

Серии научно-практических рецензируемых журналов



Медицинский алфавит

23 (286) 2016



Modern
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal

Современная ЛАБОРАТОРИЯ том № 4

- Фундаментальные основы лабораторной медицины
- Разработка, производство, технологии
- Лабораторное оборудование
- Реагенты
- Новые методы
- Практика
- Экспресс-диагностика
- Организация лабораторной службы
- Конгрессы и конференции

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228

www.medalfavit.ru

Микробиология XXI века

MALDI Biotyper[®]



Самый популярный MALDI-TOF
масс-спектрометр для микробиологии
в России и мире

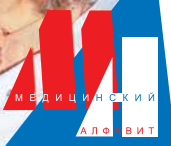
Система быстрой идентификации микроорганизмов MALDI Biotyper:

- Идентификация микроорганизмов за минуту
- Открытая база данных клинически значимых микроорганизмов (более 2000 видов)
- Простой и удобный пользовательский интерфейс
- Готовое решение для определения бактерий, дрожжей и грибов
- Определение чувствительности к антибиотикам
- Прямая идентификация из биологических жидкостей



Для получения более подробной информации и демонстрации систем обращайтесь к нам!

ООО „Брукер“, г. Москва
8 (495) 517-9284 / 9285
www.bruker.com ms.rus@bruker.com



Современная лаборатория Том №4

Медицинский алфавит

Серия журналов для специалистов

№ 23 (286) 2016

www.medalfavit.ru

Издатель: издательство медицинской литературы ООО «Альфамед»
Тел.: (495) 616-48-00

E-mail: medalfavit@mail.ru

Учредитель и главный редактор
издательства Т.В. Синица

Почтовый адрес редакции:

129344, г. Москва, ул. Верхоянская, д. 18, к. 2
Тел.: (495) 616-48-00, 221-76-48
E-mail: medalfavit@mail.ru

Главный редактор серии журналов
«Медицинский алфавит»
А.С. Ермолов

Редакционный совет журнала «Медицинский алфавит»

В.Г. Акимкин, д.м.н., проф.

А.Ж. Гильманов, д.м.н., проф.

Е.А. Евдокимов, д.м.н., проф.

А.С. Ермолов, д.м.н., проф.

А.А. Кулаков, д.м.н., проф.

Р.Г. Оганов, д.м.н., проф.

В.И. Покровский, д.м.н., проф.

С.А. Рабинович, д.м.н., проф.

В.Е. Синицын, д.м.н., проф.

С.К. Терновой, д.м.н., проф.

Н.В. Шестопалов, д.м.н., проф.

С.Н. Щербо, д.м.н., проф.

Председатель редакционного совета
журнала «Медицинский алфавит»
серии «Современная лаборатория»:
С.Н. Щербо

Руководитель отдела рекламы
и маркетинга: Т.Е. Чикмарева
medalfavit@bk.ru

Руководитель отдела продвижения,
распространения и выставочной
деятельности Б.Б. Будович
medalfavit_pr@bk.ru

Редакция оставляет за собой право
сокращения и стилистической правки
текста без дополнительных согласований
с авторами.
Мнение редакции может не совпадать
с точкой зрения авторов опубликованных
материалов.

Редакция не несет ответственности
за последствия, связанные с неправильным
использованием информации.

Журнал зарегистрирован Министерством РФ
по делам печати, теле-, радиовещания
и средств массовых коммуникаций.

Рег. номер ПИ № 77-11514 от 04.01.2002

Уст. тираж 12000. Формат А4.

Цена договорная.

Подписан в печать 6 октября 2016 года.

При перепечатке ссылка на журнал «МА»
обязательна. За содержание рекламы
ответственность несет рекламодатель.

За достоверность сведений, изложенных
в статьях, ответственность несет автор.

Содержание

- 5 Роль централизованной клинико-диагностической лаборатории в управлении лабораторными назначениями
Н.А. Сорокина, С.Е. Ярцев, В.С. Берестовская, В.Л. Эмануэль
- 10 Состояние микробиоценозов желудочно-кишечного тракта жителей города в пожилом и старческом возрасте
Д.Д. Меньшиков, Е.Д. Меньшикова, Т.В. Черненко, М.А. Годков
- 16 Послеоперационная летальность при внесердечных операциях: современные представления о роли повреждения миокарда на основании определения концентрации тропонина
С.В. Торшин
- 23 Микробиологическая диагностика бактериурии: опыт работы с использованием метода проточной цитофлуориметрии (прибор Sysmex UF-500i)
Н.С. Багирова, С.А. Дьякова, Е.В. Кулага, И.В. Терещенко
- 29 Тест генерации тромбина в диагностике гиперкоагуляции у пациентов с атеросклерозом
О.С. Мельничникова, В.М. Лапина, С.В. Лапин, А.В. Тишков, В.Л. Эмануэль, Т.В. Вавилова, М.А. Карпенко
- 35 Современные патогенетические аспекты атерогенеза у больных туберкулезом легких
Л.Н. Новикова, А.М. Рыжов
- 40 Информативность лабораторных методов определения парапротеина для диагностики моноклональных гаммапатий
М.Ю. Первакова, И.А. Дубина, С.В. Лапин, Е.А. Суркова, Т.В. Блинова, А.В. Мазинг, В.Л. Эмануэль
- 45 Активность некоторых ферментов в гепаринизированной и EDTA-плазме крови: сравнение с сывороткой
К.А. Черемисина, К.С. Бабин, А.А. Пахомова, Е.Г. Степанова, Г.Е. Яковлева
- 49 Определение наследственной предрасположенности к развитию физических способностей с помощью набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин»
О.П. Дрибноходова, К.О. Миронов, Е.А. Дунаева, Г.А. Шипулин
- 58 Разработка стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к цитомегаловирусу
А.С. Авдонина, Н.В. Юминова, С.Г. Марданлы, С.В. Ротанов
- 66 Подписка

Contents

- 5 *Role of centralized clinical diagnostic laboratory in laboratory utilization management*
N.A. Sorokina, S.E. Yartsev, V.S. Berestovskaya, V.L. Emanuel
- 10 *Microbiocenosis of gastrointestinal tract in elder and senile city residents*
D.D. Menshikov, E.D. Menshikova, T.V. Chernenkaya, M.A. Godkov
- 16 *Postoperative mortality in noncardiac surgery: current understanding of myocardial injury role based on troponin evaluation*
S.V. Torshin
- 23 *Microbiological diagnosis of bacteriuria: experience of work using flow cytometry method (Sysmex UF-500i device)*
N.S. Bagirova, S.A. Dyakova, E.V. Kulaga, I.V. Tereshchenko
- 29 *Thrombin generation test in diagnosis of hypercoagulability in patients with atherosclerosis*
O.S. Napalkova, V.M. Lapina, T.V. Vavilova, M.A. Karpenko, S.V. Lapin, A.V. Tishkov, V.L. Emanuel
- 35 *Modern pathogenetic aspects of atherogenesis in patients with pulmonary tuberculosis*
L.N. Novikova, A.M. Ryzhov
- 40 *Diagnostic value of laboratory methods of paraprotein evaluation for diagnosis of monoclonal gammopathy*
M. Yu. Pervakova, I.A. Dubina, S.V. Lapin, E.A. Surkova, T.V. Blinova, A.V. Mazing, V.L. Emanuel
- 45 *Effects of heparin and EDTA on some plasma enzymes of human: comparison with serum*
K.A. Cheremisina, K.S. Babin, A.A. Pakhomova, E.G. Stepanova, G.E. Yakovleva
- 49 *Detection of hereditary predisposition to development of physical abilities with 'AmpliSens® Pyroscreen' reagents kit*
O.P. Dribnokhodova, K.O. Mironov, E.A. Dunaeva, G.A. Shipulin
- 58 *Development of standard panel of serums containing and not containing antibodies to cytomegalovirus*
A.S. Avdonina, N.V. Yuminova, S.G. Mardanly, S.V. Rotanov
- 66 *Subscription*



Председатель редакционного совета
журнала серии «Современная лаборатория» Щербо Сергей Николаевич

Редакционная коллегия

Вавилова Татьяна Владимировна, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Гильманов Александр Жанович, д.м.н., проф., вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, зав. кафедрой биохимии и лабораторной диагностики ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет», г. Уфа

Годков Михаил Андреевич, д.м.н., врач высшей категории, рук. отдела лабораторной диагностики ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского», г. Москва

Долгих Татьяна Ивановна, д.м.н., проф., зав. центральной научно-исследовательской лабораторией и руководитель академического центра лабораторной диагностики Омской государственной медицинской академии, г. Омск

Жуковский Александр Васильевич, д.м.н., проф., кафедры клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», г. Москва

Косырев Александр Борисович, к.м.н., доцент кафедры биохимии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования», г. Москва, ген. директор ООО ТПО «Медиолаб», г. Москва

Падюков Леонид Николаевич, проф. отделения ревматологии медицинского отдела Каролинского института, Стокгольм, Швеция

Первушин Юрий Владиславович, к.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом бактериологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет», г. Ставрополь

Рысулы Мустафа Рысулович, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики Казахского национального медицинского университета имени С. Д. Асфендиярова (КазНМУ), президент Казахской ассоциации медицинской лабораторной диагностики (КАМЛД), г. Алматы, Казахстан

Тарасенко Ольга Анатольевна, д.м.н., проф., зам. генерального директора ФГБУ ВНИИИМТ Росздравнадзора, врач высшей квалификационной категории

Терёхина Наталья Александровна, д.м.н., проф., зав. кафедрой биохимии Пермской государственной медицинской академии им. акад. Е.А. Вагнера, г. Пермь

Шипулин Герман Александрович, к.м.н., рук. отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУЗ «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

Щербо Сергей Николаевич, д.м.н., проф., вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», г. Москва

Эмануэль Владимир Леонидович, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, директор научно-методического центра Минздрава России по молекулярной медицине на базе СПбГМУ им. И.П. Павлова, вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики, гл. специалист-эксперт по клинической лабораторной диагностике Росздравнадзора по Северо-Западному федеральному округу, г. Санкт-Петербург

Editorial Board

Vavilova T. V., MD, DMSci, professor, North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg

Gilmanov A. V., MD, DMSci, professor, Bashkir State Medical University, Ufa

Godkov M. A., MD, DMSci, Research Institute of Emergency Medicine n. a. N.V. Sklifosovsky, Moscow

Dolgih T. I., MD, DMSci, professor, Omsk State Medical Academy, Omsk

Zhukotsky A. V., MD, DMSci, professor, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

Kosyrev A. B., PhD, associate professor, Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Mediоlab, Moscow

Padyukov L. N., professor of Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

Pervushin Y. N., PhD, professor, Stavropol State Medical University, Stavropol

Rysuly M. R., MD, DMSci, professor, Kazakh National Medical University, president of Kazakh Medical Laboratory Diagnostics Association, Almaty, Kazakhstan

Tarasenko O. A., MD, DMSci Hygiene and Epidemiology Centre, Moscow

Teryokhina N. A., MD, DMSci, professor, Perm State Medical Academy n. a. acad. E. A. Wagner, Perm

Shipulin G. A., PhD, Central Research Institute of Epidemiology, Moscow

Shcherbo S. N., MD, DMSci, professor, Russian National Research Medical University n. a. N. I. Pirogov, Moscow

Emanuel V. L., MD, DMSci, professor, First State Medical University of St. Petersburg n. a. I. P. Pavlov, St. Petersburg

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ НАШЕГО ИЗДАНИЯ!

Важная информация о форме цитирования материалов, опубликованных в журналах серии «Медицинский алфавит»

В связи с требованием РИНЦ об унификации цитирования ссылки на материалы журнала следует оформлять в строгом соответствии с указанным образцом:

Фамилия И. О. Название статьи. // Медицинский алфавит. — Год. — Том X, № X. — С. XX–XX.

Например: Имельбаева Э. А., Гильманов А. Ж. Особенности эритроцитарных антигенов // Медицинский алфавит. — 2014. — Том 2 («Современная лаборатория»), № 12. — С. 14–18.)

Вопросы об оформлении ссылок направляйте, пожалуйста, по адресу medalfavit@mail.ru.

Роль централизованной клинико-диагностической лаборатории в управлении лабораторными назначениями

Н. А. Сорокина, зав. отделением клинической лабораторной диагностики¹

С. Е. Ярцев, к.м.н., гл. врач¹

В. С. Берестовская, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины²

В. Л. Эмануэль, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины²

¹ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», г. Тюмень

²ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», г. Санкт-Петербург

Role of centralized clinical diagnostic laboratory in laboratory utilization management

N. A. Sorokina, S. E. Yartsev, V. S. Berestovskaya, V. L. Emanuel

The Regional Clinical Hospital № 1, Tyumen; the First Saint Petersburg State Medical University n.a. I.P. Pavlov, Saint Petersburg; Russia

Резюме

Рассмотрены некоторые инструменты, ограничивающие необоснованные лабораторные назначения, в централизованной клинико-диагностической лаборатории. Проведена оценка экономической эффективности регуляции специализированных и рутинных тестов. Показана необходимость построения системы управления назначениями на основе экономической эффективности, клинической значимости лабораторных исследований и укрепления диалога лаборатории и клинициста.

Ключевые слова: централизованная клинико-диагностическая лаборатория, управление назначениями.

Summary

Several tools that limit unreasonable laboratory referrals in centralized clinical diagnostic laboratory were analyzed. Economic effectiveness of specialized and routine tests regulation was assessed. A necessity for formation of a system of utilization management is shown based on economical effectiveness, clinical importance, and strengthening of the dialog between the laboratory and a clinician.

Key words: centralized clinic-diagnostical laboratory, utilization management.



Н. А. Сорокина



С. Е. Ярцев



В. С. Берестовская



В. Л. Эмануэль

Лабораторная медицина — особый вид медицинской помощи, для которой характерны высокая степень использования передовых технологических и информационных разработок при минимальном вовлечении пациента в диагностический процесс. Не случайно, что эти факторы явились предпосылками для создания крупных многофункциональных лабораторий по так называемому «заводскому сценарию» [7]. В современных условиях развития лабораторной медицины централизация клинических лабораторных исследований является одной из рациональных форм обеспечения населения медицинской помощью [1]. Крупные централизованные

лаборатории значительно повысили доступность медицинской помощи в рамках ОМС, так как создали возможность проведения больших объемов лабораторных исследований при значительном расширении спектра назначений. Однако постепенно расширяющийся разрыв между экономическими ресурсами системы здравоохранения и потребностью в анализах, заказываемых медицинскими организациями, является серьезным вызовом для лабораторной диагностики и требует нового взгляда на систему назначений.

Хотя фактические затраты на лабораторную диагностику, по зарубежным данным, составляют не более 2–3 % от расходов на здравоохране-

ние [12], в условиях экономической нестабильности именно лаборатория часто попадает под ограничение финансирования [7]. В то же время системы оплаты в здравоохранении, действующие во многих странах, удаляют клиницистов, принимающих решения, как заказчиков лабораторной услуги от финансовых последствий собственных действий [9]. Организаторы здравоохранения признают существование проблемы чрезмерного расходования средств, но редко осознают, что лаборатория является исполнителем услуги, которую формирует лечащий врач.

Управление назначениями является системой, которая внедряется на уровне медицинской организации

и учитывает соотношение качества, рисков и расходов при оказании помощи пациентам. Все более растет признание того факта, что необходимо улучшать не только аспекты экономической эффективности посредством сдерживания расходов, но и клиническую эффективность лабораторной диагностики путем оптимизации системы лабораторных назначений [10].

Целью исследования явился анализ назначений со стороны медицинских организаций-заказчиков лабораторных услуг в централизованной клиничко-диагностической лаборатории (ЦКДЛ) на базе ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница № 1», г. Тюмени в 2014–2016 годах.

В Тюменской области в 2013 году на базе клиничко-диагностической лаборатории «Областной клинической больницы № 1» была проведена централизация отдельных видов лабораторных исследований. Централизации подлежали биохимические, гематологические, иммунологические и коагулологические исследования. Объектами централизации явились 23 медицинские организации, из них 12 городских и 11 областных амбулаторно-поликлинических учреждений г. Тюмени и Тюменской области. Для повышения эффективности и связи ЦКДЛ с обслуживаемыми медицинскими организациями была разработана и внедрена система электронной передачи заказа на исследование из медицинской системы SAP в лабораторную информационную систему ЦКДЛ.

Серьезным вызовом для централизованной лаборатории в 2014 году стало перевыполнение государственного заказа на лабораторные исследования, которые были переданы в ЦКДЛ. По сравнению с плановым заданием, исследования, выполненные по заявкам медицинских организаций, значительно превышали установленный объем по всем видам назначений. В частности, количество проведенных гематологических и коагулологических анализов перевыполнено на 67,6 и 65,5 % соответственно, а биохимических и иммунологических тестов было выполнено выше планового задания на 36,7 и 38,9 % соответственно.

Мотивы клиницистов, влияющие на выбор лабораторного исследования, обусловлены множеством факторов. Кроме потребности получить точный диагноз, существуют множество установок, определяющих поведение врачей при выборе лабораторных назначений. Они включают удобство или ограничения при заказе тестов, незнание характеристик исследования, опасение получить штрафные санкции со стороны страховых компаний, страх судебных исков и настойчивость пациентов [8]. Таким образом, медицинские показания для некоторых анализов неочевидны, а, следовательно, подход к назначениям со стороны врачей можно изменить [13].

Анализ сложившейся ситуации в 2014 году выявил отсутствие контроля объемов назначений на лабораторные исследования со стороны руководителей медицинских организаций и слабое взаимодействие клиницистов и врачей ЦКДЛ по видам лабораторных исследований, что способствовало увеличению необоснованных назначений. Одним из мощных факторов, способствующих развитию ситуации в данном ключе, стало то, что плановое задание формировалось на основе заявок от медицинских организаций, которые ранее были ограничены возможностями собственной лаборатории. При централизации исследований на базе ГБУЗ ТО ОКБ № 1 практические врачи получили доступ к более широкому спектру современных лабораторных показателей, автоматизированному формированию заказа и получению результата исследования на рабочем месте. В литературе отмечается, что широкое использование электронных медицинских карт и информационных систем ввода заказов в медицинских организациях влияет на назначения лабораторных тестов. Медицинские учреждения, применяющие информационные системы, получают доступ к сотням возможных лабораторных тестов в режиме онлайн [6]. При реализации программы централизации лабораторных исследований в Тюменской области клиницисты получили доступ ко всем тестам, выполняемым в ЦКДЛ, что в отсутствие

системной регуляции заказов создало возможность для проведения диагностического поиска, не всегда соответствующего стандартам оказания медицинской помощи.

Определенная группа подходов по управлению лабораторными назначениями базируется на подтверждении первичного заказа. В нее входит одобрение заказа определенных тестов на уровне руководителей медицинской организации, узкими специалистами или врачами медицинской лаборатории [6]. Как мы описывали ранее [4], в 2015 году было принято решение о регуляции назначений отдельных лабораторных показателей посредством информационной системы SAP. В настройки SAP были внесены изменения, закрывшие прямое назначение указанных показателей. Сейчас для формирования заказа требуется подтверждение назначений на уровне заместителя главного врача по экспертизе временной нетрудоспособности в каждой медицинской организации. Перечень тестов, для заказа которых необходимо подтверждение на более высоком уровне, приведен в табл. 1.

Мы полагаем, что фактором, который ограничивает возможность сравнения данных, характеризующих назначения, защищенные от прямого заказа в 2014 и 2015 годах, является реорганизация медицинских организаций Тюменской области. У части организаций, заказывающих лабораторные услуги в ОКБ № 1, изменилась численность обслуживаемого населения, и, соответственно, был изменен объем планового задания. Поэтому для оценки экономического эффекта от «закрытия» ряда тестов для прямого заказа мы сравнили назначения, включенные в проект, за январь–июнь 2015 года с аналогичным периодом 2016 года.

Лидером по снижению необоснованных биохимических назначений стал апополипротеин А-1 (апо А-1), его выполнение в 2016 году составило 46,3 % от уровня 2015 года. Интересно, что назначения апополипротеина В (апо В) были аутсайдером по снижению в 2016 году и составили 82,8 % по отношению к 2015 году. Тем не менее в 2016 году апо А-1 заказывался в 1,7 раза чаще, чем

апо В. В 2015 году это отношение было также в пользу А-1, но в 3,2 раза. Подверженные заказы на С3- и С4-фрагмент комплемента в 2016 году составили 65,5 и 66,6 % от исследований 2015 года соответственно, что отражает медианное значение процента снижения по группе биохимических тестов (66 %).

Среди иммунологических тестов наибольшее снижение заказов произошло в группе маркеров аутоиммунной патологии. В первом полугодии текущего года подтвержденные назначения на антитела к кардиолипину составили 24,7 %, антиядерные антитела 54,0 %, антитела к двуспиральной ДНК 56,3 % по отношению к заказам 2015 года.

В группе показателей, характеризующих гемостаз, произошло равномерное снижение по большинству тестов (медиана процента выполнения по группе составила 73,5 %), за исключением протеина S, выполнение которого в 2016 году выразилось в 48,8 % по отношению к 2015 году.

Общее снижение тестов из перечня, подтверждаемых при заказе, составило 2,1 % от всех тестов, выполненных за анализируемый период 2016 года. Финансовый эффект выразился в экономии расходов ОМС за шесть месяцев 2016 года за счет снижения числа необоснованных заказов по биохимическим исследованиям на 0,2 %, по иммунологическим исследованиям на 1,9 % и по коагулологическим на 0,4 %. Наши зарубежные коллеги также отмечают, что мероприятия, направленные на оптимизацию так называемых «дорогостоящих исследований», не приводят к серьезному снижению затрат на лабораторию. Объем этих назначений незначителен, как и процент узкопрофильных исследований по отношению к общему количеству выполняемых исследований [11].

В модели оптимизации специализированных заказов в ГБУЗ ТО ОКБ № 1 были реализованы два способа управления назначениями: изменение параметров ввода заказа в информационную систему и согласование заказа на лабораторные исследования. В литературе отмечается, что наиболее успешными

мероприятиями являются те, которые сочетают в себе различные инструменты воздействия и сопровождаются вовлечением в процесс ответственных лиц вне лаборатории [5]. Ключевым изменением при реализации этого подхода стал постоянный мониторинг специализированных назначений как со стороны ЦКДЛ, так и со стороны руководства медицинской организации. Таким образом, объем «закрытых» тестов регулируется на уровне заказчика, им может быть проведена оценка эффективности назначений и выявлены сотрудники, требующие дополнительных образовательных мероприятий. Кроме того, важным фактором этой модели управления специализированными назначениями является вынужденное развитие клинко-лабораторного мышления у врачей-клиницистов. Фактически при запросе на одобрение лабораторного назначения проводится консилиум, на котором лечащий врач должен сформулировать и обосновать показания к проведению теста, что является стимулом для самообразования, повышения профессионального уровня и обращения за консультацией к сотрудникам лаборатории.

Не секрет, что основные расходы лаборатории лежат в области тестов с низкой стоимостью расходных материалов, на которые обычно ограничения не распространяются [11]. Поскольку расходы лаборатории поддерживаются бюджетными исследованиями, выполняемыми в большом объеме, систематизация заказов именно этих тестов может дать существенную экономию расходов на лабораторные исследования. Параллельно с ограничением части тестов для прямого заказа в сегменте массовых назначений были проведены следующие мероприятия:

- формирование еженедельного отчета для каждой медицинской организации по выполнению государственного заказа. Известно, что ЦКДЛ получает плановое задание в исследованиях и объемах финансирования, и расходы на выполнение исследований сверх планового задания не возмещаются. Следовательно, выполнение избыточ-

Таблица 1
Перечень лабораторных тестов, при заказе которых необходимо подтверждение со стороны заместителя главного врача по экспертизе временной нетрудоспособности

Витамин D
Холинэстераза
Общая железосвязывающая способность
Креатинкиназа-MB
Альфа-1-антитрипсин
Аполипопротеин А-1 (апо А 1)
Аполипопротеин В (апо В)
Л-цепи иммуноглобулинов типа каппа
Л-цепи иммуноглобулинов типа ламбда
Фолиевая кислота
Церулоплазмин
Гаптоглобин
Прокальцитонин
Анти-Hbc IgG, IgM
Anti-HBs, антитела IgM, IgG
Антитела к рецепторам ТТГ
Адренокортикотропный гормон (АКТГ)
Инсулиноподобный фактор роста-1
С-пептид
Антитела к тиреоглобулину
Антитела к двуспиральной ДНК
Антитела к кардиолипину
Антинуклеарные антитела
HLA-антиген В27
Криоглобулин
Иммуноглобулин А
Иммуноглобулин М
С3-компонент комплемента
С4-компонент комплемента
Шигелла Флекснера 1-5
Шигелла Флекснера 6
Антитела к <i>Yersinia Pseudotuberculosis</i>
Антитела к <i>Brucella spp.</i>
Антитела к <i>Salmonella typhi</i>
D-димер
Антитромбин III
Протеин С
Протеин S
Альфа-2-антиплазмин
Фактор свертывания VIII
Фактор свертывания IX
Фактор Виллибранда

ных исследований, назначенных лечащих врачом, оборачивается финансовым риском для ЦКДЛ. Информирование руководства каждой организации — заказчика лабораторной услуги об освоенных объемах планового задания является инструментом, приобщающим клиницистов к финансовым результатам принятых решений;

- ежедневный мониторинг назначений и отслеживание заказов на соответствие медико-экономическим стандартам. Врачи ЦКДЛ имеют возможность видеть заявку с момента ее формирования лечащим врачом, оценить ее соответствие нозологической форме, а при необходимости связаться с клиницистом и согласовать изменения в назначениях за время транспортировки образца из медицинской организации в лабораторию. Несомненно, что этот способ является время- и трудозатратным, то есть эффективен при выявлении явно нецелесообразных назначений. Показательным может быть пример заказа, который был определен лечащим врачом для обследования при «варикозном расширении вен нижних конечностей без язвы или воспаления». Набор тестов состоял из 46 наименований, включавших электролиты, показатели углеводного обмена, гормоны, онкомаркеры, воспалительные белки и маркеры аутоиммунной патологии. Стандартизация назначений при помощи алгоритмов и профилей для нозологических форм может снизить количество неправильно назначенных анализов, их объем и общее время получения результата;
- введение единого стандарта обследования при госпитализации на уровне региона. Одним из факторов, влияющих на частоту назначений в амбулаторной сети, являются условия по лабораторному обследованию перед госпитализацией. Известно, что перечень необходимых исследований и период, в течение которого анализы считаются актуальными, имеют не только региональную специфику, но могут определяться каждой медицинской организацией. В частности, один из стационаров требует при плановой госпитализации пре-

доставить исследование на группы крови и резус-фактор со сроком давности до 10 дней [2], в другом стационаре результат по группам крови действует бессрочно, но при этом пациент с сахарным диабетом должен иметь результат гликированного гемоглобина давностью не более 14 дней [3]. В целях систематизации и стандартизации обследования перед госпитализацией Департаментом здравоохранения ТО было достигнуто соглашение по взаимодействию медицинских учреждений при направлении пациентов в ГБУЗ ТО ОКБ № 1. Так, были предусмотрены объем обследования и сроки его актуальности для плановой госпитализации на отделения различного профиля, включая лабораторные тесты. По согласованию с ЦКДЛ данные по группе крови и резус-фактору действуют бессрочно, биохимические исследования действительны в течение одного месяца. Кроме того, при плановой госпитализации пациентов в стационар ГБУЗ ТО ОКБ № 1 исключено дублирование лабораторных исследований, выполненных на амбулаторном этапе в ЦКДЛ.

Реализованные мероприятия позволили снизить количество необоснованных и дублирующих лабораторных назначений в медицинских организациях, обслуживаемых в ЦКДЛ, что привело к некоторому уменьшению объема заказов на исследования. Медиана процента тестов, выполненных в 2016 году по сравнению с 2015-м, составила 91,4 % для биохимических тестов, 83,4 % для иммунологических тестов, 92,9 % для коагулологических исследований. При том что мы не отметили столь значимого снижения процента выполненных тестов как для «закрытых» тестов, финансовый результат выразился в более значимой экономии расходов ОМС за анализируемый период. Снижение числа необоснованных заказов привело к экономии на 4,7 % за счет биохимических исследований, 10,7 % за счет иммунологических и 7,5 % — вклад коагулологических тестов. Таким образом,

усилия, направленные на систематизацию назначений на уровне рутинных, но массовых исследований, имеют большую экономическую эффективность, чем ограничение специализированных тестов.

Общая оценка экономического эффекта по обсуждаемому проекту управления назначениями в целом показала экономию средств ОМС в 2016 году в объеме 8,1 % от общей суммы затрат по сравнению с 2015 годом.

Сравнивая различные подходы к управлению назначениями, необходимо отметить, что каждый из них приводит к повышению экономической эффективности, более глубокому пониманию клинической значимости лабораторных исследований и укреплению диалога лаборатории и клинициста. Степень вклада каждой из ценностей различается от используемых подходов, поэтому построение комплексной системы управления назначениями является важной частью современной системы оказания медицинской помощи.

Заключение

Цель управления назначениями заключается в определении, мониторинге, оценке и разрешении проблем, которые могут вызвать неэффективное использование ресурсов здравоохранения или повлиять на качество услуги. Централизованные клиничко-диагностические лаборатории представляются идеальной средой для применения принципов управления в системе здравоохранения, так как улучшения в оказании лабораторных услуг должны реализовываться на основании активного анализа данных и формировании системы управления назначениями. Результаты управления назначениями состоят в обеспечении качества и повышении эффективности системы здравоохранения на соответствующем уровне, координировании преимуществ лабораторных исследований, обеспечении более эффективного лечения и удовлетворении медицинских потребностей. Системный подход включает постоянный диалог с клиницистами, позволяющий избежать риска компромата безопасности пациента.

Рассматривая знания клиницистов в области лабораторной медицины как знания в области «смежных дисциплин», необходимых при присвоении первой или высшей квалификационной категории (в соответствии с приказом МЗ РФ № 240 об аттестации), актуальным представляется участие специалистов лабораторного сообщества и аккредитованных образовательных учреждений в формировании у врачей-клиницистов соответствующих навыков по рациональному использованию современных наукоемких лабораторных технологий. Применение описанных методических приемов управления назначениями по мере повышения уровня знаний в указанной области у практикующих врачей позволит медицинским организациям обоснованно снизить планку контрольных функций с административного уровня на рутинный.

Авторы статьи выражают благодарность Вацисшину Вите Павловне за помощь в обработке данных и участие в обсуждении полученных результатов.

Список литературы

1. Долгих Т.И., Фень А.В., Чекмарев Г.В. Значение централизации лабораторных исследований для реализации программы государственных гарантий оказания бесплатной медицинской помощи в Омской области. Справочник заведующего КДЛ. 2013; 7: 15–22.
2. Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии Минздрава России. Правила госпитализации (URL: niidetgastro.ru/gospit/). Дата обращения 01.09.2016.
3. Приложение № 3а к положению о порядке госпитализации пациентов в стационар ФГБУЗ «КБ № 122» (URL: med122.com/news/1/Pril.3.doc). Дата обращения 01.09.2016.
4. Сорокина Н.А., Апостолов П.С., Суплютов С.Н. Об оптимизации информационной системы централизованной клинко-диагностической лаборатории при лабораторном обеспечении амбулаторно-поликлинической помощи жителям г. Тюмени // Клиническая лабораторная диагностика. 2015. № 9. С. 10.
5. Baird G. The laboratory test utilization management toolbox. Biochemia Medica. 2014; Vol. 24 (N 2): 223–34.
6. Krasowski M.D., Chudzik D., et al. Promoting improved utilization of laboratory testing through changes in an electronic medical record: experience at an academic medical center // BMC Medical Informatics and Decision Making (2015) 15: 11.
7. Lippi G., Mattiuzzi C. Testing volume is not synonymous of cost, value and efficacy in laboratory diagnostics // Clin. Chem. Lab. Med. 2013; 51 (2): 243–245.
8. Martin A. R., Wolf M. A., Thibodeau L. A., Dzaou V., Braunwald E. A trial of two strategies to modify the test-ordering behavior of medical residents. N. Engl. J. Med. 1980; 303: 1330–6.
9. Naugler Ch. A perspective on laboratory utilization management from Canada // Clinica Chimica Acta 427 (2014). 142–144.
10. Plebani M., Zaninotto M., Faggian D. Utilization management: A European perspective // Clinica Chimica Acta 2014; Vol. 427. P. 137–141.
11. Rao G. G., Crook M., Tillyer M. L. Pathology tests: is the time for demand management ripe at last? // J. Clin. Pathol. 2003. Vol. 56. P. 243–248.
12. Rohr U. — P., Binder C., et al. The value of in vitro diagnostic testing in medical practice: a status report // PLOS One. doi: 10.1371/journal.pone.0149856.
13. Yeh D. D. A clinician's perspective on laboratory utilization management // Clinica Chimica Acta. 2014. Vol. 427. P. 145–150.



Итоги юбилейного XX Форума «Национальные дни лабораторной медицины России — 2016»

Юбилейный XX Форум «Национальные дни лабораторной медицины России — 2016», посвященный памяти профессора В.В. Меньшикова, состоялся в г. Москве 14–16 сентября 2016 года традиционно на базе спортивного комплекса «Олимпийский».

Участники форума благодарят за поддержку Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российской академию наук, Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова, институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства, Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова.

Организация форума и подготовка научной программы осуществлялись координационным советом по лабораторной медицине в составе Ассоциации производителей средств клинической лабораторной диагностики, Научно-практического общества специалистов лабораторной медицины, Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики и Национальной ассоциации лабораторной, персонализированной и трансляционной медицины при участии Российского научного общества иммунологов, Научного общества нефрологов России, Национального научного общества инфекционистов, научного общества «Клиническая гемостазиология», Национальной академии микологии.

Приветствуя участников от имени Министерства здравоохранения, Михаил Мальцев отметил, что развитие лабораторной диагностики входит в число наиболее важных задач для повышения доступности и качества медицинской помощи, подчеркнув большую роль профессионального сообщества и значимость форума для развития этой сферы медицинской науки и практики. Также на открытии выступили проректор по научной работе Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова Д.В. Ребри-



ков, руководители организаций — членов координационного совета по лабораторной медицине академик РАН А.М. Егоров, Д.Б. Сапрыгин и С.Н. Щербо. В пленарной лекции академик РАН Н.А. Мухин рассказал о роли лабораторной диагностики на всех стадиях лечебно-диагностического процесса.

Всего в работе форума приняли участие 2046 специалистов из 71 региона Российской Федерации и восьми зарубежных стран: Австрии, Республики Беларусь, Германии, Индии, Казахстана, Китая, Узбекистана и Украины.

Эксклюзивные медиа-партнеры форума: Национальное интернет-общество специалистов по внутренним болезням и журнал «Современная лаборатория» серии «Медицинский алфавит».

На заключительном заседании принято решение о проведении XXI Форума «Национальные дни лабораторной медицины России» и Общероссийской междисциплинарной научно-практической конференции «Консолидация лабораторной медицины и клинической практики» 20–22 сентября 2017 года в г. Москве на базе спортивного комплекса «Олимпийский».

Полные версии итоговых материалов, тезисы и разрешенные к публикации презентации докладов можно найти на интернет-сайте форума: ndlm.ru/; ndlm.pф.



Состояние микробиоценозов желудочно-кишечного тракта жителей города в пожилом и старческом возрасте

Д. Д. Меньшиков, д.м.н., проф., гл. научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии
Е. Д. Меньшикова, к.м.н., научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии
Т. В. Черненькая, к.м.н., зав. лабораторией клинической микробиологии
М. А. Годков, д.м.н., зав. научным отделом лабораторной диагностики

ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени
Н. В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы

Microbiocenosis of gastrointestinal tract in elder and senile city residents

D.D. Menshikov, E.D. Menshikova, T.V. Chernenkaya, M.A. Godkov
The Scientific and Research Institute of Emergency Care n.a. N.V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

Резюме

В последнее годы роль микробиоты желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в физиологии и патологии человека привлекает все большее внимание исследователей и клиницистов. Учитывая высокую долю госпитализируемых, в том числе с неотложной патологией, лиц пожилого и старческого возраста уже в начале лечения необходимо иметь представление о наиболее вероятном качественном и количественном составе микробиоты ЖКТ. Проведенный анализ данных различных исследований, выполненных при обследовании населения крупных городов, позволил установить, что у лиц пожилого и старческого возраста, как правило, имеются функциональные изменения разнообразия видового состава флоры микробиоценозов желудочно-кишечного тракта, нарушение их открытости или замкнутости. Это наряду с основной патологией необходимо учитывать при госпитализации этих пациентов в стационары. Целесообразно начинать антибактериальную и микробиологическую терапию больным непосредственно при госпитализации на основании клинических и анамнестических данных с последующей коррекцией в соответствии с результатами лабораторного обследования. В комплексе с микробиологической терапией эффективно применение различных эфферентных, в том числе сорбционных методов.

Ключевые слова: дисбактериоз, колонизационная резистентность, открытость (замкнутость) биоценозов, автохтонная микрофлора.

Summary

In the recent years the role of the microbiota of the gastrointestinal tract (GIT) in human physiology and health problems is characterized by increasing attention of researchers and clinicians. Taking into account the high proportion of hospitalization among elderly patients, including urgent conditions, even in the beginning of treatment it is necessary to know and understand the most probable qualitative and quantitative characteristics of the microflora of the GIT. The analysis of data from various studies conducted among the residents of big cities has shown that elderly and senile patients usually have some functional changes in the species composition of microbiocenosis of gastrointestinal tract, as well as the impairment of their openness and closeness. This, along with underlying abnormal process, should be considered in these hospitalized patients. Antibiotic and microbiological therapies immediately prior to admission on the basis of clinical data and history with further tailoring in accordance with the results of laboratory examinations are recommended. Combination of microbiological therapy with various efferent methods, including sorption, is more efficient.

