ISSN 2078-5631
Издается с 2002 года. Включен в Перечень ВАК

Серии научно-практических рецензируемых журналов

Медицинский алфавит

20 (317) 2017

MEDICAL ALPHABET
Russian Professional Medical Journal
Modern LABORATORY

Современная ЛАБОРАТОРИЯ том № 2

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

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228

www.medalfavit.ru

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Российская академия наук

РНИМУ имени Н.И. ПИРОГОВА

НАЛПТМ NALPTM

НПОСЛМ

Научное общество нефрологов России

Национальная ассоциация по тромбозу и гемостазу

ММА-ЭКСПО МЕДИЦИНСКОЕ МАРКЕТИНГОВОЕ АГЕНТСТВО

Национальные дни лабораторной медицины России XXI

XXI ФОРУМ «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ»

ОБЩЕРОССИЙСКАЯ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «КОНСОЛИДАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ И КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ»

НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНГРЕСС МИКРОБИОЛОГОВ

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА «ИНТЕРЛАБДИАГНОСТИКА – 2017»

20 – 22 сентября 2017 года
Спорткомплекс «Олимпийский»
(Москва, Олимпийский проспект, 16)

www.ndlm.ru

ММА-ЭКСПО +7 (495) 505-10-21, +7 (495) 532-97-76, mmaexpo@mma-expo.ru, www.mma-expo.ru

Современная лаборатория
Том №2

Медицинский алфавит
Серия журналов для специалистов

№ 20 (317) 2017
www.medalfavit.ru

Издатель: издательство медицинской литературы ООО «Альфмед»
Тел.: (495) 616-48-00
E-mail: medalfavit@mail.ru

Учредитель и главный редактор издательства Т.В. Синицка

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

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

Редакционный совет журнала «Медицинский алфавит»
В.Г. Акимкин, д.м.н., проф.
А.Ж. Гильманов, д.м.н., проф.
Е.А. Евдокимов, д.м.н., проф.
А.С. Ермолов, д.м.н., проф.
А.А. Кулаков, д.м.н., проф.
Р.Г. Оганов, д.м.н., проф.
В.И. Покровский, д.м.н., проф.
С.А. Рабинович, д.м.н., проф.
В.Е. Синицын, д.м.н., проф.
С.К. Терновой, д.м.н., проф.
Н.В. Шестопалов, д.м.н., проф.
С.Н. Щербо, д.м.н., проф.

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

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

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

Редакция оставляет за собой право сокращения и стилистической правки текста без дополнительных согласований с авторами.
Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов опубликованных материалов.
Редакция не несет ответственности за последствия, связанные с неправильным использованием информации.

Журнал зарегистрирован Министерством РФ по делам печати, теле-, радиовещания и средств массовых коммуникаций.
Рег. номер ПИ № 77–11514 от 04.01.2002
Уст. тираж 12000. Формат А4.
Цена договорная.

Подписан в печать 21 июля 2017года.

При перепечатке ссылка на журнал «МА» обязательна. За содержание рекламы ответственность несет рекламодатель.
За достоверность сведений, изложенных в статьях, ответственность несет автор.

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228 (комплект)

Содержание

5 Применение подходов персонализированной медицины в офтальмологии: эндокринная офтальмопатия
Н.А. Бакунина, С.Н. Щербо

9 Практика реализации требований ISO 15189:2012 (ГОСТ Р ИСО 15189–2015) по управлению субподрядными лабораториями
А.В. Каленская, А.В. Эмануэль, Е.В. Аверьянова, Г.А. Иванов, Т.А. Окша, В.Н. Кустова

15 Методические аспекты организации и проведения внутренних аудитов в медицинских организациях
А.В. Эмануэль, С.М. Цибина, Е.В. Аверьянова, А.В. Авраменко, Г.А. Иванов, О.Р. Швабский, Р. Бошкович, Е.А. Дуванова, А.В. Каленская

25 Болезнь Педжета: описание клинического случая
А.А. Алтаева, А.А. Тарасов, С.В. Кулешова, Л.О. Минушкина

27 Высокочувствительный неповреждающий способ выявления состояния митохондрий в организме путем их исследования внутри лимфоцитов крови на мазке. *Выявление больших различий при лейкозах и миопатиях у больных детей по сравнению со здоровыми.*
Н.В. Хундерякова, Т.В. Ячкула, Н.И. Федотчева, Е.Г. Литвинова, П.М. Шварцбурд, М.Н. Кондрашова, М.В. Захарченко, С. А Плясунова, В.С. Сухоруков, Т.И. Баранич

32 Воспаление как фактор риска при прогрессировании ишемии мозга и сахарном диабете второго типа
Э.Ю. Соловьева, Д.Т. Чипова, О.А. Баранова, А.В. Чеканов, К.Д. Казаринов, Л.Б. Тлапшокова, А.Н. Карнеев, В.П. Мудров, А.И. Федин

36 Влияние острой алкогольной интоксикации на содержание гликогена в печени при общем переохлаждении организма
Н.А. Терехина, П.А. Акимов

39 Проблемы трактовки результатов исследования общего анализа крови по данным гематологического анализатора и световой микроскопии (клинический случай)
А.П. Щёкотова, Д. Ю. Соснин, О.Г. Кубарев, А.С. Толкач, О.В. Костарева, Л.С. Онянова, А.Ю. Башкиров

43 Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH-группы
В.А. Арсеньева, Е.А. Амелина, С.Г. Марданлы, С.В. Ротанов

49 Современные методы повышения оперативности санитарно-эпидемиологического контроля. Практика применения отечественных разработок
А.И. Соседов

54 Подписка

Contents

5 Methods of personalized medicine in ophthalmology: endocrine ophthalmopathy
N.A. Bakunina, S.N. Shcherbo

9 Practice of implementing requirements of ISO 15189:2012 (GOST R ISO 15189–2015) for subcontracting laboratories management
A.V. Kalenskaya, A.V. Emanuel, E.V. Averyanova, G.A. Ivanov, T.A. Oksha, V.N. Kustova

15 Methodical aspects of organizing and conducting internal audits in medical organizations
A.V. Emanuel, S.M. Tsibina, E..V. Averyanova, A.V. Avramenko, G.A. Ivanov, O.R. Shvabsky, R. Bošković, E.A. Duvanova, A.V. Kalenskaya

25 Case of Paget's disease
S.V. Kuleshova, A.A. Altaeva, A.A. Tarasov, L.O. Minushkina

27 Highly sensitive, non-harmful method to detect state of mitochondria in organism by their investigation inside blood lymphocytes in smear. *Detection of big difference under leucosis and myopathy in young patients compared with healthy ones*
N.V. Khunderyakova, T.V. Yachkula, N.I. Fedotcheva, E.G. Litvinova, P.M. Schwartsburd, M.N. Kondrashova, M.V. Zakharchenko, S.A. Plyasunova, V.S. Sukhorukov, T.I. Baranich

32 Inflammation as risk factor in progression of brain ischemia and diabetes of second type
E. Yu. Solovyova, O.A. Baranova, A.V. Chekanov, A.N. Karneev, A.I. Fedin, D.T. Chipova, L.B. Tlapshokova, V.P. Mudrov, K.D. Kazarinov

36 Influence of acute ethanol intoxication on liver glycogen content in fatal hypothermia
P.A. Akimov, N.A. Teryokhina

39 Problems in results interpretation of general blood analysis study according to hematology analyzer and light microscopy data (clinical case)
A.P. Shchyokotova, D. Yu. Sosnin, O.G. Kubarev, A.S. Tolkach, O.V. Kostareva, L.S. Onyanova, A. Yu. Bashkirov

43 Linear immunoblotting for simultaneous detection of antibodies to main pathogens of TORCH-infection
V.A. Arsenyeva, E.A. Amelina, S.G. Mardanly, S.V. Rotanov

49 Modern methods of increasing sanitary and epidemiological control efficiency. Practice of application of domestic developments
A.I. Sosedov

54 Subscription

С 2008 года журнал «Медицинский алфавит» включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет Импакт-фактор.

Журнал включен в Перечень ВАК

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

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Board

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ НАШЕГО ИЗДАНИЯ!

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

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

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

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

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

Применение подходов персонализированной медицины в офтальмологии: эндокринная офтальмопатия

Н. А. Бакунина, к.м.н., врач-офтальмолог[1,2]
С. Н. Щербо, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики, вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики[2]

[1]ГБУЗ г. Москвы «Городская клиническая больница № 1 имени Н. И. Пирогова» Департамента здравоохранения г. Москвы
[2]ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Methods of personalized medicine in ophthalmology: endocrine ophthalmopathy

N. A. Bakunina, S. N. Shcherbo
City Clinical Hospital No. 1 n.a. N.I. Pirogov, Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov; Moscow, Russia

Резюме
Одним из успешных направлений применения подходов медицины 5П является офтальмология. В работе рассмотрены вопросы эндокринной офтальмопатии. Эндокринная офтальмопатия представляет собой одну из лучших моделей для иллюстрации роли предиктивно-превентивных мероприятий, направленных на проведение превентивных мер и персонализированного лечения. Рассмотрены биомаркеры эндокринной офтальмопатии при различных формах патологического процесса.

Ключевые слова: ***медицина 5П, персонализированная медицина, офтальмология, лабораторная медицина, биомаркеры эндокринной офтальмопатии.***

Summary
Ophthalmology is one of the areas where the 5P medicine approaches are successfully applied. The paper describes several aspects of endocrine ophthalmopathy. Endocrine ophthalmopathy is one of the best models to illustrate the role of predictive and preventive measures, aimed at carrying out preventive and personalized treatment. Biomarkers of endocrine ophthalmopathy in various forms of pathological process are discussed.

Key words: ***5P medicine, personalized medicine, ophthalmology, laboratory medicine, biomarkers of endocrine ophthalmopathy.***

Персонализированная медицина (ПМ), которая является составной частью медицины 5П [1], основана на применении инновационных лабораторных технологий для выявления наиболее значимых биомаркеров для предсказания различных патологических состояний у человека, разработки профилактических мер и планирования индивидуализированной терапии [2, 3]. Задача предиктивной медицины состоит в ранней диагностике заболеваний человека, что позволяет наряду с последующими превентивными мерами отсрочить или предотвратить начало ряда заболеваний с помощью изменения образа жизни, соблюдения диеты и приема лекарственных средств, улучшить качество жизни пациентов, снизить экономические затраты на лечение. Индивидуальный выбор лекарственных препаратов, учет генетических особенностей пациента, различных ОМИКСных биомаркеров, несомненно, значительно повысит эффективность проводимой терапии. Одной из областей медицины, в которой методы и технологии медицины 5П успешно реализуются, является офтальмология. Об этом, в частности, свидетельствуют исследования, посвященные полногеномному скринингу ассоциаций (GWAS). Выявление «генов предрасположенности» к различным заболеваниям проводится путем сопоставлений частот генотипов у больных и здоровых людей. У выборки здоровых людей некоторая группа может содержать однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), который в группе больных конкретным заболеванием представлен гораздо чаще. Вводится понятие о величине OR (Odd Ratio) — количественной мере предрасположенности, показывающей, во сколько раз повышена вероятность заболеть для носителей ОНП:

$$OR = P_{больные}(1 — P_{контроль}) / P_{контроль}(1 — P_{больные}).$$

Рассмотрим результаты некоторых GWAS-исследований в офтальмологии, в частности, распространенные аллели с большим эффектом, обнаруженные в GWAS (табл. 1) [4].

Таким образом, ОНП в позиции 382942-G гена LOXL1, расположенного на хромосоме 15q24.1, дает очень высокую вероятность развития эксфолиативной глаукомы — 20,10 (чаще всего в GWAS-исследованиях OR не превышает 2,0). Доказана также связь мутаций

Таблица 1

Заболевание	Наименование гена	OMIM	Регион	ОНП rs	OR
Возрастзависимая дегенерация сетчатки	CFH	134370	1q31	380390-C	4,60
Эксфолиативная глаукома	LOXL1	153456	15q24.1	382942-G	20,10

в генах миоцилина (MYOC), цитохрома P450 (CYP1B 1) и оптиневрина (OPTN) с развитием глаукомы. К сожалению, разнообразие и особенности мутаций в генах MYOC, CYP1B 1 и OPTN в российской популяции пока не описаны, однако есть все основания полагать, что их набор отличается от выявленных в США, Японии или Скандинавии.

Эндокринная офтальмопатия (ЭО) представляет собой, по нашему мнению, одну из лучших моделей для иллюстрации роли предиктивно-превентивных мероприятий, направленных на проведение превентивных мер и персонализированного лечения с учетом доказанной генетической предрасположенности к аутоиммунному тиреоидиту (у пациентов с повышенной частотой антител к тиреопероксидазе обнаруживаются гаплотипы HLA-DR 3, DR 5, B8), частым развитием на этом фоне ЭО. У 18,8 % больных глазная симптоматика выявляется задолго до появления признаков поражения ЩЖ (в 5–10 % случаев при ЭО не выявляется дисфункция ЩЖ [5]) или после ликвидации признаков гипертиреоза, что иногда затрудняет своевременную диагностику ЭО [6–8].

По нашему мнению, существуют три уровня предикции ЭО. Первый — выявление предрасположенности в детском возрасте к заболеваниям ЩЖ и ЭО. Первичная профилактика направлена на устранение факторов риска: отказ от контакта с табачным дымом и воздействий ионизирующей радиации, устранение тиреотоксикоза (прием тиреостатиков, тиреоидэктомия), профилактический прием глюкокортикостероидов при терапии радиоактивным йодом [9]. Второй уровень предикции направлен на раннее выявление биомаркеров ЭО, когда заболевание не проявляется клинически [10]. Вторичная профилактика затруднена в значительной мере, поскольку для нее окончательно не установлены специфические сывороточные маркеры, которые бы позволили поставить диагноз на ранней стадии. Однако, например, примерно у трети пациентов с болезнью Грейвса (БГ) манифестации ЭО предшествует длительный период изолированного поражения ЩЖ, проявляющегося тиреотоксикозом [11]. В этот период с высокой вероятностью у пациента имеет место субклинически развивающаяся ЭО, проявляющаяся в более выраженном экзофтальме, несколько повышенном внутриглазном давлении, утолщении гладкой мускулатуры при компьютерной томографии или ультразвуке. Если принять концепцию, в соответствии с которой тиреотоксикоз и ЭО являются компонентами одного заболевания, и то, что поражение ЩЖ и структур глаза являются разными фенотипическими вариантами БГ, тогда, по нашему мнению, возможно предложить различные варианты вторичной профилактики при этом заболевании.

К настоящему времени установлена связь аутоиммунных заболеваний ЩЖ с ЭО [12]. Рецептор тиреотропного гормона (рТТГ) выступает в роли антигена-мишени. ЭО развивается вследствие перекрестного реагирования цитотоксических антител к рТТГ с жировой тканью орбиты на фоне антиген-специфического дефекта Т-супрессоров. И при активной фазе заболевания, и при тяжелом течении ЭО уровень антител к рТТГ повышен. Определение активной фазы заболевания имеет важное значение, так как только пациенты с активной (воспалительной) динамической фазой ЭО дадут положительный ответ на иммуносупрессивную терапию, тогда как для пациентов в фиброзной (статической) фазе подобная терапия не эффективна. Доказано, что пациенты с повышенным титром антител к рТТГ на фоне лечения имеют высокий риск рецидива ЭО [13]. Высокие титры антител были обнаружены у лиц, страдающих ЭО, протекающей на фоне и аутоиммунного тиреоидита (АИТ), и диффузного токсического зоба (ДТЗ). При обследовании лиц только с патологией ЩЖ без ЭО титры цитотоксичесих антител были низкими. У лиц с генетической предрасположенностью к АИТ рецепторы ТТГ экспрессируются на жировых клетках в орбите [14]. Еще одним предиктивным биомаркером ЭО являются антитела к орбитальной клетчатке, так как антитела к мембранам глазодвигательных мышц, фибробластам выявляются не у всех больных с ЭО на фоне заболеваний ЩЖ, а антитела к орбитальной клетчатке — у всех пациентов с ЭО [15]. Антиген G2s (протеин клеточных мембран) является биомаркером тяжелых форм ЭО у больных ДТЗ. Уровень антител к антигену G2s значительно выше у больных ДТЗ с тяжелой ЭО и признаками поражения глазодвигательных мышц, чем у пациентов с ДТЗ без ЭО [16]. Еще одним маркером тяжелых форм ЭО у больных ДТЗ может явиться уровень адипонектина (белок, выделенный из адипоцитов). Предполагается, что повышение адипонектина при ЭО может быть вызвано адипогенезом глаз [17]. Исследования показали, что уровень адипонектина оказался значительно выше в сыворотке пациентов с ЭО по сравнению с ДТЗ без ЭО. По нашему мнению, наличие «сухого» глаза с конъюнктивальной инъекцией, с хемозом должно насторожить офтальмолога на предмет заболеваний ЩЖ даже при отсутствии признаков классической ЭО, особенно если в семейном анамнезе встречались заболевания щитовидной железы. Таким пациентам можно порекомендовать функциональные тесты на определение тиреотропного гормона (ТТГ), Т4св и антител к пероксидазе.

Третий уровень предикции направлен на предотвращение дальнейшего прогрессирования заболевания и развития осложнений ЭО (оптическая нейропатия, гипертензия, глаукома, слепота). Примером третичной профилактики при заболеваниях ЩЖ может быть предотвращение декомпенсации заболевания или передозировки рядом препаратов [18]. Оптическая нейропатия, которая имеет социальное значение, как и случаи повышения ВГД, встречается только у больных отечным экзофтальмом (ОЭ) — одной из форм ЭО [19].

ОЭ может протекать в декомпенсированной форме с резко выраженными клиническими проявлениями и появлением условий для повышения ВГД. Эндокринная миопатия (ЭМ), хотя и характеризуется также увеличением в объеме экстраокулярных мышц, протекает гораздо спокойнее, так как при ЭМ стадия активной клеточной

фильтрации в 3–4 раза короче, чем при ОЭ (соответственно 3–4 и 16–18 месяцев) [20]. Ранним признаком развития оптической нейропатии при отечной форме ЭО является увеличение периода латентности основного позитивного компонента Р100 зрительных вызванных корковых потенциалов (ЗВКП). Это происходит, вероятно, вследствие вторичного ретроградного поражения ретинальных нейронов и подчеркивает роль проведения ЗВКП в ранней диагностике поражений зрительных проводящих путей, в частности, при ЭО [21].

На ранней стадии своего развития ОН при отечном экзофтальме офтальмоскопически характеризуется расширением ретинальных вен (начальная стадия ОН). На фоне этих офтальмоскопических изменений появляются небольшие относительные или абсолютные скотомы, расположенные центрально или парацентрально, или небольшое снижение центрального зрения [22]. Может сохраняться и нормальная острота зрения даже при выраженной оптической нейропатии. В связи с этим в диагностике ранних поражений зрительного нерва большое значение имеет периметрия.

Мы предположили, что ширина нейроретинального пояска диска зрительного нерва может быть очень важным показателем для предопределения декомпенсации отечного экзофтальма. Этот показатель характеризует состояние аксонов ганглиозных клеток в месте перехода их с перипапиллярной зоны на диск зрительного нерва, и его снижение опережает изменение толщины слоя нервных волокон, например, при глаукоме [23]. Таким образом, по нашему мнению, для выявлений маркеров осложнений отечного экзофтальма необходимо проведение компьютерной периметрии, оптической когерентной томографии (ОКТ) зрительного нерва и исследование зрительных вызванных корковых потенциалов.

Важным направлением ПМ является индивидуализированная терапия: назначение лекарственных средств с учетом генетических и эпигенетических факторов. Например, разработанная шкала активности CAS (Clinical Activity score) является прогностическим показателем эффективности иммуносупрессивной терапии [24], так как позволяет разграничить пациентов с активной фазой заболевания, которые, вероятно, дадут положительный ответ на иммуносупрессивную терапию, и пациентов с фиброзной или статической фазой процесса, которые, скорее всего, не дадут ответа на иммуносупрессивную терапию. Под активностью ЭОП понимают воспалительную фазу заболевания с момента атаки и появления первых симптомов до купирования симптомов и стабилизации процесса. Это динамический процесс. В соответствии с этим индексом активность может быть определена после двух последовательных клинических обследований в течение трех месяцев и обозначена от 0 до 10, где каждый признак соответствует одному баллу. АИО считается активной при трех и более баллах в двух последовательных клинических обследованиях в течение трех месяцев.

Наличие у всех пациентов тяжелого синдрома «сухого» глаза и перечисленные возможные осложнения от глюкортикостероидной терапии заставили нас искать новые схемы индивидуализированной (таргетной) терапии. Известно, что препарат Рестасис на основе циклоспорина А оказывает местное иммуномодулирующее воздействие на ткани глаза без тяжелых общих типичных осложнений иммуносупрессоров, поэтому нами была предложена схема лечения, основанная на применении циклоспорина А в течение шести месяцев, так как в настоящее время это единственный препарат на рынке, который воздействует не симптоматически, а патогенетически.

В последние годы представляют интерес новые области применения такого доступного во всех отношениях препарата, как пентоксифиллин. В патогенезе ЭОП, особенно в ее поддержании и прогрессировании, важное значение могут иметь различные цитокины. Провоспалительные цитокины (особенно фактор некроза опухоли альфа [ФНО-а] и интерлейкин-1 [ИЛ-1]) могут быть блокированы *in vivo* различными путями, например, антагонистами рецепторов цитокинов, моноклональными антителами, растворимыми рецепторами цитокинов и регуляторными цитокинами с противоположными эффектами. Все эти средства с различной эффективностью пытаются использовать для лечения ревматоидного артрита, а эффективность антител к ФНО-а исследуется при лечении болезни Крона, сепсиса и миелодиспластических синдромов. На сегодняшний день мы нашли только одну работу, в которой изучалась эффективность блокирования цитокинов при ЭОП. Balazs с соавт. [25] провели нерандомизированное контролируемое исследование эффективности блокатора цитокинов пентоксифиллина, в которое вошли 10 пациентов с ЭОП умеренной тяжести. В итоге улучшение было отмечено у 80 % пациентов, при этом наиболее выраженный положительный эффект был со стороны изменения мягких тканей и экзофтальма, тогда как со стороны изменений ГДМ динамика была менее выраженной. Указанная положительная динамика сопровождалась снижением уровня ГАГ сыворотки.

Обнаружено, что Трентал стимулирует слезопродукцию [26]. Показано, что противовоспалительные свойства определяют защитное действие Трентала на спинной и головной мозг в условиях острой ишемии [27]. А ОЭ сопровождается ишемической нейропатией зрительного нерва. И самое важное, что аутоиммунная реакция при ЭОП сопровождается запуском цитокинов. Пентоксифиллин (Трентал) блокирует образование мукополисахаридов фибробластами в ретроорбитальной области. Поэтому нами Трентал был применен как блокатор цитокинов совместно с местным применением Рестастиса и традиционной пульстерапией. Нам удалось уменьшить дозировку пульстерапии, что имеет важное практическое значение в клинике. Таким образом, нами разработан новый оригинальный индивидуализированный алгоритм лечения ЭО.

Были получены положительные результаты от применения разработанной нами схемы индивидуализированной лекарственной терапии препаратами Рестасис и Трентал после двух курсов кортикостероидами у всех 19 пролеченных больных с признаками ЭО. Небольшое количество пациентов объясняется тем, что не у всех

больных с ОЭ наблюдается офтальмогипертензия, а этот синдром являлся критерием включения в нашем исследовании. Восемь человек (16 глаз) с ДТЗ готовились к хирургическому лечению ЩЖ, но из-за высокоактивной и быстропрогрессирующей ЭОП нуждались в предоперационной глюкокортикостероидной терапии. Объективно у всех пациентов с признаками «сухого» глаза не только улучшились показатели теста Ширмера, увеличилось время разрыва слезной пленки, но и улучшились показатели периметрии (MD и PSD), наметилась тенденция к снижению симптоматической гипертензии ($p < 0{,}001$) через одну неделю – три месяца, тогда как у пациентов первой группы, где применялась только глюкокортикостероидная пульсотерапия, сохранялись признаки офтальмогипертензии в долгосрочном периоде. Местное применение иммуномодуляторов (Рестасиса) и блокаторов цитокинов (пентоксифиллина) позволило снизить дозу (8 мг один раз в день) и длительность (два дня) применения небезопасной стероидной терапии. Для более адекватной оценки эффективности пентоксифиллина необходимы рандомизированные контролируемые исследования с включением большего числа пациентов. Наиболее эффективным предложенное лечение оказалось по влиянию на изменения мягких тканей, нивелирование симптомов «сухого» глаза и нейропатию зрительного нерва, тогда как в отношении экзофтальма и симптоматической гипертензии при назначении Рестасиса в каплях и пентоксифиллина внутривенно, по нашему мнению, эффект наблюдался у шести пациентов из девяти (в 67%).

Таким образом, существует необходимость в высокоэффективных предиктивных мерах, которые могли бы снизить распространенность эндокринной офтальмопатии у пациентов с заболеваниями ЩЖ, могли бы уменьшить отдаленные осложнения и улучшить качество жизни больных с ЭО. Указанные предиктивные и индивидуализированные подходы должны уменьшить экономическую нагрузку на систему национального здравоохранения. Залогом прогресса медицины 5П является тесный союз клиницистов, в том числе офтальмологов, специалистов лабораторной и молекулярной медицины, генетиков и иммунологов [28].

Список литературы

1. *Персонализированная медицина: монография (в 7 т.). Том 1: С.Н. Щербо, Д.С. Щербо. Биологические основы. М., Издательство РУДН, 2016, 224 с.*
2. *Щербо С.Н. Персонализированная медицина. // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.— 2012.— 3. С. 2–3.*
3. *Голубничая О. Время для новых законодательных мер по сахарному диабету: смена парадигмы — от запоздалых интервенций к предиктивной, превентивной и персонализированной медицине. // TERRA MEDICA.— 2012.—2.— С. 4–14.*
4. *Ku C.S., Loy E.Y., Pawitan Y. et al. The pursuit of genome-wide association studies: where are we now? // J. Hum. Genet.— 210.— 55.— 4.— P. 195–206.*
5. *Weetman A.P. Thyroid-accociated ophthalmophathy. // Autoimmunity.— 1992.— 12.— 3.— P. 215–222.*
6. *Marcocci C., Bruno-Bossio G., Manetti L. The course of Graves'ophthalmopathy is not influenced by near total thyroiectomy: a case-control study // Clin. Endocrinol.— 1999.— 51.— P. 503–508.*
7. *Heufelder A.E. Patogenesis of ophthalmohathy in autoimmune thyroid disease // Reviews in endocrine and metabolic disorders.— 2000.— 1.— P. 87–95.*
8. *Weetman A.P. Patogenesis overview // 7th International Symposium on Graves Ophthalmopathy, Pisa, 6–8 February 2003.— Pisa, 2003.— P. 9–10.*
9. *Свириденко Н.Ю., Анциферов М.Б., Беловалова И.М. Эндокринная офтальмопатия: от первичного звена до высоких технологий. // Клиническая и экспериментальная тиреоидология.— 2008.— 4.— с. 17–25.*
10. *Дедов И.И., Мельниченко Г.А. Эндокринология: национальное руководство.М.// ГЭОТАР-Медиа.— 2009.— 1064 с.*
11. *Gerding M.N., van der Meer J.W., Broenink M. et al. Association of thyrotrophin receptor antibodies with the clinical features of Graves' ophthalmopathy // Clin. Endocrinol. (Oxf.) — 2000.— 52.— P. 267–271.*
12. *Бровкина А.Ф., Павлова Т.Л. Эндокринная офтальмопатия с позиций офтальмолога и эндокринолога // Рус. мед. журнал.— 2004.— 12.— 8.— 208.— С. 539–549.*
13. *Герасимов Г.А., Петунина Н.А., Павлова Т.Л., Трухина Л.В. // Пробл. эндокринологии.— 2001.— 47.— 4.— С. 38–40.*
14. *Генделека Г.Ф. Аутоиммунный синдром перекреста (OVERLAP-синдром) при заболеваниях щитовидной железы. // Международный эндокринологичеекий журнал.— 2010.— 26.— 2.*
15. *Wiersinga W.M., Prummel M.F. Pathogenesis of Graves' ophthalmopathy — current understanding // J. Clin. Endocrinol. Metab.— 2001.— 86.— P. 501–503.*
16. *De Bellis A., Perrino S., Coronella C. et al. Extraocular muscle antibodies and the occurrence of ophthalmopathy in Graves disease // Clin. Endocrinol.— 2004.— 60.— P. 694–698.*
17. *Duntas L.H., Mantzou E., Athanassopoulou B. Differences in the adiponektin levels in patients with Graves and thyroid eye disease // European Thyroid Association Annual Meeting 18–22 October.— 2003.— P. 74.*
18. *Wiersinga W.M., Bartalena L. Epidemiology and prevention of Graves' ophthalmopathy // Thyroid — 2002.— 12.— P. 855–860.*
19. *Dickinson A.J., Perros P. Controversies in the clinical evaluation of active thyroid-associated orbitopathy: use of a detailed protocol with comparative photographs for objective assessment // Clin. Endocrinol. (Oxf.).— 2001.— 55.— P. 283–303.*
20. *Алескерова П.М. Внутриглазная гидродинамика у пациентов с эндокринной офтальмопатией. Дисс.к.м. н.— 2010.*
21. *Щеголькова Ю.С. Закономерности клинических проявлений эндокринной офтальмопатии и их роль в определении лечебной тактики. // Автореферат дисс.к.м. н. Красноярск.— 2007.*
22. *Бровкина А.Ф.— Еще раз о патогенезе оптической нейропатии у больных отечным экзофтальмом. // Актуальные вопросы нейроофтальмологии. Материалы XV научно-практической нейроофтальмологической конференции, 2014; 15–16 с.*
23. *Ермакова А.В. Ассиметрия тонометрических и биоретинометрических параметров парных глаз в норме и при первичной открытоугольной глаукоме. Автореферат дисс.к.м. н. Москва.— 2011.*
24. *Mourits M.P., Koornneef L., Wiersinga W.M. et al. Clinical criteria for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy: a novel approach. British Journal of Ophthalmology — 1989.— 73.— P. 639–644.*
25. *Balazs C., Kiss E., Vamos A. et al. Beneficial effect of pentoxyfilline on thyroid-associated ophthalmopathy // J. Clin. Endocrinol. Metab.— 1998.— 82.— P. 1999–2002.*
26. *Матевосова Э.А. Возможности стимуляции секреции слезы у больных с гиполакримией при синдроме «сухого» глаза. Автореферат дисс.к.м. н. Москва.—2009.*
27. *Eun B., Liu X., Barks J. Pentoxifylline attenuates hypoxic–ischemic brain injury in immature rats. Pediatr. Res.— 2000.— 47.—1.— С. 73–78.*
28. *С.Н. Щербо, Д.С. Щербо. Медицина 5П: прецизионная медицина. // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.— 2015.— 4.— с. 5–10.*

Практика реализации требований ISO 15189:2012 (ГОСТ Р ИСО 15189–2015) по управлению субподрядными лабораториями

А. В. Каленская[1]; **А. В. Эмануэль,** к.т.н.[2]; **Е. В. Аверьянова**[2]; **Г. А. Иванов,** к.м.н.[3]; **Т. А. Окша**[4]; **В. Н. Кустова**[5]

[1]ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва
[2]ГБУЗ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента» Департамента здравоохранения г. Москвы
[3]ФГБУ «Консультативно-диагностический центр с поликлиникой» Управления делами Президента России, г. Санкт-Петербург
[4]ООО «Био-Рад лабораторис», г. Москва
[5]ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии имени Д. И. Менделеева», г. Санкт-Петербург

Practice of implementing requirements of ISO 15189:2012 (GOST R ISO 15189–2015) for subcontracting laboratories management

A. V. Kalenskaya, A. V. Emanuel, E. V. Averyanova, G. A. Ivanov, T. A. Oksha, V. N. Kustova
Central Scientific and Research Institute for Epidemiology, Moscow; Scientific and Research Institute of Public Health Service and Medical Management, Moscow; Consultative and Diagnostic Centre with Polyclinic of the Administration of the President of the Russian Federation, Saint Petersburg; Bio-Rad Laboratories Co., Moscow; All-Russian Scientific Research Institute for Metrology n.a. D. I. Mendeleyev, Saint Petersburg; Russia

Резюме
В статье приведен пример системы выбора и оценки субподрядной лаборатории на базе требований ISO 15189:2015. Приведены конкретные примеры опросников и оценочных таблиц, которые могут быть доработаны и интегрированы в действующие системы менеджмента качества медицинских организаций и медицинских лабораторий.
Ключевые слова: ***субподрядная лаборатория, ИСО 15189.***

Summary
In the article authors describe some elements of system for subcontracting laboratories estimation and evaluation in accordance with ISO 15189:2012 requirements. The examples of questionnaires and check lists described could be integrated in quality management systems of medical organizations and medical laboratories.
Key words: ***subcontracting laboratory, ISO 15189.***

Одним из важных элементов комплексной системы менеджмента качества медицинской лаборатории является управление субподрядными лабораториями. ISO 15189:2012 предъявляет ряд требований к организации взаимодействия с лабораториями-субподрядчиками.

