

Серии научно-практических рецензируемых журналов



# Медицинский АЛФАВИТ

5 (342) 2018



Modern  
LABORATORY

MEDICAL ALPHABET  
Russian Professional Medical Journal

## Современная ЛАБОРАТОРИЯ том № 1

- 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](http://www.medalfavit.ru)



## Наборы реагентов для иммуноферментного анализа ИМАКСИЗ (IMAXYZ)

Кат. №	Наименование набора	Чувствительность	Диапазон определения концентрации
BT12-09	Общий ПСА	0,1 нг/мл	0,1 – 40 нг/мл
BT12-10	Свободный ПСА	0,06 нг/мл	0,06 – 12 нг/мл
BT12-11	СА 125	1,6 Ед/мл	1,6 – 1000 Ед/мл
BT12-12	СА 19-9	0,5 Ед/мл	0,5 – 400 Ед/мл
BT12-13	СА 15-3	0,5 Ед/мл	0,5 – 270 Ед/мл
BT12-14	РЭА	0,25 нг/мл	0,25 – 100 нг/мл
BT13-15	ЛГ	0,2 мМЕ/мл	0,2 – 120 мМЕ/мл
BT13-16	ФСГ	0,2 мМЕ/мл	0,2 – 120 мМЕ/мл
BT13-17	Пролактин	20 мМЕ/мл	20 – 4600 мМЕ/мл
BT11-01	ТТГ	0,02 мкМЕ/мл	0,02 – 50 мкМЕ/мл
BT11-02	СТ4	1 пмоль/л	1 – 90 пмоль/л
BT12-24	IgE	1 МЕ/мл	1 – 1200 МЕ/мл



- Высокая аналитическая чувствительность при широком диапазоне определения аналитов
- Удобство использования
- Расширенная комплектация наборов
- Готовность к использованию всех реагентов
- Срок годности наборов — 18 месяцев
- Возможность использования на автоматическом ИФА-анализаторе IMAXYZ - 4

Тест-система Витал	Коэффициент корреляции
Общий ПСА	0,99
Свободный ПСА	0,97
СА 125	0,98
ЛГ	0,99
ФСГ	0,98
Пролактин	0,99
ТТГ	0,99
СТ4	0,98
Общий IgE	0,98



Высокая корреляция результатов измерения с ведущими производителями наборов реагентов для ИФА :

- Abbott Architect
- Roche Cobas
- Roche Modular.



## Современная лаборатория Том №1

### Медицинский алфавит

Серия журналов для специалистов

№ 5 (342) 2018

[www.medalfavit.ru](http://www.medalfavit.ru)

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

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

#### Объединенная Редколлегия журнала «Медицинский алфавит»

В.Г. Акимкин, д.м.н., проф., академик РАН  
Е.В. Артамонова, д.м.н., проф.  
В.Е. Балан, д.м.н., проф.  
Н.Ф. Берестень, д.м.н., проф.  
В.А. Голубев, 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., академик РАН  
О.Н. Минушкин, д.м.н., проф.  
Р.Г. Оганов, д.м.н., проф., академик РАН  
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](mailto:medalfavit@bk.ru)

Руководитель отдела продвижения,  
распространения и выставочной  
деятельности Б.Б. Будович  
[medalfavit\\_pr@bk.ru](mailto: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 12 марта 2018 года.

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 Прогностическая значимость показателей перекисного окисления и ненасыщенности липидов сыворотки крови при сахарном диабете у детей  
*Т.И. Туркина, С.Н. Щербо, Е.В. Киселева*
- 8 Мониторинг ошибок преаналитического этапа в централизованной клинико-диагностической лаборатории  
*Ю.Ф. Шубина, В.А. Пичковская, Е.Г. Дугаева*
- 12 Анализ развития и функционирования диагностических подразделений в Российской Федерации  
*Ф.С. Билалов, А.Ж. Гильманов, М.А. Шарафутдинов, Г.П. Сквирская*
- 17 Клиническая значимость и возможности лабораторной диагностики *Corynebacterium urealyticum*  
*Н.В. Евдокимова, Т.В. Черненко*
- 21 Значение величины резистентности фактора Va к активированному протенину С при мутации FVL(1691) GA для развития тромбозов  
*А.П. Момот, М.Г. Николаева, В.А. Елыкомов, А.В. Молчанов, К.А. Момот*
- 26 Проблемы массового скрининга HBsAg и пути их решения  
*М.М. Шульгина, М.И. Ермолаева, Е.В. Ефремова, А.А. Потанова*
- 32 Прогностическое значение определения содержания железа и меди в плазме крови больных колоректальным раком  
*Д.В. Зитта, Н.А. Терехина, В.М. Субботин*
- 36 Оптимизация проточно-цитометрических протоколов детекции минимальной остаточной болезни при острых лимфобластных лейкозах  
*О.А. Безнос, Л.Ю. Гривцова, Н.Н. Тупицын*
- 40 Клинический случай: волосатоклеточный лейкоз  
*Т.А. Алексеева*
- 44 Экспрессия рецепторов стероидных гормонов и витамина D при снижении минеральной плотности костной ткани, вызванной кислотозависимыми заболеваниями желудка  
*Л.Б. Дрыгина, И.В. Трофимова, В.Н. Эллиниди, О.А. Саблин*
- 49 Микроскопия осадка мочи как экспресс-метод прогнозирования острого повреждения почек при кардиохирургических вмешательствах  
*А.И. Птицына, В.В. Слепышева, И.С. Курапеев, А.В. Козлов*
- 54 Нетипичные ошибки в иммунном анализе  
*В.Л. Эмануэль, В.С. Берестовская*
- 60 Определение диагностической ценности пробы жгута и выявления ранних IGG при развитии геморрагического синдрома лихорадки денге  
*Ю.А. Акиншина, В.Ф. Ларичев, М.А. Сайфуллин, С.Г. Марданлы*
- 66 Подписка

## Contents

- 5 Prognostic significance of parameters of peroxidation and unsaturation of serum lipids in diabetes mellitus in children  
*T.I. Turkina, S.N. Shcherbo, E.V. Kiselyova*
- 8 Preanalytical error monitoring in centralized clinical diagnostic laboratory  
*J.F. Shubina, V.A. Pichkovskaya, E.G. Dugaeva*
- 12 Analysis of development and functioning of diagnostic units in Russian Federation  
*F.S. Bilalov, A. Zh. Gilmanov, M.A. Sharafutdinov, G.P. Skvirskaya*
- 17 Clinical importance and possibilities of laboratory diagnostics of *Corynebacterium urealyticum*  
*N.V. Evdokimova, T.V. Chernenkaya*
- 21 Importance of factor Va resistance to activated protein C with FVL (1691) GA mutation for development of thromboses  
*A.P. Momot, M.G. Nikolaeva, K.A. Momot, V.A. Elykomov, A.V. Molchanov*
- 26 Problems of HBsAg mass screening and their solutions  
*M.M. Shulgina, M.I. Ermolaeva, E.V. Efremova, A.A. Potapova*
- 32 Prognostic value of plasma iron and copper levels in patients with colorectal cancer  
*D.V. Zitta, N.A. Teryokhina, V.M. Subbotin*
- 36 Optimization of flow-cytometry protocols for detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia  
*O.A. Beznos, L. Yu. Gritvova, N.N. Tupitsyn*
- 40 Clinical case: hairy cell leukemia  
*T.A. Alekseeva*
- 44 Expression of receptors of steroid hormones and vitamin D in reducing mineral density of bone tissue caused by acid diseases of stomach  
*L.B. Drygina, I.V. Trofimova, V.N. Ellinidi, O.A. Sablin*
- 49 Microscopy of urine sediment as rapid method of predicting acute kidney injury during cardiac surgery  
*A.I. Ptitsyna, V.V. Slepysheva, I.S. Kurapeev, A.V. Kozlov*
- 54 Irregular interference in immunoassay  
*V.L. Emanuel, V.S. Berestovskaya*
- 60 Determination of diagnostic value of harbor sample and detection of early IGG in development of haemorrhagic dengue fever syndrome  
*Yu. A. Akinshina, V.F. Larichev, M.A. Saifullin, S.G. Mardarly*
- 66 Subscription

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



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)

**Первухин 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. Zh.**, MD, DMSci, professor, Bashkir State Medical University, Ufa

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

**Dolgikh T. I.**, MD, DMSci, professor, Omsk State Medical Academy, Omsk

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## ВНИМАНИЮ АВТОРОВ НАШЕГО ИЗДАНИЯ!

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

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

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

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

Вопросы об оформлении ссылок направляйте, пожалуйста, по адресу [medalfavit@mail.ru](mailto:medalfavit@mail.ru).

# Прогностическая значимость показателей перекисного окисления и ненасыщенности липидов сыворотки крови при сахарном диабете у детей

Т. И. Туркина, д.б.н., проф. кафедры<sup>1</sup>  
С. Н. Щербо, д.б.н., проф., зав. кафедрой<sup>1</sup>  
Е. В. Киселева, с.н.с.<sup>2</sup>



Т. И. Туркина



С. Н. Щербо

<sup>1</sup>Кафедра клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва  
<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической физики имени Н. Н. Семенова» РАН, г. Москва

## *Prognostic significance of parameters of peroxidation and unsaturation of serum lipids in diabetes mellitus in children*

T. I. Turkina, S. N. Shcherbo, E. V. Kiselyova

Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Institute of Chemical Physics n.a. N. N. Semyonov; Moscow, Russia

### Резюме

Целью исследования явилось изучение общей ненасыщенности липидов (двойные связи — показатель ДС) и содержания продуктов перекисного окисления липидов (гидроперекисей и конечных продуктов ПОЛ) в сыворотке крови у детей, больных сахарным диабетом (СД). Обследован 91 ребенок в возрасте 7–15 лет, больной СД первого типа. Контрольную группу составили 10 здоровых детей того же возраста. Больные находились на стационарном лечении и обследованы в динамике. У большинства больных (65%) отмечается активация ПОЛ, что указывает на целесообразность включения в состав комплексной терапии мембраностабилизирующих и антиоксидантных препаратов. Установлена зависимость показателей ненасыщенности липидов от степени компенсации, длительности СД и дозы вводимого инсулина, что позволило использовать показатель ДС в качестве контрольного теста эффективности инсулинотерапии.

Ключевые слова: дети, больные сахарным диабетом; перекисное окисление и ненасыщенность липидов.

### Summary

The aim of the study was to study the general unsaturation of lipids (double bonds — the DS index) and the content of lipid peroxidation products (hydroperoxides and final products of lipid peroxidation) in serum in children with diabetes mellitus. 91 children aged 7–15 years, with type 1 diabetes mellitus, were examined. The control group consisted of 10 healthy children of the same age. Patients were on inpatient treatment and were examined in dynamics. The majority of patients (65%) have LPO activation, which indicates the advisability of including membrane stabilizing and antioxidant drugs in the complex therapy. The dependence of lipid unsaturation on the degree of compensation, the duration of diabetes and the dose of insulin administered was established, which made it possible to use the DS index as a control test for the effectiveness of insulin therapy.

Key words: children with diabetes mellitus; peroxide oxidation and unsaturation of lipids.

В исследованиях последних лет выявлена важная роль процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в структурно-функциональной модификации биологических мембран, изменении их физико-химических свойств и проницаемости. Показано, что активация процессов эндогенного ПОЛ, составляющая ключевое звено в развитии стрессовых и ишемических повреждений в организме, является типовым мембранным механизмом для ряда патологических состояний. Дефицит инсулина, наблюдаемый при сахарном диабете (СД), сопровождается появлением системных метаболических расстройств, характер и направ-

ленность которых позволяют предполагать, что одним из механизмов их возникновения может быть существенное увеличение интенсивности свободно-радикального окисления мембранных фосфолипидов, приводящее к накоплению токсичных продуктов окисленной деструкции липидов, нарушению функциональной способности мембранных структур и соответствующему изменению клеточного метаболизма [1]. Продукты ПОЛ и их производные повреждают сосудистую стенку, вызывают дезинтеграцию липопротеиновых комплексов, усиливают их гидрофильность, приводят к нарушению проницаемости биологических мембран. В ряде

экспериментальных работ отмечено, что перекиси полиненасыщенных жирных кислот могут быть причиной развития гиперкоагуляционного синдрома, играющего важную роль в развитии сосудистой патологии.

Состояние декомпенсации при СД, определяемое как метаболический стресс, включает и декомпенсацию липидного обмена. Известно, что при СД изменяются спектр и концентрация ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) в плазме, и эти изменения касались как свободных жирных кислот, так и кислот липидного комплекса [2]. Выявлена корреляция тяжести состояния больного СД с характером и степенью изменения

**Таблица**  
**Содержание эндогенных продуктов ПОЛ в сыворотке крови детей,**  
**больных сахарным диабетом (M ± m).**

Группы детей	Показатели ПОЛ нА/мг липидов	
	ГП ПОЛ	КП ПОЛ
Здоровые	6,50 ± 1,20	12,56 ± 0,73
Больные СД: К	10,49 ± 0,60*	19,01 ± 2,30*
Д без кетоза	11,66 ± 0,70*	21,96 ± 3,20*
Д с кетозом	24,99 ± 2,95***	44,62 ± 4,90***
Длительность инсулинотерапии: 1 год	10,86 ± 1,42	19,53 ± 3,60
1–3 года	11,64 ± 0,65**	23,33 ± 2,90*
3–5 лет	12,49 ± 0,60*	23,02 ± 2,40*
Доза инсулина: до 0,5 ЕД/мл	11,45 ± 1,10*	16,00 ± 1,30
до 1 ЕД/мл	13,48 ± 0,60*	19,82 ± 3,40
1,0–1,5 ЕД/мл	11,84 ± 1,20**	17,80 ± 2,90

Примечание. К — компенсация; Д — декомпенсация. \* — P < 0,05; \*\* — P < 0,01; \*\*\* — P < 0,001 по отношению к группе здоровых детей.

состава и концентрации ННЖ. Однако определение спектра жирных кислот хроматографическим методом малоприспособно для мониторинга за состоянием больного из-за большой продолжительности и сложности его исследования. Поскольку ННЖК являются основным субстратом перекисного окисления, нами определялась общая ненасыщенность липидов сыворотки крови, которая зависит от суммарного количества двойных связей (ДС) в ННЖК, а также содержание продуктов ПОЛ (гидроперекисей [ГП] и конечных продуктов [КП ПОЛ]) в сыворотке крови детей, больных СД.

#### Материалы и методы исследования

Обследован 91 ребенок 7–15 лет, больной СД первого типа. Контрольную группу составили 10 здоровых детей того же возраста. Больные находились на стационарном лечении и обследованы в динамике. У 42 больных длительность диабета была до 1 года, у 14 — от 1 года до 3 лет и у 35 — от 3 до 5 лет. В стадии компенсации обследованы 23 ребенка, в стадии декомпенсации без кетоза — 62 и в коматозном состоянии — 6 детей. У 19 больных с длительностью заболевания более трех лет были выявлены специфические диабетические осложнения. Анализ эндогенных продуктов ПОЛ (ГП и КП ПОЛ) проводили на полярографе

P-8 Janagimoto (Япония) по методике, описанной в работах [3]. Определение ненасыщенности проводили методом озонирования с помощью отечественного прибора АДС-4М, разработанного в Институте химической физики РАН [4]. Метод озонирования основан на взаимодействии озона с  $C=C$  — связью ННЖК в эквимольном отношении, обладает высокой чувствительностью, точностью ( $\pm 1\%$ ), селективностью и экспрессностью (1–3 минуты на одно определение).

#### Результаты и их обсуждение

Результаты исследования показали, что у детей, больных СД, происходит активация процессов свободно-радикального ПОЛ. Об этом свидетельствует накопление ГП и КП ПОЛ в сыворотке крови больных. Степень компенсации диабета, определяемая по показателям гликемии и глюкозурии, не влияла на уровень ГП и КП ПОЛ. Достоверных различий в их содержании между группами детей в фазе компенсации диабета и декомпенсации без кетоза не выявлено, в то же время отмечалось достоверное отличие показателей ГП и КП ПОЛ в этих группах от контрольных данных (см. табл.).

Наиболее выраженные изменения интенсивности свободнорадикального ПОЛ отмечаются у детей с кетоацидотической декомпенсацией: концентрация ГП и КП ПОЛ была

увеличена по сравнению со значениями в группе здоровых детей на 284 и 255 % соответственно (P < 0,001; P < 0,001). В то же время у детей, поступивших в коматозном состоянии, отмечались низкие значения ДС =  $14,50 \pm 1,85$  ммоль/л; P < 0,001 (норма ДС =  $26,0 \pm 2,0$  ммоль/л). Реализация стрессового действия кетоацидотической декомпенсации осуществляется с участием системы нейроэндокринной регуляции организма. При этом повышенная активность гормонального звена симпатико-адреналовой системы, выявленная при коматозных состояниях [5], по-видимому, ведет к усилению процессов автоокисления адреналина в адренохром и, как следствие, к увеличению продукции супероксидных радикалов ( $O_2^-$ ) — инициаторов свободно-радикального окисления липидов в биологических мембранах. Наблюдаемая в этих условиях мобилизация тканевых липаз катехоламинами приводит к накоплению в плазме крови свободных жирных кислот, избыточные концентрации которых оказывают значительное повреждающее действие на клеточную мембрану, нарушая ее структурно-функциональную организацию и увеличивая тем самым доступность полиеновых ацилов фосфолипидов окислению свободными радикалами кислорода.

При сопоставлении уровня ГП и КП ПОЛ в зависимости от давности

сти заболевания выявлена тенденция к повышению их содержания при длительности заболевания менее одного года и достоверное увеличение при длительности более 1–3–5 лет по сравнению с группой здоровых детей ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,01$  соответственно). Наряду с повышением содержания продуктов ПОЛ у детей нами отмечены изменения ненасыщенности липидов сыворотки крови. В начальном периоде заболевания выявлено снижение ненасыщенности липидов (11,2–20,0 ммоль/л) по сравнению с группой здоровых детей. У детей с давностью заболевания 1–3 года и более показатели ДС заметно отличаются: в первой группе у 58 (65%) детей из 91 показатель ДС достоверно ниже, чем в группе здоровых —  $19,7 \pm 0,6$  ммоль/л (11,0–26,0 ммоль/л), во второй группе у 27 (30%) детей из 91 значительно выше нормы —  $35,8 \pm 1,3$  ммоль/л (27,0–49,3 ммоль/л) (соответственно  $P < 0,001$ ;  $P < 0,001$ ). Выявленная тенденция к увеличению содержания продуктов ПОЛ и снижение показателя ДС у детей первой группы могут объясняться тем, что при продолжительности диабета более 3–5 лет повышается удельный вес больных с тяжелыми сосудистыми поражениями. При этом возможны снижение активности ферментов антирадикальной защиты клетки (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы), а также дефицит основного антиоксиданта мембранных структур —  $\alpha$ -токоферола [6]. Накопление ГП фосфолипидов и продуктов их дальнейшего распада влияет на состояние гидратации клеточной мембраны, вязкость и текучесть липидного бислоя, сопровождается появлением новых каналов проницаемости и изменением активности ферментов, участвующих в процессах энергозависимого транспорта ионов. Совокупность указанных изменений может способствовать возникновению и развитию системных обменных сдвигов.

У детей второй группы отмечались тенденция к снижению содержания продуктов ПОЛ и повышение показателя ненасыщенности липидов крови (ДС =  $35,8 \pm$

1,3 ммоль/л). Одним из объяснений этому может служить обнаруженное нами ранее [7] повышение содержания в сыворотке крови фосфатидилэтаноламина и холестерина, что, возможно, обуславливало увеличение общей антиоксидантной активности (АОА) и предупреждало дальнейшее окисление липидов сыворотки крови по свободнорадикальному механизму. Повышению АОА при СД могут способствовать также компенсаторная активация антирадикальных ферментов и усиление выброса из тканевых депо  $\alpha$ -токоферола в плазму крови.

Инсулинотерапия (независимо от дозы препарата) сопровождалась повышением содержания ГП по сравнению с контрольными величинами в 1,8–2,0 раза ( $P < 0,05$ ) и недостоверным повышением уровня КП ПОЛ. Изменение же уровня ненасыщенности липидов крови зависело от суточной дозы вводимого инсулина, что позволило использовать показатель ДС в качестве контрольного теста эффективности инсулинотерапии. Так, у детей первой группы при правильно подобранной дозе инсулина отмечались более быстрая компенсация метаболических нарушений и улучшение клинического состояния больных на фоне нормальных значений показателя ДС. У детей второй группы увеличение дозы инсулина для достижения компенсации диабета оказалось малоэффективным, а в ряде случаев приводило к ухудшению состояния больных; при этом показатель ДС повышался до 50,0 ммоль/л, что свидетельствовало о неадекватности инсулинотерапии характеру метаболических расстройств.

Все изложенное свидетельствует о разнонаправленности метаболических процессов при СД. У большинства больных (65%) отмечается активация ПОЛ, что указывает на целесообразность включения в состав комплексной терапии мембраностабилизирующих и антиоксидантных препаратов. У части больных (30%) наблюдается замедление процессов ПОЛ, и в этом случае антиоксидантная терапия, по-видимому, не показана.

## Выводы

1. У детей, больных СД, наблюдается активация процессов ПОЛ в сыворотке крови. Содержание ГП и КП ПОЛ зависит от степени выраженности кетоза и не зависит от дозы вводимого инсулина.
2. Установлена зависимость показателей ненасыщенности липидов от степени компенсации, длительности СД и дозы вводимого инсулина.
3. При длительности диабета более одного года выявляются разнонаправленные изменения ПОЛ и ненасыщенности липидов; индивидуальные различия в их содержании требуют дифференцированного подхода к терапевтической тактике.

## Список литературы

1. Дедов И. И. Эндокринология (под ред. И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко) ГЭОТАР — Медиа, 2013, 752 с.
2. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Сапелкина Л. В. Показатели спектра липидов сыворотки крови и мембран эритроцитов при сахарном диабете у детей. Проблемы эндокринологии, 1986, № 2, стр. 10–12.
3. Зезеров А. Е., Иванова С. М. Полярографический метод определения продуктов перекисного окисления липидов в плазме и эритроцитах человека и лабораторных крысах. Космическая биология и авиакосмическая медицина, 1986, № 4, стр. 94–95.
4. Poznyak T. I., Kiseleva E. V., Turkina T. I. Distribution of the total unsaturation in lipid components of plasma as a new differential diagnostic method in clinical analysis. Journal of chromatography A, 777, 1997, p. 47–50.
5. Schade D. S., Eaton R. P. Diabetic ketoacidosis pathogenesis preventions and therapy. Clin. Endocr. Metab. 1983, v. 12, № 2, p. 321–338.
6. Болдырева Т. П., Колесникова Л. И., Карлова И. Г., Тюменцева С. В., Петрова В. А. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система у детей и подростков, больных сахарным диабетом 1 типа. Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2004, № 2, т. 1, стр. 35–38.
7. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Сапелкина Л. В. Диагностика показателей липидного и фосфолипидного спектра сыворотки крови и мембран эритроцитов, холестерина липопротеидов высокой плотности у детей с сахарным диабетом. «Медико-социальные аспекты состояния здоровья населения Центрального региона России». Сб. статей и тезисов. Тверь, 2007, стр. 425.



# Мониторинг ошибок преаналитического этапа в централизованной клинико-диагностической лаборатории

Ю. Ф. Шубина, к. м. н.; В. А. Пичковская, к. м. н.; Е. Г. Дугаева

ГБУЗ г. Москвы «Диагностический центр (Центр лабораторных исследований) Департамента здравоохранения г. Москвы»

## *Preanalytical error monitoring in centralized clinical diagnostic laboratory*

J. F. Shubina, V. A. Pichkovskaya, E. G. Dugaeva

Diagnostic Centre (Research Laboratory Centre), Moscow, Russia

Ключевые слова: **преаналитический этап, мониторинг ошибок, вакуумные системы.**

Key words: **preanalytical stage, error monitoring, vacuum systems.**

### Введение

Успешность централизации клинико-диагностических лабораторий (КДЛ) как сложнейшего процесса административного и экономического реформирования лабораторной службы во многом зависит от планирования каждого из этапов реформы. Международный и российский опыт централизации показал, что уже на первом этапе централизации лабораторная служба, оказавшись в новых условиях функционирования, сталкивается с трудностями, которые относятся к базисным преаналитическим практикам, включая, но не ограничиваясь:

- осведомленность среднего медицинского персонала о правилах работы с биоматериалом в условиях централизации;
- использование преаналитических систем, допустимых для длительного хранения и транспортировки биоматериала;
- использование допустимых типов проб для данного вида исследования;
- использование допустимых временных интервалов с учетом стабильности данного анализата;
- правила хранения и транспортировка биоматериала;
- выстраивание логистических связей;
- стандартизация выполнения всех преаналитических процедур;

- внешний и внутренний контроль качества всех этапов лабораторного процесса

Преаналитический этап, особенно в условиях централизации, является наиболее уязвимым звеном, с которым зарубежные источники связывают до 75 % всех лабораторных ошибок [1, 2, 3]. Качество конечного результата зависит от способа взятия крови, качества и типа используемых расходных материалов и множества других факторов [4]. Также получение точных и воспроизводимых результатов лабораторных тестов, безусловно, зависит от уровня подготовки медицинского персонала, что, в свою очередь, оказывает влияние на качество оказания медицинской помощи населению в целом.

Так, все еще широко используемый в России небезопасный, открытый способ взятия венозной крови с помощью шприца приводит к гемолизу пробы и контаминации полученных образцов, а неверный выбор размера иглы для взятия венозной крови или типа реагента в составе вакуумной системы может приводить к целому ряду неблагоприятных последствий [5, 6]. Также необходим адекватный выбор в пользу вакуумных систем высокого качества, чтобы присутствующий реагент и содержание

вакуума гарантировали получение качественной пробы необходимого объема на всем сроке годности изделия. Более того, необходим правильный выбор размера и объема вакуумных контейнеров для получения оптимального и достаточного объема пробы у пациентов разного возраста. Например, для взятия венозной крови у детей старше года рекомендуется использовать вакуумные контейнеры малого объема, а в некоторых случаях используются вакуумные контейнера без бумажных этикеток, что облегчает визуальный контроль поступления крови в пробирку.

Таким образом, высокие требования должны предъявляться не только к существующим преаналитическим практикам, но и к выбору преаналитических систем. Отсутствие единого стандарта преаналитических практик вместе с системами неоптимального типа, размера или качества вместе могут приводить к целому ряду последствий: недопустимо низкое качество образца и, как следствие, повторное взятие крови у пациента с повторным анализом, срывы в бесперебойной работе дорогостоящих лабораторных анализаторов, их простой и ремонт. В результате увеличиваются время, затрачиваемое на получение результата лабораторного исследования, сроки госпита-

лизации пациента и связанные затраты [7]. Помимо этого, небезопасные способы взятия и пробоподготовки образцов несут в себе высокие риски передачи гемоконтактных инфекций.

Эти и многие другие вопросы преаналитического этапа решаются при использовании современных расходных материалов, рекомендованных ВОЗ, CLSI и другими организациями для безопасного получения качественных проб крови:

- 1) безопасные иглы с инженерными устройствами защиты от укола различного размера для взятия крови из вен разной сложности;
- 2) вакуумные системы с сепарационным гелем для повышения выхода пробы а также стабильности проб крови при длительной транспортировке;
- 3) специальные вакуумные контейнеры малого объема или без этикеток для взятия крови у детей и определенных категорий пациентов (онкобольные и другие сложные пациенты);
- 4) специальные ланцеты и микропробирки для взятия капиллярной крови у взрослых и детей;
- 5) специальные шприцы для взятия артериальной крови и определения кислотно-основного состояния.

Не менее важна и методология преаналитического этапа, основой чего является улучшение клинических и лабораторных практик в соответствии с такими международными и российскими стандартами, как ГОСТ ИСО 15189–2015, ГОСТ Р 53079 [8, 9].

Важность качественного и безопасного сбора и пробоподготовки биоматериала становится особенно очевидна, когда речь идет о работе централизованной КДЛ, принимающей образцы из отдаленных пунктов, в которых условия сбора материала, существующие преаналитические практики, а также типы используемых преаналитических систем могут значительно отличаться друг от друга. Простыми примерами высокой степени вариабельности на преаналитическом этапе в условиях централизации КДЛ могут быть, например, временная задержка при транспортировке

Таблица  
Структура причин отбраковки проб в ДЦЛИ Департамента здравоохранения г. Москвы в период 2016–2017 годов

Причина отбраковки	2016 год	2017 год
Проба с хилезом, %	44	45
Проба с гемолизом, %	20	33
Биоматериал не доставлен, %	1	7
Некорректно собран биоматериал, %	35	15

проб из разных пунктов, различные температурные режимы транспортировки проб, различные типы используемых расходных материалов, различные типы антикоагулянтов или их концентраций, отсутствие стандартных операционных процедур (СОПов).

В этой связи основным способом повышения качества и воспроизводимости результатов лабораторных исследований является внедрение системы менеджмента качества, часть которого — постоянный внешний и внутренний мониторинг совершаемых ошибок и контроль на всех этапах лабораторного процесса [8, 10, 11].

#### Цель исследования

Целью исследования являлся анализ ошибок на преаналитическом этапе лабораторного процесса, являвшихся причиной отбраковки биоматериала в централизованной лаборатории ДЦЛИ Департамента здравоохранения г. Москвы в период 2016–2017 годов.

#### Материал и методы исследования

Мониторинг преаналитического этапа включал ретроспективный анализ ошибок преаналитического этапа лабораторного процесса за 2016 и 2017 годы. В соответствии с рекомендациями IFCC WG-LEPS [10] были проанализированы следующие обязательные индикаторы качества:

- 1) процент проб с хилезом,
- 2) процент проб с гемолизом,
- 3) ошибки сбора биоматериала,
- 4) ошибки идентификации. Учет причин отбраковки производился посредством учета статуса пробы при регистрации образца в ЛИС «Алтей».

#### Результаты исследования и обсуждение

Проведен ретроспективный анализ ошибок преаналитического этапа, являвшихся причиной отбраковки биоматериала в централизованной лаборатории Департамента здравоохранения г. Москвы в 2016–2017 годах (см. табл.). Отбраковка проб по всем используемым индикаторам качества составила в 2016 году 0,72 %, в 2017-м — 0,6 % от общего объема доставленных проб.

Отмечается незначительное снижение отбраковки проб, при этом структура причин отбраковки в 2017 году существенно изменилась. На долю некорректно собранного материала в 2017 году приходится 15 % по сравнению с 35 % в 2016 году, отмечается увеличение доли проб с гемолизом с 20 % в 2016-м до 33 % в 2017 году. Для более детального анализа причин изменения структуры причин отбраковки проведен анализ ошибок по направлениям биологического материала. За 2017 год из 223 направителей у 133 (60 %) направителей ошибок на преаналитическом этапе не выявлено, у 76 (34 %) отмечались единичные ошибки, у 14 (6 %) отбраковано более 3 % от всех доставленных в лабораторию проб. В группу направителей с наибольшей долей отбракованных проб приходятся медицинские организации, только начинающие работать с централизованной лабораторией ДЦЛИ Департамента здравоохранения г. Москвы. С целью минимизации отбраковки по выбранным индикаторам качества проводится ежемесячный мониторинг, в ходе которого выявляются организации-направители, включаемые в план срочных

или отсроченных корректирующих мероприятий. Разработаны и проводятся следующие корректирующие мероприятия: инструктаж процедурных сестер на рабочем месте, в том числе в симуляционном кабинете; рассылка методических и информационных материалов; лекции для врачей медицинских организаций.

### Выводы

Внедрение системы мониторинга ошибок на преаналитическом этапе является удобным инструментом дистанционного управления качеством централизованной клинико-диагностической лаборатории. Своевременное выявление систематических ошибок на удаленных пунктах приема биологического материала позволяет провести корректирующие мероприятия и соответственно повысить диагностическую значимость лабораторных исследований и качество оказания медицинской помощи в целом.

### Список литературы

1. Plebani M and P Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clinical Chemistry* 43: 1348–1351 (1997).
2. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2006; 44 (4): 358–65. Review.
3. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem*. 2002 May; 48 (5): 691–8. Review.
4. Bowen RA, Hortin GL, Csako G, Otañez OH, Remaley AT. Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays. *Clin Biochem*. 2010 Jan; 43 (1–2): 4–25.
5. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. (ISBN 978–92–4–159922–1). World Health Organization 2010.
6. СанПин 2.1.7.2790–10 Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами (9.12.2010 г. № 163).
7. Лынев В.С., Косарева Ю.С. Экономическое исследование «Основные преимущества использования вакуумных систем для взятия крови» // Медицинский алфавит. Современная лаборатория, № 3, 2013.
8. ГОСТ Р ИСО 15189–2015. Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности / Утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27 апреля 2015 г. № 297-ст. Лынев В.С., Косарева Ю.С. Экономическое исследование «Основные преимущества использования вакуумных систем для взятия крови» // Медицинский алфавит. Современная лаборатория, № 3, 2013.
9. ГОСТ Р 53079.4–2008. Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа. Утвержден и введен в действие Приказом Ростехрегулирования от 18 декабря 2008 г. № 554-ст.
10. Sciacovelli L, Lippi G, Sumarac Z, West J, Garcia Del Pino Castro I, Furtado Vieira K, Ivanov A, Plebani M; Working Group "Laboratory Errors and Patient Safety" of International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC). Quality Indicators in Laboratory Medicine: the status of the progress of IFCC Working Group "Laboratory Errors and Patient Safety" project. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55 (3): 348–357.
11. Система управления качеством в лабораториях. Пособие. ВОЗ/CLSI. Laboratory quality management system: Handbook. WHO/CLSI ISBN 978 92 4454827 1 (2013).



