

**Диагностика, мониторинг хронического злоупотребления алкоголем и скрининг  
наиболее распространенных патологических состояний, обусловленных  
злоупотреблением**

Методические рекомендации



## Содержание

<b>Введение .....</b>	5
1. <b>Общие положения .....</b>	6
2. <b>Обоснование.....</b>	7
3. <b>Предпосылки и необходимость внедрения лабораторных маркеров диагностики хронического злоупотребления алкоголем.....</b>	9
3.1 Прямые маркеры употребления алкоголя.....	10
3.2 Непрямые маркеры употребления алкоголем .....	11
3.2.1 Средний объем эритроцита (MCV) .....	11
3.2.2 Аспартатаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ).....	11
3.2.3 Гаммаглютамилтрансфераза (ГГТ).....	12
4. <b>Описание маркера CDT.....</b>	15
4.1 Общая характеристика маркера CDT.....	15
4.2. Патомеханизм этианол-индукции повышенного CDT.....	16
4.3. Основные направления исследования с применением метода определения CDT .....	16
5. <b>Материально-техническое обеспечение методики определения карбогидрат-дефицитного трансферрина.....</b>	20
5.1 Предпосылки и критерии выбора метода оценки CDT.....	20
5.2 Сравнительные характеристики методов оценки CDT и обоснование целесообразности использования метода капиллярного электрофореза для проведения диагностических исследований на хроническое злоупотребление алкоголем.....	22
5.3 Описание метода капиллярного электрофореза и технологии определения карбогидрат-дефицитного трансферрина.....	25
5.4 Оборудование и тест-системы для капиллярного электрофореза Sebia.....	26
5.5 Возможность использования рекомендованной материально-технической базы для скрининга других социально-значимых и имеющих отношение к алкогольному генезу патологических состояний.....	27
5.5.1 Поражения печени .....	30
5.5.2 Поражение слизистой оболочки желудка .....	31
5.5.3 Поражение почек .....	31
5.5.4 Злоупотребление, как фактор развития патологии поджелудочной железы и сахарного диабета.....	32
5.5.5 Сахарный диабет как фактор, отягощающий последствия злоупотребления.....	33
6. <b>Экономическая эффективность CDT тестирования.....</b>	34

<b>7. Процедура анализа карбогидрат-дефицитного трансферрина методом капиллярного электрофореза.....</b>	39
7.1. Информирование, опрос пациента и заполнение опросника .....	39
7.2. Взятие образца крови, маркировка и оформление сопроводительной документации.....	40
7.2.1. Требования к условиям и процедуре взятия, приема и утилизации образцов крови.....	40
7.2.2. Требования к условиям хранения и транспортировки образцов крови.....	40
7.3. Проведение качественной и количественной оценки маркера CDT методом капиллярного электрофореза .....	41
7.4. Учет и интерпретация результатов .....	41
7.4.1. Учет результатов качественного анализа.....	41
7.4.2. Учет результатов количественного анализа .....	42
7.5. Факторы интерференции на результаты количественной оценки CDT и способы их устранения .....	43
7.6 Возможные ошибки при интерпретации результатов тестирования.....	44
7.7. Оформление протокола исследования.....	45
<b>8. Отчетность о проведении тестирования .....</b>	<b>45</b>
<b>Список литературы.....</b>	<b>46</b>

## **Приложения**

## **Введение**

Распространение хронического злоупотребления алкоголем и заболевания алкоголизмом в России актуализирует задачу по разработке комплекса мер, направленных на реализацию новой государственной антиалкогольной политики. Современные методики обследования позволяют с высокой степенью достоверности определять лиц, склонных к хроническому злоупотреблению алкоголем и не способных выполнять свои служебные обязанности в стрессовых ситуациях и при их последствиях, связанных со специфическими условиями профессиональной деятельности. Среди них важное место занимают методы диагностического обследования населения различных социальных и возрастных групп, позволяющие своевременно и на ранней стадии выявлять лиц с хронической алкогольной нагрузкой. Представленная методика диагностики основана на качественном и количественном электрофоретическом анализе карбогидрат-дефицитного трансферрина сыворотки крови - биологического маркера, отражающего хроническое злоупотребление алкоголем. Выбор данного маркера основан на его диагностической возможности отражать как раннее и скрытое злоупотребление алкоголем, так и обеспечивать мониторинг эффективности проводимой терапии посредством объективного отражения ремиссии или возникновения рецидива. Таким образом, маркер CDT является универсальным диагностическим инструментом для реализации профилактической и медико-реабилитационной стратегии при заболеваниях зависимости от алкоголь-содержащих веществ. Ключевой составляющей при использовании маркера CDT является объективизация факта злоупотребления алкоголя методами лабораторной диагностики.

## **1. Общие положения**

Методика разработана и аprobирована в Московском научно-практическом центре наркологии Департамента здравоохранения города Москвы и основана на использовании качественной и количественной оценки маркера карбогидрат-дефицитного трансферрина методом капиллярного электрофореза.

Предлагаемая методика включает проведение медицинского осмотра специалистом (психиатром-наркологом) и осуществление качественной и количественной оценки маркера CDT посредством лабораторного тестирования образцов сыворотки крови методом капиллярного электрофореза.

Согласно имеющемуся зарубежному и отечественному опыту данная методика позволяет эффективно решать следующие задачи:

1. Выявление скрытых форм алкоголизации у лиц, употребляющих алкоголь-содержащие вещества с вредными последствиями для здоровья. Своевременное формирование группы риска и проведение профилактической работы.
2. Выявление лиц с хроническим злоупотреблением алкоголя среди различных социальных и профессиональных групп населения и ограничение или недопущение их к управлению транспортными средствами, работе на техногенных объектах и пр.
3. Осуществление мониторинга алкоголизации и определение распространенности хронической алкогольной нагрузки у различных групп населения. Проведение целенаправленной государственной политики по реализации антиалкогольной стратегии.
4. Мониторинг эффективности терапии лиц с заболеванием алкоголизм, объективизация оценки ремиссии и своевременное выявление рецидивов.

Порядок проведения лабораторного обследования включает следующие требования:

1. Тестирование проводится с учетом принципов законности, соблюдения прав человека, добровольности и конфиденциальности.
2. Выполнение анализа осуществляется с применением оборудования, наборов реагентов, расходных материалов, зарегистрированных как изделие медицинского назначения для применения на территории Российской Федерации.
3. Квалификация и компетентность персонала, выполняющего тестирование, должны соответствовать действующим государственным образовательным стандартам, квалификационным характеристикам и лицензионным требованиям.
4. Для лиц, получивших положительный результат при тестировании, необходимо организовать проведение профилактических и лечебных мероприятий в строгом соответствии со статьями 24, 30, 32, 61 Основ законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан.

На начальном этапе при организации обследования лиц для установления факта хронического злоупотребления алкоголем необходимо выполнить следующие мероприятия:

1. Определить объекты тестирования.
2. Сформировать рабочую группу, ответственную за проведение тестирования. В состав рабочих групп входят:
  - медицинский работник (для образовательных учреждений врач-нарколог),
  - представитель территориальной антинаркотической комиссии,
  - представитель подразделения по делам несовершеннолетних органов внутренних дел (при проведении тестирования среди несовершеннолетних),
  - представитель подразделения ОГИБДД (для проведения тестирования водителей),
  - представитель администрации предприятия или организации, учреждения, на котором проводится тестирование.
3. Назначить сроки проведения тестирования.
4. Организовать проведение разъяснительной работы о целях и порядке осуществления тестирования с оформлением добровольного информированного согласия лиц старше 15 лет и родителей и иных законных представителей лиц в возрасте до 15 лет (Приложение 1). При отказе от обследования оформляется письменный отказ по форме, приведенной в Приложении 2.
5. Провести закупку необходимых для анализа оборудования, наборов реагентов и расходных материалов и организовать их ответственное хранение уполномоченными лицами (Приложение 3).
6. Для выполнения анализа произвести взятие пробы венозной крови и приготовление сыворотки в соответствии с установленными процедурами (п. 3.2).
7. Выполнить анализ и получить результат исследования в соответствии с установленной формой (п.3.3).
8. Оценить аналитическую надежность выполненного исследования и достоверность полученного результата (пп. 3.4-3.6)
9. Провести интерпретацию полученного результата в соответствии с установленным диагностическим алгоритмом (пп. 3.4-3.6).

## **2. Обоснование**

Проблемы чрезмерного употребления алкоголя и связанные с ним последствия достигли угрожающих размеров, а алкоголь стал одним из важнейших факторов риска для здоровья во всем мире [96, 98, 103, 113].

Употребление алкоголя способствует болезням, травмам, инвалидности и преждевременной смертности больше, чем какой-либо другой фактор риска в развивающихся странах. В 2000 г. во всем мире, согласно оценкам ВОЗ, употребление алкоголя было причиной 1,8 миллиона случаев смерти или 3,2% общего числа случаев [29].

Помимо ущерба для собственного здоровья злоупотребление алкоголем населения вызывает множество социальных проблем, связанных с ростом насилия, повышенным дорожным травматизмом и т.д., которые сказываются на людях, не употребляющих алкоголь, особенно из близкого окружения пьющих [8, 21, 24, 25, 26, 29, 36, 96, 98].

Употребление алкоголя связано с широким диапазоном видов рискованного поведения, включая небезопасный секс и использование психоактивных веществ. В результате этого нарушения, связанные с употреблением алкоголя, ведут к высокой степени сочетанных заболеваний и зависимостей, включая никотиновую зависимость, инфекции, передаваемые половым путем, и ВИЧ. На потребление алкоголя приходится около 9% общего показателя заболеваемости в рамках Европейского региона [8, 21, 24, 25, 26, 29, 36].

В России ущерб, наносимый алкоголем, является особенно высоким [1, 36, 100, 103, 113], и он во многом определяет снижение показателя ожидаемой продолжительности жизни [1, 36, 97, 103]. Помимо этого ущерб, наносимый алкоголем, представляет собой значительное экономическое бремя для отдельных лиц, семей и общества из-за связанных с его употреблением медицинских расходов, снижения производительности труда в результате повышающихся показателей заболеваемости, расходов в связи с пожарами и повреждением собственности, а также неполученных доходов в связи с преждевременным уходом из жизни. Согласно оценкам, связанные с алкоголем расходы для общества составляют 2-5% валового национального продукта (ВНП) [29, 36].

Несмотря на то, что в некоторых промышленно развитых странах употребление алкоголя на душу населения стабилизировалось или снизилось, коэффициенты его чрезмерного употребления среди населения мира в целом, а также сильного эпизодического употребления среди молодых людей во многих странах увеличилось [4, 5, 21, 23].

Как и в других странах мира, в Российской Федерации проблема чрезмерного употребления алкоголя продолжает оставаться крайне актуальной в течение всех последних лет. На фоне стабильно высоких показателей учтенной распространенности алкоголизма продолжается рост уровня первичной заболеваемости алкоголизмом, алкогольными психозами и первичного выявления лиц, употребляющих алкоголь с вредными последствиями. Распространенность алкоголизма высока в большинстве субъектов Российской Федерации, причем наибольшее распространение эта проблема имеет в депрессивных регионах с высоким уровнем безработицы [97, 100, 103, 113].

Обострение алкогольной ситуации в стране требует пристального внимания к этой проблеме на уровне государства с целью развития эффективной антиалкогольной политики.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ ключевыми действиями, способными обеспечить выполнение поставленных задач, являются разработка и принятие антиалкогольной политики, которая должна основываться на методах просвещения, профилактики, раннего выявления и лечения алкогольной патологии. Такая политика должна быть включена в программы охраны здоровья, в т.ч. на рабочих местах, как в государственных, так и частных секторах.

При этом ВОЗ отмечает, что лечение алкогольной зависимости должно основываться на фактических данных диагностики, быть эффективным и гибким, для того чтобы своевременно реагировать на новые достижения науки, техники и лечебно-диагностических методологий. А лечебно-профилактические учреждения должны уделять внимание всем разновидностям связанных с алкоголем проблем, включая своевременное выявление патологических состояний, обусловленных чрезмерным и хроническим злоупотреблением, детоксикацией, подбором схемы лечения, предупреждением рецидивов, оказанием дальнейшей помощи.

Методические рекомендации «Диагностика, мониторинг хронического злоупотребления алкоголем и скрининг наиболее распространенных патологических состояний, обусловленных злоупотреблением» вместо существующего субъективного, зачастую несвоевременного выявления лиц, страдающих хроническим злоупотреблением алкоголя, предлагают методику и средства аналитической диагностики, которые позволяют перейти к активной целевой профилактике и раннему выявлению лиц, предрасположенных к злоупотреблению алкоголем и одновременно с этим дадут возможность осуществлять скрининг таких распространенных патологических состояний, имеющих нередко алкогольную этиологию, как сахарный диабет, хронические заболевания печени и нарушения белкового обмена.

### **3. Предпосылки и необходимость внедрения лабораторных маркеров диагностики хронического злоупотребления алкоголем**

Согласно «Европейскому Плану по борьбе с потреблением алкоголя», принятому ВОЗ [6], к 2015 г. все страны Европейского региона должны разработать и внедрить эффективный механизм для мониторинга и оценки уровней потребления алкоголя, установления показателей вреда, который может быть нанесен алкоголем, и мониторинга ответных действий, предпринимаемых на уровне разработки и осуществления политики борьбы с потреблением алкоголя.

