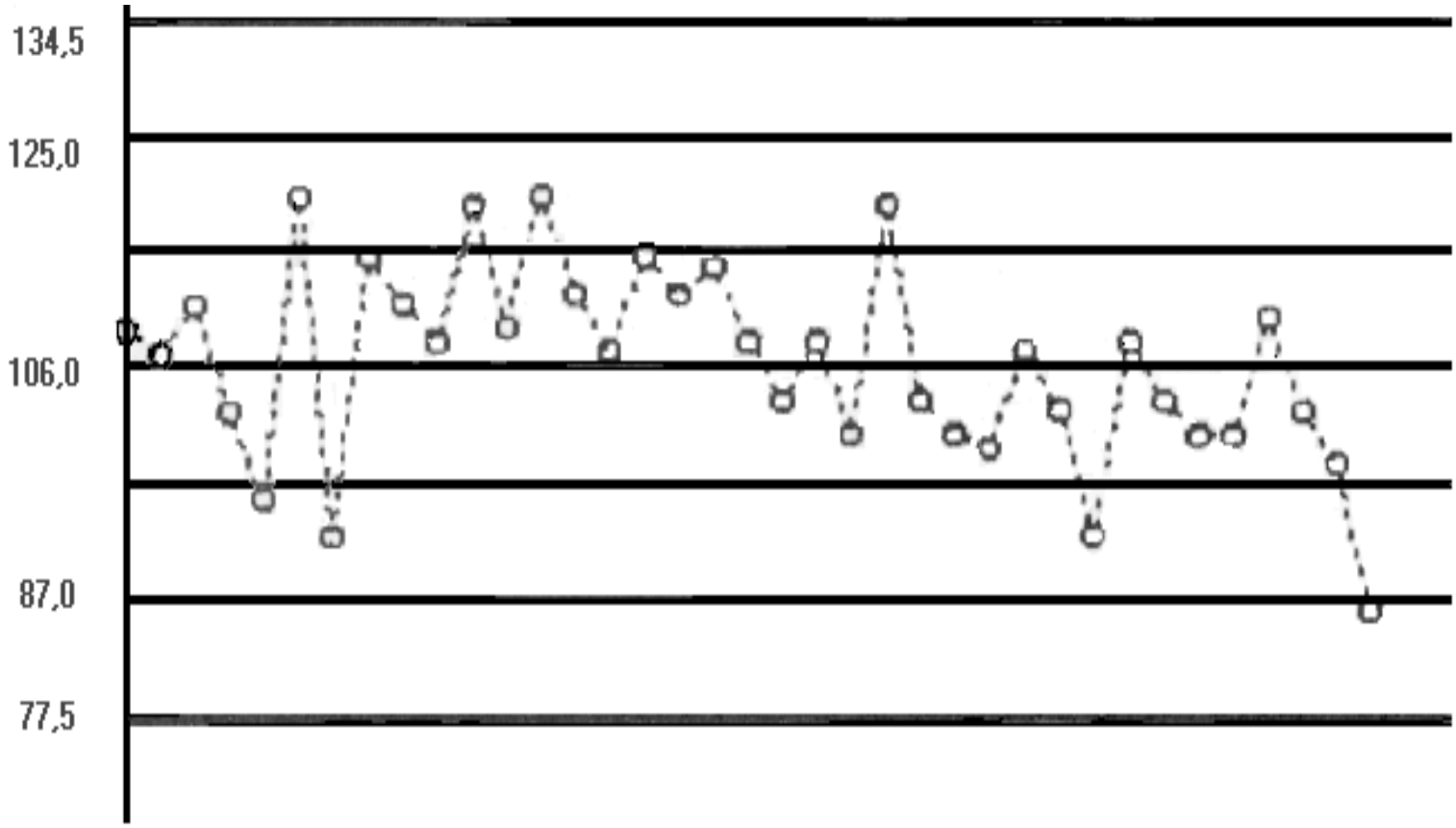
УЗ – установленное значение

Оценка смещения и коэффициента общей аналитической вариации методики

- ✓ Сравнивают данные B_{10} и CV_{10} с предельно допустимыми значениями по таблице приложения к приказу №45 и №220
- ✓ Если значения B_{10} и CV_{10} не превышают табличные данные, производят измерение еще 10 аналитических серий каждого КМ, рассчитывают B_{20} и CV_{20} и сравнивают с табличными данными
- ✓ Если B_{20} и CV_{20} не превышают табличные данные - используемая методика пригодна для целей лабораторной диагностики. Можно строить контрольную карту