В ходе проведения внешних аудитов медицинских лабораторий часто выявляется ситуация, когда основная лаборатория исключает из своей организационной структуры процессы взаимодействия с субподрядными лабораториями, объясняя это тем, что все исследования данная лаборатория проводит на собственной производственной базе.

Следует отметить, что необходимость пользования услугами субподрядных лабораторий возникает по меньшей мере в двух ситуациях:

1) при невозможности введения новых лабораторных методик на собственной производственной базе по техническим, технологическим, экономическим причинам — такой вариант является наиболее распространенным;
2) однако немаловажным представляется и другой вариант — система менеджмента качества (далее СМК) медицинской лаборатории должна предусматривать и описывать действия лаборатории в чрезвычайных или иных аналогичных ситуациях, когда рутинная деятельность невозможна. Причины могут быть различны, начиная с отсутствия реагентов, поломки оборудования, и заканчивая форс-мажорными обстоятельствами (пожар, стихийное бедствие и пр.). В данных случаях клинико-диагностическая лаборатория несет всю полноту ответственности за обеспечение доступности важных исследований при экстренной потребности в них (ISO 15189:2012, п. 4.1.1.4). Одним из возможных подходов к решению данного вопроса (а именно планированию схемы функционирования лаборатории в условиях непредвиденных обстоятельств) является передача полномочий по выполнению исследований сторонней лаборатории. Такая лаборатория (лаборатории) должна быть выбрана заранее, а взаимодействие четко описано.

Настоящая статья не рассматривает систему планирования и проверки планов на случай непредвиденных обстоятельств, а освещает вопросы организации взаимодействия с субподрядными лабораториями.

Стандарт ISO 15189:2012 (ГОСТ Р ИСО 15189–2015) определяет субподрядную лабораторию как внешнюю лабораторию, в которую отсылают пробу для проведения исследования. Соответственно в рамках данной статьи не будут разбираться ситуации так называемого внутреннего субподряда, когда одно юридическое лицо имеет несколько лабораторий и пробы распределяются по ним в соответствии с внутренними регламентами. Также не рассматриваются случаи, когда необходимо отправлять пробу для результатов исследования в соответствии с законодательством РФ.

Взаимодействие заказчика и субподрядчика регулируется Гражданским кодексом РФ в рамках договорных отношений. В соответствии со статьей 706 ГК РФ всю полноту ответственности за выполнение исследования перед пациентом несет лаборатория-заказчик. Исключением является только случай самостоятельного выбора пациентом лаборатории-субподрядчика. Аналогичную ответственность на лабораторию накладывают и стандарты ГОСТ Р ИСО 15189–2015 (п. 4.5.1. «Лаборатория… ответственна за выбор вспомогательной лаборатории и консультантов, мониторинг качества выполнения и обеспечения соответствия компетентности вспомогательных лабораторий и консультантов, необходимой для выполнения запрашиваемых исследований) и ГОСТ Р ИСО 9001–2015 (п. 8.4.1. «Организация должна обеспечить соответствие процессов, продукции и услуг, поставляемых внешними поставщиками, требованиям…»).

Определение требований к субподрядной лаборатории

Лаборатории различной организационно-правовой формы, специализации и размеров (централизованная, сателлитная, независимая, лаборатория в составе ЛПУ и т. д.) могут по разному рассматривать взаимодействие с субподрядными лабораториями и устанавливать процедуру выбора таковых, исходя из своих потребностей: от простых рекомендаций и телефонных переговоров до многоступенчатого анализа. Ориентироваться при выборе следует на решение текущих задач лаборатории и выстраивание долгосрочных партнерских отношений, руководствуясь одним из принципов менеджмента качества — менеджментом взаимоотношений (ранее взаимовыгодные отношения с поставщиками).

В соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 15189–2015 (п. 4.5.1) лаборатория должна иметь документированную процедуру для выбора и оценки вспомогательных лабораторий. Для проведения данной оценки необходимо установить требования, которые лаборатория-заказчик будет предъявлять к субподрядной лаборатории. При разработке таких требований и дальнейшей оценке соответствия им полезно руководствоваться стандартом ГОСТ Р ИСО 9001–2015 (п. 8.4.3), определяющим основные аспекты будущего взаимодействия заказчика и исполнителя:

- требования к поставляемым процессам, продукции и услугам;
- требования к одобрению продукции и услуг; методов, процессов и оборудования; выпуска продукции и услуг (то есть валидация полученных результатов и разрешение на выпуск лабораторного отчета);
- требования к компетентности персонала, включая необходимые способы подтверждения квалификации;
- требования к взаимодействию внешнего поставщика с организацией;
- требования к применяемым организацией управлению и мониторингу результатов деятельности внешнего поставщика;
- требования к деятельности по верификации или валидации, которые организация или ее потребитель предполагают осуществлять у внешнего поставщика.

Требования к услуге

Требования к лабораторной услуге могут включать следующее:

- аналитические характеристики методики;
- информацию о квалификации персонала;
- информацию о применяемых методах внутреннего контроля качества;
- информацию об участии в системах внешней оценки качества;
- информацию о применяемых индикаторах качества, включая время оборота теста;
- методы обеспечения качества;
- специальные требования к отбору, транспортировке и хранению проб;
- требования к итоговому отчету о результатах проведенного исследования.

Требования к лаборатории-субподрядчику могут быть сформулированы в виде перечня минимальных и (или) желаемых характеристик. Например, участие как минимум в двух программах внешней оценки качества, применение контрольных материалов независимого производителя и т. д.

Для получения первичной информации о лаборатории — потенциальном субподрядчике можно использовать анкетирование. К анкете потенциального партнера следует затребовать также документы, подтверждающую предоставленную информацию. В их числе могут быть правоустанавливающие документы (лицензия на медицинскую деятельность, устав, санэпидзаключение), регистрационные удостоверения на реагенты и оборудование, данные по результатам внутренней и внешней оценок качества, образцы направительных бланков и бланков результатов. Полезно разработать отдельные таблицы-запросы для количественных и качественных методов. Приведенная в качестве примера анкета (табл. 1) больше подходит именно для количественных методик. Полнота и степень детализации информации будут зависеть от действующей СМК в конкретной базовой лаборатории и связанных с исследованием рисков.

Рекомендуется получать подобную анкету по каждой услуге, планируемой к передаче для выполнения в субподрядную лабораторию.

Для оценки преаналитического этапа крайне важно получить от лаборатории-субподрядчика исчерпывающую информацию об объеме и типе биоматериала, специальной подготов-

Таблица 1

Первичная анкета для сбора информации о потенциальной лаборатории-субподрядчике (для конкретного вида исследования)

Тип биоматериала	**Преаналитические требования**	
Методика	Методика: • ручная • автоматическая • полуавтоматическая	Методика: • качественная • количественная • полуколичественная
Наименование оборудования (если возможна постановка на разных приборах, указать) Наличие дублирующего оборудования	Производитель оборудования	Наличие регистрационного удостоверения на оборудование: да / нет
Наименование тест-системы (если возможно использование разных тест-систем, указать)	Производитель тест-системы	Наличие регистрационного удостоверения на тест-систему: да / нет

Аналитические характеристики метода	**Чувствительность**	**CV**	**Линейность**
Единицы измерения	Референсные значения	Источник референсных значений	Подтвержденная метрологическая прослеживаемость калибратора
Внешняя оценка качества: • есть • нет	Наименование системы ВОК	Периодичность участия: • 1 раз в месяц • 2 раза в месяц • 1 раз в полгода • другое	Количество лабораторий из группы сравнения: • менее 20 • более 20
			Количество значимых расхождений за последний год
Внутренний контроль качества: • есть • нет	Производитель контрольных материалов	Количество постановок за сутки	Значение долгосрочного CV (за год)
Наименование и версия ЛИС	Срок выполнения исследования	Возможность выполнить исследование экстренно: да / нет	Стоимость за одно исследование

ке пациента, транспортных контейнерах и применяемых консервантах, критичном времени доставки для обеспечения стабильности аналита, а также условиях отказа в приеме первичной пробы и требованиях к идентификации проб. Данная информация позволяет одновременно выяснить, насколько потенциальный исполнитель заинтересован в обеспечении качества оказываемых услуг, а также может ли сама лаборатория-заказчик соблюсти условия субподрядной лаборатории в рамках будущего договора (соглашения).

При оценке аналитического качества важно, помимо прочего, обратить внимание на референсные интервалы, предлагаемые лабораторией-субподрядчиком, и их происхождение (разработаны ли они лабораторией самостоятельно, заимствованы из инструкции производителя, руководств и т. д.). Для ряда исследований в зависимости от их клинической интерпретации требуется указать пределы референсных значений для разных категорий пациентов, не всегда обозначенные в инструкции к тест-системе. Выбирая лабораторию-субподрядчика, заказчик должен принять во внимание процедуру установки данных референсных интервалов.

Оценивая постаналитический этап, необходимо проанализировать итоговый отчет, предоставляемый лабораторией-субподрядчиком. Важную роль играют комментарии к результатам (интерпретация, рекомендации по дополнительным уточняющим исследованиям или частоте повторения исследования).

Требования к одобрению услуги

Для проведения оценки по данному критерию следует рассматривать как минимум следующие параметры:

- диапазоны значений, при которых назначаются повторные исследования;
- определение и валидацию пограничных значений («серая зона»);
- тип валидации (автоматическая или ручная);
- методику оценки достоверности результатов постановочной серии (например, Westgard rules);
- диапазоны значений, по которым осуществляется экстренное информирование.

Требования к компетентности персонала

На этапе выбора субподрядной лаборатории необходимо убедиться в наличии у потенциальной лаборатории-субподрядчика сотрудников с уровнем компетентности, необходимым для выполнения запрашиваемых исследований. Это особенно актуально для исследований, проводимых узкопрофильными специалистами, в частности, гистологических, цитологических и генетических. В таких случаях дополнительно могут быть запрошены списки сотрудников, планируемых для привлечения к выполнению работ, и соответствующие сертификаты, подтверждающие квалификацию. Распространенной практикой является запрос резюме заведующего лабораторией и ключевых специалистов.

Для получения подобной информации полезно запросить у лаборатории перечень (реестр) документов по СМК. Данный реестр позволит оценить степень детализации и стандартизации СМК конкретной лаборатории; также рекомендуется запросить копии документов, описывающих внутренние процедуры и процессы. Также следует запросить информацию о наличии выделенного специалиста или группы сотрудников (как бы он, она, они ни назывались), отвечающих за обеспечение и контроль качества.

Таблица 2

Анкета для оценки СМК субподрядной лаборатории

Наименование лаборатории: _____
Лицензия № _____
Юридический адрес: _____
Фактический адрес: _____
Телефон: _____
Факс: _____
Эл. адрес:_____
Сайт: _____
Контактное лицо (ФИО, должность, контакты):

Планируемые виды исследований: _____
_____

№	Вопрос	Оценка		Объективные свидетельства, комментарии
		Да	Нет	
1	**Система менеджмента качества**			
1.1	Наличие сертифицированной (аккредитованной) СМК			
1.2	Наличие официально утвержденной организационной структуры лаборатории			
1.3	Наличие разработанных и утвержденных должностных инструкций для всех должностей сотрудников лаборатории			
1.4	Должностные инструкции учитывают специфику выполняемых работ			
1.5	В должностных инструкциях детально прописаны область ответственности, полномочия, права и обязанности персонала			
1.6	Результаты опроса сотрудников (указать Ф. И. О.) подтверждают следование должностным инструкциям в ходе работы			
1.7	Наличие инструкций по работе с ПБА и журнала инструктажа сотрудников по работе с ПБА			
1.8	Наличие инструкций по технике безопасности при работе в лаборатории и журнала инструктажа сотрудников			
2	**Персонал**			
2.1	Квалификация персонала лаборатории соответствует установленным законодательством РФ требованиям			
2.2	Наличие процедуры первичной и периодической оценки квалификации (аттестация, асессмент и т.д.)			
2.3	Наличие плана повышения квалификации персонала			
2.4	План повышения квалификации включает как внешнее, так и внутреннее обучение			
2.5	Наличие процедуры допуска сотрудников к работе на анализаторах, выполнению определенных методик исследований			
2.6	Наличие подтверждающих документов о допуске персонала			
2.7	Существует ли регламент (–ы) действий персонала во внештатных ситуациях			
3	**Помещения**			
3.1	Наличие план-схемы помещений лаборатории с указанием размещения оборудования, зонирования, распределения движения потоков биоматериала			
3.2	*Существующая планировка обеспечивает:*			
3.2.1	• распределение видов исследований по помещениям с учетом возможных влияний (кросс-контаминация и т.д.)			
3.2.2	• минимизацию передвижения биоматериала и персонала (рациональное размещение оборудования и т.д.)			
3.2.3	• соблюдение санитарных и гигиенических требований			
3.2.4	• соблюдение правил техники безопасности			

Требования к взаимодействию внешнего поставщика с организацией

Взаимодействие с лабораторией-субподрядчиком подразумевает наличие различных сервисов и услуг, которые она готова предоставить: курьерскую доставку, информационную поддержку по лабораторным и техническим вопросам в режиме 24/7, интеграцию ЛИС, условия оплаты и т. д. Электронный обмен данными для снижения вероятности ошибок и сокращения времени оборота теста, консультации по интерпретации сложных тестов, обучение сотрудников лаборатории-заказчика преаналитическим требованиям и популяризации теста для клиницистов, а также доступность и актуальность информации об услуге и удобная курьерская доставка будут однозначно свидетельствовать в пользу предлагающей их лаборатории-субподрядчика и против тех, у кого данные сервисы отсутствуют.

Требования к мониторингу результатов деятельности и верификации услуг субподрядной лаборатории на месте

После выполнения комплексной оценки субподрядной лаборатории с учетом предшествующих критериев у лаборатории-заказчика все еще могут оставаться вопросы, связанные со способностью потенциального исполнителя стабильно оказывать услуги необходимого качества. Опасения могут быть связаны с рисками и разработанными лабораторией-субподрядчиком мерами управления: в частности, ошибки при персонификации пробы ввиду недостаточной прослеживаемости ее на всех этапах, возможной контаминации ввиду недостаточного зонирования помещений и т. д. Одним из решающих факторов при выборе лаборатории-субподрядчика является способность продемонстрировать отлаженность основных и обеспечивающих процессов и их эффективное взаимодействие. Для первичной оценки предлагается направлять потенциальным субподрядчикам дополнительную анкету с описанием действующей системы управления качеством. Пример подобной анкеты приведен в табл. 2.

При разработке опросников полезно ориентироваться на требования ИСО 15189 или аналогичных стандартов по лабораторной медицине. Важно, чтобы предоставленная информация была достаточна для обеспечения уверенности в достоверности, своевременности и персонализации (адресности) в рамках выполнения исследований и сопутствующих процессов, которые базовая лаборатория намерена заказывать у субподрядной. Проводить комплексный аудит всей СМК субподрядной лаборатории не имеет практического смысла.

При анализе данных опросника важно понимать, что невыполнение какого-либо пункта не является поводом для принятия однозначного решения об отказе от услуг лаборатории. Эти показатели, скорее, нужны для оценки рисков работы с конкретной лабораторией-субподрядчиком, планирования совместного повышения качества работы (в случае совместной ориентированности на долговременное партнерство).

Также подобные опросники полезны тем медицинским организациям (МО), которые планируют передать большой объем исследований в централизованную лабораторию.

На основании обработки полученных данных может быть инициирован выездной аудит лаборатории-субподрядчика (аудит второй стороны) для получения объективных свидетельств соответствия предъявляемым требованиям.

На этапе переговоров с потенциальной лабораторией-субподрядчиком рекомендуется согласовать возможность проведения лабораторного аудита (отправку контрольных проб) в процессе работы и внести соответствующий пункт в договор (соглашение).

Итоговая оценка

Для соблюдения прозрачности и объективизации выбора субподрядной лаборатории из всех претендентов анализ можно проводить методом экспертной оценки по ряду критериев, предварительно установив приоритет каждого критерия в зависимости от потребностей лаборатории-заказчика. Пример реализации подобного анализа представлен в табл. 3.

3.3	*Существует ли система мониторинга условий окружающей среды в помещениях:* • с использованием гигрометров или аналогичных измерительных приборов • автоматизированная система контроля условий • не существует			
4	**Аналитическое оборудование**			
4.1	Наличие перечня (–ей) оборудования лаборатории с указанием размещения, периодичности технического и сервисного обслуживания, поверки, калибровки			
4.2	Оборудование находится в собственности лаборатории			
4.3	Оборудование соответствует перечню выполняемых исследований			
4.4	*Для каждого анализатора имеются в наличии:*			
4.4.1	• руководство пользователя (или аналог)			
4.4.2	• паспорт			
4.4.3	• инструкция (–и) по техническому обслуживанию			
4.4.4	• журнал (–ы) (или аналогичная система фиксации данных) фиксации манипуляций, проводимых с оборудованием с момента приобретения и установочной валидации до текущего времени			
4.4.5	• график поверки и свидетельство о поверки с информацией о количестве измерений и методике расчета, указанием неопределенности			
4.4.6	• журнал технических неисправностей приборов и замены комплектующих			
5	**Элементы «хорошей лабораторной практики»**			
5.1	Применение профессиональных холодильников			
5.2	Наличие архива биологических проб			
5.3	Система контроля качества работы центрифуг			
5.4	Система контроля качества работы дозаторов			
5.5	Калибровка анализаторов выполняется не реже, чем рекомендовано производителем тест-системы			
5.6	Отсутствие аликвотирования биопроб			
5.7	Обеспечение полного штрихкодирования биоматериала;			
6	**Документооборот лаборатории**			
6.1	Наличие паспорта лаборатории			
6.2	Наличие руководства по качеству			
6.3	Наличие СОПов по преаналитическому этапу			
6.4	Наличие описаний методик выполнения исследований			
6.5	Наличие СОПов по ВКК и ВОК			
6.6	Наличие СОПов по постаналитическому этапу			
6.7	*Наличие системы фиксации данных и событий (журналы и т.д.):*			
6.7.1	• прием и контроль качества поступающего биоматериала с указанием критериев выбраковки			
6.7.2	• передача критических значений			
6.7.3	• обработка срочных заказов			
7	**Выполнение исследований**			
7.1	Наличие алгоритма распределения проб, поступающих на исследование			
7.2	Применяемые лабораторией методики соответствуют хорошей лабораторной практике (не применяются устаревшие методики, не прошедшие должную клиническую валидацию и т.д.)			
7.3	Существует процедура подтверждения пограничных и не соответствующих установленным пределам референсных значений результатов исследований			
7.4	Уполномоченный персонал систематически проверяет (верифицирует) результаты исследований			
7.5	Определен срок хранения (архивация) результатов исследований			

Таблица 3
Сравнительная оценка потенциальных лабораторий-субподрядчиков

Критерий	Вес (значимость) критерия	Лаборатория 1	Значение* вес	Лаборатория 2	Лаборатория X
Юридический					
Лицензия					
Санэпидзаключение					
Сертификаты специалистов					
Регистрационные удостоверения на приборы и реагенты					
Аналитический					
Чувствительность					
CV					
ВЛК					
ВОК					
Экономический					
Стоимость 1 исследования					
Условия оплаты					
Организационный					
Интеграция					
Логистика					
Консультации					
Получение результата в электронном виде					
Другие					
ИТОГ					

Резюмируя вышесказанное, следует подчеркнуть, что ответственность за выбор субподрядной лаборатории, ее компетентность, способность выполнять исследования стабильно высокого уровня качества целиком и полностью лежит на лаборатории-заказчике. При четко и грамотно спланированном подходе к выбору лаборатория имеет высокие шансы расширить спектр оказываемых диагностических услуг и приобрести долгосрочного делового партнера.

Список литературы

1. *ГОСТ Р ИСО 15189–2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования по качеству и компетентности» (ISO 15189:2012 Medical laboratories. Requirements for quality and competence).*
2. *ГОСТ Р ИСО 9001–2015 «Системы менеджмента качества. Требования» (ISO 9001:2015 Quality management systems. Requirements).*

РОССИЙСКАЯ АССОЦИАЦИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

План мероприятий, проводимых Российской ассоциацией медицинской лабораторной диагностики в 2017 году

Конференции и выставки

06–07 сентября
Научно-практический образовательный форум «Современная лабораторная медицина: инновационные технологии лабораторного анализа и новые возможности их клинического применения» и специализированная выставка «Лабмедицина — 2017».
Место проведения: г. Барнаул.
Организатор: РАМЛД.

25–26 октября
Научно-практический образовательный форум «Инновационная лабораторная медицина: новые клинико-диагностические решения и современные аналитические технологии» и специализированная выставка «Лабораторная медицина — 2017».
Место проведения: г. Уфа.
Организатор: РАМЛД.

22–23 ноября
Научно-практический образовательный форум «Диагностическая лаборатория — клиника: значимость инновационных и традиционных лабораторных тестов» и специализированная выставка «Лаборатория — 2017».
Место проведения: г. Иваново.
Организатор: РАМЛД.

Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики:
119526, Россия, Москва, а/я 117
E-mail: ramld@ramld.ru.

Методические аспекты организации и проведения внутренних аудитов в медицинских организациях

А. В. Эмануэль, к.т.н., нач. отдела[1]
С. М. Цибина, гл. специалист отдела[1]
Е. В. Аверьянова, специалист отдела[1]
А. В. Авраменко, зам. рук. органа по сертификации систем менеджмента, гл. специалист-эксперт[2]
Г. А. Иванов, к.м.н., гл. врач[3]
О. Р. Швабский, зам. ген. директора[4]
Р. Бошкович, тех. рук. проекта и консультант в рамках проекта «Внедрение системы менеджмента качества и безопасности в здравоохранение Республики Сербской»[5]
Е. А. Дуванова, зам. директора[6]
А. В. Каленская, рук. группы обеспечения качества КДЛ[7]

[1]Отдел мониторинга и управления системами менеджмента качества ГБУЗ «Научно-исследовательский институт организации здравоохранения и медицинского менеджмента» Департамента здравоохранения г. Санкт-Петербург
[2]ООО «Тест–С.-Петербург», г. Санкт-Петербург
[3]ФГБУ «Консультативно-диагностический центр с поликлиникой» Управления делами Президента России, г. Москва
[4]ФГБУ «Центр мониторинга и клинико-экономической экспертизы» Росздравнадзора, г. Москва
[5]Bonex Inženjering Co., г. Белград, Сербия
[6]ООО «Центр лабораторной диагностики», г. Вологда
[7]ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва

Methodical aspects of organizing and conducting internal audits in medical organizations

A. V. Emanuel, S. M. Tsibina, E..V. Averyanova, A. V. Avramenko, G. A. Ivanov, O. R. Shvabsky, R. Bošković, E. A. Duvanova, A. V. Kalenskaya

Scientific and Research Institute of Public Health Service and Medical Management, Moscow; Test–St. Petersburg Co., Saint Petersburg; Consultative and Diagnostic Centre with Polyclinic of the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow; Centre for Monitoring and Clinical and Economic Expertise of Roszdravnadzor, Moscow; Bonex Inženjering Co., Belgrade, Serbia; Centre of Laboratory Diagnostics Co., Moscow; Central Scientific and Research Institute for Epidemiology, Moscow; Russia

Резюме

В статье рассмотрены методические подходы к организации и проведению внутренних аудитов в медицинских организациях (МО). Описаны основные сложности, с которыми сталкиваются сотрудники МО при создании служб и подразделений по внутренним аудитам.

Ключевые слова: ***внутренние аудиты, ИСО, менеджмент качества, система менеджмента качества.***

Summary

The article considers methodical approaches to the organization and implementation of internal audits in medical organizations. The basic complexities, with which the employees of medical organizations are involved in the creation of services and subdivisions by internal audits, are described.

Key words: ***internal audits, ISO, quality management, quality management system.***

Уважаемые коллеги!

В настоящей работе приведен анализ практического опыта организации служб по внутренним аудитам в медицинских организациях (далее по тексту МО), а также результатов оценки эффективности подобных структур.

В рамках представленной статьи не будут рассматриваться широко освещенные в литературе [1, 2] теоретические аспекты проведения внутренних аудитов (далее по тексту ВА). Фокусом исследования является определение факторов успехов и неудач при организации ВА.

В целом были проанализированы системы внутренних аудитов в более чем 50 МО России и Казахстана.

Чаще всего ВА начинают вводиться в практику деятельности МО в рамках внедрения системы менеджмента качества (СМК). Следует подчеркнуть, что ВА требуются практически всеми стандартами по менеджменту качества в сфере здравоохранении (ISO 9001, JCI, GCP, предложениями [практическими рекомендациями] по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в МО [стационаре] [3] и т. д.).

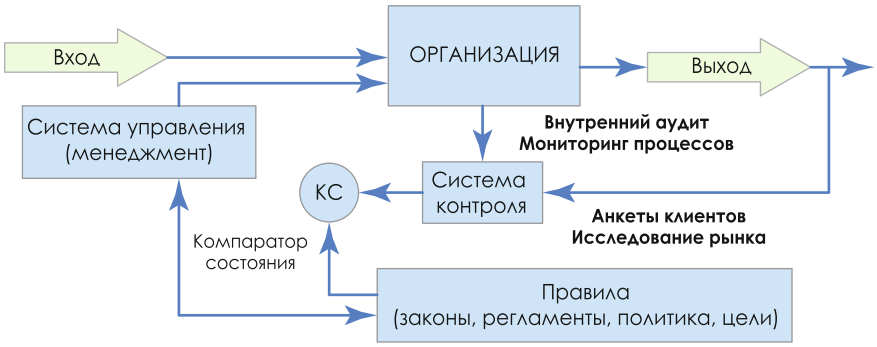


Рисунок 1. ВА как часть системы комплексной внутренней оценки функционирования организации.

Весьма часто, особенно на начальных этапах внедрения ВА, основной целью данного вида работ считается формальное выполнение требований стандарта либо подготовка к прохождению внешних проверок и надзоров.

В этом случая эффективность ВА ограничена: МО будет успешно проходить внешние проверки, но практическая польза, ожидаемая от ВА, не будет реализована организацией в полной мере.

На наш взгляд, внутренний аудит — в первую очередь инструмент управления, который требуется главному врачу. Корректно организованные ВА позволяют выявлять и эффективно устранять различные проблемы в работе организации, обнаруживать зоны рисков и управлять ими. Также ВА — это мощный практический инструмент для улучшений различных видов деятельности.

Наиболее часто встречающиеся ошибки при организации и проведении ВА могут быть сгруппированы в несколько основных классов.