Для этого ВОЗ рекомендовал создать соответствующие стандартизованные научно-исследовательские методы и подходы диагностики злоупотребления алкоголем.

Трудности диагностики хронического злоупотребления алкоголем имеют три составляющие. Первая из них — нераспознавание или недооценка алкогольной зависимости, вторая — гипердиагностика или ошибочная трактовка при наличии заболевания иной этиологии. И третья — неправильная диагностика самой стадии или формы алкогольной зависимости [31].

Неадекватная диагностика алкогольной зависимости во многом обусловлена тем, что хроническое злоупотребление алкоголем может иметь различные клинические варианты — от бессимптомных, латентных форм, до тяжелых, прогностически неблагоприятных, сопровождающихся крайне высокой летальностью [2, 33].

В настоящее время диагноз злоупотребления у пациентов как психиатрического, так и соматического стационара обычно устанавливается специальным анкетированием [24, 47]. В качестве тест-опросов для практического использования разработано большое количество разнообразных программ: MAST (Michigan Alcoholism Screening Test), SMAT (Short MAST), CAGE (Cut, Annayed, Guilty, Eye), AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test) и др.

Данный подход является базовым, например, при проведении регулярных медицинских осмотров трудящихся различных категорий, в том числе водителей индивидуальных транспортных средств.

Однако многочисленные исследования свидетельствуют о том, что определение злоупотребления на основании критериев психологического тестирования малоэффективно и предполагает наличие у врача большого опыта в связи с тем, что люди, страдающие алкогольной зависимостью, склонны отрицать свое пристрастие к алкоголю [100, 113, 119, 120]. Более того, в России недостаточная объективность данных, получаемых в ходе заполнения тест-опросников, усугубляется тем, что в РФ существенная часть употребляемого алкоголя (оценочно от трети до половины) имеет неофициальное происхождение (самогон и так называемые «суррогаты» (непитьевой алкоголь)). Суррогатный алкоголь содержит различные, но высокие концентрации этианола (60-90%), что осложняет количественную оценку употребления алкоголя из-за отсутствия стандартизации по концентрации и дозе [97].

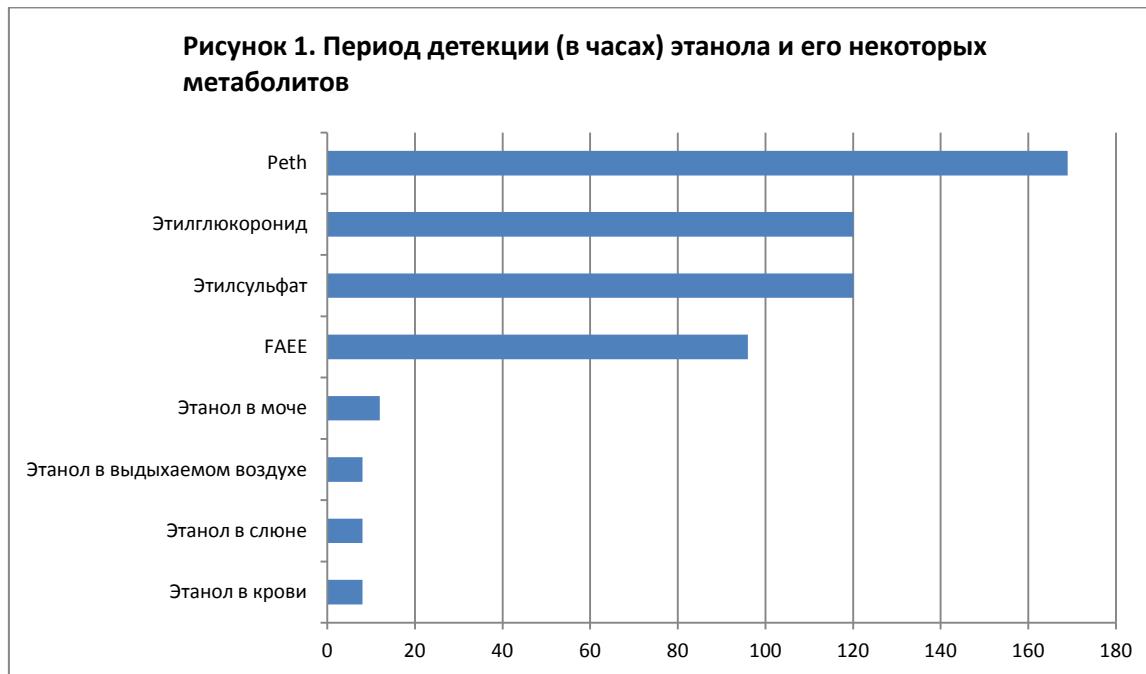
Недостатки психиатрических методов предопределяют необходимость использования объективных лабораторных критериев верификации диагноза злоупотребления спиртным.

Лабораторные маркеры употребления алкоголя разделяют на группы прямых и непрямых биомаркеров. Биомаркеры отличаются механизмами их патологического повышения, которые во многом определяют их аналитическую специфичность; дозой алкоголя и продолжительностью его употребления, требующихся для повышения концентрации биомаркера; периодом полураспада (или периодом обмена) в организме человека, и этот показатель крайне важен при оценке диагностической значимости маркера в отношении дифференцировки хронического злоупотребления и возможности раннего выявления рецидива [54, 93, 101, 119, 120].

### **3.1 Прямые маркеры употребления алкоголя**

Повышение концентрации прямых маркеров неразрывно связано с метаболизмом алкоголя в организме человека. Около 20% поступившего в организм этианола всасывается в желудке, оставшиеся 80% абсорбируются кишечником. Лишь 5% этианола выводится в неизменном виде с мочой, потом и выдыхаемым воздухом, где он может быть детектирован в течение нескольких часов (менее 12) после употребления. 90-95% всосавшегося алкоголя окисляется в печени при помощи алкогольдегидрогеназы, альдегиддегидрогеназы и микросомальных этианол-окисляющих ферментов с образованием ацетальдегида, который является ключевым фактором в развитии многих патологических состояний, ассоциированных с употреблением алкоголя [27, 120]. В ходе неокислительного катаболизма этианола образуются такие продукты распада, как этиловые эфиры жирных кислот (FAEE), фосфатидилэтанол

(PEth), этилглюкоронид (EtG) и этилсульфат (EtS). Эти и другие промежуточные продукты распада этанола могут служить маркерами употребления. Период их детекции в различных биологических жидкостях может варьировать от 8-12 часов до 5-7 дней (рис.1) [119, 120].



В настоящее время прямые маркеры употребления алкоголя нашли практическое применение при проведении криминалистической экспертизы и крайне редко используются в клинической практике. Недостаточная диагностическая ценность прямых маркеров связана с их коротким периодом детекции и/или невозможностью с их помощью провести дифференцировку разового приема алкоголя от хронического злоупотребления [119, 125]. Наиболее перспективным среди прямых маркеров является этилглюкоронид. Данный маркер определяется в моче через несколько часов после алкогольного эксцесса и может быть детектирован на протяжении 5-ти последующих дней [31, 119]. Тест на этилглюкоронид в исполнении жидкостной хроматографии с двойной масс-спектрометрией является очень чувствительным, однако в ряде случаев сверхчувствительность приводит к ложноположительным результатам. В частности, ложноположительный результат по данному маркеру может быть получен при использовании спиртосодержащих растворов для обработки кожных покровов и волос (дезинфицирующие, косметические и лекарственные препараты на основе спирта) [57, 105]; при употреблении ряда продуктов с низким содержанием алкоголя (уксус, безалкогольное пиво, соки, квашеная капуста, перезрелые овощи/фрукты) [99]; при приеме ряда лекарственных препаратов, в т.ч. сиропов от кашля [42]. Уровень этилглюкоронида может быть неправильно оценен при употреблении наркотических веществ, в т.ч. марихуаны [126], наличии у пациента инфекций мочевого тракта [75], заболеваний почек [78] и генетических нарушениях обменных процессов (до 10% от всей популяции).

Оценка этилглюкоронида может быть рекомендована для установления факта употребления алкоголя в практике криминалистической экспертизы, однако данный маркер неприменим для дифференцировки степени и длительности злоупотребления [31, 119].

В целом прямые тесты определения содержания алкоголя и/или его метаболитов в крови, моче или выдыхаемом воздухе являются не более чем «одномоментным снимком», позволяющим зафиксировать прием алкоголя в данный конкретный короткий промежуток времени, что делает такую диагностику абсолютно неинформативной в отношении хронического злоупотребления алкоголем.

### **3.2 Непрямые маркеры употребления алкоголем**

Группа непрямых маркеров включает широкий спектр показателей, аналитические характеристики и диагностическая значимость которых может варьировать в широких пределах [31, 54, 55, 80, 100, 101, 103, 113, 119, 120].

#### **3.2.1 Средний объем эритроцита (MCV)**

Средний объем эритроцита (MCV) является индексом размера красных кровяных телец и рассчитывается как отношение гематокрита к количеству красных кровяных телец. Механизмом, посредством которого алкоголь вызывает повышение MCV, является прямой токсический эффект алкоголя на эритроциты. Дефицит фолиевой кислоты и витамина В12, являющийся вторичным следствием употребления алкоголя, а также повреждения печени могут также вызывать повышение MCV. Повышение MCV наблюдается при хроническом злоупотреблении и коррелирует как с количеством принятого, так и с частотой употребления. Однако изменение MCV в ответ на изменение уровня потребления алкоголя происходит очень медленно: повышение MCV может возникать только спустя 1 месяц употребления свыше 60 г алкоголя в день; для нормализации MCV может потребоваться несколько месяцев воздержания. MCV не является информативным маркером при мониторинге острого употребления алкоголя, рецидивов или запоев по причине медленного реагирования показателя на изменения количества поступающего в организм алкоголя, что обусловлено продолжительным периодом полураспада эритроцитов (жизненный цикл эритроцита составляет 100 -120 дней). MCV может неспецифически повышаться у лиц с гипотиреозом, ретикулоцитозом, а также у курильщиков. Низкая специфичность маркера наблюдается при тестировании пожилых пациентов. MCV может быть понижен у лиц с дефицитом железа в организме (алиментарная анемия, желудочно-кишечные или менструальные кровотечения), при талассемиих и ряде хронических заболеваний (например, при хронических заболеваниях ЖКТ). Таким образом, основным недостатком маркера MCV является его низкая чувствительность (40-50%) и недостаточная специфичность как у стационарных, так и у амбулаторных больных [31, 119, 120, 125].

#### **3.2.2 Аспартатаминотрансфераза (АСТ) и аланинаминотрансфераза (АЛТ)**

Повышение уровня аспартатаминотрансферазы зачастую является первым выявляемым показателем ответной реакции гепатоцитов на воздействие лекарственных препаратов и токсических агентов. Уровень АСТ и АЛТ отражает генерализованное повреждение клеток печени или повышение проницаемости клеточных мембран как алкогольного так и неалкогольного генеза. Оба фермента поступают в кровь при повреждении клеточных мембран и присутствуют во многих тканях, при этом в

большинстве тканей АСТ содержится в меньшем количестве, по сравнению с АЛТ, исключение составляет только ткань печени, где оба фермента представлены примерно в равных концентрациях. Уровень АСТ и АЛТ (период полураспада составляет 17 и 47 часов, соответственно) повышается в случае злоупотребления алкоголем, но из-за крайне низкой чувствительности и специфичности эти маркеры не могут рассматриваться в качестве самостоятельных индикаторов хронического злоупотребления [31, 54, 119, 120, 125].

### **3.2.3 Гаммаглутамилтрансфераза (ГГТ)**

Гаммаглутамилтрансфераза (ГГТ) – мембранный гликопротеин (фермент), катализирующий перенос гаммаглутамилового остатка глютатиона к различным белковым акцепторам. Уровень повышения ГГТ сыворотки в ответ на употребление различных количеств алкоголя и при различной продолжительности злоупотребления может значительно варьировать от пациента к пациенту. Прежде всего, ГГТ является индикатором хронического употребления высоких доз алкоголя, но остается в пределах нормальных значений у запойных алкоголиков и у пьющих, но не злоупотребляющих лиц, в случае отсутствия у них сопутствующих заболеваний печени. Период полураспада ГГТ (время, за которое активность фермента снижается в 2 раза от первоначальной) составляет от 14 до 26 дней, и концентрация фермента в сыворотке, как правило, возвращается к норме спустя 4-5 недель после прекращения употребления алкоголя [31, 119, 120].

Чувствительность ГГТ у лиц с высокой алкогольной нагрузкой (от 40 до 540 г алкоголя в день) согласно данным ряда исследований, проведенных в Финляндии, составляет 58%. У лиц, потребляющих критически высокие количества этанола, но не классифицирующиеся как лица с зависимостью, чувствительность ГГТ значительно ниже (20-50%), особенно при проведении диагностики в учреждениях первичной медицинской помощи. Физиологическое повышение уровня ГГТ наблюдается у лиц старше 65 лет независимо от количества употребляемого ими алкоголя, и, напротив, у лиц моложе 30 лет физиологический уровень ГГТ может быть понижен [54, 125].

В широкомасштабном исследовании популяции Финляндии (3974 мужчины и 2988 женщин) было показано, что ГГТ обладает низкой чувствительностью и низкой диагностической значимостью в отношении дифференцировки лиц с высокой алкогольной нагрузкой (свыше 280 г в неделю) от лиц со средней (105-280 г в неделю) и низкой (105 г в неделю) нагрузкой [125].

