

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

Кафедра клинической лабораторной диагностики

В.С. Камышников

**ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ЛАБОРАТОРНОЕ
ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ,
ТЕХНОЛОГИИ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА**

Учебно-методическое пособие

Минск, БелМАПО
2022

УДК 616-039.74-074/078(075.9)

ББК 53.45я78

К 18

Рекомендовано в качестве учебно-методического пособия
НМС Государственного учреждения образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
(БелМАПО) - протокол № 4 от 13.04.2022

Автор:

Камышников В.С., заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики БелМАПО, доктор медицинских наук, профессор

Рецензенты:

Борисенко Т.Д., врач клинической лабораторной диагностики, (заведующий) клинко-диагностической лабораторией УЗ «1-ая городская клиническая больница г.Минска», кандидат медицинских наук

Кафедра биохимии Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Камышников В.С.

К 18 Организационно-методическое и лабораторное обеспечение диагностики неотложных состояний, технологии экспресс-анализа : учеб. - метод. пособие / В.С. Камышников. – Минск : БелМАПО, 2022. – 55 с.

ISBN 978-985-584-713-8

В учебно-методическом пособии нашли отражение общие представления о неотложном анализе, истории организации его выполнения и технологиях исследования; уделено внимание организационному обеспечению реализации неотложного анализа в медицинском учреждении, приборным методам лабораторного анализа с применением технологии как жидкой, так и сухой химии. В учебном издании представлены «ключевые» лабораторные тесты экспресс-анализа, дана трактовка типичных изменений показателей метаболизма при угрожающем жизни состоянии организма, приведены основные варианты реализации тактики осуществления неотложной лабораторной диагностики критических состояний. Особое внимание уделено концепции РОСТ – анализа («point of care testing») - «анализу по месту оказания медицинской помощи» — РОСТ», вне стационарной лаборатории, а также использованию современных автоматизированных методов иммунохроматографического анализа, «безреагентных» методов экспресс-анализа на основе бихроматического исследования и отражательной фотометрии.

Учебно-методическое пособие предназначено для слушателей, осваивающих содержание образовательных программ переподготовки по специальности «Клиническая лабораторная диагностика», повышения квалификации врачей клинической лабораторной диагностики, биологов клинко-диагностических лабораторий, врачей общей практики и других специалистов клинического профиля, в том числе врачей анестезиологов-реаниматологов, хирургов.

УДК 616-039.74-074/078(075.9)

ББК 53.45я78

ISBN 978-985-584-713-8

© Камышников В.С., 2022

© Оформление БелМАПО, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение. Общие представления о неотложном анализе, истории организации его выполнения и технологиях исследования	6
2. Организационное обеспечение тактики осуществления неотложного анализа	8
2.1. Алгоритм экспресс-диагностики, рекомендуемый к использованию в лечебно-профилактических организациях	9
2.2. Виды лабораторного экспресс-анализа	10
2.3. Основные синдромы реанимационного состояния	12
2.4. Приборное лабораторное обеспечение экспресс-анализа	13
2.4.1. Требования к оборудованию лаборатории	13
2.4.2. Перечень видов оборудования для выполнения лабораторного экспресс-анализа	14
2.4.3. Табель оснащения клиничко-диагностической лаборатории (отделения)	14
3. Приборные методы экспресс-анализа с использованием технологии жидкой химии	15
3.1. Спектрофотометр РВ 2201 (ЗАО «СОЛАР», БЕЛАРУСЬ)	15
3.2. Гемокоагулометр четырехканальный СТ 2410 (ЗАО «СОЛАР», БЕЛАРУСЬ)	21
3.3. Гематологические полуавтоанализаторы (на 8 параметров)	21
3.4. Оборудование, используемое для оценки коллоидно-осмотического давления и осмотической активности биологических жидкостей	22
3.5. Портативный биохимический автоанализатор, обеспечивающий возможность выполнения исследования по месту пребывания пациента	22
3.6. Оборудование, используемое для оценки кислотно-основного состояния (КОС) и газов крови	23
4. «Ключевые» лабораторные тесты экспресс-анализа, оценка клиничко-диагностической значимости направленности и степени выраженности изменений показателей метаболизма.	24
4.1. Трактовка изменений показателей «триады» золотого стандарта и других лабораторных тестов экспресс-диагностики неотложных состояний.	24
5. Концепции осуществления неотложной лабораторной диагностики критических состояний вне стационарной лаборатории: «анализ по месту оказания медицинской помощи» – «point of care testing - РОСТ», или «РОСТ – АНАЛИЗ».	27

5.1.Бесприборные и приборные методы экспресс-анализа с использованием технологии сухой химии и отражательной фотометрии	28
5.1.1.Экспресс-анализатор мочи АМ 2100 (ЗАО «СОЛАР» Белоруссия)	29
5.1.2.Определение глюкозы с использованием портативного отражательного фотометра	29
5.1.3.Определение лактата	30
6.Экспресс-анализ с использованием методов сухой химии на основе иммунохроматографического анализа (ИХА)	31
6.1.Тест-системы второго поколения - для бесприборной экспресс-диагностики	31
6.2.Приборное обеспечение исследований методами сухой химии вне стационарной лаборатории	33
6.3.Варианты технологий экспресс-исследования с использованием тест-систем сухой химии.	34
6.3.1. Характеристика одноразовых диагностических тест-полосок, процедура исследования	34
6.3.2.Технологии исследования компонентов крови с применением многослойных пленок	36
6.3.3.Одноэтапные иммунохроматографические методы обнаружения лекарств, наркотиков и других ксенобиотиков	37
6.3.4.Приборные методы экспресс-анализа, реализуемые с использованием технологии сухой химии (специальных карт) и отражательной фотометрии	38
7.Варианты конструкций автоматических биохимические анализаторов «сухой химии» для выполнения экспресс-анализа.	39
7.1.Автоматический биохимический анализатор «сухой химии» SPOTCHEM EZ SP-4430	39
7.2. Автоматический биохимический автоанализатор «сухой химии» «Берингер Маннхгейм»	40
7.3 Анализатор сухой химии <i>Triage® MeterPlus</i>	40
8.Использование иммунохроматографических методов сухой химии для диагностики соматических и инфекционных заболеваний.	42
8.1. Диагностика заболеваний почек	42
8.2.Диагностика гастроэнтерологических заболеваний	43
8.3.Диагностика паразитарных заболеваний	44
8.4.Диагностика вирусных заболеваний	44
8.5.Иммунохроматографические тесты определения онкомаркеров	45

8.6. Лабораторная диагностика инфекций, передаваемых половым путем (ИППП)	45
8.7. Лабораторная диагностика внутриутробных внутриутробных инфекций - Torch спектр	45
8.8.Лабораторная диагностика вирусных и бактериальных инфекций	45
8.9. Лабораторная диагностика сепсиса с использованием теста определения прокальцитонина	46
8.10. Скрининговая диагностика пищевой аллергии по выявлению специфических антител класса IgG к коровьему молоку и яичному белку	46
8.11.Лабораторная диагностика преждевременного излития околоплодных вод	46
8.12.Экспресс-тесты определения наступления овуляции	46
8.13.Иммунохроматографические экспресс-тесты диагностики мужской фертильности	46
9.Потенциальные возможности использования современных технологий РОСТ-анализа	46
10.Методы безреагентного экспресс-анализа на основе бихроматического исследования и отражательной фотометрии	47
10.1.Билирубинометр БФ-ЦТ-01	47
10.2.Транскутанный билирубинометр российского производства	47
10.3. Транскутанный билирубинометр белорусского производства АНКУБ «Спектр»	48
Заключение. Пути дальнейшего совершенствования технологий исследования в области медицинского экспресс-анализа, организационные решения	49
Литература	54

1.ВВЕДЕНИЕ. ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О НЕОТЛОЖНОМ АНАЛИЗЕ, ИСТОРИИ ОРГАНИЗАЦИИ ЕГО ВЫПОЛНЕНИЯ И ТЕХНОЛОГИЯХ ИССЛЕДОВАНИЯ

Становление современной лабораторной экспресс-диагностики неотложных состояний связано с пандемией полиомиелита в 50-х гг. прошлого столетия и вызванным эпидемией массовым поступлением в лечебно-профилактические организации пациентов, требующих проведения им длительной искусственной вентиляции легких (ИВЛ).

Это явилось стимулом к разработке анализаторов для измерения основных метаболических параметров оценки состояния жизненно важных органов и систем, и прежде всего – кислотно-основного состояния (КОС) и газов крови.

Благодаря содружеству врачей (группа доктора Пола Аструпа) и инженеров компании «Радиометр» (Дания) были созданы первые анализаторы газов крови и КОС уже в 50-х гг. прошлого века.

Будучи недостаточно совершенными, с большим перечнем ручных процедур, они, тем не менее, должны были отвечать требованиям экспресс-диагностики неотложных состояний, или так называемого СТАТ-анализа.

К числу этих требований были отнесены:

- короткий цикл измерения - 1-2 минуты (не более 3-5 мин);
- быстрое получение результата от момента принятия решения о выполнении анализа до получения распечатки данных – 5-10 минут;
- минимальный объем пробы крови: до 200 мкл, учитывая необходимость достаточно частого повторения забора пробы.

Эти требования в дальнейшем сохранились и для последующих поколений анализаторов, выполняющих уже более широкий спектр измерений параметров СТАТ-анализа.

Его осуществление во многом определяется:

- 1) материально-техническим оснащением лаборатории экспресс-анализа и
- 2) системой организации службы неотложного анализа.

К неотложному анализу принято относить те виды лабораторных исследований, которые ориентированы не столько на диагностику заболеваний, сколько на установление у пациента *метаболических проявлений синдрома патологии* - с целью оказания на основании этого незамедлительного влияния на оптимизацию тактики предпринимаемых врачом лечебных мероприятий.

На основании основополагающего для последующего развития клинической лабораторной службы Приказа МЗ СССР N 63 от 25.01.1968 «О мерах по дальнейшему развитию и совершенствованию лабораторной клинико-диагностической службы в СССР» в лечебно-профилактических учреждениях МЗ СССР были созданы клинико-диагностические лаборатории (КДЛ) разного профиля: общего типа, централизованные и специализированные, функционирующие на правах отделения больниц, поликлиник, диспансеров и других учреждений здравоохранения,

Этим же приказом четко определено, что «...лаборатория экспресс-диагностики призвана выполнять исследования только для пациентов реанимационных отделений и операционных».

К тому же, в нем был дан перечень лабораторных исследований для оценки основных жизненно важных параметров метаболического статуса пациента.

Проблеме неотложного анализа был посвящен состоявшийся 21 июня 2001 г. в г. Гродно Пленум Республиканского общества специалистов клинической лабораторной диагностики на тему «Современные достижения и проблемы неотложного анализа»

В статье материалов Пленума - «Рациональный подход к лабораторным исследованиям крови в интенсивной терапии» (И.И. Канус, В.З. Олецкий, В.Ф. Пришивалко, В.Ч. Приступа) было обращено внимание на целесообразность разделять методы лабораторного исследования на три категории: ***неотложные, срочные и выполняемые в плановом порядке.***

По мнению авторов статьи, неотложными анализами рекомендовано считать те, на основании результатов выполнения которых осуществляется выявление патологических состояний, непосредственно угрожающих жизни пациента, и определяется выбор конкретных мероприятий по коррекции обнаруженных метаболических изменений.

К категории «неотложных методов анализа» (1) были отнесены лабораторные технологии определения:

- газового состава крови (pO_2 , CO_2),
- pH (активной реакции крови),
- гемоглобина и гематокрита,
- электролитов (ионов натрия, калия, ионизированного кальция, хлора),
- глюкозы,

- показателей свертывающей системы крови – протромбинового индекса (времени), активированного частичного тромбопластинового времени, числа тромбоцитов.

