Объем крови (0,5 мл) достаточен для проведения гематологических исследований на анализаторе, а объёмы от 1,8 до 6 мл крови – для коагулологических и биохимических исследований.

Утилизация отработанных вакуумных систем основывается на МУ 3.1.2313-08.3.1. «Профилактика инфекционных заболеваний. Требования к обеззараживанию, уничтожению и утилизации шприцев инъекционных однократного применения». В случае использования пробирок с не прокалываемыми крышками, пробирки после исследования закрываются и помещаются в пакеты для отходов группы «Б» (желтые), затем помещаются в контейнеры для отходов этой же группы. Дальнейшая утилизация возможна двумя путями: перевод отходов в безопасные (группа А) или передача для уничтожения в специальные компании. Иглы после дезинфекции в плотных пластиковых контейнерах подвергаются деструкции в специальных устройствах. Использование многоразовых держателей «Пронто» позволяет уменьшить объем образующихся отходов.

С.Н. Ковалевская, Л.А. Хоровская, Н.Г. Петрова. **Международный анализ процедуры взятия крови из вены – перспективы совершенствования преаналитического этапа лабораторных исследований.** ГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Минздрава РФ

Процедура взятия крови из вены (флеботомия) для клинических лабораторных исследований является актуальным вопросом преаналитического этапа лабораторного процесса.

Цель исследования – изучение вопросов организации процедуры флеботомии, выполняемой медицинским персоналом с различным уровнем образования и специализации в 28 странах Европейского Союза и России, входящих в состав Европейской Федерации по клинической химии и лабораторной медицине (EFLM). В задачи исследования входили анализ образования и навыков персонала при взятии крови из вены и наличие национальных руководств по выполнению флеботомии. Исследование проводилось членами рабочей группы по преаналитическому этапу (EFLM WG-PA) с апреля по август 2012 г. методом социологического опроса.

Результаты проведенного исследования показали, что только в 7 странах (25%) имеются национальные руководства по флеботомии, однако они не содержат ответа на вопрос, контролирует ли лаборатория качество этой процедуры. 75% участников (21 страна) проявили интерес к созданию национальных руководств по взятию крови. От 5 до 10% венепункции выполнялись специалистами по флеботомии, от 45 до 66% – медицинскими сестрами, от 10 до 32% – лабораторными технологами. Только в 10 из 28 стран имеются специальные обучающие программы по флеботомии.

Проведенное международное исследование показало необходимость разработки национальных руководств по взятию крови из вены и совершенствования программ по обучению флеботомии с выдачей квалификационных сертификатов.

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ДИАГНОСТИКИ И МОНИТОРИНГА НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

А. В. Тимофеев. **Экспресс-измерения глюкозы в медицинских учреждениях: аналитические и клинические проблемы.** Институт молекулярной медицины ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова

Экспресс-измерения уровней глюкозы в крови можно разделить на лабораторные и внелабораторные (англ. point-of-care или bedside). Первые проводятся в КДЛ на стационарных приборах, вторые – непосредственно на месте оказания медицинской помощи с применением глюкометров и соответствующих тест-полосок. Внелабораторные измерения абсолютно необходимы больным сахарным диабетом и больным с иными заболеваниями, находящимся в неотложных состояниях, но могут требоваться и в других клинических ситуациях. Главное преимущество внелабораторных измерений – очень быстрое получение результата, что позволяет врачу мгновенно откорректировать тактику лечения. Главный недостаток внелабораторных измерений – их аналитические параметры. Например, для эталонного лабораторного экспресс-анализатора глюкозы YSI Life Sciences 2300 (США) правильность составляет 98,5%, а воспроизводимость и сходимость не превышают 2,5%. У лучших же глюкометров правильность не превышает 90%, а воспроизводимость и сходимость колеблются от 7 до 15%.

При внелабораторных измерениях глюкозы возникает и серьезная клиническая проблема: повышается вероятность передачи больничных инфекций. Так, инфицирование вирусом гепатита В в стационарах примерно в 4% случаев происходит при внелабораторных измерениях глюкозы.

За последние годы были разработаны специализированные портативные системы для внелабораторных измерений глюкозы. По аналитическим характеристикам эти системы приближаются к лабораторным анализаторам и имеют ряд элементов, снижающих вероятность передачи больничных инфекций.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ПРОБЛЕМЕ

И.Л. Алимова[1], Т.В. Меренкова[2]. **Лабораторные и инструментальные методы контроля гликемии у подростков с сахарным диабетом, обоснование выбора в клинической практике.** [1]ГБОУ ВПО Смоленская государственная медицинская академия Минздрава России; [2]ОГБУЗ Смоленская областная детская клиническая больница

Цель – оценить возможности лабораторных и инструментальных методов контроля углеводного обмена у подростков, больных сахарным диабетом 1 типа.