ГГТ может неспецифически повышаться при заболеваниях поджелудочной железы, диабете II типа, ожирении, гипертонии, инфаркте миокарда, хронических обструктивных заболеваниях легких и почечной недостаточности. Более выраженная ответная реакция ГГТ наблюдается у хронически злоупотребляющих мужчин, являющихся выходцами из Южной Азии, Бразилии, Мексики и Африки [54, 125].

Таким образом, основным недостатком данного биомаркера является его низкая специфичность. Целый ряд лекарственных препаратов и патологических состояний могут способствовать повышению ГГТ, приводя к ложноположительным результатам диагностики. Несмотря на недостатки, измерение

уровня ГГТ при сочетанном использовании с другими, более специфичными маркерами, такими, например, как углевод-дефицитный трансферрин, может дать неплохие, диагностически значимые результаты.

В целом описанные выше традиционные непрямые маркеры употребления алкоголя можно охарактеризовать как недорогие, простые в исполнении, но недостаточно надежные показатели, обладающие рядом существенных ограничений [31, 80, 100, 101, 103, 113, 119, 120]:

а) данные показатели отражают не собственно злоупотребление алкоголем, а нарушения функции печени, связанные со злоупотреблением. Таким образом, данные тесты имеют достаточно низкую диагностическую специфичность, поскольку дают ложноположительные результаты при ряде заболеваний печени, не связанных с алкоголизмом, а также при приеме некоторых лекарств;

б) кроме того, часть этих тестов не достаточно чувствительна, чтобы обнаружить факт злоупотребления алкоголем до начала органического поражения печени;

в) специфичность и чувствительность указанных маркеров варьируют в широких пределах в зависимости от пола, возраста, сопутствующей патологии, не отвечая критериям «идеального маркера».

В последние годы в мировой практике все шире применяется новый маркер - карбогидрат-дефицитный трансферрин (CDT). Согласно данным литературных источников, включающих опубликованные результаты крупных мультицентровых, клинических и валидационных испытаний, CDT обладает наилучшими аналитическими показателями среди существующих маркеров лабораторной оценки хронического злоупотребления [74, 95, 119]. Специфичное повышение CDT наблюдается у лиц, потребляющих не менее 50-80 г алкоголя в течение не менее 7-10 дней, что позволяет устанавливать факт хронического злоупотребления лабораторным путем [95, 108, 109].

При этом у большинства пациентов, страдающих заболеваниями печени, уровень CDT остается в пределах нормы, что выгодно отличает его от показателей ГГТ, АЛТ и АСТ [40, 95, 119, 120]. Некоторые хронические заболевания печени (первичный билиарный цирроз, хронический гепатит с высокой активностью, тяжелый декомпенсированный цирроз) могут вызывать ложноположительные результаты [65]. Тем не менее, согласно данным различных исследований данный маркер демонстрирует наиболее высокие показатели специфичности и чувствительности [67, 95, 120, 125] (таблица 1).

**Таблица 1. Сравнительные характеристики маркера CDT\***

Характеристики показателя	CDT	ГГТ	МСВ
Специфичность	82-98 %	Около 70%	30-70%
Чувствительность	60-94%	50-75%	15-69%
Период полурастапа	14-17 дней	2-3 недели	3 месяца
Время, необходимое для нормализации показателя после прекращения употребления	4 недели	2 месяца	3-4 месяца
Пороговое значение потребления алкоголя, вызывающее положительный результат	50-80 г в день	80-200 г в день	< 80 г/день
Период регулярного потребления алкоголя, вызывающий положительный результат	1 неделя	несколько недель	несколько месяцев

\* Вариабельность показателей объясняется разницей аналитических характеристик методов оценки маркеров, особенностями и размером выборки участников исследований и пр.

В 2005 году маркер CDT был одобрен Федеральным агентством по контролю за продуктами питания и лекарствами США (Food and Drug Administration, FDA) в качестве показателя хронического злоупотребления и в настоящий момент нашел широкое практическое применение в странах Западной Европы и США.

Учитывая перспективность и обширный положительный опыт практического использования маркера CDT, в том числе для ранней диагностики и выявления скрытых форм алкоголизма, данный показатель был взят за основу для разработки диагностического механизма, приведенного в настоящих Методических рекомендациях.

#### **4. Описание маркера CDT**

##### **4.1 Общая характеристика маркера CDT**

Трансферрин (Tf) – белок сыворотки крови, синтезирующийся преимущественно гепатоцитами, основной переносчик железа в организме. Молекула трансферрина состоит из трех структурных доменов: полипептидной цепи, двух независимых сайтов связывания ионов железа и двух комплексов N-гликанов (Приложение 4). Все три домена характеризуются сильной вариабельностью, обеспечивая существенную микрогетерогенность молекул трансферрина [40, 67, 85, 95].

Для диагностики хронического злоупотребления алкоголем наибольшее значение имеет вариабельность молекул трансферрина по структуре цепей N-гликанов. Цепочки N-гликанов молекул трансферрина могут различаться по степени разветвления, формируя би-, три- и тетра- антенны. Каждая антenna может заканчиваться молекулой сиаловой кислоты, несущей отрицательный заряд. В зависимости от количества остатков сиаловой кислоты, связанных сантенами углеводных цепей, в сыворотке крови человека обнаруживают до 9 изоформ трансферрина, начиная от асиало - и заканчивая октасиалотрансферрином [67]. Процентное содержание этих изоформ в сыворотке крови строго упорядочено и у здорового человека составляет: < 1,5% для гептасиало-Tf; 1-3% для гексасиало-Tf; 12-18% для пентасиало-Tf; 64-80% для тетрасиало-Tf; 4,5-9% для трисиало-Tf и < 2,5% для дисиало-Tf. Асиало -, моносиало- и октасиалотрансферрин в норме не детектируется или обнаруживается в незначительных концентрациях: < 0,5% для асиало-Tf; < 0,9% для моносиало-Tf [62, 67, 89].

При хроническом злоупотреблении алкоголя гликозилирование трансферрина нарушается, что приводит к изменению процентного соотношения его изоформ в сторону повышения уровня низкосиалированных вариантов, называемых также карбогидрат-дефицитными, или CDT.

*В настоящее время и до завершения программы международной стандартизации CDT, иницииированной Международной Федерацией Клинической Химии (IFCC), к карбогидрат-дефицитному трансферрину принято относить асиало-, моносиало- и дисиало- изоформы трансферрина [80, 84].*

#### **4.2. Патомеханизм этанол-индуцированного повышения CDT**

Патомеханизм повышения уровня CDT в ответ на хроническое злоупотребление алкоголем заключается, главным образом, в том, что этанол и/ или его метаболит – ацетальдегид влияют на синтез цепей N-гликанов в аппарате Гольджи, ингибируя активность галактозилтрансферазы и N-ацетилглюкозаминилтрансферазы и одновременно с этим повышая активность сиалидазы в плазматических мембранах печени. Этанол также вызывает дестабилизацию и снижение концентрации мРНК  $\alpha$ -2,6-сиалилтрансферазы и снижение синтеза  $\alpha$ -2,6-сиалилтрансферазы, обусловленное снижением активности сиалилтрансферазы, и, как следствие, уменьшение сиалирования молекул трансферрина [40, 67, 125].

Таким образом, CDT выгодно отличается от таких маркеров, как АЛТ, АСТ и ГГТ, т.к. в отличие от последних повышение его концентрации в наименьшей степени ассоциировано с органическим поражением печени или других органов (как алкогольного, так и неалкогольного генеза) или повышенным синтезом микросомальных ферментов. В отличие от других гликопротеинов, недостаток сиалирования изоформ трансферрина никак не связан с клиренсом печени или почек [31, 40, 119, 125].

#### **4.3. Основные направления исследования с применением метода определения CDT**

1. Лабораторная диагностика хронического злоупотребления алкоголем и контроль за больными алкоголизмом на стадии лечения и реабилитации.

2. Медицинское освидетельствование и мониторинг хронического злоупотребления алкоголем работниками, занятыми отдельными видами профессиональной деятельности и деятельностью, связанной с источником повышенной опасности, на занятие которыми устанавливаются ограничения для больных наркоманией в соответствии с Перечнем, утвержденным постановлением Правительства РФ №394 от 18.05.2011:

2.1. Деятельность, связанная с оборотом наркотических средств и психотропных веществ.

2.2. Деятельность, связанная с культивированием наркосодержащих растений.

2.3. Работы, связанные с управлением транспортными средствами или управлением движением транспортных средств, по профессиям и должностям согласно перечню, установленному постановлением Правительства Российской Федерации от 19 января 2008 г. N 16.

2.4. Работы по профессиям и должностям согласно перечню профессий и должностей работников, обеспечивающих движение поездов, подлежащих обязательным предварительным, при поступлении на работу, и периодическим медицинским осмотрам, установленному постановлением Правительства Российской Федерации от 8 сентября 1999 г. N 1020, а также работы, связанные с выходом на действующие железнодорожные пути.

2.5. Работы в качестве членов летных и кабинных экипажей воздушных судов гражданской авиации, а также диспетчеров, осуществляющих организацию и управление воздушным движением.

2.6. Работы на морских судах, судах смешанного (река - море) плавания и на судах внутреннего плавания.

2.7. Деятельность, связанная с эксплуатацией, ремонтом скважин и установок при добыче нефти, переработке высокосернистой, сернистой и малосернистой нефти, природного газа, пиробензола, селективной очистке масел, пиролиза, очистке нефти и газа от сероводорода, очистке нефтеналивных судов, цистерн, резервуаров, добычей и обработкой озокерита, экстракционноозокеритовым производством, регенерацией авто- и авиамасел, выделением и применением предельных и непредельных углеводородов (производство полиэтилена, дивинила, изопрена и других), применением бензина-растворителя, производством синтетических продуктов (фенола, ацетона, синтетических жирных кислот и спиртов и других), вспомогательными процессами, связанными с обслуживанием товарных парков, отбором проб, лабораторным контролем сырья, промежуточных и конечных продуктов (нефть и природный газ).

2.8. Деятельность, связанная с добычей (открытым и подземным способом) и переработкой полезных ископаемых.

2.9. Работы, связанные с производством и применением (включая лабораторные работы) бензола, гомологов и производных бензола (изопропилбензола, стирола, толуола и других).

2.10. Работы, непосредственно связанные с производством, транспортировкой и применением легковоспламеняющихся и взрывчатых материалов и веществ, работы на взрыво- и пожароопасных производствах.

2.11. Все виды деятельности в области использования атомной энергии.

2.12. Деятельность в области промышленной безопасности: проектирование, строительство, эксплуатация, расширение, реконструкция, капитальный ремонт, техническое перевооружение, консервация и ликвидация опасного производственного объекта, изготовление, монтаж, наладка, обслуживание и ремонт технических устройств, применяемых на опасном производственном объекте, проведение экспертизы промышленной безопасности, подготовка и переподготовка работников опасного производственного объекта.

2.13. Деятельность, связанная с оборотом оружия.

2.14. Аварийно-спасательные работы.

2.15. Подводные работы.

2.16. Подземные работы.

2.17. Работы на высоте, верхолазные работы, а также работы по обслуживанию подъемных сооружений.

2.18. Работы, связанные с управлением подъемными механизмами (краны).

2.19. Работы, непосредственно связанные с обслуживанием сосудов под давлением.

2.20. Работы на водопроводных сооружениях, связанные с подготовкой воды и обслуживанием водопроводных сетей.

2.21. Работы, выполняемые с применением изолирующих средств индивидуальной защиты и фильтрующих противогазов.

2.22. Медицинская деятельность.

2.23. Деятельность, связанная с производством витаминов, сульфаниламидных, пиразолоновых, противоопухолевых и гормональных препаратов, нейролептиков, антикоагулянтов и анестетиков (фторотан).

2.24. Работы в организациях медицинской промышленности и аптечной сети, связанные с изготовлением, расфасовкой и реализацией лекарственных средств.

2.25. Педагогическая деятельность, а также деятельность, непосредственно связанная и непосредственно не связанная с образовательным процессом, в образовательных организациях.

2.26. Работы в детских и подростковых сезонных оздоровительных организациях.

2.27. Работы с использованием сведений, которые относятся к охраняемой в соответствии с законодательством Российской Федерации информации ограниченного доступа.

2.28. Работы на рабочих местах с вредными и (или) опасными условиями труда (4 класс), установленными по результатам аттестации рабочих мест по условиям труда.

3. Медицинское освидетельствование военнослужащих, граждан, подлежащих призыву на военную службу и поступающих на военную службу по контракту.

4. Медицинское освидетельствование мигрантов, получающих разрешение на работу или вид на жительство в РФ.

5. Контроль за потреблением алкоголь-содержащих веществ лиц, заключенных под стражу, отбывающих наказание или освобождающихся из мест лишения свободы.

6. Медицинское освидетельствование лиц, получающих водительское удостоверение и разрешение на владение оружием.

7. Медицинское освидетельствование лиц, лишенных водительских прав по причине управления транспортным средством в состоянии алкогольного опьянения, при принятии решения о возврате прав.

8. Мониторинг употребления алкоголя детьми старше 13 лет, а также учащимися средних и высших учебных заведений.

9. Контроль крови доноров, ее компонентов и препаратов из донорской крови.

