

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Акиншина Ю.А.¹, Марданлы С.Г.^{1,2,3}, Ротанов С.В.^{1,4}, Помазанов В.В.^{1,3}, Киселева В.А.³

О КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ D-ДИМЕРА В КРОВИ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

¹ЗАО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова» Минздрава РФ, 119991, г. Москва, Россия;

³ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГГТУ»), 142611, г. Орехово-Зуево, Россия;

⁴ГБУЗ МО «Люберецкий кожно-венерологический диспансер» (ГБУЗ МО «ЛКВД»), 140013, г. Люберцы, Россия

Представлены результаты разработки технологии количественного определения D-димера (продукта деградации фибрина) в крови с использованием набора реагентов «ИХА-D-димер», основанного на принципе иммунохроматографического анализа (ИХА), с инструментальным учётом результатов. Регистрация и обработка оцифрованного с помощью программного обеспечения к ИХА-анализатору показателя интенсивности окрашивания тест-полосы, позволяет количественно измерять содержание D-димера в пробе (в нг DDU/мл).

Эффективность предложенного подхода оценена на 258 клинических образцах, исследованных методом ИХА с визуальным и приборным учётом результатов, в сравнении с иммуноферментным анализом. Показана высокая воспроизводимость оцифрованных результатов ИХА. Коэффициент вариации (CV) для образцов с содержанием D-димера в диапазоне 100-300 нг DDU/мл (околопороговом по отношению к патологическим значениям) составлял 2,5-5,1%; прослежена тенденция к увеличению CV при дальнейшем росте концентрации D-димера. Установлена высокая корреляция оцифрованного результата ИХА с данными, полученными методом ИФА, что позволяет рекомендовать изучаемый вариант исследования к широкому использованию в ургентной медицине.

Ключевые слова: иммунохроматография; иммуноферментный анализ; D-димер; диагностика; тромбоз.

Для цитирования: Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Помазанов В.В., Киселева В.А. О количественном определении содержания D-димера в крови иммунохроматографическим методом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (2): 91-96. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-2-91-96>

Для корреспонденции: Акиншина Юлия Александровна, рук. научно-производственного отдела ИХТ ЗАО «ЭКОлаб»; akinshina.opr@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность. Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела перспективных разработок ЗАО «ЭКОлаб» за оказанную помощь в организации и выполнении исследований.

Поступила 22.10.2021

Принята к печати 26.01.2022

Опубликовано 23.02.2022

Akinshina Yu.A.¹, Mardanyly S.G.^{1,2,3}, Rotanov S.V.^{1,4}, Pomazanov V.V.^{1,4}, Kiseleva V.A.⁴

ABOUT QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE D-DIMER IN THE BLOOD BY IMMUNOCHROMATOGRAPHIC METHOD

¹CJSC «EKOLab», 142530, Elektrogorsk, Russia;

²«First Moscow State Medical University after I. M. Sechenov» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 119991, Moscow, Russia;

³State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology», 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia;

⁴State budgetary healthcare institution of Moscow region «Liubertsii kozhno-venerologicheskii dispanser», 140013, Liubertsy, Russia

The paper presents the results of the development of a technology for the quantitative determination of D-dimer in blood with an immunochromatographic (LFIA) kit of reagents «LFIA-D-dimer» and instrument accounting of the results. Registration and processing of the digitized indicator of the intensity of staining of the LFIA-test strip using the LFIA-analyzer software allows quantifying the D-dimer content in the sample (in ng DDU/ml).

The effectiveness of the proposed approach was evaluated on 258 clinical samples examined in the LFIA with visual and instrument accounting of the results, in comparison with the indicators of D-dimer determination in ELISA. The high reproducibility of the digitized LFIA results was shown – the coefficient of variation (CV) for samples in the range of 100-300 ng DDU/ml (near-threshold in relation to pathological values) was 2.5-5.1%; a tendency to increase CV with a further increase in the concentration of D-dimer was traced. A high correlation of the digitized LFIA result with the research data in the ELISA has been established, which makes it possible to recommend the technology for widespread use in urgent medicine.

Key words: immunochromatographic assay; enzyme-linked immunosorbent assay; D-dimer diagnostics; thrombosis.

