

# Клинико-лабораторные испытания портативного анализатора глюкозы "Hemo Cue B – Glucose Analyzer"

## Введение

Глюкоза является одним из важнейших и основных углеводов периферической крови, источником энергетического обеспечения клеток и тканей организма.

Концентрация глюкозы в крови регулируется группой гормонов, важнейшие из которых продуцируются поджелудочной железой (инсулин, глюкагон и другие). Уровень глюкозы в крови отражает состояние углеводного обмена, а его изменения (гипер- и гипогликемии) связаны с нарушением гормональной регуляции, прежде всего со снижением уровня инсулина или эффективности проявления его регуляторного эффекта. Повышение уровня глюкозы в крови — гипергликемия, — основной симптом такого тяжелого и широко распространенного заболевания как сахарный диабет.

Содержание глюкозы в крови больных сахарным диабетом значительно варьирует в течение дня, зависит от приема пищи, стрессовых ситуаций, физических упражнений, изменяется при инсулинотерапии, приема глюкозопонижающих препаратов. Кроме того, концентрация глюкозы в крови может изменяться при панкреатитах, дисфункции щитовидной железы, почечной недостаточности и некоторых заболеваниях печени. Известно, что определение уровня глюкозы в крови — наиболее востребованный тест в меню клинико-диагностических лабораторий (КДЛ).

## Методы и приборы для определения глюкозы

Не существует ни одной КДЛ в стране, в которой бы не проводилось определение глюкозы либо с помощью простого, обычного фотометра, либо на различного типа биохимических анализаторах, в том числе и специализированных, предназначенных только для определения глюкозы.

Кроме того, для контроля за уровнем глюкозы больных сахарным диабетом в домашних условиях применяется большое число портативных и мини-

турных приборов (типа «глюкометров»), основанных на «сухой химии».

Существует несколько химических методов определения глюкозы в крови и других биологических жидкостях, которые применяются как при ее тестировании ручными методами, так и реализованных на биохимических анализаторах различного типа.

До последнего времени в лабораторной практике для определения глюкозы широко использовали колориметрические методы.

В настоящее время основными методами определения глюкозы являются энзиматические методы:

- глюкозооксидазный (пероксидазный) и
- гексокиназный (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназный).

**Глюкозооксидазный метод** основан на реакции окисления глюкозы, катализируемой глюкозооксидазой, протекающей с образованием эквивалентных количеств перекиси водорода. Молекулы перекиси водорода под воздействием второго фермента — пероксидазы, расщепляются с образованием отрицательного иона молекулы кислорода, который, в свою очередь, окисляет находящийся в реакционной среде хромоген, изменяя спектр его поглощения.

При этом количество образовавшегося хромогена (метод конечной точки) или скорость изменения его оптической плотности (кинетический метод) пропорциональны количеству глюкозы в анализируемом образце.

Недостатком метода является его ограниченная аналитическая специфичность: образовавшаяся перекись водорода в процессе реакции может окислять не только хромоген, но и ряд интерферирующих субстратов, присутствующих в крови, таких как аскорбиновая кислота, билирубин, мочевиная кислота.

**Гексокиназный (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназный) метод** определения концентрации глюкозы основан на двух последовательно протекающих реакциях: а) катализируемый гексокиназой процесс образования из глюкозы эквивалентных

количество глюкозо-6-фосфата и б) последующее превращение глюкозо-6-фосфата под воздействием глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в 6-фосфоглюконат. В течение реакции происходит восстановление NAD в NADH (тест Варбурга), изменение скорости образования которого регистрируется при 340 нм.

Аналитическая специфичность этого метода оптимальна, интерферирующие вещества не установлены и в настоящее время гексокиназный метод является референтным.

Детекция вышеописанных реакций может быть осуществлена на фотометрах различного типа, — измеряющих интенсивность абсорбции или регистрирующих кинетику реакции.

*Поэтому, основной способ детекции, используемый в большинстве биохимических анализаторов и специализированных анализаторов глюкозы — фотометрический.*

Вариант фотометрического метода, — отражательная фотометрия, реализована в большинстве так называемых «домашних глюкометров», использующих метод «сухой химии» и глюкозооксидазную реакцию.

Все компоненты реакционной среды находятся в индикаторной зоне диагностической полоски, в которой при наличии субстрата, происходит образование окрашенного комплекса. Полоски помещаются в отражательный фотометр, где и регистрируется интенсивность развития окраски.