При этом решающее значение придавалось точности выполнения исследования и периоду времени получения результата, которое не должно превышать несколько минут.

«Срочные методы анализа» (2) необходимы для постановки клинического диагноза. К этой группе видов исследования отнесены определение уровня мочевины, креатинина, активности трансаминаз, альфа-амилазы, креатинкиназы, содержания билирубина, фибриногена, подсчет числа лейкоцитов и формулы крови, а также выполнение токсикологических исследований. Время получения результата также имеет большое значение и, как правило, оно не должно превышать одного часа с момента взятия материала.

«Исследования, которые могут быть выполнены в плановом порядке» (3), включают в себя широкий спектр тестов, несущих диагностическую информацию после стабилизации состояния пациента, все они могут быть выполнены в плановой лаборатории.

На основании одного из предложений Пленума Республиканского общества специалистов по клинической лабораторной диагностике «Современные достижения и проблемы неотложного анализа» (2001 г.) - «Подготовить предложения по организации циклов усовершенствования по неотложному анализу и клинико-лабораторной токсикологии», а также состоявшегося в последующем решения лечебно-контрольного совета (ЛКС) Министерства здравоохранения Республики Беларусь кафедрой клинической лабораторной диагностики БелМАПО был создан и открыт во втором квартале 2001 г. курс повышения квалификации по неотложному анализу.

2. ОРГАНИЗАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ТАКТИКИ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ НЕОТЛОЖНОГО АНАЛИЗА

По мере накопления опыта реализации технологий неотложного анализа, определились две основные схемы его организации:

1-ая схема. Создание при отделениях интенсивной терапии так называемой неотложной лаборатории (STAT-лаборатории), интегрированной в состав центральной лаборатории клиники.

В процессе ее реализации используется высокотехнологичное оборудование, обеспечивающее максимально быстрое выполнение анализа.

2-ая схема. Выполнение требуемого спектра исследований самим персоналом отделения интенсивной терапии на месте оказания лечебной помощи пациенту (Point Of Care Testing - РОСТ)

Данный подход сейчас активно внедряется в лабораторную практику.

Преимущество инструментального и неинструментального РОСТ-анализа состоит в том, что он предоставляет возможность выполнять исследование непосредственно на месте оказания медицинской помощи пациенту (при этом не обязательно работниками лаборатории неотложного анализа).

2.1. Алгоритм экспресс-диагностики, рекомендуемый к использованию в лечебно-профилактических организациях

Лаборатории экспресс-диагностики предпочтительно осуществлять свою деятельность по следующему алгоритму.

На протяжении периода времени *до окончания работы «плановых» лабораторий* (например, до 15 ч) лаборатория экспресс-диагностики выполняет неотложные исследования для пациентов:

- приемного,
- реанимационных и
- операционных отделений, где в это время идет наиболее интенсивная лечебная деятельность.

Параллельно с этим в операционном блоке разворачивается рабочее место, где работает фельдшер-лаборант, который исследует:

- кислотно-основное состояние (КОС),
- гематокрит,
- содержание гемоглобина,
- уровень глюкозы,
- уровень электролитов,
- время свертывания крови.

После 15 ч, когда интенсивность работы в операционных значительно снижается, и заканчивают работу сотрудники основной («дневной») клинико-диагностической лаборатории, лаборатория экспресс-диагностики выполняет неотложные и назначенные на вечернее и ночное время исследования для всех отделений стационара.

2.2.Виды лабораторного экспресс-анализа

Основной спектр исследований, выполняемый в экспресс-лаборатории, составляют:

- Общеклинические
- Клинико-биохимические
- Исследования системы гемостаза (коагулологические)
- Изосерологические
- Определение концентрации экзогенных продуктов - лекарственных препаратов и токсических веществ в крови.

2.2.1.Общеклинические исследования.

Включают в себя:

1).Общеклиническое исследование крови:

- Определение времени свертывания крови
- Подсчет количества тромбоцитов и
- Подсчет ретикулоцитов в крови
- Исследование крови на плазмодии малярии

2).Общеклиническое исследование мочи

3).Общеклиническое исследование цереброспинальной жидкости

4).Определение (расчет) объема циркулирующей крови (ОЦК)

5).Исследование биологического материала на скрытую кровь (кал, моча, содержимое желудка, содержимое брюшной полости) .

2.2.2. Клинико-биохимических исследования.

Включают в себя определение показателей:

1).Кислотно-основного состояния (КОС)

2).Газотранспортной функции крови

3).Состояния белково-азотистого обмена по уровню содержания альбумина, мочевины, креатинина сыворотки крови

4).Активности ферментов: аспартатаминотрансферазы (АсТ), аланинаминотрансферазы (АлТ), креатинкиназы (КК), альфа-амилазы в сыворотке крови, моче, содержимом брюшной полости, липазы крови

5).Кардиоспецифических белков: тропонина-Т, тропонина I, МВ-изофермента КК, миоглобина

6).Показатели ключевых звеньев углеводного и липидного обменов: определение глюкозы и недоокисленных продуктов метаболизма: глюкозы в

крови, моче и цереброспинальной жидкости, молочной, пировиноградной кислот, кетоновых тел в крови и моче.

7).Определение показателей пигментного обмена: общего и связанного билирубина

8).Оценка показателей минерального обмена: калия, натрия, ионизированного кальция, хлоридов в сыворотке, цереброспинальной жидкости

9).Оценка выраженности эндогенной интоксикации: определение уровня молекул средней массы

10).Определение алкоголя в крови

11).Постановка тестов выявления беременности по определению в моче содержания бета-хорионического гонадотропина

12).Оценка осмоляльности (осмолярности) биологических жидкостей: плазмы, цереброспинальной жидкости и мочи, индекса осмолярности, определение клиренса свободной воды

2.2.3.Исследование системы гемостаза. Состоит в определении:

- протромбинового индекса (протромбинового времени)
- частичного тромбопластинового времени (АЧТВ).
- тромбинового времени
- антитромбина III
- фибриногена
- плазминогена
- продуктов деградации фибриногена (ПДФ)
- активированного времени свертывания крови
- индекса осмолярности.

2.2.4.Изосерологические исследования. Сводятся в основном к определению:

- группы крови
- резус-фактора.

2.2.5. Определение концентрации лекарственных препаратов в сыворотке крови:

- гентамицина
- дигоксина
- дигитоксина
- теофиллина
- фенобарбитала

- и других лекарственных веществ.

Благодаря использованию результатов лабораторных исследований оптимизируется лечебная тактика врача анестезиолога-реаниматолога и проводится коррекция метаболических нарушений.

2.3. Основные синдромы реанимационного состояния

Принято различать *7 групп неспецифических синдромов реанимационного состояния*, сопровождающих наиболее часто встречающиеся критические ситуации.

В числе их:

I. Синдромы эндогенной интоксикации.

Наблюдаются при:

- воспалительных процессах
- острой почечной недостаточности
- острой печеночной недостаточности (синдром цитолиза, гепатопривный, холестаза, мезенхимально-воспалительный)
- острой кишечной недостаточности (нарушении моторной функции кишечника).

II. Гипоксические синдромы.

К ним относятся:

- респираторная гипоксия (гипоксическая гипоксия)
- гемическая (анемическая) гипоксия
- гемодинамическая (циркуляторная) гипоксия
- гипоксия венозного примешивания и периферического шунтирования.

III. Синдром нарушения гемодинамики:

- при сердечно-сосудистой недостаточности
- при волевических нарушениях (дизгидриях), сопровождающихся изменением объема крови в сосудистом русле

IV. Синдром нарушений водно-электролитного гомеостаза, вызванный:

- дегидратацией
- гипергидратацией

Проявляется изменением ионного состава, осмолярности, онкотического давления плазмы крови и мочи

V. Синдромы нарушений КОС, вызванные:

- Ацидозом
- Алкалозом

VI. Гемостазиопатические синдромы:

- геморрагические (тромбогеморрагические)
- тромбофилические

VII. Синдромы нейроэндокринных нарушений:

- гипергликемический
- гипогликемический
- вызванный острой недостаточностью коры надпочечников
- вызванный острыми нарушениями состояния симпатико-адреналовой системы (катехоламиновый криз).

2.4. Приборное лабораторное обеспечение экспресс-анализа

Для выявления синдромов патологии необходимо следующее *лабораторное оборудование*:

- спектрофотометр (ультрафиолетовый фотометр),
- анализатор КОС и газов крови,
- ко-оксиметр,
- анализатор электролитов,
- анализатор глюкозы и молочной кислоты крови,
- гематологический автоанализатор,
- экспресс-анализатор мочи,
- коагулометр (полуавтоматический),
- осмометр,
- тест-системы для определения маркеров соматических заболеваний методами «сухой химии» (индикаторные тест-полоски).

2.4.1. Требования к оборудованию лаборатории

Практическая реализация неотложного анализа требует того, чтобы современные анализаторы отличались:

- портативностью;
- простотой обслуживания;
- имели бы программное обеспечение;
- использовали бы малый (близкий к минимально допустимому) объем пробы биологической жидкости (крови);
- обеспечивали бы получение результата измерения в течение 1-2 минут после введения пробы.

2.4.2. Перечень видов оборудования для выполнения лабораторного экспресс-анализа

Приведен в «Приложении 3» к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 18.04.2019 №466 «О совершенствовании деятельности службы лабораторной диагностики Республики Беларусь».

2.4.3. Табель оснащения клинико-диагностической лаборатории (отделения): согласно Приложения 3 к приказу МЗ РБ от 18.04.2019 № 166

Экспресс-лаборатория		
№	Наименование	Количество
1.	Гематологический анализатор, источник бесперебойного питания	1
2.	Автоматический биохимический анализатор, источник бесперебойного питания	По потребности
3.	Спектрофотометр (фотометр)	По потребности
4.	Анализатор показателей гемостаза, источник бесперебойного питания	По потребности
5.	Тромбоэластограф, источник бесперебойного питания	По потребности
6.	Анализатор глюкозы, или анализатор глюкозы (лактата), источник бесперебойного питания	1
7.	Анализатор кислотно-основного состояния, источник бесперебойного питания	1
8.	Анализатор электролитов, источник бесперебойного питания	1
9.	Анализатор кардиомаркеров, источник бесперебойного питания	По потребности
10.	Оборудование для изосерологии (центрифуга для гелевых карт, термостат для гелевых карт)	По потребности
Вспомогательное оборудование		
1.	Счетчик клеток электронный	По потребности
2.	Микроскоп бинокулярный с осветителем	По потребности
3.	Центрифуга	По потребности
4.	Автоматические/полувтоматические дозаторы постоянного и/или переменного объема	По потребности
5.	Холодильное оборудование	По потребности

Экспресс-лаборатория		
№	Наименование	Количество
6.	Вытяжной шкаф	По потребности
7.	Рециркулятор или бактерицидная лампа	По количеству рабочих помещений
8.	Термометры для холодильного или морозильного оборудования	По количеству холодильного/морозильного оборудования
9.	Гигрометр психометрический для измерения показателей окружающей среды	По количеству рабочих помещений
10.	Персональный компьютер с принтером	По потребности

3.ПРИБОРНЫЕ МЕТОДЫ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ ЖИДКОЙ ХИМИИ

Реализуются, в том числе с использованием представленного варианта материально-технического оснащения лаборатории.