# 3-й Международный Форум АнтиКоагулянтной и антиагрегантной Терапии

[www. anticoagulants.ru](http://www. anticoagulants.ru)

22–24 марта  
2018  
Москва



Ваши помощники для профилактики тромбоземболических осложнений

# Надежность и безопасность в лабораторном секторе

- Профессиональная модель, электронное управление с ЖК-дисплеем и точностью заданной температуры до 0,1 °C
- Визуальная и звуковая сигнализация изменения температуры, открытия двери и отключения питания
- Визуальная и звуковая сигнализация изменения температуры, открытия двери и отключения питания
- Интегрированная регистрация и хранение данных о температуре и случаях аварийной сигнализации
- Последовательный интерфейс RS 485 для регистрации данных о температуре и беспотенциальные контакты для дополнительной сигнализации
- Калибровка по 3 точкам обеспечивает точность температуры хранения

LKPv 6520



lab.liebherr.com



home.liebherr.com

# LIEBHERR

Качество, дизайн и инновации



Ф. С. Билалов



А. Ж. Гильманов



М. А. Шарафутдинов

## Анализ развития и функционирования диагностических подразделений в Российской Федерации

**Ф. С. Билалов**, к.м.н., доцент кафедры лабораторной диагностики ИДПО<sup>1</sup>  
**А. Ж. Гильманов**, д.м.н., проф., зав. кафедрой лабораторной диагностики ИДПО<sup>1</sup>  
**М. А. Шарафутдинов**, д.м.н., доцент кафедры общественного здоровья и организации здравоохранения с курсом ИДПО<sup>1</sup>  
**Г. П. Сквирская**, д.м.н., проф. кафедры общественного здоровья и здравоохранения имени Н. А. Семашко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет)» Минздрава России, г. Москва

### Analysis of development and functioning of diagnostic units in Russian Federation

F. S. Bilalov, A. Zh. Gilmanov, M. A. Sharafutdinov, G. P. Skvirskaya

Bashkir State Medical University, Ufa; First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov (Sechenov University), Moscow; Russia

#### Резюме

**Внедрение новейших медицинских технологий, переоснащение медицинских организаций и информатизация здравоохранения в последние годы способствовали бурному росту объемов диагностических исследований. С целью оценки функционирования диагностических подразделений в период реализации реформ в сфере здравоохранения (2006–2016) были проведены исследования ресурсообеспеченности и деятельности диагностических служб в Российской Федерации путем анализа отчетов федеральных форм статистического наблюдения. Показано, что в 2005–2016 гг. сеть медицинских организаций в РФ и число диагностических подразделений в них сократились, причем наиболее значительно в службах лабораторной диагностики (–53,25%), функциональной диагностики (–37,95%), рентгенологической диагностики (–27,73%). Численность врачебных кадров в аналогичный период сократилась только в службе лабораторной диагностики, в то время как в других разделах наблюдался рост. Одновременно констатировано увеличение объемов диагностических исследований, что свидетельствует о повышенном потреблении диагностических ресурсов. Существующая система учета деятельности диагностических подразделений не позволяет дифференцировать нагрузку на персонал и оборудование, что требует совершенствования организационно-методических подходов при сборе отчетных данных на уровне федерального центра.**

**Ключевые слова:** диагностические отделения, клиническая лабораторная диагностика, рентгенодиагностика, ультразвуковая диагностика, эндоскопия, функциональная диагностика.

#### Summary

**The introduction of the newest medical technologies, the re-equipment of medical organizations and the informatization of public health services in recent years have contributed to the rapid growth of volumes of diagnostic studies. A study was made of the resource availability and activities of diagnostic services in the Russian Federation by analyzing the reports of federal statistical forms. It is shown that in 2005–2016 years the network of medical organizations in the Russian Federation and the number of diagnostic units in them was considerably reduced, most significantly in the laboratory diagnostics (–53.25%), functional diagnostics (–37.95%), and radiology (–27.73%). The number of medical personnel in the same period decreased only in the service of laboratory diagnostics, while in other sections growth was observed. An increase in the volume of diagnostic studies has been ascertained, which indicates an increased consumption of diagnostic resources. The existing system for recording the activities of diagnostic units does not allow differentiating the workload for personnel and equipment, which requires improvement of organizational and methodological approaches when collecting reporting data at the level of the federal center.**

**Key words:** diagnostic units, radiology, ultrasonic diagnostics, functional diagnostics, clinical laboratory diagnostics.

### Введение

Современная диагностика является одним из основных инструментов доказательной медицины [3, 4, 6]. Многовековой опыт и постоянное совершенствование диагностических методов потенцируют раннее выявление и профилактику заболеваний. Потребности клинических подразделений в эффективных средствах диа-

гностики стимулируют научно-технический прогресс к разработке новых и совершенствованию имеющихся диагностических методов [1, 2].

В медицинских организациях (МО) Российской Федерации действуют различные диагностические подразделения, использующие методы макродиагностики (рентгенодиагностика, томография, ультра-

звуковая диагностика, эндоскопия), микродиагностики (лабораторная диагностика, патоморфологическая диагностика) и функциональной диагностики [10].

В течение всего времени развития диагностических служб — с момента открытий методологических основ до современности — происходит формирование научно-доказатель-

Таблица 1

Численность диагностических подразделений медицинских организаций в Российской Федерации в 2005–2016 гг.

№	Категории	Годы			Динамика изменений за 2005–2016 гг.
		2005	2010	2016	
1.	Всего медицинских организаций	16009	8960	7767	-51,48%
2.	Всего стационаров	8859	5705	6625	-25,22%
3.	Число амбулаторно-поликлинических организаций (самостоятельных и входящих в состав других организаций)	21783	15732	17210	-20,99%
4.	Мощность учреждений, оказывающих амбулаторную помощь (число посещений в смену)	3298 064	3246 250	3320 566	+0,68%
<b>Количество поликлиник, имеющих в своем составе</b>					
5.	Клинико-диагностические лаборатории	12357	7340	5777	-53,25%
6.	Отделения рентгенологической диагностики	7610	6503	5500	-27,73%
7.	Отделения функциональной диагностики	8555	6569	5308	-37,95%
8.	Отделения ультразвуковой диагностики	6023	6043	5014	-16,75%
9.	Отделения эндоскопической диагностики	4283	4330	3775	-11,86%

ной базы, которая применяется врачами-клиницистами для выяснения причин заболеваний и способов их динамического мониторинга [8]. Основной парадигмой развития диагностической службы является внедрение клинически обоснованных, безопасных и экономически необременительных методов диагностики в клиническую практику [5]. Волнообразный характер развития диагностической службы обуславливается не только технологическими революциями, но и объективностью, экономической обоснованностью, медико-техническим совершенствованием методов диагностики.

В развитии методов диагностики можно выделить три этапа:

1. *становление* — открытие / разработка диагностического метода и начало его внедрения в клиническую практику;
2. *рост* — экстенсивное внедрение диагностического метода в сеть медицинских организаций (амбулаторно-поликлиническое звено, дневные стационары, стационары) и открытие кабинетов (отделений) диагностики;
3. *созревание* — интенсификация и оптимизация использования ресурсов диагностической службы для повышения их клинической и организационно-экономической эффективности.

Приведенные этапы развития диагностических методов нестабильны и напрямую зависят от многих сопутствующих факторов и условий: финансирования отрасли, социально-экономической политики государства, научно-методической и профессиональной подготовки кадров (специалистов диагностических служб), врачей-клиницистов, инженерно-технической службы, клинического использования результатов диагностических исследований, модернизации и развития диагностических медицинских технологий и др.

В большинстве медицинских организаций диагностика заболеваний и отклонений в состоянии здоровья осуществляется по различным направлениям служб, работающих автономно и проводящих различные лабораторные, функциональные, лучевые и эндоскопические исследования [7].

**Целью настоящего исследования** стал анализ развития и формирования диагностических служб в медицинских организациях системы Минздрава России в 2005–2016 гг.

#### Материалы и методы

Предметом исследования были организационные формы, виды деятельности, ресурсная база ди-

агностических подразделений медицинских организаций (МО) системы Минздрава РФ; объектом исследования — медицинские организации, оказывающие медицинскую помощь; единицами наблюдения — отделения лабораторной диагностики, рентгенодиагностики, ультразвуковой, функциональной и эндоскопической диагностики в составе медицинских организаций. Проанализированы следующие показатели: количество диагностических подразделений, численность специалистов диагностических служб, оснащенность диагностическим оборудованием и деятельность диагностических подразделений по данным отчетной формы федерального государственного статистического наблюдения № 30 «Сведения о медицинской организации» за 2005–2016 гг. с привлечением сведений, содержащихся на официальных интернет-сайтах медицинских организаций. Статистическая обработка данных проводилась в программе Microsoft Excel.

#### Результаты и обсуждение

Медицинская диагностика часто использует ресурсоемкие технологии, внедрять и поддерживать которые многим медицинским организациям сложно в основном по экономическим соображениям. Правительством

Таблица 2  
Численность специалистов диагностической службы в РФ в 2005–2016 гг.

Врачебные должности	Число должностей в целом			Динамика изменения численности, %	Число физ. лиц — основных работников на занятых должностях в 2016 г.	Средний коэффициент совместительства в 2016 г.
	2005	2010	2016			
Врач клинической лабораторной диагностики	39945,75	38741,75	37190,75	-6,89	15547	2,11
Врач-бактериолог	5613,25	5758,50	6050	-7,78	2929	1,80
Врач-рентгенолог	23075	24862	28432	<b>+23,21</b>	15889	1,58
Врач ультразвуковой диагностики	17216,50	22115,25	27129,25	<b>+57,57</b>	13976	1,73
Врач функциональной диагностики	16935,75	18717,75	20651,50	<b>+21,94</b>	9844	1,83
Врач-эндоскопист	8074,25	8677	9445,25	<b>+16,97</b>	4530	1,85

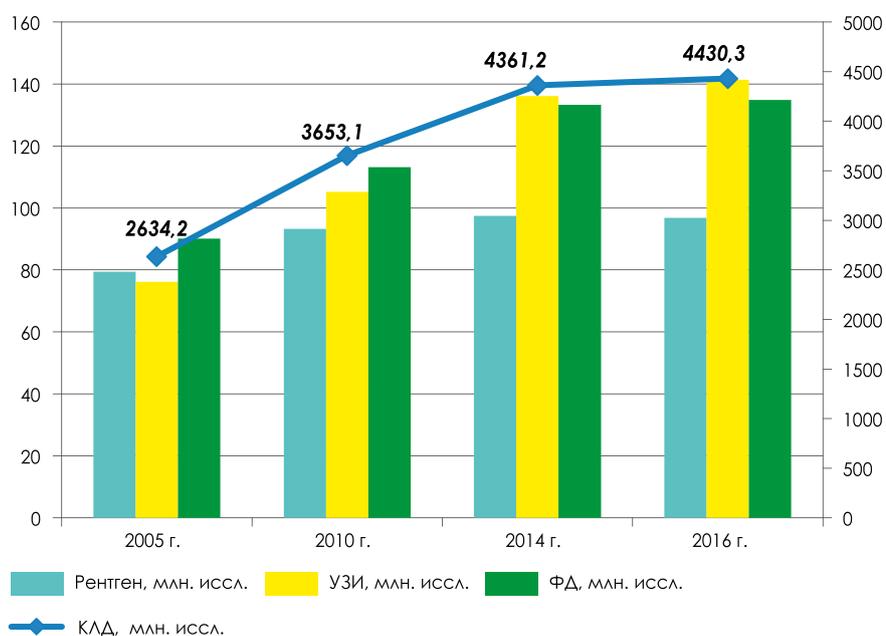


Рисунок 1. Динамика объема диагностических исследований (рентгенологических, УЗИ, функциональных, клиничко-лабораторных) в медицинских организациях РФ в 2005–2016 гг. (млн исследований).

РФ были приняты целевые меры по укреплению материально-технической базы медорганизаций путем централизованной закупки медицинского оборудования для диагностических служб как в рамках национального проекта «Здоровье», так и в соответствии с региональными программами модернизации здравоохранения на 2011–2012 гг., для которых были выделены значительные финансовые ресурсы на материально-техническое переоснащение медицинских организаций, подготовку медицинских кадров и информатизацию [9]. Внедрение современных диагностических технологий сопряжено не только с затратами на приобретение оборудования,

но и с подготовкой кадров врачей и специалистов со средним медицинским образованием в области медицинской диагностики, врачей клинических специальностей, являющихся потребителями диагностической информации, а также инженерно-технического персонала, обслуживающего медицинскую технику.

За последние 10 лет произошло существенное сокращение числа диагностических подразделений в медицинских организациях РФ (табл. 1).

Как видно из табл. 1, за рассматриваемый период сеть медицинских организаций сократилась на 51,5%, при этом поликлиник стало меньше на 21%, что косвенно характеризует

стремление органов управления здравоохранения к повышению эффективности использования ресурсов отрасли. Количество диагностических подразделений также сократилось, причем наибольшими темпами — отделения клинической лабораторной диагностики (–53,25%), функциональной диагностики (–37,95%), рентгенологической диагностики (–27,73%); менее значительно изменилось количество отделений ультразвуковой диагностики (–16,75%) и эндоскопической диагностики (–11,86%). В определенной степени сложившаяся ситуация связана с сокращением численности медицинских организаций (их слиянием в одно юридическое лицо), а также с другими факторами — автоматизацией технологических процессов, изменениями клинической востребованности диагностических данных на этапах оказания медицинской помощи, технологическими аспектами диагностических процедур и др.

В структурных подразделениях диагностической службы системы Минздрава РФ трудятся специалисты с медицинским и немедицинским образованием. Перечень специалистов и динамика их количества в 2005–2016 гг. отражены в табл. 2.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что за последние 10 лет в РФ наблюдалось сокращение должностей врачей-специалистов клинической лабораторной и бактериологической диагностики на 6,9–7,8%, а в остальных разделах диагностической службы, напротив, наблюдался рост числа врачебных ставок. Данные об укомплектован-

ности штатных единиц на первый взгляд свидетельствуют о недостатке кадров, но этот вопрос является спорным, может быть связан с экономическими аспектами (размером оплаты труда) и требует детального анализа с применением специальных методик расчета укомплектованности и специализации МО.

Общий объем проведенных диагностических исследований в МО РФ в период 2005–2016 гг. представлен на рис. 1 и 2.

Как видно из рис. 1 и 2, в последние годы наблюдался существенный рост количества исследований по всем разделам диагностической службы: в клинической лабораторной диагностике на 68,18%, в рентгенодиагностике на 21,97%, в ультразвуковой диагностике на 85,52%, в функциональной диагностике на 49,62%, в эндоскопии на 21,58%. Количество КТ- и МРТ-исследований выросло в 5,6 и 3,2 раза соответственно.

Тренды изменений свидетельствуют о некоторой стагнации объемов диагностических исследований в последние два года, что графически выглядит как выход на плато показателей по всем разделам и, вероятно, отражает насыщение клинических подразделений МО диагностическими ресурсами. Возможно, в ближайшие годы объем исследований даже несколько сократится как из-за экономических сложностей в стране, так и вследствие роста количества платных медицинских услуг, за которыми обращается часть населения.

При рассмотрении возможностей диагностических служб на различных этапах оказания медицинской помощи можно выделить некоторые их особенности. Так, функциональная и клиническая лабораторная диагностика располагают ресурсами, позволяющими проводить некоторые исследования без участия медицинского персонала самими пациентами на дому (измерение уровня глюкозы, экспресс-диагностика с помощью тест-полосок, спирометрия и т. д.). В то же время большая часть исследований выполняема лишь в условиях амбулаторий и стационаров вследствие определенных санитар-

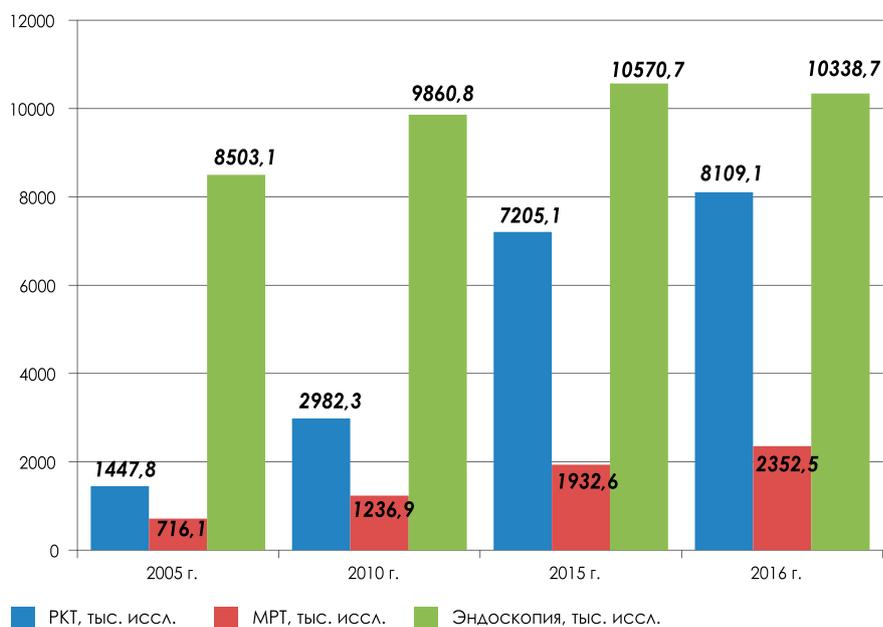


Рисунок 2. Динамика объемов диагностических исследований (КТ, МРТ, эндоскопических) по РФ в 2005–2016 гг. (тыс. исследований).

но-гигиенических и технологических требований. Единственным звеном диагностической службы, работающим не с самими пациентами, а с их биологическим материалом *in vitro* и позволяющим дистантное проведение исследований, является клиническая лабораторная диагностика. В остальных службах для реализации диагностического процесса требуется непосредственное присутствие пациента, что ограничивает массовое использование ряда методик и требует значительных ресурсов (помещения, кадры, оборудование).

Таким образом, анализ численности диагностических подразделений МО за последние 10 лет свидетельствует о сокращении их числа, что с большой вероятностью связано с изменением организационно-правовых форм медицинских организаций. Существующая статистическая система не предполагает учета сложности методов диагностики, нагрузки диагностического оборудования и его производительности, что не позволяет определить эффективность использования имеющейся ресурсной базы (оборудование, кадры). Это обосновывает необходимость поиска дополнительных организационно-методических решений, направленных на совершенствование оценки эффективно-

сти диагностических подразделений. Можно полагать, что автоматизация, внедрение телемедицинских и информационных технологий будут способствовать дальнейшему сокращению числа диагностических подразделений и повышению эффективности труда в них.

## Выводы

1. На фоне сокращения общей сети медицинских организаций в РФ в 2005–2016 гг. существенно уменьшилось число диагностических подразделений, наиболее значительно — в службах клинической лабораторной диагностики (–52,48%), функциональной диагностики (–37,20%), рентгенодиагностики (–27,55%).
2. Численность врачебных кадров за анализируемый период сократилась лишь в службе клинической лабораторной диагностики, что, вероятно, связано с автоматизацией лабораторных процессов и тенденцией к централизации выполнения исследований. В остальных разделах диагностической службы наблюдался рост числа врачебных должностей.
3. Отмечен рост объемов выполненных диагностических исследований по всем разделам диагностики, что отражает эффективность

проводимых реформ в области здравоохранения. В то же время в последние два года прослеживается тенденция к стабилизации объемов исследований, возможно, связанная с насыщением медицинских организаций диагностическими ресурсами.

4. Среди направлений развития диагностических исследований выделяются возможности проведения некоторых их видов вне медицинских организаций, в частности, на дому у пациентов, что повышает доступность таких исследований для населения.

Работа выполнена в рамках приоритетного направления научных исследований ГБНУ «Академия наук Республики Башкортостан» «Технологии инновационного развития медицины и здравоохранения для сохранения и укрепления здоровья населения Республики Башкортостан за 2016 г.», договор № АН41/12Б от 26.12.2016.

#### Список литературы

1. Klaeger Anders J. Use of ultrasound biomicroscopy, indocyanine green angiography and HLA-B51 testing as adjunct methods in the appraisal of Behcets uveitis / Klaeger Anders J., Tao Tran V., Hiroz Charles A., Morisod Lucienne, Herbolt Carl P. // *International ophthalmology*.— 2004.—Т. 25.— Vol. 1.— P. 57–63.
2. Martiny D. Mass spectrometry in microbiology: A revolution / Martiny D., Vandenberg O. // *Immuno-Analyse & Biologie Specialisee*.— 2012.—Т. 27.— Vol. 4.— P. 177–184.
3. Батрова Ю. В. Эффективное обоснование применения холтеровского мониторинга на основе принципов доказательной медицины / Ю. В. Батрова, О. А. Козырев // *Вестник смоленской государственной медицинской академии*.— 2010.— № 1.— С. 19–21.
4. Беганская Л. А. Современная лабораторная диагностика инфекционного эндокардита с позиций доказательной медицины / Л. А. Беганская, А. П. Ройтман, В. В. Долгов, А. Г. Морозов, Т. А. Федорова // *Медицинский алфавит*.— 2017.— Т. 1.— № 6 (303).— С. 1–19.
5. Вялков А. И. Современные подходы к оценке эффективности и качества медицинских диагностических исследований / А. И. Вялков, Г. П. Сквирская, И. М. Сон, И. Серегина, Ф. С. Билалов // *Менеджер здравоохранения*.— 2016.— № 9.— С. 12–17.
6. Дмитриева Л. И. Диагностический алгоритм и индикатор лучевой диагностики хронической обструктивной болезни легких на основе принципов доказательной медицины / Л. И. Дмитриева // *Вестник рентгенологии и радиологии*.— 2013.— № 1.— С. 50–56.
7. Стерликов С. А. Обеспеченность диагностическим оборудованием медицинских организаций, оказывающих помощь в амбулаторных условиях / С. А. Стерликов, С. А. Леонов И. М. Сон, А. Ш. Сененко, А. В. Гажева, Г. П. Сквирская, Ф. С. Билалов // *Менеджер здравоохранения*.— 2016.— № 3.— С. 44–55.
8. Тюрин А. В. Поиск маркеров генетической предрасположенности к развитию гипермобильности суставов и остеоартрита у больных из Республики Башкортостан / А. В. Тюрин, Р. И. Хусаинова, Л. З. Лукманова, Р. А. Давлетшин, Э. К. Хуснутдинова // *Молекулярная медицина*.— 2016.— Т. 14.— № 6.— С. 41–47.
9. Федеральный закон от 29.11.2010 N 326-ФЗ «Об обязательном медицинском страховании в Российской Федерации».
10. Щепин В. О. Модель и этапы социально-гигиенической оценки распространенности патологии среди населения / В. О. Щепин, А. Л. Томчук, А. И. Бабенко, Ю. И. Бравве // *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*.— 2013.— № 4.— С. 24–29.



**РОССИЙСКОЕ  
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ  
ОБЩЕСТВО**

# VI МЕЖДУНАРОДНЫЙ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ФОРУМ «РОССИЙСКИЕ ДНИ СЕРДЦА»

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ, УЛ. АККУРАТОВА, Д. 2  
ФГБУ «НМИЦ ИМ. В. А. АЛМАЗОВА» МИНЗДРАВА РОССИИ

**19–21 АПРЕЛЯ 2018 ГОДА**

[www.scardio.ru](http://www.scardio.ru)



# Клиническая значимость и возможности лабораторной диагностики *Corynebacterium urealyticum*

Н. В. Евдокимова, к.б.н., с.н.с. лаборатории

Т. В. Черенькая, к.м.н., зав. лабораторией

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

## Clinical importance and possibilities of laboratory diagnostics of *Corynebacterium urealyticum*

N. V. Evdokimova, T. V. Chernenkaya

Research Institute of Emergency Care n.a. N. V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

### Резюме

В обзоре рассмотрены результаты изучения возбудителя госпитальных инфекций *Corynebacterium urealyticum* с точки зрения его лабораторной диагностики и способности вызывать воспалительные заболевания, такие как цистит, пиелонефрит, бактериемия и сепсис. В ходе рутинной лабораторной практики *Corynebacterium urealyticum*, как правило, не выделяют, традиционно считая их, как и большинство других видов коринебактерий, контаминантами, а также из-за медленного роста, видимого не ранее чем через 48 часов. Фенотипическую идентификацию *Corynebacterium urealyticum* проводят, используя API Coryne и тест на уреазу, с помощью молекулярно-биологических методов (RT-PCR с праймерами для микобактерий). В настоящее время для идентификации также применяют MALDI-TOF MS. Согласно имеющимся данным, большая часть штаммов *C. urealyticum* резистентны к бета-лактамам, аминогликозидам и тетрациклину.

Ключевые слова: *Corynebacterium urealyticum*, цистит, пиелонефрит, бактериемия, трудности рутинной идентификации, полирезистентность.

### Summary

In this review it has been regarded a nosocomial pathogen *Corynebacterium urealyticum* with respect to its laboratory investigation, relationship to diseases including cystitis, pyelonephritis, bacteremia and sepsis. It is usually missed in routine culture because of its coryneform morphology (considered as contaminant), and it requires 48 hours of incubation to grow. It can be diagnosed using phenotypic (API Coryne, urease test) and molecular methods (RT-PCR using mycobacterial primers). Recently MALDI-TOF MS has also been used for its identification. According to the information available in the literature, *C. urealyticum* isolates are resistant to  $\beta$ -lactams, aminoglycosides, and tetracycline.

Key words: *Corynebacterium urealyticum*, cystitis, pyelonephritis, bacteremia, difficulties in routine identification, multidrug-resistance.

На протяжении длительного периода времени представителей рода *Corynebacterium*, за исключением *C. diphtheriae*, без всякого сомнения, относили к непатогенным видам, считая их контаминантами. В середине 30-х годов XX века появились первые сообщения о том, что коринеформные бактерии могут вызывать воспалительные заболевания у пожилых пациентов с хронической патологией мочевыводящих путей [1]. Впоследствии этот вид бактерий назвали *Corynebacterium urealyticum*. Зрелый возраст пациентов, наличие сопутствующих заболеваний, длительное применение антибиотиков широкого спектра действия, катетеризация мочевыводящих путей — факторы, способствующие развитию воспалительных осложнений, вызванных *Corynebacterium urealyticum*. На сегодняшний день уже накоплено достаточное количество данных, свидетельствующих о том, что *Corynebacterium urealyticum* может вызывать острые циститы и пиелонефриты, инкрустирующие циститы и пиелиты, а также

бактериемию и сепсис у больных с хронической урологической патологией [2].

Данные по частоте выявления инфекций, вызванных *Corynebacterium urealyticum*, явно не отражают реальную картину, что, с учетом устойчивости клинических изолятов *Corynebacterium urealyticum* к бета-лактамам, аминогликозидам и тетрациклину, становится очень серьезной проблемой [3].

### Характеристика вида

**Морфология клеток** типична для коринебактерий. В мазках из колоний, выросших на агаризованных средах, обнаруживают мелкие грамположительные неправильной формы палочки, иногда с утолщениями на конце клеток, не образующие споры, неподвижные [2].

**Ростовые характеристики.** В условиях рутинной лабораторной практики, ориентированной на выделение быстрорастущих микроорганизмов, *Corynebacterium urealyticum*, как правило, не обнаруживают. Только

прицельный поиск данного вида дает желаемый результат. Так, целенаправленный поиск коринебактерий в образцах клинического материала позволил повысить частоту их выделения в 3–10 раз [2]. По данным испанских исследователей, частота выделения *Corynebacterium urealyticum* у пациентов ОРИТ с пересаженной почкой достигала 14% при использовании специальной среды, содержащей Твин-80, мочевины и антибиотики [4]. При «случайном» обнаружении частота выделения не превышала 4%.

Чтобы добиться роста *Corynebacterium urealyticum*, надо соблюдать следующие минимально достаточные условия. Рост колоний можно наблюдать не раньше 48 часов. Культивирование следует проводить в микроаэрофильных условиях при 37 °C [5]. Хороший рост наблюдают на кровяном агаре, шоколадном агаре и ряде селективных сред. Однако стоит учитывать тот факт, что использование селективных сред повышает «высеваемость» сапрофитных видов коринебактерий

с недоказанным клиническим статусом и неопределенным профилем антибиотикочувствительности [5]. При соблюдении вышеупомянутых минимальных условий культивирования получают рост мелких беловато-матовых выпуклых гладких колоний без гемолиза.

**Идентификацию коринебактерий** проводят как ручными тест-системами (API Coryne, bioMérieux, Франция), так и на автоматических анализаторах, например, Vitek 2 (bioMérieux, Франция), Phoenix 100 (BD, США). Результаты ряда исследований подтверждают достаточную надежность идентификации коринебактерий с помощью ручных тест-систем и автоматических анализаторов [6, 7, 8]. Однако остаются определенные сомнения, поскольку количества проведенных исследований пока явно недостаточно для подтверждения статистической достоверности данных. Для большей уверенности в случае возникновения затруднений используют ПЦР-диагностику и другие молекулярно-биологические методы. В последние годы взоры исследователей обратились к методам масс-спектрометрии (MALDI-ToF MS). Их все чаще наряду с молекулярно-биологическими методами используют в качестве эталонных. Трудности в идентификации с помощью масс-спектрометрии возникают лишь в отношении близкородственных видов [8].

### Разделение на группы по биохимическому профилю

Согласно Funke et al. [11], клинически значимые виды коринебактерий можно разделить по их биохимическим особенностям на три группы.

I. Нелипофильные ферментирующие коринебактерии:

1. *C. diphtheriae group*,
2. *C. xerosis* и *C. striatum*,
3. *C. minutissimum*,
4. *C. Amycolatum / striatum*,
5. *C. glucuronolyticum*,
6. *C. argentoratense*,
7. *C. matruchotii*.

II. Нелипофильные неферментирующие коринебактерии:

1. *C. afermentans*,
2. *C. auris*,
3. *C. pseudodiphtheriticum*,
4. *C. propinquum*.

III. Липофильные коринебактерии:

1. *C. jeikeium*,
2. *C. urealyticum*,
3. *C. lipophilum*,
4. *C. accolens*,
5. *C. macginleyi*,
6. *CDC group F-1* и *G*,
7. *C. bovis*.

Под ферментирующими подразумевают виды, способные образовывать кислоту из углеводов в результате гликолиза. Рост липофильных бактерий стимулируется добавлением в среду липидов и липидоподобных соединений. Выявляется филогенетическое родство коринебактерий с микобактериями — в клеточной стенке коринебактерий обнаружены туберкулостеариновая и миколовые кислоты [2].

С помощью молекулярно-биологических методов (ПЦР, ДНК-секвенирование и т. д.) было показано очень близкое родство *C. urealyticum* и *C. jeikeium* [9]. Однако биохимический профиль их нетрудно различить. *C. jeikeium*, в отличие от *C. urealyticum*, не обладает уреазной активностью и использует глюкозу для роста, образуя кислоты [10].

### Факторы патогенности

*C. urealyticum* является нормальным обитателем кожи и слизистых оболочек, однако именно у пациентов, длительно получавших антибиотики широкого спектра действия, он выделяется чаще, особенно из урогенитального тракта. При этом штаммы этого вида обладают определенным набором так называемых факторов патогенности. Адгезия клеток коринебактерий к клеткам цилиндрического эпителия урогенитального тракта может осуществляться за счет пилей [1]. Однако пили обнаруживаются у небольшого числа штаммов. Выявлены некоторые «субстратные» предпочтения клеток коринебактерий данного вида, а именно «пристрастие» к определенным типам жирных кислот, выделяемых кожей. С этим, по-видимому, связано преимущественное выделение *C. urealyticum* у женщин [4]. Поэтому ведется поиск, и уже найдены «островки адгезии» клеток бактерий к клеткам эпителия человека. Интересно, что обнаружение *C. urealyticum* включает выделение *C. jeikeium*, который

обнаруживается в основном у мужчин при воспалительных заболеваниях урогенитального тракта после применения инвазивных методов исследования, лечения, постановки мочевых катетеров [11]. Иными словами, эти виды коринебактерий конкурируют за одни и те же местообитания. Говоря об адгезии к эпителиальным клеткам, нельзя также не упомянуть адгезию к поверхности катетеров и других медицинских приспособлений (протезы, дренажные трубки). Тefлоновые и хлорвиниловые поверхности медицинских изделий легко колонизируются коринебактериями, которые образуют на них биопленки [11, 12]. У штаммов этого вида обнаружены генетические детерминанты биопленкообразования [12].

Высокая уреазная активность является важным фактором патогенности. Разложение мочевины приводит к образованию аммиака, подщелачиванию среды и кристаллизации фосфатов магния и кальция [3, 13]. Эти кристаллы повреждают слизистые оболочки эпителиальных клеток урогенитального тракта. Образование камней в дальнейшем еще больше отягощает клиническую картину.

### Клиническое значение

Чаще всего *C. urealyticum* выделяют у пациентов с острым циститом или пиелонефритом, преимущественно у больных с иммунодефицитным состоянием [14, 15]. Среди хронических форм воспалительных заболеваний, вызванных *C. urealyticum*, преобладает инкрустирующий цистит [16]. Это заболевание не является жизнеугрожающим, однако оно сопровождается сильными болями и характеризуется рецидивирующим течением [17, 18]. Другой формой хронической инфекции, связанной с *C. urealyticum*, является инкрустирующий пиелит, развитие которого может привести даже к отторжению трансплантата у пациентов с пересаженной почкой [16, 19, 20].

*C. urealyticum* способен также вызывать инфекции мягких тканей даже у пациентов без сопутствующей урологической патологии [2, 14, 21].

Частота выявления бактериемии и сепсиса, по мнению ряда исследователей, является явно недооцененной [21]. То же самое можно сказать

и о таких патологиях, как пневмонии, остеомиелиты, эндокардиты у онкологических больных [2, 14, 21].

Все современные клинические изоляты коринебактерий обладают низкой чувствительностью к макролидам, фторхинолонам, тетрациклинам, а также к бета-лактамам [14, 22]. Помимо исходно природных особенностей, по-видимому, тому виной и жесткий отбор, который происходил, когда коринебактерии оставались в «тени» своих более знаменитых собратьев. В настоящее время разработаны критерии оценки чувствительности коринебактерий с помощью диско-диффузионного метода (EUCAST) для бензилпенициллина, ципрофлоксацина, моксифлоксацина, гентамицина, клиндамицина, тетрациклина, линезолида, ванкомицина и рифампицина [23]. Для лечения инфекционных заболеваний, вызванных полирезистентными штаммами коринебактерий, предлагают использовать ванкомицин, линезолид и тейкопланин [24].

## Заключение

Длительное игнорирование коринебактерий как возможного этиологического фактора госпитальных инфекций привело к тому, что имеющиеся в настоящее время данные достаточно скудны и не всегда достоверны.

Наиболее убедительные свидетельства участия *C. urealyticum* в развитии воспалительных заболеваний получены для онкологических больных, пациентов после трансплантации почки, а также у сильно ослабленных пациентов, длительно пребывавших в стационарах, подвергшихся активному инструментальному вмешательству и долго получавших антибиотики широкого спектра действия. Клиническая картина острого цистита или пиелонефрита должна являться поводом для поиска *C. urealyticum* не только в материале из урогенитального тракта, но и в раневом отделяемом, крови и даже ликворе, если имеются признаки генерализации инфекции.

Лабораторная диагностика инфекций, вызванных *C. urealyticum*, является вполне решаемой задачей. Для успешного выделения *C. urealyticum* необходимо учитывать их небыстрый рост (48–72 часа), липофильность, высокую уреазную активность, потребность в микроаэрофильных ус-

ловиях. Видовую идентификацию можно проводить с помощью ручных тест-систем (API Coryne). Среди автоматических анализаторов хорошо зарекомендовал себя Vitek 2 и Phoenix 100 (BD). Кроме того, в качестве эталонных методов идентификации активно разрабатываются Real-Time PCR (пока используются праймеры для микобактерий) и MALDI-ToF MS.

Оценка клинической значимости коринебактерий должна базироваться на общепринятых критериях. Повторное выделение из исходно стерильных локусов, численное доминирование вплоть до роста монокультуры являются убедительными свидетельствами участия коринебактерий в инфекционно-воспалительных процессах.

В условиях реальной практики важно, что антибиотикочувствительность коринебактерий можно определять диско-диффузионным методом, используя E-тест или метод разведения лишь в исключительных случаях.

Следует подчеркнуть, что для оценки клинической значимости не только *C. urealyticum*, но и других видов коринебактерий требуется проведение более масштабных исследований.