1) Не все элементы деятельности МО подвергаются внутренним аудитам

Важно, чтобы все без исключения аспекты деятельности МО подвергались аудитам. Зачастую основное внимание фокусируется на аудите медицинских процессов. При этом многие важные элементы, обеспечивающие процессы оказания медицинской помощи, остаются без должного внимания. Приведем примеры таких процессов: управление оборудованием и метрологическое обеспечение, безопасность среды, управление персоналом (не только кадровый документооборот), идентификация пациентов, управление различными техническими процессами: водоочистки, электроснабжения и резервного электроснабжения, снабжения медицинскими газами, вентиляции и т. д.

В комплексную систему ВА следует включить все процессы МО, не только медицинского профиля.

2) Внутренний аудит рассматривается исключительно как проверка выполнения законодательных требований

По сути своей, ВА — это сравнительный анализ реальных процессов и действий с некоторыми существующими требованиями. Часто в качестве подобных требований в МО рассматривают лишь законодательно установленные. Такой подход значительно ограничивает возможности аудиторов и уменьшает потенциал ВА по совершенствованию и улучшению деятельности.

3) Внутренние аудиты не охватывают финансово-экономические аспекты деятельности организации

Большинство стандартов по менеджменту качества имеют двойное применение: 1) непосредственно в МО для создания и (или) совершенствования СМК и 2) для прохождения процедур внешнего подтверждения соответствия (сертификации, аккредитации и т. д.). Формально вопросы экономической эффективности зачастую оказываются исключены из сферы действия стандартов (хотя во всех стандартах требуется наличие необходимых ресурсов для выполнения соответствующих работ). Это связано с тем, что при внешних проверках весьма сложно и не всегда возможно выполнение оценки экономической эффективности деятельности. Однако ВА отличаются от внешних аудитов (при сертификации, аккредитации) именно тем, что следует и необходимо включать в область проверки вопросы экономической эффективности деятельности организации.

4) Внутренний контроль качества рассматривается как аналог внутренних аудитов

Любой внутренний контроль качества лишь элемент внутреннего аудита. Очень часто на практике встречается ситуация, когда под внутренними аудитами понимается контроль качества оказания медицинской помощи, осуществляемый путем анализа медицинских записей в картах пациентов. К сожалению, данный вид работ является лишь небольшой частью грамотно организованного ВА.

5) Проверка руководителем работы подчиненных, как и любая ситуация, когда персонал проверяет свою работу, не является внутренним аудитом

Обходы главной медсестры и оценка деятельности главной медсестрой старших медсестер являются рутинной работой и функциональными обязанностями главной медсестры: ведется проверка работы подчиненных со стороны руководящего персонала. Подобный вид работ также не следует напрямую относить к ВА, так как нарушается один из основных его принципов — независимость. Как известно, при проведении ВА не допускается выполнения проверки собственной работы и работы подчиненных.

6) Внутренний аудит завершается фиксацией проблемы и ее устранением без анализа причин

При проведении ВА недостаточно выявить факт нарушения или зону риска и устранить конкретную проблему. Необходимо разработать меры,

предотвращающие появление подобных проблем в будущем. Иными словами, следует проанализировать причины выявленных сбоев, нарушений, потенциальных ошибок и т.д. и заняться их устранением. Для этого необходимо выполнить глубокий анализ, а также вести мониторинг повторений однотипных проблем. В случае, если одни и те же сбои фиксируются при ВА снова и снова, это говорит о том, что завершающий этап ВА — реализация мер по устранению причин проблем — не эффективен.

Далее приведены практические примеры разбора вышеперечисленных ошибок.

При разработке годовой программы ВА (методические рекомендации перечислены в ISO 19011 [1]) необходимо запланировать проверку всех элементов СМК МО.

Методически можно выделить три основных элемента СМК МО.

1. «Скелет» СМК — базовые управленческие процессы, которые имеются в любой организации: стратегическое и тактическое планирование, управление ресурсами, взаимодействие с поставщиками, управление персоналом, документооборот и т.д. Основные требования к данному блоку СМК в общем виде прописаны в стандартах серии ISO 9000. Наиболее частые ошибки проведения ВА по данному элементу СМК заключаются в том, что критериями аудита являются исключительно требования ISO 9001 и, в случае с государственными организациями, нормативные документы о закупках. Более приемлемая ситуация наблюдается, когда, помимо ISO 9001, оценивается реализация фундаментальных принципов СМК, описанных в ISO 9000, а также используется ISO 9004. Однако такой подход также видится недостаточно эффективным. Именно оценка базовых управленческих решений МО является наиболее проблемной областью ВА. Это связано с общей компетентностью внутренних аудиторов МО и системой планирования ВА. Зачастую ВА проводит статичный состав внутренних аудиторов, не имеющих достаточной и должной квалификации в области управленческих процессов, особенно на уровне высшего менеджмента МО. Для проведения грамотного и эффективного ВА управленческих процессов в состав группы внутренних аудиторов должен входить квалифицированный менеджер, способный не только оценить факт применения различных управленческих инструментов (SWOT, PEST, BSC, KPI и т.д.), но и то, насколько грамотно и эффективно эти инструменты применяются.
2. «Мышцы» СМК — набор специальных процессов. В МО это процессы оказания медицинской помощи. Можно выделить указанные специальные процессы по направлениям. Например, качество в отделении гастроэнтерологии, офтальмологии и в медицинской лаборатории — принципиально разные вещи. Кроме того, можно определить некие общие для МО специальные медицинские процессы, наиболее полно отраженные в предложениях ФГБУ «ЦМИКЭЭ» Росздравнадзора [3], как то: идентификацию пациента, обеспечение эпидемиологической безопасности, обеспечение лекарственной безопасности, организацию экстренной и неотложной помощи и т.д. Обычно указанные процессы подвергаются особому вниманию при проведении ВА, однако и в данном контексте вопросы квалификации команды аудиторов являются ключевыми. Так, по опыту проведения внешних аудитов МО, организация эпидемиологической безопасности, экстренной помощи и т.д. весьма часто недостаточна.
3. «Нервная система» СМК — набор специализированных инструментов менеджмента качества, таких как:
   - стандартизация и алгоритмизация работ;
   - менеджмент рисков;
   - внутренние аудиты;
   - управление несоответствиями и т.д.

Выделение указанного блока из основных управленческих процессов спорно и выполнено исключительно в методических целях. Однако зачастую под системой менеджмента качества ошибочно понимают именно эти специальные инструменты.

Аудит этих инструментов также вызывает определенные трудности, так как обычно за ведение оцениваемых процессов отвечают те же сотрудники, что и за проведение ВА. То есть, по сути, служба качества вне зависимости от ее формального названия. При проведении ВА данных процессов крайне сложно соблюдать принцип беспристрастности.

Организационно-методические проблемы управления ВА

Помимо описанных выше, существуют ряд технических ошибок при организации и проведении ВА.

1) Акцент на анализе документов и записей

Ниже рассмотрены наиболее распространенные инструменты ВА, применяемые в МО. Самый известный — анализ документов и записей. Оценка медицинской информации по картам пациентов — классический пример подобного подхода.

На наш взгляд, анализ документов — необходимый, но наименее эффективный инструмент ВА. Наиболее полезными, с нашей точки зрения, являются следующие инструменты:

- наблюдение за выполнением работ;
- прямой опрос персонала в процессе проведения ВА;
- выполнение тестового задания;
- фотография рабочего дня;
- хронометраж;
- прямой опрос пациентов в процессе проведения ВА.

Опрос пациентов — наименее часто применяемый инструмент ВА. Обратим внимание, что речь идет не об анкетировании и оценке удовлетворенности, но именно о прямом опросе. Например, весьма показателен бывает опрос пожилых стационарных пациентов на предмет того, как именно они получают лекарственные средства.

2) *Несоблюдение основных правил проведения ВА*

Напомним ряд базовых правил проведения внутренних аудитов:

1. ВА проводят сотрудники самой МО, при этом абсолютно допустимо привлечение сторонних специалистов для оценки специализированных направлений работы;
2. недопустимо проверять собственную работу. Среди прочего рутинная задача руководителей по оценке работы подчиненных не является внутренним аудитом;
3. ВА — плановый вид деятельности. Обычно создается годовая программа ВА. При этом допустимо вносить изменения в данную программу, проводить внеплановые ВА;
4. любые виды внутреннего контроля качества могут быть рассмотрены как частные случаи ВА, но внутренний контроль никогда не будет тождественен ВА. ВА намного более широкий вид деятельности.

3) *Различные внеплановые проверки не рассматриваются как внутренние аудиты*

Часто плановые ВА проводятся в соответствии с разработанной годовой программой для постоянной оценки соответствия СМК требованиям и для выявления возможных рисков. Внеплановые ВА могут быть инициированы высшим руководством или линейными руководителями в следующих случаях (для примера):

- поступление претензии от пациента или сотрудника МО;
- несчастный случай;
- нештатная ситуация;
- при подготовке к внеплановой внешней проверке;
- при появлении изменений, которые могут серьезно повлиять на работу (например, изменение в законодательстве — приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 31.08.2016 г. № 647н «Об утверждении Правил надлежащей аптечной практики лекарственных препаратов для медицинского применения»; уход ключевого сотрудника; ввод в эксплуатацию нового оборудования и т.д.).

4) *Акцент на оформлении документов по ВА, а не на содержании*

Очень часто акценты при организации работ по ВА делают на формальных задачах: выбор формы программы и плана ВА, принятие решения о необходимости использовать чек-листы, возможности совместить акт по результатам ВА и план по корректирующим действиям и т.д. Следует подчеркнуть, что эти элементы работа по ВА важны, но не на них следует фокусироваться, особенно в начале построения данного вида работ в МО. Ключевой задачей является корректное формирование аудиторской группы для решения конкретной задачи аудита.

5) *Недостаточная квалификация команды внутренних аудиторов*

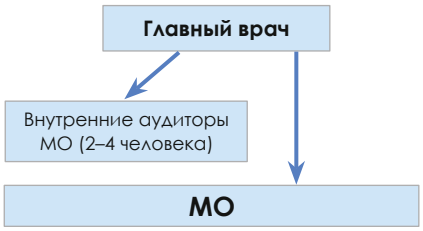
При формировании команды аудиторов необходимо соблюдать следующие требования:

1. независимость — аудиторы должны быть максимально организационно независимы от проверяемых видов деятельности для избегания конфликтов интересов;
2. компетентность — общая сумма знаний, умений и навыков аудиторской команды должна быть достаточной для проведения детальной оценки, проверяемой работы с точки зрения технических аспектов деятельности, системного подхода. Также крайне важно умение аудиторов управлять конфликтными ситуациями, которые могут возникнуть в процессе общения с персоналом, особенно при выявлении несоответствий.
3. Беспристрастность — аудиторы должны обладать квалификацией, позволяющей проводить аудиты максимально объективно, без учета личностных и иных искажающих факторов.

6) *Неэффективная структура управления внутренними аудитами*

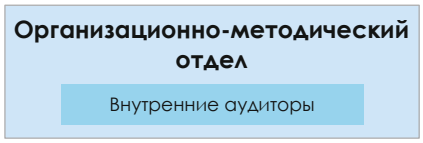
Исходя из перечисленных требований, в каждой конкретной МО необходимо принять решение об организации службы ВА. При кажущейся простоте формальный подход к решению может привести к неэффективности ВА. Приведем примеры наиболее часто встречающихся вариантов организации служба по ВА в МО и кратко охарактеризуем их.

1) В МО выделяются несколько (обычно 2–4) человек, которые назначаются внутренними аудиторами, освобождаются от всех других видов работ, подчиняются непосредственно главному врачу, проходят специальное обучение по технологии проведения ВА. Эти аудиторы проводят все ВА в МО самостоятельно.



При полном подходе к организации полностью реализуется принцип независимости. При этом, однако, возникают ряд существенных сложностей. Квалификация команды никогда не будет достаточной для глубокой оценки всех процессов и элементов СМК.

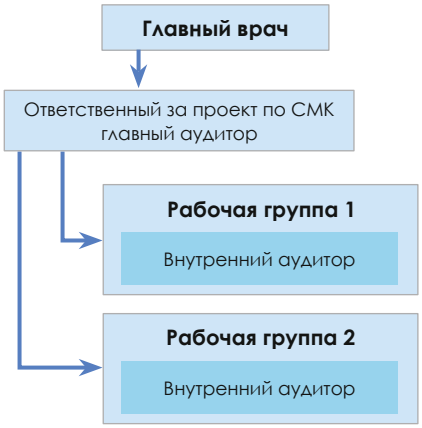
2) Второй вариант, когда внутренние аудиторы являются сотрудниками организационно-методического отдела (вне зависимости от формального наименования данной структуры).



В данном случае может быть нарушен принцип независимости, также остается открытым вопрос об общей квалификации группы по аудиту.

3) Более эффективным видится вариант, когда главный аудитор (обычно он также является ответственным за СМК МО) подчиняется непосредственно главному врачу (принцип независимости), но в качестве аудиторов привлекаются сотрудники отделений. При планировании аудита формируется группа аудиторов, по своей квалификации полностью подходящая под конкретную задачу аудита.

Аналогичную структуру можно построить не только по отделениям, но и по общим медицинским процессам, описанным в предложениях ЦМИКЭЭ Росздравнадзора [3]. При реализации данного стандарта создается порядка 11 рабочих групп. В таком случае в каждой рабочей группе назначается внутренний аудитор.



7) Акцент на формальных требованиях к квалификации внутренних аудиторов

При реализации данного варианта МО часто сталкиваются с крайне формализованным подходом к требованиям к внутренним аудиторам. Считается, что все внутренние аудиторы должны пройти специальное внешнее обучение. Для обучения большого числа сотрудников МО технологии проведения ВА зачастую не хватает ресурсов. В результате выполнение данного вида работ затрудняется: «Мы не можем привлечь Марию Петровну к работам по ВА, так как у нее нет сертификата внутреннего аудитора». Подобный формальный подход мешает эффективной реализации ВА.

Из такой проблемной ситуации существуют как минимум два выхода.

Первый: провести внутреннее обучение сотрудников, привлекаемых к ВА. К примеру, главный аудитор может пройти внешнее обучение, а затем организовать внутренний тренинг для соответствующей группы сотрудников.

Второй: если соблюдать все формальности, привлекаемых специалистов отделений можно именовать техническими экспертами, а не внутренними аудиторами. На наш взгляд, именно для целей ВА это не играет роли. Важна эффективность работы команды, а не организационные формальности.

Система менеджмента качества не может быть лучше и эффективнее, чем общая квалификация персонала. Именно ВА предоставляют возможность максимизировать использование интеллектуальных ресурсов МО. По сути, ВА — механизм управления знаниями организации и метод повышения производительности.

Организация эффективной системы ВА

Можно выделить три базовых фактора успешного проведения ВА:

1. квалификация команды, которая проводит ВА;
2. отсутствие страха у проверяемого персонала;
3. поддержка высшего руководства.

О квалификации было сказано ранее. Остановимся на двух других факторах. Рассмотрим фактор 3 — поддержку высшего руководства. Такая поддержка должна быть неформальной. В первую очередь эффективность ВА будет зависеть от того, как топ-менеджер (главный врач, генеральный директор и т. д.) понимает для себя задачи ВА. Если топ-менеджер считает, что ВА — механизм защиты от внешних надзоров, то все ВА будут направлены исключительно на соблюдение законодательных требований. Если высшее лицо организации считает, что ВА требуются только для получения сертификата соответствия или прохождения процедры подтверждения соответствия (например, сертификации, аккредитации), то ВА будут сфокусированы на формальном соблюдении требований соответствующих стандартов (ISO 9001 и др.). Если же топ-менеджмент имеет четкое понимание, что ВА является инструментом совершенствования, управления рисками и развития, то в этом и только в этом случае от применения ВА можно добиться максимального практического эффекта.

Авторы настоящей статьи методически выделяют два вида внутренних аудитов:

1) ВА, основанный на конкретных критериях, обычно зафиксированных в законодательстве, ведомственных нормативных документах, требованиях стандартов. Указанные требования реализуются в МО через действующие СОПы, алгоритмы и другие внутренние инструкции. ВА основаны на проверке соответствия реальной деятельности персонала тому, что зафиксировано во внешних и внутренних документально оформленных требованиях. Для проведения данного ВА аудиторам не требуются серьезные глубокие знания, достаточно хорошо владеть именно методикой проведения ВА, изучения документов и записей, технологией опросов персонала и пациентов. Основная цель данных ВА — фиксация ситуации, то есть повлиять на персонал с целью работать соответственно установленным требованиям и критериям.
2) ВА, основанный на выявлении рисков и возможностей для совершенствования. В отличие от первого, базового варианта ВА, основанного на критериях, данный ВА проводится изначально более отстраненно от жестких требований. Аудиторы изучают конкретный технологический цикл, долго наблюдают за текущей работой персонала. Часто проводится фотографирование рабочего дня. Основной вопрос, который интересует экспертов, проводящих ВА,— ассоциированные с данной работой риски. По факту: что может пойти

Таблица 1

	Внутренний аудит, основанный на критериях	Внутренний аудит, основанный на риск-ориентированном подходе
Цели аудита	Зафиксировать текущую ситуацию. Сравнить «что есть» с «что должно быть»	Оценить риски. Найти возможности для улучшений. То есть изменить, дополнить сами требования
Особенности проведения	Сравнение того, что наблюдается в работе, с установленными требованиями	Анализируется то, как выполняется работа с позиции ассоциированных рисков, «хороших» (надлежащих) практик, данных бенчмаркинга и т.д.
Требования к аудиторам	Средняя техническая квалификация, хорошие знания технологий проведения ВА. Основные методы аудита: анализ документов, записей, формализованный опрос	Очень высокие техническая квалификация и опыт в проверяемых видах деятельности. Основные методы: фотографирование рабочего дня, различные формы опросов, наблюдения, выполнение тестовых заданий и т.д.
Ожидаемые результаты	Фиксация ситуации. Не дать работать хуже, чем необходимо. Быть защищенными перед внешними проверками	Улучшение, движение вперед, развитие, снижение рисков

Таблица 2

№	Группы показателей	Показатели	№	Порядок оценки показателей
1.1	Система управления персоналом	Наличие приказов главного врача по вопросам управления персоналом		Проверить наличие приказов главного врача по вопросам
			1.1.1	Организация системы обучения персонала
			1.1.2	Организация системы обучения руководителей структурных подразделений, заместителей руководителей
			1.1.3	План по формированию и развитию кадрового потенциала МО / кадрового резерва руководителей подразделений
			1.1.4	Социально-психологическое управление персоналом, включая программы адаптации новых сотрудников, молодых специалистов, мотивации и т.д.
			1.1.5	Организация системы оценки персонала
		Регулярный аудит управления персоналом	1.1.6	Проверить наличие отчетов о результатах аудитов (регулярность проведения не реже 1 раза в полгода)
			1.1.7	Проверить наличие планов по устранению недостатков с указанием ответственных и сроков

не так? Достаточен ли контроль? Может ли персонал совершить ошибку? Какие методы предотвращения или выявления ошибок применяются? И т. д. Данный ВА могут проводить только высокопрофессиональные сотрудники, владеющие детальными техническими знаниями в проверяемых областях. Ими могут быть также привлекаемые к проведению ВА внешние специалисты. Основная цель данных ВА — поиск возможностей для улучшений, то есть развитие и изменение текущей ситуации.

Комплексная система внутренних аудитов МО в идеале должна предусматривать использование обоих типов ВА (табл. 1).

При проведении ВА часто сталкиваются еще с одной непростой задачей. Обычно мы работаем со стандартами открытого типа. То есть стандарт (например, ISO 9001) предъявляет требование, что должно быть. Но в стандарте отсутствует ответ на вопрос, как это требование реализовать.

Рассмотрим пример предложений ЦМИКЭЭ Росздравнадзора [3].

Предположим, МО проводит ВА по первому разделу предложений — управление персоналом. В критериях для оценки приведены следующие пункты (табл. 2).

У сотрудников, проводящих ВА, возникает вопрос, как именно оценить соответствие МО данным требованиям? Часто совершаются две ошибки. Проводится исключительно формальная проверка, если имеется требуемый приказ-соответствие. О том, насколько грамотно приказ составлен и действительно ли решает требуемую задачу, речь не идет. Вторая ошибка — пытаться провести оценку без учета реалий конкретной МО.

Для решения данных проблем существует хорошо зарекомендовавший себя инструмент, помогающий внутренним аудиторам — детализированный чек-лист. Формализованные чек-листы особенно полезны при начальном этапе внедрения системы ВА. Чек-лист — это инструмент внутреннего аудитора, который позволяет структурировать работу и не упустить требования и задачи, которые необходимо решить. В чек-листе (или контрольном листе) устанавливаются минимальный перечень вопросов и объем проверки, служащий формой для регистрации данных, таких как подтверждающие свидетельства аудита.

Уместно привести цитату: «Аудиторы зла не помнят. Они все записывают».

Следует отметить еще одну распространенную ошибку — чрезмерно формализованные чек-листы, в которых переписаны требования пунктов того или иного стандарта (табл. 3).

Польза от подобного чек-листа, на наш взгляд, минимальна. Обычно такие чек-листы применяются не для внутреннего аудита, а для внешних проверок, когда аудиторы не имеют информации о проверяемой структуре. Но и в этом случае грамотный внешний аудитор на основе предварительного изучения документации СМК конкретной организации детализирует чек-лист и внесет туда, помимо тре-

Таблица 3

№	Раздел ГОСТ Р ИСО 15189–2015	Свидетельства	Соответствие (+), несоответствие (–), требование не применимо (п/а)	Замечания и рекомендации
4.1	Ответственность менеджмента			
4.2	СМК			
4.3	Управление документацией			
4.4	Соглашение об услугах			
4.5	Управление субподрядными лабораториями			
…	…			

Таблица 4

№	Проверяемые требования	Нормативное требование	Оценка			Наблюдения / замечания
1.	**Помещения, санитарно-эпидемиологические требования**					
	Площадь не менее 12 м^2	СанПиН 2.1.3.2630–10 (приложение 1)				
	Состояние стен, потолка, пола: гладкие, влагостойкие, устойчивые к применению дезинфицирущих средств; без повреждений и трещин	СанПиН 2.1.3.2630–10 (раздел 4)				
	Наличие умывальника с подводкой горячей и холодной воды, оборудованного смесителем с локтевым (бесконтактным) управлением. Наличие дозаторов с жидким (асептическим) мылом и раствором кожного антисептика	СанПиН 2.1.3.2630–10 (п. 5.5–5.6)				

бований стандарта, дополнительные законодательные и внутренние требования организации.

Единственной ситуацией, когда от подобного чек-листа при проведении ВА может быть практическая польза, является подготовка к внешнему аудиту на соответствие конкретному стандарту, когда следует посмотреть на свою организацию глазами внешнего аудитора и быть уверенным, что все требования данного стандарта выполняются, соответствующие документальные свидетельства в наличии, и организация готова к процедуре внешнего подтверждения (сертификация, аккредитация и т.д.)

Приведем еще один пример чек-листа, направленного на подготовку к внешней надзорной проверке (чек-лист оценки процедурного кабинета для взятия биоматериала на соответствие санитарно-эпидемиологическим требованиям) (табл. 4).

Корректно составленный чек-лист:

- учитывает требования не только стандарта, но и все другие применимые требования (законодательство, «хорошие» [надлежащие] практики, внутренние требования и т.д.);
- создается, исходя из практики конкретной организации, то есть учитывается, как выполнены общие требования (стандарта, законодательства и т.д.).

Насколько эффективен ранее приведенный чек-лист для оценки процедурного кабинета? Если речь идет о подготовке к внешнему надзору и частично для оценки соблюдения правил биологической безопасности, он эффективен, но может быть расширен. Например, аудитору можно провести наблюдение за работой медицинской сестры непосредственно с пациентом. Тогда чек лист будет иметь подобный вид (табл. 5) [4].

Законодательные требования лишь часть критериев ВА. Помимо законодательных требований, полезно учитывать и проверять выполнение:

- внутренних установленных требований — СОПов, алгоритмов, инструкций производителей и т.д.;
- риск-ориентированный аудит — какую ошибку можно совершить;
- элементы «хороших» практик (надлежащих практик) и т.д.

Для грамотного проведения ВА внутренний аудитор должен обладать специфичной квалификацией. Например, проведение опросов персонала и пациентов требует выполнения определенного алгоритма, чтобы данные опроса были валидны, объективны и максимально полны.

Обучение внутренних аудиторов — одна из задач руководства МО.

Таблица 5

Вопрос	Пациент 1		Пациент 2		Пациент 3	
	+	-	+	–	+	–
Проверила ли медсестра срок годности вакуумных пробирок перед взятием?						
Проверила ли медсестра соблюдение рекомендаций к подготовке пациента перед взятием крови?						
Производилось ли взятие крови в пробирку на биохимию до пробирки на общий анализ крови?						
Была ли произведена маркировка пробирок в присутствии пациента?						
Были ли пробирки с кровью немедленно поставлены в штатив сразу после их наполнения и перемешивания?						

Ниже в качестве примера представлен стандартный алгоритм проведения опроса сотрудников или пациентов.

- Задайте вопрос / наблюдайте, как происходит фактически
- Выслушайте ответ
- Уточните, как нужно делать
- Выслушайте ответ. Уточните, как установлено требование (документ, устно) и как доведено до сведения сотрудника
- Запросите свидетельство выполнения требования
- Изучите свидетельство
- Зафиксируйте свидетельство
- Сравните свидетельство с требованием
- Сделайте вывод, оцените риски

При работе со стандартами по менеджменту качества можно выделить дополнительный ряд существенных ошибок.

1) Попытка найти соответствие там, где оно отсутствует, или же формализованный подход к оценке. Суть ошибки заключается в том, что вместо того, чтобы спросить себя, насколько эффективно для МО выполняется требование стандарта, сотрудники пытаются доказать, что требование выполнено, пусть и формально. Для СМК в таком подходе смысл отсутствует. Это только потеря возможности улучшить свою работу и двигаться вперед.
2) ВА завершается фиксацией конкретного несоответствия и его устранения. Не проводится анализ причин выявленной проблемы. Это нарушение логики и идеологии всех стандартов по менеджменту качества. Известно, что задачей ВА является не просто выявление несоответствия, но и анализ корневой причины для ее устранения. Для этого существуют ряд формализованных инструментов: FTA-анализ, «пять почему» и т. д. Часто сотрудники возражают, что если для каждого выявленного несоответствия проводить подобный анализ, то на основную работу не хватит времени. Не вдаваясь в дискуссию, отметим, что в организациях, где подобный анализ проводится, за 2–3 года удается существенно снизить различные сбои в работе и ассоциированные с ними риски.

Применяя формализованные методы анализа причин несоответствий, также совершают ряд стандартных ошибок.

Приведем пример применения метода «пять почему», когда после выявления проблемы следует задать последовательно пять раз вопрос «почему это произошло»? Выявленная проблема: новый прибор для дыхательной прикроватной диагностики выдает множество ложноположительных результатов. Анализ показал (первый цикл: «почему это произошло»), что пациенты не выполняли условий подготовки к проведению исследования. Данный тип диагностики (дыхательные тесты для гастроэнтерологии) чрезвычайно чувствительны к нарушениям в преаналитике, в том числе к несоблюдению пациентами режима питания перед исследованиями. Это произошло (второй цикл: «почему»), так как персонал не акцентировал внимание пациентов на подготовке к проведению исследований и недостаточно жестко контролировал готовность пациентов. Это, в свою очередь, произошло (третий цикл) из-за того, что персонал МО не был в достаточной мере осведомлен об особенностях данного типа диагностики и оборудования, что случилось (четвертый цикл), так как не была запрошена соответствующая информация у поставщика, и это в конечном итоге привело к корневой причине (пятый цикл): с данном МО отсутствует соответствующая формализованная процедура ввода в эксплуатацию новых видов оборудования для прикроватной диагностики (ISO 22870).

Какое решение принимают в МО по результату выявленной проблемы — ложноположительные результаты? Разработать и внедрить процедуру ввода в эксплуатацию новых приборов для исследований по месту лечения. Правильно ли это? С точки зрения методологии «пять почему», нет.

Опишем найденные промежуточные причины наблюдаемой проблемы. Проблема: новый POCD выдает много ложноположительных результатов. Анализ причин:

1. пациенты не выполняют условия подготовки;
2. персонал не акцентировал внимание пациентов, не контролировал выполнение правил подготовки;
3. персонал не знал особенностей работы данного POCD;
4. у поставщика не запросили информацию;
5. нет процедуры ввода POCD в рутинную эксплуатацию.

Для полноценного применения методологии «пять почему» для каждого цикла необходимо разработать план исправлений, корректирующих и предупреждающих действий (табл. 6).

Основные выводы по итогам вышеописанного анализа применения ВА

1) Квалификация аудиторов: необходимо привлечение технических специалистов.

При оценке любого процесса (процедуры) СМК можно выделить следующие элементы, которые необходимо проверить:

- персонал (квалификацию);
- инструментарий (оборудование, р/м, метрологическое обеспечение и т. д.);
- помещения;
- СОПы, алгоритмы.

Квалификация аудиторов должна быть достаточной, чтобы в полной мере оценить все исследуемые элементы.

2) Критерии аудита. Методически можно выделить критерии аудита, которые следует применять последовательно. Например, на начальном этапе внедрения ВА можно ограничиться базовыми критериями (законодательными требованиями), постепенно реализуя до риск-ориентированных ВА (рис. 2).

