



15 ноября 2018

Нижний Новгород

Интерференция в иммунном анализе

Берестовская Виктория Станиславовна

*«Нетипичная аналитическая ошибка»
результат теста, полученный в
образце рутинным методом,
отличается от результата измерения
у пациента, полученного
референсным методом, более чем на
погрешность измерения рутинного
метода.*

Интерференция в лабораторной диагностике

Характерные особенности

Интерференция - влияние вещества, способного изменять истинное значение аналита в биологическом материале пациента.

Интерференция не выявляется при стандартных процедурах контроля аналитического качества.

Результат пациента воспроизводится аналитической системой, но не согласуется данными, полученными с участием другой технологии.

Случаи умеренной интерференции практически не обнаружимы, поскольку в таких ситуациях результаты пациентов с низкой вероятностью приведут к клиническим сомнениям.

Распространенность нетипичных ошибок остается весьма неясной, поскольку в настоящее время не существует единой системы их идентификации, а описание таких случаев встречается преимущественно в отдельных публикациях.

Интерференция в лабораторной диагностике

Особенности иммунохимических

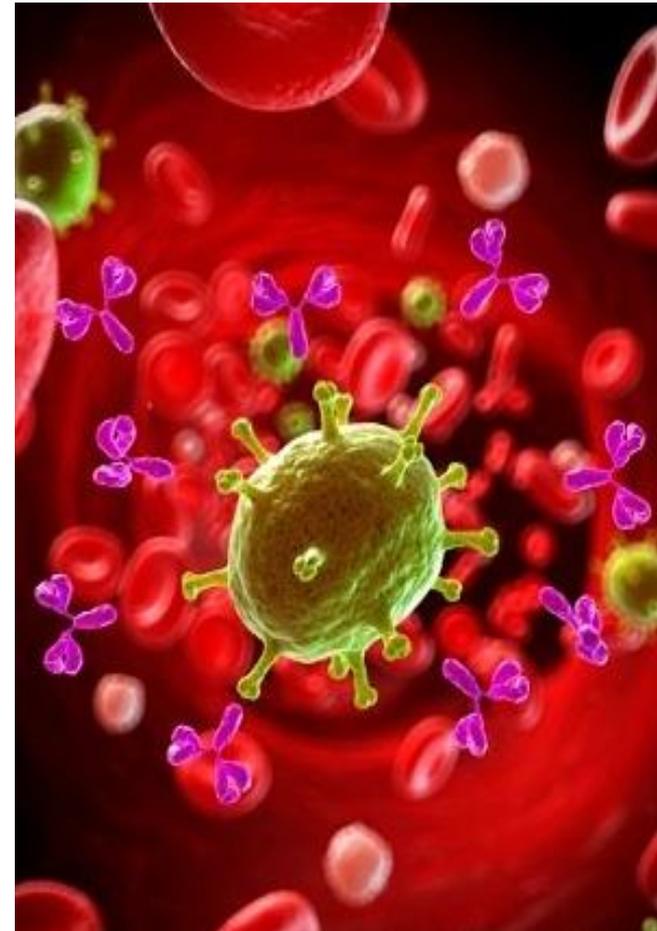
- Иммунохимический анализ занимает лидирующие позиции при определении сложных гетерогенных молекул и соединений, присутствующих в биологических жидкостях в низких концентрациях.
- Системы автоматизированного иммунного анализа обеспечивают высокий уровень технической надежности, поэтому вклад погрешности анализатора в ошибочный результат чрезвычайно мал.
- В то же время этот вид исследования основан на реакции исследуемого анализата со сложными реагентами, имеющими в своем составе антитела, что делает его более чувствительным к различным видам интерференции.



Интерференция в лабораторной диагностике

Эффект биологической матрицы

- Иммуный анализ восприимчив к интерференции, так как современные исследования выполняются из первичной пробирки без предварительной экстракции аналита.
- На результат пациента влияет как формат иммунологического анализа, так и свойства матрицы биологического материала.
- Образец пациента представляет собой уникальное сочетание индивидуального спектра различных аналитов, изменённых концентраций обычных компонентов, макромолекулярных комплексов, антител, антигенов, лекарственных веществ, их метаболитов и пищевых добавок.