Key words: disbacteriosis, colonization resistance, openness (closeness) of ecological communities, autochthonous flora.

В последние десятилетия (начиная с 1990 года) общая численность населения Российской Федерации сокращается. Количество же лиц пенсионного возраста растет [7].

Процесс старения человека чрезвычайно индивидуален, так как зависит от множества факторов. Старение сопровождается снижением мышечной силы и массы мышц, развитием заболеваний сердечно-сосудистой системы, увеличением числа хронических патологических процессов, уменьшением плотности костной ткани и возрастными изменениями механизмов, обеспечивающих постуральный контроль, проявлениями которых являются снижение мобильности и, несмотря на это, частые падения [43]. Естественно,

что все это приводит к повышенной обращаемости стареющей части населения за медицинской помощью, в том числе ургентной.

Для рациональной организации оказания специализированной медицинской помощи, в том числе и неотложной, в многопрофильном стационаре крупного мегаполиса необходимо иметь информацию о состоянии возможно большего количества показателей здоровья его населения. В частности, учитывая высокую долю госпитализируемых пожилого и старческого возраста, необходимо иметь представление о качественном и количественном составе микрофлоры их основных биотопов, ее роли в сохранении гомеостаза человека.

Современный мегаполис представляет собой биотехнологическую структуру, сходную с живым организмом, в котором постоянно происходят обмены энергией, веществами и информацией с его населением, промышленными, сельскохозяйственными и природными зонами. Эта антропоэкосистема влияет на жизнедеятельность населения и состояние его здоровья [23]. Особенно большое значение имеет жизнь в городских условиях, которые, вероятно, могут оказывать влияние на состояние микробиоты жителей. Это чрезвычайно важно, так как доказаны не только риски возникновения инфекционных заболеваний, вызванных аутофлорой, но и установлена ее ведущая роль в регуляции многих звеньев гомеостаза человека.

Давно известно, что в организме человека микрофлора, особенно биота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), выполняет множество функций: колонизационная резистентность; ферментативное действие, способствующее перевариванию и усвоению пищи; участие в образовании витаминов, в том числе обладающих антирахитическим и антианемическим действиями. Микрофлора кишечника препятствует микробному декарбоксилированию пищевого гистидина и повышению количества гистамина, то есть оказывает антиаллергенное влияние; обуславливает антиатеросклеротическое действие, так как лактобациллы и некоторые другие бактерии обладают холестеринмодифицирующей активностью [5, 9]. В то же время состояние биоценоза ЖКТ связано с заболеваниями не только ротовой полости, глотки и собственно желудочно-кишечного тракта, но и с ожирением, сахарным диабетом, патологией сердечно-сосудистой системы, возникновением злокачественных новообразований, аллергией и т.д. [34, 35]

Выявлено, что микробиом кишечника содержит больше генетического материала, чем сам хозяин, а число микробов в кишечнике в 10 раз больше, чем эукариотических клеток в организме человека [9]. Биомасса микробных клеток только хорошо изученной части микробиоты человека — в желудочно-кишечном тракте взрослого человека — представлена около 450 видами микроорганизмов, а ее масса достигает 3–4 кг.

Характер и механизмы взаимодействия организма человека и его автохтонной микрофлоры сложись так, что вследствие их тесного взаимодействия в составе микробиоценозов происходят изменения в ответ на возникающие в макроорганизме патологические процессы, а также на изменения окружающей среды [19, 36]. Очевидно, в пожилом и старческом возрасте активность этих адаптационных процессов и их благоприятные для гомеостаза макроорганизма последствия снижаются.

Известно, что обитающие в кишечнике человека микробы могут влиять не только на некоторые звенья метаболизма, но и на нервную систему: мышление, настроение, сон,

личностные свойства, предпочтения в питании, вызывать тревогу и даже депрессию [10, 32].

Ранее было показано, что бактерии способны вырабатывать вещества с механизмом действия, близким к медиаторам обмена веществ в организме человека, такие как простагландины, гистамин, серотонин и др. [3]

Важную роль в регуляции гомеостаза макроорганизма, его устойчивости к стрессам играет этанол. Алкоголь и его метаболиты постоянно (эндогенно) присутствуют в организме человека в физиологических концентрациях. Обычно под эндогенным этанолом подразумевают тот, который образуется в нижнем отделе ЖКТ в результате микробной ферментации сахара. Количество в организме этого вещества невелико. По мнению Ю.А. Тарасова и В.В. Левича (2011), имеются еще два вида эндогенного этанола, один из которых независимо от внешних факторов постоянно синтезируется в клетках макроорганизма. Другой, из-за того, что он образуется вследствие приема некоторых лекарств, видов пищи или под воздействием заболеваний, называют условно-эндогенным [21].

Большую роль в выполнении многообразных функций играет морфофункциональное состояние популяций автохтонной флоры. Представители аутофлоры человека представлены не только небольшими скоплениями или планктонными формами, но и образуют биопленки, являющиеся как бы самостоятельным организмом (quorum sensing). Биопленки покрывают слизистые и кожу человека. Эта особая форма существования микрофлоры в норме выполняет защитные функции слизистых оболочек макроорганизма, в частности, препятствует колонизации различных биотопов патогенными микроорганизмами и развитию дисбактериозов [2, 4, 26, 27], то есть принимает участие в регуляции открытости (замкнутости) различных биотопов.

Ротоглотка покрыта плоским многослойным неороговевающим эпителием, исследования абсорбционной активности которого затруднительны. Поэтому процесс всасывания бактериальных низкомолекулярных метаболитов многослойным эпите-

лием совершенно не изучен. Однако доказана связь их уровня в слюне с патогенезом ангины, фарингитов, хронических тонзиллитов [26, 27]. Кроме того, имеются данные о том, что препараты на основе бактериальных метаболитов обладают не только противовоспалительными свойствами, но и существенной антибактериальной активностью при лечении ангины, отитов и хронических тонзиллитов [2].

Считается, что пищевод не имеет собственной микрофлоры, а обнаруживаемые в нем микроорганизмы поступают из ротоглотки или из желудка. В желудке же обычно присутствуют лактобациллы, дрожжи, а иногда и грамотрицательные бактерии. Общее число микроорганизмов обычно невелико. Почти половина населения многих государств, чаще стран третьего мира, инфицированы *Helicobacter pylori*. В присутствии этого микроорганизма слизистая желудка становится более подверженной развитию гастрита. Поражается и двенадцатиперстная кишка [20, 13, 25].

В кишечнике существует защитный барьер — слой слизи, секреторного иммуноглобулина А (s-IgA), микрофлоры и ее метаболитов, которые покрывают эпителиальные клетки, заполняют пространство между ворсинками [3, 29], то есть влияют на состояние открытости и (или) замкнутости биотопа.

В процессе жизнедеятельности организма человека его микрофлора участвует не только в большом количестве процессов, несомненно, положительно влияющих на состояние гомеостаза (синтез витаминов, переваривание пищи и т.д.), но и отвечает за высвобождение в процессе своей естественной гибели эндотоксина липополисахарида (ЛПС), являющегося частью бактериальной клетки. ЛПС стимулирует иммуногенез, однако может участвовать и в развитии синдрома эндогенной интоксикации [3].

Для накопления токсинов в организме достаточно воздействия любого агрессивного агента. По мере его воздействия продукты защитных реакций организма будут накапливаться на белках-носителях, на гликокаликсе эритроцитов и на липопротеидах всех классов плотности, в частности, на липополисахаридах (бактериаль-

ных эндотоксинах). Наличие и количество липополисахаридов связано в основном с грамотрицательными бактериями желудочно-кишечного тракта, а свойства сравнивают с экзогенными гормонами [39].

Имеются сведения о патологическом воздействии токсинов бактерий на иммунную систему, причем эффект проявляется на уровне внутриклеточных структур: повреждаются митохондрии, увеличивается проницаемость клеточных и лизосомальных мембран, нарушается транспорт электронов в системе цитохромоксидаз, подавляется синтез белка. Это приводит к высвобождению биологически активных субстанций клеток, в частности, протеолитических ферментов.

Известно, что резидентная флора, продуцируя низкомолекулярные метаболиты, антибиотики, специфические токсины и антиметаболиты, препятствует жизнедеятельности патогенных микроорганизмов в кишечнике, половых путях и ротоглотке. Таким образом, на наш взгляд, происходит регуляция открытости и замкнутости этих биотопов. Обычно бывают задействованы и механизмы ингибирования жизнедеятельности возбудителей инфекций с помощью таких факторов, как образование пероксида водорода, снижение pH среды, колонизационная резистентность, а также ингибирование адгезии болезнетворных бактерий к апикальной мембране эпителиоцитов.

Метаболиты бактерий, выполняющие роль сигнальных молекул, влияют на меж- и внутривидовые взаимоотношения микрофлоры, образование биопленок, уменьшают экспрессию генов SOS-ответа, а также изменяют вирулентность микроорганизмов [3, 31, 37, 42, 44].

Одной из систем, обеспечивающих барьерные функции макроорганизма, является печень, которая участвует в экскреторных процессах, в детоксикации и иммунной защите. При образовании желчи в гепатоцитах через систему желчных протоков она поступает в желчный пузырь и через открытый сфинктер общего желчного протока в двенадцатиперстную кишку. Количество желчи может превышать 1 л в сутки. В составе желчи выводятся из организма ряд экскретов (желчные пигменты, холестерин и др.).

Из внешних барьеров печеночный барьер особенно важен. Он обеспечивает обезвреживание ядовитых соединений, в том числе образующихся в кишечнике и поступающих из него в кровь. Именно ее барьерная функция в значительной степени определяет жизнедеятельность, чувствительность тканей и органов к чужеродным веществам, в частности, к лекарствам [18].

В связи с действием щелочного pH и пищеварительных ферментов тонкая кишка, особенно ее верхние отделы или не содержат бактерии, или последние присутствуют в количестве менее 10^3 КОЕ/мл. Микрофлора тонкого кишечника составляет незначительную часть микробиоты всего кишечника человека. В основном она находится в дистальной части подвздошной кишки и представлена бактероидами и бифидобактериями. В проксимальном отделе тонкого кишечника микроорганизмы или вообще отсутствуют или исчезают после прохождения пищи [13, 41]. У пожилых людей в тонкой кишке наиболее часто наблюдают синдром избыточного бактериального роста бактерий [8]. Избыточным ростом обычно называют заселение тонкой кишки микроорганизмами численностью более 10^5 клеток в 1 мл. Характерным является и состав флоры, состоящей из грамотрицательных колиформных бактерий и облигатных анаэробов.

Причины возникновения избыточного роста бактерий в тонкой кишке полиэтиологичны. Часто происходит колонизация ее дивертикулов и дубликатуры толстокишечными бактериями. Одними из причин избыточного бактериального роста являются заболевания, характерные для пожилого и старческого возраста, такие как системная склеродермия, амилоидоз, миотоническая дистрофия, болезни Паркинсона, Гиршпрунга, Шагаса, гипотиреоз, сахарный диабет, гипопаратиреоз, феохромоцитома. Причиной избыточного бактериального роста может быть также прием лекарственных средств. Для людей пожилого возраста именно эти факторы в совокупности со снижением секреторной функции желудка, нарушением моторно-эвакуаторной функции ЖКТ, то есть его открытости (замкнутости), и наличием

хронических заболеваний являются провоцирующими избыточный бактериальный рост в тонкой кишке [1, 8].

У больных пожилого и старческого возраста имеется высокая распространенность дистрофических процессов и заболеваний слизистой оболочки полости рта и губ (79–91 %), патология тканей пародонта (от 76 до 85 %). Увеличивается секреция С-реактивного белка, что является следствием воспалительных процессов. Сдвиг pH в сторону ацидоза и снижение активности лизоцима приводят к увеличению численности грамположительных кокков и способствуют колонизации дрожжеподобными грибами. Доминантными видами микробиоценоза полости рта у лиц пожилого и старческого возраста являются стафилококки (89–91 %), лактобактерии (54–76 %) и дрожжеподобные грибы (56–57 %) [28].

Старение сопровождается и частичным нарушением иннервации желудочно-кишечного тракта, изменением слоев стенок желудка. В его слизистой оболочке уменьшается число мышечных волокон и секреторных клеток. В старости происходит удлинение кишечника, в основном отдельных участков толстой кишки. Происходят атрофические процессы в желудочно-кишечном тракте, приводящие к нарушению всасывания белков, жиров и углеводов.

С возрастом микрофлора кишечника также изменяется. Численность гнилостных микроорганизмов возрастает. Уменьшается количество молочнокислых бактерий. Происходит увеличение количества эндотоксинов (ЛПС) бактерий. Нарушения перистальтики могут быть обусловлены патологией нервной и мышечной систем, инфекционными, аутоиммунными, онкологическими и другими заболеваниями, что может привести не только к синдрому избыточного роста в тонкой кишке, но и к нарушению толерантности к резидентной аутофлоре. При этом на клеточном и молекулярном уровнях часто возникают необратимые последствия. В частности, что на наш взгляд особенно важно, происходят нарушение барьерной функции стенки кишечника, воспаление слизистой, транслокация бактерий и эндотоксинов из просве-

та кишечника в системный кровоток и лимфатические узлы. Иногда это приводит к возникновению таких заболеваний и осложнений, как сепсис, панкреатит, перитонит [4, 30, 33, 38].

Сложной задачей является выявление характерных для раннего дисбактериоза толстой кишки клинических симптомов, так как на фоне полиморбидности, присущей пожилому контингенту больных, происходят наложение и маскировка различных клинических симптомов, что не позволяет точно дифференцировать клиническую картину одной конкретной патологии.

Л. В. Толкушиной (2009) также установлено, что при старении проявляются качественные и количественные признаки возрастного дисбактериоза, изменение микрофлоры толстой кишки. По ее данным, снижается численность лакто- и бифидобактерий, а у лиц старческого возраста также и бактероидов, возрастает число условно-патогенных бактерий. У людей старше 75 лет возрастает количество штаммов *E. coli*, обладающих декарбоксилазами глутаминовой кислоты, аргинина, лизина, способных дезаминировать аспарагиновую кислоту и их амиды, что, соответственно, ведет к увеличению продукции аммиака в кишечнике. Так же, как и другими исследователями, ею отмечены возрастное снижение кислотности кишечного содержимого и превалирование процессов гниения, причем, по ее мнению, для проведения этиологически обоснованной коррекции дисбактериоза и оценки ее эффективности необходимо учитывать не только микробиологические, но и копрологические показатели конкретного пациента [22]. Проводя тщательный сбор анамнеза и жалоб пациентов, часто удается выявить некоторые наиболее характерные симптомы. Частота и устойчивость этих патологических ощущений позволяют расценить их как клинические проявления дисбиоза.

Ведущим клиническим симптомом для старческого дисбактериоза являются запоры, беспокоящие почти 80 % пациентов. Это позволяет выделить запоры в качестве основного клинического проявления дисбактериоза кишечника у больных пожилого и старческого возраста.

Кроме запоров, другими синдромами и симптомами, беспокоящими пациентов этих возрастных групп, являются боли в животе, метеоризм, тошнота, отрыжка, тенезмы, снижение аппетита, неприятные ощущения во рту [8, 16]. В пожилом возрасте причинами дисбактериоза кишечника являются многие факторы. Это нарушение сбалансированности питания, снижение физической активности, прогрессирование возрастных изменений и заболеваний желудочно-кишечного тракта. У женщин дисбаланс кишечной микрофлоры, нарушения обмена кальция и эстрогенов взаимосвязаны и сопровождаются риском развития остеопороза.

Снижение колонизационной резистентности слизистой кишечника приводит к нарушению ее локальных и системных функций, прежде всего защитной функции ингибирования роста патогенов и снижению ферментативных, синтетических, иммуномоделирующих свойств. Растет эндогенная интоксикация организма.

Близкую к дисбактериозам кишечника, но самостоятельную проблему, представляет синдром раздраженного кишечника (СРК). Специфической для СРК симптоматики не существует. Характерным синдромокомплексом является наличие абдоминальной боли в сочетании с запорами или диареей. Наиболее часто СРК развивается у пациентов в возрасте от 24 лет до 41 года. Возникновение признаков заболевания после 60 лет ставит диагноз СРК под сомнение. В таких случаях следует исключать наличие дивертикулеза, полипоза, колоректального рака, ишемического колита и другой патологии кишечника [24], то есть состояний, нарушающих открытость (замкнутость) биотопа.

На земном шаре от симптомов данного заболевания страдают около 20 % населения. Исходя из Римских критериев III пересмотра, выделяют СРК с диареей, когда жидкие испражнения у пациента отмечаются более чем в 25 % всех дефекаций; СРК с запором, при твердом или глыбообразном стуле у пациента в более чем 25 % всех актов дефекации. Смешанная форма СРК выявляется, когда каловые массы то твердые, то водянистые.

Результаты недавних исследований показали, что в кишке определяются маркеры неспецифического воспаления. По крайней мере, у части этих пациентов имеется синдром избыточного бактериального роста.

Приверженность больных синдромом раздраженного кишечника к лечению психофармацевтическими препаратами низкая. Около трети пациентов самостоятельно прекращают их прием [14, 24].

Состояние биоценоза ЖКТ связано и с ожирением, сахарным диабетом, патологией сердечно-сосудистой системы, возникновением злокачественных новообразований, аллергией и т.д. [34, 35]

Накоплен большой объем современной информации о возможности микробной и лекарственной коррекции биоты в комплексе мероприятий по профилактике атеросклероза, лечению больных с сахарным диабетом и ожирением. Можно считать доказанным положительное влияние деконтаминационной терапии при таких заболеваниях, как синдром раздраженного кишечника (СРК), панкреатит, цирроз печени, воспалительные заболевания кишечника [9].

В коррекции нарушений биоценоза кишечника одно из ведущих мест отводят деконтаминации, в том числе селективной. Для этого применяют антибиотики, кишечные антисептики, некоторые пробиотики [16]. При избыточном бактериальном росте в кишечнике основную роль обычно отводят невсасывающимся в ЖКТ антисептикам, которые почти не влияют на автохтонную микрофлору. Широкое распространение получили препараты нитрофуранового ряда, среди которых следует отметить Эрсефурил (препарат нифуроксазида). Он нормализует автохтонную флору кишечника и угнетает размножение (а в высоких дозах даже оказывает бактерицидное действие) различных видов *Salmonella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Proteus spp.*, *Haemophilus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и, кроме того, *Helicobacter pylori* [9, 40].

Таким образом, проведенный анализ данных различных исследований, выполненных, как правило, при обследовании населения крупных горо-

дов, позволил установить, что у лиц пожилого и старческого возраста часто имеются нарушения микробиоценозов ЖКТ. Это наряду с основной патологией необходимо учитывать при их госпитализации, в том числе неотложной, в стационары и проводить антибактериальную и микробиологическую терапию первоначально на основании клинических и анамнестических данных, а в дальнейшем корректировать в соответствии с результатами лабораторного обследования [5, 15, 17]. Кроме того, получены данные об эффективности применения различных эфферентных, в том числе сорбционных методов не только при острой и хронической гастроэнтерологической патологии, но и с целью ее профилактики. Их использование в комплексе с микробиологической терапией позволяет нормализовать микробиоценоз ЖКТ [6, 11, 12].

Список литературы

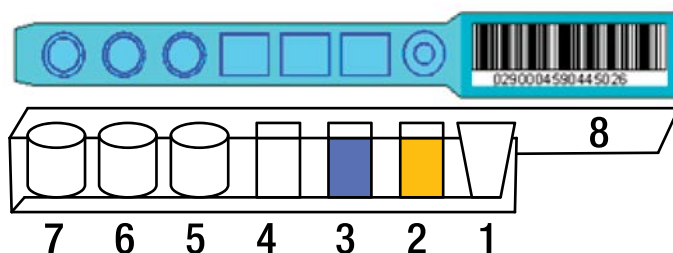
1. Авдеев В. Диагностика и лечение синдрома избыточного роста бактерий в тонкой кишке // *Врач*. — 2010. — № 12. — С. 49–50.
2. Алешкин В. А., Бабин В. Н., Даванков В. А. [и др.] На пороге XXI века: симбиотики — новая веха в истории борьбы за выживание человека [Электронный ресурс] // *Провизор*. — 1998. — № 23. — Режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/archive/1998/N23/simbio.php>.
3. Бабин В. Н., Домарадский И. В., Рубинин А. В., Кондракова О. А. Биохимические и молекулярные аспекты симбиоза человека и его микробиоты // *Российский химический журнал*. — 1994. — № 6. — С. 66–78.
4. Бондаренко В. М. Механизмы транслокации бактериальной аутофлоры в развитии эндогенной инфекции [Электронный ресурс] // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. — 2013. — № 3. — Режим доступа: <http://cyberleninka.ru/article/n/mehanizmy-translokatsii-bakterialnoy-autoflory-v-razviti-endo-gennoy-infektsii>.
5. Бурмистров В. А. Нормальная микрофлора и ее значение для здоровья человека. Препараты для профилактики и лечения дисбактериозов [Электронный ресурс]. — Новосибирск, 2009. — Режим доступа: http://vector-vita.narod.ru/Documents/papers/Microflora_and_Disbacteriosis.pdf.
6. Гольдфарб Ю. С., Лужников Е. А., Петров С. И. [и др.] Совместимость компонентов детоксикационной терапии при острых экзогенных отравлениях // *Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии: сб. материалов восьмой междунар. конф.*, Москва. — 31 мая — 1 июня 2012 г. / Отв. ред. М. Б. Ярустовский. — М. — 2012. — С. 54.
7. Гуриянов П. А. О сущности и стратегии пенсионных реформ в России [Электронный ресурс] // *Экономика и менеджмент инновационных технологий*. — 2014. — № 4. — Режим доступа: <http://ekonomika.snauka.ru/2014/04/4784>.
8. Конев Ю. В. Дисбиоз в пожилом и старческом возрасте // *Consilium Medicum*. — 2004. — № 12. — С. 906–909.
9. Костюкевич О. И. Влияние кишечной микрофлоры на здоровье человека. От патогенеза к современным методам коррекции дисбиоза // *Русский медицинский журнал*. — 2011. — № 5. — С. 304–308.
10. Лужковская Ю. Диета для работы мозга. Что есть, что бы хорошо соображать. — СПб.: Питер, 2010. — 224 с.
11. Маткевич В. А. Кишечный лаваж // *Медицинская токсикология: нац. рук-во / под ред. Е. А. Лужникова*. — М.: ГЭОТАР-Медиа. — 2012. — (Сер. Национальные руководства). — Гл. 4. — С. 162–186.
12. Новокшионов А. А., Соколова Н. В. Энтеро-сорбция — эфферентный метод эфферентной этиопатогенетической терапии острых кишечных инфекций у детей // *Лечащий врач*. — 2011. — № 3. — С. 65–70.
13. Поздеев О. К. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровского. — 4-е изд., испр. — М.: ГЭОТАР МЕДИА, 2007. — 767 с.
14. Полуэктова Е. А. Синдром раздраженного кишечника (СРК) — от патогенеза к лечению // *Южно-Российский мед. журнал*. — 2004. — № 4. — С. 39–43.
15. Приказ Минздрава РФ N 231 от 09.06.2003 «Об утверждении отраслевого стандарта «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»». — М., 2003. — 75 с. <http://zakonbase.ru/content/base/61570/>.
16. Приходько В. Ю., Федько Г. П., Коваленко Л. И. Лактофильрум в коррекции хронических запоров при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у больных пожилого возраста // *Здоров'я України. Темат. номер: Гастроентерологія. Гепатологія. Колопроктологія: мед. газета*. — 2013. — Червень (№ 2). — С. 29.
17. Руш К., Руш Ф. Микробиологическая терапия. Теоретические основы и практическое применение: пер с нем. — М.: Арнебия, 2003. — 160 с.
18. Секреторная функция печени [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://fiziologija.vse-zabolevaniya.ru/sistema-piwevarenija/sekretomaja-funkcija-pecheni.html>.
19. Смагин А. Ю. Пробиотики и пребиотики у новорожденных и детей грудного возраста (обзор литературы) [Электронный ресурс] // *Интенсивная терапия*. — 2006. — № 4. — Режим доступа: <http://icj.ru/journal/number-4-2006/91-probiotiki-i-prebiotiki-u-novorozhdennyh-i-detey-grudnogo-vozrasta-obzor-literatury.html>.
20. Соболева Ю. В. Структурно-функциональная характеристика микросимбиозов верхних дыхательных путей человека: дис. канд. мед. наук. — Оренбург, 2012. — 126 с.
21. Тарасов Ю. А., Лелевич В. В. Эндогенный этанол и ацетальдегид, их биомедицинское значение // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. — 2011. — № 2 (34). — С. 8–11.
22. Толкушина Л. В. Аутофлора кишечника у пожилых и людей старческого возраста, проживающих в крупном промышленном городе: дис. ... канд. мед. наук. — Волгоград, 2009. — 131 с.
23. Толстая Е. В. Экологическая медицина: конспект лекций. — Минск: МГЭУ им. А. Д. Сахарова, 2005. — 322 с.
24. Турко Т. В., Махов В. М. Синдром раздраженного кишечника // *РМЖ*. — 2006. — Прил. Болезни органов пищеварения. — № 1. — С. 52–61.
25. Хеликобактер пилори (*Helicobacter pylori*), ХП-инфекция [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.medicin-germany.ru/bolezni/zheludok-kishechnik-pechen/khelikobakter-pilori-helicobacter-pylori/>.
26. Хэм А., Кормах Д. Гистология: пер. с англ.: в 5-ти т. — М.: Мир, 1983. — Т. 2. — 254 с.
27. Чеботарь А. Б., Чубик М. В., Красножонов Е. П., Дамбаев Г. Ц. Состояние колонизационной резистентности у хирургических больных в раннем послеоперационном периоде // *Бюллетень сибирской медицины*. — 2007. — № 2. — С. 60–64.
28. Чижикова Т. В. Микробная экология полости рта людей пожилого и старческого возраста, проживающих в условиях техногенного воздействия крупного промышленного города: дис. ... канд. мед. наук. — Волгоград, 2007. — 108 с.
29. Щербakov П. А., Нижевич А. А., Логиновская В. В. [и др.]. Микроэкология кишечника у детей и ее нарушения // *Фарма-тека*. — 2007. — № 14. — С. 28–34.
30. Ammori B. J. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis // *Pancreas*. — 2003. — Vol. 26, N. 2. — P. 122–129.
31. Fajardo A., Martinez J. L. Antibiotics as signals that trigger specific bacterial responses // *Curr. Opin. Microbiol.* — 2008. — Vol. 11, N. 2. — P. 161–167.
32. Foster J. A., McVey Neufeld K. A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression // *Trends Neurosci.* — 2013. — Vol. 36, N. 5. — P. 305–312.
33. Hooper L. V., Wong M. H., Thelin A. [et al.] Molecular analysis of commensal host-microbial relationship in the intestine // *Science*. — 2001. — Vol. 291, N. 5505. — P. 881–884.
34. Huycke M. M., Gaskins H. R. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models // *Exp. Biol. Med.* (Maywood,). — 2004. — Vol. 229, N. 7. — P. 586–597.
35. Isolauri E., Kalliomaki M., Laitinen K., Salminen S. Modulation of the maturing gut barrier and microbiota: a novel target in allergic disease // *Curr. Pharm. Des.* — 2008. — Vol. 14, N. 14. — P. 1368–1375.
36. Ley R. E., Lozupone C., Hamady M. [et al.] Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2008. — Vol. 6, N. 10. — P. 776–788.
37. Linares J. F., Gustafsson I., Baquero F., Martinez J. L. Antibiotics as intermicrobial signaling agents instead of weapons // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2006. — Vol. 103, N. 51. — P. 19484–19489.
38. Linskens R. K., Huijsdens X. W., Savelkoul P. H. [et al.] The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics // *Scand. J. Gastroenterol.* — 2001. — Vol. 234, Suppl. — P. 29–40.
39. Marshall J. C. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? // *Clin. Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 41, Suppl. 7. — S470–S480.
40. Nifuroxazide: Licence modification. New restrictions in children // *Prescrire Int.* — 2004. — Vol. 13, N. 70. — P. 53.
41. Quigley E. Микробиота и моторика кишечника // *Клиническая фармакология и терапия*. — 2013. — № 1. — С. 16–22.
42. Skindersoe M. E., Alhede M., Phipps R. [et al.] Effects of antibiotics on quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2008. — Vol. 52, N. 10. — P. 3648–3663.
43. Spirduso W., Francis K. L., MacRae P. G. *Physical Dimensions of Aging*. — 2nd ed. — USA: Human Kinetics, 2005. — 384 p.
44. Starner T. D., Shrout J. D., Parsek M. R. [et al.] Subinhibitory concentrations of azithromycin decrease nontypeable *Haemophilus influenzae* biofilm formation and diminish established biofilms // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2007. — Vol. 52. — P. 137–145.



Мультипараметрическая автоматическая станция для выполнения тестов методом ИФА и РСК: аутоиммунные и инфекционные заболевания



Chorus trio: 1 стрип = 1 анализ



- | | |
|-------------------------|-----------------------|
| 1. Лунка для образца | 5. Лунка без антител |
| 2. Лунка с конъюгатом | 6. Лунка с антителами |
| 3. Лунка с разбавителем | 7. Свободная лунка |
| 4. Лунка с субстратом | 8. Штрих-код |

- ✓ Более 80 тестов в ИФА и РСК-формате: маркеры аутоиммунных и инфекционных заболеваний
- ✓ Каждый тест выполняется в отдельном стрипе
- ✓ Выполнение до 30 различных тестов за 1 загрузку
- ✓ Время выполнения теста: 60-120 минут
- ✓ Выполнение РСК-тестов в автоматическом режиме
- ✓ Высокая точность и воспроизводимость результатов
- ✓ Многоуровневая система защиты от ошибок
- ✓ Компактный дизайн анализатора

РСК – реакция связывания комплимента



С.В. Торшин

Послеоперационная летальность при внесердечных операциях: современные представления о роли повреждения миокарда на основании определения концентрации тропонина

С.В. Торшин, к.м.н., доцент кафедры биохимии

ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, г. Москва

Postoperative mortality in noncardiac surgery: current understanding of myocardial injury role based on troponin evaluation

S.V. Torshin

The Russian Medical Academy for Postgraduate Education, Moscow, Russia

Резюме

В обзоре рассмотрена роль поражения миокарда при внесердечных хирургических операциях, основываясь на данных, полученных в крупных многоцентровых международных исследованиях: VISION, ENIGMA, ENIGMA-II, POISE, POISE-2 и др. Показано, что даже умеренное повышение концентрации тропонина в послеоперационном периоде при недостаточности клинических критериев для диагноза инфаркта миокарда сильно коррелирует с уровнем 30-дневной летальности, что оправдывает введение в клиническую практику термина «повреждение миокарда после внесердечных операций». Описаны основные пути научного поиска для профилактики периоперационного повреждения миокарда и улучшения клинических исходов во внесердечной хирургии. Обоснована целесообразность определения и мониторинга концентрации тропонина в периоперационном периоде при внесердечных операциях у пациентов группы высокого риска.

Ключевые слова: тропонин, послеоперационная летальность, повреждение миокарда, внесердечная хирургия, инфаркт миокарда, биомаркеры некроза миокарда, клинические исходы.

Summary

This review evaluates the role of myocardial injury in noncardiac surgery based on data revealed by large multicenter international clinical trials: VISION, ENIGMA, ENIGMA-II, POISE, POISE-2 etc. It is demonstrated that even mild increase of troponin in postoperative period without clinical criteria for myocardial infarction diagnosis strongly correlates with 30-days mortality thus justifying introduction of clinical term 'myocardial injury after noncardiac surgery (MINS)'. Main ways for prevention of perioperative myocardial injury and improvement of clinical outcomes in noncardiac surgery being under investigation are described. Reasons for measurement and monitoring of troponin in perioperative period in noncardiac surgery in high-risk patients are explained.

Key words: troponin, postoperative mortality, myocardial injury, noncardiac surgery, myocardial infarction, myocardial necrosis biomarkers, clinical outcomes.

В мире ежегодно выполняются около 230 миллионов [1] внесердечных хирургических операций, из которых больше половины у пациентов старше 45 лет. Еще несколько десятилетий назад первоочередной задачей по улучшению клинических исходов при хирургических операциях считалось снижение интраоперационной летальности. Благодаря внедрению в клиническую практику целого комплекса инноваций, включающего стандарты интраоперационного мониторинга, новые анестетики, миорелаксанты, инфузионные растворы, современные кровосберегающие технологии, различные устройства для обеспечения проходимости дыхательных путей, методики экстракорпоральной поддержки кровообращения и газообмена, за несколько последних десятилетий достигнуто грандиозное повышение безопасности анестезиологического пособия. По различным оценкам, уровень интраоперационной летальности при внесердечных хирургических операциях стал весьма низким и составляет на сегодняшний день примерно одну смерть на 50–200 тысяч анестезий, что значительно ниже, чем, например, риск человека на протяжении жизни получить удар молнией [2].

Послеоперационную летальность оценивают по показателю 30-дневной летальности с момента перенесенной хирургической операции. В популяции пациентов старше 45 лет общий уровень 30-дневной послеоперационной летальности при внесердечных операциях составляет около 2%, что в абсолютном выражении составляет примерно 2,5 миллиона человеческих жизней в год. Социальная значимость этой проблемы в течение многих лет заставляет медицинскую науку искать причины послеоперационной летальности и пути улучшения клинических исходов при внесердечных хирургических операциях. Патогенез послеоперационной летальности связывали с различными процессами: стрессовой реакцией организма на операционную травму, гипоперфузией и гипоксией тканей, нарушением функции эндотелия, митохондриальной дисфункцией, дисрегуляцией иммунной системы, системной воспалительной реакцией, инфекционными осложнениями. Миокарду и его функции и раньше отводилась роль в этиопатогенезе послеоперационной летальности, но частота возникновения повреждений миокарда и их вклад оставались малоизученными.

До внедрения методов измерения тропонина в клинической практике отсутствовали биомаркеры, характеризующиеся высокой специфичностью и чувствительностью, что резко ограничивало наши представления о роли и частоте развития повреждений миокарда при внесердечных хирургических операциях. В последнем определении инфаркта миокарда, принятом и опубликованном кардиологическим сообществом в 2012 году, равно как и в предыдущем определении от 2007 года, важная роль в диагностике инфаркта миокарда отводится лабораторным методам, выявляющим некроз миокарда по «росту и (или) падению уровня сердечных биомаркеров (предпочтительно тропонина)» при наличии хотя бы одного клинического признака ишемии миокарда [3]. Использование иных биомаркеров некроза миокарда в послеоперационных условиях крайне затруднено, так как их и без того невысокая специфичность дополнительно снижается в связи с инвазивностью хирургического вмешательства, вызывающего механическое повреждение скелетной мускулатуры и внутренних органов.

Наибольшие изменения наши представления о роли и частоте встречаемости повреждения миокарда во внесердечной хирургической популяции претерпели после публикации первых результатов большого международного проспективного когортного исследования VISION (Vascular events In noncardiac Surgery patients cOhort evaluationN), охватившего более 15 тысяч пациентов старше 45 лет, перенесших хирургические операции с длительностью общей анестезии не менее одного часа и госпитализированных хотя бы на одни сутки после операции [4]. Всем пациентам в послеоперационном периоде определялся уровень тропонина Т через 6–12 часов после операции, а также в первые, вторые и третьи послеоперационные сутки. Статистический анализ был направлен в первую очередь на выявление корреляции послеоперационного уровня тропонина с 30-дневной летальностью и частотой развития различных послеоперационных осложнений.

Исследование VISION выявило в разы более высокую распространенность повышения тропонина в послеоперационном периоде, чем исходно предполагалось гипотезой исследования (табл. 1). Значения тропонина, свидетельствующие о наличии повреждения (некроза) миокарда, достигались у 8,3 % всех пациентов, что говорит о широком распространении периоперационного повреждения миокарда в общехирургической популяции. Однако лишь части этих пациентов согласно действующему универсальному международному определению может быть установлен диагноз инфаркта миокарда. Даже среди пациентов с пиковым значением тропонина $T \geq 0,04$ нг/мл лишь у 15,8 % отмечалась симптоматика, связанная с ишемией миокарда, а изменения ишемического характера на ЭКГ обнаруживались только в 34,9 % случаев [5]. 65 % повреждений миокарда, выявленных в послеоперационном периоде по росту концентрации тропонина, были абсолютно бессимптомными (табл. 2).

Независимо от наличия или отсутствия клинических признаков ишемии миокарда, повышение уровня тропонина в послеоперационном периоде сильнейшим

Таблица 1
Распределение пиковых значений тропонина Т в послеоперационном периоде при внесердечных хирургических операциях. Исследование VISION

Пиковое значение тропонина Т, нг/мл	Количество пациентов, n = 15 133	Доля пациентов, %
$\leq 0,01$	13 378	88,4
0,02	499	3,3
0,03–0,29	1 120	7,4
$\geq 0,3$	136	0,9

Таблица 2
Клинические признаки ишемии миокарда в послеоперационном периоде при внесердечных операциях у пациентов с наличием повреждения миокарда, по данным исследования тропонина ($\geq 0,04$ нг/мл)

Клинические признаки ишемии	Количество пациентов, n = 941	Доля пациентов, %
Симптомы ишемии миокарда		
Боль в грудной клетке	85	9,0
Иррадиация в челюсть, шею, руку	5	0,5
Одышка	66	7,0
Отек легких	46	4,9
Любой из вышеперечисленных	149	15,8
Электрокардиографические признаки ишемии миокарда		
Патологический зубец Q	13	1,4
Элевация сегмента ST	22	2,3
Блокада левой ножки пучка Гиса	5	0,5
Депрессия сегмента ST	154	16,4
Инверсия зубца Т	219	23,3
Любой из вышеперечисленных	328	34,9

образом коррелирует с 30-дневной летальностью, являясь ее наиболее достоверным предиктором (табл. 3). Столь высокое прогностическое значение послеоперационной «тропонинемии» для клинического исхода после внесердечных хирургических операций заставило исследователей ввести новый термин для определения всех клинических случаев послеоперационного повышения тропонина независимо от наличия сопутствующих клинических признаков ишемии миокарда: MINS (Myocardial Injury after Noncardiac Surgery) — повреждение миокарда после внесердечной операции. Ценное прогностическое значение постановки диагноза MINS после внесердечных хирургических операций проявляется в корреляции не только с 30-дневной летальностью, но и с развитием других осложнений и неблагоприятных клинических исходов в течение 30 дней после операции, риск которых при наличии повышения тропонина возрастает в среднем приблизительно в 10 раз (табл. 4).