For citation: Akinshina Yu. A., Mardanly S. G., Rotanov S. V., Pomazanov V. V., Kiseleva V. A. About quantitative determination of the D-dimer in the blood by immunochromatographic method. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (2): 91-96 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-2-91-96>

For correspondence: Akinshina Yulia Aleksandrovna, specialist of the Innovative Development Department CJSC «EKOLab»; e-mail: akinshina.opr@mail.ru

Information about authors:

Akinshina Yu. A., <https://orcid.org/0000-0002-9223-3455>;
Mardanly S. G., <https://orcid.org/0000-0002-4556-135X>;
Rotanov S. V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>;
Pomazanov V. V., <https://orcid.org/0000-0002-7336-9912>;
Kiseleva V. A., <https://orcid.org/0000-0003-3565-1981>.

Conflict of interests. *The authors declare the absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 22.10.2021

Accepted 26.01.2022

Published 23.02.2022

Введение. Определение D-димера в крови является одним из информативных лабораторных показателей, характеризующих развитие тромботических состояний. В клинической практике этот маркер указывает на появление гиперкоагуляции в сосудистом русле и неразрывно связанный с этим процесс активации эндогенного фибринолиза [1-3]. В обычных условиях между процессами свертывания крови и деградации фибрина устанавливается динамическое равновесие, но при ряде патологических состояний происходит сдвиг системы гемостаза в сторону гиперкоагуляции. К факторам, повышающим риск развития венозных тромбозов, относят: пожилой возраст пациентов, наличие сопутствующих заболеваний, сопровождающихся нарушением гемостаза (злокачественные опухоли, варикозная болезнь, тромбоз фибрина, нарушения обмена липидов), состояния после ортопедических операций (эндопротезирование крупных суставов, реконструктивные вмешательства при переломах трубчатых костей), приём оральных контрацептивов, беременность, длительную гиподинамию [4].

Образование тромба происходит при участии тромбина, который превращает фибриноген в нерастворимый фибрин, формирующий основной каркас тромба. Процесс происходит в несколько стадий, в результате формируется полимер, в котором молекулы фибриногена соединяются «конец в конец» и образуются поперечные D=D связи. Через определённое время происходит активация плазмина – основного фермента фибринолиза, который последовательно расщепляет фибрин на фрагменты, обозначаемые как продукты деградации сгустка фибрина: D-димеры и тримеры D-E-D, поскольку он не способен расщеплять ковалентную связь между D-доменами. При повышенном фибринолизе плазмин также способен расщеплять и молекулы фибриногена, однако в этом случае образуются отдельные фрагменты D и E [4-6].

У здоровых людей концентрация D-димера в крови не превышает 500 нг ФЭЕ (фибриноген-эквивалентных единиц)/мл или 250 нг DDU (D-dimer unit)/мл. Избыток его в крови свидетельствует об активном фибринолизе сгустка нерастворимого фибрина, его концентрация зависит от размера и длительности существования тромба. Повышение уровня D-димера в плазме наблюдается примерно через 2 ч после начала тромбоза [7]; он метаболизируется, в основном, в почках. Время полужизни D-димера в кровотоке, по данным ряда исследователей, при сохранной функции почек составляет около 6-8 ч, и они оценивают этот маркер как ранний динамичный показатель венозного тромбоза [6, 7]. Другие исследовате-

ли обращают внимание на его длительную циркуляцию в крови (до 24 ч и более) и возможность выявления повышенной концентрации в течение нескольких недель после острого тромбоза [8]. Все перечисленное способствует активному использованию тестов определения D-димера в качестве предикторов осложнений, связанных с венозным тромбозом.

На фоне эпидемии новой коронавирусной инфекции появилось большое количество научных сообщений о тромботических осложнениях COVID-19 и необходимости быстрой диагностики возникающих urgentных состояний, в том числе с определением уровня D-димера в крови [9-12]. Эксперты Международного общества по тромбозу и гемостазу (ISTH) полагают, что повышенные уровни D-димера в 3-4 раза и более, у пациента с COVID-19 является предиктором летального исхода и достаточным показанием для госпитализации [13].

Для определения уровня D-димера применяют три метода: турбидиметрический (микроратексная агглютинация), иммуноферментный анализ (ИФА), иммунохроматографию (ИХ) [4, 5, 8].

Технология микроратексной агглютинации с фотометрической регистрацией (иммунотурбидиметрия) заключается в том, что при добавлении плазмы пациента (содержащей D-димер) к реагенту (взвесь микроратексных частиц, покрытых антителами к D-димеру) происходит микроагглютинация, сопровождающаяся увеличением оптической плотности (ОП) реакционной среды. Измеряемый показатель ОП пропорционален концентрации D-димера в исследуемом образце. Иммунотурбидиметрический метод реализован на базе автоматических биохимических анализаторов.