Интерференция в иммунном анализе

Причины интерференции

Аналит-независимые причины

- Преаналитические
- Аналитические

Аналит-зависимые причины

- Эндогенные антитела
- Перекрестно реагирующие вещества



Причины интерференции

АНАЛИТ – НЕЗАВИСИМЫЕ

Преаналитические

- Неадекватное центрифугирование с образованием микросгустков
- Присутствие в образце свободного гемоглобина (гемолиза), мутности/липемии и билирубина (иктеричности)
- Эффект переноса при использовании моющихся дозирующих устройств

Аналитические

- Зависимость аналита от связывающего белка
- Вмешательство в формирование сигнала лекарственных веществ

Аналит-независимые причины интерференции

Преаналитическое качество образца

Факторы интерференции

Ограничения – интерференция

На результаты анализа не влияет иктеричность (билирубин < 1112 мкмоль/л или < 65 мг/дл), гемолиз (Hb < 1.4 ммоль/л или < 2.2 г/дл), липемия (Интралипид < 1500 мг/дл) и биотин < 246 нмоль/л или < 60 нг/мл.

АФП

Ограничения – интерференция

На результаты анализа не влияет иктеричность (билирубин < 1231 мкмоль/л или < 72 мг/дл), липемия (триглицериды < 22.8 ммоль/л или < 2000 мг/дл) и биотин (< 409 нмоль/л или < 100 нг/мл).

Критерий: Результаты измерений в пределах $\pm 10\%$ исходного уровня.

Интерференция гемолиза из-за содержания НСЕ в эритроцитах.

NSE

Индикаторы качества

- Процент образцов со сгустками (Pre-Clot): Количество проб со сгустками (биохимия) / общее число образцов с антикоагулянтом, в процентах
- Процент образцов со гемолизом (Pre-Hem): Количество проб со свободным гемоглобином $Hb > 0.5$ г/л (биохимия) / общее число образцов (биохимия), в процентах

Определение качества исследуемой пробы

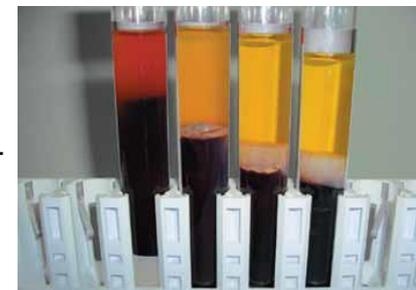
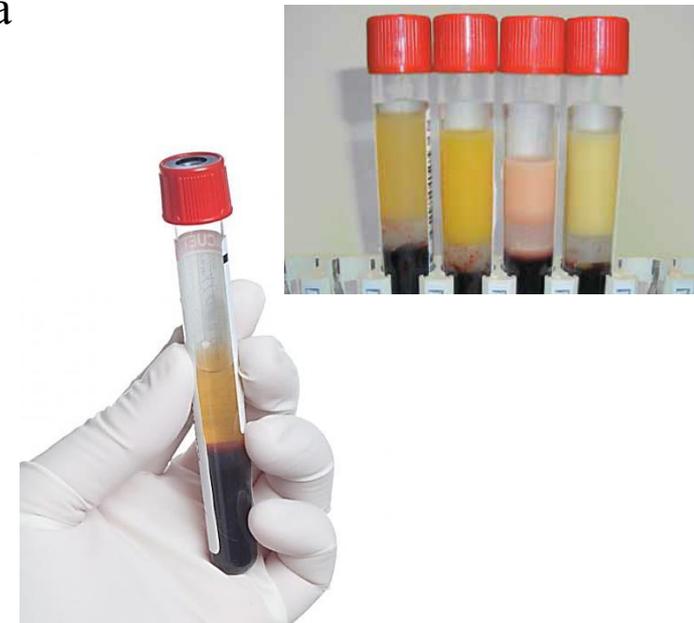
Измерение сывороточных индексов

(НИЛ)
Автоматизированное измерение – оценка гемолиза во всех образцах без влияния «человеческого фактора»