Также исследование VISION пришло к заключению, что клинические исходы при послеоперационном повышении тропонина (MINS) характеризуются в два раза более высокой летальностью, чем при «обычном» инфаркте миокарда, не ассоциированном с хирургиче-

Таблица 3
Корреляция значения тропонина Т в послеоперационном периоде с уровнем 30-дневной летальности и средним сроком наступления смерти

Пиковое значение тропонина Т, нг/мл	30-дневная летальность, %	Средний срок наступления смерти, дней после операции
≤ 0,01	1,0	–
0,02	4,0	13,5
0,03–0,29	9,3	9,0
≥ 0,3	16,9	6,5

Таблица 4
Значение послеоперационного повреждения миокарда MINS для развития осложнений и неблагоприятных клинических исходов в течение 30 дней после операции

Осложнения и исходы	Пациенты без MINS, n = 13822	Пациенты с MINS, n = 1194
	n (%)	n (%)
Остановка кровообращения с успешной реанимацией	8 (0,06)	10 (0,8)
Застойная сердечная недостаточность	137 (1,0)	112 (9,4)
Инсульт	58 (0,4)	23 (1,9)
Смерть	147 (1,1)	117 (9,8)
Любое из вышеперечисленного	325 (2,4)	224 (18,8)

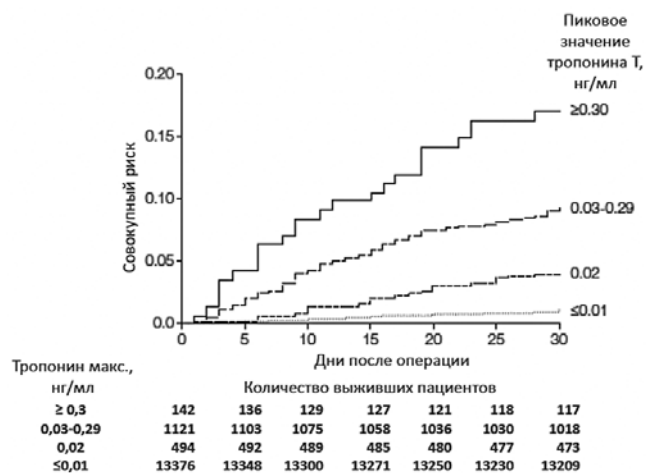


Рисунок 1. График Каплана-Мейера 30-дневной летальности в зависимости от пикового значения тропонина Т в послеоперационном периоде. Исследование VISION.

ской операцией: ~10 % по сравнению с ~5 %, что делает послеоперационный уровень тропонина важным критерием для оценки состояния пациента, как минимум, при возрасте пациента старше 45 лет и хирургической операции, требующей госпитализации. А также оправдывает дальнейшие научные исследования, направленные на поиск путей профилактики повреждения миокарда при внесердечных хирургических операциях, так как способно значимо повлиять на клинические исходы, затрагивающие более 100 миллионов пациентов ежегодно и ведущие к летальным исходам у примерно 2,5 миллионов человек в год.

Немаловажной является и обнаруженная исследованием VISION высокая предиктивная ценность для про-

гнозирования 30-дневной летальности при внесердечных хирургических операциях не только резко повышенного уровня тропонина, но и умеренных и даже незначительных отклонений в уровне тропонина в течение первых трех послеоперационных суток. На рис. 1 представлены графики летальности Каплана-Мейера для пациентов в послеоперационном периоде в зависимости от максимального (пикового) уровня тропонина Т.

До публикации результатов исследования VISION большинство исследователей фокусировались на периоперационных инфарктах миокарда, хотя теперь стало очевидным, что при таком подходе 58,2 % прогностически значимых ишемических повреждений миокарда остаются невыявленными. Диагноз повреждения миокарда после внесердечной операции (MINS) хоть и не всегда соответствует критериям современного универсального определения инфаркта миокарда, резко влияет на прогноз послеоперационного исхода, в значительной степени определяя 30-дневную летальность. Хотя на данный момент нет опубликованных достоверных данных крупных исследований, утверждающих эффективные пути лечения MINS, есть все основания полагать, что своевременная терапия ацетилсалициловой кислотой, статинами и ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, а также контроль тахикардии и гипертензии [6, 7], эффективные при не связанных с операцией инфарктах миокарда, имеют потенциал для положительного влияния на прогноз и при повреждении миокарда после внесердечных операций [8].

8 % пациентов старше 45 лет после внесердечных операций имеют поражения миокарда MINS, по результатам лабораторного исследования тропонина. С учетом более 200 миллионов общего количества хирургических операций, выполняемых в мире в год, можно прийти к заключению, что ежегодно около восьми миллионов пациентов страдают от послеоперационного повреждения миокарда после внесердечных операций. Высокая частота этого осложнения и его взаимосвязь с неблагоприятными исходами — 30-дневной летальностью и риском осложнений — подчеркивают необходимость новых научных исследований, направленных на поиск эффективных путей профилактики и лечения этого серьезного осложнения [9]. Результаты исследования VISION свидетельствуют, что среди пациентов с максимальным уровнем тропонина Т 0,02 нг/мл после операции в течение 30 дней погибает один из 25 пациентов, при уровне тропонина Т от 0,03 до 0,29 нг/мл погибает один из 11 пациентов, а при уровне тропонина Т 0,30 и выше нг/мл погибает каждый шестой пациент.

Крайне малая часть пациентов (15,8 %) с послеоперационным повреждением миокарда отмечают развитие характерных для ишемии миокарда симптомов, вследствие чего 84,2 % клинических случаев MINS могут оставаться нераспознанными, если не проводить систематический лабораторный контроль послеоперационного уровня тропонина. Третье универсальное определение инфаркта миокарда, как и исследователи VISION, строго рекомендует мониторировать уровень тропонина в послеоперационном периоде у пациентов высокого риска после внесердечных операций.

Исследования в группах пациентов, переносящих внесердечные хирургические операции, как правило, подтверждают основу патогенеза периоперационных инфарктов миокарда как следствие длительного дисбаланса между доставкой кислорода миокарду и его потребностью в кислороде, в отличие от инфарктов миокарда первого типа при ишемической болезни сердца, развивающихся на фоне атеросклеротического поражения коронарных артерий с последующим разрывом бляшки / тромбозом артерии [10, 11]. Согласно Третьему универсальному определению инфаркта миокарда, поражение сердца при внесердечных операциях классифицируется как инфаркт миокарда второго типа (рис. 2), который развивается у пациентов в критических состояниях и у пациентов, переносящих внесердечные операции, как следствие прямого токсического воздействия высокой концентрации эндогенных или экзогенных циркулирующих катехоламинов при возможном значении также коронарного вазоспазма и эндотелиальной дисфункции [12, 13, 14]. Однако в одном патологоанатомическом исследовании фатальных периоперационных инфарктов миокарда примерно в половине таких клинических случаев были обнаружены разрыв атеросклеротической бляшки и агрегация тромбоцитов, ведущие к образованию тромба, что соответствует диагнозу инфаркта миокарда первого типа [15].

Высокий интерес для исследователей представляет поиск путей профилактики периоперационного повреждения миокарда при внесердечных операциях. Многократно высказывались предположения и гипотезы о взаимосвязи различных компонентов анестезиологического пособия с развитием периоперационного повреждения миокарда. Например, опубликованные в 2007–2008 годах результаты исследования ENIGMA (2 050 пациентов) позволили исследователям усомниться в безопасности закиси азота, а связь включения закиси азота в состав газовой смеси с уровнем гомоцистеина в плазме крови и эндотелиальной дисфункцией послужила одним из оснований для проведения исследования ENIGMA-II, которое в качестве одной из задач исследования ставило проверку гипотезы о снижении риска развития поражения миокарда при отказе от применения закиси азота [16, 17]. Результаты исследования ENIGMA-II, включавшего анализ данных 7 112 пациентов, привели к убедительному выводу о том, что закись азота не повышает риск 30-дневной летальности и не способствует развитию сердечно-сосудистых осложнений в интра- и послеоперационном периодах [18].

Эффективность бета-блокаторов в кардиологической практике при лечении пациентов с ишемической болезнью сердца и способность устранять дисбаланс доставки кислорода миокарду и потребности в нем послужили основанием для гипотезы о том, что назначение бета-блокаторов в периоперационном периоде у пациентов при внесердечных хирургических операциях способно снизить риск периоперационной ишемии миокарда. В исследовании POISE, выполнявшемся с 2002-го по 2007 год, были включены в общей сложности 9 298 пациентов, которым предстояли внесердечные хирургические операции [19]. Исследование POISE пришло к выводу о том, что хотя

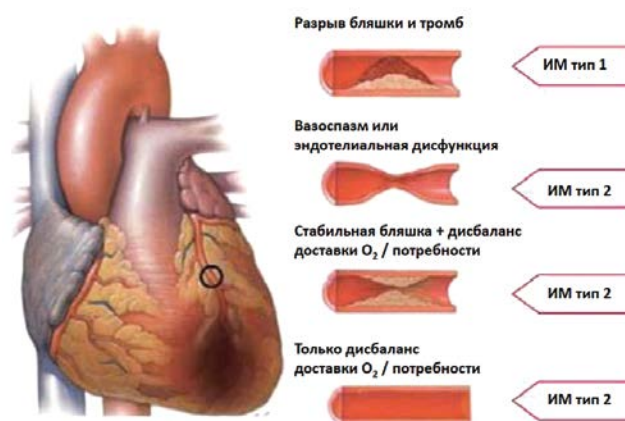


Рисунок 2. Различия между инфарктами миокарда типов 1 и 2 в зависимости от состояния коронарных артерий согласно Третьему универсальному определению инфаркта миокарда.

бета-блокаторы по сравнению с плацебо уменьшают риск инфаркта миокарда (4,2 % по сравнению с 5,7 %), но вместе с тем назначение бета-блокаторов сопровождается увеличением общей летальности (3,1 % по сравнению с 2,3 %) и частоты развития инсультов (1,0 % по сравнению с 0,5 %). Таким образом, назначение бета-блокаторов меняет структуру клинических исходов при внесердечных хирургических операциях, но не только не улучшает, а статистически значимо ухудшает показатель общей 30-дневной летальности.

Представления о патогенезе инфаркта миокарда второго типа, в котором значительная роль отводится гиперактивации симпатической нервной системы с итоговым повышением уровня циркулирующих катехоламинов, позволили предположить возможность получения кардиопротективного эффекта от включения в анестезиологическое пособие клонидина. Влияние клонидина на развитие неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений и на послеоперационные исходы в целом при внесердечных хирургических операциях было изучено в ходе исследования POISE-2, включившего более 10 тысяч пациентов, результаты которого были опубликованы в 2014 году. Результаты разочаровали исследователей, так как свидетельствовали о том, что клонидин не уменьшает в совокупности летальность и частоту развития периоперационных инфарктов миокарда, но статистически значимо повышает риск клинически значимой гипотензии и остановки кровообращения [20].

В исследовании POISE-2 изучалось также профилактическое назначение аспирина, столь широко применяемого в кардиологической практике для предотвращения агрегации тромбоцитов. Пациенты в исследуемой группе начинали прием аспирина непосредственно перед операцией. Однако и аспирин, как метод профилактики периоперационной ишемии миокарда и средство для улучшения клинических исходов, не оправдал надежд исследователей. Назначение аспирина перед операцией и на протяжении раннего послеоперационного периода не оказывало значимого влияния на совокупность летальности и частоты развития периоперационного инфаркта миокарда, но увеличивало риск серьезных кровотечений [21].

Обнадеживающей для успеха дальнейших поисков путей профилактики развития повреждения миокарда после внесердечных операций (MINS) следует признать обнаруженную исследователями корреляцию между 30-дневной летальностью и интраоперационной вариабельностью среднего артериального давления [22]. В отличие от предшествующих работ, авторы этого исследования, результаты которого были опубликованы в 2015 году, сфокусировались не на средних значениях интраоперационного артериального давления, а на скорости его изменения, особенно на резких подъемах или снижениях, происходящих за короткий промежуток времени. Обнаружилось, что увеличение вариабельности, резкие подъемы и эпизоды снижения артериального давления проявляют сильную корреляцию с уровнем летальности.

Заключение

1. Периоперационное повреждение миокарда (MINS) является распространенным осложнением при внесердечных операциях, развивающимся у 8% пациентов старше 45 лет.
2. Повреждение миокарда после внесердечных операций (MINS) характеризуется сложным неоднозначным этиопатогенезом, протекающим как по механизму развития инфаркта миокарда второго, так и первого типов согласно Третьему универсальному международному определению инфаркта миокарда.
3. Контроль дооперационного и мониторинг послеоперационного уровня тропонина на протяжении 72 часов после операции строго рекомендован у пациентов группы высокого риска при внесердечных хирургических операциях. Из-за обилия бессимптомных форм (около 85% случаев) определение уровня тропонина в связи с высокой чувствительностью и специфичностью следует признать основным методом диагностики повреждения миокарда после внесердечных операций (MINS).
4. Периоперационное повреждение миокарда при внесердечных операциях даже при бессимптомном течении и умеренном повышении тропонина вносит большой вклад в формирование общей 30-дневной летальности и характеризуется высокой корреляцией с неблагоприятными клиническими исходами.
5. Отсутствие на данный день признанной стратегии для предотвращения развития повреждения миокарда после внесердечных операций (MINS) повышает актуальность определения уровня тропонина в послеоперационном периоде у пациентов старше 45 лет из группы высокого риска с целью своевременной постановки диагноза и начала терапии, способной улучшить 30-дневные клинические исходы.

Список литературы

1. Weiser TG, Regenbogen SE, Thompson KD, Haynes AB, Lipsitz SR, Berry WR, Gawander AA: An estimation of the global volume of surgery: A modelling strategy based on available data. *Lancet* 2008; 372: 139–44.
2. Baker B, Jenkins K, et al. *Oxford Handbook of Anaesthesia*, second edition. Edited by Allman KG, Wilson IH. Oxford University Press, 2008, pp 15–29.
3. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD: Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 2012; 126:2020–35.
4. Devereaux PJ, Chan MT, Alonso-Coello P, Walsh M, Berwanger O, Villar JC, Wang CY, Garutti RI, Jacka MJ, Sigamani A, Srinathan S, Biccari BM, Chow CK, Abraham V, Tiboni M, Pettif S, Szczeklik W, Lurati Buse G, Botto F, Guyatt G, Heels-Ansdell D, Sessler DI, Thorlund K, Garg AX, Mrkobrada M, Thomas S, Rodseth RN, Pearce RM, Thabane L, McQueen MJ, VanHelder T, Bhandari M, Bosch J, Kurz A, Polanczyk C, Malaga G, Nagele P, Le Manach Y, Leuwer M, Yusuf S: Association between postoperative troponin levels and 30-day mortality among patients undergoing noncardiac surgery. *JAMA* 2012; 307: 2295–304.
5. Botto F, Alonso-Coello P, Chan MT, Villar JC, Xavier D, et al. Myocardial injury after noncardiac surgery: a large, international, prospective cohort study establishing diagnostic criteria, characteristics, predictors, and 30-day outcomes. *Anesthesiology* 2014; 120: 564–78.
6. Antithrombotic Trialists' Collaboration: Collaborative meta-analysis of randomized trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71–86.
7. Mills EJ, Rachils B, Wu P, Devereaux PJ, Arora P, Perri D: Primary prevention of cardiovascular mortality and events with statin treatments: A network meta-analysis involving more than 65,000 patients. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1769–81.
8. Devereaux PJ, Xavier D, Pogue J, Guyatt G, Sigamani A, Garutti I, Leslie K, Rao-Melacini P, Chrolavicius S, Yang H, Macdonald C, Avesum A, Lanthier L, Hu W, Yusuf S; POISE (PeriOperative ISchemic Evaluation) Investigators: Characteristics and short-term prognosis of perioperative myocardial infarction in patients undergoing non-cardiac surgery: A cohort study. *Ann Intern Med* 2011; 154: 523–8.
9. Devereaux PJ, Chan M, Eikelboom J: Major vascular complications in patients undergoing Noncardiac surgery: The magnitude of the problem, risk prediction, surveillance, and prevention. Evidence based Cardiology, 3rd edition. Edited by Yusuf S, Cairns JA, Camm AJ, Fallen EL, Gersh BJ. London, England, BMJ Books, 2009, pp 47–62.
10. Fleisher LA, Nelson AH, Rosenbaum SH. Postoperative myocardial ischemia: etiology of cardiac morbidity of manifestation of underlying disease? *J Clin Anesth* 1995; 7: 97–102.
11. Landesberg G, Mosseri M, Shatz V, Akopnik I, Bocher M, Mayer M, Anner H, Berlitzky Y, Weissman C. Cardiac troponin after major vascular surgery: The role of perioperative ischemia, preoperative thallium scanning, and coronary revascularization. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 569–75.
12. Bertrand ME, LaBlanche JM, Tilmant PY, Thieuleux FA, Delforge MR, Carre AG, Asselman P, Berzin B, Libersa C, Laurent JM. Frequency of provoked coronary arterial spasm in 1089 consecutive patients undergoing coronary arteriography. *Circulation* 1982; 65: 1299–1306.
13. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR Jr., Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101: 948–954.
14. Bugiardini R, Manfredi O, Pizzi C, Fontana F, Morgagni G. Endothelial function predicts future development of coronary artery disease: a study on women with chest pain and normal angiograms. *Circulation* 2004; 109: 2518–2523.
15. Cohen MC, Aretz TH. Histological analysis of coronary artery lesions in fatal postoperative myocardial infarction. *Cardiovasc Pathol.* 1999; 8: 133–139.
16. Myles PS, Chan MTV, Kaye DM, et al. Effect of nitrous oxide anesthesia on plasma homocysteine and endothelial function. *Anesthesiology*. 2008; 109 (4): 657–663.
17. Myles PS, Leslie K, Chan MTV, et al. Avoidance of nitrous oxide for patients undergoing major surgery: a randomized controlled trial. *Anesthesiology*. 2007; 107 (2): 221–231.
18. Myles PS, Leslie K, Chan MTV, et al. The safety of addition of nitrous oxide to general anaesthesia in at-risk patients having major non-cardiac surgery (ENIGMA-II): a randomised, single-blind trial. *Lancet*. 2014; 384 (9952): 1446–1454.
19. Devereaux PJ, Yang H, Yusuf S, et al. Effects of extended-release metoprolol succinate in patients undergoing noncardiac surgery (POISE trial): a randomized controlled trial. *Lancet* 2008; 371: 1839–47.
20. Devereaux PJ, Sessler DI, Leslie K, et al. Clonidine in patients undergoing noncardiac surgery. *N Engl J Med* 2014; 370: 1504–13.
21. Devereaux PJ, Mrkobrada M, Sessler DI, et al. Aspirin in patients undergoing noncardiac surgery. *N Engl J Med* 2014; 370: 1494–503.
22. Mascha EJ, Yang D, Weiss S, Sessler DI. Intraoperative mean arterial pressure variability and 30-day mortality in patients having noncardiac surgery. *Anesthesiology* 2015; 123: 79–91.



Комплексное решение для экспресс-лабораторий

ABL800 FLEX

pH, pO_2 , pCO_2
 Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-
 глюкоза, лактат
 билирубин,
 креатинин
 sO_2 , ctHb, FO_2Hb
 $FCOHb$, $FMetHb$
 $FHHb$, $FHbF$



AQT90 FLEX

тропонин I
 тропонин T
 КФК-МВ
 NT-proBNP
 D-димер
 С-реакт.белок
 β -ХГ

ООО «РАДИОМЕТЕР»

125167 Москва, Ленинградский пр., 37, к.9, БЦ «Аэростар»

moscow@radiometer.ru; www.radiometer.ru

тел.: +7 (495) 664-7499, факс: +7 (495) 664-7498

Проточная цитофлуориметрия для анализа мочи

Скрининг бактерий быстрее, чем культуральный метод

Проточная цитофлуориметрия в анализе мочи: Решение для выявления бактерий

- Специфическое флуоресцентное окрашивание бактерий и подсчет большого количества частиц достигается высокой аналитической чувствительностью
- Выявление воспалений, бактериальных и грибковых инфекций
- Результат анализа менее чем через 2 минуты позволяет ускорить время выдачи результата в лаборатории
- Возможность исключения культурального метода для отрицательных образцов



Микробиологическая диагностика бактериурии: опыт работы с использованием метода проточной цитофлуорометрии (прибор Sysmex UF-500i)



Н. С. Багирова

Н. С. Багирова, д.м.н., вед. научный сотрудник
С. А. Дьякова, врач-бактериолог
Е. В. Кулага, врач-бактериолог
И. В. Терещенко, м.н.с.

¹Лаборатория микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии ФГБУ «Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва

Microbiological diagnosis of bacteriuria: experience of work using flow cytometry method (Sysmex UF-500i device)

N. S. Bagirova, S. A. Dyakova, E. V. Kulaga, I. V. Tereshchenko
The Russian Oncological Scientific Centre n.a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

Резюме

502 образца мочи взрослых онкологических больных исследовали двумя методами (традиционный культуральный метод и метод проточной цитофлуорометрии (прибор Sysmex UF-500i) с целью изучить возможности UF-500i в сравнении с традиционным культуральным методом диагностики бактериурии и определить место метода проточной цитофлуорометрии (прибор Sysmex UF-500i) в диагностике ИМП; определить, какое количество бактерий, подсчитанных прибором, наиболее приемлемо принять как cut off point для решения вопроса о целесообразности последующего посева мочи.

Ключевые слова: инфекция мочевыводящих путей, бактериурия, UF-500i, проточная цитофлуорометрия.

Summary

502 urine samples of adult cancer patients was investigated by two methods (the traditional culture method and flow cytometry [Sysmex UF-500i device]) in order to investigate possibilities of UF-500i compared with a conventional culture method for diagnosis of bacteriuria and to determine a place of the method of flow cytometry (Sysmex UF-500i unit) in the diagnosis of UTI, to determine what amount of bacteria counted with the appliance are the most comprehensible to accept as the cut off point for a decision on the feasibility of subsequent urine culture.

Key words: urinary tract infection, bacteriuria, UF-500i, flow cytometry.

Введение

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются нередким и серьезным осложнением не только у иммунокомпрометированных пациентов. В США ИМП наравне с пневмонией занимают второе место среди нозокомиальных инфекций (НКИ) и составляют более 15 % случаев [1]. ИМП в качестве источника сепсиса регистрируется в 5 % случаев [2]. По данным американских ученых, летальность, связанная с ИМП, ежегодно составляет более 13 тысяч случаев (2,3 %) [3]. ИМП в 80 % случаев связаны с постоянными мочевыми катетерами, установка которых зачастую необоснована [4, 5].

В настоящее время в большинстве лечебных учреждений России стандартным и основным лабораторным методом диагностики ИМП является культуральный метод (посев мочи). Диагностика бактериурии занимает

определенное время и требует немалого количества расходных материалов. По данным зарубежных авторов, примерная стоимость культурального метода диагностики бактериурии составляет 52 долларов США, микроскопия с окраской мазка — от 15 до 34 долларов. Микроскопическое исследование неокрашенных мазков (увеличение 40×), полученных при центрифугировании мочи, имеет чувствительность 82–97 %, а специфичность 84–95 %, при этом необходимо принимать во внимание диагностический титр, установленный для того или иного типа ИМП. Микроскопия осадка мочи с целью обнаружения лейкоцитов имеет прогностическое значение для диагностики ИМП, но это весьма зависимый от многих факторов метод [6]. При прохождении мочи через нижнюю треть уретры происходит ее контаминация нормальной микрофлорой

слизистой оболочки. В связи с этим при оценке результатов микробиологического исследования мочи важны количественные категории, позволяющие дифференцировать бактериурию, связанную с патологическим процессом, и контаминацию вследствие колонизации слизистой оболочки или нарушений на преаналитическом этапе (правила сбора и транспортировки образца мочи для микробиологического исследования). Для этого некоторые исследователи рекомендуют использовать следующие критерии: а) количество микроорганизмов, не превышающее 10^3 колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл) в средней порции утренней мочи, свидетельствует о естественной контаминации мочи; б) обнаружение микроорганизмов в количестве 10^3 – 10^5 КОЕ/мл в средней порции утренней мочи рассматривается как сомнительный результат и требует повторного исследования;

в) обнаружение числа микроорганизмов не менее чем 10^5 КОЕ/мл в средней порции утренней мочи связано с инфекционным процессом. Посев мочи имеет чувствительность 50 % (если диагностический титр выше 10^5 КОЕ/мл в средней порции утренней мочи), чувствительность может быть увеличена до более 95 %, если диагностический титр выше 10^2 КОЕ/мл в средней порции утренней мочи, специфичность колеблется от 85 до 99 %. Наиболее целесообразно делать посев мочи при рецидиве или осложненных формах ИМП, тогда как при неосложненных формах ИМП культуральный метод диагностики не рекомендуется [7]. В последнее время стало ясно, что нет фиксированного количества микроорганизмов, которое указывало бы на значительную бактериурию относительно всех видов ИМП и при любых обстоятельствах, поэтому *cut off point* (точка разделения нормы и патологии) — изменчивая величина. Критерии количественного учета бактерий в исследуемом образце мочи, которые описаны в рекомендациях различных стран, не отличаются единообразием. Например, в рекомендациях Европейской ассоциации урологов диагностически значимой считается бактериурия при количестве бактерий в средней порции мочи при неосложненном цистите у женщин выше 10^3 КОЕ/мл, у мужчин — выше 10^4 КОЕ/мл; при осложненных формах ИМП — выше 10^5 КОЕ/мл для женщин и выше 10^4 КОЕ/мл для мужчин; если моча собрана через катетер, — выше 10^4 КОЕ/мл; для бессимптомных случаев бактериурии следует получить два последовательных образца мочи с ростом идентичных микроорганизмов (с интервалом между ними в 24 часа) более 10^5 КОЕ/мл. Лейкоцитурия при этом должна составлять более 10 лейкоцитов в осадке центрифугированной мочи или в куб. мм мочи без центрифугирования. [2]. Лейкоцитурия присутствует у 96 % пациентов с симптомами ИМП при бактериурии выше 10^5 КОЕ/мл в средней порции утренней мочи, но только менее чем у 1 % пациентов при бессимптомной бактериурии. Лейкоцитурия без бактериурии может быть обусловлена присутствием инородного тела в мочевыводящих

путях (например, мочевого катетера, мочевые камни или опухоль), при инфекции нижних отделов половых путей, реже при туберкулезе почек.

Согласно рекомендациям, разработанным в Шотландии, критерием значимой бактериурии при микробиологическом культуральном исследовании в Великобритании считается количество микроорганизмов в образце мочи 10^4 КОЕ/мл. Для некоторых конкретных групп пациентов допускается более низкий порог: для женщин с симптомами ИМП более 10^2 КОЕ/мл, для мужчин более 10^3 КОЕ/мл (80-процентный рост микроорганизмов в инокультуре) [8]. В Канаде при наличии у пациента клинических признаков ИМП рекомендованы значения *cut off point* в отношении осложненных ИМП выше 10^8 КОЕ/л (10^5 КОЕ/мл) для пациентов без катетера и более 10^5 КОЕ/л (10^2 КОЕ/мл) для пациентов с катетерами [9].

Таким образом, ответ на вопрос, что считать клинически значимой бактериурией, зависит от нескольких факторов, связанных как с состоянием пациента, так и разработанных рекомендаций по оценке полученных данных.

75–95 % всех неосложненных ИМП обусловлены *E. coli*, примерно 5–15 % вызваны грамположительными кокками *S. saprophyticus*, которые обычно присутствуют на слизистых женских половых путей и вызывают острые циститы, но не пиелонефриты. По опыту более чем 50 лет работы лаборатории РОНЦ с образцами мочи как иммунокомпрометированных больных, так и пациентов без дефектов иммунитета, не было ни одного случая микробиологически подтвержденной ИМП, обусловленной *S. saprophyticus*. По-видимому, роль этого вида стафилококка преувеличена вследствие недостаточно полного анализа полученных результатов. Как правило, *E. coli* является наиболее распространенным патогеном для женщин и *Proteus mirabilis* — для мужчин. Остальные 5–10 % мочевых патогенов составляют *Klebsiella spp.* или *E. faecalis*, *Proteus spp.* и другие.

Осложненные ИМП развиваются у пациентов, которые имеют predisposing факторы, такие как установленный мочевой катетер,

диабет или какую-либо патологию мочевыводящих путей, что снижает естественное сопротивление организма инфекции. Этиология осложненных ИМП обычно более разнообразна и менее предсказуема, чем неосложненных ИМП. *E. coli* при осложненных ИМП остается наиболее частым возбудителем, но составляет уже около 50 % случаев. Что касается структуры остальных возможных возбудителей, их состав зависит от predisposing факторов в каждом конкретном случае [10–13]. Многие из патогенов ИМП отличаются высоким уровнем антибиотикорезистентности. Факторы, которые могут этому способствовать, многообразны, но основным считается многократное воздействие антибиотиков на микробную клетку вследствие рецидивирующей инфекции [13]. Следует подчеркнуть, что несвоевременная и неадекватная терапия ИМП — наиважнейший из подобных факторов.

Таким образом, необходимо искать способы, позволяющие не только корректно проводить лабораторную диагностику ИМП, снизить случаи ложно-положительных результатов, но и максимально оптимизировать процесс выдачи окончательного результата, позволяющего лечащему врачу назначать своевременную и адекватную терапию. В настоящее время микробиологическая промышленность предлагает приборы, в основе которых лежат новейшие технологии, направленные на решение быстрой и точной диагностики бактериурии с максимальным исключением человеческого фактора и обеспечением стандартизации всего процесса.

Цель: изучить возможности UF-500i в сравнении с традиционным культуральным методом диагностики бактериурии и определить место метода проточной цитофлуорометрии (прибор Sysmex UF-500i) в диагностике ИМП; определить, какое количество бактерий, подсчитанных прибором, наиболее приемлемо принять как *cut off point* для решения вопроса о целесообразности последующего посева мочи.

Материалы и методы

Были исследованы образцы мочи, поступающие от взрослых онколо-

гических больных РОНЦ имени Н. Н. Блохина с октября 2012-го по февраль 2015 года, всего 830 образцов. Из анализа полученных данных были исключены все образцы мочи, из которых был получен рост двух и более бактерий, а также грибы. Кроме того, были исключены все образцы мочи, поступившие от больных с нейтропенией. В итоге анализу подверглись 502 образца мочи. Образцы исследовали двумя методами: а) традиционным культуральным методом, включающим все необходимые этапы согласно существующим нормативным документам; б) методом проточной цитофлуориметрии (прибор Sysmex UF-500i, в дальнейшем упоминается как анализатор). Идентификация штаммов микроорганизмов осуществлялась методом масс-спектрометрического анализа белковой фракции микробной клетки на приборе MALDI-TOF microflex LT (Biotyper System, Bruker Daltonics, Германия) / MALDI-TOF MS. Статистическую обработку результатов, расчет чувствительности, специфичности, прогностическую ценность положительного и отрицательного результатов проводили в соответствии с принятыми методиками [14, 15]. При этом референс-методом считали культуральное исследование мочи (посев).

Результаты и обсуждение

При посеве мочи получен рост различных микроорганизмов, из них для анализа данных были приняты в расчет 197 штаммов бактерий, выделенных при монобактериурии (табл. 1).

При посеве мочи грамотрицательные бактерии были выделены статистически достоверно чаще по сравнению с грамположительными (116 из 197—58,9 % против 81 из 197—41,1 % соответственно; $p < 0,001$). На первом месте по частоте выделения стоит *E. coli* (25,9%), на втором *K. pneumonia* (17,3 %), на третьем *E. faecalis* (14,2 %), несколько реже *E. faecium* (11,2 %) и на пятом — *A. baumannii* (7,6%). При бактериурии, обусловленной грамотрицательными палочками в 67 случаях из 116 (57,8 %) рост был получен, когда на анализаторе определено количе-

Микроорганизм	Всего	Sysmex (клеток/мл)						
		0	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
<i>Escherichia coli</i>	51	1	1	8	8	5	14	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34	1	2	6	7	3	7	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	28	3	0	7	5	5	8	0
<i>Enterococcus faecium</i>	22	2	2	8	2	6	2	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5	0	0	0	0	5	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	0	0	4	2	1	2	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	9	0	0	4	4	0	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	1	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	0	0	1	3	3	0	1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15	0	0	6	3	4	2	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	0	0	0	1	1	0	0
<i>Myroides spp.</i>	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	0	1	0	0	0	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	0	0	0	0	0	1
<i>Streptococcus anginosus</i>	2	1	0	0	1	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	0	0	0	1	0	0	0
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1	0	0	0	0	1	0	0
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	2	0	0	2	0	0	0	0
<i>Lactobacillus gasseri</i>	1	0	0	1	0	0	0	0
Всего	197	8	7	47	42	30	38	25

Примечание: * — количество клеток на 1 мл.

ство бактерий от 10⁵ до 10⁷ клеток на мл и выше, а в 49 случаях из 116 (42,2 %) бактерии были выделены, когда на анализаторе определено количество бактерий от 0 до 10⁴ клеток на мл, то есть достоверно чаще рост грамотрицательных палочек был получен, когда на анализаторе определено количество бактерий от 10⁵ до 10⁷ клеток на мл и выше ($p < 0,01$). Лидирующие возбудители ИМП (*E. coli* и *K. pneumonia*) достоверно чаще были выделены именно при счете бактерий на анализаторе от 10⁵ до 10⁷ клеток на мл и выше, нежели при более низких количествах (64,7 против 29,6 % [$p < 0,0001$] для *E. coli* и 41,2 против 26,5 % [$p < 0,002$] для *K. pneumonia* соответственно). При бактериурии, обусловленной грамположительными бактериями, напротив, достоверно чаще на анализаторе регистрировалось количество бактерий от 0 до 10⁴ клеток на мл, нежели от 10⁵ до 10⁷ клеток на мл и выше (61,7 против 38,3 % соответственно; $p < 0,01$).

Таблица 1
Связь частоты роста определенных видов аэробных бактерий и показателей количества бактерий на анализаторе UF-500i (Sysmex)

Таким образом, бактериурия, обусловленная грамотрицательными бактериями, достоверно чаще регистрируется при показателях анализатора от 10⁵ до 10⁷ клеток на мл и выше в сравнении с грамположительными бактериями ($p < 0,01$).

Когда рост бактерий был получен в небольшом количестве (от единичных колоний до 10⁴ КОЕ/мл), было рекомендовано повторить микробиологическое исследование мочи при условии тщательного соблюдения правил сбора и доставки мочи для посева. В результате повторного посева в 100 % случаях не подтвердилась бактериурия, обусловленная *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. aureus*, *L. gasseri*, *C. amycolatum*, *Str. salivarius*, *Str. anginosus*. Такие случаи мы оценили как контаминацию образца мочи при первом исследовании вследствие несоблюдения правил сбора мочи на посев либо нарушения условий транспортировки (длительный период времени между сбором мочи и ее посевом, который не должен

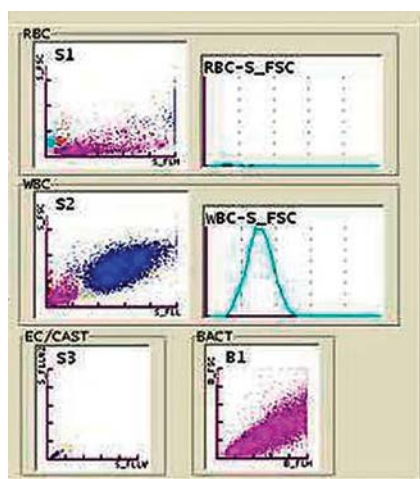


Рисунок 1. Скатерограммы и гистограммы на экране анализатора.

превышать 30 минут). Кроме того, при повторном исследовании образцов мочи результаты посева коррелировали с показателями анализатора.

При работе на анализаторе микробиолог должен помнить, что методом проточной цитофлуориметрии выявляются как живые, так и нежизнеспособные бактериальные клетки в мл мочи, а при посеве только количество КОЕ на мл, то есть жизнеспособных микроорганизмов.

Кроме того, при включении анализатора в рабочий процесс микробиологической диагностики ИМП очень важно грамотно читать не только таблицу данных основного экрана, но использовать при этом и характеристики параметров, представленных на скатерограммах и гистограммах (рис. 1), которые демонстрируют распределение частиц различных параметров (лейкоциты, эритроциты, бактерии, дрожжи и т.д.).

Для определенных частиц имеется своя специфичная область, которая определяется комбинацией двух или более скатерограмм по данным результатов измерений всех параметров.

