

Таблица 4

## Типы неоднозначностей по локусу HLA-DRB1

№ п/п	Тип неоднозначности	Число образцов с данным типом неоднозначности
1	DRB1*03+DRB*14 или DRB1*14:79+DRB1*14:95	1
2	DRB1*08+DRB1*14:06 или DRB1*13:55+DRB1*14:52	1
3	DRB1*01:22+DRB1*04 или DRB1*04+DRB1*04	1

При проведении анализа неоднозначностей с применением листа "редких" аллелей в неоднозначности типа 1 присутствует один "редкий" аллель – DRB1\*14:79 (нет данных о популяционной принадлежности индивидуума, у которого аллель был выявлен), в неоднозначности типа 3 также присутствует один "редкий" аллель – DRB1\*01:22 (нет данных о популяционной принадлежности индивидуума, у которого аллель был выявлен). В неоднозначности типа 2 выявлено сразу два "редких" аллеля – DRB1\*14:06 (нет данных о популяционной принадлежности индивидуума, у которого аллель был выявлен) и DRB1\*13:55 (выявлен у представителя латиноамериканской популяции). Несмотря на то что в последнем случае теоретическое раскрытие неоднозначности возможно, принято решение о повторном типировании данного образца по локусу HLA-DRB1 другим методом, т. е. показатель неоднозначности локуса HLA-DRB1 остается прежним.

Таким образом, наборы реагентов LABType SSO (One Lambda, США) с разрешением от среднего к высокому применительно к населению Приволжского федерального округа характеризуются относительно высокими показателями неоднозначности по локусам HLA-A и HLA-B. Поэтому дальнейшие исследования целесообразно направить на выбор второго метода HLA-типирования, оптимального для раскрытия выявленных типов неоднозначностей, и по-

следующего определения относительной частоты встречаемости каждой пары аллельных вариантов из неоднозначности. Определение относительной частоты встречаемости каждой пары аллельных вариантов из неоднозначности и установление порога прекращения разрешения неоднозначности (случай, когда вероятность появления одной пары аллельных вариантов примерно в 20 000 раз ниже вероятности появления другой [5]) позволят сократить долю неоднозначностей, требующих разрешения, с минимальным риском ошибки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Логинова М. А., Пармонов И. В., Трофимова Н. П. // Вестн. службы крови России. – 2010. – № 3. – С. 27–31.
2. Логинова М. А., Пармонов И. В., Трофимова Н. П. // Вестн. трансплантол. и искусственных органов. – 2010. – Т. 12, №4. – С. 33–38.
3. Пальцев М. А., Хаитов Р. М., Алексеев Л. П. Иммуногенетика человека и биобезопасность. – М., 2009.
4. Abdulwahab N., Lake S., DiPaola N. et al. // Hum. Immunol. – 2010. – Vol. 71 (suppl. 1). – P. S97.
5. Adams S. D., Barracchini K. C., Chen D. et al. // J. Translational Med. – 2004. – Vol. 2. – P. 30–36.
6. DeOliveira A., Balgansuren G., Holeman B. et al. // Hum. Immunol. – 2010. – Vol. 71(suppl. 1). – P. S87.
7. Hibbet S., Willey P., Mohanakumar T. et al. // Hum. Immunol. – 2010. – Vol. 71 (suppl.). – P. S11.
8. <http://allelefrequencies.net>.
9. <http://hla.alleles.org/nomenclature/stats.html>.
10. <http://www.bmdw.org>.
11. Mackay I., Rosen F. S. // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 343, № 11. – P. 782–787.
12. Mayr W. R. // ISBT Science Series. – 2010. – Vol. 5. – P. 176–178.
13. Middleton D., Gonzalez F., Fernandez-Vina M. et al. // Tissue Antigens. – 2009. – Vol. 74, № 6. – P. 480–485.
14. Morishima Y. // ISBT Science Series. – 2009. – Vol. 4. – P. 318–322.