## Список литературы

1. Epidemiology of Corynebacterial urinary infections / M.N. Duztas, H. Erdem, A. Pahsa [et al.] // Int J Infect Dis.—2006.— Vol. 10, N 3.— P. 264.
2. Soriano F. Microbiological and clinical features of Corynebacterium urealyticum: urinary tract stones and genomics as the rosetta stone / F. Soriano, A. Tauch // Clin Microbiol Infect.—2008.— Vol. 14, N 7.— P. 632–643.
3. The lifestyle of Corynebacterium urealyticum derived from its complete genome sequence established by pyrosequencing / A. Tauch, E. Trost, A. Tilker, [et al.] // J Biotechnol.—2008.— Vol. 136, N 1–2.— P. 11–21.
4. Corynebacterium urealyticum infection in a pediatric kidney transplant recipient: case report / I. Fontana, M. Bertocchi, A. Rossi [et al.] // Transplant Proc.—2010.— Vol. 42, N 4.— P. 1367–1368.
5. Bernard K. Corynebacterium Species and Coryneforms: An update on taxonomy and diseases attributed to these taxa / K. Bernard // Clinical Microbiology Newsletter.—2005.— Vol. 27, N 2.— P. 9–18.
6. Evaluation of API Coryne system, version 2.0, for identification of gram-positive diphtheroid of clinical relevance / M.N. Almuzara, C. De Mier, C.R. Rodríguez [et al.] // Rev Argent Microbiol.—2006.— Vol. 38, N 4.— P. 197–201.
7. Clinical microbiology of coryneform bacteria / G. Funke, A. von Graevenitz, J.E. Clarridge, K.A. Bernard // Clin Microbiol Rev.—1997.— Vol. 10, N 1.— P. 125–159.
8. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: a powerful tool for identification of Corynebacterium species / R. Bao, X. Gao, B. Hu, Z. Zhou // J Thorac Dis.—2017.— Vol. 9, N 9.— P. 3239–3245.
9. Comparative analysis of the Corynebacterium glutamicum group and complete genome sequence of strain / H. Yukawa, C.A. Omumasa, H. Nonaka [et al.] // R Microbiology.—2007.— Vol. 153, Pt 4.— P. 1042–1058.
10. Classification of coryneform bacteria associated with human urinary tract infection (group D 2) as Corynebacterium urealyticum sp. nov. / D. Pitcher, A. Soto, F. Soriano, P. Valero-Guillen // Int J Syst Bacteriol.—1992.— Vol. 42, N 1.— P. 178–181.
11. Encrusting Cystitis due to Corynebacterium urealyticum in a patient with ANCA-associated vasculitis: case report and review of the literature / C. Pagnoux, A. Bézné, R. Damade, [et al.] // Semin Arthritis Rheum.—2011.— Vol. 41, N 2.— P. 297–300.
12. Kwaszewska, A.K. Hydrophobicity and biofilm formation of lipophilic skin corynebacteria / A.K. Kwaszewska, A. Brewczyńska, E.M. Szewczyk // Pol J Microbiol.—2006.— Vol. 55, N 3.— P. 189–193.
13. High frequency of macrolide resistance mechanisms in clinical isolates of Corynebacterium species / A. Ortiz-Pérez, N.Z. Martín-de-Hijas, J. Esteban [et al.] // Microb Drug Resist.—2010.— Vol. 16, N 4.— P. 273–277.
14. Soriano F. Corynebacterium urealyticum: From bedside to complete genome sequence / F. Soriano // Enferm Infecc Microbiol Clin.—2009.— Vol. 27, N 1.— P. 5–6.
15. Urinary tract infection caused by Corynebacterium urealyticum / Remacha Esteras M.A., Guerra Laso J.M., Esteban Martín A., Moran Blanco A. // Actas urol esp.—2004.— Vol. 28, N 1.— P. 75–76.
16. Alkaline-encrusted pyelitis and cystitis: an easily missed and life-threatening urinary infection / S. Lieten, D. Schelfaut, K.M. Wissing, [et al.] // BMJ Case Rep.—2011; 2011.— bcr1220103613.
17. Successful treatment of Corynebacterium urealyticum encrusted cystitis: a case report and literature review / A. Perciaccante, M.E. Pompeo, F. Fabi, M. Venditti // Infez Med.—2007.— Vol. 15, N 1.— P. 56–58.
18. Encrusted cystitis due to Corynebacterium urealyticum / H. El Sayegh, M. Elouardani, A. Iken, [et al.] // Rev Med Interne.—2008.— Vol. 29, N 4.— P. 328–330.
19. Urinary tract infection due to Corynebacterium urealyticum in kidney transplant recipients: An underdiagnosed etiology for obstructive uropathy and graft dysfunction—results of a prospective cohort study / F. López-Medrano, M. García-Bravo, J.M. Morales, [et al.] // Clin Infect Dis.—2008.— Vol. 46, N 6.— P. 825–830.
20. Fatal septic shock caused by Corynebacterium D 2. / V. Audard, M. Garouste-Orgeas, B. Misset, [et al.] // Intensive Care Med.—2003.— Vol. 29, N 8.— P. 1376–1379.
21. A Case report and literature review of Corynebacterium urealyticum infection acquired in the hospital / G. Famularo, G. Minisola, G.C. Nicotra, [et al.] // Intern Emerg Med.—2008.— Vol. 3, N 3.— P. 293–295.
22. Funke G. Coryneform Gram-positive / G. Rode Funke, K.A. Bernard // Manual of Clinical Microbiology / ed. P.R. Murray [et al.]—9th ed.— Washington, DC: ASM Press, 2007.— P. 485–514.
23. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [homepage on the Internet]. EUCAST breakpoints tables. Available from: <http://www.eucast.org/clinical-breakpoints/-EUCAST:clinicalbreakpoints>. Version 7.1, valid from 2017–03–10–11.
24. Gomez-Garcés J.L. In vitro activity of linezolid and 12 other antimicrobials against coryneform bacteria / J.L. Gomez-Garcés, J.I. Alos, J. Tamayo // Int J Antimicrob Agents.—2007.— Vol. 29, N 6.— P. 688–692.



# НОВИНКИ 2018 г.



## ТЕХНОЛОГИЯ СТАНДАРТ

*С новыми технологиями —  
к высоким стандартам!*



ООО Фирма «Технология-Стандарт» 656037,  
г. Барнаул, пр. Калинина, 116/95, а/я 1351;  
факс: (3852) 271-300, телефон: (3852) 229-937,  
229-938, 229-939; e-mail: [mail@tehnologia-standart.ru](mailto:mail@tehnologia-standart.ru);  
[www.tehnologia-standart.ru](http://www.tehnologia-standart.ru).

# Значение величины резистентности фактора Va к активированному протеину С при мутации FVL(1691) GA для развития тромбозов



А. П. Момот

**А. П. Момот**, д.м.н., проф., директор филиала<sup>1</sup>, с.н.с. лаборатории гематологии ЦНИЛ<sup>2</sup>

**М. Г. Николаева**, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом ДПО<sup>2</sup>

**В. А. Елыкомов**, д.м.н., проф., зав. кафедрой терапии и общей врачебной практики с курсом ДПО<sup>2</sup>

**А. В. Молчанов**, д.м.н., проф. кафедры терапии и общей врачебной практики с курсом ДПО<sup>2</sup>

**К. А. Момот**, врач-гематолог<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России, г. Барнаул

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

<sup>3</sup>КГБУЗ «Краевая клиническая больница», г. Барнаул

## Importance of factor Va resistance to activated protein C with FVL (1691) GA mutation for development of thromboses

A. P. Momot, M. G. Nikolaeva, K. A. Momot, V. A. Elykomov, A. V. Molchanov

Altai Branch of the National Research Centre for Hematology, Altai State Medical University, Regional Clinical Hospital; Barnaul, Russia

### Резюме

В статье рассмотрена потенциальная роль резистентности фактора Va к активированному протеину С при гетерозиготном носительстве мутации FVL(1691) GA для прогнозирования риска венозных тромбоэмболических осложнений и инициации гепаринопрофилактики у беременных и небеременных женщин.

Ключевые слова: мутация фактора V Лейден, генотип FVL(1691) GA, тромбоемболические осложнения, АПС-резистентность.

### Summary

The potential role of factor Va resistance to activated protein C in the heterozygous carriage of the FVL (1691) GA mutation is discussed for predicting the risk of venous thromboembolic complications and initiation of heparin prophylaxis in pregnant and non-pregnant women.

Key words: factor V Leiden, FVL (1691) GA genotype, thromboembolic complications, APC-resistance.

### Введение

Венозные тромбоэмболические осложнения (ВТЭО), к которым относят тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоз подкожных вен и тромбоемболию легочных артерий (ТЭЛА), носят междисциплинарный характер и остаются одной из важных проблем клинической медицины. Значение данных осложнений обусловлено их высоким потенциальным риском для здоровья и жизни пациента, в том числе при беременности [1–3]. Развитие ВТЭО связывают с наличием тем или иных фоновых предрасполагающих факторов, систематизация которых не закончена, и последние обозначаются в разных источниках как «факторы тромбогенного риска» и (или) «тромбофилия» [4–6].

По мнению мировых экспертов, одной из ведущих причин развития венозных тромбозов является носительство протромбогенных мутаций [7, 8]. Так, носительство мутации фактора V Лейден [мутации FVL(1691) GA/AA] рассматривают как постоянный генетически обусловленный фактор риска развития тромботических событий [9, 10]. Согласно заключениям Международного консенсуса

по профилактике и лечению венозной тромбоемболии (2013) [11] и рекомендациям Королевского колледжа акушеров и гинекологов (2015) [12] риск развития ВТЭО при мутации V фактора GA оценен и определен как в гомо (AA), так и в гетерозиготном (GA) варианте данной мутации. Отметим, однако, что в Российских клинических рекомендациях и протоколах данный факт ставится под сомнение, и в качестве фактора высокого риска рассматривается только наличие редкой гомозиготы мутации FVL(1691) AA [3, 13].

Учитывая имеющиеся данные, не вполне ясно, почему при прогнозировании развития клинически значимых событий и решении вопроса о гепаринопрофилактике не учитывается хорошо известный лабораторный фенотип мутации FVL(1691) AA/GA — резистентность фактора Va к активированному протеину С (АПС-резистентность), наличие которой и объясняет механизм склонности к внутрисосудистому тромбообразованию в данном случае [14–16].

Неоднозначное мнение исследователей о значимости гетерозиготного носительства мутации FVL(1691)

**Таблица 1**  
**Личный тромботический анамнез носительниц мутации фактор Лейден [FVL(1691) GA]**  
**и нормозиготных по этой мутации женщин [FVL (1691) GG]**

Клиническая ситуация	Генотип FVL (1691) AG n = 500		Генотип FVL (1691) GG n = 600		Статистика		
	Абс.	Процент	Абс.	Процент	p	OR	95% CI
<b>Личный тромботический анамнез</b>							
Отягощенный личный тромботический анамнез	70	14,0%	9	1,5%	< 0,0001	9,3	4,7 18,5
Нет личного анамнеза тромбозов	430	86%	591	98,5%			
<b>Эпизоды тромбоза вне беременности</b>							
Флеботромбоз	65	13,0%	5	0,8%	< 0,0001	19,4	7,9 48,1
<b>Эпизоды тромбоза во время беременности и после родов</b>							
Всего	33	3,0%	4	0,2%	< 0,0001	12,3	4,4 37,4
Острый флеботромбоз при беременности	20	1,9%	2	0,1%			
Острый флеботромбоз в послеродовом периоде	12	1,1%	2	0,1%			
Острое нарушение мозгового кровообращения по типу лакунарного инсульта	1	0,1%	0	0,0%			

**Таблица 2**  
**Показатели, характеризующие АПС-резистентность по нормализованному отношению (НО) в зависимости от носительства патологического гена FVL(1691) AG у небеременных женщин, у пациенток в разные сроки беременности и после родов**

Точки исследования	Генотип FVL (1691) AG		Генотип FVL (1691) GG		Статистика		
	Me	95% CI	Me	95% CI	Mann-Whitney U	Test statistic Z	p
Прегавидарный период	0,55	0,54–0,56	1,00	0,95–1,05	0	14,350	< 0,0001
8 недель	0,53	0,52–0,53	1,00	0,90–1,05	0	17,138	< 0,0001
12 недель	0,51	0,50–0,53	0,95	0,90–1,00	0	15,133	< 0,0001
18 недель	0,51	0,50–0,53	0,90	0,85–0,95	0	14,899	< 0,0001
22 недели	0,51	0,44–0,51	0,88	0,80–0,90	0	15,596	< 0,0001
28 недель	0,48	0,43–0,51	0,86	0,85–0,90	0	14,807	< 0,0001
32 недели	0,49	0,48–0,50	0,86	0,85–0,88	3	15,623	< 0,0001
37 недель	0,51	0,50–0,52	0,88	0,85–0,90	26	14,189	< 0,0001
2–3-и сутки после родов	0,50	0,46–0,53	0,90	0,89–0,91	36	11,377	< 0,0001

GA, отсутствие данных о роли лабораторного фенотипа в виде АПС-резистентности в реализации тромботических событий и определило **цель настоящего исследования.**

### Материалы и методы

На базе клинических подразделений Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России с 2009-го по 2017 год проведено проспективное клиническое когортное исследование 1 100 женщин репродуктивного возраста. В ходе его проанализировано течение 2 707 беременностей. Выделены две когорты: основная группа — 500 пациенток с генотипом *FVL(1691) GA* (средний возраст 30,2 ± 4,7 года, суммарное число законченных беременностей — 1 085) и группа контроля — 600 женщин, нормозиготных в отношении мутации *FVL(1691) GG* (средний возраст 30,3 ± 3,9 года, общее число законченных беременностей — 1 622). Группы были сопоставимы по возрасту ( $p > 0,05$ ), этнической принадлежности: основная группа на 91,2% представлена русскими, группа контроля — на 89,9% ( $p > 0,05$ ).

Критерии включения в основную группу: возраст от 18 до 45 лет, женский пол, носительство мутации *FVL (1691) GA*. В контрольной группе они были те же, кроме наличия отмеченной мутации. В число критериев исключения вошли аутоиммунные заболевания (в том числе антифосфолипидный синдром) и наличие хромосомных аберраций

Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета (протокол № 5 от 25.06.2009).

У всех пациенток вне зависимости от результатов генетического анализа исследовался уровень АПС-резистентности по показателю нормализованного отношения (НО) с помощью набора реагентов «Фактор V-PC-тест» (фирма «Технология-Стандарт», Россия), причем данное обследование выполнялось при отсутствии назначения гепарина или других антикоагулянтов.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистического программного обеспечения MedCalc 17.9.7. Проверка вариационных рядов на нормаль-

ность проводилась с помощью теста Шапиро-Уилкоксона (Shapiro-Wilk's W-test). Данные лабораторных показателей представляли в виде медианы (Me), 95-процентного доверительного интервала (95% CI) и интерквартильного размаха [25-й и 75-й перцентили]. Сравнение рядов выполнялось с использованием непараметрических методов (U-тест Манна-Уитни). Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах. Проверку статистических гипотез о совпадении наблюдаемых и ожидаемых частот осуществляли с использованием критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера. Для бинарных признаков вычисляли относительный риск (RR) и 95-процентный доверительный интервал (95% CI). Критический уровень значимости различий ( $p$ ) определен как  $p < 0,05$ .

### Результаты

У носительниц мутации *FVL(1691) GA* за весь период наблюдения венозный тромбоз был зарегистрирован в 9,3 раза чаще по сравнению с женщинами, имеющими нормозиготный генотип *FVL(1691) GG* (табл. 1). В различные периоды жизни у 70 пациенток — носительниц мутации *FVL(1691) GA* зарегистрировано 98 эпизодов тромбоза, в том числе у 45 (64,3% от 70) — однократный эпизод ВТЭО и ретромбозы у 25 (35,7% от 70) женщин. Можно также отметить отсутствие рецидивов венозных тромбозов при генотипе *FVL(1691) GG*, а также то, что частота развития ВТЭО была в большей мере связана с носительством мутации фактора V Лейден во время беременности, что соответствует имеющимся в литературе данным [17–19].

Наряду с оценкой анамнеза и тромботических событий у всех принятых в исследование женщин был проведен анализ уровня АПС-резистентности, результаты которого во время и вне беременности приведены в табл. 2 и на рис. 1.

В соответствии с полученными данными очевидно, что при носительстве мутации *FVL(1691) GA* у беременных женщин происходит суммация проявлений первичной АПС-резистентности (характерной для данного вида мутации) со вторичной ее формой (свойственной беременности).

При дальнейшем анализе установлено, что венозные тромбозы при носительстве мутации *FVL(1691) GA* отмечались в случаях наиболее выраженной АПС-резистентности. Причем это положение касалось как беременных женщин, так и пациенток вне беременности (рис. 2 и 3).

В частности, во время тромботического события у 27 небеременных пациенток — носительниц мутации *FVL(1691) GA* медиана АПС-резистентности (по показателю НО) составила величину 0,44 [95% CI: 0,41–0,49], которая достоверно отличалась ( $p = 0,001$ ) от аналогичного показателя в группе женщин без эпизода ВТЭО — 0,56 [95% CI: 0,53–0,57] и у пациенток с генотипом *FVL(1691) GG* — 1,0 [95% CI: 0,85–1,4] ( $p < 0,001$ ).

С другой стороны, этот же показатель АПС-резистентности в случае тромбозов вен нижних конечностей был наиболее выражен в разные сроки беременности и после родов.

Так, медиана показателя НО, отражающего степень АПС-резистентности, предшествующая эпизоду фле-

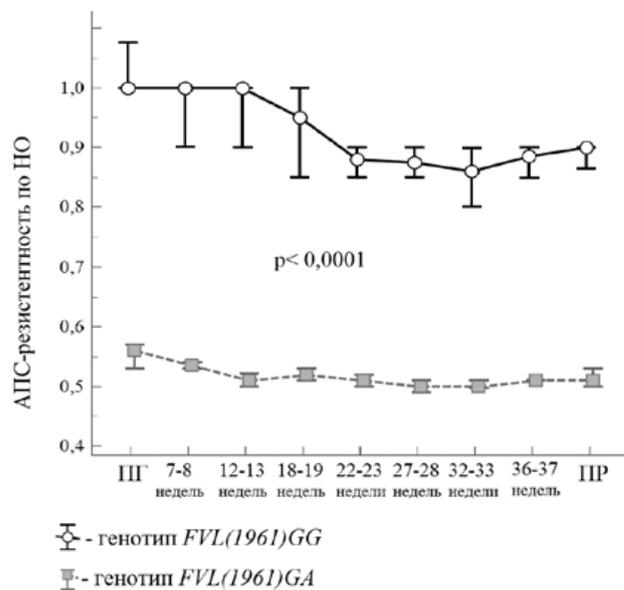


Рисунок 1. Динамика АПС-резистентности в зависимости от носительства патологического гена *FVL(1691) GG/AG* у небеременных женщин в разные сроки беременности и после родов.

Примечание. НО — нормализованное отношение; ПГ — предгравидарный период; ПР — на 2–3-и сутки после родов; медиана — маркер; значения, соответствующие 2,5 и 97,5 перцентиле — нижний и верхний вертикальные бары.

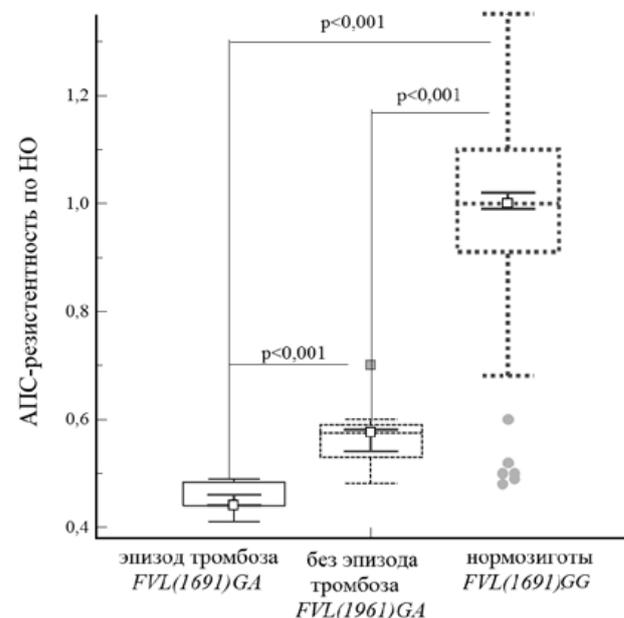


Рисунок 2. Характеристика АПС-резистентности на момент тромбоза и при его отсутствии у носительниц мутации *FVL(1691) GA* и при генотипе *FVL(1691) GG* вне беременности.

ботромбоза в первом триместре (7–8 недель), составила 0,49 [95% CI: 0,43–0,49]; в третьем триместре (32 недели) — 0,48 [95% CI: 0,46–0,49]; на 2–3-и сутки после родов — 0,44 [95% CI: 0,43–0,48] и была статистически значимо ниже, чем в группе женщин с благоприятным течением беременности при носительстве мутации *FVL(1691) GA*, которая составила соответственно 0,56 [95% CI: 0,53–0,58] в 7–8 недель, 0,51 [95% CI: 0,50–0,53] — в 32 недели и 0,51 [95% CI: 0,49–0,53] на 2–3-и сутки после родов.

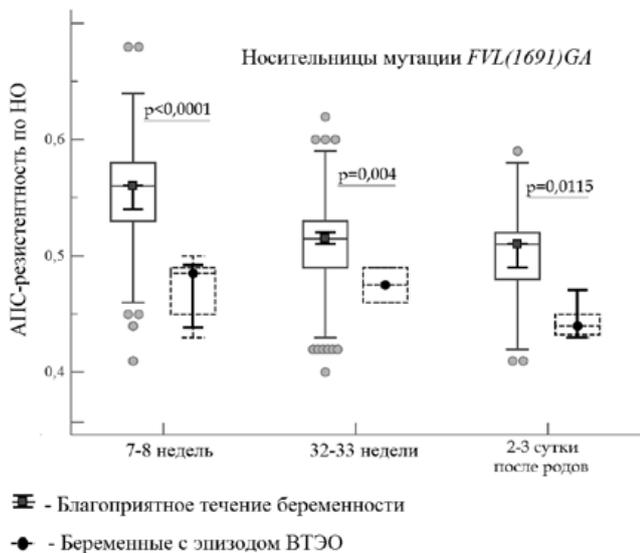


Рисунок 3. Особенности АПС-резистентности в контрольных точках во время беременности, предшествующих тромботическому событию при носительстве мутации *FVL(1691) GA*.

## Обсуждение

Несмотря на показанное во многих ранее опубликованных работах наличие ассоциативной связи между носительством мутации *FVL(1691) GA* и тромбозом, предсказать степень вероятности наступления или рецидива тромботических событий у данных пациентов представляется маловероятным без использования дополнительных критериев [20].

Субклиническая фенотипическая реализация генетической предрасположенности остается, как правило, вне внимания специалистов при определении тактики ведения больных.

АПС-резистентность при носительстве мутации *FVL(1691) GA*, величина ее проявления, ранее не рассматривались как прогностический фактор тромбообразования. Учитывая, что при тромбозе и в период времени, предшествующий тромботическому событию, показатель НО составлял ниже 0,49 [95% CI: 0,41–0,49], необходимо обозначить ведущую роль АПС-резистентности, определяющую высокую степень риска развития ВТЭО при мутации *FVL(1691)GA*, а также целесообразность проведения гепаринопрофилактики как вне, так и во время беременности.

## Список литературы

1. Баркаган З. С., Момот А. П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза: монография. М. Ньюдиамед. 2008. 292 С.
2. Савельев В. С., Кириенко А. И., Богачев В. Ю., Голованова О. А., Гаврилов С. Г., Золотухин И. А., Журавлева О. В., Брюшков А. Ю., Девятых Е. А. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей как общемедицинская проблема // *Consilium-Medicum*.— 2004.— Том 6, № 6.— С. 8–14.
3. Бокерия А. А., Затевахин И. И., Кириенко А. И., Андрияшкин А. В., Андрияшкин В. В., Арутюнов Г. П., Баринов В. Е., Бицадзе В. О., Бодыхов М. К., Бритов А. Н., Бутенко А. В., Вавилова Т. В., Воробьева Н. А., Восканян Ю. Э., Гавриленко А. В., Галстян Г. М., Гельфанд Б. Р., Гиляров М. Ю., Голубев Г. Ш., Замятин М. Н., Золотухин И. А., Кобалава Ж. Д., Кательницкий И. И., Копенкин С. С., Кузнецов М. Р.,

Леонтьев С. Г., Лобастов К. В., Лубнин А. Ю., Макацария А. Д., Моисеев В. С., Момот А. П., Острякова Е. В., Панченко Е. П., Переходов С. Н., Пирадов М. А., Поддубная И. В., Покровский А. В., Проценко Д. Н., Прудков М. И., Прыдко С. И., Пырегов А. В., Решетняк Т. М., Рябинкина Ю. В., Сапелкин С. В., Семенова М. Н., Смирнов С. В., Соколов В. А., Стаховская Л. В., Стойко Ю. М., Сулимов В. А., Сухих Г. Т., Терещенко С. Н., Фокин А. А., Хруслов М. В., Шевела А. И., Шиманко А. И., Шулуток А. М., Явелов И. С., Яхонтов Д. И. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений. *Флебология*.— 2015.— Том. 9, № 4.— вып. 2.— С. 2–52.

4. Момот А. П. Проблема тромбофилии в клинической практике // *Российский журнал детской гематологии и онкологии*.— 2015.— № 1.— С. 36–48.
5. Heit J. A. *Thrombophilia: Clinical and Laboratory Assessment and Management* // *Consultative Hemostasis and Thrombosis* / ed by C. S. Kitchens, C. M. Kessler, B. A. Konkle. 3<sup>rd</sup> ed.—Philadelphia: Saunders Elsevier.— 2013.— P. 205–239.
6. Momo A., Taranenko I., Tsyvkina L., Semenova N., Molchanova I. The Risk Factors of Thrombogenic, Thrombophilia, and the Principle for Heparin Prophylaxis in Personalized Medicine. // *Anticoagulation Therapy / ed by Özcan Başaran, Murat Bifeker*.— Croatia: InTech.— 2016.— P. 47–67.
7. James AH. Venous thromboembolism in pregnancy // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.— 2009.— 29 (3).— P. 326–331.
8. Bates S. M., Greer I. A., Middeldorp S., Veenstra D. L., Prabulos A. M., Vandvik P. O. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9<sup>th</sup> ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*.— 2012.— 141 (2 Suppl).— P.: e691S–736S.
9. Lockwood C. J., Krikun G., Rahman M., Caze R., Buchwalder L., Schatz F. The role of decidualization in regulating endometrial-hemostasis during the menstrual cycle, gestation, and in pathological states // *Semin Thromb Hemost*.— 2007.— 33.— P. 111–117. (Level III).
10. Margaglione M, Grandone E. Population genetics of venous thromboembolism. A narrative review // *Thromb Haemost*.— 2011.— 105.— P. 221–231.
11. *Thrombophilia. Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statement (Guidelines according to scientific evidence)* / ed by Balas P., Nicolaidis A. // *Int Angiol*.— 2013.— 32.— 188–200.
12. Reducing the Risk of Venous Thromboembolism during Pregnancy and the Puerperium. RCOG Green-top Guideline. 2015.— 37a.
13. Профилактика венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений в акушерстве и гинекологии. Клинические рекомендации (протокол лечения) письмо Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27 мая 2014 г. N15-4/10/2-3792.
14. Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Хизроева Д. Х., Немировский В. Б., Гадаева З. К., Акиншина С. В. Тромбопрофилактика у беременных с тромбофилией и тромбозами в анамнезе // *Сибирский научный медицинский журнал*.— 2013.— Том. 33, № 6.— С. 99–109.
15. Dahlbäck B., Carlsson M., Svensson P. J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a co-factor to activated protein C // *Proc Natl Acad Sci USA*.— 1993.— 90 (3).— P. 1004–1008.
16. Meinardi J. R., Middeldorp S., de Kam P. J., Koopman M. M. W., Van Pampus E. C. M., Hamulyák K., Prins M. H., Büller H. R., Van Der Meer J. The incidence of recurrent venous thromboembolism in carriers of factor V Leiden is related to concomitant thrombophilic disorders // *Br J Haematol*.— 2002.— 116.— P. 625–631.
17. Franco R. F., Reitsma P. H. Genetic risk factors of venous thrombosis // *Hum Genet*.— 2001.— 109(4).— P. 369–384.
18. Zotz R. B., Gerhardt A., Scharf R. E. Inherited thrombophilia and gestational venous thromboembolism // *Best Pract Res Clin Haematol*.— 2003.— 16 (2).— 243–259.
19. Biron-Andreani C., Schved J. F., Dures J. P. Factor V Leiden mutation and pregnancy-related venous thromboembolism: what is the exact risk? Results from a meta-analysis // *Thromb Haemost*.— 2006.— 96 (1).— P. 14–18.
20. Момот А. П., Цывкина Л. П., Тараненко И. А., Мамаев А. Н., Сердюк Г. В., Шахматов И. И., Лыдина И. В., Григорьева Е. В., Белозеров Д. Е., Никитина Д. А., Строзенко Л. А., Петрекова О. В., Беспалова О. В., Ломаев И. С. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности: монография / под ред. А. П. Момота.— Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета. 2011.— 138 с.



# MD-7600

## Автоматический гематологический анализатор

Автоматический гематологический анализатор, определяющий методом анализа in-vitro 20 параметров крови и отличающийся выгодным соотношением «цена-качество». Возможность работы со всеми типами образца: цельной, капиллярной, венозной кровью.

## Характеристики

Дифференциация лейкоцитов на 3 субпопуляции;  
20 параметров + 3 гистограммы;  
2 режима счета: цельная кровь и с предварительным разведением



Определяемые параметры	WBC, LYM#, MON#, GRA#, LYM%, MON%, GRA%, RBC, HGB, MCHC, MCH, MCV, RDW-CV, RDW-SD, HCT, PLT, MPV, PDW, PCT, P-LCR и гистограммы для WBC, RBC и PLT
Память	до 35000 результатов с гистограммами
Производительность	60 тестов в час
Принтер	встроенный термический
Принцип измерения	импедансный метод измерения WBC, RBC и PLT, фотометрическое измерение
Объем пробы	разведенная кровь 20 мкл, цельная кровь 9.8 мкл
Габариты (В*Ш*Г)	436×363×367 мм
Вес	18 кг

Технические характеристики прибора могут быть изменены производителем без предварительного уведомления

МедСервис

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

Телефон: +7 (495) 633-23-53

+7 (495) 633-24-34

Факс: +7 (495) 633-23-52

e-mail: office@medservice.biz



**Meredith**  
D I A G N O S T I C S

Kinetic Business Center,  
Theobald Street, Elstree,  
Hertfordshire, WD6 4PJ, England  
Tel: +44 2083 871586  
Fax: +44 2083 874004  
info@meredithdiag.co.uk

# Проблемы массового скрининга HBsAg и пути их решения

**М. М. Шульгина**, врач клинической лабораторной диагностики

**М. И. Ермолаева**, биолог

**Е. В. Ефремова**, к.б.н., биолог

**А. А. Потапова**, д.б.н., доцент (высшая квалификационная категория по специальности «клиническая лабораторная диагностика»), биолог

Клинико-иммунологическая лаборатория по диагностике ВИЧ-инфекции ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии» Департамента здравоохранения г. Москвы

## Problems of HBsAg mass screening and their solutions

M. M. Shulgina, M. I. Ermolaeva, E. V. Efremova, A. A. Potapova

Moscow Scientific and Practical Centre for Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russia

### Резюме

При исследовании HBsAg в сыворотке крови иногда возникают проблемы интерпретации результата. Целью работы было описание проблем, которые возникают при массовом скрининге HBsAg, а также представление некоторых путей их решения для предотвращения сообщения ложного результата. Методы. Использованы скрининговые и подтверждающие тест-системы (ТС) для ИФА, в том числе с модификацией измерения оптической плотности (ОП) без внесения стоп-реагента (утверждена производителем ТС). Результаты ИФА выражены в виде коэффициента позитивности (КП) пробы, равного отношению ОП пробы к величине ОП критической. Результаты. Положительные результаты (545; 1,21% всех проб, исследованных в скрининге) получены с помощью различных вариантов исследования: 1) после единственного подтверждающего исследования — 52,29% проб; 2) с измерением ОП без стоп-реагента — 21,10% проб; 3) после разведения в 100 и более раз — 24,95% от всех HBsAg-положительных проб. Девять проб, в том числе полученные от беременных женщин и новорожденных детей, в ТС с чувствительностью от 0,05 нг/мл были идентифицированы как не содержащие HbsAg, а в ТС с чувствительностью 0,01 нг/мл критерии позитивности выполнялись, пробы были признаны HBsAg-положительными. Это наблюдалось и в отношении исследования проб, полученных из Федеральной системы оценки качества исследований. Выводы. Для исследования низкопозитивных проб необходимы ТС с чувствительностью 0,01 нг/мл. Для исследования высокопозитивных проб полезна модификация измерения ОП без внесения стоп-реагента. Предложен алгоритм определения наличия HBsAg.

Ключевые слова: **поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg), иммуноферментный анализ, алгоритм исследования.**

### Summary

The Scientific and Practical Center of Dermatovenereology and Cosmetology of the Moscow Department of Healthcare, Moscow, Russian Federation. The investigation of some sera samples for hepatitis B surface antigen (HBsAg) is associated with the problem of results interpretation. The purpose of this study was to describe the problems that arise during the mass screening for HbsAg and to present some ways of their solution in order to prevent false results. Methods. The screening and confirming test systems (TS) for ELISA (including the state modification without the use of a stop reagent) have been applied. The results of screening in ELISA are denoted as the sample positivity coefficient, equal to the ratio of a sample optical density (OD) to the cut-off OD value (S/Co). Results and conclusions. The 545 HBsAg-positive results (1.21% of screening) have been received by different means of research: 1) after a singular confirming research in 52.29% of samples; 2) with the OD measurement without a stop reagent in 21.10% of samples; 3) after diluting 100 and more times in 24.95% of all HBsAg-positive samples. 17 samples were low-positive in screening (S/Co less than 3); 9 of them were identified as positive, which is 1.7% of positive samples and 0.02% of all the samples. Low-positive samples need to be investigated in TS with sensitivity higher than 0.01 ng/ml, because in those with less sensitivity the criteria of positivity aren't carried out, and the results of blood sera samples research, including those received from pregnant women and newborn children, are interpreted as negative. This is also fair in regards to the research of samples received from the Federal system of research quality assessment.