Например, на *скатерограмме* B1 точки сиреневого цвета обозначают скопление бактерий (сиреневый кластер). Имеет значение угол наклона скопления бактериальных клеток: если угол наклона мал, кластер сконцентрирован в узкой зоне, наиболее вероятно, что бактериурия обусловлена грамотрицательными бактериями. Если клетки расположены плотно, и их распределение концентрируется вдоль биссектрисы,

наиболее вероятно, что бактериурия обусловлена грамположительными бактериями. Серый кластер (дебрис) — это мертвые клетки, если дебрис «высокий», то невозможен точный подсчет клеток. В данном случае следует обратить особое внимание на время, прошедшее от сбора мочи до ее посева, которое не должно превышать 30 минут. Кроме того, следует выяснить, имела ли место адекватная предварительная обработка кожи и слизистой соответствующей области у пациента перед сбором мочи. Уместно рекомендовать повторить исследование с контролем над преаналитическим этапом и произвести разведение вновь поступившего образца. Большое количество клеток плоского эпителия (коричневый кластер) является индикатором контаминации образца.

На *скатерограмме* S1 точки красного цвета обозначают эритроциты (красный кластер). Анализатор имеет один канал для счета эритроцитов и дрожжевых клеток (зеленый кластер), поэтому наличие или отсутствие дрожжевых клеток в исследуемом образце мочи следует оценивать на скатерограмме S1–S2 в комплексе с количественной характеристикой, выдаваемой анализатором во избежание пропуска наличия дрожжевых клеток в моче. Обязательно при этом принимать в расчет количественные и качественные характеристики эритроцитов. Если размер эритроцитов соответствует размеру дрожжевых клеток, прибор может ошибочно отнести эритроциты к дрожжевым клеткам. Если большое число и дрожжей, и эритроцитов — возможно перекрытие кластеров. В анализаторе предусмотрено определение интенсивности бокового светорассеяния (Fsc), что дает возможность определить на гистограмме RBC-S характеристики эритроцитов (гетерогенность по размеру, возможное присутствие дисморфных клеток). Если широкая кривая распределения эритроцитов сдвинута влево, в область микроцитарных эритроцитов (область низких значений Fsc), возможно, эритроциты дисморфны. Напротив, когда пик эритроцитов только один и расположен в области верхних каналов Fsc

(пик кривой распределения частиц смещен вправо) — это подтверждает изоморфность эритроцитов. Следует заметить, что если и бактерий, и эритроцитов большое число, — результаты счета достоверны, так как количество бактерий определяется в отдельном от эритроцитов канале.

На *скатерограмме* S2 точки синего цвета обозначают лейкоциты (синий кластер). Если на гистограмме WBC-S пик кривой распределения клеток смещен влево, то преобладают моноядерные лейкоциты (при их большом количестве клетки могут быть определены как дрожжи), а при смещении пика вправо — сегментоядерные лейкоциты. При определенных состояниях пациента (нейтропении, агранулоцитоз) нельзя ориентироваться на число лейкоцитов и дополнительные характеристики скатерограмм (гистограмм). Следует помнить, что лейкоцитурия может быть не только при ИМП, но и при гломерулонефрите, нефропатии, интоксикации, обструкции мочевых путей и иных патологиях. Интересно, что трихомонады по размерам могут быть сходны с лейкоцитами, и при подсчете подобных клеток прибор ошибочно может принять их за лейкоциты.

Таблица данных содержит такой параметр, как проводимость. Если значения проводимости менее 3,0 или более 39, то необходимо помнить, что осмотическое давление меняет размер и форму клеток, что ведет к некорректной классификации и счету клеток.

В табл. 2 представлены результаты диагностики бактериурии двумя методами: методом проточной цитофлуориметрии (прибор Sysmex UF-500i) и культуральным методом (посев мочи). В каждом случае учитывалось количество лейкоцитов в образце мочи.

В 113 образцах счет бактерий на анализаторе составил ноль, при посеве данных образцов роста не получено в 92,9% случаев, причем 88,6% случаев — в отсутствие лейкоцитурии. Если анализатор показывал какое-либо количество бактерий (10^{2-7} клеток на мл и выше, 389 образцов), в целом рост при посеве получали только в 189 случаях (48,5%).

В 312 образцах счет бактерий на анализаторе составил от 0 до 10^3 клеток на мл, из них в 250 случаях роста не получено против 62 случаев с ростом (80,1 против 19,9%; $p < 0,0001$). При таком количестве бактерий достоверно чаще отмечали отсутствие лейкоцитурii (67,9 против 32,1%; $p < 0,0001$). При анализе совокупных данных (в том числе повторное получение образца мочи для исследования) было установлено, что при счете бактерий на анализаторе от 0 до 10^3 клеток на мл рост при посеве в 53,2% случаев сопровождался отсутствием лейкоцитурii и в основном был обусловлен контаминацией образца. Отсутствие роста также достоверно чаще наблюдалось без лейкоцитурii (71,6 против 28,4%; $p < 0,0001$).

При счете бактерий на анализаторе 10^4 клеток на мл анализ данных не выявил каких-либо значительных отличий в результатах обоих методов.

При счете бактерий на анализаторе от 10^5 клеток на мл и выше достоверно чаще получали рост при посеве (92,1 против 7,9%; $p < 0,0001$), причем в основном при лейкоцитурii (96,8 против 3,2%; $p < 0,0001$). Всего в этой категории были восемь образцов мочи без роста, причем все случаи сопровождались лейкоцитурией. Это можно объяснить проводимой антимикробной терапией. Наши данные не противоречат результатам прочих исследователей [16–18].

Таким образом, из 502 образцов в 60,8% случаев роста не было получено, а по данным анализатора бактерий, не обнаружено в целом в 113 образцах мочи (22,5%). Лабораторная диагностика ИМП традиционным культуральным методом сопровождается большим объемом работы, расходных материалов и длительностью всего рабочего процесса (в среднем 3–5 суток), причем в 60,8% случаях эти затраты оказались напрасными, так как роста при посеве не было получено. При подключении анализатора, как первого этапа диагностики бактериурии, эффективность рабочего процесса значительно возрастает, так как отпадает необходимость посева мочи минимум в 22,5% случаях, если для второго этапа (посев мочи) брать все образцы, в которых

Таблица 2
Сравнение тестирования образцов мочи (монобактериурия) на анализаторе UF-500i (Sysmex) и культурального исследования мочи (посев мочи)

Число образцов	Sysmex	Посев мочи (КОЕ/мл)					
	Количество бактерий в образце мочи (клеток/мл)	Число образцов без роста			Число образцов с ростом		
		Всего	L↓*	L↑**	Всего	L↓	L↑
113	0	105	93	12	8	7	1
53	10^2	46	30	16	7	6	1
146	10^3	99	56	43	47	20	27
89	10^4	47	8	39	42	10	32
37	10^5	7	0	7	30	0	30
39	10^6	1	0	1	38	2	36
25	10^7	0	0	0	25	1	24
Всего: 502		305 (60,8%)	187	118	197	46	151

Примечание: L↓* — количество лейкоцитов в пределах нормы, L↑** — количество лейкоцитов выше нормы.

Таблица 3
Критерии оценки качества анализатора как диагностического теста при ИМП

Показатель счета бактерий на анализаторе (клетки/мл)	SE	SP	(+) PV	(-) PV
Более 10^2	95,9* / 99,3**	34,3 / 10,2	48,6 / 58,6	7,1 / 7,7
Более 10^3	92,4 / 98,7	49,5 / 23,7	54,2 / 62,3	9,0 / 6,7
Более 10^4	68,5 / 81,3	82,0 / 60,2	71,1 / 72,2	19,9 / 29,0
Более 10^5	47,2 / 59,6	97,4 / 93,2	92,1 / 91,8	25,9 / 35,7
Более 10^6	32,0 / 39,7	99,7 / 99,2	98,4 / 98,4	30,6 / 43,8

Примечание: SE — чувствительность; SP — специфичность; (+) PV — прогностическая ценность положительного результата; (–) PV — прогностическая ценность отрицательного результата; * — все случаи бактериурии; ** — учтены только случаи с лейкоцитурией.

анализатор показывал какое-либо количество бактерий. Если для отбора образцов мочи для посева учитывать количество бактерий при счете на анализаторе от 10^5 клеток на мл и выше, то эффективность диагностики бактериурии при сочетании двух методов возрастет до 79,9% (401 из 502 образцов не сопровождался ростом при счете бактерий от 0 до 10^4 клеток на мл).

В табл. 3 представлены критерии оценки качества анализатора как диагностического теста при ИМП.

Если брать все случаи, когда анализатор фиксировал бактерии в моче (10^{2-7} клеток на мл и выше), чувствительность теста в целом составит 95,9%, но при этом высока вероятность ложно-положительных результатов (65,7%). Чувствительность метода повышается до 99,3%, если принимать в расчет только случаи с лейкоцитурией, но специфичность при этом невысока, доля ложно-положительных результатов составит 89,8%. При повышении cut

off point снижается чувствительность теста, но значительно повышаются специфичность и прогностическая ценность положительного результата. Моча — это биоматериал, который легко и быстро можно получить для исследования независимо от состояния пациента. Неоднократное микробиологическое исследование мочи от одного и того же пациента при клинических признаках ИМП в целях достоверной диагностики бактериурии — это неоспоримое правило работы с данным биоматериалом, которое обеспечит увеличение чувствительности при повышении cut off point.

Исходя из полученных нами данных, посев целесообразно делать:

- если анализаторе счет бактерий выше 10^5 + лейкоцитурия и клинические признаки ИМП;
- при нейтропении.

Посев делать не рекомендуется, если на анализаторе счет бактерий 10^{0-3} + отсутствие лейкоцитурii.

Повторное исследование $\pm$ посев целесообразно рекомендовать, если количество бактерий 10^{0-4} + лейкоцитурия.

Данный алгоритм не исключает обязательного контроля над преаналитическим этапом (сбор, хранение, доставка биоматериала). Кроме того, следует принимать во внимание наличие или отсутствие терапии антимикробными препаратами в настоящий момент либо в течение нескольких дней перед исследованием мочи, так как антибиотики накапливаются в тканях пациента и могут подавлять рост бактерий даже после отмены терапии в течение определенного времени. Более низкие значения *cut off point* допустимы у пациентов с хроническими заболеваниями и катетер-ассоциированными инфекциями.

Многими исследователями доказана целесообразность принятия за точку разделения нормы и патологии 10^5 клеток на мл для взрослых пациентов при работе на анализаторе [16–18]. В то же время низкая чувствительность при *cut off point* 10^5 клеток на мл означает, что 52,8% ИМП могут быть пропущены, но частота ложно-положительных результатов составит только 2,6%. При счете бактерий на анализаторе 10^4 клеток на мл чувствительность составляет 68,5%, частота ложно-положительных результатов составит 8%.

Выводы

1. UF-500i обладает хорошими аналитическими характеристиками, включая высокую диагностическую точность и чувствительность.
2. Короткое время получения результата (16 с) позволяет эффективно использовать UF-500i в качестве первого этапа диагностики бактериурии у различных групп больных. Включение анализатора как первый этап диагностики бактериурии повышает эффективность рабочего процесса на 22,5–79,9% в зависимости от выбранной *cut off point*.
3. Наиболее приемлемо принять в качестве *cut off point* счет бактерий на анализаторе 10^5 + лейкоцитурия и клинические признаки

ИМП для решения вопроса о целесообразности последующего посева мочи взрослых пациентов.

4. У пациентов с нейтропенией следует использовать только культуральный метод.
5. Посев делать нецелесообразно при счете бактерий от 0 до 10^3 клеток на мл + отсутствие лейкоцитурии. При счете бактерий на анализаторе от 0 до 10^3 клеток на мл рост при посеве в 53,2% случаев сопровождался отсутствием лейкоцитурии и в основном был обусловлен контаминацией образца.
6. Повторное исследование $\pm$ посев целесообразно рекомендовать, если количество бактерий от 0 до 10^4 клеток на мл + лейкоцитурия.
7. Отсутствие роста достоверно чаще наблюдалось без лейкоцитурии (71,6 против 28,4%; $p < 0,0001$).
8. Отрицательный результат (отсутствие бактерий и [или] грибов, лейкоцитурии, эритроцитурии) диагностики бактериурии с применением прибора UF-500i можно считать обоснованием для выдачи отрицательного ответа и не делать посев мочи. В связи с этим исключены ненужные затраты на электроэнергию, расходные материалы, имеет место значительная экономия времени лаборантов и врачей, а также резкое сокращение выдачи окончательного ответа.

Список литературы

1. CDC. Guidelines Urinary Tract Infection (Catheter-Associated Urinary Tract Infection [CAUTI] and Non-Catheter-Associated Urinary Tract Infection [UTI]) and Other Urinary System Infection [USI] Events. January 2015.
2. M. Grabe (chairman), T.E. Bjerkund-Johansen, H. Botto, M. Çek, K.G. Naber, R.S. Pickard, P. Tenke, F. Wagenlehner, B. Wullf. // Guidelines on Urological Infections, European Association of Urology, 2013.
3. Klevens R. M., Edwards Jr., Richards C. L., Horta T., Gaynes R., Pollock D., Carado D. Estimating healthcare-associated infections in US hospitals, 2002. // Public Health Rep. 2007; 122: 160–166.
4. Saint S., Chenoweth C.E. Biofilms and catheter-associated urinary tract infections. // Infect. Dis. Clin. North. Am. 2003; 17: 411–432.
5. Hooton T. M., Bradley S. F., Cardenas D. D., Colgan R., Geerlings S. E., Rice J. C., Saint S., Schaeffer A. J., Tambyah P. A., Tenke P., Nicolle L. E. Diagnosis, prevention, and treat-

ment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 international clinical practice guidelines from the infectious diseases society of America. // Clin. Infect. Dis. 2012; 50 (5): 625–663.

6. Naber K. G., Schaeffer A. J., Heyns C. F., Matsumoto T. et al. (eds). Urogenital Infections. European Association of Urology — International Consultations on Urological Diseases 2010. // Arnhem, The Netherlands. ISBN:978-90-79754-41-0.
7. UMHS Urinary Tract Infection Guideline, May 2011.
8. Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. A national clinical guideline, July 2012. // Available from URL: <http://www.sign.ac.uk>.
9. LE Nicolle MD FRCP (Editor-in-Chief), AMMI Canada Guidelines Committee. Complicated urinary tract infection in adults. // Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. Vol. 16 No. 6, November/December 2005: 349–360.
10. Hooton T. M. Uncomplicated urinary tract infection. // N. Engl. J. Med. 2012; 366 (11): 1028–1037.
11. Antti Roine, Taavi Saviauk, Pekka Kumpulainen, Markus Karjalainen, Antti Tuokko, Janne Aittoniemi, Risto Vuento, Jukka Lekala, Terho Lehtimäki, Teuvo L. Tammela, Niku K. J. Oksala. Rapid and Accurate Detection of Urinary Pathogens by Mobile IMS-Based Electronic Nose: A Proof-of-principle Study. // PLOS ONE | DOI: 10.1371/journal.pone.0114279. December 19, 2014.
12. Grabe M., Bishop M. C., Bjerkund-Johansen T. E., Botto H., Çek M., et al. (2008) Guidelines on the Management of Urinary and Male Genital Tract Infections. Uroweb. // Available: http://www.uroweb.org/fileadmin/user_upload/Guidelines/TheManagementofMaleUrinaryandGenitalTractInfections.pdf. Accessed 4 February 2014.
13. Tony Mazzuli. Diagnosis and management of simple and complicated urinary tract infections (UTI). // Canadian J. of Urology, 19 (Suppl. 1); October 2012: 42–48.
14. Флетчер, С. ФЛЕТЧЕР, Э. Вагнер. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. // Медиа Сфера, Москва, 1998, 352 с.
15. А. Банерджи. Медицинская статистика понятным языком. // Практическая Медицина, Москва, 2007, 287 с.
16. Sara Brilha, Helena Proença, Jose Melo Cristino and Thomas Häscheid. Use of flow cytometry (Sysmex Uf-100) to screen for positive urine culture: in search for the ideal cut off. // Clin. Chem. Lab. Med. 2010; 48 (2): 289–292.
17. Van der Zwet W. C. Evaluation of the Sysmex UF-1000i urine flow cytometer in the diagnostic work-up of suspected urinary tract infection in Dutch general hospital. // Clin. Chem. Lab. Med. 2010; 48 (12): 1765–71. doi: 10.1515/CCLM.2010.342. Epub. 2010. Aug. 21.
18. Manoni F. Fornasiero L., Ercolin M., Tinello A., Ferrian M., Hoffer P., Valverde S., Gessoni G. Cutoff values for bacteria and leucocytes for urine flow cytometer Sysmex Uf-1000i in urinary tract infections. // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2009; (65): 103–107.



Тест генерации тромбина в диагностике гиперкоагуляции у пациентов с атеросклерозом

О. С. Мельничникова, врач КЛД клинико-диагностической лаборатории научно-методического центра по молекулярной медицине¹, м.н.с. научно-исследовательской лаборатории кардиоангиологии²

В. М. Лапина, к.м.н., вед. научный сотрудник отдела сердечно-сосудистой хирургии¹

С. В. Лапин, к.м.н., зав. лаборатории диагностики аутоиммунных заболеваний¹

А. В. Тишков, к.ф.-м.н., доцент, зав. кафедрой физики, математики и информатики¹

В. Л. Эмануэль, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины¹

Т. В. Вавилова, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики²

М. А. Карпенко, д.м.н., проф., зам. директора по научно-лечебной работе²

¹ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

²ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Thrombin generation test in diagnosis of hypercoagulability in patients with atherosclerosis

O.S. Napalkova, V.M. Lapina, T.V. Vavilova, M.A. Karpenko, S.V. Lapin, A.V. Tishkov, V.L. Emanuel
The First Saint Petersburg State Medical University n.a. I.P. Pavlov, the North-West Federal Medical Research Centre n.a. V.A. Almazov; Saint Petersburg, Russia

Резюме

В результате многостадийного процесса активации прокоагулянтных и антикоагулянтных факторов происходит генерация и регуляция работы ключевого фермента гемостаза тромбина. Поэтому измерение динамики образования тромбина с помощью теста генерации тромбина (ТГТ) является интегральным методом оценки системы свертывания. В ходе работы были обследованы 102 пациента с различными клинико-морфологическими формами атеросклероза. В результате исследования ТГТ было обнаружено значимое повышение уровня эндогенного тромбинового потенциала (ETP — endogenous thrombin potential, англ.) у пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных и брахиоцефальных артерий и артерий нижних конечностей по сравнению с пациентами, имеющих поражение только коронарных артерий (2104.1 ± 441.2 против 1717.2 ± 352.5 нМоль/мин, $p < 0.05$) нМоль/мин., и группой сравнения (2104.1 ± 441.2 против 1637.0 ± 180.2 нМоль/мин, $p < 0.01$). Также мы наблюдали у пациентов с генерализованным атеросклерозом достоверное увеличение времени инициации свертывания (LT — Lag time, англ.) ($3.5 [3.0-3.9]$ против $2.7 [2.4-3.0]$ мин, $p < 0.01$). Таким образом, уровень ETP возрастает с увеличением тяжести атеросклеротического повреждения и вовлечением в процесс нескольких сосудистых бассейнов и может быть использован в качестве дополнительного и не инвазивного метода диагностики распространенности атеросклеротического поражения сосудистого русла.

Ключевые слова: тромбин, атеросклероз, воспаление, гиперкоагуляция.

Summary

Generation of thrombin is the result of procoagulant and anticoagulant factors is the generation and regulation of a key enzyme of hemostasis thrombin. Therefore, measuring the formation of thrombin with thrombin generation test (TGT) is assumed an integral method of assessment of the coagulation system. We examined 102 patients with various clinical-morphological forms of atherosclerosis. It was found significant increase in endogenous thrombin potential (ETP) of thrombin in patients with coronary and brachiocephalic arteries and arteries of lower limb compared to patients suffering only coronary artery diseases (2104.1 ± 441.2 vs 1717.2 ± 352.5 nmol/min, $p < 0.05$). Endogenous thrombin potential (ETP) in individuals of control group was 1637.0 ± 180.2 nmol/min. We have also observed increase in time of initiation of clotting (LT) in patients with generalized atherosclerosis that was $3.5 [3.0-3.9]$ minutes vs. $2.7 [2.4-3.0]$ minutes in the control group ($p < 0.01$). Thus, thrombin potential of plasma is closely associated with the severity and extent of atherosclerotic lesions of the vascular bed and can be used as an additional diagnostic tool and non-invasive method to diagnose the severity of the damage of the vascular bed.

Key words: thrombin, atherosclerosis, inflammation, hypercoagulation.



О. С. Мельничникова



В. М. Лапина



С. В. Лапин



В. Л. Эмануэль



Т. В. Вавилова

Введение

Атеросклероз характеризуется эндотелиальной дисфункцией, локальным воспалением сосудистой стенки и сопровождается отложением холестерина и некоторых фракций липопротеинов в интима сосудов [15]. Атеросклероз является системным заболеванием, поскольку у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей (ОАНК) повышается риск инфаркта миокарда в 4 раза, развитие инсульта в 2–3 раза по сравнению с пациентами без ОАНК [11]. Хотя развитие гиполипидемической, антитромботической, тромболитической терапии и усовершенствование оперативного эндоваскулярного вмешательства значительно повлияли на снижение смертности и инвалидности от атеросклероза, такое осложнение, как атеротромбоз, остается ведущей причиной смертности в развитых странах.

При мультифокальном атеросклерозе требуется комплексная диагностика, направленная на предотвращение прогрессирования и возникновения атеротромбоза.

Патогенез атеросклероза тесно связан с активацией системы гемостаза и формированием гиперкоагу-

ляционного состояния плазмы крови. Возникновение состояния гиперкоагуляции плазмы при атеросклерозе опосредуется дисфункцией эндотелия и активацией провоспалительных цитокинов. На сегодняшний день в клинической лабораторной практике не существует лабораторного метода для диагностики состояния гиперкоагуляции. Комплексный подход оценки генерации тромбина с помощью теста генерации тромбина (ТГТ) является одним из методов, позволяющих решить эту задачу.

Диагностическая значимость ТГТ хорошо изучена в оценке риска венозных тромбозов [5, 9, 19]. Сочетание повышенного уровня D-димера и уровня тромбинового потенциала плазмы, измеренного с помощью ТГТ, позволяет повысить оценку риска тромбоэмболических осложнений [9]. Кроме того, изучена связь повышения показателей ТГТ и возникновения риска артериальных тромбозов, обуславливающих развитие таких событий, как ИМ и инсульт [10, 7, 3, 6]. В исследовании R. Loeffen et al. обнаружили, что у пациентов с тромбозом стента после чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ), показатели ТГТ были выше по сравнению с группой

пациентов без осложнений [14]. Нами также было показано, что у пациентов с повторным сердечно-сосудистым событием, в результате которого им потребовалась повторная реваскуляризация миокарда, исходно отмечался более высокий уровень эндогенного тромбинового потенциала по сравнению с пациентами, у которых первое эндоваскулярное вмешательство прошло без осложнений [2]. Также увеличение генерации тромбина наблюдается и при других заболеваниях и патологических состояниях, таких как хронические заболевания легких [21], ожирение и сахарный диабет (СД) [4, 12, 18], ревматоидный артрит [20], курение, артериальная гипертензия [16]. Таким образом, исследование ТГТ является перспективным лабораторным методом диагностики протромботических изменений системы гемостаза. Однако остается неясным, какова роль тромбинового потенциала плазмы крови в оценке тяжести течения и распространенности атеросклеротического поражения сосудов и ассоциированного с ним атеротромбоза.

Цель нашего исследования состояла в определении клинического значения теста генерации тромбина для диагностики гиперкоагуляции у пациентов с атеросклерозом.

Материалы и методы

Всего были обследованы 102 пациента с атеросклерозом (74 мужчины, 28 женщин), средний возраст которых составил $59,5 \pm 8,4$ года. Пациенты находились на обследовании и лечении в Северо-Западном федеральном медицинском исследовательском центре имени В. А. Алмазова и Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете имени академика И. П. Павлова. В зависимости от клинко-морфологической формы атеросклероза они были разделены на три группы. В I группу вошли 58 пациентов (13 женщин и 45 мужчин) средний возраст которых был $58,0 \pm 7,2$ года, имеющие поражение только коронарных артерий и клинические проявления стабильной ишемической болезни сердца (СИБС). Во II группе были 32 пациента (12 женщин и 20

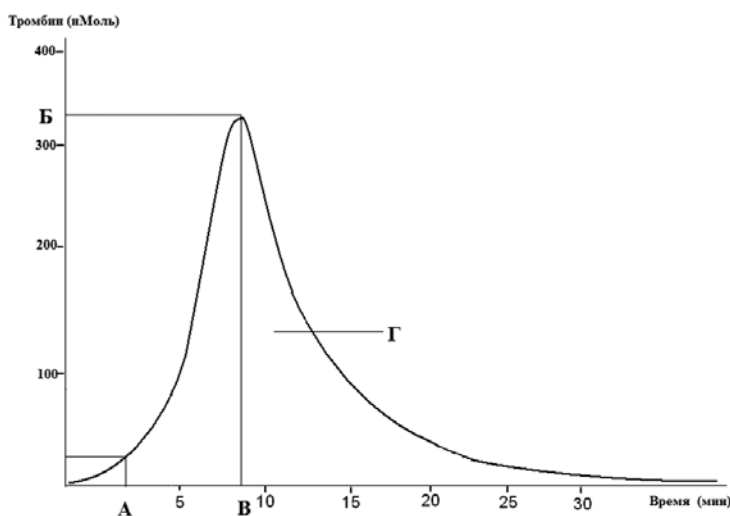


Рисунок 1. Кривая генерации тромбина и измеряемые параметры.

Примечание: А — время инициации свертывания, мин. (Lag time, LT); Б — пиковая концентрация тромбина, нМоль/л (Peak thrombin, Peakthr.); В — время достижения пиковой концентрации тромбина, мин. (Time to peak, ttPeak); Г — эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль/мин. (ETP).

Результаты исследований обрабатывали с использованием программы SPSS Statistics 17.0. Для описания количественных признаков использовались стандартные показатели описательной статистики (среднее арифметическое значение, стандартное отклонение ($M \pm SD$), или медиана, 25 и 75 перцентиль $Me [Q_1-Q_3]$). При сравнении двух и более независимых групп, распределенных по нормальному закону, использовали дисперсионный анализ. Для сравнения переменных, не относящихся нормальному закону распределения, был использован критерий Краскела-Уолиса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

мужчин), средний возраст которых был $62,0 \pm 5,1$ года, с поражением коронарных и мозговых артерий и клиническими проявлениями СИБС и цереброваскулярных заболеваний (ЦВЗ). В III группу были отобраны 12 пациентов (3 женщины и 9 мужчин) среднего возраста $62,2 \pm 7,2$ года, которые, помимо атеросклеротического поражения коронарных и брахиоцефальных артерий, имели также ОАНК.

В группу сравнения вошли 20 практически здоровых человека без клинических проявлений атеросклероза сосудов (10 мужчин, 10 женщин) в возрасте от 46 до 62 лет.

Для визуализации атеросклеротических стено-окклюзирующих поражений коронарных, мозговых артерий, аорты и артерий нижних конечностей пациентам выполняли рентгеноконтрастную ангиографию и ультразвуковую доплерографию. С помощью этих исследований выявляли гемодинамически значимые стенозы, под которыми понимали сужения просвета сосуда, составляющие 75 % и более, и окклюзии артерий.

Тест генерации тромбина производился амидолитическим методом на флюорогенном субстрате с использованием наборов реагентов фирмы Thrombinoscope BV (Нидерланды) на приборе Fluoroskan Ascent® производства Thermo Fisher Scientific (Финляндия). На кривой генерации тромбин рассчитывались показатели, представленные на рис. 1.

Результаты

В результате оценки основных факторов ССЗ было обнаружено, что пациенты с атеросклерозом вне зависимости от клинической формы достоверно чаще страдают от СД, АГ, и среди них повышена встречаемость курящих по сравнению с группой без атеросклероза ($p < 0,0001$). Во второй и третьей подгруппах пациентов с мультифокальным атеросклерозом наблюдается увеличение частоты больных с артериальной гипертензией на 28 % по сравнению с пациентами, имеющими поражение только коронарных артерий ($p < 0,05$). Также пациенты этих подгрупп достоверно старше группы лиц без атеросклероза ($p < 0,05$) (табл. 1).

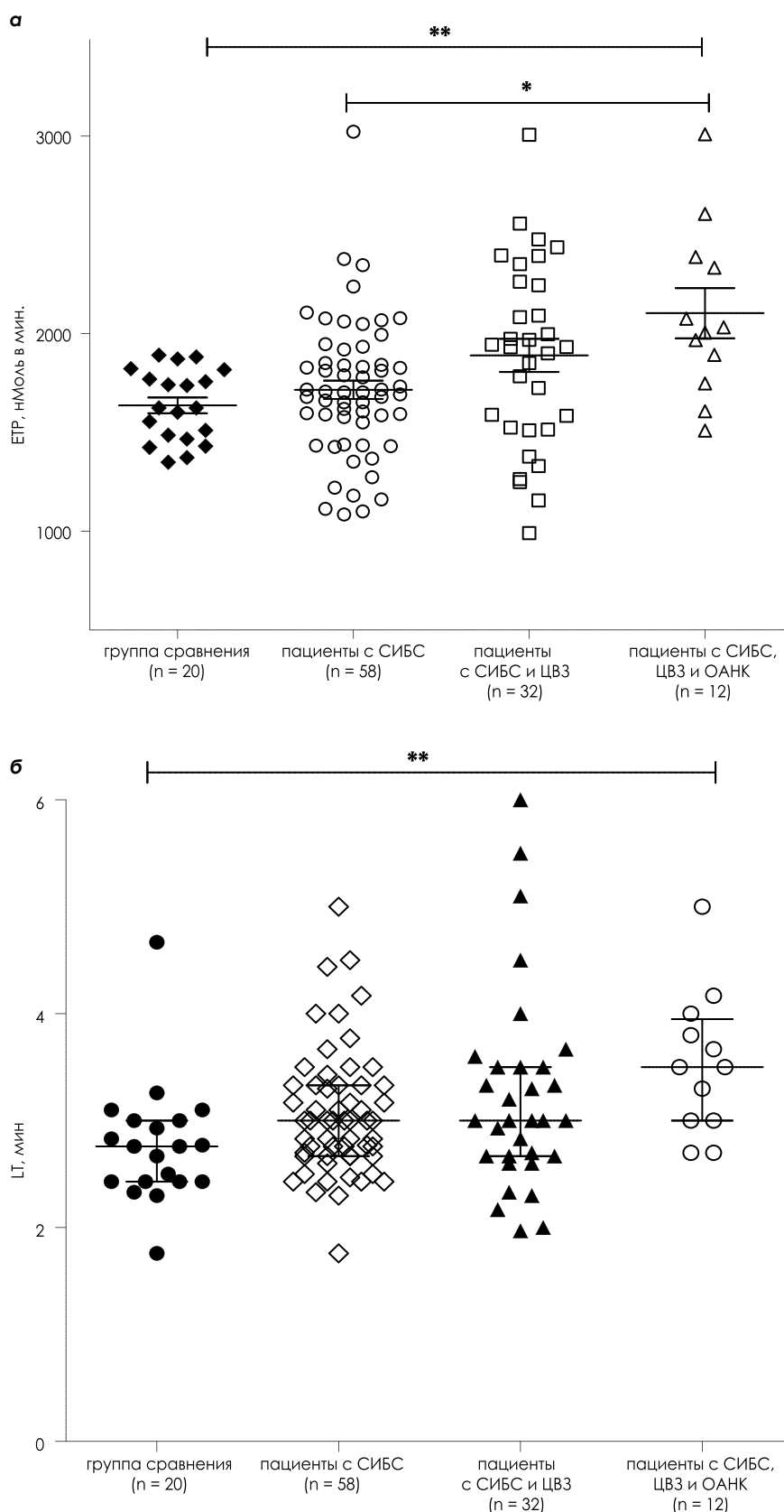


Рисунок 2. Эндогенный тромбиновый потенциал (а) и время инициации свертывания (б) у пациентов с различными клиническими формами атеросклероза и в группе сравнения. Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ по сравнению с аналогичным показателем в подгруппе пациентов с СИБС, ЦВЗ и ОАНК.

Таблица 1
Факторы сердечно-сосудистого риска у больных с различными
клинико-морфологическими формами атеросклероза и в группе сравнения, $M \pm SD$

Факторы риска	Группа сравнения (n = 20)	Подгруппа с СИБС (n = 58)	Подгруппа с СИБС и ЦВЗ (n = 32)	Подгруппа с СИБС, ЦВЗ и ОАНК (n = 12)
Возраст, лет	53,6 ± 6,0	58,0 ± 7,2	62,0 ± 5,1**	62,2 ± 7,2**
Общий холестерин, ммоль/л	4,3 ± 0,9	5,0 ± 0,7	4,8 ± 0,7	4,6 ± 0,7
Сахарный диабет, % (n)	0,0 (0)	25,8 (15)***	25,0 (8)***	33,3 (4)***
Индекс массы тела, кг/м ²	Нет данных	29,7 ± 3,5	29,3 ± 3,8	27,9 ± 4,8
Соот. по полу Ж/М, n	10/10	13/45	12/20	3/9
Артериальная гипертензия, % (n)	0,5 (1)	72,4 (42)***	100 (32)***,x	100 (12)***,x
Курение, % (n)	1,0 (2)	65,5 (38)***	68,7 (22)***	58,3 (7)***

Примечания: ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,0001$ по сравнению с аналогичным показателем в группе лиц без атеросклероза; x — по сравнению с аналогичным показателем в подгруппе пациентов с СИБС $p < 0,05$.

В результате исследования ТГТ было обнаружено значимое повышение уровня ЕТР у пациентов третьей подгруппы с СИБС, ЦВЗ и ОАНК по сравнению с пациентами первой подгруппы с СИБС ($2104,1 \pm 441,2$ против $1717,2 \pm 352,5$ нМоль/мин., $p < 0,05$) и группой лиц без атеросклероза ($2104,1 \pm 441,2$ против $1637,0 \pm 180,2$ нМоль/мин., $p < 0,01$) (рис. 2 а). В подгруппе пациентов

с СИБС, ЦВЗ и ОАНК, по сравнению с группой лиц без атеросклероза, выявлено достоверное увеличение времени инициации свертывания ($3,5 [3,0-3,9]$ против $2,7 [2,4-3,0]$ мин., $p < 0,01$) (рис. 2 б).

В результате сравнения показателей коагулограммы в подгруппах обследованных пациентов было обнаружено, что АЧТВ достоверно снижено в подгруппе пациентов с СИБС

и ЦВЗ по сравнению с пациентами, имеющими только СИБС ($p < 0,01$). В то же время в подгруппе пациентов с СИБС было зарегистрировано достоверное понижение процента протромбина по Квику по сравнению с группой без атеросклероза ($p < 0,05$). Однако значения АЧТВ и протромбина по Квику оставались в пределах нормы во всех исследуемых подгруппах. Также было обнаружено, что пациенты с атеросклерозом вне зависимости от клинической формы атеросклероза имеют достоверно более высокую концентрацию фибриногена плазмы крови по сравнению с группой лиц без атеросклероза (рис. 3). Мы не обнаружили достоверных различий по таким показателям, как D-димер и антитромбин III.

Таким образом, пациенты с мультифокальным атеросклерозом наряду с такими факторами риска, как возраст, артериальная гипертензия и высокие значения фибриногена плазмы крови имеют повышенный уровень ЕТР и увеличение времени LT.

Обсуждение

Атеросклеротическое поражение сосудистой стенки обусловлено воспалением и дисфункцией эндотелия и приводит к формированию состояния гиперкоагуляции плазмы крови. Протромботическое состояние плазмы крови, в свою очередь, опосредует возникновение атеротромбоза, который является самой частой причиной внезапной смерти больного с атеросклерозом.

На сегодняшний день диагностика состояния гиперкоагуляции с помощью стандартных параметров

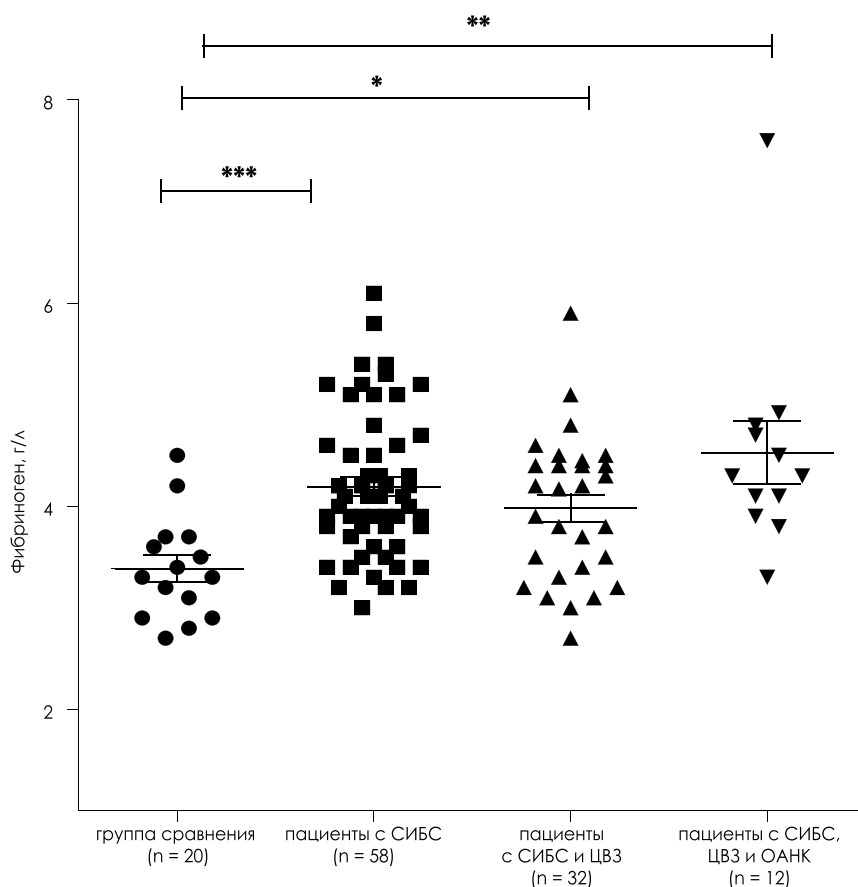


Рисунок 3. Концентрация фибриногена плазмы крови у пациентов с различными клиническими формами атеросклероза и в группе сравнения.