Наиболее чувствительным методом определения D-димера является ИФА (позволяет определять до 60 нг DDU/мл). Исследование методом ИФА достаточно длительно по времени исполнения и проводится в клинико-диагностической лаборатории с серией образцов.

Имунохроматографический анализ (ИХА) относится к высокотехнологичным методам, позволяющим определять D-димер вне лабораторных условий в течение 15-20 минут. Это делает ИХА незаменимым при большом спектре исследуемых показателей (антигены возбудителей инфекционных заболеваний и антитела к ним, молекулярные маркеры воспалительных процессов, онкозаболеваний, гормональные нарушения и др.). Исследования с применением ИХА позволяют на ранней стадии обнаруживать нарушение свертывания крови и осуществлять динамическое наблюдение за показателями.

ИХ-определение D-димера характеризуется скоростью проведения анализа и высокой чувствительностью. Оперативность получения результатов лабораторных исследований необходима при тяжёлых тромботических осложнениях, когда концентрация D-димера может существенно изменяться в течение одного часа. От точности и своевременности результатов проведенного определения зависят меры предупреждения возможных осложнений. Все перечисленное явилось основанием для разработки и организации производства оригинальных ИХ-наборов реагентов, позволяющих качественно определять D-димер выше определённого установленного порогового значения в режиме реального времени [14-17]. Однако клиницистам необходимы технологии и количественного определения уровня D-димера в крови доступными экспресс-методами.

Цель исследования – изучение возможности и оценка клинической эффективности количественного определения уровня D-димера в крови человека на основе технологии ИХА при инструментальной оценке результатов на стрипах с помощью портативного анализатора.

Материал и методы. Использованы экспериментально-производственные серии ИХ набора реагентов «ИХА-Д-димер» (РУ №РЗН 2019/8987 от 07.10.2019), разработанные и изготовленные ЗАО ЭКОлаб (г. Электрогорск Московской обл.) по технологии, описанной ранее [14-17]. При создании наборов применены моноклональные антитела мыши (клон DD2 – ко всей молекуле D-димера, ООО «Хайтест», Москва), для тестовой зоны – козы антитела к IgG мыши («Имтек», Москва). При подборе концентраций антител с целью обеспечения необходимой чувствительности теста (400 нг ФЭЕ/мл или 200 нг DDU)/мл использован рекомбинантный D-димер с аттестованной концентрацией (ООО «Хайтест», Москва), содержащий иммунодоминантную последовательность.

Исследование уровня D-димера в плазме крови ИХ-методом проводили при комнатной температуре. В лунки для образцов на тест-кассетах последовательно вносили по 1 капле (40 мкл) пробы (плазмы крови) и 1 капле буферного раствора (0,05М Трис-буфер с 0,1% БСА; pH=7,2). Тестирование каждого образца выполняли на новой тест-кассете. Результат качественного анализа учитывали визуально через 10 мин после внесения пробы. Результаты исследования с образованием двух хорошо различимых полос розового или слабого розового цвета в контрольной и тестовой зонах реакционной полоски оценивали как положительные (при содержании D-димера выше 400 нг ФЭЕ/мл или 200 нг DDU)/мл.). Отрицательные результаты анализа фиксировали при появлении только одной окрашенной полосы в контрольной зоне (при уровне D-димера менее 400 нг ФЭЕ/мл или 200 нг DDU)/мл.). При отсутствии формирования окрашенной полосы в зоне контроля результат определения считали недействительным, и исследование соответствующей пробы проводили повторно [15, 16].

Инструментальную оценку интенсивности окрашивания реакционных полос в тестовой и контрольной зонах на стрипах «ИХА-Д-димер» осуществляли с помощью портативного ИХ-анализатора модели «GLOO Reader» (фирма Experiment X Germany GmbH, Germany); в настоящее время прибор проходит регистрационные испытания в Российской Федерации. Принцип действия заключается в оценке интенсивности окрашивания тестовой и контрольной полос ИХ-стрипа. Результат каж-

дого измерения анализатор передавал на персональный компьютер, где с применением программного обеспечения «DXCare» и «DXStudio», разработанного создателями ИХ-анализатора, оцифрованное значение интенсивности окраски, сопоставлялось с калибровочным графиком и отображалось на экране в условных единицах оптической плотности (усл.ед.опт.пл.) и в нг DDU/мл.