3.1. Спектрофотометр РВ 2201 (ЗАО «СОЛАР», БЕЛАРУСЬ)



Биохимический полуавтоанализатор – **спектрофотометр РВ 2201** обеспечивает проведение абсорбционных исследований растворов и твердых веществ в далекой ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях спектра, в том числе факторов эндогенной интоксикации безреагентным способом.

Спектрофотометры РВ 2201 (РВ 2201 А, РВ 2201В, РВ 2201С) предназначены для измерения оптической плотности в области спектра от 190 до 1100 нм и выводом результатов измерения на встроенный термопринтер или на компьютер

Спектрофотометр РВ 2201А комплектуется универсальным кюветодержателем для прямоугольных кювет с длиной оптического пути 10,20, 30, 50 и 100 мм.

Спектрофотометр РВ 2201В комплектуется термостатируемым в интервале температур от 20 до 45°C термоэлектрическим кюветодержателем для квадратных кювет с длиной оптического пути 10 мм и электронной магнитной мешалкой со встроенным термостатом на десять кювет (с наружными размерами до 12,5 x 12,5 x 45 мм).

Спектрофотометр РВ 2201С комплектуется термостатируемым пятипозиционным кюветодержателем (типа «турель») со встроенным термостатом на десять кювет (с наружными размерами до 12,5 x 12,5 x 45 мм). Температура термостатирования - 37° С.

Использование прибора для осуществления неотложного лабораторного анализа безреагентным способом на примере экспресс-определения общего белка, среднемолекулярных пептидов и мочевой кислоты.

1).Количественное определение белка в коротковолновом ультрафиолетовом свете.

В ультрафиолетовой области спектра все белки, кроме протаминов, имеют широкую полосу поглощения – в пределах длин волн 275 – 280 нм. Определив на спектрофотометре интенсивность поглощения света раствором белка, можно установить его концентрацию. При использовании кюветы с шириной слоя 10 мм оптическая плотность раствора, в 1 мл которого содержится 1 мг «усредненного» белка, составляет 1,0 (при длине волны 280 нм). Соответственно, при содержании белка 0,5 мг/мл оптическая плотность раствора составляет 0,5 и т.д. Исходя из этого и производится расчет.

Метод базируется на регистрации поглощения белком монохроматического ультрафиолетового светового потока с последующим установлением на основании этого концентрации общего белка сыворотки (плазмы) крови.

Ход определения.

1-ый вариант исследования.

Сыворотку крови разводят изотоническим раствором в 250 раз (для этого 0,1 мл сыворотки крови доводят до 25 мл). Полученный раствор вносят в стандартную прямоугольную кварцевую кювету (с шириной оптического слоя 1 см). Оптическую плотность измеряют при длине волны 280 нм (желательно выполнять параллельные исследования). Найденную величину умножают на

число, показывающее разведение сыворотки, и таким образом находят концентрацию белка в г/л.

Пример расчета. Средняя величина абсорбции для двух параллельно обрабатываемых проб составляет 0,320. Чтобы найти концентрацию белка в г/л, показатель абсорбции 0,320 умножают на 250, получая тем самым значение концентрации белка в размерности «г/л» (в приведенном случае – 80 г/л). В общем виде формула расчета содержания «полного» белка в биологической жидкости имеет вид:

$$C \text{ (г/л)} = A \cdot F,$$

где C – концентрация белка в г/л, A – показатель абсорбции, F – степень разведения.

Некоторые авторы для установления содержания белка в сыворотке крови рекомендуют дополнительно замерять абсорбцию при другой длине волны.

2-ой вариант исследования

Ход определения. Сыворотку крови перед определением содержания общего белка разводят дистиллированной водой в 50 или 100 раз. Затем в кювете с шириной слоя 10 мм замеряют абсорбцию одной и той же пробы при двух длинах волн: 280 и 260 нм.

Расчет производят по формуле:

$$C \text{ (г/л)} = (1,45 \cdot A_{280}) - (0,74 \cdot A_{260}) \cdot 100$$

Пример расчета. При 100-кратном разбавлении сыворотки крови дистиллированной водой показатели оптической плотности анализируемого раствора при длине волны монохроматического ультрафиолетового света 280 и 260 нм составили соответственно 0,62 и 0,42. Применяв приведенную формулу расчета, находим

$$C = (1,45 \cdot 0,62) - (0,74 \cdot 0,42) = 0,588 \text{ (разведенная сыворотка);}$$
$$0,588 \cdot 100 = 58,80 \text{ г/л.}$$

Определение среднемолекулярных пептидов (молекул средней массы, «средних» молекул) «прямым» методом ультрафиолетовой фотометрии (по Бабель А. и соавт.)

Основан на предварительном освобождении сыворотки (или плазмы) крови от содержащихся в ней высокомолекулярных пептидов и белка с использованием трихлоруксусной кислоты с последующим количественным

определением в полученной после центрифугирования надосадочной жидкости уровня среднемолекулярных пептидов по поглощению монохроматического светового потока с длиной волны 254 нм.

Ход определения. В центрифужную пробирку вносят 1,0 мл сыворотки (или мочи) и 0,5 мл раствора трихлоруксусной кислоты (100 г/л). После перемешивания содержимого пробирки производят центрифугирование на общеклинической центрифуге (типа ОПН-3) при 3000 об/мин в течение 30 мин. Отбирают 0,5 мл надосадочной жидкости и переносят в пробирку с 4,5 мл дистиллированной воды. Содержимое пробирки перемешивают и фотометрируют при 254 нм, используя в качестве контрольной пробы дистиллированную воду. Результаты выражают в условных единицах, представляющих собой показатели оптической плотности, учтенные с точностью до третьего знака после запятой.

Уровень среднемолекулярных пептидов в пробах сыворотки крови практически здоровых взрослых людей (по данным исследования 350 человек) составил в среднем 0,240 ед. абсорбции.

Примечание. Способ определения веществ группы средних молекул по величине абсорбции ультрафиолетового светового потока ($\lambda = 254$ нм) кислым экстрактом биологической жидкости недостаточно специфичен, поскольку ведется в нехарактерной для пептидов области поглощения ультрафиолетового светового потока. В связи с этим В.В. Кирковским, В.М. Моиным, Г.А. Лобачевой (1994) был предложен другой, достаточн простой в исполнении, специфичный и точный метод определения среднемолекулярных пептидов.

Модифицированный способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях (по Кирковскому В.В. и соавт.)

Принцип метода основан на осаждении высокомолекулярных белков плазмы крови действием хлорной кислоты (HClO_4) и этилового спирта с последующей фотометрией при 210 нм.

Ход определения. В центрифужную пробирку помещают 0,5 мл плазмы (сыворотки) крови, добавляют 0,5 мл раствора хлорной кислоты (13,8 мл хлорной кислоты (х.ч.) довести дистиллированной водой до 100 мл), тщательно перемешивают встряхиванием, оставляют при комнатной температуре на 10-15 мин, затем центрифугируют 3000 об/мин в течение 10-15 мин. Отбирают 0,5 мл центрифугата в пробирку, в которую добавляют 0,1 мл раствора углекислого калия (2 моль/л). Пробирку выдерживают в ледяной бане в течение 20 мин. Пробу центрифугируют при 3000 об/мин 10-15 мин.

Отбирают 0,2 мл надосадочной жидкости в центрифужную пробирку, добавляют 0,8 мл этанола; содержимое пробирки встряхивают, оставляют на 10 мин при комнатной температуре, затем центрифугируют при 3000 об/мин (для осаждения высокомолекулярных примесей). Отбирают 0,5 мл надосадочной жидкости (центрифугата) и добавляют к ней 4,5 мл дистиллированной воды. Перемешивают и фотометрируют при 210 нм относительно контрольной пробы.

Для постановки *контрольной пробы* смешивают 0,2 мл дистиллированной воды и 0,8 мл этилового спирта, к 0,5 мл этого раствора добавляют 4,5 мл дистиллированной воды.

Концентрацию средних молекул рассчитывают, умножая показатель оптической плотности пробы при длине волны 210 нм на 3,94 (коэффициент пересчета результата в г/л с учетом разведения биологической жидкости).

Концентрация средних молекул в плазме крови у практически здоровых взрослых людей, установленная этим методом, составляет $0,53 \pm 0,02$ г/л.

Трактовка результатов исследования.

Установлено, что увеличение концентрации средних молекул в биологических жидкостях наблюдается при патологических состояниях, сопровождающихся эндогенной интоксикацией, и тесно коррелирует со степенью ее выраженности. Так, у пациентов с гнойным перитонитом, сопровождающимся явлениями тяжелой интоксикации, концентрация средних молекул в плазме крови увеличивается в 2-3 раза по сравнению с нормой, у пациентов с черепно-мозговой травмой средней тяжести – в 2 раза, тяжелой – в 2-3 раза; при заболеваниях печени – в 3-4 раза. Значительное увеличение наблюдается у пациентов с острой и хронической почечной недостаточностью.

Уровень среднемолекулярных пептидов в плазме (сыворотке) крови значительно возрастает при онкологических заболеваниях, хронической почечной недостаточности, термических ожогах, стрессовых ситуациях и других состояниях.

С накоплением средних молекул «связывают» ряд тяжелых осложнений, - таких как расстройство функций нервной и сердечно-сосудистой систем, склонность к развитию септических состояний.

Для устранения синдрома интоксикации, вызванного высоким содержанием молекул средней массы, в крупных клиниках практикуется проведение гемодиализа, дающего хороший лечебный эффект.

Патохимические эффекты влияния молекул средней массы многогранны. Средние молекулы угнетают фагоцитарную активность лейкоцитов и пролиферацию фибробластов, нарушают функцию тромбоцитов.

Среднемолекулярные пептиды проявляют нейротропные и психотропные свойства, вызывают расстройство гематоэнцефалического барьера, микроциркуляторного русла, ингибируют митохондриальное окисление, нарушают процессы транспорта аминокислот.

Выявлено почти полное разобщение процессов окисления и фосфорилирования, ингибирование механизмов активного транспорта через мембраны ионов натрия и калия, а также активности ряда ферментов.

Молекулы средней массы действуют как вторичные токсины, вызывая расстройство многих функций в организме.

Определение содержания мочевой кислоты с использованием безреагентного метода ультрафиолетовой фотометрии.

Ход исследования. 0,3 мл сыворотки крови вносят в обычную химическую пробирку, которую затем погружают на 2 мин в кипящую водяную баню. После охлаждения в нее вносят 3 мл дистиллированной воды и экстрагируют сгусток при 37 С° в течение одного часа. Весь объем жидкости помещают в кювету спектрофотометра и измеряют абсорбцию при длине волны 289 нм.

Концентрацию мочевой кислоты находят по калибровочной кривой, для построения которой из основного раствора стандарта (концентрации 200 мг/л) делается промежуточное разведение (концентрации 100 мг/л) путем разбавления основного раствора дистиллированной водой в 2 раза. В ряд пробирок отбирают 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 мл раствора и доводят объем каждой пробы добавлением дистиллированной воды до 10 мл. В итоге получают ряд растворов с концентрацией мочевой кислоты 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60 мг/л, соответственно.

Из каждого разведения отбирают по 0,3 мл и вносят в пробирку, в которую добавляют 3,0 мл дистиллированной воды. После перемешивания проб измеряют их абсорбцию на спектрофотометре при длине волны 289 нм. По общеизвестным принципам строят калибровочную кривую и рассчитывают результат.

3.2. Гемокоагулометр четырехканальный СТ 2410 (ЗАО «СОЛАР», БЕЛАРУСЬ)



Использование прибора делает возможным определение тромбинового времени, протромбинового времени, АПТВ, концентрации фибриногена и факторов II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII в плазме крови с представлением результатов в секундах, процентах, единицах INR и величины R («Ratio»).