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с аналогичным показателем в подгруппе лиц без атеросклероза.

коагулограммы представляется сложной задачей, так, как они косвенно оценивают тромбинемию и чаще всего остаются неизменными даже при наступлении тромбоза [13]. А такие маркеры активации тромбина, как комплекс тромбин-антитромбиновый комплекс, фрагменты протромбина, фибрин-мономеры и D-димер, используются в основном для исключения диссеминированного внутрисосудистого синдрома, тромбоза глубоких вен, тромбоэмболии легочной артерии. Однако эффективность этих показателей в определении риска атеротромбоза не доказана. Поэтому исследование генерации тромбина с помощью ТГТ для диагностики состояния гиперкоагуляции плазмы крови представляет практический интерес.

В настоящем исследовании были обследованы 102 пациента с атеросклерозом (74 мужчины, 28 женщин), средний возраст которых составил $59,5 \pm 8,4$ года. В результате анализа ТГТ в группах пациентов с генерализованным атеросклерозом было обнаружено значимое повышение уровня ЕТР по сравнению с группой сравнения и группой больных, имеющих только СИБС.

Мы также наблюдали достоверное увеличение времени инициации свертывания (LT) у пациентов в этой группе больных. Повышение временного показателя LT мы связываем с компенсаторной активацией ингибитора пути тканевого фактора (TFPI — tissue factor pathway inhibitor, англ.). Это предположение согласуется с результатами других исследователей, которые показали, что у пациентов с нестабильным атеросклерозом на фоне дисфункции эндотелия происходит повышенная активация TFPI, в результате которой удлиняется LT [17].

В настоящем исследовании мы также отмечаем повышенный уровень фибриногена у пациентов с мультифокальным атеросклерозом. Согласно ряду крупных исследований повышенный уровень плазменного фибриногена приравнен к таким сердечно-сосудистым факторам риска, как гипертония, СД и курение [8]. В недавнем исследовании установлено, что у пациентов с СД и муль-

тифокальным атеросклерозом отмечается значимое повышение уровня С-реактивного белка, фибриногена, фактора Виллебранда и ряда других показателей по сравнению с таковыми у лиц с поражением одного сосудистого бассейна. А такие факторы, как СД, снижение функции почек, инфаркт миокарда в анамнезе, курение, повышение уровня фибриногена, ассоциированы с развитием мультифокального атеросклероза в группах обследуемых лиц [1]. Вероятно, использование теста генерации тромбина в комплексе с определением уровня фибриногена повысит диагностическую значимость в оценке распространенности сочетанного атеросклеротического поражения нескольких сосудистых бассейнов.

Таким образом, пациенты с мультифокальным атеросклерозом наряду с такими факторами риска, как возраст, артериальная гипертензия и высокие значения фибриногена плазмы крови, имеют повышенный ЕТР и увеличение временного показателя ТГТ- LT. Это наблюдение свидетельствует о взаимосвязи состояния гиперкоагуляции, диагностируемой с помощью ТГТ, и распространенности атеросклеротического поражения сосудистого русла. Однако необходимы дальнейшие стандартизация данного метода и изучение его диагностической значимости для внедрения ТГТ в широкую клиническую практику.

Список литературы

1. Грачева С. А., Глазунова А. М., Клефторова И. И., Мелкозеров К. В. (2014). «Распространенность и факторы риска атеросклеротического поражения экстракоронарных артерий у больных сахарным диабетом с подтвержденным коронароангиосклерозом». Кардиология 2. 2014.
2. Напалкова О. С., Эмануэль В. А., Карпенко М. А., Вавилова Т. В., Березовская Г. А., Яковлев А. Н., Юдина В. А., Васильева Е. Ю., Лапин С. В. (2016). «Оценка риска повторной операции реваскуляризации миокарда с помощью теста генерации тромбина». Тромбоз, гемостаз и реология 1: 65–71.
3. Al Dieri, R., B. de Laat, et al. (2012). Thrombin generation: what have we learned? Blood Rev. 26 (5): 197–203.
4. Beijers, H. J., I. Ferreira, et al. (2010). Body composition as determinant of thrombin generation in plasma: the Hoorn study. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 30 (12): 2639–2647.
5. Besser, M., C. Baglin, et al. (2008). High rate of unprovoked recurrent venous thrombosis

is associated with high thrombin-generating potential in a prospective cohort study. J. Thromb. Haemost. 6 (10): 1720–1725.

6. Campo, G., R. Pavasini, et al. (2012). Thrombin generation assay: a new tool to predict and optimize clinical outcome in cardiovascular patients? Blood Coagul. Fibrinolysis. 23 (8): 680–687.
7. Carcaillon, L., M. Alhenc-Gelas, et al. (2011). Increased thrombin generation is associated with acute ischemic stroke but not with coronary heart disease in the elderly: the Three-City cohort study. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 31 (6): 1445–1451.
8. Dotevall, A., S. Johansson, et al. (1994). Association between fibrinogen and other risk factors for cardiovascular disease in men and women. Results from the Goteborg MONICA survey 1985. Ann. Epidemiol. 4 (5): 369–374.
9. Eichinger, S., G. Hron, et al. (2008). Prediction of recurrent venous thromboembolism by endogenous thrombin potential and D-dimer. Clin. Chem. 54 (12): 2042–2048.
10. Faber, C. G., J. Lodder, et al. (2003). Thrombin generation in platelet-rich plasma as a tool for the detection of hypercoagulability in young stroke patients. Pathophysiol. Haemost. Thromb. 33 (1): 52–58.
11. Faxon, D. P., M. A. Creager, et al. (2004). Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Executive summary: Atherosclerotic Vascular Disease Conference proceeding for healthcare professionals from a special writing group of the American Heart Association. Circulation 109 (21): 2595–2604.
12. Fritsch, P., M. Kleber, et al. (2010). Haemostatic alterations in overweight children: associations between metabolic syndrome, thrombin generation, and fibrinogen levels. Atherosclerosis 212 (2): 650–655.
13. Hemker, H. C., R. Al Dieri, et al. (2004). Thrombin generation assays: accruing clinical relevance. Curr. Opin. Hematol. 11 (3): 170–175.
14. Loeffen, R., T. C. Godschalk, et al. (2015). The hypercoagulable profile of patients with stent thrombosis. Heart 101 (14): 1126–1132.
15. Loeffen, R., H. M. Spronk, et al. (2012). The impact of blood coagulability on atherosclerosis and cardiovascular disease. J. Thromb. Haemost. 10 (7): 1207–1216.
16. Rudez, G., N. A. Janssen, et al. (2009). Effects of ambient air pollution on hemostasis and inflammation. Environ. Health Perspect. 117 (6): 995–1001.
17. Smid, M., A. W. Dielis, et al. (2011). Thrombin generation in patients with a first acute myocardial infarction. J. Thromb. Haemost. 9 (3): 450–456.
18. Tripodi, A., A. Branchi, et al. (2011). Hypercoagulability in patients with type 2 diabetes mellitus detected by a thrombin generation assay. J. Thromb. Thrombolysis. 31 (2): 165–172.
19. Tripodi, A., C. Legnani, et al. (2008). High thrombin generation measured in the presence of thrombomodulin is associated with an increased risk of recurrent venous thromboembolism. J. Thromb. Haemost. 6 (8): 1327–1333.
20. Undas, A., M. Gissel, et al. (2010). Thrombin generation in rheumatoid arthritis: dependence on plasma factor composition. Thromb. Haemost. 104 (2): 224–230.
21. Undas, A., M. Jankowski, et al. (2011). Thrombin generation in chronic obstructive pulmonary disease: dependence on plasma factor composition. Thromb. Res. 128 (4): e24–28.

Надежность и безопасность в лабораторном секторе



- Электроника блока управления Comfort позволяет точно задать температуру хранения;
- Наличие сигнализации: в случае отклонения температуры или незакрытой двери, при пропадании питания по сети (визуальная)
- Интегрированная регистрация и хранение данных $\min/\max$ температуре, о случаях срабатывания сигнализации и пропадания питания по сети
- RS 485 интерфейс и безпотенциальные контакты для дополнительной регистрации данных о температуре и сигнализации
- 1 точка калибровки обеспечивает точный контроль температуры хранения
- Имеются также модели со взрывобезопасным внутренним объемом, согласно требованиям ATEX 95

ООО «Либхерр-Русланд»

123104 Москва, Большой Палашевский пер. д. 13/2

+7 (495) 280-03-27, +7 (495) 280-03-76,

+7 (495) 280-03-28

home.liebherr.com

LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации

Современные патогенетические аспекты атерогенеза у больных туберкулезом легких

А. Н. Новикова, д.м.н., зав. кабинетом функциональной диагностики, кардиолог
А. М. Рыжов, к.м.н., врач КЛД отделения анестезиологии и реанимации

ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом»
Департамента здравоохранения г. Москвы

Modern pathogenetic aspects of atherogenesis in patients with pulmonary tuberculosis

L. N. Novikova, A. M. Ryzhov

Moscow Scientific and Practical Centre for Fight against Tuberculosis, Moscow, Russia

Резюме

Данные о 257 больных различными формами туберкулеза легких, находящихся на стационарном лечении в клинике № 1 МНПЦБТ за 2014–2015 годы с наличием сопутствующих заболеваний ССС (ИБС и ГБ) показали, что снижение ОХ не отражает истинной картины течения липидоза. Для объективной оценки атерогенеза необходимо использовать показатель активности липидоза. Так, в острую стадию туберкулеза на фоне роста показателей CRP, свободных радикалов, а также снижения антиоксидантной активности прогрессирование атеросклероза характеризуется морфологией волны липидоза, которая наслаивается на старые изменения, ведет к развитию вторичного атеросклероза. Кроме этого, на фоне интоксикационного синдрома у больных туберкулезом имеет место закономерный процесс латентного внутрисосудистого свертывания крови с нарушением микроциркуляции. В итоге у больных туберкулезом легких с сопутствующими заболеваниями ССС в обеих группах в 3,8 и 4,0% случаях выявлялись клинические признаки нестабильной стенокардии и развитие ОИМ. По нашим данным, развитие атеросклероза не замедляется туберкулезом, но и является еще одним предиктором коронарогенного риска наряду с общеизвестными факторами (туберкулезная интоксикация, гипоксия, тахикардия, артериальная гипер- и гипотензия, курение), что определяет необходимость назначения патогенетической терапии и в первую очередь статинов.

Ключевые слова: показатель активности липидоза, вторичный атеросклероз, туберкулез легких, туберкулезная интоксикация, окислительный стресс, С-реактивный белок и свободные радикалы, ИБС, нестабильная стенокардия.

Summary

The data of 257 patients with various forms of pulmonary tuberculosis and the cardiovascular comorbidities (CHD and AH) hospitalized in the clinic № 1 of Moscow scientific and practical center of fight against tuberculosis in the years 2014–2015 have shown that the reduction of total cholesterol does not reflect a true process of lipoidosis. It is necessary to use the indicator of lipoidosis activity for an objective assessment of atherogenesis. Thus, in the acute tuberculosis stage on the background of CRP and free radicals growth rates, as well as antioxidant activity reduction, the progression of atherosclerosis is characterized by morphology of lipoidosis wave which is superimposed on the previous changes and leads to the development of secondary atherosclerosis. Moreover, in patients with tuberculosis on the background of intoxication syndrome there is a natural process of latent intravascular blood coagulation with impaired microcirculation. As a result, in patients with pulmonary tuberculosis and the cardiovascular comorbidities clinical signs of unstable angina and development of acute myocardial infarction were detected in both groups in 3.8 and 4.0%. According to our data, tuberculosis does not slow down the development of atherosclerosis which conversely develops and appears to be another predictor of coronarogenic risk factor along with the well-known factors (tuberculosis intoxication, hypoxia, tachycardia, arterial hyper- and hypotension, smoking), which determines the necessity of pathogenetic therapy and, primarily, statins.

Key words: indicator of lipoidosis activity, secondary atherosclerosis, pulmonary tuberculosis, tuberculosis intoxication, oxidative stress, C-reactive protein and free radicals, coronary heart disease, unstable angina pectoris.

Взаимоотношения между туберкулезом легких и атеросклерозом, возникающие у определенного круга людей, протекают в близких условиях среды и взаимно влияют друг на друга.

В зависимости от этиологических, патогенетических и морфологических признаков различают следующие виды артериосклероза:

- атеросклероз (метаболический артериосклероз);
- артериосклероз или гиалиноз (например, при гипертонической болезни);
- воспалительный артериосклероз (например, сифилитический, туберкулезный);

- аллергический артериосклероз (например, при узелковом периартериите);
- токсический артериосклероз (например, адренолиновый);
- первичный кальциноз средней оболочки артерий (медиакальциноз Менкеберга);
- возрастной (старческий) артериосклероз.

Однако у больных туберкулезом среди всех факторов основное значение в патогенезе атеросклероза, на наш взгляд, имеют нарушения жирового и белкового обмена, прежде всего, холестерина и липопротеидов, а также наличие

окислительного стресса на фоне воспаления и интоксикационного синдрома.

Целью настоящего исследования явилось изучение атерогенеза у больных туберкулезом легких.

Материал и методы

В ходе выполнения работы были изучены данные 257 больных различными формами туберкулеза легких за 2014–2015 годы с наличием сопутствующих заболеваний ССС: ИБС и ГБ. Из них 126 больных в активную фазу заболевания с клиническими признаками интоксикации, которые поступили в терапевтические отделе-



Рисунок 1. Показатели липидного спектра.

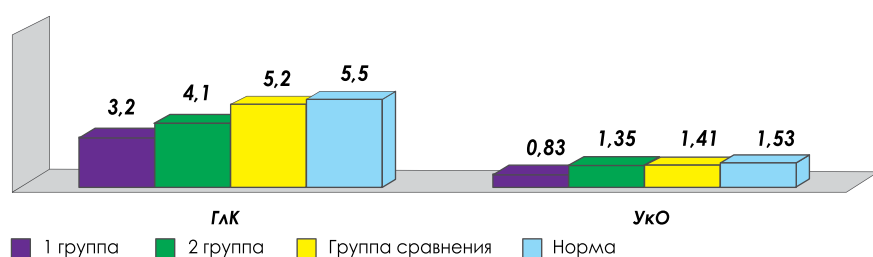


Рисунок 2. Показатели глюкозы крови и антиоксидантной активности.

ния для консервативного лечения — первая группа. А также 131 больной в стабильную стадию с ограниченными процессами (туберкулемы) без признаков перифокальной инфильтрации, поступивший на хирургическое лечение — вторая группа. Возраст больных колебался от 38 до 90 лет, в большинстве 65 ± 10 (81%). Среди больных преобладали мужчины (64%) с длительным стажем курения (78%). В группу сравнения вошли сотрудники в количестве 38 человек с наличием сопутствующих заболеваний ССС: ИБС и ГБ, без туберкулеза в анамнезе, средний возраст 68 ± 8 лет.

Исследования сердечно-сосудистой системы выполнялись методами рентгенографии, эхокардиографии, электрокардиографии. Для диагностики неотложных состояний заболеваний ССС использовали иммуноанализатор Triage® MeterPro с оценкой следующих показателей: тропонин I, СК МВ, натрийуретический пептид, миоглобин, D-димер.

Маркеры нарушений липидного обмена: общий холестерин (ОХ), холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛПНПхс), холестерин липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНПхс),

холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛПВПхс), триглицериды (ТГ), коэффициент атерогенности (КА), а также глюкозы крови (ГлК) определялись при помощи системы Cholestech L*D*X* с применением кассет одноразового использования. Выраженность окислительного стресса оценивали по обнаружению активных форм кислорода: тест FORT — Free Oxygen Radicals Testing, который основан на способности ионов переходных металлов, таких как железо, катализировать в присутствии гидроперекисей образование свободных радикалов (СвР). Оценка общей антиоксидантной активности (УкО — устойчивость к окислению) проводилась при помощи теста Ford, который основан на использовании предварительно образованных радикалов и снижении адсорбции, которая пропорциональна концентрации антиоксидантов в крови. Для определения показателя активности липоидоза (ПАЛ) мы использовали разработанную нами формулу: $ПАЛ = ОХ / ЛПНПхс + ТГ$ в условных единицах.

Обработка данных проводилась с помощью пакета программ Statgraphics для персональных ЭВМ.

Вычисляли средние величины (М), ошибку их репрезентативности (m). Достоверность различий оценивали по критерию (t) Стьюдента. Статистический показатель считали достоверным при $P < 0,05$. Связь между количественными показателями устанавливали на основании коэффициента линейной корреляции (r) Пирсона.

Результаты и обсуждения

При поступлении в острую стадию туберкулезного процесса на фоне интоксикации у больных первой группы выявлено достоверное снижение показателя общего холестерина ОХ ($3,1 \pm 0,19$ ммоль/л) и ЛПВПхс ($0,75 \pm 0,41$ ммоль/л) не только по сравнению с нормой ($5,0 \pm 0,5$ ммоль/л; $1,55 \pm 0,28$ ммоль/л), но по сравнению со второй группой (ОХ $4,8 \pm 0,11$ ммоль/л; $1,33 \pm 0,28$ ммоль/л) и особенно с группой сравнения ($6,5 \pm 0,23$ ммоль/л; $1,52 \pm 0,28$ ммоль/л) (рис. 1).

Одновременно у больных первой группы были достоверно снижены показатели глюкозы крови и антиоксидантной активности: УкО ($0,83 \pm 0,41$ ммоль/л Trolox) и глюкоза ($3,8 \pm 1,1$ ммоль/л) по сравнению с группами сравнения и с нормой (рис. 2).

Как видно на рис. 3, у больных первой группы отмечалось также достоверное снижение показателя общего белка: ТР ($55,1 \pm 2,6$ г/л) по сравнению со второй группой ($71,8 \pm 1,9$), с группой сравнения ($72,5 \pm 1,5$ г/л) и с нормой (64–82 г/л) (рис. 3).

У больных первой группы были значительно повышены показатели СРР ($22 \pm 1,4$ мг/л) и СвР ($3,75 \pm 0,32$ ммоль/л H_2O_2) достоверно по сравнению с аналогичными показателями в других группах и нормой; $P < 0,001$ (рис. 4).

Повышение показателей СРР и СвР обусловлено наличием острой фазы воспаления, так как они отражают центральный компонент двух типов воспалительных процессов: острого воспалительного процесса, связанного с системными инфекциями и с некрозом тканей, а также вялотекущего процесса, происходящего в эндотелии, связанного с липоидозом.

Острые нарушения коронарного кровообращения определены у 10

больных (3,8 %); при этом у пяти из первой группы (4,0 %) и у пяти больных из второй группы (3,8 %). В случаях развития острого коронарного синдрома (ОКС) при клинических и инструментальных признаках (жалобы, клиническая картина, изменения на ЭКГ) у больных первой и второй групп определялись положительные тесты у тропонина I, СК МВ, натрийуретического пептида, миоглобина, D-димера. При этом у больных первой группы показатели ОХ, ЛПВПхс оставались достоверно сниженными, а ЛПНПхс и ТГ относительно повышенными. У больных второй группы при выявлении нестабильной стенокардии показатели ОХ, глюкозы крови были достоверно увеличены не только по сравнению с первой группой, но и с аналогичными показателями той же группы без ОИМ (табл. 1).

Интересно и показательно, на наш взгляд, отношение общего холестерина к атерогенным фракциям липидного спектра (ЛПНПхс и ТГ) в группах сравнения (рис. 5).

Как оказалось, снижение ОХ не отражает истинной картины течения липоидоза у больных туберкулезом. Корреляционный анализ между показателем активности липоидоза (ПАЛ) с показателями тропонин I, CRP и СвР позволил выявить отрицательные связи, причем более сильные в активную стадию воспаления при возникновении ОКС ($r = -0,96; -0,98; -0,98$), то есть чем ниже ПАЛ, тем выше риск сердечно-сосудистых осложнений (ССО). Анализ корреляционной связи между ПАЛ с показателями систолической функцией миокарда ЛЖ, глюкозы, ОХ и белка показал, что между ними существует сильная прямая положительная связь ($r = +0,94; +0,90; +0,97; +0,92$); другими словами, низкий ПАЛ сопровождался достоверным снижением глобальной систолической функции миокарда ЛЖ, гипогликемией, гиполипидемией и гипоальбуминемией.

Достоверные различия показателя активности липоидоза (ПАЛ) у больных первой, второй групп и группы сравнения по сравнению с нормой позволяют оценить риск развития сердечно-сосудистых осложнений и определяют необходимость назначения патогенетической терапии.

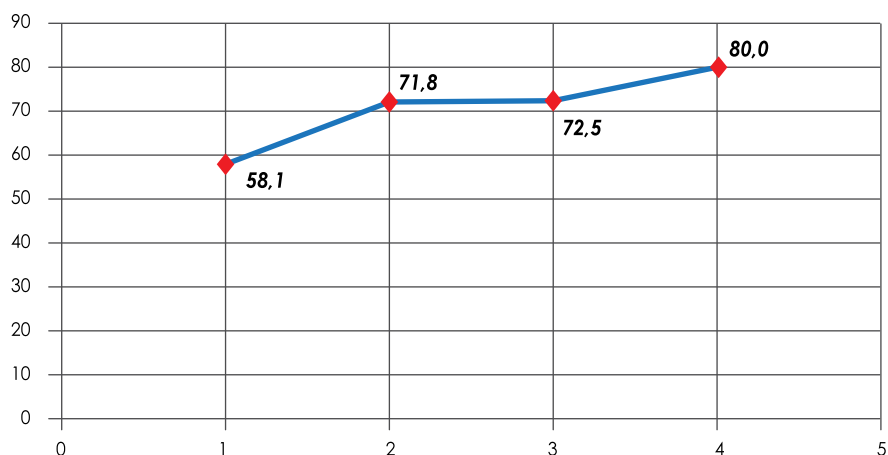


Рисунок 3. Показатели общего белка (TP).

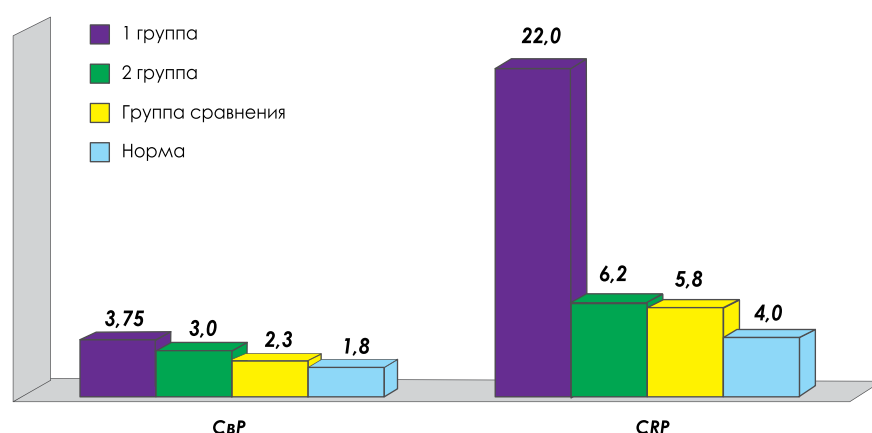


Рисунок 4. Показатели активности воспаления.

Таблица 1
Показатели липидного спектра, глюкозы и D-димера у больных туберкулезом легких первой и второй групп

Показатели	I группа		II группа		Норма
	С ОКС	Без ОКС	С ОКС	Без ОКС	
ОХ, ммоль/л	3,4 ± 0,28**	3,1 ± 0,19**	5,9 ± 0,21*	5,6 ± 0,11	5,0
ЛПНПхс, ммоль/л	2,8 ± 0,41	2,2 ± 0,52	3,7 ± 0,35*	3,6 ± 0,24*	2,6
ТГ, ммоль/л	2,5 ± 0,35*	2,6 ± 0,44*	2,6 ± 0,17***	2,2 ± 0,28	1,7
Глюкоза, ммоль/л	5,0 ± 0,47***	3,8 ± 1,1*	5,5 ± 0,33***	4,0 ± 0,64	5,5
D-димер, нг/мл	1920 ± 53***	802 ± 41*	634 ± 25***	350 ± 21	<600

Примечание: * — различия достоверны с показателями по сравнению с нормой ($P < 0,01$); ** — различия достоверны по сравнению со 2 группой. ($P < 0,05$); *** — различия достоверны с показателями у больных этой же группы без ОКС ($P < 0,01$).

При КТ-исследовании органов грудной клетки у больных туберкулезом легких с сопутствующими заболеваниями ССС (ИБС и ГБ) на фоне легочной гипертензии были отмечены уплотнение стенок аорты, неравномерный кальциноз аорты и коронарных артерий, сложенные дуги сердца, у 49 % увеличение поперечного размера сердечной тени и ее горизонтальное положение. По данным эхокардиографического исследования (ЭХОКГ) гипертрофия миокарда ПЖ выявлялась в 68 % случаев у больных первой группы и 36 % вто-

рой, гипертрофия миокарда ЛЖ выявлялась в 38 % случаев у больных первой группы и 42 % второй. Дилатация ЛП (КДР ЛП $44 \pm 1,2$ мм) выявлена в 61 % случаев. У больных туберкулезом при развитии ОКС по данным ЭХОКГ определялось снижение глобальной систолической функции миокарда ЛЖ ($ФВ = 54 \pm 2,5$ %) по сравнению с группой сравнения и с больными первой и второй групп без ОКС ($ФВ = 66 \pm 1,8$ %). Диастолическая дисфункция миокарда ЛЖ I типа отмечалась во всех группах сравнения: $E/A = 0,68 \pm 0,19$.

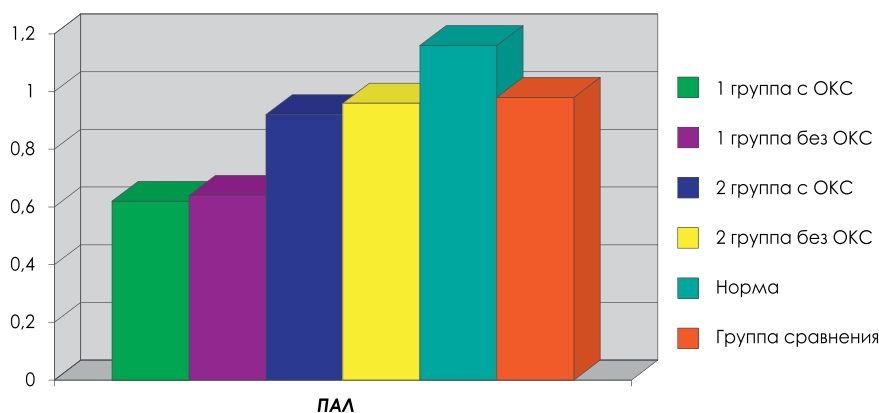


Рисунок 5. Показатель активности липоидоза (ПАЛ) в группах сравнения.

Зоны гипокинеза по данным ЭХОКГ были выявлены у 25 % больных (10 больных с нестабильной стенокардией). На ЭКГ у большинства больных (89 %) выявлены очаговые (рубцовые, атеросклеротический кардиосклероз) изменения миокарда той или иной области; а также нарушения ритма (72 %) и проводимости (51 %). По данным ЭКГ острые нарушения коронарного кровообращения определены у 10 больных (3,8 %); при этом у пяти больных из первой группы (4,0 %) и у пяти из второй (3,8 %). Из них у шести больных (один больной из первой группы и пять больных из второй) при КАГ выявлены окклюзии КА, и установлены стенты.

Заключение

Атерогенез тесно связан с обменом липидов, а следовательно, с энергетическими ресурсами организма. Пока в крови остается повышенный уровень CRP, физиологические процессы поглощения клетками жирных кислот и обмен глюкозы останутся нарушенными и даже патологическими.

Снижение показателей общего холестерина, глюкозы и общего белка у больных в активную стадию воспаления при туберкулезе происходит по нескольким причинам:

1. расход веществ (глюкозы, липидов и белка) на поддержание энергетического баланса;
2. попытка восстановления клеточных мембран при интоксикационном синдроме с распадом легочной ткани;
3. использование холестерина МБТ как источника углерода для восстановления и усиления собственных защитных механизмов к среде хозяина.

Несмотря на низкие показатели общего холестерина, уровень атерогенных липопротеидов несколько превышает нормальные значения. Риск развития нестабильной стенокардии и ОИМ в обеих группах одинаков (3,8 и 4,0 %). По данным за 2010 год, в России заболеваемость составляет 0,1–1,0 % у женщин в возрасте 45–54 лет и 2–5 % у мужчин. Тогда как в интервале 65–74 лет 10–15 и 10–20 % соответственно. При этом смертность в первые недели ОИМ составляет 50 %.

В острую стадию туберкулеза на фоне роста показателей CRP, свободных радикалов, а также снижения антиоксидантной активности прогрессирование атеросклероза характеризуется морфологией волны липоидоза, которая наслаивается на старые изменения (липосклероз, атероматоз, атерокальциноз), ведет к развитию вторичного атеросклероза и является реальным фактором осложнений (кровоизлияние в толще бляшки, разрыв покрышек мягких атером с тромбозом коронарных артерий). Кроме этого, на фоне интоксикационного синдрома у больных туберкулезом имеет место закономерный процесс латентного внутрисосудистого свертывания крови с нарушением микроциркуляции, о чем свидетельствует увеличенный показатель D-димера, происходит изменение трофики коронарных сосудов и миокарда. Поэтому у больных первой группы в активную стадию туберкулезного процесса ОИМ принимает затяжное течение: задерживается обратное развитие очага некроза; длительно сохраняется болевой синдром; дольше, чем обычно, нормализуются лейкоцитоз, СОЭ, CRP, ферменты крови; замед-

лена динамика электрокардиограммы. У больных второй группы мы видели, что очаг формируется не сразу, а постепенно расширяется с последующим замедленным обратным развитием и формированием рубца. Кроме этого, риск развития ОИМ у больных второй группы увеличивается за счет спазма сосудов и артериальной гипертензии на фоне предоперационного стресса.

Следствием данных патофизиологических процессов у больных туберкулезом легких с сопутствующими заболеваниями ССС являлись клинические признаки нестабильной стенокардии и развитие ОИМ.

Таким образом, по нашим данным, развитие атеросклероза не замедляется туберкулезом, но и является еще одним предиктором коронарного риска наряду с общеизвестными факторами (туберкулезная интоксикация, гипоксия, тахикардия, артериальная гипер- и гипотензия, курение), что определяет необходимость назначения патогенетической терапии и в первую очередь статинов. Возможно, необходимо провести серьезные исследования с участием как терапевтических, так и хирургических подразделений для решения вопроса о длительном приеме статинов (розувастатина) у больных туберкулезом легких с сопутствующими заболеваниями ССС с разработкой методической литературы, которая поможет врачам не допустить ошибок в сложных клинических ситуациях.

Список литературы

1. Калинина А. М., Поздняков Ю. М. Стабильная стенокардия / под ред. Р. Г. Оганова // ГЭОТА. Р. Медиа. — 2010.
2. Климов А. М.. Атеросклероз // Превентивная кардиология. — М. — 1987. — С. 239–316.
3. Литвинов В. И., Мороз А. М. и др. Гены метаболизма липидов // Лабораторные исследования при туберкулезе. — М. — 2013. — С. 38.
4. Титов В. Н. С-реактивный белок — влияние гормонов, физической активности, жирных кислот пищи. Роль в атеротромбозе артерий и диагностическое значение // Ж-л Биохимия. — № 1. — С. 3–4.
5. Митьков В. В., Сандриков В. А., Рыбакова М. К. Эхокардиография // Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике. — М. — 1998. — С. 100–119.
6. Томпсон Г. Р. Руководство по гиперлипидемии // Лондон: MSD Merck. — 1990. — С. 224.
7. Kendall S., Burgess B., Balhara R., et al. Cholesterol utilization in mycobacterium is controlled by two TetR-type transcriptional regulator; kstR and KstR2 // Microbiology. — 2010. — Vol. 156. — P. 1362–71.
8. Chen R., Li J. et al. Induction of leptin resistance through direct interaction on C-reactive protein with leptin // Nat. Med. — 2006. — Vol. 12 (24). — P. 425–32.



Alere Cholestech LDX®

Alere Cholestech LDX® - портативный, легкоуправляемый анализатор. Качество получаемых результатов на приборе подтверждено многочисленными исследованиями в США, Англии и многих других странах. Анализатор имеет регистрацию МЗ РФ и рекомендован к применению в клинической практике.

- Результат в течение 5 минут
- Портативный (21см x 12см)
- Не требует калибровки
- Не требует пробоподготовки (40 мкл цельная капиллярная или венозная кровь)
- Прост в эксплуатации
- Наличие принтера

ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ ПАРАМЕТРЫ:

- ОБЩИЙ ХОЛЕСТЕРИН
- ГЛЮКОЗА
- ЛПНП
- ЛПВП
- ТРИГЛИЦЕРИДЫ
- ИНДЕКС АТЕРОГЕННОСТИ

ГАРАНТИРОВАННОЕ ВЫСОКОЕ КАЧЕСТВО ПОЛУЧАЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Качество сопоставимо с результатами больших аналитических лабораторий (соответствие рекомендациям NCEP)
Lab-accurate quality: Meets National Cholesterol Education Program (NCEP) guidelines
- Точность и воспроизводимость:
- Сертифицировано по программам CDC's LSP и CRMLN (стандарты точности тестов на липиды)
- Автоматический расчет суммарного сердечно-сосудистого риска



ЗАО БиоХимМак
119991 Москва, Ленинские Горы,
МГУ имени М.В. Ломоносова, д.1, стр. 11
телефон (495) 647-27-40, 939-10-60
факс (495) 939-09-97
e-mail: info@biochemmack.ru
www.biochemmack.ru



М.Ю. Первакова



И.А. Дубина



С.В. Лапин



Е.А. Суркова



Т.В. Блинова



В.Л. Эмануэль

Информативность лабораторных методов определения парапротеина для диагностики моноклональных гаммапатий

М.Ю. Первакова, врач КЛД

И.А. Дубина, врач КЛД

С.В. Лапин, к.м.н., зав. лабораторией

Е.А. Суркова, к.б.н., с.н.с.

Т.В. Блинова, к.м.н., с.н.с., врач КЛД

А.В. Мазинг, к.м.н., в.н.с.

В.Л. Эмануэль, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, директор НМЦ по молекулярной медицине Минздрава России

Лаборатория диагностики аутоиммунных заболеваний НМЦ по молекулярной медицине ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

Diagnostic value of laboratory methods of paraprotein evaluation for diagnosis of monoclonal gammopathy

M. Yu. Pervakova, I. A. Dubina, S. V. Lapin, E. A. Surkova, T. V. Blinova, A. V. Mazing, V. L. Emanuel
The First Saint Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

Резюме

Электрофорез с иммунофиксацией представляет собой чувствительный метод выявления парапротеина (ПП) и определения его состава при моноклональных гаммапатиях (МГ). Альтернативным способом оценки клональности ПП является иммунометрическое определение концентрации свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов, основанное на изменении абсолютного или относительного содержания СЛЦ в сыворотке крови, возникающего в результате феномена рестрикции легких цепей при моноклональном синтезе. В настоящее время для скрининга и мониторинга МГ рекомендовано определение соотношения СЛЦ в сыворотке крови. Для сравнения информативности определения СЛЦ и электрофореза с иммунофиксацией для диагностики МГ мы обследовали 89 здоровых доноров и 165 больных МГ, получающих лечение в гематологических стационарах. Во всех образцах был выполнен электрофорез с иммунофиксацией с помощью оборудования и реактивов для электрофореза (Helena Biosciences, Великобритания). Концентрация СЛЦ была измерена с помощью набора для определения СЛЦ методом иммуноферментного анализа (ООО «Полигност», Россия). Референсные границы концентрации каппа-СЛЦ составили 3,25–15,81 мкг/мл, лямбда-СЛЦ — 3,23–28,05 мкг/мл, а их соотношения — 0,3–1,9 в сыворотке крови. У больных с ПП, содержащим легкую цепь каппа, увеличение абсолютного содержания каппа-СЛЦ отмечалось в 67,68% (67 из 99) случаев, а увеличение индекса каппа/лямбда СЛЦ в 62,63% (62 из 99) случаев ($p < 0,01$). При ПП, содержащем легкую цепь лямбда, увеличение СЛЦ лямбда встречалось у 69,7% (46 из 66), а снижение индекса каппа/лямбда в 80,3% (53 из 66) случаев. Таким образом, мы рекомендуем использовать комбинацию определения СЛЦ с расчетом индекса и иммунофиксации, которая обеспечивает наибольшую чувствительность лабораторной диагностики МГ.

Ключевые слова: парапротеин, свободные легкие цепи, моноклональная гаммапатия, электрофорез, иммунофиксация.