Обследовано 28 пациентов в возрасте 12-17 лет, больных сахарным диабетом 1 типа. Уровень гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) определяли методом флюоресценции (анализатор Quo-Test), гликемии – глюкозооксидазным методом (анализатор Biosen S_line). Суточное мониторирование гликемии проводилось на системе CGMS (Medtronic Minimed). Все пациенты были распределены на 2 группы: 1-я группа- 10 больных с уровнем HbA_{1c} < 9% (компенсация, субкомпенсация), 2-я группа- 18 больных с уровнем HbA_{1c} > 9% (декомпенсация). Результаты представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей.

Средний уровень HbA_{1c} в 1-й группе составил 8,06% [7,12; 8,87], во 2-й группе - 11,21% [10,07; 13,14] (p = 0,027). Анализ гликемического профиля показал отсутствие статистически значимых различий в показателях тощаковой, препрандиальной и ночной гликемии, однако выявил превышение уровня постпрандиальной гликемии у пациентов 2-й группы по сравнению с 1-й группой (12,69 ммоль/л [11,27; 14,54] и 10,16 ммоль/л [9,27; 11,04], p = 0,043). По данным CGMS, уровень среднесуточной и ночной гликемии, процент времени гликемии более 11 мммоль/л и менее 4 ммоль/л, тощаковой, пре- и постпрандиальной гликемии статистически значимо между группами не различались. Вместе с тем, стандартное отклонение колебаний гликемии (4,3 ммоль/л [2,4; 4,9] и 2,4 ммоль/л [1,6; 3,2], p = 0,047), среднее количество экскурсии гликемии выше 11 ммоль/л или ниже 4 ммоль/л (2,7 [2,1; 3,9] и 1,6 [0,8; 2,7] ммоль/л, p = 0,039) за сутки оказались

значительно выше у пациентов 2-й группы по сравнению с 1-й группой.

Использование системы постоянного мониторирования гликемии в дополнение к лабораторным методам позволяет изучить индивидуальные особенности углеводного метаболизма у каждого конкретного пациента и соответственно подобрать адекватную инсулинотерапию.

Т.П. Бондарь[1], Е.В. Печенкин[2], С.А. Петровский[1]. **Исследование гемореологических показателей при осложненном сахарном диабете.** [1]ФГАОУ ВПО Северо-кавказский федеральный университет; [2]ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный медицинский университет

Причиной летального исхода при сахарном диабете являются его осложнения. У больных сахарным диабетом при развитии осложнений в результате ряда исследований установлены особенности гемодинамики, такие как наличие повышенной вязкости крови и усиления агрегация тромбоцитов.

Цель работы – оценка целесообразности комплексного лабораторного изучения показателей текучести крови при развитии осложнений сахарного диабета 2 типа. Под наблюдением находились 76 больных (44 мужчины и 32 женщины в возрасте от 38 до 62 лет) с сахарным диабетом типа II, поступивших в хирургическое отделение МБУЗ 3-я городская клиническая больница Ставрополя в 2012 г. У всех пациентов имелись выраженные клинические осложнения в виде инфицированных форм синдрома диабетической стопы, из них 58 с нейроишемическими и 18 с нейропатическими формами и гипергликемией от 7,2 до 19,4 ммоль/л. Всем больным проводилось комплексное консервативное и хирургическое лечение. Определение агрегации эритроцитов проводили на агрегометре эритроцитов типа МА1 («Myrenne», Германия). Установлено, что при гипергликемии с наличием сосудистых осложнений происходит ускорение образования агрегатов эритроцитов (при СД на 30-40% при СД с сосудистыми осложнениями почти в 2 раза). Элонгация мембран эритроцитов, исследованная на анализаторе деформабельности эритроцитов («Myrenne», Германия), изменялась при всех режимах давления. Вязкость плазмы крови у больных сахарным диабетом при наличии осложнений повышалась. Выявлено повышение концентрации фибриногена до 5,89 ± 0,41 г/л. Таким образом, проведенное исследование демонстрирует необходимость оценки ряда лабораторных показателей, характеризующих биофизические механизмы нарушения организации эритроцитов, текучести крови, изменения уровня фибриногена, в условиях гипергликемии и наличия сосудистых осложнений. Установлено, что при наличии сахарного диабета с сосудистыми осложнениями эритроциты характеризуются большей способностью к образованию агрегатов и изменению свойств клеточных мембран, снижению параметров, характеризующих способность эритроцитов к деформации, что связано с повышением доли гликированного гемоглобина. Вероятно, связанное с этим затруднение кровообращения в капиллярах и изменение давления в них стимулируют утолщение базальной мембраны, ведут к снижению коэффициента диффузионной доставки кислорода к тканям, т. е. функционально аномальные эритроциты играют триггерную роль в развитии диабетической ангиопатии.

