

# Обзор международной гематологической согласительной группы: предлагаемые критерии действий после выполнения автоматизированного общего анализа крови (СВС) и дифференциального анализа лейкоцитов

P. W. BARNES,<sup>1</sup> S. L. MCFADDEN,<sup>2</sup> S. J. MACHIN,<sup>3</sup> E. SIMSON<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Clinical Hematology, Department of Laboratories, Barnes-Jewish Hospital, St. Louis, Missouri, USA; <sup>2</sup>McFadden Laboratory Consulting, Columbus, Ohio, USA; <sup>3</sup>Department of Haematology, University College London Hospital, London, UK; <sup>4</sup>Center for Clinical Laboratories, Department of Pathology, The Mount Sinai Medical Center, New York, NY, USA

Статья получена 5 апреля 2005 г.; принята 6 апреля 2005 г.

## РЕЗЮМЕ

В течение полувека, с самого начала использования автоматизированных анализаторов, неавтоматизированные методики, в особенности микроскопическое исследование окрашенных мазков крови, дополняли результаты, полученные с помощью анализаторов, и позволяли получать полный отчет о гематологических параметрах клинического образца. С течением времени, в связи с увеличением возможностей и улучшением технических характеристик автоматизированных анализаторов, относительные роли автоматизированных систем и вспомогательных процедур изменились. Ручной анализ (чаще всего, исследование мазка), как правило, выполняется после автоматизированного анализа при получении результатов, удовлетворяющих определенным критериям. В различных лабораториях эти критерии слабо согласованы. Принимая во внимание насущную потребность в общепринятых рекомендациях («правилах»), касающихся критериев выполнения ручного исследования на основании данных СВС или дифференциального анализа, полученных с помощью автоматизированных гематологических анализаторов, доктор Беренд Ховен (Berend Houwen) весной 2002 г. организовал встречу 20 экспертов для обсуждения данного вопроса и определения наиболее подходящих критериев. На этой встрече общими усилиями были выработаны 83 правила. Затем данные правила были проверены в 15 лабораториях на 13 298 образцах крови. После выполнения подробного анализа данных, эти правила были пересмотрены и объединены в 41 правило, которые мы представляем в данной работе. Эти рекомендации включают правила, предназначенные для исследования образцов, проанализированных впервые, и правила, основанные на использовании дельты (разницы результатов) – для клинических образцов, взятых повторно и протестированных в течение 72 часов. Мы надеемся, что данные правила окажутся полезны для большого количества гематологических лабораторий по всему миру. Для того чтобы упростить валидацию этих правил в лабораториях перед их использованием в повседневной

работе для анализа клинических образцов, к данной статье прилагается протокол валидации. *LabHematol.* 2005;11:83-90.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** Клетки крови • Согласованное решение • Дельта Маркеры

## ВВЕДЕНИЕ

Исследование клеток крови человека впервые было проведено 330 лет назад Левенгуком, который сделал первое описание красных кровяных телец, используя простой микроскоп, состоящий из небольших двояковыпуклых линз. Левенгук даже сумел измерить диаметр клеток [1]. Появление более совершенных микроскопов позволило подробно описать лейкоциты, эритроциты, а затем тромбоциты и разработать методы подсчета клеток в определенном объеме крови. Мир клеток был бесцветен до тех пор, пока Пауль Эрлих не окрасил клетки крови анилиновыми красителями и сумел разглядеть ядро, цитоплазму и тонкие структуры клетки [2]. Он дифференцировал белые клетки на пять основных типов, которые используются для классификации и по сей день. В течение первой половины двадцатого века ручные методы подсчета лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов в камере откалиброванного объема, а также неавтоматизированные методы определения гемоглобина и PCV широко использовались в клинической практике. Практически всегда они сопровождались микроскопическим исследованием дифференциального состава лейкоцитов в окрашенных мазках и оценкой размеров и морфологии эритроцитов и тромбоцитов.

Уоллас Культер разработал и в 1956 г. представил первый автоматизированный анализатор для подсчета и определения размера клеток [3]. Это был одноканальный прибор, который произвел революцию, значительно упростив трудоемкий и неточный ручной анализ в счетных камерах.

