



МЫ РАБОТАЕМ ДЛЯ ВАС

ISSN 594885010-2



9 785948 850108

Я/О ЮНИМЕД 129301 Москва, ул. Касаткина, 3
Тел.: (095) 935-8650 (многоканальный) Факс: (095) 564-8641
E-mail: office@unimedao.ru <http://www.unimedao.ru>

БИБЛИОТЕКА ЛЕЧАЩЕГО ВРАЧА



АНАЛИЗ ПО МЕСТУ ЛЕЧЕНИЯ

проф. В.В.МЕНЬШИКОВ



А/О ЮНИМЕД

*Все для
эффективной работы*



Вашей лаборатории

- Оборудование
- Расходные материалы
- Лабораторная мебель
- Реактивы
- Сервисное и методическое сопровождение

Догод талов У Я

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИИ

МОСКОВСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ имени И.М.Сеченова

НАУЧНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ПО КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

В.В. МЕНЬШИКОВ

АНАЛИЗ ПО МЕСТУ ЛЕЧЕНИЯ

«ЮНИМЕД-пресс»

Москва - 2003

УДК 616

ББК 53.4

Меньшиков В.В. АНАЛИЗ ПО МЕСТУ ЛЕЧЕНИЯ. - М.: ЮНИМЕД-пресс, 2003. - 160 стр.: ил.

ISBN 5-94885-010-2

Предлагаемая вниманию читателей книга подготовлена патриархом Российской лабораторной диагностики проф. В.В.Меньшиковым.

Может ли врач получить данные клинико-лабораторных исследований самостоятельно, не отправляя кровь или мочу на анализ в лабораторию, прямо у постели больного?

Позволяют ли это эффективно сделать современные медицинские технологии?

Будет ли такой *анализ по месту лечения* (сокращенно АМЛ – общепринятый международный термин) в будущем вытеснять рутинные методы лабораторной диагностики?

На этот и на многие другие вопросы читатель найдет ответ в этом издании, которое призвано поставить точку в дискуссии, продолжительное время ведущейся в мире.

Также в книге вы найдете исчерпывающие сведения об основных аналитических принципах и технических решениях, реализуемых в настоящее время в устройствах для быстрой детекции и/или измерения широкого круга клинически важных аналитов в минимальных пробах различных биоматериалов пациентов. Рассмотрены проблемы обеспечения и контроля качества получаемых результатов. Обсуждены проблемы оценки медицинской и экономической эффективности применения средств АМЛ.

Книга представляет большой интерес для клиницистов различного профиля, специалистов лабораторной медицины, организаторов здравоохранения.

© ЮНИМЕД-пресс. 2003

ISBN 5-94885-010-2

ВВЕДЕНИЕ

В относительно спокойной атмосфере мирового лабораторного сообщества с некоторых пор возникло необычное напряжение. Звучат тревожные голоса, предрекающие неизбежное снижение достоверности клинической лабораторной информации, подрыв положения клинических лабораторий и даже угрозу самому существованию профессии лабораторного специалиста!

Справедливости ради следует признать, что значительная часть лабораторных специалистов рассматривает ситуацию не столь драматично, относясь к новшествам рационально и конструктивно.

Что же вызвало появление этих опасений и противоречий?

Об источнике этого беспокойства – одном из современных явлений в практике лабораторных исследований, которое по-английски называют чаще всего “point-of-care-testing” (сокращенно РОСТ), а по-русски могло бы быть названо «анализ по месту лечения» (сокращенно АМЛ), - и пойдет речь в предлагаемой вниманию читателя книге.

Что же такое РОСТ – АМЛ: благо или ущерб для лабораторной медицины? Насколько обосновано возникновение и распространение этого направления в клинической лабораторной аналитике и диагностике? Какова должна быть рациональная позиция лабораторного специалиста в отношении этого способа выполнения лабораторных исследований? Что дает применение средств АМЛ лечащим врачам – специалистам различных медицинских профессий? Насколько соответствуют возможности, предлагаемые средствами АМЛ, интересам пациентов?

Намерение автора – привести достаточно почерпнутых из мировой профессиональной литературы и информационных материалов компаний-производителей сведений об АМЛ и имеющихся для его выполнения устройствах, чтобы читатель сам смог найти ответы на эти вопросы.

1. НА ТРЕТЬЕМ ВИТКЕ ИСТОРИЧЕСКОЙ СПИРАЛИ

Скажем прямо: в появлении миниатюрных портативных аналитических систем для быстрого анализа биожидкостей пациентов в автономных от традиционной лабораторной среды условиях автор видит историческую закономерность, объективно обусловленную действием ряда факторов. Эти факторы - с одной стороны, медицинские потребности, и с другой, - общий научно-технический уровень, - оказывали свое влияние и в период предыстории лабораторной медицины, и во все последующие этапы ее развития. С изменением их характера и содержания менялись условия и способы исследований биологических жидкостей человека.

В своих диагностических суждениях врачи древности опирались на постепенно накапливаемый опыт своего сословия, собственную наблюдательность в отношении проявлений болезни у пациента и сопоставление этих проявлений с наставлениями учителей и своим опытом. Важным инструментом врача было обостренное чувственное восприятие внешних проявлений болезни. Вспомним способность китайских медиков различать до 100 оттенков пульса и на этой основе судить о состоянии пациента! Среди проявлений недугов древние врачеватели не могли не обратить внимания и на изменение обычных физиологических отправлений – частоту испражнений и мочеиспускания, внешний вид каловых масс и мочи. Способ их исследования был, естественно, органолептический: на цвет, на запах. Первые письменные свидетельства о врачебном интересе к характеру мочи содержатся в древнеиндийском медицинском трактате «Аюрведа» (X- VI века до нашей эры). Очевидно, в этом трактате были суммированы уже сложившиеся к тому времени представления. Есть свидетельства того, что на основе сопоставления свойств мочи, в том числе ее вкуса, с характером болезни сахарный диабет был впервые распознан древними лекарями примерно за 1500 лет до нашей эры (MacCraken J., Hoel D., 1997). Медицинские школы Гиппократа и, более поздняя, – Авиценны также придавали большое значение непосредственной оценке врачом свойств мочи. Гениально прозорливо, хотя и методически примитивно, они указывали на особенности жидкостей организма человека при различных заболеваниях и даже строили на этой основе теории патологии, какой, например, являлась гуморальная теория.

Эти взгляды были восприняты и европейской медициной эпохи Возрождения, когда было признано обязательным проведение врачом в присутствии больного (и в сочетании с другими субъективными формами его обследования) уриноскопии – рассматривания врачом сосуда с мочой пациента (Sorretan W.S.C., 1960) (рис. 1-1).



Рис. 1-1

«Визит врача» - репродукция с картины голландского художника XVII века Jacob Toogenvliet. Уриноскопия непосредственно у постели больной женщины – элемент врачебного осмотра наряду с исследованием пульса (из альбома J. Antall "Bilder aus der Geschichte der europäischen Heilkunde und Pharmazie". Corvina Kiado, Budapest, 1981)

Как повторение наблюдений далеких предшественников, сладковатый вкус мочи при сахарном диабете был описан в конце XVII века Willis в его труде "Treatise of Urines" (Foster R., 1981). Таким образом, на первом большом витке спирали истории медицины – с древних времен и вплоть до XVII – XVIII веков нашей эры врачи – так или иначе, на цвет, запах, вкус – сами исследовали биологические жидкости больных в их присутствии.

На протяжении XVI-XVII веков трудами Paracelsus и Van Helmont стали формироваться условия для понимания значения постепенно развивавшихся химических знаний в решении медицинских проблем. 80-е годы XVII века, по-видимому, стали началом переломного периода в отношении способов исследования биологических жидкостей больных: временем перехода от органолептического их исследования врачом при осмотре больного к объективным методам, выполняемым специалистами лабораторной медицины. Изобретение голландским естествоиспытателем Левенгуком первого оптического прибора – микроскопа (1683 г.) дало возможность разглядеть клетки крови, корпускулярные компоненты мочи, некоторые микроорганизмы. В 1684 г. английский ученый Бойль опубликовал статью об исследовании крови человека с помощью доступных в ту пору химических методов

(“Memoirs for the natural history of Human Blood; especially the spirit of that liquor”), став, тем самым, одним из основоположников клинической химии. Вслед за тем Лангриш описал изменения крови больных с лихорадкой. Но понадобился еще примерно полторавековой путь, чтобы на основе общего развития естественных наук возникла система объективных методов исследования, и в больницах были выделены специальные рабочие места для их выполнения, то-есть появились условия для окончательного выделения из массы врачебного сословия группы *лабораторных специалистов-медиков*. В 1842 г Иоганн Иозеф Шерер (J.J. Scherer) организовал первую клиническую лабораторию в больнице Julius-Spital в г. Вюрцбург (Германия). Углубление познания причин и механизмов патологии за счет применения новых достижений химии и биологии отвечал интересам клинической медицины, которая использовала более обширную и более точную информацию, предоставляемую лабораториями, для улучшения диагностики болезней и лечения больных. Поэтому процесс передачи функции исследования биологических жидкостей больных из рук лечащих врачей лабораторным медикам неуклонно развивался и получил свое окончательное завершение в середине XIX века, когда лабораторные возможности пополнились разнообразными приборами – поляриметрами, колориметрами, когда были написаны первые руководства по лабораторным исследованиям и стали издаваться специальные периодические издания для профессиональных лабораторных специалистов. Об обстановке в клинических лабораториях той поры дает представление рис. 1-2.



Рис. 1-2

Вид одной из первых клинических лабораторий (начало XX века, Great Osmond Street Hospital, Бейсингсток, Великобритания) (воспроизведено из журнала *European Clinical Laboratory*, 2002, 21, 3, P.28)

Признанием со стороны клиницистов самостоятельной роли лабораторий прозвучали слова великого терапевта XIX столетия Вильяма Ослера: «Они (лаборатории) служат для врача тем же, что нож и скальпель для хирурга» (Cushing H., 1926).

Начался второй виток спирали... В отличие от первого, он занял всего примерно одно столетие, поскольку значительно убыстрился темп развития науки и техники. XX век стал веком не только социальных, но и научно-технических революций: атомной, биологической, технологической, информационной. Под влиянием этих процессов существенным образом преобразилась и сфера лабораторной медицины. Ее развитие шло сразу по нескольким направлениям. Благодаря достижениям биологии и химии значительно обогатился исследовательский арсенал лабораторных методов, что позволяет лабораторной медицине глубоко проникнуть в причины и механизмы широкого круга патологических процессов, сделать более надежной и определенной клиническую диагностику и более успешным лечение больных. Успехи физики и техники создали возможность автоматизации всего цикла лабораторного исследования биоматериалов. Это порой вызывало и неприятие лабораторного персонала, привыкшего к неспешной ручной работе, как это в шуточном рисунке выразил художник - см. рис. 1-3. Однако, автоматизация прочно вошла в практику современных клинических лабораторий, позволив снять все ограничения в отношении количественного удовлетворения потребностей клинической медицины в лабораторных исследованиях. Достижения информатики и техники средств связи привели к внедрению лабораторных информационных систем, сделавших возможными обработку любых объемов лабораторной информации и передачу ее на расстояние. Третьим направлением, напрямую связанным с темой этой книги, явилась миниатюризация высокотехнологичных методов исследования и средств их выполнения.

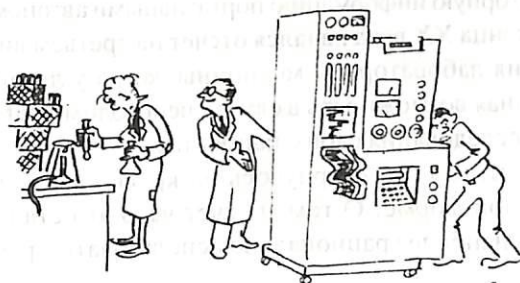


Рис. 1-3

Шуточное изображение конфликта между традицией ручных лабораторных методов и вторжением автоанализаторов

В этих условиях у клинической медицины появилась возможность выбора наиболее соответствующего ее интересам, а значит и интересам пациентов, а в конечном итоге и интересам всего общества, способа исследования биологических жидкостей больных. При изучении наиболее сложных случаев заболеваний теперь можно обращаться к услугам специализированных лабораторий, располагающих наиболее сложными (и дорогостоящими) методами исследования. При решении типовых, массовых проблем клинической диагностики и мониторинга рационально использовать автоматизированные лаборатории в крупных больницах или диагностических центрах (рис. 1-4).



Рис. 1-4

Вид одной первых лабораторий в США, внедривших лабораторную автоматизированную систему (Ciba Corning Clinical Laboratory, Сент-Луис, США) (по Felder R.A., 1997)

Наконец, при экстренном решении неотложных проблем помощи больным в критических состояниях или в отдалении от крупных медицинских центров врачам стало возможно собственноручно и быстро получать необходимую лабораторную информацию портативными автономными средствами анализа. Так, с конца XX века начался отсчет на третьем витке исторической спирали развития лабораторной медицины, когда у лечащих врачей вновь появилась реальная возможность в случае необходимости самим выполнять лабораторные исследования своим пациентам.

Таким образом, кое-что «вернулось на круги своя», причем, в гораздо более совершенной форме! О том, за счет чего это стало возможно и как эту возможность наиболее рационально использовать – речь пойдет в следующих главах.

ЛИТЕРАТУРА

- Felder R.A. // Modular Laboratory Robotics and Automation. J.I.F.C.C., 1997, 9, 2, 56-60
- MacKraken J., Hoel D. // From ants to analogues: Puzzles and promises in diabetes management. Postgrad. Med., 1997, 101: 138-140
- Copeman W.S.C. // Doctors and Disease in Tudor Times. London, Dawson, 1960: 116-121
- Foster W.D. // Genesis of a speciality. In: Pathology as a Profession in Great Britain. London, Royal College of Pathologists, 1981, 1-18
- Cushing H. // The Life of Sir William Osler. Oxford, UK, Oxford University Press, 1926, 367

2. НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ АМЛ

В основе средств АМЛ лежат два элемента:

- 1) Тесно пространственно сопряженные микродозы аналитических материалов (реагентов), необходимых для химико-биологического взаимодействия с исследуемым компонентом биожидкости;
- 2) Миниатюрное оптическое или электрохимическое устройство с автономным питанием для детекции и/или регистрации результата аналитического взаимодействия реагентов с аналитом.

Сложилось два основных варианта таких средств анализа:

- а) рассчитанный на визуальную оценку результата собственно аналитический элемент, как правило, одноразовый;
- б) сочетание аналитического элемента с устройством для объективной детекции и количественной оценки результата исследования, и представляющее собой, таким образом, миниатюрную аналитическую систему.

Конструктивно решенное сочетание этих элементов позволяет выполнять исследование аналитов в малых объемах биожидкости, в большинстве случаев без предварительной пробоподготовки, быстро и аналитически надежно получая результат практически в любых условиях вне специально оборудованной лаборатории. Эти аналитические свойства средств АМЛ основаны на использовании высоких химических, биологических, физических и электронных технологий, на строгом соблюдении стандартных технических требований при промышленном производстве (табл. 2-1).

Средства АМЛ могут быть:

- *узко-целевыми*, способными обнаруживать или измерять содержание только одного аналита,
- *профильными*, предназначенными для выполнения группы тестов, характеризующих одну физиологическую систему или какую-то форму патологии,
- *многопараметровыми*, позволяющими исследовать довольно широкий круг лабораторных показателей (табл. 2-2).

Возможно также сочетание нескольких средств АМЛ в одном комплексе, представляющем собой портативную микролабораторию, например, система OPTI Plus (Roche Diagnostics).

Таблица 2-1 Основные технико-аналитические варианты средств АМЛ (по Price C, Thorpe G.H., 1999; Меньшиков В.В., 2002)

Форма миниатюризации аналитики	Принцип детекции и количественной оценки результата анализа
Диагностические полоски, содержащие аналитические зоны с наборами реактивов для исследования одного или нескольких аналитов: а) для исследований мочи б) для исследований крови	Визуальная оценка Отражательная фотометрия Биосенсор Цифровая фотокамера и компьютерный анализ изображений
Многослойная карточка, содержащая набор реактивов	Фотометрия
Миниатюрная кювета, картридж с набором реактивов	Фотометрия, в т.ч. лазерная Биосенсор
Ферментная хроматография	Аналоговый сигнал
Иммуноисследование: Проточное Латеральный поток	Визуальная оценка Отражательная фотометрия
Иммунохроматография	Аналоговый сигнал
Микрочип	Фотометрия Флуорометрия Биосенсор

Таблица 2-2 Виды портативных систем АМЛ

Виды средств АМЛ	Виды исследований
Узкоцелевые	Глюкометрия Билирубинометрия
Профильные	Коагулометрия: ПВ, АЧТВ, АВС Сердечные маркеры Наркотики
Многопараметровые	Рутинные биохимические тесты в крови (до 22 тестов) Уринализ (до 11 тестов)

Допускаемые к применению в клинической медицине средства АМЛ должны быть аналитически надежны, портативны, просты в применении, обладать быстродействием и коммутабельностью (то-есть сопоставимостью результатов исследований) со стационарной лабораторной аппаратурой. Заложенные в средствах АМЛ аналитические методы должны отвечать требованиям доказательной медицины и лабораторной квалиметрии.

ЛИТЕРАТУРА

Меньшиков В.В. // Лабораторные исследования возле пациента. Клин. лаб. диагн., 2002, № 4, 23-34

3. АНАЛИТИКА АМЛ: ОСНОВНЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ

Базисным видом аналитических технологий в средствах АМЛ являются системы «сухой химии». Принцип «сухой химии», впервые предложенный в конце прошлого века в виде индикаторных «лакмусовых» бумажек, предназначенных для определения рН растворов, получил свое развитие в форме закрепленных на твердофазных носителях комплексов реактивов, готовых к специфической реакции с определенным компонентом биожидкости.

Однако, эта форма набора реагентов имеет и некоторые особенности, поскольку в ней заложена и возможность детекции аналита в результате происходящей цветной реакции. Развитие этого принципа привело к разработке, производству и широкому использованию многочисленных вариантов этих приспособлений, различающихся по:

- а) виду и форме носителя (бумага, гель, нитроцеллюлоза, различные виды пористой матрицы);
- б) способу компоновки реагентов для аналитической процедуры (диагностические полоски, многослойные аналитические элементы, иммуно-аналитические тест-кассеты, картриджи со структурой камер и каналов)
- в) виду биоматериала, для исследования которого они предназначены (моча, сыворотка, цельная кровь, иные биожидкости);
- г) способу детекции и регистрации результата анализа (визуальный, отражательная фотометрия, другие виды объективной детекции и регистрации).

Практически все системы «сухой химии» состоят из трех основных частей: реактивной, отражательной и подложки. Все реагенты в них нанесены на подложку в необходимом для проведения анализа количестве в твердой фазе.

Системы «сухой химии» развивались по двум основным направлениям: с применением импрегнированных волокон и с использованием многослойных слайдов.

Первым их вариантом стали **диагностические полоски** («strip tests», «dipsticks»), предназначенные для качественного, полуколичественного и количественного определения биохимических компонентов в биологических жидкостях.

В тест-полосках первого типа в качестве носителя используют импрегнированные волокна из чистой альфа-целлюлозы. Бумажные матрицы имеют стандартную плотность волокон и определенную толщину. Реактивы абсор-

бируются на носителе путем погружения в соответствующие растворы с последующим высушиванием. При необходимости объединения на одной полоске нескольких реакционных зон, содержащих реагенты для анализа различных аналитов, их, как правило, наклеивают на общую полимерную подложку.

При производстве тест-полосок принимаются во внимание особенности химизма реакции и возможной интерференции. Так, в случае необходимости использования реагентов, несовместимых друг с другом, они импрегнируются и высушиваются последовательно. Должно соблюдаться точное дозирование каждого реактива. Для предотвращения интерференции содержащейся в моче аскорбиновой кислоты верхний слой реактивной зоны для определения гемоглобина в моче импрегнируется йодатом, который окисляет аскорбиновую кислоту. Чтобы избежать воздействия влаги на реагенты тест-полосок, контейнеры для их хранения оснащаются осушителем (рис. 3-1).



Рис. 3-1

Диагностические полоски для исследований мочи Урискан ("YD Diagnostics").
Общий вид полосок и упаковок с полосками

Защита чувствительной реакционной зоны от контакта, загрязнений и царапин специальной нейлоновой сеткой, которая также обеспечивает быстрое и однородное проникновение мочи и равномерное развитие окраски реакционной зоны (рис. 3-2), существенно повышает аналитическую надежность полоски. Бумажная подложка, содержащая абсорбент, предотвращает интерференцию и удаляет избыток мочи.

Тестовое поле для определения гемоглобина в поперечном разрезе

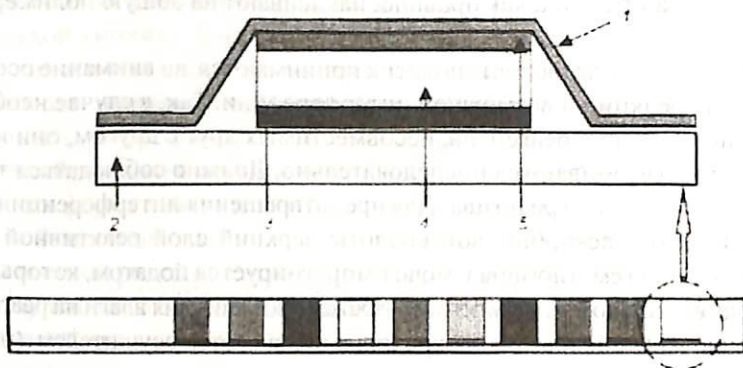


Рис. 3-2

Схема устройства диагностической тест-полоски для исследования мочи Combur 10 Test ("Roche Diagnostics").

Тестовое поле для определения гемоглобина в разрезе: 1- Нейлоновая сетка; 2- Подложка; 3- Абсорбирующая бумага; 4- Бумага с реагентом; 5- Сетчатый слой, содержащий йод

Среди первых диагностических тестов на твердофазном носителе реактивов были бумажные полоски для качественного определения сахара в моче, а затем и других ее компонентов. В настоящее время производятся тест-полоски для исследования мочи в виде моно- (на один компонент) и поли-тестов (на несколько компонентов: pH, кетоны, глюкоза, белок, билирубин, уробилиноген, эритроциты, гемоглобин, нитриты, относительная плотность, лейкоциты, аскорбиновая кислота). В поли-тестах могут быть сгруппированы в различных комбинациях диагностические зоны для указанных аналитов, что позволяет более целенаправленно и рационально вести скрининг. В таблице 3-1 представлены в качестве примера химических принципов, используемых в диагностических полосках для исследования мочи, аналитические характеристики диагностических полосок ФАН («Pliva-Lachema»).

Таблица 3-1

Аналитические характеристики диагностических полосок для исследования мочи ФАН (по данным фирмы-изготовителя)

Таблица 3-1 (Начало)

Аналит	Химический принцип анализа	Чувствительность/ специфичность	Влияющие факторы
Гемоглобин	Гемоглобин и миоглобин катализируют окисление индикатора за счет пероксидазной активности	5 Эрл/мкл Для гемоглобина и миоглобина	Восстанавливающие вещества, некоторые бактерии, дрожжи, плесени, высокий удельный вес мочи, лекарства (гентизиновая кислота, каптоприл и др.), моющие средства
Глюкоза	Глюкозо-оксидазно-пероксидазная реакция и окисление индикатора образующейся перекисью водорода дает зеленое окрашивание	9 мг/дл Высокая для Д-глюкозы	Лекарства (с салициловой кислотой), моющие и дезинфицирующие средства
Белок	В присутствии белка кислотно-основной индикатор меняет цвет с желтого на зеленый	10 мг/дл Высокая чувствительность для альбумина, меньше – к другим белкам	Лекарства, содержащие хинин и хинолин, щелочная моча (рН выше 8), моющие средства
Билирубин	Конъюгированный билирубин образует с триазеном в кислой среде продукт розового цвета	0.25-0.30 мг/дл Высокая для конъюгированного билирубина	Высокая концентрация аскорбиновой кислоты, прямой свет, уробилиноген в концентрации выше 60 мг/л, присутствие феназопирина (красного цвета), длительное хранение мочи
Уробилиноген	Реакция с солью диазония в кислой среде с образованием комплекса красного цвета	0.35 мг/дл Выше, чем в реакции Эрлиха	Прямой свет, соединения, окрашивающие мочу в красный цвет, билирубин, желтый цвет которого через 1 минуту изменяется в зеленый, длительное хранение мочи, высокая концентрация аскорбиновой кислоты
Лейкоциты	Расщепление эфира индоксила лейкоцитарной эстеразой и взаимодействие образующегося индоксила с солью диазония дает фиолетовое окрашивание	10 Лей/мкл Нейтрофилы	Длительное хранение мочи, хромогены (билирубин, нитрофурантонин), сильно щелочная реакция, высокий удельный вес
Нитриты	Реакция азосочетания нитритов с сульфанилом и последующее взаимодействие с производным хинолина (реакция по Гриссу) дает розовое окрашивание	0.1 мг/дл Для нитритов	Длительное хранение мочи, ложноположительные результаты: терапия феназопиридином; ложноотрицательные результаты: высокая концентрация аскорбиновой кислоты, увеличенный диурез

Таблица 3-1 (Окончание)

pH	Изменение цвета смешанного кислотно-основного индикатора (метиловый красный и бромтимоловый синий)	0.5 pH	Дезинфицирующие и моющие средства, длительное хранение мочи
Относительная плотность	Ионный обмен между полиэлектролитом и ионами мочи приводит к изменению цвета бромтимолового синего индикатора	Отражает ионную концентрацию мочи, не дает количественной оценки недиссоциирующих компонентов (глюкоза, мочевины, креатинин)	Высокая концентрация аскорбиновой кислоты (выше 700 мг/л), щелочная реакция мочи (выше 6.5) приводит к занижению результатов
Кетоны	Реакция с нитропруссидом натрия в щелочной среде (реакция Легала) с образованием комплекса фиолетового цвета	3,0-5,0 мг/дл Высокая для ацетоуксусной кислоты, менее – для ацетона, β -оксимасляная кислота не реагирует	Лекарственные препараты и диагностикумы, содержащие фталены, фенилкетоны и сульфгидрильные группы, окрашивают зону индикации в оранжево-красный цвет
Аскорбиновая кислота	Восстановление фосфомолибденовой кислоты до молибденового синего	3-5 мг/дл Без выраженной специфичности	Другие восстанавливающие вещества, например, салициловая и гентизиновая кислоты

Недавно разработан новый тип полоски для исследования в моче двух параметров: альбумина и креатинина и их соотношения. В реактивной зоне для определения альбумина используется реакция связывания красителя, а в зоне для определения креатинина применяется пероксидазная активность комплекса креатинина и меди. Окраска полосок после определенного срока реакции измеряется отражательным фотометром (Pugia M.J. et al., 1997).

Поскольку химические реакции протекают в основном в жидкой среде, в системах «сухой химии» растворителем служит исследуемая биожидкость, которую наносят на полоску или в которую ее погружают на короткое время (рис. 3-3а). Для получения точного результата важно обеспечить полное пропитывание реактивной зоны исследуемой жидкостью. Эти системы часто зависят от объема исследуемой биожидкости, особенно если они основаны на методах определения по конечной точке.

Визуальная оценка результатов производится по изменению окраски реакционной зоны. Введение цветных шкал для визуальной оценки позволило проводить полуколичественные определения (рис. 3-3б).

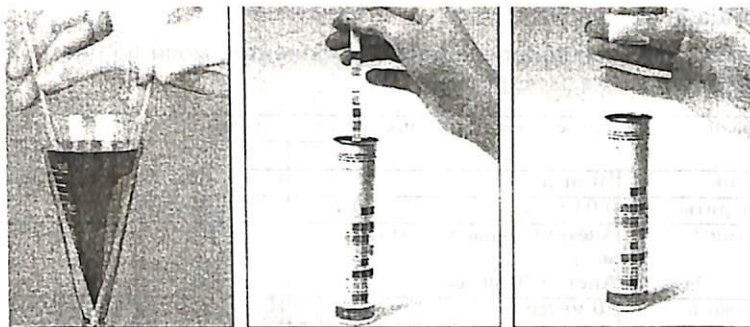


Рис. 3-3а

Процедура исследования мочи с помощью диагностической полоски ФАН ("Pliva-Lachema"). Слева – Используют свежую мочу, хорошо перемешанную. В середине – Вынимают из тубы полоску. Справа- Тубу плотно закрывают. Сушителитель предохраняет полоски от действия влажности воздуха

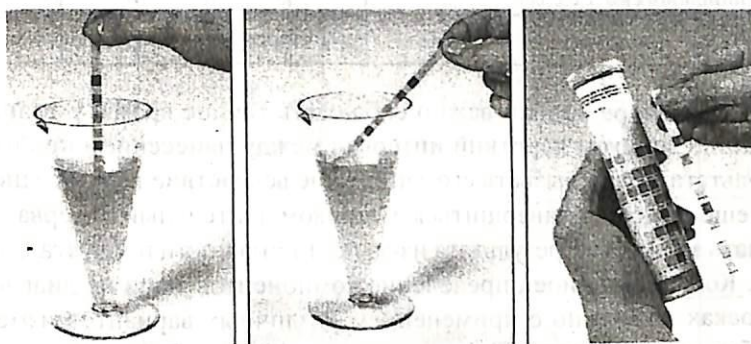


Рис. 3-3б

Процедура исследования мочи с помощью диагностической полоски ФАН ("Pliva-Lachema"): Слева – Полоску погружают на 2-3 сек в исследуемую мочу, чтобы все тестовые зоны были смоченными. В середине – Вынимают полоску и проводят о край емкости для удаления избытка мочи, не касаясь зонами индикации; Справа – Оценку проводят после указанного в инструкции времени, сравнивая окраску зон с цветной шкалой на этикетке

Предел чувствительности должен быть выбран так, что даже слабые патологические изменения в составе мочи давали четкие изменения в окраске. В качестве примера полуколичественных определений компонентов мочи по цветной шкале приводим характеристики диагностических полосок «Урискан» ("YD Dagnostics") (табл. 3-2).

Таблица 3-3 (Окончание)

Нитриты, мг/дл	Прибор	Отриц.(0)	0.05	0.1	0.2		
	Цветная шкала	Отриц.	При розовом окрашива нии положит.	При розовом окрашива нии положит.	При розовом окрашива нии положит.		
рН	Прибор	5	6	7	8	9	
	Цветная шкала						
Лейкоциты,	Прибор	Отриц.(0)	25	75	500		
Лей/мкл	Цветная шкала	Отриц.	примерно 25	примерно 75	примерно 500		
Относительная плотность	Прибор	1,000	1,005	1,010	1,015	1,020	1,025
	Цветная шкала						

Как и в отношении мочи, первым анализом, который стали исследовать в крови с применением средств «сухой химии», явилась глюкоза. Этому способствовало то, что с помощью тест-полосок можно было обеспечить проведение самоконтроля больных сахарным диабетом за состоянием метаболизма углеводов, поначалу визуально, а затем с применением портативных отражательных фотометров - глюкометров. Тестовая зона такой полоски содержит иммобилизованные ферменты - глюкозооксидазу и пероксидазу, а также редокс-индикатор, например, о-толидин. Глюкозооксидаза катализирует реакцию между глюкозой и кислородом воздуха с образованием глюконовой кислоты и перекиси водорода. Пероксидаза катализирует реакцию перекиси водорода с индикатором, который окисляется с образованием окрашенного соединения, изменяя первоначальную окраску тестовой зоны полоски. Изменение окраски тестовой зоны полоски, которое может быть измерено с помощью отражательного фотометра, пропорционально концентрации глюкозы в крови.

Одной из первых систем для определения нескольких компонентов в цельной капиллярной или венозной крови явились полоски «Рефлотест» («Рош Диагностикс»). Это стало возможным благодаря использованию дополнительного фильтрующего слоя из стекловолна, отделяющего эритроциты от плазмы под воздействием капиллярных сил (рис. 3-4). Цельную кровь в объеме 31 мкл наносят на реакционную зону диагностической полоски и помещают в прибор. После прохождения через разделительный слой плазма собирается в микрорезервуар. Реакция начинается при вдавливании реакционного слоя в плазму в момент помещения полоски в измерительный прибор. Аналитические принципы, примененные в этих полосках, приведены в таблице 3-4.

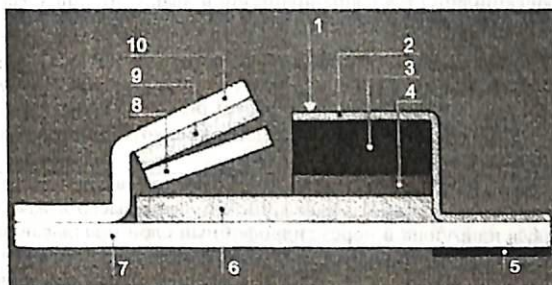


Рис. 3-4

Схема устройства диагностической тест-полоски для исследования крови Reflotest ("Roche Diagnostics"). 1-проба крови; 2- Защитное покрытие; 3- Материал для отделения плазмы от клеток крови; 4 – Дополнительный реагент; 5- Магнитный код; 6 Транспортный слой для плазмы крови; 7-Подложка; 8 – Слой с реагентом 1; 9- Слой с реагентом 2; 10- Прозрачная пленка

Таблица 3-4 (Начало)

Аналитические принципы определения биохимических компонентов крови с помощью диагностических полосок "Reflotest" (данные фирмы "Roche Diagnostics")

Аналит	Принцип определения	Длина волны измерения (в нм)
Глюкоза	В присутствии глюкоксидазы и атмосферного кислорода глюкоза окисляется в δ-D-глюконолактон с образованием перекиси водорода, которая затем в присутствии пероксидазы окисляет индикатор 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Интенсивность окрашивания продукта которого пропорциональна концентрации глюкозы	642

Таблица 3-4 (Окончание)

Креатинин	Под действием креатининимногидролазы креатинин гидролизруется с образованием N-метилгидантоина и высвобождением аммиака. N-метилгидантоиназа катализирует преобразование N-метилгидантоина в N-карбамоилсаркозин с потреблением АТФ. В двух последующих стадиях N-карбамоилсаркозин гидролизруется под действием карбамоилсаркозингидролазы с образованием саркозина и аммиака, а затем саркозиноксидаза расщепляет саркозин, приводя к образованию глицина и формальдегида. Образовавшаяся при этом также перекись водорода под действием пероксидазы реагирует с восстановленной формой производного имидазола, вызывая появление голубого окрашивания. Уменьшение фиксируемого фотометром отраженного света пропорционально первоначальной концентрации креатинина.	642
Креатинкиназа	В присутствии креатинкиназы креатинин фосфат и аденозиндифосфат преобразуются в креатин аденозинтрифосфат. Во второй стадии реакции глицерин и образовавшийся аденозинтрифосфат под действием глицеролкиназы реагируют с образованием глицеролфосфата, который, в свою очередь, в присутствии глицеролфосфатоксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием дигидроксиацетона и перекиси водорода. Перекись водорода в присутствии пероксидазы преобразует бесцветную восстановленную форму индикатора в окисленную форму, окрашенную в голубой цвет. Полученные при 37°C результаты переводятся условия иной температуры реакции с помощью коэффициентов: 0,41 для 25°C; 0,63 для 30°C.	642
Холестерин липопротеинов высокой плотности	При нанесении пробы плазмы с этилендиаминтетрауксусной кислотой на полоску в ее сепарационной зоне происходит преципитация хиломикронов, липопротеинов очень низкой плотности и липопротеинов низкой плотности благодаря присутствию ионов магния сульфата декстрана. Фракция липопротеинов высокой плотности достигает зоны реакции, где происходит ферментативное определение холестерина, содержащегося в этой фракции. Отличие от процессов, происходящих в этом случае от определения холестерина соответствующей полоской (см. выше), заключается в использовании индикатора – 4-(4-диметиламинофенил)-5-метил-2-(4-гидрокси-3,5-диметоксифенил)-имидазолдигидрохлорид. Окрашивание голубое.	642
Калий	Калий дифундирует из водной фазы в органическую фазу, где образует комплекс с валиномицином. Чтобы сбалансировать положительный заряд, рН-индикатор, растворенный в органической фазе, высвобождает протон и образует окрашенный анион. Оптимальное изменение отраженного света происходит при добавлении сильной кислоты, которая образует бесцветный анион, конкурирующий с индикатором.	642

Диагностические полоски для исследования крови позволяют (с применением отражательных фотометров) количественно определить различные компоненты: субстраты (глюкоза, мочевины, билирубин и его фракции, креатинин, белок, триглицериды, холестерин, альбумин), ферменты (амилаза,

АлАТ, АсАТ, ЛДГ, КК и КК-В, гамма-ГТ, липаза, щелочная фосфатаза), ионы (фосфор, кальций, аммиак), лекарства (фенобарбитал, теофиллин и др.). Активность ферментов определяется с участием сопряженных реакций, концентрация низкомолекулярных соединений – с помощью реакций по конечной точке. Примеры химических принципов, используемых в диагностических полосках для определения аналитов в крови, приведены в таблице 3-5.

Таблица 3-5

Примеры химических принципов, используемых в диагностических полосках для исследования крови (по Price С. Р., Thorpe G.H., 1999)

Глюкоза	Цельная кровь	Глюкозооксидаза
Холестерин	Цельная кровь	Холестеролоксидаза
Лактат	Цельная кровь	Лактатдегидрогеназа
Мочевая кислота	Цельная кровь	Уриказы
Аланинаминотрансфераза	Цельная кровь	Аланин - глутамат
Ацетаминофен	Цельная кровь	Ациламиногидролаза

Количественная оценка результата аналитического процесса на тест-полоске возможна и с использованием электрохимического принципа. При замене оптической регистрации результата электрохимической необходимо некоторое изменение химизма аналитической реакции, рассчитанное на высвобождение электронов, создающих слабый ток, регистрируемый биосенсором (Matthews D.R. et al., 1987). Так, например, в тест-полоске Microflo Plus, применяемой в глюкометре MediSense Precision PCx, глюкоза, содержащаяся в образце крови, реагирует с глюкозооксидазой биоактивного электрода на тест-полоске и хлорным железом (Fe^{3+}). Глюкоза окисляется до глюконовой кислоты. Электроны переносятся на флавинадениндинуклеотид. Восстановленная молекула затем вновь окисляется через медиатор электронов ферроцен. В результате протекающих реакций образуются свободные электроны, которые воспринимает не-биоактивный электрод, имеющий функцию проведения тока, сила которого пропорциональная содержанию глюкозы. Полоска содержит 3 электрода (референтный, активный и компенсирующий фон электрод) (рис. 3-5), поэтому результат определения скорректирован с учетом фона. Результат выдается через 20 секунд. Тест-полоска покрыта пластиковой пленкой, создающей микросреду для реакционной зоны и защищающей от повреждений и влияния окружающей среды. Каждая тест-полоска упакована в фольгу.

