

**Ставропольская государственная медицинская академия
Министерство здравоохранения Ставропольского края**



“ Утверждаю ”

**Заместитель министра здравоохранения
Ставропольского края**

[Handwritten signature]
Т.В. Коробова

« 30 » августа 2006 г.

**Методические указания
по использованию акустического компьютеризированного
анализатора АКБа-01-«БИОМ[®]» для определения без реагентов
концентрации липидов в сыворотке крови
и липопротеидах различной плотности у человека**

“ Согласовано ”

**Главный внештатный специалист
по клинической лабораторной диагностике
Министерства здравоохранения
Ставропольского края**

[Handwritten signature] **Н.И. Ковалевич**

« 30 » августа 2006 г.

Ставрополь 2006

УДК 612.397 – 018.54-071

Методические указания по использованию акустического компьютеризированного анализатора АКБа-01-«БИОМ[®]» для определения без реагентов концентрации липидов в сыворотке крови и липопротеидах различной плотности у человека . – Ставрополь. Изд.: СтГМА, 2006, с. 26, табл. 5.

Методические указания вводятся кафедрой Клинической лабораторной диагностики факультета последиplomного образования Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Ставропольская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (заведующий кафедрой Ю.В. Первушин; разработчики **Ю.В. Первушин, Г.П. Белоха, Л.Г. Ивченко, В.Н. Иванова, С.Ш. Рогова**).

УДК 612.397 – 018.54-071

Рецензент: Главный внештатный специалист по клинической лабораторной диагностике Министерства здравоохранения Ставропольского края, заведующая клинико-диагностической лабораторией Краевого клинического центра специализированных видов медицинской помощи, канд. мед. наук **Н.И. Ковалевич**

© Ставропольская государственная
медицинская академия. 2006 г.

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение

2. Назначение изделия

3. Определение липидов

3.1. Определяемые показатели

3.2. Требования

3.3. Подготовка больного и пробоподготовка

3.4. Запуск программного обеспечения

3.5. Проведение калибровки и внутрилабораторной оценки качества работы прибора

3.5.1. Проведение ежедневной калибровки прибора дистиллированной водой.

3.5.2. Проведение ежедневного контроля качества работы прибора с помощью «нулевой» сыворотки.

3.6. Определение компонентов липидного спектра

3.7. Сохранение результатов исследования

3.8. Печать бланков выдачи результатов

3.9. Справочная информация

3.10. Окончание работы

4. Аналитические характеристики

Приложение 1. Проведение внутрилабораторного контроля качества работы анализатора.

Список используемых сокращений:

АКП – акустический параметр

БСК – болезни системы кровообращения

ДЛП – дислипотеидемии

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности

ПК – персональный компьютер

ТГ – триглицериды

ХС – холестерин

1. Введение

Одной из главных тем ежегодного Послания Президента России В.В. Путина – тяжелая демографическая ситуация в нашей стране. Ожидаемая продолжительность жизни российских мужчин упала до 58,9 лет, женщин – до 71,8 лет. Высокая смертность россиян определяется смертностью от болезней системы кровообращения (БСК), внешних причин (убийства, самоубийства, травмы, отравления и.т.д.) и злокачественных новообразований. Эти три основные причины составляют 81-85% в структуре смертности в нашей стране и смертность от этих причин в России практически самая высокая в мире [1]. При этом с 2000 по 2004 г смертность от БСК была в среднем в 4,4 раза выше, чем от злокачественных новообразований и в 3,9 раза выше, чем от внешних причин (Федеральная служба государственной статистики; <http://www.gks.ru>).

Таблица 1.

Структура смертности по основным классам причин смерти в России в 2004 г. (по Д. Заридзе, 2006)

Причины смерти	%% от всех случаев смерти	
	Мужчины	Женщины
Болезни системы кровообращения	48,0	65,6
Злокачественные новообразования	12,6	12,4
Внешние причины	20,5	6,9
Другие причины смерти	18,9	15,1

Вопросы первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний — ведущей причины смертности во всех индустриально развитых странах — уже несколько десятилетий занимают как теоретическую медицину, так и врачей-практиков. Среди многих факторов риска развития БСК – важнейшими являются гиперлипидемия и гиперхолестеринемия. Многочисленными исследованиями показано, что воздействие на один из основных факторов риска ишемической болезни сердца — гиперхолестеринемии — способствует снижению заболеваемости и предупреждению осложнений, в том числе фаталь-

ных [4]. В то же время в Национальной образовательной программе по холестерину (ХС; по материалам третьего доклада экспертов Национальной образовательной программы по холестерину в США, National Cholesterol Education Program, NCEP) – указывается, что предпочтительным является определение ХС в липопротеинах различной плотности (полный профиль липопротеинов). В этом докладе указывается на необходимость всем взрослым людям старше 20 лет каждые пять лет выполнять исследование липидного спектра сыворотки крови, т.е. определение концентрации ХС, триглицеридов (ТГ), ХС ЛПВП и ХС ЛПНП. В предыдущих докладах уровень риска ИБС определяли только по концентрации общего ХС и ХС ЛПВП.

У каждого человека содержание общего ХС, ХС ЛПВП и ТГ меняется изо дня в день и от недели к неделе [5]. Поэтому даже в хорошо оборудованной лаборатории показатели у одного и того же больного в разное время могут значительно различаться. Следовательно, при выборе лечения необходимо принимать во внимание результаты двух или большего числа измерений, подобно тому, как при лечении гипертонии учитывают средние результаты нескольких измерений артериального давления.