В 1960 г. были разработаны многопараметровые анализаторы для выполнения СВС. В течение 1970 г. были созданы два конкурирующих метода дифференциального подсчета лейкоцитов. Первый метод – это анализ изображений, который имитировал микроскопическое исследование, выполняемое человеком. Однако из-за многочисленных ограничений этот метод не выдержал конкуренции. Второй метод использовал цитохимическую идентификацию клеток с помощью автоматизированного проточного дифференциального счетчика [4]. Впоследствии был разработан метод дифференциального подсчета лейкоцитов с использованием различных способов идентификации клеток. В течение 1980 г. СВС и дифференциальный подсчет лейкоцитов были объединены в одной платформе, что привело к созданию современных широко используемых многопараметровых анализаторов, которые в настоящее время производятся целым рядом компаний. В данных анализаторах появилась функция маркировки результатов. Эта функция предупреждает оператора об аномальной морфологии клеток и о наличии аномальных клеток, которые прибор не может подсчитать, а также об определенных характеристиках образца, например, об агрегации тромбоцитов, которые могут привести к появлению недостоверных результатов.

В течение полувека с момента первого применения автоматизированных анализаторов ручные методики, в особенности микроскопическое исследование окрашенных мазков крови, дополняли результаты, полученные с помощью анализаторов, и позволяли получать полный отчет о гематологических параметрах клинического образца. С течением времени, в связи с увеличением возможностей и улучшением технических характеристик автоматизированных анализаторов, относительные роли автоматизированных систем и вспомогательных процедур изменились. Общеизвестно, что автоматизированные системы превосходно подходят для подсчета лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, а также для дифференциального подсчета хорошо различающихся (зрелых) субпопуляций лейкоцитов, в то время как визуальная микроскопия – непревзойденный метод дифференциации клеток, в особенности незрелых, на основании их тонких особенностей. При анализе многих образцов уже не требуется проводить ни микроскопическое исследование мазков, ни ручной дифференциальный подсчет клеток. Необходимость сокращения расходов в современных лабораториях, а также нехватка квалифицированного, обученного персонала вызвали повышенное внимание к методикам, позволяющим уменьшить количество ручных процедур, не потеряв в качестве результатов. Поскольку микроскопия мазков является основной вспомогательной процедурой, решение о необходимости проведения этого исследования для каждого конкретного образца играет главную роль в снижении расходов гематологической лаборатории, производительности и скорости представления отчета. Анализ мазков предоставляет информацию, дополняющую результаты, полученные с помощью анализатора, или совершенно новые данные. Также он позволяет подтвердить результаты, полученные анализатором. Как правило, микроскопическое исследование выполняется в том случае, когда результаты, полученные с помощью анализатора, удовлетворяют определенным критериям. Каждая лаборатория вырабатывает свои собственные критерии, в зависимости от которых по завершении автоматизированного анализа образца крови предпринимаются те или иные действия. Необходимо максимально уменьшить количество образцов, требующих от оператора выполнения каких-либо действий (как правило, анализа мазков), но при этом не допустить появления ложных, особенно ложных отрицательных, или противоречивых результатов. В любой лаборатории можно проверить, насколько эффективно используемые правила минимизируют количество ложных отрицательных и ложных положительных результатов. В

ходе неформального обмена информацией выяснилось, что частота микроскопических исследований в различных лабораториях варьирует от 5% до 95%. Этот факт нельзя объяснить только отличиями в популяциях пациентов или в технических характеристиках анализаторов.

Принимая во внимание насущную потребность в общепринятых рекомендациях («правилах»), касающихся критериев выполнения ручного исследования на основании данных автоматизированного СВС или дифференциального подсчета, доктор Беренд Ховен (Berend Houwen) весной 2002 г. организовал встречу 20 экспертов для обсуждения данного вопроса и определения наиболее подходящих критериев. Доктор Ховен собрал представителей 17 гематологических лабораторий из 6 стран. В этих лабораториях использовались наиболее совершенные схемы исследования результатов. Лаборатории обслуживали высокоспециализированные клиники, онкологические, муниципальные, детские больницы и врачебные кабинеты (см. приложение 1). В течение почти трех дней проводилось подробное обсуждение каждого параметра СВС. Специалисты пришли к единому мнению относительно правил, определяющих ситуации, в которых следует проводить тщательное исследование результатов автоматизированного подсчета клеток. В итоге, может быть принято решение о выполнении дополнительного тестирования или исследования мазка крови. Представители 15 лабораторий согласились проверить совместно выработанные правила в своих лабораториях, следуя подробному протоколу, который был разработан после этой встречи. В данной статье представлены результаты разработки и проверки выработанных правил, а также предлагается схема их внедрения в повседневную деятельность клинических гематологических лабораторий.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проверки выработанных правил каждой лаборатории было предложено протестировать 1000 образцов. В течение нескольких дней из совокупности ежедневных образцов случайным образом выбирались образцы для исследования, которые представляли нормальную популяцию пациентов данного учреждения. Из 1000 образцов 800 представляли собой пробы, сделанные впервые, что позволило проверить эффективность правил при проведении первого обследования. Остальные 200 образцов были отобраны не впервые, что позволило проверить правила дельты. Исследование выполнялось с помощью гематологических анализаторов согласно стандартной рабочей процедуре, принятой в каждой конкретной лаборатории для анализа клинических образцов. Кроме того, были приготовлены мазки крови всех образцов, независимо от того, требовалось это согласно стандартной рабочей процедуре или нет. В ходе работы должно было проводиться ручное определение дифференциального состава всех клинических образцов и исследование мазков. Если ручное определение дифференциальных параметров и исследование мазков проводилось в ходе рутинного тестирования образцов, эти результаты могли быть использованы.