Для количественного определения D-димера в стандартных образцах предприятия (СОП-259) ЗАО «ЭКОлаб» и при исследовании клинических образцов использовали ИФА-набор реагентов для определения D-димера в плазме крови российского производителя, разрешённого к применению в РФ (РУ №РЗН 2019/8716 от 06.08.2019). Этот набор обеспечивает выполнение одностадийного «сэндвич» варианта твёрдофазного ИФА; минимальная определяемая концентрация D-димера – 10 нг DDU/мл. В наборе используются калибраторы на основе очищенного нативного D-димера. В соответствии с инструкцией интерпретация полученных результатов осуществляется на основании данных, полученных при клинической апробации этого набора реагентов. Так, у 80% здоровых доноров концентрация D-димера в плазме крови варьировала в диапазоне 0-250 нг DDU/мл, у 97% здоровых доноров – 0-285 нг DDU/мл. На этом основании в инструкции к набору реагентов определение уровня D-димера более 285 нг DDU/мл рекомендовано относить к положительным результатам исследования (содержание D-димера выше нормы), концентрацию менее 250 нг DDU/мл – к отрицательным (содержание D-димера не повышено); результаты определения в диапазоне 250-285 нг DDU/мл – оценивать как неопределённые [16].

Сравнительные испытания качественного и количественного определения D-димера в плазме крови человека с использованием технологии ИХА с визуальным и инструментальным учётом результатов исследования проведены со стандартными образцами предприятия (СОП-259) ЗАО «ЭКОлаб» и клиническими пробами плазмы крови людей.

Все исследования проводили согласно инструкциям, прилагаемым к соответствующим наборам реагентов, анализатору и программному обеспечению.

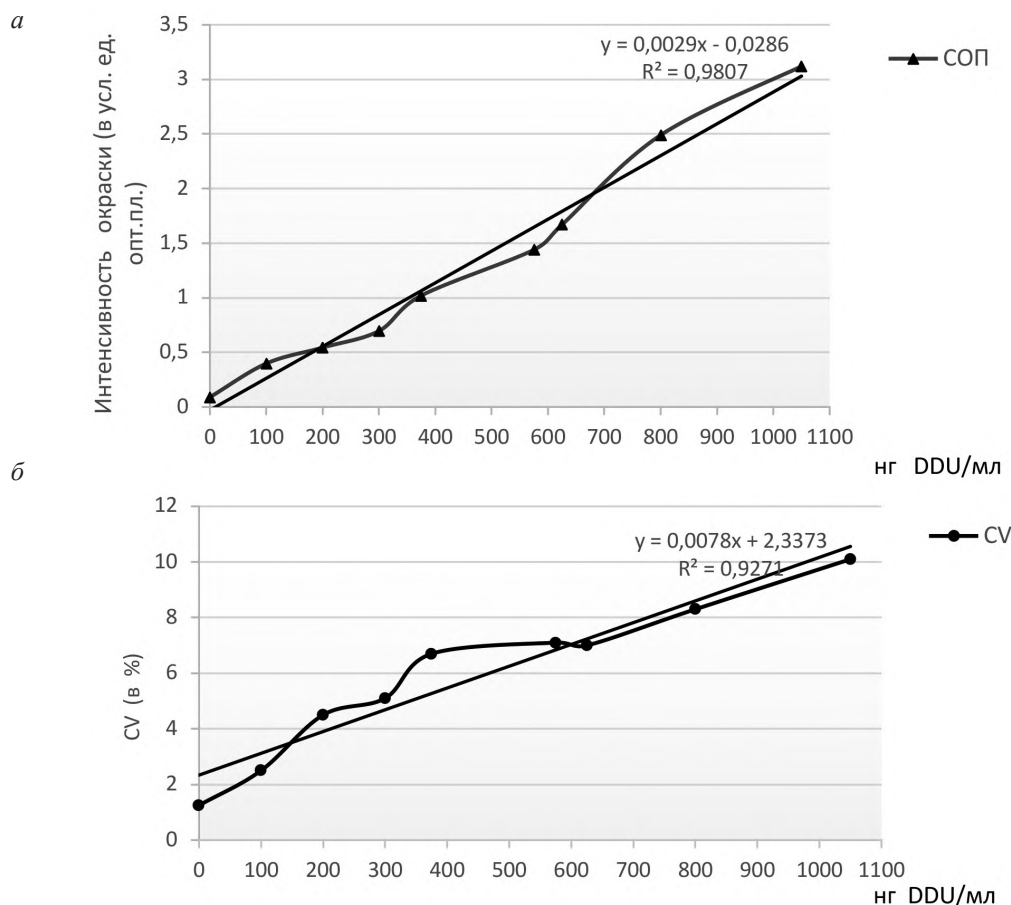
Стандартные образцы предприятия ЗАО «ЭКОлаб» представляли собой 9 пулов стабилизированной консервированной плазмы крови человека с разными уровнями D-димера, количественно аттестованные в ИФА (табл. 1).