О.Н. Ветчинникова, Р.С. Тишенина, Л.Н. Новосельцева. **Информативность определения $HbA_{1c,}$ глюкозы у больных сахарным диабетом с хронической почечной недостаточностью, находящихся на амбулаторном перитонеальном диализе.** ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва

Цель исследования – анализ информативности показателей HbA_{1c} в крови в зависимости от содержания мочевины, гемоглобина с параллельным исследованием глюкозы у больных СД-1, 2-го типов с ХПН, находящихся на постоянном амбулаторном перитонеальном диализе (ПД).

Обследовано 40 пациентов (17 мужчин, 23 женщины) в возрасте 43 ± 15 лет, СД1-25, СД2-15.У всех пациентов ХПН развилась вследствие диабетической нефропатии. Больные СД1 находились на инсулинотерапии, СД2 – на пероральных сахароснижающих препаратах в комбинации с инсулинами. ПД проводили с использованием раствора фирмы «Вахтер» (дианил с содержанием глюкозы 1,36; 2,27; 3,86%).

В крови, взятой в пробирку с ЭДТА, определяли показатели HbA_{1c} референсным методом ВЭЖХ на анализаторе Д-10 («Bio-Rad»), гемоглобин на анализаторе Petntra 60, глюкозу, мочевину на анализаторе «Bayer». Показатели HbA_{1c} определяли каждому пациенту с интервалом 2–4 мес от 2 до 7 раз, в эти же сроки определяли гемоглобин, мочевину и глюкозу.

По среднестатистическим показателям **с**одержание HbA1c у больных СД1 и СД2 практически одинаково (СД1 – 94 определения, 8,29 ± 0,14%; СД2 – 36 определений, 7,89 ± 0,3%, $p > 0,5$), не установлено достоверных различий при исследовании содержания глюкозы (СД1 – 11,3 ± 0,93 ммоль/л, СД2 – 9,8 ± 0,79 ммоль/л, $p > 0,5$). У одного и того же пациента в отличие от показателей HbA_{1c} показатели глюкозы в крови колебались более резко (особенно у больных СД1). На протяжении наблюдения в компенсированном состоянии (уровень HbA_{1c} менее 7%) находилось 4 пациента с СД2 и 1 пациент с СД1, в субкомпенсированном - по 2 пациента, у остальных больных СД декомпенсирован. Не установлено влияния концентрации мочевины и гемоглобина в крови на показатели HbA_{1c} (при уровне гемоглобина 83,3 ± 2,31 г/л показатель HbA_{1c} 8,17 ± 0,22%, при уровне гемоглобина 116,94 ± 0,77 г/л – HbA_{1c} 8,18 ± 0,16%). Колебания показателей содержания глюкозы и HbA_{1c} в разные сроки обследования одного и того же пациента могут быть обусловлены несколькими причинами: состоянием пациента, особенностями его питания в отдельные периоды года, разными сроками обследования пациентов после приема пищи.

Выводы. 1. У больных СД с ХПН, находящихся на амбулаторном ПД, не установлено влияния изменений концентрации гемоглобина и мочевины на показатели $HbA_{1c.}$ 2. При неоднократном исследовании HbA_{1c} и глюкозы в одни и те же сроки показатели HbA_{1c} изменялись менее резко по сравнению с показателями глюкозы. 3. Для оценки степени нарушения углеводного обмена у больных сахарным диабетом, находящихся на постоянном амбулаторном перитонеальном диализе, исследование показателя HbA_{1c} – более надежный тест по сравнению с содержанием глюкозы в крови.

А.Н. Лебедева, В.С. Демидова, А.Ш. Кучейник, О.В. Медова, В.В. Казённов, М.Н. Шишкин. **Выбор оптимального способа коррекции гликемии для улучшения гликемического контроля в раннем послеоперационном периоде у пациентов после тотальной дуоденумпанкреатэктомии.** ФГБУ Институт хирургии им. А.В. Вишневского Минздрава России, Москва

Цель работы – сравнение способов коррекции гликемии в периоперационном периоде у пациентов после тотальной дуоденопанкреатэктомии системой Guardian Real-Time и ежечасным измерением глюкозы крови.