Рис. 3-5

Схема устройства диагностической полоски MICROFLO Plus для определения глюкозы на портативном анализаторе MediSence Precision PCx ("Abbott"). Верхний слой – Вносится проба. 3,5 мкл крови достаточно для точного определения. Второй слой – Гидрофобная прослойка. Третий слой – Кровь проникает через гидрофильную прослойку. Чет-



вертый слой – Гидрофобная прослойка направляет каплю крови к реакционной зоне. Реакция начинается, когда определенный объем крови (3,5 мкл) достигает зоны реакции. Результат отмечается через 20 сек. (Через 30 сек. может быть вставлена следующая тест-полоска)

В полоске для глюкометра может использоваться глюкоксидаза и феррицианид, восстановление которого воспринимается электродом сенсора (Powell M., 1998).

Другой вариант ферментной технологии определения глюкозы, использованный в тест-полоске Accu-Chek Adventage (D'Costa E.J. et al., 1986), основан на превращении глюкозы в глюконолактон глюкозодегидрогеназой. Освобожденный при этом электрон реагирует с медиатором гексацианоферратом (III). Последующее восстановление этого вещества в гексацианоферрат (II) знаменует конечную точку реакции, которая достигается через 30 сек. после нанесения крови на полоску. На электрохимической стадии процесса за счет приложения напряжения на два электрода восстановление медиатора в первоначальную окисленную форму гексацианоферрата (III) вызывает возникновение тока, который пропорционален концентрации глюкозы в пробе.

Хотя количественное определение с помощью прибора несомненно дает гораздо более точные результаты, чем визуальная оценка, нельзя сказать, что и этот способ не находит применения. Так, в процедуре определения содержания в крови С-реактивного белка с помощью диагностической полоски Phadirect Rapid CRP Test ("Boule") предусмотрена визуальная количественная оценка результата по 4 градациям от 20 до 80 мг/л (рис. 3-6).

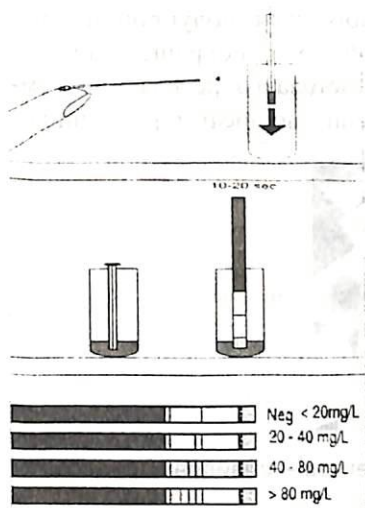


Рис. 3-6

Процедура полуколичественного определения С-реактивного белка в крови с помощью тест-полоски Phadirect Rapid CRP Test ("Boule"). Наверху – Согреть набор до комнатной температуры. Взять пробу крови объемом 10мкл из пальца с помощью микрокапилляра и перенести с сосуд с буферным раствором. В середине – Смешав пробу крови с буферным раствором, взять тест-полоску из алюминиевой тубы и погрузить ее желтую зону в разведенную пробу. Дать пробе абсорбироваться до появления в реакционной зоне видимого фронта жидкости (10-20 сек.). Внизу – Вынуть тест-полоску из раствора и поместить ее на чистую поверхность. Через 5 минут отметить результат по числу голубых линий, образовавшихся в зоне реакции

В экспресс-тестах второго типа, представляющих собой **многослойные пленки**, в качестве подложки используют негнувшийся пластик или другой подобный пластику материал, который может быть прозрачным или отражающим (перекрестно связанный желатин, агароза, поливиниловый спирт, алгинат, поливинилпирролидон или ацетат целлюлозы). Для усиления отражения света, что необходимо для процедуры измерения результата, поры пластика заполняют неорганическим пигментом, чаще всего двуокисью титана. В этом случае подложка играет роль отражательного слоя. Реактивная часть системы может состоять из нескольких слоев пленок, содержащих необходимые реагенты в сухой форме. Иногда в систему включены дополнительные промежуточные слои, предназначенные для определения, разрушения или маскировки интерферирующих веществ, содержащихся в исследуемой пробе, а также слой, обеспечивающий равномерное проникновение биожидкости в реактивный слой. В процессе производства реагенты наносят на матрицу путем погружения в соответствующие растворы или внедрения реактивов в синтетическую пленочную матрицу. Отдельные слои с помощью самоклеющихся пленок или одновременно все слои посредством специальной рамки объединяют в «слайды», представляющие собой многослойные аналитические элементы (рис. 3-7). Существуют конструкции этих «слайдов»: для клинико-химических тестов, для определения электролитов и для иммунохимических определений в сыворотке крови (рис. 3-8). Слайды, основанные на колориметрических методах, состоят из: распределительного

слоя, на который наносится проба, реакционного слоя, полупроницаемой мембраны, регистрирующего слоя, в котором образуется окрашенный продукт, и прозрачной подложки. В зависимости от метода и определяемого компонента слайды могут содержать и другие слои, снижающие интерференцию

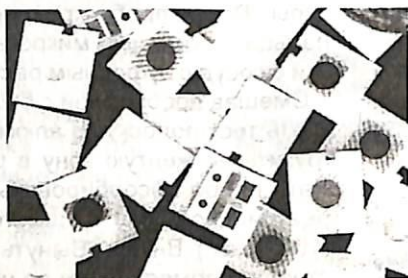


Рис. 3-7

Внешний вид многослойных аналитических элементов – слайдов (“Kodak”, “Johnson and Johnson”)

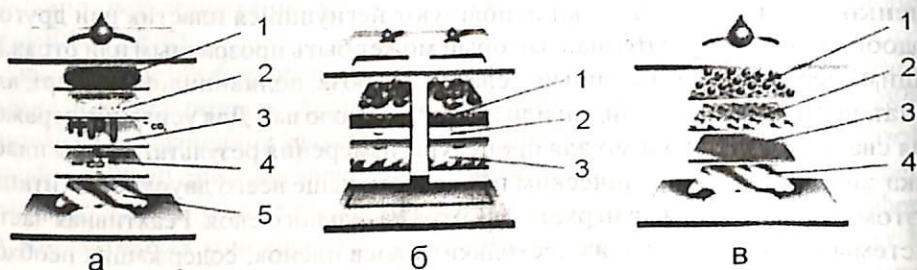


Рис. 3-8

Схема компоновки многослойных аналитических элементов (МАЭ)

а – колориметрический МАЭ: 1-распределительный слой; 2- реактивный слой; 3 полупроницаемый слой; 4 – регистрирующий слой; 5 – прозрачный поддерживающий слой;

б – потенциометрический МАЭ (два ионоселективных электрода соединены бумажным мостиком): 1 – ионоселективная мембрана; 2 – референсный слой; 3 – электрод Ag/AgCl;

в – иммуноаналитический МАЭ (для малых молекул – конкурентный иммуноанализ; для больших молекул – неконкурентный иммуноанализ): 1 – слой распределения микрошариков; 2 – рецепторный слой; 3 – гель; 4 – прозрачный поддерживающий слой

Количественное определение субстратов проводится по двум промежуточным точкам или по конечной точке, активность рассчитывается из нескольких измерений. Каждое измерение проверяется статистическим анализом для обеспечения точности. Фирма выпускает колориметрические слайды для определения амилазы, кальция, магния, креатинина, фосфора, глюкозы в моче; альбумина, билирубина, холестерина, аммиака, алкоголя, лактата, салицилата, триглицеридов, ферментов (ХЭ, АлАТ, АсАТ, ЩФ, КФ, ЛДГ, липаза), лекарств, железа, лития и др.

Слайды, основанные на потенциометрии, включают ионоселективную мембрану, слой, пропитанный раствором хлорида натрия, два электрода Ag/AgCl. Концентрация ионов (Na^+ , K^+ , Cl^-) рассчитывается по разности потенциалов между двумя ячейками, на одну из которых наносят исследуемую пробу (мочу, сыворотку), а на другую — стандартный раствор с известной концентрацией ионов.

Третий тип слайдов — иммунослайды. Для количественного определения аналитов с низким молекулярным весом (дигоксин, фенитоин, фенобарбитал) используется иммуноферментный тест на основе конкуренции. Такой слайд содержит специфичное к аналиту моноклональное антитело, иммобилизованное на полимерных бусинках в рецепторном слое, и аналог исследуемому веществу с меткой — в распределительном слое. После протекания конкурентной реакции несвязанная метка отмывается специальным раствором, содержащим субстрат пероксидазы, вызывающим изменение окраски. Для аналитов с большим молекулярным весом (например, С-реактивный белок) используют тест-систему типа «сэндвич». Такой слайд содержит связывающий агент — антитело, и меченое антитело для определения связанного аналита.

В другом варианте многослойных аналитических элементов для определения С-реактивного белка используются покрытые фосфорилхолином шарики, С-реактивный белок, и моноклональное антитело к С-реактивному белку, сцепленное с пероксидазой. Не связанное с аналитом моноклональное антитело отмывается, а остающаяся связанная активность количественно оценивается путем добавления соответствующего субстрата и с использованием отражательного фотометра (Wu A. et al., 1994).

Из-за наличия остаточной влаги в полимерных матрицах эти «слайды» хранят при низкой температуре герметически закупоренными. Слайды поставляются в картриджах и могут храниться в холодной камере или морозильнике больше года, а в обычных условиях — от 1 до 5 недель. Результаты определений с помощью таких многослойных «слайдов» менее зависят

от объема исследуемой биожидкости, чем при использовании тест-полосок первого типа.

Многослойные пленки, объединенные в слайд размером примерно с почтовую марку, были впервые разработаны фирмой «Кодак», США. В настоящее время они используются в приборах «Vitros» фирмы «Ortho Diagnostics».

Весьма перспективным направлением средств АМЛ стали аналитические устройства, основанные на использовании **иммунных взаимодействий** гомогенного или гетерогенного типа в пористом матриксе с применением моноклональных антител для специфического связывания с искомым анализитом, и которые можно назвать «сухой иммунохимией». Пористый матрикс оказался средой, допускающей большое разнообразие аналитических процедур. В качестве матрикса могут использоваться одно- или многослойные пленки (Danielson S.J., Hilborn D.M., 1997), хроматографические или проточные устройства ((Price C.P. et al., 1997). Наиболее часто используются два основных вида этих устройств:

а) тип «flow through» («проточный»), который основан на использовании пористого матрикса, образующего реакционную зону и действующего как твердая фаза в формате гетерогенного иммуноанализа;

б) тип «lateral flow» («латеральный ток»), в котором разделение происходит в процессе прохождения реакционной смеси через пористый матрикс.

Все процессы в этом виде аналитических устройств происходят в пористом матриксе, поэтому его выбор с учетом пористости и поверхностно-активных свойств имеет принципиальное значение для производства и оценки вариации между отдельными партиями продукции. Поскольку в открытой литературе пока еще недостаточно сведений об этой технологии, для понимания особенностей процессов, происходящих в этих иммуно-аналитических устройствах, привлекают принципы химии поверхностей (Spitznagel T.M., Clark D.S., 1993).

В «проточном» типе иммуно-аналитических устройств АМЛ антитело ковалентно связано с поверхностью пористого матрикса. При нанесении пробы на матрикс содержащийся в ней анализит связывается с иммобилизованным антителом. Добавление второго меченого антитела формирует «сэндвич» и привязывает метку к месту иммобилизации первого антитела. Метка наблюдается визуально непосредственно (например, при использовании в качестве метки окрашенных частиц латекса или коллоидального золота; или после добавления другого реагента, выявляющего окраску, (например, субстрата ферментной реакции). В качестве примера можно привести основанные на иммунохроматографическом принципе тест-карточки «Cardiochek» («EY

Laboratories") для детекции многоглобина, тропонина I, фракции МВ креатинкиназы и сердечного белка, связывающего жирные кислоты (рис. 3-9). Количественная оценка реакции возможна с применением отражательного фотометра. Для контроля качества применяемых устройств на матриксе закрепляют некоторое количество чистого анализата. Появление в этом месте положительного пятна свидетельствует, что все реагенты устройства работоспособны.

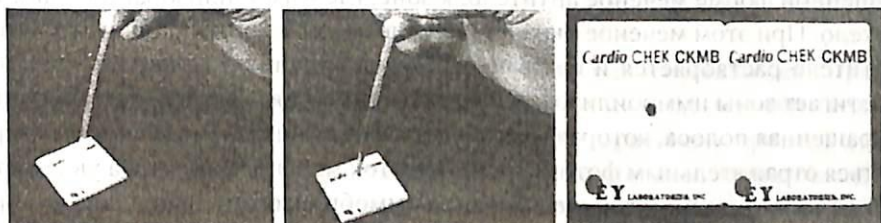


Рис. 3-9

Процедура определения сердечных маркеров с помощью тест-карточек Cardiochek ("EY Laboratories"). Слева направо: нанесение пробы крови; добавление реагента коллоидального золота; промывание карточки и чтение результата (слева – положительный результат, справа – отрицательный результат)

Принцип «сухой иммунохимии» с некоторыми видоизменениями применяется и в коагулологии. Примерами могут служить диагностические карточки NicoCard («Nicomed») для определения Д-димера. Место для нанесения пробы на карточке содержит антитело, специфичное для определяемого анализата. Вслед за внесенной туда пробой крови, по истечении расчетного времени реакции, вносится второе антитело, меченое золотом. Оценка результата производится визуально сравнением с цветной шкалой или с помощью специального ридера. По тому же порядку производится на подобных карточках определение С-реактивного белка и гликированного гемоглобина. Правда, исследование последнего анализата не является, строго говоря, иммуноанализом, так как концентрация HbA_{1c} устанавливается, исходя из результатов измерения общего гликированного гемоглобина с использованием аффинного лиганда. Процедура исследования такова: эритроциты лизируются в буферном растворе, содержащем голубой реагент борониевой кислоты; ионы цинка преципитируют гемоглобины; затем производится гомогенизация смеси; порция смеси переносится на мембрану, на поверхности которой остаются преципитировавшие гемоглобины. После промывания

мембраны ее окрашивание измеряется при 620 нм (гликированный гемоглобин) и 460 нм (гемоглобин). Отношение между значениями этих двух измерений пропорционально относительному количеству HbA_{1c} . В процессе производства метод калибруется с использованием референтных препаратов.

В иммуно-аналитических устройствах типа «латеральный ток» нанесенная на пористый матрикс и содержащая искомый анализ проба, выступая в роли сольвента, мигрирует через участок матрикса, где локализуется в высушенной форме меченое антитело, к зоне, где иммобилизовано первое антитело. При этом меченое окрашенным латексом и коллоидальным золотом антитело растворяется и связывает искомый анализ. Когда этот комплекс достигает зоны иммобилизованного антитела и связывается им, образуется окрашенная полоса, которая может наблюдаться визуально или регистрироваться отражательным фотометром. Избыток меченого антитела увлекается током сольвента к следующей зоне, где иммобилизовано направленное против него еще одно антитело, и там выявляется вторая окрашенная полоса, играющая роль контрольной (рис. 3-10). Ее появление подтверждает работоспособность всей аналитической системы.

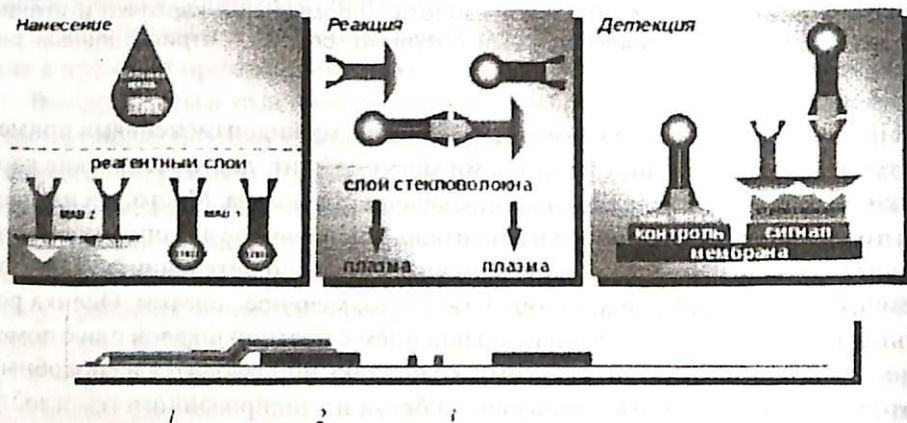


Рис. 3-10

Механизм реакции и схема устройства иммуно-аналитической тест-кассеты

1— аппликационная зона; 2— реакционная зона; 3 — зона детекции

Нанесенная на иммуно-аналитическую кассету TropT (“Roche Diagnostics”) проба гепаринизированной цельной крови благодаря капиллярному эффекту продвигается по стекловолоконной мембране (рис. 3-11).

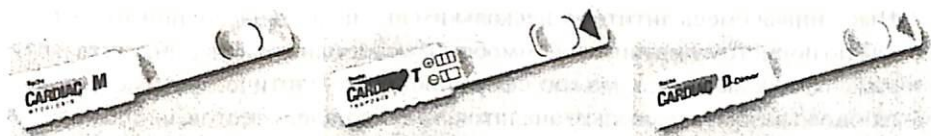


Рис. 3-11

Внешний вид иммуно-аналитических тест-кассет: слева – тест-кассета для определения миоглобина; в середине – для определения тропонина Т; справа – для определения Д - Димера

При этом клетки крови задерживаются в начале, а содержащиеся в пробе молекулы тропонина связываются с нанесенными на мембрану двумя биотинилированными антителами к тропонину Т и сердечному тропонину Т, мечеными частицами коллоидального золота (сокращенное название этого типа тест-полосок GLORIA, что расшифровывается как Gold Label Optical Rapid Immuno Assay). Образовавшиеся меченые комплексы тропонин-антитело движутся к зоне детекции, где иммобилизован стрептавидин, обладающий высокой степенью сродства с биотином. В месте захвата меченых золотом комплексов выявляется пурпурная полоса. Избыток меченых антител устремляется дальше, к месту, где иммобилизован синтетический пептид тропонина. Появление в этой зоне окрашенной полосы служит контрольным признаком достоверности произведенного исследования как при наличии, так и при отсутствии первой (т. е. регистрирующей наличие в пробе тропонина) окрашенной полосы (Collinson P.O. et al., 1996). На этом принципе основано определение и многих других аналитов (рис. 3-12 а, б).

Рис. 3-12а

Вид иммуно-аналитической тест-кассеты для определения интерлейкина IL-6 ("Milenia biotec"). Вверху – зона нанесения пробы крови. Ниже – Т – тестовая полоса, С – контрольная полоса

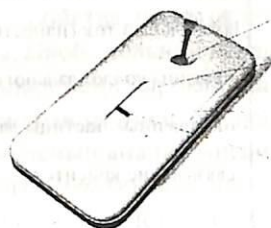
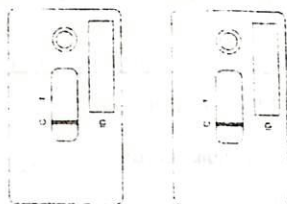


Рис. 3-12б

Принцип чтения результатов исследования по иммуно-аналитической тест-кассете.

Слева – положительный результат (видны две полосы); справа – отрицательный результат (видна одна контрольная полоса)



Высушивая смесь антител к нескольким анализам в начальной точке пути пробы по пористому матриксу и иммобилизуя дополнительные антитела в различных точках матрикса, можно сформировать аналитическую систему, позволяющую выявить несколько анализов, то-есть панель тестов, например, для сердечных маркеров (Schouten Y et al., 1998; Apple F.S. et al., 1999), различных аллергенов (Hobbs F.D.R. et al., 1997), тестов фертильности (Bonnar J. et al., 1999). Примеры иммуно-аналитических устройств приведены в таблице 3-6.

Таблица 3-6

Примеры некоторых иммуно-аналитических устройств
(по Price C.P., Thorpe G.H., 1999)

Принцип иммуноисследования	Биожидкость	Аналит
Проточный тип - ферментная метка	Моча	Хорионический гонадотропин человека
Латеральный ток (держат в токе мочи) - окрашенные частицы латекса	Моча	Хорионический гонадотропин человека, хламидии
Латеральный ток (погрузить в мочу) - окрашенные частицы латекса	Моча	Хорионический гонадотропин человека, альбумин в моче
Латеральный ток (нанести пробу) - частицы коллоидального золота - окрашенные частицы латекса - связывание красителя	Кровь Моча Моча	Тропонин I, тропонин T Хорионический гонадотропин человека Отношение альбумин/креатинин
Латеральный ток - панель тестов	Моча Кровь	Наркотики Сердечные маркеры

Результаты исследований, выполненных с помощью иммуно-аналитических устройств обычно оцениваются визуально по наличию или отсутствию окрашенных полос в зоне детекции и контрольной зоне. В некоторых системах используются различные приемы для полуколичественной и даже количественной визуальной оценки путем сравнения с прилагаемыми шкалами. Так, в иммуно-аналитическом устройстве BRAHMS PCT-Q для исследования прокальцитонина крови используется карта сравнения, которая позволяет по цветной шкале оценить градации концентрации аналита от 0,5 до 10 нг/мл (рис. 3-13).



Рис. 3-13

Процедура визуальной полуколичественной оценки результата исследования прокальцитонина в крови с помощью иммуно-аналитической тест-кассеты BRAHMS PCT-Q

Еще одним вариантом иммуно-аналитического устройства является использование иммуно-хроматографического принципа. Проба цельной крови наносится на конец полоски пористого матрикса, одновременно прокальвается резервуар с сольвентом, который содержит меченый ферментом аналит. Под действием капиллярного эффекта проба и меченый аналит мигрируют к региону, где иммобилизовано антитело к аналиту. Чем больше содержится аналита в пробе, тем большее расстояние от старта пройдет меченый аналит. Добавление фермента вызывает цветную реакцию, позволяющую фиксировать длину цветной полосы, которая пропорциональна концентрации аналита в пробе. Нанесенная на держатель устройства цифровая шкала позволяет измерить длину этой полосы, так же, как обычно определяют температуру тела по столбику ртути и цифровой шкале термометра (рис. 3-14). Такой принцип применен в иммуно-аналитических устройствах для самоконтроля содержания холестерина и теофиллина в крови (Zuk R.F. et al., 1985).



Рис. 3-14

Процедура определения теофиллина в крови с помощью AccuMeter Theophylline ("AccuTech"): 1- Подготовить пробу крови из пальца; 2 – Внести пробу крови в лунку устройства, через 2 минуты вытянуть заслонку; 3 – Через 10-12 минут сравнить положение голубого индикатора на шкале устройства с карточкой-таблицей результатов исследования теофиллина

Пористый матрикс может также использоваться и как среда для разделения и визуализации с помощью иммобилизованных антител. Так, в некоторых устройствах для выявления наркотиков проба предварительно смешивается с мечеными частицами коллоидального золота препаратом наркотика и моноклональными антителами. Через несколько минут смесь наносится на пористый матрикс и мигрирует по нему с последующим промыванием. Иммобилизованные в различных зонах матрикса антитела к различным наркотикам связывают несвязанные меченые препараты. Появление окрашенной полосы сигнализирует, что концентрация наркотика в пробе достигает предварительно откалиброванного отсечного (cut-off) значения (благодаря вытеснению большего количества меченого золотом препарата из связи с антителом в первоначальной реакционной смеси). Калибровка отсечного значения достигается изменением относительной величины константы равновесия связывания антителом меченого препарата наркотика путем изменения числа молекул препарата в его меченом конъюгате.

При этом создается возможность довольно точного различения положительного и отрицательного результата: для метаболита тетрагидроканнабинола в диапазоне 75-100 мкг/л, для фенциклидина в диапазоне 25-30 мкг/л при хорошем совпадении с результатами референтного метода, основанного на газовой хроматографии – масс-спектрометрии (Buechler K.F. et. al., 1992).

В устройствах для одновременной детекции нескольких наркотических веществ Triage ("Biosite") реакционная камера содержит в лиофилизированной форме моноклональные антитела против основных метаболитов исследуемых классов наркотиков, меченые золотом дериваты наркотиков и реакционный буфер. Внесенная в камеру проба мочи растворяет эти реагенты.

что приводит к связыванию молекул наркотиков из пробы с соответствующими моноклональными антителами за счет вытеснения из тест-системы молекул дериватов этих веществ, которые остаются в растворе в несвязанном состоянии. По прошествии 10 минут, необходимых для протекания этих процессов, реакционная смесь переносится в зону детекции, представляющую собой мембрану, на которой в определенных местах иммобилизованы моноклональные антитела против соответствующих классов наркотиков. Оставшиеся свободными меченые молекулы дериватов наркотиков связываются иммобилизованными антителами, вызывая появление в местах их связывания фиолетовых полос, которые после промывания тест-кассеты отмечаются визуально (рис. 3-15 а,б). Положение полос может быть зафиксировано с помощью копировального аппарата. Варианты иммуно-аналитических систем АМЛ для определения веществ, вызывающих привыкание, приведены в таблице 3-7.



Рис. 3-15а

Внешний вид иммуно-аналитического устройства Triage 8 ("Biosite")

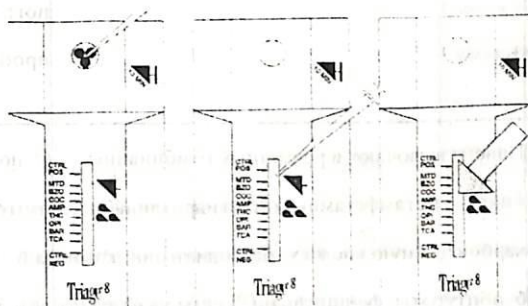


Рис. 3-15б

Процедура определения наркотических препаратов в моче с помощью иммуно-аналитического устройства Triage 8. Слева – нанесение пробы мочи; инкубация в течение 10 минут; середина – перенос реакционной смеси в зону детекции; справа – промывание устройства 3 каплями промывной жидкости, оценка результатов в зонах, соответствующих отдельным анализам

Таблица 3-7 (Начало)

Средства АМЛ для определения наркотических препаратов в моче (по Ward-Cook К.М., 1999)

Иммуно-аналитическая система АМЛ. фирма-изготовитель	Исследуемые аналиты	Комментарии
OpTrak Testcup 5, Testcuper. Testcup-4. "Roche Diagnostic Systems"	Testcup-5: амфетамин, кокаин, морфин, фенциклидин, тетрагидроканнабинол-карбоксильная кислота; Testcuper: амфетамин, барбитураты, бензодиазепин, кокаин, морфин; Testcup-4: амфетамин, кокаин, морфин, тетрагидроканнабинол-карбоксильная кислота	Одновремен. определение всех препаратов с помощью одной полоски результат <5 минут; положительный (+) белая полоса, отрицат. (-) голубая полоса
Teststick на отдельные препараты «Roche Diagnostic Systems»	Амфетамин, кокаин, морфин, фенциклидин, тетрагидроканнабинол-карбоксильная кислота;	Тот же принцип, что и в Testcup, полоска погружается в отдельную пробирку с пробой
Status DS, панель и отдельные препараты "LifeSign"	Панели включают в различных комбинациях: опиаты, метамфетамин, тетрагидроканнабинол-карбоксильную кислоту, бензодиазепин, кокаин, барбитураты, фенциклидин. Тесты на отдельные препараты, помимо указанных выше, определяют трициклические антидепрессанты и метадон	Одноэтапный иммунохроматографический тест, отрицательный результат за 30 сек., положительный результат за 5-10 минут

Таблица 3-7 (Окончание)

Rapid Drug Screen (RDS) панели, "Abbott Diagnostics"	Панель RDS5: кокаин, опиаты, фенциклидин, тетрагидроканнабинол-карбоксильная кислота, амфетамин Панель RDS8: перечисленные выше, а также барбитураты, бензодиазепин, метадон	Одноэтапное иммуноисследование «латерального потока» Видимые линии означают отсутствие препарата в концентрации выше отсечного значения (отрицательный результат), результат читается через 5-10 минут
Triage Panel "Biosite Diagnostics"	Кокаин, опиаты, фенциклидин, тетрагидроканнабинол-карбоксильная кислота, амфетамин, барбитураты, бензодиазепин, трициклические антидепрессанты	Одноэтапное иммуноисследование Результат через 3 минуты
Syva Rapidtest Panel, Syva RapidCup "Dade Behring"		Одноэтапный иммунохроматографический тест, результат за 3-5 минут
EZ-Screen Panel "Editek"	Кокаин, опиаты, фенциклидин, тетрагидроканнабинол-карбоксильная кислота, амфетамин, барбитураты, бензодиазепин, трициклические антидепрессанты	Твердофазное иммуноисследование 4-этапная процедура Результат за 4-5 минут

Антитело к искомому анализу может быть иммобилизовано на нейлоновой мембране, поверх участка абсорбирующей бумаги. Проба цельной крови предварительно смешивается с раствором и порция этой смеси наносится на нейлоновую мембрану, вслед за ней наносится второе антитело, меченое частицами коллоидального золота. В присутствии искомого анализа образуется «сэндвич» с пурпурно-красной окраской в участке, где на мембране было иммобилизовано антитело. Сравнение окраски с цветной шкалой позволяет полуколичественно оценить результат исследования, использование специального ридера дает возможность количественной оценки (Urdal P. et al., 1992). Применение принципов иммуноанализа в формате миниатюрных одноразовых иммуно-аналитических устройств позволило получить надеживающиеся данные относительно ускорения процедур детекции инфекционных или паразитарных патогенов. В настоящее время разработаны и производятся тест-системы для быстрого обнаружения в наиболее типичных для них биологических материалах антигенов либо антител многих инфекционных и паразитарных болезней. Принципиально процедура взятия материала не отличается от обычно принятой с соблюдением всех требуемых правилами биологической безопасности предосторожностей. Далее, проба биоматериала может подвергаться экстрагированию с использованием раствора, входящего в комплект набора. Затем несколько капель экстракта вносятся в предназначенную для пробы зону устройства, куда затем вносится также раствор, позволяющий выявить наличие патогена (меченое хромогеном или ферментом антитело). Смесь движется по мембране к зоне детекции и зоне контроля, где иммобилизованы специфичные антитела. Механизм связывания и выявления анализа по окрашенным полосам соответствует ранее описанным тест-системам. Как правило, наличие двух полос означает положительный результат исследования, наличие одной (контрольной) полосы – отрицательный результат, отсутствие полос – неправильное проведение реакции или испорченную тест-систему. Для обнаружения хламидий, стрептококков группы А, вируса гепатита В, адено- и ротавирусов, малярии используется выявление антигена. При диагностике инфекционного мононуклеоза, краснухи, болезни Лайма, туберкулеза, болезни Шагаса, ВИЧ 1 и 2, наличия *H. Pylori* применяется обнаружение соответствующих антител.

Более сложные аналитические технологии удастся реализовать на пористом матриксе из стекловолоконной бумаги, путем отпечатывания на нем протоков для реактивов и нанесения на сухой матрикс точно дозированных порций реагентов, которые последовательно вводятся в реакцию (Bunce R. et al., 1991).

Использование пористого матрикса как среды для проведения иммунологического анализа создает два важных фактора, обеспечивающих быстрое действие аналитической системы: наличие достаточно большой зоны поверхности для иммобилизации антител, захватывающих аналит, и формирование миниатюрных расстояний диффузии, что в сумме приводит быстрой кинетике реакций. Однако, при этом могут возникнуть проблемы из-за повышенной вязкости проб цельной крови. Возможность преодоления этих проблем создает использование технологий микрофабрикации структур для прохождения тока жидкости и реакционных ячеек. Шагом в этом направлении стало сочетание принципа «сухой химии» с использованием **миниатюрных кассет или картриджей** с несколькими полостями, в которых содержатся лиофилизированные реагенты (иногда и сольвент), необходимые для выполнения определенной аналитической процедуры. При введении в эту кассету пробы биожидкости она растворяет реагенты в последовательности, определяемой расположением каналов, соединяющих полости (камеры) картриджа, подвергается аналитическому воздействию реагентов и результат анализа может быть зарегистрирован оптически или электрохимически. Чаще всего применяются одноразовые миниатюрные картриджи из прозрачного пластика, содержащие необходимые для анализа реагенты, включая реактивы, вызывающие образование окрашенного соединения, по светопоглощению которого в измерительном приборе рассчитывается концентрация аналита. Так, анализатор гемоглобина в крови фирмы «НетоСие» располагает самонаполняющейся микрокюветой с сухими реактивами, в которую благодаря капиллярному эффекту засасывается 10 мкл крови из прокола пальца и смешивается с реактивами. В той же кювете кровь подвергается гемолизу под действием натрийдезоксихолата, далее гемоглобин превращается за счет контакта с NO_2 в метгемоглобин, который, в свою очередь, реагируя с N_3^- , образует азидгемоглобин, измеряемый фотометрически при 570 и 880 нм.

Устройства АМЛ, основанные на применении картриджей, могут содержать реагенты для иммуноанализа с детекцией рассеянного света. Такие системы разработаны для определения гликированного гемоглобина в крови (Pore R.M. et al., 1993), альбумина в моче и лекарственных препаратов в крови (Klotz U., 1993). Так, в аналитической системе для определения в крови HbA1c DCA 2000 (“Bayer Diagnostics”), основанной на принципе гомогенного иммуноанализа, картридж содержит определенное количество частичек латекса, покрытых пептидом, моноклональное антитело против HbA1c и лизирующий реагент с реакционным буфером (рис. 3-16). Строе-

ние картриджа позволяет пробе и реагентам перетечь в реакционную камеру. Результат иммуноагрегации оценивается турбидиметрически.

Рис. 3-16

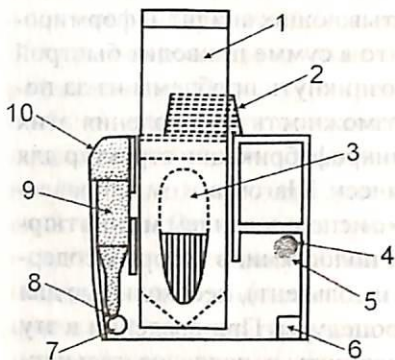


Схема устройства картриджа для определения HbA_{1c} в портативном анализаторе DCA 2000 ("Bayer Diagnostics") (По Kallner A., 1999)

1-нажимная кнопка (для высвобождения буфера из камеры); 2-кнопка удаления картриджа; 3-камера с раствором буфера (600 мкл); 4-агглютинатор; 5-латексные частички с антителом; 6-оптическое окно; 7-окислитель; 8-проба крови (1 мкл); 9-абсорбент (для захвата всей жидкости после окончания анализа); 10-держатель капилляра

В устройствах, рассчитанных на исследование в плазме, встраиваются приспособления, отделяющие плазму из капиллярной или венозной гепаринизированной крови (система Cholestech LDX, включающая кассеты для исследования глюкозы, холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности).

Лифолизированные реагенты, предназначенные для определенных биохимических тестов или их набора, ориентированного на решение определенной диагностической задачи (например, печеночная панель), а также растворитель, могут упаковываться в отсеки специальных одноразовых пластиковых дисков. По завершении реакций, происходящих на протяжении примерно 15 минут после внесения пробы в диск, результат считывается фотометром (анализатор Piccolo). (Интересно отметить, что в известной мере, в конструкции этих форм «сухой химии» использован опыт стационарных анализаторов аса и Rotochem). В некоторых системах АМЛ применяются также одноразовые картриджи с жидкими реагентами для исследования глюкозы, холестерина, триглицеридов.

В картриджных устройствах АМЛ, содержащих реагенты для оценки свертывания крови, первоначально использовалась оптическая детекция образования сгустков по рассеянию света или по замедлению тока крови в узком капилляре (Ansell J. et al., 1991; Despotis G.J. et al., 1996). Впоследствии стала применяться регистрация замедления движения магнитных частиц в пульсирующем магнитном поле по мере образования сгустков (Oberhardt V.J. et al., 1991). Один из вариантов этого принципа применялся и в картриджах для иммуноанализа (Merenbloom H.K., Oberhardt V.J., 1995).

Примеры картриджных устройств приведены в таблице 3-8.

Таблица 3-8

Примеры картриджных устройств АМЛ (по Price C.P., Thorpe G.H., 1999)

Аналит	Исследуемая биожидкость	Принцип исследования
Глюкоза	Цельная кровь	Глюкоздегидрогеназа
Гликированный гемоглобин	Цельная кровь	Иммуноанализ на частицах латекса
Протромбиновое время, активированное частичное тромбластиновое время	Цельная кровь	Рассеивание света при образовании сгустков
Протромбиновое время, активированное частичное тромбластиновое время	Цельная кровь	Движение магнитных частиц
Холестерин	Цельная кровь	Холестеролоксидаза
Холестерин липопротеинов высокой плотности	Цельная кровь	Преципитация плюс оксидаза
Гемоглобин	Цельная кровь	Фотометрия
Теофиллин	Цельная кровь	Иммуноанализ на частицах латекса
Альбумин	Моча	Иммуноанализ на частицах латекса
Наркотики	Моча	Иммуноанализ на частицах латекса

Картриджные устройства АМЛ не рассчитаны на визуальную оценку результатов анализа и поэтому, в отличие от диагностических полосок и иммуно-аналитических устройств, не применяются отдельно от измерительного прибора. Картридж всегда является частью аналитической микросистемы. Оптическая или биосенсорная регистрация результатов исследования в картриджных устройствах АМЛ обеспечивает их точную количественную оценку, что повышает сравнимость данных, полученных с помощью этих устройств и в стационарной лаборатории.

Дальнейшее развитие этого направления, по-видимому, заключается в микроминиатюризации картриджей, в которых методами рентгеновской или лазерной гравировки и другими технологиями, заимствованными из производства деталей для микроэлектроники, может создаваться необходимое для выполнения определенной аналитической процедуры сочетание реакционных камер и соединительных каналов заданного размера. Такие аналитические микрочипы (название микрочип заимствовано из терминологии микроэлектроники, где оно применяется для обозначения микросхем электронных устройств) уже разработаны для ряда видов исследований, включая клиническую химию, иммуноисследования, гематологию, и вмонтированы в некоторые автоматические анализаторы, например, автоматический анализатор "Evidence" (компания "Randox"). Можно предположить, что на этой основе будет разработано новое поколение микроминиатюрных средств АМЛ (Manz A. et al., 1990; Mirzabekov A., 2002; Kricka J., Wilding P., 1997, Chien N.H., Harrison D.J., 1998), способных выполнять и молекулярно-биологические исследования, что может способствовать более широкому применению молекулярно-генетических обследований.