Все данные представлялись в руководящий комитет для анализа. Данные представленные каждым участником в табличном формате для всех образцов включали следующую информацию: идентификатор образца; список всех совместно выработанных правил, которые были активированы; результаты анализа мазка; маркеры прибора; все числовые значения СВС; информация о том, проводилось ли исследование мазков на основании активации правил, принятых только в данной лаборатории; разницу в результатах анализа образцов и комментарии, сделанные при обнаружении существенных аномалий. Затем данные были тщательно изучены членами руководящего комитета.

ТАБЛИЦА 1. Критерии определения положительных мазков

1. Морфология
  - a. Морфология эритроцитов 2+/небольшое количество и больше. Единственное исключение – малярия; при обнаружении плазмодия мазок считается положительным.
  - b. Морфология тромбоцитов (гигантские тромбоциты) 2+/небольшое количество и больше.
  - c. Агрегаты тромбоцитов > редко/иногда.
  - d. Тельца Деле 2+/небольшое количество и больше.
  - e. Токсическая грануляция 2+/небольшое количество и больше.
  - f. Вакуоли 2+/небольшое количество и больше.
2. Клетки аномальных типов
  - a. Бласты  $\geq 1$
  - b. Мета >2
  - c. Миело/Промиелоциты  $\geq 1$
  - d. Атипичные лимфоциты >5
  - e. NRBC  $\geq 1$
  - f. Плазматические клетки  $\geq 1$

После того как руководящий комитет выполнил первоначальную оценку, стало ясно, что не все лаборатории используют одинаковые критерии определения аномальных (положительных) результатов при исследовании мазков крови. Члены руководящего комитета установили единый набор критериев, который был затем применен к необработанным данным. В таблице 1 представлены критерии, использованные объединенной группой для определения истинно положительных мазков. Выбор критериев был обусловлен их медицинской значимостью.

Данные каждой лаборатории анализировались отдельно, затем все данные были объединены. Руководящий комитет просмотрел данные, сопоставляя правила, которые были активированы, и результаты исследования мазков периферической крови. Если результат автоматизированного анализа удовлетворял какому-либо правилу, а мазок был положительным, образец считался «истинно положительным». Если какое-либо правило выполнялось, но мазок не был положительным ни по одному критерию, образец считался «ложно положительным». Если ни одно правило не выполнялось, а мазок содержал положительные клетки, образец считался «ложно отрицательным». Если ни одно правило не выполнялось, а мазок не содержал каких-либо положительных клеток, образец считался «истинно отрицательным». Для каждой лаборатории была составлена таблица истинности, а затем все результаты были объединены в итоговую таблицу (таблица 2).

ТАБЛИЦА 2. Итоговая таблица истинности

	Количество	%
Истинно положительных	1483	11.20
Ложно положительных	2476	18.60
Истинно отрицательных	8953	67.30
Ложно отрицательных	386	2.90
Общее количество образцов	13298	

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Члены объединенной группы представили для анализа 13 298 клинических результатов, поскольку в некоторых лабораториях не удалось проанализировать запланированные 1000 образцов. В работе использовались следующие гематологические анализаторы: Abbott CellDyn 4000, Bayer ADVIA120, Beckman Coulter GenS и LH750, Sysmex SE-9000 и XE-2100.

Таблицы истинности для всех лабораторий оказались очень похожими, несмотря на различия в специфике лечебных учреждений и используемых приборах. Объединенные результаты для всех образцов можно найти в таблице 2 (итоговая таблица истинности).