10. Социально-гигиенический мониторинг, направленный на установление степени распространения алкоголизма среди различных социальных групп населения страны.

Рекомендации по организации и периодичности проведения СДТ скрининга для различных категорий населения представлены в Таблице 2.

**Таблица 2.** Использование метода определения CDT для различных категорий населения

№	Категория населения	Основание для организации CDT скрининга	Периодичность скрининга
1	Больные алкоголизмом	Постановка на учет, контроль лечения	Первичный анализ осуществляется при освидетельствовании и/ или госпитализации и далее еженедельно до момента завершения терапии
2	Лица, находящиеся на наркологическом профилактическом и диспансерном учете	Оценка стойкости ремиссии, выявление рецидивов	1 раз в месяц для лиц, находящихся на профилактическом учете и больных первой группы учета, находящихся на диспансерном учете; 1 раз в 2 месяца для больных второй группы учета, находящихся на диспансерном учете; 1 раз в 3 месяца для больных третьей группы учета, находящихся на диспансерном учете; 1 раз в 4 месяца для больных четвертой группы учета, находящихся на диспансерном учете
<b>Диагностическое значение:</b> При постановке на учет больных алкоголизмом имеет значение лабораторное подтверждение факта хронического злоупотребления алкоголем (положительный результат CDT теста). Для объективизации контроля ремиссии больного алкоголизмом и принятия решения о снятии его с учета необходимо подтверждение отсутствия фактов приема алкоголя на протяжении длительного периода времени. Стойкость ремиссии подтверждается в случае получения отрицательных результатов CDT теста в течение всего периода диспансерного учета.			
3	Работники, занятые отдельными видами профессиональной деятельности и деятельностью, связанной с источником повышенной опасности, на занятие которыми устанавливаются ограничения для больных наркоманией в соответствии с Перечнем, утвержденным постановлением Правительства РФ №394 от 18.05.2011	Поступление на службу  Плановая диспансеризация  После происшествий	Однократно, при прохождении медицинского обследования при поступлении на службу  При прохождении каждой плановой диспансеризации (но не реже 1 раза в год)  Однократно, не позднее 2-х календарных дней с момента происшествия
4	Военнослужащие, граждане, подлежащие призыву на военную службу и поступающие на военную службу по контракту	Поступление на службу  Плановая диспансеризация	Однократно, при прохождении медицинского обследования при поступлении на службу  При прохождении каждой плановой диспансеризации (но не реже 1 раза в год)
<b>Диагностическое значение:</b> Обследование на предмет хронического злоупотребления алкоголем имеет большое значение для работников, чья профессиональная деятельность сопряжена с повышенным риском для окружающих. Методы прямого определения алкоголя в биологических жидкостях в данном случае малоэффективны, т.к. обследуемые имеют возможность подготовиться к плановым обследованиям. Определение уровня CDT, напротив, является более эффективным средством оценки хронического злоупотребления алкоголем, т.к. период полураспада маркера составляет не менее 14-17 дней. При плановой диспансеризации работников указанных профессий, а также сразу после инцидентов или происшествий для выявления возможной хронической алкогольной нагрузки, как фактора, способствующего возникновению чрезвычайной ситуации.			
5	Мигранты	Медосвидетельствование	Однократно, при прохождении первичного медосвидетельствования и при каждом новом обращении за продлением вида на жительство и/ или разрешения на работу
6	Лица, получающие водительское удостоверение или разрешение на владение оружием	Медосвидетельствование	Однократно, при прохождении медицинского осмотра и при каждой новой замене по истечению срока действия

<b>Диагностическое значение:</b> При обследовании мигрантов, а также лиц, получающих водительское удостоверение или разрешение на оружие, необходимо исключить факт хронического злоупотребления алкоголем, опосредующий повышенный риск психических и физических расстройств и связанную с этим потенциальную опасность для окружающих			
7	Лица, лишенные водительских прав по причине управления транспортным средством в состоянии алкогольного опьянения	Медосвидетельствование	Не реже 1 раза в 3 месяца на протяжении всего срока лишения прав и не реже 1 раза в 3 месяца на протяжении года после возврата водительского удостоверения
<b>Диагностическое значение:</b> Согласно данным МВД более 40% лиц, лишенных водительских прав по причине управления транспортным средством в состоянии алкогольного опьянения, совершают данное правонарушение повторно. В связи с этим лабораторный контроль хронической алкогольной нагрузки и недопущение злоупотребляющих лиц к управлению транспортным средством является эффективным средством профилактики повторных правонарушений и снижения аварийности и смертности на дорогах.			
8	Профилактический мониторинг учащихся	Плановая и внеплановая диспансеризация	При прохождении каждой плановой или внеплановой диспансеризации (но не реже 1 раза в год)
9	Социально-гигиенический мониторинг	Плановая и внеплановая диспансеризация	При прохождении каждой плановой или внеплановой диспансеризации
<b>Диагностическое значение:</b> При проведении мониторинга алкоголизации среди учащихся средних и высших учебных заведений, а также социально-гигиенического мониторинга, направленного на установление степени распространения алкоголизма среди различных социальных групп населения страны, наиболее важной задачей является выявление лиц, хронически злоупотребляющих алкоголем на максимально ранней стадии алкогольной зависимости. Это связано с тем, что на ранних стадиях развития алкогольной зависимости ее практически невозможно диагностировать при помощи других (клинических) признаков. Выявление же повышенного уровня CDT позволяет с высокой степенью вероятности подтвердить факт хронического злоупотребления, в т.ч. на стадии prodroma, когда клинические проявления алкоголизма еще полностью отсутствуют, а эффективность лечебно-профилактических мероприятий максимальна. В тоже время использование при мониторинге маркера CDT минимизирует возможности обследуемых «подготовиться» к анализу.			
10	Контроль крови доноров	Выявление противопоказаний к донорству крови и ее компонентов	После каждого взятия крови
<b>Диагностическое значение:</b> Алкоголизм относится к группе абсолютных противопоказаний к донорству крови и ее компонентов. В связи с этим использование CDT – маркера алкоголизма при обследовании доноров является чрезвычайно обоснованным.			

## 5. Материально-техническое обеспечение методики определения карбогидрат-дефицитного трансферрина

### 5.1 Предпосылки и критерии выбора метода оценки CDT

В семидесятых годах прошлого столетия *Stibler* с соавторами при помощи метода изоэлектрического фокусирования (ИЭФ) впервые выявили различия в составе изоформ трансферрина и идентифицировали аномальные гликоформы этого белка, характерные для лиц, злоупотребляющих алкоголем, впоследствии названные карбогидрат-дефицитным трансферрином (CDT) [116]. С тех пор были проведены и опубликованы результаты сотен исследований, касающихся различных аспектов клинического применения CDT и аналитических характеристик методов, позволяющих проводить измерение данного показателя.

Результаты опубликованных материалов, больших многоцентровых лабораторных валидационных и демонстрационных исследований показали, что диагностическая значимость маркера CDT и эффективность его практического использования определяется характеристиками лабораторного метода, лежащего в основе определения этого показателя. Низкие аналитические характеристики того

или иного метода могут существенно снизить или полностью обесценить диагностическую значимость CDT [38, 40, 41, 43, 50, 64, 79, 115, 124]. В связи с этим практическое использование маркера CDT должно быть реализовано только теми диагностическими методами, чьи характеристики полностью удовлетворяют критериям, предъявляемым при их выборе.

При выборе лабораторного метода оценки показателя CDT, взятого за основу для разработки диагностического механизма, приведенного в настоящих Методических рекомендациях, учитывались следующие критерии:

**1. Критерии, имеющие отношение к системе международной стандартизации CDT [80, 83, 84]:**

- 1.1 Соответствие оцениваемого методом анализа текущему определению маркера CDT (до завершения международной стандартизации CDT);
- 1.2 Соответствие оцениваемого методом анализа новому определению CDT, выдвинутого рабочей группой IFCC по стандартизации CDT в 2007 г., и планируемого к включению в международные рекомендации в 2014-2015 гг.
- 1.3 Оценка CDT в единицах измерения (% CDT), рекомендованных рабочей группой IFCC по стандартизации CDT.

**2. Критерии, имеющие отношение к техническим характеристикам метода:**

- 2.1 Принцип метода и формат предоставления результатов, исключающие или минимизирующие необходимость подтверждения результатов исследования другими методами.
- 2.2 Возможность выявления факторов интерференции и обоснованного исключения из исследования проб пациентов, которые по своим биологическим особенностям не могут быть протестированы при помощи маркера CDT (некоторые генетические варианты трансферрина, 2-3-сиало-блок).
- 2.3 Исключение или минимизация «человеческого фактора» при проведении диагностической процедуры (автоматизация всех этапов исследования, включая пробоподготовку; полная прослеживаемость образца (работа с первичной штрих-кодированной пробиркой); отсутствие необходимости пользовательских корректировок (отсутствие ручных настроек, адаптаций, наличие унифицированного, запрограммированного протокола исследования)).
- 2.4 Производительность (включая все этапы работы с пробой), достаточная для проведения скрининговых исследований.

**3. Критерии, имеющие отношение к скрининговым характеристикам метода как инструмента скрининга:**

- 3.1 Доступность метода для практического здравоохранения (наличие Регистрационного Удостоверения МЗ РФ и Сертификата соответствия ГОСТ Р на анализаторы и диагностические тест-системы; наличие в России сертифицированной сервисной службы, способной обеспечить ввод систем в эксплуатацию, их гарантийное и методическое сопровождение).

- 3.2 Приемлемость метода для обследуемых, исполнителей на всех уровнях и врачей.
- 3.3 Экономичность метода.
- 3.4 Возможность использования материально-технической базы метода в программах скрининга других социально-значимых и имеющих отношение к алкогольному генезу патологических состояний (нарушение белкового и углеводного обмена, хронические заболевания печени).

## **5.2 Сравнительные характеристики методов оценки CDT и обоснование целесообразности использования метода капиллярного электрофореза для проведения диагностических исследований на хроническое злоупотребление алкоголем**

К настоящему времени разработан широкий спектр методов определения уровня CDT, среди которых практическое применение нашли методы непрямой и прямой иммунонефелометрии [37, 73, 80, 112], высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [37, 67, 68, 69, 74, 76, 81, 107, 121] и капиллярный электрофорез [48, 51, 52, 76, 90, 91, 98, 106, 109].

Сравнительная оценка, обзор литературных источников, анализ текущих положений и рекомендаций международной рабочей группы IFCC по стандартизации CDT показали, что, несмотря на относительную экономичность, иммунологические методы не являются приемлемыми для реализации диагностического механизма, взятого за основу в настоящих методических рекомендациях, т.к. обладают рядом существенных ограничений.

Основным из них является несоответствие оцениваемого иммунологическими методами аналита текущему (до завершения международной стандартизации CDT) и/или новому определению CDT, выдвинутого рабочей группой IFCC по стандартизации CDT в 2007 г. Так, методы непрямой иммунонефелометрии не позволяют полностью разделить низкосиалированные изоформы от высокосиалированных изоформ трансферрина, в т.ч. от трисиалотрансферрина, что противоречит текущему определению аналита, негативным образом отражается на аналитической специфиности маркера и повышает риск ложноположительных результатов [41, 43, 45, 59, 72, 80].

Метод прямой нефелометрии, представленный коммерческим тестом *N Latex CDT* производства [11, 17, 71, 88], использует антитела, направленные к углевод-дефицитным изоформам трансферрина (асиало, моносиало-, дисиало-), но не позволяющие изолированно детектировать изоформу дисиалотрансферрина [11, 53], что вносит существенные ограничения к использованию данного метода в рамках грядущей международной стандартизации CDT, в соответствии с которой первичным аналитом CDT будет утвержден дисиалотрансферрин [80, 84].

Более того, иммунологические методы требуют дополнительного измерения общей концентрации трансферрина для выражения результатов в рекомендованных IFCC единицах измерения %CDT, предоставляют результат в виде числового значения, что не позволяют визуализировать возможные факторы интерференции (генетические варианты трансферрина и пр.) и требуют

обязательного подтверждения результатов при помощи разделительных методов [40, 42, 53, 66, 72, 76, 80, 86, 110, 114, 115, 124].

В связи с неэффективностью такого подхода иммунологические методы были исключены из диагностического механизма оценки CDT.

Разделительные методы – ВЭЖХ и капиллярный электрофорез – лишены недостатков иммунологических методов, позволяя детектировать, проводить визуальную и количественную оценку изоформ CDT как суммарно по всем углевод-дефицитным фракциям, так и изолированно по асиалотрансферрину [67, 68, 74, 76, 81, 91, 121, 127]. В дополнение к этому разделительные методы позволяют выявлять возможные генетические варианты трансферрина, тем самым сводя к минимуму риск ложной трактовки результатов исследования [43, 52, 67, 69, 72, 79, 94, 98, 124].

Сравнительный анализ коммерческих производителей анализаторов и тест-систем определения CDT разделительными методами показал, что доступные российскому пользователю и разрешенные для диагностики *in vitro* ВЭЖХ системы не удовлетворяют критериям отбора в части технических характеристик. Основными ограничениями ВЭЖХ анализаторов являются длительная пробоподготовка, обуславливающая продолжительность исследования 1 образца свыше 60 минут, что делает метод непригодным для задач скрининга, а также необходимость индивидуальных пользовательских настроек и адаптаций в случае использования ВЭЖХ анализаторов различных производителей, что негативным образом отражается на такой характеристике, как воспроизводимость результатов и повышает межлабораторную вариабельность [30, 67, 74].