Key words: **mass screening, hepatitis B surface antigen, ways of achieving the correct results.**

Выявление поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) в ряде случаев является первичным признаком инфицированности человека, поскольку гепатит В (ГВ) в большинстве случаев имеет длительное субклиническое течение, нередко заканчивающееся развитием тяжелых осложнений: цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [1]. Наиболее раннее выявление и своевременное лечение заболевания возможно при проведении массового скрининга сыворотки крови

на наличие HBsAg. По действующему приказу Минздрава России [2] выявление HBsAg в иммуноферментном анализе (ИФА) проводится в два этапа: после первичного скрининга все пробы с позитивной реакцией должны быть исследованы в подтверждающих иммуноферментных тест-системах (ИФТС), содержащих нейтрализующие антитела. Метод, используемый для определения HBsAg — иммуноферментный анализ (ИФА) в планшетном формате, — характеризуется существенной случайной

ошибкой: коэффициент вариации (КВ) при оценке сходимости результатов составляет 8% по ГОСТ Р 51352–99 [3]. При исследовании некоторых проб, особенно с пограничными значениями аналита, возникают проблемы интерпретации результата, что обуславливает необходимость выработать оптимальные по времени проведения и точности определения способы исследования «проблемных» проб, что особенно актуально при большом объеме исследований.

**Целью работы** было описание проблем, которые возникают при массовом скрининге проб сыворотки крови пациентов разнопрофильных лечебно-профилактических организаций на наличие HBsAg, а также представление некоторых путей их решения для предотвращения сообщения ложного результата.

## Материалы и методы

В работе использованы результаты массового скрининга сыворотки крови на HBsAg, полученные в клинико-иммунологической лаборатории по диагностике ВИЧ-инфекции МНПЦДК Департамента здравоохранения г. Москвы. В 2016 году обследованы на наличие HBsAg 1 169 230 пациентов, проведены 1 325 160 исследований.

Для определения HBsAg использованы скрининговые, а также подтверждающие тест-системы (ТС) ИФА с нейтрализующими антителами: «Вектогеп В — HBs — антиген — авто (комплект 1)» и «Вектогеп В-HBs-антиген-подтверждающий тест (комплект 1)» (АО «Вектор-Бест»), а также «ДС-ИФА-HBsAg-0,01» (НПО «Диагностические системы»). В настоящее время в подтверждающей ТС производства ЗАО «Вектор Бест» появилась модификация: вспомогательное измерение, которое проводится без внесения стоп-реагента. Результаты ИФА выражены в величине оптической плотности пробы (ОП), а также в отношении величины ОП пробы к величине ОП критической, которая называется коэффициентом позитивности (КП) пробы. Внутрилабораторный контроль качества (ВКК) проводился с контрольными материалами производства ЗАО «Вектор-Бест». Для оценки результатов внутрилабораторного контроля качества (ВКК) использована система ВКК Altey Laboratory версии 4.1.

## Полученные результаты

**1. Результаты ВКК.** При оценке воспроизводимости с помощью контрольной карты коэффициент вариации (КВ) результатов определения HBsAg составлял 14,5% (методика идет правильно); при оценке сходимости КВ не превышал 5,5%.

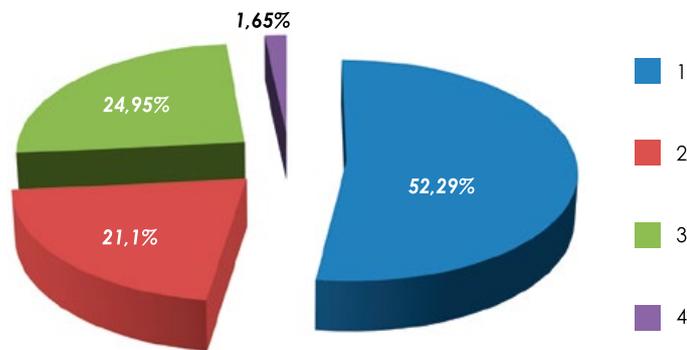


Рисунок 1. Количество HBsAg-положительных результатов, полученных после различных вариантов исследования в подтверждающих тест-системах проб, положительных в первичном скрининге: 1 — положительные результаты, полученные после одного подтверждающего исследования; 2 — положительные результаты, полученные с использованием нового способа измерения; 3 — положительные результаты, полученные после разведения высокопозитивных проб; 4 — низкоположительные результаты.

**2. Результаты исследования проб с высокой и низкой ОП в первичном скрининге.** После первичного скрининга в 2016 году проб с положительными результатами было 1,51%, а окончательно положительных проб после проведения подтверждающих исследований — 1,21% от всех исследованных проб.

Для того чтобы выдать окончательный результат (позитивный либо негативный), для части проб были проведены дополнительные исследования. Количество и содержание этих исследований продемонстрированы на примере проб, исследованных с 3 по 19 января 2017 года.

За 16 дней января 2017 (по 19 января) исследована 45 151 проба, из них:

- положительные в первичном скрининге результаты (условно положительные) получены для 589 проб (1,30% от всех исследованных проб);
- из условно положительных 17 проб (2,89%) первичном скрининге были с ОП менее 0,35 оптических единиц (о.е.), что превышало критический уровень ОП примерно в три раза (так называемые низкопозитивные пробы).

После проведения подтверждающих исследований было получено 545 HBsAg-положительных результатов (1,21% из исследованных проб), из них девять были низкопозитивными.

На рис. 1 представлено относительное количество проб, положительные результаты исследования которых получены с помощью раз-

личных вариантов исследования. А именно: при исследовании 536 высокопозитивных проб (ОП в скрининге более 0,35 оптических единиц, о.е., КП более 3):

- 1) выдано после единственного подтверждающего исследования 285 результатов — 52,29% от положительных проб;
- 2) выдано с использованием нового способа интерпретации (в том числе с разведением) 115 результатов — 21,10% от положительных проб (ОП более 2,0);
- 3) выдано после разведения в 100 и более раз 136 положительных результатов, что составило 24,95% от всех положительных проб.

Итого при проведении подтверждающих исследований без разведения и с разведением пробы, в том числе с использованием нового способа измерения ОП и результата, получено 98,34% положительных результатов подтверждающих исследований.

После первичного скрининга 17 проб были низкопозитивными (2,89% от условно положительных проб); из 17 выдано положительными 9 проб — 1,65% от положительных проб или 0,02% от всех обследованных проб.

В табл. 1 и 2 представлены результаты исследования низкопозитивных проб в ИФТС при чувствительности определения 0,05 МЕ/мл. В табл. 1 представлены некоторые результаты исследования проб, окончательно определенных как HBsAg-позитивные (всего таких проб было 9

**Таблица 1**

**Окончательно позитивные результаты исследования проб, низкопозитивных на наличие HBsAg в первичном скрининге (9 из 17 проб). Первое и второе подтверждение наличия HBsAg проведено в тест-системе «Вектоген В-HBs-антиген-подтверждающий тест»**

№ в лаборатории	ФИО	Пол	Год рождения	Скрининг, ОП*	Первое подтверждение			Второе подтверждение			Результат: HBsAg
					Прямой ИФА, ОП*	Конкурентный ИФА	Процент подавления	Прямой ИФА	Конкурентный ИФА	Процент подавления	
328	МДВ**	Ж	1983	0,340	0,10	0,068	53,3	0,098	0,10	93,6	Обнаружен
3572	БНЮ	Ж	1959	0,291	0,25	0,060	90,5	0,390	0,06	94,3	Обнаружен
3076	ККМ	Ж	1964	0,057	0,26	0,075	84,1	0,227	0,07	84,0	Обнаружен

Примечания: \* — оптическая плотность пробы; \*\* — беременная женщина.

**Таблица 2**

**Окончательно негативные результаты исследования проб сыворотки крови, низкопозитивных на наличие HBsAg в первичном скрининге. Первое и второе подтверждение наличия HBsAg проведено в тест-системе «Вектоген В-HBs-антиген-подтверждающий тест»**

№ в лаборатории	ФИО	Пол	Год рождения	Скрининг, ОП*	Первое подтверждение			Второе подтверждение			Разведение 1:10			Результат: HBsAg
					Прямой ИФА	Конкурентный ИФА	Процент подавления	Прямой ИФА	Конкурентный ИФА	Процент подавления	Прямой ИФА	Конкурентный ИФА	Процент подавления	
2577	ПМФ	Ж	1983	0,26	0,28	0,260	8,3	0,17	0,17	0,0				Не обнаружен
3724	КЕС*	Ж	1991	0,49	1,10	1,000	9,4	1,10	0,94	15,1	0,24	0,25	5	Не обнаружен
1808	ЗАТ	Ж	1943	0,18	0,27	0,260	4,3	0,30	0,30	0,0	0,10	0,10	0	Не обнаружен
444	СТН**	Ж	1991	0,24	0,29	0,260	12,0	0,29	0,27	8,0	0,40	0,40	0	Не обнаружен
102	ИМХ***	Ж	2017	0,16	0,26	0,230	13,6	-	-	-	0,10	0,10	0	Не обнаружен
3775	ГРИ	Ж	1931	0,45	0,10	0,088	20,0	0,10	0,09	16,7	-	-	-	Не обнаружен
182	КНМ	Ж	1934	0,60	1,50	1,200	20,5	0,00	0,00	0,0	-	-	-	Не обнаружен
2988	ФТН	Ж	1927	0,18	0,27	0,230	17,4	0,23	0,20	15,8	0,00	0,00	0	Не обнаружен

Примечания: \* — беременная женщина; \*\* — пациент, обследованный по клиническим показаниям; \*\*\* — новорожденный ребенок; — процедура не проводилась.

**Таблица 3**

**Результаты исследования проб сыворотки крови, низкопозитивных на наличие HBsAg в первичном скрининге. Первое подтверждение проведено в тест-системе «Вектоген В-HBs-антиген-подтверждающий тест», второе — в тест-системе «ДС-ИФА-HBsAg-0,01»**

№ исследования	ФИО	Пол	Г.Р.	Скрининг, ОП	Первое подтверждение			Второе подтверждение			Результат: HBsAg
					Прямой тест	Конкурентный тест	% подавления	Прямой тест	Конкурентный тест	% подавления	
6191	ИСН	М	1977	2,15	0,28	0,06	106%***	0,706	0,0117	99,0	Обнаружен
277	КМА	М	2004	0,221	0,37	0,37	0%	< ОПкр.	< ОПкр.	0,0	Не обнаружен
6208	СТВ	Ж	1978	0,227	0,34	0,29	18,7%	0,320	0,290	9,4	Не обнаружен
6245	ТАН	Ж	1962	1,080	0,18	0,08	100%	0,166	0,012	96,0	Обнаружен
3538	КОО*	Ж	1962	0,703	0,10	0,06	100%	0,260	0,090	66,0	Обнаружен
3409	СРИ**	М	1997	0,250	0,16	0,09	81%	0,460	0,010	99,0	Обнаружен
4335	ФДВ	Ж	1989	0,322	0,50	0,60	0%	0,170	0,140	17,0	Не обнаружен

Примечания: \* — исследование по клиническим показаниям; \*\* — наличие вирусного гепатита С; \*\*\* — процент подавления при ОП отрицательного контроля менее ОП в конкурентном ИФА (см. текст).

из 17), в том числе проба, полученная от беременной женщины (№ 328). В табл. 2 представлено значение ОП проб, окончательно определенных как HBsAg-негативные, поскольку снижение ОП в пробе с нейтрализующими антителами на 20% по сравнению с пробой с контрольными антителами оценивается как отсутствие нейтрализации. Среди окончательно HBsAg-негативных были пробы сыворотки беременной женщины (№ 3724) и новорожденного ребенка (№ 102).

На следующем этапе были сопоставлены результаты исследования проб, низкопозитивных на первом этапе исследования (в первичном скрининге), в подтверждающих ТС нескольких производителей с разной чувствительностью определения HBsAg (табл. 3). Использование более чувствительных ТС позволило решить следующие задачи:

- подтвердить наличие HBsAg в низкой концентрации (пробы № 1 и 4), что особенно важно при невыполнении критериев позитивности в случае менее чувствительного теста (пробы № 5 и 6);
- достоверно установить наличие ложной (неспецифической) реакции (пробы № 2 и 3), даже в случае относительно высокой оптической плотности пробы в подтверждении (проба № 7).

Необходимость в более чувствительных ТС возникает не только при исследовании проб пациентов, но и при решении контрольных задач ФСВОК. На рис. 2 представлены результаты исследования проб N и P из контрольного цикла ФСВОК 2–2015. Результаты исследования данных проб в ТС с чувствительностью 0,05 нг/мл были отрицательными, в ТС с чувствительностью 0,01 нг/мл — HBsAg-положительными (ответ ФСВОК — пробы положительные).

### Обсуждение и выводы

Представленные выше результаты получены при постоянном проведении контроля качества исследования HBsAg. Тем не менее с определением окончательного результата исследова-

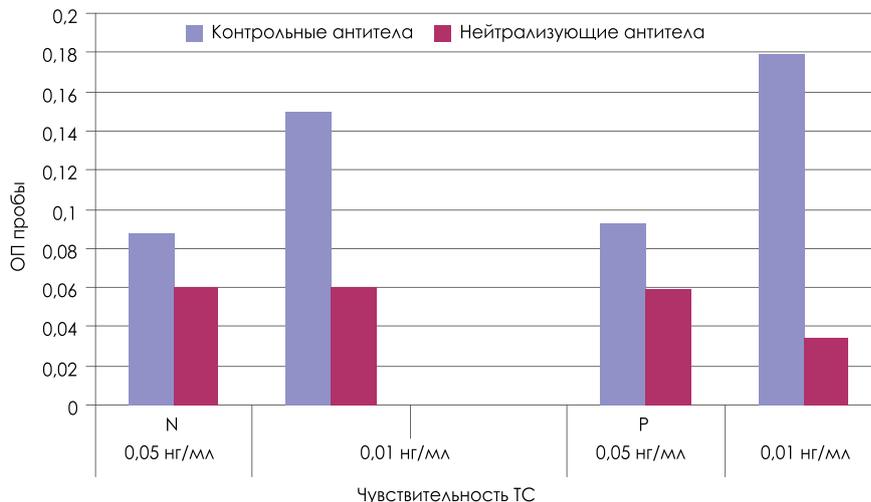


Рисунок 2. Результаты исследования в тест-системах с разной чувствительностью контрольных образцов N и P Федеральной системы внешней оценки качества исследований.

ования ряда образцов возникают объективные проблемы. Во-первых, ошибка, обусловленная методом ИФА, весьма велика, ее игнорирование может привести к неправильной трактовке результата в сыворотках с пограничными значениями аналита. При оценке результатов участия 360 лабораторий России в программе внешней оценки качества исследований HBsAg КВ сходимости результатов определения ОП материала внутрилабораторного контроля HBsAg производства АО «Вектор-Бест» составлял до 11,3%, при среднем 5,6%; КВ воспроизводимости был менее 14,2%, при среднем 7,1% [4]. В нашей работе КВ сходимости результатов определения не превышал 5%, КВ воспроизводимости не превышал 14,5%, что соответствует удовлетворительному качеству работы в соответствии со справочными данными [5].

Во-вторых, при исследовании ряда проб, как правило низкопозитивных, постоянно наблюдаются результаты, при которых велик риск сообщения ложнопозитивного либо ложнонегативного ответа.

Причиной низкой позитивности может быть действительно низкий уровень HBsAg либо ложнопозитивная реакция сыворотки. Причинами истинной низкой позитивности проб на наличие HBsAg могут быть: а) начало заболевания; б) остаточное количество HBsAg в процессе нейтрализации антителами после

выздоровления; в) интегративная форма заболевания (вирус встроен в геном клетки хозяина); г) наличие заболеваний, подавляющих репликацию ВГВ (например, гепатита С как в № 6 табл. 3 и др.) [6]. Решением проблемы исследования проб, низкопозитивных в скрининге, согласно нашим результатам, является использование ТС с большей чувствительностью. По приказу № 322 [2] наличие HBsAg следует определять при чувствительности тест-систем не менее 0,1 нг/мл, но если использовать более чувствительные ТС (или разные варианты использования одних и тех же ТС, обеспечивающих чувствительность не менее 0,01 нг/мл), исходная оптическая плотность проб будет выше, а снижение до уровня критической ОП будет значимым. Подобные дополнительные исследования требуются для исследования всего 0,02% проб пациентов.

Полученные результаты легли в основу алгоритма исследования наличия HBsAg в скрининговой лаборатории (рис. 2). Выявление ГВ по результатам исследования HBsAg невозможно в случае заражения мутантным вирусом, не продуцирующим HBsAg, поэтому при наличии гепатита неясной этиологии необходимо протестировать наличие других маркеров гепатита В, в частности, HBeAg — маркера инфекционности (но известны формы гепатита В без продукции HBeAg) [6]. В последнее десятилетие-

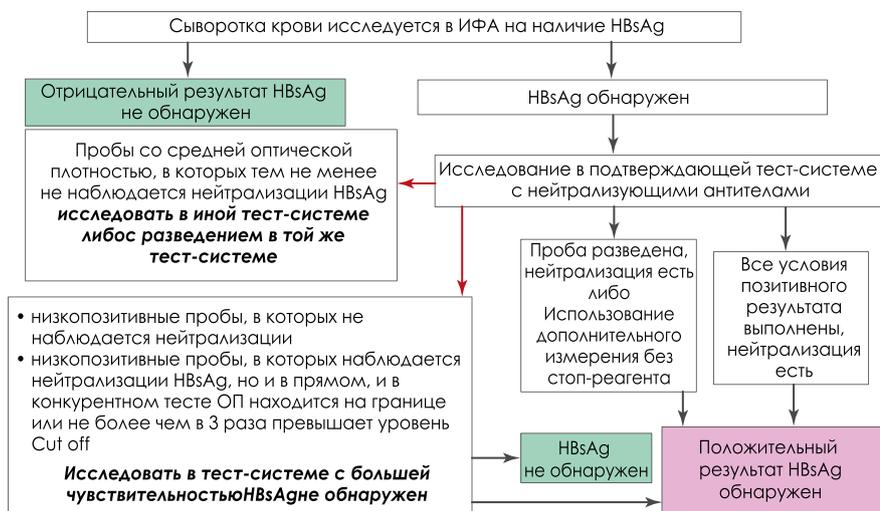


Рисунок 3. Алгоритм скрининга сыворотки крови на наличие HBsAg.

тие эффективным маркером излеченного ГВ (или ГВ при ремиссии) в трансфузиологии в РФ признаны анти-HBscore, наличие которых препятствует донорству крови [7]. «Золотым стандартом» инфицированности вирусом ГВ по-прежнему является выявление ДНК ВГВ, что обуславливает необходимость обеспечения доступности исследования геномного материала вирусов для широкого круга пациентов подобно тому, как в настоящее время в Москве организовано массовое скрининговое исследование пациентов различных ЛПО на наличие HBsAg.

### Выводы

1. Подтверждение наличия HBsAg в высокопозитивных в скрининге пробах эффективно проводить

- с использованием новой модификации измерения результата ИФА без внесения стоп-реагента. Эта модификация позволяет без дополнительных исследований подтвердить наличие HBsAg в 21,1% всех положительных образцов.
2. При исследовании низкопозитивных в скрининге и в первом подтверждающем тесте проб (с КП менее 3), которые составляют 2,89% от количества проб, положительных на первом этапе исследования, необходимо использовать ИФТС с большей чувствительностью.
3. Предложенный алгоритм выявления HBsAg обеспечивает оптимальное соотношение качества и объема (следовательно, и цены) дополнительных исследований.

### Список литературы

1. Zhang W., Wang X., Wang Y., Zhao X., Duan W., Wang Q., Wu X., Kong Y., Ma H., You H., Ou X., Jia J. Effective viral suppression is necessary to reduce hepatocellular carcinoma development in cirrhotic patients with chronic hepatitis B: Results of a 10-year follow up // *Medicine (Baltimore)*. – 2017. – 96 (44): e8454. doi: 10.1097/MD.00000000000008454.
2. Приказ МЗ РФ № 322 от 21.10.2002 г. «О применении в практике здравоохранения иммуноферментных тест-систем для выявления поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (анти-ВГС) в сыворотке крови человека». Ссылка активна на 15.02.2018. <http://base.garant.ru/6963112>.
3. Национальный стандарт Российской Федерации. ГОСТ Р 51352–2013. Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний. Ссылка активна на 15.02.2018. <http://docs.pravo.ru/document/view/60945727/69075563>.
4. Нетесова И. Г., Ярославцева О. А., Цой Л. В., Жуков В. А., Нетесов С. В. Результаты участия 360 лабораторий России в Программе внешней оценки качества исследований HBsAg. // *Клин. Лаб. Диагн.* – 2007. – 3: 47–49. (In Russ.).
5. Медицинские лабораторные технологии. Т. 1. Под ред. Карпищенко А. И. СПб.: Интермедика: 1998.
6. Кюреган К. К., Михайлов М. И. Молекулярно-биологические основы контроля вирусных гепатитов. М.: Изд-во Икар; 2013.
7. Туполева Т. А., Игнатова Е. Н., Гуляева А. А., Овчинникова Е. Н., Тихомиров Д. С., Абакаров Р. Р., Романова Т. Ю., Ярославцева Н. Г., Королева О. М., Гаранжа Т. А., Филатов Ф. П., Гапонова Т. В., Савченко В. Г. Скрининг донорской крови на антитела к ядерному антигену вируса гепатита В как инструмент повышения безопасности трансфузий для больных заболеваниями системы крови. *Клин. лаб. диагн.* 2016. – 61 (5): 311–316. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-311-316.

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

Ежегодная научно-практическая конференция

## Инфекционные заболевания.

## Современные подходы к диагностике и лечению

17 апреля 2018, Москва

Место проведения ФГБУ «Поликлиника №1» УД Президента РФ, Адрес: г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 26/28. Вход с Калошина пер., д. 3, стр. 2. Проезд до ст. метро Арбатская, Смоленская, Кропоткинская.

Начало регистрации и работа выставки с 09.00. Начало научной программы конференции в 10.00.

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

**EEC Medical**  
 Educational Event Coordinator



Точная диагностика -  
эффективное лечение!

# Наборы реагентов для диагностики вирусных гепатитов В и С

методами ИФА и ПЦР в режиме реального времени

## Гепатит В

- » Выявление HBsAg с чувствительностью 0,05 и 0,01 нг/мл
- » Подтверждение наличия HBsAg
- » Количественное определение HBsAg
- » Выявление антител класса G к HBsAg и core-Ag ВГВ
- » Выявление антител класса М и суммарных антител к core-Ag ВГВ
- » Выявление HBe-антигена и антител класса G к нему
- » Выявление и количественное определение ДНК ВГВ

## Гепатит С

- » Выявление и подтверждение наличия суммарных антител к ВГС
- » Одновременное выявление core-Ag и антител к ВГС
- » Выявление антител к индивидуальным белкам ВГС (core, NS3, NS4, NS5)
- » Выявление core-Ag ВГС
- » Выявление антител класса М к ВГС
- » Подтверждение наличия антител к ВГС методом иммуноблоттинга
- » Выявление и количественное определение РНК ВГС
- » Дифференциация генотипов 1/2/3 ВГС

**А также наборы реагентов для выявления вирусных гепатитов А, D, E, G**

### **АО «Вектор-Бест»**

630117, Новосибирск-117, а/я 492  
тел./факс: (383) 227-73-60,  
332-81-34, 332-67-49, 332-67-52  
vbmarket@vector-best.ru  
[www.vector-best.ru](http://www.vector-best.ru)

### **Представительства:**

Москва: (495) 710-76-96  
Санкт-Петербург: (812) 495-55-99  
Ростов-на-Дону: (863) 295-15-61  
Екатеринбург: (343) 372-90-50

Уфа: (347) 246-23-34

Нижний Новгород: (831) 270-48-53

Хабаровск: (4212) 335-946

Киев: (10 380 44) 220-04-04



Д. В. Зитта



Н. А. Терехина



В. М. Субботин

## Прогностическое значение определения содержания железа и меди в плазме крови больных колоректальным раком

**Д. В. Зитта**, к.м.н., доцент кафедры факультетской хирургии № 1 с курсом урологии  
**Н. А. Терехина**, д.м.н., проф., зав. кафедрой биохимии  
**В. М. Субботин**, д.м.н., проф., зав. кафедрой факультетской хирургии № 1 с курсом урологии

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь

### *Prognostic value of plasma iron and copper levels in patients with colorectal cancer*

D. V. Zitta, N. A. Teryokhina, V. M. Subbotin  
Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner, Perm, Russia

#### Резюме

**Цель работы:** оценить влияние программы оптимизации периоперационного ведения больных колоректальным раком на содержание железа и меди в плазме крови в послеоперационном периоде. 46 пациентам с колоректальным раком выполнялись радикальные оперативные вмешательства. В лечении 26 из них была использована программа оптимизации периоперационного ведения, остальные 20 получали традиционную периоперационную терапию. После операции наблюдалось снижение содержания железа в плазме крови больных колоректальным раком. Отмечено достоверное повышение содержания меди в плазме крови больных с метастазами колоректального рака в печень. Применение программы оптимизации периоперационного ведения больных колоректальным раком предотвращало снижение содержания железа в плазме крови в послеоперационном периоде. Определение содержания меди в плазме крови может быть использовано для диагностики метастазов колоректального рака в печень.

**Ключевые слова:** колоректальный рак, программа оптимизации периоперационного ведения, железо, медь.

#### Summary

**The aim of this study was to evaluate the plasma levels of iron and copper in patients with colorectal cancer in early postoperative period and estimate the influence of perioperative optimization protocol on these microelements. Overall 46 patients with colorectal cancer were operated. 26 of them were managed with application of the protocol of perioperative care optimization. Plasma iron level decreased postoperatively in patients with colorectal cancer. Plasma level of copper didn't change significantly in patients with uncomplicated colorectal cancer. Plasma copper level increase in patients with liver metastasis. Perioperative care optimization protocol contributed to normalization of plasma iron level. The evaluation of plasma copper level may be applied for the detection of liver metastasis.**

**Key words:** colorectal cancer, protocol of optimization of perioperative care, iron, copper.

Злокачественные новообразования толстой кишки относятся к разряду наиболее распространенных опухолей [4, 9]. Операции по поводу колоректального рака обычно сложны и связаны с высоким риском послеоперационных осложнений [3, 4, 8, 9]. Операционный стресс у этих больных сопровождается характерными нарушениями обмена веществ. Хемилюминесцентный анализ эритроцитов периферической крови больных был использован для прогнозирования несостоятельности колоректального анастомоза [3, 8]. Определение активности АТФ-азы в эритроцитах было предложено для прогнозирова-

ния острых гастродуоденальных язв в раннем послеоперационном периоде [7]. Нарушения обмена меди и железа часто встречаются при заболеваниях гепатобилиарной системы [5, 6, 10]. Определение содержания меди и церулоплазмينا применяется для дифференциальной диагностики первичного рака печени [10].

**Цель настоящей работы** — оценить влияние программы оптимизации периоперационного ведения больных на содержание железа и меди в крови пациентов колоректальным раком в послеоперационном периоде.

### Материалы и методы

Под нашим наблюдением находились 46 больных злокачественными новообразованиями толстой кишки, которым выполнялись радикальные оперативные вмешательства.

В лечении 26 пациентов, составивших основную группу, использовалась программа оптимизации периоперационного ведения больных [1]. Ключевыми элементами этой программы были отказ от традиционной предоперационной подготовки кишечника, сокращение периода голодания перед операцией, использование малоинвазивных хирургических технологий, сокращение объема инфузионной

терапии, ранняя активизация больных и раннее начало энтерального питания в послеоперационном периоде [2]. В лечении 20 пациентов группы сравнения применялась традиционная периоперационная терапия.

Всем больным до операции, в первые и четвертые сутки после операции определяли содержание железа и меди в плазме крови. В качестве контроля использовали кровь 10 здоровых доноров. Для определения содержания меди и железа были использованы наборы реактивов фирмы Erba Lachema. Принцип метода определения содержания меди основан на том, что батокупроин образует с ионами одновалентной меди устойчивый комплекс оранжевого цвета, пригодный для фотометрического определения [11]. Принцип метода определения содержания железа в плазме крови основан на том, что батофенантролин образует с ионами двухвалентного железа окрашенный комплекс, пригодный к фотометрическому определению [11].

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета анализа данных программы Microsoft Office Excel 2016. Определение достоверности различий средних величин осуществлялось с помощью t-теста и парного t-теста Стьюдента. Для сравнения качественных величин в разных группах применены точный критерий Фишера и отношение шансов. Достоверными считались различия при степени вероятности безошибочного прогноза не менее 95% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты и обсуждение

Содержание железа в плазме крови больных колоректальным раком до начала лечения достоверно не отличалось от значения данного показателя у здоровых доноров ( $p > 0,05$ ) (рис. 1). После операции у пациентов основной группы не происходило существенного изменения содержания железа в плазме крови. В то же время у больных группы сравнения наблюдалось статистически значимое снижение данного показателя в первые и четвертые сутки после операции ( $p < 0,05$ ). Таким образом, применение программы оптимизации периоперационного ведения больных

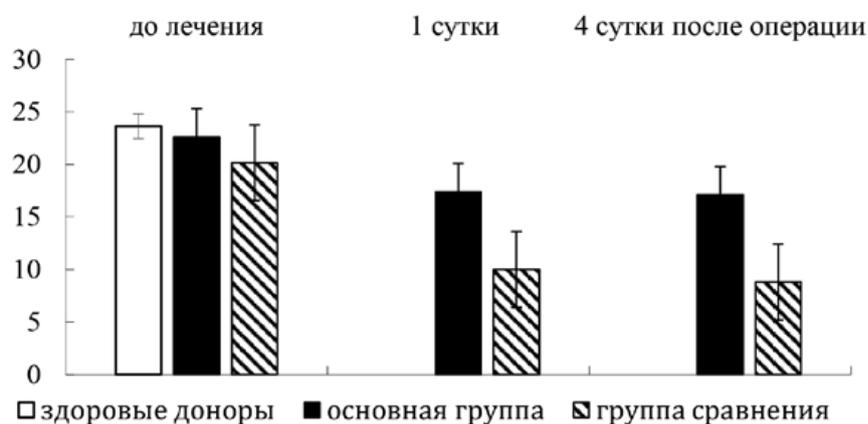


Рисунок 1. Содержание железа в плазме крови больных колоректальным раком (мкмоль/л).

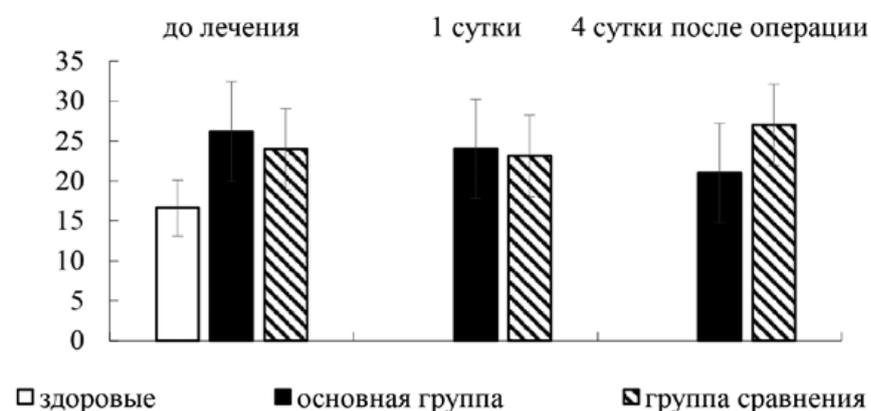


Рисунок 2. Содержание меди в плазме крови больных колоректальным раком в раннем послеоперационном периоде (мкмоль/л).

предотвращало снижение содержания железа в плазме крови больных в послеоперационном периоде.

Содержание меди в плазме крови больных колоректальным раком до начала лечения статистически значимо не отличалось от здоровых лиц,  $p > 0,05$  (рис. 2). В первые сутки послеоперационного периода у пациентов обеих групп содержание меди в плазме крови существенно не менялось. К четвертым суткам после операции содержание меди в плазме крови больных основной группы изменялось незначительно. В то же время у больных группы сравнения происходило достоверное повышение содержания меди по сравнению со здоровыми людьми (рис. 2).

Все пациенты ретроспективно были разделены на две группы. Первую группу составили больные, у которых во время операции были обнаружены метастазы колоректального рака в печени. Пациенты без метастатического поражения печени

вошли во вторую группу. Всего среди 46 больных, принявших участие в исследовании, в шести случаях обнаружены метастазы колоректального рака в печени. У этих пациентов было обнаружено достоверное повышение содержания меди в плазме крови — среднее значение  $40,8 \pm 3,8$  мкмоль/л, (минимальное значение  $36,38$  мкмоль/л). Содержание меди в плазме крови больных без метастазов в печени было существенно ниже —  $23,95 \pm 4,42$  мкмоль/л. Для изучения зависимости частоты выявления метастазов печени от содержания меди в плазме крови был рассчитан точный критерий Фишера для групп пациентов с содержанием меди в плазме крови  $30-35$  мкмоль/л и больше  $35$  мкмоль/л по сравнению с группой больных, имеющих содержание меди до  $30$  мкмоль/л. Достоверной разницы в частоте выявления метастазов между группами больных с содержанием меди в плазме крови до  $30$  мкмоль/л и  $30-35$  мкмоль/л

не было обнаружено. В группе больных с содержанием меди свыше 35 мкмоль/л метастазы в печени выявлялись достоверно чаще, чем у больных с содержанием меди до 30 мкмоль/л ( $p < 0,001$ ).

Рассчитано отношение шансов (OR) обнаружения метастазов в печени у больных колоректальным раком с содержанием меди в плазме крови выше 35 мкмоль/л по сравнению с пациентами с более низким содержанием меди. OR для этой группы больных составило 114, границы 95-процентного доверительного интервала выше 1. Таким образом, вероятность обнаружения метастазов в печени у больных колоректальным раком с содержанием меди в плазме крови более 35 мкмоль/л существенно больше, чем у больных с меньшим содержанием меди.

#### Выводы

Применение программы оптимизации периоперационного ведения больных колоректальным раком предотвращало снижение содержания

железа в плазме крови пациентов в послеоперационном периоде. Определение содержания меди в плазме крови может быть использовано для диагностики метастазов колоректального рака в печень.

#### Список литературы

1. Зитта Д. В., Субботин В. М., Терехина Н. А. Влияние механической предоперационной подготовки кишечника на течение раннего послеоперационного периода // Колопроктология.— 2010.— № 3.— С. 14–19.
2. Зитта Д. В., Терехина Н. А., Субботин В. М. Клинико-биохимическая оценка эффективности программы оптимизации периоперационного ведения больных в плановой колоректальной хирургии // Колопроктология.— 2015.— Т. 52, № 2.— С. 18–24.
3. Зитта Д. В., Терехина Н. А., Субботин В. М. Прогнозирование несостоятельности колоректального анастомоза // Пермский медицинский журнал.— 2017.— Т. 34., № 2.— С. 31–36.
4. Основы колопроктологии / под редакцией Г. И. Воробьева.— М.: ООО «Медицинское информационное агентство».— 2006.— С. 64–71.
5. Терехина Н. А., Жидко Е. В., Терехин Г. А. Влияние сорбентов на содержа-

ние в плазме крови меди, железа и транспортирующих их белков при алкогольной интоксикации // Казанский медицинский журнал. 2015.— Т. 96, № 5.— С. 868–871.