В конечном итоге было получено 41 правило исследования результатов автоматизированного СВС и дифференциального подсчета лейкоцитов. Эти правила подробно описываются в таблице 3. Таблица содержит список параметров с предельными значениями и рекомендуемыми действиями. Данные правила предназначены как для первого тестирования, так и для повторных тестирований. Определения терминов, используемых в правилах оценки дельты (т.е. определения, связанные с понятием «дельта»), можно найти в таблице 4.

Из 41 правила, 15 правил связаны с параметрами СВС, 7 – с дифференциальными параметрами подсчета абсолютного количества пяти субпопуляций лейкоцитов, 7 – с кодами/маркерами прибора, предупреждающими о возможных аномалиях (включая маркеры эритроцитов и тромбоцитов), 10 – с кодами/маркерами, обозначающими возможность аномалий лейкоцитов и 2 – с результатами анализа ретикулоцитов.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных показал, что несмотря на то, что в данной работе приняты участие лаборатории различной специфики с различными типами гематологических анализаторов, таблицы истинности у всех лабораторий оказались очень похожими. Это особенно важно в отношении статистики ложных отрицательных результатов. Руководящий комитет пришел к заключению, что правильно определенные критерии выявления положительных мазков играют ключевую роль в составлении таблиц истинности. Для того чтобы сделать эти критерии объективными и ясными, мы оценили клиническую значимость результатов микроскопии мазков. Очевидно, что при микроскопии мазков нельзя любые обнаруженные аномалии, например, такие как «незначительное количество шизоцитов», «единичный гигантский тромбоцит», «слабый анизоцитоз и пойкилоцитоз» и т.п., рассматривать как положительный результат. Мы разработали систему критериев исследования мазков, которая, по нашему мнению, обладает клинической значимостью. Эти критерии приводятся в таблице 1. При использовании совместно выработанных правил частота ложных отрицательных результатов для всех лабораторий составила 2.9% (386 образцов из 13 298). Если лаборатории использовали собственные правила, частота ложных отрицательных результатов составляла 3.8% (503 образца). Хотя частота ложных отрицательных результатов улучшилась незначительно, важно помнить, что эти лаборатории к моменту проведения эксперимента уже использовали многие из тех правил, которые были выработаны совместно. Мы провели анализ ложных отрицательных образцов (2.9%), результаты которого представлены в таблице 5. Частота ложных положительных результатов составила 18.6%, что также было близко к значению, полученному с использованием собственных правил лабораторий. Частота ложных положительных результатов оказалась выше из-за применения маркеров, которыми прибор помечал предположительно аномальные результаты. Этот факт был отмечен для всех использованных в работе приборов. Именно эти многопараметровые гематологические анализаторы получили наибольшее распространение в гематологических лабораториях.

ТАБЛИЦА 3. Правила исследования результатов автоматизированного СВС и дифференциального подсчета лейкоцитов

Правило #	Параметр	Первый критерий	И/Или	Второй критерий	И/Или	Третий критерий	И/Или	Четвертый критерий	Действие 1	Действие 2	Действие 3
1	Образец новорожденного	Первый образец							Исследуйте мазок		
2	WBC, RBC, HGB, PLT, Retic	Результат не попадает в диапазон линейности							Разведите образец и повторите тестирование		
3	WBC, PLT	Результат меньше установленного в лаборатории диапазона линейности прибора							Следуйте стандартным операционным процедурам, принятым в вашей лаборатории		
4	WBC, RBC, HGB, PLT	Несоответствие результатов счетных периодов (Vote out)							Проверьте, нет ли в образце сгустка фибрина	Повторите тестирование образца	Если проблему устранить не удалось, используйте альтернативный метод подсчета
5	WBC	<4.0 ИЛИ >30.0	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
6	WBC	<4.0 ИЛИ >30.0	И	Неудовлетворительные результаты проверки дельты	И	В течение трех дней			Исследуйте мазок		
7	PLT	<100 ИЛИ >1000	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
8	PLT	Любое значение	И	Неудовлетворительные результаты проверки дельты					Исследуйте мазок		
9	HGB	<7 г/дл или >2 г/дл выше верхнего предела референсного диапазона с учетом возраста и пола	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		Проверьте целостность образца, если вы предполагаете нарушение целостности
10	MCV	<75 фл или >105 фл (Образец взрослого)	И	Первый анализ	И	Образец отобран <24 часов назад			Исследуйте мазок		
11	MCV	>105 фл	И	Образец взрослого человека	И	Образец отобран <24 часов назад			Исследуйте мазок на предмет изменений, связанных с макроцитами	Если изменений, связанных с макроцитами, НЕ обнаружено, запросите свежий образец	Если свежий образец недоступен, представьте отчет с комментарием
12	MCV	Любое значение	И	Неудовлетворительные результаты проверки дельты	И	Образец отобран <24 часа назад			Проверьте целостность/идентичность образца		
13	MCHC	≥2 единиц выше верхнего предела референсного диапазона	И						Проверьте, нет ли избытка липидов, гемолиза, агглютинации эритроцитов, сфероцитоза.		
14	MCHC	<30	И	Нормальное/высокое значение MCV					Проверьте возможную контаминацию IV или другую причину, связанную с образцом		
15	RDW	>22	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
<b>ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ</b>											
16	Отсутствие результатов определения или неполный набор дифференциальных параметров								Вручную определите дифференциальные параметры и исследуйте мазок		
17	Neut #	<1.0 или >20.0	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
18	Lymph #	>5.0 (Взрослый) или >7.0 (<12 лет)	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
19	Mono #	>1.5 (Взрослый) или >3.0 (<12 лет)	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
20	Eos #	>2.0	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
21	Baso #	>0.5	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
22	NRBC #	Любое значение	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		

