

КОАГУЛОЛОГИЯ



https://elibrary.ru/zsaahd

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Берковский А.Л.¹, Бабкеева Э.Р.², Сергеева Е.В.¹, Суворов А.В.¹,
Сапунова И.Д.², Каримова И.Н.²

ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ВОЗМОЖНЫХ ОШИБОК ЛАБОРАТОРНОЙ ДЕТЕКЦИИ ВОЛЧАНОЧНОГО АНТИКОАГУЛЯНТА

¹ МБООИ «Общество больных гемофилией», НПО Ренам, 125212, Москва, Россия;

² АСНП Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований, 129090, Москва, Россия

Цель работы заключается в выявлении частоты и характера типичных ошибок лабораторного определения волчаночного антикоагулянта (ВА). Проведено межлабораторное сравнительное исследование по программе Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК) клинических лабораторных исследований. Определяли правильность тестирования контрольных плазм с различным содержанием ВА. Проанализированы возможные погрешности выявления ВА. Определена частота допущенных ошибок при детекции ВА. Показано, что основной ошибкой является нарушение алгоритма исследования. На основании данных литературы проведена оценка характера зарегистрированных ошибок определения ВА и представлены соответствующие рекомендации.

Ключевые слова: волчаночный антикоагулянт; лабораторная детекция; характерные ошибки; внешний контроль качества; гемостаз

Для цитирования: Берковский А.Л., Бабкеева Э.Р., Сергеева Е.В., Суворов А.В., Сапунова И.Д., Каримова И.Н. Предотвращение возможных ошибок лабораторной детекции волчаночного антикоагулянта. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (2): 108-111.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-2-108-111>

EDN: ZSAAHD

Для корреспонденции: Берковский Арон Леонидович, канд. биол. наук, директор НПО Ренам; e-mail: aron_56@mail.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 21.07.2024

Принята к печати 18.10.2024

Опубликовано 25.01.2025

Berkovsky A.L.¹, Babkeeva E.R.², Sergeeva E.V.¹, Suvorov A.V.¹, Sapunova I.D.², Karimova I.N.²

PREVENTION OF POSSIBLE ERRORS IN LABORATORY DETECTION OF LUPUS ANTICOAGULANT

¹ SPA Renam, Society of Haemophilia Patients, 125212, Moscow, Russia;

² ASNP Centre for External Quality Control of Clinical Laboratory Research, 129090, Moscow, Russia

The aim of the work is to identify the frequency and nature of typical errors in laboratory determination of lupus anticoagulant (LA). An interlaboratory comparative study was carried out according to the programme of the Federal System of External Quality Assessment of Clinical Laboratory Studies. The correctness of testing of control plasmas with different VA content was determined. Possible errors of VA detection were analysed. The frequency of errors in VA detection was determined. It is shown that the main error is the violation of the algorithm of the study. On the basis of the literature data the character of registered VA detection error was assessed and corresponding recommendations were presented.

Key words: lupus anticoagulant; laboratory detection; characteristic errors; external quality control; haemostasis

For citation: Berkovsky A.L., Babkeeva E.R., Sergeeva E.V., Suvorov A.V., Sapunova I.D., Karimova I.N. Prevention of possible errors in laboratory detection of lupus anticoagulant. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (2): 108-111 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-2-108-111>

EDN: ZSAAHD

For correspondence: Berkovskiy A.L, PhD, director of SPA «Renam»; e-mail: aron_56@mail.ru

Information about authors:

Berkovskiy A.L., <https://orcid.org/0000-0001-8213-1810>;

Babkeeva E.R., <https://orcid.org/0000-0001-5261-1821>;

Sergeeva E.V., <https://orcid.org/0000-0002-9137-343X>;

Suvorov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-2314-8353>;

Sapunova I.D., <https://orcid.org/0000-0002-1105-9804>;

Karinova I.N., <https://orcid.org/0000-0002-7428-0012>.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interests.

Funding. The study had no sponsor support.