Поступила 25.01.11

© М. В. КУВШИНОВ, А. П. ОБРЯДИНА, 2012

УДК 615.373:57.083.33.083.185

М. В. Кувшинов, А. П. Обрядина

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СРАВНЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТОВ**

ООО НПО "Диагностические системы", Нижний Новгород

*Проведен анализ ситуации на отечественном рынке иммуноферментных диагностикумов с количественным учетом результатов. Рассмотрены проблемы совпадения и интерпретации их результатов, проанализированы причины их несовпадения. Объяснены понятия биологической неопределенности и метрологической прослеживаемости.*

**Ключевые слова:** иммуноферментные диагностикумы, совпадение результатов, неопределенность результатов, метрологическая прослеживаемость

M.V. Kuvshinov, A.P. Obryadina

**THE ACTUAL ISSUES OF COMPARING THE RESULTS OF QUANTITATIVE IMMUNE-ENZYME TESTS**

*The analysis was applied to the situation on national market of immune-enzyme diagnosticums with further quantitative reporting of results. The issues of coincidence and interpretation of results and causes of discrepancy are considered. The notions of biologic ambiguity and metrological traceability are explained.*

**Key words:** immune-enzyme diagnosticum, coincidence of results, ambiguity of results, metrological traceability

Таблица 1

## Правила пересчета результатов в различные единицы измерений

Показатель	Коэффициент К для пересчета	
	в традиционные единицы	в единицы СИ
ТТГ, ФСГ, ЛГ, β-ХГЧ	(мМЕ/мл) · 1 = МЕ/л	(МЕ/л) · 1 = мМЕ/мл
Т3 общий	(нмоль/л) · 0,651 = нг/мл	(нг/мл) · 1,536 = нмоль/л
Т3 свободный	(пмоль/л) · 0,651 = пг/мл	(пг/мл) · 1,536 = пмоль/л
Т4 общий	(нмоль/л) · 0,777 = нг/мл	(нг/мл) · 1,287 = пмоль/л
Т4 свободный	(пмоль/л) · 0,777 = пг/мл	(пг/мл) · 1,287 = пмоль/л
Пролактин	(мМЕ/мл) · 0,048 = нг/мл	(нг/мл) · 21 = мМЕ/мл
Эстрадиол	(пмоль/л) · 0,272 = пг/мл	(пг/мл) · 3,67 = пмоль/л
Тестостерон	(нмоль/л) · 0,288 = нг/мл	(нг/мл) · 3,47 = нмоль/л
Прогестерон	(нмоль/л) · 0,314 = нг/мл	(нг/мл) · 3,18 = нмоль/л
Кортизол	(нмоль/л) · 0,362 = нг/мл	(нг/мл) · 2,76 = нмоль/л
ДГЭА-сульфат	(мкмоль/л) · 0,369 = мкг/мл	(мкг/мл) · 2,71 = мкмоль/л
17-ОН прогестерон	(нмоль/л) · 0,33 = нг/мл	(нг/мл) · 0,03 = нмоль/л
АФП	(МЕ/мл) · 1,205 = нг/мл	(нг/мл) · 0,83 = МЕ/мл
Свободный эстриол	(нмоль/л) · 0,289 = нг/мл	(нг/мл) · 3,45 = нмоль/л

Каждый специалист лабораторной службы рано или поздно сталкивается с необходимостью сравнения результатов двух различных тестов. Эта задача усложняется, если речь идет о тест-системах с количественным учетом результатов, какими являются, например, все наборы для определения гормонов и онкомаркеров. Полноценное сравнение адекватности двух методов (тест-систем) – достаточно сложный и объемный проект, требующий коллекции образцов, репрезентативной по всему диапазону измерения, специального дизайна эксперимента и применения определенных статистических методов. Как правило, все эти исследования проводятся производителями диагностических тестов на этапе их разработки и на рынок допускаются тесты, адекватность которых показана в сравнении с одним или несколькими существующими методами.