Наиболее приемлемыми с практической точки зрения являются анализаторы CDT методом капиллярного электрофореза. В настоящее время оценка CDT возможна при помощи коммерческих анализаторов трех производителей: Beckman Coulter (системы P/ACE 5000 и P/ACE MDQ) [15, 16, 20], Sebia (системы Minicap и Capillary 2 Flex Piercing) [10, 12, 13, 14, 51, 76, 98, 106, 109], Helena Bioscience (система V8) [9, 18, 19]. Исходя из данных Государственного реестра медицинских изделий и организаций, осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий, размещенных в открытом доступе сети интернет на сайте Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения по состоянию на 30 декабря 2013 г. системы капиллярного электрофореза производства Beckman Coulter не зарегистрированы и, таким образом, не могут использоваться в целях *in vitro* диагностики на территории РФ.

Системы капиллярного электрофореза Sebia и Helena Bioscience, а также расходные материалы к ним зарегистрированы и потому были допущены к оценке по вышеприведенным критериям.

Оценка метода определения CDT, лежащего в основе анализатора V8 производства Helena Bioscience, показала, что метод имеет ограничения по измерению такой углевод-дефицитной фракции, как асиалотрансферрин [9, 18, 19], что вызывает затруднения с последующей гармонизацией метода с международной системой стандартизации CDT, т.к. асиалотрансферрин рассматривается IFCC в качестве перспективного вторичного аналита [39, 80, 83].

Проведенный мета-анализ литературных источников показал, что метод оценки CDT в исполнении системы V8 производства Helena Bioscience не был включен ни в одно из опубликованных и/или находящихся в печати многоцентровых, валидационных или демонстрационных исследований, проведенных в период с 2007 по 2013 гг. Более того, в последней публикации "Toward standardization of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) measurements: III. Performance of native serum and serum spiked with disialotransferrin proves that harmonization of CDT assays is possible», размещенной от имени рабочей группы IFCC по стандартизации CDT в 2013 г. в журнале Clinical Chemistry, равно как и в предыдущих публикациях рабочей группы, метод капиллярного электрофореза Helena Bioscience не фигурирует [80, 84].

В полученных на наш запрос письмах-заключениях ведущих мировых экспертов по проблемам диагностики хронического алкоголизма отзывы о методе капиллярного электрофореза Helena Bioscience также отсутствуют. Пилотных проектов по оценке аналитических характеристик и диагностической ценности метода Helena Bioscience в России на момент подготовки настоящих Методических рекомендаций выявить не удалось.

Очевидным недостатком анализатора V8 является также его высокая рыночная стоимость и ограниченное меню тестов (анализатор не позволяет проводить оценку маркера сахарного диабета) [9, 18, 19].

Таким образом, отсутствие доказательной базы и ограниченные функциональные характеристики не позволяют рекомендовать анализатор V8 производства Helena Bioscience для практического использования в диагностических программах по выявлению хронического злоупотребления алкоголем на территории Российской Федерации.

Оценка метода определения CDT, лежащего в основе анализаторов Minicap и Capillarys 2 Flex Piercing производства Sebia, показала отсутствие ограничений как в отношении критериев, относящихся к системе международной стандартизации CDT, так и в отношении технических характеристик приборов. Метод Sebia позволяет разделять, визуализировать и проводить суммарную или пофракционную количественную оценку всех углевод-дефицитных фракций. Такой подход позволяет использовать данный метод в полном соответствии с текущим и рекомендованным определением анализа. Оценка результатов CDT проводится в относительных единицах (% CDT), что также соответствует выдвинутым рекомендациям IFCC и позволяет избежать интерференции со стороны колебаний общей концентрации трансферрина [10, 12, 13, 14, 51, 66, 79, 80, 86, 98, 106, 109, 110, 114, 124].

Технические характеристики метода капиллярного электрофореза Sebia также полностью соответствуют выдвинутым критериям оценки [98, 106, 109]. Оба анализатора обеспечивают полную автоматизацию исследования, включая пробоподготовку; обеспечивают полную прослеживаемость образца от момента взятия пробы до выдачи результата исследования (работа с первичной штрих-кодированной пробиркой), позволяют проводить визуальную оценку генетических вариантов

трансферрина [10, 12, 13, 14, 79, 94, 98] и выявлять состояния, при которых применение маркера CDT должно быть ограничено (2-3-сиало блок) [10, 12, 65] или требуется специальная подготовка образца для снятия возможной интерференции со стороны иммуноглобулинов [48]. Время исследования одного образца, включая этап пробоподготовки, не превышает 13-15 минут, наличие двух анализаторов средней (Minicap) и высокой (Capillarys 2 Flex Piercing) производительности позволяет оптимизировать рабочие потоки в зависимости от условий конкретной лаборатории и масштабов скрининга.

Проведенный мета-анализ литературных источников показал, что метод оценки CDT в исполнении систем капиллярного электрофореза Sebia имеет положительный опыт участия в крупнейших многоцентровых, валидационных или демонстрационных исследованиях, включая публикации рабочей группы IFCC по стандартизации CDT, где подтверждаются высокие аналитические характеристики данной технологии [84, 98, 106, 109]. Немаловажным преимуществом является участие систем Sebia в крупном эпидемиологическом исследовании на российской выборке [1, 97], пилотное трехлетнее испытание систем на базе Московского научно-практического центра наркологии, а также положительный опыт использования анализаторов Minicap на базе наркологических диспансеров Новосибирска, Краснодара, Казани, Чеченской Республики.

В предоставленных на наш запрос письмах-заключениях ведущих мировых экспертов по проблемам диагностики хронического алкоголизма были получены положительные отзывы о методе капиллярного электрофореза Sebia.

Уникальным преимуществом рассмотренных анализаторов Sebia является возможность сочетания в одном приборе нескольких диагностически значимых скрининговых тестов, таких как оценка белковых фракций с возможностью выявления профилей хронического поражения печени и определение гликированного гемоглобина – ключевого маркера при диагностике и мониторинге сахарного диабета [35, 56]. Мультифункциональность данного метода позволяет оптимизировать экономические затраты на оборудование и расширить диагностическую панель, в т.ч. по таким социально-значимым и нередко алкоголь-ассоциированным нозологиям, как сахарный диабет [3, 32, 60, 118, 123] и болезни гепатобилиарной системы [27, 34, 36].

Таким образом, для достижения наибольшей диагностической эффективности, минимизации рисков неспецифического ответа и оптимизации экономической составляющей процедуры обследования рекомендовано использование систем капиллярного электрофореза Minicap и Capillarys 2 Flex Piercing производства Sebia.

### **5.3 Описание метода капиллярного электрофореза и технологии определения карбогидрат-дефицитного трансферрина**

Согласно вышеописанным критериям в качестве метода, наиболее подходящего для рутинных скрининговых исследований, был выбран метод капиллярного электрофореза в исполнении

автоматических капиллярных систем Minicar или Capillarys производства Sebia и наборов реагентов к ним.

Данный метод основан на разделении заряженных молекул в жидкой среде внутри сверхтонкого кварцевого капилляра под действием электрического тока. Белковые молекулы при этом разделяются согласно своему электрическому заряду. На разделение также оказывают влияние pH электролита и электроэндоосмотический поток. Метод не требует предварительной обработки образцов и позволяет осуществлять как качественную, так и количественную оценку фракций трансферрина. Расчетная формула CDT полностью соответствует текущему определению анализа (суммарное значение углевод-дефицитных фракций трансферрина), и одновременно с этим программное обеспечение прибора дает возможность производить количественную оценку каждой карбогидрат-дефицитной фракции в отдельности, что позволит использовать данные системы после утверждения международных рекомендаций по стандартизации CDT без каких-либо ограничений [13, 14].

Разделение изоформ трансферрина методом капиллярного электрофореза основано на разнице их электрического заряда, величина которого прямо пропорциональна количеству остатков сиаловой кислоты. Аналитический этап на системах Capillarys/ Minicar полностью автоматизирован и включает в себя разведение образца и его инъекцию в анодную часть капилляра. Под действием высокого напряжения образец, мигрируя по всей длине капилляра, разделяется на фракции, каждая из которых, достигая катодной части капилляра, последовательно регистрируется путем измерения поглощения пептидных связей, определяемого при 200 нм. Детекция изоформ трансферрина осуществляется в следующем порядке: асиало-, дисиало-, трисиало-, тетрасиало- и пентасиалотрансферрин. После завершения миграции капилляры немедленно промываются моющим раствором и подготавливаются к разделению следующего образца, заполняясь буфером для электрофореза [10, 12].

После детекции результаты обрабатываются программным обеспечением прибора и отображаются на экране монитора в виде процентного содержания фракций (качественный анализ) и денситометрической кривой (качественный анализ) (Приложение 5, Пример 1). Результаты качественной и количественной оценки импортируются в протокол исследования, служащий приложением к заключению о результатах анализа (Приложение 6).

#### **5.4 Оборудование и тест-системы для капиллярного электрофореза Sebia**

В качестве систем для определения карбогидрат-дефицитного трансферрина могут использоваться оба варианта анализаторов капиллярного электрофореза - Minicar или Capillarys и наборы реагентов к ним (Приложение 3).

Оба анализатора идентичны по принципу действия и отличаются только своей пропускной способностью [13, 14].

Система Capillarys имеет 8 встроенных капилляров, функционирующих параллельно, позволяя выполнять 8 анализов по определению уровня CDT одновременно. Пропускная способность системы

Capillarys составляет 38 образцов в час, благодаря чему она может быть рекомендована для оснащения крупных скрининговых центров, выполняющих от 50-100 анализов CDT в день.

Система Minicap имеет 2 встроенных капилляра, функционирующих параллельно, позволяя выполнять 2 анализа по определению уровня CDT одновременно. Пропускная способность системы Minicap составляет 10 образцов в час, что оптимально для лабораторий со средним потоком CDT исследований – 20-50 тестов в день.

Перечень реагентов и расходных материалов для определения маркера CDT на приборах Capillarys и Minicap приведен в Приложении 3.

Системы Capillarys/ Minicap обеспечивают полную автоматизацию аналитического этапа, высокую пропускную способность, возможность проведения анализа из первичной пробирки и использование функции считывания штрих-кода. Программное обеспечение систем полностью русифицировано и позволяет хранить и обрабатывать большие массивы данных.

Аналитические характеристики метода Sebia подтверждены в испытаниях на статистически достоверной выборке российской популяции, проведенных в ГУЗ МНПЦ в период с 2011 по 2012 гг., а также в крупном популяционном исследовании российской выборки в рамках международного исследования, опубликованного в статье “Comparative performance of biomarkers of alcohol consumption in a population sample of working-aged men in Russia: the Izhevsk Family Study” группой авторов из Лондонской школы гигиены и тропической медицины Лондонского Университета, Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Ижевской государственной медицинской академии, Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова и Департамента лабораторной медицины Каролинского института [1, 97].

Системы капиллярного электрофореза Capillarys/ Minicap, наборы реагентов и расходные материалы к ним зарегистрированы как изделия медицинского назначения и разрешены к использованию для *in vitro* диагностики на территории Российской Федерации.

## **5.5 Возможность использования рекомендованной материально-технической базы для скрининга других социально-значимых и имеющих отношение к алкогольному генезу патологических состояний**

Систематическое употребление алкоголя с высокой долей вероятности приводит к развитию патологических процессов в разных органах и тканях организма. Накопленные к настоящему времени сведения о механизмах токсического действия этилового спирта позволяют четко выделять его прямые и опосредованные токсические эффекты [27].

Прямое токсическое действие этанола основано на его способности оказывать мембранотропное и конформационное действие, а также на способности непосредственно взаимодействовать с неэтерифицированными жирными кислотами.

Мембранотропное действие этанола определяется его влиянием на биологические мембранны и отсутствием способности специфически взаимодействовать с рецепторными структурами. Прохождение этанола через мембранны осуществляется, главным образом, по градиенту концентрации через каналы, обеспечивающие прохождение ионов и, в меньшей степени, за счет растворения в липидном слое. Растворяясь в воде и частично в липидах мембран клеток и субклеточных структур, этанол вызывает флюидизацию (повышение текучести) мембранны. Изменение агрегатного состояния мембранны в области ионных каналов и местах фиксации белковых молекул сопровождается нарушением трансмембранного переноса ионов кальция. Применительно к возбудимым мембранным это выражается в снижении их возбудимости [27].

В условиях хронического воздействия этанолом в мембранных возникают адаптивные изменения: увеличивается содержание холестерина, изменяется структура фосфолипидного слоя и снижается текучесть (повышается ригидность) мембранны. Последнее сопровождается усилением активного трансмембранного транспорта  $\text{Na}^+$  в результате увеличения числа переносчиков и возрастания их сродства к  $\text{Na}^+$ , а также стабилизации внутри- и внеклеточного обмена  $\text{Ca}^{++}$ . Все это сопровождается изменением режима функционирования фиксированных на мембранных ферментных, рецепторных, иммунных и иных комплексов, ведет к развитию толерантности к этанолу и другим наркотическим веществам алифатического ряда (феномен перекрестной толерантности) и к снижению выраженности кардиодепрессивного действия этанола [27].