ЛИТЕРАТУРА

- ✓ Меньшиков В.В. // Современные возможности клинической лабораторной аналитики. Клин. лаб. диагн., 2001, № 3, 25-38
- ✓ Меньшиков В.В. // Лабораторные исследования возле пациента. Клин. лаб. диагн., 2002, № 4, 23-34
- Ansell J., Tiarks C., Hirsh J., McGehee W., Adler D., Weibert R. // Measurement of the activated partial thromboplastin time from a capillary (fingerstick) sample of whole blood: A new method for monitoring heparinotherapy. Am.J.Clin.Pathol., 1991, 95, 222-227
- Apple F.S., Christenson R.H., Valdes R., Wu A.H.B., Andriak A.J., Duh S.H. et al. // Simultaneous rapid measurement of whole blood myoglobin, creatine kinase MB and cardiac troponin I by the Triage Cardiac Panel for detection of myocardial infarction. Clin.Chem., 1999, 45, 199-205
- Bonnar J., Flynn A., Freundl G., Kirkman R., Royston R., Snowden R. // Personal hormone monitoring for contraception. Brit. J. Fam. Planning, 1999, 24, 128-134
- Buechler K.F., Moi S., Noar B., McGrath D., Villela J., Clancy M. et al. // Simultaneous detection of seven drugs of abuse by the Triage Panel for Drugs of Abuse. Clin.Chem., 1992, 38, 1678-1684

- Bunce R., Thorpe G., Keen L. // Disposable analytical devices permitting automatic, timed, sequential delivery of multiple reagents. *An. Chim. Acta.*, 1991, 249, 263-269
- Chiem N.H., Harrison D.J. // Microchip systems for immunoassay: An integrated immunoreactor with electrophoretic separation for serum theophylline determination. *Clin. Chem.*, 1998, 44, 591-598
- Collinson P.O., Gerhardt W., Katus H.A., Muler-Bardoff M., Braun S., Schricke U. et al. // Multicenter evaluation of an immunological rapid test for the detection of Troponin T in whole blood samples/ *Eur.J. Clin Chem.Clin. Biochem.*, 1996, 34, 591-598
- Danielson S.J., Hilborn D.M. // Single-layer and multi-layer thin-film immunoassays. In: Price C.P., Newman D.J. (eds). *Principles and Practice of Immunoassays*. 2nd ed., London, Macmillan Reference Ltd., 1997, 547-577
- D'Costa E.J., Higgins I.J., Turner A.P. // Quinoprotein glucose dehydrogenase and its application in an amperometric glucose sensor. *Biosensors*, 1986, 2, 71-87
- Despotis G.J., Levine V., Filos K.S., Santoro S.A., Joist J.H., Spitznagel E., Goodnough L.T. // Evaluation of a new point-of-care test that measures PAF-mediated acceleration in cardiac surgical patients. *Anesthesiology*, 1996, 85, 1311-1323
- Hobbs F.D.R., Delaney B.C., Fitzmaurce D. A., Wilson S., Hyde C., J., Thorpe G.H. et al. // A review of near-patient testing in primary care. *Health Technol. Assessment*, 1997, 1, 1-229
- Klotz U. // Comparison of theophylline blood measured by standard TDx assay and a new patient-side immunoassay cartridge system. *Ther. Drug Monit.*, 1993, 15, 462-464
- Kricka J., Wilding P. // Microfabricated immunoassay devices. In: Price C.P., Newman D.J. (eds). *Principles and Practice of Immunoassays*. 2nd ed., London, Macmillan Reference Ltd., 1997, 607-624
- Manz A., Graber N., Widmer H.M. // Miniaturized total analysis systems: A novel concept for chemical sensors. *SensActuators*, 1990, B1, 244-248
- Matthews D.R., Bown E., Watson A., Holman R.R., Steemson J., Hughes S. // Pen-sized digital 30-second blood glucose meter. *Lancet*, 1987, 1, 778-779
- Merenbloom H.K., Oberhardt B.J. // Homogeneous immunoassay of whole-blood samples. *Clin.Chem.*, 1995, 41, 1385-1390
- Mirzabekov A. // Application of oligonucleotide, protein and cell Image Chips in clinical studies. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2002, spec. suppl., S24

- Oberhardt B.J., Dermott S.C., Taylor M., Alkadi Z.Y., Abrizzini A.F., Gresalfi N.J. // Dry reagent technology for rapid, convenient measurement of blood coagulation and fibrinolysis. *Clin. Chem.*, 1991, 37, 520-526
- Powell M. // A novel blood glucose testing system: First impression of the Glucometer Esprit. *Pract. Diabetes Int.*, 1998, 15, 7-8
- Price C.P., Thorpe G.H., Hall J., Bunce R.A. // Disposable integrated immunoassay devices. In: Price C.P., Newman D.J. (eds). *Principles and Practice of Immunoassays*. 2nd ed., London, Macmillan Reference Ltd., 1997, 581-603
- Pugia M.J., Lott J.A., Clark L.W., Parker D.R., Wallace J.F., Willis T.W. // Comparison of urine dipsticks with quantitative methods for microalbuminuria. *Eur J. Clin.Chem.Clin.Biochem.*, 1997, 35, 693-700
- Price C.P., Thorpe G.H. // Disposable Analytical Devices for Point-of-Care Testing. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 17-40
- Spitznagel T.M., Clark D.S. // Surface density and orientation effects on immobilized antibodies and fragments. *Biotechnology*, 1993, 11, 825-829
- Schouten Y., de Winter R.J., Gorgeles J.P.M.C., Koster R.W., Adams R., Sanders G.T. // Clinical evaluation of the CARDIAC STATus, a rapid immunochromatographic assay for simultaneous detection of elevated concentrations of CK-MB and myoglobin in whole blood. *Clin. Chem.Lab.Med.*, 1998, 36, 469-473
- Urdal P., Borch S.M., Landaas S., Krutnes M.B., Godstad G.O., Hjortdahl P. // Rapid immunometric measurement of C-reactive protein in whole blood. *Clin. Chem.*, 1992, 38, 50-584
- Ward-Cook K.M. // Point-of-Care Testing in the Workplace. . In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 517-537
- Wu A., Harmoinene A., Chamber D., Fagnan K., Ferrara L., Kennel N. et al. // Comparison of a thin-film immunoassay for C-reactive protein (CRP) with turbidimetric method. *Clin.Chem.*, 1994, 40, 1018A
- Zuk R.F., Ginsberg V.K., Houts T., Rabbie J., Merrick H/, Ullman E.F. et al. // Enzyme immunochromatography – a quantitative immunoassay requiring no instrumentation. *Clin. Chem.* 1985, 31, 1144-1150

4. ТЕХНИКА АМЛ: ПРИНЦИПЫ И ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ РЕШЕНИЯ

Хотя тест-системы «сухой химии» являются разновидностью готовых форм реагентов и многие из них могут использоваться самостоятельно, с визуальной оценкой результата анализа, тем не менее, их аналитическое применение с количественной оценкой результатов, а в ряде случаев и сама их конструкция, как это было показано в предыдущей главе, тесно связывают их с определенными видами лабораторного оборудования, специально разработанными для использования с этими видами готовых аналитических форм.

Семейство измерительных приборов, предназначенных для объективной детекции и количественной оценки результатов исследований, выполняемых с помощью средств АМЛ, становится все более разнообразным по применяемым в них физическим принципам измерения. Среди этих принципов: абсорбционная и отражательная фотометрия, турбидиметрия, оптическая детекция движений, электрохимия, фотоцифровая регистрация и анализ изображений.

Наиболее часто объективная детекция и количественная оценка результата исследования в средствах АМЛ осуществляется с помощью отражательных фотометров (впервые предложены в 1969 г. фирмой «Ames»).

Отражательные фотометры или рефлектометры - особый вид фотометрических устройств для количественного измерения света, отраженного поверхностью (рис. 4-1). В клинической лабораторной диагностике они находят применение при использовании различных вариантов «сухой химии» (диагностические полоски, многослойные аналитические элементы) для исследования различных аналитов в моче, крови, сыворотке, плазме.

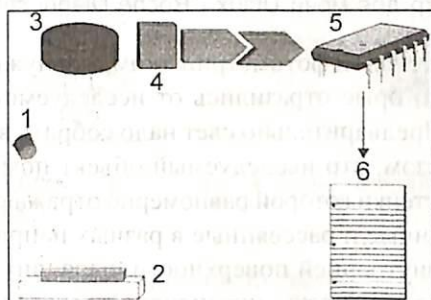


Рис. 4-1

Принцип работы отражательного фотометра

1 - светодиод; 2 - поверхность тестовой зоны; 3 - детектор; 4 - аналого-цифровой преобразователь; 5 - микропроцессор; 6 - результат в цифровой форме

Когда цветная биохимическая реакция проводится на тест-полоске, определенная зона полоски окрашивается. При использовании многослойного аналитического элемента окрашивается соответствующий слой элемента. В качестве источников света в таких системах используются светодиоды, эмитирующие свет той длины волны, которая специально подобрана для определенной цветной реакции на исследуемой зоне диагностической полоски. Для детекции отраженного от окрашенных зон полоски света могут применяться измерительные головки, воспринимающие свет через отрезок времени, соответствующий скорости развития окрашивания зоны, предназначенной для детекции определенного аналита. В отражательных фотометрах «Urilux S» (рис. 4-2), «Meditron M», «Meditron Junior II», и «Supertron» (Roche Diagnostics), предназначенных для исследований мочи с помощью диагностических полосок «Combur¹⁰ Test M», каждая измерительная головка включает три светодиода, эмитирующих свет различных длин волн (таблица 4-1).

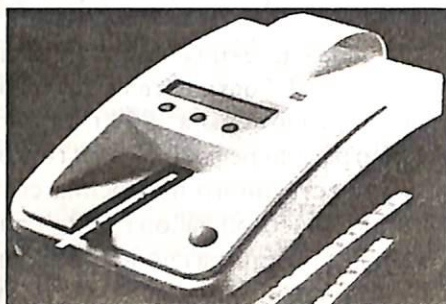


Рис. 4-2

Отражательный фотометр для мочи Urilux ("Roche Diagnostics")

Особенность отражательной фотометрии в том, что нужно измерить сумму световых потоков, которые отразились от исследуемой поверхности в разных направлениях. Предварительно свет надо собрать в одно место. Это достигается таким образом, что исследуемый объект помещается в сферу Ульбрихта, внутренние стенки которой равномерно отражают все цвета спектра. Лучи света, отраженные и рассеянные в разных направлениях, многократно отражаются от внутренней поверхности шара, внутри которого создается равномерная освещенность, интенсивность которой определяется суммой всего отраженного исследуемой поверхностью света. Иными словами, сфера усредняет свет по всем направлениям. Фотоприемник вмонтирован в сферу, фиксируя освещенность внутри нее (рис. 4-3).

Таблица 4-1

Условия фотометрического измерения различных зон диагностических полосок в отражательном фотометре «Miditron M» (Roche Diagnostics)

Аналит	Измерительная головка 1 (48 сек)	Измерительная головка 2 (120 сек)
Относительная плотность	620 нм	-
pH	620/555 нм	-
Лейкоциты	-	555 нм
Нитриты	555 нм	-
Белок	555 нм	-
Глюкоза	555 нм	-
Кетоны	-	555 нм
Уробилиноген	555 нм	-
Билирубин	555 нм	-
Кетоны	-	660/555 нм

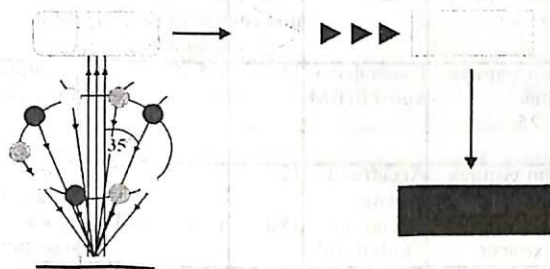


Рис. 4-3

Схема использования светодиодов в отражательном фотометре Miditron ("Roche Diagnostics")

Интенсивность отраженного света связана с содержанием исследуемого вещества формулой Кубелка-Мунка:

$$\frac{C/e}{S} = \frac{(1-R)^2}{2R}$$

где: С - концентрация исследуемого вещества,
 S - отражающая поверхность,
 R - количество отраженного света,
 e - молекулярный коэффициент экстинкции.

После преобразований эта формула принимает вид:

$$C = -(S/e) + (S/2e)R^{-1} + (S/2e)R$$

В отражательном фотометре «Рефлотрон», применяемом для регистрации результатов исследований ряда биохимических показателей в крови с помощью полосок «Рефлотест», используется функция:

$$C = A0 + A1R^{-1} + A2R^{n \cdot R} + A3$$

В случае, если $n > 0$, калибровочный график имеет сигмообразную форму, если же $n < 0$, то гиперболическую.

В настоящее время на рынке лабораторных приборов представлено немало вариантов полуавтоматических и полностью автоматизированных анализаторов мочи и крови, основанных на использовании сочетания «сухой химии» и отражательной фотометрии. В таблице 4-2 представлены технические характеристики некоторых полуавтоматических отражательных фотометров для работы средствами «сухой химии» с кровью.

Таблица 4-2

Портативные глюкометры – отражательные фотометры (для «сухой химии»)

Прибор, изготовитель	Биожидкость, объем пробы, мкл	Тест-полоска	Время измерения, сек	Диапазон Концентрации глюкозы ммоль/л	Проверка калибровки	Контрольные материалы
Глюкометр. ГосНИИБП. Биоприбор. Россия	Капиллярная кровь. ок. 25	Глюкофотохром БП-М	15	1,5 - 25	Калибр. полоска	Контрольные растворы глюкозы 5 концентраций
Accutrend "Roche". Швейцария	Капиллярная кровь. 15 -глюк. 14 холест.	Accutrend Glucose Accutrend Cholesterol	12 180	1,11 - 33,0	По коду полоски при каждом измерении	Контрольные растворы
Supreme. "Huroguard". Англия	Капиллярная кровь. 7	Supreme	55	2,22 - 22,0	Внутренняя автоматическая при каждом измерении	Контрольные материалы 3 концентрации
One Touch II, "Life Scan". США	Капиллярная, венозная кровь. 10	One Touch	45	0 - 33,0	Калибр. полоска ежедневно	
Glucometer Encore. "Miles". США	Капиллярная кровь. 10	Glucometer Encore	15-60	0,55-33,0	Калибр. полоска ежедневно	

Простота и быстрота выполнения исследования, калибровка прибора (в некоторых случаях - автоматическая), специфичная для каждой партии полосок, возможность проверки качества исследований с помощью специальных контрольных полосок, которые измеряются через определенное количество измерений на тест-полосках проб пациентов - все эти качества современных портативных глюкометров способствуют их широкому применению. Предпочтение оказывается приборам, не нуждающимся в снятии капли крови перед измерением, так как эта процедура создает дополнительные источники ошибок.

Наряду с моноцелевыми отражательными фотометрами, разработаны полуавтоматические и полностью автоматические измерительные приборы для регистрации результатов различных биохимических исследований биоматериалов с помощью средств «сухой химии». Так, комплекс диагностических полосок «Рефлотест» (см. раздел «Аналитика средств АМЛ») с отражательным фотометром «Рефлотрон» представляет собой целую биохимическую лабораторию, не нуждающуюся в пробоподготовительных этапах и позволяющую получать информацию последовательно по 16 популярным биохимическим параметрам или по любой комбинации из них за несколько минут из пробы цельной крови (Maclin E., Mahoney W.C., 1995). В «Рефлотроне» применяются три диода, эмитирующих свет с длинами волн 565, 642 и 950 нм (с точностью до ± 1 нм). Сервер прибора воспринимает до 500 бит информации, содержащейся в магнитном коде, нанесенном на каждую диагностическую полоску «Рефлотест». В состав этой информации входят 4 константы, относящиеся к уравнению Кубелка-Мунка, длины волн света, время преинкубации, число измерений и интервалы между ними (Stahler F., 1983). Все необходимое для работы с этой аналитической системой умещается на письменном столе (рис. 4-4). Хотя эту систему нельзя назвать в полном смысле слова портативной, тем не менее она удобна для применения в некоторых условиях оказания внебольничной помощи.

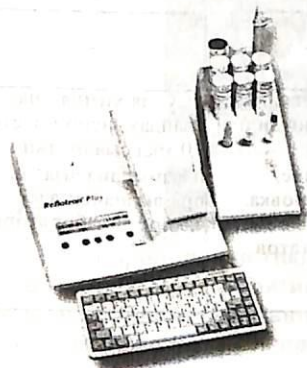


Рис. 4-4

Биохимический экспресс-анализатор
Reflotron Plus ("Roche Diagnostics")

Таблица 4 -3

Технические характеристики некоторых анализаторов-отражательных фотометров (по И.С. Балаховский, Т.И. Лукичева, В.В. Меньшиков, 2002)

Характеристики приборов	Прибор, фирма-изготовитель		
	Reflotron II „IV“ Roche Diagnostics	Seralyzer III „Miles“	DT 60 II Kodak Ectachem. „Johnson & Johnson“
Оптические характеристики	Диоды, возбуждающие свет (LED 567,642,951 нм)	ксеноновая импульсная трубка, 9 светофильтров (340,530,535, 560,580,600, 620,640,740 нм)	Возбуждающие свет диоды: зеленый, красный, желтый
Термостатирование измерительного блока	25° С 30° С 37° С		Встроенный термостат
Измерения кинетические	+		+
Измерения по конечной точке	+	+	+
Способ расчета	+	+	+
Способ выдачи результатов	дисплей встроенный принтер, обычная бумага	дисплей, внешний принтер, обычная бумага	дисплей, термо- принтер
Аналиты	16 тестов, ферменты, субстраты, калий	15 тестов, ферменты, субстраты, калий, лекарства	В зависимости от модуля: электролиты, ферменты, кальций, теофиллин, субстраты лактат, аннионный интервал
Использование реактивов других фирм	Закрытая система	Закрывающая система	Закрытая система
Встроенные программы контроля качества	-	-	-
Примечания	Тест-полоски с магнитным кодом, 32 мкл цельной крови или сыворотки или плазмы (калий, холестерин липопротеидов высокой плотности), автоматич. контроль по контрольной полоске	Тест-полоски, 10 мкл сыворотки или плазмы на 1 определение, автокалибровка, хранение в памяти 25 результатов.	“Сухая химия” на слайдах, используется 10 мкл сыворотки или плазмы, анализатор предназначен для экспресс-лабораторий

В таблице 4 - 3 приведены технические характеристики некоторых много-профильных настольных анализаторов, работающих с использованием средств «сухой химии», которые могут применяться при необходимости приближения лабораторных исследований к месту лечения (“near-patient-testing”).

Настольный автоматический отражательный фотометр Spotchem EZ (“Arkgray”) предназначен для количественной оценки результатов исследований в сыворотке или плазме крови 23 биохимических компонентов с помощью диагностических полосок как для одиночных исследований (могут оцениваться одновременно 3 полоски), так и для панельных полосок (1 полоска на 9 параметров). Для 9 тестов требуется примерно 100 мкл сыворотки. Время анализа 10 минут. Прибор калибруется магнитной картой для каждой партии полосок, имеет встроенную центрифугу и автоматическое устройство для дозирования проб после центрифугирования, термопринтер. Фотометр ориентирован на внешнюю программу обработки данных, с которой может иметь дистанционную связь, оснащен интерфейсом RS 232.

Приборы для быстрого определения отдельного аналита могут быть основаны и на фотометрическом или электрохимическом определении аналита (например, глюкозы) в одноразовом картридже. В портативных глюкометрах-фотометрах обычно используют одноразовую миниатюрную кювету из прозрачного пластика, содержащую необходимые для определения глюкозы реактивы, в том числе реактив, вызывающий гемолиз, и реактивы, вызывающие образование окрашенного соединения, по светопоглощению которого прибор рассчитывает концентрацию глюкозы. Анализатор глюкозы в крови фирмы «НемоСие» (рис. 4-5) располагает самонаполняющейся микрокюветой с сухими реактивами, в которую благодаря капиллярному эффекту поступает кровь из прокола пальца и смешивается с реактивами.

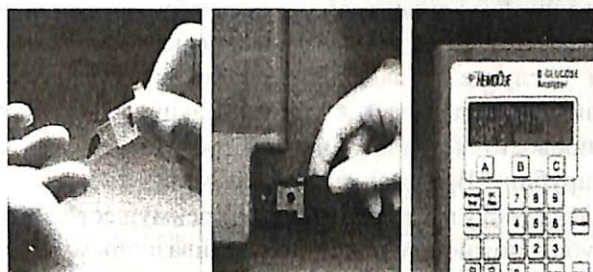


Рис. 4-5

Процедура определения глюкозы в фотометрическом анализаторе НемоСие (“НемоСие”). Слева – взятие пробы крови из пальца в капиллярную систему кюветы; в середине – вставление кюветы в анализатор; справа – чтение результата анализа на дисплее прибора

Фотометрия производится в той же кювете на двух длинах волн света, что позволяет автоматически компенсировать фоновое значение. Таким образом, одноразовый картридж этого прибора выполняет функции пипетки для дозирования пробы, пробирки для осуществления реакции и измерительной кюветы фотометра. Прибор имеет детектор штрихового кода для идентификации проб и пациентов, память с емкостью до 1000 результатов с данными идентификации, даты и времени анализа, а также связь с принтером для печатания результатов, интерфейсы с общим принтером лаборатории, с персональным компьютером и центральной базой данных о пациентах. На основе того же технического оснащения гемоглобинометр той же фирмы измеряет низкие концентрации гемоглобина в крови за 45-60 сек. что позволяет использовать его непосредственно в операционных и в лабораториях переливания крови. В микрокювету прибора за счет капиллярного эффекта засасывается 10 мкл крови, которая затем в той же кювете подвергается гемолизу под действием натрийдезоксихолата, далее гемоглобин превращается за счет контакта с NO_2 в метгемоглобин, который, в свою очередь, реагируя с N_3^- , образует азидгемоглобин, измеряемый фотометрически при 570 и 880 нм (для компенсации возможных влияний).

Для быстрого определения билирубинемии как у новорожденных, так и у взрослых людей, используют, наряду с определением обычными методами на больших лабораторных анализаторах, моноцелевые приборы - билирубинометры. Измерение светопоглощения проходящего света в них проводится на двух длинах волн: 455 нм и 575 нм. Оптическая плотность, измеренная на длине волны 455 нм, пропорциональна концентрации билирубина и гемоглобина, а измеренная на длине волны 575 нм - пропорциональна только концентрации гемоглобина. Прибор автоматически пересчитывает результат измерения в единицы концентрации общего билирубина с помощью фактора, который рассчитан на основе исследования калибровочного раствора билирубина. В случае добавления в кювету диазореактива в присутствии прямого билирубина развивается цветная реакция и определение оптической плотности проводится аналогично спектрофотометрическому измерению общего билирубина. Время анализа - 5-10 мин.

Непосредственно у постели пациента (преимущественно - у новорожденных) билирубин можно исследовать и неинвазивным методом с помощью транскожного билирубинометра. Световодная головка - сенсор с источником возбуждающего света помещается на чистую (свободную от пигментации, сосудистого пятна или подкожной гематомы) кожу лба или груди (в области грудины) новорожденного. Отраженный от поверхности кожи свет

разделяется на два луча с помощью дихронного зеркала и измеряется двумя оптическими детекторами на длине волны 455 нм и 575 нм. Полученные результаты хорошо коррелируют с концентрацией билирубина в ткани, а она, в свою очередь, с концентрацией его в крови. В связи с меньшей достоверностью этого способа по сравнению с определением в крови его применяют для скрининга при оценке гипербилирубинемии у новорожденных с целью выявления группы риска для решения вопроса о необходимости дальнейшего лабораторного обследования. В таблице 4 - 4 приведены характеристики некоторых билирубинометров.

Таблица 4 - 4

Сравнительные характеристики некоторых билирубинометров

(по; И.С. Балаховский, Т.И. Лукичева, В.В. Меньшиков, 2002)

Характеристика	Фирма-изготовитель, страна, название прибора				
	НПО «Техномедика» Россия	Minolta Camera Co Ltd Япония	Bertocchi, Industry Electromedical, Италия		
	Билитест-М	Билимет	Jaundice meter	Gacomo Bilirubinometer Mod/GB-T3A	TotBil
Тип прибора	ручной	настольный	ручной	настольный	
Принцип измерения	транскожный	прямая спектрофотометрия	транскожный	прямая спектрофотометрия	Прямая фотометрия
Длина волны, нм	520/493	550/460		540/735	
Биожидкость для анализа	не требуется	плазма	не требуется	плазма	
Объем пробы	«-»	из 40мкл капиллярной крови		ок.90мкл капиллярной крови	
Время измерения, с.	1-2	1	10	1-2	
Вид билирубина	измеренный чрезкожно результат коррелирует с общим билирубином сыворотки	общий	измеренный чрезкожно результат коррелирует с общим билирубином сыворотки	общий	общий
Единицы	транскутанный индекс, (ТКИ)	мкмоль/л	транскутанный индекс, (ТКИ)	мг/100мл	мкмоль/л
Диапазон измерения ТКИ мкмоль/л мг/100мл	0-40, коррелир. с концентрацией 0-400	0-600	ТКИ, коррелир. с концентрацией 0-684	до 20	

Предложенная в 70-х годах фирмой «Кодак» технология многослойных сухих аналитических элементов была применена для выполнения различных видов исследований первоначально в небольших отражательных фотометрах, которые могли бы использовать частно-практикующие врачи. На основе использования этих элементов различного типа (см. раздел «Аналитика средств АМЛ») создана серия приборов Vitros различной производительности. В практике находят применение и другие варианты аналитических систем, сочетающих многослойный способ компоновки сухих реагентов с объективной детекцией продуктов их реакции с искомым аналитом в приборе небольшого размера. Stat-Site System фирмы «GDS Technology, Inc.» представляет собой миниатюрный многоволновой отражательный фотометр - детектор количественных результатов быстрого определения компонентов цельной крови: гемоглобина, общего холестерина, глюкозы, кетонов, а также ацетаминофена и теофиллина с помощью многослойных тестовых карточек (рис. 4-6).

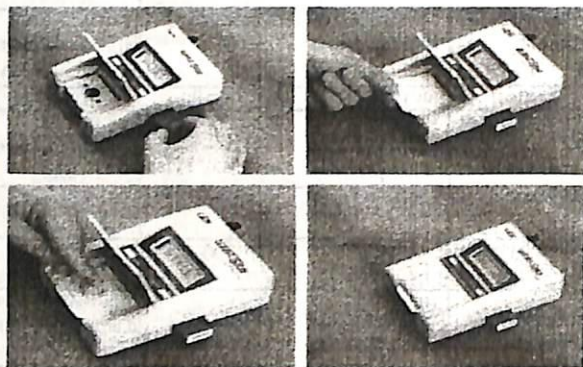


Рис. 4-6

Процедура определения аналита с помощью тест-карточки с сухими реагентами и ручного отражательного фотометра GDS Stat-Site System ("GDS"). Вверху слева – вставление в прибор тест-модуля; справа – вставление тест-карточки; Внизу слева – нанесение пробы на тестовую зону карточки; справа – чтение результата на дисплее прибора

Система Piccolo («Abaxis», США) характеризуется как многоцелевой биохимический фотометрический анализатор крови, способный применяться в месте обследования и лечения пациента (рис. 4-7). В этом анализаторе используются специальные одноразовые пластиковые диски диаметром 8 см, в отсеках которых содержатся лиофилизированные реагенты, предназначенные для определенных биохимических тестов или их набора, ориенти-

рованного на решение определенной диагностической задачи (например, печеночная панель), а также растворитель. Фирма выпускает несколько видов дисков-роторов, отличающихся набором исследуемых аналитов. Каждый диск содержит 21 кювету и систему каналов, расположение которых определяет последовательность происходящих в диске процессов при его вращении.

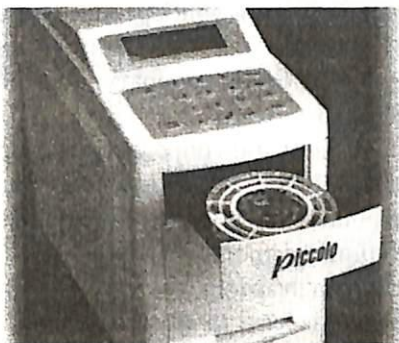


Рис. 4-7

Общий вид минифотометра Piccolo ("Abaxis")

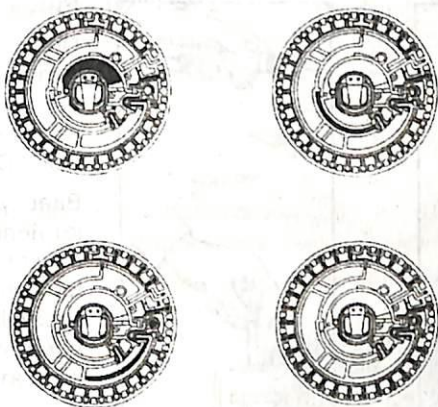


Рис. 4-8

Схема процедуры определения аналитов с помощью диск-роторов фотометра Piccolo ("Abaxis") (По Kallner A., 1999).

1 – Проба цельной крови вводится в диск. 2 – Происходит разделение крови от плазмы и дозирование дилуэнта. 3 – Происходит дозирование плазмы, соединение ее с дилуэнта и их смешивание. 4 – Разведенная плазма распределяется по кюветам и смешивается с реагентами, происходит оптическое измерение концентрации аналитов

После внесения пробы (от 90 до 120 мкл крови с литиевой солью гепарина) запускается ротор, который выполняет сложную программу вращения с различной скоростью и в различных направлениях, что приводит к отделению клеток крови, точному дозированию плазмы для реакции, разведению плазмы точно дозированным дилуэнтном и растворению этой смеси реагентов, производится считывание результатов кинетических реакций или реакций по конечной точке, для чего в приборе имеется оптическая система, позволяющая производить измерения на 9 длинах волн (рис. 4-8). Реакции происходят в строго обусловленном температурном интервале, чаще всего при 37 °С. Время анализа - до 15 мин.

Оптическая регистрация результата определения скорости оседания эритроцитов в приборе Mini-ves ("Diesse") осуществляется с помощью инфракрасного сенсора, измеряющего изменение степени непрозрачности в столбике крови по мере оседания эритроцитов (рис. 4-9 а, б).

Результаты определения на некоторых иммуно-аналитических тест-кассетах могут быть объективно зарегистрированы на соответствующих детекторах. Так, например, с помощью отражательного фотометра «Кардиоридер» ("Roche Diagnostics") осуществляется количественная оценка резуль-

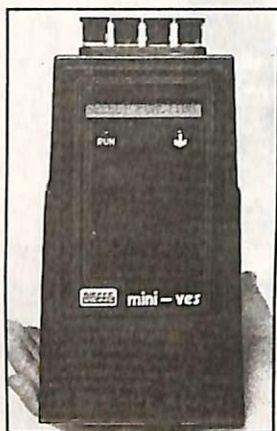


Рис. 4-9а

Портативный прибор для быстрого измерения скорости оседания эритроцитов Mini-ves ("Diesse")



Рис. 4-9б

Процедура работы на портативном приборе для быстрого измерения скорости оседания эритроцитов Mini-ves ("Diesse")

Вверху – 1 мл крови собирают непосредственно в пластиковую пробирку Vacutec, которая играет роли емкости для взятия пробы и кюветы для измерения результата

В середине – пробу тщательно перемешивают и помещают в Mini-ves

Внизу – цикл измерения начинают нажимом кнопки. Результат регистрируется через 20 минут

татов определения сердечных маркеров миоглобина, тропонина, креатинкиназы МВ, а также Д-Димера в крови (рис. 4-10).

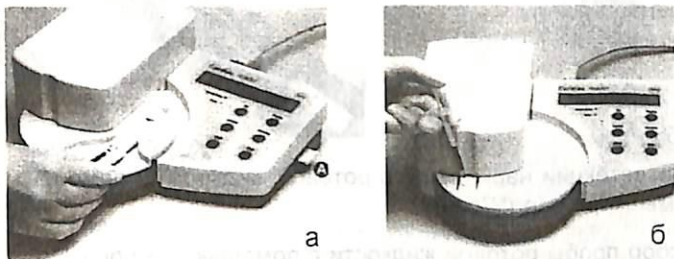


Рис. 4-10

Иммуно-химический экспресс-анализатор (отражательный фотометр для иммуно-аналитических тест-кассет) Cardioreader ("Roche Diagnostics")

а - вставление тест-кассеты в прибор (А - обозначен кодирующий микрочип);
б - внесение пробы (150 мкл цельной гепаринизированной крови) в тест-кассету, помещенную в прибор

Портативная аналитическая система RapiScan ("Cozart") предназначена для быстрого определения наличия наркотических препаратов в жидкости полости рта. Порция жидкости собирается в тампон, который затем отжимается в одноразовый картридж, в котором с применением иммунохимической методики на протяжении нескольких минут происходит детекция наличия наркотика. Результат регистрируется портативным анализатором, позволяющим точно выдерживать необходимое для инкубации время, прочитывать, интерпретировать и хранить результаты исследований, которые также могут выдаваться на экран дисплея и распечатываться (рис. 4-11а, б). Прилагаемые к системе картриджи рассчитаны на определение панели из 5 (каннабиноиды, амфетамин, кокаин, опиаты, бензодиазепин либо метадон, амфетамин, кокаин, опиаты, бензодиазепин) или двух (метадон, опиаты либо кокаин, опиаты) наркотиков.



Рис. 4-11а

Аналитическая система для детекции наркотиков в ротовой жидкости RapiScan ("Cozart")



Рис. 4-116

Процедура детекции наркотиков в ротовой жидкости с помощью аналитической системы RapiScan ("Cozart")

Слева – сбор пробы ротовой жидкости с помощью тампона

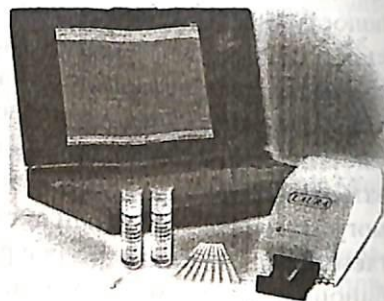
В середине – Проба биоматериала выжимается в одноразовый тест-картридж

Справа – Регистрация результата исследования на портативном регистрирующем приборе

Новым способом детекции и количественной оценки результатов исследований мочи диагностическими полосками является применение цифровой фотокамеры и компьютерного анализа изображений (прибор "Laura" фирмы "Pliva-Lachema") (рис. 4-12).

Рис. 4-12

Анализатор мочи Laura для диагностических тест-полосок DecaPHAN leuco (10 параметров) ("Pliva-Lachema"). (Цифровая камера, компьютерный анализ изображений, графическое воспроизведение интенсивности сигналов на экране)



Сходная технология регистрации и обработки данных, основанная на использовании сенсора изображений с разрешением 70m/pixel, используется в приборе "PSA Reader" ("77 Elektronika"), предназначенном для полуколичественного определения простатического специфического антигена в сыворотке или плазме с помощью иммунохроматографической платформы RAPI Screen PSRA Test. Оригинально решена задача быстрого иммуноисследования с помощью одноразового шприца "Spritzen-Immun-Test" ("Institut für Chemo- und Biosensorik", ICB), совмещающего в себе устройство для взятия пробы, аналитическую систему, основанную на конкурентном иммуноанализе или сэндвич-методе, и высокочувствительную флуорометрическую детекторную систему (рис. 4-13).

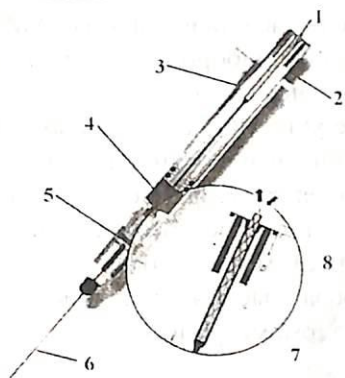


Рис. 4-13

Портативный иммуноанализатор Spritzen-Immuno-Test ("Institut für Chemo- und Biosensorik")

1 – источник света; 2 – модифицированная колба; 3 – цилиндр шприца; 4 – проба; 5 – мембрана-адаптер; 6 – двусторонняя канюля; 7 – свет возбуждения; 8 – свет флуоресценции

Пробу (моча, цельная кровь, сыворотка) засасывают в шприц, содержащий капиллярную емкость с моноклональными антителами, мечеными инфракрасным флуорофором. После короткого периода инкубации реакционная смесь через капиллярный канал устремляется в измерительную камеру сенсора. Связавшиеся в процессе реакции с аналитом детекторные меченые антитела захватываются в сенсорной камере иммобилизованными там вторыми антителами. Образовавшийся комплекс располагается в зоне шириной около 150 нм, что обеспечивает специфичность определения (рис. 4 – 14).

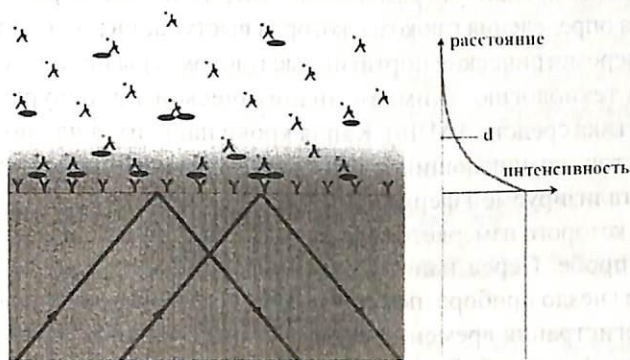


Рис. 4-14

Принцип определения аналита по флуоресценции маркера (Evanescent-Feld-Anregung) в Spritzen-Immuno-Test

Оптический сенсор измеряет в этой зоне величину сигнала, пропорциональную концентрации аналита (обработка сигнала производится внешним измерительным устройством). По данным авторов (Katerkamp A., Key G.), исследование мышечных белков - миоглобина и белка, связывающего жирные кислоты - занимает несколько минут.

Оптическая регистрация результатов исследований в приборах АМЛ все чаще заменяется биосенсорной, поскольку для приборов этого типа достаточно минимального объема пробы крови (менее 10 мкл).

Биосенсорами называют аналитические устройства, в которых в качестве компонента используется тот или иной биологический материал (ткань, микроорганизмы, органеллы, клеточные рецепторы, ферменты, антитела, нуклеиновые кислоты и др.), производные биологического материала или биомиметики, сопряженные с электрохимическим транзьюсером или транзьюсерной микросистемой, либо интегрированные в них; транзьюсер может быть оптическим, электрохимическим, термометрическим, пьезоэлектрическим или магнитным (рис. 4-15).

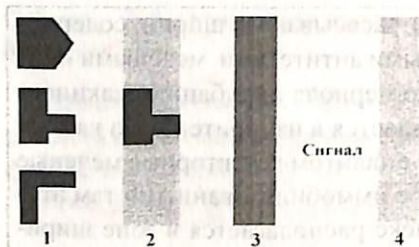


Рис. 4-15

Принципиальная схема биосенсора

- 1 – аналиты; 2 – биорецептор (аффинный, каталитический); 3 – транзьюсер; 4 – электронная схема

Наиболее продвинута разработка измерительных устройств биосенсорного типа для определения глюкозы, которая выступает в роли модельного аналита.

Амперометрические портативные глюкометры используют электрохимическую технологию. (химизм аналитической процедуры – см. в разделе «Аналитика средств АМЛ»). Капля крови наносится на биосенсор. Электрический ток, возникающий в результате развивающейся химической реакции, катализируемой ферментом, воспринимается зондом электрода, с помощью которого измеряется его сила, пропорциональная концентрации глюкозы в пробе. Перед нанесением крови биосенсор вставляется в измерительное гнездо прибора, после нанесения капли крови удаления ее не требуется. Регистрация времени реакции осуществляется автоматически. Так, в приборах фирмы «Байер» «Glucometer Dex», «Esprit», «Elite» используется электрохимический сенсор, с которым реагирует глюкоза в пробе крови, взятой из пальца. Устройство для дозирования пробы состоит из капиллярной петли; поступление необходимого для анализа количества крови отмечается звуковым сигналом. Результат высвечивается на экране прибора через 30 сек. Обеспечена автоматическая калибровка. Глюкометр «Elite» особенно удобен для детской эндокринологии, поскольку для анализа достаточно всего 2 мкл капиллярной крови. Прибор «Esprit», снабжен диском с 10 закрыты-

ми фольгой одноразовыми сенсорами, заменяющими тест-полоски. Память прибора способна сохранить результаты до 100 проведенных тестов с указанием даты и времени анализа. Кроме того, прибор может быть напрямую сопряжен с портативным компьютером для обработки данных исследований (рис. 4-16).