Тотальная дуоденумпанкреатэктомия (ТДПЭ) была проведена 31 пациенту. В среднем возраст составил 55,56 ± 5,4 года, индекс массы тела – 25,98 ± 5,48 кг/м². При гистохимическом исследовании выявлено: аденокарцинома разной дифференцировки; серозная цистаденома с тотальным поражением ПЖ, множественные нейроэндокринные карциномы ПЖ (в структуре МЭН1), внутрипротоковая папиллярно-муцинозная карцинома главного панкреатического протока. Пациенты в раннем послеоперационном периоде находились на ИВЛ. Им вводили внутривенно через перфузор инсулин, парентеральное питание и инфузионные растворы. 14 пациентам в течение 3–12 дней проводили мониторирование уровня глюкозы системой Guardian Real Time («Medtronic») в заданном диапазоне от 6–8 ммоль/л. Катетер, соединенный с прибором, устанавливался подкожно, глюкоза определялась глюкозооксидазным методом в межклеточной жидкости каждые 10 с и усредненные результаты отражались на дисплее в реальном времени. У других 17 пациентов глюкозу определяли в цельной капиллярной крови глюкозооксидазным методом лабораторным прибором «СтатСтрип Экспресс Глюкоза» 1 раз в час по протоколу ведения пациентов в отделении реанимации без использования системы «Guardian Real Time». Целевые показатели гликемии в этой группе были в пределах 6–10 ммоль/л. Инсулин короткого действия вводили при гликемии ≥ 8 ммоль/л внутривенно через перфузор.

На фоне мониторирования уровня глюкозы устройством Guardian Real Time у 14 пациентов суммарное введение инсулина составило от 86 до 130 ед. в сутки. Скорость подачи инсулина через перфузор была неравномерной и составила 0,5–6 ед/ч. У 17 пациентов при мониторировании глюкозы без устройства Guard-

ian Real Time за сутки вводилось суммарно около 100 ед. (80–120 ед) инсулина короткого действия. Скорость введения инсулина через перфузор корректировалась ежечасно и составила от 1 до 8 ед/час. При определении гликемии 1 раз в час в период наблюдения уровень глюкозы крови достигал 13–18 ммоль/л у 100% пациентов. В общем анализе мочи определялась гликемия от 2,8 до 56 ммоль/л практически у всех больных. Кетоз (1,5 ммоль/л) наблюдали у 8 из 17 пациентов. Тенденция к снижению гликемии ниже 4 ммоль/л отмечалась у 6 из 17 пациентов, однако эпизоды гипогликемии не отмечены.

В раннем послеоперационном периоде после ТДПЭ для контроля гликемии возможно применение и системы Guardian Real Time, и ежечасного определения глюкозы лабораторным методом. Однако контроль устройством Guardian Real Time имеет ряд существенных преимуществ: 1) система Guardian Real Time регистрирует в режиме реального времени уровень глюкозы, позволяет придерживаться жёсткого контроля гликемии (гликемии 6–8 ммоль/л) без риска развития гипо- и гипергликемии у пациентов в раннем послеоперационном периоде; 2) система Guardian Real Time позволяет безопасно для пациента вводить парентерально адекватную дозу инсулина; 3) система Guardian Real Time позволяет объективно оценивать уровень гликемии, предупреждать сигналом гипо- и гипергликемию, позволяет обоснованно усиливать внутривенное введение инсулина при нарастающей гипергликемии.

МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПО ПРЕДСТАВЛЕННЫМ ТЕЗИСАМ РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В.А. Агафонов. **Способ фокусировки объектива микроскопа на жидкостный слой нативного препарата.** ФГБУ Институт хирургии им. А.В. Вишневского Минздрава России, Москва