6. Терехина Н. А., Жидко Е. В., Терехин Г. А., Горячева О. Г. Диагностическое значение определения содержания меди при заболеваниях гепатобилиарной системы // Здоровье, демография, экология финно-угорских народов.— 2017.— № 3.— С. 44–46.
7. Терехина Н. А., Зитта Д. В., Субботин В. М. Активность аденозинтрифосфатазы эритроцитов периферической крови больных колоректальным раком // Клиническая лабораторная диагностика.— 2005.— № 5.— С. 23–24.
8. Терехина Н. А., Зитта Д. В., Субботин В. М. Возможности хемилюминесцентного анализа крови в прогнозировании осложнений раннего послеоперационного периода у больных колоректальным раком // Колопроктология.— 2015.— Т. 51, № 1.— С. 86.
9. Яицкий Н. А., Седов В. М., Васильев С. В. Опухоли толстой кишки. М.: МЕДпресс-информ.— 2004.— С. 111–112.
10. Fukuda H., Ebara M., Hatano R. Relationship between copper, zinc and metallothionein in hepatocellular carcinoma and its surrounding liver parenchyma // J. Hepatol. 2000.— V. 33, № 3.— P. 415–22.
11. Landers J., Zak B. Determination of serum copper and iron in a single small sample // Am. J. Clin. Pathol.— 1958.— V. 29, № 6.— P. 590–592.



## XVI Научно-практическая конференция

### ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ В СТАЦИОНАРАХ РАЗЛИЧНОГО ПРОФИЛЯ, РИСКИ, ПРОФИЛАКТИКА, ЛЕЧЕНИЕ ОСЛОЖНЕНИЙ

Тематическая выставочная экспозиция

**4–5 апреля 2018 года**

Здание Правительства Москвы ул. Новый Арбат, д. 36

**Организатор:** Информационно-выставочное агентство «ИнфоМедФарм Диалог»

**Время проведения:** 4-5 апреля 2018г. с 9.00 до 18.00.

**Адрес проведения:** здание Правительства Москвы, г. Москва, ул. Новый Арбат, 36.

**Вход на мероприятие свободный, по пригласительным билетам.**

**Материалы конференции, пакет участника предоставляется при регистрации.**

**По окончании конференции выдается свидетельство участника.**

**Организована on-line трансляция конференции.**

Информационно-выставочное агентство «ИнфоМедФарм Диалог»

127055, Москва, ул. Суцеевская, д. 25, корп. 1

Т/ф: 8 (495) 797-62-92, 8 (499) 750-07-27 (многоканальные)

E-mail: info@imfd.ru, www.imfd.ru





- **Широкий ассортимент реагентов и оборудования для биохимических исследований**
- **Доступная цена и высокое качество**
- **Круглосуточная поддержка пользователей**



# Оптимизация проточно-цитометрических протоколов детекции минимальной остаточной болезни при острых лимфобластных лейкозах

О. А. Безнос, научный сотрудник лаборатории иммунологии гемопоэза  
Л. Ю. Гривцова, к.м.н., д.б.н., с.н.с. лаборатории иммунологии гемопоэза  
Н. Н. Тупицын, д.м.н., проф., зав. лабораторией иммунологии гемопоэза

НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России, г. Москва

## Optimization of flow-cytometry protocols for detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia

O. A. Beznos, L. Yu. Gritsova, N. N. Tupitsyn

National Medical Research Centre of Oncology n.a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

### Резюме

Важнейший критерий эффективности лечения при острых лимфобластных лейкозах — минимальная остаточная болезнь (МОБ) — количество опухолевых бластов, определяемое в костном мозге больного на различных этапах терапии. Основным методом оценки количества клеток МОБ при острых лейкозах является многоцветная проточная цитометрия (ПЦ), позволяющая охарактеризовать до 8–11 параметров одновременно. Принципиальным моментом является то, что оценка МОБ при ОЛЛ осуществляется непосредственно в процессе проведения химиотерапии, и костный мозг часто гипоклеточный и характеризуется выраженным количеством дебриса — разрушенных клеток, появляющихся под влиянием системной терапии. Такое разбавление может привести к искажению результатов оценки МОБ и, как следствие, неверной риск-стратификации больных. Поэтому для исключения из анализа разрушенных клеток и артефактов (дебриса), появляющихся под действием системной терапии, необходимо использовать нуклеотропные красители семейства Syto, что позволяет оценивать количество клеток МОБ в пределах живых ядродержащих клеток образца.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, минимальная остаточная болезнь, проточная цитометрия, SYTO 16.

### Summary

The most important criterion of the effectiveness of treatment in acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the minimal residual disease (MRD) — the number of tumor blasts detected in the bone marrow of a patient at various stages of therapy. The main method for estimating the number of MRD cells in acute leukemia is multicolor flow cytometry, which allows to characterize up to 8–11 parameters simultaneously. The principal point is that the evaluation of the MRD in ALL is carried out directly during the chemotherapy and the bone marrow is often hypocellular and is characterized by a pronounced amount of debris destroyed cells that appear under the influence of systemic therapy. Such a dilution may lead to a distortion of the results of the evaluation of the MRD and, as a consequence, an incorrect risk of stratification of patients. Therefore, to exclude from analysis of destroyed cells and artefacts (debris), which appear under the action of systemic therapy, it is necessary to use nucleotrophic dyes of the Syto family, which allows estimating the number of MRD cells within the living nucleated cells of the sample.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, minimal residual disease, flow cytometry.

### Введение

Контроль эффективности полихимиотерапии является неотъемлемой частью современных лечебных протоколов [13, 15]. В случае острых лейкозов таким критерием является количество опухолевых бластов, определяемое в костном мозге (КМ) больного на различных этапах терапии — минимальная остаточная болезнь (МОБ).

Для взрослых пациентов вопросы о наиболее значимых точках иммунологической детекции, а также роли уровней МОБ, обсуждаются [8]. Наиболее полно показано значение МОБ в педиатрической практике. Установлено значение МОБ как в прогнозе острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), так и как предиктора развития рецидива [11]. Определены

ключевые точки оценки МОБ и их клиническое значение, а также уровни МОБ, позволяющие проводить углубленную риск-стратификацию больных [6, 7].

Ключевое значение в прогнозе больного играет 15-й день химиотерапии индукции ремиссии. МОБ на данном этапе отражает первичный ответ на проводимое лечение [10]. При этом именно с учетом данных МОБ возможно определение группы хорошего ответа (МОБ < 0,01%), которым с учетом клинических факторов прогноза можно снизить дозы антрациклинов с целью уменьшения частоты развития осложнений и улучшения качества жизни без риска развития рецидива [16, 17].

Важной особенностью мониторинга МОБ является необходимость

учитывать влияние проводимой полихимиотерапии на костный мозг больного. Именно в середине индукционной химиотерапии ее влияние наиболее велико. На данном этапе костный мозг характеризуется гипоклеточностью, а также большим количеством дебриса — разрушенных клеток, появляющихся под влиянием системной терапии. Такое разбавление может привести к искажению результатов оценки МОБ и, как следствие, неверной риск-стратификации больных.

Для решения данной проблемы, а также с целью упрощения пересчета количества клеток МОБ в проточно-цитометрическую панель детекции МОБ предложено включать нуклеотропные красители семейства Syto. Образуя четыре подсемейства, красители это

Таблица 1  
Количество исследований в каждой точке мониторинга МОБ

Иммуноподвариант ОЛЛ		Точки мониторинга МОБ								
		15-й день			33-й день			78-й день		
		3	4-6	8	3	4-6	8	3	4-6	8
В-ОЛЛ	Всего исследований	139			148			54		
	Количество	59	68	12	51	79	18	3	38	13
	Частота (%)	42,4	49,0	8,6	34,4	53,4	12,2	5,6	70,4	24,0
Т-ОЛЛ	Всего исследований	30			26			-		
	Количество	9	19	2	6	18	2	-	-	-
	Частота (%)	30,0	63,3	6,7	23,1	69,2	7,7	-	-	-

группы характеризуются широким диапазоном видимых спектров возбуждения и излучения [14, 18]. Пассивно диффундируя сквозь цитоплазматическую мембрану эукариотических клеток, Syto селективно связывается с ДНК или РНК [12, 18], что позволяет проводить дальнейший анализ в пределах именно живых ядродержащих клеток (ЯСК) образца.

Нуклеотропные красители находят свое применение в различных областях клинической онкогематологии. Так, при трансплантации мобилизованных стволовых клеточных элементов (СКК) или пуповинной крови оценка количества CD 34-клеток проводится в пределах Syto<sup>+</sup>-клеток образца, что позволяет избежать искусственного занижения или занижения пропорции СКК и, как следствие, сократить число необходимых цитаферезов у каждого конкретного больного [4].

В случае с оценкой МОБ, Syto 16 входит в диагностическую панель протокола ALL IC BFM 2009 как для В-линейных, так и для Т-линейных ОЛЛ, применимого на всех этапах полихимиотерапии. Однако упрощенный протокол госпиталя St. Jude для оценки МОБ на 15-й день индукционной химиотерапии предусматривает оценку клеток МОБ в пределах мононуклеарной фракции костного мозга без учета жизнеспособности [9]. В лаборатории иммунологии гемопоэза НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина Минздрава России отработаны протоколы мониторинга МОБ на всех этапах терапии [1, 4, 5], включая оценку МОБ в условиях таргетной противорецидивной терапии [2].

#### Материалы и методы

В исследование включены 155 больных ОЛЛ из В-линейных пред-

шественников (в возрасте от 1 года до 18 лет; 48,7% мальчиков и 51,3% девочек), а также 31 больной ОЛЛ из Т-линейных предшественников (в возрасте от 2 до 17 лет; 83,9% мальчиков и 16,1% девочек). Все больные проходили диагностику и лечение на базе НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина Минздрава России. Диагноз устанавливался по совокупности морфоцитохимического (лаборатория гематоцитологии к. м. н. И. Н. Серебрякова) и иммунофенотипического (лаборатория иммунологии гемопоэза, заведующий д. м. н., проф. Н. Н. Тупицын) исследований пунктата костного мозга.

С учетом лечебных протоколов, применявшихся в отделении химиотерапии гемобластозов НИИ ДООГ НМИЦ онкологии, согласно международным рекомендациям мониторинг МОБ осуществлялся на 15-й, 33-й и 78-й дни химиотерапии.

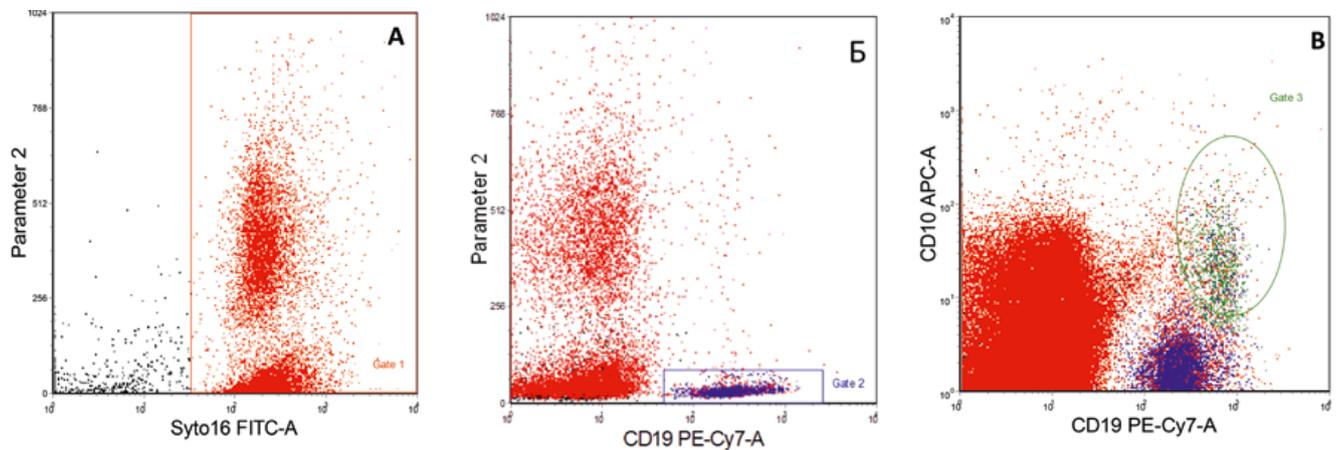


Рисунок 1. 15-й день индукционной химиотерапии. Пример отсутствия дребриса в образце костного мозга.

На цитограмме А представлена оценка количества ЯСК на основании экспрессии нуклеотропного красителя Syto 16 (ось X) против параметров бокового светорассеяния (gate 1, красный цвет). ЯСК в образце — 91,65%. Выявление количества В-клеток на основании экспрессии CD19 (ось X) против параметров бокового светорассеяния (цитограмма Б, gate 2, синий цвет). CD19<sup>+</sup>-В-клеток в образце — 11,95% с учетом ЯСК. Без учета ЯСК — 11,05%. CD10-позитивных В-ЛП в образце — 0,83% с учетом ЯСК и 0,77% без учета ЯСК — МОБ-позитивный статус.

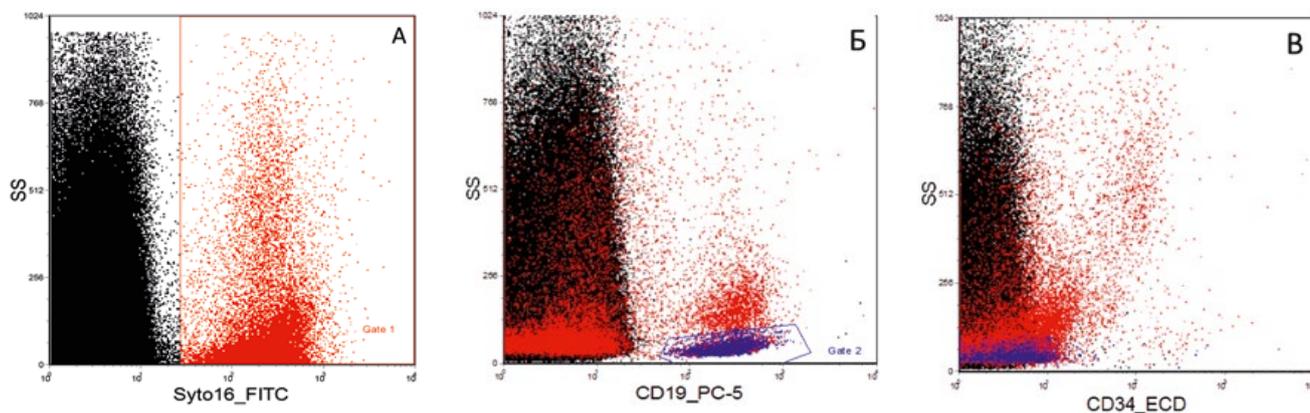


Рисунок 2. 15-й день индукционной химиотерапии. Пример значительного содержания дегриса в образце.

На цитограмме А показано выявление ЯСК на основании экспрессии нуклеотропного красителя Syto 16 против параметров бокового светорассеяния. В образце 3,65% ЯСК (gate 1, красный цвет). Оценку количества В-клеток (gate 2, синий цвет) в образце демонстрирует цитограмма Б — CD19 (ось X) против параметров бокового светорассеяния. Количество В-клеток в образце без учета ЯСК составляет 0,57%, при пересчете на ЯСК CD19<sup>+</sup>-клетки составляют 15,6%. Количество CD34<sup>+</sup>-В-АП составляет 0,0021% без учета ЯСК — МОБ-негативный статус. При пересчете с учетом Syto 16 CD34-позитивные В-АП составляют 0,06% — МОБ-позитивность.

Количество клеток МОБ проанализировано в 397 образцах костного мозга. Каждый пунктат при диагностике МОБ был охарактеризован морфологически и иммунологически. Подсчет миелограммы проводился двумя морфологами (по 250 клеток) на мазках костного мозга, окрашенных по методу Романовского-Гимзе. Согласно стандартным морфологическим критериям по количеству бластных клеток выделялись М-варианты: М1 — образцы, в которых содержание бластных клеток не превышало 5,0%, М2 — образцы с количеством бластов от 5,0 до 25,0% и образцы группы М3 содержали 25,0% и более бластных клеток.

Данные о иммунологической оценке количества клеток МОБ представлены в табл. 1.

Анализ проточно-цитометрических файлов проводился с использованием программного обеспечения FCS Express v. 3. Обработка статистических данных — при помощи статистического пакета IBM-SPSS Statistics 17.

### Результаты и обсуждение

#### Оценка МОБ на 15-й день терапии индукции ремиссии при В-ОЛЛ

На 15-й день терапии количество ЯСК было оценено в 80 образцах костного мозга на основании экспрессии Syto (16 или 41). Среднее количество ЯСК в образцах составило  $78,9 \pm 2,8\%$ ,  $n = 80$  и варьировало от 1,22 до 99,79%. Количество миелокариоцитов было достоверно прямо пропорционально числу

Syto<sup>+</sup>-клеток образцов ( $R = 0,276$ ;  $p = 0,014$ ;  $n = 80$ ).

В большинстве случаев (86,25%) образцы характеризовались выраженной пропорцией ЯСК (50,0% и более) (среднее содержание Syto-позитивных клеток в данной выборке составило  $87,6 \pm 1,4\%$ ;  $n = 69$ ; разброс от 55,6 до 99,79%). Рис. 1.

В 13,7% образцов (11 из 80) количество ЯСК составило менее 50% (в среднем  $24,0 \pm 5,2\%$ ). Менее 20% ЯСК содержалось в четырех пунктатах костного мозга (среднее  $5,1 \pm 1,8\%$ ). Рис. 2.

Оценка МОБ на 15-й день терапии индукции ремиссии при Т-ОЛЛ.

На 15-й день терапии количество ЯСК было оценено в 20 образцах костного мозга на основании экспрессии

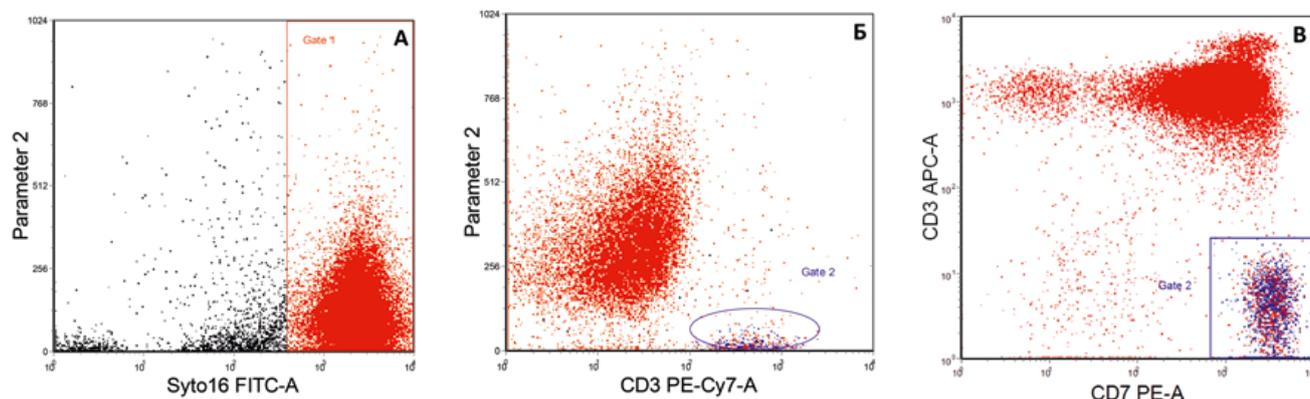


Рисунок 3. Пример использования Syto16 в оценке МОБ при Т-ОЛЛ.

На цитограмме А ЯСК образца (гейт 1, красный цвет) выделены на основании положительной реакции с нуклеотропным красителем Syto16 (ось X) против параметров бокового светорассеяния и оставили 94,2%. В пределах ЯСК на цитограмме Б выделены суCD3-позитивные Т-клетки (гейт 2, синий цвет) с низкими параметрами бокового светорассеяния (суCD3, ось X против SSC, ось Y). В гейте 2 на цитограмме В (CD7, ось X против smCD3, ось Y) выявлены Т-АП (клетки МОБ) с иммунофенотипом суCD3<sup>+</sup>CD7<sup>+</sup>smCD3<sup>-</sup> в количестве 2,69% от миелокариоцитов — МОБ-позитивный статус.

Syto (16 или 41). Среднее количество ЯСК в образцах составило  $81,6 \pm 3,9\%$ ,  $n = 20$  и варьировало от 44,9 до 98,4%.

Большинство образцов (95,0%) характеризовались выраженной пропорцией ЯСК (50,0% и более) (среднее содержание Syto-позитивных клеток в данной выборке составило  $83,6 \pm 3,6\%$ ;  $n = 19$ ; разброс от 50,3 до 98,4%). Только один пунктат костного мозга на 15-й день терапии сохранил менее 50,0% ЯСК — 44,9%.

### Заключение

Таким образом, необходимо и обязательно введение в панель детекции МОБ нуклеотропных красителей семейства Syto. Это позволяет четко выделить ЯСК образца, упрощает подсчет количества клеток МОБ и дает возможность исключить из анализа дебрис. Разбавление образца дебрисом может привести к занижению количества клеток МОБ и, как следствие, неверной риск-стратификации больных.

### Список литературы

1. Безнос О. А. Определение минимальной остаточной болезни при В-линейных острых лимфобластных лейкозах с использованием подходов EuroFlow. / О. А. Безнос, Л. Ю. Гривцова, А. В. Попа и соавт. // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2017. — № 2. — С. 158–168.
2. Безнос О. А. Подходы к оценке минимальной остаточной болезни при В-линейных острых лимфобластных лейкозах в условиях таргетной терапии. / О. А. Безнос, Л. Ю. Гривцова, А. В. Попа и соавт. // Российский биотерапевтический журнал. — 2017. — № 4. — С. 18–24.
3. Гривцова Л. Ю. Оценка минимальной резидуальной болезни при острых лимфобластных лейкозах из В-линейных предшественников у детей методом трехцветной проточной цитометрии. / Л. Ю. Гривцова, А. В. Попа, Н. А. Купрышина и соавт. // Иммунология гемопозеза. — 2008. — Т. 2. — С. 8–33.
4. Гривцова Л. Ю. Модифицированный метод оценки количества клеток-предшественников в кровяной ткани. / Л. Ю. Гривцова, Н. Н. Тупицын // Медицинский алфавит. 2016. — Т. 3. — № 30. — С. 50–53.
5. Гривцова Л. Ю. К дальнейшей стандартизации определения остаточных бластных клеток в костном мозге детей с В-линейными острыми лимфобластными лейкозами на 15-й день индукционной терапии. / Л. Ю. Гривцова, А. В. Попа, И. Н. Серебрякова и соавт. // Иммунология гемопозеза. — 2011. — № 1. — С. 35–54.
6. Basso G. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukaemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. / G. Basso, M. Veltroni, M. G. Valsecchi, et al. // J Clin Oncol. — 2009. — Vol. 27. — N. 31. — P. 5168–5174.
7. Borowitz M. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's oncology group study / M. J. Borowitz, M. Devidas, S. P. Hunger et al. // Blood. — 2008. — Vol. 111. — N. 12. — P. 5477–5485.
8. Campana D. Role of minimal residual disease monitoring in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia. / D. Campana // Hematol Oncol Clin North Am. — 2009. — Vol. 23. — N. 5. — P. 1083–1098.
9. Coustan-Smith E. A simplified flow cytometry assay identifies children with acute lymphoblastic leukemia who have a superior clinical outcome. / E. Coustan-Smith, R. C. Ribeiro, P. Stow // Blood. — 2006. — Vol. 108. — N. 1. — P. 97–102.
10. Coustan-Smith E. Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia. / E. Coustan-Smith, J. Sancho, F. G. Behm et al. // Blood. — 2002. — Vol. 100 — N. 1. — P. 52–58.
11. Eckert C. Minimal residual disease after induction is the strongest predictor of prognosis in intermediate risk relapsed acute lymphoblastic leukaemia — Long-term results of trial ALL-REZ BFM P95/96 / C. Eckert, A. Stackelberg, T. KarlSeeger et al. // European Journal of Cancer. — 2013. — Vol. 49. — P. 1346–1355.
12. Frey T. Nucleic acid dyes for detection of apoptosis in live cells. / Frey T. // Cytometry. — 1995. — Vol. 21. — N. 3. — P. 265–274.
13. Fronkova E. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 Protocol for childhood ALL: is it possible to avoid MRD testing? / E. Fronkova, E. Mejstrikova, S. Avigad, et al. // Leukemia. — 2008. — Vol. 22. — N. 5. — P. 989–997.
14. Haughland RP. The Handbook: A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, 10th ed. Carlsbad, CA: Invitrogen-Molecular Probes. — 2005.
15. Ratei R. Monitoring treatment response of childhood precursors B-cell acute lymphoblastic leukemia in the AIEOP-BFM-ALL 2000 protocol with multiparameter flow cytometry: predictive impact of early blast reduction on the remission status after induction / R. Ratei, G. Basso, M. Dworzak et al. // Leukemia. — 2009. — Vol. 23. — N. 3 — P. 528–534.
16. Schrappe M. Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. / M. Schrappe, A. Reiter, W.-D. Ludwig // Blood. — 2000. — Vol. 95. — N. 11. — P. 3310–3320.
17. Steinherz P. G. Cytoreduction and prognosis in acute lymphoblastic leukemia the importance of early marrow response: report from the Childrens Cancer Group / Steinherz PG, Gaynon PS, Breneman JC et al. // Journal of Clinical Oncology. — 1996. — Vol. 14. — N.2. — P. 389–398.
18. Wlodkowic D. SYTO probes in the cytometry of tumor cell death. / D. Wlodkowic, J. Skommer, Z. Darynkiewicz // Cytometry A. — 2008. — Vol. 73. — N. 6. — P. 496–507.

Главное медицинское управление Управления делами Президента Российской Федерации;

ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации.

Ежегодная научно-практическая конференция

## Сахарный диабет 2 типа в практике врача терапевта и эндокринолога

2 апреля 2018, Москва

Место проведения

ФГБУ «Поликлиника №1» УДП РФ, Большой конференц-зал (вход через проходную с Калюшина пер., д.3, стр.2). Проезд до ст. метро Смоленская, Арбатская, Кропоткинская.

Начало регистрации и работа выставки с 09.00. Начало научной программы конференции в 10.00.

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

**ECC Medical**  
Educational Event Coordinator

# Клинический случай: волосатоклеточный лейкоз

Т. А. Алексеева, врач КДЛ

СПбГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер», г. Санкт-Петербург

## Clinical case: hairy cell leukemia

T. A. Alekseeva

City Clinical Oncology Centre, Saint Petersburg, Russia

### Резюме

Статья посвящена описанию клинического случая пациента с волосатоклеточным лейкозом. Показана важность правильной интерпретации клинического анализа крови, поскольку данный анализ является отправной точкой в постановке такого серьезного диагноза, как лимфопролиферативное заболевание.

Ключевые слова: клинический анализ крови, лейкоцитоз, лимфоциты, анемия, микроскопия, миелограмма, иммунофенотипирование.

### Summary

The article describes the clinical case of a patient with hairy cell leukemia. The importance of correct interpretation of clinical blood analysis is shown, as this analysis is a starting point in the formulation of such a serious diagnosis as lymphoproliferative disease.

Key words: the clinical blood test, leucocytosis, lymphocytes, anemia, microscopy, myelogram, immunophenotyping.

**Волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ)** — это редкое, медленно развивающееся заболевание. Оно составляет 2% от всех лимфоидных лейкозов. Встречается в возрасте от 26 до 75 лет, в четыре раза чаще у мужчин, чем у женщин [1].

Основной механизм развития волосатоклеточного лейкоза — это нарушение процесса деления и дифференцировки в костном мозге. Его субстратом являются лимфоидные клетки В клеточного происхождения с характерной морфологией: крупные размеры, округлое ядро и тонкие выросты — «волоски» цитоплазмы, от которых

произошло название заболевания. Лейкозные клетки накапливаются в костном мозге и вытесняют из него нормальные клетки-предшественники таких элементов крови, как тромбоциты, эритроциты, лейкоциты. В связи с чем у пациентов с волосатоклеточным лейкозом выявляются характерные для этой болезни синдромы:

- геморрагический синдром. Заключается в появлении частых и порой беспричинных кровотечений;
- анемический синдром. Проявляется снижением уровня эритроцитов в крови и внешними признаками — бледностью и желтушностью кожи, ломкостью волос, утомляемостью, похолоданием конечностей;
- иммунодефицитный синдром — частое повторение инфекционных и респираторных заболеваний.
- Естественное течение ВКЛ варьирует от доброкачественного с медленным нарастанием проявлений заболевания в течении многих лет до быстрого прогрессирования с появлением симптоматической цитопении и (или) спленомегалии.

### Клинический случай: волосатоклеточный лейкоз

Пациент Ф. 03.05.43 (полных лет: 74), поступил в ГКОД 5.12.2017.

**Диагноз:** рак гортани T<sub>4</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub> IV ст. Сопутствующий диагноз: ИБС (ишемическая болезнь сердца). Атеросклеротический кардиосклероз. ХСН (хроническая сердечная недостаточность). Гипертоническая болезнь I ст. АГ (артериальная гипертензия) II ст. риск ССО 2 (сердечно-сосудистые осложнения). Хронический бронхит, нестойкая ремиссия для обследования и хирургического лечения.

Жалобы при поступлении на осиплость голоса, одышку в покое. В клиническом анализе крови выявлены лейкоцитоз, абсолютный лимфоцитоз, анемия, тромбоцитопения.

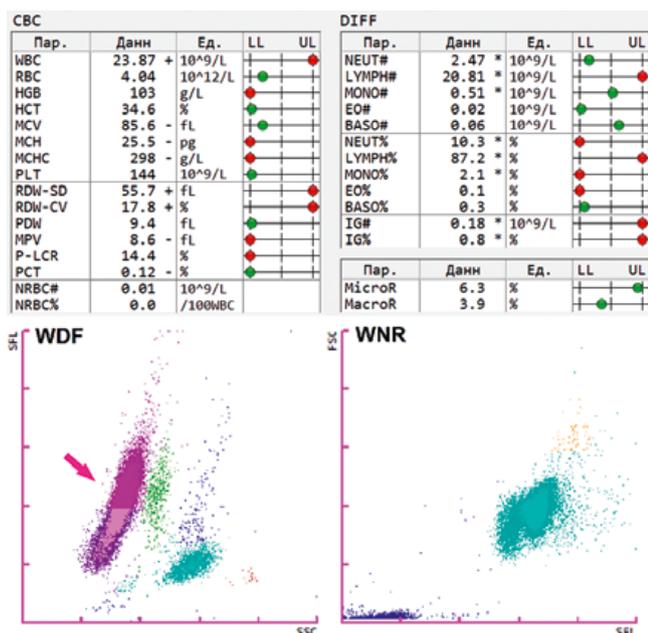


Рисунок 1. Данные и скатерограммы с анализатора XN-1000 (от 05.12.2017).

## Обследования

КАК (клинический анализ крови) от 05.12.2017 на анализаторе SYSMEX XN-1000.

Отмечается повышенное количество лейкоцитов до  $23,87 \times 10^9/L$  с преобладающей фракцией лимфоцитов до 87% ( $20,81 \times 10^9/L$ ). Гемоглобин снижен до 103 г/л.

На диаграмме рассеивания WDF популяция лимфоцитов имеет удлинненный вид, что указывает на наличие аномальных лимфоцитов.

Флаги, полученные с прибора XN-1000, также указывали на наличие аномальных лимфоцитов: Blasts/AbnLympho? Atypical Lympho?

Визуальный дифференциальный подсчет:

- миелоциты — 1 %;
- метамиелоциты — 0 %;
- нейтрофилы палочкоядерные — 2 %;
- нейтрофилы сегментоядерный — 8 %;
- эозинофилы — 0;
- базофилы — 0;
- моноциты — 1 %;
- лимфоциты — 88 % (из них 70 % волосатых клеток).

При микроскопическом исследовании мазка крови (окраска по Романовскому) обнаруживаются многочисленные лимфоциты с округлыми ядрами и широкой базофильной цитоплазмой с ворсинчатыми отростками.

## Коагулологические исследования

- ПТ (протромбиновое время) 14,1 с (10,4–12,6).
- ПТ (протромбиновое время) по Квику 74,9 N (70,0–13,0).
- МНО (Международное нормализованное отношение) 1,15 N (0,85–1,15).

## Биохимические исследования

- ТР (общий белок) 60,36 г/л (65,00–83,00).
- Креатинин 155 мкмоль/л (72–120).
- Глюкоза 4,99 ммоль/л N (3,9–5,9).
- Билирубин общий 13,00 мкмоль/л N (5,00–21,00).
- АЛТ (аланинаминотрансфераза) 9,7 Е/л N (0,0–45,0).
- АСТ (аспартатаминотрансфераза) 16,8 Е/л N (0,0–35,0).



Рисунок 3 а. Периферическая кровь больного Ф. «Волосатые клетки». Окраска по Романовскому. Ув. 1000×.

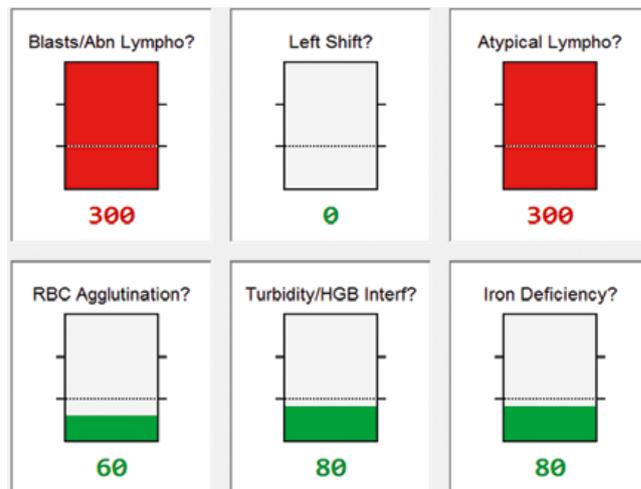


Рисунок 2. Дополнительное флажирование анализатора XN-1000 (от 05.12.2017).

- Железо 6,2 мкмоль/л (11,6–31,3).
- Трансферрин 2,140 г/л N (1,740–3,640).

## Были проведены дополнительные исследования

### • Миелограмма от 07.12.2017

*Заключение:* морфологическая картина костного мозга свидетельствует о лейкемизации неходжкинской лимфомы.

*Комментарий:* морфологические особенности лимфоидной популяции могут указывать на поражение костного мозга волосатоклеточным лейкозом или лимфомой маргинальной зоны селезенки с отростчатыми лимфоцитами.

### • Иммунофенотипирование лимфоидной популяции костного мозга методом проточной цитофлуориметрии от 08.12.2017

*Заключение:* суммарный иммунофенотип аберрантной популяции В-лимфоцитов соответствует В-клеточной неходжкинской лимфоме.