Received 21.07.2024

Accepted 18.10.2024

Published 25.01.2025

Введение. Волчаночный антикоагулянт (ВА) - это группа иммуноглобулинов классов IgG и IgM, *in vitro* ингибирующих зависимость от фосфолипидов коагуляционные реакции, а *in vivo* способных вызывать развитие тромбозов. Выявление наличия ВА является значимым в различных областях медицины и сложной методической задачей [1 - 3]. Гетерогенная природа ВА обуславливает отсутствие «золотого стандарта» диагностического теста. О присутствии ВА свидетельствует пролонгация клоттингового теста, зависимость от фосфолипидов, демонстрация присутствия ингибитора свертывания в методе со смешением плазм и зависимости ингибитора от фосфолипидов [1, 4]. Алгоритм определения ВА основан на последовательном проведении скрининговых и подтверждающих тестов [1, 4, 5]. Для выявления ВА используют реагенты, содержащие разбавленные фосфолипиды (для усиления различия между нормальной и патологической плазмами), и реагенты с высокой концентрацией фосфолипидов (для ослабления антикоагулянтного действия ВА). Основными тестами для выявления ВА являются активированное частичное тромбoplastиновое время (АЧТВ), метод с применением активатора фактора X, выделенного из яда гадюки Рассела (dilute Russell viper venom time, dRVVT), протромбиновое и каолиновое время [1, 3]. Возможные ошибки лабораторной детекции наличия ВА могут быть связаны с несоблюдением строгих правил проведения клинических лабораторных исследований на различных этапах [1, 3 - 6]. Для всех ВА-тестов правильность результатов обеспечивается внутренним и внешним контролем качества. При внутреннем контроле обязательным является определение ВА в каждой серии ВА-положительных и ВА-отрицательных плазм. Валидация методов определения ВА на уровне внешней оценки качества (ВОК) достигается сравнением собственных данных с консенсусными результатами ВОК, что обеспечивает возможность оценки правильности получаемых в каждой лаборатории результатов. В Российской Федерации межлабораторные сравнительные испытания по ВА проводит Центр внешнего контроля качества Федеральной системы внешней оценки качества (ЦВКК ФСВОК).

Цель работы - определение частоты и характера лабораторных ошибок детекции ВА с помощью лабораторного тестирования контрольных плазм (КП) и анализа соответствующих данных литературы.

Материал и методы. В Центре внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований (ЦВКК) по аттестату аккредитации № RA.RU 430094 было проведено межлабораторное сличительное испытание (МСИ) «Волчаночный антикоагулянт» с использованием разработанной аналитической системы и с учетом требований к образцам контрольных плазм (КП). КП представляли собой лиофилизированную плазму человека с различным содержанием ВА или

без ВА, но с дефицитом факторов свертывания или с их ингибиторами. В 51 лабораторию Российской Федерации и стран СНГ были направлены 12 образцов КП для проведения трех циклов оценки качества (по 4 КП двух уровней: высокий титр ВА (нормализованное отношение >2,0), низкий титр ВА (нормализованное отношение ~ 1,2-1,6), и отсутствие ВА (в одном цикле). В программе МСИ были использованы реагенты различных производителей и КП производства НПО «Ренам» (Москва). Титры ВА в контрольных плазмах были установлены путем сравнения с плазмами, аттестованными против 1-й международной панели референсных плазм, содержащих ВА. Правильность результатов измерений оценивали путем сличения полученных участниками результатов с приписанными значениями, установленными производителем КП. Анализ неудовлетворительных результатов и распределения основных ошибок проводился с использованием программы Microsoft® Excel®. Также проведена оценка аналитических обзорных данных литературы, полученных с помощью программы «Google Академия».

Результаты. Доля результатов, не соответствующих критериям качества МСИ ФСВОК, составила 22,3%. Доли неудовлетворительных результатов выявления ВА в положительных, слабopоложительных и отрицательных КП составили 16,4%, 48,1% и 13,5% соответственно. К основным ошибкам, допущенным участниками при анализе КП, относились: аналитические ошибки, связанные с нарушением алгоритма исследования, неправильное измерение времени свертывания анализируемых плазм, неверные расчеты нормализованного отношения - 65,5% от общего числа выявленных ошибок; ошибки интерпретации результатов исследования - 10,9%; преаналитические ошибки (ошибки идентификации) - 7,3%; постаналитические ошибки, связанные с неверным заполнением формы для результатов - 16,3%. Подавляющее большинство лабораторий, давших ошибочные результаты (94,4%), нарушили алгоритм тестирования ВА. Согласно рекомендациям Международного общества по тромбозам и гемостазу, исследование на наличие/отсутствие ВА в образце следует проводить минимум двумя различными методами [1, 3]. Однако в большинстве случаев это положение лаборатории не выполняли. По данным за 2023 год, наибольшее количество неудовлетворительных результатов было получено при определении ВА в слабopоложительных образцах.