Тесты для определения общего ХС просты и сравнительно недороги. Но исследование ТГ и ХС в липопротеинах различной плотности – полная липидограмма – в зависимости от методов исследования становится достаточно дорогим анализом. Тем более, что желательно определение ХС в липопротеинах низкой плотности не расчетным методом, а прямым, основанным на реакции иммуноингибирования.

Кроме этого определение концентрации общего ХС и холестерина в липопротеинах различной плотности целесообразно, только если оснащение биохимической лаборатории обеспечивает надлежащую точность измерений. Если же принять во внимание неоднократность исследования липидограммы, то определение показателей обмена липидов становится достаточно затратным, когда речь идет об обследовании больших групп пациентов для оценки риска развития атеросклероза и связанных с ним БСК.

К критериям, определяющим выбор того или иного метода, относятся: правильность, воспроизводимость, расход рабочего времени на выполнение одного исследования, стоимость реактивов и доступность их широкому кругу практических исследований, токсичность и канцерогенность реактивов, степень необходимого профессионализма исполнителя лабораторных исследований [3].

К сожалению, не все традиционные методы биохимического и клинического анализа в полной мере удовлетворяют перечисленным критериям: использование токсичных реактивов, их высокая стоимость, сильная зависимость результатов исследований от производителя реактивов и квалификации медицинского персонала заставляют задуматься о совершенствовании методов лабораторных исследований.

Акустическая система «БИОМ» - принципиально новый подход к лабораторному исследованию жидких биологических сред, не имеет аналогов ни в России, ни за рубежом. Метод акустического анализа сыворотки крови дает возможность в течение нескольких минут без применения биохимических реактивов получить данные об основных показателях липидного обмена.

Анализатор акустический АКБа – 01 – «БИОМ» предназначен для измерения интегральной характеристики биосред, выражающейся через акустический параметр (АКП), который устанавливает связь между характеристиками исследуемой биосреды и дистиллированной водой. АКП позволяет количественно выразить изменения в биосредах после различных воздействий, а также определять концентрации веществ в биосредах после предварительной градуировки анализатора потребителем [2]. Принцип действия. Принцип действия анализатора основан на последовательном измерении резонансных частот термостатируемых акустических ячеек с дистиллированной водой и исследуемой биосредой. Резонансные частоты измеряются встроенным частотомером после автоматической настройки на эти частоты с помощью специальных фазочувствительных схем, управляемых встроенным микропроцессором. Анализатор работает совместно с персональным компьютером (ПК). АКП акустических ячеек с

исследуемой биосредой рассчитывается анализатором и выводится на монитор ПК [2].

2. Назначение изделия

Анализатор предназначен для определения концентрации веществ в водно-солевых растворах методами биофизической акустики путем измерения резонансных частот и дальнейшей математической обработки информации. Вычисленное анализатором АКП для каждой ячейки переводится в величины концентрации.

3. Определение липидов

3.1. Определяемые показатели

- концентрация общего Хс ммоль/л
- концентрация общих ТГ ммоль/л
- концентрация ХсЛПВП ммоль/л
- концентрация ХсЛПНП ммоль/л
- концентрация ХсЛПОНП ммоль/л
- Коэффициент атерогенности Ед
- Тип ДЛП

Результаты исследования по каждому пациенту выводятся на экран компьютера, сохраняются в базе данных и могут быть распечатаны в виде бланков в любое время.

3.2. Требования

Для работы акустического анализатора «БИОМ» необходимо иметь:

- ПК на базе Pentium I, II, III или IV с операционной системой (ОС) Win 98SE, 2000 или XP;
- установочный диск с программным обеспечением «БИОМ»;
- принтер

Управление анализатором осуществляется при помощи ПК.

3.3. Подготовка больного и пробоподготовка

Исследованию подвергается свежая сыворотка крови.

Кровь для получения сыворотки берется у обследуемого утром натощак не менее, чем через 12-14 часов после последнего приема пищи. Перед взятием крови обследуемый должен 15 минут посидеть в покое. За неделю до взятия крови следует ограничить прием жирной пищи, за 2 недели отменить препараты снижающие уровень липидов. Накануне исследования запрещается употребление алкоголя, перед взятием крови исключить физические нагрузки и курение.

Сыворотку получают из спонтанно свернувшейся цельной крови. Существует несколько способов получения сыворотки:

— без использования коммерческих средств, без ускорителей и с ускорителями коагуляции, разделительных и вспомогательных средств для центрифугирования;

— с использованием таких средств.

Для работы с анализатором БИОМ рекомендуется использовать сыворотку полученную без коммерческих средств или с использованием коммерческих вакуумных пробирок без ускорителей коагуляции, разделительных и вспомогательных средств для центрифугирования. При получении сыворотки в стеклянных центрифужных пробирках объем ее составляет около 1/3 взятого объема крови. В нормальной крови сгусток полностью формируется при комнатной температуре спонтанно в течение 20—60 мин. Если не соблюдать время, то может иметь место латентное (запоздалое) свертывание, в результате которого затрудняется пипетирование проб. В пробирках из пластмассы время свертывания удлиняется. Сыворотка должна быть получена из венозной крови.