Таблица 6

Наблюдаемая проблема	Новый POCD выдает много ложноположительных результатов
Коррекция	Временно прекратить эксплуатацию прибора
Поиск причины («пять почему»)	*План работ (корректирующие и предупреждающие действия)*
1) Пациенты не выполняют условия подготовки	1) В будущем не применять данный тип прибора при нарушении подготовки 2) Проанализировать степень влияния нарушений подготовки на результаты 3) Проанализировать наличие инструкций для пациентов их понятность
2) Персонал не акцентировал внимание пациентов, не контролировал выполнение правил подготовки	1) Разработать процедуру информирования пациентов и контроля выполнения правил; 2) Обучить персонал
3) Персонал не знал особенностей данного POCD	1) Кто работает с POCD и должен знать? 2) Провести обучение с привлечением поставщика
4) У поставщика не запросили информацию	Запросить информацию у поставщика
5) Нет процедуры ввода POCD	Разработать и внедрить процедуру

Приведем пример реализации иерархического подхода к критериям. Рассмотрим дозатор, который применяется в любой медицинской лаборатории. На самом базовом уровне законодательные требования: мы должны проверить наличие и актуальность поверки. Далее наличие системы идентификации и инвентарного учета. Обычно на этом проверка останавливается. Однако, если в критерии аудита будут включены принципы хорошей лабораторной практики и риск-ориентированный подход, мы можем спросить себя: предположим, конкретный дозатор применяется в ИФА-диагностике или при выполнении больших объемов аликвотирования, то есть используется интенсивно. Достаточно ли ежегодной проверки его работоспособности (поверки)? Насколько критична для нас точность конкретного рассматриваемого дозатора? Возможно, как это принято в европейских лабораториях, стоит проводить ежемесячную проверку правильности работы по объему? Подобный нюанс может стать дополнительным внутренним требованием, которое не зафиксировано в законодательстве, но может существенно снизить риски для качества выполняемой работы.

Приведем другой пример с тем же дозатором. Считается правильным для разведения контрольных материалов использовать специально выделенный дозатор. Это также элемент хороших практик.

Рисунок 2.

Таким образом, чем шире критерии аудита, которые мы применяем, тем больше возможностей для улучшений может быть выявлено и реализовано.

Наконец, наверное, самым важным для эффективности ВА является понимание персоналом МО, что ВА — это не надзор. Если по результатам ВА администрация МО будет применять определенные санкции (штрафы, выговоры, взыскания и т.д.), то внутренние аудиторы станут врагом номер один в МО, а персонал будет стараться максимально скрывать и умалчивать существующие проблемы.

Список литературы

1. *ГОСТ Р ИСО 19011–2012 (ISO 19011:2011) Руководящие указания по аудиту систем менеджмента, Москва, Стандартинформ, 2013, С. 42.*
2. *В. А. Дзедик. Создание и аудит систем менеджмента качества в соответствии с международным стандартом ISO 9001:2015, Дзедик В. А., Езрахович А., Волгоград: ПринТерра-Дизайн, 2015, С. 300.*
3. *Предложения (практические рекомендации) по организации внутреннего контроля качества и безопасности медицинской деятельности в медицинской организации (стационаре), ФГБУ «ЦМИКЭЭ» Росздравнадзора. URL http://15189.ru/data/documents/Predlozheniya-po-organizacii-VKKiBMD-v-medicinskoy-organizacii.pdf (дата обращения: 26.03.2017).*
4. *Ковалевская С. Н. Стандартизация лабораторной диагностики в городах России и СНГ, организация преаналитического этапа, С.Н., Ковалевская, Л. А. Хоровская, Н. Г. Петрова, Лабораторная служба. 2016; 5.*

ЛабМетод

THARMAC

Cellspin

Цитоцентрифуги

Получение
тонкослойных
и монослойных
клеточных
препаратов

РЕКЛАМА

ООО «Лабметод Лтд», 121359, г. Москва, ул. Маршала Тимошенко, д. 19
Тел.: (495) 721-05-58, e-mail: pmv@labmetod.ru, http://www.labmetod.ru

Болезнь Педжета: описание клинического случая

А. А. Алтаева, к.м. н, зав. дерматовенерологическим отделением[1]
А. А. Тарасов, врач-хирург, зав. отделением[1]
С. В. Кулешова, врач высшей категории, зав. клинико-диагностической лабораторией[1], член Ассоциации клинических цитологов России, ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики[2]
Л. О. Минушкина, д.м.н., проф.[1,3]

[1]ФГБУ «Поликлиника № 2» Управления делами Президента РФ, г. Москва
[2]ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва
[3]Кафедра терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии учебно-научного медицинского центра ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента России, г. Москва

Case of Paget's disease

S. V. Kuleshova, A. A. Altaeva, A. A. Tarasov, L. O. Minushkina
Polyclinic № 2 of the Administrative Department of the President of Russia, Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of Russia; Moscow, Russia

Резюме
Рак Педжета или болезнь Педжета (БП) — это редкая форма рака молочной железы (РМЖ). Существующая эпидермотропная теория развития данной формы рака описывает появление в эпидермисе соска мигрирующих вдоль базальных мембран клеток протокового рака. БП в большинстве случаев сочетается с инвазивным или неинвазивным РМЖ. Однако в редких случаях, когда заболевание молочной железы протекает с изолированным поражением сосково-ареолярной зоны, пациенты длительное время могут не получать правильного диагноза и своевременного лечения. В описанном клиническом случае диагноз был установлен на основании цитологического исследования, так как все остальные методы не были информативными.

Ключевые слова: ***рак молочной железы, болезнь Педжета.***

Summary
Paget's cancer or Paget's disease (PD) is a rare form of breast cancer (BC). The existing epidermotropic theory of the development of this form of cancer describes the appearance in the epidermis of the nipple migrating along the basal membranes of the cells of the protocol cancer. PD in most cases is combined with invasive or non-invasive breast cancer. However, in rare cases, when the disease of the breast proceeds with an isolated lesion of the nipple-areola zone, patients for a long time may not receive the correct diagnosis and timely treatment. In the described clinical case, the diagnosis was established on the basis of a cytological study, since all other methods were not informative.

Key words: ***breast cancer, Paget's disease.***

С конца прошлого столетия во всех экономически развитых странах отмечается подъем заболеваемости раком молочной железы (РМЖ). В России РМЖ также является ведущей онкологической патологией. По данным заболеваемости населения, в России РМЖ у женщин составил в 2015 году 20,7% [1]. Среди различных проявлений РМЖ одна форма протекает с преимущественным поражением соска и ареолы молочной железы. По гистологической классификации (WHO 2012), БП относится к опухолям соска. Болезнь Педжета (БП) или интраэпидермальная аденокарциома является редкой опухолью, на долю которой приходятся от 0,5 до 5% всех злокачественных новообразований молочной железы [2, 3, 4]. Среди гистологических форм БП выделяют одну, для которой характерны изменения только в области сосково-ареолярного комплекса. В диагностике БП ныне выделяют клиническое обследование пациента с осмотром и пальпацией молочных желез и зон регионарного лимфооттока, маммографию, УЗИ, цитологический и гистологические методы исследования [6]. В случае с БП с изолированным поражением сосково-ареолярной области методы УЗ-диагностики и маммографии уступают цитологическим. Мы сообщаем о наблюдении БП из собственной поликлинической практики, когда ввиду отсутствия опухолевого узла в молочной железе диагноз рака Педжета (РП) был поставлен по результатам цитологического исследования.

Клинический случай

Пациенка К., 1937 года рождения, регулярно наблюдается в поликлинике. Обратилась к дерматологу по поводу высыпаний на коже ареолы правой молочной железы без субъективных ощущений. Из анамнеза данные изменения отмечает более одного года. Около четырех лет назад было проведено цитологическое исследование в другом медицинском учреждении. Со слов пациентки, патологии не выявлено. Также в настоящее время пациентка наблюдается аллергологом по поводу аллерговысыпаний (в ремиссии в настоящее время на фоне проводимой терапии), однако процесс на коже молочной железы остается торпидным на фоне инфузий дексаметазона и антигистаминных препаратов. При осмотре на коже в области ареолы правой молочной железы отмечаются отечность, гиперемия, шелушение, бляшка с незначительной инфильтрацией с нечеткими контурами, не-

правильных очертаний. Пациентка работала на заводе с химическими реагентами, после контакта с которыми возникали аллергические реакции кожи тела. Получала лечение у дерматолога. Проведено цитологическое исследование соскобов с поверхности соска. Цитологический диагноз: «найденные изменения соответствуют злокачественной опухоли (вероятно, железистому раку)».

Пациентка проконсультирована профессорами Н. А. Шапиро и Е. Н. Славновой. Цитологическая диагностика РП в типичных случаях не представляет сложностей. При полных клинических данных, адекватном соскобе с эрозированной поверхности соска удается получить положительный результат. Субстрат представлен крупными округлыми клетками с обильной нежной светлой цитоплазмой (рис. 1, 2). Опухолевые клетки относительно однотипные, круглые или неправильно овальные. В клетках иногда удается заметить пигмент: мелкий, пылевидный или гранулы [5]. Для клеток РП характерны ядрышки различных размеров (рис. 2). Цитоплазма клеток светлая или слабобазофильная, мелкозернистая или может иметь вакуолизацию (рис. 4). Ядра этих клеток крупные, гиперхромные, расположены эксцентрически (рис. 1, 3, 4).

Проведенное ультразвуковое исследование молочных желез показало наличие фиброзно-жировых инволютивных изменений. На маммограммах обеих молочных желез в двух проекциях (краниокаудальной и медиолатеральной) молочные железы не деформированы. Кожа и ареолы не изменены. Молочные железы представлены жировой и фиброзной тканью. Плотность ткани первой степени. Структура ее не изменена, с признаками глубокой инволюции, с обеих сторон единичные рассеянные макрокальцинаты, слева в верхненаружном квадранте интрамаммарный лимфатический узел. Отдельные узловые образования и скопление микрокальцинатов не обнаружены. При сравнении с архивом без отрицательной динамики. Лимфоузлы в аксиллярных областях не определяются. Обызвествление стенок сосудов с обеих сторон железы. По заключениям ультразвуковых исследований

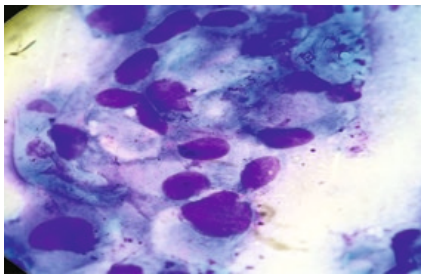


Рисунок 1. Цитограмма РП, окраска по Романовскому (ув. 900×).

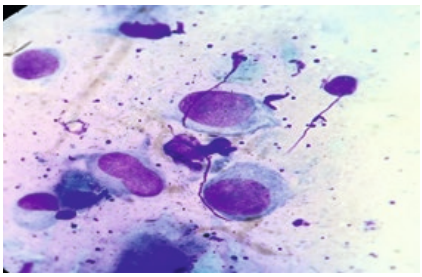


Рисунок 2. Цитограмма РП, окраска по Романовскому (ув. 900×).

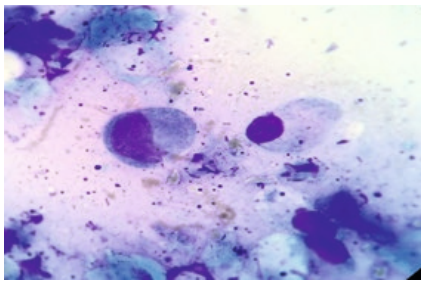


Рисунок 3. Цитограмма РП, окраска по Романовскому (ув. 900×).

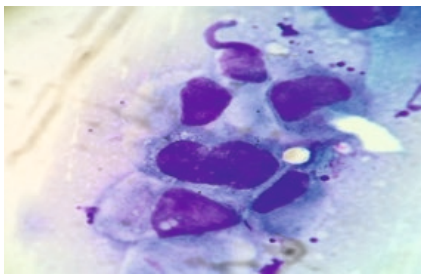


Рисунок 4. Цитограмма РП, окраска по Романовскому (ув. 900×).

и маммографии — фиброзно-жировые инволютивные изменения молочных желез. По результатам обследования пациентке рекомендовано обращение в профильное онкологическое учреждение с целью дообследования, верификации диагноза и решения вопроса о лечении в РОНЦ, МНИОИ имени П. А. Герцена.

Через месяц пациентка пришла на прием с жалобами на болезненность в зоне послеоперационного шва. Со слов пациентки, ей в г. Биль (Швейцария) выполнена резекция центрального квадранта левой молочной железы (выписка без перевода и апостиля). Гистологический диагноз: болезнь Педжета. По данным разных авторов, в 90–98 % случаев РП сочетается с инвазивным или неинвазивным РМЖ. В приведенном клиническом примере изменения обнаруживались только в области сосково-ареолярного комплекса. Клинические симптомы, такие как выделения из соска, отсутствовали, втяжение соска также не отмечалось. В подобных случаях, когда образование в молочной железе не определяется, а ведущей жалобой становятся экземоподобные изменения кожи соска, пациенты часто наблюдаются у дерматологов, получая соответствующее консервативное лечение без эффекта [7]. С нашей точки зрения, данный клинический пример интересен тем, что ведущим и единственно информативным в данном случае было цитологическое исследование.

Список литературы

1. *Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). под редакцией А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой Москва 2017.*
2. *Хирургические подходы к лечению больных раком Педжета. Фетисова Е. Ю., Зикиряходжаев А. Д., Волченко Н. Н. Опухоли женской репродуктивной системы. 2015. Т. 11. № 2. С. 35–49.*
3. *Рак молочной железы: классификация, диагностика, лечение, количественная оценка степени функциональных нарушений при осуществлении медико-социальной экспертизы. Шахсуварян С. Б., Красновская Е. С., Верташ О. Ю. Медико-социальные проблемы инвалидности. 2016. № 3–3. С. 47–63.*
4. *Возможности органосохраняющего лечения при раке Педжета молочной железы Фетисова Е. Ю., Зикиряходжаев А. Д., Волченко Н. Н. В книге: Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению тезисы I Национального конгресса. 2016. С. 173.*
5. *Цитологический атлас. Диагностика заболеваний молочной железы. Шабалова И. П., Джангирова Т. В., Волченко Н. Н., Пугачев К. К.. Москва 2005*
6. *Современная цитологическая диагностика заболеваний молочной железы Волченко Н. Н., Славнова Е. Н., Гладунова З. Д., Тугулукова А. А., Митина Л. А., Сухарев С. С., Спиридонов И. Н., Самородов А. В., Медовый В. С., Тычинский В. П., Решетов И. В., Кретушев А. В., Вышенская Т. В., Клемешов И. В. Москва, 2014*
7. *Рак Педжета молочной железы: клиника, диагностика, лечение. Погодина Е. М. Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 1995. Т. 6. № 2. С. 32–37.*

Высокочувствительный неповреждающий способ выявления состояния митохондрий в организме путем их исследования внутри лимфоцитов крови на мазке

Выявление больших различий при лейкозах и миопатиях у больных детей по сравнению со здоровыми

Н. В. Хундерякова, к.б.н. научный сотрудник лаборатории энергетики биологических систем[1]; **Т. В. Ячкула**[1]; **Н. И. Федотчева**[1]; **Е. Г. Литвинова**; **П. М. Шварцбурд**[1]; **М. Н. Кондрашова,** д.б.н., проф., заслуженный деятель науки России, гл. научный сотрудник[1]; **М. В. Захарченко,** к.б.н., научный сотрудник лаборатории энергетики биологических систем[1]; **С. А Плясунова**[2]; **В. С. Сухоруков,** д.м.н., проф., рук. НИЛ общей патологии НИКИ педиатрии им. Ю. Е. Вельтищева[3]; **Т. И. Баранич**[3]

[1]ФГБУН «Институт теоретической и экспериментальной биофизики» РАН, г. Пущино, Московская область

[2]ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Минздрава России, г. Москва

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

Н. В. Хундерякова

М. Н. Кондрашова

В. С. Сухоруков

М. В. Захарченко

Highly sensitive, non-harmful method to detect state of mitochondria in organism by their investigation inside blood lymphocytes in smear

Detection of big difference under leucosis and myopathy in young patients compared with healthy ones

N. V. Khunderyakova, T. V. Yachkula, N. I. Fedotcheva, E. G. Litvinova, P. M. Schwartsburd, M. N. Kondrashova, M. V. Zakharchenko, S. A. Plyasunova, V. S. Sukhorukov, T. I. Baranich

Institute for theoretical and experimental Biophysics, Pushchino; Federal Research and Clinical Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. Dmitry Rogachyov, Moscow; Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow; Russia

Резюме

В статье дана общая характеристика использованного цитобиохимического метода, разработанного несколькими авторами данной статьи, который обладает высокой чувствительностью в выявлении состояния митохондрий в организме по измерению активности ферментов в лимфоцитах крови на мазках. Исследованы лактатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа и их отношение, ЛДГ/СДГ, которое авторы предлагают использовать в качестве количественного показателя соотношения гликолиза и дыхания, так называемого эффекта Варбурга, типичного для раковых клеток. При значениях ЛДГ/СДГ 5,5–8,8 для здоровых детей сходного возраста, у детей, больных лейкозами, наблюдаются усиление аэробного гликолиза и возрастание показателя до 16,5–55,2. У детей с миопатиями наблюдаются снижение аэробного гликолиза и уменьшение показателя ниже нормы: 4,5 и меньше единицы. Авторы предполагают, что снижение аэробного гликолиза при миопатиях является показателем присущего этому заболеванию ослабления восстановительных биосинтезов и роста клеток.

Ключевые слова: ***цитобиохимический метод, митохондрии, дыхание, гликолиз, эффект Варбурга, сукцинатдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, лейкозы, миопатии.***

Summary

The cytobiochemical assay is described in the paper which is elaborated by three of its authors. This method possesses high sensitivity in detection of the state of mitochondria in the organism by measurement of enzyme activity inside blood lymphocytes in smears. Lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase and their ratio LDH/SDH were investigated. The authors proposed to use this ratio as a quantitative indicator of so called Warburg effect, typical of cancer cells. Whereas LDH/SDH is 5.5–8.8 in healthy children, aerobic glycolysis and the indicator rise up to 16.5–55.2 in young patients with leucosis. In children suffering myopathy aerobic glycolysis falls down and the ratio is lower than in norm: 4.5 and less than one. The authors suggested the decrease of aerobic glycolysis under myopathy to be a biomarker of restorative biosynthesis and cell growth weakening inherent in this disease.

Key words: ***cytobiochemistry assay, lymphocyte, respiration, glycolysis, Warburg effect, succinate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, leucosis, myopathy.***

Введение

Определение состояния митохондрий в организме — актуальная задача современной фундаментальной медицины, поскольку эти органеллы играют центральную роль в энергообеспечении и осуществлении других функций клетки. Принятые в биохимии классические методы исследования митохондрий не удовлетворяют этому запросу ввиду очевидного повреждения как организма обследуемого, так и рассмотренного ниже критического повреждения состояния самих органелл. Был сделан вывод, что традиционно используемый в биохимии полярографический метод непригоден для изучения физиологической регуляции дыхания. Его условия разрушают структурную организацию митохондрий в сеть, которая играет центральную роль в физиологической модуляции активности ферментов. Сохранение сети в нативном состоянии можно достичь исследованием в клетке, но не в суспензии в растворе, а при ее мягкой фиксации на подложке как в цитохимических исследованиях. Однако существовавшие цитохимические методы сохранили ряд устаревших условий периода своего создания — середины прошлого века. Предложенные усовершенствования к моменту публикации метода отражены в статьях и патенте [1–6]. Мы продолжаем развивать ЦБХ-метод и в данном сообщении представляем последние усовершенствования.

Мы предложили термин «цитобиохимический» (ЦБХ) для названия нашего метода самостоятельно, отражая в нем его происхождение. Однако позже оказалось, что этот термин широко встречается в интернете для обозначения далеких по содержанию работ. Независимо от этого мы сохраняем свое наименование.

Целью метода было реализовать актуальную задачу современной медицины и физиологии: измерить состояние митохондрий в организме животных и человека в разных физиологических и патологических состояниях. Действительно, различия, обнаруживаемые этим методом на моделях стресса у животных и при заболеваниях у человека, значительно больше отличаются от нормы: до 2–3 раз и более, чем при биохимических и цитохимических исследованиях [5, 6].

В заключение следует отметить появление недавней публикации, в которой прямо показано наличие корреляции между данными, полученными ЦБХ-методом, и показателями энергетического обмена в тканях организма, измеряемыми по восстановлению НАД(Ф)Н [7].

Материалы и методы

Методические процедуры неоднократно подробно описаны в ссылках, приведенных во введении. Поэтому в данном разделе сообщаем только основную схему его проведения и сведения о статистической достоверности.

Мы с удовольствием ответим на возникающие вопросы. При желании можем предоставить электронный вариант руководства, подготавливаемый для опубликования.

Краеугольным камнем цитохимических и гистохимических методов является исследование активности ферментов в тканях в условиях, приближенных к нативным в организме. Это приближение более полно достигается при ЦБХ-методе. Состав сред существенно приближен к физиологическим условиям по сравнению со средами, использовавшимися для определения активности ферментов в ЛФ согласно цитохимической методике. Выправлены такие важные показатели, как замена натрия на калий, предпочтение pH 7,2, снижение концентрации субстратов. Внесены усовершенствования и в некоторые среды, используемые в биохимии. В результате основная среда имеет состав: 125 мМ KCl (Sigma); 10 мМ HEPES (Sigma); 1,22 мМ нитросинего тетразолия хлорида (Dudley Chemical Corporation) и добавки, формирующие набор проб и характеризующие состояние ферментов митохондрий:

5 мМ янтарной кислоты (ЯНТ) — основная проба, характеризующая активность СДГ и степень адренергической регуляции в организме. Возрастание активности СДГ отражает сначала физиологическую активацию адренергической регуляции, затем патогенную гиперактивацию и ее переход в патологическое ингибирование. Эти стадии выявляются в следующей пробе добавлением изолимонной кислоты (ИЗЛ).

Изолимонная кислота (ИЗЛ) добавляется к 5 мМ ЯНТ в концентрации 5 мМ. Отсутствие влияния ИЗЛ на активность СДГ характерно для состояния покоя. Понижение активности СДГ добавкой ИЗЛ свидетельствует об активации адренергической регуляции, а повышение — о развивающемся в организме ингибировании, возникающем при стрессорном действии адреналина.

Лактат 5 мМ + малонат 5 мМ + НАД 0,5 мМ — проба, характеризующая активность гликолиза, а именно лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Одновременное определение активности СДГ, КДГ и ЛДГ дает гораздо более полную картину окислительного обмена в клетке, которая недоступна в исследованиях выделенных митохондрий.

Таким образом, при проведении биохимической реакции клетки находятся в физиологических условиях. Их можно рассматривать как переживающие. Следует напомнить, что они прикреплены к стеклу в мазке, что также способствует сохранению нативного состояния.

Для регистрации окислительных процессов используется восстановление красителя нитросинего тетразолия (НСТ), выбранного по ряду преимуществ из других. Его восстановленная форма — синий диформазан имеет очень высокую молярную экстинкцию, что обусловливает его высокую чувствительность в измерении даже слабого дыхания.

Важным преимуществом метода для исследований является высокая статистическая достоверность даже единичного определения. Это обусловлено тем, что полученный результат основывается на обсчете 50–100 клеток в мазке, что дает очень высокую статистическую достоверность каждого полученного значения (99,9%; $p < 0,001$).

По этой причине, указывая значение p и достоверность, мы не показываем на рисунках стандартные отклонения данных, так как они иногда

столь малы, что это трудно сделать графически, а при учете статистических параметров излишне [6].

Результаты

Выявление больших различий при лейкозах и миопатиях у больных детей по сравнению со здоровыми. Отношение ЛДГ/СДГ как показатель эффекта Варбурга и биосинтетических процессов в ткани.

На рис. 1 представлены типичные примеры величии активности СДГ в среде с ЯНТ, СДГ в среде ЯНТ + ИЗЛ и ЛДГ. Добавление ИЗЛ разработано нами для выявления функционального состояния СДГ. Мы выделяем умеренно активированное состояние, активное, гиперактивированное и гиперактивированное с переходом к ингибированию. Их развитие происходит в ходе усиления патологической активации. Показателем этих стадий является добавление ИЗЛ, которая восстанавливает НАД(Ф) и образует КГЛ. По нашим данным, окисление КГЛ оказывает сдерживающее, тормозящее действие на гипереактивную СДГ, предупреждая повышение активности и предупреждая ингибирование [8, 9]. Поэтому снижение активности СДГ при добавлении ИЗЛ указывает на ее гиперактивацию, а повышение — на ингибирование. Отсутствие выраженного действия свидетельствует об активации СДГ в пределах нормы.

При рассмотрении данных активности ЛДГ следует обратить внимание, что она значительно выше, чем СДГ. Поэтому для того, чтобы представить их на одном рисунке, пришлось ввести две шкалы.

Шкала для ЛДГ в пять раз сжата по сравнению с СДГ. Это сделано для того, чтобы изменения СДГ были хорошо выражены. СДГ является самым мощным ферментом митохондрий, но ЛДГ при измерении ЦБХ-методом оказывается гораздо более активной.

Учитывая эти пояснения, рассмотрим данные, типичные для здоровых детей возраста, соответствующего обследованным больным. Видно, что активность СДГ близка для трех примеров. Не наблюдается сильного влияния ИЗЛ, что говорит об активации в пределах нормы. Активность

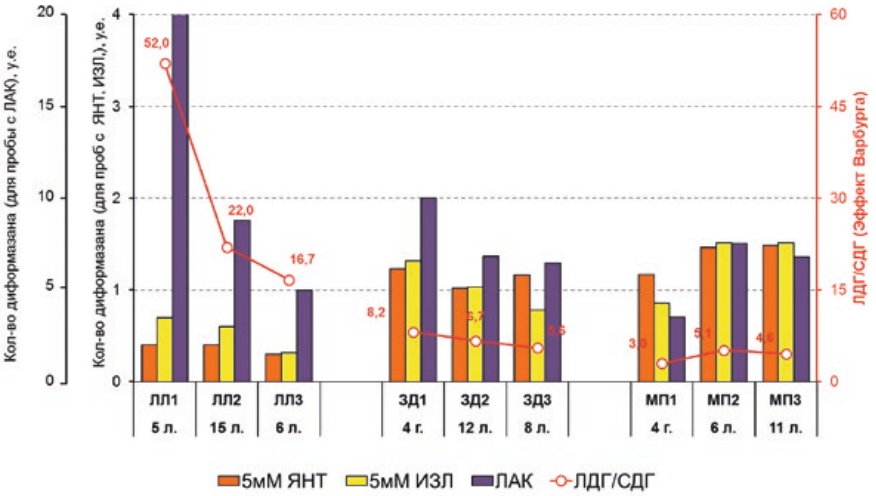


Рисунок 1. Показатели дыхания (5 мМ ЯНТ), гликолиза (ЛАК), ЭФВ (ЛДГ/СДГ) у детей с лимфолейкозом (ЛЛ) и миопатиями (МП) по сравнению со здоровыми (ЗД), измеренные цитобиохимическим методом.

ЛДГ значительно превышает СДГ. Это отчетливо видно по отношению ЛДГ/СДГ, которое в среднем близко к показателю среднего примера: 6,8.

Мы предложили использовать это отношение как возможный удобный биомаркер очень популярного признака раковой клетки — эффекта Варбурга (ЭФВ), который характеризует соотношение гликолиза и дыхания [10]. Это впервые дало возможность персонифицированного определения наличия онкологических заболеваний у больных без взятия биопсии, травмирующего и больного, и ткань. Недостатком ЭФВ, как показателя онкологического заболевания, является то, что он типичен и для интенсивно растущих нормальных тканей, например, в раннем возрасте. Мы предположили, что ввиду большой чувствительности ЦБХ-метода удастся выявить количественную разницу между величинами ЭФВ при злокачественном и нормальном росте.

Некоторые примеры такого рода приведены в настоящей работе. На рис. 1 видно, что показатели дыхания и гликолиза сильно отличаются у детей, больных лимфолейкозами (ЛЛ). СДГ у них в 2–3 раза ниже, чем у здоровых. При этом, судя по активирующему действию ИЗЛ, СДГ находится в ингибированном состоянии. ЛДГ, наоборот, у первых двух больных в два раза выше, чем у здоровых. Это дает сильное возрастание ЭФВ у больных ЛЛ в интервале от 16 до 55 в сравнении со значениями 5,0–8,8 у здоровых детей. Таким образом, видна возможность четко отделить состояния опухолевого роста в организме от нормального.

Эти результаты соответствуют принятым представлениям о повышении гликолиза по сравнению с дыханием у раковых клеток [11, 12].

В качестве примера совершенно иной патогенетической картины приведем данные, полученные нами на основании анализа лимфоцитов в группе детей с различными формами миопатий (прогрессирующие мышечные дистрофии, врожденные миопатии, митохондриальные миопатии, спинальная амиотрофия). Детальные различия в полученных нами результатах при этих нозологических формах заслуживают значительно более подробного анализа в последующих публикациях, однако некоторые обобщенные выводы имеют несомненный сравнительный интерес. Принципиальное отличие нарушений тканевого энергообмена у детей этой группы от пациентов с лимфолейкозами заключается в значительно более системном поражении митохондрий. В одних случаях (как при митохондриальных миопатиях) эти поражения первичны. В других вторичны, что объясняется важной компенсаторной ролью активации мышечной тканевой энергетики при «немитохондриальных» миопатиях, связанных с повреждением белков околосарколеммального пространства, саркомеров и т.п.