3.3. Гематологические полуавтоматизаторы (на 8 параметров)



К числу современных гематологических автоматических анализаторов на 8 параметров относятся, в частности, **KX-21N** (фирма-производитель **Sysmex** (Япония)) и **МЕК-6110К** (фирма-производитель Nihon-Kohlen).

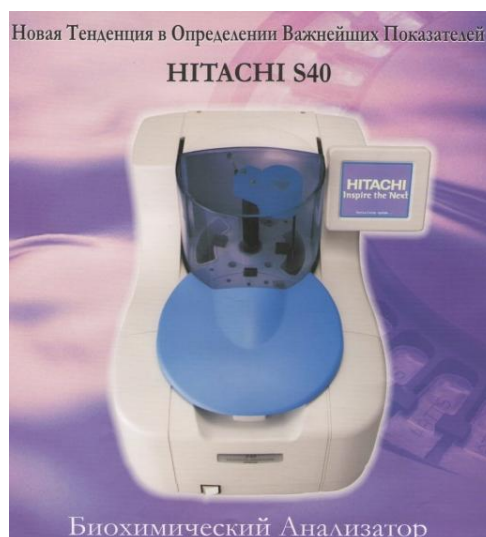
Процесс исследования полностью автоматизирован - от момента подачи пробы до распечатки результата.

При работе с приборами используются пробирки для взятия цельной капиллярной и венозной крови с антикоагулянтom (на основе ЭДТА).

3.4. Оборудование, используемое для оценки коллоидно-осмотического давления и осмотической активности биологических жидкостей



3.5. Портативный биохимический автоанализатор, обеспечивающий возможность экстренного выполнения исследования по месту пребывания пациента

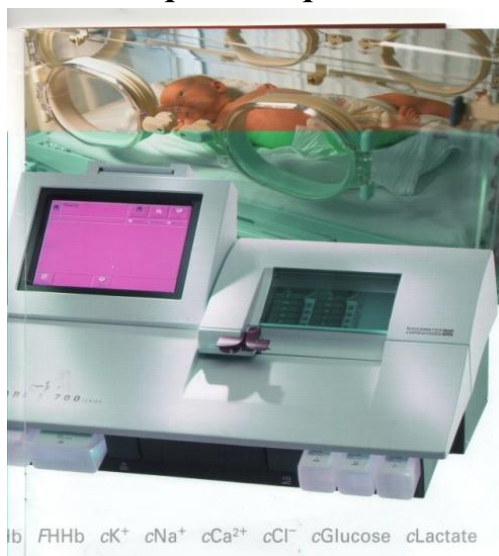


Содержит одноразовый единый картридж для: реагентов, реакционной камеры и фотометрической кюветы.

Обеспечивает выполнение исследований 23-х видов; максимальное количество проб – 40 позиций на постановку. Цикл анализа – 30 секунд на позицию.

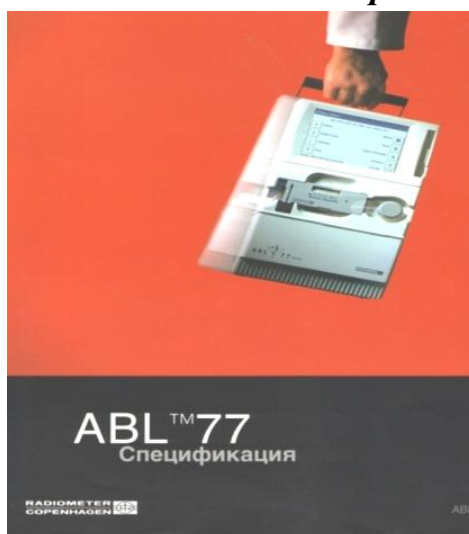
3.6. Оборудование, используемое для оценки кислотно-основного состояния и газов крови

Анализатор газов крови ABL-700



Позволяет определять показатели КОС, газов крови и содержание электролитов: калия, натрия, кальция, хлорид-ионов.

Портативный анализатор ABL-700



Используется для исследования показателей кислотно-основного состояния

4.«КЛЮЧЕВЫЕ» ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА, ОЦЕНКА КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ НАПРАВЛЕННОСТИ И СТЕПЕНИ ВЫРАЖЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕТАБОЛИЗМА

Три измеряемых параметра: pH, парциальное давление кислорода (pO_2) и углекислого газа (pCO_2) артериальной крови - уже более полувека остаются «золотым стандартом» лабораторной экспресс-диагностики неотложных состояний, или STAT-анализа (STAT--Short-Turn-Around Time).

В большинстве развитых стран мира необходимость измерения этих параметров закреплена законодательно как непреложный стандартный минимум (!).

Поэтому основным анализатором в лаборатории экспресс-диагностики остается анализатор кислотно-основного состояния (КОС) и газов крови. Реализуемые с его использованием три параметра, составляющие «золотой стандарт» исследования - pH, pO_2 , pCO_2 в артериальной крови, требуется при проведении:

- оперативных вмешательств под общей анестезией с искусственной вентиляцией легких (ИВЛ);
- продленной ИВЛ в послеоперационном периоде;
- исследовании пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии в лечебно-профилактических организациях.

4.1. Трактовка изменений показателей «триады» золотого стандарта и других лабораторных тестов экспресс-диагностики неотложных состояний.

Определение показателей pCO_2 оказалось весьма востребованным для констатации диагноза «смерть мозга».

Низкие показатели pO_2 , O_2CT и SaO_2 и высокие - pCO_2 могут быть обусловлены:

нарушением дыхания (например, в результате слабости или паралича дыхательных мышц, угнетения дыхательного центра при черепно-мозговой травме, опухоли мозга, передозировке наркотиков, бронхоальвеолярной обструкции дыхательных путей (слизь, опухоль).

Развитие анестезиологии и реаниматологии, связанное с необходимостью оценки не только состояния дыхательной системы, но и почек, стимулировало разработку электродов для определения концентрации важнейших электролитов

крови. В связи с этим в состав анализаторов газового состава крови были включены ион-селективные электроды с возможностью измерения в одной и той же пробе цельной крови таких параметров, как концентрация K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- .

Поэтому в состав анализаторов газового состава крови были включены ион-селективные электроды с возможностью измерения в одной и той же микропробе цельной крови концентрации K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , лития, магния, а также глюкозы и лактата.

Определение глюкозы

Определение уровня глюкозы в крови традиционно использовалось для экспресс-диагностики неотложных состояний, возникающих у пациентов, страдающих сахарным диабетом.

Определение уровня глюкозы в крови оказалось важным для оценки уровня стресс-реакции организма в критическом состоянии. Однако этот показатель нестабилен (что затрудняет поддержание его в пределах 4-6 ммоль/л).

Определение лактата

При необходимости оценки риска развития гипоксии или «задолженности» тканей по кислороду решающим становится такой современный маркер уровня гипоксии, как содержание *лактата* в крови.

Уровень лактата крови у критических пациентов используется в качестве показателя, отражающего:

- кислородную задолженность тканей;
- эффективность проводимой терапии;
- вероятность неблагоприятного исхода.

Тест определения лактата в крови используется в качестве показателя кислородной задолженности тканей при:

- шоке (циркуляторном, геморрагическом, кардиогенном);
- остановке сердца;
- выраженной анемии;
- астматическом статусе;
- интенсивных физических упражнениях;
- а также отравлениях:
- окисью углерода;
- рядом других токсических веществ: этанолом, метанолом, метформином, этиленгликолем.

Не меньшее значение имеет использование теста определения уровня лактата крови в качестве *прогностического признака неблагоприятного исхода шока*: доказано более раннее изменение (повышение) уровня лактата по сравнению с другими признаками развивающегося шока (гипотония, олигурия, снижение рН и др.)

Доказана значимость определения уровня лактата крови у критических больных в качестве показателя:

- кислородной задолженности тканей;
- эффективности проводимой терапии;
- прогностического признака неблагоприятного исхода - смертности (!)

Поскольку увеличение концентрации лактата связано с развитием гипоксии, то дополнительную информацию об уровне нарушения транспорта кислорода к клетке дают параметры ко-оксиметрии - оптической технологии, основанной на методе абсорбционной спектрофотометрии и технологически включенной в функционирование современных газоанализаторов.

Основными параметрами оценки транспорта кислорода, измеренными ко-оксиметром, являются:

- общая концентрация гемоглобина в крови - ctHb (референтный уровень для взрослых мужчин 8,4-10,9 ммоль/л; для женщин 7,4-9,9 ммоль/л).
- измеренная сатурация, или насыщение гемоглобина кислородом (SO_2) (референтный уровень 95-99%).
- показатель сатурации (или насыщения гемоглобина кислородом): определяется соотношением оксигемоглобина (HbO_2) и суммы окси (HbO_2) - и деоксигемоглобина (HHb).

Параметры оценки кислородного статуса пациента включают в себя определение ctHb , SO_2 и фетальных форм гемоглобина: FHbO_2 , FHbHb , FHbCO , FHbMet , FHbF .

Относительно параметра (SO_2) - сатурация или насыщение гемоглобина кислородом, часто измеряемого анестезиологом с помощью неинвазивного датчика пульсоксиметра (SpO_2), важно помнить о пределах достоверности этого приборного измерения.

Известно, что показатель SpO_2 адекватен при отсутствии в крови дисгемоглобинов (карбоксигемоглобина - HbCO , метгемоглобина - HbMet , фетального гемоглобина - HbF и др.). При наличии же дисгемоглобинов адекватным для оценки риска развития гипоксии является показатель фракции оксигемоглобина (FHbCk), измеряемый с помощью многоволнового ко-оксиметра.

Дополнительную информацию о нарушении транспорта кислорода к клетке дают параметры ко-оксиметрии -- оптической технологии, основанной на методе абсорбционной спектрофотометрии

Для суждения о доступности кислорода для тканей используется расчетный показатель $p50$ - напряжение полунасыщения или напряжение O_2 при 50% десатурации крови (референтный уровень $p50$ для взрослых - 24-28 мм ртутного столба - Нг). Показатель $p50$ выражает аффинитет гемоглобина к кислороду, определяемый положением кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

Факторами, сдвигающими константу диссоциации оксигемоглобина влево с соответствующим снижением содержания $p50$, являются метаболический алкалоз, гипокапния, гипотермия, гипофосфатемия, наличие дисгемоглобинов. Все они увеличивают аффинитет гемоглобин-кислород и, следовательно, затрудняют освобождение кислорода в тканях.

Факторы, сдвигающие КДО вправо с соответствующим повышением значения $p50$ (метаболический ацидоз, гиперкапния, гипертермия, увеличение концентрации 2,3-дифосфоглицерата), облегчают освобождение кислорода в тканях.

5.РЕАЛИЗАЦИЯ КОНЦЕПЦИИ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ НЕОТЛОЖНОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ ВНЕ СТАЦИОНАРНОЙ ЛАБОРАТОРИИ: «АНАЛИЗ ПО МЕСТУ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ» – «POINT OF CARE TESTING - РОСТ», ИЛИ «РОСТ – АНАЛИЗ».

Современная концепция лабораторной экспресс-диагностики неотложных состояний основана на использовании понятия РОСТ (Point-of-Care-Testing), то есть анализе «непосредственно у постели пациента». Он базируется на применении технологий «сухой» и «жидкой» химии.

В клинической практике концепция РОСТ предполагает использование анализаторов КОС, газов крови, электролитов, метаболитов (глюкозы, лактата), ко-оксиметров (и другого оборудования) непосредственно в операционной, отделении реанимации, отделении гемодиализа и т.д.