Продолжение на следующей странице

ТАБЛИЦА 3. Продолжение

ПОДСЧЕТ РЕТИКУЛОЦИТОВ											
23	Абсолютное количество ретикулоцитов	>0.100	И	Первый анализ					Исследуйте мазок		
МАРКЕРЫ, ПРЕДУПРЕЖДАЮЩИЕ О ВОЗМОЖНОЙ АНОМАЛИИ											
24	Предупреждающие маркеры (за исключением ImmG/Band)	Маркер +	И	Первый анализ	И	Взрослый			Исследуйте мазок		
25	Предупреждающие маркеры	Маркер +	И	Первый анализ	И	Ребенок			Исследуйте мазок		
26	Маркер недостоверного определения лейкоцитов	Маркер +	Любое условие					Проверьте целостность образца и выполните повторное тестирование	Если проблему устранить не удалось, проверьте технические характеристики прибора	Исследуйте мазок, и, если требуется, вручную определите дифференциальные параметры	
27	Фрагменты эритроцитов	Маркер +	Любое условие							Исследуйте мазок	
28	Диморфные эритроциты	Маркер +	И	Первый анализ						Исследуйте мазок	
29	Устойчивые к лизису эритроциты	Маркер +	Любое условие					Проверьте гистограмму/цитограмму лейкоцитов	Подтвердите результат, следуя стандартным операционным процедурам (рассмотрите возможность неверного подсчета ретикулоцитов)	Исследуйте мазок на предмет аномальной морфологии эритроцитов	
30	Маркер агрегатов тромбоцитов	Любое значение						Проверьте, нет ли в образце сгустков фибрина	Исследуйте мазок (оцените тромбоциты)	При обнаружении агрегатов выполните стандартные операционные процедуры, принятые в вашей лаборатории	
31	Маркер тромбоцитов	Маркеры PLT и MPV за исключением маркера агрегатов тромбоцитов								Исследуйте мазок	
32	Маркер незрелых гранулоцитов	Маркер +	И	Первый анализ						Исследуйте мазок	
33	Маркер незрелых гранулоцитов	Маркер +	И	Подтверждение полученного ранее результата	И	Неудовлетворительные результаты проверки дельты для лейкоцитов при положительной дельте				Исследуйте мазок	
34	Маркер смещения влево	Маркер +								Следуйте стандартным операционным процедурам, принятым в вашей лаборатории	
35	Атипичные лимфоциты/варианты лимфоцитов	Маркер +	И	Первый анализ						Исследуйте мазок	
36	Атипичные лимфоциты/варианты лимфоцитов	Маркер +	И	Подтверждение полученного ранее результата	И	Неудовлетворительные результаты проверки дельты для лейкоцитов при положительной дельте				Исследуйте мазок	
37	Маркер бластов	Маркер +	И	Первый анализ						Исследуйте мазок	
38	Маркер бластов	Маркер +	И	Подтверждение полученного ранее результата	И	Удовлетворительные результаты проверки дельты или отрицательная дельта для лейкоцитов	В течение 3-7 дней			Следуйте стандартным операционным процедурам, принятым в вашей лаборатории	
39	Маркер бластов	Маркер +	И	Подтверждение полученного ранее результата	И	Неудовлетворительные результаты проверки дельты для лейкоцитов при положительной дельте				Исследуйте мазок	
40	Маркер NRBC	Маркер +								Исследуйте мазок	При положительном результате подсчитайте NRBC; по возможности откорректируйте количество лейкоцитов
41	Ретикулоциты	Аномальное распределение						Проверьте технические характеристики прибора	При ошибках аспирации повторите анализ	Если проблему устранить не удалось, исследуйте мазок	

ТАБЛИЦА 4. Определения, связанные с понятием «дельта»

**Проверка дельты:** Проверка дельты выполняется для того, чтобы уменьшить количество гематологических исследований путем подтверждения наличия ранее обнаруженных аномалий.