Рекомендуемая методика получения сыворотки. Венозная кровь, полученная без антикоагулянтов в центрифужную стеклянную пробирку, отстаивается в ней при комнатной температуре (15 – 25°C) в течение 30 мин до полного образования сгустка или помещается в термостат при 37°C на 15 мин. По окончании образования сгустка пробирки открывают и осторожно проводят тонкой стеклянной палочкой или запаянным капилляром Пастеровской пипетки по

внутренним стенкам пробирки по окружности в верхнем слое крови для отделения столбика сгустка от стенок пробирки. В случае получения сгустка при температуре 37°C эту процедуру проводят до помещения пробирок в термостат. Сыворотку центрифугируют, в тех же, первичных, пробирках.

Центрифугирование. После ретракции сгустка пробы центрифугируют при 1500-3000 об/мин 15-30 мин.

В скоростных центрифугах при относительной центробежной силе RCF от 1000 до 1200 хд (максимально до 1500 хд) в течение 10±5 мин (NCCLS, 1982). В случае использования микропробирок и центрифуги для них центрифугирование проводят при 6000—15000 хg в течение минимально 1,5 мин.

После центрифугирования сыворотку помещают во вторичные пробирки стеклянные или пластиковые. Желательно, чтобы во всех пробирках было одинаковое количество сыворотки – около 1,5 мл в стеклянных или около 1 мл в пластиковых пробирках. **На этом этапе проводится обязательный пробоотбор. Сыворотка для исследования не должна быть гемолизированной, сыворотки с гемолизом – отбраковываются и исследованию не подлежат.**

Оптимальным объектом исследования является свежая сыворотка крови в объеме не менее 1 мл. В случае невозможности исследования сыворотки сразу после ее получения оставить ее в холодильнике при температуре +4...+8°C, в закрытой емкости (оптимально пробирках типа Эппендорф, заполняя их сывороткой под крышку, т.е 1,5 мл, тем самым предохраняя от испарения, до 1 суток). **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!**

3.4. Запуск программного обеспечения

3.4.1. Запуск анализатора. Включите монитор и системный блок ПК. Загрузите операционную систему Windows 98 SE/ 2000/ XP. Найдите на рабочем столе ярлык рабочей программы БИОМ, совместите с ним курсор мыши и два раза нажмите левую кнопку (далее это действие именуется - **запустить**). После запуска на мониторе появится окно рабочей программы.

Включите анализатор нажатием кнопки на лицевой или задней панели (существует модификация приборов с кнопкой вкл/выкл сети питания на задней

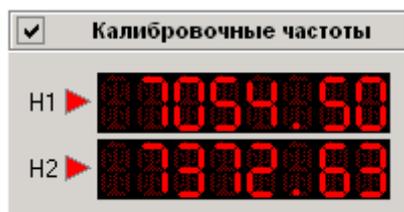
панели «I - O»).

После этого подведите курсор мыши к кнопке  «Установить связь» в окне рабочей программ и однократно нажмите левую кнопку мыши (далее это действие именуется – **активировать**). При успешном обнаружении анализатора на панели управления загорится индикатор зеленым цветом  и автоматически запустится режим самопрогрева прибора. В окне «время измерения» будет происходить прямой отсчет времени самопрогрева (по умолчанию 60 мин) при условии, что в помещении температура не менее +15°C. Если в помещении, где проводятся исследования температура менее +15°C, прибор сам выбирает необходимое для прогрева время. В окне состояние прибора будет мигать соответствующая информационная строка «Идет самопрогрев прибора... отмена Esc».

Примечание: Если включение кнопки «Установить связь» не приводит к включению прогрева анализатора, следует провести повторную активацию прибора. Если по какой либо причине произошло незапланированное выключение рабочей программы (зависание, перезагрузка операционной системы и т.п.) и при этом анализатор не выключался, для возобновления работы прибора достаточно перезапустить программу.

В случае, если прибор начнет заново производить самопрогрев (отсчет 60 мин.), нажатием кнопки «Esc» на клавиатуре ПК можно отказаться от выполнения этой процедуры (в случае если анализатор был уже прогрет).

После завершения самопрогрева в окне «Калибровочные частоты, кГц» в строках H1 и H2 появятся значения из интервала от 6000 до 9000 кГц. Это свидетельствует о том, что самопрогрев прибора прошел успешно и прибор готов к выполнению калибровки.



3.5. Проведение калибровки и внутрилабораторной оценки качества работы прибора

Анализатор акустический АКБа – 01- «БИОМ» имеет 2 ячейки для проведения исследований. Калибровка прибора заключается в измерении резонансных частот в обеих ячейках при помещении в них дистиллированной воды. Рабочий объем ячеек 80 – 110 мкл (точное значение указывается в РЭ).

3.5.1. Проведение ежедневной калибровки прибора дистиллированной водой. Для проведения калибровки необходимо промыть ячейки дистиллированной водой не менее 5 раз, затем залить в ячейки рабочий объем воды не допуская образования пузырьков.

ВНИМАНИЕ!

При осуществлении заливок положение дозатора должно строго соответствовать изображению в РЭ. Извлекая дозатор из емкости с дистиллированной водой, снимите излишки воды с внешней поверхности наконечника дозатора, проведя наконечником вдоль стенки емкости!

При заливке воды в ячейки не допускайте попадания вместе с водой пузырьков воздуха и других механических частиц! Избежать этого можно только корректными действиями при работе с дозатором:

- для забора воды нажмите на операционную кнопку дозатора до первой остановки, погрузите наконечник на 2-3 мм. в воду и плавно отпустите кнопку,

- выпускайте взятую воду в ячейку плавно, равномерно нажимая на операционную кнопку дозатора до первой остановки, после 2-3 сек. паузы дозатор плавно вынимайте из ячейки и опустошайте в сливную ёмкость, нажимая кнопку до второй остановки.