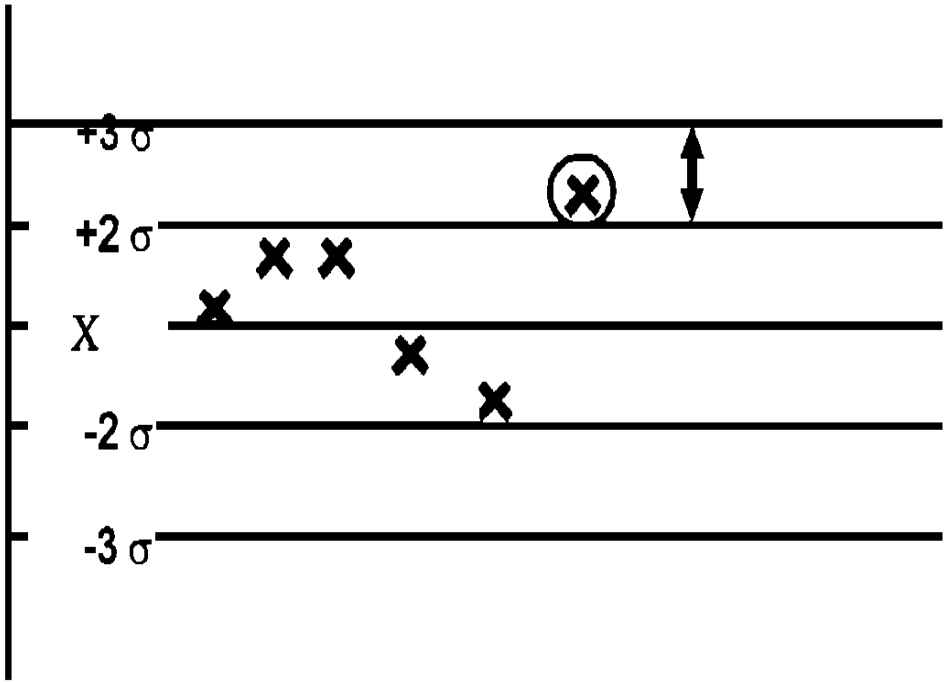
CORMAYGROUP

Пример контрольной карты



Контрольные правила Westgard

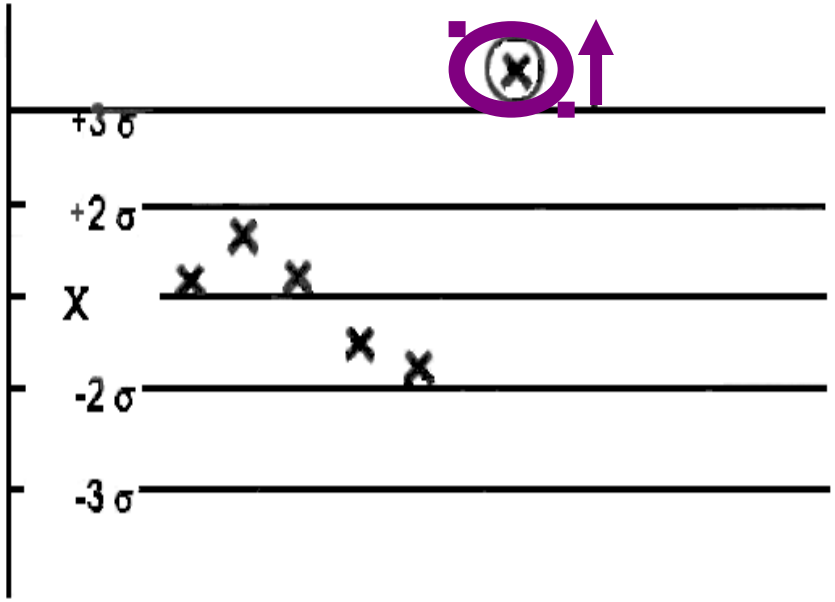
1_{2s}



- Один контрольный результат выходит за пределы $\bar{X} \pm 2S$
- Проверить последовательно наличие других признаков
- При их отсутствии не требуется исключение серии

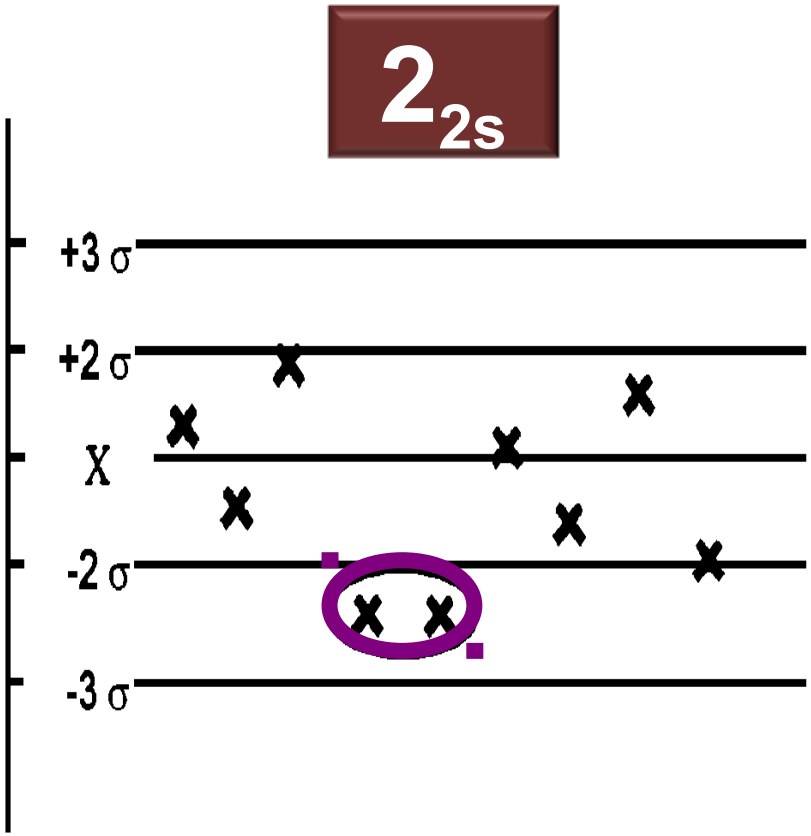
Контрольные правила Westgard

1_{3s}



- Одно из контрольных измерений выходит за пределы $\bar{X} \pm 3S$
- Аналитическая серия признается неудовлетворительной
- Искать случайную или систематическую ошибку