**Пределы дельты:** Предел дельты для конкретного теста – это значение, на которое может отличаться самый последний результат, полученный с помощью автоматизированного анализатора, от предыдущего результата. При превышении этого значения необходимо исследовать мазок или выполнить другое действие для подтверждения полученного результата. Пределы дельты должны быть установлены каждой лабораторией, принимая во внимания физиологические особенности организма и характеристики используемого автоматизированного анализатора.

**Что означают термины “Delta pass” и “Delta fail”:** Считается, что результат прошел (pass) проверку дельты, когда разница последнего и предпоследнего результата, которые были получены с помощью автоматизированного анализатора, не превышает заданного значения (предела дельты). Результат не прошел (fail) проверку дельты, когда разница последнего и предпоследнего результата, которые были получены с помощью автоматизированного анализатора, превышает заданное значения (предел дельты).

**Положительная дельта и отрицательная дельта:** Положительная дельта – это положительная разница результатов, т.е. последний результат больше предыдущего. Знак дельты не зависит от того, был ли превышен установленный предел. Отрицательная дельта – это отрицательная разница результатов, т.е. последний результат меньше предыдущего.

**Действия, связанные с проверкой дельты:** Международная согласительная группа не установила пределы дельты, оставив это на усмотрение самих лабораторий. Однако группа рекомендует определенные действия в ситуациях, когда полученные результаты превышают пределы дельты, установленные лабораториями.

Данные анализаторы предназначены для скрининга и выявления предположительно аномальных образцов для дальнейшего исследования. Они выполняют маркировку с более высокой частотой ложных положительных результатов. Таким образом гарантируется, что потенциально важные аномалии не останутся не выявленными, и минимизируется количество ложных отрицательных результатов.

После завершения анализа данных, было проверено, какие правила оказались активированы и с какой частотой. Мы обнаружили, что три правила не были активированы ни одним из 13 298 исследованных образцов. Поэтому, вероятность того, что эти правила будут активированы в ходе повседневной работы гематологической лаборатории, весьма низка. Кроме того, после оценки медицинской значимости этих правил, мы решили, что они не вносят никакой вклад в улучшение качества лечения, как с точки зрения проведения исследования, так и с точки зрения медицинской практики. Эти правила были удалены. Нам удалось уменьшить число оставшиеся 80 правил, объединив пределы одинаковых параметров. Например, в исходном наборе правил правило #24 говорит, что если  $PLT < 100$  и анализ проводится впервые, необходимо выполнить исследование мазка; правило # 18 говорит, что если  $PLT > 1000$  и анализ проводится впервые, необходимо выполнить исследование мазка. Эти два правила комбинируются в правило # 7, которое гласит, что если  $PLT < 100$  или  $> 1000$  и анализ про-

водится впервые, необходимо выполнить исследование мазка. В данный момент принято 41 правило оценки гематологических результатов. Согласительная группа представляет эти правила сообществу гематологов в качестве рекомендаций, которым следует придерживаться при выполнении анализа в клинических гематологических лабораториях.

ТАБЛИЦА 5. Анализ ложных отрицательных результатов

Типы отклонений при ложно отрицательных результатах	%
Метамиелоциты, миелоциты, промиелоциты	52
Бласты	1.3
Атипичные лимфоциты	3.1
NRBC	6.6
Морфология эритроцитов	18.5
Морфология тромбоцитов	14.5
Морфология лейкоцитов	4.0

Для производителей многопараметровых гематологических анализаторов эти правила тоже могут оказаться полезными при проверке технических характеристик новых приборов. Мы рекомендуем перед использованием этих правил для анализа клинических образцов в любой лаборатории выполнить их валидацию. Процедура валидации правил предлагается в Приложении 2. Помимо выполнения этой процедуры, также необходимо следовать требованиями государственных или иных регуляторных органов, определяющих работу лаборатории.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Эти правила посвящены памяти доктора Беренда Ховена: он предвидел их необходимость и понимал, что лучшим способом удовлетворить эту необходимость будет создание международной рабочей группы; по его инициативе была сформирована эта группа и под его мудрым руководством осуществлялась ее работа.