После заливки необходимо убедиться в отсутствии воздушных пузырей и посторонних механических частиц внутри ячейки. Если все-таки пузыри, механические частицы появились необходимо для их удаления прикоснуться к ним острым кончиком тонкой полоски плотной фильтровальной бумаги, либо деревянной зубочисткой.

В программе активировать  и  (если они не активны, т.е. флажки рядом с ними серого цвета) нажатием левой кнопки мыши, затем кнопку  («паспорт») и  («пуск»). Через 30-40 с (точное значение указывается в РЭ) значения резонансных частот будут отражены в окне «калибровочные частоты» (рис.3.2) и в открывшемся окне «паспорт».



Паспорт		
1 канал	2 канал	
7695-7705	8124-8134	
V1	V2	dV
7700.49	8129.61	429.12
7700.50	8129.63	429.13

В окне «паспорт», в поле «1 канал» указан диапазон, в который должно попасть значение Н1 (оно отражено в столбце V1), а в поле «2 канал» диапазон для Н2 (в столбце V2). Если значения соответствуют указанному диапазону, производится замена дистиллированной воды и повторное измерение.

Разница между двумя последовательными значениями в любом из столбцов V1, V2, dV не должна превышать $\pm 0,5$.

В случае выполнения этих условий калибровка закончена.

Если значения V1, V2, или какое-то из них не попали в заданные интервалы, или разница при повторных измерениях в любом столбце V1, V2, dV оказалась более $\pm 0,5$ необходимо промыть обе ячейки по 5 раз водой и повторить калибровку сначала. При этом исследователь должен быть гарантирован, что пользуется качественной дистиллированной водой.

Если значения калибровочных частот снова не попадают в заданные «Паспортом» интервалы, или разница последовательных значений в любом из столбцов V1, V2, dV больше вышеуказанной, констатируется неисправность анализатора.

ВНИМАНИЕ! Недопустимы вскрытие и попытки самостоятельного устранения неисправностей прибора. Для устранения неисправности необходимо вызвать представителя предприятия изготовителя.

3.5.2. Проведение ежедневного контроля качества работы прибора с помощью «нулевой» сыворотки. Для проведения этого этапа берется свежая сыворотка любого пациента (без признаков гемолиза, гипербилирубинемии и липемии) или соединяется (сливается) сыворотка двух-трех пациентов и тщательно перемешивается.

Этап производится после успешной калибровки прибора.

Прежде всего, следует перевести переключатель режима работы в режим «Биохимия» положение «Липиды» рис 12. Для этого выбрать мышкой и активировать «Липиды». Панель управления автоматически перейдет из режима калибровки в диапазон измерения АКП S0 S1. Активны оба канала.



И перед началом исследования липидных компонентов необходимо в под-режиме «Липиды» провести исследования нулевой (сливной) сыворотки в рамках ежедневного внутрилабораторного контроля качества.

Примечание:

При работе с жидкими биосредами особое внимание следует уделять плавности забора и заливки исследуемого образца в ячейку.

ВНИМАНИЕ!

Извлекая дозатор из емкости с исследуемой биосредой, снимите излишки жидкости с внешней поверхности наконечника дозатора, проведя наконечником вдоль стенки емкости!

При заливке жидкости в ячейки не допускайте попадания вместе с жидкостью пузырьков воздуха и других механических частиц! Если произошло попадание механической частицы или образовался пузырек воздуха, обязательно удалить этот объект из ячейки острым кончиком тонкой

полоской фильтровальной бумаги или деревянной зубочистки. Проверку проводить после каждой заливки!

Перед внесением нулевой сыворотки из ячеек удалить воду, оставшуюся после калибровки и обе ячейки трижды промыть 2,8% раствором бикарбоната натрия (пищевой соды, Na_2HCO_3). Затем раствор бикарбоната натрия из ячеек удалить.

Ячейки прибора дважды промывают нулевой сывороткой. Если после проведенной калибровки остается открытым окно «Паспорт», его следует закрыть и открыть заново (сбросив, таким образом, результаты предыдущих измерений воды). Залить сыворотку в обе ячейки и нажать кнопку «пуск» . Убедиться, что в паспорте зафиксированы результаты измерения. После этого удалить образец из ячеек, промыть ячейки сывороткой один раз и сделать еще заливку этой же сыворотки и нажать «пуск» . Повторить операцию еще раз. В окне «Паспорт», в столбце **dV результаты второй и третьей заливки должны изменяться не более $\pm 0,05$ (!)**.

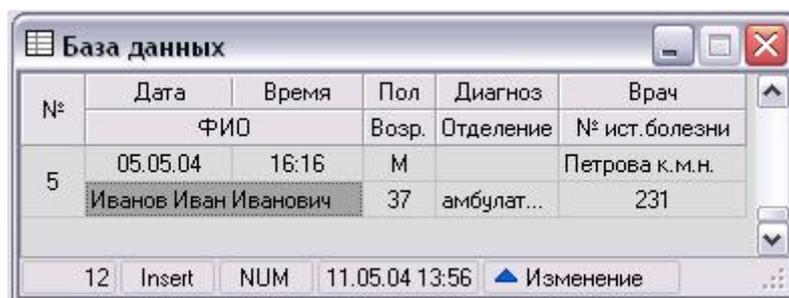
Если произошло превышение данного показателя, необходимо произвести еще одну заливку и нажать «Пуск». Сравнить dV двух последних измерений. **Разница должна быть не более $\pm 0,05$** . Если условие выполняется, ячейки полностью адаптированы к исследуемой жидкости. **И можно переходить к выполнению анализов.**

Если это условие не соблюдается ($dV > 0,05$), необходимо повторить контрольные заливки и измерения.