Вместе с тем в рутинной практике клинической лаборатории, как правило, в качестве референсных используются тест-системы, на которых лаборатория работала ранее. В ходе сравнения формируется выборка из образцов сывороток от пациентов с различным гормональным статусом, после чего каждый образец параллельно тестируется обоими методами (наборами), и в итоге делается вывод о совпадении или несовпадении результатов (сходимости). Когда речь идет о тест-системах с количественным учетом результатов, можно говорить о количественном и качественном совпадении результатов.

Качественное совпадение – это попадание или непопадание результатов обоих тестов в один диапазон, обусловленный клиническим статусом пациента. Для определения количественного совпадения или оценки зависимости для рядов данных используется коэффициент линейной корреляции Пирсона, характер зависимости выражается чаще всего через формулу линейной регрессии, а близость точных значений результатов тестирования каждого индивидуального образца оценивается с учетом неопределенности измерений. Все эти методы оценки доступны средней лаборатории, однако камнем преткновения являются, как правило, гораздо более простые ошибки, такие как сравнение величин, выраженных в разных единицах, использование референсных интервалов

Для корреспонденции:

Кувшинов Михаил Валерьевич, канд. мед. наук, дир. по маркетингу  
Адрес: 603093, Н. Новгород, ул. Яблоневая, 22, аб/я 69  
Телефон: (831) 434-86-83  
E-mail: kuvshinovmv@npods.ru

только одного производителя, невозможность оценить неопределенность измерения.

Результаты иммуноферментного анализа (ИФА) могут быть выражены как в традиционных единицах, так и в единицах СИ, соотношенных с единицами объема (л, мл). В табл. 1 представлены коэффициенты для пересчета результатов, полученных в традиционных единицах, в единицы СИ.

Проблема интерпретации результатов традиционно является актуальной. В большинстве лабораторий пользуются диапазонами, приведенными в инструкциях к наборам, часто считая их абсолютной истиной. Это не является правильным, поскольку содержание многих маркеров может варьировать в разных популяциях в зависимости от географических, этнических, расовых и других особенностей. В связи с этим каждый производитель в инструкциях к наборам оговаривает, что приведенные данные являются ориентировочными и каждая лаборатория должна уточнить собственные нормальные значения, характерные для конкретной территории. Гораздо более грубой ошибкой, однако, является использование референсных интервалов одного из сравниваемых тестов для интерпретации результатов другого, часто не обращая внимания даже на то, что величины выражены в разных единицах! В идеале каждая лаборатория

должна не только определять референсные интервалы для каждого аналита, но и периодически их пересматривать в соответствии с п. 5.5.5 ГОСТ Р ИСО 15189–2006 [1]: «Биологические референсные интервалы следует периодически пересматривать. Если лаборатория имеет основания полагать, что данный референсный интервал больше не соответствует референсной популяции, должны быть предприняты исследования с дальнейшими, при необходимости, коррективами. Пересмотр биологических референсных интервалов также должен иметь место, когда лаборатория изменяет аналитические и преаналитические процедуры».

Сравнение результатов тестирования индивидуальных образцов неравномерно без учета неопределенности измерения, особенно если речь идет о значениях концентраций аналитов, близких к пограничным (рис. 1). Из приведенных на рис. 1 примеров истинным расхождением можно считать лишь пример № 1, когда один результат находится в нормальном диапазоне, а другой – повышен. Примеры № 1, 4 и 5 демонстрируют качественное совпадение результатов. Необходимо учитывать, что при измерении и сравнении содержания аналита в концентрациях, находящихся выше верхнего калибратора (в данном примере 16 мкМЕ/мл), образец требует предварительного разведения и учета в дальнейшем фактора



Рис. 1. Возможные результаты сравнения двух тестов (на примере ТТГ).

По оси абсцисс – концентрация ТТГ, мкМЕ/мл.