Клиническими образцами служили пробы плазмы крови 106 здоровых доноров (мужчин и женщин от 18 до 60 лет), полученные из диагностического центра «ElClinic» (г. Электрогорск), и 152 пациентов с повышенным содержанием D-димера (мужчин и женщин в возрасте старше 60 лет), проходивших лабораторное диагностическое обследование в медицинских учреждениях Люберецкого района. Все клинические образцы получали при пункции локтевой вены пациентов в день обращения и сбора крови в вакутейнеры с ЭДТА в качестве стабилизатора. После центрифугирования пробирок (в режиме 1500 об/мин в течение 5 мин) плазму крови в объеме 1,5 – 2,0 мл из пробирок отбирали в эппендорфы, которые сохраняли при температуре минус 18°C до начала проведения исследования.

Результаты. Построение калибровочной кривой для количественного определения D-димера в плазме крови методом ИХА проведено по результатам измерений СОП-259 (n=9). Каждый образец СОП-259, предварительно аттестованный по содержанию D-димера в количе-

Аттестованные значения содержания D-димера в СОП-259

Образцы СОП-259	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9
Содержание D-димера (нг DDU/мл, по данным ИФА)	0	108	212	305	375	577	625	823	1054
Среднее значение оптической плотности в ИФА, ед.опт.пл.	0,090	0,102	0,431	0,612	0,802	1,120	2,321	3,281	3,489
Интенсивность окраски в ИХА, усл.ед.опт.пл.	0,158	0,398	0,544	0,696	1,24	1,44	1,67	2,49	3,12



Калибровочная кривая определения D-димера в образцах СОП-259 методом ИХА с инструментальной оценкой результата на анализаторе (а) и график вариации ошибки измерения (CV) в зависимости от концентрации D-димера в пробе (б).

ственном ИФА, исследован в ИХА в 4 повторах. Средние значения интенсивности окраски реакционных зон тест-полосок, измеренные на ИХ-анализаторе в усл.ед.опт.пл. и значения содержания D-димера в нг DDU/мл применены для построения калибровочного графика с использованием программы «DXCare» (см. рисунок, а, б).

При изучении калибровочного графика (см. рисунок, а) установлена прямая пропорциональная зависимость концентрации D-димера в пробе, выраженная в нг DDU/мл и оцифрованного значения интенсивности окраски тест-полоски на ИХ-стрипе в усл.ед.опт.пл. ($R=0,9807$). Установлено, что визуально определяемая окраска тестовой линии на ИХ-стрипе начинала проявляться при исследовании СОП-259 №3 (аттестованного в 212 нг DDU/мл), что соответствует общепринятому пороговому уровню D-димера, выше которого содержание этого анализа считается патологически повышенным.

В интересующем нас околопороговом диапазоне содержания D-димера и соответствующей интенсивности окраски тест-полоски в ИХА (200 ± 100 нг DDU/мл) ко-

эффициенты вариации (CV) результатов 4-х повторных измерений были наименьшими: при исследовании СОП-259 № 2 (108 нг DDU/мл) CV составлял 2,5%, для СОП-259 № 3 (212 нг DDU/мл) – 4,5%, для СОП-259 № 4 (305 нг DDU/мл) – 5,1% (см. рисунок, б). Прослеживается тенденция к увеличению величины CV с увеличением концентрации D-димера в пробе ($R=0,9271$). Максимальный CV – 10,1% наблюдали при исследовании СОП-259 №9 (1054 нг DDU/мл).