От имени Руководящего комитета и Международной гематологической согласительной группы авторы благодарят компанию Beckman Coulter Inc., великодушно предоставившую образовательный грант, полностью обеспечивший работу группы весной 2002 г.

Мы благодарим все лаборатории (перечисленные в Приложении 1), которые приняли участие в исследовании и способствовали разработке протокола, и мы благодарим всех специалистов и лаборантов, потративших неисчислимые часы на выполнение всей лабораторной работы и занесение результатов в рабочие таблицы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Leeuwenhoek A. Microscopical Observations. *Philos Trans R Soc Lond.* 1674;9:121-128.
2. Ehrlich P. Beitrag zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. *Arch Mikr Anat.* 1877;13:263-277.
3. Coulter WH. High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer. *Proc National Electronics Conf.* 1956;12:1034-1040.
4. Mansberg HP, Saunders AM, Groner W. The Hemalog D white cell differential system. *J Histochem Cytochem.* 1974;22:711-724.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Члены согласительной группы

Mr. Patrick W. Barnes\*  
**Barnes Jewish Hospital**  
 St Louis, MO, USA  
 314-362-5048  
 PWB0280@bjc.org

Ms. Rhonda Becker  
**Davis Medical Center**  
**University of California**  
 Sacramento, CA, USA  
 916-734-3475  
 rhonda.becker@ucdmc.ucdavis.edu

Mr. Terry Fawcett  
**Biospecific**  
 Victoria, Australia  
 61-3-9890-8498  
 auscorpmarketin@ozemail.com.au

Dr. Bernard J. Fernandes  
**Department of Pathology & Lab**  
**Medicine Mt. Sinai Hospital**  
 Toronto, Ontario, Canada  
 416-586-4462  
 bfernandes@mtsinai.on.ca

Dr. Berend Houwen†  
**Beckman Coulter, Inc.**

Ms. Linda Kemerer  
**Grant/Riverside Methodist**  
**Hospitals**  
 Columbus, OH, USA  
 614-566-5686  
 lkemerer@ohiohealth.com

Ms. Bette A. Jamieson  
**Department of Pathology**  
**The Children's Hospital**  
 Denver, CO, USA  
 303-861-6252  
 jamieson.bette@tchden.org

Ms. Lynn Johnstone  
**Health Alliance Laboratories**  
 Cincinnati, OH, USA  
 513-585-1410  
 JohnstlM@healthall.com

Professor Samuel J. Machin\*  
**Department of Haematology**  
**University College Hospital**  
 London, UK  
 (44)20 7380 9884  
 samuel.machin@ucl.ac.uk

Ms. Stefanie L. McFadden\*  
**Laboratory Consultant**  
 Columbus, OH, USA  
 614-579-5999  
 stef@islh.org

Dr. Kirk W. Ready  
**Chinook Health Region,**  
**Corp. Office**  
 Lethbridge, Alberta, Canada  
 403-382-6093  
 kready@mail.chr.ab.ca

Dr. David Rosenfeld  
**Liverpool Hospital**  
 Sydney, Australia  
 (61) 2 98 28 51 67  
 d.rosenfeld@unsw.edu.au

Dr. Ramon Simon  
**Beckman Coulter**  
**Eurocenter S.A.**  
 Nyon 1, Switzerland  
 41-22-994-08-08  
 ramon.simon@beckman.com

Dr. Elkin Simson\*  
**Mt. Sinai Hospital**  
 New York, NY, USA  
 212-659-8181  
 elkin.simson@msnyuhealth.org

Ms. Vicky Soppa  
**Mayo Foundation**  
 Rochester, MN, USA  
 507-284-3198  
 soppa.vicky@mayo.edu

Mr. Michael R. Suter  
**OML Laboratories**  
 Eugene, OR, USA  
 541-687-2134, x 8182  
 msuter@omlabs.com

Dr. Jesus Villarubia  
**Hospital Ramon y Cajal**  
 Madrid, Spain  
 34 91 336 8224  
 jvillarubia.hrc@salud.madrid.org

Ms. Debbie Wall  
**Dynacare Laboratories**  
 Dynacare Northwest, Inc.  
 Seattle, WA, USA  
 206-215-3945  
 dwall@dynacare.com

Ms. Jeri Walters  
**Sinai Samaritan Medical Center**  
 East Campus  
 Milwaukee, WI, USA  
 414-328-7920  
 jeri.walters@aurora.org

\* Член руководящего комитета.