Количественное определение – соответствие требованиям CLSI C56-A «Hemolysis, Icterus, and Lipemia /Turbidity Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline»

Оценка качества гемолиза для иммунохимических исследований (для модульных систем) – измерение не привязано к выполнению биохимического теста, т.е. может выполняться независимо

Отсутствие значимого возрастания ТАТ заказа – подтверждено мультицентровым исследованием Lippi G., И соавт., 2013



Аналит-независимые причины интерференции

Эффект переноса

Перенос аналита от образца с высокой концентрацией

- Анализ образцов в смешанном режиме (высокая и низкая концентрация) показал увеличение выше 99-го перцентиля сердечного тропонина I изучаемого теста.

Wilgen U, Pretorius C.J., et al., Annals of Clinical Biochemistry,

2016, Vol. 53(1) 177–179

Инфицирование образца

- Контаминация была подтверждена обнаружением РНК вируса гепатита С в 4% образцов, отрицательных до выполнения anti-HCV на автоматическом анализаторе с фиксированной дозирующей иглой.

Rondahla E., Grubera M., Joelssona S., et al., Journal of Clinical Virology 2014; 60: 172–173.

Аналит-независимые причины интерференции

Вмешательство лекарственных веществ и БАД

Лекарственные вещества:

ГОСТ Р 53079.4-2008, таблица Д (общие данные)

Инструкция производителя к тесту (тест-специфичные данные).

Биологически активные добавки (не тестируются на интерференцию!)

ГОСТ Р 53079.4-2008, А.1 Требования к учету влияния ятрогенных факторов на результаты

Для биотин-зависимых тестов производитель указывает:
«Если пациент принимает высокие дозы биотина (> 5 мг/сутки), необходимо сделать перерыв перед сдачей крови не менее 8 часов».



Публикации о влиянии биотина на результаты иммунохимических тестов

Описываются случаи приема мегадоз

Apparent biochemical thyrotoxicosis due to assay interference by high-dose biotin given for multiple sclerosis

C. Cusini¹ · L. Sassi¹ · G. De Paola¹ · E. Piantanida¹

3 X 100 МГ

~6000 раз

выше физиологической дозы

Immunoassay interference secondary to therapeutic high-dose biotin: A paediatric case report

Natalie Evans,¹ Jason Yates,² Jacinta Tobin,^{3,4} Jim McGill^{5,6,7} and Tony Huynh^{6,7,8}

¹University of Health Sciences, Vientiane, Lao, ²Department of Paediatrics, Townsville Hospital, ⁴College of Medicine and Dentistry, James Cook University, Townsville, ³Child and Adolescent Health Unit, Mackay Hospital, Mackay, Departments of ⁵Metabolic Medicine, and ⁶Endocrinology and Diabetes, Lady Cilento Children's Hospital, ⁶Department of Chemical Pathology, Pathology Queensland and ⁷Faculty of Medicine, University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia

15 МГ

~500 раз

выше физиологической дозы

Actual Study Start Date ⓘ : December 2016
Estimated Primary Completion Date ⓘ : September 2018
Estimated Study Completion Date ⓘ : September 2019

[Home](#) > [Search Results](#) > Study Record Detail

Effect of MD1003 in Progressive Multiple Sclerosis (SPI2) (SPI2)

Thyroid-Stimulating Hormone, mIU/L

Association of Biotin Ingestion With Performance of Hormone and Nonhormone Assays in Healthy Adults

		Thyroid-Stimulating Hormone, mIU/L		
cobas				
Baseline	Without	1.80 (1.26 to 2.34)		
Day 7	With	1.21 (0.83 to 1.59)	-0.72 (-1.13 to -0.32)	.006
Day 14	Without	2.06 (1.19 to 2.93)		
Vitros				
Baseline	Without	1.64 (1.20 to 2.09)		
Day 7	With	0.10 (0.06 to 0.13)	-1.67 (-2.08 to -1.26)	<.001
Day 14	Without	1.89 (1.11 to 2.67)		
Vista				
Baseline	Without	1.55 (1.08 to 2.02)		
Day 7	With	1.52 (1.10 to 1.95)	-0.11 (-0.49 to 0.26)	.56
Day 14	Without	1.73 (0.94 to 2.51)		
Architect				
Baseline	Without	1.48 (1.06 to 1.90)		
Day 7	With	1.53 (1.08 to 1.98)	-0.06 (-0.44 to 0.31)	.74
Day 14	Without	1.71 (0.93 to 2.48)		