Summary

Electrophoresis with immunofixation is a sensitive technology for paraprotein (PP) detection and characterization in monoclonal gammopathies (MG). Immunometric measurement of immunoglobulin free light chains (FLC) is an alternative method to estimate PP clonality. This method is based on light chain restriction phenomenon in monoclonal synthesis, which leads to absolute or relative change of FLC level. Recently, FLC ratio in blood serum was recommended as a standard test for MG screening and monitoring. To compare efficacy of FLC measurement and immunofixation electrophoresis for MG diagnostics we studied 89 healthy donors and 165 MG patients. We performed immunofixation electrophoresis in all sera by electrophoresis hardware and reagents (Helena Biosciences, England). We detected serum FLC levels by commercial ELISA kit (Polygnost, Russia). The reference values for kappa-FLC serum concentrations were 3.25–15.81 µg/mL, for lambda-FLC: 3.23–28.05 µg/mL, and for kappa to lambda ratio: 0.3–1.9. An absolute increase of kappa-FLC was found in 67.68% (67 of 99) and kappa to lambda ratio increase in 62.63% (62 of 99) cases with PP, containing kappa-FLC ($p < 0.01$). An increase of lambda-FLC was found in 69.7% (46 of 66), and decrease of kappa to lambda ratio was in 80.3% (53 of 66) cases with PP, containing lambda-FLC. Thereby, it is not possible to identify all patients with MG by the use of FLC measurement only. At the same time, immunofixation in some cases also fails to give complete information. So we recommend the combination of FLC measurement with ratio calculation and immunofixation for highly sensitive laboratory detection of MG.

Key words: paraprotein, free light chains, monoclonal gammopathy, electrophoresis, immunofixation.

Введение

Моноклональная гаммапатия (МГ) представляет собой состояние, при котором происходит избыточная пролиферация определенного клона плазматических клеток [1]. При этом плазмциты синтезируют особый белок парапротеин (ПП), который состоит из моноклональных иммуноглобулинов или их фрагментов — свободных легких цепей (СЛЦ) [2]. При электрофорезе ПП образует отдельную фракцию или М-градиент [3]. Обычно наличие ПП указывает на гематоонкологическое заболевание, хотя может встречаться при аутоиммунных, инфекционных и других заболеваниях или протекать бессимптомно [4].

Электрофорез (ЭФ) представляет собой разделение молекул под действием электрического тока и является базовым методом определения ПП [5]. Для наибольшей эффективности ЭФ сочетают с иммунофиксацией, при которой ПП окрашивают с помощью специфических антител [6]. Данная технология позволяет выделить ПП среди других белковых фракций, а также определить его состав. Сочетание ЭФ с иммунофиксацией является «золотым стандартом» для выявления ПП [7]. Использование поливалентной антисыворотки позволяет проводить скрининг МГ с сохранением преимуществ иммунофиксации [8].

Помимо ЭФ, в настоящее время для диагностики МГ используются методы определения концентрации каппа и лямбда свободных легких цепей (СЛЦ) иммуноглобулинов и их соотношения [9]. В основе данных методов лежит выявление рестрикции легкой цепи, представляет собой избыточный синтез одного типа легких цепей (каппа или лямбда) и подавление другого, что приводит к изменению соотношения каппа/лямбда. Феномен рестрикции является характерной чертой МГ и позволяет отличить моноклональную продукцию СЛЦ от поликлональной, при которой соотношение каппа/лямбда остается неизменным [10].

Изменение отношения каппа/лямбда СЛЦ является критерием диагностики [11] и ответа на терапию при множественной миеломе [12], а также используется для стратификации риска прогрессии моноклональной гаммапатии неясного значения в ММ [13]. Определение СЛЦ незаменимо при таких вариантах МГ, как несекреторная миелома [15], болезнь легких цепей, AL-амилоидоз и болезнь депозитов легких цепей [16].

В нашей лаборатории используется чувствительный метод определения концентрации СЛЦ, основанный на использовании моноклональных антител, синтезированных под руководством профессора В. Б. Климовича [14].

Целью нашего исследования является оценка информативности определения СЛЦ методом иммуноферментного анализа, ЭФ с иммунофиксацией и их сочетания для лабораторной диагностики МГ.

Материалы и методы

Для оценки диагностических характеристик ИФА-системы мы собрали 254 образца сыворотки крови. Из них

89 были получены от условно здоровых доноров, а 165 от больных МГ, получающих лечение в гематологических стационарах. Во всех сыворотках больных было определено содержание ПП методом электрофореза с иммунофиксацией с помощью оборудования и реактивов (Helena Biosciences, Великобритания). Процедуры иммунофиксации выполнялись в соответствии с инструкцией производителя. Полученные денситограммы были обработаны с помощью программного обеспечения Platinum 3.0.

Изображения электрофореза белков сыворотки крови, иммунофиксации с поливалентной антисывороткой и с набором моновалентных антисыворонок и денситограммы представлены на рис. 1.

Определение концентрации общего белка для расчета абсолютного содержания М-градиента осуществлялось биуретовым методом с помощью полуавтоматического биохимического анализатора А15 (Biosystems, Испания). Для определения уровня каппа-СЛЦ и лямбда-СЛЦ использовали реактивы для ИФА метода (ООО «Полигност», Россия) согласно инструкции. Для установления референтных интервалов уровней каппа-СЛЦ, лямбда-СЛЦ и отношения каппа/лямбда использовали сыворотки условно здоровых доноров. Расчет производили согласно протоколу EP28-A3c Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины [17]. Статистический анализ данных проводили с использованием встроенных функций программы MS Excel, программы Stastitica 6.0 (StatSoft) и GraphPad Prism 4.0.

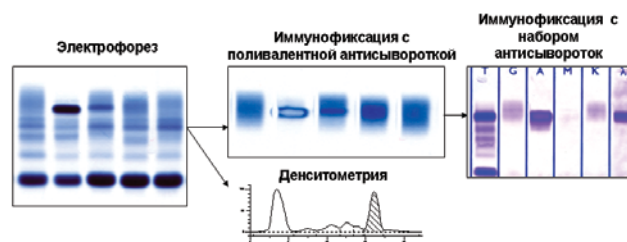


Рисунок 1. Изображения электрофореза белков сыворотки крови, иммунофиксации с поливалентной антисывороткой и с набором моновалентных антисыворонок и денситограммы.

Таблица 1
Распределение МГ по составу ПП, определенному при иммунофиксации

Вид парапротеина, обнаруженный при иммунофиксации	Количество человек, n
IgG / каппа	69
IgG / лямбда	43
IgA / каппа	12
IgA / лямбда	14
IgM / каппа	14
IgM / лямбда	2
Свободная легкая цепь каппа	4
Свободная легкая цепь лямбда	1
IgD / лямбда	6

Таблица 2
Диапазон референсных значений для СЛЦ и отношения каппа/лямбда в сыворотке крови. Рассчитан с помощью набора для определения СЛЦ методом иммуноферментного анализа (ООО «Полигност», Россия)

Показатель	Референсный диапазон
Свободная легкая цепь каппа	3,25–15,81 мкг/мл
Свободная легкая цепь лямбда	3,23–28,05 мкг/мл
Каппа-СЛЦ / лямбда-СЛЦ	0,3–1,9

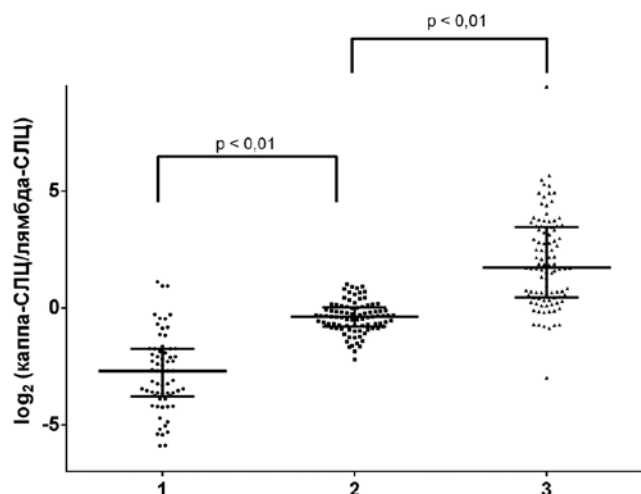


Рисунок 2. Отношение каппа/лямбда СЛЦ у здоровых доноров и больных МГ. Примечания: 1 — больные с МГ, представленными ПП, содержащим лямбда-цепь; 2 — условно здоровые доноры; 3 — больные с МГ, представленными ПП, содержащим каппа-цепь

Результаты

Мы обследовали 89 здоровых доноров и 165 больных МГ. Всем больным МГ было произведено типирование ПП, результаты которого представлены в табл. 1.

Мы измерили концентрацию СЛЦ в образцах сыворотки крови 89 здоровых доноров и 165 больных мо-

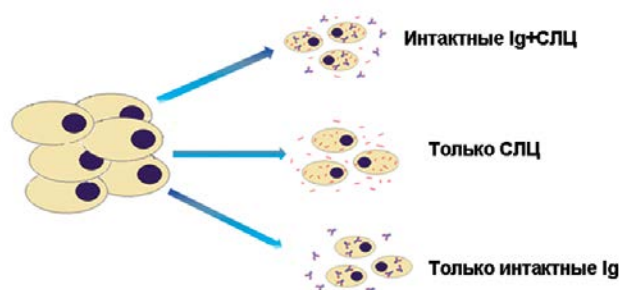


Рисунок 3. Варианты моноклонального синтеза по Brioli A. et al. 2014. Примечание: Ig — иммуноглобулин; СЛЦ — свободные легкие цепи.

ноклональными гаммапатиями. Диапазон референсных значений абсолютных значений СЛЦ и каппа/лямбда соотношения представлен в табл. 2.

У больных с ПП, содержащим легкую цепь каппа, увеличение абсолютного содержания каппа-СЛЦ отмечалось в 67,68 % (67 из 99), а увеличение индекса каппа/лямбда СЛЦ в 62,63 % (62 из 99) случаев ($p < 0,01$). При ПП, содержащем легкую цепь лямбда, увеличение СЛЦ лямбда встречалось в 69,7 % (46 из 66), а снижение индекса каппа/лямбда в 80,3 % (53 из 66) случаев. Отношение каппа/лямбда СЛЦ у здоровых доноров и больных МГ представлено на рис. 2.

Обсуждение

С молекулярной точки зрения ПП является продуктом одного клона клеток и представляет идентичные друг другу иммуноглобулины, то есть представленные одним классом, подклассом и изотипом и содержащие легкие цепи одного типа. Однако при моноклональном синтезе может наблюдаться такое явление, при котором часть плазматических клеток опухолевого клона синтезируют целый иммуноглобулин (интактный ПП), а оставшиеся плазмциты вырабатывают только СЛЦ той же клональности [18, 19]. Таким образом, моноклональный синтез

Таблица 3

Показатель	Норма	У больного
Каппа-СЛЦ в сыворотке крови	3,25–15,81 мкг/мл	92,91 мкг/мл
Лямбда-СЛЦ в сыворотке крови	3,23–28,05 мкг/мл	55,32 мкг/мл
Каппа-СЛЦ / лямбда-СЛЦ	0,3–1,9	1,68
Типирование ПП в сыворотке крови с помощью иммунофиксации	Парапротеина, представленного IgG, IgA, IgM и легкими цепями лямбда и каппа, не обнаружено	Обнаружен парапротеин IgG / каппа, содержание: 35,56 г/л

Таблица 4

Показатель	Норма	У больного
Каппа-СЛЦ в сыворотке крови	3,25–15,81 мкг/мл	5,11 мкг/мл
Лямбда-СЛЦ в сыворотке крови	3,23–28,05 мкг/мл	80,73 мкг/мл
Каппа-СЛЦ / лямбда-СЛЦ	0,3–1,9	0,06
Типирование ПП в сыворотке крови с помощью иммунофиксации	Парапротеина, представленного IgG, IgA, IgM и легкими цепями лямбда и каппа, не обнаружено	Парапротеина, представленного IgG, IgA, IgM и легкими цепями лямбда и каппа, не обнаружено

у разных больных с МГ может быть представлен как изолированной продукцией СЛЦ или интактного иммуноглобулина, так и их сочетанием [20] (рис. 3).

При этом для определения СЛЦ оптимальны иммунометрические методы, а для оценки интактных иммуноглобулинов методом выбора является электрофорез с иммунофиксацией.

Таким образом, при МГ, представленных интактным иммуноглобулином, уровень СЛЦ и их соотношения могут быть в пределах нормы [21]. В нашем исследовании повышение СЛЦ каппа было обнаружено в 67% образцов с ПП, содержащим легкую цепь каппа, а повышение СЛЦ лямбда в 69,7% случаев с ПП с легкой цепью лямбда.

Ниже приведены два клинических случая, которые демонстрируют необходимость совместного использования методов определения СЛЦ и электрофореза с иммунофиксацией.

Клинический случай 1

Множественная миелома с продукцией интактного парапρωтеина. Нормальное соотношение каппа/лямбда СЛЦ при продукции интактного Ig. Тест определения СЛЦ не информативен (табл. 3).

Сканированные изображения иммунофиксации для клинического случая 1 представлены на рис. 4.

Клинический случай 2

AL-амилоидоз с продукцией лямбда-СЛЦ. В данном случае выявление ПП методом ЭФ с иммунофиксацией не информативно (табл. 4).

Сканированные изображения иммунофиксации для клинического случая 2 представлены на рис. 5.

Таким образом, выбор в пользу одного из предложенных методов приведет к гиподиагностике в одном из представленном случаях. Именно сочетание двух технологий и правильная интерпретация результатов позволят предоставить врачу-гематологу необходимую информацию для диагностики МГ.

Благодарности

Исследование было выполнено при поддержке Российского научного фонда (соглашение № 16-15-00118). Также выражаем благодарность автономной некоммерческой организации «Развитие» за поддержку выполнения исследования.

Список литературы

1. Alexanian R., D. Weber and F. Liu. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. Arch. Pathol. Lab. Med., 1999. 123 (2): p. 108-13.
2. George E.D. and R. Sadovsky. Multiple myeloma: recognition and management. Am. Fam. Physician, 1999. 59 (7): p. 1885-94.
3. Keren D.F., ed. Protein electrophoresis in clinical diagnosis., ed. A. London. 2003. 71-77.
4. Andreeva N.E. [Rare forms of paraproteinemic hemoblastosis]. Ter. Arkh., 1984. 56 (6): p. 59-63.
5. O'Connell T.X., T.J. Horita and B. Kosravi. Understanding and interpreting serum protein electrophoresis. Am. Fam. Physician, 2005. 71 (1): p. 105-12.
6. Лапин С.В., Мазинг А.В., Эмануэль В.А., Современные подходы в диагностике парапротеинемий. Оснащение современной лаборатории. Справочник заведующего КДА, 2011. 6: p. 17.

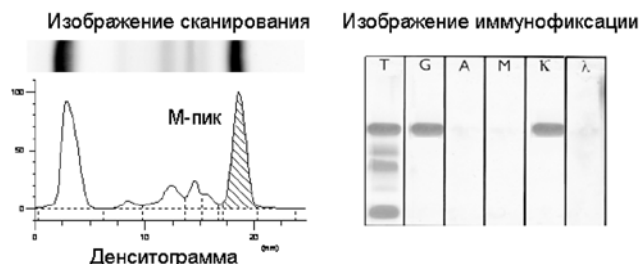


Рисунок 4. Электрофорез и иммунофиксация сыворотки крови пациента с МГ с синтезом интактного ПП и нормальным индексом СЛЦ. М-градиент IgG / каппа в гамма-фракции, содержание: 35,56 г/л.

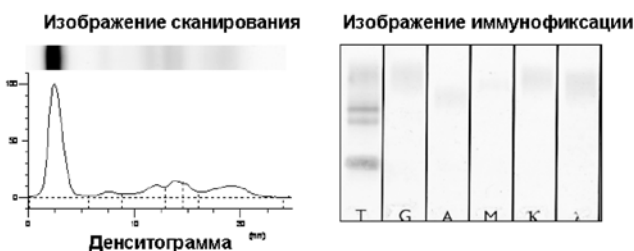


Рисунок 5. Электрофорез и иммунофиксация сыворотки крови пациента с AL-амилоидозом и снижением индекса СЛЦ. М-градиент отсутствует.

7. PRU Handbook of Clinical Immunochemistry, ninth edition, ed. P. publications. 2004.
8. Keren D.F., et al. Guidelines for clinical and laboratory evaluation patients with monoclonal gammopathies. Arch. Pathol. Lab. Med., 1999. 123 (2): p. 106-7.
9. Bradwell A.R., Serum Free Light Chain Analysis (plus Hevlyte), sixth edition. 2003.
10. Jenner E., Serum free light chains in clinical laboratory diagnostics. Clin. Chim. Acta, 2014. 427: p. 15-20.
11. Rajkumar S.V., et al., International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. Lancet Oncol., 2014. 15 (12): p. e538-48.
12. Bird J.M., Owen R.G., D'Sa S., Snowden J.A., Ashcroft J., Yong K., Cook G., Feyler S., Davies F., Morgan G., Cavenagh G., Low E., Behrens J., Jenner M., Pratt G., Guidelines for the diagnosis and management of multiple myeloma 2014. British Committee for Standards in Haematology (BCSH), UK Myeloma Forum, 2014.
13. Zingone A. and W.M. Kuehl. Pathogenesis of monoclonal gammopathy of undetermined significance and progression to multiple myeloma. Semin Hematol, 2011. 48 (1): p. 4-12.
14. Грязева И.В., Климович В.Б., Пашкова С.Ф., Моноклональные антитела к легким цепям иммуноглобулинов человека и их применение в иммуноанализе. Иммунология, 1994 (3): p. 31-37.
15. Drayson M., et al. Serum free light-chain measurements for identifying and monitoring patients with nonsecretory multiple myeloma. Blood, 2001. 9 (9): p. 2900-2.
16. Katzmman J.A., et al. Serum reference intervals and diagnostic ranges for free kappa and free lambda immunoglobulin light chains: relative sensitivity for detection of monoclonal light chains. Clin. Chem., 2002. 48 (9): p. 1437-44.
17. Horowitz G.L., A.S., Boyd J.C., Ceriotti F., Garg U., Horn P., Pesce A., Sine H.E., Zakowski J., Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline — Third Edition. 2010.
18. Ayliffe M.J., et al. Demonstration of changes in plasma cell subsets in multiple myeloma. Haematologica, 2007. 92 (8): p. 1135-8.
19. Keats J.J., et al. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma. Blood, 2012. 120 (5): p. 1067-76.
20. Brioli A., et al. Serum free immunoglobulin light chain evaluation as a marker of impact from intracanal heterogeneity on myeloma outcome. Blood, 2014. 123 (22): p. 3414-9.
21. Bhole M.V., R. Sadler and K. Ramasamy. Serum-free light-chain assay: clinical utility and limitations. Ann. Clin. Biochem., 2014. 51 (Pt. 5): p. 528-42.

Комплексное предложение для биохимических исследований

» Реагенты и контрольные материалы



- Более 200 наименований
- Соответствуют международным требованиям: IFCC, DGKC, SFBC
- Характеризуются высокой стабильностью и большим сроком годности
- Имеют превосходные аналитические характеристики
- Выпускаются в универсальных флаконах и в картриджах для приборов
- Пригодны для работы на любом биохимическом анализаторе открытого типа

» Биохимические анализаторы - автоматизация и снижение затрат



TAURUS - 500 фотометрических тестов в час
MIURA - 300 фотометрических тестов в час
MIURA 200 - 240 фотометрических тестов в час

- » Современные технологии
- » Открытые системы
- » Русифицированный интерфейс
- » Удобная система управления
- » Интеграция в ЛИС
- » Экономичный расход реагентов
- » Наличие РУ и метрологических сертификатов

Активность некоторых ферментов в гепаринизированной и EDTA-плазме крови: сравнение с сывороткой

К. А. Черемисина¹, К. С. Бабин¹, А. А. Пахомова², Е. Г. Степанова, к.м.н., доцент³, Г. Е. Яковлева, к.б.н.¹

¹АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск

²ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», г. Новосибирск

³ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск

Effects of heparin and EDTA on some plasma enzymes of human: comparison with serum

K. A. Cheremisina, K. S. Babin, A. A. Pakhomova, E. G. Stepanova, G. E. Yakovleva

AO Vector-Best; The City Clinical Hospital No. 1; Novosibirsk State Medical University; Novosibirsk, Russia

Резюме

Сыворотка крови является универсальным образцом для биохимических исследований ферментов крови, но априори неясно, какие факторы могут оказывать влияние на результат определения их активности при использовании плазмы крови. Было проведено сравнение активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, α-амилазы и ее панкреатического изофермента, γ-глутамилтрансферазы, креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, α-гидроксибутиратдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и холинэстеразы в гепаринизированной плазме, EDTA-плазме с их активностью в сыворотке крови 100 взрослых человек с применением реагентов для диагностики *in vitro* российского производства. По результатам проведенных исследований установлено существенное различие активностей щелочной фосфатазы и аминотрансфераз при использовании EDTA в качестве антикоагулянта по сравнению с сывороткой крови и ГПТ при использовании гепарина. Значения активностей АДГ и ГБДГ были значительно выше в образцах обоих типов плазмы по сравнению с сывороткой. В остальных случаях активности ферментов в гепаринизированной плазме, EDTA-плазме и в сыворотке крови имели высокую корреляцию между собой, а различия в значениях не являлись клинически значимыми.

Ключевые слова: антикоагулянты, плазма крови, ферменты.

Summary

Serum is a multipurpose blood sample for biochemical studies, but the effects of various types of anticoagulants on plasma biochemistry are not clear a priori. A hundred people were blood sampled in different tubes containing EDTA and heparin as anticoagulants and plain tube for harvesting plasma and serum. The activity of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, α-amylase and its pancreatic isoenzyme, γ-glutamyl transferase, creatine kinase, lactate dehydrogenase and α-hydroxybutyrate dehydrogenases, alkaline phosphatase and cholinesterase were measured. Significant difference was seen for alkaline phosphatase and transferases activity when EDTA was used as an anticoagulant and for γ-glutamyl transferase when heparin was used as an anticoagulant. The activities of lactate dehydrogenase and α-hydroxybutyrate dehydrogenases, were significantly higher in both plasmas than that of serum. In other cases, the enzymes activity in heparinised plasma, EDTA-plasma and serum had a high correlation and the differences in the values were not clinically significant.

Key words: anticoagulants; plasma, enzymes.

В лабораторной медицине для оценки основных параметров метаболизма человека в качестве материала для анализа используют сыворотку или плазму крови. Как известно, сыворотку получают в результате естественного свертывания крови, а для приготовления плазмы применяют специальные вещества-антикоагулянты, предотвращающие процесс коагуляции.

На сегодняшний день сыворотка является самым распространенным типом образца для биохимических исследований. Между тем в медицинских лабораториях все чаще стали использовать плазму крови, чему в значительной мере способствовали развитие медицинской

техники и возросшая потребность лабораторий в оптимизации своей работы. Несмотря на ряд преимуществ плазмы, например, сокращение времени между взятием образца крови у пациента и его анализом, антикоагулянты могут негативно влиять на результат определения аналитов, что, как следствие, может привести даже к ошибочному диагнозу [5, 7]. Поэтому современные разработки методов биохимического анализа обязательно включают исследование влияния способа получения образцов крови.

На практике при приготовлении плазмы для биохимических исследований чаще всего используют два вида антикоагулянтов: гепарин

(ингибитор тромбина) и этилендиаминтетрауксусную кислоту (EDTA), которая связывает ионы Ca^{2+} , предупреждая фибринообразование *in vitro*. Возможность применения гепаринизированной и EDTA-плазмы крови в качестве образца наряду с сывороткой при измерении активности ферментов определяется на основе экспериментальных данных. Априори можно предположить влияние антикоагулянта на исход анализа, например: хелатирующие свойства EDTA дают основание не использовать ее для ферментов, имеющих двухвалентные катионы металлов в качестве кофакторов. Тем не менее не всегда удается предсказать воздействие конкрет-

Таблица 1
Методы определения активностей ферментов

Сокращенное и полное название фермента		Метод
АЛТ	Аланинаминотрансфераза	УФ, без пиридоксальфосфата, IFCC
АСТ	Аспартатаминотрансфераза	УФ, без пиридоксальфосфата, IFCC
АМ	а-амилаза (общая)	Субстрат GalG ₂ CNP
АМ-п	Панкреатическая а-амилаза	Иммуноингибирование, субстрат GalG ₂ CNP
ГПТ	γ-глутамилтрансфераза	Метод Зейца
ГБДГ	а-гидроксibuтиратдегидрогеназа	УФ
КК	Креатинкиназа	УФ, NAC-активация, IFCC
ЛДГ	Лактатдегидрогеназа	УФ, SFBC
ХЭ	Холинэстераза	Гексацианоферрат, DGKC
ЩФ	Щелочная фосфатаза	ДЭА-буфер, субстрат pNPP, DGKC

ного антикоагулянта, что связано с существованием других факторов, оказывающих влияние на результат: метод и состав реагентов для определения активности фермента. Этому вопросу посвящены много работ, в большинстве которых рассматривается система реагентов конкретного производителя, и сравнивается определенный вид плазмы (чаще всего гепаринизированная) с сывороткой крови [6, 8].

В настоящей работе проведено сравнение активности десяти основных ферментов в образцах гепаринизированной плазмы, EDTA-плазмы и сыворотке крови

людей с целью определения влияния образца в реагентной системе производства российской компании «Вектор-Бест» на результаты анализа этих ферментов.

Материалы и методы

В работе были использованы обезличенные образцы крови 100 амбулаторных и госпитализированных пациентов обоих полов в возрасте старше 18 лет. Забор крови производили в утренние часы натощак. У каждого человека одновременно отбирали три пробы венозной крови для получения сыворотки, гепаринизированной плазмы

и EDTA-плазмы крови. Пациенты, образцы крови которых имели гематокрит, выходящий за пределы нормальных значений, исключались из исследования. Пробы крови выдерживали в течение получаса при комнатной температуре, затем центрифугировали в течение 10–15 минут при 3 000 об./мин., после чего отбирали супернатант (сыворотку или плазму крови) в отдельные пробирки. Образцы хранили при минус 20 °С не более трех дней вплоть до использования [1].

Активность 10 ферментов в образцах крови определяли кинетическими методами с помощью наборов реагентов «Вектор-Бест» (Россия) (табл. 1). Измерения проводили с помощью автоматического биохимического анализатора XL-300 (Erba, Германия). Образцы крови, взятые у одного человека, исследовались в одной аналитической серии.

Результаты группировали по типам образцов (гепаринизированная плазма, EDTA-плазма и сыворотка крови) для каждого фермента; далее рассчитывали среднее значение активности, стандартное отклонение от среднего, относительную разность средних (табл. 2). Анализ значимости различия средних значений активностей ферментов

Таблица 2
Характеристики выборок значений активностей ферментов в сыворотке, гепаринизированной и EDTA-плазме крови

Аналит	Средние значения			Относительная разность средних, %			Значимость различия средних при p = 0,05		
	СВ $\bar{X}_{св} \pm \sigma, E/l$	Г $\bar{X}_Г \pm \sigma, E/l$	Э $\bar{X}_Э \pm \sigma, E/l$	СВ/Г	СВ/Э	Г/Э	СВ/Г	СВ/Э	Г/Э
АЛТ	21 ± 27	20 ± 26	27 ± 30	–3,8	26,6	31,7	+	–	–
АСТ	25 ± 23	26 ± 22	29 ± 22	2,7	16,0	12,9	+	–	–
АМ	66 ± 132	63 ± 128	63 ± 123	–4,8	–4,8	0,0	+	+	+
АМ-п	36 ± 104	35 ± 100	35 ± 101	–4,3	–2,3	2,1	+	+	+
ГПТ	47 ± 71	40 ± 65	48 ± 68	–16,2	1,0	20,6	–	+	–
ГБДГ	174 ± 46	173 ± 101	255 ± 185	–0,8	46,6	47,7	+	–	–
КК	122 ± 262	135 ± 264	117 ± 254	11,3	–4,2	–13,9	+	+	+
ЛДГ	388 ± 109	427 ± 231	614 ± 431	9,8	58,1	44,0	+	–	–
ХЭ	8837 ± 2057	8425 ± 1944	8370 ± 1842	–4,7	–5,3	–0,7	+	+	+
ЩФ	215 ± 128	205 ± 120	–2 ± 2	–4,7	–100,9	–100,9	+	–	–

Примечание: $\bar{X}$ — среднее арифметическое значение активности фермента в соответствующем типе образца; σ — стандартное отклонение; СВ — сыворотка; Г — гепаринизированная плазма; Э — EDTA-плазма; относительная разность средних $\bar{X}_1/\bar{X}_2$, равная $(100\% \cdot (\bar{X}_2 - \bar{X}_1)/\bar{X}_1)$; результаты t-теста (– — различия между средними значениями значимо, + — незначимо).

для разных типов образцов проводили, используя t-статистику Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$ (табл. 2). Проверка распределений активностей для каждого типа образца и для каждого фермента на нормальность критерием Колмогорова-Смирнова показала, что значения не распределены нормально ($p < 0,01$). Логарифмическая трансформация данных привела выборки к нормальным распределениям. Кроме того, были построены уравнения линейной регрессии методом наименьших квадратов, и рассчитаны коэффициенты корреляции (r) между активностями ферментов в парах сыворотка – плазма, плазма – плазма (табл. 3). Статистические параметры рассчитывали с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа активности ферментов крови в сыворотке и гепаринизированной плазме, в сыворотке и EDTA-плазме, в гепаринизированной и EDTA-плазме представлены в табл. 2 и 3.

Согласно полученным данным тип образца не влиял на активность общей α -амилазы и ее панкреатического изофермента. Различия средних значений для сыворотки и обеих плазм были статистически незначимы. Показана высокая корреляция между результатами в парах сыворотка – плазма и плазма – плазма: коэффициент корреляции для этих пар образцов составил 1,0. Между тем, по литературным данным следует, что соли EDTA занижают активность фермента, и в качестве антикоагулянта при анализе активности α -амилазы предпочтительно использовать гепарин [1]. Большинство коммерческих наборов для определения активности как общей, так и панкреатической α -амилазы основаны на методе с использованием в качестве субстрата 4-Nitrophenyl-1,4- α -D-maltoheptaoside (EPS). Именно для него показано влияние EDTA на результат исследования [9]. В данной работе использовались реагенты, основанные на альтернативном методе с суб-

Таблица 3
Результаты регрессионного анализа

Аналит	СВ/Г			СВ/Э			Г/Э		
	a	b	r	a	b	r	a	b	r
АЛТ	0,92	1	0,96	1,13	3	0,99	1,13	4	0,95
АСТ	0,95	2	0,98	0,96	5	0,96	0,98	4	0,95
АМ	0,97	-1	1,00	0,93	2	1,00	0,96	3	1,00
АМ-п	0,96	0	1,00	0,97	0	1,00	1,01	1	1,00
ГГТ	0,90	-3	0,99	0,95	3	0,99	1,03	7	0,98
ГБДГ	0,82	30	0,37	0,53	162	0,14	0,01	254	0,00
КК	0,95	20	0,94	0,93	4	0,96	0,95	-12	0,99
ЛДГ	0,74	140	0,35	0,42	449	0,1	-0,07	644	0,00
ХЭ	0,93	221	0,98	0,88	558	0,98	0,91	690	0,96
ЩФ	0,93	5	0,99	0,01	-3	0,35	0,01	-3	0,35

Примечание: a, b — параметры уравнения линейной регрессии вида $y = ax + b$; r — коэффициент корреляции для пар x/y.

стратом 2-chloro-4-nitrophenyl-4-O- β -D-galactopyranosylmaltoside (GalG₂CNP), и влияние образца на результат не было обнаружено [2, 3].

При анализе активности холинэстеразы было установлено, что относительные отклонения средних значений в парах сыворотка – плазма и плазма – плазма хотя имеют тенденцию к занижению результата в плазме, не выходят за величину коэффициента внутрииндивидуальной вариации для данного фермента. Дело в том, что при определении каталитической активности ХЭ выдвигаются жесткие требования к точности, основанные на внутрииндивидуальной вариации этого фермента ($CV_{\text{инд}} = 5,4\%$): величина активности холинэстеразы мало изменяется на протяжении жизни человека и не имеет циркадной ритмики. При этом ряд заболеваний и отравления некоторыми веществами вызывают существенное изменение ее уровня. Вместе с тем коэффициенты корреляции для исследованных пар образцов были высоки, что также свидетельствует о возможности использования как гепаринизированной, так и EDTA-плазмы крови.

Анализ данных активности креатинкиназы не выявил статистически значимую разницу средних значений в парах сыворотка – плаз-

ма и плазма – плазма. Следует отметить, что наблюдалась высокая корреляция между значениями активности фермента в различных типах образцов. Результаты работ, опубликованных ранее, совпадают с полученными нами данными и подтверждают пригодность для использования гепаринизированной и EDTA-плазмы крови в качестве материала при определении активности КК [1, 6, 8].

При исследовании активности аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы было установлено, что среднее значение для гепаринизированной плазмы незначительно отличается от среднего значения для сыворотки. Более того, показана высокая корреляция результатов в данной паре типов образцов. EDTA же существенно завышает результат определения активности аминотрансфераз, несмотря на высокую корреляцию результатов с сывороткой, что согласуется с данными, полученными в других работах [10]. Так, было найдено статистически значимое смещение среднего значения в EDTA-плазме по отношению к сыворотке крови, при этом относительное смещение средних составило 26,6 % для аланинаминотрансферазы и 16,0 % для аспаратаминотрансферазы.

Каталитическая активность щелочной фосфатазы в EDTA-плазме

почти полностью ингибировалась, о чем свидетельствует среднее значение выборки и ее рассеивание -2 ± 2 Е/л, в то время как для сыворотки оно было 215 ± 128 Е/л. Относительная разница между средними значениями в сыворотке и гепаринизированной плазме составила 4,7%, что совпадает с ранее проведенными исследованиями, где выявлено клинически незначимое занижение активности щелочной фосфатазы в гепаринизированной плазме [8]. Более того, проведенный t-тест не выявил статистически значимого различия между средними значениями для сыворотки и гепаринизированной плазмы.

Для фермента γ -глутамилтрансферазы была установлена высокая корреляция в паре сыворотка — EDTA-плазма, и не найдены значимые различия в средних величинах по выборкам. Между тем анализ результатов показал значимое занижение среднего значения активности ГГТ в гепаринизированной плазме по сравнению с сывороткой и с EDTA-плазмой крови. Согласно литературным данным измерение активности γ -глутамилтрансферазы возможно как в сыворотке, так и в EDTA-плазме крови [1], что подтверждается полученными нами результатами.

Между активностью лактатдегидрогеназы в парах сыворотка — EDTA-плазма и сыворотка — гепаринизированная плазма была выявлена низкая корреляция ($r_s = 0,1$; $r_r = 0,35$). Аналогичная ситуация прослеживается для изофермента α -гидроксибутиратдегидрогеназы ($r_s = 0,14$; $r_r = 0,37$). Несмотря на близость средних значений активности ЛДГ и ГБДГ в сыворотке и в гепаринизированной плазме, показатели рассеивания значений внутри выборок численно различались почти в два раза (ЛДГ: $\sigma_{св} = 109$, $\sigma_r = 231$; ЛГБДГ: $\sigma_{св} = 46$, $\sigma_r = 101$). Кроме того, низкие значения коэффициентов корреляции между выборками свидетельствует о том, что EDTA и гепарин непригодны в качестве антикоагулянтов при измерении активности этих ферментов.

Заключение

Было проведено сравнение активностей 10 основных ферментов в гепаринизированной, EDTA-плазме с активностью в сыворотке крови человека при использовании реагентов для диагностики *in vitro* российского производства. Согласно известному положению сыворотка крови является универсальным образцом для биохимических исследований анализов крови. Но априори неясно, как антикоагулянты влияют на определение активности ферментов конкретной реагентной системой.

Действительно, существенное различие активностей в сыворотке и плазме было показано для щелочной фосфатазы и аминотрансфераз при использовании EDTA в качестве антикоагулянта и для ГГТ при использовании гепарина. Это указывает на то, что данные образцы крови нельзя применять для анализа этих ферментов.

В соответствии с рекомендациями различных обществ клинической лабораторной медицины сыворотка считается предпочтительным образцом для исследования активности ЛДГ вследствие того, что плазма с большей вероятностью может быть загрязнена тромбоцитами, содержащими высокие концентрации данного фермента [4]. Практически полученные значения активностей ЛДГ и ГБДГ в образцах обоих типов плазмы были значительно выше и имели большой разброс по сравнению с сывороткой, что свидетельствует о справедливости данного указания.

В остальных случаях активность ферментов в гепаринизированной плазме, EDTA-плазме и сыворотке крови имела высокую корреляцию, и различия в значениях не были клинически значимыми. Интересно, что при использовании метода определения общей и панкреатической α -амилазы с субстратом GalG₂CNP не обнаружено влияние образца на результат как в случаях с другими субстратами. Поэтому определять активность α -амилазы и ее изофермента с данным субстратом можно как в сыворотке, так и в плазме, полученной с помощью гепарина или солей EDTA.

Таким образом, при использовании плазмы в крови при анализе активности ферментов необходимо тщательно подбирать антикоагулянт, а при возникновении спорных ситуаций обратить внимание на тип образца как на один из факторов, способных оказать существенное влияние на результат исследования.