Практическая реализация данной концепции требует того, чтобы современные анализаторы отвечали определенным требованиям, важнейшими из которых являются:

- портативность;
- простота обслуживания;

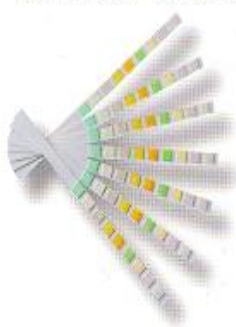
- программное обеспечение/информационные технологии;
- малый объем пробы крови;
- получение результата измерения в течение 1-2 минут после введения пробы.

5.1. Бесприборные и приборные методы экспресс-анализа с использованием технологии сухой химии и отражательной фотометрии

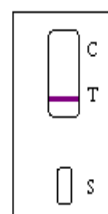
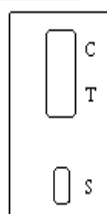
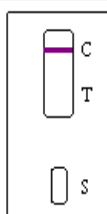
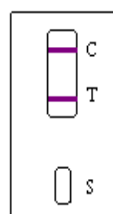
Тест-полоски первого поколения для экспресс-анализа мочи по визуальной регистрации появления и выраженности окрашивания вследствие реакции воздействия компонентов биологической жидкости на реагент индикаторной зоны.

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- сухая химия • продолжительность исследования: 1 – 2 минуты • 50 тест-полосок в упаковке



Combina Glucose	глюкоза
Combina 2	глюкоза, кетоны
Combina 3	глюкоза, pH, белок
Combina 9SG	глюкоза, pH, белок, кровь (эритроциты/гемоглобин), нитриты, удельная плотность, кетоны, уробилиноген, билирубин
Combina 10M	глюкоза, pH, белок, кровь (эритроциты/гемоглобин), нитриты, удельная плотность, кетоны, билирубин, лейкоциты, уробилиноген



Положительный результат	Отрицательный результат	Ошибка тестирования
-------------------------	-------------------------	---------------------

Современные технологии позволяют осуществлять выполнение исследований методом сухой химии с количественной регистрацией результатов методом отражательной фотометрии, в том числе с использованием оборудования отечественного производства.

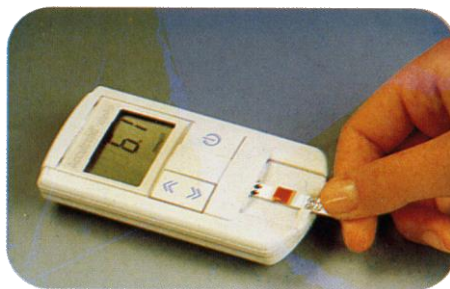
5.1.1. Экспресс-анализатор мочи отечественного производства АМ 2100 (ЗАО «СОЛАР» БЕЛАРУСЬ)



Отражательный фотометр — экспресс-анализатор мочи АМ 2100 предназначен для качественного и количественного анализа мочи и позволяет определять до 11 параметров, в том числе эритроциты, лейкоциты, общий белок, глюкозу, уробилиноген, нитриты, кетоны, удельный вес и кислотность (pH) мочи.

5.1.2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОРТАТИВНОГО ОТРАЖАТЕЛЬНОГО ФОТОМЕТРА





БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

Биохимический
экспресс-анализатор

Аккутренд Плюс



5.1.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛАКТАТА

Улучшенный измеритель лактата

Lactate Pro™ 2

LT-1730



Минимальный объем крови, необходимый
для исследования, - 0,3 мкл

Быстрое получение результата теста –
не более 15 секунд

Автоматическое проведение калибровки
перед каждым исследованием

Компактный, легкий и эргономичный –
габариты 100x50x12 мм и
весит всего 45г вместе с батареей

Сразу три пользователя могут сохранять
в памяти прибора до 330 результатов измерений



Процедура измерения



6. ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ СУХОЙ ХИМИИ НА ОСНОВЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА (ИХА)

6.1. Тест-системы второго поколения -- для бесприборной экспресс-диагностики

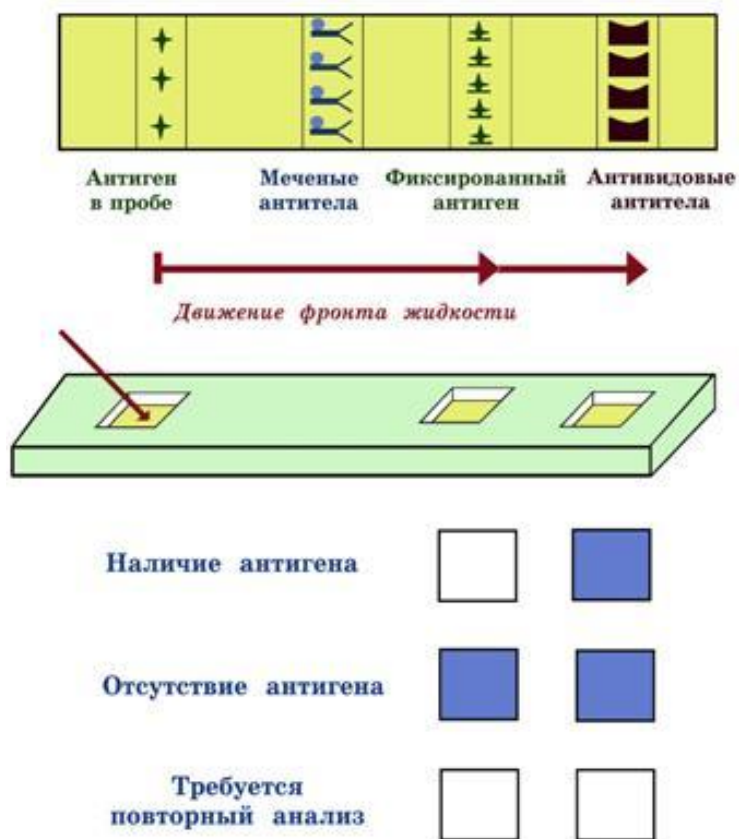
В основе подавляющего большинства применяемых для неотложного анализа вне лаборатории тест-систем лежат методы «сухой химии», основанные на применении иммунохроматографического анализа с использованием двойных антител.

Технологии выполнения исследований с применением одноразовых иммуно-аналитических тест-платформ.

Иммуно-аналитическая тест-платформа представляет собой пористую матрицу, закрепленную на плотной подложке. В матрицу вносят и закрепляют моноклональные антитела, имеющие метку для визуальной или оптической регистрации результата (коллоидное золото).

Аналитический принцип лабораторного анализа основан на иммунных взаимодействиях в пористой матрице искомого анализата с моноклональными антителами.

При наличии в биологической жидкости исследуемых веществ образуется комплекс антиген-антитело. Из-за отсутствия свободных антител (вследствие их расходования при взаимодействии с ними антигена биологической жидкости на предварительном этапе) окрашивания в более удаленной зоне «фиксированный антиген» не происходит.



Этот комплекс вместе с током жидкости движется далее через "ловушку", в которой иммобилизован синтетический аналог искомого вещества (фиксированный антиген). Содержащийся в этой зоне фиксированный антиген при дальнейшем перемещении далее дает окрашивание с антивидовыми антителами.

При отсутствии же ожидаемого антигена в исследованном биологическом материале непрореагировавшие антитела, меченные золотом, связываются аналогом вещества - фиксированным антигеном, в результате чего появляется окрашенный комплекс антиген-антитело. Фиксированный же антиген далее взаимодействует с антивидовыми антителами с образованием окрашенного комплекса красного цвета.

Сравнивая окраску этой зоны со шкалой на пенале, полуколичественно оценивают концентрацию вещества.

Для контроля качества на матрице закрепляется некоторое количество чистого анализата. Появление в индикаторной зоне положительного пятна подтверждает, что все реагенты «работоспособны».

Количественная оценка реакции возможна с применением отражательного фотометра.

6.2. Приборное обеспечение исследований методами сухой химии вне стационарной лаборатории

Изделия для исследований **вне лаборатории** представляют собой специализированные портативные приборы, обеспечивающие автономное выполнение полного цикла аналитического исследования. Применяются вне условий стационарной клиничко-диагностической лаборатории.

Эти устройства могут использоваться лицами, не имеющими квалификации специалиста клинической лабораторной диагностики (например, врачом общей практики), а в ряде случаев - самими обследуемыми пациентами.

Основными показателями конструктивных и эксплуатационных характеристик изделий для исследований вне лаборатории являются:

- Чувствительность: она сопоставима с чувствительностью методик, применяемых в стационарных лабораториях.
- Специфичность: достаточно высокая для надежного распознавание искомого аналита без предварительной обработки пробы биологической жидкости (с целью удаления возможных интерферентов);
- портативность;
- простота использования тест-системы и чтения результата исследования;

В комплектации изделий РОСТ-анализа имеются компоненты, позволяющие осуществлять контроль работоспособности тест-системы.

Варианты предназначения изделий для выполнения исследований вне лаборатории:

- - для *одноразового использования* в форме диагностической тест-полоски, иммуно-аналитической тест-платформы с качественной или полуколичественной оценкой результата;
- для *одноразового использования* в форме диагностической тест-полоски, иммуно-аналитической тест-платформы, картриджа, с количественной оценкой результата с помощью ридера (портативного прибора);
- для *многократного использования* в форме картриджа, с количественной оценкой результата с помощью настольного прибора;
- для *использования во взаимодействии с дополнительным оборудованием* (измерительные приборы, средства коммуникации и информатики).

6.3.Варианты технологий экспресс-исследования с использованием тест-систем сухой химии

6.3.1. Характеристика одноразовых диагностических тест-полосок, технология исследования.

Диагностическая тест-полоска представляет собой изделие для диагностики *in vitro*, предназначенное для одноразового применения, содержащее в твердой фазе импрегнированный в волокна альфа-целлюлозы или другого носителя высушенный комплекс химических реагентов в необходимых количествах, предусмотренных методикой исследования (реакционная зона), отражательную часть и подложку.

Тест-полоска может содержать одну или несколько реакционных зон, расположенных на единой подложке и предназначенных каждая для обнаружения/полуколичественного определения конкретного аналита.

Для защиты от возможных загрязнений и царапин реакционные зоны тест-полосок могут быть покрыты специальной полимерной сеткой, обеспечивающей быстрое и равномерное проникновение биожидкости и равномерное развитие окраски реакционной зоны. Для предотвращения воздействия влаги на реагенты тест-полосок контейнеры для хранения тест-полосок должны быть оснащены осушителем.

В основе методов, используемых в тест-полосках для анализа мочи, *лежат цветные реакции, приводящие к изменению окраски тестовой зоны полоски: обычные химические реакции и ферментативные.*

Концентрация реактивов в тестовых зонах должна быть подобрана таким образом, чтобы получить результат в пределах нескольких десятков секунд.

При обнаружении хотя бы одного патологического результата повторяют исследование компонентов мочи химическими методами.

В зависимости от конструкции изделия оценка результата исследования может быть произведена и зарегистрирована:

- визуально: путем субъективного сравнения оператором с прилагаемой к изделию цветной шкалой;
- оптическим способом;
- электрохимическим способом.

Для определения многих компонентов биологической жидкости используются технология иммунохроматографического анализа (ИХА)

Иммунохроматографический анализ (ИХА), или сухой иммунохимии (стрип-тест, QuikStrip cassette, QuikStrip dipstick) -- быстрый метод выявления и количественного определения аналита в биологическом материале (моче,

цельной крови, сыворотке или плазме крови, слюне, кале) при помощи индикаторных тестов -- полосок, палочек, панелей или тест-кассет.