Обсуждение. В настоящее время данные международных систем ВОК свидетельствуют о значительном количестве ложноположительных и ложноотрицательных результатов лабораторного выявления ВА [4, 7, 8]. Для выяснения причин возможных ошибок нами был проведен анализ литературных данных и последних руководств [4, 7] по выявлению ВА. Правильность детекции ВА регламентирована следующими критериями:

удлинение одного или двух клоттинговых методов, зависящих от фосфолипидов; отсутствие коррекции пролонгированного времени свертывания в тесте со смешением испытуемой и нормальной плазм, коррекция удлинения времени свертывания в присутствии высоких концентраций фосфолипидов, а также отсутствие специфических ингибиторов факторов свертывания крови [1, 3, 4, 6]. К наиболее частым ошибкам выявления ВА относятся: неправильное определение времени свертывания нормальной и контрольной плазм, нарушение алгоритма исследований, неправильный расчет нормализованного отношения. Ложные результаты могут быть вызваны анализом плазмы больных, получающих антикоагулянтную терапию [1, 3, 5, 9]. На преаналитическом этапе для обеспечения правильности определения необходимо приготовление бестромбоцитарной плазмы. Заморозка/оттаивание проб вызывает значимое увеличение числа ложноотрицательных результатов и поэтому нежелательна. Наличие гемолиза, липемии и белков острой фазы в испытуемых образцах также искажает результаты коагуляционных методов выявления ВА. В тесте АЧТВ правильная интерпретация полученных результатов может быть искажена вследствие дефицита факторов свертывания, что рекомендуется определять, используя чувствительные и нечувствительные к ВА АЧТВ-реагенты. Увеличенная активность факторов VIII или IX может замаскировать наличие ВА и привести к ложноотрицательному результату [1, 5, 8, 10]. У больных, получающих антикоагулянтную терапию, по существующим рекомендациям детекция ВА должна проводиться через 1-2 недели после прерывания приема антагонистов витамина К и не ранее, чем через 12 часов после последнего введения низкомолекулярного гепарина. Интерпретация полученных результатов должна учитывать прием антикоагулянтных препаратов пациентом. Также с осторожностью следует рассматривать данные лабораторного определения ВА при беременности (рекомендуется повторное тестирование после родов) [3, 4, 7].

На аналитическом этапе обязательным требованием является использование внутреннего контроля качества лабораторного исследования, позволяющего вовремя выявить нарушения работы аналитической системы [1, 5, 8].

Существенное влияние на результаты определения ВА имеет выбор методов тестирования. По рекомендациям ISTH-SSC за 2009 год [11], преимущественно следует применять комбинацию тестов dRVVT и АЧТВ. Выбор dRVVT обусловлен повышенной специфичностью метода, а АЧТВ - чувствительностью. При использовании теста АЧТВ необходимо помнить о большой вариабельности реагентов по чувствительности. В Руководстве К.М.Д. Devreese и соавторов [4] панель рекомендуемых тестов расширена за счет метода протромбинового времени со сниженной активностью тромбопластина. Считают, что ограничение числа используемых тестов уменьшает межлабораторную вариабельность и количество ложноположительных результатов. Необходим также правильный выбор пограничных значений результатов исследования ложноположительных по ВА проб (отрезки отсечения), которые могут быть рекомендованы производителем или установлены в лаборатории с учетом специфич-

ности используемых аналитических систем (реагенты + коагулометр) [1, 4, 5, 10, 11]. В Руководстве от 2020 года [4] изменен срок подтверждения положительного результата на ВА с 6-ти недель (критерий Саппоро) на 12 недель (критерий Сиднея), гарантирующий исключение транзитного положительного результата теста на ВА после инфекции или приема лекарственных средств [4, 6]. Значимым требованием к алгоритму лабораторного выявления ВА является использование «нормализованного отношения», применение которого снижает межлабораторную вариабельность результатов за счет уменьшения различий в применяемых реагентах, инструментах и снижения роли «человеческого фактора» [1, 4, 6].