ЦБХ-показатели для детей, больных миопатиями (МП), отличаются от здоровых в противоположную сторону по сравнению с ЛЛ. СДГ у них близка к норме, но немного выше, а ЛДГ сильно снижена как по сравнению с нормой, так и относительно СДГ при МП. В результате отношение ЛДГ/СДГ снижено относительно нормы. Наблюдается даже значение меньше единицы, а также ниже пяти. Снижение гликолиза по сравнению с дыханием не встречалось в литературе. Ранее мы обнаружили такие низкие отношения в своих других исследованиях, которые будут описаны отдельно. Они были связаны с постоянным слабым возбуждающим воздействием электромагнитного излучения на организм. В этих обоих случаях нельзя говорить лишь о благоприятном значении для организма снижения гликолиза, что следует из представления о связи его с ослаблением энергетики. Однако можно предложить новое толкование, опираясь на новое представление о значении аэробного гликолиза для раковой клетки, которое особенно активно развивает Томпсон [13–15]. Согласно этой идее аэробный гликолиз представляет собой не слабость, а силу раковой клетки. Он обеспечивает лучший приток пластических веществ для роста и деления клеток, чем дыхание. Но мощное энергообеспечение и не нужно для интенсивного размножения клеток. Предложенное объяснение согласуется с тем биологическим фактом, что рост и функция — альтернативные состояния клеток, а при делении дыхание тормозится. Отсюда следует, что выявленное снижение гликолиза по сравнению с нормой при патологиях может отражать ослабление восстановительных биосинтетических процессов. Такое понимание больше соответствует описанному в этой статье состоянию клеток при миопатиях, характеризующихся общим ослаблением функций и структур [16–19]. Отражение такого сдвига состояния тканей мы видим и на ЛФ больных МП, которые выглядят истонченными по сравнению с нормой, и на их мембране появляются многочисленные ворсинки, как бы капельки вытекающей цитоплазмы.

Высокочувствительное определение состояния митохондрий в организме на мазках крови в условиях ЦБХ-метода может использоваться для диагностики, суждения о тяжести заболевания и эффективности лечения.

Работа поддержана грантами РФФИ 16–04–00636А и 16–04–00342А.

Список литературы

1. *Кондрашова М. Н., Хундерякова Н. В., Захарченко М. В. Оригинальный цитобиохимический метод выявления индивидуальных различий физиологического состояния организма по комплексной характеристике (паттерну) активности сукцинатдегидрогеназы. // Российский Биомедицинский Журнал. — 2009. — (Биохимия).— № 10.— С. 27–43.— www. Medline.ru.*
2. *Кондрашова М. Н., Захарченко М. В., Хундерякова Н. В., Федотчева Н. И., Литвинова Е. Г., Романова О. И., Шварцбурд П. М. Инновационные методы диагностики в медицине. Глава 1. Что дает врачу определение функций митохондрий в лимфоцитах больного. // Монография.— 2013.— Новосибирск.— С. 10–58.*
3. *Кондрашова М. Н., ОАО ДИОД, Захарченко М. В., Хундерякова Н. В., Маевский Е. И. ИТЭБ РАН. Патент Российской Федерации. Цитобиохимический способ определения активности сукцинатдегидрогеназы, окисления эндогенной янтарной кислоты, сигнального действия микромолярных концентраций янтарной кислоты, его применение для количественной оценки уровня адренергической регуляции в организме, среда и набор для осуществления способа. Приоритет от 20.11.2007. Опубликовано: 20.08.09. Бюллетень Роспатента № 23.*
4. *Kondrashova M. N., Zakharchenko M. V., Khunderyakova N. V. Preservation of the in vivo state of mitochondrial network for ex vivo physioliogical study of mitochondria. // Int. J. Biochem. Cell Biol.— 2009.— № 41.— С. 2036–2050.*
5. *Zakharchenko M. V., Zakharchenko A. V., Khunderyakova N. V., Tutukina M. N., Simonova M. A., Vasilieva A. A., Romanova O. I., Fedotcheva N. I., Litvinova E. G., Maevsky E. I., Zinchenko V.P, Berezhnov A. V., Morgunov I. G., Gulayev A.A, Kondrashova M. N. Burst of succinate dehydrogenase and a-ketoglutarate dehydrogenase activity in concert with the expression of genes coding for respiratory chain proteins underlies short-term beneficial physiological stress in mitochondria. // Int. J. Biochem. Cell Biol.— 2013.— № 45.— С. 190–200.*
6. *Kondrashova M. N., Zakharchenko M. V., et al. // Study of Succinate Dehydrogenase and a-Ketoglutarate Dehydrogenase in Mitochondria inside Glass-Adhered Lymphocytes under Physiological Conditions. The Two Dehydrogenases as Counterparts of Adrenaline and Acetylcholine Regulation. in: Dehydrogenases. Ed. by. Canuto R. A. InTech, Italy Turin.— 2012.— С. 235–257.*
7. *Frelikh G. A., Yanovskaya E. A., Polomeeva N. Yu, Timofeev M. S., Slepichev V. A., Bryushinina O. S.. Zyuz'kova Yu.G, Gurto R. V., Vasil'ev A.S., Semiglazova E. V., Udut V. V. Determination of Mitochondrial Functional State in Vital Tissues by Cytobiochemical Analysis of Peripheral Blood Lymphocytes. // Journal of Endocrine and Metabolic Diseases.— 2013.— № 3.— С. 10–13.*
8. *Хундерякова Н. В., Захарченко М. В., Захарченко А. В., Сусликов А. В., Волков А. В., Телешева Т. Ю., Кондрашова М. Н. Приближение к исследованию сигнального действия янтарной кислоты на митохондрии в условиях цитобиохимического метода. //Биологические мембраны.— 2012.— Том 29.— № 6.— С. 442–453.*
9. *Кондрашова М. Н., Захарченко М. В., Хундерякова Н. В., Федотчева Н. И., Литвинова Е. Г., Романова О. И., Гуляев А. А. Состояние сукцинатдегидрогеназы в организме–«выведенное из равновесия» или гиперактивное. // Биофизика.— 2013.— Том 58.— № 1.— С. 106–116.*
10. *Хундерякова Н. В., Плясунова С. А., Литвинова Е.Г, Ячкула Т.В, Захарченко М. В., Ковзан А. В., Федотчева Н. И., Шварцбурд П. М., Кондрашова М. Н. Изменения в лимфоцитах под действием субстратов окисления. // Биофизика.— 2014.— Том 59.— № 6.— С. 1101–1107.*
11. *DeBerardinis R., Lum J., Hatzivassilliou G., Thompson G. // Cell Metabolism.— 2008.— № 7.— С. 11.*
12. *Gogvadze V. L., Orrenius S., Zhivotovsky B. Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? // Trends Cell Biol.— 2008.— № 18 (4).— P. 165–73.*
13. *Matthew G, Heiden V., Cantley L., Thompson G. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. // Science.— 2009.— № 324.— С. 1029.*
14. *Ward P. S., Thompson C. B. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even warburg did not anticipate. // Cancer Cell.— 2012.— № 21.— P. 297–308.*
15. *Pavlova N. N., Thompson C. B. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. // Cell Metab.— 2016.— № 23.— P. 27–47.*
16. *Schnyder S., Handschin C. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1a, myokine s and exercise. // Bone.— 2015.— № 80.— С. 115–125.*
17. *Petruzelli M., Wagner E. Mechanisms of metabolic dysfunction in cancer- associated cachexia. //Genes and development.— 2016.— № 130.— С. 489–501.*
18. *Corrado Angelini, Nascimbeni A. C., Cenacchi G., Tasca E. Lipolysis and lipophagy in lipid storage myopathies. // Biochimica et Biophysica Acta.— 2016.— № 1862.— С. 1367–1373.*
19. *Сухоруков В. С. // Очерки митохондриальной патологии. М.: ИД «Медпрактика-М».— 2011.— С. 288.*

Инновационная точность профессиональных холодильных шкафов LIEBHERR для лабораторий

- Электронный блок управления PROFI позволяет установить температуру с точностью до 0,1°C
- Визуальная и звуковая сигнализация в случае изменения температуры, незакрытой двери или отсутствия питания
- Учет и запись фактических значений температуры и фиксация аварийных ситуаций
- Встроенный аккумулятор 12 В обеспечит автономную работу сигнализации, запись, учет и хранение данных в случае пропадания питания по сети
- ИК порт, RS 485 интерфейс и безпотенциальные контакты для сигнализации
- 3 точки высокоточной калибровки

ООО «Либхерр-Русланд»
123104 Москва, Большой Палашевский пер. д. 13/2
+7 (495) 280-03-27, +7 (495) 280-03-76,
+7 (495) 280-03-28
www.lab.liebherr.com

LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации

Воспаление как фактор риска при прогрессировании ишемии мозга и сахарном диабете второго типа

А. В. Чеканов

В. П. Мудров

А. И. Федин

Э. Ю. Соловьева, д.м.н., проф., зав. лабораторией[1]
Д. Т. Чипова, аспирант кафедры неврологии[2]
О. А. Баранова, к.б.н., с.н.с.[1]
А. В. Чеканов, к.б.н., с.н.с. [1]
К. Д. Казаринов, к.б.н., вед. научный сотрудник[3]
Л. Б. Тлапшокова, д.м.н., проф., зав. кафедрой неврологии[2]
А. Н. Карнеев, д.м.н., проф. каф. неврологии ФДПО[1]
В. П. Мудров, к.м.н., врач КДЛ [2]
А. И. Федин, д.м.н., проф., заслуженный врач России, зав. кафедрой неврологии ФДПО[1]

[1]ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва
[2]Медицинский факультет ФГБОУ ВПО «Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х. М. Бербекова», г. Нальчик
[3]Фрязинский филиал ФГБУН «Институт радиотехники и электроники имени В. А. Котельникова» РАН, г. Фрязино
[4]ФГБУ «9-й лечебно-диагностический центр» Минобороны России, г. Москва

Inflammation as risk factor in progression of brain ischemia and diabetes of second type

E. Yu. Solovyova, O. A. Baranova, A. V. Chekanov, A. N. Karneev, A. I. Fedin, D. T. Chipova, L. B. Tlapshokova, V. P. Mudrov, K. D. Kazarinov
Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov; Kabardino-Balkarian State University n.a. Kh. M. Berbekov, Nalchik; Fryazino Branch of the Institute of Radio Engineering and Electronics n.a. V. A. Kotelnikov, Fryazino; 9th Diagnostic and Treatment Centre, Moscow; Russia

Резюме

Исследование фагоцитарной активности и образования продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) у больных в острой стадии инсульта и в процессе развития и прогрессирования дисциркуляторной энцефалопатии. Было установлено, что уровень фагоцитарной активности при активации нейтрофилов ФМА имел значимые отличия у больных ОНМК, ДЭ и группы условно здоровых лиц. При этом интенсивность хемилюминесценции (ХЛ) была выше у больных с летальным исходом. Низкие значения ХЛ нейтрофилов, активированных ФМА, отмечались в группах пациентов, отягощенных наличием сахарного диабета (СД) второго типа, причем это было наиболее выражено у больных с хронической ишемией мозга. Образование продуктов ПОЛ было значимо выше в группе пациентов с ишемией мозга, отягощенной сахарным диабетом по сравнению с больными, не имеющими данной патологии.

Ключевые слова: ***ишемия мозга, инсульт, сахарный диабет, хемилюминесценция, нейтрофилы.***

Summary

A study of phagocytic activity and formation of products of lipid peroxidation (LPO) in patients in the acute phase of stroke and in the development and progression of vascular encephalopathy. It was found that the level of phagocytic activity upon activation of neutrophils the PMA had significant differences in patients of stroke, DE and the group of healthy individuals. the intensity of chemiluminescence (CL) was higher in patients with fatal outcome.The low values of chemiluminescence of neutrophils activated by PMA, was observed in the groups of patients burdened by the presence of diabetes type II, and it was the most voragine in patients with chronic brain ischemia. The formation of peroxidation products was significantly higher in the group of patients with brain ischemia, burdened with diabetes mellitus, compared with patients having this pathology.

Key words: ***brain ischemia, stroke, diabetes, chemiluminescence, neutrophils.***

Для разработки научных основ профилактики нарушений мозгового кровообращения важнейшее значение имеют такие достижения ангионеврологии и профилактической медицины, как концепция факторов риска развития заболевания, концепция патогенетической гетерогенности инсульта, концептуальная разработка стратегий профилактики [1, 11, 12].

Впервые о факторах риска стали говорить в связи с результатами корреляции между отдельными характеристиками населения и развитием коронарной болезни сердца и инсульта [6, 9].

Из всех внутренних органов мозг наиболее чувствителен к развитию ишемии. Проведенные многочисленные экспериментальные исследования продемонстри-

ровали, что даже незначительное повышение концентрации провоспалительных факторов способствует прогрессированию атерогенеза и развитию хронической ишемизации головного мозга с формированием энцефалопатии [2, 3, 4, 5, 8].

Следует отметить, что использование традиционных факторов риска позволяет оценить вероятность развития сердечно-сосудистых катастроф лишь в половине случаев. Дальнейшее исследование факторов воспаления и эндотелиальной дисфункции при ишемии мозга может быть использовано в качестве дополнительных маркеров оценки как угрозы развития инсульта, прогрессирования хронической цереброваскулярной патологии, так и эффективности лечебных стратегий. Нами была поставлена задача исследовать уровень лейкоцитарной активности в острейшей стадии инсульта и в процессе развития и прогрессирования дисциркуляторной энцефалопатии (ДЭ).

Цель данной работы была сформулирована следующим образом: оценка маркеров воспаления, индуцированных ишемией, у больных с различными формами нарушения мозгового кровообращения.

Материалы и методы

В исследование были включены 100 человек. Из них 85 больных с инфарктом мозга (ИМ) и дисциркуляторной энцефалопатией (ДЭ) и группа из 15 условно здоровых лиц. Возраст больных составлял от 49 до 78 лет, (средний возраст составил 61,2 ± 8,8 года), из них 68 женщин, 32 мужчины. Давность инсульта не превышала 48 часов.

Для исследования фагоцитарной активности исходных нейтрофилов использовался метод хемилюминесценции (ХЛ), вспышку ХЛ регистрировали при комнатной температуре на хемилюминометре SmartLum 5773 (Interoptika-S, Россия). Стандартный образец содержал среду Хенкса (0,42 мМ Na_2HPO_4, 20 мМ KH_2PO_4, 137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 5 мМ D-глюкозы), буфер активации (1 мМ Ca^{2+} и 0,5 мМ Mg^{2+}; pH 7,4), нейтрофилы (150 тысяч клеток) и 10 мкМ люминола. Результат представляли в виде светосуммы за первые 25 минут, начиная с момента добавления буфера активации и (или) в присутствии или в отсутствии активатора нейтрофилов 5 мкг/мл ФМА.

На основании ведущего этиологического признака, приведшего к развитию ОНМК, первая и вторая группа пациентов были разделены на две подгруппы.

Группа 1. Подгруппа А: 15 больных с ИМ (ишемия мозга), осложненным СД второго типа; подгруппа Б: 35 больных с ИМ на фоне АГ (артериальная гипертензия), АС (атеросклероз), АГ + АС.

Группа 2. Подгруппа А: 15 больных ХИМ на фоне АГ, АС, АГ + АС + СД второго типа; подгруппа Б: 20 больных с ХИМ на фоне АГ, АС, АГ + АС.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica (StatSoft, США) версии 8.0. В качестве критерия достоверности использовали статистический

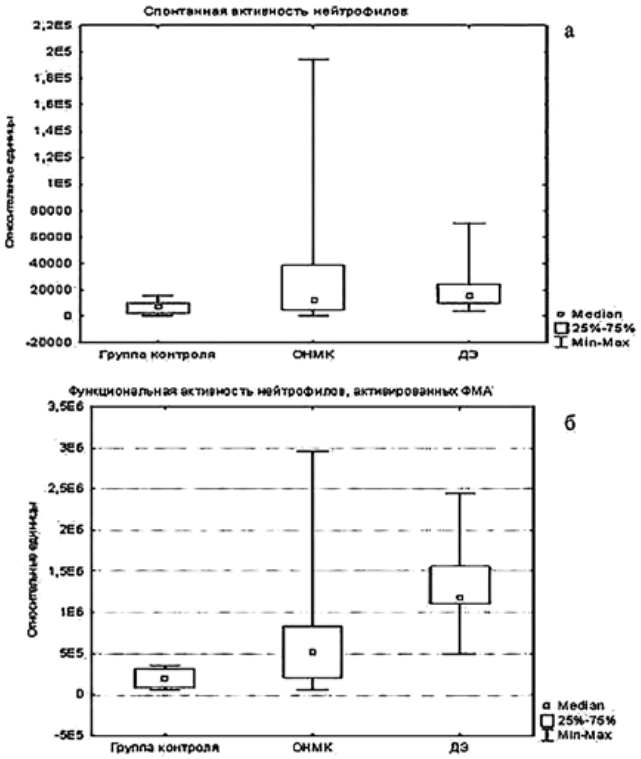


Рисунок 1. Фагоцитарная активность нейтрофилов у больных инфарктом мозга и ХИМ по сравнению с контролем. Изменение уровня фагоцитарной активности: а) исходных (неактивированных) нейтрофилов; б) нейтрофилов, активированных ФМА, у больных ОНМК, ДЭ и группы условно здоровых лиц.

критерий Манна-Уитни для двух несвязанных групп и Краскелла-Уоллиса ANOVA для трех и более несвязанных групп. Достоверными принимались значения при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Общеизвестно, что в развитии общего системного воспаления нейтрофилы играют одну из ведущих ролей, являясь источником целого ряда гидролитических ферментов. Исходя из этого, нам представилось целесообразным проследить развитие воспалительной реакции у больных ОНМК и ДЭ на изолированных нейтрофилах. Для этого было проведено сравнение фагоцитарной активности исходных (неактивированных) и активированных ФМА нейтрофилов у больных ОНМК, ДЭ и группы условно здоровых лиц. Показано, что уровень фагоцитарной активности неактивированных нейтрофилов значимо отличается в обеих группах больных и группе контроля (рис. 1 а), тогда как при сравнении результатов, полученных в двух группах пациентов с ОНМК и ДЭ, не удалось обнаружить достоверных различий. При этом, анализируя результаты, полученные при активации нейтрофилов ФМА (рис. 1 b; $p < 0,05$), можно констатировать значимые отличия во всех трех группах. Полученные результаты можно объяснить следующим образом: во-первых, находясь в системе *in vivo*, нейтрофилы больных и здоровых лиц прибывают в состоянии отличного друг от друга биологического

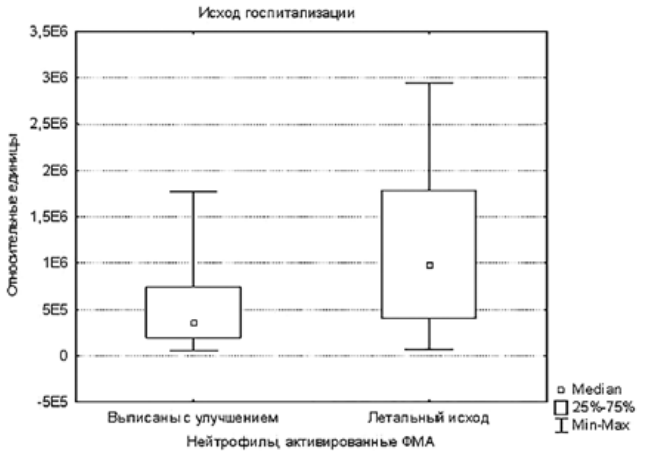


Рисунок 2. Клинический исход в госпитальном периоде у больных инфарктом мозга.

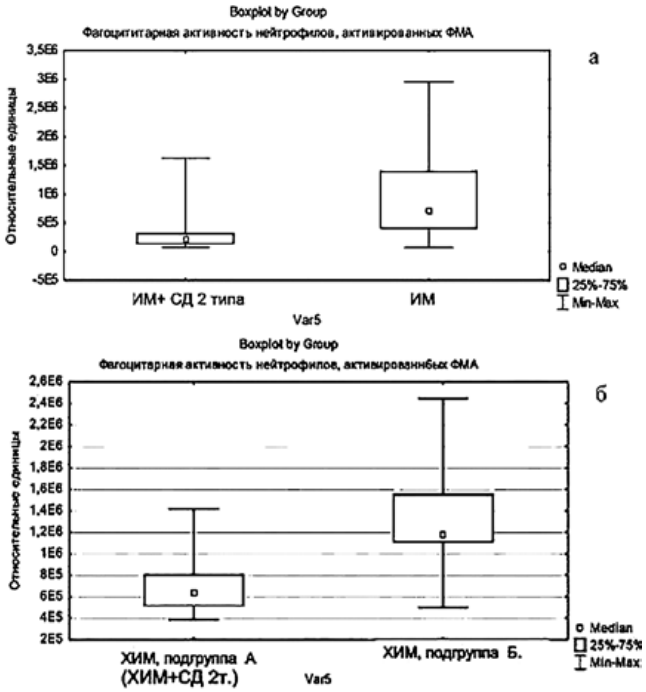


Рисунок 3. Фагоцитарная активность нейтрофилов, активированных ФМА: а) у больных ОНМК и пациентов с ОНМК, осложненным сахарным диабетом ($p > 0,05$); б) у больных ХИМ, осложненной сахарным диабетом ($p < 0,05$).

Таблица 1

Сравнительная характеристика количества МДА (нмоль/мл) в плазме крови в группах пациентов ИМ, ХИМ и больных, отягощенных наличием сахарного диабета второго типа

Группа сравнения	МДА (нмоль/мл)
ХИМ	Me=0,535 (LQ = 0,42; UQ=0,62)
ХИМ+СД II	Me=0,48735 (LQ = 0,4617; UQ=0,6669)
ИМ	Me=0,573 (LQ = 0,484; UQ=0,69)
ИМ+СД II	Me=1,005 (LQ = 0,915; UQ=1,25) p > 0,05

равновесия. Другими словами, в процессе прогрессирования ХИМ развивается хроническое воспаление немикробной этиологии. Во-вторых, в результате развития острого ишемического процесса в кровотоке появляются множество факторов активации клеток (АТФ, белки мозгового повреждения и повреждения сосудистой стенки и пр.), которые, в свою очередь, оказывая влияние на рецепторы и активируя ионные каналы на мембране клеток, делают их кометированными к активации, что мы и наблюдаем при добавлении ФМА. В-третьих, столь высокие значения, которые наблюдаются при активации ФМА нейтрофилов, полученные у больных с ХИМ, можно объяснить тем, что в процессе развития острой фазы воспаления (острого инсульта) иммунная система наряду с провоспалительными компонентами продуцирует также и антивоспалительные факторы с целью минимизировать повреждающий эффект острой воспалительной реакции. По всей видимости, можно с осторожностью предположить, что в процессе ишемического повреждения головного мозга интенсивность иммунного ответа (как после возникновения острого сосудистого эпизода [инсульта], так и в предшествующее его появлению время) играет важную (если не решающую) роль в развитии осложнений в госпитальном периоде.

Важно отметить полученную достоверную взаимосвязь уровня индуцибельной клеточной активности с клиническим исходом в госпитальном периоде: интенсивность воспаления была выше у больных с летальным исходом (рис. 2; $p < 0,05$).

Наиболее сложными в интерпретации представляются результаты, полученные при исследовании воспаления в группах больных с инфарктом мозга и ХИМ с СД второго типа. Прежде всего, речь идет о низких значениях клеточной активности нейтрофилов, активированных ФМА, в группах пациентов, где ИМ или ХИМ были отягощены наличием СД второго типа (рис. 3 а, б). Причем в случае пациентов с хронической ишемией мозга данные различия носят достоверный характер (рис. 3 б; $p < 0,05$). Общеизвестно, что такие пациенты составляют группу риска при возникновении острого сосудистого эпизода, прогноза возможных осложнений, а также такие больные гораздо хуже отвечают на проводимую терапию. Большое количество научной литературы посвящено особенностям патофизиологии цереброваскулярной патологии при нарушении толерантности к глюкозе. Публикуемые данные демонстрируют, что у таких пациентов концентрации в плазме крови продуктов окисления белков и липидов значительно превышают контрольные значения [10].

Полученные нами результаты по определению концентрации малонового диальдегида (МДА) согласуются с ранее приведенными в литературе. Как видно из табл. 1, количество продуктов перекисного окисления липидов значимо выше в группе пациентов с инфарктом мозга, отягощенным сахарным диабетом, чем у больных ИМ, не имеющих данной патологии. Такая же тенденция наблюдается и у больных ХИМ, но различия при этом

недостоверны (значения медиан, верхних и нижних квартилей). Наши результаты косвенно подтверждают теорию о различной природе воспаления у больных с наличием сахарного диабета второго типа по сравнению с пациентами, у которых не выявлено данной патологии. Активность нейтрофилов, которые, как известно, являются источником эндогенного супероксид-радикала, возможно, компенсаторно снижена в ответ на гипергликемия-индуцированный окислительный стресс. Также причиной низкой активности клеток может быть процесс гликирования белков, который, в свою очередь, затрудняет активацию клеточных рецепторов. В любом случае данная тематика требует более глубокого и тщательного исследования.

Заключение

Анализ полученных данных позволил сделать вывод о том, что у больных в острейшей стадии инфаркта мозга регистрируется активизация системного воспаления и связанного с ним окислительного стресса. Высокий уровень хронического воспаления может являться неблагоприятным фоном при возможном обострении ДЭ, что, в свою очередь, негативным образом отразится на прогнозе развития заболевания. Низкий уровень фагоцитарной активности иммунокомпетентных клеток у больных ишемией мозга с наличием СД второго типа, по всей видимости, вносит негативный вклад в ответ на проводимую терапию у данного контингента больных.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11–04–01683-а.

Список литературы

1. *Domínguez C., Delgado P. , Vilches A., Martín-Gallán P. , Ribó M., Santamarina E., Molina C., Corbeto N., Rodríguez-Sureda V., Rosell A., Alvarez-Sabín J., Montaner J. // Stroke. 2010. Vol. 41. N. 4. P. 653–660.*
2. *Grau A. J., Buggle F., Hacke W. // Nervenarzt. 1996. Vol. 67. N. 8. P. 639–649.*
3. *Kannel W. B., Wolf P. A. // JAMA. 2008. Vol. 3. N. 21. P. 2545–2547.*
4. *Libby P. , Sukhova G., Lee R. T., Galis Z. S. // J. Cardiovasc Pharmacol. 1995. Vol. 25. P. 9–12.*
5. *Marsche G., Hammer A., Oskolkova O., Kozarsky K. F., Sattler W., Malle E. // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 32172.*
6. *Mattila K. J., Valtonen V. V., Nieminen M. S., Asikainen S. // Clin. Infect. Dis. 1998. Vol. 26. N 3. P. 719–734.*
7. *Podrez E. A., Poliakov E., Shen Z., Zhang R., Deng Y., Sun M., Finton P. J., Shan L., Febbraio M., Hajjar D. P. , Silverstein R. L., Hoff H.F, Salomon R. G., Hazen S. L. // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 38517–38523.*
8. *Rossi A., Franceschini L., Fusaro M., Cicoira M., Eleas AA., Golia G., Bonapace S., Santini F., Sangiorgi G., Zardini P. , Vassanelli C. // Int. J. Cardiol. 2006. Vol. 111. P. 263–266.*
9. *Азизова О. А., Соловьева Э. Ю., Асейчев А. В., Баранова О. А., Бекман Э. М., Карнеев А. Н., Миронова О. М., Маневский А. П., Иванов А.Н, Федин А. И., Сергиенко В. И. // Ж. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013. Т. 113. № 9. С. 21–27.*
10. *Петрищев Н. Е., Власов Т. Д. // Росс. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 2000. Т. 86, № 2. С. 148–163.*
11. *Суслина З. А., ФедороваТ.Н., Максимова М. Ю. // Ж. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2000. Т. 100. № 190. С. 34–38.*

С 11 по 13 октября 2017 года в Москве в 75-м павильоне ВВЦ состоится III Российский конгресс лабораторной медицины

Конгресс проводится при поддержке Министерства здравоохранения РФ, Министерства промышленности и торговли РФ, Департамента здравоохранения Москвы, Национальной медицинской палаты, «ОПОРА РОССИИ», Международной федерации клинической химии и лабораторной медицины IFCC.

12 октября 2017 года в рамках конгресса состоится Первый форум «Молекулярная диагностика» на базе научно-практической конференции «Молекулярная диагностика», организатором которой традиционно является ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

На форуме «Молекулярная диагностика» будут представлены последние научные достижения и открытия в сфере применения молекулярных методов диагностики инфекционных заболеваний.

В рамках Первого форума «Молекулярная диагностика» состоятся три научные секции:

1 секция: "Молекулярная диагностика инфекционных болезней";
2 секция: "Разработка и применение высокотехнологичных молекулярно-генетических исследований в лабораторной практике";
3 секция: "Современные вопросы диагностики и контроля лечения орфанных заболеваний как мультидисциплинарная проблема".

Научные мероприятия конгресса будут включены в программу непрерывного медицинского образования врачей.

Участие в форуме бесплатное

www.congress.fedlab.ru

Н. А. Терехина

П. А. Акимов

Влияние острой алкогольной интоксикации на содержание гликогена в печени при общем переохлаждении организма

Н. А. Терехина, д.м.н., проф., зав. кафедрой биохимии[1]
П. А. Акимов, к.м.н., доцент кафедры биохимии[1], судебно-медицинский эксперт[2]

[1]Кафедра биохимии ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь
[2]ГКУЗОТ «Пермское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы», г. Пермь

Influence of acute ethanol intoxication on liver glycogen content in fatal hypothermia

P. A. Akimov, N. A. Teryokhina
Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner,
Perm Regional Bureau of Forensic Examination; Perm, Russia

Резюме
Употребление этанола сокращает время выживания при общем переохлаждении организма. В 540 случаях изучено содержание гликогена печени в зависимости от содержания этанола в крови пострадавших в результате общего переохлаждения организма. Степень алкогольного опьянения не влияет на содержание гликогена в печени при смертельной гипотермии. Коэффициент этанолурия / этанолемия достоверно снижается с увеличением содержания этанола в крови, что свидетельствуют о более быстром наступлении смерти при высоких концентрациях этанола в организме.

Ключевые слова: ***гликоген, алкоголь, общее переохлаждение организма.***

Summary
The ethanol intake reduces survival time in cases of fatal hypothermia. The liver glycogen content depending on the blood ethanol content of victims was explored on 540 cases of fatal hypothermia. The degree of ethanol intoxication does not affect on the liver glycogen content due to the death from fatal hypothermia. The rate of ethanoluria / ethanolemia significantly decreases with the increasing content of blood ethanol, indicating a more rapid death at high ethanol concentrations in the body.