Список литературы

1. Меньшиков В. В. Обеспечение качества лабораторных исследований. Преаналитический этап. Москва: Юнимед-пресс, 2003. ISBN 5-94885-003-X.
2. Яковлева Г. Е., Черемисина К. А. Реагент для определения общей α -амилазы. Патент № 2417374 Россия, 2011.
3. Яковлева Г. Е., Черемисина К. А. Набор реагентов для определения активности панкреатической α -амилазы. Патент № 2417373 Россия, 2011.
4. Bais R., Philcox M. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1994, V. 32, 639–655.
5. Barelli S., Crettaz D., Thadikaran L., Rubin O., Tissot J. D. Plasma/serum proteomics: pre-analytical issues. Expert Rev. Proteomics. 2007, V. 4 (3), 363–70.
6. Er T., Jong Y., Chen B. Selected analyte values in serum versus heparinized plasma using the Synchron LX PRO assay methods/instrument. Labmedicine. 2006, V. 37 (12), 731–732.
7. Ferdinando M., et al. Serum or plasma samples? The "Cinderella" role of blood collection procedures. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2008, V. 28, 611–614.
8. Han Q., Sun X., Zhang N., Tang N., Tan L., Hoffman R. Comparison of serum and heparinized plasma samples for measurement of chemistry analytes. Clin. Chem. 2004, V. 50 (9), 1704–1705.
9. Rauscher E., Neumann U., Schalch E., von Bulow S., Wahlefeld A. Optimized conditions for determining activity concentration of α -amylase in serum, with 1,4- α -D-4-nitrophenylmaltotetraoside as substrate. Clin. Chem. 1985, V. 31/1, 14–19.
10. Sacchetto E., D. Ali, E. Dumontet, et al. Influence of anticoagulant on the plasma level of fifteen biochemical parameters. Ann. Biol. Clin. (Paris), 2014, V. 72 (3), 337–350.



Определение наследственной предрасположенности к развитию физических способностей с помощью набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин»

О. П. Дрибноходова, к.б.н., научный сотрудник научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов

К. О. Миронов, к.м.н., рук. научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов

Е. А. Дунаева, м.н.с. научной группы разработки новых методов выявления генетических полиморфизмов

Г. А. Шипулин, к.м.н., зав. отделом молекулярной диагностики и эпидемиологии

ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

Detection of hereditary predisposition to development of physical abilities with 'AmpliSens® Pyroscreen' reagents kit

O. P. Dribnokhodova, K. O. Mironov, E. A. Dunaeva, G. A. Shipulin

The Central Scientific and Research Institute for Epidemiology, Moscow, Russia

Резюме

В обзоре рассматриваются перспективы применения генетического тестирования в спортивной медицине. Описаны генетические полиморфизмы, ассоциированные с развитием физических способностей человека, объединенные в профили генетического исследования, входящие в набор реагентов «АмплиСенс® Пироскрин». Суммированы литературные данные по влиянию анализируемых полиморфизмов на морфологические и энергетические особенности мышечной ткани и предрасположенность к различным типам физической нагрузки.

Ключевые слова: спортивная генетика, SNP, пиросеквенирование.

Summary

The review discusses the prospects of the use of genetic testing in sports. We describe the genetic polymorphisms associated with the development of the physical abilities of a person, combined into profiles of genetic studies that are included in the 'AmpliSens® Pyroscreen' kit. We summarize data from the biomedical literature on the effect of the analyzed polymorphisms on the morphological and energetic characteristics of muscle tissue and the predisposition to various types of physical activity.

Key words: sport genetics, SNP, pyrosequencing.

Спортивная генетика — бурно развивающееся направление, занимающееся изучением молекулярных механизмов, определяющих развитие физических способностей человека. Анализ индивидуальных особенностей позволяет определять степень предрасположенности к различным видам физической нагрузки, что может быть использовано для рационального подбора перспективных кандидатов тренерами и для выбора спортивного направления желающими заниматься спортом [1, 2, 3].

Накоплены значительные данные о вкладе генетических факторов в индивидуальные различия и степень развития физических способностей человека. Для формирования и реализации спортивного потенциала могут иметь значение полиморфизмы в любых генах, вовлеченных в процессы адаптации организма к физическим нагрузкам. Наиболее распространенными генетическими полиморфизмами в геноме человека являются однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphism, SNP). Последние данные, полученные в ходе молекулярно-генетических исследований, и разработка удобных высокопроизводительных методов анализа генетических полиморфизмов открыли большие возможности для применения диагностических комплексов в медико-генетическом консультировании в спортивной медицине [2, 4, 5].

Сейчас известны около 150 генов, полиморфизмы в которых ассоциированы с физическим развитием человека. К ним относятся гены, отвечающие за формирование и развитие мускулатуры и скелета, сердечно-сосудистой и дыхательной систем, энергетического обмена, гормональный статус. Генетические особенности организма могут влиять на проявление выносливости (кардиореспираторной и (или) мышечной), скоростно-силовые качества (быстроту, взрывную или абсолютную силу), степень развития мускулатуры, тренируемость и ограничение физической деятельности (риск развития гипертрофии миокарда левого желудочка, сердечной недостаточности, аритмий, заболеваний мышц и скелета) [2, 3, 6].

Результаты генетического тестирования могут использоваться для оптимизации тренировочного процесса за счет подбора индивидуального режима и интенсивности нагрузки, разработки наиболее эффективных подходов к восстановлению после тренировок и соревнований, подбора оптимальных программ питания, а также для определения риска развития заболеваний и неблагоприятных последствий для здоровья. Одна из важных задач спортивной медицины — рекомендации начинающим спортсменам по выбору видов спорта.

Таблица 1
Полиморфизмы, анализируемые в профиле «СПОРТ-мио-скрин»

№	Продукт гена	Ген	Полиморфизм	rs
1.	Альфа-актинин-3	ACTN3	R 577X C>T	rs1815739
2.	Миостатин	MSTN	K153R A>G	rs1805086
3.	Ангиотензиноген	AGT	M268T T>C	rs699
4.	Фактор, индуцируемый гипоксией 1 альфа	HIF1A	P582S C>T	rs11549465

Таблица 2
Полиморфизмы, анализируемые в профиле «СПОРТ-энерго-скрин»

№	Продукт гена	Ген	Полиморфизм	rs
1.	Фактор транскрипции PPAR альфа	PPARA	2498 G>C	rs4253778
2.	Фактор транскрипции PPAR дельта	PPARD	-87 C>T	rs2016520
3.	Фактор транскрипции PPAR гамма	PPARG	P12A C>G	rs1801282
4.	Коактиватор 1a PPARG	PPARGC1A	G482S G>A	rs8192678
5.	Коактиватор 1b PPARG	PPARGC1B	A203P G>C	rs7732671
6.	Аденозинмонофосфатдезаминаза 1	AMPD1	Q12X G>A	rs17602729

Еще одно актуальное направление — оптимизация индивидуального тренировочного процесса в непрофессиональном спорте и фитнесе [1, 3].

Так как для каждого вида спорта оптимально свое сочетание физических, биохимических и физиологических параметров, для определения направления спортивной деятельности и специализации в отдельном виде спорта требуется комплексный анализ набора генетических маркеров, определяющих предрасположенность к разным формам физической активности. При этом вероятность достижения высоких результатов в конкретном виде спорта может повышаться при увеличении количества благоприятных аллелей [1, 2, 7].

Разработанный в Центральном научно-исследовательском институте эпидемиологии комплекс «Спортивная генетика» в составе набора «АмплиСенс® Пироскрин» (регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13246 от 19 марта 2012 года) включает 10 полиморфизмов в двух следующих профилях генетического исследования.

«СПОРТ-мио-скрин» — профиль генетического исследования «Структура мышц» предназначен для выявления генетических полиморфизмов в генах, ассоциированных с индивидуальными морфологическими особенностями мышечной ткани и предрасположенностью к типу физической нагрузки (табл. 1).

«СПОРТ-энерго-скрин» — профиль генетического исследования «Энергетический обмен» предназначен для выявления генетических полиморфизмов в генах, ассоциированных с индивидуальными особенностями энергетического обмена мышечной ткани и предрасположенностью к типу физической нагрузки (табл. 2).

Метод пиросеквенирования, его применение для детекции однонуклеотидных полиморфизмов, а также набор «АмплиСенс® Пироскрин» и входящие в него профили генетического тестирования были подробно описаны ранее [4, 8].

Данные об ассоциации полиморфизмов, включенных в описываемые профили, с предрасположенностью к различным видам физической активности были получены преимущественно в исследованиях, направленных на сравнение частот аллелей и генотипов между группами спортсменов, занимающихся видами спорта разных направлений, и с людьми, не занимающимися спортом, а также при сравнении физиологических параметров у лиц с разными генотипами.

Полиморфизм rs1815739 (R 577X C>T) находится в гене альфа-актинина (*ACTN3*). Белок α -актинин-3 является компонентом Z-линий мышечных саркомеров и участвует в формировании быстрых мышечных волокон II типа. Нонсенс-мутация в 577-м положении гена *ACTN3* приводит к отсутствию α -актинина-3, что приводит к уменьшению доли быстрых мышечных волокон и снижению скоростно-силовых характеристик [3, 9].

Частота аллеля X среди жителей России составляет 39,6%, частоты генотипов: RR — 38,5%, RX — 43,8% и XX — 17,7% [10], что ниже частоты этого аллеля для европеоидной популяции: X — 51,3%, RR — 19,5%, RX — 58,4% и XX — 22,1% [11].

При анализе распределения генотипов α -актинина-3 было показано, что частота аллеля R и (или) генотипа RR в группе скоростно-силовых видов спорта выше, чем в контроле. Данная ассоциация была подтверждена для различных видов спорта (пауэрлифтинг, конькобежный спорт, академическая гребля, плавание, бег, хоккей) у спортсменов разных национальностей [2, 6, 12], причем частота аллеля X снижается с повышением спортивной квалификации спортсменов [6, 13]. Например, среди австралийских спортсменов силовой группы все проанализированные олимпийские чемпионы имели по крайней мере один R-аллель [13], такие же данные были показаны для греческих и финских спринтеров [6]. Однозначных доказательств, что аллель X способствует проявлению выносливости, в настоящее время нет [2, 14]

Это может свидетельствовать о том, что наличие α -актинина-3 (аллель R) дает преимущества при быстрой мышечной работе высокой мощности и коррелирует с большей максимальной силой.

Полиморфизм rs1805086 (K153R A>G) находится в гене миостатина (*MSTN*), участвующего в регуляции развития и поддержания гомеостаза мышц. Миостатин является негативным регулятором роста мышц, потеря функционального белка приводит к значительному увеличению мышечной массы за счет гипертрофии и гиперплазии мышечных волокон, а увеличение его экспрессии вызывает атрофию мышц и потерю общей массы тела. Развитие мышечной гипертрофии может развиваться как у гомо-, так и у гетерозигот по аномальному аллелю [15].

Частота аллеля G сильно различается в разных популяциях (от 0 в Азии до 30% в некоторых популяциях Африки) и составляет для европеоидной расы 1,7% [11].

Показана ассоциация полиморфизма K153R с объемом мышечной массы и силой мышц [16]. При исследовании связи полиморфизмов в гене миостатина с эффективностью силовых тренировок было обнаружено, что частота аллеля R выше в группе с низким уровнем ответа на тренировки, направленные на увеличение мышечной силы [17].

Полиморфизм rs699 (M268T, часто обозначается как M235T T>C) находится в гене ангиотензиногена (*AGT*). Ген *AGT* кодирует белок-предшественник ангиотензина, участвующего в регуляции артериального давления. Замена метионина на треонин (аллель C) ассоциирована с повышением уровня ангиотензина в плазме, что может приводить к риску развития гипертензии, а также к риску развития ишемической болезни сердца и гипертрофии левого желудочка у спортсменов. Повышенный уровень ангиотензина действует как фактор роста скелетной мускулатуры, что может давать преимущества для спортсменов, занимающимися силовыми видами спорта [2, 6, 18].

Частота аллеля C среди жителей России составляет 45,9%, частоты генотипов TT — 31%, CT — 46,2%, CC — 22,8% [19], что близко к значениям для европеоидной популяции (частота аллеля C — 41,2%; TT — 37,2%, CT — 43,4% и CC — 19,5%) [11].

Показано, что частота гомозигот по аллелю C у спортсменов, занимающимися силовыми видами спорта, выше, чем в контрольной группе и у спортсменов, занимающихся видами спорта, требующими выносливости [6, 20, 21]. Например, частота гомозигот CC у спортсменов силовой группы олимпийского уровня составила 38,5% против 16% в контроле ($p = 0,005$) [21]. Среди тяжелоатлетов частота генотипа CC составила 25,9%, в то время как в контроле 12,8%, а у спринтеров 4,2% [22]. При этом у гомозигот CC наблюдается больший индекс массы левого желудочка и больший его прирост в ответ на тренировки [2].

Таким образом, наличие аллеля C rs699 может способствовать проявлению силовых качеств и давать преимущества спортсменам, занимающимся силовыми видами спорта.

Полиморфизм rs11549465 (P582S C>T) находится в гене α -субединицы фактора, индуцируемого гипоксией 1 (*HIF1A*), который играет ключевую роль в контроле клеточного и системного ответа на гипоксию, участвуя в регуляции генов энергетического метаболизма, ангиогенеза и апоптоза. Замена пролина на серин в 582-м положении приводит к увеличению стабильности белка *HIF1A* [9].

Частота аллеля T в европеоидных популяциях составляет 7,5%, распределение генотипов: CC — 85,8%, CT — 13,3% и TT — 0,9% [11].

Показано, что среди спортсменов, занимающихся видами спорта с преимущественным проявлением силы и скорости, частота аллеля T выше, чем в среднем в популяции. Такая ассоциация была продемонстрирована для многих видов спорта (легкая и тяжелая атлетика, плавание, рестлинг) у спортсменов разных национальностей, причем частота аллеля T была выше у более квалифицированных спортсменов [2, 23]. Наличие аллеля T коррелировало с преобладанием быстрых мышечных волокон у женщин-конькобежцев, а также с более высокими силовыми показателями и большими размерами мускулатуры у профессиональных бодибилдеров и женщин, занимающихся фитнесом [24]. Есть данные, что частота гомозигот CC среди спортсменов, занимающихся видами спорта, требующими выносливости, выше, чем в контроле [25], однако надежных доказательств ассоциации аллеля C с проявлением выносливости недостаточно [2].

Таким образом, наличие аллеля C может способствовать развитию и проявлению скоростно-силовых качеств.

Полиморфизм rs4253778 (2498 G>C, интрон 7) находится в гене α -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (*PPARA*). Ген кодирует транскрипционный фактор, регулирующий гены, вовлеченные в метаболизм липидов и глюкозы, и участвующий в контроле энергетического гомеостаза и массы тела. Замена нуклеотида G на C в 2498-м положении приводит к снижению уровня экспрессии гена *PPARA*, что приводит к уменьшению эффективности использования жирных кислот и повышению доли гликолитических процессов в метаболизме тканей [9]. У носителей аллеля C повышен риск развития сахарного диабета второго типа и ишемической болезни сердца [3].

Частота аллеля C среди жителей России составляет 19,6%, частоты генотипов GG — 68,5%, CG — 28,4%, CC — 3,1% [10], что близко к частоте этого аллеля в европеоидной популяции: 19,5%, частоты генотипов: GG — 63,7%, CG — 33,6% и CC — 2,7%. [11]

Установлена ассоциация аллеля C с массой левого желудочка и его гипертрофией при тренировках. Увеличение массы левого желудочка после 10 недель тренировок у гомозигот CC было в три, а у гетерозигот — в два раза больше, чем у гомозигот G [2, 26]. Было показано, что степень гипертрофии миокарда значимо больше у высококвалифицированных мужчин-конькобежцев и у женщин-гребцов при генотипе GC по сравнению с генотипом GG. Также анализ мышечной ткани показал, что для гомозигот по аллелю G характерен более высокий процент медленных мышечных волокон, а для носителей аллеля C — большая сила сокращения мышц [9, 24].

При анализе распределения частот аллелей гена *PPARA* среди спортсменов различных национальностей, занимающихся разными видами спорта (бег, академическая гребля, конькобежный спорт, тяжелая атлетика, лыжные гонки, пауэрлифтинг), было обнаружено, что по сравнению с контролем у спортсменов, занимающихся видами спорта, требующими выносливости, выше частота аллеля G, а у спортсменов-спринтеров и силового направления — аллеля C [1, 2, 26]. При этом у спортсменов с более высоким уровнем квалификации различия выражены сильнее [2, 24]. У спортсменов, занимающихся игровыми видами спорта с переменными нагрузками и смешанным типом метаболизма, по сравнению с контролем повышена частота аллеля C (16,4 и 20,5%; $p < 0,001$) [10, 27]. Кроме того, было показано, что аллель G ассоциирован с повышенной работоспособностью у гребцов-академистов и женщин-конькобежцев [24, 26].

Это свидетельствует о том, что аллель G дает преимущество в развитии и проявлении выносливости, в то время как аллель C благоприятен для развития и проявления скоростно-силовых качеств.

Полиморфизм rs2016520 (–87 C>T часто обозначается как **T294C**) находится в гене дельта-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (*PPARD*). *PPARD* регулирует окисление жирных кислот в мышечной и жировой тканях и обмен холестерина, является фактором чувствительности к инсулину, участвует в адаптации скелетных мышц к физическим нагрузкам. Замена T на C приводит к усилению экспрессии *PPARD*, что приводит к увеличению уровня окисления жирных кислот у носителей аллеля C [3, 28].

Частота аллеля C среди жителей России составляет 16,7%, частоты генотипов TT — 69,3%, CT — 28%, CC — 2,7% [19]; в европеоидной популяции — 21,7%, частоты генотипов: TT — 61,9%, CT — 32,7% и CC — 5,3% [11].

Анализ состава мышечных волокон показал, что у носителей аллеля C (генотипы CC и CT) повышена доля медленных мышечных волокон [2]. При исследовании мужчин-конькобежцев также было обнаружено, что доля медленных мышечных волокон у гетерозигот CT выше, чем у гомозигот TT [24]. Имеются данные о том, что аллель C ассоциирован с развитием гипертрофии миокарда левого желудочка и повышенным риском атеросклероза, ишемической болезни сердца и ожирения [24, 28].

При оценке распределения частот аллелей среди спортсменов разных направлений было показано, что в группе видов спорта, требующих выносливости, частота аллеля C значительно превышала частоту в контроле, причем различия увеличивались с ростом квалификации спортсменов. [1, 2, 24].

Это свидетельствует о том, что аллель C полиморфизма благоприятствует развитию и проявлению выносливости.

Полиморфизм rs1801282 (P12A C>G) находится в гене гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (*PPARG*). *PPARG* контролирует накопление липидов в жировых клетках и дифференцировку мышечных волокон и адипоцитов, влияет на чувствительность

к инсулину. Замена пролина на аланин приводит снижению активности *PPARG*. Аллель G (Ala) ассоциирован с повышенной чувствительностью к инсулину, подавлением липолиза и преимущественным использованием глюкозы в метаболизме. Также наличие аллеля G коррелирует с повышенным индексом массы тела и сниженным риском развития сахарного диабета второго типа [29, 30].

Частота аллеля G среди жителей России составляет 13,9%, частоты генотипов: CC — 74,4%, CG — 23,4% и GG — 2,2% [10]; в европеоидных популяциях составляет 9,7%, частоты генотипов: CC — 82,3%, CG — 15,9% и GG — 1,8% [11].

При анализе распределения частот аллелей полиморфизма среди российских спортсменов было обнаружено, что частота аллеля G среди спортсменов, занимающихся скоростно-силовыми видами спорта (тяжелая атлетика, спортивная гимнастика, конькобежный спорт, бег и плавание на короткие дистанции), выше, чем в контроле [1], эти данные подтверждаются результатами, полученными в других популяциях [2]. Также было показано, что аллели полиморфизма ассоциированы с некоторыми антропометрическими показателями у профессиональных бодибилдеров и женщин, занимающихся фитнесом [24].

Таким образом, наличие аллеля G благоприятствует развитию и проявлению скоростно-силовых качеств.

Полиморфизм rs8192678 (G482S G>A) находится в гене коактиватора-1 α γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (*PPARGC1A*). Продукт гена *PPARGC1A* является транскрипционным кофактором многих ядерных рецепторов, в том числе *PPARA*, *PPARD*, *PPARG*. Он участвует в обмене липидов и глюкозы, регуляции секреции инсулина и контроле термогенеза, а также в формировании морфологии мышечной ткани [9, 31].

Аллель A, соответствующий серину в 482-м положении белка, ассоциирован со снижением экспрессии гена, что приводит к ослаблению окислительных процессов и нарушению образования митохондрий. Показано, что наличие аллеля G ассоциировано с увеличением доли медленных мышечных волокон и большей аэробной мощностью как у спортсменов, так и у людей, не занимающихся спортом [2, 3]. Также имеются данные, что аллель A ассоциирован с риском развития ожирения и сахарного диабета второго типа и риском гипертензии у людей в возрасте до 50 лет [32, 33].

Частота аллеля A среди жителей России составляет 32,6%, частоты генотипов: GG — 46,9%, AG — 41% и AA — 12,1% [10], что близко к соответствующим значениям для европеоидной популяции в целом: частота A — 35%, частоты генотипов: GG — 45,1%, AG — 39,8% и AA — 15% [11].

Сравнение распределения частот аллелей у спортсменов различных национальностей с контролем выявило снижение частоты аллеля C у спортсменов, занимающихся видами спорта, требующими выносливости [1, 2, 34]. Кроме того, аллели полиморфизма ассоциированы с антропометрическими и силовыми показателями у бодибилдеров и женщин, занимающихся фитнесом [24].

Это свидетельствует о том, что наличие аллеля G благоприятствует развитию и проявлению выносливости.

Полиморфизм rs7732671 (A203P G>C) находится в гене коактиватора-1 β γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом (*PPARGC1B*). Продукт гена *PPARGC1B* является транскрипционным кофактором многих ядерных рецепторов, в том числе *PPARA* и *NRF-1*. Вместе с *PPARGC1A* он регулирует образование и функционирование митохондрий и энергетический метаболизм мышечных волокон. Показано, что наличие аллеля С ассоциировано с увеличением доли медленных мышечных волокон [2, 9]. Кроме того, наличие аллеля G коррелирует с предрасположенностью к развитию гипертрофии миокарда у спортсменов, занимающихся академической греблей и конькобежным многоборьем [24].

Частота аллеля С среди жителей России составляет 4,9% [24]; частота в европеоидной популяции 14,2%, частоты генотипов: GG — 73,3%, GC — 25% и CC — 1,7% [11].

При анализе распределения частот аллелей полиморфизма среди российских спортсменов было обнаружено, что частота аллеля С выше, чем в контроле, у спортсменов, занимающихся как скоростно-силовыми видами спорта, так и видами спорта, требующими выносливости, причем различия увеличивались с повышением квалификации спортсменов [1, 24].

Это свидетельствует о том, что аллель С может благоприятствовать занятиям видами спорта, требующими как выносливости, так и скоростно-силовых качеств.

Полиморфизм rs17602729 (Q45X C>T, часто обозначается как Q12X C>T и C34T) находится в гене аденозинмонофосфат дезаминазы 1 (*AMPD1*). Ген *AMPD1* кодирует мышечную изоформу монофосфат дезаминазы (миоаденилат-дезаминазу) — фермента, осуществляющего дезаминирование АМФ. *AMPD1* регулирует энергетический баланс в скелетной мускулатуре, участвуя в обеспечении ресинтеза АТФ при мышечном утомлении. Замена С на Т в 34-м положении приводит к образованию стоп-кодона и отсутствию функционального белка. Нарушение активности *AMPD1* приводит к повышенной утомляемости и снижению эффективности выполнения высокоинтенсивных нагрузок, является одной из основных причин метаболической миопатии и миопатии, вызываемой физическими упражнениями [3, 35]. Имеются данные, что аллель Т ассоциирован с меньшей смертностью среди больных с ишемической болезнью сердца, кардиомиопатией и застойной сердечной недостаточностью [36].

Частота аллеля Т в отечественной популяции составляет 15,6%, частоты генотипов: CC — 70,9%, CT — 27% и TT — 2,1% [19]; в европеоидной популяции — 13,3%, частоты генотипов: CC — 76,1%, CT — 21,2% и TT — 2,7% [11].

При анализе частот аллелей полиморфизма было обнаружено, что частота аллеля Т у спортсменов, занимающихся как скоростно-силовыми видами спорта, так и видами спорта, требующими выносливости, ниже, чем в контроле. Эта ассоциация была подтверждена в различных популяциях у спортсменов, занимающихся тяжелой атлетикой, греблей, бегом и плаванием на короткие дистанции, биатлоном и велосипедным спортом [2, 3, 6].

Это свидетельствует о том, что аллель С может благоприятствовать занятиям видами спорта, требующими как выносливости, так и скоростно-силовых качеств.

Кроме определения генетических полиморфизмов, входящих в описанные профили, для комплексной оценки генетической предрасположенности к особенностям функционирования систем организма, вовлеченных в процессы адаптации к физическим нагрузкам, оценки индивидуальных особенностей системы биотрансформации и определения предрасположенности к рискам для здоровья, связанным с занятиями спортом, возможно проведение дополнительного анализа полиморфизмов из следующих профилей из набора «АмплиСенс® Пироскрин»: «Артериальная гипертензия», «Плазменные факторы системы свертывания крови», «Фолатный цикл», «Агрегационные факторы системы свертывания крови», «Сосудистые факторы», «Остеопороз» и комплекса профилей «ФАРМА-скрин», а также инсерционного полиморфизма в гене ACE (система «АмплиСенс® ACE-I/D»), ЦНИИ эпидемиологии, регистрационное удостоверение № ФСР 2011/11260 от 22.07.2011). Такой анализ позволит давать более точную оценку предрасположенности к различным направлениям спортивной деятельности и составлять рекомендации по оптимизации индивидуального тренировочного процесса в профессиональных и непрофессиональных видах спорта, а также определять риск развития возможных осложнений и неблагоприятных последствий для здоровья при повышенной физической нагрузке.

Список литературы

1. Морозова Е. Б., Тараскина А. Е., Кострюкова Е. С. и др. Изучение индивидуальных особенностей генетического статуса высококвалифицированных спортсменов. // Спортивная медицина: наука и практика. — 2014. — № 3. — С. 19–28.
2. Ahmetov I. I., Fedotovskaya O. N. Current progress in sports genomics. // Advances in Clinical Chemistry. — 2015. — Vol. 70. — P. 247–314.
3. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. Под ред. Баранова В. С. // СПб.: Изд-во Н-Л. — 2009. — 528 с.
4. Миронов К. О., Дунаева Е. А., Дрибноходова О. П., Шипулин Г. А. Определение нуклеотидных полиморфизмов с помощью систем генетического анализа, основанных на пиросеквенировании. // Лабораторная медицина. — 2013. — № 12. — С. 75–79.
5. Волкова Ю. В., Садыков Т. Ф., Кудрявцева Л. В. Технология пиросеквенирования как инструмент персонализированной медицины. // Лабораторная служба. — 2013. — Том 2, № 2. — С. 12–15.
6. Eynon N., Hanson E. D., Lucia A. et al. Genes for elite power and sprint performance: ACTN3 leads the way. // Sports Medicine. — 2013. — Vol. 43, № 9. — P. 803–817.
7. Williams A. G., Heffernan S. M., Day S. H. Genetic testing in exercise and sport — have direct-to-consumer genetic tests come of age? // Наука и спорт: современные тенденции. — 2014. — Том 2, № 1. — С. 3–9.
8. Миронов К. О., Дунаева Е. А., Дрибноходова О. П. Детекция генетических полиморфизмов с использованием системы генетического анализа на основе пиросеквенирования PyroMark Q24. // Справочник зведующего КДЛ. — 2011. — № 4. — С. 39–48.
9. Ahmetov I. I., Vinogradova O. L., Williams A. G. Gene polymorphisms and fiber-type composition of human skeletal muscle. // International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism. — 2012. — Vol. 22, № 4. — P. 292–303.
10. Egorova E. S., Borisova A. V., Mustafina L. J. et al. The polygenic profile of Russian football players // Journal of Sports Sciences. — 2014. — Vol. 32, № 13. — P. 1286–1293.
11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>.
12. Alfred T., Ben-Shlomo Y., Cooper R. et al. ACTN3 genotype, athletic status, and life course physical capability: meta-analysis of the published literature and findings from nine studies. // Human Mutation. — 2011. — Vol. 32, № 9. — P. 1008–1018.
13. Yang N., MacArthur D. G., Gulbin J. P. et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. // American Journal of Human Genetics. — 2003. — Vol. 73, № 3. — P. 627–631.

14. Ben-Zaken S., Eliakim A., Nemet D. et al. ACTN3 polymorphism: comparison between elite swimmers and runners. // *Sports Medicine Open*.— 2015.— Vol. 1, № 1: 13.— doi: 10.1186/s40798-015-0023-y.
15. Saunders M. A., Good J. M., Lawrence E. C. et al. Human adaptive evolution at myostatin (GDF8), a regulator of muscle growth. // *American Journal of Human Genetics*.— 2006.— Vol. 79, № 6.— P. 1089–1097.
16. Grealy R., Herruer J., Smith C. L. et al. Evaluation of a 7-gene genetic profile for athletic endurance phenotype in Ironman championship triathletes. // *PLoS One*.— 2015.— Vol. 10, № 12.— doi: 10.1371/journal.pone.0145171.
17. Ruiz J. R., Arteta D., Buxens A. et al. Can we identify a power-oriented polygenic profile? // *Journal of Applied Physiology* (1985).— 2010.— Vol. 108, № 3.— P. 561–566.
18. Кожевникова М. В., Каплунова В. Ю., Привалова Е. В. и др. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система при гипертрофической кардиомиопатии. // *Кардиология*.— 2014.— Т. 54, № 3.— С. 23–28.
19. Глотов О. С., Васькова Е. С., Глотов А. С. и др. Анализ взаимосвязи полиморфизма генов, кодирующих сложные признаки, и ряда антропометрических, физиологических и биохимических показателей у студентов. // *Справочник заведующего КДЛ*.— 2014.— № 10.— С. 48–61.
20. Zarebska A., Sawczyn S., Kaczmarczyk M. et al. Association of rs699 (M235T) polymorphism in the AGT gene with power but not endurance athlete status. // *Journal of Strength and Conditioning Research*.— 2013.— Vol. 27, № 10.— P. 2898–2903.
21. Gomez-Gallego F., Santiago C., González-Freire M. et al. The C allele of the AGT Met235Thr polymorphism is associated with power sports performance. // *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*.— 2009.— Vol. 34, № 6.— P. 1108–1111.
22. Ben-Zaken S., Eliakim A., Nemet D., Meckel Y. Genetic variability among power athletes: The stronger vs. the faster. // *Journal of Strength and Conditioning Research*.— 2016, Jan 29 [Epub ahead of print].— PMID: 26840443.
23. Cieszczyk P., Eider J., Arczewska A. et al. The HIF1A gene Pro582Ser polymorphism in polish power-orientated athletes. // *Biology of Sport*.— 2011.— Vol. 28, № 2.— P. 111–114.
24. Ахметов И. И. Молекулярно-генетические маркеры физических качеств человека. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.— М.: 2010.
25. Döring F., Onur S., Fischer A. et al. A common haplotype and the Pro582Ser polymorphism of the hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF1A) gene in elite endurance athletes. // *Journal of Applied Physiology* (1985).— 2010.— Vol. 108, № 6.— P. 1497–1500.
26. Линде Е. В., Ахметов И. И., Орджоникидзе З. Г. Генетические факторы и формирование гипертрофии миокарда левого желудочка у высококвалифицированных спортсменов. // *Наука и спорт: современные тенденции*.— 2014.— Том 3, № 2.— С. 32–42.
27. Ahmetov I. I., Egorova E. S., Mustafina L. J. The PPARA gene polymorphism in team sports athletes. // *Central European Journal of Sport Sciences and Medicine*.— 2013.— Vol. 1, № 1.— P. 19–24.
28. Giordano Attianese G. M., Desvergne B. Integrative and systemic approaches for evaluating PPARβ/δ (PPARδ) function. // *Nuclear Receptor Signaling*.— 2015.— Published online April 27. doi: 10.1621/nrs.13001.
29. Cresci S. PPAR Genomics and Pharmacogenomics: Implications for Cardiovascular Disease. // *PPAR Research*.— 2008.— Vol. 2008, Article ID 374549.— doi: 10.1155/2008/374549.
30. Gouda H. N., Sagoo G. S., Harding A. H. et al. The association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis. // *American Journal of Epidemiology*.— 2010.— Vol. 171, № 6.— P. 645–655.
31. Baldelli S., Lettieri Barbato D., Tatulli G. et al. The role of nNOS and PGC-1α in skeletal muscle cells. // *Journal of Cell Science*.— 2014.— Vol. 127, Pt 22.— P. 4813–4820.
32. Eynon N., Nasibulina E. S., Banting L. K. et al. The FTO A/T polymorphism and elite athletic performance: a study involving three groups of European athletes // *PLoS ONE*.— 2013.— Vol. 8, № 4.— doi: 10.1371/journal.pone.0060570.
33. Vimalaswaran K. S., Luan J., Andersen G. et al. The Gly482Ser genotype at the PPARGC1A gene and elevated blood pressure: a meta-analysis involving 13,949 individuals. *Journal of Applied Physiology* (1985).— 2008.— Vol. 105, № 4.— P. 1352–1358.
34. Eynon N., Meckel Y., Sagiv M. et al. J. Do PPARGC1A and PPARalpha polymorphisms influence sprint or endurance phenotypes? // *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*.— 2010.— Vol. 20, № 1.— P. 145–150.
35. Sabina R. L., Swain J. L., Olanow C. W. et al. Myoadenylate deaminase deficiency. Functional and metabolic abnormalities associated with disruption of the purine nucleotide cycle. // *The Journal of Clinical Investigation*.— 1984. Vol. 73, № 3.— P. 720–730.
36. Smolenski R. T., Rybakowska I., Turyn J. et al. AMP deaminase 1 gene polymorphism and heart disease—a genetic association that highlights new treatment. // *Cardiovascular Drugs and Therapy*.— 2014.— Vol. 28, № 2.— P. 183–189.



Главное медицинское управление Управления делами Президента Российской Федерации
ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УДП РФ
ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» УДП РФ

25 ноября 2016, Москва

Научно-практическая конференция

Лабораторная медицина 2016: будущее и новации

Председатель конференции

М. Г. Вершинина - заведующая лабораторным корпусом ФГБУ «ЦКБП» УДП РФ, заведующая курсом клинической лабораторной диагностики кафедры семейной медицины ФГБУ ДПО «ЦГМА» УДП РФ.

В программе конференции:

- Новые подходы в лабораторной оценке системных воспалительных реакций
- Современные и инновационные методы лабораторной диагностики нарушения иммунитета
- Современные подходы к организации лабораторной диагностики сепсиса в многопрофильном стационаре
- Выявление основных возбудителей гнойно-септических инфекций и генов
- Инновационный метод персонализированной диагностики регенераторного потенциала кожи
- Система поддержки принятия решений и лабораторные информационные системы
- Системы автоматизации преаналитического этапа, как инструмент снижения лабораторных ошибок

Место проведения:

г. Москва, ФГБУ «Центральная Клиническая Больница с Поликлиникой» УДП РФ,
г. Москва, ул. Маршала Тимошенко д.15, Проходная №2, Главный корпус (№1).

Регистрация и начало работы выставки в 09.00. Начало научной программы конференции в 10.00.

Регистрация и подробная информация: на сайте www.eecmedical.ru,
по эл. почте: info@eecmedical.ru, или по телефонам:
+7 (495) 592-06-59, +7 (916) 567-35-29

EEC Medical
Educational Event Coordinator

БИОХИМИЧЕСКИЕ АНАЛИЗАТОРЫ

AMS Sat 450

Анализатор итальянской компании AMS с непрерывной загрузкой исследуемых образцов для проведения биохимических, иммунотурбидиметрических и прочих клинических анализов. Типы измерений: конечная точка, фиксированное время, кинетика, дифференциальная фотометрия, турбидиметрия, моно- и бихроматические измерения; до 999 открытых каналов с возможностью использования до 3 реагентов на метод.

- Производительность: До 440 тестов/час (с ионоселективным модулем – в смешанном режиме).
Фотометрия – 280 тестов/час
Измерения K/Na/Cl – 207 тестов/час
- Реагентный модуль: 72 охлаждаемых реагента на борту, емкость контейнеров – 50, 20 и 5 мл
- Диапазон измерений 340 – 700 нм; минимальный реакционный объем 200 мкл
- Реакционный модуль: 80 автоматически моющихся пластиковых кювет с непрерывным мониторингом качества
- Модуль проб: 68 первичных или вторичных пробирок в непрерывной смешанной загрузке, включая срочные пробы
- Ионоселективный модуль: прямое определение ионов K⁺, Na⁺, Cl⁻
- Размеры (ВхШхД): 50х68х105 см



AMS ELLIPSE

Биохимический анализатор Ellipse компании AMS – это биохимический и иммунотурбидиметрический автоматический анализатор произвольного доступа, в базу которого заложено более сотни биохимических методик. Благодаря качеству, надежности, функциональности и точности анализаторы AMS нашли широчайшее применение в государственных гражданских, военных и коммерческих клиниках и лабораториях.

- Производительность – 130 тест/ час
- Реакционный модуль: 120 автоматически моющихся реакционных кювет
- Модуль проб: 32 пробы с возможностью непрерывной загрузки; 99 виртуальных штатива в рабочем списке
- Диапазон измерений 340 – 620 нм; минимальный реакционный объем 200 мкл
- Компактные размеры и малый расход воды
- Размеры (ВхШхД): 53х57х75 см



MegСервис



**Analyzer
Medical
System™**

115114 Россия, Москва,
ул. Дербеневская, д.20, стр.32,
Т/П "Кожевники"

Телефон: +7 (495) 633-23-53
+7 (495) 633-24-34

Факс: +7 (495) 633-23-52

e-mail: office@medservice.biz

МедСервис

Анализатор газов крови,
электролитов, метаболитов



Доступный.
Надежный.
Мобильный.