Несмотря на установленную тенденцию к повышению вариативного отклонения аналитического измерения, величина CV не превышала значения 12-15%, что рекомендовано в качестве предельных величин в регламентирующих документах Минздрава России по контролю качества клинических лабораторных исследований для большинства биохимических исследований [18, 19]. В диапазоне значений 200-800 нг DDU/мл коэффициент вариации (CV) варьировал в пределах 4,5-8,3%, что позволяет обеспечивать достаточно высокую воспроизводимость результатов измерений.

Исследование 106 образцов плазмы крови здоровых доноров в ИХА с визуальным учётом результата не выявило формирования окрашенной тестовой полосы, что свидетельствовало об отсутствии в этих пробах повышенного содержания D-димера. При измерении результатов исследований на этих же тест-кассетах с помощью портативного анализатора «IGLOO Reader», аналитический результат варьировал в интервале от 0,120 до 0,432 усл.ед.опт.пл. или 0-198 нг DDU/мл, что показало необходимую клиническую специфичность использованного набора «ИХА-D-димер». По результатам последующего исследования этих проб в ИФА содержание D-димера составляло 0-201 нг DDU/мл. Расхождение значений, полученных разными методами, составляло $\pm 0-8$ нг DDU/мл.

При исследовании 152 образцов, полученных от лиц старше 60 лет, в ИХА визуально наблюдали 60 слабоположительных результатов (в виде светлой окрашенной полосы бледно-розового цвета, слабее линии контроля) и 96 положительных результатов (с образованием полосы более интенсивного розового цвета), что указывало на повышенное (более 200 нг DDU/мл) содержание в них D-димера.

Применение ИХ-анализатора для измерения интенсивности окраски тест-полос, отражающей количество D-димера в исследованных пробах плазмы крови людей этой группы, установило широкий разброс показателей: от 0,551 до 5,69 усл.ед.опт.пл. или от 220 до 1023 нг DDU/мл, соответственно. Полученные показатели также были сопоставлены с результатами определения D-димера методом ИФА (табл. 2).

Проведённый анализ данных позволил установить, что определяемый визуальный сигнал (в виде слабой полосы светло-розового цвета) детектировался, начиная с концентрации аналита 220 нг DDU/мл в пробе, что соответствовало 0,551 усл.ед.опт.пл., измеренным с помощью ИХ-анализатора. Последующее нарастание величины оцифрованного прибором сигнала в зависимости от увеличения интенсивности окраски тест-полос (что отражает увеличение концентрации D-димера в пробе) происходило неравномерно. Для выявления зависимости величины оцифрованного показателя интенсивности окраски ИХ-тест-полоски (и содержания D-димера, рассчитанного программой «DXStudio» по результатам калибровки) и результатов определения D-димера в

ИФА все данные, полученные с клиническими образцами этой группы, были дополнительно разделены на 7 подгрупп (с интервалом в 100 нг DDU/мл): 201-300, 301-400, 401-500 нг DDU/мл и так далее (табл. 2).

Установлено, что в первых 4-х подгруппах с содержанием D-димера от 220 до 600 нг DDU/мл (по данным ИФА) оцифрованный сигнал, измеренный анализатором (от 0,450 до 1,180 усл.ед.опт.пл.), возрастал на 0,2-0,3 усл.ед.опт.пл. на каждые 100 нг DDU/мл, что соответствует прямой пропорциональной зависимости сопоставляемых показателей.

При более высоких концентрациях D-димера в следующих 3-х подгруппах (от 601 до 1008 нг DDU/мл соответственно) увеличение измеренного сигнала окраски тест-полосок происходило на 2-3 усл.ед.опт.пл. на каждые 100 нг DDU/мл. По нашему мнению, это свидетельствовало об отклонении измеряемых показателей от прямой пропорциональной зависимости при высоком содержании D-димера в пробах.

Обсуждение. Ввиду высокого отрицательного предиктивного значения определения повышенного содержания D-димера в крови обследуемых пациентов, рекомендуется более широко использовать иммунохроматографический метод исследования на тест-полосках с целью раннего выявления нарушений свертывания крови и внутрисосудистого формирования тромбов. Целесообразность использования ИХА наборов реагентов диктуется значительной экономией времени врача для принятия клинического решения. Исследование на ИХ-стрипах выполняется в режиме “point of care” (по месту нахождения пациента) и занимает около 10-15 минут. В то же время ИФА выполняется в клинической лаборатории по мере формирования значительной аналитической серии клинических проб и осуществляется в течение 2-2,5 часов. Дополнительное время расходуется на доставку клинических образцов в лабораторию и предоставление полученных результатов исследования.

