

Н.А. Степанова, Н.Т. Козина, Т.А. Ивченко, А.А. Чиркин

Действие неорганических поллютантов на точность определения холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии

Наряду с развитием классических лабораторных технологий, разрабатываются и внедряются готовые аналитические формы, включающие необходимые количества реагентов и их пространственное расположение для реализации аналитического процесса. Они основаны на концепции «all-in-one» [1]. Такие формы лежат в основе тестов, результаты которых наиболее существенны для быстрой ориентации врачей при критических ситуациях [2].

Период времени между назначением соответствующего лабораторного теста, реальным взятием пробы и доставкой ее в лабораторию, получением результата анализа врачом и принятием им решения о диагнозе и виде лечения в англоязычной литературе именуется *turn-around-time* – TAT, или по-русски – «временем оборота лабораторного теста». Для сокращения этого времени создаются специальные экспресс-лаборатории, но даже в них величина TAT слишком велика [3]. Практика показывает, что этот вариант наиболее рационален там, где достаточна высока оперативная активность или где концентрируется особенно тяжелый контингент больных, например, в больницах скорой помощи [4].

На протяжении последних 25 лет получили развитие аналитические средства, предназначенные для внелабораторного применения – «Point-of-care testing» (POCT), а также «Point-of-care examinations» (POCE) [5]. В отечественной литературе их обозначают как «средства анализа в месте лечения» (АМЛ) [6]. Эти аналитические средства должны быть просты в обращении, не требовать специальной подготовки проб биоматериала, обладать быстрым действием, быть портативными и миниатюрными, давать достаточно аналитически надежные результаты, быть экономичными. В США каждый четвертый тест осуществляется в системе АМЛ. Ожидается, что в будущем до 40% анализов будут осуществляться технологиями АМЛ [7]. По степени аналитической надежности средства АМЛ должны быть сопоставимы со средствами анализа в стационарной лаборатории. В стационарной лаборатории на ошибки преаналитической фазы приходится 68,2%, аналитической фазы – 13,3% и постаналитической фазы – 18,5% [8]. В использовании средств АМЛ обычно отсутствует преаналитическая фаза, что устраняет большую часть погрешности анализа. Кроме этого аналитическая надежность АМЛ должна обеспечиваться: а) свойствами заложенного в средстве АМЛ аналитического принципа (чувствительностью, специфичностью, помехоустойчивостью); б) конструкцией устройства, создающей условия для максимальной стандартизации выполнения анализа; в) жестким техническим контролем при промышленном производстве средств АМЛ; г) систематическим проведением контроля качества результатов исследований по контрольным материалам и периодическим сопоставлением их с данными исследований, выполняемых в стационарной лаборатории [6]. Так, например, высокая точность, линейность и аккуратность при определении холестерина продемонстрированы для анализатора Рефлон Плюс, работающего в рамках системы POCT; параметр CV 3,2-5,5% [9].

Таким образом, средства сухой химии используются для лабораторного обследования пациентов вне лаборатории – на рабочем месте, в экспедиционных условиях, в реанимационных отделениях. Учитывая экстремальные условия применения средств сухой химии, представляет интерес исследование влияния различных компонентов, присутствующих в крови в относительно высоких концентрациях, на точность определения того или иного параметра.

Цель работы – изучить влияние ряда солей на определение количества мочевой кислоты и холестерина в сливной сыворотке крови средствами сухой химии.

В работе использованы следующие соли: FeCl_3 , PbCl_2 , $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, CoSO_4 , NaNO_2 , NaNO_3 , KNO_3 . Содержание холестерина и мочевой кислоты определяли с помощью тест-полосок фирмы «Roche» и анализатора «Рефлотрон IV». Объектом исследования была сливная сыворотка человека, подвергнутая однократному размораживанию, в образцы которой добавляли различные концентрации солей. Исследованные концентрации солей представлены в таблицах 2 и 3. Влияние каждой концентрации соли оценивали в 8 независимых определениях. Полученный цифровой материал подвергали обработке методом вариационной статистики по Стьюденту-Фишеру с определением критериев t и P [10].

Действие неблагоприятных экологических факторов, избыточное неконтролируемое поступление минеральных пищевых добавок и геохимические особенности места проживания могут создавать условия повышения концентрации элементов в крови (таблица 1). Учитывая возможную роль элементов как проводников жидкости в иммобилизованных слоях, их модулирующее влияние на активность ферментов и систему образования окрашенного продукта, представляется важным оценить влияние ряда элементов (солей) на определение холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии.