В данных тестах используют три типа антител:

- растворимые моноклональные антитела к исследуемому антигену или антителу, конъюгированные с коллоидным золотом - красителем, который можно легко идентифицировать даже в самых малых концентрациях. Эти антитела нанесены вблизи участка погружения тест-полоски в физиологическую жидкость (мочу, кровь);
- поликлональные антитела к исследуемому антигену или антителам, жестко иммобилизованным в тест-зоне полоски;
- вторичные антитела к моноклональным антителам, жестко иммобилизованным в контрольной зоне тест-полоски.

Процедура определения результата исследования с помощью отражательного фотометра.

Включает в себя несколько этапов:

Диагностическую полоску после удаления из нее избытка мочи помещают в специальный держатель или укладывают на транспортер или на место считывания результата (в зависимости от конструктивных особенностей прибора). При работе на некоторых анализаторах нет необходимости предварительного удаления избытка мочи, он удаляется в процессе движения полоски на транспортере к фотометру, в котором происходит детекция результата, или для этого предусмотрена специальная функция самой тест-полоски.

После помещения полоски в анализатор происходит измерение (методом отражательной фотометрии) и распечатывание результата. Полуколичественное представление результатов возможно и при распечатке ответа на отражательных фотометрах.

Патологические результаты отмечаются особыми пометками: flag, звездочками, латинскими буквами Н (от английского слова high) и др.

В тест-полосках для исследования мочи с полуколичественным определением на отражательных фотометрах предусмотрены так называемые компенсационные зоны. Эти зоны, как правило, белого цвета, не импрегнированы реактивами и представляют собой своего рода "*холостые пробы*", постановка которых необходима для приборной компенсации нативного окрашивания мочи при обнаружении лейкоцитов, нитритов, белка, глюкозы, кетонов, уробилиногена, билирубина.

6.3.2. Технологии исследования компонентов крови с применением многослойных пленок

Структура и состав элементов диагностической полоски для исследования аналитов в крови отличаются от таковых в диагностических полосках для мочи, поскольку состав и вязкость этих биожидкостей различаются.

Необходимым элементом тест-полоски для исследования крови является верхний фильтрующий слой, служащий для отделения клеточных элементов крови от плазмы, которая и подвергается исследованию. Диагностическая полоска этого типа покрыта дополнительным фильтрующим слоем из стекловолокна, отделяющим эритроциты от плазмы под воздействием капиллярных сил. Сама полоска разделена на две зоны: сепарационную и реакционную. Проба крови наносится на сепарационную зону, покрытую фильтрующим слоем. После прохождения через разделительный слой плазма собирается в микрорезервуар.

Поступающая в нижние слои плазма либо просто перетекает в находящийся между правой и левой частями полоски отдел - резервуар для плазмы, либо до попадания в резервуар для плазмы приходит в соприкосновение с иммобилизованными внутри слоев зоны реагентами, способствующими удалению веществ, которые могут помешать определению искомого аналита.

Пример использования технологии исследования отдельных компонентов крови с применением одноразовых диагностических тест-полосок.

В полоске для определения холестерина ЛПВП внутри зоны для нанесения биожидкости иммобилизован декстран и сульфат магния, которые осаждают хиломикроны (содержащие большое количество триацилглицеринов) и липопротеины низкой и очень низкой плотности, и в резервуар для плазмы поступает плазма только с ЛПВП.

Полоска с нанесенной на нее биожидкостью - кровью, сывороткой или плазмой - не позднее, чем через 15 с после нанесения, помещается в кюветную камеру отражательного фотометра.

Результат исследования оценивается на разных длинах волн в зависимости от окраски соответствующей реакционной зоны.

В многослойных пленках в качестве подложки используется 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 (диоксид титана, сульфат бария, окись цинка). В этом случае подложка играет роль отражательного слоя.

Реактивная же 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.

6.3.3. Одноэтапные иммунохроматографические методы обнаружения лекарств, наркотиков и других ксенобиотиков

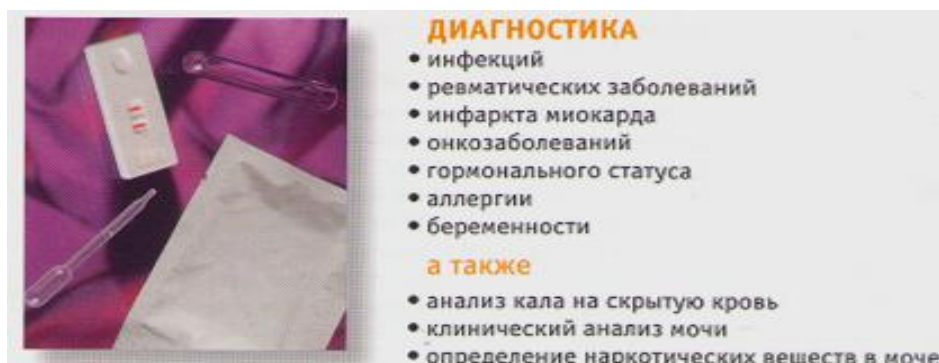
Предназначены для обнаружения в моче большой группы лекарств, наркотических средств и их метаболитов (опиаты, кокаин, марихуана, бензодиазепины, амфетамины, метадон и др.).

Основаны на использовании антител, меченных коллоидальным золотом.

При наличии исследуемых веществ образуется комплекс антиген-антитело.

Этот комплекс и непрореагировавшие антитела вместе с током мочи движутся через "ловушку", в которой иммобилизован синтетический аналог искомого вещества. Непрореагировавшие меченные золотом антитела связываются аналогом вещества, а к индикаторной зоне продвигается только упомянутый комплекс антиген-антитело. Он окрашивает зону в различные оттенки красного цвета. Сравнивая окраску этой зоны со шкалой на пенале, полуколичественно оценивают концентрацию вещества.

Так, например, набор реагентов для определения опиатов (Humadrug Opiates), (морфин, героин) "HUMAN", рассчитанный на выполнение 30 исследований, включает в себя помимо тестовых устройств и одноразовые пипетки.



6.3.4. Приборные методы экспресс-анализа с использованием технологии сухой химии (тест-полосок второго поколения, специальных карт) и отражательной фотометрии.

Среди них: анализатор КОС, газов крови, электролитов и метаболитов



Позволяет исследовать;

- **КОС и газы крови:** pH , pCO_2 , HCO_3 , pO_2 , sO_2 , TCO_2 , BE , AG
(анионный промежуток).
- **Гематокрит и гемоглобин:** HCT , Hgb .
- **Электролиты:** Na , K , Cl , iCa^{2+} .
- **Метаболиты:** Глюкоза, Лактат.
- **Почечная функция:**
- Креатинин,
- GFR – скорость клубочковой фильтрации

7.ВАРИАНТЫ КОНСТРУКЦИЙ АВТОМАТИЧЕСКИХ БИОХИМИЧЕСКИЕ АНАЛИЗАТОРОВ «СУХОЙ ХИМИИ» ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА

7.1. Автоматический биохимический анализатор «сухой химии» SPOTCHEM EZ SP-4430



Автоматический анализатор «сухой химии» идеально подходит для работы в отделении реанимации и в дежурной лаборатории. Прибор состоит из блока измерения, клавиатуры, термопринтера, микроцентрифуги, встроенного штатива для 9 полосок, считывателя магнитной карты. Объем образца крови на одно исследование -- 4-6 мкл.

Возможности анализатора: *одновременное измерение от одного до девяти параметров.* Среди измеряемые аналитов: глюкоза, мочева кислота, холестерин, триглицериды, мочеина, общий билирубин, кальций, общий белок, альбумин, активность аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, гемоглобин (из цельной крови), амилаза, гамма-глутамилтранспептидаза, щелочная фосфатаза, креатинин, липопротеиды высокой плотности, фруктозамин, фосфор, магний – всего 23 теста (!)

Автоанализатор обеспечивает одновременное измерение от одного до девяти параметров, для чего используются специальные панели лабораторных тестов (мульти-стрипы: комбинированные тест-полоски по профилям):

- Печеночный профиль-1 (лактатдегидрогеназа, альбумин, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, общий белок, билирубин общий),
- Срочный профиль-1 (лактатдегидрогеназа, креатинфосфокиназа, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, мочеина, билирубин общий),
- Панель-1 (аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, мочеина, глюкоза, холестерин, билирубин общий),

- Панель-2 (лактатдегидрогеназа, альбумин, общий белок, мочевая кислота, кальций, триглицериды),
- Сердечный профиль-2 (лактатдегидрогеназа, креатинфосфокиназа, аспаратаминотрансфераза, общий белок, мочеви́на, холестерин),
- Почечный профиль-2 (креатинин, альбумин, общий белок, мочевая кислота, мочеви́на).

Вся калибровочная информация хранится на магнитной карте, которая поставляется вместе с каждым лотом реагентов. При считывании карты все данные автоматически заносятся в память анализатора и он сразу готов к использованию прокалиброванных тест-полосок.

Тип образца: цельная кровь для определения гемоглобина, для оценки содержания остальных биохимических параметров - сыворотка или плазма.

Производительность оборудования: 60 тестов в час.

Память: 100 измерений.

7.2. Автоматический биохимический автоанализатор «сухой химии» «Берингер Маннхгейм»



7.3. Анализатор сухой химии *Triage® MeterPlus*

Представляет собой портативный *иммунофлуоресцентный анализатор*.



Образец крови наносится на определенное место панели, где форменные элементы отделяются от плазмы через фильтр.

Плазма благодаря диффузии проникает в реакционную зону, где связывается с флуоресцентно мечеными антителами, формируя смесь.

После инкубации эта смесь попадает в зону детекции, где и происходит ее анализ.

Концентрация анализируемого вещества прямо пропорциональна испускаемой флуоресценции, обнаруживаемой анализатором Triage® MeterPlus.

При пользовании этим прибором образец крови наносится на определенное место придаваемой к нему тест-полоски (панели), где форменные элементы отделяются от плазмы через фильтр. Плазма благодаря диффузии проникает в реакционную зону, где связывается с флуоресцентно мечеными антителами. Образованный после инкубации комплекс «антиген-антитело» попадает в зону детекции.

Концентрация анализируемого анализа оказывается прямо пропорциональной испускаемой флуоресценции, регистрируемой анализатором Triage® MeterPlus.

Благодаря использованию различных панелей, *анализаторы Triage® MeterPlus может применяться в диагностике:*

- острого инфаркта миокарда
- сердечной недостаточности
- тромбоэмболии легочной артерии и
- отравлений наркотиками.

Для этого используются иммунохроматографические экспресс-тесты определения кардиомаркеров в сыворотке крови (15-20 мин): креатинкиназы MB, миоглобина (MGL), Тропонина (Troponin I) БСЖК (сердечная форма), натрийуретических пептидов – иммуномаркеров сердечно-сосудистой недостаточности

При сердечной недостаточности концентрации ANP и BNP в плазме крови увеличиваются пропорционально угрозе остановки сердца. *ANP секретируется в ответ на растяжение предсердий.* С начала развития острого инфаркта миокарда уровень NP быстро возрастает. BNP более точно отражает миокардиальное напряжение в стенке левого желудочка.

В плазме крови ANP находится в виде нескольких форм прогормонов: *proANP (99-126)*, также известного как *a-ANP*; *pro-ANP (1-28)* и *proANP (1-98)*.

В раннем периоде формирования сердечной дисфункции уровень proANP (1-98) в плазме оказывается в 50 раз выше, чем уровень a-ANP.

Определение повышенного уровня BNP в крови позволяет выявить дисфункцию левого желудочка еще до появления характерных для нее клинико-инструментальных признаков на эхокардиограмме

Техника процедуры выполнения исследования на анализаторе состоит в помещении тест-полоски в прибор, нанесении образца крови на тест-полоску и измерении результата исследования, отображаемого на дисплее.