Объект измерения глюкозы с помощью таких «глюкометров» — цельная капиллярная кровь. Поэтому точность результатов зависит от соблюдения правил по заполнению полоски определенным объемом крови, аккуратного внесения полоски в камеру прибора. Кроме того, проблемой для точных измерений глюкозы с помощью таких приборов является уровень гематокрита крови, отклонение значений которого от определенного диапазона «нормы» может повлиять на погрешность измерений.

*Электрохимические способы измерений концентраций глюкозы реализованы в приборах, работа которых основана на амперометрическом принципе измерения (амперометры или потенциометры). Эти приборы измеряют ток, возникающий при восстановлении перекиси водорода, образующейся в результате глюкозооксидазной реакции.*

Такой принцип измерения реализован в ряде специализированных анализаторов глюкозы, как портативного типа, так и в «домашних глюкометрах». К сожалению, использование глюкозооксидазного метода определения глюкозы и некоторые технические моменты процедуры измерения могут повлиять на точность определения параметра в некоторых клинических ситуациях.

## Клинико-лабораторные испытания

### 1. Портативный анализатор глюкозы "Hemo Cue В — Glucose Analyzer" — основные характеристики и принцип работы

Анализатор глюкозы «Hemo Cue» предназначен для количественного определения глюкозы в цельной крови (капиллярной, венозной и артериальной). Он является портативным прибором, размеры которого приблизительно соответствуют параметрам стандартного ежедневника. «Hemo Cue» — анализатор широкого спектра применения. Он может быть использован в скрининге, диагностике и мониторинге диабета, других гипер- и гипогликемических состояний. Поэтому, его место — в госпиталях, в том числе в экспресс-лабораториях операционных, реанимационных отделений, поликлиниках; он может быть использован и в «домашних условиях».

Прибор включает измерительное устройство (собственно анализатор) — компактный фотометр с дисплеем и блок одноразовых кювет. Фотометр проводит измерения при двух длинах волн: 660 и 840 нм, что позволяет избежать влияние мутности среды.

В приборе реализован один из наиболее специфичных методов — глюкозодегидрогеназный. Особенности использованного в анализаторе метода — включение в реакционную среду мутаторазы, — фермента, катализирующего высокоспецифическую реакцию превращения  $\alpha$ -D-глюкозы в  $\beta$ -D-глюкозу и диафоразы, катализирующую реакцию NADH-NAD с образованием соответствующего окрашенного хромогена.

Применение столь высокоспецифичной реакции в методе определения глюкозы позволяет исключить любую интерференцию, в том числе и влияние таких веществ, как билирубин, креатинин, мочевины, мочевая кислота и некоторых лекарственных препаратов (парацетамол, аскорбиновая кислота).

Более того, повышенные или сниженные величины гематокрита, а также гемоглобина, не вносят погрешностей в точность измерения глюкозы анализатором.

Результаты анализов выдаются на дисплей в ммоль/л, в зависимости от ее концентрации, и появляются в течение 40-240 секунд.

В отличие от отражательных фотометров типа «глюкометров» «Hemo Cue» определяет истинную глюкозу цельной крови (плазма и эритроциты), а не расчетный показатель, основанный на измерении концентрации глюкозы только в плазме.

Прибор обеспечивает высокую достоверность результатов благодаря запрограммированной системе контроля качества.

Объем анализируемого образца — 5 мкл крови. Диапазон измерений — 2-22 ммоль/л (40-400 мг%).

Анализатор оснащен адаптером и может работать как от сети, так и от 1,5 В батареек, т.е. факультативно, что важно для использования прибора в машинах скорой помощи или в полевых условиях.

Одноразовые кюветы содержат реагентную среду и откалиброваны так, что исключается необходимость перекалибровки прибора при изменении лота блока кювет. Микрокюветы автоматически втягивают необходимый точный объем крови, что одновременно обеспечивает безопасность и гигиеничность процедуры.

Климатические условия бесперебойной работы анализаторов — 14-32° С.

## 2. Программа и цели испытаний

По поручению фирмы фирмы "Немо Сие" (Швеция) и ее представительства в России ("Scott-European Corporation") Российская Ассоциация Медицинской Лабораторной Диагностики (РАМЛД) провела независимые испытания анализатора глюкозы "Немо Сие". Испытания проводились на базе Российско-Швейцарской клиничко-диагностической лаборатории «Юнимед Лабораториз» (Москва), аккредитованной в качестве экспертной Минздрава России (рег. № 42-5-005-02 от 11.03.2002 г.).