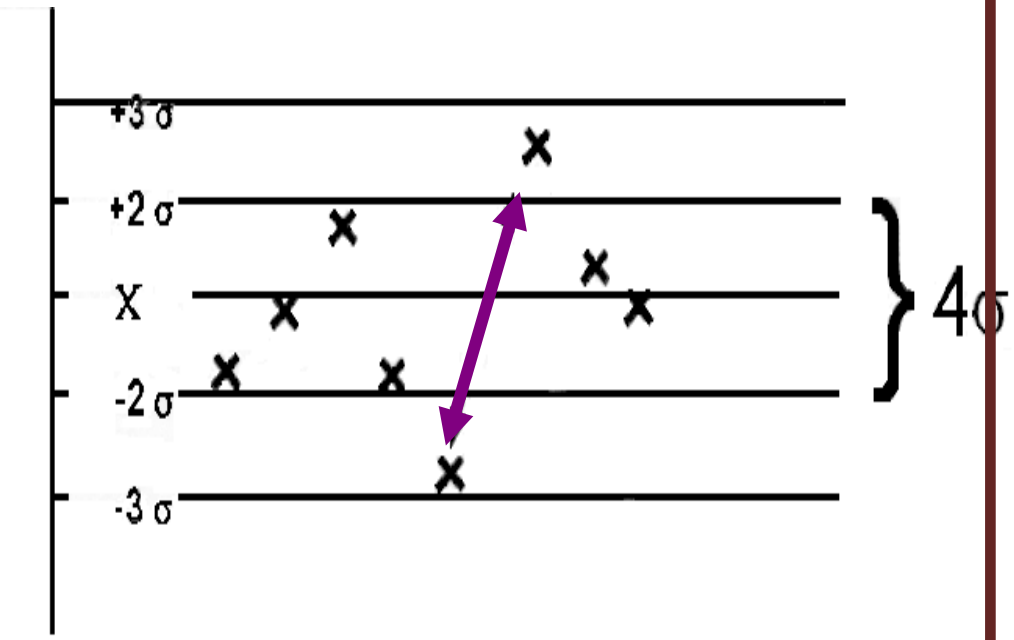
Контрольные правила Westgard



- Два последовательных контрольных измерений превышают предел ¯X+2S или лежат ниже предела ¯X-2S
- Аналитическая серия признается неудовлетворительной
- Искать систематическую ошибку

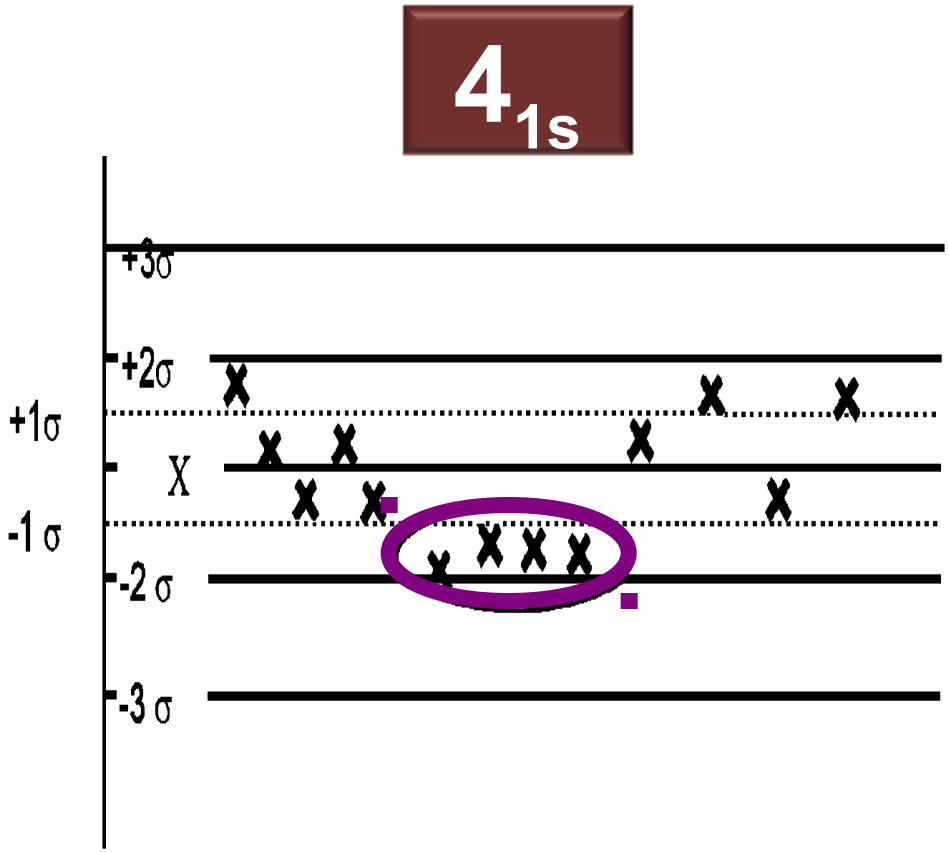
Контрольные правила Westgard

R_{4s}



- Два контрольных измерений в рассматриваемой контрольной серии расположены по разные стороны от коридора $\bar{X} \pm 2S$
- Аналитическая серия признается неудовлетворительной
- Показатель случайной ошибки

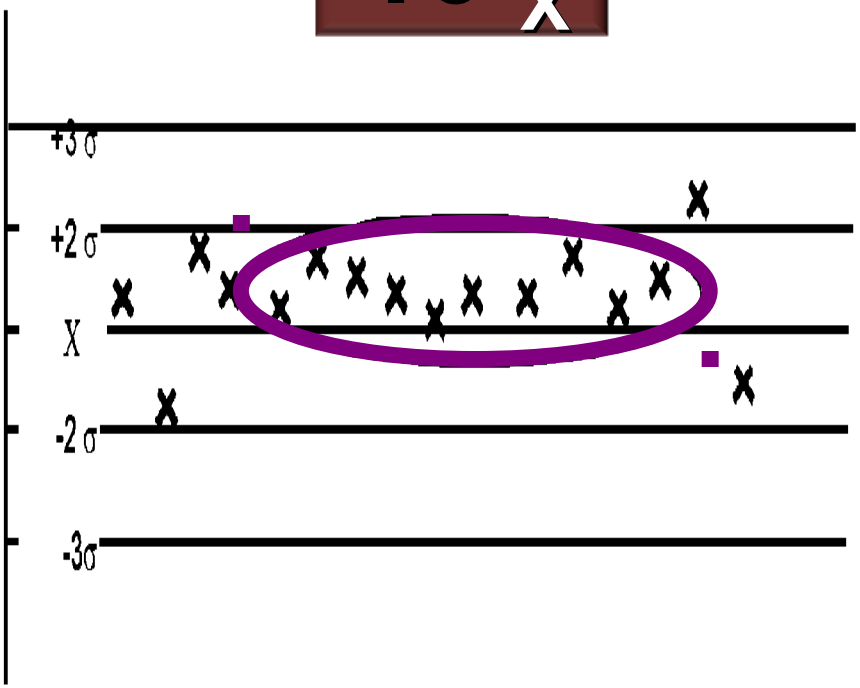
Контрольные правила Westgard



- Четыре последовательных контрольных измерений превышают предел ¯X+1S или лежат ниже предела ¯X-1S
- Аналитическая серия признается неудовлетворительной
- Показатель систематической ошибки
- Не всегда требует исключение серии, т.к. смещение чаще всего не является клинически значимым