Максимальных значений биотин достигает через 1,5 часа после приёма

Доза биотина – 10 мг

Кровь получали через 2 часа после приёма

Биотин: факты

Три типа пациентов, принимающих биотин



30-60 МКГ

В ДЕНЬ

Дефицит встречается
крайне редко

**Согласно нормам РФ,
суточная доза - 50 МКГ¹**

Мультивитамины



2-10 МГ

В ДЕНЬ

Более чем в

125 x

превышает суточную
потребность (высокие
дозы)

БАД



БОЛЕЕ 10 МГ

ДО 300 МГ

В ДЕНЬ

Назначается в
специфических случаях:
для лечения рассеянного
склероза и пр. (мегадозы)

Под контролем врача

1. МР 2.3.1.2432—08 Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации

Аналит-независимые причины интерференции

Вмешательство лекарственных веществ и БАД

#6. Вы принимаете «натуральные» препараты щитовидной железы и БАДы



Многие БАД утверждают, что «поддерживают» здоровье щитовидной железы, но некоторые из них пропитаны гормонами щитовидной железы, не указанными на этикетке.

В исследовании 2013 года, которое изучало 10 самых продаваемых БАД, реализуемых через Интернет было показано, что девять из них содержали Т3, Т4 или оба гормона в высоких концентрациях.

БАДы, содержащие морскую бурую водоросль Келп, могут содержать опасно высокий уровень йода.

6 ошибок при лечении щитовидной железы, которые Вы не хотите совершать

Пациент, 56 лет, отек голени

Параметр	Референсный интервал	Анализатор А (цитохимическая реакция с миелопероксидазой)	Анализатор В (цитохимическая реакция с хлоразолом черным Е)
Лейкоциты, $10^7/л$	4-9	9,2	9,4
Эритроциты, $10^9/л$	4-5	4,12	4,3
Гемоглобин, г/л	130-160	139	146
Тромбоциты $10^9/л$	150-400	392	384
Нейтрофилы, %	48-78	2,6	61,2
Лимфоциты, %	19-37	22,3	24,6
Моноциты, %	3-11	36,6	9,8
Эозинофилы, %	0,5-5	4,1	3,6
Базофилы, %	0-1	0,7	0,8
LUC, %	0-4	33,7	-

LUC – крупные неокрашенные клетки с отсутствием активности миелопероксидазы (большие гранулярные лимфоциты и бласты)

Рекомендуемые действия

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Большинство клиницистов не знают о возможности интерференции, и сотрудники лаборатории не информируют их о причинах искажения результата.

Недостаточная коммуникация клиники и лаборатории при получении артефактного результата.

Для минимизации возможной интерференции и ошибочных результатов необходимо рутинно опрашивать пациентов о приеме всех препаратов, рецептурных и безрецептурных, включая поливитамины и пищевые добавки.

Предложить пациентам правила подготовки к сдаче анализа крови, а в анкетах задать конкретные вопросы о лекарствах, отпускаемых по рецепту или любых пищевых добавках.

Рекомендации для пациента: накануне сдачи анализа крови, находясь дома, написать список всех принимаемых лекарств с названиями и дозой.

Взаимодействие с клиницистами

Не спрашивайте пациента, не принимает ли он БАДы, спросите, какие...

[Эндокринология](#) / [Клиническая лабораторная диагностика](#)

16 февраля 2016 18:37



[Галина Афанасьевна Мельниченко](#)



В начале 20-го века старшие врачи советовали: не спрашивайте, болел ли пациент сифилисом, спрашивайте, когда он им болел.

Пришла пора во всех лабораториях мира вывешивать объявления "не спрашиваем Вас, получаете ли Вы БАДы, спрашиваем, какие".