Весьма многообещающие результаты получены в области создания искусственных рецепторов для глюкозы на основе полимеров, содержащих борониевую кислоту.



Рис. 4-16

Биосенсорный глюкометр Esprit ("Bayer Diagnostics")

На применении амперометрических биосенсоров основан портативный экспресс анализатор SensLab -la, предлагаемый фирмой «НПФ Абрис+» для исследования в цельной крови и культуральных средах глюкозы (линейность 5-180 мг/л), лактата (линейность 1-90 мг/л) и этанола (линейность 5-230 мг/л).

В таблице 4-5 приведены характеристики некоторых электрохимических портативных глюкометров отечественного и зарубежного производства.

Таблица 4-5

Электрохимические портативные глюкометры (биосенсорные)

Прибор, Производитель	Биосенсор	Биожидкость/ объем пробы мкл	Время анализа, сек	Диапазон концентраций, ммоль/л	Калибровка	Контроль
Сателлит ЭЛТА, Россия	ПКГЭ-1	Капиллярная кровь/ 13	38	2-25	Внутренняя автоматическая при включении	Контрольный биосенсор
Accu-Chek Inform Roche	Accu-Chek Sensor	Капиллярная, венозная, артериальная кровь/ 4	40	1,11-33,3	Внутренняя автоматическая	Контрольные растворы
Precision Pch, MediSense Abbott	Microflo Plus, 3 электрода	Капиллярная, венозная, артериальная кровь/ 3,5	20	1,1-33,3	Внутренняя автоматическая	Контрольные растворы

Одноразовые тест-картриджи многоцелевого биосенсорного портативного анализатора i-STAT представляют собой комбинации силиконовых чипов с различными вариантами электрохимических детекторов – ион-селективных мембранных электродов. Помимо электродов, в картридже, предназначенном для исследования определенных аналитов, содержится калибровочный забуференный раствор искомого аналита известной концентрации, система обработки пробы и при необходимости – нагревательный элемент.

В процессе исследования сначала на биосенсор поступает калибровочный раствор, формирующий при этом сигнал запоминается, а затем сравнивается с сигналом, образующимся при контакте с сенсором пробы пациента. Сравнение сигналов, расчет на этой основе концентрации исследуемого аналита – функция основного электронного узла прибора. В зависимости от особенностей измеряемого аналита применяется потенциметрическое, амперометрическое или кондуктометрическое определение. Прибор обеспечивает быстрое выполнение исследования в свежей цельной крови 11 измеряемых (натрий, калий, хлориды, азот мочевины, глюкоза, ионизированный кальций, гемоглобин, гематокрит, pH, pCO_2 , pO_2) и 5 расчетных (HCO_3^- , общ. CO_2 , избыток оснований, насыщение кислородом) тестов (в разных комбинациях) непосредственно клиническим персоналом в любой ситуации, которая требует срочной лабораторной информации (рис. 4-17 а, б).



Рис. 4-17а

Вид картриджа и принцип измерения в анализаторе i-STAT 1 ("i-STAT Corp."). Слева направо: общий вид картриджа EC-8 для определения натрия, калия, ионизированного кальция, pH, pCO_2 , pO_2 , глюкозы; контакты сенсорного устройства измерительного прибора с картриджем; измерение сенсорным устройством прибора содержания аналитов в крови, заполнившей камеру картриджа

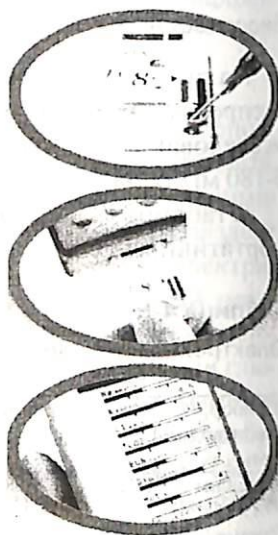


Рис. 4-17б

Этапы исследования аналитов крови на портативном анализаторе i-STAT 1: сверху - нанесение пробы крови на картридж; в середине - введение картриджа в прибор; внизу - чтение результата на дисплее через 2 минуты

Многоканальное биосенсорное устройство AVL OMNI позволяет параллельно исследовать несколько анализов, например, мочевину, глюкозу и лактат. Проба цельной крови или плазмы объемом 44 мкл наполняет 12 содержащих, соответственно, глюкозоксидазу, лактатоксидазу и уреазу сенсорных пятен кассеты, которая помещается в термостат при 25 °С, и через 90 сек могут быть получены результаты, определяемые с помощью амперометрических детекторов.

Прибор GEM Premier ("Instrumentation Laboratory") также основан на измерении концентрации газов крови и электролитов с помощью потенциометрии и электрохимии, однако его картриджи рассчитаны на многоразовое (до 300 тестов) использование (рис. 4-18).

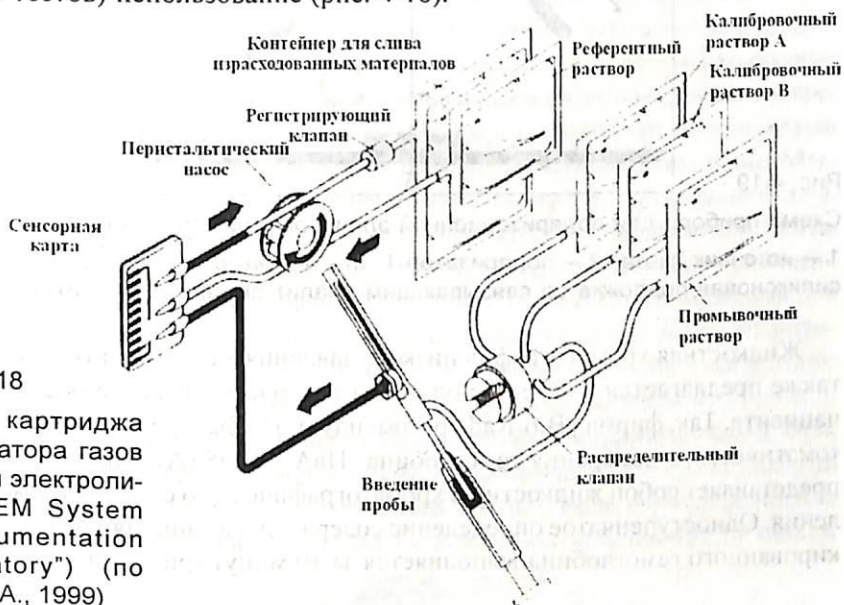


Рис. 4-18

Схема картриджа анализатора газов крови и электролитов GEM System ("Instrumentation Laboratory") (по Kallner A., 1999)

Аналогичная аналитическая технология используется в настольных приборах Immediate Response Mobile Analysis (IRMA) ("Diametrics Medical") (Hedlund K.D. et al., 1997) и NOVA Series ("Nova Biomedical") (Shapiro B.A. et al., 1989).

Биосенсорная технология применяется в устройствах для определения гемоглобина. Так, прибор HemoSmart ("ApxBio") позволяет в течение 30 сек. в пробе порядка 3 мкл крови, нанесенной на амперометрическую теплослоску, определить концентрацию гемоглобина в диапазоне 10-20 г/дл при корреляции 0,91 с референтным методом Международного комитета по стандартизации в гематологии.

Ведутся работы по созданию биосенсорных устройств для определения ДНК, онкомаркеров, гормонов, вирусов и микроорганизмов. Так, разработаны тонкослойные биосенсоры для быстрого (около 25 минут) визуального обнаружения ДНК-мишеней с пределом обнаружения порядка 5 пико-моль/л или 150 амтомоль на пробу при стоимости исследования не дороже обычного ДНК-анализа. Намечена перспектива превращения этого теста в количественный за счет применения эллипсометрии (рис. 4-19).

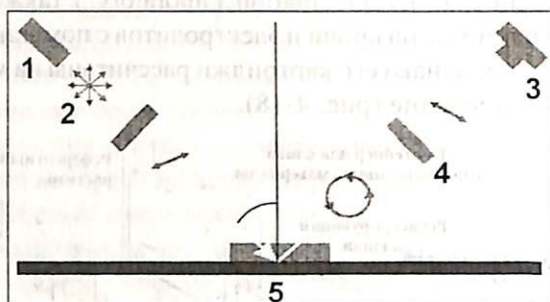


Рис. 4-19

Схема прибора для поляризационной эллипсометрии (по Ostroff, 1998)

1 - источник света; 2 - поляризатор-1; 3 - детектор; 4 - поляризатор-2; 5 - силиконовая подложка со связывающим аналит реагентом (антителом)

Жидкостная хроматография низкого давления в ее компактном варианте также предлагается в качестве одной из технологий в месте обследования пациента. Так, фирма «Bio-Rad» рекомендует для быстрого и полностью автоматического измерения гемоглобина HbA_{1c} DiaSTAT Analyser, который представляет собой жидкостную хроматографическую систему низкого давления. Одноступенчатое определение содержания в капиллярной крови гликированного гемоглобина выполняется за 10 минут (рис. 4-20).



Рис. 4-20

Жидкостно-хроматографический анализатор гликированного гемоглобина ("BioRad")

Миниатюризация коагулологических исследований осуществляется преимущественно с использованием «механического» метода. Суть его состоит в том, регистрируется скорость движения магнитного шарика, помещенного в емкость со смесью крови и активаторов ее свертывания. Снижение этой скорости до определенного предела вследствие препятствия, оказываемого перемещением магнита образующимся сгустком крови, характеризует состояние соответствующего параметра системы свертывания. Впервые прибор, основанный на этом принципе, Hemochron T400 (ИТС) был предложен в 1969 г. (Blumenthal R.S. et al., 1995) для определения времени свертывания крови по методу Lee-White (1913). Одноканальный прибор комплектовался набором пробирок с лиофилизированными активаторами свертывания крови, специфичными для отдельных параметров системы свертывания: тромбопластином – для определения протромбинового времени, каолином и аналогом фактора 3 тромбоцитов – для определения активированного частичного тромбопластинового времени. После внесения пробы крови в пробирку и помещения ее в тестовую лунку начинается вращение пробирки и запускается электронный таймер. Магнитный детектор улавливает перемещения магнита внутри пробирки до тех пор, пока образовавшийся сгусток крови не воспрепятствует движениям магнита, что регистрируется детектором и таймером. Прибор требовал довольно большого объема пробы (2,0 мл крови), что препятствовало его применению для длительного слежения за состоянием свертывающей системы. Усовершенствование прибора путем замены пробирок кюветами с реагентами и магнитного детектора – оптическим привело к уменьшению объема пробы до 50 мкл и повышению точности результатов. В этом варианте прибора Hemochron Jr. Signature (рис. 4-21) (Pam C.M. et al., 1996) точно дозируется в тестовый канал 15 мкл из введенной пробы, и затем смесь пробы с реагентами с помощью встроенной помпы прокачивается взад и вперед сквозь узкую апертуру канала.



Рис. 4-21

Микрокоагуляционная система Hemochron Jr. Signature ("International Technidyne Corporation")

Скорость прохождения смеси контролируется оптическим детектором и при ее снижении до установленного предела из-за образования сгустка регистрируется время свертывания. Прибор позволяет определить активированное время свертывания и активированное частичное тромбопластиновое время свертывания. Первый из этих тестов может быть выполнен с помощью двух видов картриджей, один из которых позволяет контролировать от низких до средних уровней содержания гепарина (0-2,5 ед/мл), результаты - до 400 сек. а второй – от средних до высоких уровней гепарина (1-6 ед/мл), результаты - до 1005 сек. Второй из названных тестов проявляет чувствительность при низких дозах гепарина до 1,5 ед/мл, результаты – до 400 сек. Контроль качества осуществляется с применением жидких растворов и электронных средств.

На том же принципе основана работа прибора ProTime Microcoagulation System (Andrew M. et al., 1995), в котором кювета содержит не один, а пять каналов, три из которых выполняют роль аналитических, а остальные два – контрольные (рис. 4-22а, б). Таким образом, результат исследования представлен медианой из трех тестовых значений и удостоверяется двумя контрольными измерениями. Результаты хорошо коррелируют с данными стационарной лаборатории (Pierce M.T. et al., 2000).



Рис. 4-22а

Микрокоагуляционная система ProTime ("International Technidyne Corporation")

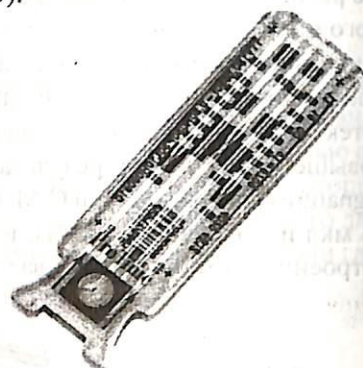


Рис. 4-22б

Кювета микрокоагуляционной системы ProTime

Оптическая регистрация движения смеси пробы с реагентами используется также в системе CoaguChek Plus ("Boehringer Mannheim" – "Roche Diagnostics") (Solomon H. Et al., 1998) в форме одноразовых картриджей, содержащих реагенты для определения протромбинового времени и активированного частич-

ного тромбопластинового времени и капиллярные каналы. Проба вводится в картридж, нагреваемый до температуры $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, и после смешивания с реактивами осциллирует в тестовом канале. Проходя через канал, луч когерентного лазера вызывает при соприкосновении с эритроцитами вспышки или картины интерференции, воспринимаемые детектором. Образование сгустка снижает частоту флюктуации и при достижении установленного порога регистрирует время свертывания (рис. 4-23а, б).

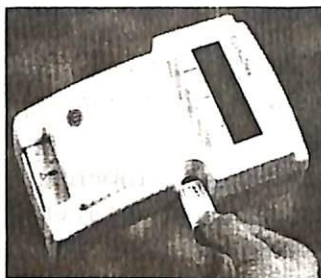


Рис. 4-23а

Портативный экспресс-коагулометр (лазерный фотометр) CoaguChek Pro ("Roche Diagnostics"). Вставление чип-кода для реагентов и калибраторов при исследовании АЧТВ

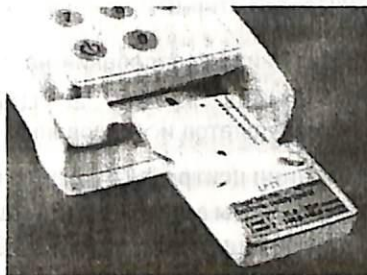


Рис. 4-23б

Портативный экспресс-коагулометр (лазерный фотометр) CoaguChek Pro ("Roche Diagnostics"). Вставление тест-кассеты для контроля качества работы микропроцессора и лазерной системы при исследовании АЧТВ

Своеобразная технология быстрого анализа клеточного состава крови реализована в гематологическом анализаторе QBC-Autoread Plus ("Becton Dickinson"), представляющем собой комбинацию из микрогематокритной центрифуги и флюорометрического ридера (QBC – Quantitative Buffy Coat, что можно перевести как «количественное измерение в светлом слое кровяного сгустка»). Эта аналитическая система позволяет проводить в пробе (70 мкл) капиллярной или венозной крови, смешанной с антикоагулянтом, быстрое (в течение 15 минут) определение основных показателей ее состава: гематокрита, гемоглобина, средней корпускулярной концентрации гемоглобина, количества лейкоцитов, абсолютного и процентного содержания гранулоцитов, лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов (Wardlaw S.C., Levine R.A., 1983). Пробу крови вносят в микрогематокритную капиллярную трубку, внутри которой находится плавающий пластиковый цилиндр с относительной плотностью (1055) между соответствующими значениями для плазмы (1028) и эритроцитов (1090). Трубка содержит оксалат калия, антитела, агглютинирующие эритроциты, и флюоресцентный краситель акридин оранжевый.

Трубка подвергается центрифугированию при 10500 об/мин в течение 5 минут и затем помещается в считывающее устройство (рис. 4-24а).

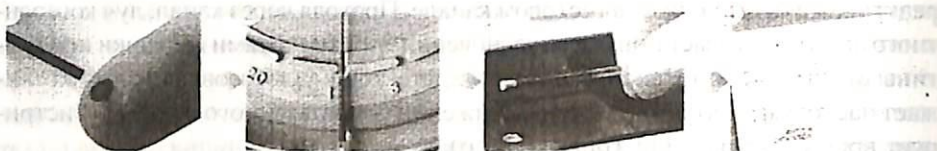


Рис. 4-24а

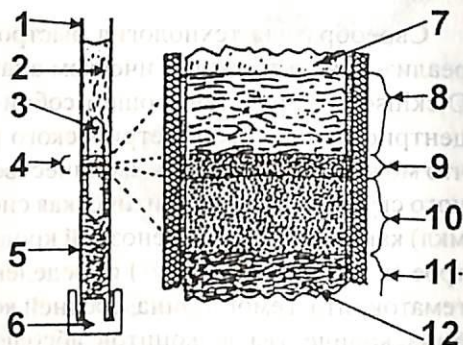
Этапы выполнения исследования на приборе QBC™Autoread™ Plus

1. Взятие пробы крови. 2. Центрифугирование. 3. Измерение.
4. Печать результатов исследования

По окончании центрифугирования пластиковый цилиндр оказывается поверх столбика массы агглютинировавшихся эритроцитов, а в щели между стенками трубки и цилиндра (порядка 40-60 нм) в «светлом слое кровяного сгустка» толщиной 2-3 диаметра клетки крови формируются слои гранулоцитов, мононуклеаров и тромбоцитов (рис. 4-24б), которые при облучении ультрафиолетовым светом (460 нм) флюоресцируют (в результате суправитального окрашивания компонентов клеток акридином оранжевым) на разных длинах волн. Гранулоциты дают зелено-желтую флюоресценцию, мононуклеары – зеленую, тромбоциты – желтую.

Рис. 4-24б

Схема «количественного измерения в светлом слое кровяного сгустка» (по Wardlaw S.C., Levine R.A., 1983). Слева – схема микрогематокритной трубки с пробой крови, разделенной путем центрифугирования: 1-Капиллярная трубка; 2-Плазма; 3-Пластмассовый поплавок; 4-Растянутый «светлый слой кровяного сгустка»; 5-Эритроциты; 6-Пробка. Справа – увеличенный участок капиллярной трубки на уровне центра поплавка: 7-Плазма; 8-Слой тромбоцитов; 9-Слой лимфоцитов и моноцитов (негранулированные клетки); 10-Нейтрофилы, эозинофилы, базофилы (гранулоциты); 11-Зона ретикулоцитов; 12-Слой эритроцитов



Интенсивность свечения, пропорциональная высоте каждого слоя клеток, генерирует электрический сигнал, регистрируемый флюоресцентным микроскопом-фотометром. Величина сигнала автоматически переводится

в цифровые значения чисел клеток каждого вида. Остальные показатели рассчитываются. По данным Riccardi A. et al. (1989), показатели корреляции результатов на приборе QBC II с данными визуальной микроскопии составляют: для числа гранулоцитов $r=0,989$, $p<0,001$; для мононуклеаров $r=0,948$, $p<0,001$. Обнаружена хорошая корреляция и с результатами определения числа клеток на автоматическом анализаторе Sysmex TOA Counter. Однако, клинические рамки применения прибора имеют ограничения. Метод не может дифференцировать базофилы и эозинофилы, указывать на бластные клетки. Определение числа тромбоцитов возможно лишь от 20 до 48 %, определение лейкоцитов в интервале от 2,0 до $20,5 \times 10^9/\text{л}$. При некоторых нарушениях состава крови разделение клеток на слои затрудняется, что приводит к ошибочным результатам. Это наблюдалось при повышении адгезивности гранулоцитов (при тяжелых инфекционных заболеваниях), при микроцитозе (при гемоглобинопатиях, дефиците железа и талассемии), при синдроме фрагментации эритроцитов, в ближайшем послеродовом периоде, на фоне внутривенного введения жидкостей и лекарственных средств. Прибор не может рассматриваться как портативная система, тем не менее, простота его применения и быстрота выполнения исследований подсказывает возможность его использования в «приблизженных к месту лечения» условиях: в приемных отделениях, у семейных врачей, а также в небольших лечебных учреждениях, где нет возможности иметь полномасштабную клиническую лабораторию.

Портативность и миниатюрность средств АМЛ диктуется условиями их применения вне стен лаборатории: в клиническом отделении, в приемной семейного врача, в машине скорой помощи, на дому у пациента. Естественно, портативный прибор должен быть небольших размеров и достаточно легким (табл. 4-6) (рис. 4-25), обладать автономным источником питания. Так, портативный анализатор гемоглобина HemoSmart при размерах $10 \times 5,8 \times 2,1$ см весит 64 г с батареей питания. Наличие автономного электропитания в виде 2 батареек типа АА по 1,5 вольта позволяет использовать РСх в любой обстановке. В удобном чемоданчике с прозрачной крышкой размещается как сам прибор, так и все необходимые принадлежности (рис. 4-26).

В то же время, для некоторых вариантов внебольничной помощи (приемная семейного врача, машина скорой помощи, сельская амбулатория) могут быть приемлемы и компактные настольные приборы, основанные на средствах «сухой химии» или «сухой иммунохимии».



Рис. 4-25

Доставка портативного прибора для исследования газов крови к месту проведения анализа

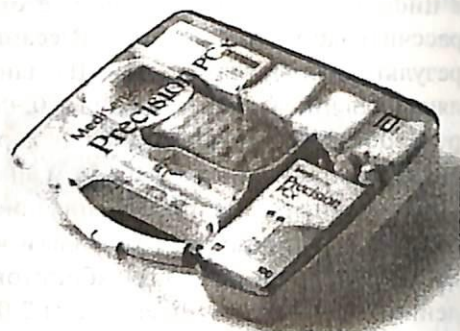


Рис. 4-26

Портативная упаковка деталей анализатора MediSense Precision PCx ("Abbott")

Таблица 4-6

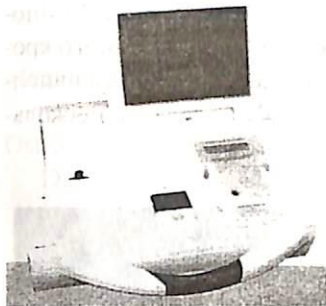
Размеры и вес некоторых средств АМЛ

Прибор	Вес, г	Размеры, см
Глюкометр биосенсорный HemoSmart	64	10,0x5,8x2,1
Глюкометр биосенсорный GlucoMen GlycoO	50	8,38x5,5x1,45
Глюкометр – отражательный фотометр Optilite	58	10,0x5,2x1,5
Глюкометр Precision PCx	280	19,7x7,5x5,1
Коагулометр-лазерный фотометр CoaguCheck	700	20,5x11,5x5,0
Многопараметровый биосенсорный анализатор i-STAT 1	635	17,68x23,48x7,24

Наряду с тенденцией к расширению круга моноцелевых портативных приборов АМЛ, появились разработки комплексных систем быстрого анализа, объединяющих несколько разнородных устройств АМЛ. Такое объединение диктуется, прежде всего, необходимостью одновременного получения разносторонней информации о больном, находящемся в критическом состоянии. Так, портативный прибор для измерения газов крови может быть совмещен в одном переносном компьютеризированном комплексе с глюкометром и коагулометром, а также иметь возможность быть соединенным с «Кардиоридером». Этот комплект приборов «OPTI Plus» («Roche Diagnostics»), таким образом, представляет собой целую переносную экспресс-лабораторию, обладающую способностью быстрого исследования 14 параметров, компьютерной обработки аналитических данных и беспроводной передачи результатов исследований в лабораторную или больничную информационную систему (рис. 4-27).

Рис. 4-27

Портативный комбинированный экспресс-анализатор OPTI Plus ("Roche Diagnostics"). В одном корпусе с анализатором газов крови OMNI встроены глюкометр Accu-Chek T Advantage (в центре) и коагулометр CoaguChek Pro (справа). К этому комплексу может быть подключен экспресс-анализатор сердечных маркеров Cardioreader. Комплекс оснащен компьютером с монитором для представления обработанных результатов всех видов проведенных исследований и принтером для распечатки результатов



В техническое оснащение АМЛ следует отнести некоторые пробоподготовительные устройства. Помимо обычного скарификатора, используемого для взятия капиллярной крови, применяются специальные устройства для безболезненного и безопасного прокалывания пальца, например, Микролет ("Bayer Diagnostics"), Accu-Chek Softclix Pro ("Roche Diagnostics"), разрабатываются лазерные ланцеты, основанные на применении пульсирующего света лазера и пластикового устройства, позволяющего собрать 100-200 мкл цельной крови.

Учитывая необходимость для некоторых исследований получать из цельной крови плазму, предложены несколько видов портативных устройств для быстрого разделения крови. В течение 1 мин обеспечивают разделение гепаринизированной цельной крови аксиальные сепараторные модули. В устройстве-Blood separator ("Institut fur Chemo- und Biosensorik") использована система из нескольких мембран, обеспечивающих полное отделение клеток крови и выведение плазмы для последующего анализа. Из 500 мкл крови в течение нескольких минут может быть получено 50 мкл плазмы (рис. 4-28).



Рис. 4-28

Портативное устройство для быстрого отделения плазмы от клеток крови Blood separator («Institut fur Chemo- und Biosensorik»)

А – нанесение пробы цельной крови на устройство; б – отделение плазмы от клеток крови с помощью вертикально сепарирующей мембраны; в – переход плазмы через боковую мембрану и выведение плазмы из сепаратора

Авторы этого устройства предлагают встраивать его непосредственно в приборы АМЛ. Другое устройство – Plasma Direct System (“MiDiS”) - позволяет получить плазму непосредственно из капилляра, наполненного кровью из прокола пальца. Кровь из капилляра выдавливается в камеру, наполненную забуференной жидкостью, а затем под давлением получают несколько капель плазмы (рис. 4-29).



Рис. 4-29

Одноразовое портативное устройство для быстрого приготовления плазмы Plasma Direct System (“Micro Diagnostic Systems”, “MiDiS”). Слева – получение порции капиллярной крови из пальца; в середине – вставление капилляра с кровью в систему и выдавливание крови из капилляра в камеру с буферным раствором; справа – путем повторного надавливания на поршень можно получить несколько капель плазмы для нанесения на аналитическое устройство

ЛИТЕРАТУРА

- Балаховский И.С., Лукичева Т.И., Меньшиков В.В. // Техническое оснащение клинических лабораторий: реализуемые принципы, сложившиеся тенденции, предвидимые перспективы В кн.: Клиническая лабораторная аналитика. Том 1. Основы клинического лабораторного анализа. М. 2002, стр. 421-622
- Andrew M., Marzinotto V., Adams M., Cmini C., LaDuca F. // Monitoring of oral anticoagulant therapy in pediatric patients using a new mcosample PT device. Blood, 1995, 86 (Suppl) 863
- Blumenthal R.S., Carter A.J., Resar J.R., Coombs V., Gloth S.T., Dalal J. et al. / / Comparison of bedside and hospital laboratory coagulation studies during and after coronary intervention. Cathet.Cardiovasc. Diagn., 1995, 35, 9-17

- Hedlund K.D., Oen S., LaFauce L., Sanford D.M. // Clinical experience with the Diametrics IRMA (Immediate response Mobile Analysis) blood analysis system. *Perfusion*, 1997, 12, 27-30
- Maclin E., Mahoney W.C. // Point-of-care testing technology. *J. Clin. Lig. Asssay*, 1995, 18, 929- 938
- Ostroff R.M., Maul D., Bogart G.R., Yang S., Christian J., Hopkins D., Clark D., Trottert B., Moddel G. // Fixed polarizer ellipsometry for simple and sensitive detection of thin film generated by specific molecular interactions: applications in mmunoassays and DNA sequence detecton. *Clin. Chem.*, 1998, 44, 9, 2031-2035
- Pam C.M., Jobes D., Van Riper D., Ogilby J.D., Ln C.Y, Horrow J. et al. // Modified microsample ACT test for heparin monitoring. *J. Extra-Corporeal Technol.*, 1996, 28, 16-20
- Pierce M.T., Crain L., Smith J., Mehta V. // Point-of Care versus laboratory measurement of the International Normalized Ratio. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2000, 57, 2271-2274
- Riccardi A., Danova M., QuarteroL., Besozzi M., Molinari E., Brugnatelli S., Ascari e. // Hematological values from quantitative buffy coat analysis (QBC II) system: evaluation in a hematological/oncological outpatient section. *Hematologica*, 1989, 74, 375-378
- Shapiro B.A., Harrison R.A., Cane R.D., Templin R. // Clinical application of blood gases. 4th ed. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1989, 158-159
- Solomon H., Mullins R., Lyden P., Thompson P., Hudolff S. // The diagnostic accuracy of bedside and laboratory coagulation procedures used to monitor the anticoagulation status of patients treated with heparin. *Am.J. Clin.Pathol.*, 1998, 109, 371-378
- Stahler F. // "Real-time" clinical chemistry using dry chemistry. In: Eng A.E., Garcia Webb P. (eds) . *Clinical Biochemistry, Principle and Practice*. Plenary lectures and symposia of Second Asian and Pacific Congress of Clinical Biochemistry. , 1983, 297-302
- Wardlaw S.C., Levine R.A. //Quantitative Buffy Coat analysis. A New Laboratory Tool Functioning as a Screening Blood Cell Count. *JAMA*, 1983, 249, №5, 617-620

5. ОБЕСПЕЧЕНИЕ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА АМЛ

Согласно общепринятым представлениям, степень соответствия товара или предоставленной услуги требованиям потребителя называется качеством продукции. Обеспечение необходимого качества достигается в результате осуществления системы мер по управлению качеством. Применительно к лабораторной медицине в определении таких мер можно исходить из содержания ряда международных и национальных нормативных документов (ISO 9000-1, 1994; приказ Минздрава России № 45 от 07.02.2000 г., приложения 1-3).

Поскольку исследования в рамках «анализа по месту лечения» являются одним из вариантов клинических лабораторных исследований, к ним предъявляются те же требования, что и к результатам, получаемым в стационарных лабораториях. Необходимо, чтобы в отношении правильно взятого образца биоматериала правильно идентифицированного пациента правильно проведенное исследование дало правильный результат, который был бы правильно интерпретирован. Отклонение от этих требований чревато неправильным диагнозом и лечением, ухудшением исхода заболевания пациента.

Для получения правильного результата лабораторного исследования необходимы точный метод исследования, соответствующего качества реагенты, откалиброванный и стабильно работающий аналитический прибор, хорошо обученный и четко выполняющий требования метода персонал.

Аналитическая надежность средств АМЛ представляет собой особенно важное их свойство, поскольку эти средства применяются в различных условиях, отличающихся от типичных условий стационарной лаборатории. Эта надежность в значительной мере определяется свойствами метода, заложенного в устройстве средства АМЛ, и стабильностью реагентов, используемых при его изготовлении. Поэтому чрезвычайно важен жесткий технический контроль при промышленном производстве средств АМЛ для обеспечения полного соответствия требованиям, установленным стандартом.

Наиболее высокой меркой является сравнение аналитических свойств средства АМЛ с референтным для исследуемого аналита методом. Ссылаясь на данные исследований, проведенных Food and Drug Administration США путем сравнения результатов, полученных с помощью иммуно-аналитического устройства Triage 8, с результатами исследования тех же проб биоматериала методами тонкослойной хроматографии и газовой хроматографии-масс-спектрометрии, фирма "Biosite" сообщает о весьма высокой степени соответствия результатов АМЛ с референтными методами (табл. 5-1).

Таблица 5-1

Оценка аналитических свойств Triage 8 путем сравнения с референтными методами определения наркотических препаратов в моче (по данным "Biosite")

Классы препаратов	Отсечная концентрация (нг/мл)	Правильность %	Чувствительность %	Специфичность %
Метадон	300	100	100	100
Бензодиазепин	300	97	99	94
Кокаин	300	100	100	100
Амфетамин/метамфетамин	1000	99	100	100
Тетрагидроканнабиол	50	100	100	100
Опиаты	300	100	100	100
Барбитураты	300	100	100	100
Трициклические антидепрессанты	1000	99	98	99

Однако, уровень требований к правильности и воспроизводимости результатов исследований, выполняемых с помощью средств АМЛ, является предметом дискуссий. Некоторые авторы полагают, что если уровень правильности должен устанавливаться на основании согласования с местной лабораторией, то для определения уровня воспроизводимости решающим условием является соответствие этого уровня потребностям клиники, которые могут варьировать в зависимости от реальной клинической ситуации. При этом некоторыми авторами рассматриваются как нереалистичные претензии на уравнивание требований к точности результатов АМЛ и стационарной лаборатории (John W.G., 1999). При внедрении средства АМЛ должен быть оговорен с участием лабораторных специалистов и клиницистов требуемый для данных клинических условий уровень воспроизводимости и проверено соответствие с ним реально достигаемой на приборе точности исследований. Как правило, для этой цели производится 20 повторных исследований проб пациентов, желательно в трех уровнях концентраций аналита и в таких же условиях, в которых будет проходить повседневная работа на приборе. Для каждого уровня концентраций рассчитывается средняя арифметическая, среднее квадратичное отклонение и коэффициент вариации, которые регистрируются для последующего сравнения уровня точности с этими параметрами. В таблице 5-2 приведены данные о воспроизводимости результатов исследований на приборе Рефлотрон, сообщенные фирмой-производителем.

Таблица 5-2

Точность и относительная частота определений аналитов на приборе Рефлотрон (по Kallner A., 1999)

Аналит	Коэффициент общей вариации (%)	Относительная частота использования теста (%)
Амилаза	2-4	0,4
Амилаза панкреатическая	2-6	0,4
Щелочная фосфатаза	2-3	0,7
Креатинкиназа	2-4	1,3
Билирубин	2-3	1,8
Мочевая кислота	2-3	2,2
Холестерин липопротеинов высокой плотности	3-4	2,6
Мочевина	2-3	3,5
Гемоглобин	2-4	3,5
Калий	2-3	5,3
γ -Глутамилтрансфераза	2-5	6,1
Аланинаминотрансфераза	2-4	7,0
Аспаратаминотрансфераза	2-5	7,4
Триглицериды	2-3	8,8
Креатинин	2-5	9,6
Глюкоза	2-4	13,1
Холестерин	2-3	26,3

Другим важным инструментом предварительной проверки аналитических качеств средства АМЛ может служить сопоставление его результатов с применяемыми в стационарной лаборатории методами. Для этого проводятся параллельные исследования не менее 20 проб пациентов, желательно в нормальном

и патологическом диапазоне концентраций аналита. При наличии линейности двух графиков результатов рассчитываются показатели регрессии (рис. 5-1).

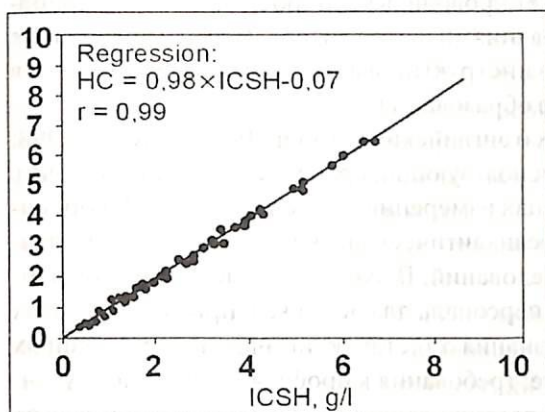


Рис. 5-1

Сопоставление результатов исследования гемоглобина на экспресс-анализаторе HemoCue Plasma/Low Hb ("HemoCue") с параллельным определением гемоглобина международным референтным методом, рекомендованным Международным комитетом по стандартизации в гематологии (по Dahloff K., 2001)

На основе этих данных может быть рассчитана ожидаемая средняя разница между показателями средства АМЛ и стационарной лаборатории в повседневной работе. (В некоторых анализаторах АМЛ данные регрессии используются для автоматического приведения результатов, полученных с помощью данного устройства АМЛ, к уровню результатов в стационарной лаборатории).

Хотя, как отмечено выше, аналитическая надежность исследований, выполняемых с помощью устройств АМЛ, в значительной мере обусловлена свойствами этих устройств, заложенными в их конструкции, надежные результаты могут быть получены только при условии строгой стандартизации работы приборов и соблюдения инструкций производителя по выполнению анализов: соблюдения правил нанесения пробы биожидкости на тестовую зону; соблюдения установленного для данного прибора и соответствующих тест-полосок времени реакции; использования цельной крови, гематокрит которой в пределах значений, регламентированных изготовителем; учета интерференции некоторых лекарств (аскорбиновой кислоты, L-допа), если она установлена для данного типа полосок, а также интерференции некоторых компонентов состава исследуемой крови в ферментативной реакции - повышенного количества билирубина, холестерина, триглицеридов). Необходимо соблюдать сроки и правила хранения тест-полосок: не использовать полоски с истекшим сроком действия, исключить действие на них влаги, света, прямых солнечных лучей, нагревания. Нельзя использовать тест-полоски,

не предназначенные для данного прибора. Переход от одной партии реагентов к новой должен регистрироваться в журнале, который должен вестись пользователем устройства. Следует проводить калибровку и очистку прибора в точном соответствии с требованиями изготовителя. Все эти требования должны быть предметом четкого инструктирования пользователей средств АМЛ, не имеющих специального образования.

По мнению ряда американских и английских авторов (Bourlier К.М., 1998; Freedman D.B., 1999), персонал, использующий средства АМЛ, должен быть осведомлен об основных принципах измерения на средствах АМЛ и ориентирован в важнейших аспектах преаналитической, аналитической и постаналитической фаз проведения исследований. Важными элементами программы подготовки нелабораторного персонала для допуска к применению этих средств должны быть: основные знания о тестах, клинических требованиях и патофизиологическом контексте; требования к пробе, включая учет суточных колебаний и лекарственной терапии, проводимой больному в период сбора пробы; правила взятия пробы; подготовка аналитического устройства и расходных материалов; выполнение теста, выполнение контроля качества, документирование теста и результата контроля качества; сообщение результата исследования соответствующему клиническому персоналу; интерпретация результата или получение совета по этому поводу; процедуры соблюдения безопасности, включая устранение образца и расходных материалов, очистка места проведения теста.

Если прибор АМЛ используется не для самоконтроля самим пациентом, а для обследования многих пациентов, взятие крови и работа на глюкометре должны осуществляться в перчатках, с соблюдением всех правил дезинфекции рабочего места и прибора.

Инструктирование пользователей средств АМЛ должно быть проведено до начала использования этих устройств, сопровождаться практической демонстрацией порядка работы, повторяться при обнаружении ошибочных результатов. Рекомендуется при каждом приборе АМЛ иметь детальное описание его устройства и процедур калибровки, выполнения теста и контроля качества.

Требования к проведению контроля качества получаемых в повседневной практике результатов по отношению к средствам АМЛ столь же обязательны, как и для исследований, проводимых в стационарной лаборатории, и должны быть неременным компонентом обучения нелабораторного персонала, использующего эти средства.