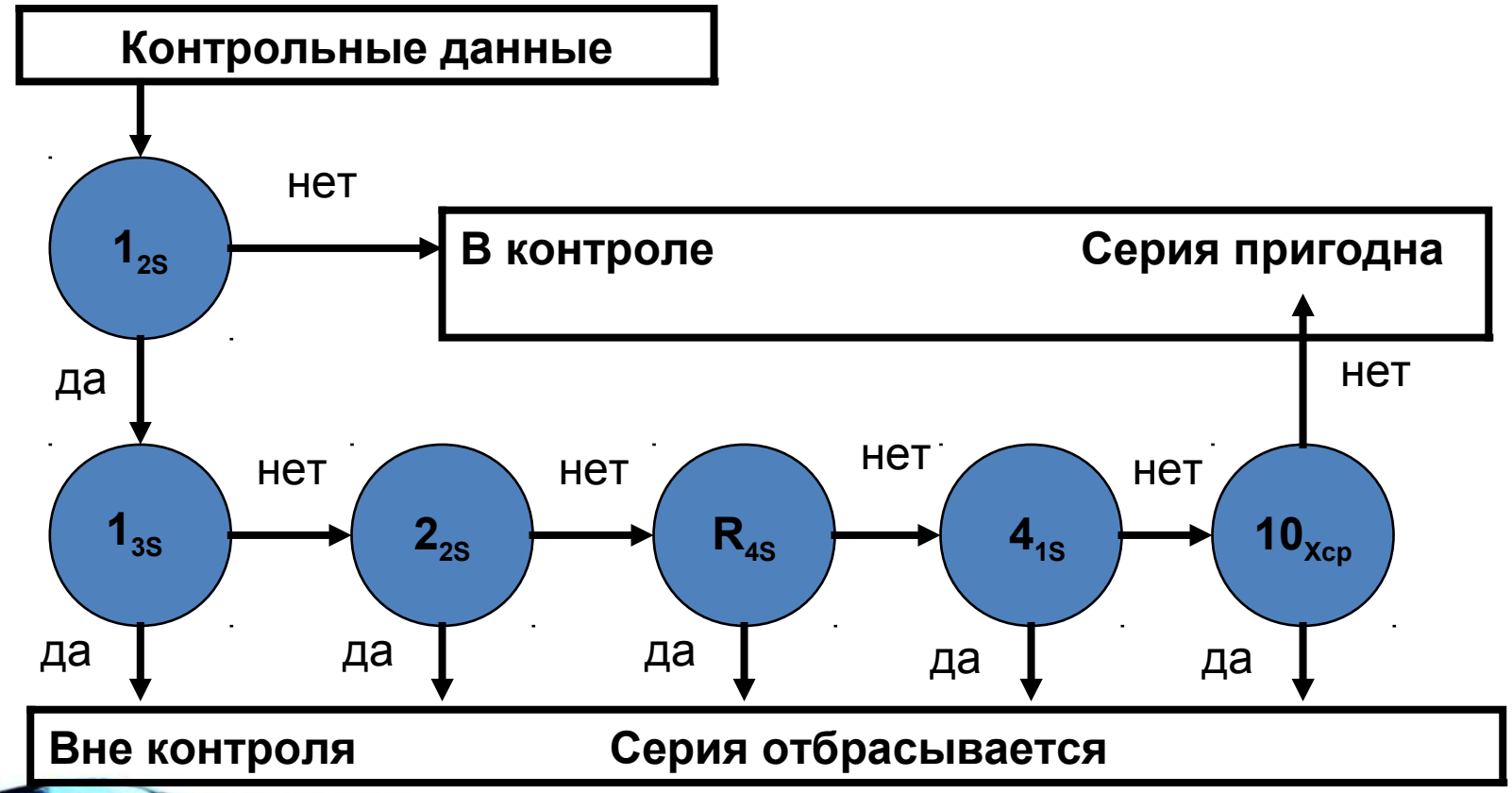
Контрольные правила Westgard

10–x



- Десять последовательных контрольных измерений располагаются по одну сторону от линии, соответствующей ¯X
- Аналитическая серия признается неудовлетворительной
- Показатель систематической ошибки
- Не всегда требует исключение серии, т.к. смещение чаще всего не является клинически значимым

Алгоритм последовательного применения контрольных правил для случая с одним контрольным материалом



MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

Производительность: 45 анализов/час

Объем пробы: 18,2 мкл

Дифференцировка WBC: оптическая цитометрия

Гемоглобин: спектрофотомерия (555 нм)

Технология ONLY ONE : запатентованный лизирующий раствор

Дифференцировка: эозинофилов без окрашивания

Меню: русифицированное

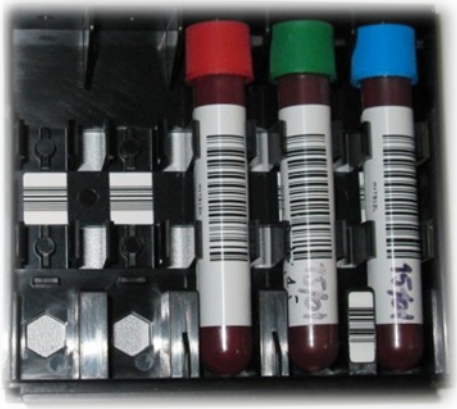
CORMAYGROUP

Спасибо за внимание

MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

Автоподатчик на 10 штативов для различных пробирок.