3.6. Определение компонентов липидного спектра

Еще раз проверить переведен ли переключатель режима работы в положение «Липиды» и открыто ли окно «Паспорт». Удалить из ячеек нулевую сыворотку. Промыть обе ячейки один раз первой исследуемой сывороткой, далее залить эту сыворотку в обе ячейки и нажать «Пуск». Производится термостатирование образца (40 сек) и последующее измерение АКП.

Создать запись в базе данных (БД) и ввести исходные данные пациента, образец которого исследуется (запись можно создавать и редактировать во время термостатирования исследуемого образца).



№	Дата	Время	Пол	Диагноз	Врач
	ФИО		Возр.	Отделение	№ ист. болезни
5	05.05.04	16:16	М		Петрова к.м.н.
	Иванов Иван Иванович		37	амбулат...	231

При этом особое внимание необходимо обратить на заполнение всех полей базы данных особенно поля возраста и пола обследуемого.

Внимание!

Поля возраст и пол пациента должны быть всегда заполнены! В противном случае в процессе обработки полученных акустических данных может возникнуть ошибка и, как следствие, неправильный результат анализа.

База данных предназначена для хранения данных пациентов. База организована в виде таблицы. Данные по каждому пациенту располагаются в две строки. Доступные для заполнения данные: номер исследуемого образца; фамилия; имя; отчество пациента, пол (М/Ж), возраст, диагноз, отделение, ФИО лечащего врача и номер истории болезни. После ввода символов в любое из перечисленных полей БД обязательно **нажимать клавишу «Enter»** для сохранения. Результаты исследования отображаются в отдельном окне (рис.3.9). Добавление и удаление записей осуществляются с помощью соответствующих пунктов меню или на панели инструментов. Для создания новой записи необходимо активировать кнопку «+» (рис.3.8). Навигация по базе осуществляется как с помощью клавиш на клавиатуре (Up, Down, Left, Right, Home, End, Page Up, Page Down), так и с помощью панели навигации БД.

Для удаления строки в БД необходимо поставить курсор мыши на выбранную запись с данными пациента и нажать кнопку « - ».

Для записи существует функция защиты от случайного редактирования. Запись считается завершенной, если курсор мыши вышел из заполняемой текущей строки БД. При повторном попадании курсора на эту строку и изменении ее содержимого всплывет табличка с вопросом рис 11 (б), при желании сделать исправление или дополнения к этой записи необходимо нажать «Да» и произвести ввод.

Нажать кнопку «Просмотр и запись результатов». В окне «Результаты исследования» появятся строки № 1 и № 8 -13 см рис 13. В окне графического представления результатов рис 14 появится гистограмма фракции липидов. В поле «комментарий» при необходимости можно занести сопроводительные записи для врача об особенностях образца сыворотки данного пациента (напр. «сыворотка крови чрезвычайно мутная с выраженным сливкообразным слоем на поверхности»).

Затем удалить **однократно** исследуемый образец из обеих ячеек.

Внимание! Следует взять за правило исследование липидного спектра выполнять у каждого пациента только один раз. Так как повторные исследования могут оказаться иными из-за изменения количества сыворотки в пробирке и, как следствие, изменения взаимодействия макромолекул со стенками пробирки. Проведение калибровки прибора по дистиллированной воде и нулевой сыворотке гарантирует качество определения липидов, повторные же исследования могут только запутать специалиста. По той же самой причине важно, чтобы в одинаковых пробирках (или все стеклянные, или все пластиковые) было одинаковое (или, по крайней мере, близкое) количество сыворотки у всех пациентов, что гарантирует сравнимые результаты исследований.

Промыть однократно обе ячейки образцом сыворотки следующего пациента, залить сыворотку в обе ячейки. Повторив все этапы исследования.

В случае если исследуемый образец отличается от предыдущего по параметру S0 или S1 более чем на 1.5 (мониторинг осуществляется по данным столбцов V1, V2 в открытом окне «Паспорт»), необходимо выполнить

еще одну заливку исследуемого образца данного пациента и сохранить в БД результаты последней заливки.

В случае если исследуемый образец характеризуется высокой мутностью (гиперлипидемия) – 1. желательно проводить его определение в конце серии исследований; 2. перед его исследованием промыть ячейки сывороткой до исследования дважды, а после исследования многократно промыть дистиллированной водой.

Если сывороток с гиперлипидемией несколько, то перед исследованием каждой последующей сыворотки ячейки промываются дважды, а промывка водой производится в конце исследования.

3.7 Сохранение результатов исследования

После завершения измерения, результат необходимо записать в базу данных. Для этого нажав на кнопку  сохранить данные. В окне «Результаты исследования» появится строка № 1.

Для предварительного просмотра бланка с результатами исследования липидного спектра для любого пациента, необходимо активировать в БД строку пациента, нажать кнопку «Предварительный просмотр» и выбрать «Текущая запись». На экране монитора появится бланк вывода результатов на печать с данными липидного обмена.

3.8 Печать бланков выдачи результатов

Вывод результатов исследования на печать в виде бланков производится стандартным для Windows способом, нажав на кнопку  (рис.3.13) при подключенном принтере. Возможен предварительный просмотр бланка для конкретного пациента, используя кнопку .