† Ныне покойный.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2. ПРЕДЛАГАЕМАЯ ПРОЦЕДУРА ВАЛИДАЦИИ ПРАВИЛ

1. Определите критерии положительности мазков периферической крови, используя таблицу 1 в качестве руководства.
2. Определите количество образцов, которое будет проанализировано в данном исследовании.
  - a. Выборка образцов должна напоминать генеральную совокупность образцов, чтобы выявить все необходимые правила.
  - b. 80% исследуемых образцов должны анализироваться впервые, чтобы проверить правила для образцов, анализируемых впервые. 20% исследуемых образцов должны быть образцами, отобранными повторно, для проверки правил дельты.
  - c. Выполняйте анализ в течение, по меньшей мере, 5 дней, чтобы исключить вариабельность в работе анализатора и проанализировать все типы образцов в данной популяции пациентов.
3. Выполняйте анализ образцов точно так же, как и всех клинических образцов. Распечатайте полученные результаты.
4. Выполните исследование мазков всех образцов. Для получения согласованных результатов исследование мазков должно выполняться одним или двумя опытными специалистами. Ручное определение дифференциального состава следует выполнять только в том случае, если для этого имеются специальные показания (например, появление кода несоответствия результатов счетных периодов (Vote out), маркеров клеток аномального типа и т.п.)
5. Введите все полученные данные в рабочие таблицы.
  - a. Для каждого образца в отдельной строке введите следующие данные в отдельных колонках.
  - b. Используйте следующие колонки:
    1. Идентификатор образца
    2. Идентификатор пациента
    3. Номера активированных правила (по одной колонке для каждого правила)
    4. Общее количество активированных правил
    5. Маркеры, предупреждающие о возможной аномалии (по одной колонке для каждого маркера)
    6. Общее количество маркеров
    7. Аномалии, установленные при исследовании мазков (по одной колонке для каждой аномалии)
    8. Общее количество аномалий, установленных на основании исследования мазков

**ЗАМЕЧАНИЕ 1:** Для того чтобы иметь возможность отследить проблемы, связанные с образцами (например, если вам кажется, что частота ложных отрицательных результатов слишком высока), рекомендуется сделать в таблице отдельную колонку для каждого правила, маркера и аномалии, установленной на основании исследования мазков. Это увеличит объем таблицы, однако все данные будут сгруппированы в одном месте для дальнейших исследований.

- ЗАМЕЧАНИЕ 2:** После каждой секции, например, после колонок с номерами правил, сделайте колонку для общего количества правил, активированных для данного образца. То же самое сделайте для маркеров и аномалий, обнаруженных при исследовании мазков. Это облегчит дальнейший анализ данных.
6. Для каждого образца сравните данные в колонках правил и колонках аномалий, обнаруженных при исследовании мазков. Это позволит заполнить таблицу истинности. Определения истинно положительных, ложно положительных, истинно отрицательных и ложно отрицательных результатов приводятся в разделе «Материалы и методы».
  7. Убедитесь в том, что доля «ложно отрицательных» результатов <5%. Согласительная группа считает, что это максимально допустимая частота ложно отрицательных результатов, обеспечивающая безопасность пациента. Если в ходе анализа правил получена более высокая частота ложно отрицательных результатов, мы рекомендуем сделать следующее:
    - a. Проверить таблицу и распечатки на наличие ошибочных записей.
    - b. Пересмотреть критерии положительности и отрицательности.
    - c. Проверить в рабочей таблице, какие именно правила отвечают за появление ложно отрицательных результатов.
    - d. Если требуется, откорректировать правила.
    - e. Повторно проверить обновленные правила описанным выше способом.
    - f. Если требуется, повторить шаги a-e.
  8. Если частота «ложно положительных» результатов намного превышает частоту, найденную согласительной группой, или вы считаете, что найденное значение слишком высоко, рекомендуется выполнить следующее:
    - a. Определить, какой маркер вызывает появление ложно положительных результатов и нужно ли использовать этот маркер в лаборатории
    - b. С помощью компании-производителя выяснить, не является ли это ошибкой прибора и нельзя ли откорректировать его чувствительность.
    - c. Если вы решите игнорировать маркер, генерируемый прибором, это необходимо четко задокументировать, поскольку в этом случае вы игнорируете рекомендации изготовителя прибора.
  9. Ввод правил в действие
    - a. Проведите обучение персонала. Это ключевой момент для эффективного ввода в действие новых правил.
    - b. Обновите описание процедур и замените все письменные инструкции.
    - c. Обновите правила в компьютере ЛИС и промежуточном программном обеспечении.