Автоматическое мягкое перемешивание.



CORMAYGROUP

MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

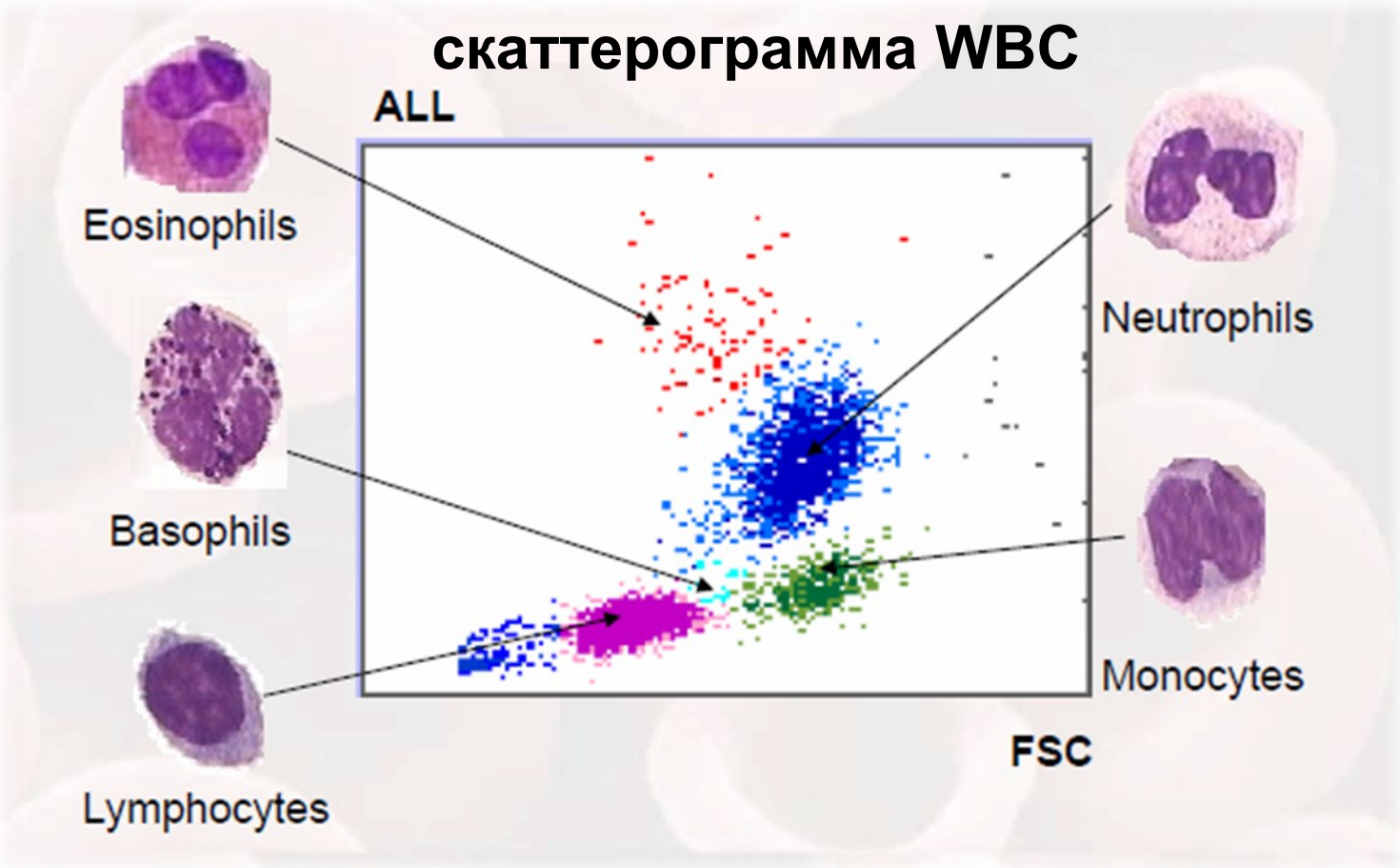
Преимущества

ЦИКЛЫ		DILUENT (мл)	LYSE (мл)	CLEANER (мл)
Измерение пациента	DIF	21,0	0,96	0,45
	CBC	13,0	0,73	0,45
Промывка всех систем		11,0	--	--

Самый экономичный в линейке 5 diff анализаторов!

CORMAYGROUP

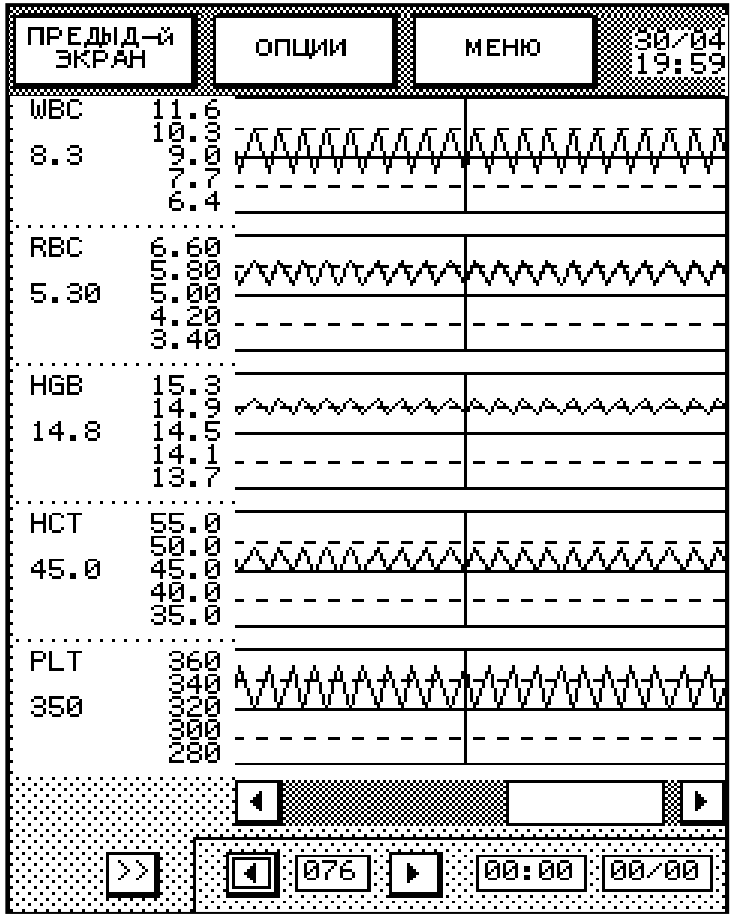
MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб



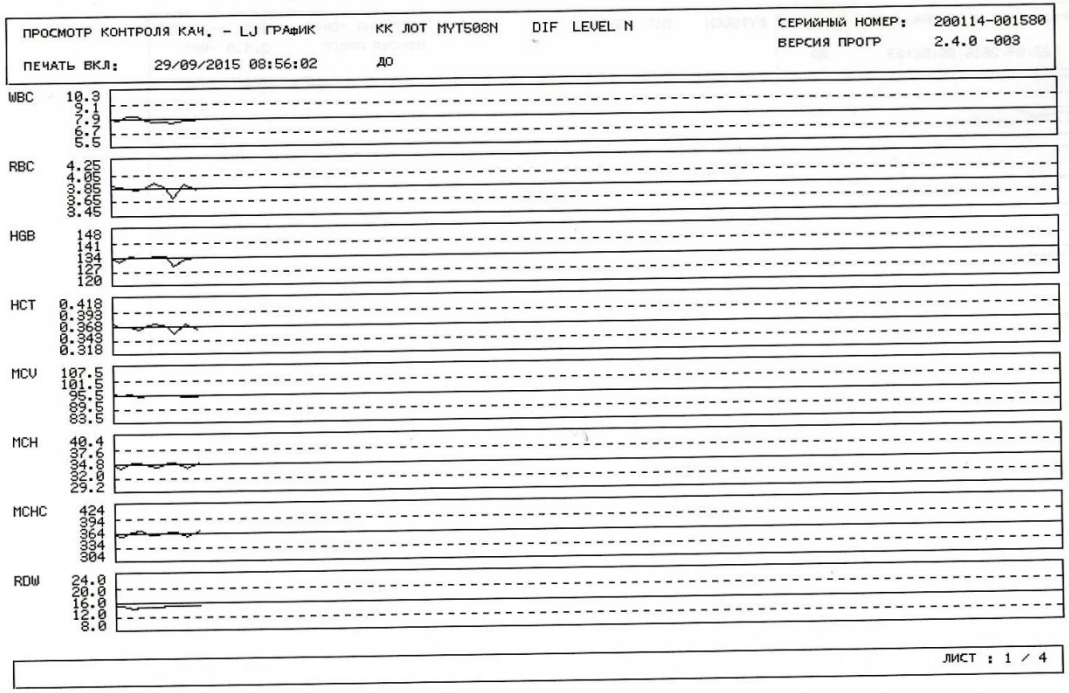
MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

Архив

Архив: 1500 пациентов
USB-накопители памяти.
Контроль качества:
100 файлов 6 уровней.
Результаты:
таблица или диаграмма
Леви Дженнингса.

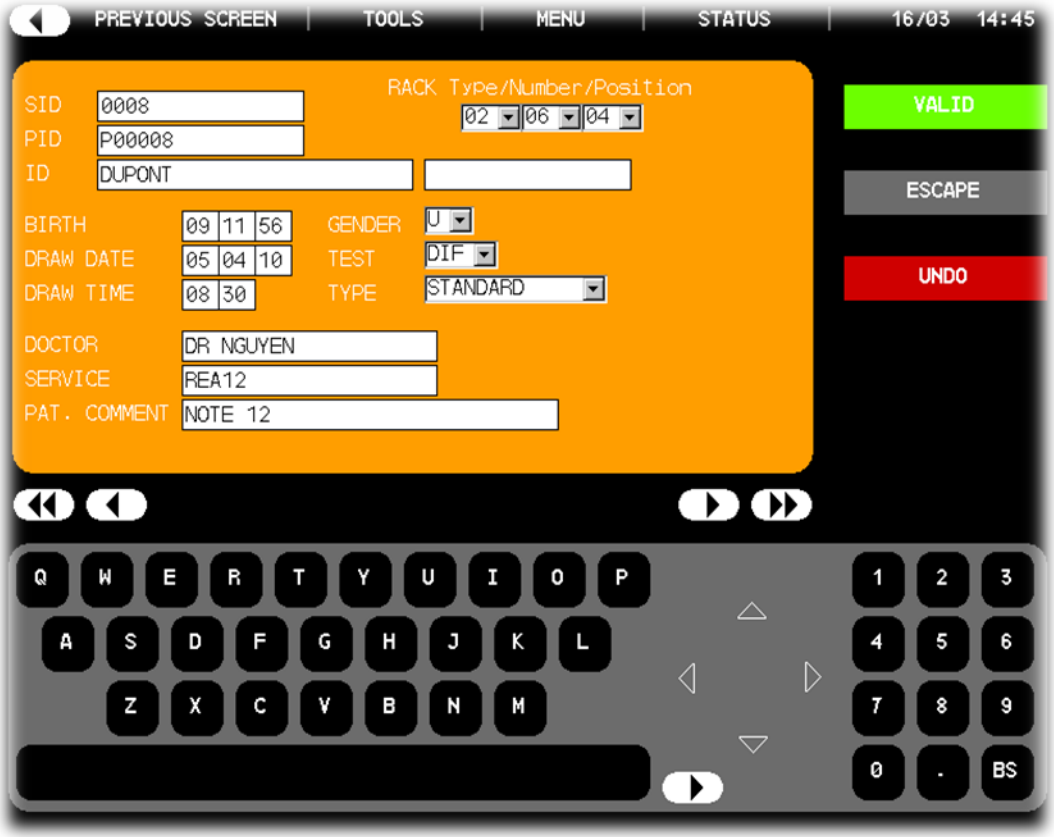


MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб



MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

- **Возможность введения полной информации о пациентах.**
- **Буквенно-цифровая клавиатура.**
- **Распознавание штрихкода.**