В практике своей работы мы чаще используем бланк анализа, в котором указываются не «величины нормы», а критерии риска развития ишемической болезни сердца. Приводим используемые нами бланки выдачи анализов.

Кафедра клинической лабораторной диагностики ФПО

Исследование крови «__» _____ 200__ г.

Отделение – _____

Фамилия И.О. (жен.)	ОХС ммоль/л	ХсЛПВП ммоль/л	ТГ ммоль/л	ЛПНП г/л	К атерог. Ед.	ХсЛОНП ммоль/л	ХсЛНП ммоль/л	Тип ДЛП
Рекомендуемые пределы	менее 5,2	более 1,5	менее 1,6		Менее 3		менее 3,5	
Умеренный риск ИБС	5,2-6,5	1,5-1,3	1,6-2,15		3,0-4,0		3,5-4,0	
Зона повышенного риска	выше 6,5	менее 1,3	более 2,15		более 4,0		более 4,0	

Анализ выполнил _____ (_____)

Кафедра клинической лабораторной диагностики ФПО

Исследование крови «__» _____ 200__ г.

Отделение – _____

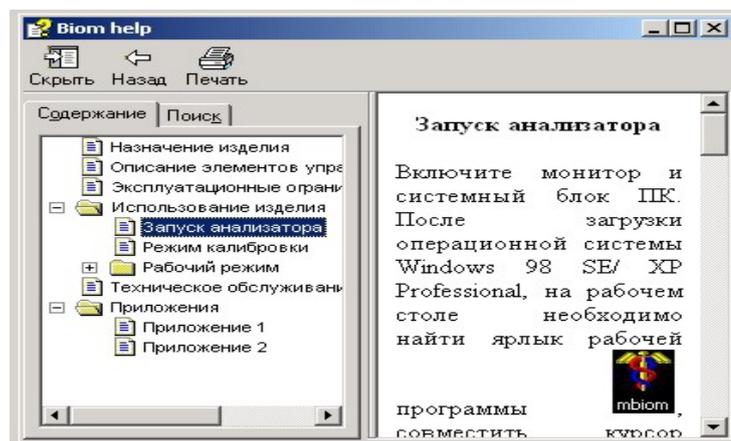
Фамилия И.О. (муж.)	ОХС ммоль/л	ХсЛВП ммоль/л	ТГ ммоль/л	ЛПНП г/л	К атерог. Ед.	ХсЛОНП ммоль/л	ХсЛНП ммоль/л	Тип ДЛП
Рекомендуемые пределы	менее 5,2	более 1,3	менее 1,6		менее 3		менее 3,5	
Умеренный риск ИБС	5,2-6,5	1,0 -1,3	1,6-2,15		3,0-4,0		3,5-4,0	
Зона повышенного риска	выше 6,5	менее 1,0	более 2,15		более 4,0		более 4,0	

Анализ выполнил _____ (_____)

Для этого заполняем подготовленный в компьютере бланк с учетом пола пациента в программе Word, с последующей стандартной распечаткой бланка.

3.9 Справочная информация

Нажав кнопку «Справка» в главном меню программы, можно получить информацию об анализаторе и программе, а также вызвать справочную информацию по всем разделам работы программы. Для получения необходимой информации щелкнуть мышью на соответствующем заголовке. Появившийся на экране текст можно листать с помощью расположенной справа линейки.



3.10. Окончание работы

Удалить сыворотку из акустических ячеек. Промыть ячейки дистиллированной водой не менее 10 раз и поместить в каждую двойной рабочий объем воды. На главной панели нажать кнопку выхода из программы. Выключить компьютер и анализатор.

4. Аналитические характеристики

4.1. Воспроизводимость. Правильность. Результаты проверки качества определения основных показателей липидов на акустическом анализаторе БИОМ

Проверка определения показателей общего белка и липидного обмена на анализаторе акустическом АКБа – 01 - «БИОМ» проводилась по трем основным направлениям: 1) определение внутрисерийной воспроизводимости, 2) определение воспроизводимости и правильности измерений с использованием контрольных материалов и 3) проведение параллельного определения показателей липидного обмена анализаторе АКБа – 01 – «БИОМ» и традиционными методами.

На первом этапе производилось по 10 измерений всех показателей в одном и том же материале в одной и той же аналитической серии. Определения производили в сыворотке крови больных с различным содержанием липидов (уровень ХС колебался в пределах от 4,5 до 9,7 ммоль/л) и контрольных сыворотках Konelab NORTROL 981043, Roche Diagnostics PRECIPATH U 171760, PRECI-

NORM U 171735, Human SERODOS 6868, SERODOS plus 6794, 6795; Агат БИОКОНТ с нормальным и патологическим содержанием компонентов. Рассчитывали коэффициент вариации. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Средние коэффициенты корреляции ($CV_{10\%}$)
при определении внутрисерийной воспроизводимости на аппарате БИОМ

	Общий ХС (%)	ХС-ЛВП (%)	ТГ (%)	ЛПНП (%)	Коэфф. атерогенности (%)
Средние значения	3,28	1,3	5,72	8,1	4,03
0,5 $CV_{10\%}$ (приказ № 45)	4,0	-	9,0	-	-

Таким образом, в большинстве серий и в среднем показана достаточно высокая воспроизводимость определения аналитов. Коэффициент вариации был ниже допустимых величин регламентированных Приказом № 45 МЗ РФ, и значительно ниже целевых значений для данных показателей рекомендуемых тем же приказом.