И ложные повышения Т3 и Т4, кортизола и фальшивое снижение ТТГ могут далеко увести врача (особенно яркая история про даму, втирающую миноксидил в волосистую часть головы и кушающую множество добавок для волос и ногтей и жалующуюся на округление и покраснение лица с ростом волос на лице и получившую ложно высокий кортизол) от правильного диагноза.

Итак, спрашиваем про БАДы... Иначе будем лечить от несуществующего тиротоксикоза и гиперкортизолизма..

Рекомендуемые действия

Стандартные правила подготовки пациента к анализу

**ГОСТ Р 53079.4 – 2008. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований.
Часть 4**



«Лекарственные средства, способные повлиять на результаты назначенного теста ... , должны быть отменены за 2-3 дня до проведения теста

Если отмена лекарств нежелательна, следует их возможное влияние учитывать при интерпретации результатов исследования.

В бланке назначения должны быть указаны принимаемые пациентом лекарства, если они могут влиять на лабораторные результаты. »

Причины интерференции

АНАЛИТ-ЗАВИСИМЫЕ

Эндогенные антитела

- Гетерофильные антитела: обычно природные полиспецифические низкоаффинные антитела.
- Человеческие антитела против антигенов животного происхождения (НАМА), широкое распространение моноклональных антител в качестве диагностических и терапевтических инструментов
- Аутоиммунные антитела (ревматоидный фактор)
- Парапротейны

Перекрестно реагирующие вещества

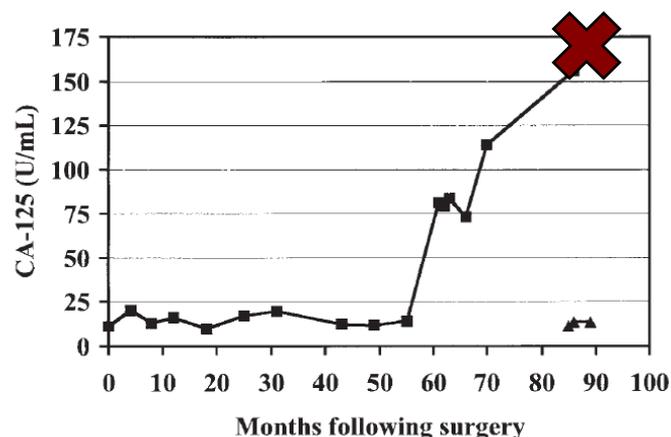
- Кросс-реактивность

Влияние высокой дозы (hook-эффект)

Аналит-зависимые причины интерференции

НАМА

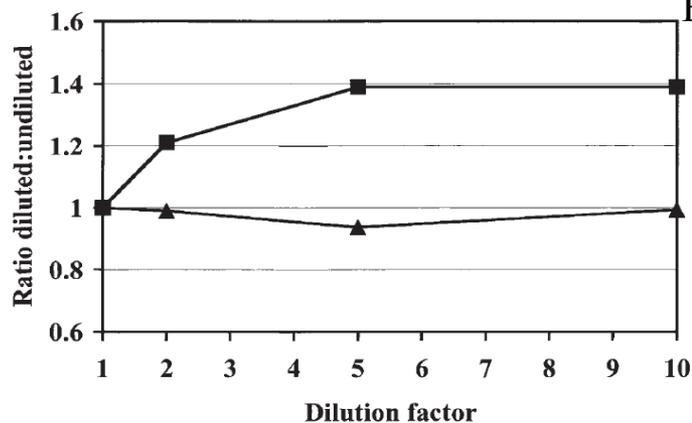
Человеческие антитела против антигенов животного происхождения



Пациентка с карциномой яичников после оперативного лечения. Мониторинг СА-125 проводится для обнаружения рецидива или метастазов.

Через 60 мес. начало возрастания СА-125 и после 160 Е/мл, значения падают до 11 Е/мл.