8.ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ МЕТОДОВ СУХОЙ ХИМИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СОМАТИЧЕСКИХ И ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.

8.1.Диагностика заболеваний почек

В настоящее время во многом основывается на использовании специфических иммуномаркеров.

Определение микроальбумина в моче

Альбумин (м.м. 69 кДа) в моче практически здоровых людей специальными методами исследования обнаруживается в весьма малых концентрациях.

Референтные величины: во 2-й утренней порции мочи – менее 14 мг/г креатинина, или менее чем 1,58 г/моль креатинина.

Для выявления микроальбуминурии в процессе скрининговых исследований используются специальные тест-полоски: с пределом чувствительности не менее 200 мг/л или, лучше, – 20 мг/л.

Определение Цистатина С в моче (и крови)

Цистатин С – протеин с молекулярной м.м.13 кДа - новый, весьма чувствительный маркер *преклинических или ранних заболеваний почек, реагирующий на такие* нарушения клубочковой фильтрации, при которых скорость клубочковой фильтрации (СКФ), определенная по *креатинину, находится в пределах нормального диапазона, а также* маркер сердечной недостаточности.



Повышение уровня цистатина С наблюдается при ренальной патологии (вследствие снижения скорости выведения через клубочки почек) и сердечной недостаточности (из-за повышения синтеза), а также при остром коронарном синдроме.

В США рекомендовано использовать тест определение концентрации сывороточного цистатина С для осуществления рутинного скрининга ренальной дисфункции и связанных с ней нарушений сердечно-сосудистой системы у всех лиц в возрасте старше 55 лет.

8.2. Диагностика гастроэнтерологических заболеваний

Мульти-тест «скрытая кровь»: трансферрин-кальпротектин-лактоферрин в кале

Скрининг с использованием тестов на скрытую кровь основан на обнаружении кровотечения - важного симптома появления новообразований в толстом кишечнике, а также ранних стадий рака или появления больших аденоматозных полипов. Колоректальный рак является второй ведущей причиной заболеваемости и смертности в мире.

Диагностика колоректального рака основывается на определении трансферрина, кальпротектина и лактоферрина.

- **Трансферрин.** Этот железосодержащий белок, в отличие от гемоглобина, не стабильного в кале, устойчив в нем и, следовательно, является надежным маркером кровотечения в нижних и верхних отделах кишечника.

- **Кальпротектин** - нейтрофильный цитолитический белок с антимикробными свойствами, концентрация которого повышается в кале при воспалительных процессах в кишечнике. Белок остается стабильным в кале в течение 7 суток при комнатной температуре, что делает его идеальным анализом для диагностики заболеваний.

Кальпротектин выделяется в результате активации лейкоцитов, вызывая повышение его уровня в плазме крови, цереброспинальной, синовиальной жидкости, в моче или в стуле, - как следствие заболеваний соответствующих органов.

- **Лактоферрин** - вырабатываемый нейтрофилами гликопротеин, высвобождается из лейкоцитов кала. Данный белок устойчив к протеолизу и может служить маркером воспаления кишечника. Его содержание является показателем острой воспалительной реакции.

Наиболее распространенная причина присутствия нейтрофилов в кале пациентов, страдающих хронической диареей -- хронические воспалительные

заболевания кишечника, локализирующиеся в толстой кишке (болезнь Крона, язвенный колит).

8.3.Диагностика паразитарных заболеваний

Основывается на использовании иммунохроматографических экспресс-тестов, среди которых:

Мульти Тест для экспресс анализа малярийных паразитов. Тест разработан для оказания быстрой помощи в диагностике малярии (*p.falciparum* (Pf.HRP-2), *p.vivax* (pLDH)), путем определения специфического антигена в цельной крови.

Имунохроматографические экспресс-тесты для диагностики болезни **Лайма**, вагинальной **грибковой инфекции**, выявления **Helicobacter Pylory**.

Мульти-Тест «Лямблии»

Лямблиоз - кишечное заболевание, вызываемое *Giardia intestinales* (синонимы *Giardia lamblia*, *Giardia duodenalis*): простейшим одноклеточным паразитом.

Лямблия известна как одна из наиболее распространенных причин заболеваний, передающихся человеку через воду.

Наиболее типичные симптомы заболевания - диарея, водянистый стул, желудочные спазмы. Указанные симптомы проявляются спустя 1-2 недели после инфицирования и могут продолжаться 2-6 недель. У некоторых людей симптомы не проявляются.

Мульти-Тесты Campylobacter в кале.

Мульти Тест Криптоспоридии в кале. Cryptosporidium parvum - один из самых распространенных возбудителей диареи в развивающихся странах. Передается фекально-оральным путем. Одними из типичных симптомов криптоспоридиоза являются водянистая диарея, острые желудочные боли, потеря веса, тошнота, иногда жар.

8.4. Диагностика вирусных заболеваний

Мульти Тест Ротавирус/Аденовирус

Ротавирус и Аденовирус является главной причиной инфекционного гастроэнтерита у грудных и маленьких детей, наблюдается также у взрослых.

Передается при фекально-орально контакте. Основные симптомы вирусного гастроэнтерита – водная диарея и рвота. Также возможна головная боль, жар, спазмы в области живота.

Симптомы поражения начинаются за 1-2 сут с момента возникновения ротавирусной инфекции, что влечет за собой гастроэнтерит, и могут длиться от 1 до 10 сут.: в зависимости от природы вируса (ротавирус – 3 суток и аденовирус – 5-8 суток).

Мульти Тест Астровирус в кале

Астровирус является одной из наиболее распространенных причин **гастроэнтерита** у детей и подростков, но также встречается и у взрослых.

Вирус передается фекально-оральным путем.

Основные симптомы вирусного гастроэнтерита - диарея и рвота, а также головная боль, повышение температуры, расстройство кишечника. Как правило, симптомы проявляются в 1-2 сутки после инфицирования и могут продолжаться 3 суток.

8.5.Иммунохроматографические тесты определения онкомаркеров

- Карциноэмбриональный антиген,
- альфа-фетопротеин,
- простатспецифический антиген (ПСА).

8.6. Лабораторная диагностика инфекций, передаваемых половым путем (ИППП)

Осуществляется с использованием иммунохроматографические экспресс-тестов для определения:

- IgM антител к **Mycoplasma pneumoniae** в сыворотке / капиллярной крови,
- антител к **Chlamydia pneumoniae** в сыворотке / капиллярной крови, а также

8.7. Лабораторная диагностика внутриутробных инфекций - Torch спектр

8.8. Лабораторная диагностика вирусных и бактериальных инфекций:

- Мульти Тест Грипп А,
- Мульти Тест Грипп А+В
- Мульти Тест Ротавирус/Аденовирус, а также Астровирус.
- Иммунохроматографический тест для определения антигенов стрептококка группы В.

8.9. Лабораторная диагностика сепсиса с использованием теста определения прокальцитонина

8.10. Скрининговая диагностика пищевой аллергии по выявлению специфических антител класса IgG к коровьему молоку и яичному белку

8.11. Лабораторная диагностика *преждевременного излития околоплодных вод*. В настоящее время в аптеках Республики Беларусь и в странах Европы присутствуют экспресс-тесты для определения беременности, констатации наступления овуляции и менопаузы, диагностики состояния мужской фертильности.

8.12. Экспресс-тесты определения наступления овуляции.

Базируются на выявлении «всплеска» (высокой концентрации) лютеинизирующего гормона в моче перед наступлением овуляции: резкий подъем уровня лютеинизирующего гормона прогнозирует наступление овуляции в ближайшие 24-48 часов.

8.13. Иммунохроматографические экспресс-тесты для диагностики мужской фертильности. Позволяют в домашних условиях определить концентрацию сперматозоидов в семенной жидкости.

Тест основан на определении специфического акросомального протеина, расположенного на головке сперматозоида. По результатам определения можно судить о концентрации сперматозоидов, относящихся к нормальным ее значениям.

Все перечисленные (и другие) иммунохроматографические экспресс-тесты являются скрининговыми и могут быть успешно использованы у постели пациента **врачами общей практики** (семейными врачами) на этапе диагностики и обследования

9. Потенциальные возможности использования современных технологий РОСТ-анализа

Сводятся к использованию различных диагностических панелей, «запрограммированных» на вполне определенное сочетание лабораторных тестов и предназначенных для диагностики *в условиях вне стационарной лаборатории* онкологических, кардиологических, инфекционных и других заболеваний, а также для выявления аллергии, отравлений наркотиками и других болезненных состояний.

Таким образом, современное реагентное и приборное обеспечение позволяет в условиях вне стационарной лаборатории осуществлять экспресс-анализ многочисленных иммуномаркеров, спектр которых изначально

«закладывается» в панелях используемых тест-систем, с использованием иммунохроматографического, иммунофлуоресцентного и других методов анализа.

10. МЕТОДЫ БЕЗРЕАГЕНТНОГО ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА НА ОСНОВЕ БИХРОМАТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И ОТРАЖАТЕЛЬНОЙ ФОТОМЕТРИИ

10.1. Билирубинометр БФ-ЦТ-01

Предназначен для безреагентного определения общего билирубина в плазме или сыворотке крови у новорожденных и взрослых методом двухволновой фотометрии.

Прибор предназначен для применения в родильных домах, клиниках акушерства, в Центрах охраны здоровья матери и ребенка, а также в отделениях экстренной медицины, терапии, хирургии.



10.2. Транскутанный билирубинометр российского производства – «Билитест-2000».



10.3. Транскутанный билирубинометр белорусского производства АНКУБ «Спектр»



Прибор позволяет без взятия крови измерить уровень билирубина, концентрацию гемоглобина в крови и содержание меланина в коже ребенка.

АНКУБ «Спектр» дает почти мгновенный результат, поскольку нет необходимости брать образец крови и проводить лабораторные исследования

Таким образом, исследования вне лаборатории (по месту лечения -- РОСТ) создают возможности:

а) приближения лабораторного исследования к месту оказания медицинской помощи

б) сокращения до минимума срока между назначением и получением результата лабораторного исследования

г) выполнения экстренной лабораторной диагностики в условиях подвижных средств (машины скорой медицинской помощи и др.), при этом нелабораторным персоналом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

ПУТИ ДАЛЬНЕЙШЕГО СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ МЕДИЦИНСКОГО ЭКСПРЕСС- АНАЛИЗА, ОРГАНИЗАЦИОННЫЕ РЕШЕНИЯ

Основные направления дальнейшего совершенствования и расширения спектра используемых в неотложном анализе методов исследования нашли отражение в **Программе Союзного государства «Создание инновационной аппаратуры для экспресс-диагностики социально-значимых заболеваний в месте нахождения пациента» (2019 -2022) – «ЛАБТЕХ»**

Предложенная к реализации Программа Союзного государства направлена на создание инновационной аппаратуры и тест-систем для экспресс-диагностики социально значимых и опасных для жизни заболеваний, а также средств оказания неотложной помощи в месте нахождения пациента.

В качестве основных задач программы выдвинуты:

1. Разработка методов и средств экспресс-диагностики социально-значимых заболеваний (*in vitro*), основанных на использовании методов эмиссионного фотометрического анализа (электрохемилюминесценции, двухфотонной люминисценции, лазерно-индуцированной фотолюминесценции, применении люминесцентных биочипов), а также абсорбционной фотометрии, иммунохроматографии, микроволновой диагностики, ультразвуковой структуроскопии и спектрометрии.