Таблица 1

Возможные диапазоны содержания исследуемых ионов в крови человека

Ионы, мкг/дл	Fe^{3+}	Pb^{2+}	Cd^{2+}	Co^{2+}
Диапазон концентраций и состояние	в сыворотке	в крови	в крови	в сыворотке
Новорожденный	100-250			
Ребенок	40-100	<25		
Мужчина	65-175	<25		
Женщина	50-170	<25		
Интоксикация у детей	280-2550			
Смертельное отравление у детей	>1800			
Токсическая концентрация		≥ 100	100-3000	>3000
Курящие			0,6-3,9	
Некурящие			0,3-1,2	
В сыворотке				0,11-0,45

Установлено, что процесс количественного определения холестерина и мочевой кислоты зависит как от вида иона, так и концентрации соли (таблица 2).

Таблица 2

Влияние ионов железа, свинца, кадмия и кобальта на определение холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии

Концентрация, мкг/дл	Холестерин, ммоль/л	P	Мочевая кислота, мкмоль/л	P
Fe³⁺				
Контроль	4,99±0,317		292±7,72	
1	3,77±0,021	<0,05	257±8,31	<0,05
1×10 ¹	5,40±0,032		336±3,03	<0,05
1×10 ²	5,28±0,190		320±4,65	<0,05
1×10 ³	4,85±0,045		311±1,75	<0,05
1×10 ⁴	6,02±0,051	<0,05	274±2,68	
1×10 ⁵	6,38±0,071	<0,05	233±1,65	<0,05
Pb²⁺				
Контроль	5,74±0,287		311±3,32	
1×10 ²	5,71±0,044		304±1,00	
1×10 ³	6,78±0,059	<0,05	324±1,06	<0,05
1×10 ⁴	6,94±0,071	<0,05	311±1,55	
1×10 ⁵	7,08±0,058	<0,05	224±0,96	<0,05
Cd²⁺				
Контроль	5,56±0,059		345±6,92	
1×10 ⁻²	6,49±0,083	<0,05	361±1,87	<0,05
1×10 ⁻¹	5,79±0,056	<0,05	339±0,73	
1	5,42±0,054		345±2,62	
1×10 ¹	5,76±0,050	<0,05	344±1,56	
1×10 ²	5,60±0,042		344±1,79	
1×10 ³	5,84±0,019	<0,05	343±1,38	
1×10 ⁴	5,47±0,072		370±1,29	<0,05
1×10 ⁵	6,53±0,053	<0,05	364±2,66	<0,05
Co²⁺				
Контроль	5,11±0,039		327±0,96	
1×10 ⁻¹	5,45±0,016	<0,05	321±1,24	<0,05
1	5,53±0,037	<0,05	324±1,12	<0,05
1×10 ¹	5,29±0,052		331±0,94	<0,05
1×10 ²	5,63±0,060	<0,05	330±1,03	<0,05
1×10 ³	5,15±0,031		329±1,68	
1×10 ⁴	5,30±0,033	<0,05	336±1,18	<0,05
1×10 ⁵	5,30±0,017	<0,05	328±2,03	
1×10 ⁶	5,59±0,049	<0,05	262±3,02	<0,05

В больших концентрациях исследованные ионы повышают количество, открываемого холестерина и, за исключением кадмия, снижают выявляемость мочевой кислоты. Следует обратить особое внимание на то, что в малых (реальных) концентрациях ионы железа, кадмия и кобальта могут оказывать разное влияние на процесс определения холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии.

В качестве примера возможного влияния экологических факторов рассмотрено действие нитратов и нитритов на аналитическую процедуру средствами сухой химии (таблица 3). В результате проведенных определений удалось констатировать, что разные концентрации NaNO₂ преимущественно повыша-

ют открываемые количества холестерина и мочевой кислоты. Нитрат-ион в большей степени способствует уменьшению количеств определяемой мочевой кислоты. В эксперименте с двумя солями нитрата удалось показать роль катиона: в больших концентрациях ион Na^+ снижает количество определяемого холестерина, а ион K^+ – повышает.