Применение набора реагентов «ИХА-D-димер» показало достаточно высокую точность и воспроизводимость результатов выполняемых диагностических исследований и возможность использования его не только для качественного определения (нормального или повышенного содержания), но и количественного исследования уровня D-димера.

Таблица 2

Содержание D-димера в клинических образцах, измеренное в ИХА (с визуальным и инструментальным учётом результатов) и в ИФА

Количество исследованных образцов	Исследование в ИХА с визуальным учётом (отрицательный / положительный)	Исследование в ИХА с измерением на ИХ-анализаторе		Концентрация D-димера по данным ИФА (нг DDU/мл)
		усл.ед.опт.пл.	нг DDU/мл	
Здоровые доноры (n=106)				
Всего 106	отрицательный	0,120-0,432	0-198	0-201
Пациенты в возрасте старше 60 лет (n=152)				
51	слабоположительный	0,450-0,606	205-287	220-292
9	слабоположительный	0,545-0,885	309-389	311-395
23	положительный	0,754-0,998	406-506	404-513
34	положительный	0,965-1,180	520-597	516-600
10	положительный	2,580-3,180	611-712	610-685
17	положительный	2,150-5,690	720-811	723-791
8	положительный	3,010-5,220	886-1023	866-1008
Всего 152	слабоположительный и положительный	0,450-5,690	205-1023	220-1008

Для количественной характеристики содержания D-димера, особенно на этапах первичного медицинского обследования или в процессе динамического наблюдения за пациентами, показано измерение результата ИХА на тест-кассетах «ИХА-D-димер» с помощью портативных ИХ-анализаторов (например: модели «IGLOO Reader» или других с прилагаемым к этим измерительным средствам программным обеспечением).

Полученные в работе результаты позволили рекомендовать использование кассет набора «ИХА-D-димер» с инструментальной оценкой результата на автоматическом анализаторе для исследования клинических образцов со слабоположительными и положительными результатами, где показания прибора в интервале 0,450-1,180 усл.ед.опт.пл. наиболее точно отражают патологически увеличенную концентрацию D-димера в пробе (от 200 до 600 нг DDU /мл); средняя ошибка измерения в этом интервале составляла 2,2-10,5%. Инструментальная оценка результатов ИХ-исследования относительно простая в исполнении и доступна для внедрения в медицинских организациях.

В случаях более высокой концентрации D-димера в крови – 601-1000 нг DDU/мл, средняя ошибка результата измерения, по отношению к результатам ИФА, может составлять 7-10%, при еще более высоких концентрациях – 22-34%. При выявлении высоких показателей содержания этого анализатора в крови необходимо подтверждение полученного экспресс-результата путём направления пробы крови в клиническую лабораторию для последующего исследования D-димера методом ИФА.

Использование набора реагентов «ИХА-D-димер» обеспечивает быстрое определение нормального и повышенного уровня D-димера в крови. Это помогает своевременно диагностировать или исключить развитие тромбоза у больного, в случае необходимости незамедлительно приступить к антикоагулянтной терапии, что может значительно снизить частоту развития осложнений и летальных случаев.

Заключение. Полученные результаты позволяют рекомендовать ИХА набор реагентов «ИХА-D-димер», исходя из разработанной для качественного исследования, для применения с целью количественного определения D-димера в крови при инструментальном учёте результатов. Назначение качественного набора реагентов будет расширено в соответствии с обновленной нормативной документацией и проведением необходимых регистрационных процедур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гильманов А.Ж. D-димер: Что? Как? У кого? С какой целью? *Клинико-лабораторный консилиум*. 2009; 31(6): 38-46.
2. Савельев В. С., Чазов Е. И., Гусев Е. И. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболических осложнений. *Флебология*. 2010; 4(2): 1-37.
3. Гриневич Т.Н. Венозные тромбозы в травматологии и ортопедии: трудности диагностики. *Новости хирургии*. 2010; 18 (1): 124-32.
4. Орадова А.Ш., Турсынова С.К., Канжигалина З.К., Касенова Р.К. Исследование D-димера в клинико-диагностической лаборатории. *Вестник Казахского национального университета*. 2014; 2 (2): 279-81.
5. Васильев С.А., Виноградов В.Л., Берковский А.Л., Маркова М. Л. D-димер – диагностический и прогностический маркер тромботических заболеваний. *Медицинский совет*. 2020; 1: 256-66.
6. Соловьева И. В. D-димер: клиническое значение для пожилых пациентов. *Консилиум. Лабораторная диагностика*. 2017; 8 (158): 28-9.