СИСТЕМА АНАЛИЗА Epos System

Изменяемый параметр	Ед. измер.	Диапазон измерения
pH	pH units	6.5-8.0
PCO2	mmHg	5-250
PO2	mmHg	5-750
Na	mmol/L	85-180
K	mmol/L	1.5-12
iCa	mmol/L	0.25-4
Glu	mg/dL	20 - 700
Lact	mmol/L	0.30-20.00
Hct	%PCV	10-75
Cl-	mmol/l	65-140
Crea	mg/dl	0.30-15.00

Расчетный параметр	Ед. измер.	Диапазон измерения
TCO	mmol/L	1-85
HCO3	mmol/L	1-85
BE efc	mmol/L	-30...+30
BE b	mmol/L	-30...+30
sO2	mmol/L	0-100
Hb	%	3.3-25
AGap	mmol/l	-14 - +95
AGapK	mmol/l	-10 - +99
eGFR	ml/min /1,73м ²	2 - 60 или >60
eGFR-a	ml/min /1,73м ²	2 - 60 или >60

- Точные результаты у постели больного через 35 секунд
- Использование технологии SMART CARD (измерительные карты с встроенным чипом биосенсоров)
- Хранение измерительных карт при комнатной температуре
- Длительные сроки годности измерительных карт
- Эффективное использование расходных материалов – расход только в момент измерения
- Минимизация возможности ошибки на стадии преданалитического этапа
- Всегда откалиброван и готов к работе
- Идентификация измерительных карт для гарантии качества и удобства хранения информации
- Автоматическая калибровка и контроль качества системы
- Беспроводная связь Wi-Fi и Bluetooth – широкие коммуникативные возможности
- Значительное время работы от аккумуляторов без подзаряда системы
- Возможность распечатки результатов на портативный и стационарный принтер



МедСервис

Россия, Москва
ул. Дербеневская, д.20, стр.32
Т / П "Кожевники"

Телефон: +7 (495) 633-23-53
+7 (495) 633-23-52
+7 (495) 633-24-34
+7 (495) 633-23-26
Факс: +7 (495) 633-26-16
E-mail: office@medservice.biz
www.medservice.info

Alere, Inc.
Warehouse, Distribution
1-57 Iber Road, Ottawa, Ontario K2S 1E7
Phone: (613) 271-1144

Epocal Inc.
Manufacturing, R&D
2060 Walkley Road, Ottawa, ON K1G 3P5
Phone: (613) 738-6192
www.epocal.com





XXII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием

21–23 марта, 2017
Москва, МВЦ «Крокус Экспо»

Теория и практика клинической лабораторной диагностики

В рамках конференции пройдет Международная специализированная выставка
Лабораторная диагностика – 2017

Организаторы:

- Министерство здравоохранения Российской Федерации
- Научно-практическое общество специалистов лабораторной медицины
- ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
- Конгресс-оператор ООО «МЕДИ Экспо»

Реклама

Уважаемые коллеги!

Фундаментальные исследования последних лет в медицине, биологии и других научных направлениях активно внедряются в здравоохранение и, в первую очередь, в клиническую лабораторную диагностику. Мы являемся свидетелями перехода от унифицированных методов, определявших аналиты в граммовых количествах, к нанотехнологиям, отказа при скрининге от микроскопии и перехода к использованию гематологических, мочевых анализаторов, активного внедрения молекулярно-биологических, генетических, иммунохимических исследований, которые позволяют перейти на диагностику заболеваний на молекулярном уровне. Специалисты лабораторной медицины оказались способными воспринять и активно использовать на практике новейшие достижения фундаментальных наук. Это в значительной мере определяется становлением системы непрерывного медицинского образования, в структуре которого функционирует организуемая Российской Медицинской Академией Последипломного Образования конференция «Теория и практика клинической лабораторной диагностики».

Председатель Оргкомитета,
доктор медицинских наук, профессор
Долгов Владимир Владимирович

Основные направления научной программы:

клиническая биохимия, гематология, иммунология, цитология, общеклинические исследования, молекулярная диагностика, генетика, микробиология, коагулология.

В рамках конференции будет организовано обсуждение:

- проблем подготовки и аккредитации специалистов лабораторной медицины, логистики лабораторных потоков для оптимизации финансовых и трудовых затрат;
- внедрения новых технологий в лабораторную практику;
- федеральных и отраслевых программ поддержки отечественных производителей лабораторного оборудования.

Контакты:

По вопросам научной программы, докладов
Председатель Оргкомитета,
доктор медицинских наук, профессор
Долгов
Владимир Владимирович
E-mail: vvdolgov@inbox.ru

По вопросам публикации тезисов
Ответственный секретарь, доцент
Ракова
Наталья Геннадиевна
E-mail: kafedra-kdl@list.ru
Тел.: +7 (495) 945-82-22

Регистрация делегатов
Мария Сизова
E-mail: reg@mediexpo.ru
Тел.: +7 (495) 721-88-66 (доб. 111)
Моб.: +7 (929) 646-51-66

Участие в выставке
«Лабораторная диагностика – 2017»
Виктория Дымовских
Email: vika@mediexpo.ru
Тел.: +7 (495) 721-88-66 (доб. 125)
Моб.: +7 (929) 642-66-45

Разработка стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к цитомегаловирусу

А. С. Авдонина, аспирантка¹, начальник научно-производственного отделения «ВИЧ-Блот», зам. начальника отдела перспективных разработок²
Н. В. Юминова, д.б.н., зам. директора по научной работе¹
С. Г. Марданлы, д.м.н., президент и директор по науке²
С. В. Ротанов, д.м.н., проф. кафедры клинической лабораторной диагностики³ и кафедры дерматовенерологии лечебного факультета⁴

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова» РАН, г. Москва

²ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область

³ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» Минздрава России, г. Москва

⁴ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Development of standard panel of serums containing and not containing antibodies to cytomegalovirus

A. S. Avdonina, N. V. Yuminova, S. G. Mardany, S. V. Rotanov

Scientific and Research Institute for Vaccines and Sera n.a. I. I. Mechnikov, Moscow; ECOLab Co., Elektrogorsk, Moscow Region; the Russian Medical Academy for Postgraduate Education, Moscow; the Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow; Russia

Резюме

Приведены результаты разработки набора образцов «ЦМВ-Стандарт-АТ(+/-)» — стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к ЦМВ, предназначенной для проведения контроля качества ИФТС, предназначенных для выявления антител к ЦМВ. Панель включает четыре образца, положительных по IgG к ЦМВ, четыре образца, положительных по IgM к ЦМВ, и четыре образца, не содержащих антитела к ЦМВ. В соответствии с международными рекомендациями по производству биологических стандартов и референсных образцов сыворотки стандартной панели представлены в нативной жидкой форме в готовом к применению виде. Инфекционная безопасность контрольных материалов обеспечивается благодаря предварительному исследованию исходного биологического материала на наличие маркеров ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, сифилиса, а также термической инактивации (при 56 °С в течение двух часов). Сохранение специфической активности образцов разработанной панели в течение гарантированного срока годности (шесть месяцев) обеспечивается путем добавления к ним стабилизирующего реагента (ProClin-300) в конечной концентрации 0,1 % и проведения стерилизующей фильтрации. Использование стандартной панели сывороток в клинико-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения направлено на повышение качества исследований при диагностике цитомегаловирусной инфекции.

Ключевые слова: цитомегаловирус, стандартная панель сывороток, иммуноферментный анализ, иммунный блоттинг.

Summary

Our work was directed to development of a standard panel of serums containing and not containing antibodies to CMV, designed for quality control produced EIA test-systems for detecting antibodies to CMV. The standard panel includes four samples containing CMV IgG, four samples containing CMV IgM and four samples not containing antibodies to CMV. According to the international recommendations for production of biological standards and reference samples standard panel of serum samples are prepared in a native liquid form ready for administration. The infection security of the control materials is ensured due to the preliminary examination of raw materials for the presence of markers of HIV, hepatitis B and C, syphilis, and thermal inactivation (within two hours at the temperature of 56 °C). The specific activity of these control materials during the warranty period (six months) is ensured by means of adding ProClin-300, a stabilizing agent (preservative), in the final concentration of 0.1% and sterilizing filtration. Regular application of these control materials in clinical and diagnostics laboratories of health care institutions is aimed at standardization and improvement of the quality of tests intended for diagnostics of cytomegalovirus infection.

Key words: cytomegalovirus, a standard panel of serums, immunoassay, immune blotting.

Разработка и производство референсных материалов (стандартов) для контроля качества иммуноферментных тест-систем (ИФТС) и лабораторных исследований является важным разделом деятельности предприятий, выпускающих соответствующие диагностикумы.

Система референсных измерений необходима для получения достоверных результатов лабораторного исследования вне зависимости от типа используемого оборудования, наборов

реагентов и условий организации исследований в лаборатории, которые сравнимы и прослеживаемы до эталонов и (или) методик наивысшего метрологического уровня. Стандартными образцами (СО) при этом служат вещества (контрольные материалы), используемые для получения такой прослеживаемости, приготовленные на основе биологического материала, наиболее близкого к клиническим образцам, которые исследуются в диагностических тестах [2].

В зависимости от назначения референсные материалы биологического происхождения могут выпускаться в виде стандартов, представленных определенным количеством аликвот или в виде серий панелей сывороток, регулярно выпускаемых промышленным способом [2, 14].

Комитет по стандартизации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) разработал комплекс требований и рекомендаций по подготовке, аттестации и стабилизации

Таблица 1
Коммерческие панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к ЦМВ

№ п/п	Наименование и описание	Производитель	Регистрационное удостоверение
1	Контрольная панель сывороток, содержащая и не содержащая анти-ЦМВ-G (10 фл. с положительными и 4 фл. с отрицательными образцами)	НПО «Диагностические системы» (Россия, г. Нижний Новгород)	№ ФСР 2010/07838
2	Стандарт AT-G (+/-) ЦМВ (16 фл. с положительными и 16 фл. с отрицательными образцами)	ЗАО «Медико-биологический союз» (Россия, г. Новосибирск)	–
3	ЦМВ-IgM-контрольная панель сывороток (8 образцов)	ООО «Вектор-Бест» (Россия, г. Новосибирск)	Только для научных исследований
4	Anti-CMV Mixed Titer Performance Panel PTC202 (M)	Boston Biomedica Company (США)	–

эталонных биологических стандартов [14]. В Российской Федерации подобные требования были созданы в отношении разработки, аттестации, утверждения и регистрации стандартных образцов медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП), которые используются в качестве СО на этапах промышленного производства диагностических наборов реагентов [10]. Одной из форм иммунобиологических стандартов являются контрольные сыворотки, приготовленные на основе сыворотки крови человека, содержащие или не содержащие антитела к антигенам возбудителей инфекционных заболеваний человека и обладающие количественно охарактеризованной активностью, выявляемой определенным лабораторным методом [2].

Однако в настоящее время СО отнесены к группе медицинских изделий (МИ) и при их регистрации оценивается их соответствие требованиям по ГОСТ Р ИСО 15194–2013 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Требования к стандартным аттестованным образцам и содержанию сопроводительной документации».

Стандартные образцы применяются при количественной оценке активности иммунобиологических препаратов или содержания в них тех или иных компонентов, оценке клинической информативности различных лабораторных методов исследования, а также и наборов реагентов для этих методов с учетом стандартных метрологических характеристик. Основными аттестуемыми характеристиками СО являются специфическая активность, содержание антител, однородность, стабильность и срок годности [10].

В силу высокого медицинского и социального значения для здоровья населения результатов лабораторных диагностических исследований особые требования предъявляются к качеству иммуноферментных тест-систем, применяемых при лабораторных исследованиях для обследования пациентов на инфекционные заболевания, в том числе на цитомегаловирусную инфекцию (ЦМВИ).

В настоящее время выпускаются несколько коммерческих панелей сывороток, применяемых в качестве стандартных контрольных материалов при контроле качества лабораторных исследований и диагностических тест-систем, предназначенных для диагностики ЦМВИ (табл. 1).

Все перечисленные панели сывороток содержат образцы, аттестованные методом иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие или отсутствие антител к ЦМВ (в аналитических паспортах приводится оптическая плотность сыворотки при исследовании в соответствующей ИФТС). Однако ни одна из перечисленных панелей сывороток не имеет подробных характеристик положительных образцов, полученных в иммуноблоте (ИБ), то есть не содержит информацию о том, антитела к каким антигенам ЦМВ присутствуют в каждом положительном образце. В связи с этим существующие панели не могут быть использованы при контроле качества исследований методом иммунного блоттинга.

Целью исследования явилась разработка стандартной панели сывороток, охарактеризованных по наличию и отсутствию антител классов G и M к отдельным антигенам ЦМВ, то есть пригодных для использования в качестве референсных материалов не только в ИФА, но и в ИБ.

Решение этой задачи предполагало: определение качественного и количественного состава панели; подбор оптимального способа стабилизации образцов биологического материала (сыворотки или плазмы крови человека), обеспечивающего сохранение их специфической активности (содержание специфических антител) в течение срока годности; установление гарантированного срока годности и разработку технологии промышленного производства.

Материалы и методы

В качестве исходного сырья для приготовления образцов стандартной панели были использованы образцы донорской плазмы крови человека (Владимирская станция переливания крови) и образцы сыворотки крови (лаборатория «ИНВИТРО», г. Москва), содержавшие и не содержавшие антитела к ЦМВ. Дополнительным критерием отбора сырьевых образцов явилось отсутствие в них антител к возбудителю сифилиса, вирусам иммунодефицита человека первого и второго типов (ВИЧ-1-2), гепатитов В и С, а также антигенов p24 ВИЧ-1 и HBsAg по результатам скринингового исследования в ИФА.

Для исследования методами ИФА и ИБ были использованы тест-системы «ИФА-ЦМВ-IgG» и «ИФА-ЦМВ-IgM» (ЗАО «ЭКОлаб», Россия), «ВектоЦМВ-IgG» и «ВектоЦМВ-IgM» (ООО «Вектор-Бест», Россия), Anti-CMV (IgG) Western blot и Anti-CMV (IgM) Western blot (фирма Euroimmun AG, Германия), а также разработанные нами ранее тест-системы «ИФА-Блот-ЦМВ-IgG» [7] и «ИФА-Блот-ЦМВ-IgM».

Для включения в состав панели в качестве сывороток, содержащих антитела класса G или M, отбирали

образцы, показавшие положительные результаты в ИБ (образцы, в которых были выявлены антитела соответствующего класса как минимум к одному из высокоспецифичных антигенов ЦМВ: pp150, pp130, pp28). Как правило, эти образцы имели высокий индекс позитивности в ИФА (> 2). Для включения в состав панели в качестве сывороток, не содержащих антитела к ЦМВ, отбирали образцы, показавшие отрицательный результат в ИФА и ИБ (образцы с оптической плотностью ниже порогового значения в ИФА, и в которых не были выявлены антитела ни к одному из антигенов ЦМВ в ИБ).

Инактивацию исходного биологического материала проводили путем прогревания на водяной бане при 56°C в течение двух часов. Стерилизующую фильтрацию проводили сначала через фильтр с диаметром пор 0,45 и 0,22 мкм фирмы Millipore (США). Для стабилизации образцов сыворотки крови использовали реагент ProCline-300 фирмы Sigma (США). Розлив образцов в стерильные микропробирки с завинчивающимися крышками осуществляли в стерильных условиях в ламинарном шкафу.

Результаты и обсуждение

При разработке стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к ЦМВ, были учтены рекомендации ВОЗ по разработке, аттестации и стабилизации стандартов и референсных материалов биологического происхождения [11, 14], требования нормативных документов Министерства здравоохранения Российской Федерации, регламентирующие производство медицинских иммунобиологических препаратов [9], а также научные публикации специалистов по данной тематике [1, 3–5].

В соответствии с современными международными рекомендациями при разработке контрольных материалов предпочтение отдают формату выпуска в виде неразведенных сывороток крови в жидкой (нативной) форме. Это обусловлено тем, что именно такие контрольные материалы более всего соответствуют образцам, которые получают от пациентов для проведения диагностических исследований

в клинических лабораториях [6, 13], а жидкая нативная форма исключает появление погрешностей измерения, обусловленных подготовительными процедурами при восстановлении лиофилизированных образцов [9]. Оптимальными являются панели сывороток крови человека, включающие несколько разных образцов, содержащих и не содержащих антитела к изучаемому патогену [14].

Важным моментом в разработке стандартной панели сывороток является обеспечение стабильности образцов — способности сохранять исходный уровень активности антител при хранении в течение длительного времени.

Одним из известных эффективных методов сохранения биологических препаратов в нативной жидкой форме является включение в их состав реагентов химической природы, обладающих консервирующими и (или) антимикробными свойствами. В качестве стабилизаторов обычно используют высокомолекулярные природные или синтетические соединения и поверхностно-активные вещества, которые за счет электростатической гидрофобной природы посредством нековалентных связей взаимодействуют с поверхностью молекул иммуноглобулинов, образуя стабильные комплексы [9]. Одним из эффективных реагентов для стабилизации образцов сыворотки крови является ProClin-300 в конечной концентрации 0,1 %. Этот реагент мягкого действия был разработан на основе нейтрального глицерина, представляет собою смесь двух активных изотиазолонов (2-метил-4-изотиазолин-3-он и 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он), проявляет бактерицидный эффект благодаря инактивации специфических энзимов окислительно-восстановительного цикла Кребса в микробных клетках, не оказывает влияния на результаты лабораторных тестов [9, 12].

Как наиболее удобный формат нами был выбран состав панели, включающий 12 различных аттестованных образцов сыворотки крови человека: четыре образца, содержащих IgG к ЦМВ; четыре образца, содержащих IgM к ЦМВ, и четыре образца, не содержащих антитела к ЦМВ; объем каждого образца 200 мкл. Все образцы

в составе панели получены от разных людей и характеризуются разным уровнем или спектром специфических антител к антигенам патогена.

По выполненным расчетам указанные количество и объем сывороток вполне достаточны для проведения лабораторных исследований с целью контроля качества компонентов разных производственных серий или сопоставления эффективности иммуноферментных тест-систем разных производителей, предназначенных для выявления антител к ЦМВ, а также для проведения клинических исследований по оценке чувствительности и специфичности тест-систем при медицинских испытаниях.

Для установления срока годности разработанной стандартной панели сывороток была изучена специфическая активность образцов в процессе хранения при $2-8^{\circ}\text{C}$ по величине индекса позитивности (ИП) в ИФА и по профилю специфических антител в ИБ. Исследование проводили сразу после изготовления, затем через 7, 14, 30 дней хранения после и затем каждые 30 дней в течение восьми месяцев.

Описанным способом исследовали 10 образцов сыворотки, содержавших IgG к ЦМВ, восемь образцов, содержавших IgM к ЦМВ, и 10 образцов, не содержащих антитела к ЦМВ. Результаты этого исследования представлены на рис. 1 и в табл. 2 и 3. Данные, полученные при первоначальной аттестации экспериментальных образцов стандартной панели сывороток «ЦМВ-Стандарт-АТ(+/-)» (величина индекса позитивности), были приняты за 100 %. Результаты последующих исследований образцов в различные сроки их хранения сравнивали с исходными данными.

Анализ достоверности различий в значениях ИП, определенных на различных сроках хранения образцов, содержащих IgG к ЦМВ, показал отсутствие значимых различий в этих значениях, определенных на каждом отдельном сроке хранения обеими тест-системами, и незначительное (на 16 %), хотя и статистически достоверное ($p > 0,999$) снижение ИП к концу хранения (рис. 1 а). Профиль антител за этот же срок не изменился ни в одном из образцов (табл. 2).

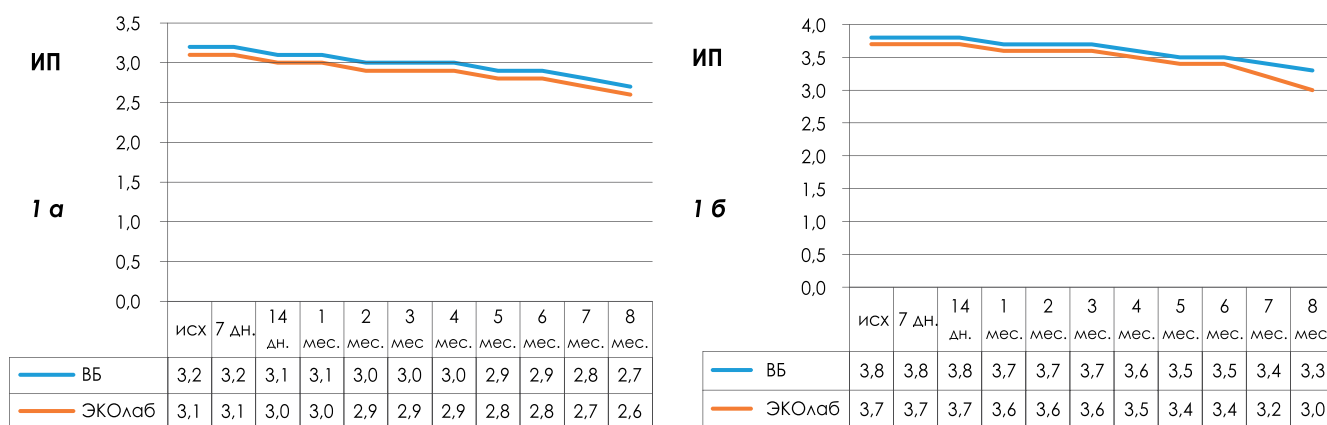


Рисунок 1. Изменение специфической активности образцов панели стандартных сывороток «ЦМВ-Стандарт-АТ(+/-)», содержащих IgG (1 а) и IgM (1 б) к ЦМВ, в процессе их хранения (по средним значениям ИП в ИФА с наборами реагентов ЗАО «ЭКОлаб» и ООО «Вектор-Бест» (ВБ).

Анализ достоверности различий в значениях ИП, определенных на различных сроках хранения образцов, содержащих IgM к ЦМВ, также показал отсутствие значимых различий, определенных на каждом отдельном сроке хранения обеими тест-системами, и несколько большее — на 19 % статистически достоверное ($p > 0,999$) снижение ИП к концу хранения (рис. 1 б), что объясняется лабильностью крупной структуры молекулы IgM. Более того,

в отличие от IgG, в процессе хранения при 2–8 °С происходило изменение профиля антител класса М: через семь месяцев хранения в одном из восьми образцов была отмечена деградация IgM к высокоспецифичному антигену pp28, а через восемь месяцев эти антитела не определялись уже в двух сыворотках (табл. 3).

Во всех образцах, исходно не содержащих антитела к ЦМВ, в течение всего их хранения не было отмечено ложно-положительных

результатов ни в ИФА, ни в ИБ. Полученные результаты укладываются в биологически обоснованные нормы аналитической точности клинических лабораторных исследований, основанных на выявлении специфических белков в биологических пробах [8]. Таким образом, по результатам исследований стабильности специфической активности референсных образцов был определен гарантированный срок годности стандартной панели: шесть месяцев.

Таблица 2
Оценка специфической активности образцов, содержащих IgG к ЦМВ, в процессе хранения при 2–8 °С, по данным ИБ (по профилю антител)

№ образца	ИФТС	Исходный антителный профиль	Антителный профиль через... хранения при 2–8 °С		
			7 суток	14 суток	1–8 месяцев
1	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp130, gp75, pp65, gp55, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, gp55, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
2	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp130, gp75, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
3	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp150, pp130, gp75, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
4	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp150, pp130, gp75, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
5	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp130, gp75, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
6	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp65, gp55, pp52, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp65, gp55, pp52, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений
7	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp150, pp130, gp75, pp65, gp55, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений
8	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp130, gp75, pp65, gp55, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, gp55, pp52, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений
9	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp65, gp55, pp52, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp65, gp55, pp52, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений
10	ИФА-Блот-ЦМВ-IgG	pp150, pp130, gp75, pp65, gp55, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgG) Western blot	pp130, pp65, gp55, pp52, p38	Без изменений	Без изменений	Без изменений

Примечание: тест-система Anti-CMV (IgG) Western blot фирмы Euroimmun (Германия) не предусматривает учет наличия антител к антигенам ЦМВ pp150 и gp75.

Таблица 3
Оценка специфической активности образцов, содержащих IgM к ЦМВ, в процессе хранения при 2–8 °С, по данным ИБ (по профилю антител)

№ образца	ИФТС	Исходный антительный профиль	Антительный профиль через....хранения при 2–8 °С				
			7 суток	14 суток	1–6 месяцев	7 месяцев	8 месяцев
1	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp150, gp 75, pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
2	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Рр65, gp55, p38
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Рр65, gp55, p38
3	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Рр65, gp55, p38	Рр65, gp55, p38
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Рр65, gp55, p38	Рр65, gp55, p38
4	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp150, gp 75, pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
5	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp150, gp 75, pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
6	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp150, gp 75, pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
7	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
8	ИФА-Блот-ЦМВ-IgM	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений
	Anti-CMV (IgM) Western blot	pp65, gp55, p38, pp28	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений	Без изменений

Примечание: тест-система Anti-CMV (IgG) Western blot фирмы Euroimmun (Германия) не предусматривает учет наличия антител к антигенам ЦМВ pp150 и gp75.

Итогом разработки явился набор образцов «ЦМВ-Стандарт-АТ(+/-)» следующего состава:

- образцы, содержащие IgG к ЦМВ— 4 шт. по 200 мкл;
- образцы, содержащие IgM к ЦМВ— 4 шт. по 200 мкл;
- образцы, не содержащие антитела к ЦМВ— 4 шт. по 200 мкл.

По результатам проведенной работы был создан и утвержден руководством ЗАО «ЭКОлаб» комплект технологической документации, необходимый для организации промышленного производства набора (технические условия, инструкция по применению и промышленный регламент ПР № 235–2015).

В настоящее время разработанное медицинское изделие проходит процедуру государственной регистрации в Росздравнадзоре для получения разрешения на производство и применение в Российской Федерации.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности применения разработанной стандартной панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела к цитомегаловирусу, для оценки качества им-

муноферментных тест-систем, предназначенных для выявления антител к ЦМВ, что обеспечивает повышение качества лабораторных исследований при диагностике цитомегаловирусной инфекции.

Список литературы

1. Воробьева М. С., Шаламберидзе Т. Д., Федорова Г. В. и др. Стандартная панель позитивных и негативных к вирусу иммунодефицита человека сывороток крови для оценки чувствительности и специфичности диагностических иммуноферментных тест-систем. / Вопросы вирусологии, 1990. — № 2: с. 125–128.
2. ГОСТ ИСО 15194–2013. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в пробах биологического происхождения. Требования к стандартным аттестованным образцам и содержанию сопроводительной документации. — М.: Стандартинформ, 2014.
3. Залеских Н. В., Кокорева М. Н., Сивилева Т. В. Система внешнего и внутреннего контроля качества в иммуноферментном анализе. Информационные материалы. Н. Новгород: НПО «Диагностические системы», 2007.
4. Ивченко С. Н., Сулопаров И. М., Масычева В. И. и др. Конструирование жидкой панели сывороток, содержащих и не содержащих антитела класса IgG к цитомегаловирусу человека. / Вестник РАМН, 2004. — № 8: с. 37–40.
5. Канев А. Н., Воробьева М. С., Шалунова Н. В. и др. Разработка стандартных панелей сывороток для контроля качества иммуноферментных тест-систем в России. / Вестник РАМН, 1998. — № 3: с. 47–51.
6. Кубанов А. А. (ред.). Система внешнего и внутреннего контроля качества лабораторной диагностики заболеваний, передаваемых половым путем, в Российской Федерации (Основные положения). М: ГУ «ЦНИКВИ Росздрава», 2006: с. 21–22 (www.cnikvi.ru/files/398_all.pdf).
7. Марданлы С. Г., Авдонина А. С. Разработка набора реагентов для выявления антител класса G к отдельным антигенам цитомегаловируса методом иммунного блоттинга в формате Western Blot // Клиническая дерматология и венерология. — 2013. — № 1. — С. 18–24.
8. Приказ Минздрава РФ № 45 от 07 февраля 2000 года «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
9. Ротанов С. В., Фриго Н. В., Манукьян Т. Е. Контрольные материалы, применяемые при серодиагностике сифилиса: виды, способы обеспечения стабильности. / Вестник дерматологии и венерологии. 2012. № 2. — С. 6–12.
10. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.3.2.1288–03 «Надлежащая практика производства медицинских иммунобиологических препаратов». Утв. гл. санитарным врачом Российской Федерации 17.04.2003.
11. Jeffcoate S. L. WHO guidelines for the preparation of international standards and other reference materials for biological substances. Dev. Biol. Stand., 1992. — V. 74: p. 195–201.
12. ProClin® Preservatives: Mechanisms and Stability. / Sigma-Aldrich Co. Bulletin 902, 1998 (<https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4534.pdf>).
13. Ricos C., Juvany R., Simon M. et al. Commutability and traceability: their repercussions on analytical bias and inaccuracy. Clin. Chim. Acta, 1999; 280 (1–2): 135–145.
14. WHO. Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards. WHO Technical Report Series 2004: 89.



ISO 13485:2003

ISO 9001:2015



Вместе с вами 25 лет

Наборы реагентов для биохимических исследований:

липидного обмена
углеводного обмена

обмена белков
минерального обмена

обмена хромопротеидов
активности ферментов

Наборы реагентов для иммунологических исследований:

ВИЧ-инфекций
вирусных гепатитов
сифилиса
TORCH-инфекций
онкозаболеваний
гормонального статуса

микоплазмозов
уреаплазмоза
хламидиоза
хеликобактериоза
паротита, кори
кишечных инфекций

сыворотки и
иммуноглобулины
диагностические
эшерихиозные для РА

Латексные тесты для диагностики:

ротавирусной инфекции
аденовирусной инфекции
инфекционного мононуклеоза

токсоплазмоза
стафилококков
стрептококков

ревматоидного фактора
С-реактивного белка
антистрептолизина-О

Наборы для клинических анализов:

мокроты
крови

кала
мочи

метод Като
белок ПГК

спинномозговой жидкости

Питательные среды

Реактивы, реагенты, антигены, антитела, конъюгаты

www.ekolab, 8-800-333-17-45 (звонок по России бесплатный), ekolab-sbyt@mail.ru

IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием

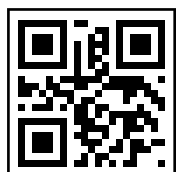
**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИАГНОСТИКА
2017**

IX ВСЕРОССИЙСКАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ
ДИАГНОСТИКА | 2017**

ТЕМЫ КОНФЕРЕНЦИИ:

- Молекулярная диагностика вирусных гепатитов
 - Современные подходы к молекулярной диагностике инфекций органов репродуктивной системы
 - Новые направления молекулярной диагностики ВИЧ-инфекции
 - Методы молекулярного анализа в онкологии
 - Молекулярная диагностика инфекций беременных и новорожденных
 - Современные методы в диагностике туберкулеза
 - Технологии молекулярного анализа в криминалистике и судебной медицине
 - Молекулярная эпидемиология
 - Технология выявления инфекционных и наследственных болезней животных
- ... и другие темы



18-20 апреля, ГК "КОСМОС"
г. Москва, пр. Мира, 150

Организаторы:

Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов»,
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

www.md2017.ru



12 - 14 ОКТЯБРЯ 2016

II РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ – ЭТО:

- 6000 слушателей
- более 200 российских и зарубежных докладчиков
- 50 научных секций
- более 100 компаний-участников

Научно-практическая междисциплинарная конференция с международным участием

Главные секции:

- Организация, экономика и юридические аспекты лабораторной службы.
- Фундаментальные вопросы клинической и лабораторной медицины, основы патогенеза и этиологии наиболее значимых и распространенных заболеваний.
- Этиология, ранняя диагностика и лабораторный контроль инфекционных заболеваний.
- Новейшие и перспективные технологии в области лабораторной диагностики.
- Круглые столы с участием руководителей органов здравоохранения и представителей фирм по вопросам централизации лабораторных исследований и организации закупок оборудования и реагентов.
- Сессия постерных докладов.

Премия в области лабораторной медицины им. В.В. Меншикова



Международная выставка «Лабораторный город» – «Выставка достижений лабора- торного хозяйства (ВДЛХ)»

- Мастер-классы и обучающие циклы от компаний-участников.
- Концертная программа «Медицина и искусство».
- Фотоконкурс «Лабораторный город и его жители».

ОРГКОМИТЕТ КОНГРЕССА:

127083, Москва, ул. 8 Марта, д.1, стр.12

+7 (499) 348-21-06, +7 (968) 086-95-53

congress@fedlab.ru

www.congress.fedlab.ru



ФЕДЕРАЦИЯ
ЛАБОРАТОРНОЙ
МЕДИЦИНЫ

Лабораторный город

Москва, ВДНХ, Павильон 75

Организаторы:



При поддержке*:



МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

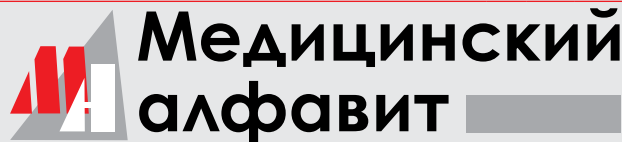
ОПОРА РОССИИ

МИНПРОМТОРГ
РОССИИ



* Конгресс проходит по Приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации, Департамента здравоохранения г.Москвы, Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, под эгидой Национальной медицинской палаты.

БЛАНК-ЗАКАЗ на подписку на журнал 2017 год



Название организации (или Ф.И.О.) _____

Адрес (с почтовым индексом) _____

Телефон: _____ E-mail: _____ Контактное лицо: _____

- ☐ «Медицинский алфавит. Стоматология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Современная лаборатория» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Больница — все для ЛПУ» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Неотложная медицина» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Диагностика и онкотерапия» — 2 выпуска в год (800 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Современная поликлиника» — 2 выпуска в год (800 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Кардиология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Практическая гастроэнтерология» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Неврология и психиатрия» — 4 выпуска в год (1 600 руб. в год)
- ☐ «Медицинский алфавит. Современная гинекология» — 2 выпуска в год (800 руб. в год)

Наш индекс в каталоге
«РОСПЕЧАТЬ» 36228

Извещение	ООО «Альфмед» (наименование получателя платежа) 7716213348 (ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773 (номер счета получателя платежа) в Московский Банк Сбербанка России (наименование банка и банковские реквизиты) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА К/с 30101810400000000225 БИК 044525225 Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2017 год (наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____ Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____
Квитанция	ООО «Альфмед» (наименование получателя платежа) 7716213348 (ИНН получателя платежа) Рс № 40702810738090108773 (номер счета получателя платежа) в Московский Банк Сбербанка России (наименование банка и банковские реквизиты) ПАО «СБЕРБАНК РОССИИ» г. МОСКВА К/с 30101810400000000225 БИК 044525225 Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2017 год (наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____ Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____

Как подписаться

1. Заполнить прилагаемый бланк-заказ и квитанцию об оплате. 2. Оплатить квитанцию.
3. Отправить бланк-заказ и квитанцию (или их копии) по почте по адресу: 129344, Москва, ул. Верхоянская, д.18 к. 2; или по факсу: (495) 616-48-00, 221-76-48, или по e-mail: medalfavit@mail.ru

DIALAB GmbH, Австрия

Гликозилированный гемоглобин HbA1c



Одно из лучших предложений на HbA1c

HbA1c (иммунотурбидиметрия) доступен для каждой лаборатории

Также в
наличии:

Гомоцистеин (прямой ферментативный метод),
Цистатин С, для всех открытых систем
иммунотурбидиметрический метод

Биохимические реагенты Иммунотурбидиметрия

в том числе в системных упаковках
(System Packs) для анализаторов
Сапфир 400, KONELAB, ADVIA, Hitachi,
Beckman (LX, CX, AU400/AU640)



Тест полоски для анализа мочи
на 1-11 параметров *

**Лучшая
цена**



Экспресс-тесты высокого
качества на ВИЧ, Гепатит В,
Гепатит С, Сифилис, Тропонин I,
Кардио Комбо (TrI, Myo, CK-MB) и др.



Анализаторы мочевых полосок
(120 и 500 тестов в час) *



STRIP ANALYSER 500
(500 полосок/час)

Акция



STRIP READER 40
(120 полосок/час)

Акция

* - до завершения регистрации не является изделием медицинского назначения

Продукция компании DIALAB GmbH, Австрия
Тел.: (812) 340-00-19, факс: (812) 340-00-31
e-mail: office@dialab-russia.ru

www.dialab-russia.ru

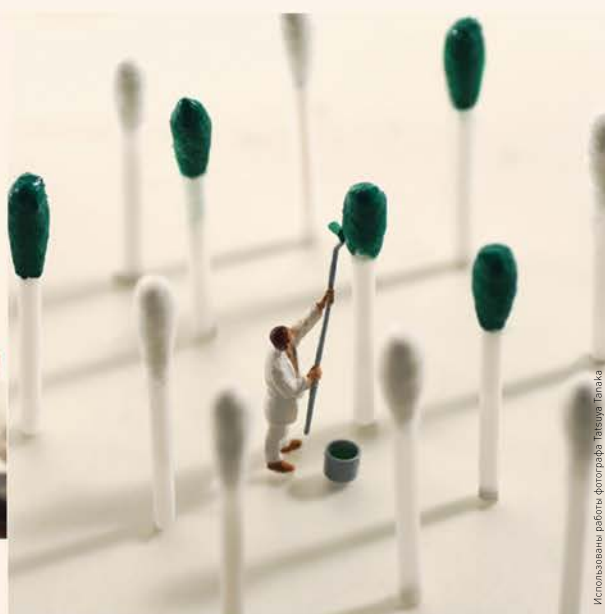
INNOVASYSTEM

Лабораторная информационная медицинская система (ЛИМС)



Система складского учета
произведет автоматическое
списание реагентов
по факту проведения
исследования

Контролируйте
запасы расходных материалов
и поддерживайте их
в оптимальном объеме



Москва, Кутузовский пр-т, д.36, стр.3, офис 102

(495) 984-96-74

info@innovasystem.pro

www.innovasystem.pro