Обращение от гинеколога о недостоверном результате



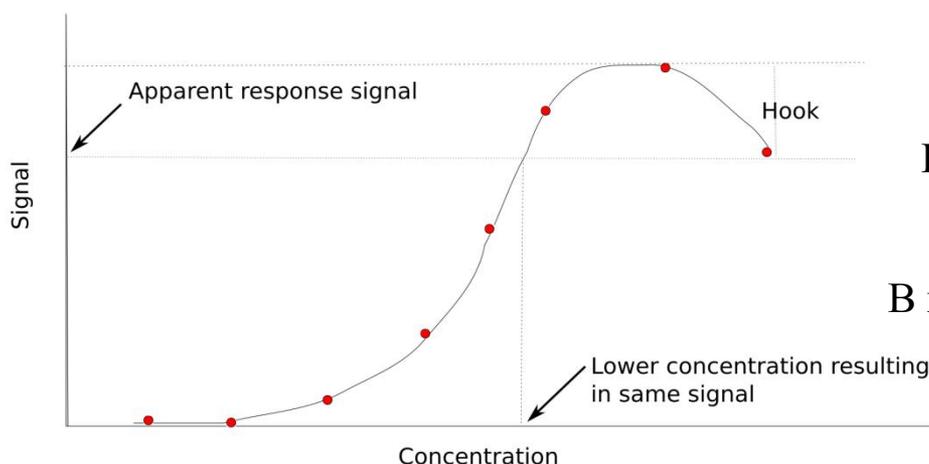
Выполнение теста на альтернативной системе 14 Е/мл.

Разведение в 2, 5 и 10 раз не показывают значимых различий.

Образец был проанализирован с блокирующим реагентом (НАМА противомышьиные IgG), результат СА -125 - 212 Е/мл;

Аналит-зависимые причины интерференции

Влияние высокой дозы (*hook-эффект*, эффект прозоны)



Девочка 2 мес., объемное образование в брюшной полости

При стандартном осмотре на 8 неделе было обнаружено увеличение размеров живота.

В местной больнице на УЗИ найдено большое объемное образование в брюшной полости.

Печень увеличена; спленомегалии нет, сердечно-сосудистая и дыхательная системы без особенностей, рефлексы в норме. Перевод в медицинский центр. Диагноз нейробластомы дифференцировали с рабдомиосаркомой, лимфомой, печеночной гемангиоэндотелиомой и нейатобластомой.

Результат АФП 452 kU/L (0 - 217 kU/L), анализатор В. Состояние ухудшалось, на МРТ опухоль увеличивалась, АФП из местной больницы 1,844,000 kU/L, анализатор А.

АФП = 546 kU/L (анализатор В), В разведении 1:10,000 = 2,559,856 kU/L.

Аналит-зависимые причины интерференции

Включает идентификацию и оценку ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ОТКАЗОВ

Метод выявления потенциальных сбоев с целью разработки предотвращающих действий или сведения к минимуму влияния ошибок с высоким уровнем риска.

Относительный риск возникновения неблагоприятного события и его последствия определяют три фактора: «тяжесть» неблагоприятного события, когда оно случилось; «вероятность» возникновения события и возможность «обнаружения» неблагоприятного события до того, как будет реализовано его негативное воздействие.

Неблагоприятному событию присваивают рейтинги тяжести и вероятности, например, по 10-балльной шкале, причем 1 является самым низким и 10 - самым высоким. Вероятность обнаружения оценивается в обратной шкале, где 1 – крайней высокая вероятность, 10 – крайне низкая.

Аналит-зависимые причины интерференции

Включает идентификацию и оценку ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ОТКАЗОВ

Для определения приоритетной области, которая нуждается в улучшении, для каждой причины неблагоприятного события вычисляется приоритетный уровень риска (RPN).

Корректирующие действия рекомендуется применять при RPN выше 400.

	Интерференция 1 (явное несоответствие результата клинической картине)	Интерференция 2 (не выявляется до неблагоприятного события)
Тяжесть	3	3
Вероятность возникновения	1	1
Вероятность определения	1	10
Общая оценка риска	3	30

*Вся жизнь — управление рисками,
а не исключение рисков.*

*Уолтер Ристон — американский финансовый управляющий,
руководитель Citicorp, один из самых влиятельных банкиров
в мире*

БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!