В клинической цитологии часто возникает необходимость микроскопического исследования жидкости, заключенной между предметным и покровным стеклом нативного препарата. Это имеет прямое отношение к исследованию содержимого кист для обнаружения в них сколексов или крючьев эхинококка. Сложность заключается в том, что кистозная жидкость часто бывает прозрачной. Поэтому нельзя быть уверенным, что вы сфокусировали объектив микроскопа именно на жидкостный слой препарата. Отсюда возможна ошибка, приводящая к ложноотрицательному ответу. Для исправления этой ситуации необходимо подмешать в исследуемую жидкость материал, на который легко можно фокусировать объектив микроскопа. Таким удобным материалом являются эритроциты. Они мелкие, мономорфные, не дают бликов, привычны для глаза врача, не отвлекают внимания и их можно получить в большом количестве, а хранить в небольшом объёме. Для предотвращения лизиса эритроцитов при хранении их необходимо законсервировать. Предлагается следующий способ консервации. К эритроцитам, обработанным стабилизатором крови, например цитратом натрия, добавляют формалин в 0,1 М фосфатном буфере, pH 7,3. Полученную смесь встряхивают и центрифугируют при 1500 об/мин 10 мин, надосадочную жидкость сливают. Затем эритроцитную массу встряхивают во второй порции забуференного формалина и оставляют на 30 мин. Фиксированные эритроциты таким же способом дважды отмывают буфером. Затем эритроциты дофиксируют глутаральдегидом. Бифункциональные молекулы глутаральдегида «сшивают» молекулы гемоглобина, но не могут привести к агрегации эритроцитов после обработки формалином. Для этого к осажденным эритроцитам добавляют 3% раствор глутаральдегида в 0,1 М фосфатном буфере, pH 7,3. Смесь встряхивают и центрифугируют. Надосадочную жидкость сливают и к осадку добавляют новую порцию раствора глутаральдегида. Смесь снова встряхивают и выдерживают 60 мин. Затем смесь дважды отмывают вышеуказанным буфером. В полученную эритроцитную массу добавляют несколько кристалликов тимола и хранят в холодильнике. Эритроциты забирают стеклянной палочкой и переносят в доставленную для исследования жидкость. Способ также полезен при выявлении микобактерий туберкулёза по Цилю-Нельсену в препаратах, приготовленных из бронхиального смыва. Эритроциты добавляют в смывную жидкость, в итоге на препаратах центрифугата они обозначают плоскость, в которой могут находиться микобактерии.

Е.Е. Ануфриева, В.В. Красицкая, М.А. Суховольская, Т. Н. Субботина, И.А. Ольховский. **Определение мутации С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы методом ферментативного удлинения аллельспецифичного праймера с двойной биолюминесцентной детекцией (PED-Биолюм).** Сибирский федеральный университет; Институт биофизики СО РАН; Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России; КНЦ СО РАН, Красноярск

Для выявления мутации С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР) используют различные молекулярно-генетические методы анализа. В качестве альтернативного варианта предложена аналитическая технология, основанная на ферментативном удлинении аллельспецифичного праймера (primer extension reaction, PEXT-реакция) с последующей детекцией продуктов реакции с помощью биолюминесцентных меток на основе кальцийзависимых фотопротеинов (PED-Биолюм).

Цель настоящей работы – апробация и оценка аналитических и экономических характеристик разработанного одновременного метода PED-Биолюм в практике рутинного лабораторного тестирования.

Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови проводили с использованием комплекта реагентов «РИБО-преп» («Амплисенс»). Для тестирования выделенных образцов методом PED-Биолюм отобраны 29 образцов ДНК клинически здоровых доноров. В качестве теста сравнения использовался коммерческий набор «Пироскрин» («Амплисенс») с детекцией методом пиросеквенирования на приборе PyroMarkQ24 («Qaigen»), по результатам которого 12 из выбранных проб имели нормальный генотип (СС), 6 – гетерозиготный (СТ) и 11 – гомозиготы по мутантному аллелю (ТТ).

При сравнении результатов тестирования выбранных образцов с использованием технологий «Пироскрин» и PED-Биолюм не выявлено ни одного случая расхождения. Показано, что предложенный подход представляет собой простой в исполнении, эффективный и относительно недорогой метод определения однонуклеотидного полиморфизма С677Т в гене МТГФР. Метод PED-Биолюм не отличается от коммерческого метода «Пироскрин» по способности выявления нормального и мутантного аллелей и не уступает по параметрам экономической эффективности использования.

А.В. Барон, Ю. Ботвич, А.П. Пузырь, И.А. Ольховский, В.С. Бондарь. **Модифицированные наноалмазы детонационного синтеза как основа для новых средств иммунодиагностики.** Институт биофизики СО РАН; Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России; КНЦ СО РАН, Красноярск

Ранее мы показали возможность конструирования систем для многократного измерения уровня глюкозы и холестерина в биологических образцах на основе комплекса ферментов и модифицированных наноалмазов (МНА) взрывного синтеза (Diam. Relat. Mater. 2007, V.16, P.2124-2128; ДАН 2011, Т.439, С.560-562; ДАН 2013, Т.448, С.722-725). В недавних экспериментах нами установлена способность частиц МНА к избирательному связыванию сывороточных белков гамма-фракции (Клиническая лабораторная диагностика, 2013 - в печати).

Цель исследования – изучение эффективности адсорбции частицами МНА иммуноглобулинов отдельных классов. Образцы сыворотки крови пациентов обрабатывали МНА (финальная концентрация наночастиц 5 г/л), после чего частицы с адсорбированными белками удаляли центрифугированием. Концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке до и после обработки МНА