*Комментарий:* иммунофенотипически и морфологически опухолевая популяция соответствует диагнозу

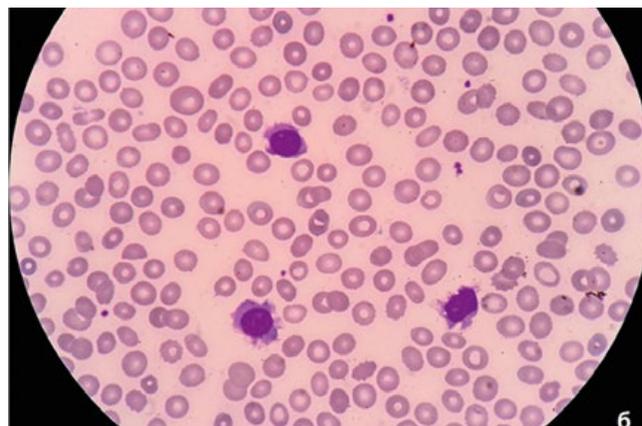


Рисунок 3 б. Периферическая кровь больного Ф. «Волосатые клетки». Окраска по Романовскому. Ув. 1000×.

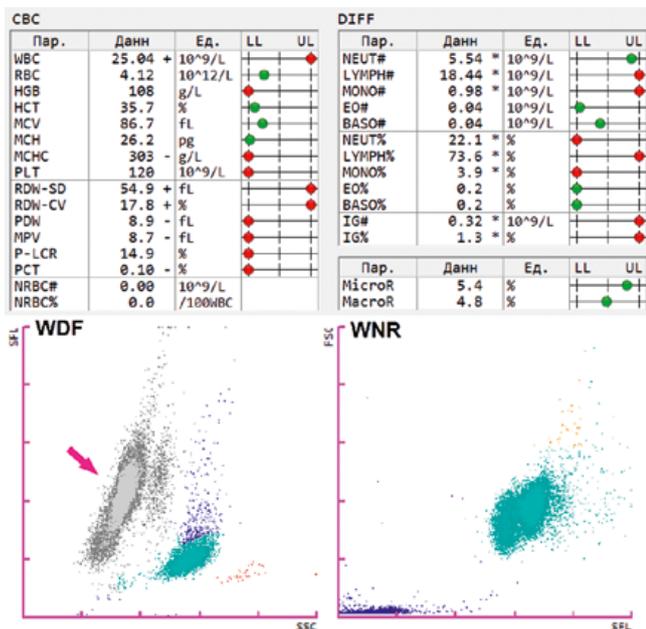


Рисунок 4. Данные и скатерограммы с анализатора XN-1000 (от 12.12.2017).



Рисунок 5. Дополнительное флагирование анализатора XN-1000 (от 12.12.2017).

«волосатоклеточный лейкоз». Особенностью случая является отсутствие экспрессии CD 200, CD 25, CD 11c.

### Консультация гематолога от 08.12.2017

По результатам исследований клинического анализа крови на гематологическом анализаторе Sysmex XN-1000, а также миелограммы и иммунофенотипирования лимфоцитов подтвержден диагноз «волосатоклеточный лейкоз». Рекомендовано продолжить специализированное лечение по поводу заболевания гортани. Показаний к дообследованию и лечению в специализированном гематологическом отделении до реализации лечебной программы в отношении преобладающего по значимости конкурирующего заболевания гортани нет. Наличие выявленного заболевания в текущей форме и наблюдаемых изменений состава крови не является ограничением

к выполнению любых диагностических исследований, инвазивных манипуляций, выбору методов лечения, в том числе хирургического по поводу иных имеющихся заболеваний.

11.12.2017 проведена операция по основному диагнозу — расширенная экстирпация гортани с экстирпацией щитовидной железы.

### КАК от 12.12.2017 на анализаторе SYSMEX XN-1000

Отмечается повышенное количество лейкоцитов до  $25,04 \times 10^9/L$  с преобладающей фракцией лимфоцитов до 73,6% ( $18,44 \times 10^9/L$ ). Гемоглобин снижен до 108 г/л. На диаграмме рассеивания WDF нет четкой дифференциации клеток.

### Микроскопия образца крови с подсчетом лейкоцитарной формулы от 12.12.2017

- Миелоциты — 1%.
- Метамиелоциты — 0%.
- Нейтрофилы палочкоядерные — 1%.
- Нейтрофилы сегментоядерный — 19%.
- Эозинофилы — 0
- Базофилы — 0.
- Моноциты — 2%.
- Лимфоциты — 76% (из них 63% волосатых клеток).

После выписки из стационара пациенту рекомендованы консультация и наблюдение у онкогематолога.

### Выводы

Статья посвящена лабораторным нюансам диагностики лимфопролиферативных заболеваний.

Одним из базовых исследований в стационаре является клинический анализ крови, который является отправной точкой в постановке такого серьезного диагноза, как ВКЛ. Благодаря гематологическому анализатору SYSMEX XN-серии, в котором используется технология флуоресцентной проточной цитометрии, можно быть уверенным в правильности и точности выдаваемого им дифференциального подсчета лейкоцитов. Врач КДЛ, исходя из полученных данных анализатора, проводит микроскопическое исследование.

На примере описанного случая показана важность базовых исследований, умение правильно их интерпретировать для правильности назначения дополнительных исследований и в конечном итоге для постановки правильного диагноза.

### Список литературы

1. Луговская С. А., Почтарь М. Е. Гематологический атлас. — 2011. С. 186.



# XN-9000

Интеллектуальное управление рабочим процессом.

- Максимальная аналитическая пропускная способность (до 900 образцов в час).
- Минимальный аспирируемый объем образца – 88 мкл.
- Консолидация последовательности всех анализов для одного пациента в одной пробирке.

- Для автоматизированного анализа клеток в режиме нон-стоп – от количественного подсчета до морфологической идентификации.
- Надежный высококачественный анализ.
- Возможность сортировки пробирок с ЭДТА для управления образцами – регистрация загружаемых образцов, управление заданным профилем анализа (гематологические параметры, гликированный гемоглобин, СОЭ, ПЦР, и др.), возможность архивации пробирок в автоматическом режиме.



Л. Б. Дрыгина



О. А. Саблин

## Экспрессия рецепторов стероидных гормонов и витамина D при снижении минеральной плотности костной ткани, вызванной кислотозависимыми заболеваниями желудка

Л. Б. Дрыгина, д.б.н., проф.  
И. В. Трофимова, к.м.н., доцент  
В. Н. Эллиниди, к.м.н., доцент  
О. А. Саблин, д.м.н., проф.

ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова» МЧС России, г. Санкт-Петербург

### Expression of receptors of steroid hormones and vitamin D in reducing mineral density of bone tissue caused by acid diseases of stomach

L. B. Drygina, I. V. Trofimova, V. N. Ellinidi, O. A. Sablin

All-Russian Centre for Emergency and Radiation Medicine n.a. A. M. Nikiforov, Saint Petersburg, Russia

#### Резюме

Актуальность. В настоящее время доказана взаимосвязь состояния верхнего отдела желудочно-кишечного тракта с изменением минеральной плотности костной ткани. Известно, что гормональная регуляция играет ключевую роль на фоне осложненной гастродуоденальной патологии. Свое действие на органы-мишени гормоны опосредуют с помощью специфических рецепторов, однако уровень экспрессии рецепторов стероидных гормонов и витамина D при кислотозависимых заболеваниях желудка и при сопутствующем нарушении обмена в костной ткани остается недостаточно исследованным. Цель. Изучить содержание рецепторов стероидных гормонов и витамина D в слизистой двенадцатиперстной кишки у пациентов разных возрастных групп с кислотозависимыми заболеваниями желудка и изменением минеральной плотности костной ткани. Методология. Обследованы две группы мужчин с кислотозависимыми заболеваниями в возрасте от 23 до 54 лет (средний возраст 30 лет) и в возрасте от 55 до 80 лет (средний возраст 59 лет). Всем пациентам проведено гистологическое исследование слизистой двенадцатиперстной кишки, иммуногистохимическое исследование рецепторов ER- $\alpha$ , ER- $\beta$ , PR, AR, DR и глюкокортикоидов, уровня гормонов и витамина D в крови, исследование минеральной плотности костной ткани (МПК). Результаты и их анализ. У пациентов со сниженной МПК и патологией органов ЖКТ (патология выявлена более 20 лет назад) в гастробиоптатах двенадцатиперстной кишки преимущественно обнаружены рецепторы витамина D (74%), рецепторы AR и ER $\beta$ . У пациентов молодого возраста с остеопеническим синдромом (ОПС) и заболеваниями органов ЖКТ в слизистой двенадцатиперстной кишки, наоборот, выявлена высокая экспрессия PR и рецепторов глюкокортикоидов, что позволяет рассматривать двенадцатиперстную кишку как орган-мишень для действия данных гормонов. Высокая экспрессия рецепторов глюкокортикоидов в изученных биоптатах подтверждает их активную роль в реализации присущих им биологических эффектов. Наличие рецепторов прогестерона в бокаловидных клетках и повышение их экспрессии у спасателей со сниженной МПК свидетельствует о безусловном участии прогестерона в патогенезе формирования ОПС. Не исключено, что PR осуществляют защитную функцию. Заключение. Особенности экспрессии рецепторов гормонов при сочетанной патологии органов ЖКТ и снижении МПК, механизмы всех этих процессов требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: рецепторы стероидных гормонов, кислотозависимые заболевания желудка, остеопенический синдром.

#### Summary

Relevance. Currently, the proven relationship with the state of the upper gastrointestinal tract with changes in the mineral density of bone tissue. It is known that hormonal regulation plays a key role in the background of complicated gastroduodenal pathology. Its action on target organs hormones mediate through specific receptors, however the level of expression of receptors of steroid hormones and vitamin D in acid-related diseases of the stomach and with concomitant metabolic bone remains not enough investigated. The goal is to study the content of steroid hormone receptors and vitamin D in the duodenal mucosa in patients of different age groups with acid-related diseases of the stomach and changes in the mineral density of bone tissue. Methodology the study included two groups of men with acid-related diseases in age from 23 to 54 years (mean age 30 years) and aged 55 to 80 years (mean age 59 years). All patients underwent histological examination of mucosal 12 duodenal ulcer, immunohistochemical study of the receptors ER- $\alpha$ , ER- $\beta$ , PR, AR, DR and glucocorticoids, hormones and vitamin D in the blood, the study of mineral bone density (BMD). The results and their analysis. In patients with reduced BMD and pathology of the organ's gastrointestinal tract (pathology was detected more than 20 years ago), vitamin D receptors (74%), AR and ER $\beta$ -receptors, were predominantly found in gastro-biopsy specimens of the duodenum. In young patients with osteopenic syndrome (OPS) and gastrointestinal tract diseases in the duodenal mucosa, on the contrary, high expression of PR and glucocorticoid receptors is revealed, which allows treating the duodenum as the target organ for the action of these hormones. High expression of glucocorticoid receptors in the studied biopsies confirms their active role in the realization of their inherent biological effects. Presence of progesterone receptors in goblet cells and an increase in their expression in rescuers with a reduced BMD indicates the unconditional participation of progesterone in the pathogenesis of OPS formation. It is possible that PR perform a protective function. Conclusion. Especially the expression of hormone receptors in combined pathology of the digestive tract and reducing the IPC mechanisms of all these processes require further study.

Key words: steroid hormone receptors, acid-related diseases of the stomach, osteopenic syndrome.

#### Введение

При кислотозависимых заболеваниях, отягощенных патологией костной ткани, актуально изучение экспрессии рецепторов стероид-

ных гормонов и витамина D (DR) [8]. Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) является самой большой диффузной эндокринной системой

в организме, гормональные клетки ЖКТ вырабатывают большое количество гормонов и взаимодействуют с эндокринной системой [2]. Гор-

мональная регуляция играет ключевую роль на фоне осложненной гастродуоденальной патологии. Эпидемиологические и экспериментальные исследования указывают на важную роль стероидных гормонов в патогенезе заболеваний ЖКТ. Свое действие на органы-мишени гормоны опосредуют с помощью специфических рецепторов, таких как рецепторы андрогенов (AR), эстрогенов типа альфа (ER- $\alpha$ ) и бета (ER- $\beta$ ), прогестерона (PR), глюкокортикоидов. В эксперименте показано, что рецепторы стероидных гормонов удается обнаружить во всех отделах ЖКТ млекопитающих, но их экспрессия различна [3, 5, 7]. В литературе имеются единичные публикации по выявлению рецепторов стероидных гормонов при кислотозависимых заболеваниях у людей, установлено, что уровень их экспрессии зависит от тяжести заболевания [4, 6]. В то же время уровень экспрессии рецепторов стероидных гормонов и DR при кислотозависимых заболеваниях желудка и при сопутствующем нарушении обмена в костной ткани остается не изученным.

**Цель работы:** изучить содержание рецепторов стероидных гормонов и витамина D в слизистой двенадцатиперстной кишки у пациентов разных возрастных групп с кислотозависимыми заболеваниями желудка и изменением минеральной плотности костной ткани.

#### Материалы и методы

Нами были обследованы две группы пациентов с кислотозависимыми заболеваниями. Первую группу составили мужчины в возрасте от 23 до 54 лет (30 [27; 32]) — 30 сотрудников регионального отряда спасателей г. Вытегра. Вторую — в возрасте от 55 до 80 лет (59 [55; 71]) — 74 ликвидатора последствий аварии на ЧАЭС. Все обследованные проходили плановое лечение на базе клинического отдела терапии и профпатологии клиники № 1 Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС РФ

Таблица 1  
Результаты положительного иммуногистохимического исследования биоптатов двенадцатиперстной кишки

Показатель	Количество положительных случаев, абс. (%)
Рецепторы эстрогенов- $\alpha$	0
Рецепторы эстрогенов- $\beta$	28 (37,9)
Рецепторы андрогенов	39 (52,7)
Рецепторы витамина D	74 (100)

по поводу заболеваний верхнего отдела ЖКТ: хронический гастрит, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, язвенная болезнь.

Гистологическое исследование слизистой двенадцатиперстной кишки было выполнено всем 104 пациентам. Иммуногистохимическое исследование рецепторов ER- $\alpha$ , ER- $\beta$ , PR, AR, DR и глюкокортикоидов выполняли на парафиновых срезах полимерным EnVision-методом с использованием полимерной системы визуализации (Dako Cytomation, Дания) и следующих антител: моноклональных антител к рецепторам эстрогенов альфа (clone 1D5, RTU; Dako Cytomation, Дания); моноклональных антител к рецепторам прогестерона (clone PgR 636, RTU; Dako Cytomation, Дания); моноклональных антител к рецепторам андрогенов (clone AR 441; Dako Cytomation, Дания) в рабочем разведении 1:50; поликлональных кроличьих антител к рецепторам эстрогенов бета (RTU; Thermo Scientific, США); моноклональных антител к рецепторам витамина D (VDR (D-6), 200  $\mu$ g/ml; Santa Cruz, США) в разведении 1:50; моноклональных антител к глюкокортикоидным рецепторам (clone 4H2; Leica Microsystems, Великобритания) в разведении 1:10. Демаскировку антигена проводили в трис-ЭДТА буфере pH 9,0 (Dako Cytomation, Дания). Реакцию проявляли диаминобензидином (DAB kit; Dako Cytomation, Дания). Положительный результат реакции оценивали в виде коричневого окрашивания ядер клеток для глюкокортикоидных рецепторов и стероидных гормонов (эстрогенов, прогестерона, андрогенов), и по выявлению цитоплазматического и ядерного окрашивания для рецепторов витамина D. Подсчет

проводили при использовании микроскопа Leica DM200 полуколичественным способом, при котором подсчитывали в биоптате процент положительно окрашенных клеток (0–100%) и учитывали степень интенсивности окрашивания (0 — нет окрашивания, отрицательный результат; 1 — слаболожительный; 2 — умеренное и 3 — интенсивное окрашивание).

Проводили исследование уровней гормонов: эстрадиола, тестостерона, кортизола, прогестерона, тиреотропного гормона, стероидсвязывающего глобулина (хемилюминесцентный анализатор Immulite 2000; Siemens, Германия) и витамина D (DRG, Германия). Кровь для исследования брали утром натощак на второй день госпитализации.

Исследование минеральной плотности костной ткани (МПК) пациентов проводилось на остеоденситометре DPX-L (Lunar, США) в отделе лучевой терапии ВЦЭРМ.

Статистический анализ полученных результатов производили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. В таблицах представлены медианы значений и межквартильные размахи — Me [q25; q75]. При сравнении показателей использовали статистику Манна-Уитни.

#### Результаты и их обсуждение

Результаты гистологического исследования показали, что у обследованной группы ликвидаторов в 95% случаев выявлялся хронический дуоденит. Очаговая гиперплазия бруннеровых желез была диагностирована у 13 пациентов (17,6%) и у двух человек (2,7%) — аденома из бруннеровых желез (табл. 1).

При иммуногистохимическом исследовании в слизистой двенадцати-

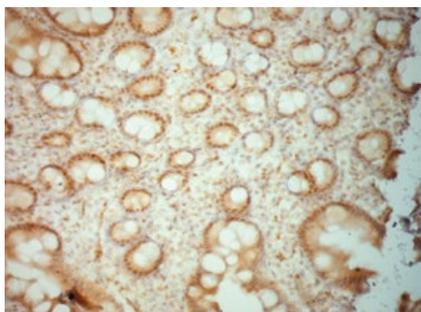


Рисунок 1. Рецепторы эстрогенов-β в слизистой двенадцатиперстной кишки.

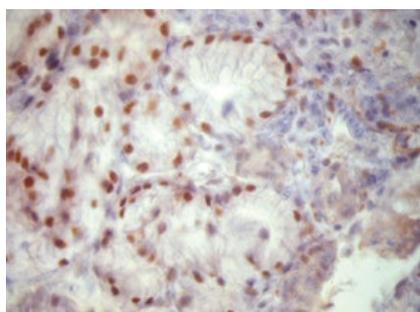


Рисунок 2. Рецепторы эстрогенов-β в очаге гиперплазированных бруннеровых желез.

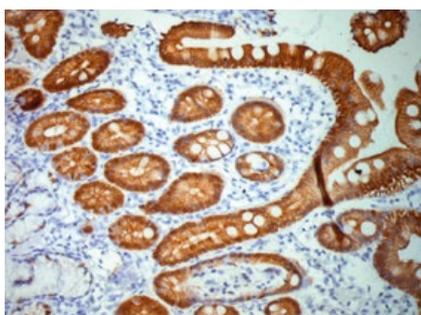


Рисунок 3. Рецептор витамина D в слизистой двенадцатиперстной кишки.

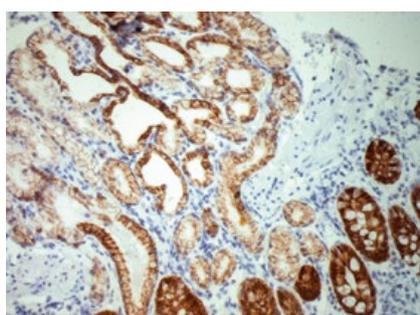


Рисунок 4. Рецепторы витамина D в очагах бруннеровых желез.

перстной кишки преобладали рецепторы эстрогенов-бета (ER-β), тогда как рецепторы эстрогенов-альфа (ER-α) не были обнаружены ни в одном случае. Аналогичные данные были получены в экспериментальном исследовании [9].

Среди 74 обследованных ликвидаторов с длительно протекающей (более 20 лет) патологией органов ЖКТ у 15 пациентов преимущественно с очагами гиперплазированных бруннеровых желез была обнаружена повышенная экспрессия ER-β в ядрах эпителиоцитов бруннеровых желез и прилежащих единичных донных отделах желез и стромы (рис. 1 и 2).

Следует отметить, что во всех случаях рецепторы ER-β содержались в очагах гиперплазированной мышечной ткани, окружающей очаги гиперплазированных бруннеровых

желез, и в единичных миоэпителиоцитах стромы. У 13 пациентов отмечалась слабая очаговая экспрессия ER-β в единичных железах донных отделов и окружающей строме. Преобладание экспрессии ER-β над ER-α, по мнению [6], может влиять на эффекты эстрогенов, уменьшая воспалительный процесс. Кроме того, ER-β играет фундаментальную роль в росте, организации и поддержании нормальной эпителиальной структуры двенадцатиперстной кишки [6]. В последние десятилетия внимание исследователей всего мира в основном было приковано к рецепторам эстрогенов первого типа ER-α. И лишь в последние годы стали уделять пристальное внимание второму типу рецепторов эстрогенов ER-β, которые участвуют в передаче сигналов стероидных гормонов в клетку. К настоящему моменту ER-β обна-

ружены в органах, в которых ER-α были обнаружены в минимальных количествах или не выявлены вообще. Показано, что такие органы, как легкие, почки, толстый и тонкий кишечник, мочевой пузырь, находятся под влиянием эстрогенов, и в них выявлены ER-β.

Рецепторы андрогенов были обнаружены у 39 (52,7%) ликвидаторов с различной экспрессией в железах и строме: у 20 пациентов отмечалась слабая экспрессия в единичных эпителиоцитах слизистой и клетках стромы и у 19 человек — умеренно и выраженная с тенденцией повышенной экспрессии в очагах бруннеровых желез.

DR выявлялись во всех случаях в слизистой и обнаруживались в цитоплазме поверхностных и донных желез, и в 30% случаев определялась их ядерная локализация (рис. 3).

При этом в очагах гиперплазированных бруннеровых желез DR не определялись (рис. 4).

При проведении корреляционного анализа Спирмена выявлена обратная зависимость экспрессии AR в слизистой двенадцатиперстной кишки от уровня эстрадиола в сыворотке крови и прямая корреляция от локального содержания ER (суммарно альфа и бета) в слизистой двенадцатиперстной кишки (табл. 2).

Для сравнения полученных результатов были выделены две подгруппы ликвидаторов: первая — пациенты с наличием рецепторов андрогенов в слизистой двенадцатиперстной кишки и вторая — пациенты без содержания в слизистой двенадцатиперстной кишки рецепторов андрогенов. Эти подгруппы достоверно отличались как по гормональному коэффициенту эстрадиол общий / свободный тестостерон в сыворотке крови (тест Манна-Уитни  $U = 107$ ;  $p = 0,004$ ), так и по уровню экспрессии рецепторов эстрогенов в слизистой двенадцатиперстной кишки (тест Манна-Уитни  $U = 162$ ;  $p = 0,06$ ).

При разделении пациентов на группы в зависимости от показателей МПК было показано, что ликвидаторы с остеопеическим синдромом (ОПС) — остеопенией или остеопорозом достоверно отличались по уровню

**Таблица 2**  
Взаимосвязь концентрации эстрадиола в сыворотке крови и экспрессии рецепторов эстрогенов и андрогенов

	Рецепторы андрогенов в железах	Рецепторы андрогенов в строме
Эстрадиол	$r = -0,31$ ; $p = 0,03$	$r = -0,32$ ; $p = 0,02$
Рецепторы эстрогенов в железах	$r = 0,30$ ; $p = 0,03$	$r = 0,31$ ; $p = 0,03$

Таблица 3  
Экспрессия глюкокортикоидных и прогестероновых рецепторов  
в слизистой двенадцатиперстной кишки у спасателей со сниженной МПК

МПК	Рецепторы прогестерона в бокаловидных клетках (%)	Глюкокортикоидные рецепторы в эпителиальных клетках (%)	Глюкокортикоидные рецепторы в строме (%)
Проксимальный отдел бедра (n = 2)	50 [40; 60] *	80 [72,5; 90]	87,5 [75; 95]
Дистальный отдел лучевой кости (n = 3)	50 [50; 50] *	75 [70; 80]	85 [80; 90]
Позвоночник (n = 12)	50 [50; 50] *	82,5 [70; 94]	89,5 [80; 90]
Группа со сниженной МПК в двух отделах (n = 5)	30 [30; 50] *	94 [90; 95]	90 [80; 90]

Примечание. Значения критерия Р для U-теста Манна-Уитни. \* —  $P < 0,05$ .

рецепторов андрогенов в слизистой (тест Манна-Уитни  $U = 64$ ;  $p = 0,04$ ), также при ОПС и без него были выявлены изменения по уровню тестостерона общего и эстрадиола (Аnova-тест,  $p = 0,01$ ;  $p = 0,04$ ).

При обследовании пациентов (средний возраст пациентов 59 лет) с кислотозависимыми заболеваниями желудка, у которых заболевание выявлено давно (более 20 лет), нами было установлено, что эстрогены и андрогены играют важную роль в костном метаболизме. Прямой эффект андрогенов на кость обусловлен наличием AR. Эстрогены и андрогены оказывают стимулирующее влияние на экспрессию DR на поверхности эпителиальной клетки кишечника, которые обеспечивают биологические эффекты витамина D в метаболизме кальция в костях и его транспорте через слизистую оболочку тонкой кишки.

Таким образом, локальное определение в слизистой тонкой кишки (двенадцатиперстной кишки) рецепторов стероидных гормонов (эстрогенов, андрогенов) и рецепторов витамина D иммуногистохимическим методом позволило установить особенности их локализации в слизистой и определить динамику их изменений в зависимости от состояния как слизистой тонкой кишки, так и гормонального статуса и степени выраженности снижения минеральной плотности костной ткани у лиц старшей возрастной группы — ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, давно болеющих кислотозависимыми заболеваниями.

При определении рецепторов стероидных гормонов в гастробиопта-

тах спасателей (медиана возраста 30 лет), экспрессии рецепторов андрогенов и эстрогенов в слизистой тонкой кишки не выявлено. Вероятно, это связано с тем, что уровень свободного тестостерона, эстрадиола в крови данной группы обследованных остается нормальным. Группа обследованных нами спасателей была преимущественно в возрасте до 40 лет (лишь четверо из них были в возрасте от 46 до 54 лет). По международной классификации ВОЗ эта группа пациентов относится к молодым людям.

В то же время содержание рецепторов глюкокортикоидов и прогестерона в слизистой двенадцатиперстной кишки спасателей было разным в зависимости от изменения значений МПК в различных отделах скелета.

В табл. 3 представлены результаты экспрессии рецепторов прогестерона и глюкокортикоидов в слизистой двенадцатиперстной кишки. Норма не указана, поскольку в доступной литературе нами не обнаружено данных о содержании этой группы рецепторов в слизистой здоровых людей.

Известно, что глюкокортикоиды оказывают наиболее выраженное действие на развитие остеопороза. Глюкокортикоиды замедляют костеобразование вследствие замедления созревания остеобластов, ингибирования стимулирующего действия простагландинов на ростовые факторы и усиления ингибирующего действия паратгормона (ПТГ) на зрелые остеобласты. Уменьшение всасывания в кишечнике кальция и снижение реабсорбции кальция в почках

под влиянием глюкокортикоидов приводит к гипокальциемии, повышению в крови уровня ПТГ, снижению уровня кальцитонина, повышению резорбции кости. Аналогичные изменения происходят в организме пациентов, вынужденных принимать глюкокортикоидные препараты. Известен и повреждающий эффект глюкокортикоидов на слизистую желудка (ульцерогенный эффект). Реализация биологического эффекта гормона возможна лишь при взаимодействии его со специфическим рецептором в органе-мишени. Это взаимодействие приводит к инициации синтеза соответствующих РНК, ДНК, белков, реализующих биологический эффект. Факт наличия рецептора в том или ином органе свидетельствует о возможности реализации биологического эффекта изучаемого гормона в данном органе. Высокая степень экспрессии рецептора в органе еще более подтверждает этот факт.

Полученные нами данные о высокой степени экспрессии (от 40 до 94%) глюкокортикоидных рецепторов в слизистой двенадцатиперстной кишки у спасателей со сниженной МПК (табл. 3) свидетельствуют о важной роли глюкокортикоидов в реализации их биологического эффекта в двенадцатиперстной кишки, хотя так называемые тонкие механизмы их влияния, требуют дальнейшего изучения.

Исследование PR в слизистой двенадцатиперстной кишки представляет особый интерес. Роль прогестерона в мужском организме плохо изучена, хотя он присутствует в крови и у мужчин, и у женщин.

Известно, что это основной гормон беременности. Имеются литературные данные о том, что этот гормон расслабляет мускулатуру кишечника, замедляет продвижение содержимого по кишечнику, способствует вздутию живота, появлению запоров. Эти эффекты связывают с влиянием его на парасимпатическую нервную систему. Важно, что из прогестерона с участием ферментных систем в надпочечниках синтезируется тестостерон [1].

В исследованных образцах слизистой двенадцатиперстной кишки выявлены PR с достоверным уровнем экспрессии в бокаловидных клетках. Бокаловидные клетки — это железистые эпителиальные клетки, которые расположены среди столбчатых эпителиоцитов тонкой кишки. В цитоплазме этих клеток находится комплекс Гольджи и гранулярная эндоплазматическая сеть — центры синтеза углеводно-протеиновых комплексов — муцинов. Количество бокаловидных клеток возрастает от проксимального к дистальному отделам кишечника. Максимальное их количество располагается в тощей кишке. Физиологическая роль этих клеток — выработка муцинов, выполняющих защитную функцию слизистой и способствующих перемещению содержимого по кишечнику.

Экспрессия PR в бокаловидных клетках у спасателей со сниженной МПК во всех отделах скелета повышена по сравнению с контрольной группой (пациенты без изменения МПК) и составляет от 30 до 50%, а в группе контроля — 30%. Не исключено, что PR в двенадцатиперстной кишке выполняют защитную роль, препятствуя ulcerогенному эффекту глюкокортикоидов.

О влиянии прогестерона на всасывание кальция и витамина D в доступной литературе сведений не получено. Но факт снижения уровня этих рецепторов у пациентов со сниженной МПК не исключает участия прогестерона в нарушении минерального обмена и развитии ОПС (остеопении и [или] остеопороза).

У спасателей со сниженной МПК выявлено достоверное повышение

уровня стероидсвязывающего глобулина в сыворотке крови. Показана корреляционная зависимость концентрации стероидсвязывающего глобулина в сыворотке крови и экспрессии PR в бокаловидных клетках слизистой двенадцатиперстной кишки ( $r = 0,565$ ;  $p < 0,05$ ), положительная корреляционная связь между PR и тиреотропным гормоном ( $r = 0,558$ ;  $p < 0,05$ ) и отрицательные связи между рецепторами прогестерона и витамином D ( $r = 0,442$ ;  $p < 0,05$ ), рецепторами прогестерона и уровнем кортизола ( $r = -0,449$ ;  $p < 0,05$ ).

### Заключение

У пациентов старше 50 лет со сниженной МПК и патологией органной ЖКТ (выявлена более 20 лет назад) в гастробиоптатах двенадцатиперстной кишки преимущественно обнаружены рецепторы витамина D (74%), рецепторы AR и ER $\beta$ . Эстрогены и андрогены оказывают стимулирующее влияние на экспрессию DR на поверхности эпителиальной клетки кишечника, которые обеспечивают биологические эффекты витамина D в метаболизме кальция в костях и его транспорте через слизистую оболочку тонкой кишки.

У пациентов молодого возраста с ОПС и заболеваниями органов ЖКТ в слизистой двенадцатиперстной кишки, наоборот, выявлена высокая экспрессия PR и рецепторов глюкокортикоидов, что позволяет рассматривать двенадцатиперстной кишки как орган-мишень для действия данных гормонов. Высокая экспрессия рецепторов глюкокортикоидов в изученных биоптатах подтверждает их активную роль в реализации присутствующих им биологических эффектов. Наличие рецепторов прогестерона в бокаловидных клетках и повышение их экспрессии у пациентов со сниженной МПК свидетельствуют о безусловном участии прогестерона в патогенезе формирования ОПС. Не исключено, что PR осуществляют защитную функцию.

Особенности экспрессии рецепторов гормонов при сочетанной патологии органов ЖКТ и снижении МПК, механизмы всех этих процессов требуют дальнейшего изучения.

### Список литературы

1. Ершова О. Б. Влияние гормонального статуса на развитие остеопороза и переломов костей у мужчин / О. Б. Ершова [и др.] // Медицинский совет. — 2013. — № 7. — С. 72–75.
2. Лычкова А. Эстрогены в кн.: Серотонинергическая регуляция эндокринной и половой систем. — М.: Издательство РАМН., 2014. — С. 154–171.
3. Chojookhuu N. Ontogenetic changes in the expression of estrogen receptor  $\beta$  in mouse duodenal epithelium / N. Chojookhuu [et al.] // Clin Res Hepatol Gastroenterol. — 2015. — Vol. 39 (4). — P. 499–507.
4. Duzhiy I. D. Hormonal-genetic screening in patients, suffering gastroduodenal ulcer hemorrhagi / I. D. Duzhiy [et al.] // Klin. Khir. — 2015. — Vol. 11. — P. 24–27.
5. Pfaffl M. W. The gastrointestinal tract as target of steroid hormone action quantification of steroid receptor mRNA expression (AR, ER $\alpha$ , ER $\beta$  and PR) in 10 bovine gastrointestinal tract compartments by kinetic RT-PCR / M. W. Pfaffl [et al.] // Steroid. Biochem. Mol. Biol. — 2003. — Vol. 84 (2–3). — P. 159–166.
6. Pierdominici M. Linking estrogen receptor expression with inflammatory bowel disease activity / M. Pierdominici [et al.] // Oncotarget. — 2015. — Vol. 1; 6 (38). — P. 40443–40451.
7. Sauerwein H. Expression of estrogen and androgen receptor in the bovine gastrointestinal tract / H. Sauerwein [et al.] // Dtsch. Tierarztl. Wochensch. — 1995. — Vol. 102 (4). — P. 164–168.
8. Xue Y. Intestinal vitamin D receptor is required for normal calcium and bone metabolism in mice / Y. Xue, J. C. Fleet // Gastroenterology. — 2009. — Vol. 136. — P. 1317–1327.



# Микроскопия осадка мочи как экспресс-метод прогнозирования острого повреждения почек при кардиохирургических вмешательствах

**А. И. Птицына**, аспирант кафедры клинической лабораторной диагностики

**В. В. Слепышева**, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики

**И. С. Курапеев**, д.м.н., проф. кафедры анестезиологии и реаниматологии им. В. Л. Ваневского

**А. В. Козлов**, д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

## *Microscopy of urine sediment as rapid method of predicting acute kidney injury during cardiac surgery*

A. I. Ptitsyna, V. V. Slepisheva, I. S. Kurapeev, A. V. Kozlov

North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

### Резюме

Показано, что у пациентов со скоростью клубочковой фильтрации < 60 мл/мин./1,73 м<sup>2</sup> выделение с мочой гиалиновых, зернистых цилиндров и клеток почечного эпителия было существенно выше, чем у пациентов, скорость клубочковой фильтрации которых была ≥ 60 мл/мин./1,73 м<sup>2</sup>. Различия в динамике выделения с мочой элементов осадка в группах указывают на то, что характер изменений осадка мочи зависит от выраженности нарушения функций почек до операции.

Ключевые слова: кардиохирургические вмешательства, микроскопия осадка мочи.

### Summary

It is shown that in patients with glomerular filtration rate < 60 ml/min./1.73 m<sup>2</sup> urinary excretion of hyaline, granular cylinders and cells of renal epithelium was significantly higher than in patients with a glomerular filtration rate which was ≥ 60 ml/min./1.73 m<sup>2</sup>. The differences in the dynamics of allocation of urine sediment elements in groups indicate that the nature of the changes of urine sediment depends on the severity of the violations of the kidneys before surgery.

Key words: cardiac surgery, microscopy of urine sediment.