Основные положения обеспечения и контроля качества в российских лабораториях содержатся в нормативных документах, утвержденных прика-

зом Минздрава России № 45 от 07.02.2000 г. Исходя из содержания приложений к упомянутому приказу и с учетом особенностей устройства средств АМЛ и тактики их применения может быть определен порядок контроля качества для этих средств лабораторных исследований.

Для одноразовых средств АМЛ (диагностические полоски, иммуно-аналитические платформы) наиболее употребительными являются контрольные компоненты, заложенные в них при их производстве: закрепление на мембранах специфических моноклональных антител, наличие положительного и отрицательного контроля. Эти компоненты должны проверяться как при начале употребления новой партии полосок или платформ, так и в ходе каждого индивидуального исследования.

Проведение контроля качества исследований на полосках для полуколичественных исследований (ординальная шкала) требует несколько иного подхода. Kouri T. et al.(1999) предлагают выражать оценку воспроизводимости как пропорцию ожидаемых результатов по принятой классификации результатов : «отрицательные», «1+», «2+», «3+». Эти пропорции имеют 95% доверительный интервал, рассчитываемый на основе статистических таблиц. Более точные результаты могут быть получены при сопоставлении групп с низкой («1+») или средне-повышенной («2+») концентрацией, чем при высокой концентрации («3+»), которая не имеет четко ограниченного верхнего предела. Оценка правильности исследований может быть основана на градациях отрицательных и положительных результатов. В качестве примера такого подхода приведено сопоставление результатов исследования содержания лейкоцитов в моче при подозрении на наличие инфекции мочевыводящих путей методом подсчета клеточных элементов в свежей моче в камере под микроскопом и с помощью тест-полосок на эстеразу лейкоцитов (табл. 5-3).

Таблица 5-3

Оценка правильности результатов, полученных с помощью тест-полосок (по Kouri T. et al., 1999)

Метод сравнения (число лейкоцитов $\times 10^6/\text{л}$)	Отрицательный результат <19	Серая зона 20-99	Положительный результата >100	Всего
Результат исследований с помощью тест-полосок				
Отрицательный результат	200	25	5	230
Положительный результат (1+ и больше)	80	100	40	220
Всего	280	125	45	450

Поскольку установлено, что наличие инфекции в мочевыводящих путях сочетается с присутствием порядка 100-200 лейкоцитов на литр мочи, а при их содержании меньше 20 на литр инфекция отсутствует, эти значения лейкоцитурии рассматривались, соответственно, как предел подтверждения и предел обнаружения. Исходя из этих положений, доля ложно-положительных результатов при пороге обнаружения с помощью тест-полосок составляет 29% (80/280), доля ложно-отрицательных в серой зоне 20% (25/125), а доля ложно-отрицательных результатов при пороге подтверждения 11% (5/45). По мнению этих авторов, обычная точность определений с помощью тест-полосок характеризуется уровнем ложно-положительных результатов при пороге обнаружения менее 10% и уровнем ложно-отрицательных результатов при пороге подтверждения также менее 10%. В серой зоне доля ложно-отрицательных результатов должна сохраняться на уровне меньше 30%. Исходя из этих предпосылок, Kouri T. et al. (1999) предложили следующие значения пределов обнаружения и подтверждения для тест-полосок с несколькими реакционными зонами (табл. 5-4). При этом обращено внимание, что для некоторых анализов нет подходящего метода сравнения, и фирма-производитель тест-полосок должна представить документацию, обосновывающую достоверность результатов.

Таблица 5-4 (Начало)

Предлагаемые пределы детекции и подтверждения для тест-полосок с несколькими реакционными зонами (по Kouri T. et al., 1999)

Аналит	Метод сравнения	Предел обнаружения	Предел подтверждения
Лейкоциты ($\times 10^6/\text{л}$)	Подсчет в камере	20	100
Эритроциты ($\times 10^6/\text{л}$)	Подсчет в камере	10	50
Альбумин (г/л)	Иммунохимический (или связывание краски для общего белка)	0,1 (альбумин)	0,5 (альбумин)
		0,2 (белок)	1,0 (белок)
Нитриты (мг/л)	Взвешивание сухого нитрита натрия, применяемый метод сравнения	0,5	2,5

Таблица 5-4 (Окончание)

Глюкоза (ммоль/л)	Количественный метод (глюкозо-дегидрогеназный или гексокиназный)	3	15
Кетоны (ацетоацетат, ммоль/л)	Взвешивание ацетоацетата лития	1	5
pH	pH-метр (потенциометрия)	±1 единица	Пределы детекции и подтверждения неприменимы (возможно использование каппа-коэффициента)
Относительная плотность	Рефрактометрия	±0.005	-«-»-
Уробилиноген (мкмоль/л)	Обычно нет подходящего метода	20 (молекула лабильна)	100 (молекула лабильна)
Билирубин (мкмоль/л)	Раствор билирубина	10	50

При применении средств АМЛ для количественных исследований серий проб пациентов применимы обычные правила контроля качества: исследование в каждой серии контрольного материала (один или два образца), построение контрольной карты по Шухарту-Леви-Дженнингс, сравнение каждого контрольного результата с уровнями двух и трех стандартных отклонений, применение контрольных правил Вестгарда.



Рис. 5-2а

Вставление контрольной полоски в портативный анализатор глюкозы Accu-Chek ("Roche Diagnostics")



Рис. 5-2б

Чтение результата оценки качества по дисплею портативного анализатора глюкозы Accu-Chek ("Roche Diagnostics")

В зависимости от особенностей устройства применяемого средства АМЛ контрольные материалы могут иметь форму контрольных полосок (рис. 5-2 а,б), контрольных растворов (рис. 5-3), контрольных сенсоров (рис. 5-4).



Рис. 5-3

Контрольные растворы с нормальной и повышенной концентрацией глюкозы для портативного глюкометра GlucoMen ("A. Menarini diagnostics")



Рис. 5-4

Контрольный сенсор для портативного глюкометра GlucoMen ("A. Menarini diagnostics")

В ряде современных устройств для АМЛ предусмотрены возможности электронной обработки результатов контрольных исследований (рис. 5-5).



Рис. 5-5

Портативный компьютер с программным обеспечением для обработки контрольных результатов QC Manager, стыкующийся с анализатором MediSense Precision PCx ("Abbott"). Возможно подключение к локальной зональной сети и лабораторной информационной системе

В приводившихся выше данных о технических характеристиках приборов АМЛ соответствующие сведения содержатся. Следует периодически проверять правильность результатов, получаемых с помощью средств АМЛ,

путем параллельного определения тех же аналитов у обследуемых пациентов методами, используемыми в стационарной лаборатории. Такое сопоставление результатов является одним из важных способов обеспечения гармонизации «прикроватной» лабораторной аналитики и деятельности стационарных лабораторий (см. раздел «Гармонизация АМЛ и стационарной лаборатории»).

Наблюдения, проведенные в США и Великобритании (Browning D.Mi, Bullock D.G., 1987; Hurst J. et al., 1998), показали, что результаты, полученные с помощью средств АМЛ, могут проявлять в полтора-три раза более широкую вариацию, чем результаты в стационарной лаборатории. Техническое совершенствование приборов, улучшение практики калибровки и более тщательная работа оператора повышают показатели воспроизводимости.

Практически важен вопрос о качестве и сопоставлении результатов исследований в условиях, когда существует разнообразие аналитических систем, нацеленных на один и тот же аналит. Так, сравнение результатов исследования наркотиков в моче, полученных в разных лабораториях с помощью On Trak (“Roche Diagnostics”), Triage (“Biosite”), EZ-Screen (“Editek”), по данным Crouch D.J. et al., (1998) показало их полную сопоставимость.

В таблице 5-5 приведены данные R. Weitgasser et al. (1999) о сравнении внутрисерийной воспроизводимости нескольких видов глюкометров, что демонстрирует как неодинаковую точность определений, выполняемых на разных приборах, так и ее улучшение по мере технического совершенствования систем.

Таблица 5-5

Средний коэффициент внутрисерийной вариации при измерении проб крови с различными концентрациями глюкозы (Weitgasser R. et. al., 1999)

Глюкометры	Проба А 2,9-3,9 ммоль/л	Проба Б 9,1-10,0 ммоль/л	Проба В 15,0-15,7 ммоль/л
<i>Старого типа</i>			
Accutrend	7,0	2,5	1,5
Companion 2	16	4,5	1,0
Glucometer 3	7,5	1,6	2,0
One Touch II	7,0	1,5	0,8
<i>Нового типа</i>			
Glucocard	4,2	3,8	2,1
Glucometer Esprit	13	6,2	2,0
Glucotouch	1,1	1,9	1,7
Glucotrend	3,4	2,2	2,7

Рекомендуется также проведение локальной внешней оценки качества приборов АМЛ путем рассылки образцов контрольных материалов из стационарной лаборатории группе пользователей АМЛ на близлежащей территории. Процедуры такой локальной внешней оценки должны соответствовать процедурам национальной системы внешней оценки, в которой участвует сама стационарная лаборатория (статистическая обработка полученных результатов, сравнительная оценка результатов каждого прибора АМЛ, сообщение участникам итогов оценки и вытекающих из них рекомендаций). Итоги локальной внешней оценки качества могут быть предметом обсуждения и тренинга с пользователями средств АМЛ, не имеющими профессиональной лабораторной подготовки. Stahl M. и др. (1997) сообщали об успешном применении такого способа для улучшения качества исследований глюкозы: доля результатов, выходящих за приемлемые пределы, снизилась с 12% до 3%.

Стоимость систем контроля качества для АМЛ может оказаться выше, чем для стационарных лабораторий, однако, правильнее ее сопоставлять с ценой ошибочных результатов.

При использовании средств АМЛ самими пациентами необходима еще большая тщательность контроля, причем в этих случаях особенно важно обеспечить правильную трактовку полученного результата и вытекающие из нее меры. Поэтому заслуживают внимания такие разработки систем, как, например, портативный комплекс AccuChek Sensor Complete ("Roche Diagnostics") (рис. 5-6), с помощью которого самому пациенту можно не только в любой обстановке измерить концентрацию глюкозы в крови, но и получить оценку этого результата в зависимости от условий (натощак, после еды, после приема инсулина, после физических упражнений), а с подключением модема можно и связаться со своим лечащим врачом и получить немедленную консультацию.

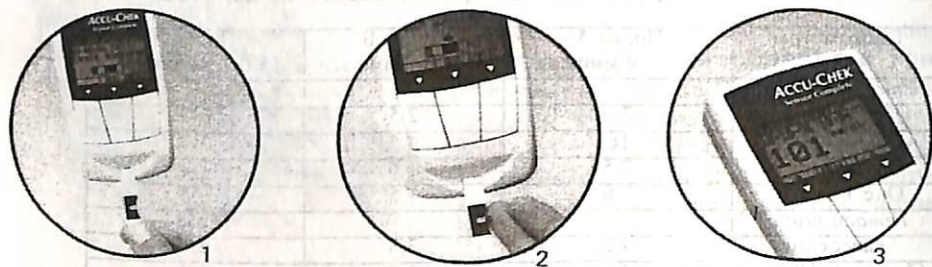


Рис. 5-6

Портативная система анализа и обработки данных исследования глюкозы в крови Accu-Chek Sensor Complete ("Roche Diagnostics"):

1 - Введение тест-полоски в прибор

2 - При появлении на дисплее прибора мигающего символа капли крови нанести пробу на вставленную в прибор тест-полоску. Через несколько секунд на дисплее высвечивается результат исследования глюкозы в крови (в миллиграммах или миллимолях). Результаты могут быть представлены также по 8-часовым отрезкам времени суток с указанием сниженного, нормального или повышенного уровня, в виде отражающего тенденцию графика

3 - Нажатием кнопок TAGEB или EVENT можно получить необходимую для больного сахарным диабетом информацию о желательной дозе инсулина, допустимом содержании углеводов в пище, о возможной спортивной нагрузке

Хотя специфичность исследований с помощью средств АМЛ постоянно повышается в результате усовершенствования их аналитических принципов и устройства, тем не менее при интерпретации результатов на постаналитическом этапе следует иметь в виду возможность интерференции лекарственных препаратов, принимаемых пациентом, а также некоторых эндогенных веществ (табл. 5-6).

Таблица 5-6 (Начало)

Интерференция лекарственных и эндогенных веществ при использовании средств «сухой химии» (по; Гаранина.Е.Н., Делекторская Л.Н. и др., 1987)

Аналиты	Интерферирующие вещества		
	Система "Kodak"	Система "Seralyzer"	Система "Reflotron"
Глюкоза	Белок, аскорбиновая кислота	Фториды, билирубин, дофамин, изониазид, гемолиз	Метил-дофамин, норамидопирин
Мочевина	Оксалаты, фториды, гемоглобин, белок, этанол	Гемоглобин, лекарства, содержащие amino- и амидогруппы	
Мочевая кислота	Триглицериды, белок		
Альбумин	Гиперлипидемия		
Креатинин	Глюкоза	Билирубин, гемоглобин, цефалотин, нитрофурантон, фенолсульфонфталеин, бромсульфонфталеин	
Билирубин общий	Гемоглобин	Гемолиз	

Таблица 5-6 (Окончание)

Билирубин фракции	Аминосалициловая кислота, общий белок		
Триглицериды	Глицерин		
Щелочная фосфатаза	Геофиллин		
Липаза	Антикоагулянты		
γ-Глютамилтрансфераза			Парацетамол
Лактатдегидрогеназа	Оксалат калия, этиленаминтетраусная кислота, фторид натрия		
Гемоглобин		Липемия	Фториды
Ионы калия, хлора, углекислого газа	Триглицериды, антифризы, белки, аллопуринол		
Кальций	Антикоагулянты, содержащие хелаты кальция		

ЛИТЕРАТУРА

- Министерство здравоохранения Российской Федерации. Приказ от 07.02.2000 г. № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения»
- Гаранина Е.Н., Делекторская Л.Н., Кадашева О.Г., Лукичева Т.И., Меньшиков В.В., Пименова Л.М., Самецкая Н.Б., Уткина Т.С. // Принципы и применение систем «сухой химии». В кн. Современные проблемы развития лабораторной диагностики. М., ВНИИМИ, 1987, стр. 7-16.
- Bourlier K.M. // The Hitchhiker's Guide to Point-of-Care Testing. AACCC Press, Washington, 1998

- Browning D.M., Bullock D.G. // The quality of extra-laboratory assays: evidence from external quality assessment surveys. *Ann.Clin.Biochem.*, 1987; 24S1, 171-172
- Bullock D.G. // Quality Control and Quality Assurance. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp.157-173
- Crouch D.J., Frank J.K., Farrell J., Karsch H.M., Klaunig J.E. // A multiple-site laboratory evaluation of three urinalysis drug testing devices. *J.Anal.Toxicol.*, 1998, 22, 493-502
- Dahloff K. // A system for the determination of low haemoglobin levels in plasma, serum or aqueous solutions. *European Clinical Laboratory*. 2001, 20, 4, 24-26
- Freedman D.B. // Guidelines on Point-of-Care Testing. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp.197-212
- Hurst J., Nickel K., Hilborne L.H. // Are physicians' office laboratory results of comparable quality to those produced in other laboratory settings? *J.Am.Med.Ass.*, 1998, 279, 468-471
- ISO 9000-1, 1994. // Quality management and quality assurance standards. Part 1. Guidelines for selection and use. Geneva, International Organization for Standardization, 1994.
- John W.G. // Equipment Procurement and Management. . In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 137-156
- Kallner A. // Benchtop Technology. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 67-98
- Kouri T., Laippala P., Kutter D., Gant V., Hallander H., Guder W.G. // Quality specifications for ordinal scale measurements with multiproperty (multiple) urine test strips. *Scand. J.Clin.Lab. Invest.*, 1999, 59, 523-526
- Stahl M., Brandslund I., Iversen S., Filtenborg J.A. // Quality assessment of blood glucose testing in general practitioners' offices improves quality. *Clin.Chem.*, 1997, 43, 1926-1931
- Weitgasser R., Cappmayer B., Pichler M. // Newer Portable Glucose Meters – Analytical Improvement Compared with Previous Generation Devices? *Clin Chem.*, 1999, 45, 10, 1821-1825

6. ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И АМЛ

При отборе наиболее достоверных диагностических и лечебных технологий из потока разнообразных предложений целесообразно применять принципы «*медицины, основанной на доказательствах*», то-есть, принимать во внимание лишь те источники, которые отвечают определенным критериям, обеспечивающим «качество доказательности»

Применительно к лабораторной медицине вообще и в отношении средств АМЛ доказательность, по-видимому, должна быть обеспечена на нескольких уровнях. С.Р. Price предложил такую схему.

На техническом (или технологическом) уровне необходимо доказать, что получаемая информация достоверно отражает состояние функции или ткани, интересующей исследователя (например, что тропонин I, изучаемый в данном тесте, действительно специфичен для ткани миокарда, или что моноклональное антитело, используемое для детекции определенного антигена или антитела, действительно специфично для него).

На диагностическом уровне должно быть доказано, что исследуемый анализ находится в доказанной причинно-следственной связи с предполагаемой патологией, что соответствующий лабораторный тест имеет определенную диагностическую специфичность и чувствительность. Оцениваются также пре-тестовая и пост-тестовая вероятность наличия патологии, отношение правдоподобия. (Назаренко Г.И., Кишкун А.А., 2001, Р. Флетчер и др., 1998). При мета-анализе, то-есть при изучении диагностических свойств теста на основе сопоставления данных, полученных в различных учреждениях, лучше оперировать первичными данными разных наблюдателей, а не их обобщенными результатами. В то же время, исследования, проведенные на основе согласованной программы, с едиными критериями, позволяют получить вполне обоснованное мнение о диагностической значимости теста. Так, например, имеются обширные многоцентровые наблюдения, убедительно доказывающие высокую диагностическую специфичность и чувствительность ставшими основными маркерами инфаркта миокарда определений миоглобина, тропонинов и креатинкиназы МВ. Больше того, наличие повышенной концентрации сердечного тропонина в крови пациента с приступом загрудинных болей кардиологами США и Европы официально признано одним из важнейших критериев диагноза инфаркта миокарда.

На клиническом уровне должна быть доказана полезность информации, предоставляемой результатами данного теста, для определения дальнейшей диагностической и лечебной стратегии, для прогноза исхода болезни. Так,

например, определение микроальбуминурии способствует ранней диагностике сахарного диабета, более точному лечению основного и сопутствующих заболеваний, уменьшению вероятности развития почечной недостаточности.

На оперативном уровне может быть доказано большее удобство использования в практической работе предлагаемого теста. Так, для обширной плеяды быстрых аналитических тестов доказано существенное сокращение времени оборота лабораторного теста (ТАТ), уменьшение этапов предварительной обработки пробы биоматериала и т. д.

Доказательность экономичности теста также имеется в виду.

Применительно ко всем упомянутым аспектам доказательности преимуществ теста следует обеспечить *качество этой доказательности*. Основными требованиями в этом отношении являются строгий отбор групп обследованных по единым критериям, использование в качестве метода сравнения референтного или, по крайней мере, доказано надежного специфического метода, применение двойного слепого метода при постановке эксперимента и т. д.

Как правило, тесты АМЛ основаны не на абсолютно новых методических принципах, а представляют собой такие варианты известных ранее аналитических технологий, которые лишь отличаются условиями выполнения: компактностью размещения реагентов, миниатюрностью их количеств, портативностью измерительных приборов. Поэтому для большинства этих тестов их принципиальная применимость в диагностике и мониторинге в тех или иных клинических ситуациях уже определена предшествующей медицинской практикой и оценена с позиций доказательной медицины. В доказательстве нуждается, пожалуй, только их относительная ценность по сравнению с традиционным выполнением тестов в стационарной лаборатории применительно к их аналитическим свойствам (воспроизводимость, правильность, стабильность, чувствительность) и к соответствию клиническим потребностям (соотношение темпа выполнения анализа и темпа развития патологического процесса и необходимости экстренного принятия медицинских решений, способность улучшить эффективность диагностики и лечения больных, сократить сроки лечения, улучшить исход заболевания). Материалы по сравнению аналитических качеств тестов АМЛ с методами, применяемыми в стационарной лаборатории, приведены в разделах «Обеспечение и контроль качества АМЛ» и «Гармонизация АМЛ и стационарной лаборатории».

Примером исследования преимуществ применения средств АМЛ с позиций их влияния на клинические результаты, проведенного в соответствии с

принципами доказательной медицины, может служить работа Kendall J. et al. (1998). При поступлении в отделение травматологии и интенсивной терапии у пациентов собирались пробы крови, которые подвергались срочному лабораторному исследованию либо средствами АМЛ (860 проб), либо в стационарной лаборатории (868 проб). Выбор способа исследования был рандомизирован. Учитывалось время суток, день недели, месяц. Всего рамками этого наблюдения было охвачено 210 8-часовых периодов. Влияние результата исследования оценивалось по многим показателям, включая смертность, длительность пребывания в больнице, время поступления и срок ожидания в отделении, срок ожидания результата и решения о лечебных мерах. Подсчитано, что решение о лечении пациента принималось до 86 минут раньше при применении АМЛ, однако это не оказало значительного влияния на показатели смертности, длительности пребывания в больнице, времени ожидания в отделении. Тем не менее, группа опытных клиницистов нашла, что обусловленная ускорением получения результата исследования клиническая выгода была у 6,9% больных, что повлияло на лечебные меры у 14% больных. У 3,6% больных удалось предупредить принятие излишних лечебных мер. Следовательно, качество лечения в результате применения АМЛ в чем-то выиграло.

По поводу оценки тесноты связи применения средств АМЛ с окончательными исходами случаев заболевания Price C.P. (2002) замечает, что в этом отношении важен не только сам факт более быстрого выполнения анализа, но и столь же быстрое использование его результата в клинике. Между тем ряд публикаций показывает, что эффект быстроты анализа терялся из-за отсутствия столь же быстрых решений и действий клиницистов (Kilpatrick E.S., Holding S., 2001).

Материалы относительно клинических аспектов применения средств АМЛ см. также в разделах «Применение средств АМЛ в клинической медицине» и «Экономика АМЛ».

ЛИТЕРАТУРА

- Г.И.Назаренко, А.А. Кишкун .. Управление качеством лабораторных исследований. М., Медицина, 2001
- Р. Флетчер, С. Флетчер, Э. Вагнер // Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины... пер. с англ. Медиа Сфера. М. 1998
- Kendall J., Reeves B., Clancy M. // Point-of-care testing: Randomized controlled trial of clinical outcome. BMJ, 1998, 316, 1052-1057
- Kilpatrick E.S., Holding S. //Use of computer terminals on wards to access emergency test results: a retrospective audit. Br.Med.J., 2001, 322, 1101-1103
- Price C.P.// Evidence Based Laboratory Medicine. IFCCWorld Lab Daily News, 2001, 7 June, p. 3
- Price C.P. //Medical and Economic Outcomes of Point-of-Care Testing. Clin.Chem. Lab. Med., 2002, 40, 3, 246-251

7. ГАРМОНИЗАЦИЯ АМЛ И СТАЦИОНАРНЫХ ЛАБОРАТОРИЙ

Новое практически всегда вызывает вопросы, иногда – недоумения и сомнения, а порой – ожесточенные споры. Появление быстрых средств лабораторного анализа поначалу не вызвало беспокойства лабораторных специалистов, поскольку они сами участвовали в их создании и использовали их для ускорения своей работы (Kutter D., 1983; Гаранина Е.Н., Делекторская Л.Н. и др., 1987). Так, например, в больших лабораториях диагностические полоски использовались для скрининговых серийных исследований мочи с целью быстрого выявления проб, требующих углубленного исследования. Это направление соответствовало общей тенденции рационализации лабораторной работы и привело к созданию высокопроизводительных полуавтоматических и автоматических приборов Miditron и Supertron («Roche Diagnostics»), Clinitek –50 и Clinitek –500 («Bayer Diagnostics»), Uriscan Optima и Uriscan Pro («YD Diagnostics»), пригодных для работы с сериями диагностических полосок в малых, средних и крупных лабораториях. Однако, в дальнейшем произошел бурный рост производства средств АМЛ и значительное распространение их применения во внелабораторной сфере. На фоне неконтролируемого применения этих средств руками неподготовленного персонала или в порядке самоконтроля самими пациентами стали наблюдаться случаи неправильных результатов или их неверной трактовки, которые вели к нежелательным клиническим последствиям вплоть до трагических.. Все это не могло не вызвать озабоченность клинического лабораторного сообщества и весьма существенные опасения. Высказываются мнения о том, что следствиями распространения средств АМЛ будет неизбежное снижение достоверности лабораторных результатов, «распыление» лабораторной информации и даже угроза существованию профессии лабораторного специалиста, если применение средств АМЛ руками нелабораторного персонала заменит традиционное выполнение исследований в лабораториях. Другие специалисты, напротив, рассматривают его как один из способов решения проблем лабораторной медицины, как средство рационализации работы внутри лаборатории (в частности, для быстрого выполнения одиночных исследований) и как способ разгрузки лаборатории от значительной части рутинных тестов, что позволяет уделять большую часть сил и средств лаборатории для выполнения более сложных видов исследований, для освоения новых тестов и т. д.

За последние годы лабораторная общественность в различных странах проявляет большую заинтересованность тенденцией значительного расширения ассортимента и сферы применения быстрых способов анализа биоматериалов пациентов. Так, за последние годы на 14 Европейском и 18 Международном конгрессах по клинической химии и лабораторной медицине, на национальных конгрессах лабораторных специалистов в США и в ФРГ специальные заседания были посвящены этой проблематике. И это не только *обсуждение проблемы* – приводятся результаты *применения таких средств на практике*. Американские специалисты сообщают, что в настоящее время в США нелабораторным персоналом выполняется до 10% общего количества тестов и в течение следующих 5 лет ожидается двукратный рост этого объема. Жослин Хикс, руководитель лаборатории в крупном американском детском госпитале, ратует за передачу нелабораторному персоналу до 30% лабораторных исследований. И все это **не несмотря, а наряду** с тенденцией к расширению применения различных автоматических средств подготовки проб и выполнения самих анализов в лабораториях. Так, на конференции по лабораторной автоматизации в Арлингтоне (США) в 2001 г. среди других рассматривалась проблема сочетания программ исследований у постели больного с «автоматизированным окружением».

Пожалуй, подход большей части лабораторных специалистов к применению средств АМЛ нелабораторным персоналом серьезен и конструктивен. Этот способ выполнения лабораторных исследований рассматривается как объективно полезный для решения проблем лабораторного обеспечения в определенных условиях оказания медицинской помощи и роль лабораторий и их сотрудников состоит в том, чтобы деятельно способствовать приданию этому способу исследований такой же степени аналитической надежности и клинической эффективности, которыми обладают исследования в традиционных лабораториях.

Одним из направлений этих усилий лабораторных специалистов во многих странах является изучение соответствия и сопоставимости результатов, полученных с помощью средств АМЛ, и данных стационарной лаборатории.

В таблице 7-1, заимствованной из работы Buhling и соавторов (2001), показано, что 1134 исследования содержания глюкозы в пробах капиллярной крови с помощью тест-полосок и 5 соответствующих глюкометров в рамках глюкозолерантного теста у 189 пациенток, проведенные в офисах частных врачей, то-есть нелабораторным персоналом, дали результаты, вполне совпадающие с результатами гексокиназного метода, выполненного на стационарном анализаторе DU 70 фирмы Beckman.

Таблица 7-1

Сравнение результатов глюкозо-толерантного теста, полученных на портативных глюкометрах и на анализаторе Beckman DU 70 (гексокиназный метод, GlucoQuant) (K.J. Buhling et al., 2001)

	Чувствительность	Специфичность	Индекс Юдена	Правильность	Каппа-индекс
AccuChek	0,82	0,98	0,80	0,94	0,84
EuroFlash	1,0	0,78	0,78	0,84	0,65
GlucoTouch	0,98	0,85	0,83	0,89	0,76
OneTouch	0,89	0,89	0,78	0,89	0,76
Precision	0,90	0,90	0,90	0,90	0,76

Сходное по замыслу и по полученным результатам исследование было проведено Веуер и соавторами для оценки корреляции результатов мониторинга состояния гемостаза у пациентов при лечении варфарином, полученных при исследовании капиллярной крови с помощью 4 портативных коагулометров различного типа, с параллельными исследованиями венозной крови у тех же пациентов, выполненными на стационарном приборе MDA фирмы Organon Teknika (табл. 7-2).

Таблица 7-2

Корреляция результатов мониторинга гемостаза (INR) портативными коагулометрами (по капиллярной крови) с параллельными исследованиями венозной крови на приборе MDA 180 (Organon Teknika) (L.K. Beyer et al., 2001)

	Мало крови в пробе	Число выполненных исследований	R2	Slope	Разница (средняя \pm -SD)
AvoSure	4	96	0,9037	0,9326	-0,2 \pm -0,87
CoaguChek	9	42	0,8002	0,8765	-0,1 \pm -0,58
ProTime	23	50	0,8084	0,9764	+0,2 \pm -0,97
TAS	11	34	0,3410	0,9049	+0,5 \pm -1,16

На конгрессе Немецких обществ клинической химии и лабораторной медицины в 2001 г. д-р Гольдман сообщила, что при мультицентровых исследованиях у 750 пациентов кардиологических отделений 5 больниц содержания в крови тропонина Т и миоглобина, проведенных параллельно на иммунохроматографических тест-кассетах с оценкой на кардиоридере, и обычным методом с оценкой результата на приборе Elecsys коэффициент корреляции составил для тропонина Т 0,86, а для миоглобина 0,927. Диагностическая чувствительность выявления инфаркта миокарда у больных с острым коронарным синдромом при снижении сегмента ST на ЭКГ и без такого снижения была идентичной на основании результатов, полученных обоими способами.

Сопоставимость результатов исследований, проведенных на портативном анализаторе электролитов и газов крови ABL77, с результатами, полученными на серийном анализаторе ABL700, была показана Seewald et al. путем статистической обработки массива данных, объединившего обе группы результатов (табл. 7-3).

Таблица 7-3

Сопоставимость результатов портативного (ABL77) и стационарного (ABL 700) анализаторов электролитов и газов крови (S.W. Seewald et al., 2001)

Единицы	pH	pCO ₂ мм рт ст	pO ₂ мм рт ст	Na ммоль/л	K ммоль/л	iCa ммоль/л	Hct %
Верхний предел	7.510	113	522	152	7.6	1.40	48
Нижний предел	6.648	22.7	31.1	119	2.8	0.76	11
Slope	0.970	0.91	1.01	0.90	0.93	0.96	1.08
Intercept	0.229	4.28	0.84	15.9	0.18	0.04	-3.45
r	0.99	0.99	1.00	0.95	0.99	0.97	0.90
Sy/x	0.015	2.55	4.18	1.38	0.13	0.03	2.86
Средн. bias	0.011	0.23	2.58	2.33	0.11	-0.005	-0.98
SD bias	0.015	3.32	4.39	1.46	0.14	0.030	2.88
n	194	189	194	192	194	192	192

Авторы пришли к выводу, что при тщательном сборе и обработке пробы результаты, полученные на стационарном приборе и на портативном анализаторе, неразличимы.

Рассматривая проблему аналитической надежности исследований на средствах АМЛ только с позиций соответствия их результатов с данными стационарной лаборатории, можно, однако, придти и к неправильным суждениям. Весьма глубоко изучавшие качества двух портативных коагулометров Boldt J. et al. (1998), замечают, что при простом сравнении результатов могут быть выпущены из внимания такие существенные факторы неточности определения, выполненного в центральной лаборатории, как различные преаналитические факторы: время транспортировки в лабораторию, срок обработки пробы в ней, температура при транспортировке и во время подготовки пробы, многочисленность этапов пробоподготовки и т.п. При исследовании у постели пациента практически все эти факторы неточности исключаются. Так что может возникнуть желание за точку отсчета - своего рода «золотой стандарт» - взять результаты, полученные на приборах АМЛ.

Как показывает практика, существует несколько вариантов применения средств АМЛ: профессиональным лабораторным персоналом внутри лаборатории или в ее отделении экстренных исследований, то-есть как один из

8. ПРИМЕНЕНИЕ АМЛ В КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ

По мнению Price С.Р.(2001), существуют два вида клинических ситуаций, когда применение средств АМЛ может быть полезно для исхода лечения случая заболевания (рис. 8-1).

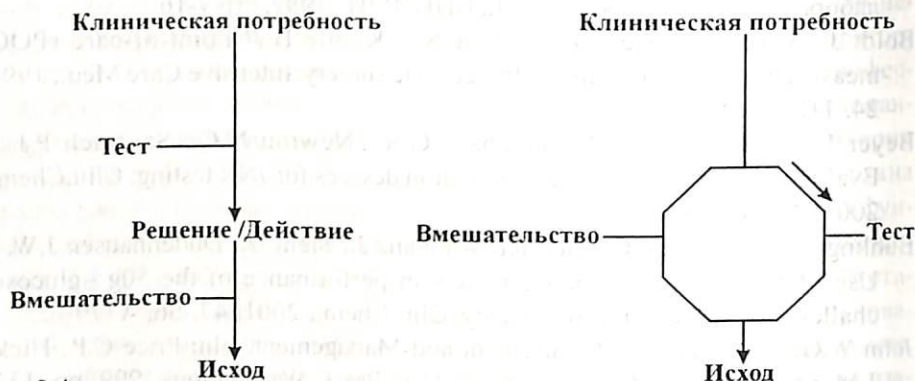


Рис. 8-1

Схема двух видов клинических ситуаций с применением средств АМЛ (по Price С.Р., 2001)

Слева: ситуация 1 вида, неотложность получения информации для экстренного принятия решений и действий.

Справа: ситуация 2 вида, лабораторный тест – звено циклического процесса слежения за состоянием пациента с последовательным принятием решений и действиями

В первом из этих видов ситуаций быстрое получение лабораторной информации о состоянии больного является императивом, поскольку состояние пациента может быстро ухудшиться и принятие лечебных мер неотложно. При втором виде ситуаций лабораторная информация является непременным звеном циклического процесса наблюдения за больным и оценки эффекта лечебных мер для их своевременной коррекции. Полезность применения средств АМЛ в этих случаях состоит в том, что они могут дать результат исследования в любое время дня и ночи и в любом месте контакта врача с пациентом.

В основе интереса к применению средств быстрого анализа в ситуациях первого вида лежит реальная возможность с помощью этих аналитических средств резко ускорить получение клинически важной информации, в чем прежде всего решительным образом заинтересованы клиницисты, имеющие

дело с больными, находящимися в критических состояниях. Особенно острой такая потребность в экстренном исследовании состояния некоторых систем и их показателей возникает у хирургов и анестезиологов в процессе оперативного вмешательства, у травматологов и реаниматологов в отделениях травматологии и интенсивной терапии, иногда в приемных отделениях, в кардиологических и эндокринологических отделениях. Для этих ситуаций даже был предложен термин "point-of-care diagnostic" (ПОСД) – «диагностика по месту лечения».

В первую очередь, к числу анализов, информация по которым может экстренно понадобиться в отношении больных в критических состояниях (Kendall J.M., 1999), относятся:

- рО₂ и рСО₂ – как показатели диффузии и перфузии газов через легкие;
- гематокрит и гемоглобин – как показатели состояния переноса кислорода кровью;
- лактат – как показатель эффективности снабжения тканей кислородом;
- катионы калий и кальций – как обеспечивающие физиологическую среду для максимального сердечного выброса;
- натрий – как показатель распределения жидкости;
- рН – как показатель, отражающий транспорт кислорода и активность катионов.

Эти показатели отражают состояние жизненно-важных функций организма пациента независимо от первопричины патологического состояния. Для поддержания этих функций на необходимом уровне может потребоваться, соответственно, коррекция гипоксии, гиперкалиемии, внутривенное введение физиологической жидкости, переливание крови и т. п. И данные экстренного определения указанных анализов могут быть основанием для своевременного назначения соответствующих лечебных мер, а далее служить средством слежения за их эффектом.

Период времени между назначением соответствующего лабораторного теста, реальным взятием пробы и доставкой ее в лабораторию, получением результата анализа врачом и принятием им решения о диагнозе и виде лечения в англоязычной литературе именуют turn-around-time (сокращенно ТАТ (рис. 8-2).

В шутку этот период времени по-английски называют "from vein to brain". Мы могли бы этот промежуток времени назвать «временем оборота лабораторного теста». Даже если время между возникновением у врача потребности в такой информации и ее получением сократится в два раза, то это нередко может оказаться жизненно важным для пациента, которому успеют внес-

ти нужный лекарственный препарат и отрегулировать слабеющую физиологическую функцию, а затем проследить за стабильностью лечебного эффекта и откорректировать проводимое лечение. Такое ускорение лабораторной диагностики может оказаться реальным просто потому, что вся аналитическая процедура может быть выполнена в непосредственной близости от места действий врача, а не в отдаленной от него на то или другое расстояние клинической лаборатории (рис. 8-3).

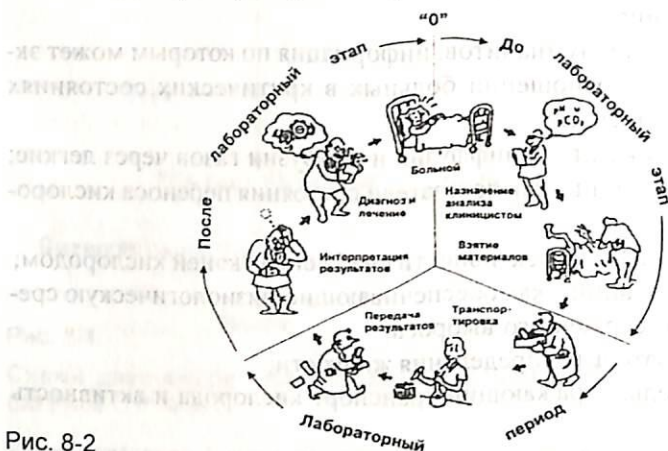


Рис. 8-2

Схема оборота лабораторного теста (по Долгов В.В. и др., 1997)

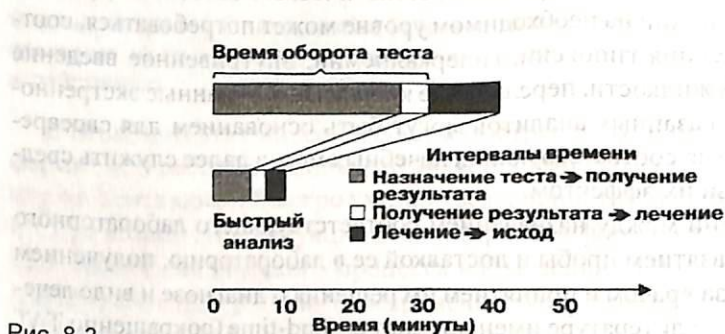


Рис. 8-3

Возможности сокращения времени оборота лабораторного теста (TAT) при применении средств быстрого лабораторного анализа (по Kost G., 1999)

Как приблизить лабораторное исследование к хирургу, анестезиологу, реаниматологу? Выполнение аналитических процедур обычно связано с наличием определенной аппаратуры, реагентов, посуды, входящих в оборудо-

вание рабочего места лабораторного работника, что затруднительно развернуть непосредственно в месте инвазивного лечения. Процесс доставки пробы биоматериала в основную лабораторию того же учреждения можно существенно ускорить с помощью пневмопочты, что, однако, требует соответствующих устройств, которые не всегда технически и экономически реальны. В ряде случаев приближение лабораторного оснащения к месту наиболее драматических событий достигается созданием специальной экспресс-лаборатории по соседству с операционным блоком или отделением интенсивной терапии. Практика показывает, что этот вариант наиболее рационален там, где достаточно высока оперативная активность или где концентрируется особенно тяжелый контингент больных, например, в больницах скорой помощи. В других случаях рабочая нагрузка в таких лабораториях не очень высока, что может приводить к отрицательным выводам о целесообразности существования таких лабораторий.