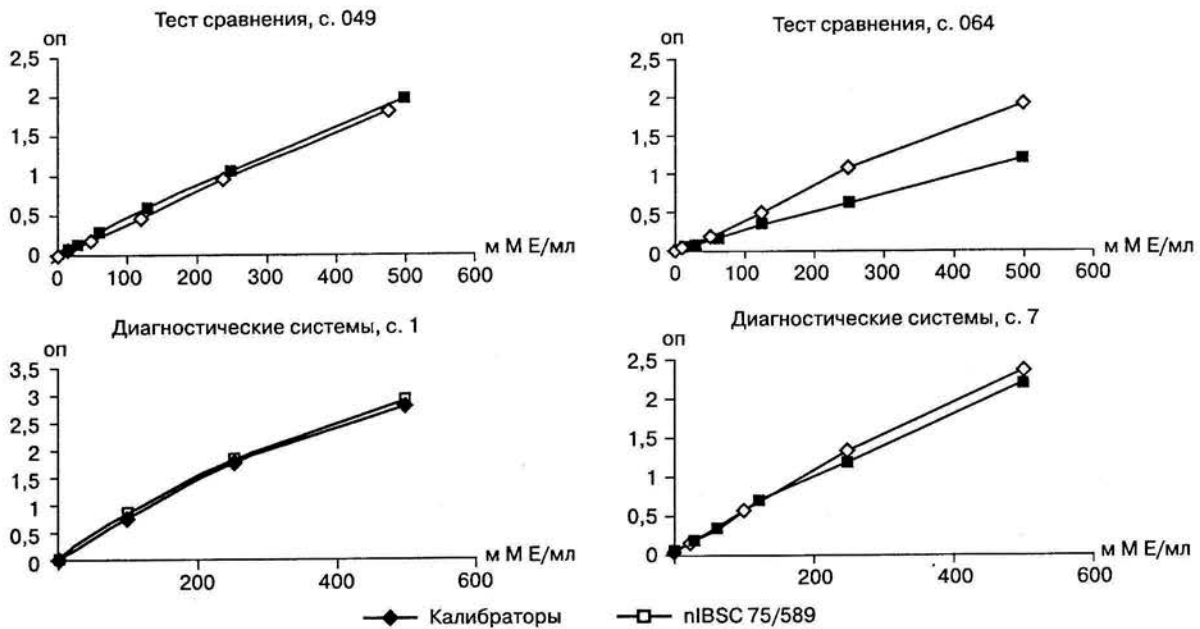


Рис. 2. Кривые титрования 4-го международного стандарта ВОЗ (NIBSC 75/589) и калибровочные кривые коммерческих тестов для определения ХГч (результаты эксперимента ООО НПО "Диагностические системы").

разведения. Это может служить дополнительным источником погрешности (пример № 4).

Отдельной проблемой являются ситуации, когда результаты попадают в район пограничных значений, но в разные диапазоны (пример № 2). В этом случае часто делается вывод о качественном несовпадении результатов, что является неверным, поскольку практически всегда разброс значений лежит в пределах неопределенности измерения лаборатории.

Любой результат лаборатории отражает содержание аналита в пробе пациента с некоторой степенью неопределенности. Суммарная лабораторная ошибка (TE) складывается из лабораторной составляющей систематической погрешности в условиях повторяемости (смещение; B) и случайной составляющей погрешности (SD). Z Brooks [5] предлагает использовать следующую формулу:

$$TE = IBI + 2SD, (1)$$

или

$$\%TE = I\%BI + 2CV\% (2),$$

где CV – коэффициент вариации.

Коэффициент вариации для планшетного анализа регламентируется ГОСТ Р 51352-99 [2] и не должен превышать 8%. Таким образом, учитывая только случайную составляющую ошибки измерения, мы имеем для двух сравниваемых величин (пример № 2): 3,7 ± 0,59 (3,11–4,29) мкМЕ/мл и 4,2 ± 0,67 (3,53–4,87) мкМЕ/мл.