Key words: ***glycogen, ethanol, fatal hypothermia.***

При наступлении смерти в результате общего переохлаждения организма в 60–70 % случаев пострадавшие находились в состоянии алкогольного опьянения [3, 7]. Одним из диагностических тестов, подтверждающих смерть от общего переохлаждения организма, является резкое снижение или отсутствие гликогена в печени, скелетной мышце и миокарде [5, 7]. Данные показатели используются в постмортальной дифференциальной диагностике, так как являются результатом нарушения регуляторных и компенсаторных механизмов в обеспечении энергопродукции организма для поддержания температурного гомеостаза. Ранее нами было исследовано влияние алкоголя на развитие смертельной гипотермии [3]. При этом гликоген в печени, скелетной мышце и миокарде не был обнаружен. Вместе с тем встречаются случаи гибели людей, у которых в мышцах и миокарде гликоген отсутствует, а в печени сохраняется при общем переохлаждении организма.

Целью работы явилось изучение содержания гликогена печени в зависимости от содержания этанола в крови при общем переохлаждении организма.

Материалы и методы

Объектами исследования служили ткани печени, скелетной мышцы, миокарда, кровь, моча 1 428 людей, скончавшихся в результате общего переохлаждения организма. У 540 погибших в результате общего переохлаждения организма гликоген в печени был обнаружен при отсутствии его в скелетной мышце и миокарде. В состоянии алкогольного опьянения среди этих 540 лиц оказались 366 (67,8 %) пострадавших. Содержание гликогена в тканях определяли разработанным нами методом [1, 6]. Принцип метода заключается в кислотном гидролизе гликогена до глюкозы с последующим определением глюкозы стандартным глюкозооксидазным методом. В крови и моче определяли содержание этанола модифицированным алкилнитритным газохроматографическим методом [1, 4] на хроматографе «Кристалл-2000».

Результаты и обсуждение

Были выделены шесть групп обследуемых по содержанию гликогена в печени (см. табл.). В норме содержание гликогена в печени составляет 100–200 мкмоль/г [2]. При наличии этанола в крови более половины наблюдений составили случаи с низким содержанием гликогена в печени, вместе с тем

умеренное снижение отмечено в 72 наблюдениях (19,7%), только в 14 случаях (3,8%) содержание гликогена в печени не было снижено. При этом оценивались содержание этанола в крови и моче, а также коэффициент соотношения этанола в моче к этанолу в крови (этанолурия / этанолемия). Содержание этанола в крови и моче и коэффициент этанолурия / этанолемия не зависят от содержания гликогена в печени (см. табл.).

Следующим этапом исследования было изучение содержания гликогена в печени при различном содержании этанола в крови. При этом одновременно исследовался и коэффициент этанолурия / этанолемия (см. рис.). Не выявлено достоверных отличий в содержании гликогена в печени людей, не употреблявших алкоголь незадолго до смерти и лиц, скончавшихся в состоянии алкогольного опьянения при общем переохлаждении организма (см. рис.). Коэффициент этанолурия / этанолемия прогрессивно снижался с увеличением содержания этанола в крови. Этот коэффициент является показателем динамики метаболизма этанола в организме. Указанные изменения свидетельствуют о более быстром наступлении смерти при высоких концентрациях этанола в организме. Таким образом, потребление этанола сокращает время выживания при общем переохлаждении организма. При этом концентрация этанола в крови (степень алкогольного опьянения) не влияет на содержание гликогена в печени.

Таблица
Содержание этанола в крови и моче в зависимости от содержания гликогена в печени

№ группы	Количество наблюдений	Содержание гликогена в печени, мкмоль/г	Алкоголь крови, г/л	p	Алкоголь мочи, г/л	p	Коэффициент этанолурия / этанолемия	p
1	14	Более 100	2,1 ± 0,2		3,1 ± 0,4		1,46 ± 0,16	
2	18	81–100	2,1 ± 0,3	> 0,5	3,1 ± 0,4	> 0,5	1,67 ± 0,27	> 0,2
3	54	61–80	2,1 ± 0,1	> 0,5	3,3 ± 0,2	> 0,5	1,76 ± 0,12	> 0,2
4	80	41–60	2,4 ± 0,1	> 0,2	3,6 ± 0,2	> 0,2	1,54 ± 0,06	> 0,5
5	118	21–40	2,2 ± 0,2	> 0,5	3,4 ± 0,2	> 0,5	1,58 ± 0,05	> 0,5
6	82	Менее 20	2,4 ± 0,1	> 0,2	3,5 ± 0,2	> 0,2	1,56 ± 0,06	> 0,5

Примечание: p — по отношению к первой группе наблюдений.

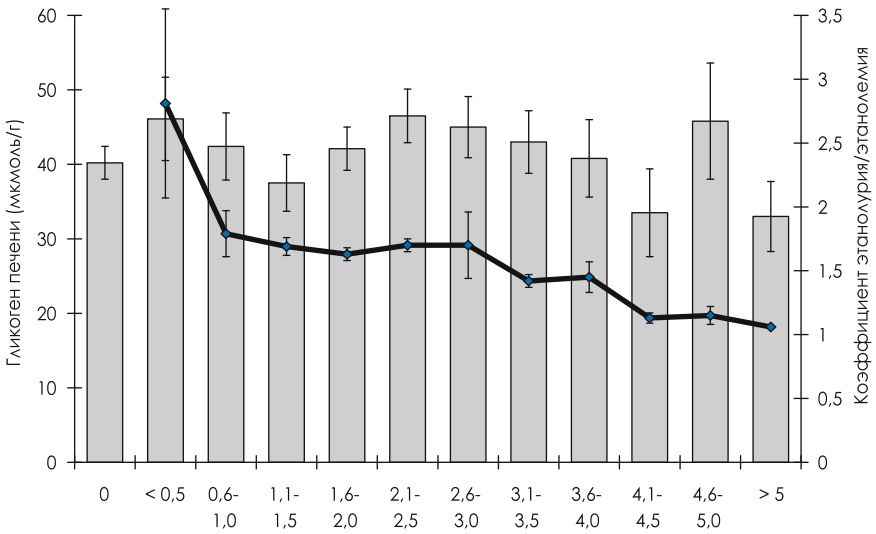


Рисунок. Содержание гликогена в печени в зависимости от содержания этанола в крови при общем переохлаждении организма. По оси абсцисс: содержание этанола в крови (г/л). По оси ординат: в виде столбиков — содержание гликогена (мкмоль/г); в виде черной сплошной линии — коэффициент этанолурия / этанолемия.

Острое и хроническое употребление этанола значительно снижает содержание гликогена в печени [1, 2, 8, 9, 10]. Доказано, что окисление алкоголя в организме сопровождается ингибированием глюконеогенеза и активацией гликогенолиза [9, 10]. Установлено, что даже при однократном употреблении этанола на фоне углеводной диеты синтез гликогена снижается [11]. Предположение о том, что недостаток углеводов в питании при хроническом употреблении этанола способствует более сильному снижению гликогена в печени, не подтвердилось [12]. Известно, что активность ферментов снижается при понижении температуры. Вместе с тем можно предположить, что одной из причин может быть разное количество транспортеров глюкозы. Установлено, что при употреблении алкоголя снижается концентрация транспортера глюкозы Glut 1, в то время как уровень Glut 2 не изменяется [13]. Нарушения в метаболизме печеночного гликогена при хроническом употреблении алкоголя тесно связаны с нарушением суточного ритма продукции ферментов, участвующих в синтезе и распаде гликогена [8]. Можно предположить, что при общем переохлаждении организма разная степень снижения содержания гликогена в печени, вероятно, связана с неодинаковым содержанием этого метаболита в организме человека до алкогольной интоксикации.

Выводы

Употребление этанола сокращает время выживания при общем переохлаждении организма. Об этом свидетельствует снижение коэф-

фициента этанолурия / этанолемия по отношению к содержанию этанола в крови. При смертельной гипотермии наличие и степень алкогольного опьянения не влияют на содержание гликогена в печени.

Список литературы

1. *Акимов П. А., Орбиданс А. Г., Терехин Г. А., Терехина Н. А. Влияние острой алкогольной интоксикации на содержание гликогена в печени и скелетных мышцах // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.— 2010.— № 2.— С. 15–17.*
2. *Акимов П. А., Терехин Г. А., Орбиданс А. Г., Терехина Н. А. Диагностическое значение определения содержания гликогена в тканях при острой алкогольной интоксикации // Клинико-лабораторная диагностика.— 2013.— № 9.— С. 118–118.*
3. *Витер В. И., Акимов П. А. Анализ содержания алкоголя в крови и моче при смертельной гипотермии // Медицинская экспертиза и право.— 2012.— № 3.— С. 27–28.*
4. *Об обнаружении и определении этилового алкоголя в крови и моче методом газо-жидкостной хроматографии: метод. письмо / № 10–95/14–32 от 22.04.1968 г. Главн. управл. леч.-проф. помощи Мин. здравоохр. СССР. М., 1968. 12 с.*
5. *Определение гликогена в миокарде, печени, скелетной мышце как метод лабораторной дифференциальной диагностики при смерти от острого отравления этанолом, ишемической болезни сердца и общего охлаждения: письмо / № 1688 от 28.07.88 г. Главн. суд.-мед. эксперт. М., 1988. 8 с.*
6. *Патент 2453849 RU. Способ определения метаболитов углеводного обмена в биологических тканях / П. А. Акимов, Н. А. Терехина.— № 2011109275/15; заявл. 11.03.2011; опубл. 20.06.2012; бюл. № 17.— 5 с.*
7. *Шигеев В. Б., Шигеев С. В., Колударова Е. М. Холодовая смерть.— М.— 2004.— 184 с.*
8. *Chronic ethanol consumption disrupts diurnal rhythms of hepatic glycogen metabolism in mice / Udoh U. S., Swain T. M., Filiano A. N. et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.— 2015.— Vol. 308, № 11.— P. 964–974.*
9. *Ethanol stimulates glycogenolysis and inhibits both glycogenesis via gluconeogenesis and from exogenous glucose in perfused rat liver / Mokuda O., Tanaka H., Hayashi T. et al. // Ann. Nutr. Metab.— 2004.— Vol.48, № 4.— P. 276–280.*
10. *Lopez C. H., Suzuki-Kemmelmeier F., Constantin J., Bracht A. Zonation of the action of ethanol on gluconeogenesis and ketogenesis studied in the bivascularly perfused rat liver. // Chem. Biol. Interact.— 2009.— Vol. 177, № 2.— P. 89–95.*
11. *Time-dependent effect of ethanol force-feeding on glycogen repletion: NMR evidence of a link with ATP turnover in rat liver / Beauvieux M. C., Gin H., Roumes H. et al. // Alcohol.— 2015.— Vol. 49, № 6.— P. 607–615.*
12. *Van Horn C. G., Cunningham C. C. Contributions of dietary carbohydrate and ethanol to alterations in liver glycogen levels and glycolytic activity // Alcohol.— 1999.— Vol. 19, № 2.— P. 139–144.*
13. *Van Horn C. G., Ivester P., Cunningham C. C. Chronic ethanol consumption and liver glycogen synthesis // Arch. Biochem. Biophys.— 2001.— Vol. 392, № 1.— P. 145–152.*

Итоги IX Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярная диагностика — 2017»

С 18 по 20 апреля 2017 года состоялась IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная Диагностика 2017», организаторами которой были НП «Национальное общество инфекционистов» и ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора. Конференция проходит раз в три года и является главным научным событием в сфере молекулярной диагностики в России и странах СНГ.

В конференции «Молекулярная диагностика 2017» приняли участие более 2400 делегатов. В рамках мероприятия прошли 30 научных секций и 9 сателлитных симпозиумов, на которых выступили 230 докладчиков из 16 стран (Австралия, Бельгия, Габон, Германия, Италия, Казахстан, Канада, Нидерланды, Россия, Сенегал, Сербия, Словения, США, Франция, Швейцария, Швеция).

К открытию конференции был издан сборник трудов, в который вошли более 850 тезисов.

Доклады участников были посвящены таким аспектам применения молекулярных методов диагностики, как, в частности:

- молекулярная диагностика вирусных гепатитов;
- ВПЧ-тестирование и профилактика рака шейки матки;
- современные направления онкогенетики и молекулярная диагностика в онкологии;
- инфекции с воздушно-капельным, контактно-бытовым механизмами передачи возбудителя и их осложнения;
- молекулярно-биологические методы в изучении инфекционной патологии желудочно-кишечного тракта;
- молекулярные методы в диагностике внутриутробных инфекций;
- современные подходы к молекулярной диагностике и эпидемиологический надзор за особо опасными, природно-очаговыми, тропическими и протозойными инфекциями;
- современные подходы к молекулярной диагностике инфекций органов репродукции;
- технологии молекулярного анализа в криминалистике и судебной медицине;
- молекулярная диагностика в генетике моногенных и мультифакторных заболеваний;
- новые направления молекулярной диагностики ВИЧ-инфекции;
- диагностика вторичных заболеваний при ВИЧ-инфекции и других иммунодефицитных состояниях;
- методы молекулярного анализа в диагностике и эпидемиологии туберкулезной инфекции;
- фармакогенетика и фармакогеномика;
- молекулярная диагностика инфекционных болезней животных;
- контроль качества и безопасность продуктов питания.

В первый день конференции на пленарном заседании с приветственными словами выступили Краевой Сергей Александрович — заместитель министра здравоохранения РФ и Кузькин Борис Петрович — заместитель руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Также состоялся пресс-брифинг для журналистов профильных и федеральных общественно-политических СМИ, на котором выступили сотрудники ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора совместно с иностранными докладчиками.

В выставке приняла участие 41 компания: «ИнтерЛабСервис», Siemens, «Генотек», фонд «Сколково», Eppendorf Russia, InnovaSystem, «БиоХимМак», «Биомерье», «Синтол», ДИАЭМ, «ТДА-Восток», «Скайджин», «Квадрос-Био», Fractal Bio, «Ниармедик» и другие.

На конференции были представлены последние открытия отечественной и зарубежной науки в сфере молекулярной диагностики, тем самым мероприятие в очередной раз выступило в качестве главной площадки для обмена знаниями и технологиями между специалистами отрасли.

Проблемы трактовки результатов исследования общего анализа крови по данным гематологического анализатора и световой микроскопии (клинический случай)

А. П. Щёкотова, д.м.н, проф., зав. кафедрой[1]
Д. Ю. Соснин, д.м.н. доцент[1]
О. Г. Кубарев, ординатор[1]
А. С. Толкач, зав. терапевтическим отделением[2]
О. В. Костарева, клинический фармаколог[2]
Л. С. Онянова, руководитель лабораторного отдела[3]
А. Ю. Башкиров, сотрудник учебно-методического отдела[3]

[1]Кафедра клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь
[2]НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Пермь-2» ОАО «РЖД», г. Пермь
[3]ООО «Вест-Медика», г. Пермь

Problems in results interpretation of general blood analysis study according to hematology analyzer and light microscopy data (clinical case)

A. P. Shchyokotova, D. Yu. Sosnin, O. G. Kubarev, A. S. Tolkach, O. V. Kostareva, L. S. Onyanova, A. Yu. Bashkirov
Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner, the Branch Clinical Hospital at the Perm-2 Railway Station, West-Medica Co.; Perm, Russia

Резюме
Представлен клинический случай аутоиммунной гемолитической анемии с расхождением данных, полученных с помощью гематологического анализатора и при микроскопическом исследовании окрашенных препаратов периферической крови. Описаны анамнез, клиническая картина заболевания, приведены результаты дополнительных лабораторных исследований. Обсуждены причины различия данных гематологического анализатора и результатов световой микроскопии.

Ключевые слова: ***аутоиммунная гемолитическая анемия, общий анализ крови, гематологические анализаторы, мазок крови.***

Summary
A clinical case of autoimmune hemolytic anemia with the divergence of data obtained using the hematology analyzer and microscopic examination of stained preparations of peripheral blood is presented. The history and clinical picture of disease, the results of additional laboratory tests were described. The reasons for the differences of hematology analyzer and light microscopy results are discussed.

Key words: ***autoimmune hemolytic anemia, general blood analysis, hematology analyzers, blood smear.***

Внедрение и широкое использование гематологических анализаторов для выполнения общего анализа крови (ОАК) сопровождается уменьшением использования традиционных методов анализа крови, в том числе световой микроскопии окрашенного препарата. Однако известно, что при использовании гематологических анализаторов могут возникать ошибки, связанные с неправильной идентификацией морфологически измененных клеток крови, в частности, лейкоцитов [3, 4, 5]. Наиболее частой причиной микроскопического исследования клеток крови после гематологического анализатора является отклонение результатов в анализе ОАК именно для лейкоцитов крови. Однако следует учитывать, что в ряде случаев использование указанных приборов может вести к существенных ошибкам и в определении показателей, характеризующих эритроциты [1, 2, 5].

Клинический случай

Больная И., 46 лет, (медицинская карта № 3623) госпитализирована в терапевтическое отделение НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Пермь-2» ОАО «РЖД» в сентябре 2016 года с жалобами на общую слабость, головокружение, тошноту, снижение аппетита, головные боли, периодическое изменение цвета (потемнение) мочи. С 2010 года находится на учете у гематолога с диагнозом «аутоиммунная гемолитическая анемия» (АИГА), периодически получает лечение преднизолоном. В этот же период у данной пациентки был диагностирован вирусный гепатит С (ВГС). Последняя госпитализация в гематологическое отделение

Таблица 1
Результаты общего анализа крови (ОАК) пациентки И.

Показатель	При поступлении 02.09.16	06.07.17	08.09.16	08.09.16 (повторно*)	Перед выпиской 13.09.16
Эритроциты (RBC), × 10^{12}/л (норма: 4,0–5,5 × 10^{12}/л)	2,3	1,38	1,3	1,59	1,39
Гемоглобин (HGB), г/л (норма: 120–174/л)	74,0	74,00	89,0	84,00	100,0
Гематокрит (HCT), % (норма: 36–52%)		13,40	**12,7**	**17,90**	14,3
Средний объем эритроцита (MCV), фл (норма: 80–95 фл)		**97,10**	**97,7**	**112,50**	**102,5**
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг (норма: 27–33 пг)		**54,10**	**68,8**	**52,80**	**72,2**
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC), г/л (норма: 320–380 г/л)		**557,00**	**704,0**	**469,00**	**704,0**
Распределение эритроцитов (RDWc), % (норма: менее 15%)		24,20	27,0	17,90	25,7
Ретикулоциты, % (норма 0,2–1,2%)	9,0				9,8

Примечание: * — повторное изменение было выполнено через два часа после первоначального, при этом кровь почти 30 минут находилась в миниветте при комнатной температуре.

была в 2013 году. В этом же году пациентка самостоятельно прекратила принимать преднизолон. В 2015 году развился илеофеморальный тромбоз, диагностированы антифосфолипидный синдром, а также аутоиммунный тиреоидит, гипотиреоз. Последнее ухудшение наступило за семь дней до поступления в стационар на фоне приема нестероидных противовоспалительных препаратов по поводу дорсопатии шейно-грудного отдела позвоночника. В ОАК от 02.09.16 концентрация гемоглобина (Hb) составила 74 г/л, содержание ретикулоцитов — 9 % (табл. 1).

При госпитализации состояние средней тяжести, отмечаются бледность и желтушное окрашивание кожных покровов, спленомегалия (селезенка на 5 см ниже реберной дуги). Проведено дополнительное лабораторное обследование.

Биохимический анализ крови был выполнен на полуавтоматическом фотометре Stat Fax 1904+ (Awareness Technology, США). Результаты от 03.09.16: концентрация общего билирубина — 39,6 мкмоль/л (норма: 8,5–20,5), активность АСТ — 76 Е/л (норма: 5–40), активность АЛТ — 35 Е/л (норма: 5–40). Результаты от 13.09.16: концентрация общего билирубина снизилась и составила 12 мкмоль/л, активность АСТ — 36 Е/л, активность АЛТ — 25 Е/л. Серологическое исследование от 06.09.16: обнаружены антитела (суммарные) к ВГС.

Иммуногематологическое исследование 06.09.16: прямая проба Кумбса положительная (+++). Проба на выявление антител типа Доната-Ландштейнера от 09.09.16 положительная.

Результаты ОАК (красная кровь), выполненные на гематологическом анализаторе Drew-3 (Drew Scientific, США) представлены в табл. 1. По данным прибора, изменения состава крови, сформировавшиеся у больной, следовало бы охарактеризовать как макроцитарную гиперхромную с выраженным анизоцитозом эритроцитов (RDW — 27 %) анемию средней степени тяжести. Однако обращают на себя внимание необычно высокие значения эритроцитарных индексов MCH (54,0–72,2 пг) и MCHC (552–704 г/л). Значения MCHC, превышающие верхнюю границу нормы, обычно свидетельствуют о погрешности в работе гематологического анализатора или о проблемах на преаналитическом этапе [2, 4, 6]. Также известно, что при тяжелой гиперхромной анемии, например, B_{12}-дефицитной, MCH обычно не превышает 50 пг, при этом MCHC не только не превышает верхнюю границу нормы, а, наоборот, снижается. При получении таких результатов необходимо уточнить причины, которые ведут к резкому повышению уровня MCHC. В нашем случае ошибка, связанная с работой гематологического анализатора, была исключена: был выполнен весь комплекс стандартных мер, чтобы убедиться в адекватном функционировании анализатора. Большую помощь в подобных ситуациях оказывают метод световой микроскопии окрашенных препаратов и дополнительные тесты.

Результаты анализа, выполненные на гематологическом анализаторе, расходились с данными, полученными при световой микроскопии. При микроскопическом исследовании окрашенного мазка крови были обнаружены гиперхромные эритроциты диаметром 4–6 мкм, то есть микросфероциты (рис. 1), а также умеренное количество полихроматофилов. Наличие полихроматофилии связано с высоким содержанием ретикулоцитов (рис. 2). Для АИГА характерно появление в крови сфероцитов; механизм их образования связан с фиксацией на их мембране антител: макрофаги селезенки фагоцитируют антитела, связанные с эритроцитами, а вместе с ними и часть мембраны клетки, что постепенно ведет к уменьшению поверхности эритроцита и изменению формы клетки (образуются сферические эритроциты). Также необходимо отметить, что при наследственной микросфероцитарной анемии уменьшение поверхности и изменение формы клеток происходят на стадии ретикулоцита, при АИГА уменьшение поверхности и дегидратация эритроцитов — это признаки только зрелых клеток [1].

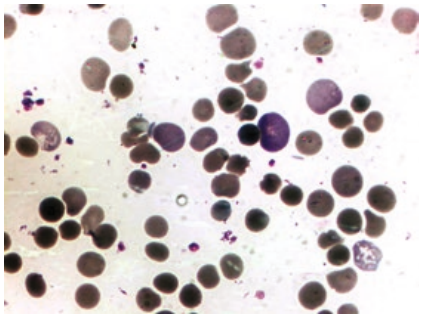


Рисунок 1. Фотография тонкой части мазка крови пациентки И. (изображение получено с помощью сканер-анализатора мазков крови Vision Hema®, окраска по MGG, ув. 500×).

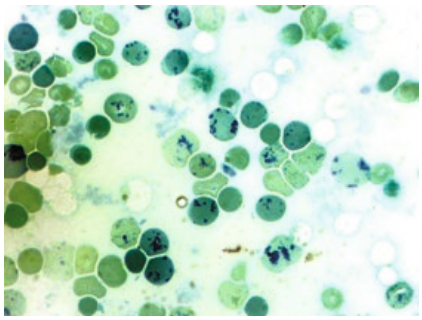


Рисунок 2. Фотография ретикулоцитов в мазке периферической крови пациентки И. (изображение получено с помощью сканер-анализатора мазков крови Vision Hema®, суправитальное окрашивание бриллиантовым крезиловым синим, ув. 500×).

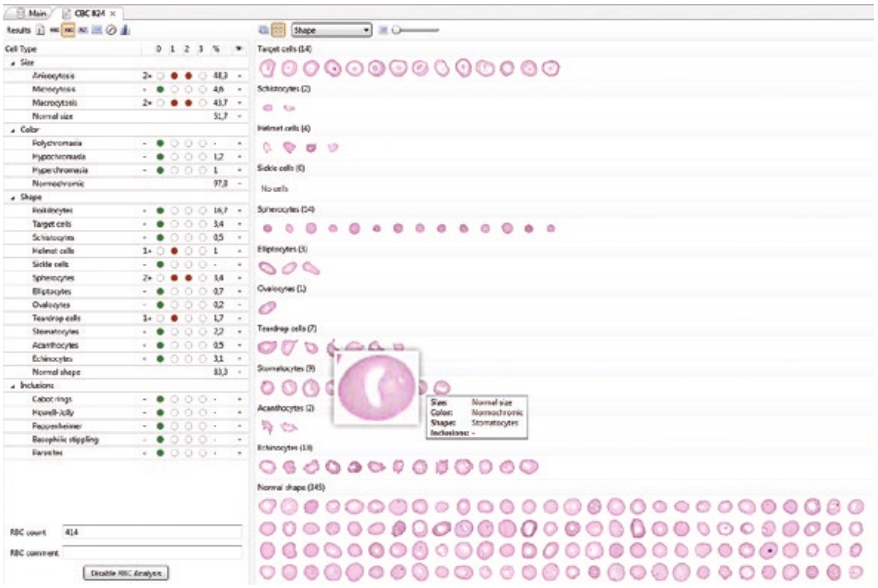


Рисунок 3. Пример анализа морфологических признаков эритроцитов с использованием Vision Hema® Vision Extented RBC («Вест-Медика», Австрия — Россия).

Использование современных технологий позволяет объективизировать оценку морфологии эритроцитов. Разработанные сканер-анализаторы мазков периферической крови позволяют автоматически распознавать различные характеристики клеток, в том числе и эритроцитов, например, как это представлено на рис. 3.

При использовании сканер-анализатора Vision Hema® и модуля Vision Extended RBC («Вест-Медика», Австрия – Россия), предназначенного для детальной морфологической оценки эритроцитов, уровень микросфероцитов в представленном случае составил 36%. Точное количественное определение сфероцитов имеет важное диагностическое значение для диагностики АИГА. Такое кажущееся расхождение размеров эритроцитов, по данным гематологического анализатора и микроскопии мазка крови, объясняется особенностями АИГА. При этом заболевании повышение MCV, по данным гематологического анализатора, обусловлено увеличением содержания ретикулоцитов, характеризующихся большим объемом, чем зрелые эритроциты [1]. А сфероциты, которые имеют меньший диаметр при исследовании мазка крови, из-за своей шаровидной формы обладают нормальным или даже меньшим, чем у нормального эритроцита объемом[9].

Кроме того, при интенсивной пролиферации клеток в костном мозге, сопровождающей гемолитические анемии, часто формируется относительный дефицит фолиевой кислоты (витамина B_c). Поэтому при остром гемолизе или гемолитическом кризе в крови появляются признаки, характерные для мегалобластных анемий: тельца Жолли, гиперсегментация нейтрофилов и прочие. У данной пациентки наблюдались указанные признаки.

Известно, что при ряде форм АИГА антитела могут вызывать агглютинацию эритроцитов. В этих случаях прохождение склеившихся эритроцитов через измерительную апертуру гематологического анализатора прибор регистрирует как единичный эритроцит с большим, чем у обычного эритроцита, объемом. При этом линейная зависимость между измеренным и реальным объемом склеившихся эритроцитов не соблюдается. В результате данной погрешности количество эритроцитов (RBC) резко занижается, а средний объем эритроцита рассчитывается неправильно. Это ведет к некорректному расчету гематокрита и эритроцитарных индексов, характеризующих среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) и среднюю концентрацию гемоглобина в 100 мл эритроцитов (MCHC). В описываемом нами случае экстремальное повышение эритроцитарных индексов связано именно с агглютинацией эритроцитов.

В описанном случае, кроме неправильного определения числа эритроцитов из-за их агглютинации, возможна и еще одна причина существенных расхождений данных гематологического анализатора и картины мазка крови при микроскопии. Такой причиной могли быть эпизоды внутрисосудистого гемолиза, осложняющие обычное течение заболевание, протекающего, как правило, с внутриклеточным гемолизом. Возможность такого процесса подтверждается жалобами пациентки на эпизодическое выделение темной мочи. При АИГА это может быть связано с наличием двухфазных антител. При охлаждении крови происходит фиксация антител на поверхности эритроцитов, а через непродолжительное время развивается гемолиз. Темный цвет мочи в таких случаях может объ-

ясняться эпизодами гемоглобинурии и (или) гемосидеринурии. Следует учитывать, что данные изменения наблюдаются эпизодически и требуют тщательного мониторирования состава мочи у таких пациентов. Так как пациентка находилась в стационаре и не подвергалась воздействию низких температур окружающего воздуха, эпизоды появления темной мочи не отмечены и в анализе мочи не выявлен свободный гемоглобин. Однако наличие гемолиза, обусловленного подобным механизмом, было подтверждено *in vitro* положительной пробой на выявление двухфазных антител типа Доната-Ландштейнера. Инкубация образца крови при температуре 4 °С и последующее его согревание сопровождалось развитием гемолиза [4, 7].

Представленный случай является иллюстрацией к старому спору. Что будет с общим анализом крови в будущем? В какую сторону пойдет развитие приборного парка? Исчезнет ли необходимость микроскопической оценки морфологии клеток в мазке периферической крови?

Нам представляется, что дальнейшее развитие технологий выполнения ОАК будет сочетать достоинства различных технологий. Объединение гематологических анализаторов и сканер-анализаторов мазков периферической крови позволит объединить сильные стороны обеих технологий и компенсировать их недостатки [8]. При этом для трактовки результатов у конкретного больного всегда необходим учет клинической картины и результатов дополнительных тестов.