Но, как уже показано выше, научно-технический прогресс и промышленность средств диагностики *in-vitro* предлагают другое решение проблемы быстрой лабораторной диагностики – вынесение ряда неотложных анализов из стен лаборатории на основе применения новых портативных аналитических систем, которые могут использоваться нелабораторным персоналом, т.е. медицинскими работниками самих клинических отделений. Это новое направление в лабораторном обеспечении больных – неотложное вне-лабораторное выполнение лабораторных исследований, «лаборатория без стен» – уже довольно широко оснащено соответствующими материальными средствами анализа в результате наблюдающегося в последнее время бурного роста конструирования и производства средств анализа, пригодных для использования в месте лечения пациента и основанных на самых передовых технологиях (см. разделы «Аналитика АМЛ», «Техника АМЛ», «Экономика АМЛ»). По данным Kendall J.M. et al. (1998) при выполнении исследования с помощью средств АМЛ непосредственно в отделении критических состояний врач получает результат исследования газов крови на 21 минуту раньше, чем из центральной лаборатории больницы, результата гематологических тестов на 74 минуты, а результат биохимических тестов – на 86 минут раньше! Согласно данным этих авторов, из 859 больных, обследованных таким способом, у 120 план лечебных мероприятий подвергся коррекции, причем у 59 из них внесенные изменения носили неотложный характер (переливание крови, коррекция гиперкалиемии, увеличение подачи кислорода и т. п.). Сходные результаты сообщали и другие авторы (Sands V. et al., 1995; Tsai W. et al., 1994).

Возможность быстрого параллельного определения упомянутых выше тестов или их определенных комбинаций реализована в нескольких вариантах средств АМЛ: i-STAT, OPTI Plus, и др. (табл. 8-1).

Таблица 8-1

Набор тестов в отдельных картриджах системы АМЛ i-STAT 1 (по данным фирмы "Abbott")

Аналиты	Картриджи									
	EG 7+	EG6+	G3+	CG4+	EC8+	EC6+	6+	EC4+	E3+	CG8+
Натрий	+	+			+	+	+	+	+	+
Калий	+	+			+	+	+	+	+	+
Хлориды					+		+			
Кальций	+					+				+
Мочевина					+		+			
Глюкоза					+	+	+	+		+
Лактат				+						
pH	+	+	+	+	+	+				+
pCO ₂	+	+	+	+	+					+
pO ₂	+	+	+	+						+
HCO ₃ [*]	+	+	+	+						+
tCO ₂ [*]	+	+	+	+	+					+
BE [*]	+	+	+	+	+					+
Анионный интервал					+					
sO ₂ [*]	+	+	+	+						+
НСТ	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Hb [*]	+	+			+	+	+	+	+	+

Примечание: Кроме того, к прибору i-STAT 1 предлагаются моноцелевые тест-картриджи с реагентами на глюкозу, креатинин, активированное время свертывания.

Hicks J. (2002) сообщила, что в Национальном педиатрическом медицинском центре США в течение года выполняется до 190000 тысяч исследований средствами АМЛ, причем в отделениях для новорожденных, в детских отделениях, в отделениях интенсивной терапии, при оказании экстренной помощи вне центра (в вертолете скорой помощи) до 100% исследований газов крови и свыше 90% исследований электролитов в крови выполняется нелабораторным персоналом с применением прибора i-STAT.

Интраоперационное применение исследования паратгормона с помощью теста АМЛ позволило Irwin G.L. et al. (1999), Chen H et al. (1999) проводить паратиреоидэктомию как однодневную процедуру с соответствующими преимуществами для больных и экономией расходов.

Частыми проявлениями острых состояний являются нарушения системы свертывания крови вследствие обильных переливаний жидкостей, печеночной недостаточности и неспособности синтезировать белки системы свертывания крови. Может развиваться диссеминированное свертывание крови или повышенная способность к тромбообразованию. На фоне постоянной венозной гемофильтрации при лечении острой почечной недостаточности должна проводиться терапия антикоагулянтами. Все эти состояния требуют частых исследований показателей свертывания крови: протромбинового времени, активированного частичного тромбопластинового времени, активированного времени свертывания крови. Эти тесты доступны для выполнения с применением средств АМЛ, которые позволяют радикально сократить время выполнения исследований (рис. 8-4).

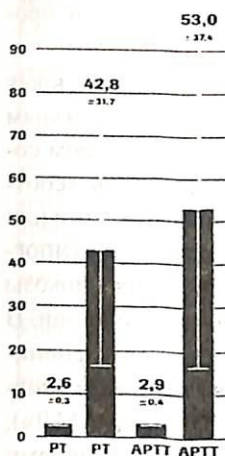


Рис. 8-4

Сравнение времени (в минутах) от взятия крови до выдачи результатов исследования протромбинового времени (два левых столбика) и активированного частичного тромбопластинового времени (два правых столбика) с помощью портативного коагулометра CoaguChek (в каждой паре столбиков слева) и в центральной лаборатории на традиционных приборах (по Tschaikowsky K et al., 1998)

По наблюдению Becker R.C. et al. (1994), основанному на 264 исследованиях АЧТВ у 83 больных кардиологического отделения при лечении гепатингом, от момента взятия пробы крови до получения врачом результата исследования активированного частичного тромбопластинового времени при проведении анализа по обычной лабораторной процедуре требовалось 126 ± 84 минуты, а при использовании средства АМЛ всего 3 минуты.

При диагностике тромбоза глубоких вен конечностей исследование Д-димера с помощью устройства АМЛ SimpliRED выявило чувствительность 93% при специфичности 77% (Wells P.S. et al., 1995). Ginsberg J.S. et al., (1995) обнаружили, что исследование Д-димера с помощью того же устройства имеет высокую чувствительность (94%) и отрицательную предсказательную значимость (98%) при легочной эмболии.

Разработка высочувствительного способа определения малых концентраций гемоглобина в плазме, сыворотке и водных растворах на экспресс-анализаторе HemoCue/Plasma Low Hb позволила использовать его для контроля степени гемолиза препаратов крови при их хранении и перед использованием для переливания больным, а также для контроля за кровопотерей в послеоперационном периоде по содержанию гемоглобина в оттекающей из операционной зоны жидкости.

Ряд исследований оказывается необходимым и для экстренного решения некоторых проблем диагностики и лечения, специфичных для определенных форм патологии. Среди них сахарный диабет, острая коронарная недостаточность, угрожающий сепсис. При этих клинических ситуациях может оказаться жизненно необходимым быстрое определение, соответственно, уровня глюкозы в крови, сердечных маркеров, С-реактивного белка или прокальцитонина, микроальбуминурии.

Понижение уровня глюкозы в крови – гипогликемия – может быть как следствием передозировки инсулина у больных диабетом, так и следствием гиперкатаболизма и истощения запасов гликогена у больного в остром состоянии. И в том, и в другом случае необходимы неотложные меры (соответственно, введение раствора декстрозы и инсулина при гипогликемии или инсулина при гипергликемии) для предотвращения или купирования гипогликемической или гипергликемической комы. Определение уровня глюкозы стало одним из первых тестов АМЛ для исследований аналитов в крови. В настоящее время это исследование может быть осуществлено с применением различных аналитических принципов, реализованных в устройствах нескольких конструкций (см. разделы «Аналитика АМЛ» и «Техника АМЛ»).

Очевидная опасность промедления с диагностикой и лечебными мерами при остром приступе за грудных болей – столь частого и грозного проявления сердечно-сосудистой патологии – делает понятным появление среди средств АМЛ различных вариантов детекции повышения концентрации в крови сердечных маркеров: миоглобина, тропонина, креатинкиназы МВ (табл. 8-2).

Как видно из таблицы, разработанные и производимые промышленным путем иммуно-аналитические тесты позволяют быстро осуществить детекцию в крови пациента не только по отдельности тропонина I, миоглобина и фракции МВ креатинкиназы, которые являются самыми распространенными тестами в диагностике поражения миокарда, но и провести параллельное исследование всего их комплекса, что существенно экономит время и облегчает диагностический процесс. Добавим, что кроме того, создается возможность быстрой оценки состояния некоторых показателей системы свертыв-

вания крови (Д-Димер), а также степень возможной помехи тромболитической терапии препаратами стрептокиназы с помощью теста на антистрептокиназу.

Таблица 8-2

Средства АМЛ для детекции сердечных маркеров (по Wu A.H. B., 1999)

Аналит	Принцип исследования	Характер оценки	Биоматериал	Фирма-производитель
Кретинкиназа МВ	Иммунохроматография	Количественная	Сыворотка/плазма	Hybritech Icon®
Миоглобин	Латекс-агглютинация	Полуколичественная	Сыворотка	Dade Behring Rapitex®
Миоглобин	Латекс-турбидиметрия	Количественная	Сыворотка/плазма	Dade Behring Turbitime®
Кретинкиназа МВ, миоглобин	Иммунохроматография	Качественная	Кровь/сыворотка/плазма	Spectral STAT us™
Сердечный тропонин I	Иммунохроматография	Качественная	Кровь/сыворотка/плазма	Spectral STAT us™
Сердечный тропонин T	Иммунохроматография	Качественная	Кровь	CardiacT® Rapid
Сердечный тропонин T	Иммунохроматография	Количественная	Кровь	CardiacT® Quant
Кретинкиназа МВ, миоглобин, сердечный тропонин I	Флюоресценция/Хроматография	Количественная	Кровь/плазма	Biosite Triage®
Кретинкиназа МВ, миоглобин, сердечный тропонин I	Флюоресценция	Количественная	Кровь/сыворотка	First Medical Alpha Dx™
Кретинкиназа МВ, миоглобин, сердечный тропонин I	Флюоресценция	Количественная	Кровь/сыворотка	Dade Stratus CS

Возможности, которые дает использование средств АМЛ в первые часы после приступа сердечных болей для диагностики инфаркта миокарда, подверглись серьезному изучению в многоцентровых исследованиях. (Табл. 8- 3).

Таблица 8-3 (Начало)

Результаты многоцентральной оценки диагностической чувствительности и специфичности средства АМЛ Biosite TriageT при остром инфаркте миокарда (по Apple F.S. et al., 1999)

Сердечные маркеры	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
0-6 часов после приступа болей		
Миоглобин	75	74
Кретинкиназа МВ	77	91
Сердечный тропонин I	65	100

Таблица 8-3 (Окончание)

6-12 часов после приступа болей		
Миоглобин	75	82
Креатинкиназа МВ	78	86
Сердечный тропонин I	72	97
12-24 часа после приступа болей		
Миоглобин	72	68
Креатинкиназа МВ	79	82
Сердечный тропонин I	97	94
> 24 часов после приступа болей		
Миоглобин	61	73
Креатинкиназа МВ	94	87
Сердечный тропонин I	97	96

При этом исследование сердечных тропонинов I и T проявляет большую чувствительность, чем остальные маркеры, из-за отсутствия базального содержания их в состоянии здоровья, что позволяет по присутствию в крови даже малейших их концентраций устанавливать наличие минорных поражений миокарда при нестабильной стенокардии. Высокий уровень сердечных тропонинов многократно повышает риск развития острого инфаркта миокарда и сердечной смерти в последующие недели и месяцы по сравнению с пациентами, имевшими нормальные показатели тропонинов. По данным Ng S. et al. (2001), особенно высока чувствительность комплексного исследования трех сердечных маркеров в срок 90 минут после приступа загрудинных болей (рис. 8-5).

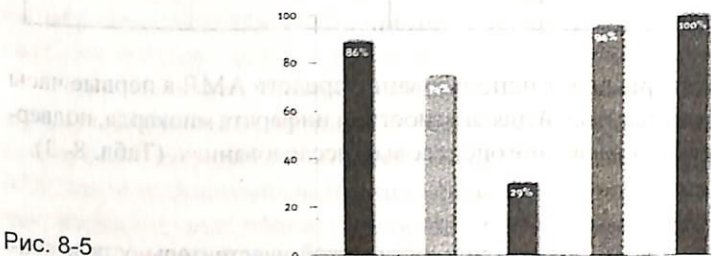


Рис. 8-5

Чувствительность при диагностике инфаркта миокарда по результатам определения трех сердечных маркеров на 90-й минуте после приступа болей за грудиной (по Ng S et al., 2001): **Шкала по вертикали** – диагностическая чувствительность в процентах; **Столбики** отражают чувствительность определения следующих отдельных аналитов или их комбинаций (по горизонтали слева направо): сердечный тропонин I; креатинкиназа МВ; повышение миоглобина на 25% и больше; сердечный тропонин I и повышение миоглобина на 25% и больше; сердечный тропонин I, повышение миоглобина на 25% и больше и креатинкиназа МВ

Комитет Национальной академии клинической биохимии США, рекомендуя исследование сердечных маркеров с временем оборота лабораторного теста не более 1 часа, не регламентировал способ выполнения этих тестов: в центральной лаборатории больницы, в спутниковой экспресс-лаборатории или с помощью АМЛ непосредственно в кардиологическом отделении. Если преследуется только цель диагностики инфаркта миокарда, достаточным считается и применение качественного средства АМЛ. При необходимости определения размера инфаркта, степени риска, детекции реинфаркта, определении успеха реперфузионной терапии следует применять тесты АМЛ с количественной оценкой. Представляется, что тесты АМЛ могут применяться уже в машине скорой помощи, подобно анализу ЭКГ, для того, чтобы возможно скорее начать внутривенное введение стрептокиназы. Особенно ценными средства АМЛ могут оказаться при диагностике поражения сердца в случаях развитии приступа загрудинных болей у людей, находящихся в отдаленных от крупных медицинских центров местностях.

Европейская и американская ассоциации кардиологов относят определение тропонинов в крови к числу наиболее важных признаков инфаркта миокарда (Braunwald E. et al., 2000). Однако, по мнению Wu A.H.B.(1999), преимущества использования средств АМЛ для детекции сердечных маркеров (по сравнению с исследованиями в лаборатории) как в больничных условиях, так и в амбулаторной практике, еще предстоит доказать.

В ряду тестов, характеризующих патологию миокарда, недавно занял место В-тип натрийуретического пептида. Его активная форма (BNP₃₂) представляет собой характерную кольцевую структуру, состоящую из 17 аминокислот, которая образована внутримолекулярным дисульфидным мостиком между остатками цистеина и соединена с аминотерминальным плечом из 9 аминокислотных остатков и карбокситерминальным плечом из 6 остатков аминокислот. BNP рассматривается как маркер систолической и диастолической дисфункции желудочков сердца (Yamamoto K. et al., 1996, Maisel A. et al., 2001) Его концентрация в плазме соответствует степени тяжести декомпенсированной сердечной недостаточности (рис. 8-6).

Многие острые состояния, и в том числе хирургическое вмешательство, бактериальный менингит, острый панкреатит, травма, ожоги, а также ишемия и реперфузия могут вызвать повышение проницаемости капилляров, проявляющееся симптомом микроальбуминурии, которая может оказаться предвестником сепсиса и полиорганной недостаточности (MacKinnon K.L. et al., 1997). Регулирование состояния повышенной проницаемости капилляров с помощью синтетических высоко-молекулярных коллоидных растворов, на-

пример, гидроксипропил крахмала, под контролем микроальбуминурии позволяет уменьшить такие тяжелые осложнения как дыхательный дистресс-синдром и полиорганная недостаточность (Gosling P. et al., 1998).



Рис. 8-6а

Корреляция между концентрацией В-типа натрийуретического пептида (BNP) и тяжестью сердечной недостаточности (по классификации New York Heart Association). Шкала по вертикали – концентрация BNP в пг/мл.; По горизонтали – классы сердечной недостаточности: слева направо – норма; класс 1; класс 2; класс 3; класс 4.

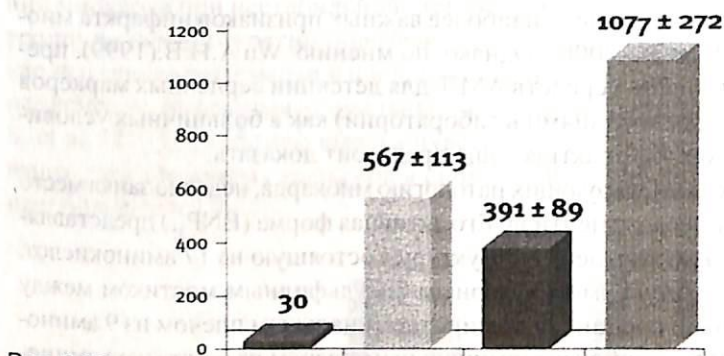


Рис. 8-6б

В-тип натрийуретического пептида (BNP) при дисфункции левого желудочка сердца (по Maisel A. et al., 2001). Шкала по вертикали – средние значения концентрации BNP в пг/мл.; Столбики по горизонтали – различные варианты состояния функции левого желудочка сердца (слева направо): нормальная функция (105 обследованных); систолическая дисфункция (53 обследованных); диастолическая дисфункция (42 обследованных); систолическая и диастолическая дисфункция (14 обследованных)

Микроальбуминурия является также предвестником развития диабетической нефропатии, которая нередко ведет к почечной недостаточности, требует применения диализа и служит частой причиной смерти больных сахарным диабетом. Поэтому скрининг состояния функции почек у больных диабетом,

наиболее удобный с применением средств АМЛ, может быть способом раннего оповещения о возможном развитии событий и сигналом к своевременному применению лечебных мер, которые могли бы предотвратить или существенно отсрочить ухудшение состояния больных (рис.8-7).

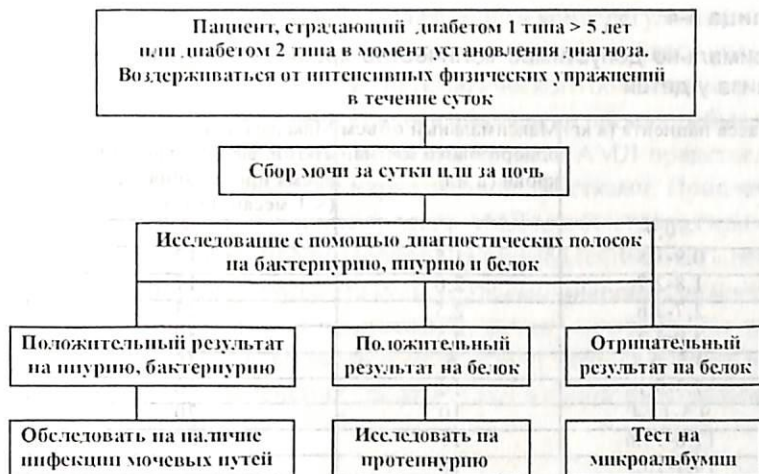


Рис. 8-7

Тактика скрининга больных сахарным диабетом на наличие микроальбуминурии (по Lee-Lewandrowski E., Lewandrowski K., 1999)

В акушерской практике может найти применение иммуно-аналитическая платформа для обнаружения белка, связывающего инсулино-подобный ростовой фактор I - маркер преждевременного разрыва плодной оболочки.

В педиатрической практике, как и в отношении взрослых пациентов, мотивы применения средств АМЛ скорее интуитивны, чем строго научно обоснованы. Тем не менее, педиатры находят немало как клинических, так и этических доводов в пользу применения средств АМЛ при обследовании маленьких пациентов. Привлекательность немедленного получения лабораторного результата порой заставляет клиницистов отставлять в сторону экономические соображения, поскольку большая подвижность физиологических процессов у детей требует получения информации в максимально короткие сроки, пока она еще отражает состояние организма больного ребенка. Не менее сильным стимулом служит желание родителей больного ребенка как можно скорее начать его лечение (Gill F.N., Bennett M.J., 1999).

Немаловажно, что минимальный объем крови, достаточный для анализа на современных средствах АМЛ, делает неоднократное выполнение этих исследований в процессе мониторинга не обременительным для больного, и без того

находящегося в весьма тяжелом состоянии. Особенно бережно нужно использовать кровь для лабораторных тестов у больных детей во избежание ятрогенной анемизации. Ориентиром в этом отношении могут быть данные, разработанные в клинической лаборатории Hermann Hospital (США) (табл. 8-4).

Таблица 8-4

Максимально допустимое количество крови, которое может быть взято для анализа у детей

Масса пациента (в кг)	Максимальный объем однократного взятия крови (в мл)	Максимальный объем крови, взятой для исследований за время пребывания в больнице (< 1 месяца) (в мл)
< 0,9	1	8
0,9-1,8	1,5	12
1,8-2,7	2,0	17
2,7-3,6	2,5	23
3,6-4,5	3,5	30
4,5- 6,8	5	40
7,3-9,1	10	60
9,5-11,4	10	70
11,8-13,6	10	80
14,1-15,9	10	100
16,4-18,2	10	130
18,6-20,5	20	140
20,9-22,7	20	160
23,2-25,0	20	180
25,5-27,3	20	200
27,7-29,5	25	220
30,0-31,8	30	240
32,3-34,1	30	250
34,5-36,4	30	270
36,8- 28,6	30	290
39,1-40,9	30	310
41,4-43,2	30	330
43,6-45,5	30	350

При лечении острой дыхательной недостаточности у детей экстра-корпоральной мембранной оксигенацией требуется быстрое определение газов крови, гемоглобина, активированного времени свертывания и лактата, что можно осуществить с помощью средств АМЛ. Для исследования последних двух анализитов даже предпочтительнее быстрый прикроватный анализ, чем выполнение исследования в лаборатории, поскольку тест активированного свертывания крови должен начинаться как можно быстрее после взятия пробы цельной крови без добавления антикоагулянтов, а лактат довольно нестабилен. Систематическое исследование содержания глюкозы в крови с

помощью глюкометров, как показывает практика диабетологов, играет важную роль в предупреждении развития осложнений диабета, что особенно важно для детей, страдающих долгие годы этим заболеванием. У детей более высок риск развития гипогликемии и кетоацидоза, по сравнению со взрослыми больными, вследствие большей выраженности контррегуляторной реакции и естественной инсулинорезистентности в период полового созревания, что обуславливает необходимость систематического объективного контроля с использованием одинаковых средств анализа во время пребывания в больнице и дома. Немалое поле применения средств АМЛ представляет детский травматизм и употребление наркотиков подростками. Привлекает внимание клиницистов и применение средств АМЛ для быстрого скрининга на наличие стрептококков, что позволяет без промедления начать лечебные мероприятия (ожидание результата культуральных микробиологических исследований ранее существенно задерживало начало лечения). для диагностики адено- и ротавирусов, вызывающих тяжелую диаррею у детей и т.д.

Обзор возможностей применения средств АМЛ в педиатрической практике представлен в таблице 8-5.

Таблица 8-5

Рекомендации по применению средств АМЛ в педиатрической практике (по Gill F.N., Bennett M.J., 1999)

Тест АМЛ	Рекомендуемое применение
Диагностические полоски для мочи	Диабетологические отделения, травматология
Исследование на скрытую кровь в кале	Травматология
Исследование глюкозы в крови	Диабетологические отделения, травматология
Быстрый скрининг на стрептококки	Поликлиники, приемные семейных врачей
Определение газов крови	Травматология, быстрое исследование в условиях транспорта
Электролиты	Травматология, быстрое исследование в условиях транспорта
Насыщение кислородом	Катетеризация сердца
Гемоглобин	Травматология, хирургия
Тесты на беременность	Поликлиники, приемные семейных врачей
HbA1c	Диабетологические отделения
Тест на микроальбуминурию	Диабетологические отделения
Протромбиновое время	Кардиологические центры, обследование на дому
Активированное время свертывания/гепарин	Хирургия, экстракорпоральная мембранная оксигенация, диализ
Функция тромбоцитов	Хирургия, послеоперационное отделение

Существенным фактором расширения научных разработок и роста производства средств АМЛ являются значительные перспективы их сбыта, по-

скольким некоторым из них могут применяться гораздо более широким кругом потребителей, чем только больничные лаборатории. Хотя первоначальным стимулом для разработки средств быстрого анализа, пригодных для внелабораторного применения, была обсуждавшаяся выше потребность в неотложном получении лабораторной информации о больных в критических состояниях, опыт применения этих экспресс-тестов стимулировал общее развитие и распространение подобных аналитических средств и на внебольничные – «полевые» условия. При этом речь идет о расширении диагностических возможностей амбулаторного врача, семейного врача, которые имеют дело с ранними проявлениями патологии, когда именно лабораторные данные могут помочь выбрать правильный путь лечения, или с хроническими заболеваниями, когда важен постоянный мониторинг состояния пациента для эффективного сдерживания болезни и предотвращения отягощения состояния больного.

Основными клиническими ситуациями, которые предрасполагают к применению средств АМЛ во внебольничном секторе, Hobbs R. (1999) считает диабет, нарушения липидного обмена, скрининг кардиологических пациентов, потребность в оценке фертильности и диагностике беременности, скрининг при подозрении на заболевание раком, аллергические состояния, анемию, нарушения свертывания крови, инфекционные заболевания, включая СПИД, гепатит, стрептококковые инфекции, хламидиоз, для диагностики которых имеются известные средства АМЛ. Кроме того, как обязательный компонент возможностей исследований средствами АМЛ рассматриваются набор наиболее часто запрашиваемых клинико-химических тестов в крови и анализ мочи. Перечисленные ситуации, предрасполагающие к применению средств АМЛ в поликлинической практике, можно разделить на две категории. Первая из них близка к ситуациям в больничных условиях – острое развитие патологического состояния, требующее быстрой ориентации в диагнозе и неотложного принятия лечебных мер. Так, при возникновении инфекционного заболевания быстрое исследование С-реактивного белка или прокальцитонина помогает дифференцировать бактериальную от вирусной этиологии заболевания и принять решение в отношении назначения антибиотиков (табл. 8-6). Этот же тест способствует дифференциальному диагнозу при острых болях в брюшной полости (Hobbs F.D.R. et al., 1996).

Исследование интерлейкина – 6 с помощью иммуноаналитического устройства IL-Quicktest Milenia Quickline (“Milenia Biotec”) позволяет на ранней стадии воспалительного процесса (в пределах 3 часов от его начала) идентифицировать бактериальную инфекцию, послеоперационные осложнения, ус-

тановить наличие высокого риска отягощения состояния пациента после травмы. Поскольку интерлейкин –6 является основным медиатором реакции острой фазы и участвует в индукции синтеза С-реактивного белка в печени, его повышение существенно опережает повышение последнего в пробе биоматериала (рис. 8-8).

Таблица 8-6

Диагностические и терапевтические корреляты при различной степени повышения кальцитонина в сыворотке или плазме (по Meisner M.)

Концентрация прокальцитонина (нг/мл)	Оценка степени развития инфекции	Возможные дальнейшие диагностические и лечебные меры
< 0,5	Местная ограниченная бактериальная инфекция Хронический воспалительный процесс, аутоиммунное заболевание Вирусная инфекция	Клиническое наблюдение. Возможны дальнейшие лабораторные исследования
0,5-2	Инфекция или сепсис возможны Политравма Ожоги	Требуется расшифровка этиологии повышения анализа
2-10	Возможна бактериальная инфекция с системным распространением	Интенсивная диагностика причины повышения анализа Лечебные меры, направленные на причину ухудшения состояния и на общую поддержку организма пациента (антибиотики, интенсивная терапия) Контроль за состоянием кровообращения
>10	Возможна тяжелая бактериальная инфекция с системным воспалением, сепсис с полиорганной недостаточностью, септический шок (если нет иных причин – оперативного вмешательства, тяжелой травмы)	Каузальное и поддерживающее лечение (антибиотики, интенсивная терапия) Контроль за состоянием кровообращения

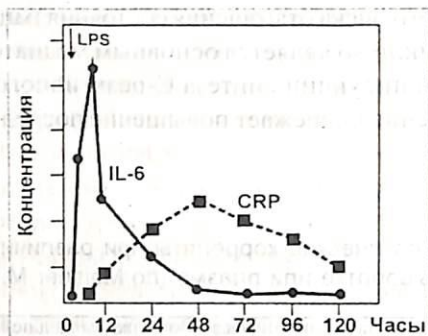


Рис. 8-8

Сравнительная динамика изменения концентраций интерлейкина IL-6 и С-реактивного белка при воспалительных и инфекционных процессах (по данным "Milenia biotec")

Довольно привлекательны для применения во внебольничной сфере иммуно-аналитические тесты АМЛ, предназначенные для детекции многих инфекционных (бактерии, вирусы) и некоторых паразитарных (малярия) патогенов. Они разработаны в расчете на исследование того биологического материала, в котором нахождение искомого патогена или антител к нему наиболее вероятно (соскобы из гортани для детекции стрептококков, эндцервикальные соскобы и цитологические образцы для хламидий, соскобы со слизистой и промывные воды из носа для вирусов инфлюэнцы, образцы кала для аденовирусов, плазма или сыворотка для плазмодиев малярии и т.д.). Не требуя в большинстве случаев пробоподготовки с использованием сложной лабораторной аппаратуры, а также измерительных приборов, эти тесты могут применяться вдалеке от медицинских центров, в сельских местностях, в полевой обстановке. Будучи основаны на использовании моноклональных антител, эти тесты обладают высокой степенью специфичности, хотя и уступают культуральным и молекулярно-биологическим методам по чувствительности. В ситуациях, когда клинические признаки инфекционного заболевания весьма выражены, отрицательные результаты этих тестов нуждаются в подтверждениях более чувствительными методами.

Вторая категория клинических ситуаций при внебольничной помощи — скрининг пациентов для обнаружения подозреваемой патологии, мониторинг хронических заболеваний, слежение за результатами лекарственной терапии.

Наиболее давно известные в медицинской практике диагностические полоски для исследования мочи дают ориентировочные сведения относительно довольно широкого круга патологических состояний. Показатели белка, крови, лейкоцитов, нитритов, относительной плотности, рН важны для выяв-

ления поражений почек и мочевых путей. Так, наличие эритроцитов, лейкоцитов, нитритов в моче может указывать на инфекционное поражение почек и мочевых путей, вызванного *E.Coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Aerobacter*, *Salmonella*, иногда *Pseudomonas*, *Staphylococci*, *Enterococci*. Кровь в моче может быть результатом гломерулонефрита (в 90% случаев этого заболевания), уrolитиаза, опухоли почек или мочевого пузыря; геморрагического диатеза, инфаркта почки, подагрической нефропатии. Белок в моче является одним из симптомов поражения почек, включая гломерулонефрит, диабетическую нефропатию. Изменение относительной плотности мочи может свидетельствовать о нарушении концентрационной способности почек, дисфункции их канальцевого аппарата, сахарного диабета, несахарного диабета, гиперальдостеронизма. Абактериальная лейкоцитурия может быть результатом гломерулопатии, злоупотребления анальгетиками, интоксикаций, а также инфекционного поражения трихомонадами, гонококками, микоплазмой, вирусами, грибами, туберкулеза мочеполового тракта, нефрофтиза, а также опухолей. Билирубин и уробилиноген в моче отражают состояние печени и желчных путей, они могут повышаться при острых и хронических поражениях печени, гемолитической и обструктивной желтухе, в программе синдромов Dubin-Johnson и ROTOR. Кроме того, положительный результат на уробилиноген может отражать превышение функциональной способности печени при гемолитической и пернициозной анемии, внутрисосудистом гемолизе, полицитемии, резорбции обильных экстравазатов крови. Глюкоза и кетоны представляют состояние углеводного обмена и служат существенными показателями при диагностике и мониторинге сахарного диабета. Кроме того, глюкозурия может отражать почечную недостаточность с понижением функции почек до 30%. Кетонурия является одним из проявлений гипергликемической прекомы и комы, однако положительная реакция на кетоны может наблюдаться при голодании, при лихорадочных состояниях, инфантильных ацетонемических рвотах и рвотах у беременных женщин.

Среди тестов АМЛ, которые могли бы применяться для скрининга, можно указать тесты на содержание холестерина в крови, тест на наличие простатического специфического антигена при подозрении на опухоль предстательной железы, тест на скрытую кровь в кале.

Значительный опыт применения тестов АМЛ в массовых скрининговых программах по выявлению риска заболевания сахарным диабетом и атеросклерозом накоплен в США. Volles et al. (1998) сопоставили результаты скрининга у 100 обследованных по данным, полученным на неинструментальных средствах АМЛ Cholestech L.D X и AccuMeter, с данными параллельно-

го исследования по стандартизованному референтному методу, рекомендованному Центром контроля за болезнями США. Среднее относительное смещение для общего холестерина составило 2,1% для первого устройства и -1% для второго. Хотя общая ошибка ни для первого устройства (22,4%), ни для второго (20,6%) не соответствовала рекомендациям National Cholesterol Education Program Национального института здоровья США, тем не менее полученные с помощью этих устройств значения общего холестерина у обследованных позволили точно классифицировать их по группам риска коронарного атеросклероза. Проведение скрининга с помощью теста на ПСА не встречает единодушной поддержки, поскольку повышение этого фермента в крови может быть связано не с опухолью, а с воспалительным процессом в предстательной железе. Положительная предсказательная значимость этого теста в отношении рака предстательной железы составляет 28-35% (Catalona et al., 1994). Целям мониторинга хронических заболеваний и слежения за результатами лекарственной терапии может служить определение глюкозы и гликированного гемоглобина в крови при сахарном диабете, тесты показателей свертывания крови при антикоагулянтной терапии в домашних условиях.

Caqliero E. et al. (1999) было показано в рандомизированном наблюдении, что предоставление пациенту во время посещения врача данных о концентрации HbA1c привело в течение 6 мес. к существенному снижению этого показателя по сравнению с контрольной группой ($0,11 \pm 0,79\%$ по сравнению с $0,57 \pm 1,44\%$). Grieve et al. (1999) получил аналогичный вывод при сравнении группы из 500 больных диабетом, получавших немедленную информацию о содержании у них гликированного гемоглобина по сравнению с группой, получавшей эти сведения через несколько дней при обследовании в стационарной лаборатории. По-видимому, в данных случаях играло роль психологическое воздействие на пациентов, приводившее к более строгому соблюдению ими рекомендаций врача относительно диеты и лечения инсулином.

Patsalos P.N et al. (1987) отметили, что применение средств АМЛ при мониторинге противосудорожной терапии позволило сократить сроки достижения оптимального эффекта лечения. Положительное влияние систематического наблюдения с применением средств АМЛ сообщалось также в отношении антирезорбционной терапии при остеопорозе, при лечении препаратами, снижающими содержание холестерина в крови.

Этим же целям могут служить тесты, пригодные для самоконтроля пациентов (помимо уже упоминавшихся глюкометров, достаточно просты в употреблении тесты для определения содержания холестерина в крови, для определения концентрации теофиллина).

Довольно широкое применение тесты АМЛ получили для ранней диагностики беременности по определению в моче хорионического гонадотропина человека, для определения овуляции, что рекомендуется программами планирования семьи. Эти тесты могут применяться в порядке самоконтроля, однако, нужно иметь в виду возможность получения ложно-положительных и ложно-отрицательных результатов. Тем не менее, по данным Vonpar J. et al., (1999), усовершенствованный алгоритм применения этих тестов позволил снизить долю нежелательных беременностей до 6,2%. В период беременности для контроля гипертензивных расстройств и профилактики развития преэклампсии рекомендуется сочетание измерения артериального давления и визуального анализа мочи с применением диагностических полосок. Учитывая вариабельность как артериального давления, так и протеинурии, следует иметь в виду возможные ошибки в оценке состояния обследуемых женщин. Более надежные результаты могут быть получены с помощью объективного анализатора – отражательного фотометра. Как и в отношении других категорий пациентов с нарушениями углеводного обмена, у беременных женщин с проявлениями сахарного диабета положительную роль в обеспечении адекватной регуляции уровня глюкозы в крови соблюдением диеты и инсулинотерапией играет самоконтроль с помощью глюкометров (Langer O., Mazze R.S., 1986).

Скрининг на наличие в моче обследуемых препаратов, вызывающих зависимость, находит применение в обследовании лиц ряда профессий при допуске к опасным видам работ, в военно-медицинских учреждениях, в судебно-медицинских лабораториях, в травматологических центрах, в пунктах скорой помощи. Свойства исследуемой пробы (табл. 8-7) следует учитывать при назначении теста и трактовке результатов.

Таблица 8-7

Отличия свойств проб слюны и мочи при детекции в них наркотических препаратов (по George S., Braithwatte R.A., 2002)

Параметр сравнения	Слюна	Моча
Условия сбора пробы	Неинвазивное взятие	Самостоятельное испускание
Основной анализ	Исходное вещество	Метаболиты
Концентрация аналита	Низкая	От умеренной до высокой
Возможный период детекции наркотика после его приема	Примерно 1 сутки	До 3 суток
Возможные затруднения	Примесь ротовой жидкости Влияние pH	Возможное «старение» Влияние pH

George S., Braithwate R.A. (2002) предупреждают, что хотя ряд средств АМЛ для детекции наркотиков показал высокую аналитическую надежность их результатов при сравнении с параллельными исследованиями референтными методами (по данным Beck O. et al. 2000; Wenning R. et al., 1998, аналитическая система FRONTLINE лишь в 6 пробах из 1200 не выявила наличие наркотического вещества при заведомом его присутствии), некоторые представленные на рынке иммуно-аналитические платформы дают до 22% ложно-отрицательных результатов (Korte T. et al., 1997). Поэтому данные, полученные с помощью средств АМЛ о наличии или отсутствии наркотических средств в пробах биоматериалов у обследованных лиц должны рассматриваться как ориентировочные. Законодательством страны может быть предписано подтверждение положительных результатов детекции наркотиков средствами АМЛ в сертифицированной для этих видов исследований лаборатории.

В зависимости от конкретной среды, в которой оказывается внебольничная помощь, применимы различные по конструкции средства АМЛ. Наиболее «мобильны» средства «сухой химии» и «сухой иммунохимии». Они могут применяться практически в любых условиях - на приеме у врача, на дому, в экспедиционной обстановке, на транспорте. Будучи преимущественно качественными или полуколичественными тестами, диагностические полоски и иммуно-аналитические платформы дают ориентацию относительно наличия повышенного содержания диагностически важного аналита. Если для регистрации результата исследования при этом используются портативные (hand-held) ридеры, может быть получена количественная информация, что существенно повышает ценность проведенного анализа. Следующей ступенью в повышении информативности исследований, выполняемых с помощью средств АМЛ, является применение для обработки полученных результатов состыкованных с ними компьютеров (в том числе портативных) или дистанционная передача результатов в лабораторную информационную систему (см. раздел «Информатика АМЛ»).