## Введение

Кардиохирургические вмешательства являются независимым предиктором развития острого повреждения почек (ОПП). На это указывает частота возникновения этого осложнения от 13 до 50% [1, 2, 3, 4].

Хроническая болезнь почек является дополнительным неблагоприятным фактором, способствующим развитию ОПП [5, 6]. По мнению ряда авторов, для диагностики и прогнозирования ОПП может использоваться микроскопия осадка мочи, хотя интерес к ней в последние годы снизился в связи с обнаружением новых маркеров и стандартизированных методов их анализа [7]. Решающим фактором успешного лечения ОПП является его раннее выявление с помощью различных биомаркеров, хотя до сих пор не выявлены маркер либо группа маркеров, способных претендовать на роль «золотого стандарта» [8].

**Цель исследования:** оценить возможности микроскопического исследования осадка мочи у пациентов после кардиохирургических вмешательств для прогнозирования острого повреждения почек в зависимости от степени нарушения их функции.

## Материалы и методы

Клинической базой исследования явились кафедра клинической лабораторной диагностики (заведующий кафедрой д.м.н., проф. А. В. Козлов), кафедра анесте-

зиологии и реаниматологии им. В. Л. Ваневского (зав. кафедрой д.м.н., проф. К. М. Лебединский), отделение клинической лабораторной диагностики (зав. отделением к.м.н. В. В. Слепышева) и отделение анестезиологии и реанимации (зав. отделением к.м.н. А. Н. Ванюшкин) клиники им. Э. Э. Эйхвальда СЗГМУ им. И. И. Мечникова. Работа выполнена в дизайне открытого рандомизированного контролируемого проспективного исследования в параллельных группах. Исследование выполнено в соответствии с принципами «Надлежащей клинической практики» (ГОСТ Р 52379–2005), и его протокол был одобрен этическим комитетом СЗГМУ им. И. И. Мечникова (протокол заседания № 12 от 23 октября 2015 года), все пациенты подписывали информированное согласие.

В период с 17 мая 2016-го по 3 мая 2017 года оперировали 34 пациента обоего пола. Основную группу составили 16 больных, у которых скорость клубочковой фильтрации (СКФ), рассчитанная по формуле Кокрофта-Голта [9], была ≥ 60 мл/мин./1,73 м<sup>2</sup> (6 мужчин и 8 женщин, возраст от 53 и до 79 лет [67,2 ± 9,3]). В контрольную группу были включены 18 пациентов с СКФ < 60 мл/мин./1,73 м<sup>2</sup> (16 мужчин и 2 женщины, возраст от 44 до 71 года [59,9 ± 7,6]). Всем пациентам в плановом порядке выполнялось коронарное шунтирование в том числе в сочетании с коррекцией клапанной патологии сердца.

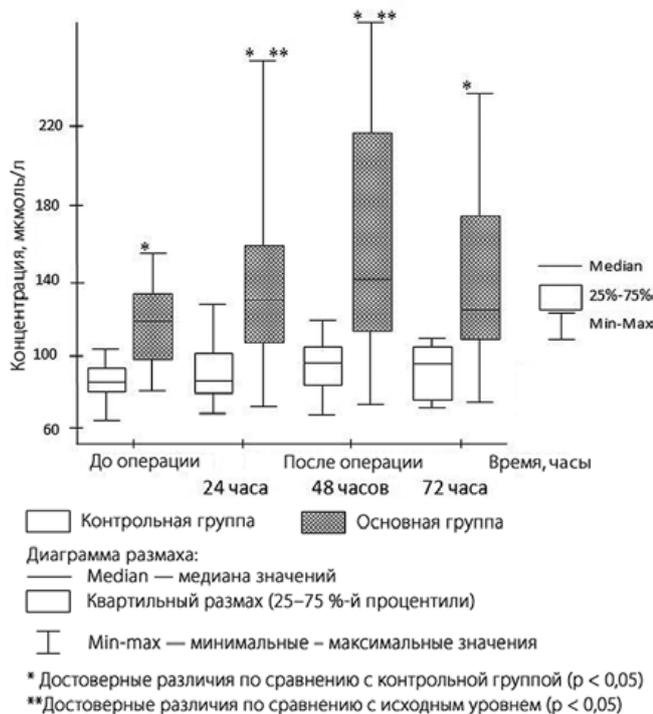


Рисунок 1. Концентрация креатинина в сыворотке крови пациентов контрольной и основной групп.

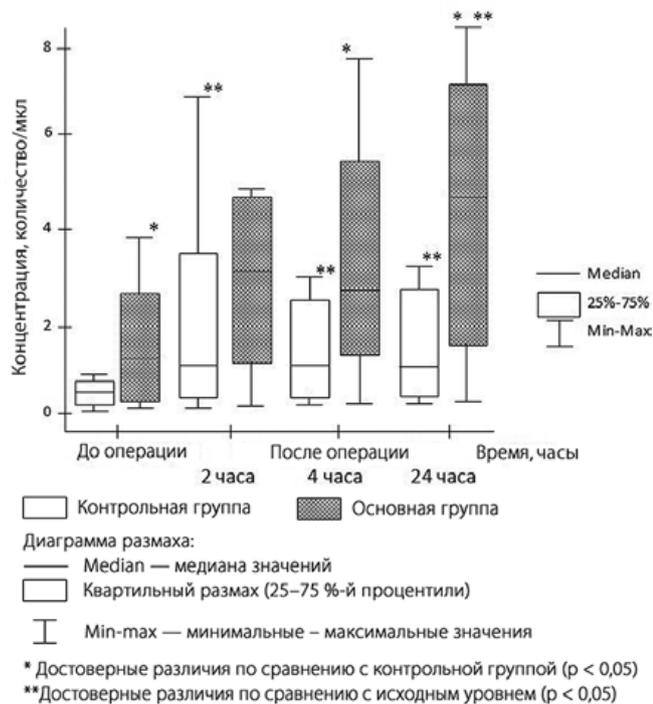


Рисунок 2. Динамика выделения гиалиновых цилиндров в контрольной и основной группах.

Критериями включения в исследование явилось наличие показаний для проведения планового оперативного вмешательства как в условиях искусственного кровообращения, так и на работающем сердце у пациентов в возрасте старше 18 лет. Критериями исключения были:

- операции на корне аорты;
- экстренные и неотложные оперативные вмешательства;
- повторное кардиохирургическое вмешательство;
- наличие цереброваскулярной болезни мозга в соответствии с классами 100–199 по МКБ-10;
- наличие инфекционного эндокардита в соответствии с классом 133 по МКБ-10;
- ятрогении в соответствии с классами Т80–Т88 по МКБ-10.

Материалом для исследования служили образцы мочи и сыворотки крови.

Осадок получали центрифугированием 10 мл мочи при 400 g в течение пяти минут (центрифуга СМ-6 МТ фирмы ELMi (Латвия). Надосадочную жидкость (9 мл) сливали, осадок тщательно суспендировали в оставшемся объеме мочи. Гиалиновые, зернистые цилиндры и клетки почечного эпителия подсчитывали в камере Фукса-Розенталя на микроскопе Leica DM 4000 В фирмы Leica Microsystems GmbH (Германия), объектив с ув. 10× (40×), окуляр 10×, используя метод фазово-контрастной микроскопии. Концентрацию элементов относили к 1 мкл мочи (количество/мкл). Креатинин в крови определяли пикратным методом тест-системами производителя на анализаторе Olympus AU 480 Chemistry Analyzer фирмы Beckman Coulter (США). Осадок мочи анализировали до операции, через 2, 4 и 24 часа от момента поступления пациента в отделение реанимации и интенсивной терапии.

Для статистического анализа результатов исследования использовали пакет программы Statistica for Windows версии Russian Portable 10.0.1011.0, 2001 фирмы StatSoft Inc. (США). Исходно выполняли проверку сопоставимости пациентов обеих групп, после чего проводили анализ массива данных с применением параметров описательной статистики, U-критерия Манна-Уитни. Результаты количественного подсчета элементов осадка мочи и концентрации креатинина в крови представлены медианой [нижний квартиль; верхний квартиль]. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

Полученные результаты представлены на рис. 1–4.

Как следует из данных, представленных на рис. 1, динамика изменений креатинина на этапах исследования у пациентов основной и контрольной групп существенно отличалась. В контрольной группе концентрация креатинина в крови на протяжении всего периода наблюдения (до трех суток) после операции достоверно не менялась ( $p > 0,05$ ). В основной же группе через 24 часа она повышалась по сравнению с исходным уровнем, достигая максимума через 48 и снижаясь до исходного уровня через 72 часа ( $p < 0,05$ ). У 9 (56%) пациентов основной группы наблюдалось увеличение концентрации креатинина более чем на 26,5 мкмоль/л, что согласно клиническим рекомендациям KDIGO (2012) можно расценить как наступление ОПП [10].

Данные на рис. 2 указывают на различия динамики цилиндррии в группах в пределах 24 часов после операции. В контрольной группе концентрация гиалиновых цилиндров повышалась по сравнению с исходным уровнем через два часа после операции и сохранялась на этом уровне через 4 и 24 часа. В основной группе через два часа после операции концентрация гиалиновых цилиндров в моче по сравнению с исходным уровнем возрастала и сохранялась на этом уровне через четыре часа ( $p > 0,05$ ). Через 24 часа она увеличилась и достоверно превысила исходный уровень в 4,7 раза ( $p < 0,05$ ).

Достоверных различий в выделении с мочой зернистых цилиндров в контрольной группе в течение всего периода наблюдения выявлено не было (рис. 3). В основной группе констатировали их повышение в 15 раз по сравнению с исходным уровнем только через 24 часа после операции ( $p < 0,05$ ).

Из данных, представленных на рис. 4, следует, что выделение с мочой клеток почечного эпителия в контрольной группе носило волнообразный характер. По сравнению с исходным уровнем их концентрация повышалась через два часа после операции, через четыре снижалась до исходных значений, и через 24 часа вновь повышалась. При этом в основной группе наблюдали тенденцию к постепенному и статистически достоверному повышению: через два часа после операции концентрация клеток почечного эпителия возрастала по сравнению с исходным уровнем ( $p < 0,05$ ), через четыре она сохранялась на том же уровне, а через 24 часа достоверно повышалась (в два раза) относительно исходного уровня. Различия в выделении клеток почечного эпителия с мочой в основной и контрольной группе были выявлены через 4 и 24 часа ( $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Полученные нами данные указывают на то, что стандартизация процедуры получения осадка мочи, использование фазово-контрастной микроскопии и количественного подсчета элементов позволили установить существенные изменения в составе мочи пациентов в обеих группах на протяжении 24 часов после операции. Это относится к гиалиновым, зернистым цилиндрам и клеткам почечного эпителия. В целом выраженность цилиндррии и выделения клеток почечного эпителия была выше в основной группе пациентов ( $СКФ < 60$  мл/мин./1,73 м<sup>2</sup>). Наибольшие различия между группами были установлены по уровню гиалиновых цилиндров: до операции, через 4 и 24 часа (рис. 2). Их раннее появление (через два часа после операции) в моче пациентов обеих групп связано с изменением состава мочи в канальцах: коагуляцией белков, профильтровавшихся через почечный фильтр, замедлением тока мочи в канальцах, внутритубулярным ацидозом [11, 12].

Цилиндррия, характерная для пациентов основной группы до операции, обусловлена более выраженным повреждением канальцев, при котором сформировались

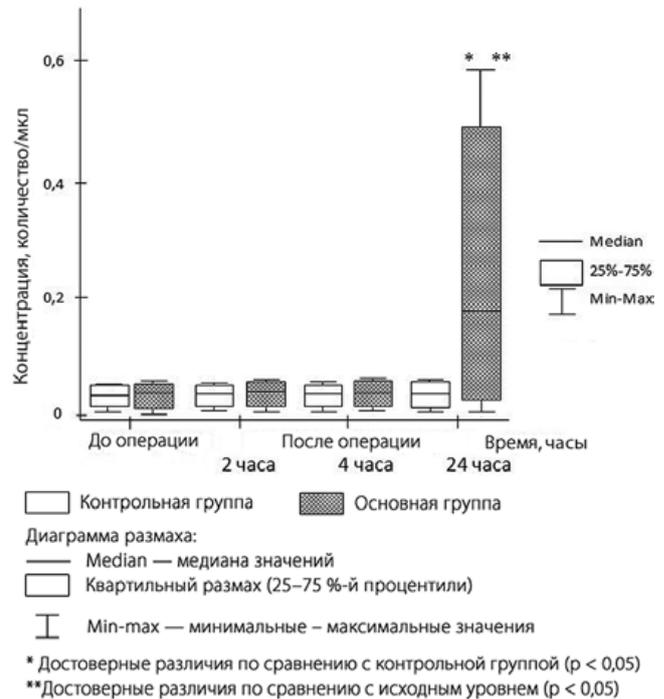


Рисунок 3. Динамика выделения зернистых цилиндров в контрольной и основной группах.

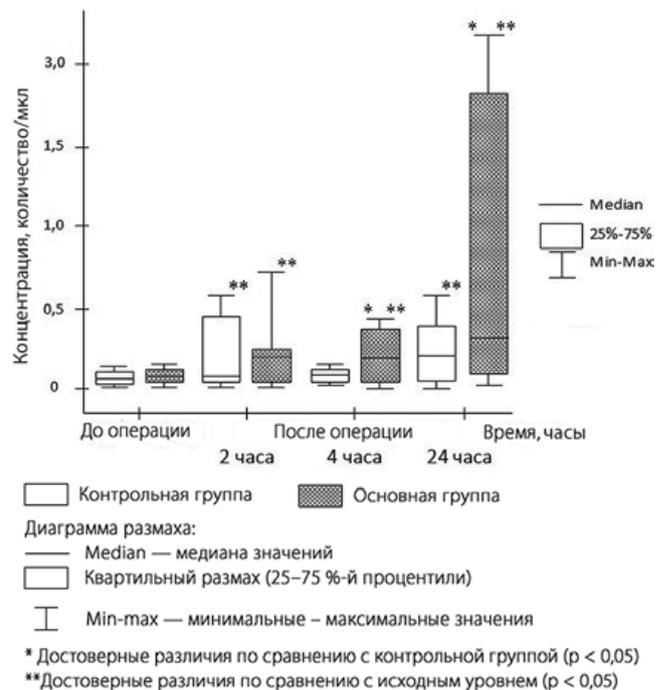


Рисунок 4. Динамика выделения клеток почечного эпителия в контрольной и основной группах.

предпосылки для образования различных типов цилиндров [12, 13]. Образование в моче зернистых цилиндров в основной группе, сдвинутое по времени в сравнении с гиалиновыми цилиндрами, связано с временным промежутком, необходимым для созревания гранул из денатурировавшихся белков и клеточных элементов в их матрице [12, 13].

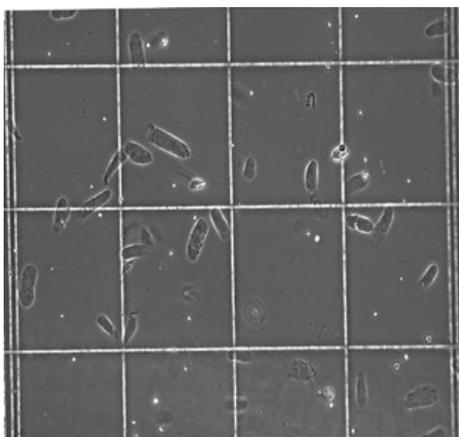


Рисунок 5. Гиалиновые цилиндры в камере Фукс-Розенталя. Фазовый контраст, ув. 100×.

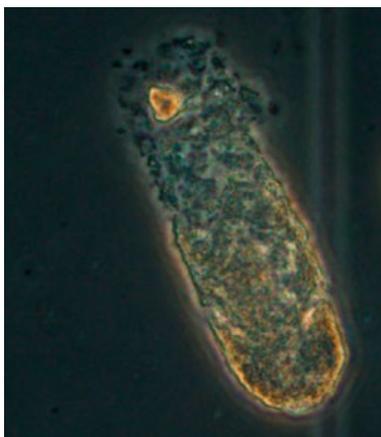


Рисунок 6. Зернистый цилиндр. Фазовый контраст, ув. 400×.

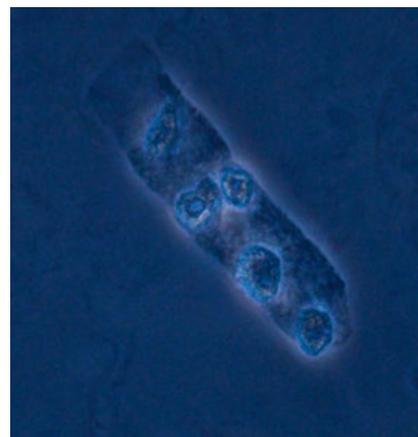


Рисунок 7. Наложение четырех клеток почечного эпителия на гиалиновый цилиндр. Фазовый контраст, ув. 400×.

Выделение клеток почечного эпителия с мочой в обеих группах связано с активацией процессов перекисного окисления липидов, апоптозом клеток почечного эпителия и потерей клетками связей с базальной мембраной [14]. С этой точки зрения их обнаружение в моче через 24 часа следует расценить как реакцию канальцев на операционный стресс, приводящий к их повреждению [15].

Характер изменений в осадке мочи при ОПП в целом достаточно изучен. Было показано, что для этого осложнения характерно появление в осадке мочи клеток почечного эпителия, зернистых и гиалиновых цилиндров [14, 15]. Несмотря на обнадеживающие результаты подобных работ, интерес к изучению осадка мочи за последние 10 лет постепенно снижался [7]. Это связано с тем, что на результаты микроскопического анализа осадка влияют многие преаналитические факторы: объем мочи, взятый для центрифугирования, длительность центрифугирования, его параметры [16]. Кроме того, традиционный способ выражения количества элементов в поле зрения (п/зр), по мнению ряда авторов, может приводить к разбросу результатов в пределах 10% и выше. Не последнюю роль сыграло то обстоятельство, что ряд исследований были проведены на небольших когортах пациентов, в некоторых работах отсутствовали контрольные группы, что снижало ценность полученной в них информации. Это усиливало сомнения в допустимости использования результатов микроскопического метода для выявления ОПП вследствие субъективного характера оценки микроскопической картины осадка, разных подходов в представлении результатов и использования нестандартизованных методов получения осадка, стремления к выполнению анализа мочи в централизованных лабораториях [7, 10].

Неудовлетворенность результатами анализа мочи, выполняемого в «неспециализированных» лабораториях, привело к тому, что ряд авторов стали настаивать на необходимости изучения осадка мочи у курируемых ими больных нефрологами, что, по их мнению, позволит повысить качество диагностического процесса. На это указывают данные исследования, в котором было пока-

зано, что у пациентов с ОПП сотрудники лаборатории пропустили такие важные элементы осадка мочи, как клетки канальцевого эпителия и различные типы цилиндров, которые смогли идентифицировать нефрологи, владеющие навыками микроскопии мочи [17].

В конечном итоге это явилось аргументом для поиска биомаркеров ОПП, определение которых можно проводить простыми количественными методами в режиме point-off-care testing [7]. Кроме того, установление того факта, что многие биомаркеры локализуются в различных отделах нефрона, и их появление в моче связано с повреждением того или иного отдела, способствовало росту интереса к их использованию. Это предопределило появление серии исследований, в которых изучали: липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов (NGAL); молекулу повреждения почек (KIM-1); печеночный белок, связывающий жирные кислоты (L-FABP); интерлейкин-18 (IL-18), тканевый ингибитор металлопротеиназы (TIMP-2) и ряд других. Анализ этих работ показал, что аналитические характеристики большинства перечисленных маркеров с целью выявления ОПП, проведенных на различных когортах пациентов (травма, обширные операции, кардиохирургические вмешательства, сепсис), отличаются. Для NGAL величина площади под кривой (AUC) варьирует от 0,64 до 0,97, для KIM-1 — от 0,69 до 0,99, для L-FABP — от 0,64 до 0,92, для IL-18 — от 0,76 до 0,95 [18–22]. Попытка использования двух маркеров TIMP-2 и IGFBP7 в составе панели для выявления ОПП также не привела к однозначным результатам: величина AUC колебалась от 0,85 до 0,95, по другим данным, — от 0,87 до 0,97. Кроме того, в ряде работ было отмечено, что для большинства цитируемых выше биомаркеров характерна более высокая чувствительность по сравнению со специфичностью [10, 23, 24].

С точки зрения авторов данного исследования, наибольший интерес представляют работы, в которых сравнивались результаты микроскопии осадка мочи и концентрации NGAL — маркера, по мнению ряда авторов, способного выступать в роли «почечного тропонина» для диагностики ОПП. Было показано, что увеличение

количества зернистых цилиндров и клеток почечного эпителия в осадке мочи коррелировало с повышенной концентрацией NGAL, результат микроскопии мочи (UMS, urine microscopy score) позволял предсказывать тяжесть ОПП [23]. В другой работе было установлено, что результаты микроскопического изучения осадка мочи, концентрации IL-18, NGAL и KIM-1 по своим аналитическим характеристикам были близки и прогностически значимы для выявления ОПП [24].

Таким образом, ОПП до сих пор является распространенным, серьезным осложнением кардиохирургических операций, которое связано с повышением смертности, возникновением осложнений и увеличением времени госпитализации. Пока не существует эффективных клинических рекомендаций по профилактике и лечению данного осложнения. Основой эффективного лечения пациентов с высоким риском развития ОПП остается предотвращение развития данного процесса. На основании последних исследований становится ясно, что разумное сочетание биомаркеров, изучения осадка мочи и клинических параметров будет мощным инструментом в раннем прогнозировании и стратификации риска этого осложнения при кардиохирургических вмешательствах. Существует необходимость в дальнейшем изучении различных биомаркеров ОПП помимо применяющихся в настоящее время методов для определения факторов риска, терапевтического вмешательства и прогнозирования ОПП.

## Выводы

1. Использование стандартизованного способа получения осадка мочи, количественного подсчета его элементов в камере Фукса-Розенталя, фазово-контрастной микроскопии позволяет проследить в динамике изменения осадка мочи в раннем послеоперационном периоде.
2. Динамика выведения элементов осадка мочи свидетельствует о том, что поиск маркеров острого повреждения почек следует производить с учетом степени нарушения их функции по данным скорости клубочковой фильтрации.

## Список литературы

1. Копылова Ю.В., Поз Я.А., Строков А.Г., Попцов В.Н., Воронина О.В., Ухренков С.Г. Острое повреждение почек при кардиохирургических операциях с искусственным кровообращением и трансплантации сердца // Вестник трансплантологии и искусственных органов.— 2010.— Том 12, № 1.— С. 100–110.
2. Рыбка М.М. «Органная дисфункция и синдром полиорганной недостаточности после операций на сердце в условиях искусственного кровообращения: дис... докт. мед. наук: 14.00.20. / Рыбка М.М.— Москва, 2015.— 263 с.
3. Lombardi R., Ferreira A. Risk factors profile for acute kidney injury after cardiac surgery is different according to the level of baseline renal function. // *Renal Failure*.— 2008.— Vol. 30.— P. 155–160.
4. Hobson C. E., Yavas S., Segal M. S. et al. Acute kidney injury is associated with increased long-term mortality after cardiothoracic surgery. // *Circulation*.— 2009.— 119 (18).— P. 2444–2453.
5. Искендеров Б.Г., Сисина О.Н. Влияние сниженной клубочковой фильтрации почек на ближайший и отдаленный прогноз у больных, подвергнутых аортокоронарному шунтированию. // Российский кардиологический журнал.— 2014.— № 4 (108).— С. 86–91.
6. Huang T.M., Wu V.C., Young G.H. et al. Preoperative proteinuria predicts adverse renal outcomes after coronary artery bypass grafting. // *Journal American Society of Nephrology*.— 2011.— 22.— P. 156–163.
7. Perazella M. A. The Urine Sediment as a Biomarker of Kidney Disease. // *American Journal of Kidney Diseases*.— 2015.— 66 (5).— P. 748–755.
8. Табакьян Е.А., Партигулов С.А., Лепилин М.Г., Бурмистров И.В., Водясов В.Д., Коткина Т.И., Титов В.Н. Ранняя диагностика острого повреждения почек при операциях на открытом сердце с искусственным кровообращением. // *Общая реаниматология*.— 2013.— Том 9, № 1.— С. 51–57.
9. Cockcroft D.W., Gault M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. // *Nephron*.— 1976.— Vol. 16.— P. 31–41.
10. Mohsenin V. Practical approach to detection and management of acute kidney injury in critically ill patient. // *Journal of Intensive Care*.— 2017.— 5: 57.— P. 1–8.
11. Chawla L.S., Dommu A., Berger A., Shih S., Patel S.S. Urinary Sediment Cast Scoring Index for Acute Kidney Injury: A Pilot Study. // *Nephron Clinical Practice*.— 2008.— 110.— P. 145–150.
12. Миронова И.И., Романова Л.А. Атлас осадков мочи. // Тверь: Изд-во Триада, 3-е издание.— 2015.— С. 172.
13. Caleffi A., Lippi G. Cylindruria. // *Clinical Chemistry Laboratory Medicine*.— 2015.— 53.— P. 1471–1477.
14. Bonventre J.V. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. // *The Journal of Clinical Investigation*.— 2011.— Vol. 121, № 11.— P. 4210–4221.
15. Mehta R., Kellum J., Shah S., Molitoris B.A., Ronco C., Warnock D.G., Levin A. Acute kidney injury network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. // *Critical Care*.— 2007.— Vol. 11, № 2.— P. 1–8.
16. Козлов А.В., Большакова Г.Д., Зимица В.А., Остахова Д.Г. Подходы к стандартизации осадка мочи. // *Лабораторная диагностика*.— 2010.— Т. 22, № 1–2. С. 3–11.
17. Tsai J.J., Yuen J.Y., Kumar V.A., Don B.R. Comparison and interpretation of urinalysis performed by a nephrologists versus a hospital-based clinical laboratory. // *American Journal of Kidney Diseases*.— 2005.— Vol. 46, № 5.— P. 820–829.
18. Liangos O., Tighiouart H., Perianayagam M. C., Kolyada A., Han W.K., Wald R., Bonventre J.V., Jaber B.L. Comparative analysis of urinary biomarkers for early detection of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass. // *Biomarkers*.— 2009.— Vol. 14, № 6.— P. 423–431.
19. Kashani K., Al-Khafaji A., Ardiles T., Artigas A., Bagshaw S.M., Bell M., Bihorac A., Birkahn R., Cely C.M., Chawla L.S., Davison D.L., Feldkamp T., Furni L.G., Gong M.N., Gunnerson K.J., Haase M., Hackett J., Honore P.M., Hoste E.A.J., Joannes-Boyau O., Joannidis M., Kim P., Koyner J.L., Laskowitz D.T., Lissauer M.E., Marx G., McCullough P. A., Mullaney S., Ostermann M., Rimmelé T., Shapiro N.I., Shaw A. D., Shi J., Sprague A.M., Vincent J.L., Vinsonneau C., Wagner L., Walker M.G., Wilkerson R.G., Zacharowski K., Kellum J.A. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. // *Critical Care*.— 2013.— 17.— P. 1–12.
20. Bihorac A., Chawla L.S., Shaw A.D., Al-Khafaji A., Davison D.L., DeMuth G.E., Fitzgerald R., Gong M. Ng, Graham D.D., Gunnerson K., Heung M., Jortani S., Kleerup E., Koyner J.L., Krell K., LeToumeau J., Lissauer M., Miner J., Nguyen H.B., Ortega L.M., Self W.H., Sellman R., Shi J., Straseski J., Szalados J.E., Wilber S.T., Walker M.G., Wilson J., Wunderink R., Zimmerman J., Kellum J.A. Validation of cell-cycle arrest biomarkers for acute kidney injury using clinical adjudication. // *American Journal Respiratory and Critical Care Medicine*.— 2014.— Vol. 189, № 8.— P. 932–939.
21. Han W.K., Wagener G., Zhu Y., Wang S., Lee H.T. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. // *Clinical Journal American Society of Nephrology*.— 2009.— 4.— P. 873–882.
22. Meersch M., Schmidt C., Aken H.V., Martens S., Rossaint J., Singbart K., Gorlich D., Kellum J.A., Zarbock A. Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as early biomarkers of acute kidney injury and renal recovery following cardiac surgery. // *PLoS One*.— 2014.— Vol. 9, № 3.— P. 1–9.
23. Bagshaw S.M., Haase M., Haase-Fielitz A., Bennett M., Devarajan P., Bellomo R. A prospective evaluation of urine microscopy in septic and non-septic acute kidney injury. // *Nephrology, Dialysis, Transplantation*.— 2012.— 27.— P. 582–588.
24. Hall I.E., Coca S.G., Perazella M.A., Eko U.U., Luciano R.L., Peter P.R., Han W.K., Parikh C.R. Risk of poor outcomes with novel and traditional biomarkers at clinical AKI diagnosis. // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*.— 2011.— Vol. 6.— P. 2740–2748.





В.Л. Эмануэль



В.С. Берестовская

## Нетипичные ошибки в иммунном анализе

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

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

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

### *Irregular interference in immunoassay*

V.L. Emanuel, V.S. Berestovskaya

First State Medical University n.a. I.P. Pavlov, Saint Petersburg, Russia

#### Резюме

*Иммунные тесты, позволяющие произвести быстрое измерение параметров аналита, могут иметь решающее значение для правильной диагностики широкого спектра заболеваний. Обычно иммунные технологии надежны, но они остаются уязвимыми для нетипичных аналитических ошибок, которые могут серьезно повлиять на лечение пациентов. Ошибочные результаты способны периодически возникать в любой пробе, но при этом сейчас только разрабатываются способы идентификации образцов, имеющих потенциальные сомнения в достоверности результатов. Информирование клиницистов о причинах нетипичной интерференции; передача в лабораторию сведений о рецептурных и безрецептурных препаратах, принимаемых пациентами; обсуждение ситуаций, при которых лабораторные результаты не совпадают с клинической картиной с участием лабораторных сотрудников — ключевые звенья для минимизации нетипичной интерференции.*

*Ключевые слова: интерференция, сывороточные индексы, биотин.*

#### Summary

*Immune tests that allow rapid measurement of analyte parameters can be of vital importance for the correct diagnosis of a wide range of diseases. Usually, immune technologies are reliable, but they remain vulnerable to irregular analytic errors that can seriously affect the treatment of patients. Erroneous results can occur unexpectedly with respect to any sample, however now ways of identifying samples in which problems with the reliability of the results can arise are being developed. Informing clinicians of the causes of atypical interference; transfer of information about prescription and non-prescription drugs taken by patients to the laboratory; discussion of situations when laboratory results do not coincide with the clinical picture with the participation of laboratory staff — those are the key links for minimizing irregular interference.*

*Key words: interference, serum index, biotin.*

Лабораторные исследования являются важным компонентом современной доказательной медицины. На границе тысячелетий лабораторная диагностика перешла от выполнения единичных тестов отдельными специалистами к высокоиндустриальным предприятиям, а лабораторные площадки могут размещаться отдельно от мест врачебных консультаций. Последние полвека создали условия для существенных изменений и в качестве лабораторных услуг. Прорыв, обеспечивший впечатляющее сокращение аналитических ошибок в 100 раз, основан на значительном развитии технологий, широком использовании автоматизированных и информационных решений, обу-

чении персонала лаборатории. Также важной составляющей успеха являются мероприятия по оценке аналитического качества, во многом опирающиеся на методы, известные как статистическое управление процессом [6].

Современные стратегии управления лабораторным качеством эффективны в отношении стандартных погрешностей в аналитических сериях, но уязвимы со стороны нетипичных (irregular) ошибок отдельных образцов. Инновационный подход к оценке возможных аналитических ошибок, включая индивидуальные эффекты и помехи у отдельных пациентов, представили M. Vogeser и Ch. Seger, 2018. Авторы предлагают использовать понятие «не-

типичная аналитическая ошибка» в случаях, когда результат теста, полученный в образце рутинным методом, отличается от результата измерения у пациента, полученного референсным методом, более чем на погрешность измерения рутинного метода [10].

Распространенность нетипичных ошибок остается весьма неясной, поскольку в настоящее время не существует единой системы их идентификации, а описание таких случаев встречается преимущественно в отдельных публикациях. Нетипичные ошибки не обнаруживаются при реализации стандартных процедур контроля аналитического качества, воспроизводятся аналитической системой, зачастую клиниче-

ски правдоподобны и относительно редки. Случаи умеренной интерференции практически не обнаружены, поскольку в таких ситуациях результаты пациентов с низкой вероятностью приведут к клиническим сомнениям [7].

Иммунный (иммунохимический) анализ занимает лидирующие позиции при определении сложных гетерогенных молекул и соединений, присутствующих в биологических жидкостях в низких концентрациях. Системы автоматизированного иммунного анализа обеспечивают высокий уровень технической надежности, поэтому вклад погрешности анализатора в ошибочный результат чрезвычайно мал. В то же время этот вид исследования основан на реакции исследуемого анализа со сложными реагентами, имеющими в своем составе антитела, что делает его чувствительным к различным видам эндогенной интерференции [7].

Основная проблема кроется в том, что образец биологического материала каждого человека представляет собой уникальную матрицу, содержащую индивидуальный спектр различных аналитов, измененные концентрации обычных компонентов, перекрестно реагирующие вещества, антитела, макромолекулярные комплексы, метаболиты лекарственных препаратов и пищевых добавок [9].

Из обсуждаемых в литературе видов нетипичных эндогенных ошибок можно выделить следующие: интерференция со стороны обычных компонентов в патологической концентрации (липиды, гемоглобин, билирубин); присутствие гетерофильных антител и антител к реагентам; интерференция матричных белков (ревматоидные факторы, парапротеины, макроформы) и высокие уровни биотина для стрептавидин / биотиновых технологий [7].

Нетипичные ошибки несут риски принятия ошибочного клинического решения, поэтому специалистам лаборатории необходимо найти ответ на вопрос, выполняли ли миссия по управлению этими рисками. Далее мы рассмотрим два вида интерференции, для которых есть основания полагать, что «миссия выполняема».

### **Интерференция со стороны гемоглобина, билирубина, липидов**

Имеется множество литературных сведений о влиянии избыточных концентраций нормальных компонентов сыворотки на иммунный анализ. В связи с этим интерференция со стороны гемоглобина (H), билирубина (I) и липидов (L) оценивается производителем для каждого из аналитов при разработке аналитической системы. Данные об установленном влиянии со стороны указанных компонентов сыворотки представлены в инструкциях к реагентам для большинства производителей коммерческих тестов. Для исключения интерференции со стороны НИЛ лаборатории должны разработать процедуры по обработке образцов, идентифицированных в качестве гемолизированных / иктеричных / липемичных, опираясь на рекомендации производителей.

Изменение цвета и мутности сыворотки можно обнаружить визуально, но эргономичным и эффективным решением является автоматизированное измерение сывороточных индексов, оценивающих содержание гемоглобина (индекс гемолиза), билирубина (индекс иктеричности) и уровня мутности (индекс липемии). Сывороточные индексы обеспечивают полуколичественное измерение НИЛ, присутствующих в образцах пациентов одновременно с выполнением в нем заказанных исследований. Полученный сывороточный индекс сравнивается с предельными значениями H, I и L, установленными для каждого отдельного аналита. Эти предельные уровни служат дискриминационными значениями, ниже которых возможная интерференция считается клинически незначимой. Уровень сывороточного индекса выше дискриминационного значения сигнализирует о высокой вероятности получения недостоверного результата за счет вмешательства гемоглобина, билирубина или липидов. После получения такого сообщения сотрудник лаборатории должен принять решение о целесообразности проведения исследования или необходимости получения нового образца пациента [1].