Список литературы

1. *Алексеев Н. А. Анемии. СПб.: Гиппократ. 2004, 512 с.*
2. *Егорова Е. Н., Пустовалова Р. А., Горшкова М. А. Клинико-диагностическое значение эритроцитарных индексов, определяемых гематологическими анализаторами. Верхневолжский медицинский журнал. 2014; 3. С. 34–41.*
3. *Луговская С. А., Морозова В. Т., Почтарь М. Е., Долгов В. В. Лабораторная гематология. М., Триада, 2006, 223 с.*
4. *Луговская С. А. Возможности гематологических анализаторов. Клиническая лабораторная диагностика, 2007, № 2, С. 6–9.*
5. *Погорелов В. М., Иванова Л. А., Козинец Г. И. Эффективность и информативность гематологических анализаторов. Гематология и трансфузиология. 2012 Т. 57, № 3. С. 30–37.*
6. *Сисла Б. Руководство по лабораторной гематологии. Практическая медицина, 2011, 352 с.*
7. *Льюис С. Митчел, Бейн Барбара Дж., Бейтс Имелда. Практическая и лабораторная гематология. ГЭОТАР-Медиа, 2009, 720 с.*
8. *Соснин Д. Ю., Ненашева О. Ю., Кубарев О. Ю. Автоматизированные системы анализа мазков крови и гематологические анализаторы — конкуренты или партнеры? Поликлиника. 2014 № 1–3, С. 34–37.*
9. *Palmer L., Briggs C., McFadden S., Zini G., Burthem J., Rozenberg G., Proytcheva M., Machin S. J. ICSN recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphology. Int. J. Lab. Hematol. 2015, Jun; 37 (3), 287–303.*

Международная научная конференция «Клиническая протеомика. Постгеномная медицина»

30 октября — 01 ноября, г. Москва

Институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича совместно с Европейской протеомной ассоциацией (EuPA) приглашают вас принять участие в работе Международной научной конференции «Клиническая протеомика. Постгеномная медицина», которая пройдет в период с 30 октября по 01 ноября 2017 года в Москве. Место проведения конференции: Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет).

Сеченовский университет выбран не случайно. В рамках мероприятия будут обсуждаться не только достижения геномных и постгеномных технологий, но и практические примеры использования их в области персонализированной медицины и нутрицологии, спортивной медицины и велнес-индустрии, иммунологии и регенеративной медицины, а также в других актуальных областях.

В конференции примут участие ведущие ученые мирового уровня, среди них профессоры Дэвид Табб (Университет Стелленбош, ЮАР), Дэвид Гудлетт (Университет фармацевтики Мэриленда, США), Паола Ронкада (Институт Спалланзани, Италия).

Избранные материалы конференции, прошедшие ускоренное рецензирование, будут опубликованы в виде коротких статей в специальном выпуске журналов «Биомедицинская химия» и Proteomes.

Научная программа конференции предполагает организацию и проведение пленарных лекций, секционных устных и стендовых докладов. Будет организована специализированная выставка, где ведущие отечественные и зарубежные компании представят свою продукцию и разработки.

Молодых ученых и студентов приглашаем на практические семинары:

- 30 октября — «Геном человека и клиническая практика» (iBinom, Россия);
- 30 октября — «Анализ протеомных данных? Это элементарно!» (Протеоинформатика) (EuBIC, Бельгия);
- 31 октября — «Поиск мишений для создания лекарств с PathWay Studio» (Elsevier, Россия);
- 01 ноября — «Оценка контроля качества данных лонгитудинальных (многомесячных, длительных) исследований» (Университет Стелленбош, ЮАР);
- 01 ноября — «Скрытая пищевая непереносимость (ImmunoHealth, США).

Материалы конференции будут опубликованы в специальном выпуске журнала «Биомедицинская химия».

Информация о конференции, правилах регистрации и подачи тезисов представлена на официальном сайте **www.clinprot2017.org.**

Оргкомитет

Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH–группы

В. А. Арсеньева, ст. микробиолог отдела перспективных разработок[1]
Е. А. Амелина, к.б.н., нач. отдела перспективных разработок[1]
С. Г. Марданлы, д.м.н., проф. кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин[2], президент и директор по науке[1], акад. АМТН, заслуженный работник здравоохранения России
С. В. Ротанов, д.м.н., доцент, проф. кафедры дерматовенерологии лечебного факультета[3], консультант[1]

[1]ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область
[2]ГОУ ВО Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» Минобразования Московской области, г. Орехово-Зуево, Московская область
[3]ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва

Linear immunoblotting for simultaneous detection of antibodies to main pathogens of TORCH-infection

V. A. Arsenyeva, E. A. Amelina, S. G. Mardanly, S. V. Rotanov
ECOlab Co., Elektrogorsk, Moscow Region; State University of Humanities and Technology, Elektrogorsk, Moscow Region; Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow; Russia

Резюме
Разработан российский набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» для определения в формате линейного иммуноблоттинга антител к основным возбудителям TORCH группы (комплект № 1 — IgG и комплект № 2 — IgM). Исследование с новым набором 141 контрольного материала промышленного производства показало 100-процентные чувствительность и специфичность исследований. Изучение 1115 клинических образцов, полученных от лиц, проходивших диагностическое обследование, в ИФА и линейном иммуноблоттинге с разработанным набором и его аналогом зарубежного производства позволило определить показатели клинической информативности изучавшихся методов и соответствующих им наборов реагентов по ГОСТ Р 53022.3–2008. Полученные данные позволили обосновать рекомендации о применении нового набора реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» в качестве альтернативы использования нескольких ИФА-наборов при скрининге моноспецифических антител к каждому из основных патогенов TORCH-группы, установлении активности инфекционного процесса и определении предполагаемых сроков инфицирования.

Ключевые слова: ***ИФА, Western blot, клиническая информативность, TORCH-инфекции.***

Summary
A domestic set of Line-Blot TORCH-profile reagents was developed to determine the form of linear immunoblotting of antibodies to the main pathogens of the TORCH-group (the kit No. 1 — IgG and the kit No. 2 — IgM). A study with a new set of 141 control materials of industrial production showed 100 per cent sensitivity and specificity of the studies. The study of 115 clinical specimens obtained from individuals who underwent a diagnostic examination in ELISA and linear immunoblotting with the developed set and its analogue of foreign production made it possible to determine the indices of clinical informativeness of the studied methods and the corresponding reagent kits in accordance with GOST R 53022.3–2008. The obtained data allowed to substantiate recommendations on the use of the new Line-Blot TORCH-profile reagent as an alternative to the use of several ELISA kits in screening monospecific antibodies to each of the main pathogens of the TORCH-group, establishing the activity of the infection process and determining the expected timing of infection.

Key words: ***ELISA, Western blot, clinical informativeness, TORCH-infections.***

По данным официальной статистической отчетности ВОЗ, не менее 10% новорожденных инфицируются внутриутробно разными вирусами, бактериями и паразитами [1]. Опасность внутриутробного инфицирования (ВУИ) зависит от свойств возбудителя, состояния здоровья беременной и плода, а также от эпидемиологической ситуации в географическом регионе. Более высокая частота внутриутробного поражения плода наблюдается при первичном инфицировании беременной патогеном, чем при латентном течении инфекции и ее обострении. Истинная величина показателя распространенности ВУИ до настоящего времени не установлена, по данным отдельных научных работ, она составляет 6–10% [2–4], а в отдельных регионах — 22,6% [1, 4–7] или даже 53% [8].

Внутриутробные или врожденные инфекции нередко являются причиной гибели плода. Так, частота ранней неонатальной заболеваемости и смертности при ВУИ варьирует от 5,3 до 27,4%, а мертворождаемость достигает 16,8%. Необходимость изучения ВУИ обусловлена и тем, что у плодов, перенесших ВУИ, часто определяется врожденная патология, приводящая к серьезным нарушениям здоровья и развитию инвалидности. Проникновение патогенов в организм плода на ранних этапах развития приводит к альтеративным изменениям клеток, нарушениям закладки тканей и систем органов, формированию в поврежденных органах фиброзно-склеротических трансформаций, в то время как ВУИ в поздний феталь-

ный период чаще сопровождаются воспалительным повреждением отдельных органов или генерализованным поражением [3, 5–7, 9–10].

Истинная частота перинатальной патологии, обусловленной инфекционными факторами, остается неуточненной, что обусловлено отсутствием скрининговых исследований, несовпадением частоты инфицированности и непосредственной заболеваемости, частым латентным течением патологического процесса, объективной сложностью антенатальной лабораторной диагностики. При этом значительная часть инфекций остается нераспознанными и учитываются как следствие осложнений родового акта, внутриутробной асфиксии, синдрома респираторных расстройств и других патологических состояний.

Клинические проявления ВУИ часто не имеют специфических признаков, и это затрудняет их этиологическую диагностику, что послужило основанием их объединения в общую группу «TORCH-инфекции» (аббревиатура основных заболеваний: Toxoplasmosis, Other infections, Rubella, Cytomegalia и Herpes), при этом в разряд «другие» специалисты включают широкий круг инфекций, увеличивающийся с развитием знаний о них: сифилис, листериоз, вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекцию, хламидиоз, микоплазмоз, вирус Зика и другие [3, 8–10].

В лабораторной диагностике TORCH-инфекций абсолютный приоритет имеют непрямые иммунохимические методы обследования беременных и новорожденных, позволяющие выявлять в крови маркеры гуморального иммунного ответа и оценивать динамику их количественного содержания [11–18]; к числу подобных методов следует отнести иммуноферментный анализ (ИФА) и линейный иммунный блоттинг (ЛИБ). Преимуществом технологии ЛИБ является возможность определения в крови обследуемого специфических антител к отдельным иммунокомпетентным антигенам одного или даже нескольких возбудителей инфекций в формате одного мультиплексного лабораторного исследования [16–19].

Цель настоящего исследования — разработка нового медицинского изделия (набора реагентов), позволяющего в рамках одного диагностического исследования крови пациента дифференцированно определять антитела к каждому из основных возбудителей инфекций TORCH-группы, не уступающего по показателям клинической информативности зарубежным аналогам.

Материалы и методы

При разработке и создании нового отечественного набора реагентов использована технология линейного иммунного блоттинга, а также необходимые для этого реагенты. Оценку специфической активности компонентов разработанного набора осуществляли с аттестованными в ИФА контрольными сыворотками крови (n = 141) из состава семи стандартизованных панелей (СОП) разных производителей, содержавших и не содержавших антитела к антигенам возбудителей инфекций TORCH-группы (ЗАО «МБС»: кат. № TGC-8, TGS-24 и SGS-36; ЗАО «Вектор-Бест»: кат. № D-2558, D-1540 и D-2141; фирма Sera Care Life Sciences: cat № PT C 203–1,2). Изучение диагностической эффективности набора проведено на 1115 клинических образцах, полученных от беременных и лиц, проходивших лабораторное обследование в диагностическом центре El Clinic (г. Электрогорск) и на Московской областной станции переливания крови (г. Москва).

Результаты исследования и обсуждение

В основу разработки нового набора реагентов была положена технология линейного иммунного блоттинга, при которой в качестве твердой фазы используют узкие полоски мелкопористой нейтральной мембраны (стрипы), на которые дискретно наносят разные антигены (иммуносорбент), вследствие чего в результате исследования получают данные об иммунологической реактивности образца дифференцированно в отношении каждого антигена.

При литературным данным о специфичности и иммуногенности для человека были отобраны очищенные нативные и рекомбинантные антигены основных возбудителей инфекций TORCH-группы для последующего их размещения на иммуносорбенте: нативный антиген *Toxoplasma gondii* и рекомбинантный аналог токсоплазменного антигена p30; нативный антиген *Rubella virus*; рекомбинантный аналог мозаичного антигена цитомегаловируса (CMV), содержащий иммунодоминантные последовательности белков pp150, pp52, pp28 и gB; рекомбинантные аналоги антигена G1 вируса простого герпеса I типа и антигена G2 вируса простого герпеса II типа (HSV-1 и HSV-2).

Кроме этого, на иммуносорбенте были размещены: международный стандарт ВОЗ Anti-*Rubella* Immunoglobulin, Human NIBSC code: RUBI-1–94, представляющий собой IgG человека к вирусу краснухи в концентрации 15–20 МЕ/мл (линия Rub. cut off) и три контрольные линии (две из которых — «0,5+» и «2,0+» — содержат человеческие IgG или IgM в разных концентрациях для калибровки результатов исследования, и одна линия — КВО — антивидовые антитела к IgG / IgM человека для контроля внесения исследуемого образца).

Разработанный в отделе перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск Московской области) новый оригинальный набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» предназначен для обследования пациентов с целью одновременного определения методом линейного иммуноблоттинга специфических антител к мажоритарным антигенам основных возбудителей инфекций TORCH-группы (комплект № 1 — IgG, комплект № 2 — IgM).

Расположение антигенных линий на стрипах иммуносорбента представлено на схеме (рис. 1). Различия в структуре иммуносорбента в комплектах № 1 и 2 обусловлены особенностями лабораторного обследования для диагностики отдельных инфекций TORCH-комплекса.

Набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» включает: иммуносорбент (24 нумерованных стрипа); раствор для разведения образцов; РФ-сорбент (только в комплекте № 2); конъюгат — козьи антитела к Ig человека, конъюгированные со щелочной фосфатазой (в комплекте № 1 к IgG и в комплекте № 2 к IgM); 10-кратный концентрат промывочного раствора и субстратный раствор.

Процедура лабораторного исследования клинических образцов человека (сыворотка крови или цереброспинальная жидкость — ликвор) осуществляется в следующей последовательности:

- перед определением специфических IgM клинические образцы обрабатывают РФ-сорбентом и центрифугируют для удаления IgM-ревматоидного фактора, а также избытка IgG;
- в реакционные канавки вносят раствор для разведения образца, погружают в него иммуносорбент, добавляют исследуемый образец и обеспечивают длительную инкубацию при постоянном перемешивании; это приводит к образованию иммунных комплексов, фиксированных в местах иммобилизации антигенов возбудителей TORCH-инфекций; при последующем четырехкратном промывании из реакционных канавок и со стрипов удаляются все не вступившие в реакцию белки клинических образцов;
- в реакционные канавки вносят конъюгаты, что формирует на стрипах более сложные иммунные комплексы, помеченные ферментом, которые не удаляются со стрипов на этапе промывания, в то время как не вступившие в связь компоненты удаляются из реакционной среды;
- на завершающем этапе в лунки с иммуносорбентом вносят субстрат, содержащий хромоген и окислитель. В результате индуцированного щелочной фосфатазой восстановления хромогена в местах первичной локализации на стрипах антигенов возбудителей TORCH-инфекций или контрольных антител происходит локальное образование окрашенных формазанов; интенсивность окраски этих формазонов пропорциональна исходному содержанию специфических Ig в испытуемом образце.

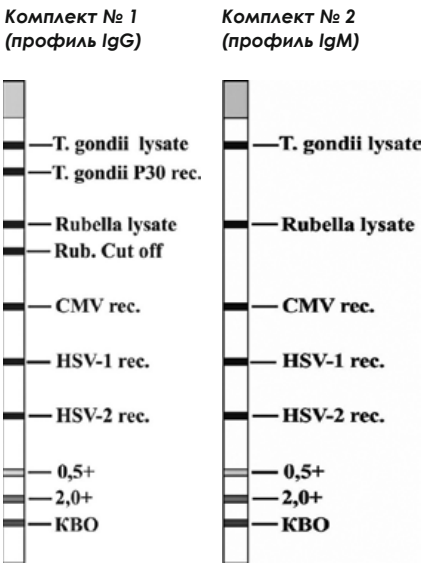


Рисунок 1. Схема размещения антигенов и контрольных линий на стрипах иммуносорбента в наборе реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» (комплект № 1 — профиль IgG и комплект № 2 — профиль IgM).

Учет и интерпретация результатов исследования

Появление и степень окрашивания контрольных линий позволяет оценить правильность проведения всей процедуры исследования, а КВО — только внесение исследуемого образца в реакционную лунку. Сопоставление интенсивности окраски линий «0,5+», «2+» с линиями антигенов иммуносорбента позволяет полуколичественно оценить содержание в исследуемом образце специфических антител соответствующего класса к антигенам *T. gondii, Rubella virus,* CMV, HSV-1 и HSV-2. Интенсивность окраски линии «0,5+» служит критическим уровнем (cut off): менее интенсивное окрашивание расценивают как отрицательный результат в определении антител, а более интенсивное — как положительный. Выраженность линии «2+» позволяет оценить окраску основных линий на стрипе в условных единицах (плюсах): от «0,5+» до «4+».

Содержание антител к антигенам *Rubella virus* с комплектом № 1 учитывают по отношению к интенсивности окраски линии Rub. cut off, содержащей IgG человека к вирусу краснухи в концентрации 15–20 МЕ/мл (международный стандарт ВОЗ). Использование этого индикатора позволяет также получить дополнительную информацию о напряженности гуморального иммунитета у пациентов, так как концентрация IgG против вируса краснухи в 15–20 МЕ/мл в Российской Федерации считается минимальной для обеспечения защиты относительно инфицирования *Rubivirus*.

Выявление на стрипе дополнительной окрашенной полосы на участке размещения рекомбинантного аналога токсоплазменного антигена p30 позволяет ориентировочно оценить сроки инфицирования обследуемого лица, так как окрашивание обеих полос (*T. gondii lysate* и p30) позволяет исключать первичную инфекцию в период последних трех месяцев.

Доклиническая оценка набора реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль»

Оценка специфической активности «Лайн-Блот TORCH-профиль» была проведена со 141 контрольным материалом, содержавшим (n = 94) и не содержавшим (n = 47) антитела к антигенам возбудителей инфекций TORCH-группы. В исследовании было установлено полное совпадение результатов определения специфических антител с новым набором реагентов по отношению к паспортным характеристикам использованных панелей контрольных сывороток; таким образом, были показаны 100-процентные чувствительность и специфичность набора.

Оценка клинической информативности исследований с набором реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG» (комплект № 1)

Клиническую информативность по ГОСТ Р 53022.3–2008 [20] комплекта № 1 нового набора изучали при исследовании 1115 сывороток, полученных от беременных и лиц, проходивших диагностическое обследование в специализированных медицинских организациях. В качестве наборов реагентов сравнения использовали соответствующие ИФА

Таблица 1

Результаты исследования 1115 клинических образцов крови в ИФА$_{IgG}$ и ЛИБ («Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG»)

Результат исследования	Количество результатов определение антител класса G к возбудителям TORCH-инфекций методами									
	T. gondii		*Rubella virus*		CMV		HSV-1		HSV-2	
	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ
Положительный	63	65	255	259	219	220	149	152	30	30
Неопределенный	8	5	13	9	5	4	4	0	4	0
Отрицательный	182	183	66	66	99	99	27	28	151	155
Всего	253	253	334	334	323	323	180	180	185	185

Таблица 2

Показатели клинической информативности наборов реагентов для определения IgG к возбудителям TORCH-инфекций

Наборы реагентов	Показатель информативности в отношении возбудителей, %*				
	T. gondii	*Rubella virus*	CMV	HSV-1	HSV-2
Клиническая чувствительность					
ИФА для выявления IgG	99,2*	99,1	99,1	98,3	100
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG	100	99,7	99,4	100	100
Recomline TORCH-Screening IgG	100	100	100	100	100
Клиническая специфичность					
ИФА для выявления IgG	99,6	100	99,7	99,4	98,4
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG	100	100	99,7	100	99,5
Recomline TORCH-Screening IgG	100	100	100	99,4	100
Диагностическая эффективность					
ИФА для выявления IgG	99,6	99,1	98,8	97,8	98,4
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG	100	99,7	99,1	100	99,5
Recomline TORCH-Screening IgG	100	100	100	99,4	100

Примечание: * — выделение по критерию достаточного уровня (для IgG более 99%).

тест-системы для определения IgG к антигенам каждого из возбудителей инфекций TORCH-группы, разрешенные к применению в Российской Федерации (производства ЗАО «ЭКОлаб»). Полученные при этом результаты представлены в табл. 1.

Было выявлено наличие расхождений в результатах определения IgG методами ИФА и ЛИБ: к *T. gondii* в 3 (1,19%) из 253 случаев, к *Rubella virus* в 4 (1,16%) из 344, к CMV в 1 (0,31%) из 323, к HSV-1 в 4 (2,22%) из 180 и к HSV-2 в 4 (2,16%) из 185 случаев. Клинические образцы (n = 16), с которыми установлены несовпадающие результаты в ИФА и ЛИБ, были дополнительно изучены с набором реагентов Recomline TORCH-Screening IgG фирмы «Микроген» (Германия). Результаты исследований в ЛИБ с двумя разными наборами реагентов совпали в 93,75% (по 75 из 80 определений).

Подробный анализ данных ЛИБ с двумя использованными наборами реагентов позволил установить полное тождество результатов определения IgG к *T. gondii* и HSV-1 и расхождение результатов в отношении определения антител к *Rubella virus* по одному образцу, CMV по трем образцам и к HSV-2 по одному образцу. Из пяти установленных случаев расхождения результатов в трех случаях отличие заключалось между положительными (+) и неопределенными (+/–), а в двух случаях — между неопределенными (+/–) и отрицательными (–) результатами.

По совокупности совпадающих результаты исследования клинических образцов в ИФА и ЛИБ с двумя разными наборами реагентов проведена завершающая аттестация клинических образцов по содержанию специфических IgG к антигенам возбудителей TORCH-инфекций, что позволило рассчитать и провести сравнительную оценку показателей клинической информативности (клинической чувствительности, специфичности и диагностической эффективности) изучавшихся методов и соответствующих им наборов реагентов (табл. 2).

Полученные результаты позволили прийти к заключению о высокой клинической информативности изучавшихся методов и применявшихся наборов реагентов. В случаях получения методами ИФА и ЛИБ отличающихся результатов скрининга специфических IgG приоритет имеют данные линейного иммуноблоттинга, так как для них была установлена более высокая диагностическая эффективность (99,4–100%). Разработанный отечественный набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgG» имеет высокие показатели клинической информативности, что позволяет его рекомендовать для использования при обследовании населения с целью скрининга TORCH-инфекций в медицинских организациях, оказывающих как первичную медико-санитарную, так и специализированную медицинскую помощь.

Оценка клинической информативности исследований с набором реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM», комплект № 2

При исследовании 860 сывороток, также полученных от беременных женщин и лиц, проходивших специализированное обследование в диагностических целях, изучали клиническую информативность комплекта № 2. Наборами реагентов сравнения также служили соответствующие ИФА-IgM тест-системы к антигенам возбудителей группы TORCH, имеющие регистрацию в Российской Федерации. Полученные результаты представлены в табл. 3.

При определении антител класса М было получено бóльшее количество расхождений в ИФА и ЛИБ: к *T. gondii*

Таблица 3

Результаты исследования 860 клинических образцов крови в ИФА$_{IgM}$ и ЛИБ («Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM»)

Результат исследования	Количество результатов определение антител класса М к возбудителю TORCH-инфекций методами									
	T. gondii		*Rubella virus*		CMV		HSV-1		HSV-2	
	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ	ИФА	ЛИБ
Положительный	11	14	9	12	52	62	9	11	4	5
Неопределенный	41	18	11	6	40	16	11	3	12	4
Отрицательный	195	215	216	218	128	142	167	173	190	197
Всего	247	247	236	236	220	220	187	187	206	206

в 24 (9,72%) случаях из 247, к *Rubella virus* в 5 (2,12%) из 236, к CMV в 24 (10,91%) из 220, к HSV-1 в 8 (4,28%) из 187 и к HSV-2 в 8 (3,88%) из 206 случаев.

Все клинические образцы, с которыми наблюдались разноречивые результаты в ИФА и ЛИБ («Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM»), также дополнительно исследованы с набором Recomline TORCH-Screening IgM фирмы «Микроген» (Германия). Результаты исследований в ЛИБ с двумя наборами реагентов разного производства были сопоставлены между собой, и установлено их полное совпадение в 80% случаев: при определении специфических IgM к *T. gondii* в 50%, к *Rubella virus* в 90%, к CMV в 75%, к HSV-1 в 83% и к HSV-2 в 100% случаев.

По совпадающим результатам исследования в ЛИБ клинические образцы были окончательно аттестованы по содержанию IgM к антигенам возбудителей TORCH-группы и рассчитаны показатели клинической информативности по ГОСТ Р 53022.3–2008 как для методов исследования, так и для соответствующих наборов реагентов (табл. 4).

Изучение полученных показателей позволило установить более высокую клиническую информативность определения IgM к антигенам возбудителей TORCH-группы в ЛИБ (98,6–100%), нежели в ИФА (75,0–98,0%); при этом набор реагентов российского производства «Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM» показал результаты, не уступающие использованному в исследовании зарубежному аналогу. По завершении процедуры государственной регистрации в России указанный набор реагентов может быть рекомендован для применения в специализированных медицинских организациях с целью скрининга инфицированности и установления активности течения инфекционного процесса.

Таблица 4

Показатели клинической информативности наборов реагентов для определения IgM к возбудителям TORCH-инфекций

Наборы реагентов	Показатель информативности в отношении возбудителей, %*				
	T. gondii	*Rubella virus*	CMV	HSV-1	HSV-2
Клиническая чувствительность					
ИФА для выявления IgG	78,6	75,0	81,7	81,8	80,0
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM	100*	100	96,6	100	100
Recomline TORCH-Screening IgM	100	100	100	100	100
Клиническая специфичность					
ИФА для выявления IgG	86,1	98,2	88,9	96,5	96,5
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM	94,8	99,1	98,6	100	100
Recomline TORCH-Screening IgM	100	100	100	99,4	100
Диагностическая эффективность					
ИФА для выявления IgG	85,8	97,0	87,3	95,7	96,1
Лайн-Блот TORCH-профиль-IgM	95,1	99,2	98,2	100	100
Recomline TORCH-Screening IgM	100	100	100	99,5	100

Примечание: * — выделение серым цветом по критерию достаточного уровня (для IgM более 95%).

Выводы

1. Для обследования населения с целью скрининга специфических антител к иммунодоминантным антигенам основных возбудителей инфекций TORCH-группы в биологических образцах (сыворотка крови или ликвор) на предприятии ЗАО «ЭКОлаб» (г. Электрогорск Московской области) был разработан набор реагентов в формате мультиплексного линейного иммуноблоттинга «Лайн-Блот TORCH-профиль» (комплект № 1 — IgG и комплект № 2 — IgM), который представлен для регистрации в Российской Федерации в установленном порядке.
2. Набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» предназначен для одновременного определения моноспецифических антител классов G и M к каждому из основных возбудителей TORCH-группы, оценки активности течения инфекции и сроков инфицирования.
3. При изучении аттестованных контрольных материалов (СОП) производственного выпуска, содержавших и не содержавших антитела к возбудителям TORCH-группы, с новым отечественным набором реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» показаны его 100-процентные чувствительность и специфичность.
4. Исследование клинических образцов крови, полученных от беременных и лиц, проходивших диагностическое обследование, установило более высокие показатели клинической информативности исследований методом линейного иммуноблоттинга по сравнению с иммуноферментным анали-

зом. Это позволило рекомендовать набор реагентов «Лайн-Блот TORCH-профиль» в качестве альтернативы ИФА, сберегающей время, реагенты и трудозатраты.

Список литературы

1. *Марданлы С. Г., Арсеньевой В. А., Амелиной Е. А., Ротанова С. В. «Линейный иммуноблоттинг для одновременного выявления антител к основным возбудителям инфекций TORCH-группы».*
2. *Acolet D., Golightly S., Springett A. Perinatal Mortality Confidential Enquiry into Maternal and Child Health (CEMACH): Perinatal Mortality 2006: England, Wales and Northern Ireland. London: CEMACH, 2008.*
3. *Медовиков П. С. Причины детской смертности.— СПб., 2004.*
4. *Гриноу А., Осборн Дж., Сазерленд Ш. [Ред.] Врожденные перинатальные и неонатальные инфекции. М.: Медицина, 2000.*
5. *Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates / WHO library Cataloguing-in-Publication Data [URL http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241563206_eng.pdf] (дата обращения 02.03.2015).*
6. *Заплатников А. Л., Коровина Н. А., Корнева М. Ю., Чебуркин А. В. Риск вертикального инфицирования и особенности течения неонатального периода у детей с внутриутробной инфекцией. Рус. мед. журн. 2005; 13 (1): 45–47.*
7. *Царегородцев А. Д., Рюмина И. И. Заболеваемость новорожденных внутриутробными инфекциями и задачи по ее снижению в Российской Федерации. Рос. вестн. перинатол. и педиатрии. 2001; 46 (2): 4–7.*
8. *Голева О. П., Богза О. Г. Состояние младенческой смертности в современной России. Журнал научных публикаций аспирантов и докторантов. 2013; 3 [http://www.jurnal.org/articles/2013/med7.html] (дата обращения 28.02.2015).*
9. *Землянский О. А. Эпидемиология внутриутробных инфекций плодов и новорожденных и оптимизация системы слежения за ними. Автореферат дисс. на соискание ученой степени д.м.н. Москва, 2004.*
10. *Нисевич Л. Л., Талалаев А. Г., Каск Л. Н., Миронюк О. В., Парсегова Т. С., Туманова Е. Л., Кущ А. А., Климова Р. Р., Федорова Н. Е. Врожденные вирусные инфекции и маловесные дети. Вопросы соврем. педиатрии. 2002; 1 (4): 9–13.*
11. *Remington J. S., Klein J. O. [eds.] Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant. 5th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co., 2001: 389–424.*
12. *Володин Н. Н. [ред.] Протоколы диагностики, лечения и профилактики внутриутробных инфекций у новорожденных детей. М.: ГОУ «ВУНМЦ» МЗ РФ, 2002.*
13. *Кулаков В. И. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология. Вып. 2. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.— 560 с.*
14. *Марданлы С. Г. Иммуноферментные тест-системы ЗАО «ЭКОлаб» для диагностики простого герпеса. Клин. лаборат. диагностика. 2008; 2: 35–38.*
15. *Марданлы С. Г., Асратян А. А. Иммуноферментные тест-системы для диагностики цитомегаловирусной инфекции. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2008; 3: 98–100.*
16. *Марданлы С. Г. Разработка и испытания новых иммуноферментных тест-систем для диагностики токсоплазмоза. Клин. лаборат. диагностика. 2009; 2: 37–40.*
17. *Марданлы С. Г. Задачи и перспективы совершенствования клинической лабораторной диагностики инфекций группы TORCH. Вестник службы крови. 2013; 2: 54.*
18. *Марданлы С. Г., Томашевская Н. А., Мухина А. И., Гвильдис И. Ю., Кириллова Л. Д., Хожаинова М. П. Опыт использования комплекса тест-систем для диагностики инфекций TORCH-группы. Эпидемиология и инфекционные болезни: Актуальные вопросы. 2014; 5: 65–69.*
19. *Марданлы С. Г., Арсеньева В. А., Акиншина Ю. А., Амелина Е. А., Захаров М. В., Никитина А. В. Разработка нового набора реагентов для скрининговой диагностики с целью одновременного обнаружения антител к каждому из основных возбудителей инфекций TORCH-группы методом линейного иммуноблоттинга. Эпидемиология и инфекционные болезни: Актуальные вопросы. 2014; 6: 24–29.*
20. *Марданлы С. С., Арсеньева В. А., Захаров М. В., Марданлы С. Г., Амелина Е. А., Ротанов С. В. Применение линейного иммуноблоттинга для скрининга антител классов G и M к основным возбудителям TORCH-инфекций. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2015; 3 (82): 59–65.*
21. *Национальный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р 53022.3–2008. «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов».*

РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

11 -13 ОКТЯБРЯ 2017
МОСКВА
ВДНХ I ПАВИЛЬОН 75

III РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ – МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ ПЛОЩАДКА ДЛЯ ОБЩЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО СООБЩЕСТВА

КОНФЕРЕНЦИИ:
«День сепсиса»;
«Клиническая и санитарная микробиология»;
«Бактериофаги для дезинфекции»;
«Клиническая цитология»;
«Лабораторная диагностика в эндокринологии»;
«Гемостаз: вчера, сегодня, завтра»;
«Лабораторная служба в условиях реформирования».