Определение концентрации глюкозы (сыворотка крови) входит в область вышеупомянутой аккредитации.

Испытания проводились в течение 4 недель.

Ответственные за проведение испытаний — профессор, доктор медицинских наук, Д.Б. Сапрыгин и заместитель генерального директора «Юнимед Лабораториз» — М.Ю. Романов.

**Цель испытаний** — оценка точности и воспроизводимости результатов определения глюкозы в цельной (капиллярной) крови в нормальных (нормогликемия) и патологических (гипергликемия) образцах крови, а также правильности метода определения глюкозы путем сравнения результатов ее измерения на анализаторе "Немо Сие" с референтным методом определения аналита.

## 3. Методология испытаний

В качестве референтного метода использовали энзиматический гексокиназный метод определения глюкозы на биохимическом анализаторе "Cobas Integra" фирмы "Roche" (Швейцария). Для определения использовали наборы "Glucose Hk" фирмы "Roche", специально применяемые для этого «закрытого» анализатора. Измерение глюкозы на анализаторе "Cobas Integra" проводилось в условиях полноценной системы качества — с использованием калибраторов и контрольных сывороток («нормального» и «патологического» диапазонов) фирмы "Roche" и "BioRad".

Взятие венозной крови для анализа осуществляли с помощью вакуумных гелиевых систем (фирма "Sarstedt", Германия) с последующим центрифугированием для получения сыворотки крови. Вся процедура от забора крови до получения сыворотки не превышает 45 минут. Диапазон измерений глюкозы без разведения: 0-40 ммоль/л (0-720 мг%).

В испытании участвовали три анализатора глюкозы "Немо Сие", на которых одновременно проводилось измерение уровня глюкозы в одном и том же образце. Для исследования использовалась цельная (капиллярная) кровь. Взятие цельной (капиллярной) крови проводилось с помощью стандартных кювет "Немо Сие".

## 4. Оценка точности измерений глюкозы

С целью сравнительной оценки точности измерения глюкозы на двух анализаторах — биохимическом анализаторе "Roche" и анализаторе глюкозы "Немо Сие" исследовали воспроизводимость в серии (для обоих анализаторов) и день ото дня (для анализатора "Roche").

В связи с этим в двух контрольных сыворотках ("BioRad") с «нормальным» и «патологическим» уровнем неоднократно ( $n = 20$ ) и последовательно определяли концентрацию глюкозы. Аналогичным образом концентрацию глюкозы в этих образцах определяли ежедневно в течение 10 дней.

Результаты оценки воспроизводимости измерения аналита представлены в *табл. 1*. Они указывают на очень высокую точность измерений глюкозы на

**Таблица 1.** Точность измерений глюкозы сыворотки крови на биохимическом анализаторе "Cobas Integra"

Показатели	Воспроизводимость в серии		Воспроизводимость день ото дня	
	нормогликемия	гипергликемия	нормогликемия	гипергликемия
Хср., ммоль/л	n = 20 5,74	n = 20 13,55	n = 10 5,74	n = 10 13,55
SD	0,03	0,05	0,09	0,21
КВ, %	0,5	0,4	1,5	1,6

биохимическом анализаторе "Cobas Integra" как в серии, так и день ото дня. Коэффициент вариации в диапазоне «нормальных» и «патологических» величин колеблется от 0,4 до 1,6%.

Высокая точность была продемонстрирована и при измерении глюкозы на анализаторе "Немо Сие" (табл. 2). В этом случае воспроизводимость оценивалась путем последовательных (серийных) исследований уровня глюкозы в крови двух пациентов — с «нормальным» и «патологическим» уровнем глюкозы при однократном взятии крови у каждого из них.

Как видно из данных Табл. 1 и Табл. 2 различия в точности между измерениями глюкозы референтным методом и на анализаторе "Немо Сие" незначительны и следовательно, относятся к категории высокой точности. Таким образом, анализатор "Немо Сие" может эффективно использоваться для диагностики, скрининга и контроля уровня глюкозы у пациентов с сахарным диабетом и с различными состояниями, сопровождающимися гипер- и гипогликемией.