Конформационное действие этанола обусловлено его способностью непосредственно влиять на конформацию белковых молекул, нарушая их способность к функционированию.

Прямое токсическое действие этанола на митохондрии обусловлено его способностью метаболизироваться в тканях, прежде всего в миокарде, с образованием эфиров жирных кислот. Этanol при участии цитоплазматической эстеразы взаимодействует с длинноцепочечными жирными кислотами с образованием их эфиров. Способность эфиров этих кислот удерживаться в связанном с белками состоянии значительно ниже, чем у неэтерифицированных жирных кислот. Последнее обеспечивает их массивное поступление в митохондрии с последующей деэтерификацией, где вновь образованные жирные кислоты реализуют свой токсический эффект. Механизм токсического действия эфиров жирных кислот определяется их способностью ингибировать  $\text{Na}^+,\text{K}^+$ -АТФазу, угнетать дыхание митохондрий, активировать перекисное окисление липидов в мембранных митохондрий и разобщать окисление и фосфорилирование. Избыточное накопление жирных кислот в тканях при алкогольной интоксикации и нарушение их утилизации тканями из-за конкурентного влияния ацетата создает дополнительные благоприятные условия для их взаимодействия с этанолом [27].

Опосредованное токсическое действие этанола определяется каскадом метаболических расстройств, возникающих при его окислении, а также токсическими эффектами ацетальдегида и продуктов его метаболизма.

Метаболическое действие этанола связано с его возможностью выступать в качестве пищевого субстрата. Энергетическая ценность этилового спирта составляет 7,1 ккал/г. При систематическом употреблении алкоголя в количествах, не превышающих 5–10% энергетической ценности пищевого рациона, он не оказывает влияния или увеличивает уровень энергопоступлений, способствуя увеличению массы тела и развитию ожирения. При употреблении алкоголя в больших количествах (до 50% от общей энергетической ценности пищевого рациона у больных алкоголизмом) значительно снижается поступление в организм различных пищевых веществ, в том числе белков, витаминов, микроэлементов и других нутриентов, что ведет к развитию парциальной пищевой недостаточности, на фоне которой токсические эффекты алкоголя и его метаболитов усиливаются [27].

Поступающий в организм этанол почти полностью подвергается биотрансформации. В неизмененном виде выводится менее 5% принятого алкоголя. Окисление алкоголя протекает в основном в цитоплазме гепатоцитов (от 80% до 90%). Остальная часть поступившего в организм алкоголя подвергается биотрансформации в других тканях и органах (легкие, почки, эндотелий сосудов и др.). Окисление осуществляется при участии алкогольдегидрогеназной (АДГ) и, в меньшей степени, микросомальной и каталазной систем с образованием ацетальдегида. При увеличении нагрузки алкоголем поступление ацетальдегида в кровь возрастает. Ацетальдегид обладает способностью угнетать дыхательную цепь митохондрий и вызывать торможение всех окислительно-восстановительных процессов в митохондриях, что приводит к накоплению недоокисленных продуктов и нарушению аккумуляции АТФ в реакциях окислительного фосфорилирования.

Учитывая тяжесть последствий злоупотребления алкоголем для организма и принимая во внимание экономические затраты на амбулаторное и стационарное лечение клинических последствий алкоголизма, включая болезни печени, поджелудочной железы, сердечнососудистые заболевания, новообразования, сахарный диабет, полиневропатию и травматизм [36], обязательным критерием при выборе материально-технической базы для СДТ тестирования являлась многофункциональность оборудования и возможность его использования для скрининга клинических последствий алкоголизма и мониторинга эффективности проводимой терапии.

В этом отношении выбор систем капиллярного электрофореза имеет дополнительные преимущества, т.к. данные анализаторы позволяют помимо анализа СДТ проводить оценку белковых фракций - популярного в лабораторной практике теста для низкозатратного и вместе с тем информативного скрининга широкого спектра патологических состояний. Электрофорез белковых фракций входит в стандарты диагностики многих нозологических форм, в том числе имеющих отношение к клиническим последствиям алкоголизма [35]. Помимо классического фореза белков анализаторы капиллярного электрофореза Sebia, описание которых приведено в разделе 5.4, позволяют проводить количественный анализ гликированного гемоглобина – ключевого маркера сахарного диабета, который может развиваться на фоне хронической алкогольной нагрузки и/или усугублять последствия злоупотребления у лиц, уже страдающих диабетом [3, 32].

Ниже приведено описание диагностических возможностей электрофоретических тестов в отношении наиболее часто встречаемых осложнений хронического злоупотребления алкоголем.

### **5.5.1 Поражения печени**

Алкогольный цирроз печени известен со времен его классического описания *R. Laennec* (1819). В настоящее время алкоголизм является основным этиологическим фактором, обуславливающим развитие цирроза неинфекционной природы. Поражение печени включает алкогольную дистрофию (белковую и жировую), алкогольный гепатит и цирроз [27].

Алкогольная болезнь печени (АБП) относится к распространенным заболеваниям – она выявляется у 10–25% мужского населения большинства развитых стран и несколько реже у женщин. Эти лица злоупотребляют алкоголем, многие – длительное время. От четверти до трети из них достигают степени алкогольной зависимости, т. е. страдают алкоголизмом. В России таких больных не менее 5%. У  $\frac{3}{4}$ – $\frac{1}{2}$  пациентов АБП протекает на фоне отсутствия явной стабильной алкогольной зависимости. Это часто встречающееся состояние до сих пор не получило общепринятого обозначения. По терминологии ВОЗ оно звучит как «вредоносное потребление алкоголя». Больные хронической алкогольной интоксикацией или пристрастием к алкоголю могут страдать любой стадией АБП до цирроза печени (ЦП) и цирроз- рака включительно. Работу врача затрудняют такие особенности АБП, как длительное течение заболевания малосимптомно и склонность больных существенно преуменьшать истинные объемы потребляемых алкогольных напитков [34].

Общеизвестно, что метод капиллярного электрофореза, взятый за основу для определения уровня CDT, нашел широкое применение в клинической практике как недорогой и вместе с тем информативный метод скрининга различных заболеваний печени. Электрофорез белковых фракций входит в стандарты диагностики многих нозологических форм гепатобилиарной системы [35]. В частности электрофоретическое выявление понижения фракции альбумина отражает поражение гепатоцитов и интерстициальной ткани. Снижение фракции альбумина и увеличение фракций альфа-1, альфа-2, бета- и гамма-глобулинов отражают наиболее распространенную картину гепатитов. Увеличение фракций альфа, как правило, ассоциируют с благоприятным прогнозом. Увеличение только гамма-фракции обычно отражает поражение интерстициальных клеток. При обструктивных заболеваниях печени наблюдается электрофореграмма, характерная для хронического воспалительного процесса. У пациентов с циррозом происходит снижение фракции альбумина, альфа-1- и альфа-2 глобулинов. Содержание бета- и гамма- глобулинов возрастает. Основным диагностическим критерием в этом случае является наличие характерного бета/гамма мостика вследствие увеличения содержания IgA и IgG [35].

Безусловно, электрофорез не позволяет установить конечный диагноз, однако данный метод дает возможность выявить, оценить тяжесть протекания и рассмотреть в динамике профили, характерные для заболеваний печени, включая алкогольный цирроз. В связи с этим возможность совмещения

диагностических задач по оценке состояния гепатобилиарной системы и объективизации оценки хронического злоупотребления алкоголем в рамках рекомендованной материально-технической базы для CDT тестирования является дополнительным диагностическим преимуществом.

### **5.5.2 Поражение слизистой оболочки желудка**

Хронический алкоголизм неизменно сопровождается поражением слизистой оболочки желудка, нарушением его секреторной и моторной функции, проявляющимися картиной алкогольного гастрита. Патоморфологические исследования с применением биопсии слизистой оболочки желудка выявили различные формы и стадии хронического гастрита вплоть до атрофического с метаплазией эпителия, причем глубина поражения железистого аппарата и эпителия слизистой оболочки желудка зависит в основном от давности злоупотребления алкоголем. Многолетнее злоупотребление является фактором, провоцирующим обострение и тяжелое течение язвенной болезни [27].

Электрофорез белковых фракций позволяет выявить электрофореграммы гастроэнтеропатий, отражающие потери белков при желудочно-кишечных кровотечениях, лимфорею и увеличение проницаемости капилляров слизистой оболочки внутренних органов. Понижение фракций также будет отражать нарушение всасывания и потери белка вследствие неспособности аминокислот, необходимых для синтеза, пройти в портальную циркуляцию. На фоне значительного снижения общего содержания белка может наблюдаться повышение альфа-глобулинов и трансферрина, особенно при наличии кровотечений в ЖКТ [35].

### **5.5.3 Поражение почек**

Поражение почек при алкоголизме относится к токсическим нефропатиям; ведущим звеном патогенеза является поражение клеток почечной паренхимы этианолом и продуктами его метаболизма. Ранней формой поражения почек является острая токсическая нефропатия (токсический некронефроз), возникающая обычно вслед за значительным алкогольным эксцессом и проявляющаяся небольшой протеинурией и микрогематурией. Морфологические изменения минимальны и заключаются в дистрофии эпителия канальцев. Рецидивирующее течение алкогольной нефропатии может осложниться присоединением мочевой инфекции и развитием хронического пиелонефрита с соответствующей клинической картиной [27].

Электрофорез позволяет выявлять белковые профили, характерные для нефротического синдрома и оценивать степень заболевания по выраженности селективной потери белка. Электрофореграммы отражают нарушение проницаемости гломерулярного фильтрационного аппарата почек, которое приводит к потере веществ низкой молекулярной массы. При этом наблюдается существенное снижение содержания альбумина, фракция альфа-2, напротив, может возрастать в десятки раз за счет повышения альфа-2- макроглобулина. У пациентов с нефротическим синдромом может снижаться уровень трансферрина, мигрирующего во фракции бета-1. Уменьшение фракций

гамма- и бета- глобулинов может быть вызвано потерей IgG и IgA. При электрофорезе плазмы можно заметить значительное увеличение фибриногена, особенно, при хроническом нефротическом синдроме [35].

#### **5.5.4 Злоупотребление, как фактор развития патологии поджелудочной железы и сахарного диабета**

Значение алкоголя в происхождении острого и хронического панкреатита хорошо установлено. Злоупотребление алкоголем как причина острого панкреатита наблюдается примерно в 50% всех случаев панкреатита. Этот процент среди больных острым панкреатитом молодого возраста до 39 лет еще более возрастает.

Показано, что преходящая гипергликемия при остром панкреатите развивается приблизительно в половине случаев, а устойчивая гипергликемия после перенесенного острого панкреатита сохраняется с частотой до 15% [32].

Злоупотребление алкоголем также является наиболее распространенной причиной развития хронического панкреатита. Традиционно принято считать, что алкогольный панкреатит является формой хронического панкреатита, которая после начала заболевания периодически проявляется обострениями. В последние годы находит широкую поддержку гипотеза, согласно которой алкогольный панкреатит начинается как острый процесс, который прогрессирует и приводит к необратимому хроническому повреждению в результате повторных приступов острого панкреатита, которые в свою очередь приводят к некротическим процессам, увеличивая резидуальное повреждение поджелудочной железы и, как следствие, к атрофии ацинусов и фиброзу поджелудочной железы [34].

При исследовании патогенеза алкогольного панкреатита отмечают, что заболеваемость пропорциональна уровню потребления алкоголя, что свидетельствует о дозозависимом влиянии на поджелудочную железу, а также о необходимости дополнительного кофактора или фактора восприимчивости, выступающего инициатором болезни. К таким факторам относят тип питания, схему употребления алкоголя, гиперлипидемию и курение.

Тремя основными клиническими симптомами хронического панкреатита являются боль, мальдигестия и сахарный диабет. По классификации Американской диабетической ассоциации сахарный диабет, развивающийся в ходе алкогольного панкреатита, относится к группе IIIc – «Другие специфические типы диабета». Поражение экзокринной части поджелудочной железы и характеризуется деструкцией как инсулин-, так и глюкагон-продуцирующих клеток. Состояние больных сахарным диабетом часто носит неустойчивый характер, т.к. сопутствующий дефицит синтеза глюкагона провоцирует гипогликемические состояния. В этой связи диагностика и мониторинг течения сахарного диабета должны основываться на более точных лабораторных маркерах, способных оценивать колебания уровня гликемии в течение продолжительного периода времени [32].

Преходящая гипергликемия развивается при обострении хронического панкреатита, что связано с отеком поджелудочной железы и ингибирующим влиянием на продукцию инсулина трипсина, содержание которого в крови при остром панкреатите и обострении хронического панкреатита повышается. По мере разрешения панкреатической атаки уровень глюкозы крови чаще нормализуется. По различным данным, сахарный диабет возникает у 10–90% больных ХП, причем в половине случаев развивается инсулинов зависимый сахарный диабет. Столь большая разница данных литературы по поводу частоты диабета при хроническом панкреатите связано как с плохой диагностикой основного заболевания, так и с различной вероятностью развития эндокринных нарушений при различных формах панкреатита. Тolerантность к углеводам, как правило, нарушается уже на ранней стадии хронического панкреатита. Сахарный диабет может формироваться также в начале клинической манифестации хронического панкреатита, но все же чаще устойчивое нарушение углеводного обмена возникает в среднем через 5 лет после начала основного заболевания. Затем частота развития сахарного диабета при хроническом панкреатите приобретает линейную зависимость от времени. Доказано, что частота и выраженность сахарного диабета при алкогольном хроническом панкреатите отчетливо выше, чем при неалкогольном. Коэффициент риска сахарного диабета при алкогольном хроническом панкреатите составляет 1,7. Показано, что функциональные нарушения поджелудочной железы могут прогрессировать даже после прекращения употребления алкоголя, но это происходит более медленно. Частые панкреатические атаки при хроническом панкреатите могут ускорить прогрессирование заболевания и, следовательно, приблизить начало нарушения эндокринной функции поджелудочной железы [3].