CORMAYGROUP

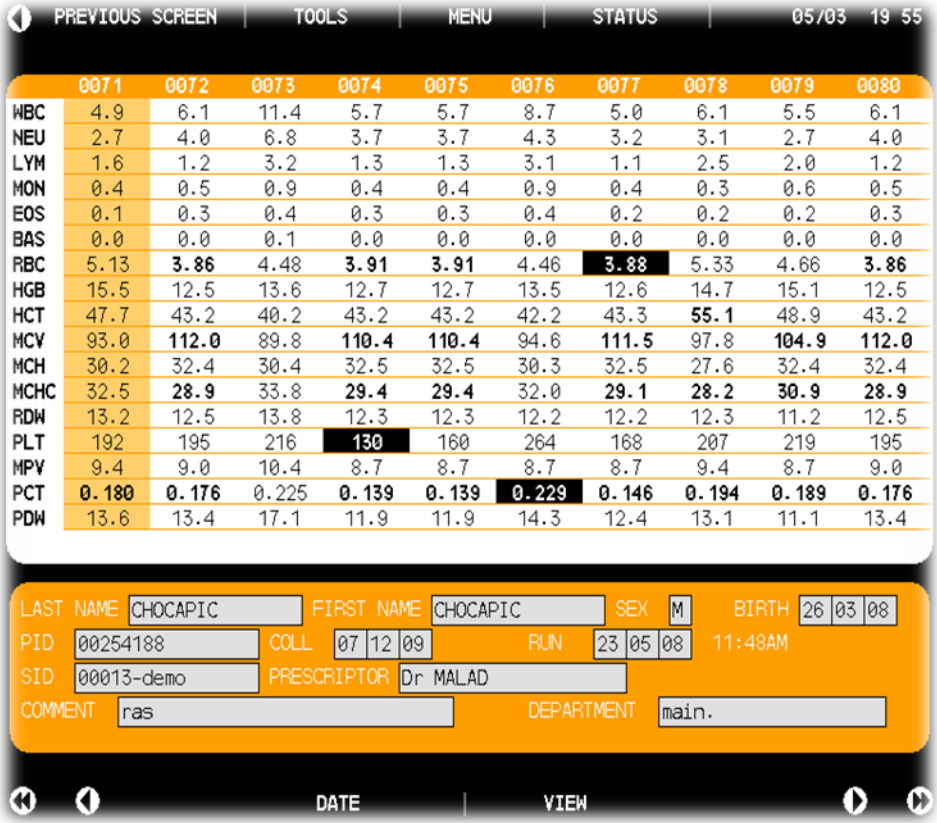
MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

Архив

- Архив 1500 пациентов.
- USB память > 60 000 пациентов (опция)
- Контроль качества:

  12 файлов 100 анализов в каждом

построение графиков Леви Дженингса



	0071	0072	0073	0074	0075	0076	0077	0078	0079	0080
WBC	4.9	6.1	11.4	5.7	5.7	8.7	5.0	6.1	5.5	6.1
NEU	2.7	4.0	6.8	3.7	3.7	4.3	3.2	3.1	2.7	4.0
LYM	1.6	1.2	3.2	1.3	1.3	3.1	1.1	2.5	2.0	1.2
MON	0.4	0.5	0.9	0.4	0.4	0.9	0.4	0.3	0.6	0.5
EOS	0.1	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.2	0.2	0.2	0.3
BAS	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
RBC	5.13	3.86	4.48	3.91	3.91	4.46	3.88	5.33	4.66	3.86
HGB	15.5	12.5	13.6	12.7	12.7	13.5	12.6	14.7	15.1	12.5
HCT	47.7	43.2	40.2	43.2	43.2	42.2	43.3	55.1	48.9	43.2
MCV	93.0	112.0	89.8	110.4	110.4	94.6	111.5	97.8	104.9	112.0
MCH	30.2	32.4	30.4	32.5	32.5	30.3	32.5	27.6	32.4	32.4
MCHC	32.5	28.9	33.8	29.4	29.4	32.0	29.1	28.2	30.9	28.9
RDW	13.2	12.5	13.8	12.3	12.3	12.2	12.2	12.3	11.2	12.5
PLT	192	195	216	130	160	264	168	207	219	195
MPV	9.4	9.0	10.4	8.7	8.7	8.7	8.7	9.4	8.7	9.0
PCT	0.180	0.176	0.225	0.139	0.139	0.229	0.146	0.194	0.189	0.176
PDW	13.6	13.4	17.1	11.9	11.9	14.3	12.4	13.1	11.1	13.4