Средства АМЛ в настоящее время предоставляют возможность широкого выбора вариантов организации быстрого лабораторного обследования. Наряду с моноцелевыми тестами, рассчитанными на детекцию одного аналита, существуют тесты, позволяющие определить в одной аналитической процедуре несколько аналитов. Так, иммуно-аналитические платформы для детекции наркотических средств позволяют определить наличие сразу до 8 аналитов. Диагностические полоски для уринализа позволяют определить сразу до 11 компонентов мочи.

В некоторых многоцелевых приборах АМЛ заложена возможность получения одномоментно комплексной лабораторной информации в различной ее компоновке в зависимости от клинической задачи. Так, анализатор Spotchem EZ позволяет, наряду с параллельным определением аналитов на 3 моноцелевых диагностических полосках, одномоментно определять до 9 биохимических компонентов крови на поли-тестах, представляющих собой панели. Компания ARKRAY предлагает для этого прибора такие панельные полоски:

Скрининг 1 – АЛТ, АСТ, кальций, холестерин, глюкоза, общий билирубин, мочеви́на;

Скрининг 2 – Альбумин, ЛДГ, общий билирубин, общий белок, триглицериды, мочева́я кислота;

Сердечная панель - АСТ, холестерин, креатинин, ЛДГ, общий белок, мочеви́на;

Почечная панель – Альбумин, креатинин, общий белок, мочеви́на, мочева́я кислота;

Печеночная панель – Альбумин, АЛТ, АСТ, ЛДГ, общий билирубин, общий белок;

Экспресс-панель – АЛТ, АСТ, КК, ЛДГ, общий билирубин, мочеви́на.

В дисках-роторах, предлагаемых для анализатора Piccolo, также предусмотрены несколько профильных комбинаций биохимических тестов (табл. 8-8).

Таблица 8-8 (Начало)

Аналиты и их комплексы, исследуемые на анализаторе Piccolo (по данным фирмы "Abaxis")

Аналиты	Общая химия, 12 тестов	Панель метаболиты и электролиты, 7 тестов	Печень 8 тестов	Основная панель метаболитов, 8 тестов	Общая химия, 7 тестов	Общая химия, 6 тестов	Панель метаболиты и электролиты, 8 тестов	Панель электролиты, 4 теста
Щелочная фосфатаза	+		+					
Аланинаминотрансфераза	+		+			+		
Аспартатаминотрансфераза	+		+			+		
γ-Глутамил-трансфераза			+			+		
Креатинкина-за		+					+	
Амилаза	+		+					
Альбумин	+		+					
Общий белок	+		+	+				

Таблица 8-8 (Окончание)

Общий билирубин	+		+	+	+			
Азот мочевины	+	+		+	+	+	+	
Креатинин	+	+		+	+	+	+	
Кальций	+			+	+			
Холестерин	+				+			
Глюкоза	+	+		+	+	+	+	
Мочевая кислота					+			
Хлориды				+			+	+
Калий		+		+			+	+
Натрий		+		+			+	+
Общая двуокись углерода		+		+			+	+

К сожалению, в зарубежной литературе относительно мало работ, которые дали бы надежную основу для мета-анализа, обобщающего достоинства и недостатки применения средств АМЛ в различных внебольничных условиях оказания медицинской помощи. Практически нет таких работ и в отечественной литературе. Между тем, для российских условий представляется весьма перспективным предложение применять средства АМЛ в тех учреждениях здравоохранения, которые либо вообще не располагают лабораторией (для справки: к числу таких учреждений относятся 28% самостоятельных амбулаторно-поликлинических учреждений, 12,9% туберкулезных санаториев и 14,2% участковых больниц), либо имеют всего одного лабораторного работника со средним образованием. К этой последней категории относятся 3570 больниц и других учреждений, что составляет 26,7% от общего их количества. Далеко не всегда и не везде эти учреждения могут для своих пациентов заказать выполнение исследований в централизованных лабораториях. Применение средств АМЛ разной степени сложности может быть достаточно приемлемым выходом из положения для этих учреждений, обслуживающих немалую долю населения страны.

Да и в целом лабораторное обеспечение внебольничной помощи, на развитие которой Минздрав России ориентируется при реформировании российского здравоохранения, нуждается в существенном совершенствовании. А объемы этого вида помощи уже сейчас огромны: в 2000 г. поликлинических посещений было зарегистрировано 691598 тысяч! Поэтому комплексное медико-экономическое исследование целесообразности использования средств АМЛ во внебольничной сети и в наименьших по мощности больницах российского здравоохранения представляется весьма актуальным.

Сфера исследований, доступных с помощью устройств АМЛ, в настоящее время охватывает многие широко применяемые гематологические, клинико-химические, иммунологические анализы, ряд лекарств и наркотических средств. Эти исследования важны для диагностики и контроля за лечением заболеваний сердца, печени, почек, эндокринной, акушерской и инфекционной патологии, токсикомании и наркозависимости и т.п. (табл. 8-9).

Таблица 8-9 (Начало)

Обзор современных клинико-диагностических возможностей средств АМЛ

Виды патологии	Аналиты-мишени Биоматериал пробы: (К)-кровь, (М) - моча	Средства АМЛ
Диабет	Глюкоза (М) Кетоновые тела (М) Глюкоза (К) Гликированный Нв (К)	Диагностические полоски для мочи Отражательный фотометр То же Диагностические полоски для крови Отражательный фотометр Глюкометры: фотометры, биосенсоры Жидкостный хроматограф.
Инфаркт миокарда	Тропонины (К) Миоглобин (К) Креатинкиназа-МВ (К)	Иммуно-аналитические. тесты Отражательный фотометр
Нарушения гемостаза	Протромбиновое время (К) АЧТВ (К) Активированное время свертывания (К) Д-Димер (К)	Тест-картриджи, лазерный фотометр То же То же Иммуно-аналитический тест, Отражательный фотометр
Поражения печени	Билирубин (М) Уробилиноген (М) Билирубин (К)	Диагностические полоски для мочи Отражательный фотометр То же Диагностические полоски для крови Отражательный фотометр
Поражения почек	Белок (М) Лейкоциты (М) Эритроциты (М) рН (М) Относительная плотность (М) Нитриты (М) Азот мочевины (К) Креатинин (К) Альбумин (М)	Диагностическая полоска для мочи, отражательный фотометр То же То же То же То же То же Биосенсор Биосенсор Иммуно-аналитический. тест
Урология	Простатический специфический антиген (К)	Иммуно-аналитический тест

Таблица 8-9 (Окончание)

Акушерство	Хорионический гонадотропин Белок, связывающий инсулиноподобный ростовой фактор-1	Иммуно-аналитический тест Иммуно-аналитический. тест
Вирусные болезни	HIV, HCV, HbsAg, HbsAb Ротавирусы	Иммуно-аналитический. тест
Инфекционная, паразитарная патология	H. pylori, сифилис, хламидии, стрептококк А ЛДГ из плазмодиев малярия (К)	Иммуно-аналитический. тест
Острые состояния	Na, K, Cl, pH, pCO ₂ , pO ₂ , ion Ca, Hb, Hct (К) Лактат (К)	Биосенсоры Фотометрия
Воспаление	Прокальцитонин (К)	Иммуно-аналитический. тест
Наркология и лекарства	Бензодиазепин, опиаты, каннабиноиды, амфетамин, метадон, метамфетамин, фенциклидин, трициклические антидепрессанты. Ацетаминофен, теофиллин Антистрептокиназа	Иммуно-аналитический. тест

Арсенал средств АМЛ постоянно обогащается новыми тестами и устройствами, расширяющими возможности их применения в различных отраслях клинической медицины. Последние разработки быстрых тестов коснулись таких достаточно сложных и для большой стационарной лаборатории тестов, как определение тиреостимулирующего гормона гипофиза, пролактина, белка, связывающего жирные кислоты (новый маркер инфаркта миокарда), специфичного для астроцитов головного мозга фермента глутамин синтетазы (маркер болезни Альцгеймера), опухолевых маркеров.

По данным Titus .K. (1996) в США 88,7% исследований глюкозы, 58,3% исследований свертывания крови, 47,7% исследований газов крови, 45,5% исследований гематокрита производятся непосредственно возле пациента медицинскими сестрами.

Общий итог представленного в этом разделе обзора применения средств АМЛ в различных клинических ситуациях можно подвести словами Gill F.N., Bennett M.J.: «Мы должны применять анализ по месту лечения не потому, что он возможен, а потому, что он лучше».

ЛИТЕРАТУРА

- Долгов В.В., Мошкин А.В., Малахов В.Н., Прищепа М.И., Лукичева Т.И., Кудрявцева М.Б., Шевченко Н.Г., Шабалова И.П., Щетникович К.А. .. Обеспечение качества в лабораторной медицине. Учебное пособие. РМАПО, М., 1997, стр. 3
- Меньшиков В.В. // Лабораторные исследования возле пациента. Клин. лаб. диагн., 2002, № 4, 23-34
- Apple F.S., Christensen R.H., Valdes R., Andriak A.J., Berg A., Duh S.H. et al. // Simultaneous rapid measurement of whole blood myoglobin, creatine kinase MB, and cardiac troponin I by the Triage Cardiac Panel for detection of myocardial infarction. Clin. Chem., 1999, 45, 199-205
- Beck O., Kraft M., Moeller M.R., Smith B.I., Schneider S., Wennig R. // Frontline immunochromatographic device for on-site urine testing of amphetamines: laboratory validation using authentic specimens. Ann. Clin. Biochem., 2000, 37, 199-204
- Becker R.C., Cyr J., Corrao J.M., Ball S.P. // Bedside coagulation monitoring in heparin-treated patients with active thromboembolic disease: A coronary care unit experience. Amer. Heart J., 1994, 128, 719-723
- Bonnar J., Flynn A., Freundl G., Kirkman R., Royston R., Snowden R. // Personal hormone monitoring for contraception. Brit.J.Fam. Planning, 1999, 24, 128-134
- Braunwald E. et al. // ACC|AHA Guidelines for the Management of Patients with Unstable Angina and non-ST-segment Elevation Myocardial Infarction. Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients with Unstable Angina). J.Am. Coll. Cardiol., 2000, 970-1062
- Cagliero E., Levina E., Nathan D. // Immediate feedback of HbA1c levels improves glycemic control in type 1 and insulin-treated type 2 diabetic patients. Diabetes Care, 1999, 22, 1785-1789
- Catalona W.J., Ritchie J.P., Ahmann F.R., Hudson M.A., Scardino P.T., Flanigan R.C. et al. // Comparison of digital rectal examination and serum prostatic-specific antigen in early detection of prostate cancer. J.Urol., 1994, 151, 1283-1290
- Chen H., Sokoll L.J., Udelsman R. // Outpatient minimally invasive parathyroidectomy: a combination of sestamibi-SPECT localization, cervical block anesthesia, and intraoperative parathyroid hormone assay. Surgery, 1999, 126, 101-1022
- George S., Braithwaite R.A. // Use of On-site Testing for Drugs of Abuse. Clin. Chem. 2002, 48, 10, 1639-1646
- Gill F.N., Bennett M.J. // Case Study: The pediatrics Unit. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp. 67-98

- Ginsberg J.S., Wells P.S., Brill-Edwards P., Donovan D., Paniu A., van Beek E.J.R. et al. // Application of a novel and rapid whole blood assay for D-Dimer in patients with clinically suspected pulmonary embolism. *Thrombosis and Hemostasis*; 1995, 73, 35-38
- Gosling P., Alison K., Pallister I., Porter K. // Hydroxyethyl starch reduces capillary permeability and improves gas exchange in patients following major trauma. *Proceedings of the National Meeting of the Association of Clinical Biochemists* < Glasgow, 1998, 24.
- Grieve R., Beech R., Vicent J., Mazurkiewicz J. // Near-patient testing in diabetic clinics: appraising the cost and outcomes. *Health Technol. Ass.*, 1999, 3, 1-74
- Hicks J. // Point-of-care testing in pediatrics. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2002, 40, S53
- Hobbs R. // POCT in Primary Care. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 289-317
- Hobbs F.D.R., Kenkre J.E., Carter Y.H., Thorpe G.H., Holder R.L. // Reliability and feasibility of a point-of-care test for C-reactive protein in primary care. *Brit. J. Primary Care*, 1996, 46, 395-400
- Irwin G.L., Molinari A.S., Figueroa C., Carneiro D.M. // Improved success rate in reoperative parathyroidectomy with intraoperative PTH assay. *Ann. Surg.*, 1999, 229, 874-879
- Kallner A. // Benchtop Technology. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 67-98
- Kendall J., Reeves B., Clancy M. // Point-of-care testing: Randomized controlled trial of clinical outcome. *BMJ*, 1998, 316, 1052-1057
- Kendall J.M. // Point-of-Care Testing Case Study: The Emergency Department. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 337-358
- Korte T., Pykalainen J., Lillsunde P., Seppala T. // Comparison of RapiTest with Emit d.a.u. and GC-MS for the analysis of drugs in urine. *J. Anal. Toxicol.*, 1997, 21, 49-53
- Kost G.J. // Point-of-care testing-The Hybrid Laboratory-Knowledge Optimization. In: Kost G.J., editor. *Handbook of Clinical Automation, Robotics and Optimization*. New York. John Wiley and Sons, 1996, pp. 757-838
- Langer O., Mazze R.S. // Diabetes in pregnancy: Evaluating self-monitoring performance and glycemic control with memory-based reflectance meters. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1986, 155, 635-658
- MacKinnon K.L., Molnar Z., Watson I.D., Shearer E., Lowe D. // Use of microalbuminuria as an indicator for the development of sepsis and multiple organ failure. *British Journal of Anesthesia*, 1997, 678P

- Maisel A. et al. // Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. *Am. Heart J.*, 2001, 141, (3), 367-374
- Ng S et al. // Ninety-Minute Accelerated Critical Pathway for Chest Pain Evaluation. *Am. J. Cardiol.*, 2001, 88, 6, 611-617
- Patsalos .N., Sander J.W., Oxley J. // Immediate anticonvulsing drug monitoring in management of epilepsy. *Lancet*, 1987, 2, 39
- Price C.P. // Point-of-care testing: impact on medical outcomes. *Clin. Lab. Med.*, 2001, 21, 286-303
- Sands V., Auerbach P., Birnbaum J., Green M. // Evaluation of a portable clinical blood analyzer in the emergency department. *Academic Emerg. Med.*, 1995, 2, 172-178
- Takahashi M., Stanton E., Moreno G.I., Jackowski G. // A rapid and sensitive immunoassay for the measurement of serum glutamin synthetase. *Clin. Chem.*, 2002 (in press)
- Titus .K. // Nurses at point of care whether or not labs are there. *CAP Today*. 1996 (Dec), 25
- Tsai W., Nash D., Seamonds B., Weir G. // Point-of care versus central laboratory testing: An economic analysis in an academic medical center. *Clin. Therap.*, 1994, 16, 898-910
- Tschaikowsky K., Balint R., Pscheidl E., Bremer F. // Prothrombinzeit und Thromboplastinzeit. *Anaesthesist*, 1998, 47, 295-302
- Volles D.F., McKenney J.M., Miller W.G., Ruffen D., Zhang D. // Analytical and clinical performance of two compact cholesterol testing devices. *Pharmacotherapy*, 1998, 18, 184-192
- Wells P.S., Brill-Edwards P., Stevens P., Panju A., Patel A., Douketis J. // A novel and rapid whole-blood assay for D-dimer in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. *Circulation*, 1995, 91, 2184-2187
- Wenning R., Moeller M.R., Haguenoer J.M., Marocchi A., Zoppi F., Smith B.L et al. // Development and evaluation of immunochromatographic rapid tests for screening of cannabinoids, cocaine and opiates in urine. *J. Anal. Toxicol.*, 1998, 22, 148-55
- Wu A.H. B. // Point-of-Care Testing and the Patient with Chest Pain. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 429-448
- Yamamoto K. et al. // Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension*, 1996, 28, 988-994

9. ИНФОРМАТИКА АМЛ

Информация, которая должна формироваться, обрабатываться и передаваться приборами АМЛ как диагностическими устройствами довольно разнообразна. В наиболее полной форме результат исследования должен сопровождаться сведениями для идентификации обследуемого пациента и пробы его биоматериала, данными о характере образца биоматериала, дате и времени взятия образца, предполагаемом диагнозе, дате и времени анализа, виде лабораторного теста, цифровом значении результата исследования или его качественной характеристике, референтных пределах. Из содержания предшествующих разделов этой книги читателю ясно, что не все средства АМЛ по своей конструкции ориентированы на генерирование, обработку и передачу информации такого объема и такого разнообразного характера. В то же время, понятно, что один из наиболее эффективных способов повысить надежность средств АМЛ в решении ответственных клинических проблем и, в известной степени, снять возражения против их использования состоит в том, чтобы обеспечить обработку получаемых с их помощью результатов исследований теми же современными средствами информатики, что и в стационарных лабораториях. Не менее важное значение имеет рациональное решение проблем органичного включения средств АМЛ в общую инфраструктуру процесса диагностики патологии и лечения пациентов. Это становится возможным благодаря значительному прогрессу микроэлектроники, средств коммуникаций и собственно информационных технологий и использованию этих достижений в совершенствовании средств АМЛ, что, пожалуй, имеет не меньшее значение, чем прогресс в аналитических возможностях этих устройств за счет применения иммунологических, хроматографических, микрочипных технологий.

Роль информационных технологий в осуществлении функционирования средств АМЛ состоит в контроле за состоянием и работой компонентов прибора, в выборе теста (при наличии в приборе возможности выполнения нескольких тестов), в передаче сигнала, в осуществлении расчетов результатов анализа, в восприятии и хранении данных, в осуществлении дистанционной связи и управления, в поддержке принятия диагностического решения (Jones R.G., 1999).

Внедрение этих технологий в сферу АМЛ происходит как за счет встраивания соответствующих конструктивных элементов в приборы, так и путем сочленения устройств АМЛ с внешними системами более высокого порядка.

Первостепенное значение для работы оператора с прибором имеет интерфейс, то есть компонент прибора, обеспечивающий взаимодействие с оператором или другими приборами. В современных приборах АМЛ эту роль выполняет чаще всего жидкокристаллический экран, на который выводятся графические данные. В части случаев экран может иметь свойство воспринимать команды путем прикосновения к его определенным участкам (touch screen). Такими свойствами обладает, например, дисплей прибора i-STAT (i-STAT Corporation, США).

Использование в приборах АМЛ стандартных операционных систем типа Windows CE дает существенные преимущества как производителям, так и потребителям, способствуя снижению стоимости систем АМЛ и облегчая их подключение к телекоммуникационным сетям. Развитие систем обработки результатов АМЛ шло параллельно общему прогрессу в этой области. Первоначально подвергались обработке лишь собственно аналитические данные, результаты калибровки и контроля качества. Затем появилась возможность автоматического предупреждения выдачи ошибочных результатов при наличии ухудшения показателей контроля качества. Такая *локальная база данных* обеспечивается компьютером, непосредственно связанным с анализатором АМЛ (рис. 9-1) (рис. 9-2). Быстрое техническое совершенствование компьютеров, позволяющее вмещать в минимальное по массе устройство значительные оперативные возможности, создает основу для автономного функционирования у постели больного весьма интеллектуальных аналитических систем, например, анализаторов газов крови или анализаторов сердечных маркеров. Модульная структура приборов АМЛ создает возможность периодического совершенствования вычислительного компонента системы при сохранении неизменным аналитического компонента.

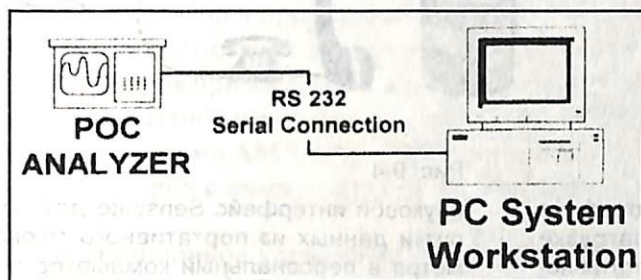


Рис. 9-1

Конфигурация локальной сети с подключением анализатора АМЛ к персональному компьютеру (по Jones R.G., 1999)



Рис. 9-2

Подключение портативного глюкометра Esprit к персональному компьютеру для обработки результатов исследований

Многие современные системы АМЛ ориентированы на подключение к компьютеру не только непосредственно, но и дистанционно. В этом отношении представляет немалый практический интерес устройство для загрузки данных с глюкометра "Litelink". При подключении глюкометра к локальному компьютеру используется оптический интерфейс "Optilite" (рис. 9-3), а при дистанционной передаче результатов исследования в базу данных семейного врача – звуковой интерфейс "Sensolite" и телефонная связь (рис. 9-4). Поступившая в локальный или дистантный компьютер цифровая информация обрабатывается специальной программой и выводится на дисплей в виде таблицы и графика, характеризующих состояние углеводного обмена у данного пациента (компания "77 Elektronika", Венгрия) (рис. 9-5).



Рис. 9-3

Оптический интерфейс Optilite для загрузки данных из портативного глюкометра в персональный компьютер ("77 Elektronika")

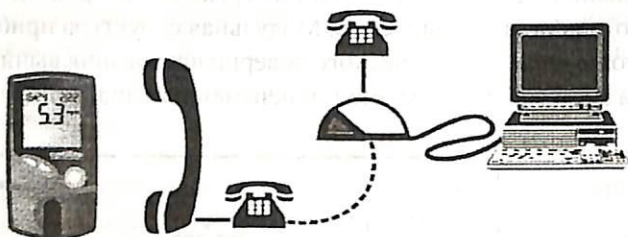


Рис. 9-4

Звуковой интерфейс Sensolite для загрузки данных из портативного глюкометра в персональный компьютер через телефонную сеть ("77 Elektronika")

Более разнообразные возможности предоставляет локальная зональная сеть (*local area networks, LAN*), которая связывает анализатор АМЛ с большой или лабораторной информационной системой в режиме моментальной двусторонней связи (рис. 9-6).

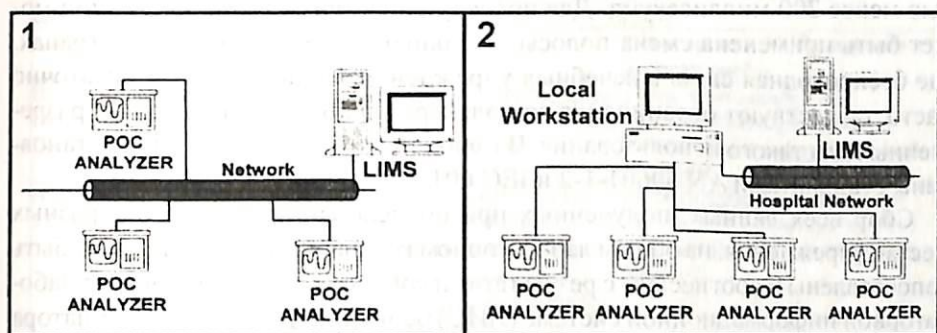


Рис. 9-6

Варианты подключения анализаторов АМЛ к локальной зональной сети с выходом в лабораторную информационную систему и больничную сеть (по Jones R.G., 1999)

Это позволяет центральной лаборатории дистанционно управлять работой анализаторов АМЛ. При этом возможна кабельная и беспроводная связь. Кабельная связь применима в рамках одного отделения или учреждения. Беспроводная связь увеличивает мобильность экстренного выполнения исследований в стенах больницы при сохранении управляемости со стороны центральной лаборатории.

Дистанционное управление работой анализаторов АМЛ может быть рассчитано на выполнение функций разной степени сложности. В простейшем варианте может быть отдана и реализована команда «анализируй!» В более сложной системе предусмотрена возможность выполнения ряда команд, инициирующих действия прибора, взамен оператора: «начни калибровку!», «начни анализ!» и т.п. Наиболее усовершенствованная система дистанционного управления средствами АМЛ может обеспечивать такую степень связи центральной лаборатории с ними, как будто эти приборы находятся внутри лаборатории.

Поскольку дистанционное управление приборами АМЛ удобнее всего осуществлять с помощью беспроводной связи, важно осуществлять эту функцию, не создавая помех деятельности различного медицинского оборудования, которое может быть чувствительно к радиочастотному излучению,

используемому в системах беспроводной связи. Такие помехи могут возникнуть при продолжительности электромагнитного излучения дольше 0,5 сек. В связи с этой предосторожностью в локальных зональных сетях для передачи цифровых данных используют полосу 2,4 гигагерц продолжительностью менее 200 миллисекунд. Для последующей передачи информации может быть применена смена полосы со сдвигом до 83 гигагерц. В странах, где беспроводная связь в лечебных учреждениях используется достаточно часто, существуют ограничения зон электромагнитного излучения, разрешенных для такого использования. В Европейском Союзе эти зоны установлены стандартами AN 60601-1-2 и IEC 601-1-2.

Сбор всех данных, полученных при обследовании больного в разных местах учреждения, на общем лабораторном компьютере, где они могут быть сопоставлены и соотнесены с результатами контроля качества, придает лабораторной информационной системе (ЛИС) роль интегратора и координатора всей лабораторной информации, полученной различными способами, в том числе и на отдалении от основной лаборатории. Для этого необходимо, чтобы измерительные устройства АМЛ были технически сопряжены с лабораторной информационной системой или ее аналогом, замкнутым на группу таких автономно работающих средств.

При обработке данных АМЛ с помощью компьютерных программ решается несколько задач:

1. Прием и оценка данных идентификации пациента и результатов исследования;
2. Учет времени поступления заказа на исследование и его выполнения, что обеспечивает контроль за оперативностью работы персонала;
3. Передача данных в зону диагностических тестов компьютеризованной истории болезни пациента, то-есть окончательное завершение выполнения назначения лечащего врача.

В настоящее время предлагается немало коммерческих систем обработки данных АМЛ, примеры которых приведены в таблице 9-1.

Д-р Р. Тейлор из больницы в Оксфорде рассказал на Европейском конгрессе в Праге в 2001 году о своем опыте организации такой связи с центральной лабораторией до 400 глюкометров (рис. 9-7) с помощью системы Abbott PCx. При этом результаты глюкометрии воспринимались ЛИС только при наличии идентификационных данных о пациенте, которые считывались глюкометром с помощью встроенного детектора штрих-кода, что существенно повышало надежность информации.

Таблица 9-1

Примеры коммерческих систем обработки результатов АМЛ
(по Felder R.A., 1997,1999)

Компания-производитель системы	Система обработки данных АМЛ	Возможности системы
Access HealthNet, США	Remote access	Связь средств АМЛ с врачами и лабораторией
Bayer Corporation, Diagnostics Division, США	Glucometer Encore QA+™ System	Связь через модем с PC Instrument Manager, а также с лабораторной информационной системой
Boehringer Mannheim Corporation, США	AccuData Advantage™ System Blood Glucose Test Station (BGTS™), the Hospital Data Manager (HDM™), the Remote Automated Laboratory System for Glucose (RALS-G™)	HDM загружается данными от BGTS. RALS-G предоставляет сетевое решение для обработки данных
Equilibrated Biosystems, США	Laboratory Information Management System EBS4000	Результаты исследования глюкозы в крови могут быть переданы в любом направлении через модем или факс
Hewlett Packard, США	Монитор данных пациента OmniCare CMS™	Связывает модули i-STAT с HP OmniCare CMS™
i-STAT Corporation, США	Centralized Data Station (CDS™)	Прием данных от анализаторов i-STAT, связь через инфракрасные устройства
Instrumentation Laboratory Co, США	Data Management System™	Хранение 5000 результатов и данных контроля качества за 1 год, связь с лабораторной информационной системой
NOVA Biomedical, США	Remote Laboratory Supervision (RLS™)	Дистанционный просмотр и верификация данных пациентов, контроль качества и внешняя оценка качества исследований на расстоянии от места исследования
Lifescan, Inc., a Division of Johnson & Johnson, США	SureStep Pro™ Blood Glucose Management System	Вывод данных к системе их обработки через инфракрасный порт
Mediscence, Inc., a Division of Abbott Laboratories, США	Precision -G™ blood glucose testing system	Порт загрузки в персональный компьютер или лабораторную информационную систему, предназначенный для направления данных в больничную информационную систему
Medical Automation Systems, США	Remote Automated Laboratory System (RALS™)	Сетевая связь между клиническими анализаторами и станцией слежения

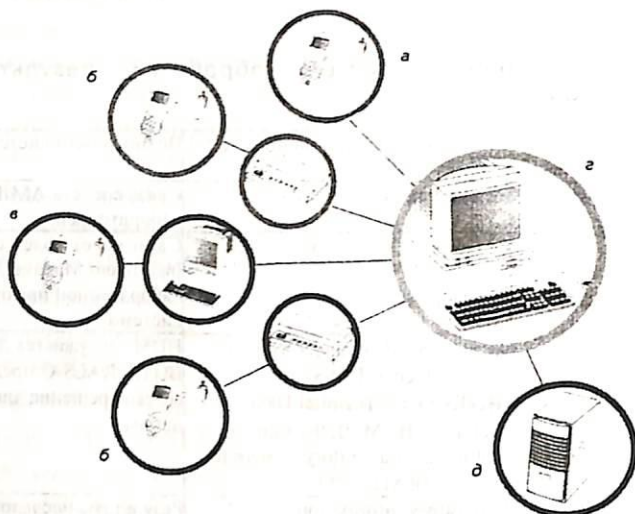


Рис. 9-7

Возможности подключения портативных средств быстрого анализа в сеть для контроля качества исследований и для передачи результатов исследований в лабораторную информационную систему основной лаборатории

А - прямое подключение; б - подключение через модем; в - подключение в сеть через персональный компьютер; г - обработка данных на системе контроля качества QC Manager System ("Abbott"); д - лабораторная или больничная информационная система

Технически и организационно может быть обеспечена с использованием специально проложенных кабелей или телефонных сетей с модемами связь между несколькими учреждениями и лабораториями, то-есть создана *расширенная зональная сеть* (wide area networks, WAN), получившая также название Интранет (Neame R., 1996). Варианты, приемлемые для той или иной местной ситуации, определяются анализом технических, организационных и экономических аспектов (например, потребность в постоянном контроле за работой приборов АМЛ, немедленном получении результатов исследований и перемежающийся характер телефонной связи, соотношение стоимости прокладки специальной кабельной сети и расчетной стоимости телефонных контактов и т.п.). Для связи внебольничных анализаторов АМЛ с информационной системой центральной лаборатории могут также использоваться модемы и коммуникационные программы общения через Интернет. Данные с мест могут быть форматированы в виде стандартных WWW html страниц, прибор может управляться посредством www-форм и программ, написанных на программном языке JAVA (Forslund D.W., Cook J.L., 1997).

Инtranет обеспечивает большую степень защиты медицинской информации и большую уверенность в передаче клинически важной информации по назначению: лечащему врачу, в компьютерную историю болезни данного пациента. Интернет может использоваться для целей поддержки клинических решений, внешней оценки качества, обучения.

Современные портативные компьютеры с минимальными объемом памяти, массой и встроенным программным обеспечением позволяют создавать программную инфраструктуру, в которой приборы АМЛ играют роль терминалов для центрального сервера и базы данных. Эти периферийные устройства загружаются программным обеспечением по мере необходимости и на необходимый для выполнения задания период времени. При включении такого периферийного средства АМЛ в сеть Интернета можно на месте лишь вводить в прибор пробу пациента, а весь процесс управления исследованием, контроля качества и интерпретации результатов может осуществлять лабораторный профессионал, находящийся на весьма далеком расстоянии от места лечения пациента. Таким образом, телеметрия, основанная на различных способах дистанционной передачи информации, применительно к сети приборов АМЛ может быть реализована как в пределах одного учреждения, так и на довольно обширной территории, что создает возможность их уверенного использования в машинах скорой помощи, на приеме в поликлинике, в приемных семейных врачей, а также на дому у больных (Dickey D., 1993) (рис. 9-8). Эти технические возможности лежат в основе идей «распределенной лаборатории», «виртуальной лаборатории», «телелaborатории» (McClelland I. et al., 1995).

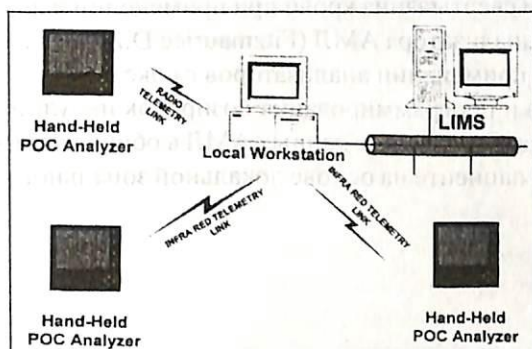


Рис. 9-8

Применение телеметрии с использованием инфракрасной или радиочастотной связи для подключения портативных анализаторов АМЛ к локальной зональной сети (по Jones R.G., 1999)

Отмеченное выше принципиальное значение адекватности аналитической информации, предоставляемой средствами АМЛ (см. раздел «Обеспечение и контроль качества АМЛ»), побуждает и в информационных технологиях уделять внимание обработке данных контроля качества. Технически обработка результатов контрольных исследований может быть осуществлена на месте с помощью сопряженного со средством АМЛ портативного компьютера. Для обработки контрольных данных от средств АМЛ используются программы, аналогичные применяемым в стационарных лабораториях. В странах, где средства АМЛ достаточно широко распространены, наличие и использование таких программ регламентировано. Так, в Великобритании система аккредитации для использования глюкометров предусматривает обязательное наличие программ обеспечения и контроля качества (Seamonds B., 1996). Примером такой системы может служить MediQA1™ (Abbott Diagnostics Laboratory, Великобритания), с помощью которой автоматизирована обработка данных внешней оценки качества, включая распределение контрольных материалов по участникам программы, хранение поступивших от них результатов контрольных исследований, рассылка итоговых заключений по оценке качества исследований по отдельным приборам и по группе в целом.

Что касается использования информационных технологий для поддержки клинических решений, то эта проблема решается пока что в отношении лишь относительно простых ситуаций. Так, приборы для исследования газов крови могут включать программу оценки кислотно-щелочного состояния организма на основе классического уравнения Гендерсона-Хассельбаха (Larsen V.H., Siggaard-Andersen O., 1996). С успехом применялся контроль за состоянием свертывания крови при применении варфарина на основе использования анализатора АМЛ (Fitzmaurice D.A. et al., 1998). Сообщалось об успешном применении анализаторов глюкозы для мониторинга состояния пациентов и программирования дозировок инсулина. Более широкие возможности дает включение данных АМЛ в общую картину лабораторной информации о пациенте на основе локальной зональной сети.

ЛИТЕРАТУРА

- Dickey D.M. // Telemetry for the year 2000: Meeting the needs of the customer. Biomed. Instrum. Technol., 1993, 27, 385-392
- Felder R.A. // Modular laboratory robotics and automation. J. Internat. Fed.Clin.Chem., 1997, 9 (2), 56-60
- Felder R.A. // The Distributed Laboratory: Point-of-Care Services with Core Laboratory Management. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp. 99-118
- Fitzmaurice D.A., Hobbs F.D., Murray E.T. // Primary care anticoagulant clinic management using computerized decision support and near-patient international normalized ratio (INR) testing: routine data from a practice nurse-led clinic. Fam. Pract., 1998, 15, 144-146
- Forslund D.W., Cook J.L. // The importance of JAVA and CORBA in medicine. Proc. AMIA Annu.Fall. Symp., 1997, 364-368
- Jones R.G. // Informatics in Point-of-Care Testing. . In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp. 175-195
- Larsen V.H., Siggaard-Andersen O. //The oxygen status algorithm online with the pH-blood gas analyzer. Scand.J.Clin.Lab.Invest., Suppl., 1996, 224, 9-19
- McClelland I., Adamson K., Black N.D. // Information issues in telemedicine systems. J. Telemed.Telecare, 1995, 1, 7-12
- Neame R.// The crucial roles of standards and strategy in developing a regional health information network. Int.J.Biomed. Comput., 1995, 40, 95-100
- Seamonds B. // Medical, economic and regulatory factors affecting point-of-care testing. A report of the conference on factors affecting point-of-care. Clin.Chim.Acta, 1996, 249, 1-19

10. ЭКОНОМИКА АМЛ

О широком распространении средств АМЛ свидетельствует объем их рынка, который, по данным Bourlier К.М., в 1998 г. составлял 900 млн долларов в год с ожидаемым ежегодным приростом в 12 %. Другой источник – “Enterprise Analysis Corporation” (США) – приводит гораздо более внушительные оценки. (Felder R.A., 1999). По расчетам этой организации, занимающейся экономическим анализом и прогнозами, в 1997 г. объем продаж средств АМЛ для применения в больницах и на дому составил в США 1,6 млрд долларов, а в остальных странах мира вместе взятых – 1,4 млрд долларов. Расчетные цифры для 2001 г. ожидалось еще выше: для США 2,8 млрд долларов, для остального мира – 2,6 млрд долларов, с 20%-ным общим приростом. Особенно интенсивный прирост – до 70% - наблюдается в отношении средств АМЛ, пригодных для использования на дому и для самоконтроля (глюкоза, холестерин, теofilлин).

Проблема *экономичности* применения средств АМЛ осложнена сочетанием в них, с одной стороны, высокой технологичности, что определяет относительно высокую стоимость этих, как правило, одноразовых средств анализа, и, с другой стороны, использования их для одиночных анализов в отличие от работы с сериями анализов в стационарной лаборатории. Бывший президент Международной Федерации клинической химии канадский профессор М. MacQueen указывал на относительно более высокую удельную стоимость этих тестов, связанную как с их одиночным (не серийным) выполнением, так и использованием в них новых технологий (McQueen M.J., 1993).

В литературе можно найти данные, свидетельствующие, на примере исследований глюкозы в крови, как о меньшей стоимости применения средств АМЛ, так и о большей их стоимости по сравнению с исследованиями, выполненными в центральной лаборатории больницы. Так, Zaloga G.P.(1990) сообщал, что это исследование с применением АМЛ почти в 10 раз дешевле выполненного в лаборатории (0,45 по сравнению с 3,50 доллара), Greendyke R. (1992) считал быстрый анализ в 4 раза более дорогим, чем лабораторный (11,50 по сравнению с 3,19 доллара), а Lee-Lewandrowski E. et al. (1994) расценивали их практически равными по стоимости (АМЛ – 4,19, в центральной лаборатории – 3,84 доллара).

По-видимому, для объективной экономической оценки применения средств АМЛ должна быть использована методика, учитывающая весь комплекс условий и последствий их использования.

Чаще всего оценивают степень прямой экономии в связи с отсутствием процедур пробоподготовки и необходимости пересылки биоматериала в лабораторию, отсутствием необходимости в отдельных лабораторных помещениях и затрат на соответствующие коммунальные услуги, отсутствием затрат труда лабораторного персонала. Так, д-р Schaffartzik из берлинской клиники Шарите подсчитал, что обычный анализ газов крови, с учетом всех расходов, стоит 8,13 немецкой марки, тогда как анализ тех же показателей, произведенный у постели больного обходится в 4,32 марки. Эти данные контрастируют с более ранним выводом J.Boldt et al. (1998), которые подсчитали, что, например, исследование АЧТВ на приборе TAS (Thrombolytic Assesment System) стоит 4,84 доллара США, на приборе Coagu Chek – 4,34 доллара, а центральной лаборатории – 1,59 доллара.

Как видно, при такой оценке многое зависит от общей организации работы как в центральной лаборатории, так и при использовании средств АМЛ.