Таблица 2

Контрольные результаты определения ТТГ в контрольном препарате ГормоКон для иммуноанализа (ЗАО "Хема-Медика", сер. 605)

Производитель	Тест-система	Единицы	Контроль	
			среднее	диапазон
Хема-Медика	ИФА	мМЕ/л	2,39	2,15–2,63
Алкор-Био	ИФА	мкМЕ/мл	2,49	2,24–2,74
Вектор-Бест	ИФА	мМЕ/л	2,40	2,16–2,64
Иммунотех	ИФА	мкМЕ/мл	3,98	3,58–4,38
Abbott	Axsym	мкМЕ/мл	3,61	3,25–3,97
Bayer	Advia Centaur	мкМЕ/мл	1,10	0,99–1,21
Roche	Elccsys	мкМЕ/мл	2,88	2,59–3,17

В п. 5. 6.2 ГОСТ Р ИСО 15189–2006 «Лаборатории медицинских. Частные требования к качеству и компетентности» [1] содержится следующая информация: «Лаборатория должна установить фактическую и возможную неопределенность результатов. Должны быть приняты во внимание важные компоненты неопределенности. Источниками неопределенности могут быть взятие проб, подготовка проб, отбор порций проб, калибраторы, стандартные образцы, используемое оборудование, условия окружающей среды, условия взятия пробы, смена оператора».

Основным фактором неопределенности лабораторных измерений, не являющихся аналитической вариацией, является биологическая вариабельность [6–8, 12, 14].

Биологической вариабельностью называются естественные колебания содержания элементов биологических жидкостей организма около определенной гомеостатической точки (величины). Она бывает двух видов и выражается через коэффициент вариации [14]:

- полученная при анализе образцов от одного пациента (within-subject variation, CVw);
- полученная при анализе образцов от разных пациентов (between-subject variation, CVg).

Требования к аналитическим характеристикам метода, позволяющим различить патологическую и аналитическую вариации, основываются на понятии биологической вариабельности и описаны в ГОСТ Р 53022.2–2008 [3].

Лаборатория должна оценивать неопределенность измерений и информировать врача-клинициста о достоверности выдаваемого результата.

Проблема сопоставления результатов количественных тест-систем заключается в том, что наборы разных производителей (как отечественных, так и зарубежных) часто дают заведомо различающиеся результаты (табл. 2) даже с учетом неопределенности измерений.

Причиной несовпадения уровня определяемого аналита двумя разными методами (тест-системами) при исследовании одного индивидуального образца может быть как метод-зависимое смещение, характеризующееся селективностью (специфичностью антител), пределом обнаружения, конструктивными особенностями теста, так и использование аттестованных относительно разных эталонов калибраторов.

Единых требований к выбору стандартов нет; более того, для целого ряда анализов стандартов нет вообще.

Производитель, однако, должен указывать в инструкции к набору и паспорте к серии стандарт (эталон) более высокого уровня, по которому аттестуются калибровочные пробы, и обеспечивать метрологическую прослеживаемость и межсерийную воспроизводимость. Другими словами, калибраторы каждой серии препарата должны быть аттестованы относительно одного стандарта и этот стандарт должен быть указан.

Результаты постоянного мониторинга тест-систем, представленных на рынке, показали, что не всегда производителям удается постоянно, от серии к серии, обеспечивать номинацию калибраторов в соответствии с заявленным стандартом (рис. 2).

Подобные факты, к сожалению, не только делают невозможным сравнение результатов двух тестов и более, но и подвергают сомнению ценность подобной лабораторной информации для клиницистов.

Исследование, проведенное С. Stephan и соавт. [15], выявило значительные различия результатов исследования ПСА (общий и свободный), полученных с использованием пяти наиболее известных зарубежных наборов для автоматических анализаторов. Одним из объяснений такой ситуации, по мнению авторов, является то, что наборы лишь трех производителей калиброваны по международному стандарту. Ряд работ, проведенных за последние годы, подтверждает значимость указанной проблемы [4, 9–11, 13].

**Заключение.** Современные рыночные условия предоставляют возможность широкого выбора диагностикомов как отечественных, так и зарубежных производителей с открытым и закрытым форматом анализа. Клинико-диагностические лаборатории должны использовать регламентированные методы для оценки и сравнения, учитывая ограничения в применении метода, особенности анализа и используемых методик.

## ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО 15189–2006 "Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности. – М., 2007.
2. ГОСТ Р 51352–99. Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Методы испытаний. – М., 1999.
3. ГОСТ Р 53022.2–2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству лабораторных исследований. Ч. 2. Оценка аналитической надежности методов исследования (точность, чувствительность, специфичность). – М., 2009.
4. Blijenberg E. G., Yurdakul G., Van Zelst B. D. et al. // Br. J. Urol. Int. – 2001. – Vol. 88. – P. 545–550.
5. Brooks Z. Performance-Driven Quality control. – 2001.
6. Browning M. C., Bennet W. M., Kirkaldy A. J., Jung R. T. // Clin. Chem. – 1988. – Vol. 34, № 4. – P. 696–699.
7. Erden G., Barazi A. O., Tezcan G., Yildirimkaya M. M. // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 2008. – Vol. 68, № 3. – P. 212–218.
8. Jensen E., Petersen P. H., Blaabjerg O., Hegedüs L. // Clin. Chem Lab. Med. – 2007. – Vol. 45, № 8. – P. 1058–1064.
9. Kort S. A., Martens F., Vanpoucke H. et al. // Clin. Chem. – 2006. – Vol. 52. – P. 1568–15740.
10. Link R. E., Shariat S. F., Nguyen C. V. et al. // J. Urol. (Baltimore). – 2004. – Vol. 171. – P. 2234–2238.
11. Patel D., White P. A., Milford W. A. // Br. J. Urol. Int. – 2000. – Vol. 85. – P. 686–689.
12. Ricos C., Alvarez V., Cava F. et al. // <http://www.westgard.com/guest17.htm>
13. Roddam A. W., Rimmer J., Nickerson C., Ward A. M. // Ann. Clin. Biochem. – 2006. – Vol. 43. – P. 35–48.
14. Soletormos G., Semjonow A., Sibley P. E. et al. // Clin. Chem. – 2005. – Vol. 51. – P. 1342–1351.
15. Stephan C., Kramer J., Meyer H. A., Kristiansen G. // Br. J. Urol. Int. – 2007. – Vol. 99. – P. 1427–1431.

Поступила 22.03.11

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 615.281.8:578.828.61.015.8

А. И. Мызникова, Д. А. Куевда, Г. А. Шипулин, Н. Н. Ладная, В. В. Покровский

### ВНЕШНИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ИДЕНТИФИКАЦИИ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ К АНТИРЕТРОВИРУСНЫМ ПРЕПАРАТАМ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОГРАММЫ "РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВИЧ 2009"

ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

*Разработана панель контрольных образцов для внешней оценки качества работы лабораторий, выполняющих исследование лекарственной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам. Проведен первый цикл внешнего контроля качества идентификации мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ к антиретровирусным препаратам. Результаты цикла выявили ряд существующих проблем и определили необходимость регулярного проведения такого рода исследований в будущем.*

**Ключевые слова:** внешний контроль качества, лекарственная устойчивость ВИЧ к антиретровирусным препаратам, секвенирование

*A.I. Myznikova, D.A. Kuyevda, G.A. Shipulin, N.N. Ladnaya, V.V. Pokrovsky*

#### THE OUTER QUALITY CONTROL OF IDENTIFICATION OF MUTATIONS OF HIV DRUG RESISTANCE TO ANTI-RETROVIRUS PREPARATIONS: THE RESULTS OF "HIV RESISTANCE-2009" PROGRAM

*The panel of control samples for outer quality control of laboratories functioning was developed to be implemented in the research of HIV drug resistance to anti-retrovirus preparations. The first cycle of outer quality control was applied to identify mutations of HIV drug resistance to anti-retrovirus preparations. The results of cycle revealed certain significant issues and determined the need in regular implementation of studies of this kind in future.*

**Key words:** outer quality control, drug resistance, anti-retrovirus preparation