7. Шайкенова Л.Б. Методы лабораторного исследования D-димера. *Вестник Казахского национального университета*. 2013; 1(4): 304-5.
8. Галстян Г.М. Коагулопатия при COVID-19. *Пульмонология*. 2020; 30 (5): 645-57.
9. Никитина А.В., Акиншина Ю.А., Нищакоева Н.Е., Амелина Е.А., Марданлы С. Г. Иммунохроматографический тест для выявления скрытой крови в кале. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(9): 536-40.
10. Акиншина Ю.А., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммунохроматографический тест для определения D-димера. Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации. Сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Электргорск; 2019: 1: 10-4.
11. Акиншина Ю.А., Никитина А.В., Амелина Е.А., Марданлы С.Г. Иммунохроматографический тест для определения D-димера. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (11): 654-8.
12. Марданлы С.Г., Симонов В.В., Авдонина А.С. Производство наборов реагентов для клинической лабораторной диагностики иммунохимическими методами. Орехово-Зуево: ГОУ ВО «ГТТУ»; 2017.
13. Приказ Минздрава России № 45 от 07.02.2000 г. «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
14. Приказ Минздрава России № 220 от 26.05.2003 г. «Об утверждении отраслевого стандарта «Правила проведения внутрилабораторного контроля качества количественных методов лабораторных исследований с использованием контрольных материалов».

REFERENCES

1. Gil'manov A.Zh. D-Dimer: What? How? From whom? For what purpose? *Kliniko-laboratornyj konsilium*. 2009; 31(6): 38-6. (in Russian)
2. Savel'ev V.S., Chazov E. I., Gusev E. I. Russian clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of venous thromboembolic complications. *Flebologiya*. 2010; 4(2): 1-37. (in Russian)
3. Grinevich T.N. Venous thrombosis in traumatology and orthopedics: diagnostic difficulties. *Novosti khirurgii*. 2010; 18 (1): 124-32. (in Russian)
4. Oradova A.Sh., Tursynova S.K., Kanzhigalina Z.K., Kasenova R.K. D-dimer study in the clinical diagnostic laboratory. *Vestnik Kazhskogo natsional'nogo universiteta*. 2014; 2 (2): 279-81. (in Russian)
5. Vasiliev S.A., Vinogradov V.L., Berkovsky A.L., Markova M.L. D-dimer – diagnostic and prognostic marker of thrombotic diseases. *Meditsinskiy sovet*. 2020; 1: 256-66. (in Russian)
6. Solov'yova I.V. D-dimer: clinical significance for elderly patients. *Consilium. Laboratornaya diagnostika*. 2017; 8 (158): 28-9. (in Russian)
7. Shaikhenova L.B. Methods of laboratory investigation of D-dimer. *Vestnik Kazhskogo natsional'nogo universiteta*. 2013; 1(4): 304-5. (in Russian)
8. Galstyan G.M. Coagulopathy in COVID-19. *Pulmonologiya*. 2020; 30 (5): 645-57. (in Russian)
9. Nikitina A.V., Akinshina Ju.A., Nishhakova N.E., Amelina E.A., Mardanly S.G. Immunochromatographic test to detect hidden blood in feces. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (9): 536-40. (in Russian)
10. Akinshina Yu. A., Amelina E.A., Mardanly S.G. Immunochromatographic test for determination of D-dimer. In: Prospects for the introduction of innovative technologies in medicine and pharmacy. Collection of materials of the VI All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation [Sbornik materialov VI Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem]. Elektrogorsk; 2019; 1: 10-4. (in Russian)
11. Akinshina Yu. A., Nikitina A. V., Amelina E. A., Mardanly S. G. Immunochromatographic test for determination of D-dimer. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2019; 64 (11): 654-8. (in Russian)
12. Mardanly S. G., Simonov V. V., Avdonina A. S. Production of reagent kits for clinical laboratory diagnostics by immunochemical methods. Orekhovo-Zuevo: GGTU; 2017. (in Russian)
13. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 45 from 07.02.2000 "About the system of measures to improve the quality of clinical laboratory research in healthcare institutions of the Russian Federation". (in Russian)
14. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation № 220 from 26.05.2003 "On the approval of the industry standard "Rules for in-laboratory quality control of quantitative methods of laboratory research using control materials". (in Russian)