Определение правильности выполнения исследования определяли все показатели в контрольных сыворотках по 20 определений в серии и сравнивали с установленными значениями и доверительным интервалом приведенными в паспорте сыворотки.

Таблица 3.

Результаты определения ОХС в контрольных материалах

	"Серодос" № 6868	"Серодос+" № 6795	"Серодос+" № 6794	Биоконт
Среднее значение КС (установленное значение)	4,34	6,62	7,21	2,16
Доверительный интервал	3,56-5,12	5,43-7,80	5,91-8,54	
Среднее значение, полученное при исследовании	4,52	6,26	7,01	2,20
Величина смещения в %	-4,19	5,38	2,75	-2,08

Таким образом, ни в одной из выполненных серий полученные результаты определения не выходили за пределы доверительного интервала и величина смещения в % была ниже, предельно допустимых значений смещения рекомен-

дуемого Приказом № 45 МЗ РФ (для общего ХС – 8%) и биологически обоснованных норм аналитической точности лабораторных исследований (для общего ХС 5,2%).

Таблица 4.

Результаты определения ХС-ЛПВП

	"Серодос" № 6868	"Серодос+" № 6795	"Серодос+" № 6794
Среднее значение КС (установленное значение)	1,13	1,92	1,47
Доверительный интервал	0,93-1,33	1,57-2,27	1,20-1,73
Среднее значение, полученное при исследовании	1,14	1,88	1,50
Величина смещения в %	-0,44	2,08	-2,18

Из таблицы следует, что ни в одной из выполненных серий полученные результаты определения не выходили за пределы доверительного интервала и величина смещения в %% была значительно ниже, рекомендуемых Приказом № 45 МЗ РФ биологически обоснованных норм аналитической точности лабораторных исследований (для ХС-ЛПВП 7,9%)

Таблица 5.

Результаты определения ТГ

	"Серодос" № 6868	"Серодос+" № 6795	"Серодос+" № 6794
Среднее значение КС (установленное значение)	1,64	2,73	2,96
Доверительный интервал	1,30-1,98	2,16-3,30	2,34-3,58
Среднее значение, полученное при исследовании	1,70	2,47	2,62
Величина смещения в %	3,66	10,9	11,5

Таким образом, и при определении ТГ во всех выполненных сериях показатели уложились в пределы доверительного интервала предложенного изготовителями сыворотки. Величина смещения в % была ниже, предельно допустимых значений смещения рекомендуемого Приказом № 45 МЗ РФ (для ТГ 15%).

Можно заключить, что определение основных показателей липидного обмена на анализаторе акустическом АКБа – 01 – «БИОМ» по воспроизводимости и правильности полностью соответствует действующим нормативным документам.

Проводили параллельные определения показателей липидного обмена у больных на анализаторах акустических АКБа – 01 - «БИОМ», автоматическом анализаторе «Коне Дельта» в сопоставлении с электрофорезом липопротеидов сыворотки крови на аппарате «Beckman Paragon». Статистическая обработка результатов исследований выполненных на различных анализаторах и сравнение их с паспортными данными контрольных материалов показали отсутствие достоверных различий по всем определяемым параметрам.

Анализируя полученные результаты можно заключить, что по воспроизводимости, величине смещения и по итогам сравнительного исследования, определение показателей липидного обмена на акустическом анализаторе АКБа – 01 – «БИОМ» соответствует, нормативным документам, регламентирующим качество определения указанных аналитов.

Проведено популяционное исследование в среде учащейся молодежи в возрасте от 16 до 29 лет (средний возраст $22,7 \pm 0,6$ лет) включающее подробное анкетирование, определение антропометрических и ряда биохимических показателей, тестов, характеризующих состояние сердечно-сосудистой системы. На анализаторе акустическом АКБа – 01 - «БИОМ» определяли: содержание общего ХС, ТГ, содержание Хс в ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП и др. Кроме этого проведены исследования у здоровых лиц, мужчин и женщин в возрасте 15-19, 20-24 и 25-29 лет с целью определить средние возрастные показатели на анализаторе АКБа – 01 - «БИОМ». Полученные средние результаты и диапазон значений 5-й - 95-й перцентили полностью соответствовали референтным пределам для ХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и ТГ по данным литературы.

Установлено, что средние величины всех показателей липидограммы соответствуют средним возрастным значениям. Показано наличие достаточно высокого и достоверного уровня корреляции общего ХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и

ТГ, индекса атерогенности с массой тела, антропометрическими показателями, связанными с количеством и распределением жировой ткани в организме, показателями систолического и диастолического артериального давления. В процессе исследования выявлены группы молодых людей с повышенным уровнем ОХС, ТГ, наличием ДЛП, нарушениями сердечно-сосудистой системы. Наличие ДЛП подтверждалось проведением электрофореза липопротеинов, при этом совпадение между результатами исследования на анализаторе БИОМ и методом электрофореза было полным.

Были также проведены исследования у лиц с хроническими вирусными гепатитами и больных с диабетом и атеросклерозом, продемонстрировавшие высокую эффективность метода при проведении как клинических, так и научных исследований.