Эндокринные нарушения при хроническом панкреатите клинически проявляются в виде двух вариантов: гиперинсулинизма (гипогликемии) и панкреатогенного сахарного диабета. Сахарный диабет при хроническом панкреатите, называемый часто диабетом 3-го типа, имеет ряд клинико-патогенетических особенностей: пациенты чаще нормального или худощавого телосложения, нет связи с ожирением, инсулинерезистентностью, семейной предрасположенностью; хорошая переносимость гипергликемии до 11,5 ммоль/л; отсутствие манифестации или поздняя манифестация, склонность к гипогликемическим состояниям [3, 32]

#### **5.5.5 Сахарный диабет как фактор, отягощающий последствия злоупотребления**

Сахарный диабет называют эпидемией 21 века. По данным Международной диабетической федерации (IDF) и Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) около 366 миллионов человек в мире больны сахарным диабетом. В России согласно официальной статистике сахарным диабетом болеет свыше 3-х миллионов россиян, однако считается, что реальное число заболевших превышает эти данные минимум в 3 раза и составляет 9-10 млн.

Злоупотребление алкоголем при сахарном диабете обуславливает повышение частоты и выраженности соматических осложнений, гиперферментации трансамина, длительно не

компенсируемое состояния кетоацидоза, увеличение сроков достижения компенсации и длительности пребывания больных в стационаре. Прием алкоголя при диабете натощак, с малым количеством еды или неправильно подобранный пищей может вызвать резкое снижение содержания глюкозы в крови - гипогликемию, т.к. алкоголь, с одной стороны, усиливает действие инсулина и глюкозоснижающих препаратов, с другой - тормозит образование глюкозы в печени. Риск развития тяжелых гипогликемических состояний также усиливается приемом алкоголя после большого перерыва между едой или сразу же после физической нагрузки [3, 32, 60, 118, 123].

Учитывая высокую распространенность диабета и его недостаточную выявляемость среди российского населения, а также тяжелые осложнения, которые могут развиваться при бесконтрольном приеме алкоголя лицами с этим заболеванием, возможность совмещения диагностических задач по оценке и мониторингу уровня гликемии и хронического злоупотребления алкоголем в рамках рекомендованной материально-технической базы для CDT тестирования является дополнительным диагностическим и экономическим преимуществом.

Общепризнанно, что наиболее точным маркером, позволяющим оценивать уровень гликемии в трехмесячной ретроспективе, является показатель глицированного гемоглобина (HbA1c). С 2011 г. данный маркер был рекомендован ВОЗ не только для мониторинга эффективности терапии, но и для диагностики сахарного диабета. Безусловным требованием к лабораторным методам оценки HbA1c является аналитическая точность и стандартизация согласно международной программе IFCC [56, 102]. Системы капиллярного электрофореза Sebia, выбранные в качестве материально-технической базы для оценки уровня CDT, сертифицированы по IFCC и NGSP и позволяют проводить точную количественную оценку HbA1c [13, 14]. Таким образом, спектр диагностических задач, реализуемых при помощи данных анализаторов, охватывает сферу диагностики и мониторинга такого социально-значимого заболевания, как сахарный диабет, позволяя выявлять нарушение гликемии у лиц, злоупотребляющих алкоголем, а также оценивать и предотвращать риски осложнений у лиц с хроническим злоупотреблением алкоголя.

## 6. Экономическая эффективность CDT тестирования

Зарубежные исследования подтверждают экономическую целесообразность внедрения CDT тестирования [125]. В частности, Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов (*Food and Drug Administration*, FDA) США, осуществлявшее процедуру по утверждению CDT в качестве биомаркера злоупотребления алкоголем, проводило оценку экономической эффективности CDT теста при его использовании в учреждениях первичной медицинской помощи и показало, что внедрение теста CDT с целью своевременного выявления повышенной алкогольной нагрузки снижает затраты на медицинское обслуживание и судебные издержки, минимум, на 212 \$ на каждого пациента. Исследования, проведенные во Франции, Италии,

Австралии, Финляндии, Швеции также подтвердили тенденцию к снижению затрат и получению чистой экономической прибыли при использовании теста CDT в учреждениях первичной медицинской помощи.

Для оценки экономического эффекта от внедрения CDT тестирования в России был произведен фармакоэкономических расчет, за основу которого были взяты данные по экономическим последствиям алкоголизма для России согласно расчетам, произведенным специалистами лаборатории фармакоэкономики НИИ фармации ММА им. И.М.Сеченова и опубликованным в статье «Алкоголизм: затраты государства на лечение и эффект фармакотерапии» [36].

Согласно данным, представленным авторами статьи, общая сумма затрат на лечение больных алкоголизмом в наркодиспансерах (включая затраты на стационарное лечение больных с диагнозом алкоголизм на различных стадиях и затраты на выезд скорой помощи для транспортировки в наркодиспансер) в 2007 г. составила свыше 5,6 млрд. рублей в год. Затраты на содержание в медицинских вытрезвителях составляли около 348 млн. рублей в год. Затраты на амбулаторное и стационарное лечение клинических последствий алкоголизма, включая болезни печени, поджелудочной железы, сердечнососудистые заболевания, новообразования, сахарный диабет, полиневропатию и травматизм, насчитывали свыше 143 млрд. руб. в год.

К большим экономическим потерям для государства ведет и смертность трудоспособного населения по различным причинам, связанным с чрезмерным потреблением алкоголя. Так, в 2007 г. общая сумма непрямых затрат, связанных с дорожно-транспортными происшествиями (ДТП), по данным авторов составила свыше 81,4 млрд. руб. Общая сумма потерь, обусловленных отравлением алкоголем, утоплениями и пожарами, составила около 10,3 млрд. руб. Общие потери, связанные со смертностью трудоспособного населения в результате исхода различных заболеваний, обусловленных злоупотреблением алкоголя, составили около 50 млрд. руб. Ущерб от криминальных происшествий, совершенных в состоянии алкогольного опьянения, суицидов, содержание «социальных сирот», последствий врожденных аномалий у детей, чьи родители имели «алкогольную отягощенность», насчитывали суммарно свыше 112 млрд. руб. в год, а убытки от безработицы лиц трудоспособного возраста, страдающих алкоголизмом – свыше 245 млрд. руб.

Таким образом, по оценкам экспертам величина экономического бремени алкоголизма составляет около 648 млрд. руб. ежегодно.

В связи с тем, что последствия алкоголизма являются следствием чрезмерного употребления алкоголя и зависят от количества и частоты употребления, то можно утверждать, что проведение профилактической работы, включающей тестирование с целью максимально раннего выявления лиц, склонных к злоупотреблению, диагностики алкоголизма, в первую очередь, на неопределенной и начальной стадиях, а также для контроля эффективности терапии больных алкоголизмом, находящихся на стационарном лечении, и выявления возможных рецидивов, безусловно, позволит снизить экономическое бремя государства. Использование диагностического теста по определению уровня

углевод-дефицитного трансферрина приведет к снижению экономических затрат, приходящихся на больных с алкогольной патологией, за счет таких факторов, как:

- общее снижение больных алкоголизмом за счет раннего выявления злоупотребления и проведения профилактической работы, направленной на снижение уровня и частоты потребления алкоголя и предотвращение развития алкогольной зависимости, и как следствие - снижение частоты госпитализации в наркологические отделения стационаров с диагнозом алкоголизм.

- снижение больных с установленным диагнозом алкоголизм на средней и конечной стадиях, а также больных с вредными последствиями после употребления алкоголя. Повышение выявляемости скрытых и начальных стадий алкоголизма благодаря тестированию позволит снизить затраты, связанные с длительностью пребывания на стационарном лечении больных на поздних стадиях заболевания.

- снижение риска развития клинических осложнений зависимости при своевременном отказе от употребления алкоголя или значительном снижении количества употребляемого алкоголя, что позволит сократить расходы системы здравоохранения на амбулаторное и стационарное лечение пациентов.

- сокращение риска совершения актов суицидов и преступлений, совершаемых в состоянии алкогольного опьянения или обусловленных последствиями хронического злоупотребления, что позволит снизить экономические потери страны от преждевременной смертности, необходимости содержания заключенных в учреждениях Федеральной службы исполнения наказаний (ФСИН) и заботы о «социальных сиротах»;

- увеличение производительности труда и снижение риска смерти от несчастных случаев, в т.ч. на производстве (аварии на производстве, ДТП, пожары, утопления, отравления алкоголем) за счет снижения потерь государства от преждевременной смертности населения трудоспособного возраста.

В качестве одного из расчетных показателей можно использовать снижение прямых затрат на стационарное лечение больных вследствие улучшения выявляемости алкоголизма на неопределенной и начальной стадии и снижения уровня запоздалой диагностики. Так, по данным Центрального научно-исследовательского института наркологии ежегодно в наркологические стационары страны поступает свыше 600 тыс. человек. Из них с диагнозом “алкоголизм первой стадии” регистрируется менее 1% больных, основную же массу пациентов составляют лица со средней и тяжелой стадиями (до 75%). Свыше 20% больных госпитализируется с алкогольными психозами. Стадия заболевания определяет среднюю продолжительность пребывания в стационаре, которая может варьировать от 6,5 до 23,6 дней (в среднем около 17 дней). Профилактическое тестирование может обеспечить выявление ранних форм злоупотребления и зависимости и тем самым существенно снизить прямые расходы, связанные со стационарным лечением. Тестирование же пациентов, пребывающих на лечении или реабилитации позволит минимизировать затраты, связанные с повторным возвратом на лечение вследствие его низкой эффективности и рецидива заболевания. Учитывая, что в среднем по России стационарное

лечение в наркологических больницах в соответствии с тарифами ОМС составляет около 3000 руб. в сутки, экономическую эффективность от тестирования можно рассматривать как очень высокую.

Исходя из оценок экспертов, при проведении профилактической работы, включающей тестирование и своевременное консультирование на предмет чрезмерного употребления алкоголя, процент испытуемых, прекращающих или существенно уменьшающих объемы и частоту употребления, достигает 45%, что позволяет минимизировать риск развития алкогольной зависимости и исключить необходимость стационарного лечения. По разным оценкам в результате тестирования удается выявить скрытые, неопределенные и начальные формы алкоголизма примерно у 17-30% испытуемых. Своевременное направление их на лечение позволяет снизить длительность пребывания в стационаре в среднем на 7 дней и тем самым уменьшить экономическое бремя государства. Тестирование больных алкоголизмом, проходящих лечение и реабилитацию, обеспечивает контроль эффективности проводимой терапии, позволяет своевременно выявлять рецидив и тем самым снижает на 47-60% риск повторной госпитализации и связанные с этим затраты.

Стоимость профилактического тестирования и тестирования для оценки эффективности проводимой терапии приведена в таблице 2.

Пример расчета снижения экономических затрат в результате тестирования приведен в таблицах 3 и 4. Данный пример охватывает оценку снижения затрат, относящихся только к стационарному лечению пациентов с алкоголизмом. Учитывая широкий перечень прямых и непрямых затрат, приведенных выше, экономический эффект профилактического тестирования будет существенно выше.

**Таблица 2.** Затраты на профилактическое тестирование

Вид тестирования	Стоимость 1 теста CDT, руб.*	Количество тестирований в год на 1 человека	Затраты на тестирование 1 человека в год
Профилактическое	600	1	600
Тестирование для оценки эффективности терапии и выявления рецидивов	600	5	3000

\*Стоимость 1 теста CDT может варьировать в пределах 380-600 руб. в зависимости от потока исследований, модели оборудования, колебания валютного курса. В расчете использовался верхний лимит стоимости теста.

**Таблица 3.** Экономическая эффективность профилактического тестирования (только на примере снижения затрат, связанных со стационарным лечением)

Эффект, достигаемый благодаря профилактическому тестированию	Оценочное количество испытуемых с достигнутым эффектом	Средняя продолжительность пребывания в стационаре, дней	Затраты (3) на пребывание в стационаре, исходя из ставки ОМС – 3000 руб./сут.(руб.)	Снижение экономических затрат от тестирования 100 человек (руб.)
		Сокращение длительности пребывания в стационаре в результате тестирования, дней	Сокращение затрат (C3) на пребывание в стационаре, исходя из ставки ОМС – 3000 руб./сут.(руб.)	
Прекращение или существенное уменьшение объемов и частоты употребления, обусловливающие	45%	17	3 = 17 x 3 000 = 51 000 руб.	$\mathcal{E}_{100} = 100 \times 0,45 \times 51 000 = 2295 000$ руб.