Таблица 3

Влияние NaNO_2 , NaNO_3 и KNO_3 на определение холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии

Концентрация, мг/дл	Холестерин, ммоль/л	P	Мочевая кислота, мкмоль/л	P
NaNO_2				
Контроль	5,25±0,061		335±1,03	
25×10 ⁻³	5,64±0,064	<0,05	352±2,67	<0,05
25×10 ⁻²	5,18±0,083		352±2,33	<0,05
25×10 ⁻¹	5,46±0,066	<0,05	347±4,05	<0,05
25	5,59±0,074	<0,05	349±0,77	<0,05
25×10 ¹	5,67±0,050	<0,05	350±1,99	<0,05
25×10 ²	6,06±0,158	<0,05	366±2,03	<0,05
NaNO_3				
Контроль	5,23±0,054		373±6,13	
15×10 ⁻³	5,21±0,038		365±1,53	
15×10 ⁻²	5,69±0,088	<0,05	374±1,66	
15×10 ⁻¹	5,72±0,050	<0,05	373±2,21	
15	5,23±0,029		343±1,19	<0,05
15×10 ¹	5,29±0,024		325±2,76	<0,05
15×10 ²	5,01±0,033	<0,05	306±2,12	<0,05
KNO_3				
Контроль	5,23±0,054		334±2,27	
15×10 ⁻³	5,51±0,027	<0,05	336±2,53	
15×10 ⁻²	4,82±0,021	<0,05	344±1,66	<0,05
15×10 ⁻¹	5,61±0,035	<0,05	337±2,07	
15	5,50±0,023	<0,05	340±2,32	
15×10 ¹	5,48±0,022	<0,05	345±1,44	<0,05
15×10 ²	5,00±0,040	<0,05	321±1,24	<0,05

Таким образом, мы пришли к следующим выводам.

1. Тест-полоски сухой химии могут рассматриваться как удобные модели для изучения действия катионов и анионов на иммобилизованные ферментативные и индикаторные системы.

2. Ионы железа, свинца, кадмия и кобальта могут появляться в организме в количествах, которые оказывают модифицирующее влияние на точность определения холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии. Имеются отличия в действии анионов (нитрат-, нитрит-анион) и катионов (калия и натрия) на аналитическую процедуру определения холестерина и мочевой кислоты средствами сухой химии.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Lehtinen P., Menjo L., Makinen M.-L.** All-in-one dry-reagent chemistry concept // CCLM., 1999. Vol. 37. Special Suppl. S. 408.
2. **Меньшиков В.В.** Современные возможности клинической лабораторной аналитики // Клин. лаб. диагностика, 2000, № 3. С. 25-38.
3. **Blick K.E.** Informatics requirements for critical care testing // Clin. Chem., 1999, Vol. 45, № 6. P. S37.
4. **Меньшиков В.В.** Лабораторные исследования возле пациента (лекция) // Клин. лаб. диагностика, 2002, № 4. С.23-34.
5. **Dybkaer R.** Planning for POCE // Clin. Chem. Lab. Med., 2001, Vol. 39, Suppl. P. 70.
6. **Меньшиков В.В.** Требования к аналитическим средствам лабораторного обеспечения внебольничной медицинской помощи // Клин. лаб. диагностика, 2001, № 9. С. 5-6.
7. **Ehrmeyer S.S.** POCT: perspective and experience from the USA // Clin. Chem. Lab. Med., 2001, Vol. 39, Sppl. P. 71.
8. **Plebani M.** Errors in laboratory medicine // Clin. Chem. Lab. Med., 2001, Vol. 39, Suppl. P. 77.
9. **Genta V.M., Wilson C., Greiber D.M.** Evaluation of Reflotron Plus™ for determining blood cholesterol levels at Point of Care Testing Sites // Clin. Chem., 1997, Vol. 43, № 6. P. 260.
10. **Энциклопедия клинических лабораторных тестов** / Под ред. Н. Тиц. М., 1997. – 960 с.

S U M M A R Y

The paper shows that the dry chemistry test stripes can be considered as appropriate models for studying cation and anion action on immobilized enzyme and indicator systems. Iron, lead, cadmium, and cobalt ions can be present in human organism in amounts able to lower precision in detecting cholesterol and uric acid by the dry chemistry techniques. There are differences in anion (nitrate- and nitrite-) and cation (potassium, sodium) influence on analytic technique for quantitative detecting cholesterol and uric acid.

Поступила в редакцию 8.05.2003