Подводя итог можно заключить, что акустический метод определения липидов на анализаторе акустическом АКБа – 01 – «БИОМ» прост, не требует реактивов и потому дешев. Результаты исследования показателей липидного обмена на акустическом анализаторе АКБа – 01 – «БИОМ» по воспроизводимости, величине смещения (точности) и по итогам сравнительного определения соответствуют, как нормативным документам, регламентирующим качество определения указанных аналитов, так и уровню работы современного автоматического анализатора. Апробация метода при проведении исследований у больных и здоровых лиц показали, что метод достаточно технологичен, его результаты мало зависят от уровня подготовки специалиста проводящего исследование. Предлагаемый метод позволяет получить достаточно широкий спектр показателей липидного обмена, без использования дорогостоящих анализаторов и может быть рекомендован для использования в клинико-диагностических лабораториях.

Проведение внутрилабораторного контроля качества работы анализатора

1. Проведение калибровки на дистиллированной воде ежедневно перед началом работы анализатора. Контролируемые параметры: - интервалы Н1, Н2 (указаны в «Паспорте» прибора); разность между последующими значениями в любом из столбцов V1, V2, dV не больше 0,5.

2. Проведение ежедневных контрольных заливок нулевой (сливной) сыворотки в подрежиме «Липиды» или «Общий белок» (в зависимости от комплектации системы) проводятся после калибровки по дистиллированной воде. Перед внесением нулевой сыворотки из ячеек удалить воду, оставшуюся после калибровки и обе ячейки трижды промыть 2,8% раствором бикарбоната натрия (пищевой соды, Na_2HCO_3). Затем раствор бикарбоната натрия из ячеек удалить.

Промыть ячейки дважды нулевой сывороткой. Открыть окно «Паспорт». Залить сыворотку в обе ячейки и нажать «пуск». Удалить образец из ячеек, промыть один раз, сделать еще заливку и нажать «пуск». Повторить операцию еще раз. В окне «Паспорт» в столбце dV значения второй и третьей заливки должны изменяться не более $\pm 0,05$. Если произошло превышение, необходимо произвести еще одну заливку и нажать «Пуск». Сравнить dV двух последних. Разница не более $\pm 0,05$. Если условие выполняется, ячейка полностью адаптирована к исследуемой жидкости. Если это условие не соблюдается, необходимо повторить контрольные заливки вновь.

Проверка правильности определения биохимических параметров сыворотки крови с помощью контрольных сывороток фирмы Human «Serodos» (норма). Рекомендуемый интервал 1 раз в три месяца, **если абсолютные значения Н1 и Н2 не изменялись более чем ± 1 кГц с момента последнего контроля и/или коррекции. Если при проведении калибровки зафиксировано изменение Н1 и/или Н2 отличное на ± 1 кГц от ежедневно получаемых значений но при этом не было превышения их паспортных значений, необходимо про-**

верить правильность анализа сыворотками Human «Serodos» (норма). Контролируемые параметры: холестерин общий, холестерин ЛПВП, триглицериды.

Проверка правильности определения липидных компонентов сыворотки крови производится путем заливки в акустические ячейки сыворотки Serodos (разведение 5 мл дистиллированной воды на ампулу и плавное переворачивание ампулы в течение часа). Заливка производится после калибровки по дистиллированной воде, промывки ячеек 2,8% раствором бикарбоната натрия и исследования нулевой сыворотки. После удаления из последней ячейки дважды промываются контрольной сывороткой и третья заливка исследуется, как сыворотка пациента.

Полученные в результате исследования показатели контрольной сыворотки сопоставляют с показателями, приведенными в паспорте контрольной сыворотки Serodos (средней величиной и допустимым интервалом значений). Если полученные показатели укладываются в заданные интервалы, проверка считается успешной. В случае если полученные параметры липидного обмена, в частности общий холестерин, выше приведенного в паспорте интервала, необходимо проделать корректировку. **Корректировку производят только по общему холестерину:**

ВНИМАНИЕ! Коррекцию проводить только по сыворотке Serodos (норма).

- нажать кнопку «настройки» на главной панели, появится окно см. рис. 6.
- нажать закладку «Биохимия», при этом откроется окно «Настройки - биохимия» см.

Окно «Настройки» с активным вкладом биохимия - на 0.1 увеличить значение параметра d Темп; - в ячейках контрольная сыворотка, произвести повторное измерение и просмотр результата.

- если по прежнему имеет место «завышение», сделать повторно коррекцию, провести измерения и посмотреть результат.

Если полученные параметры липидного обмена, в частности общий холестерин, ниже приведенного в паспорте интервала, необходимо проделать корректировку:

- уменьшить сначала на 0.1 d Темп, повторить измерение, посмотреть и сравнить результат;

- если по прежнему имеет место «занижение» результата измерения, повторить вышеописанную процедуру так, что бы полученное значение холестерина общего лежало в паспортном интервале контрольной сыворотки. Рекомендуемый интервал изменения d Темп от **7,6** до **8,6**.

Если при завершении корректировок получилось значение ниже или выше указанных необходимо проконсультироваться со специалистами производителя прибора.

Литература.

1. Заридзе Д., Медицинский вестник, № 18, 31 мая 2006 года, с.4-5
2. Клемин В.А. Акустический безреагентный метод определения параметров белкового и липидного спектра сыворотки крови. – Лаборатория. – 2003. - № 2. - С. 16-17.
3. Колоскова С. В., и соавт. Методы определения холестерина (обзор литературы) Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. - № 1. – С.
4. Творогова М.Г. Лабораторная диагностика нарушений липидного обмена Лабораторная медицина. – 2001. - № 4 – С. 67-74.
5. Творогова М.Г. и соавт. Степень достоверности однократного определения содержания холестерина (обзор литературы) Клиническая лабораторная диагностика.-1997.-№ 1.-С.4-6