Заключение. Таким образом, проведенное МСИ и анализ соответствующих рекомендаций позволяет считать необходимыми условиями правильного лабораторного определения ВА жесткое соблюдение алгоритма исследования и обязательный внутрिलाбораторный контроль качества с аттестованными контрольными материалами. К основным требованиям корректного определения ВА относятся: правильный выбор методов выявления ВА; тщательное соблюдение правил преаналитического и аналитического этапа; обязательное участие в ВОК; контроль используемых реагентов и нормальных плазм; учет возможного влияния аналитической системы реагент + коагулометр; установление в каждой лаборатории собственных референсных пограничных значений (может потребовать значительных затрат рабочего времени и реагентов); подтверждение наличия ВА у пациента не менее чем через 12 недель после первого тестирования; проведение дополнительных тестов при получении сомнительных результатов; учет особенностей определения ВА у больных, получающих антикоагулянтную терапию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Keeling D., Mackie I., Moore G., Greer I., Greaves M. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br. J. Haematology*. 2012; 157: 47-58.
2. Galli M., Luciani D., Bertolini G. Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood*. 2003; 101: 1827-32.
3. Берковский А.Л., Калашникова Л.А., Сергеева Е.И., Суворов А.В., Качалова Н.Д., Васильев С.А. и др. Диагностика волчаночного антикоагулянта. Методическое руководство. М.: Изд-во «Принт»: 2011.
4. Devreese K.M.J., de Groot P.G., de Laat B., Erkan D., Favaloro F.J., Mackie I. et al. Guidance from the scientific and standardization committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International society on thrombosis and haemostasis. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18: 2828-39. DOI: 10.1111/jth.15047.
5. Ledford-Kraemer M.R., Moore G.W., Bottenus R., Daniele C., de Groot P.G., Exner T. et al. Laboratory testing for the lupus anticoagulant. Approved guideline. 1st ed. CLSI document H60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
6. Pengo V., Tripodi A., Reber G., Rand J., Ortel T., Galli M. et al. Subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibody of the scientific and standardisation committee of the international society on thrombosis and haemostasis. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7(10):1737-47.
7. Tripodi A., Cohen H., Devreese K.M.J. Lupus anticoagulant detection in anticoagulated patients. Guidance from the scientific and standardization committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International society on thrombosis and haemostasis. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(7): 1569-75.

8. Favaloro E.J., Bonar R., Marsden K. Internal quality control and external quality assurance in testing for antiphospholipid antibodies: part II—lupus anticoagulant. *Semin Thromb. Hemost.* 2012; 38(4): 404-11.
 9. Liestol S., Jacobsen E.M., Wisloff F. Dilute prothrombin time-based lupus ratio test. Integrated LA testing with recombinant tissue thromboplastin. *Thrombosis Research.* 2002; 105: 177–82.
 10. Moore G.W., Savidge G.F. Heterogeneity of Russell's viper venom affects the sensitivity of the dilute Russell's viper venom time to lupus anticoagulants. *Blood Coagulation and Fibrinolysis.* 2004; 15: 279–82.
 11. Horowitz G., Altaie S., Boyd J., Ceriotti F., Garg U., Horn P. et al. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: Approved Guideline. 3rd ed. CLSI document C28-A3c. 2008; Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
-
- REFERENCES
1. Keeling D., Mackie I., Moore G., Greer I., Greaves M. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br. J. haematology*, 2012; 157: 47-58.
 2. Galli M., Luciani D., Bertolini G. Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood.* 2003; 101: 1827–32.
 3. Berkovskij A.L., Kalashnikova L.A., Sergeeva E.I., Suvorov A.V., Kachalova N.D., Vasil'ev S.A. et al. Lupus anticoagulant diagnosis [Diagnostika volchanochnogo antikoagulyanta. Metodicheskoe rukovodstvo]. Moscow: Print; 2011. (in Russian)
 4. Devreese K.M.J., de Groot P.G., de Laat B., Erkan D., Favaloro F.J., Mackie I. et al. Guidance from the scientific and standardization committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International society on thrombosis and haemostasis. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18: 2828–39. DOI: 10.1111/jth.15047.
 5. Ledford-Kraemer M.R., Moore G.W., Bottenus R., Daniele C., de Groot P.G., Exner T. et al. Laboratory testing for the lupus anticoagulant. Approved guideline, 1st ed. CLSI document H60. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
 6. Pengo V., Tripodi A., Reber G., Rand J., Ortel T., Galli M. et al. Subcommittee on lupus anticoagulant/antiphospholipid antibody of the scientific and standardisation committee of the International society on thrombosis and haemostasis. Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7(10):1737-47.
 7. Tripodi A., Cohen H., Devreese K.M.J. Lupus anticoagulant detection in anticoagulated patients. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J. Thromb. Haemost.* 2020; 18(7): 1569-75.
 8. Favaloro E.J., Bonar R., Marsden K. Internal quality control and external quality assurance in testing for antiphospholipid antibodies: part II—lupus anticoagulant. *Semin Thromb. Hemost.* 2012; 38(4): 404-11.
 9. Liestol S., Jacobsen E.M., Wisloff F. Dilute prothrombin time-based lupus ratio test. Integrated LA testing with recombinant tissue thromboplastin. *Thrombosis Research.* 2002; 105: 177–82.
 10. Moore G.W., Savidge G.F. Heterogeneity of Russell's viper venom affects the sensitivity of the dilute Russell's viper venom time to lupus anticoagulants. *Blood Coagulation and Fibrinolysis.* 2004; 15: 279–82.
 11. Horowitz G., Altaie S., Boyd J., Ceriotti F., Garg U., Horn P. et al. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guideline. 3rd ed. CLSI document C28-A3c. 2008; Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.