Оценка гемолиза, иктеричности и липемии обеспечивает сотрудников лаборатории информацией о потенциальной интерференции и позволяет минимизировать ошибочные результаты. Выявление веществ, способных вмешиваться в исследование, является важным шагом на пути к получению надежных и достоверных результатов.

### **Интерференция со стороны биотина**

Биотин, водорастворимый витамин B<sub>7</sub> (витамин H), представляет собой маленькую и стабильную молекулу, которая может конъюгировать с множеством белков без серьезного изменения их биологической активности. Такое взаимодействие является наиболее сильным из всех известных нековалентных связываний между белком и лигандом. Экзогенный биотин обладает потенциалом в отношении искажения результатов в системах на основе комплекса стрептавидин — биотин. Интерференция может заключаться в появлении ложно завышенных результатов при использовании конкурентной схемы анализа, когда избыток биотина в образце конкурирует с биотинилированным аналогом за места связывания на молекуле стрептавидина. В другом случае при использовании метода в формате «сэндвич» избыток биотина в образце может замещать биотинилированные антитела и приводить к ложно заниженным результатам [3]. В литературе встречаются публикации о случаях искажения биотином результатов анализов, приводивших к неправильной трактовке. Следует отметить, что все опубликованные случаи касались применения мегадоз биотина при метаболических заболеваниях (тиаминзависимом заболевании базальных ганглиев, биотинидазной недостаточности, нарушении митохондриального энергообмена) и рассеянном склерозе [2, 4].

Биотин играет важную роль в ферментативных реакциях карбоксилирования и является частью нормальной диеты. При удовлетворении физиологической потребности в биотине его концентрация

в сыворотке очень мала. Согласно опубликованным данным, эти значения варьируют от менее 0,1 до 0,8 нг/мл и не вмешиваются в иммунный анализ [3]. Наиболее чувствительные к биотину иммунные тесты имеют порог для интерференции 10,0 нг/мл биотина в сыворотке. Согласно нормам физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации рекомендованное потребление биотина составляет 50 мкг в сутки (МР 2.3.1.2432–08), а дефицит биотина встречается крайне редко, поскольку практически при любом типе питания человек получает достаточное количество витамина Н. Однако, несмотря на отсутствие научных доказательств, биотин все чаще включают в пищевые добавки, заявляя о его способности укреплять волосы и ногти. Дозы присутствующих на рынке безрецептурных препаратов варьируют от 50 мкг до 10 мг, что значительно превышает суточную потребность в биотине [5].

Учитывая рост дозировок и распространенность безрецептурных препаратов биотина, необходимы четкие рекомендации по использованию результатов, полученных при помощи технологии иммунного анализа на основе комплекса стрептавидин — биотин. В связи с этим было проведено исследование фармакокинетических свойств высоких доз биотина с использованием технологии электрохемилюминесценции (анализатор cobas e411, Roche Diagnostics). Основные выводы этого исследования чрезвычайно важны для валидации данных, касающихся пороговых значений или временных интервалов, необходимых для достижения биотином концентраций, не вызывающих интерференции [3]:

- максимальная концентрация биотина после приема высоких 10–20 мг в сутки и мегадоз 100–300 мг в сутки (используется только в клинических условиях) достигается через 1,25–1,50 часа;
- при приеме биотина менее 1 мг в сутки (дозировка, характерная для безрецептурных мультивитаминных препаратов) уровни

биотина в сыворотке падают ниже порога 10 нг/мл через два часа;

- при приеме биотина менее 10 мг в сутки (максимальная дозировка, характерная для пищевых добавок) достижение наиболее распространенной границы для интерференции биотина в сыворотке (более 30 нг/мл) достигается через восемь часов;
- при приеме биотина более 20 мг в сутки (более чем 400-кратное превышение адекватной суточной потребности в биотине) достижение дискриминационной границы для интерференции биотина в сыворотке (более 30 нг/мл) может наступить через 31 час после последнего приема;
- если порог интерференции для технологии иммунного анализа составляет менее 30 нг/мл, и пациент принимает биотин в дозе более 10 мг, рекомендуется увеличивать период элиминации и, соответственно, время от последнего приема до взятия крови до 73 часов.

На текущий момент описания интерференции со стороны биотина носят спорадический характер. Соблюдение пациентом уже существующих правил по подготовке к исследованию позволяет избежать даже потенциального вмешательства биотина в результат исследования. ГОСТ Р 53079.4–2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Правила ведения преаналитического этапа» рекомендует при плановом выполнении лабораторного теста брать кровь натощак (после примерно 12 часов голодания), а «лекарственные средства, способные повлиять на результаты назначенного теста *in vivo* или *in vitro*, должны быть отменены за 2–3 дня до проведения теста, если это возможно по состоянию пациента». За 24-часовой интервал после приема максимальной дозы биотина, содержащейся в безрецептурных пищевых добавках (10 мг), его концентрация в сыворотке снижается до значений, неспособных искажать результаты теста. Таким образом,

сдача крови в утренние часы натощак и до приема лекарственных препаратов обеспечивает отсутствие интерференции со стороны биотина у пациентов, принимающих его в виде витаминных комплексов и пищевых добавок.

Назначение мегадоз биотина проводится под контролем врача, поэтому здесь важная роль в информировании клинициста о периоде выведения препарата принадлежит сотрудникам лаборатории. В инструкциях к тестам, основанных на использовании комплекса стрептавидин — биотин, включено предупреждение о взаимодействии с биотином, но такие инструкции малодоступны для клиницистов. Однако врачам необходимо получать эту информацию и рекомендовать пациентам, принимающим биотин, воздерживаться от приема препарата в течение, по крайней мере, двух дней до проведения анализа крови.

Частный случай «биотиновой ошибки» является отражением проблемы интерференции со стороны препаратов, принимаемых пациентами. Для минимизации возможной интерференции и ошибочных результатов необходимо рутинно опрашивать пациентов о приеме всех препаратов, рецептурных и безрецептурных, включая поливитамины и пищевые добавки. Один из полезных способов убедиться, что ничего не забыто, — попросить пациентов накануне перед сдачей анализа крови, находясь дома перед упаковками с препаратами, написать список всех принимаемых лекарств с названиями и дозой. Некоторые лаборатории предлагают пациентам правила подготовки к сдаче анализа крови, а в анкетах задаются конкретные вопросы о лекарствах, отпускаемых по рецепту или пищевых добавках, содержащих биотин. Такой подход минимизирует вероятность диагностической ошибки и повышает уверенность лаборатории и клиницистов в надежности лабораторных результатов.

Проблема нетипичных аналитических ошибок становится все более актуальной с возрастанием ценности лабораторной информации. Чем



# Иммунохимический тест на сифилис Elecsys® Syphilis

Качественный тест на суммарные антитела к *T. pallidum* в сыворотке и плазме человека

## Преимущества теста

Выявление общих антител к *T. pallidum*

- Выявление IgG и IgM антител к антигенам TrN15, TrN17 и TrN47

Высокая чувствительность и специфичность

- Минимизирован риск ложноотрицательных результатов

Экономическая эффективность

- Высокая специфичность сокращает количество повторных тестов
- Калибраторы входят в состав набора реагентов

Четкая интерпретация результата

- Однозначная граница между положительным и отрицательным результатом без «серой зоны»

**Малый  
объем образца**



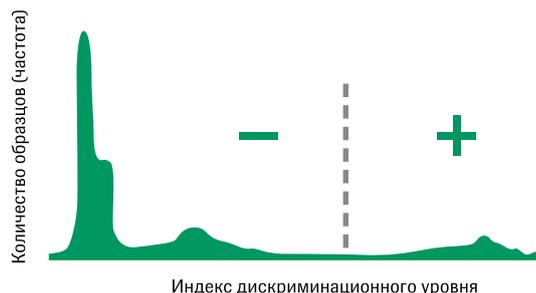
10 мкл

**Быстрое получение  
результата**



18 мин  
Elecsys®  
Syphilis

**Однозначная  
интерпретация**



COBAS и LIFE NEEDS ANSWERS являются товарными знаками компании Рош.

**cobas**®

Life needs answers

МАТЕРИАЛ ПРЕДНАЗНАЧЕН ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛИСТОВ

важнее вклад результатов лабораторного тестирования в принятие клинического решения, тем с большей ответственностью должно быть обеспечено качество этих результатов. В настоящее время произошли значительные прорывы в понимании механизмов, посредством которых вещества, эпизодически встречающиеся в образцах пациентов, могут обуславливать ложноположительные или ложноотрицательные результаты иммунных анализов, что способствует разработке коммерческих методов с улучшенной надежностью. Тем не менее сомнительные результаты, связанные с эндогенными источниками интерференции в аналитических образцах, периодически возникают. Они представляют уникальную и серьезную опасность для лечения пациентов, поскольку не обнаруживаются в ходе стандартных процедур

лабораторного контроля качества. Вызов со стороны нетипичных ошибок требует осознания совместной ответственности лабораторного и лечебного персонала за результаты тестов, особенно в тех случаях, когда лабораторные данные являются ключевыми для выбора клинического решения.

#### Список литературы

1. О. А. Клименкова, В. С. Берестовская, Г. А. Иванов, А. В. Эмануэль Опыт применения индекса гемолиза как индикатора преаналитического качества для иммунохимических исследований. Вестник Росздравнадзора, 2014. — № 3. — С. 33–38.
2. Barbesino G. Misdiagnosis of Graves' Disease with Apparent Severe Hyperthyroidism in a Patient Taking Biotin Megadoses. *Thyroid*. 2016; 26 (6): 860–863.
3. Grimsey P., Frey N., Bendig G., Zitzler J., Lorenz O., Kasapic D., Zaugg Ch. E. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin

serum levels and in vitro immunoassay interference. *Int. J. Pharmacokinet*. 2017; 2 (4): 247–256.

4. Kummer S., Hermsen D., Distelmaier F. Biotin Treatment Mimicking Graves' Disease. *N Engl J Med*. 2016; 375 (7): 704–706.
5. Madden M. M., DeBias D., Cook G. E. Market analysis of vitamin supplementation in infants and children: evidence from the dietary supplement label database. *JAMA Pediatr*. 2014; 168 (3): 291–292.
6. Plebani M. Quality in laboratory medicine: 50 years on. *Clinical Biochemistry*. 2017; 50: 101–104.
7. Plebani M. Analytical quality: an unfinished journey. *Clin Chem Lab Med*. 2018; 56 (3): 357–359.
8. Rautiainen S., Manson JE et al. Dietary supplements and disease prevention — a global overview. *Nat Rev Endocrinol*. 2016; 2 (7): 407–420.
9. Sturgeon C. M., Viljoen A. Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk. *Ann Clin Biochem*. 2011; 48 (Pt 5): 418–432.
10. Vogeser M., Seger Ch. Irregular analytical errors in diagnostic testing — a novel concept. *Clin Chem Lab Med*. 2018; 56 (3): 386–396.



**ФГАУ “НМИЦ нейрохирургии им. ак. Н. Н. Бурденко” Минздрава России**

**Научно-практическая конференция**

**НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ**

**ИССЛЕДОВАНИЯ В НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИ**

**12 - 13 апреля 2018 года**

Конференция посвящена 115-летию со дня рождения академика РАН В. С. Русинова

**Научная программа конференции**

1. Нейрофизиология стойких патологических очагов при поражении ЦНС
2. Новое в электрофизиологии эпилепсии
3. Неинвазивная стимуляция мозга
4. Функциональные и структурные связи головного мозга в обеспечении сознания и двигательной активности (Brain connectivity)
5. Нейромониторинг в неврологической и нейрохирургической практике
6. “Компенсаторные” доминанты в тактике нейрореабилитации
7. Ультразвуковые исследования в неврологии и нейрохирургии

**Адрес оргкомитета конференции:**  
125047, Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, д.16  
ФГАУ “НМИЦ нейрохирургии им.ак. Н.Н.Бурденко” Минздрава России  
лаборатория клинической нейрофизиологии, тел. 8-499-972-85-58  
e-mail: [neurophys@nsi.ru](mailto:neurophys@nsi.ru)

Министерство здравоохранения Российской Федерации  
Российская академия наук



НАЛПТМ  
НАЛРТМ



# XXII ФОРУМ «НАЦИОНАЛЬНЫЕ ДНИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ РОССИИ»

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

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ВЫСТАВКА  
«**ИНТЕРЛАБДИАГНОСТИКА – 2018**»

**19 – 21 сентября 2018 г.**  
**Москва, Даниловский Event Hall**  
(Москва, ул. Дубининская, д. 71, стр. 5)

[www.ndlm.ru](http://www.ndlm.ru)



+7 (495) 505-10-21  
+7 (495) 532-97-76

[mmaexpo@mma-expo.ru](mailto:mmaexpo@mma-expo.ru)  
[www.mma-expo.ru](http://www.mma-expo.ru)

# Определение диагностической ценности пробы жгута и выявления ранних IGG при развитии геморрагического синдрома лихорадки денге

Ю. А. Акиншина, микробиолог отдела перспективных разработок<sup>1</sup>

В. Ф. Ларичев, д.м.н., вед. научный сотрудник<sup>2</sup>

М. А. Сайфуллин, врач-инфекционист, зав. отделением<sup>3</sup>

С. Г. Марданлы, д.м.н., проф. кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин<sup>4</sup>, президент и директор по науке<sup>1</sup>, акад. АМТН, заслуженный работник здравоохранения России

<sup>1</sup>ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск, Московская область

<sup>2</sup>ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва

<sup>3</sup>ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва

<sup>4</sup>ГОУ ВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» Минобразования Московской области, г. Орехово-Зуево, Московская область

## Determination of diagnostic value of harbor sample and detection of early IGG in development of haemorrhagic dengue fever syndrome

Yu. A. Akinshina, V. F. Larichev, M. A. Saifullin, S. G. Mardarly

ECOlaboratory Co., Elektrogorsk, Moscow Region; Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology n.a. honorary academician N. F. Gamalei; Infectious Diseases Clinical Hospital № 1; State University of Humanities and Technology, Orekhovo-Zuevo, Moscow Region; Russia

### Резюме

С использованием тест-системы «ИФА-IgG-денге» были обследованы 106 сывороток крови 101 больного лихорадкой денге (ЛД). Из них на основании положительной пробы жгута 16 пациентам установлен диагноз «геморрагическая лихорадка денге» (ГЛД). Тромбоцитопения наблюдалась у 30 (35,3%) пациентов с классической формой ЛД и 9 (56,3%) пациентов с ГЛД. Однако разницы между уровнями тромбоцитов среди сывороток крови больных ЛД и ГЛД не выявлено. Обнаружение IgG-антител на ранней стадии заболевания в сыворотках как больных ГЛД, так и ЛД не подтверждает гипотезу о связи развития геморрагического синдрома с ранее перенесенной флавивирусной инфекцией. Мы не выявили связи между наличием тромбоцитопении у больных лихорадкой денге, ранним IgG к вирусу денге и положительным результатом пробы жгута.

Ключевые слова: лихорадка денге, геморрагическая лихорадка денге, тромбоцитопения, ИФА-IgG.

### Summary

106 blood sera from 101 patients with dengue fever were examined by ELISA-IgG-dengue kits. Among these patients, 16 patients were diagnosed with hemorrhagic dengue fever (DHF) on the basis of a positive tourniquet test. Thrombocytopenia was observed in 30 (35.3%) patients with DF and 9 (56.3%) patients with DHF. However, there were no differences between platelet levels in the sera of patients with DF and DHF. Detection of IgG antibodies at the early stage of the disease in the sera of both DHF patients and DF does not support the hypothesis of a connection between the development of hemorrhagic syndrome and the previously transferred flavivirus infection. We have not found a link between the presence of thrombocytopenia in patients with dengue fever, early anti-dengue IgG and a positive tourniquet test.

Key words: dengue fever, dengue haemorrhagic fever, thrombocytopenia, ELISA-IgM, ELISA-IgG.

### Введение

Лихорадка денге (ЛД) является арбовирусной инфекцией, распространенной в тропических и субтропических районах во всем мире [1, 2, 3]. В 2009 году ВОЗ была предложена классификация лихорадки денге по клиническому течению: классическая лихорадка денге (ЛД) и четыре степени геморрагической лихорадки денге (ГЛД), где 3-я и 4-я степени ГЛД — это шоковый синдром (ШСД) [4]. ГЛД является одной из ведущих причин смерти чаще всего среди детей [7]. Этиологически

лихорадка денге связана с четырьмя типами вируса денге, вызывающими клинически неразличимую инфекцию, а антитела против одного типа вируса денге не защищают от заражения другим [4, 8].

В последние годы в России наблюдается тенденция увеличения числа завозных случаев денге [4]. В этой связи возникает необходимость в раннем обнаружении признаков ГЛД среди больных классической денге с целью своевременной помощи и предотвращения развития ШСД.

ГЛД, по мнению многих авторов, связана с перенесенной ранее флавивирусной инфекцией, в основном с одним из четырех типов денге, и характеризуется увеличением проницаемости сосудов, что приводит к утечке плазмы, тромбоцитопении, кровотечению и развитию шока [6, 7, 9]. В рекомендациях ВОЗ в качестве диагностического критерия ГЛД наряду с симптоматикой классической ЛД указываются тромбоцитопения и положительная проба жгута, а также резкое увеличение количества специфических IgG-антител с первых дней болезни (в то время как



Таблица 2  
Результаты обследования сывороток больных ЛД и ГЛД в ИФА-IgG

№ сыворотки	Диагноз	День болезни	ИФА-IgG-денге		Результат пробы жгута
			Титр IgG	Количество тромбоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ )	
2095	ГЛД	5	200	126	+
2145			100	78	+
1185		6400	67	+	
2137		7	102400	53	+
2094		10	102400	83	+
1188	ЛД	3	3200	Нет данных	-
1199			25600	60	-
2099		5	800	84	-
2021			12800	58	-
2035		6	3200	183	-
1187			12800	157	-
2006			6400	100	-
2047		7	12800	142	-
2081			6400	119	-
1176			1600	58	-
2093	9	3200	102	-	

Среди сывороток крови больных ЛД и ГЛД разницы между уровнями тромбоцитов не выявлено. Количество тромбоцитов среди пациентов с классической ЛД составляло в среднем  $71 \times 10^9/\text{л}$ , а у больных ГЛД —  $65 \times 10^9/\text{л}$ .

По данным ВОЗ, динамика антигенов при ГЛД отличается от таковой при классической ЛД ранним образованием специфических IgG в крови больных [4]. В результате обследования сывороток в «ИФА-IgG-денге» ранние специфические IgG были обнаружены в пяти (из 16) сыворотках крови больных ГЛД. В двух пробах (№ 2095, 2145), взятых на пятый день заболевания, обнаружены IgG в низком титре, в остальных трех (№ 1185, 2137, 2094), взятых в более поздние сроки развития болезни, были обнаружены IgG в более высоком титре. Это соответствует картине антителиобразования, характерной для классической денге. Среди сывороток от пациентов с классической ЛД ранние IgG были обнаружены у 11 пациентов. В трех сыворотках (№ 1188, 1199, 2099) обнаружены IgG в высоком титре, что характерно для повторной инфекции денге (связанной с другим типом вируса денге). Две сыворотки из них взяты на пятый день болезни, одна — на третий (табл. 2).

В целом в 14 пробах, взятых с третьего по десятый дни болезни, обнаружены специфические IgG в высоком титре (1:800–1:102400). Из них

только у трех пациентов (№ 1185, 2137, 2094) наблюдались положительная проба жгута и тромбоцитопения. У трех (№ 1199, 2021, 1176) — только тромбоцитопения (табл. 2). Несмотря на то что IgG-антитела на ранних сроках болезни обнаруживаются в высоких титрах и у больных ГЛД и ЛД, при геморрагической денге их титры, возможно, могут достигать более высоких уровней (№ 2137, 2094).

### Заключение

В обследовании 240 детей в Дели в 1996 году, в котором проба жгута была использована для определения формы ЛД, он оказался положительным у 40% детей с классической ЛД, у 18% детей с ЛД, сопровождающейся нетипичными кровотечениями, у 62% с ГЛД и 64% с ШСД [11]. В другом исследовании с участием 172 тайских детей 36% пациентов с ЛД и 52% больных с ГЛД показали положительные результаты пробы жгута. Кроме того, таковые были установлены и у 21% детей с вирусной инфекцией другой этиологии [12]. Наши результаты согласуются с этими данными и указывают на недостаточную специфичность пробы жгута для диагностики ГЛД, так как не удалось установить связь между наличием тромбоцитопении у больных лихорадочной денге, ранних IgG к вирусу денге и положительным результатом пробы жгута.

Обнаружение IgG-антител на ранней стадии заболевания в сыворотках больных как ГЛД, так и ЛД говорит о том, что развитие геморрагического синдрома может быть не связано с ранее перенесенной флавивирусной инфекцией. В то же время очень высокие титры G-антител у больных ГЛД, возможно, свидетельствуют в пользу того, что эти антитела вовлечены в механизм развития геморрагического синдрома денге.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. J. L. Deen, E. Harris, B. Wills, A. Balmaseda, S. N. Hammond, C. Rocha, et al. The WHO dengue classification and case definitions: time for a reassessment. *Lancet*; 2006; 368: 170–173.
2. D. M. Morens, A. S. Fauci. Dengue and hemorrhagic fever: a potential threat to public health in the United States. *Jama*; 2008; 299: 214–216. doi: 10.1001/jama.2007.31-a.
3. S. A. Kularatne. Dengue fever. *Bmj*; 2015; 351: h4661 doi: 10.1136/bmj.h4661.
4. WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. 2009. ISBN 978-9-241547-87-1.
5. Ларичев В. Ф., Сайфуллин М. А., Акиншина Ю. А., Хуторецкая Н. В., Бутенко А. М. Завозные случаи арбовирусных инфекций в Российской Федерации. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2012; 1: 35–9.
6. B. T. Teoh, S. S. Sam, K. K. Tan, J. Johari, M. H. Shu, M. B. Danlami et al. Dengue virus type 1 clade replacement in recurring homotypic outbreaks. *BMC Evol Biol.* 2013; 13: 213.
7. M. G. Guzman, M. Alvarez, S. B. Halstead. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: an historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch Virol.* 2013; 158 (7): 1445–59. doi: 10.1007/s00705-013-1645-3.
8. S. B. Halstead. Dengue hemorrhagic fever: Two infections and antibody dependent enhancement, a brief history and personal memoir. *Revista Cubana de Medicina Tropical.* 2002; 54: 171–179.
9. N. T. Huy, T. V. Giang, D. H. Thuy, M. Kikuchi, T. T. Hien, J. Zamora. Factors Associated with Dengue Shock Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013; 7 (9): e2412.
10. Meegan J. M., J. W. Le Duc. Enzyme immunoassay. In: *Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome. WHO Collaborating center for virus Reference and Research (HFRS)*. Institute for viral Diseases, Korea University, Seoul (Ho Wang Lee, J. M. Dalrymple, eds.); 1989: 83–87.
11. S. K. Kabra, Y. Jain, R. M. Pandey, Madhulika, T. Singhal, P. Tripathi et al. Dengue haemorrhagic fever in children in the 1996 Delhi epidemic. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1999; 93 (3): 294–8.
12. S. Kalayanaroaj, D. W. Vaughn, S. Nimmanitya, S. Green, S. Suntayakorn, N. Kunentrasai et al. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *J Infect Dis.* 1997; 176 (2): 313–321.





# IV РОССИЙСКИЙ КОНГРЕСС ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ

3-5 ОКТЯБРЯ 2018

МОСКВА

ВДНХ, ПАВИЛЬОН 75

## 8000 СЛУШАТЕЛЕЙ

Более **300 ДОКЛАДЧИКОВ** российских и иностранных  
Более **150 КОМПАНИЙ-УЧАСТНИКОВ** – ведущих российских  
и зарубежных производителей и поставщиков лабораторного  
оборудования и расходных материалов

Свыше **50 НАУЧНЫХ СЕКЦИЙ**

### ТРАДИЦИОННЫЕ ФОРУМЫ

- День сепсиса
- Клиническая цитология
- Этиология, диагностика и профилактика инфекционных заболеваний
- Лабораторная диагностика социально значимых инфекций
- Обращение медицинских изделий in vitro
- Экономика и организация лабораторной службы
- Медицина 5П
- Молекулярно-генетическая лабораторная диагностика в онкологии

### НОВЫЕ ТЕМАТИЧЕСКИЕ НАПРАВЛЕНИЯ

- Цифровая медицина. Big data и системы поддержки врачебных решений
- Стандартизация и гармонизация – путь к сопоставимости результатов исследований. Где мы сейчас?
- Хромато-масс-спектрометрия – ключ к решению сложных диагностических задач
- Мужское здоровье и новые маркеры в клинической практике уролога

### КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ КОНФЕРЕНЦИИ

Лабораторная диагностика в клинической практике:

- Кардиология
- Эндокринология
- Гематология
- Урология
- Дерматовенерология
- Орфанные заболевания

### IV МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА «ЛАБОРАТОРНЫЙ ГОРОД»

- ПОСТЕРНАЯ ЗОНА
- ГАЛЕРЕЯ ART LAB – специальные арт-зоны (музей, художественные выставки)
- ФОТОВЫСТАВКА «Израиль глазами российских лабораторных работников», «Лабораторный город и его жители»
- МУЗЫКА И ИСКУССТВО

### СПЕЦИАЛЬНЫЕ ПРОЕКТЫ

- ДЕНЬ ИЗРАИЛЯ
- ПРЕМИЯ В ОБЛАСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ им. В. В. МЕНЬШИКОВА
- КОНКУРС ДЛЯ ЖУРНАЛИСТОВ «СПЕКТР»



# XI



Под патронатом:

Департамента здравоохранения города Москвы

Организаторы:

- НИИ организации здравоохранения и медицинского менеджмента Департамента здравоохранения города Москвы
- Российская Ассоциация медицинской лабораторной диагностики
- Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины»
- Общероссийская общественная организация «Научно-практическое общество специалистов лабораторной медицины»
- Национальная ассоциация лабораторной, персонализированной и трансляционной медицины (НАЛПТМ)

МОСКВА | ЗДАНИЕ ПРАВИТЕЛЬСТВА МОСКВЫ | 24–25 МАЯ 2018

МЕЖДУНАРОДНАЯ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

## СОВРЕМЕННАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ МЕДИЦИНА: ЭФФЕКТИВНОСТЬ, ДОСТУПНОСТЬ, КАЧЕСТВО.

### ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ:

- Перспективы развития лабораторной службы города Москвы (организация работы, логистика, порядок финансирования лабораторной службы на современном этапе)
- Решение проблем по взаимодействию лабораторий различного уровня
- Материально-техническое обеспечение деятельности лабораторной службы (состояние и возможности парка аналитического и преаналитического оборудования, обеспечение заявочных компаний, контроль за рациональным использованием реактивов и расходных материалов)
- Организация деятельности лабораторной службы стационаров.
- Обсуждение изменений в номенклатуре лабораторных исследований.
- Перспективы и проблемы внедрения и тиражирования «Централизованного лабораторного сервиса» (ЦЛС) «Единой медицинской информационной автоматизированной системы» ЕМИАС.
- Создание единого информационного пространства лабораторной службы города Москвы.
- Действующие нормы права для информационных систем в лабораторной медицине.
- Обеспечение качества лабораторных исследований: внутрилабораторный контроль качества, новые направления в системах внешней оценки качества, анализ участия лабораторий Москвы в ФСВОК.
- Внедрение СМК, организация работы лабораторий в системе ISO 15189
- Обеспечение деятельности лабораторий по диагностике социально опасных инфекционных заболеваний (результаты работы, проблемы и пути их решения).
- Организация выполнения скрининговых и подтверждающих (референсных) лабораторных исследований социально значимых инфекционных заболеваний в городе Москве (результаты работы, проблемы и пути их решения).
- Опыт организации выполнения специализированных, редких дорогостоящих и высокотехнологичных лабораторных исследований в городе Москве.
- Новые диагностические возможности и роль лабораторной службы в профилактике и своевременном выявлении различных заболеваний.
- Взаимодействие лабораторной службы с другими медицинскими специальностями.
- Составление годовых отчетных форм по деятельности лабораторной службы медицинских организаций города Москвы, итоги сдачи за 2017г., обсуждение часто допускаемых ошибок.
- Взаимодействие лабораторной службы и фонда ОМС, опыт города Москвы.
- Взаиморасчеты по тарифам ОМС между медицинскими организациями разного типа (стационарных, поликлинических, бюджетных, казенных).

#### Конгресс-оператор:

**KST**  
interforum

ООО «КСТ Интерфорум»,  
г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 57  
Тел.: +7 (495) 722-64-20  
mail@interforum.pro

#### Место проведения:

г. Москва, Здание Правительства Москвы,  
Новый Арбат, д. 36



XXIII Всероссийская  
научно-практическая конференция  
с международным участием

# Традиции и новации клинической лабораторной диагностики

20–22 марта 2018 года

Москва, МВЦ «Крокус Экспо»

[www.mediexpo.ru](http://www.mediexpo.ru)

КОНГРЕСС-ОПЕРАТОР  МЕДИ Экспо

## СТОИМОСТЬ УЧАСТИЯ

Регистрационный взнос	Стоимость, включая НДС 18%
<b>РАННИЙ</b> (при оплате до 30.12.2017)	500 Р
<b>ПОЗДНИЙ</b> (при оплате с 31.12.2017 по 06.03.2018)	1 000 Р
<b>ПРИ ОПЛАТЕ НА МЕСТЕ</b>	2 000 Р
<b>Для аспирантов, ординаторов, студентов, интернов</b> (при предъявлении удостоверения, без портфеля, без сертификата)	бесплатно
<b>Тезисы принимаются до 10 февраля 2018 г.</b> на электронную почту: <a href="mailto:kafedra-kdl@list.ru">kafedra-kdl@list.ru</a> и <a href="mailto:vvdolgov@inbox.ru">vvdolgov@inbox.ru</a>	

Заявка по учебному мероприятию представляется в Комиссию по оценке учебных мероприятий и материалов для Непрерывного медицинского образования (НМО) о соответствии установленным требованиям Координационного совета по развитию непрерывного медицинского и фармацевтического образования Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Регистрация участников  
Мария СИЗОВА  
[reg@mediexpo.ru](mailto:reg@mediexpo.ru)  
тел. +7 [495] 721-88-66 (доб. 111)  
моб. +7 [929] 646-51-66

Бронирование гостиниц,  
заказ авиа и ж/д билетов,  
экскурсии  
[hotel@mediexpo.ru](mailto:hotel@mediexpo.ru)  
тел. +7 [495] 721-88-66 (доб. 119)

Менеджер проекта  
Анастасия КНЯЗЕВА  
[knyazeva@mediexpo.ru](mailto:knyazeva@mediexpo.ru)  
тел. +7 [495] 721-88-66 (доб. 112)  
моб. +7 [903] 718-41-83

Менеджер по работе с клиентами  
Екатерина ГУДЗЬ  
[ekaterina@mediexpo.ru](mailto:ekaterina@mediexpo.ru)  
тел. +7 [495] 721-88-66 (доб. 118)  
моб. +7 [926] 912-91-28



## ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ОРГКОМИТЕТА

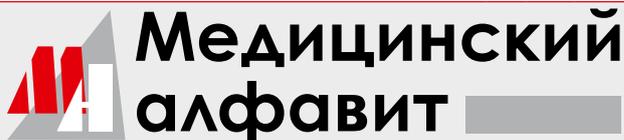
ДОЛГОВ  
Владимир Владимирович,  
Доктор медицинских наук,  
профессор

## УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Приглашаем вас и ваших коллег к участию в XXIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и новации клинической лабораторной диагностики»!

За последние несколько лет произошли существенные изменения организационных форм, технологических основ, системы подготовки кадров как в медицине в целом, так и в клинической лабораторной диагностике, в частности. Мы являемся свидетелями перехода от бюджетного на хозрасчетное здравоохранение, от структурированного лабораторного исследования – к аутсорсингу; от ручного труда – к автоматизации лабораторных исследований, внедрения высокочувствительных лабораторных исследований и перехода традиционных лабораторных тестов в категорию предварительных или скрининговых. Значительные изменения претерпевает система подготовки и переподготовки врачей с внедрением новых образовательных стандартов, системы непрерывного образования, аккредитации специалистов. Такие серьезные инновации требуют серьезного обсуждения и формирования стратегии развития специальности с учетом традиций, которые наработаны медицинской специальностью клинической лабораторной диагностики и сформированной и активно работающей лабораторной службой страны.

## БЛАНК-ЗАКАЗ на подписку на журнал 2018 год



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 3010181040000000225 БИК 044525225
Кассир	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2018 год (наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____ Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____
	Квитанция
Кассир	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 3010181040000000225 БИК 044525225
Кассир	Годовая подписка на журнал «Медицинский алфавит. _____» на 2018 год (наименование платежа) Дата _____ Сумма платежа _____ Плательщик (подпись) _____ Адрес доставки: _____

### Как подписаться

1. Заполнить прилагаемый бланк-заказ и квитанцию об оплате. 2. Оплатить квитанцию в любом отделении Сбербанка у кассира с получением кассового чека. Журналы высылаются по указанному в квитанции или бланке адресу. 3. Отправить бланк-заказ и скан квитанции с кассовым чеком, выданным кассиром банка на e-mail: medalfavit\_pr@bk.ru, или podpiska.ma@mail.ru. Оплата через банки-онлайн издательством временно не принимается и будет возвращена на Ваш счет.



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!*

## **ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ:**

**НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ, ДИАГНОСТИКУМЫ  
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ КЛАССА М И G  
К ТРЕПОНЕМА PALLIDUM  
В РЕАКЦИИ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ**

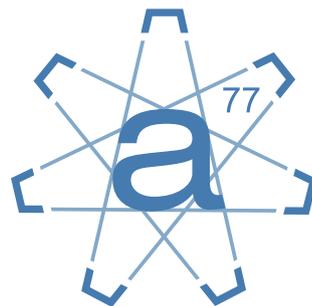
РУ № РЗН 2013/247

ОТ 28.02.2013

**«АНТИПАЛЛИДУМ-ФЛЮОРОГЕН IGG»**

**«АНТИПАЛЛИДУМ-ФЛЮОРОГЕН IGM»**

# СОВРЕМЕННЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ



АСТРА-77

Тел.: +7 495 925 77 59

E-mail: info@astra77.ru

[www.astra77.ru](http://www.astra77.ru)



## Пробирки BD Vacutainer® без этикеток\* — оптимальное решение для высокопоточных КДЛ

- Размещение наклеек со штрих-кодом без утолщения пробирки
- Легкость визуального контроля объема и качества образцов
- Расширенные возможности ручной маркировки

\* Характеристики пробирки напечатаны на её корпусе.