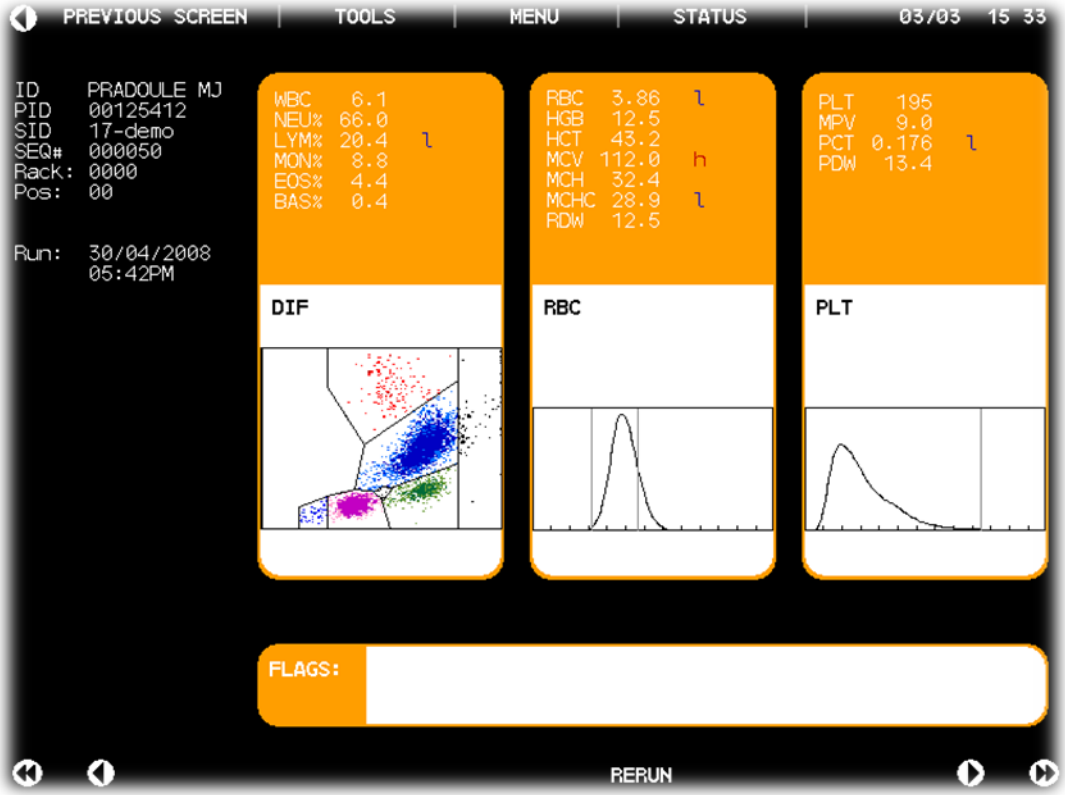
CORMAYGROUP

MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

- **Легкий анализ результатов.**
- **Легко программируемая**

функция тревожных сигналов

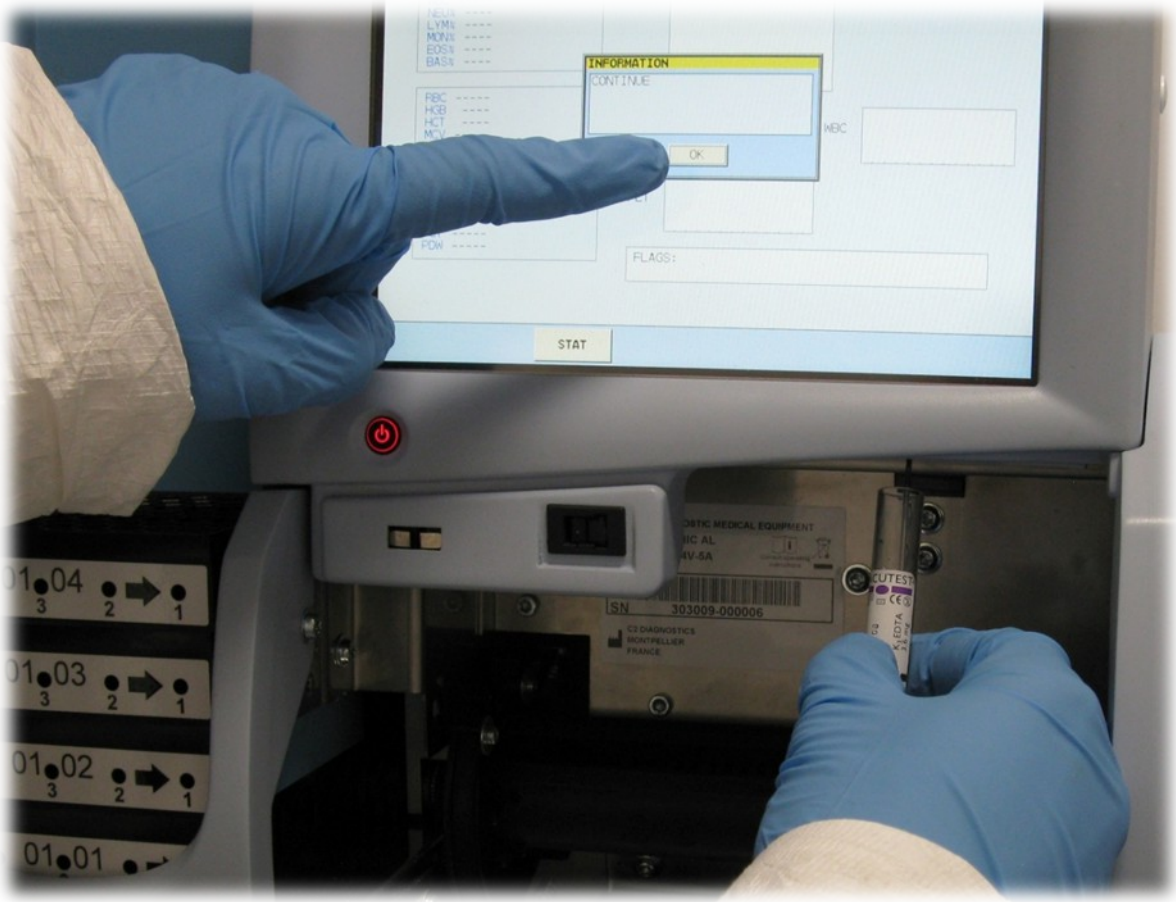
(флаги).



CORMAYGROUP

MYTHIC 22 AL: 5-diff гематологический анализатор с автоподатчиком проб

Доступ к режиму срочной пробы (STAT) в любое время той же самой дозирующей иглой.



CORMAYGROUP