#### 5. Оценка сопоставимости измерений глюкозы на нескольких анализаторах "Немо Сие"

Данная часть испытаний проведена путем определения глюкозы в крови 30 пациентов с различным уровнем аналита: от 3,4 до 13,3 ммоль/л. В каждом случае содержание глюкозы в образце определялось одновременно на трех анализаторах "Немо Сие". Представленные в табл. 3 результаты проведенных испытаний однозначно свидетельствуют о высокой степени соответствия между 3-мя различными приборами. Таким образом, измерения глюкозы, проведенные на одном приборе, можно считать репрезентативными для всех выпускаемых серий анализаторов "Немо Сие".

#### 6. Оценка аналитической надежности (правильности) измерений глюкозы

Установление аналитической правильности определения глюкозы на анализаторе "Немо Сие" было осуществлено путем параллельных и сравнительных измерений уровня аналита апробируемыми и референтными методами (на соответствующих анализаторах). В этом испытании взятие образцов цельной и венозной крови осуществляли у одного и того же пациента (здоровых людей и больных диабетом), а полученные результаты сравнивали и подвергали статистической обработке методом регрессивного анализа. Такой метод оценки правильности широко используется в современной лабораторной практике. Проведя измерение уровня аналита с помощью анализатора, в котором используется рефе-

Таблица 2. Точность измерений глюкозы цельной (капиллярной) крови на анализаторе глюкозы "Немо Сие"

Показатели	Нормогликемия	Гипергликемия
	n = 10	n = 10
Хср., ммоль/л	4,66	14,30
SD	0,07	0,11
KB, %	1,5	0,7

Таблица 3. Результаты проведенных испытаний

№ п/п	Анализатор 1 (ммоль/л)	Анализатор 2 (ммоль/л)	Анализатор 3 (ммоль/л)
1	4,10	4,20	4,10
2	5,00	5,00	5,10
3	4,80	4,70	4,80
4	5,30	5,10	5,50
5	3,70	4,10	3,90
6	4,10	4,50	4,40
7	3,40	3,90	3,70
8	3,70	4,00	3,90
9	4,10	4,10	4,10
10	4,70	5,20	5,00
11	4,30	4,50	4,60
12	4,20	4,30	4,40
13	4,60	4,90	4,60
14	4,50	4,80	4,80
15	4,20	4,20	4,20
16	4,50	4,80	4,90
17	4,30	4,40	4,20
18	13,30	13,40	13,30
19	4,70	4,80	5,10
20	4,30	4,40	4,20
21	4,80	5,20	4,90
22	4,20	4,60	4,40
23	4,20	4,50	4,30
24	3,70	4,20	4,50
25	4,10	4,40	4,10
26	4,20	4,60	4,40
27	4,30	4,70	4,50
28	3,60	3,80	3,85
29	4,40	4,70	4,50
30	4,00	4,20	4,20
Козф. корреляции			
1-2	0,99		
1-3	0,99		
2-3	0,99		
P<0,01			

рентный метод, не подверженный интерференции, и одновременно определяя уровень аналита с помощью апробируемого метода и анализатора, можно получить достаточно точную оценку правильности в последних. Следует конечно учитывать, что уровень глюкозы в сыворотке и цельной крови разли-

чается в пределах 6-7%. В настоящих испытаниях это различие составляло 6,1%.

Выявлено высокое соответствие между результатами измерения глюкозы апробируемыми и референтными методами (приборами). Определена высокозначимая положительная корреляционная связь ( $r = 0,98$ ;  $p < 0,01$ ).

Таким образом, воспроизводимость, точность и правильность результатов, полученных в ходе испытаний, свидетельствовали о высокой степени правильности, т.о. результаты испытаний отражают правильность измерений глюкозы на анализаторе "Немо Сие" и, следовательно, приборы может использовать в больничных лабораториях (центральных и экспресс-лабораториях), т.к. получаемые с помощью его результаты соответствуют высокому уровню надежности.

## Выводы

1. Определение глюкозы на анализаторе "Немо Сие" осуществляется с помощью высокоспецифического микрометода, уровень аналитической точности и правильности которого соответствует референтным методам измерения аналита, реализованных на современных биохимических анализаторах.

2. Высокая достоверность результатов, удобство в использовании (небольшие размеры, разовые кюветы, достаточно широкий диапазон измерений) позволит рекомендовать портативный («переносной») анализатор глюкозы "Немо Сие" для использования в лечебных учреждениях различного уровня (клинико-диагностическая лаборатория больниц и поликлиник, а также машинах скорой помощи и при различных экстремальных ситуациях, например, в полевых условиях).