2. Разработка отечественных расходных материалов и реагентов, используемых в процессе экспресс-диагностики (моноклональные антитела, молекулярно-биологические тест-системы, биомаркеры, подложки для биочипов, кремниевые микрочипы для люминесцентного анализа, биохимические буферы и др.) и технологии их промышленного производства.

Программой уделено внимание организации серийного производства инновационной отечественной аппаратуры, тест-систем, расходных материалов и их использованию в медицинских учреждениях разного уровня, в том числе в амбулаториях, в пунктах миграционного контроля, в подразделениях Министерства обороны, расположенных вдали от населенных пунктов, а также в других местах, где затруднена необходимая лабораторная диагностика, а также в домашних условиях.

Программой уделено большое внимание созданию специализированных приборных комплексов экспресс-диагностики для оснащения ими приемных

отделений больниц и госпиталей, операционных блоков, кабинетов семейных врачей, фельдшерских пунктов, передвижных диагностических пунктов.

В роли основных участников программы выступили:

– **со стороны Российской Федерации** организации: ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, ООО «Люминесцентные диагностические приборы», ООО «БИАНАЛИТИКА», ООО «Аткус», ООО МИП «БТС ЛЭТИ», АО «Научные приборы»;

– **со стороны Республики Беларусь**: Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии МЗ РБ, Институт физики им Б.И. Степанова НАН Беларуси, Институт биоорганической химии НАН Беларуси, ЗАО «СОЛАР», ЗАО «СОЛАР – ЛС», ОАО «Минский НИИ радиоматериалов», ОИПИ НАН Беларуси, Унитарное предприятие «КОНФОРМ», Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Институт физиологии НАН Беларуси, Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ, НИИ ядерных проблем БГУ, РНПЦ Неврологии и нейрохирургии; РНПЦ «Кардиология»; ГУ «Республиканский научно-практический центр медицинской экспертизы и реабилитации»; Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»; Минский государственный медицинский университет; БелМАПО; Физико-Технический Институт НАН Беларуси.

Программой особенно большое внимание уделено ранней диагностике заболеваний, наносящих большой ущерб обеспечению демографической безопасности страны, и прежде всего – диагностике сердечно-сосудистых заболеваний.

Известно, что **смертность от сердечно-сосудистых заболеваний** является ведущей причиной летальности в развитых странах, в том числе и в России, составляя 55% от общей смертности,. Наиболее распространенной причиной ее является - **острый инфаркт миокарда**, который зачастую протекает атипично и не выявляется характерными для него изменениями на электрокардиограмм (ЭКГ).

Наивысшую смертельную угрозу инфаркт миокарда представляет на начальном этапе его формирования.

Известные в настоящее время тест-системы для диагностики инфаркта (определение тропонинов Т и I, МВ-изофермента креатинкиназы, белка, связывающего свободные жирные кислоты, других кардиомаркеров) основываются на иммуноферментном анализе (ИФА), выполнение которого

требует длительного (около 6 часов) времени. Этого недостатка лишены методы сухой химии на основе иммунохроматографического анализа, позволяющие получить результат в течение 15-20 минут (при этом у постели пациента).

Особенно большое внимание уделяют определению в крови кардиальной формы белка, связывающего свободные жирные кислоты (СБСЖК), поскольку молекулы этого белка имеют небольшие размеры, молекулярную массу (15 кДа) и содержатся в ткани миокарда в большом количестве.

Поэтому в настоящее время для ранней быстрой диагностики инфаркта миокарда представляется важным создания анализатора критических состояний на основе использования иммунохроматографических технологий сухой химии.

В основу методологии исследования планируется положить принципы люминесцентного анализа.

Загруженный образец облучается светом в спектральной области поглощения флуоресцентной метки. По величине сигнала флуоресценции определяется концентрация кардиомаркера в образце. Измерительная ячейка представляет собой одноразовый картридж для проведения измерения. Небольшое количество исследуемого образца (цельной крови или сыворотки крови) помещается в специальное отверстие в картридже, картридж вставляется в прибор, который автоматически выполняет все необходимые манипуляции, проводит измерения, выдает результат измерения на дисплей и распечатывает его на бумаге. Максимальное время получения результата - 20 минут. Анализ количественного значения результата измерения позволит оперативно получать данные об обширности инфаркта миокарда непосредственно у постели пациента, в кабинете врача или отделении реанимации. Анализатор представляет собой переносной прибор.

Весьма опасной для жизни пациентов формой патологии, является **сахарный диабет**, которым в настоящее время **страдает более 230 миллионов** человек в мире, что составляет приблизительно 6% взрослого населения земного шара. По расчетам Международной федерации диабета к 2030 году количество больных сахарным диабетом составит 500 миллионов человек. Каждые 10 секунд один человек в мире умирает от связанного с диабетом заболевания, что составляет 4 миллиона в год. Диабет занимает 4-ое место среди болезней, которые становятся причинами летального исхода.

Для диагностики сахарного диабета, своевременного выявления гипергликемической, гипогликемической, гиперосмолярных ком на ранних стадиях их формирования широко практикуется использование тест-полосок на основе сухой химии для определения глюкозы, кетоновых тел в крови и моче.

Представляется важной также разработка методов определения инсулина и контринсулярных гормонов, гликозилированных белков (гемоглобина, фруктозамина).

Для диагностики **поражений почек** целесообразно своевременное выявление с применением технологий иммунохроматографического определения содержания альбумина в моче (**микроальбуминурии**), **альфа-1-микроглобулина** (тест используется для ранней диагностики воспалительных заболеваний почек, острой почечной недостаточности), **альфа-2-макроглобулина** (α₂-МГ) в моче и сыворотке/плазме крови - тест лабораторного контроля дисфункции и отторжения пересаженной почки и маркер гломерулонефropатии; **коллагена IV типа** в моче (новый чувствительный маркер повреждения почечных клубочков и фиброза почек), **бета-2-микроглобулина** (бета₂-мГ) в моче - тест используется для диагностики заболеваний почек с нарушением гломерулярной и тубулярной фильтрации (например, вследствие отравлений тяжелыми металлами – кадмием и ртутью), а также отторжения пересаженной почки; **активности альфа-Глутатион-S-трансферазы в моче** (весьма чувствительный индикатор повреждения почек); активности **тГ-Глутатион- S-трансферазы (tt-GST)** мочи: повышенные уровни ферментативной активности tt-GST моче являются индикаторами повреждения дистальных канальцев при отторжении трансплантата почки; **определение уровня NGAL** (*Липокалин 2, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой: neutrophil gelatinase–associated lipocalin*): ранний и резкий подъем уровня NGAL в моче и сыворотке наблюдается при повреждении почечных канальцев, в силу чего тест определения **NGAL рассматривается как индикатор повреждений трансплантированной почки, а также многие другие.**

Важной проблемой во всех странах мира является **мочекаменная болезнь** МКБ), которая развивается на протяжении жизни примерно у 5% женщин и 12% мужчин и является одним из наиболее социально-значимых заболеваний среди населения трудоспособного возраста. Особенно тревожной остается ситуация с рецидивным камнеобразованием, составляющим 42,0 – 50,0%.

Поскольку формирование мочевых конкрементов при МКБ связано с физико-химическими процессами, при которых в результате превышения концентрации солей над порогом их растворимости и ослабления механизмов, защищающих от выпадения нерастворимых конкрементов, в мочевыводящих путях начинается образование кристаллов разной химической природы. В связи с этим для прогнозирования и ранней диагностики ускоренного развития

мочекаменной болезни **целесообразно определение** (в том числе методами ИХА) группы **протективных факторов**, включающих в себя ингибирующие камнеобразование вещества: *остеопонтин, фрагмент протромбина F1, интер-альфа-трипсин, кальгранулин и, в особенности, белок Тамма-Хорсфалла.*

Наиболее важными для РОСТ-диагностики являются респираторные патогены: коронавирусы, вирусы гриппа, РС-вирусы, энтеровирусы, вирусы парагриппа, а также возбудители геморрагических лихорадок.

Направления химико-аналитических исследований тесно сопряжены с разработкой высокочувствительного, адаптированного к тест-полоскам (и другим носителям азелительных систем и реагентов) оборудования для диагностики социально значимых заболеваний в месте нахождения пациента с использованием методов люминесцентного анализа и СВЧ диагностики» - ориентировано на создание подобного оборудования.

Планируется разработать принципиально новую лабораторно-диагностическую технологию, основанную на различных вариантах люминесцентного анализа, для количественной диагностики широкого спектра инфекционных заболеваний в формате РОСТ-диагностики с применением регистрирующих приборов новых типов.

Представляется целесообразным создание высокочувствительных люминесцентных анализаторов двух типов: стационарных и портативных. В основе исследования лежит регистрация люминесценции биочипов, возбуждаемой лазерным излучением. Метод обладает высокой чувствительностью и обеспечивает возможность одновременного анализа нескольких проб и одновременного выявления нескольких видов инфекций.

Для выявления вирусных инфекций планируется использовать двухфотонный флуоресцентный анализатор. Ожидается, что прибор обеспечит получение результата в период времени от 20 минут до 2 часов.

Анализаторы должны быть адаптированы к использованию не только планируемых к разработке новых отечественных, но и других тест-систем, выпускаемых за рубежом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камышников, В.С. Внелабораторный анализ: современные технологии сухой химии в практике лабораторного исследования вне стационарной клинико-диагностической лаборатории / В.С. Камышников, А.Т. Кузьменко, Л.В. Батуревич // Международный научно-практический журнал «Лабораторная диагностика. Восточная Европа». - 2019. - №4. - С. 587 – 595.
2. Камышников, В.С. Стратегия и технологии осуществления лабораторно-диагностических исследований при первичном контакте с пациентом // Медицина. - №1 (68). – 2010. - С.26—28.
3. Камышников, В.С. Стратегия подготовки врача общей практики к самостоятельной деятельности в области клинической лабораторной диагностики / В.С. Камышников // Международный научно-практический журнал «Лабораторная диагностика. Восточная Европа». – 2013. - №2. - С. 14 – 21.
4. Камышников, В.С. Технологии «сухой» химии и их использование для осуществления экспресс-анализа в месте пребывания пациента (обзор современных сведений) / В.С. Камышников, И.Д. Шилейко, Л.И. Алехнович // Международный научно-практический журнал «Лабораторная диагностика. Восточная Европа». - 2021. – Т. 10. - №3. – С. 372-382.
5. Меньшиков, В.В. Исследование вне лаборатории / В.В. Меньшиков. – Москва : Агат-Мед., 2008. - 272 с.
6. Технологии химико-токсикологического анализа и их использование в практике диагностики состояний, вызванных употреблением наркотических средств : учебно-методическое пособие / Камышников В.С. [и др.]. - Минск : БелМАПО, 2015. – 139 с.

Учебное издание

Камышников Владимир Семенович

**ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ЛАБОРАТОРНОЕ
ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ НЕОТЛОЖНЫХ
СОСТОЯНИЙ, ТЕХНОЛОГИИ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА**

Учебно-методическое пособие

В авторской редакции

Подписано в печать 13.04.2022. Формат 60х84/16. Бумага «Discovery».

Печать ризография. Гарнитура «Times New Roman».

Печ. л. 3,44. Уч.- изд. л. 3,22. Тираж 120 экз. Заказ 81.

Издатель и полиграфическое исполнение –
государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия
последипломного образования».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/136 от 08.01.2014.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 3/1275 от 23.05.2016.

220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, кор.3.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

Кафедра клинической лабораторной диагностики

В.С. Камышников

**ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И
ЛАБОРАТОРНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИАГНОСТИКИ
НЕОТЛОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ, ТЕХНОЛОГИИ
ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА**

Минск, БелМАПО
2022