ШКОЛА ПО ПРЕАНАЛИТИКЕ ДЛЯ СМП

II МЕЖДИСЦИПЛИНАРНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«Аутоиммунные и иммунодефицитные заболевания»

III МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА «ЛАБОРАТОРНЫЙ ГОРОД»:
«Выставка достижений лабораторного хозяйства (ВДЛХ)»

ПОСТЕРНАЯ ЗОНА

ДЕНЬ КИТАЯ:
Секция «РОССИЯ – КИТАЙ: обмен опытом организации лабораторного обследования» и культурная программа «Китай – родина чая, цирка и пороха».

ПРЕМИЯ В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ ИМ. В.В. МЕНЬШИКОВА

ГАЛЕРЕЯ ART LAB – специальные арт-зоны (музей, художественные выставки).

ФОТОВЫСТАВКА по номинациям: «Лабораторный город и его жители», «Китай глазами российских лабораторных работников», сэлфи.

МУЗЫКА И ИСКУССТВО – «Джаз в городе»

КОНКУРС ДЛЯ ЖУРНАЛИСТОВ «СПЕКТР»

8000 СЛУШАТЕЛЕЙ

БОЛЕЕ 200 ДОКЛАДЧИКОВ
российских и иностранных

БОЛЕЕ 150 КОМПАНИЙ-УЧАСТНИКОВ –
ведущих российских и зарубежных производителей и поставщиков лабораторного оборудования и расходных материалов

50 НАУЧНЫХ СЕКЦИЙ

ОРГКОМИТЕТ КОНГРЕССА
Тел.: +7 (499) 348-21-06, +7 (968) 086-95-53
congress@fedlab.ru www.congress.fedlab.ru

Современные методы повышения оперативности санитарно-эпидемиологического контроля. Практика применения отечественных разработок

А. И. Соседов, инженер-испытатель отдела научно-технических разработок НПО

ЗАО «Научно-производственное объединение „МЕДКАР“», г. Жуковский-наукоград
ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н. Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» Минобрнауки России, г. Москва

Modern methods of increasing sanitary and epidemiological control efficiency. Practice of application of domestic developments

A. I. Sosedov
Medkar Co., Zhukovsky; Moscow State Technical University n.a. N. E. Bauman, Moscow; Russia

Резюме
На базе отечественных автомобилей созданы инновационные контрольно-аналитические лаборатории, позволяющие проводить в онлайн режиме качественный и количественный анализы на современном уровне. Это позволит службам Роспотребнадзора совместно с лабораториями Экологического контроля предотвращать техногенные аварии и повысить скорость реагирования на обращения граждан, а также улучшить качество и своевременность контроля без увеличения численности штата.

Ключевые слова: ***контрольно-аналитическая лаборатория; спектрометрия; ИК-спектроскопия; качественные методы анализа; контроль газов, субстанций, лекарственных средств, биоматериала.***

Summary
On the basis of native cars, innovative control and analytical laboratories have been created that allow performing on-line qualitative and quantitative analysis at the most modern level. This will allow the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, together with the laboratories of the Environmental Control, to prevent man-made accidents and improve the speed of response to citizens' appeals, as well as to improve the quality and timeliness of control without increasing the number of staff.

Key words: ***control and analytical laboratory; spectrometry; infrared spectroscopy; qualitative methods of analysis; control of gases, substances, medicines, biomaterial.***

Актуальность

Здоровье людей — бесценно. Оно зависит от многих составляющих и находится в прямой зависимости от состояния окружающей среды, качества продуктов питания, лекарственных средств и товаров бытового использования, условий труда. Невозможно сохранить здоровье людей без контроля всех этих факторов воздействия, которые влияют на продолжительность и качество жизни. Однако в настоящее время, когда рост потребления и безудержная погоня за прибылью заставляют большинство производителей закрывать глаза на негативные экологические последствия, к которым неминуемо ведет их безответственное отношение к экосистеме, все активнее идет борьба за ее сохранение. Но для того, чтобы контролировать количество вредных выбросов заводов и фабрик, оценивать степень загрязнения окружающей среды, необходимо использовать все более совершенное оборудование и иметь возможность проводить необходимые исследования и получать результаты непосредственно в зоне экоконтроля. Так же и контроль качества пищевых продуктов и добавок, продовольственного сырья и других потенциально опасных для человека, химических и биологических веществ — один из главных вопросов защиты прав потребителя. Основными задачами такого контроля являются подтверждение идентичности, определение соответствия стандартам и контроль чистоты сырья или готового продукта. Для продуктов, состоящих из нескольких компонентов, необходимо убедиться, что их соотношение варьируется в установленных границах. Для этого требуются простые, быстрые и надежные методы, дающие возможность оценить качество образца буквально за минуту без пробоподготовки и дорогостоящих расходных материалов. В решении этих и других вопросов успешно применяются передвижные контрольно-аналитические лаборатории. Современная передвижная аналитическая лаборатория — это уникальная разработка, позволяющая оперативно решать практически весь спектр задач санитарно-эпидемиологического надзора.

Краткое описание

Научно-производственное объединение «Медкар», как ведущий производитель передвижных комплексов в России, разработало и провело испытания двух контрольно-аналитических лабораторий на базе шасси КАМАЗ и ГАЗель для служб Экологического контроля и Санитарно-эпидемиологического надзора. Лаборатории оснащаются всем необходимым для круглогодичного использования в любых климатических и географических условиях: системами жизнеобеспечения (энергообеспечения автономного и от внешней сети, отопления, вентиляции и кондиционирования, искусственного рабочего и дежурного освещения, противопожарной защиты), мебелью и профессиональным оборудованием.

Например, передвижная контрольно-аналитическая лаборатория на базе грузового автомобиля может быть разделена на три лабораторных отсека, каждый из которых оснащен всем необходимым для осуществления контроля в определенной сфере: лабораторный отсек 1 — кабинет ветеринарно-санитарного контроля; лабораторный отсек 2 — кабинет контроля непродовольственных товаров; лабораторный отсек 3 — кабинет экологического контроля.

Данные лаборатории позволяют вести мониторинг за:

- состоянием потенциально опасных для человека химических и биологических веществ;
- состоянием пищевых продуктов и добавок, продовольственного сырья;
- состоянием атмосферного воздуха, почвы, утилизацией отходов;
- состоянием воды городских и сельских водоемов, общественных водных объектов и систем водоснабжения, сточных вод;
- состоянием ГСМ и других непродовольственных товаров;
- радиационной безопасностью;
- условиями труда и организацией рабочих мест на предприятиях (в том числе источниками физических факторов воздействия на человека, такими как шум, вибрация, излучения, освещение, параметры электрического, электромагнитного и геомагнитного полей),

а также могут использоваться для контроля лекарственных средств и дают возможность:

- получать результаты исследований в течении нескольких секунд;
- проводить дистанционные исследования атмосферного воздуха (на расстоянии нескольких километров от очага загрязнения);
- проводить забор и хранение проб материалов;
- фиксировать полученные данные, производить их обработку и хранение (формирование архива), осуществлять их передачу по беспроводным каналам связи;
- оказывать содействие правоохранительным органам.

Кроме того, передвижные аналитические лаборатории позволяют осуществлять решение различных задач, требующих дистанционного анализа веществ, проводить определение, идентификацию и количественный анализ химических компонентов газовых облаков, жидкостей и отложений на поверхностях с высокой точностью и воспроизводимостью результатов анализа.

Области применения:

- обнаружение опасных веществ, в том числе в продуктах питания (в специально оборудованных местах общественного питания, образовательных, лечебно-профилактических и других учреждениях, на рынках, ярмарках и т.п.);
- безопасность и оборона;
- имейджинг для криминалистической экспертизы;
- мониторинг качества городского воздуха (рутинный и ЧС);
- предотвращение массовых нарушений общественного порядка путем идентификации летучих соединений при проведении культурно-массовых мероприятиях;
- оперативное реагирование соответствующих служб при массовых отравлениях и других ЧС путем анализа поверхностей;
- контроль ГСМ;
- промышленный надзор;
- исследование вулканических газов.

Возможности и применяемые методы анализа

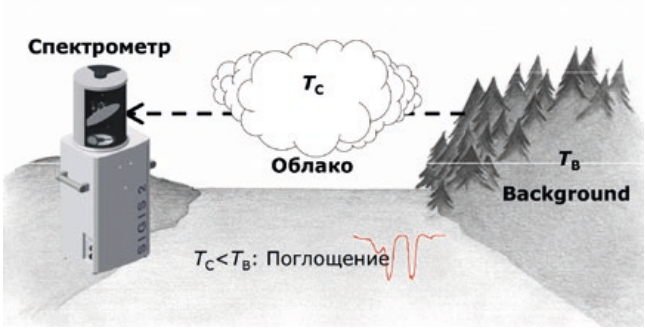
- возможность качественного и количественного анализа;
- возможность измерения на больших расстояниях;
- гиперспектральная визуализация;
- большие библиотеки спектров;
- возможность проводить измерения в активном и пассивном режимах;
- встроенная система автоматической калибровки.

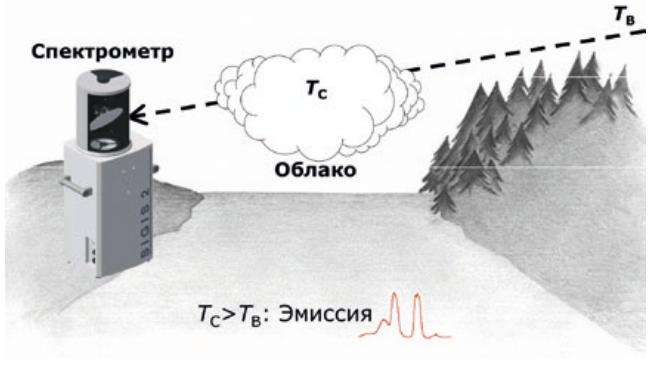
Система мониторинга воздуха

Большой спектральный диапазон позволяет идентифицировать и количественно определять широкий набор соединений. Важной является возможность мониторинга воздуха в промышленных, строительных или муниципальных зонах. Кроме того, лаборатория позволяет с высокой точностью проводить количественную оценку атмосферных газов.

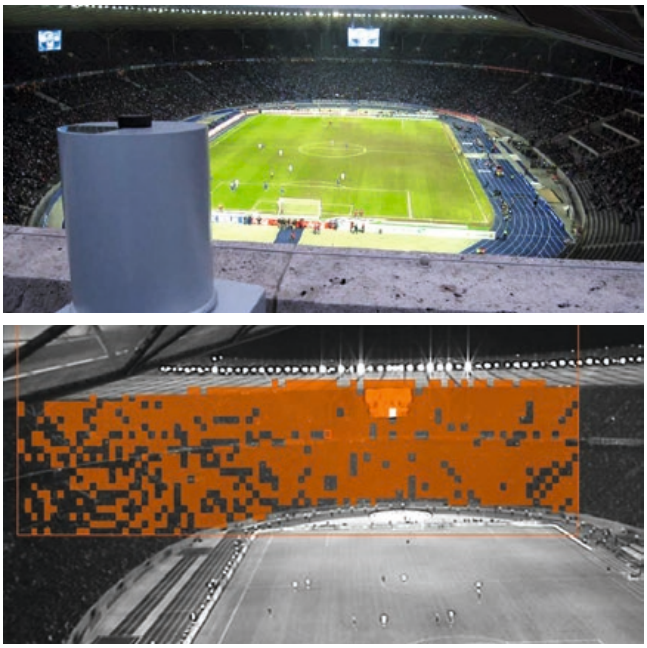
Анализ газов

Дистанционный анализ газов с использованием инфракрасной спектроскопии

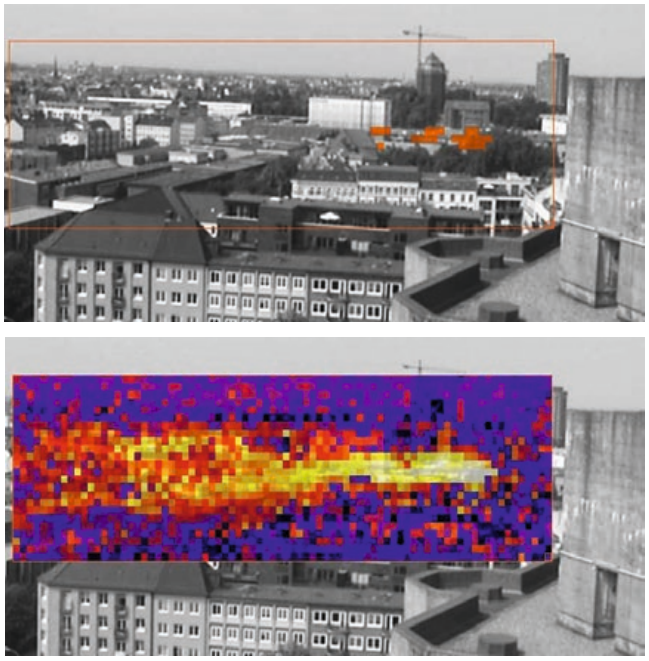




Общественные места, где был определен этанол, наблюдаем в виде красного облака



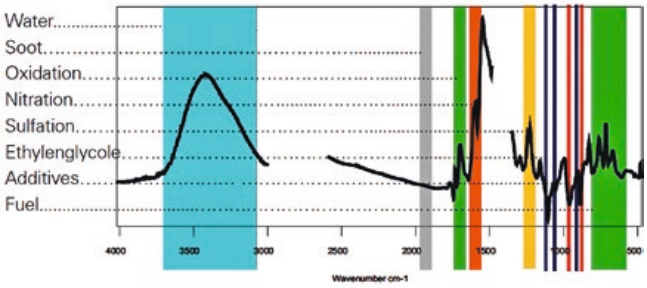
Идентификация аммиака над складом холодильного оборудования



Определение содержания продуктов окисления в смазочных маслах

*Уровень содержания продуктов окисления в смазочных маслах подлежит контролю в лабораториях контроля качества. Окисление смазочных масел в процессе использования ухудшает их эксплуатационные характеристики. Например, окисление смазочных масел при работе поршневых двигателей приводит к образованию нагара и к слипанию поршневых колец.

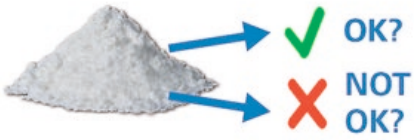
Оснащение передвижной аналитической лаборатории в наборе анализатора дизельного топлива позволяет определять количество жирных метиловых эфиров (FAME), содержащихся в дизельном топливе, при помощи Фурье-спектрометров, оснащенных проточной ячейкой для чувствительных измерений пропускания A142–11-O. Использование такой конфигурации позволяет проводить анализ в соответствии с DIN EN 14078. Набор содержит программное обеспечение, которое поможет пользователю последовательно провести все процедуры анализа, которые включают в себя проведение измерения, обработку данных и создание отчета. Его простой и интуитивно понятный пользовательский интерфейс позволяет работать персоналу, не имеющему опыта в спектроскопии. Количественный анализ FAME в дизельном топливе проводится при помощи калибровок, которые позволяют измерять концентрацию в пределах от 0 до 5 % и имеют стандартное отклонение в 0,01 %. Более высокие концентрации FAME в дизельном топливе определяются при помощи разбавления образца.

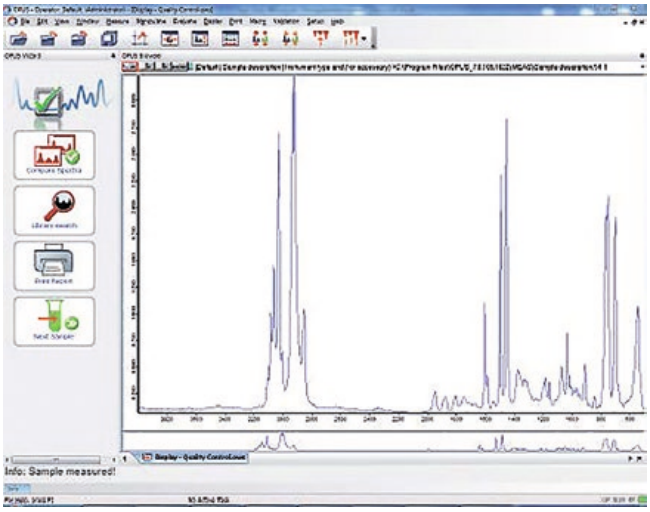


Входной контроль сырья и анализ качества готовой продукции

Контроль качества — главный вопрос в различных отраслях промышленности (химической, фармацевтической, в производстве полимеров и др.). Цель: уменьшить сбои в производственном процессе и гарантировать постоянное высокое качество производимой продукции. Основными задачами входного контроля сырья являются подтверждение идентичности, определение соответствия стандартам и контроль чистоты поступившего продукта. Сегодня контроль сырья и качества готовой продукции с использованием ИК-спектроскопии осуществляется в основном методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО), который значительно удобнее, чем метод измерения пропускания. Любой образец (твердый, жидкий, порошок, паста или волокна) просто размещается на кристалле модуля НПВО, что занимает несколько секунд, после чего проводится измерение спектра. Для данного типа исследований не требуется кропотливой работы по созданию библиотеки. Быстрые сравнения хранятся вместе со спектром, их можно просмотреть в любое время. Процесс проведения измерения можно еще больше упростить, воспользовавшись настройкой программы OPUS —Мастер контроля качества (QC-Wizard). QC-Wizard помогает с легкостью пройти все стадии проведения измерения и анализа данных.

*Каждое вещество имеет уникальный ИК-спектр — своего рода отпечаток пальца. Mobile-IR позволяет быстро идентифицировать вещества, даже в полевых условиях.





Все эти исследования, забор и хранение проб и реактивов позволяет провести высокотехнологичное, в том числе инновационное оборудование следующего спектра исследований:

- ИК-Фурье спектрометры и микроскопы;
- спектрометры ближнего ИК-диапазона;
- КР-спектрометры и микроскопы;
- спектрометры терагерцового диапазона и вакуумные спектрометры;
- спектрографы изображений и монохроматоры;
- метеостанция, дозиметр, термореактор, анализаторы различного назначения.

Все оборудование может легко транспортироваться между лабораториями, работать от электросети автомобиля в составе передвижных лабораторий, помещаться в инертные и вакуумные шкафы.

Благодаря широкому диапазону возможностей применения приборы одинаково хорошо работают в режиме визуализации и ИК-анализа, что открывает широкие возможности для их применения. Практически во всех отраслях промышленности существует необходимость идентификации мелких частиц или загрязнений на поверхности. В криминалистике результаты анализа волокон, химических веществ или сколов могут являться уликами. Кроме того, ИК-анализ чернил на бумаге позволяет выявлять поддельные документы или купюры. Химический состав таких негомогенных структур, как многослойные полимеры, краска или биологические ткани, можно визуализировать.

Налицо возможность получать точные результаты за считанные секунды, проводить неразрушающий анализ. Простота эксплуатации и определение нескольких компонентов одним измерением при высоком спектральном разрешении позволяют в сочетании с возможностью выхода в интернет получать промышленные протоколы.

Заявленное оборудование обладает высокой чувствительностью благодаря использованию в конструкции зарекомендовавшего себя интерферометра RockSolid™. Стабильность его работы в условиях механических и вибрационных нагрузок обеспечена использованием улучшенной электронной платформы.

Валидация

Комплект оборудования полностью готов для использования, например, в сертифицированных фармацевтических лабораториях благодаря наличию автоматизированных тестов OQ/PQ. Встроенные стандарты NIST обеспечивают полную автоматизацию проведения тестовых измерений в соответствии с американской, европейской и японской фармакопеями. Программное обеспечение соответствует действующим требованиям 21 CFR части 11.

Простая пробоподготовка экономит время и позволяет избежать ошибок оператора. Для проведения измерения не требуются реактивы и расходные материалы. Образец помещают в стеклянную пробирку или вайл, после чего без дополнительной пробоподготовки проводят изменение. Какие бы высокие требования не предъявлялись к входному сырью, промежуточному или готовому продукту, данное оборудование дает надежные результаты с низкой себестоимостью экспресс-анализа. Для решения стандартных задач имеются готовые калибровки.

Заключение

С внедрением в практику Роспотребнадзора передвижных контрольно-аналитических лабораторий различного назначения, оснащенных современной техникой и позволяющих в условиях, приближенных к реальным, провести быстрый, достоверный анализ различных проб от выбросов в атмосферу до биологических материалов и лекарственных средств, что даст возможность значительно повысить эффективность лабораторной службы, а также быстрее реагировать на экстренные ситуации и вызовы.

Список литературы

1. *Капранов Б.И., Короткова В.И. Спектральный анализ в неразрушающем контроле: учебное пособие. Томск. 2008.*
2. *Васильев А.В. и соавт. Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений. Учебное пособие для студентов химических и химико-технологических специальностей высших учебных заведений. Санкт-Петербург. 2007.*
3. *Дехант И. и др. Инфракрасная спектроскопия полимеров. Москва. 1976. 471 с.*
4. *Сидорина А.В. Оптимизация методики определения элементного состава биологических объектов методом РФА-СИ. Институт неорганической химии им. А.В. Николаева Сибирского отделения РАН. Новосибирск. 2014.*
5. *Зайцев К.И. Метод исследования диэлектрических характеристик сильно поглощающих сред и биологических тканей в тетрагерцовой импульсной спектроскопии. Диссертация. МГТУ им. Н.Э. Баумана. Москва. 2016.*
6. *Бахшиев Н.Г. Введение в молекулярную спектроскопию. Ленинград: ЛГУ, 1987.*

ПЕРЕДВИЖНЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ **ПУНКТЫ и ЛАБОРАТОРИИ**

ПРОИЗВОДСТВО / ПРОДАЖА / СЕРВИС

СПЕЦИАЛЬНОЕ ПРЕДЛОЖЕНИЕ
для региональных центров Роспотребнадзора

МОБИЛЬНЫЕ ЛАБОРАТОРИИ

- Контрольно-аналитическая лаборатория
- Экспресс-диагностика ВИЧ, СПИД
- Медицинское освидетельствование на алкоголь и наркотики в крови
- Вакцинация
- Информационная работа с населением

Вариант исполнения на шасси КАМАЗ

140180, Московская область, г. Жуковский-наукоград,
ул. Кооперативная, д. 10, +7 (495) 540-45-96, www.medcar.ru
Представительствво в Москве: 117342,
ул. Бутлерова, д. 17, 8-800-333-62-54

medcar
НАУЧНО - ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

Заказ электронной версии журнала: всего 100 рублей за номер! Присылайте, пожалуйста, запрос на адрес: medalfavit@mail.ru.

БЛАНК-ЗАКАЗ
на подписку на журнал
2017 год

Медицинский алфавит

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

Адрес (с почтовым индексом) _____

_____

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

_____

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

Наш индекс в каталоге «РОСПЕЧАТЬ» 36228

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

Как подписаться

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

ЭКОлаб

ISO 9001:2015, 13485:2003

142530, РФ, Московская обл.,
г. Электрогорск, ул. Буденного, д.1
тел: 8-800-333-17-45
(звонок из регионов России бесплатный)
+7 (495) 287-44-48, 287-44-49
+7 (49643) 3-23-11, 3-30-85, 3-30-93
e-mail: ekolab-sbyt@mail.ru
http://www.ekolab.ru

Верная диагностика-
качественное лечение!

«Сыворотки и иммуноглобулины диагностические эшерихиозные для реакции агглютинации» (жидкие, готовые к применению)

РУ № РЗН 2014/1713
от 03.07.2014

Преимущества:

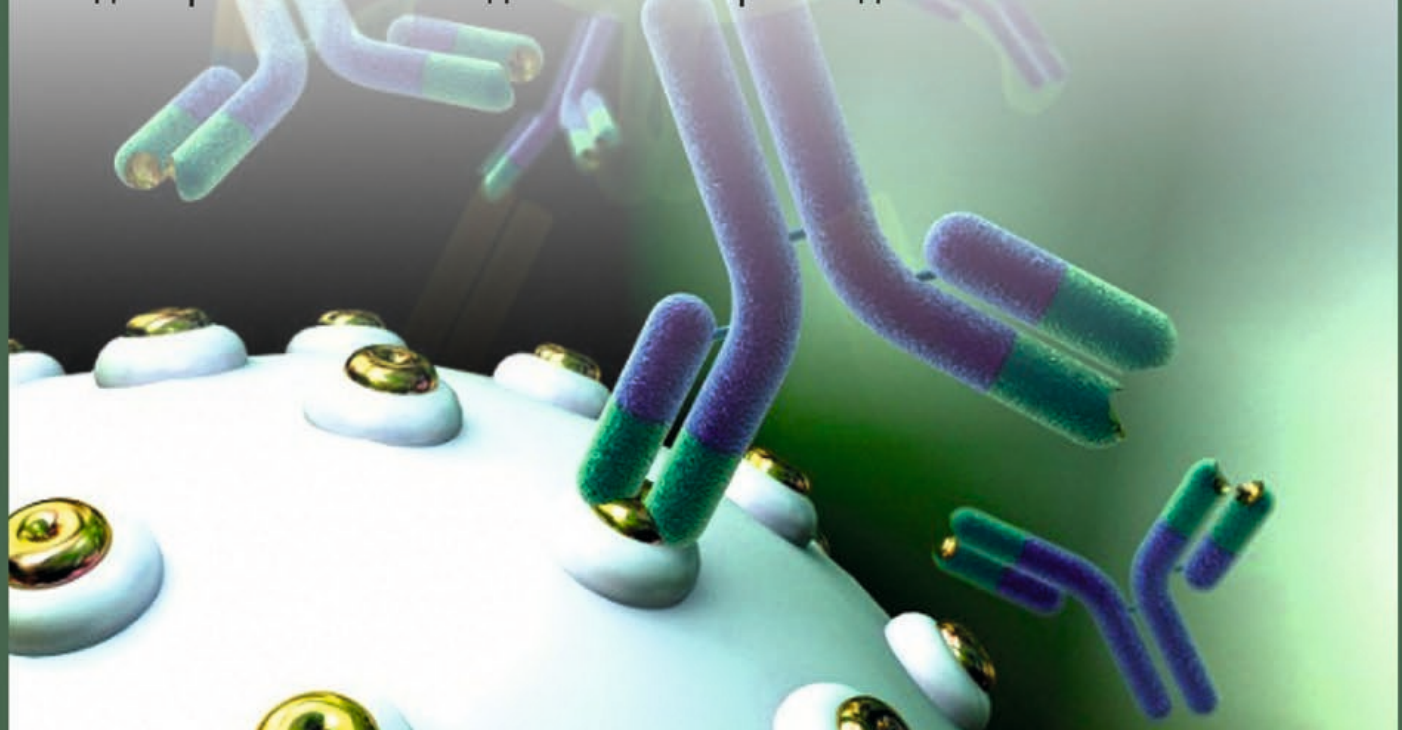
Готовы к применению, не требуют предварительного приготовления

Сыворотки упакованы во флаконы капельницы

Флаконы упакованы в индивидуальную пачку с инструкцией по применению

Возможна комплектация по одному флакону

Жидкий реагент стабилен до истечения срока годности



КЛЮЧ К ТОЧНОМУ ДИАГНОЗУ – ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ BD

BD является инноватором в разработке новейших технологий для повышения эффективности и качества преаналитического этапа

BD – ведущая международная компания, которая разрабатывает, производит и продает медицинское оборудование, изделия медицинского назначения, приборы и реагенты.

Компания АСТРА-77 является официальным поставщиком продукции **BD**(Becton Dickinson)

АСТРА-77
Тел.: +7 495 925 77 59
E-mail: info@astra77.ru
www.astra77.ru

BD