Представляется, что не менее важно оценить выгоды клинико-экономического характера вследствие быстрого действия средств АМЛ, что убыстряет использование лабораторной информации в диагностическом и лечебном процессе и, следовательно, позволяет быстрее поставить диагноз и начать адекватное лечение. При этом могут быть существенно сокращены расходы как на неэффективные лекарственные средства, так и на само пребывание пациента в стационаре или пособие по социальному страхованию в связи с временной нетрудоспособностью. Так, Despotis G.J. et al. (1994) сообщили, что в результате использования портативного коагулометра у больных с микрососудистыми кровотечениями после операций на сердце реже применялись медиастинальные грудные дренажи и меньше расходовалось тромбоцитарной массы, они более короткий срок находились в больнице, чем больные в таком же состоянии, но у которых применялся стандартный режим мониторинга свертывания. Годовая экономия этой больницы в результате сокращения расхода препаратов крови составила около 250 тыс. долларов. В упоминавшейся выше обстоятельной работе Boldt J. et al. (1998) указывают, что даже экономия одной упаковки эритроцитарной массы на больного вследствие более быстрого и правильного принятия клинического решения на основе немедленной оценки показателей гемостаза при кровотечении экономически оправдывает приобретение и использование систем АМЛ.

Bailey T.M. (1999), внедривший средства АМЛ в крупном госпитале более, чем на 1000 коек с годовым объемом медицинской помощи более 40000 человек, также исходит из принципиального признания главенствующей роли ускорения принятия медицинских решений в результате рационального и

хорошо организованного использования этих средств анализа во всех отделениях больницы, где от быстроты оказания помощи зависит исход лечения: операционных, отделениях интенсивной терапии, травматологии, токсикологии. Опыт этого автора является примером того, как следует подходить к столь масштабной реорганизации лабораторного обеспечения. Предварительно были тщательно изучены потребности клиницистов в лабораторной информации во всех упомянутых подразделениях больницы и перечень тестов, наиболее значимых в повседневной практике этих отделений. Затем была выяснена степень их удовлетворения обслуживанием силами центральной лаборатории больницы и экспресс-лаборатории. Далее было проведено обсуждение вариантов совершенствования лабораторного обеспечения с участием представителей различных категорий персонала больницы, включая медицинских сестер, которым предстояло взять на себя выполнение исследований средствами АМЛ.

Хотя, по мнению автора, финансовые расчеты являются лишь одной из альтернатив, которые следует принимать во внимание, был проведен детальный, по отдельным этапам, анализ стоимости всех процедур, которые должны выполняться в лаборатории и нелабораторным персоналом в отделениях при различных вариантах организации лабораторного обеспечения: через центральную лабораторию больницы, через экспресс-лабораторию или непосредственно в отделении с помощью средств АМЛ.

В итоге этого тщательного изучения были выбраны несколько наиболее употребительных тестов для выполнения их средствами АМЛ, в том числе: натрий, калий, ионизированный кальций, глюкоза, гематокрит, рН, рСО₂, рО₂ и ряд расчетных показателей. Результаты этих исследований с применением средств АМЛ оказались сопоставимы по аналитической надежности и точности с результатами, получаемыми в стационарной лаборатории.

Был сделан вывод, что выполнение этих тестов силами персонала отделений с помощью средств АМЛ существенно сократит число процедур на различных этапах от назначения анализа до получения его результата врачом (табл. 10-1).

На практике время оборота лабораторного теста сократилось примерно в 4 раза (рис. 10-1). Сокращение расходов как в целом за год (на 392,4 тыс. долларов), так и применительно к стоимости принятой панели тестов, также выглядело весьма убедительно (табл. 10-2), несмотря на увеличение стоимости расходных материалов (то есть, одноразовых средств АМЛ).

Таблица 10-1

Сравнение этапов выполнения лабораторного исследования через лабораторию и с помощью средств АМЛ (по Bailey T.M., 1999)

Обычные этапы процесса лабораторного исследования через лабораторию		Этапы выполнения исследования с помощью средств АМЛ	
Этап	Исполнитель	Этап	Исполнитель
Назначение анализа	Врач	Назначение анализа	Врач
Заполнение заявки на анализ	Секретарь, медсестра		
Подготовка расходных материалов (иглы, пробирки, консерванты, антикоагулянты и др.)	Медсестра	Подготовка расходных материалов (иглы, диагностические полоски/иммуно-аналитические платформы, портативные приборы)	Медсестра
Взятие образца биоматериала	Медсестра	Взятие образца биоматериала	Медсестра
Подготовка образца к транспортировке в лабораторию	Медсестра		
Транспортировка образца в лабораторию	Медсестра, курьер		
Прием образца и заявки на анализ в лаборатории	Лабораторный персонал		
Подготовка проб из образца к анализу	Медицинский технолог	Подготовка проб из образца к анализу (в части случаев)	Медсестра
Выполнение анализа	Медицинский технолог	Выполнение анализа	Медсестра
Регистрация результата		Регистрация результата	Медсестра
Выполнение дополнительных исследований	Медицинский технолог		
Оценка результатов	Медицинский технолог, лабораторный специалист	Оценка результатов	Медсестра/врач
Телефонное сообщение медсестре о результате анализа	Медицинский технолог		
Пересылка результата в отделение	Медицинский технолог		
Внесение результата анализа в историю болезни	Медсестра/врач		
Клиническое решение о диагнозе, лечебных мерах	Врач	Клиническое решение о диагнозе, лечебных мерах	Врач

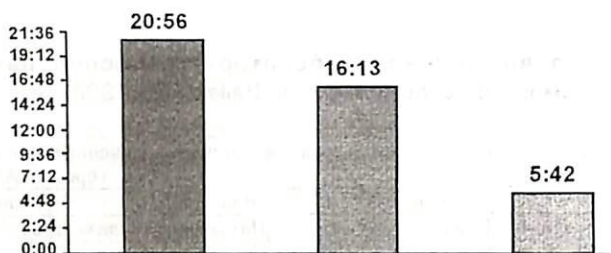


Рис. 10-1

Сравнение времени оборота лабораторного теста в зависимости от места выполнения исследований (по Bailey Т.М., 1999)

Шкала по вертикали - время в минутах; По горизонтали столбики отражают время выполнения анализов (слева направо): в основной лаборатории больницы, в экспресс-лаборатории, непосредственно в месте лечения с помощью портативного анализатора i-STAT

Таблица 10-2

Сравнение расходов (в долларах США) на выполнение панели тестов традиционным способом и с применением средств АМЛ (по Bailey Т.М., 1999)

	Традиционный способ (в лаборатории)	С применением АМЛ (в отделении)	Экономия от применения АМЛ
Отделение	1,77	0,71	1,06
Лаборатория	10,89	1,69	9,20
Расходные материалы	1,90	5,32	-3,42
Обслуживание приборов	0,45	0,07	0,38
	0,32	0,24	0,08
Итого	15,33	8,03	7,50

Эта экономия средств произошла в связи с тем, что исследования, выполняемые в отделении, не добавились к выполняемым в лаборатории, а заменили их, что позволило перестроить лабораторное звено больницы: ликвидировать экспресс-лабораторию с ее оборудованием, исключить расходы на используемые ею расходные материалы и обслуживание приборов, сократить 15 сотрудников. Этот пример показывает, что внедрение средств АМЛ в условиях интенсивно работающего клинического стационара может быть выгодным для здравоохранения делом, однако, требует серьезной, тщательной и разносторонней подготовки.

Применительно к поликлинической сфере все упомянутое потенцируется приближением качества лабораторной диагностики, а значит и всего лечебно-диагностического процесса относительно более дешевой внебольничной медицинской помощи к уровню качества лабораторного обеспечения более дорогой стационарной медицинской помощи. Так, Fitzmaurice D.A. et al. (1995) показали, что мониторинг состояния системы свертывания крови в системе внебольничной помощи гораздо дешевле, чем во время пребывания больных в стационаре. Кроме того, для внебольничного звена может оказаться существенно важным реальное сокращение расходов на последующее лечение тех осложнений хронических заболеваний, которые можно предотвратить или отсрочить своевременной диагностикой их возможного появления и во время предпринятыми лечебными мерами. Так, было подсчитано, что в результате своевременного выявления микроальбуминурии у больных сахарным диабетом в США и лечения ингибиторами ангиотензин-конвертирующего фермента можно предотвратить или значительно отдалить развитие диабетической нефропатии, что позволит сэкономить от 1 до 3 миллиардов долларов в год (Kronz J.D., Kroll M.H., 1998).

Учитывая значительную широту сферы применения средств АМЛ, было бы важно определить базисные экономические критерии оценки их перспектив для отечественного здравоохранения в целом. По-видимому, экономическая эффективность применения технологий АМЛ должна рассматриваться в нескольких измерениях.

Первым из них является сопоставление основанной на учете материальных и трудовых затрат стоимости собственно аналитического этапа исследований, выполняемых средствами АМЛ и в стационарной лаборатории. Как мы видели выше в данном разделе, одиночное исследование почти всегда относительно дороже исследования того же анализа, выполненного в серии аналогичных, тем более на быстродействующем автоматическом анализаторе.

Второе измерение учитывает расход материалов и труда, затрачиваемых на маркировку, обработку и транспортировку в лабораторию образца биоматериала персоналом отделений, а также расходы труда и материалов в лаборатории на тесты, которые передаются в клинические подразделения. В этом случае за счет устранения этого вида расходов в зависимости от конкретной ситуации общая стоимость преаналитического и аналитического этапов для двух способов анализа может сравняться и даже измениться в пользу АМЛ. Правда, при этом в общем балансе трудовых затрат должно быть также учтено расширение обязанностей медицинского персонала отделений на выполнение тестов АМЛ.

Третье измерение опирается на преимущественный учет информационно-временных факторов постаналитического этапа и оценку их влияния на медицинскую эффективность диагностики патологии и лечения пациентов. При этом на первый план выступают собственно клинические аспекты: острота клинической ситуации; опасность промедления с диагностическим решением и лечебными мерами для исхода случая заболевания и для жизни больного; способность средства АМЛ существенно сократить «время оборота лабораторного теста»; степень аналитической надежности, а значит и клинико-информационной ценности результата, полученного средствами АМЛ, по сравнению с результатами исследования, проведенного в стационарной лаборатории; и т. п. По-видимому, клиническая эффективность быстрого определения электролитов, газов крови, гемоглобина, глюкозы, сердечных маркеров в большинстве случаев экстренной потребности в них очевидна. Однако, как указывалось выше, необходим тщательный учет всех выгод и недостатков, имеющих как при традиционном лабораторном обеспечении, так и при применении средств АМЛ, и сравнительный их баланс.

В окончательный расчет может приниматься сумма положительных эффектов от внедрения АМЛ (Keffer J.H., 1996). Среди них:

1. Сокращение «времени оборота лабораторного теста»
2. Улучшение условий лечения больных (например, для исследования глюкозы натощак больного можно будить на 1 - 2 часа позже, чем обычно)
3. Улучшение удовлетворения пациентов в связи с быстрым принятием клинического решения (например, раннее установление беременности, более ранняя выписка из отделения интенсивной терапии)
4. Улучшение производственных показателей в связи с более интенсивным оборотом больничных коек
5. Улучшение отношений между клиникой и лабораторией благодаря лучшему лабораторному обеспечению
6. Улучшение удовлетворения своей работой врачей и медицинских сестер
7. Улучшение репутации больницы благодаря распространению хороших отзывов пациентов и оценке качества организации медицинской помощи
8. Снижение числа ошибок, вызванных ошибками в написании назначений анализов, поломок пробирок в центрифуге, повторных взятий проб
9. Улучшение коммуникаций: немедленное выполнение анализов, штрих-кодирование на месте, отсутствие необходимости телефонных переговоров
10. Уменьшение необходимости для врача переключаться с одного больного на другого с возможностью быстрого принятия решений
11. Уменьшение переливаний крови в хирургических отделениях

12. Снижение времени занятости операционных
13. Уменьшение времени ожидания результата исследования уровня глюкозы натощак для решения об изменении диеты
14. Улучшение исходов заболеваний в показателях заболеваемости и смертности
15. Сокращение численности лабораторных технологов
16. Вложение средств в альтернативные потребности учреждения
17. Переход от профильного назначения исследований к целенаправленному назначению тестов.

Среди экономических критериев обсуждаются такие, как стоимость диагностики и лечения в расчете на 1 случай заболевания; стоимость одного дня пребывания в больнице и необходимая длительность стационарного лечения; стоимость лечебных мер в зависимости от ритма и клинической своевременности лабораторного обследования; стоимость рабочего времени лечащего врача и врачей-консультантов, затраченного на обследование пациента, в зависимости от темпа лабораторного обследования (в стационаре и в поликлинике).

Как видно из материалов, приведенных в предшествующих разделах книги, клиническая сторона экономической эффективности средств АМЛ в высокой степени вариабельна, в зависимости от формы патологии и темпов развития патологического процесса, от вида лечебного учреждения и организации дела в нем. Степень клинической ценности лабораторной информации в общем объеме диагностической информации весьма вариабельна применительно к различным формам патологии и вариантам состояния пациента. Кроме того, понятно, что степень, характер и темп использования лабораторной информации в любом случае зависит от лечащего врача и от всего объема диагностической информации, поступающей в его распоряжение (а также и от лечебных возможностей учреждения), а не только от исполнителей лабораторных исследований. Поэтому для третьего измерения экономической эффективности средств АМЛ решающими могут оказаться те критерии, которые учитывают объективную итоговую пользу для пациента всего диагностико-лечебного процесса (понятно, с учетом максимальных возможностей медицины на данный период времени). Среди таких критериев, обсуждаемых в мировой литературе, можно упомянуть «годы обеспеченного качества жизни» (“Quality Adjusted Life Years”, QALYS), «эквиваленты лет здоровья» (“healthy years equivalents”, HYE), хотя единого мнения об их приемлемости нет (Yin D., Forman H.P., 1995; Gafni A., Birch S., 1995). Тем более, трудно применить эти критерии изолированно к оценке эффективнос-

ти только того или иного лабораторного теста. В этом направлении предстоит еще немалая исследовательская работа.

Нужно иметь в виду и реальную возможность или невозможность выполнить требуемое исследование в стационарной лаборатории. Известно, что вследствие географических и демографических особенностей нашей страны в ряде ее регионов население может рассчитывать на неотложную медицинскую помощь лишь в небольших (и маломощных) лечебных учреждениях, где нет стационарных лабораторий или они имеют ограниченные технико-аналитические возможности. В этих условиях чисто экономический подход может прийти в острое противоречие с медицинским, и лабораторное исследование с помощью средств АМЛ может оказаться клинически наиболее выгодным выходом из критических ситуаций.

ЛИТЕРАТУРА

- Bailey T.M. // Understanding the Economics of Bedside Diagnostic Testing. . In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp. 213-232
- Boldt J., Walz G., Triem J., Suttner S., Kumle B // Point-of-care (POC) measurement of coagulation after cardiac surgery. Intensive Care Med., 1998, 24, 1187-1193
- Bourlier K.M. // The Hitchhiker's Guide to Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1998
- Despotis G.J., Santoro S.A., Spitznagel E., Kater K., Cox J.L., Barnes P., Lappas D.G.// Prospective evaluation and clinical utility of on-site monitoring of coagulation in patients undergoing cardiac operation. J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 1994, 10, 271-279
- Felder R.A. // The Distributed Laboratory. Point-of-Care Services with Core Laboratory Management. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp. 99-118
- Fitzmaurice D.A., Hobbs F.D.R., Murray E.T., Gilbert Rose P.E. // A randomised controlled trial comparing primary care oral anticoagulant management utilising computerised decision support (DSS) and near patient testing (NPT) with traditional management. Fam. Pract., 1995, 12, 253-254 Gafni A., Birch S. / / Preferences for outcomes in economic evaluation: an economic approach to addressing economic problems. Soc.Sci.Med., 1995, 40, 767-776
- Greendyke R. // Cost analysis: Bedside glucose testing. Am.J.Clin.Pathol., 1992, 97, 106-107
- Kronz J.D., Kroll M.H. // Microalbumin testing for the prevention of renal disease

- in diabetes mellitus: a strategy to save lives and money. *Clinical Laboratory News*, 1998, 24, 12-13
- Lee-Lewandrowski E., Laposata M., Eschenbach K., Camooso C., Nathan D., Godine J. et al. // Utilization and cost analysis of bedside capillary glucose testing in a large teaching hospital: Implications for managing point-of-care testing. *Am.J.Med.*, 1994, 97, 222-230
- Keffer J.H. // The economic aspects of new delivery options for diagnostic testing. In: Kost G.J., ed. *Handbook of Clinical Automation, Robotics, and Optimization*. New York, John Wiley and Sons, Inc., 1996
- Keffer J. // Health Economics Aspects of Point-of-Care Testing. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) *Point-of-Care Testing*. AACC Press, Washington, 1999, pp. 233-247
- McQueen M.J. // Role of the Laboratory in Meeting the Needs of Critical Care. *Clin.Biochem.*, 1993, 26, 8-10
- Yin D., Forman H.P. // Health care cost-benefit and cost-effectiveness analysis: an overview. *J.V.I.R.*, 1995, 6, 311-320
- Zaloga G.P. // Evaluation of bedside testing options for the critical care unit. *Chest*, 1990, 97, 185S-190S

11. НОРМАТИВНО-ПРАВОВАЯ РЕГЛАМЕНТАЦИЯ АМЛ

Придание результатам применения средств АМЛ той же клинической (и легитимной) значимости, что имеют результаты исследований в стационарных лабораториях, как уже отмечалось выше (см. разделы «Квалиметрия средств АМЛ», «Доказательная медицина и АМЛ», «Гармонизация АМЛ и стационарной лаборатории», «Информатика АМЛ»), связано с тщательным соблюдением требований стандартов при производстве аналитических и измерительных компонентов, неукоснительным выполнением инструкций производителей при выполнении исследований и объективной оценкой итогов применения этих средств анализа на практике. Постоянно расширяющаяся сфера применения этих средств захватывает и такие разделы медицины, как критические состояния, онкология, наркомания, где клинические и правовые решения связаны с особой ответственностью. Естественно, что для уверенного использования результатов АМЛ необходима научно-обоснованная нормативно-правовая база, регламентирующая их применение: разработанные с участием специалистов и официально утвержденные соответствующими органами стандарты, правила, сертификаты и т. п.

В ряде зарубежных стран – США, Канаде, Австралии - имеются государственные документы, устанавливающие правила использования средств АМЛ. В США основным государственным документом, принятым Конгрессом США, регулирующим требования к проведению всех лабораторных исследований, является федеральный закон “Clinical Laboratory Improvement Amendments” (CLIA-88). В этом документе требования к различным видам лабораторных исследований различаются в зависимости от степени сложности их выполнения. Определены четыре категории лабораторных тестов:

1) Тесты высокой сложности; к ним относятся ручные или автоматизированные тесты, в том числе вновь вводимые или модифицированные, которые могут выполняться только в лабораториях больниц и больших референтных лабораториях квалифицированным и опытным персоналом, они подлежат повседневному контролю качества, обязательной внешней оценке качества, периодической проверке калибровки и т.п.

2) Тесты умеренной сложности; эта категория тестов, вместе с предыдущей, составляет до 80% всех тестов, они также подлежат всем видам контроля качества, должны соответствовать стандартам выполнения процедур и регистрации результатов, модификация методов не опускается. Выполняющий эти тесты персонал должен иметь соответствующее образование и опыт работы.

3) Микроскопия, выполняемая медицинским работником. Практически это подвид предыдущей категории тестов, относящийся к использованию световой или фазово-контрастной микроскопии для классификации и идентификации клеточных элементов в образце биологического материала: осадке мочи, семенной жидкости, вагинальных и цервикальных образцах, назальном секрете, кале (поиск лейкоцитов) и т.п. Эти методы преимущественно качественные.

4) Простейшие тесты, не подлежащие контролю. Предусматривается, что к этой группе относятся наиболее простые в исполнении тесты, которые могут выполняться и неквалифицированным персоналом без специальной лабораторной подготовки. Относящийся к этой группе тест должен удовлетворять одному из следующих требований: а). Тест должен быть разрешен FDA для домашнего употребления; б). Тест должен быть настолько прост и точен по своему выполнению, что вероятность ошибочного результата ничтожно мала; в). Будучи выполнен неправильно, тест не связан с существенным риском для пациента.

Первоначально к этой группе относили в основном бумажные диагностические полоски, в 1992 г. их число составляло всего 8. Поскольку население проявляло интерес к возможности выполнять некоторые лабораторные тесты дома, а промышленность интенсивно предлагала новые их варианты, правительственные организации США в 1993-95 гг. пересмотрели требования к этим тестам, что привело к расширению их перечня (табл. 11-1).

Хотя эти аналитические средства, согласно CLIA-88, разрешены к применению, в том числе в домашних условиях, без обязательного контроля в системе "proficiency testing", то-есть, без внешней оценки качества, в то же время, ряд государственных и негосударственных организаций здравоохранения США устанавливают некоторые требования по качеству выполнения и этих тестов и предъявляют их при аккредитации лабораторий и частных врачей. Содержание предшествующих разделов книги свидетельствует, что в настоящее время аналитические технологии и техническое оснащение анализа по месту лечения существенно расширило его рамки в сторону более сложных по выполнению и более ответственных по клиническим последствиям тестов. Поэтому вполне естественным является и более требовательное отношение к условиям и результатам применения многих средств АМЛ более сложной конструкции. Эти требования состоят в проведении контроля качества, точном документировании процедур выполнения тестов и ответственности персонала за их соблюдение, определении порядка регистрации и сообщения результатов.

Таблица 11-1

Перечень лабораторных тестов, отнесенных к наименьшей группе сложности по CLIA-88 (по Demers L.M., 1999)

Виды лабораторных исследований	Аналиты и тесты
Микробиология	Н. Pylogi Стрептококки группы А (исследование непосредственно в соскобе из гортани)
Эндокринология	Тест на беременность (хорионический гонадотропин человека в моче), выполняемый на химическом анализаторе или путем визуального сравнения окраски Овуляционный тест (лютеинизирующий гормон) путем визуального сравнения окраски
Общая химия	Амины (исследование в вагинальном соскобе по тестовой карточке) Общий холестерин Холестерин липопротеинов высокой плотности Креатинин Скрытая кровь в кале Глюкоза Устройства для мониторинга глюкозы (разрешенные FDA для домашнего употребления) Гликозилированный гемоглобин (HbA1c) Микроальбумин Триглицериды Вагинальный pH Нитразиновый бумажный тест для определения pH в биологических жидкостях
Общая иммунология	Антитела к Н. Pylogi Антитела к возбудителю инфекционного мононуклеоза
Гематология	Скорость оседания эритроцитов Гематокрит Микрогематокрит Гемоглобин Гемоглобин с сульфатом меди Протромбиновое время
Токсикология	Этанол Никотин и/или его метаболиты
Анализ мочи	Диагностические полоски или таблетки для детекции билирубина, глюкозы, гемоглобина, кетонов, лейкоцитов, нитрита, pH, белка, относительной плотности и уробилиногена

Выполняющий эти тесты персонал должен быть обучен ими пользоваться, хотя и не обязан иметь профессиональную лабораторную подготовку. Инструкции производителя должны строго соблюдаться. Данные контроля качества должны быть удовлетворительными. Кроме того, требуется наличие письменных правил взятия проб биоматериала, калибровки инструментов, процедур и критериев контроля качества.

При использовании средств АМЛ в лаборатории ответственность за работу персонала с этими тестами несет заведующий лабораторией, при их применении в офисе частно-практикующего врача ответственность несет последний. В данной ситуации помимо внутреннего контроля качества может требоваться периодическое исследование параллельной пробы в квалифицированной лаборатории как эквивалент внешней оценки качества.

Все новые диагностические средства в США проходят систему сертификации в федеральной "Food and Drug Administration", которая достаточно строго подходит к выдаче разрешений (так, в частной беседе с менеджером одной из американских компаний, производящей и продающей во многих странах иммуно-аналитические устройства быстрого анализа для детекции вируса СПИД, выяснилось, что эта продукция не прошла сертификацию в США).

В Европейском Союзе действуют единые требования к производству средств диагностики *in-vitro*, которые распространяются и на производство средств АМЛ. В ряде стран установлено, что результаты, полученные с помощью средств быстрого анализа при детекции употребления наркотиков и других препаратов, вызывающих привыкание, подлежат обязательному подтверждению в лабораториях, имеющих лицензию на проведение соответствующих анализов.

Во многих странах, не имеющих государственных документов по регулированию применения средств АМЛ, используются рекомендации профессиональных общественных организаций (Goudable J. et al., 1998; Briedigkeit L. et al., 1998).

У нас в стране методические рекомендации по применению сухих диагностических тестов - диагностических полосок и реактивных таблеток - были изданы в 1977 г. Этим документом были рекомендованы к применению в учреждениях здравоохранения изделия отечественной промышленности, а также закупавшаяся в то время по импорту продукция стран СЭВ: ГДР и ЧССР. Был рекомендован и диапазон применения этих изделий в практике работы учреждений различной мощности, как при их использовании в лабораториях, так и непосредственно у постели больного для диагностики угрожающих жизни состояний, при оказании скорой помощи, а также в «карманной лаборатории» врача.

В настоящее время в нашей стране аналитические элементы средств АМЛ рассматриваются в том же порядке, что и готовые наборы реактивов, используемые в стационарных лабораториях, Комиссией по реактивам Комитета по новой медицинской технике при Минздраве России. Прошедшие ис-

пытания и получившие одобрение экспертов Комиссии средства АМЛ получают государственную регистрацию, как диагностические средства, разрешенные к применению в учреждениях здравоохранения России. В таблице 11-2 приведены такие средства, прошедшие государственную регистрацию в Минздраве России.

Таблица 11-2 (Начало)

Средства АМЛ, прошедшие государственную регистрацию в Минздраве России (данные на 01.12.01)

Код регистрации	Средства АМЛ	Изготовитель
2919060998/0227-00	Полоски индикаторные одноразовые экспресс-контроля концентрации рабочих растворов дезинфицирующих и стерилизующих средств «Дезиконт»	Научно-производственная фирма «Винаар»
29/25040698/0399-00	Набор реагентов для экспресс-определения содержания гемоглобина в крови «Гем-Экс»	«Аналитика»
29/24060799/0470-00	Полоска для иммунохроматографического выявления амфетамина в моче «ИммуноХром-Амфетамин-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24060799/0471-00	Тест одностадийный для иммунохроматографического определения хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в моче для ранней диагностики беременности «ХГЧ-экспресс-ИХА»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/2608099/0472-00	Набор полосок для иммунохроматографического одновременного выявления амфетамина, марихуаны, морфина, кокаина и метамфетамина в моче «ИммуноХром-5-Мульти-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/26080999/0473-00	Набор полосок для иммунохроматографического одновременного выявления амфетамина, морфина и марихуаны в моче «ИммуноХром-3—Мульти-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24080999/0474-00	Набор полосок для иммунохроматографического одновременного выявления Марихуаны и морфина в моче «ИммуноХром-2-Мульти-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/26060799/0475-00	Полоска для иммунохроматографического выявления метамфетамина в моче «ИммуноХром-Метамфетамин-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/26060799/0476-00	Полоска для иммунохроматографического выявления кокаина в моче «ИммуноХром-Кокаин-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24060799/0477-00	Полоска для иммунохроматографического выявления бензодиазепина в моче «ИммуноХром-Бензодиазепин-Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»

Таблица 11-2 (Продолжение)

29/24060799/0478-00	Полоска для иммунохроматографического выявления марихуаны в моче «ИммуноХром-Марихуана- Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24060799/0479-00	Полоска для иммунохроматографического выявления морфина в моче «ИммуноХром-Морфин - Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24070700/0546-01	Полоска для иммунохроматографического определения ХГЧ в моче для ранней диагностики беременности «ХГЧ-ИХА-ЕАКС»	«ЕАКС»
29/25091001/0606-01	Полоски индикаторные для качественного и полуколичественного определения глюкозы и кетоновых тел в моче «Кетоглюкс»	«Биосенсор АН»
29/25091001/0642-01	Полоски индикаторные для качественного и полуколичественного определения кетоновых тел в моче «Урикет»	«Биосенсор АН»
29/25091001/0643-01	Полоски индикаторные для качественного и полуколичественного определения глюкозы в моче «Уриглюк»	«Биосенсор АН»
29/25030498/1030-00	Полоски индикаторные для определения кетонов в моче «Биоскан-Кетонь»	«БИОСКАН»
29/25030498/1031-00	Полоски индикаторные для качественного и полуколичественного определения белка в моче «Биоскан-Белок»	«БИОСКАН»
29/25091001/1503-01	Полоски индикаторные для качественного и полуколичественного определения глюкозы в моче «БИОСКАН»	«БИОСКАН»
29/24040401/2464-01	Полоска для иммунохроматографического определения ХГЧ в моче для ранней диагностики беременности «ХГЧ-ИХА-РЕЦИПИ»	«Реципи»
29/24020200/2559-01	Полоска для иммунохроматографического выявления метадона в моче «ИммуноХром-Метадон - Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24020200/2560-01	Полоска для иммунохроматографического выявления барбитуратов в моче «ИммуноХром-Барбитураты - Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24050501/2577-01	Полоска для иммунохроматографического определения ХГЧ в моче для ранней диагностики беременности «ХГЧ-ИХА-ВЕРА»	«ФАКТОР-МЕД»
29/25020401/2689-01	Полоска индикаторная для качественного и полуколичественного определения алкоголя в слоне «АЛКО-СКРИН»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»
29/24020200/2690-01	Полоска для иммунохроматографического выявления фенциклидина в моче «ИммуноХром-Фенциклидин - Экспресс»	«Прогрессивные Био-медицинские технологии Лтд»

Таблица 11-2 (Окончание)

29/24020201/2738-01	Полоска иммунохроматографическая для выявления каннабиноидов в моче «ИНБИ-МАРИХУАНА»	«Инновационные Биотехнологии»
29/24020201/2739-01	Полоска иммунохроматографическая для выявления опиатов в моче «ИНБИ-ОПИАТЫ»	«Инновационные Биотехнологии»

Что касается измерительных устройств, входящих в конструкцию средств АМЛ, то подобно реагентам, они должны проходить технические и клинические испытания, прежде чем будут разрешены Минздравом России к применению в учреждениях здравоохранения.

Практика применения средств АМЛ в клинике и требования к обучению применяющего эти средства персонала не регламентированы.

К сожалению, уже отмечены случаи, когда нелабораторный персонал некоторых российских учреждений здравоохранения применяет средства АМЛ, не сопоставляя получаемые результаты с данными стационарной лаборатории, не проводя контрольных процедур. Такое неправильное использование этих средств способно не только опорочить эти изделия, но и привести к серьезным диагностическим и лечебным ошибкам. Учитывая мировой опыт, нужно и у нас в стране иметь официально установленные правила производства и применения средств АМЛ для придания их результатам необходимой легитимности и для предотвращения медицинских ошибок, вызванных неправильным и бесконтрольным применением этих средств.

Возможно, при этом бесполезно принять во внимание зарубежные разработки стандартных требований при аккредитации учреждений на применение средств АМЛ, и, в частности, подготовленные рабочей группой специалистов английского Royal College of Pathologists (Freedman D.B., 1999). Эти требования состоят в следующем:

Организация и управление

Имеется документация для описания стратегии, организации, профиля и управления учреждения в отношении АМЛ

Имеется мульти-дисциплинарный подход к организации и управлению АМЛ

Должны быть разработаны процедуры выбора и приобретения оборудования в сотрудничестве с руководителем клинической лаборатории для обеспечения соответствующего качества выполнения исследований и соблюдения требований безопасности

Кадры и руководство

АМЛ профессионально управляется консультантом-патологом или клиническим специалистом равного статуса

Имеется документация по учету всего персонала, участвующего в проведении исследований с помощью средств АМЛ и контроля качества

Имеются доказательства, что операторы АМЛ оценены как компетентные

Условия и оборудование

Оборудование соответствует проводимым исследованиям, правильно используется и поддерживается в хорошем состоянии

Отведенное для АМЛ место пригодно для использования оборудования и обработки проб

Имеется безопасная производственная среда, соответствующая трудовому законодательству

Политика и процедуры

Имеются описания процедур взятия проб для АМЛ, обработки этих проб и безопасного их удаления

Имеются подписанные и датированные описания процедур выполнения каждого теста, включая контроль качества

Имеется учет всех реагентов, калибраторов и контрольных материалов

Имеются описания процедур по регулярному обслуживанию оборудования. Они должны также включать процедуры по очистке всего оборудования и рабочей площади

Имеется описание процедуры регистрации результатов, включая указание, что они получены с помощью средств АМЛ

Имеется описание процедуры интерпретации результатов персоналом, помимо лечащего врача обследуемого пациента

Подготовка и образование персонала

Имеется письменная программа тренинга всех сотрудников, которые используют средства АМЛ.

ЛИТЕРАТУРА

- ✓ Министерство здравоохранения СССР. Методические рекомендации по применению экспресс-тестов (сухих диагностических проб) в медицинской практике. М. 1977 г. 19 стр.
- Меньшиков В.В. // Лабораторные исследования возле пациента. Клиническая лабораторная диагностика, 2002, № 4, 23-34;
- The Association of Clinical Biochemists. // Guidelines for implementation of near-patient testing. London, 1993
- Briedigkeit L., Muller-Plathe O., Schlesbusch H., Zies J. // Point-of-care testing. Empfehlungen der Arbeitsgemeinschaft Medizinische Laboratoriums-Diagnostik (AML) zur Einführung und Qualitätssicherung von Verfahren der patientennahen Laboratoriums Diagnostik (POCT). DG Klinische Chemie Mitteilungen, 1998, 29, 129-137
- Demers L.M. // Regulatory issues in Point-of-Care Testing. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp.249-262
- Ehrmeyer S.S., Laessig R.H. // Regulatory requirements (CLIA'88, JCAHO, CAP) for decentralized testing. Am. J. Clin. Pathol., 1995, 104, S40-49
- Freedman D.B. // Guidelines on Point-of-Care Testing. In: Price C.P., Hicks J.M. (eds) Point-of-Care Testing. AACC Press, Washington, 1999, pp.197-212
- Goudable J., Aulois-Griot M., Billion P., Calestre P., Coquelin H., Daunizeau A. et al. // Recommendations concerning point-of-care systems. "Point-of-care systems" workgroup of French Society of Clinical Biochemistry and National College of Hospital Biochemistry. Ann.Biol.Clin., 1998; 56, 114-115
- Public Law 100-578, Section 353 Public Health Service Act (42 U.S.C. 263a) October 31, 1988
- U.S. Department of Health and Human Services. Medicare and CLIA programs: regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA). Final rule. Federal Register 1992, 57, 7002-7086

12. ВЫВОДЫ

Приведенные выше данные отражают современные технологические, производственные и организационно-управленческие реалии. Основные выводы из приведенных сведений можно сформулировать следующим образом:

1. Средства быстрого анализа в месте лечения пациентов стали достаточно обширной и быстро развивающейся областью клинической лабораторной аналитики, в которой используются многие эффективные химические, биологические, электронные и информационные технологии.

2. Средства быстрого анализа способны дать аналитически надежную и клинически важную информацию при многих видах патологии человека.

3. Современный диапазон разнообразных средств быстрого анализа позволяет гибко применять их в условиях различных форм медицинской помощи – от операционных блоков, палат интенсивной терапии, приемных отделений крупных стационаров до выездных бригад скорой помощи, семейных врачей в городах, малых учреждений здравоохранения в сельской местности.

4. Средства быстрого анализа могут применяться как лабораторным, так и нелабораторным персоналом, а некоторые аналитические системы могут использоваться самими пациентами. При использовании средств быстрого анализа вне лаборатории должно быть обеспечено предварительное полное инструктирование пользователей работниками лаборатории и последовательное проведение контроля качества исследований. Оптимальным вариантом внелабораторного применения приборных средств быстрого анализа является их проводная или беспроводная связь с лабораторной информационной системой и сопоставление полученных результатов с данными, получаемыми в стационарной лаборатории.

5. Выбор средств быстрого анализа должен опираться на их доказанную аналитическую надежность, клиническую востребованность, экономическую рациональность. Необходим клинико-экономический анализ применения средств быстрого анализа в конкретных условиях оказания медицинской помощи и при различных видах патологии.

6. Надежность применения средств АМЛ должна быть обеспечена нормативно-правовыми документами, определяющими как требования к условиям производства этих изделий, так правила их диагностического применения в различных условиях оказания медицинской помощи.

Овладение современным арсеналом средств АМЛ и выработка рациональной тактики их применения на практике может стать важным инструментом в совершенствовании диагностики и лечения острых состояний, а

также в существенном улучшении лабораторного обеспечения внебольничных форм медицинской помощи, которые, согласно плану Минздрава России по структурной перестройке системы здравоохранения, должны стать преобладающим средством охраны здоровья населения в нашей стране.

СОДЕРЖАНИЕ

1. На третьем витке исторической спирали	4
2. Научно-технические основы АМЛ	10
3. Аналитика АМЛ: основные технологические варианты	12
4. Техника АМЛ: принципы и варианты технических решений	47
5. Обеспечение и контроль качества АМЛ	76
6. Доказательная медицина и АМЛ	90
7. Гармонизация АМЛ и стационарной лаборатории	94
8. Применение АМЛ в клинической медицине	100
9. Информатика АМЛ	128
10. Экономика АМЛ	138
11. Нормативно-правовая регламентация АМЛ	148
12. Выводы	157

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение 1

2. Задачи и цели 2

3. Методология 3

4. Анализ литературы 4

5. Описание объекта исследования 5

6. Результаты исследования 6

7. Заключение 7

8. Литературные источники 8

9. Приложение 9

10. Заключение 10

11. Заключение 11

12. Заключение 12

13. Заключение 13

14. Заключение 14

15. Заключение 15

16. Заключение 16

17. Заключение 17

18. Заключение 18

19. Заключение 19

20. Заключение 20

Подписано в печать 16.06.03 г.
 Формат 60x88 1/16. Бумага офсетная.
 Печать офсетная. Гарнитура «Ариал». Печ. л. 10.
 Тираж 1000 экз. Заказ № 2487.

Из-во «Юнимед-пресс».
 129301, Москва, ул. Касаткина, 3.

Отпечатано с готовых диапозитивов в
 ГУП «Псковская областная типография».
 180007, г. Псков, Рижский пр., 17.



ответственность
надежность
профессионализм



Мы поставляем в любую точку России:

- современные приборы и оборудование для лабораторий любого уровня
- высококачественные гематологические и биохимические реагенты
- диагностические тест-системы для ИФА и ПЦР
- расходные материалы
- удобную лабораторную мебель

Оказываем в любой точке России:

- профессиональное сервисное сопровождение всех поставок
- методическую поддержку выполняемых исследований

Высококвалифицированные специалисты нашей компании всегда проконсультируют Вас по современным методам лабораторных исследований, а наши периодические издания станут надежными помощниками в ежедневной работе.

Россия, 129301, Москва, ул. Касаткина, 3, тел.: (095) 935-8650, факс: (095) 564-8641
office@unimeda.ru, www.unimeda.ru