минимизацию рисков развития алкогольной зависимости и необходимости стационарного лечения		17	C3 = (17-17) x 3 000 = 0 руб.	
			Э = 51 000 – 0 = 51 000 руб.	
Выявление скрытых, неопределенных и начальных форм алкоголизма, обеспечивающих своевременное направление на лечение и снижение длительности пребывания в стационаре	30%	17	3 = 17 x 3000 = 51 000 руб.	$\mathcal{E}_{100} = 100 \times 0,3 \times 21 000 = 630 000$ руб.
		7	C3 = (17-7) x 3000 = 30 000 руб.	
			Э = 51 000 – 30 000 = 21 000 руб.	
Суммарное снижение затрат на 100 человек: 2 925 000 руб. Суммарные затраты на тестирование 100 человек: 60 000 руб. Суммарное снижение экономического бремени на 100 человек: 2 925 000 – 60 000 = 2 865 000 руб.				

**Таблица 4. Экономическая эффективность тестирования для оценки эффективности проводимой терапии (только на примере снижения затрат, связанных со стационарным лечением)**

Эффект, достигаемый благодаря тестированию	Количество испытуемых с достигнутым эффектом	Средняя продолжительность пребывания в стационаре, дней	Затраты (3) на пребывание в стационаре, исходя из ставки ОМС – 3000 руб./сут.(руб.)	Снижение экономических затрат от тестирования 100 человек (руб.)
		Исключение повторного пребывания в стационаре в результате тестирования, дней	Сокращение затрат (C3) на пребывание в стационаре, исходя из ставки ОМС – 3000 руб./сут.(руб.)	
			Экономия (Э) денежных средств (руб.)	
Исключение повторной госпитализации по причине рецидива	60%	17	3 = 17 x 3 000 = 51 000 руб.	$\mathcal{E}_{100} = 100 \times 0,6 \times 51 000 = 3 060 000$ руб.
		17	C3 = (17-17) x 3 000 = 0 руб.	
			Э = 51 000 – 0 = 51 000 руб.	
Суммарное снижение затрат на 100 человек: 3 060 000 руб. Суммарные затраты на тестирование 100 человек: 300 000 руб. Суммарное снижение экономического бремени на 100 человек: 3 060 000 – 300 000 = 2 760 000 руб.				

Таким образом, представленный расчет демонстрирует экономический эффект тестирования на примере снижения прямых затрат, связанных со стационарным лечением алкоголизма, и составляет около 28 тыс. руб. в расчете на одного пациента.

Принимая во внимание, что ежегодно в наркологические стационары страны поступает свыше 600 тыс. человек, суммарное снижение экономического бремени в результате проводимого тестирования только на примере снижения затрат, связанных со стационарным лечением, может быть оценено в 16,8 млрд. рублей.

Учитывая же всю совокупность прямых и опосредованных затрат, обусловленных алкоголизмом, суммарный экономический эффект можно оценивать как очень высокий, а целесообразность тестирования на хроническое злоупотребление при помощи маркера CDT – экономически обоснованной в условиях современной системы российского здравоохранения.

## **7. Процедура анализа карбогидрат-дефицитного трансферрина методом капиллярного электрофореза**

Анализ карбогидрат-дефицитного трансферрина позволяет диагностировать употребление высоких доз алкоголя, эквивалентных 50 – 80 г и более абсолютного этилового спирта в день, на протяжении продолжительного периода времени (неделя и более) [108, 111], что согласно классификации ВОЗ соответствует хроническому злоупотреблению алкоголем с высоким риском тяжелых психических и физических нарушений и развития или наличием алкогольной зависимости.

Процедура анализа состоит из следующих этапов:

- Информирование, опрос пациента и заполнение опросника (Приложение 7);
- Взятие образца крови, маркировка и оформление сопроводительной документации (Приложение 8);
- Транспортировка образцов и документации в лабораторию для проведения анализа маркера CDT (Приложение 9);
- Получение сыворотки крови (Приложение № 10);
- Проведение качественной и количественной оценки маркера CDT методом капиллярного электрофореза и учет результатов;
- Оформление заключения о результатах анализа (Приложение № 6).

В случае несогласия освидетельствуемого с положительным результатом исследования, а также в случае получения положительного результата, количественные значения которого соответствуют «серой зоне» ( $1,3\% \leq CDT \leq 1,6\%$ ), следует повторно внимательно рассмотреть возможные факторы интерференции на результат анализа (пп. 6.5-6.6) и назначить повторное исследование со свежим образцом сыворотки через 3-4 недели.

По результатам анализа врачом психиатром- наркологом оформляется «Заключение медицинского учреждения о прохождении обследования на предмет хронического злоупотребления алкоголем» (Приложение № 11).

### **7.1. Информирование, опрос пациента и заполнение опросника**

В соответствии со ст. 31 Основ законодательства РФ об охране здоровья граждан от 22.07.1993 № 5487-1 до реализации анализа необходимо в полном объеме провести разъяснительную работу о целях и порядке осуществления тестирования с оформлением добровольного информированного согласия лиц старше 15 лет и родителей и/или иных законных представителей лиц в возрасте до 15 лет (Приложение 1). При отказе от обследования оформляется письменный отказ по форме, приведенной в Приложении 2.

Для выявления возможных интерFERИРУЮЩИХ факторов и ограничений к исследованию, а также с целью получения данных по употреблению алкоголь-содержащих веществ проводится опрос

обследуемого и заполняется опросник в соответствии с Приложением 7. При этом обследуемому в доступной форме доводится до сведения о важности предоставления полной и достоверной информации для интерпретации результатов анализа.

## **7.2 Взятие образца крови, маркировка и оформление сопроводительной документации**

Для проведения лабораторного тестирования осуществляют взятие и подготовку проб крови в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53079.4 – 2008.

### **7.2.1. Требования к условиям и процедуре взятия, приема и утилизации образцов крови**

Кровь отбирается из поверхностной вены открытым или закрытым способом в пластиковую одноразовую пробирку с плотно завинчивающейся крышкой без антикоагулянтов. Не допускается использование пробирок с ЭДТА или цитратом. Объем образца достаточный для исследования составляет 2-4 мл.

При взятии образца крови оформляется «Направление на исследование образца крови методом капиллярного электрофореза на предмет злоупотребления алкоголем» (Приложение 8), а также «Справка о доставке биологических объектов на исследование методом капиллярного электрофореза» (Приложение 9).

После взятия образцов крови осуществляется их кодирование с целью последующей надежной идентификации и исключения подмены. Наиболее целесообразно применение штрих-кодов, в которых отражены идентификационные признаки обследуемого. Штрих-коды изготавливают в месте взятия образца или в лаборатории, выполняющей анализ. Допустимо ручное кодирование образцов в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53079.4 – 2008.

Контейнер с биопробой должен находиться под наблюдением ответственного за процедуру лица до тех пор, пока не будет кодирован и опечатан защитной самоклеющейся пленкой или отправлен на тестирование.

Прием образцов крови для тестирования осуществляется уполномоченным лицом.

Образцы не принимаются к исследованию в случае выявления несоответствия требованиям их взятия, хранения и транспортировки.

Образцы биопроб считают потенциально опасными и утилизируют в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями после истечения сроков хранения и проведения аналитических исследований согласно СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений».

### **7.2.2. Требования к условиям хранения и транспортировки образцов крови**

Образцы требуется как можно скорее доставлять в лабораторию, где будет проводиться дальнейшее исследование. Хранение образов крови до отправки в лабораторию и их последующая транспортировка должны осуществляться в холодильнике или специальных термоконтейнерах,

поддерживающих температуру среды не выше 2-8° С. Не допускается хранение и транспортировка образцов при комнатной температуре.

Транспортировку образцов и документации осуществляет лицо, уполномоченное медицинским учреждением.

При необходимости длительного транспортирования в лабораторию (более часа) образцы свернувшейся крови (обычно свертывание происходит в течение 30 мин.) должны быть отцентрифужированы для получения сыворотки не позднее, чем через 1 час после взятия образца. Процедура получения сыворотки крови приведена в Приложении 10.

Свежая сыворотка крови пригодна для исследования без дополнительной пробоподготовки.

К анализу допускается сыворотка при хранении ее в условиях холодильника при температуре 2-8°C не более 10 дней. При необходимости более длительного хранения образцы сыворотки крови должны быть заморожены (-18-24°C) в течение 8 часов с момента их взятия. Замороженная сыворотка пригодна для исследования в течение месяца.

### **7.3. Проведение качественной и количественной оценки маркера CDT методом капиллярного электрофореза**

Проведение качественного и количественного анализа CDT методом капиллярного электрофореза осуществляется в соответствии с Инструкциями по применению наборов реагентов для определения CDT на системах Capillarys или Minicap [10, 12] и предусматривает выполнение следующих этапов:

- Настройка прибора для выполнения аналитических операций;
- Помещение пробирок с образцами в штатив(ы);
- Считывание штрих-кодов с пробирок с образцами и штативов для образцов (выполняется автоматически);
- Разведение образцов из первичных пробирок в сегменте для разведения (выполняется автоматически);
- Промывка капилляров и инжекция в них разведенных образцов (выполняется автоматически);
- Разделение фракций CDT и их прямая детекция в капиллярах (выполняется автоматически);
- Учет и интерпретация результатов;
- Завершение работы на приборе.

### **7.4. Учет и интерпретация результатов**

После проведения анализа результаты качественного и относительного количественного определения изоформ трансферрина генерируются автоматически при помощи программного обеспечения прибора.

#### **7.4.1. Учет результатов качественного анализа**

Результаты качественной оценки представляют собой электрофоретические кривые, отображающие фракции трансферрина, присутствующие в анализируемом образце сыворотки и располагающиеся в

следующем порядке (слева направо): пентасиалотрансферрин, тетрасиалотрансферрин, трисиалотрансферрин, дисиалотрансферрин и асиалотрансферрин (Приложение 5, пример 1).

Учет результатов качественного анализа включает обязательную визуальную оценку полученной ЭФ кривой с целью выявления на профиле аномальных помех или генетических вариантов трансферрина, присутствие которых может влиять на результаты количественной оценки CDT.

Протокол исследования, содержащий графическую кривую с изображением профилей изоформ трансферрина, является обязательным приложением к заключению о результатах исследования (Приложение 6). Заключение о результатах исследования без протокола качественной оценки считаются недействительными.

При наличии интерферирующих помех проведение количественной оценки фракций CDT недопустимо до их полного устранения (пп. 3.5-3.6).

#### **7.4.2. Учет результатов количественного анализа**

Результаты относительной количественной оценки представляют собой автоматически скалькулированные относительные (%) концентрации изоформ трансферрина, полученные посредством прямой денситометрии фракций при 200 нм.

Полученные результаты количественной оценки по каждой изоформе трансферрина, выраженные в процентах, отображаются в виде таблицы справа от графической кривой. Цвет, присвоенный той или иной фракции трансферрина в таблице, всегда соответствует цвету этой же фракции, выраженной графически (Приложение 5, пример 1).

Для подсчета относительной концентрации изоформ CDT согласно текущему определению аналита программное обеспечение прибора производит суммирование значений карбогидрат-дефицитных фракций (ди-, моно- и асиалотрансферрина) и приводит итоговый результат количественного анализа в виде процентного содержания изоформ CDT слева от графической кривой (Приложение 5, пример 1). Это же значение импортируется в Протокол исследования и служит показателем наличия или отсутствия хронического злоупотребления алкоголем.

Исследования *Schellenberg u Wielders* [109] на статистически достоверной выборке, а также клинические испытания теста, проведенные с 2011 по 2013 гг. в МНПЦ наркологии, показали, что верхнее референсное значение концентрации карбогидратдефицитного трансферрина (CDT) составляет 1,3 %. Пороговое значение, основанное на приведенном выше верхнем референсном значении с учетом погрешности измерений, составляет 1,6 %. Таким образом, в отсутствии интерферирующих факторов, значение CDT >1,6 % следует расценивать как показатель хронического алкогольного злоупотребления (положительный результат) (Приложение 5, пример 4). Значение CDT < 1,6 % при отсутствии интерферирующих помех на ЭФ профиле следует расценивать как отрицательный результат (Приложение 5, пример 2). При получении значений в диапазоне  $1,3\% \leq CDT \leq 1,6\%$  («серая зона») рекомендуется провести повторное исследование спустя 3-4 недели с использованием образца свежей сыворотки от этого же пациента (Приложение 5, пример 3).

## **7.5. Факторы интерференции на результаты количественной оценки CDT и способы их устранения**

1. Факторы, ассоциированные с нарушениями условий взятия, хранения и транспортировки образцов.

К таким факторам, способным вызывать помехи на ЭФ профиле, препятствующие корректной количественной оценке CDT, относят:

- образцы с признаками гемолиза;
- старые, неправильно хранившиеся образцы;
- образцы плазмы или неправильно подготовленная сыворотка;
- образцы с ЭДТА или цитратом.

В случае интерференции по причине использования образцов ненадлежащего качества (Приложение 5, пример 5) требуется провести повторный анализ с вновь взятым, свежим и правильно подготовленным образцом сыворотки от того же обследуемого.

2. Факторы, ассоциированные с нарушением реологических свойств сыворотки.

В некоторых случаях образцы сыворотки могут содержать криоглобулины или криогель и/или моноклональный белок (белок, синтезирующийся при ряде лимфопролиферативных заболеваний) и обладать повышенной вязкостью (особенно при хранении в замороженном состоянии). Такие образцы при проведении электрофореза могут формировать помехи в виде одной или нескольких дополнительных фракций на профиле или широкой фракции перед дисиалотрансферрином. Иногда может наблюдаться смещение электрофоретического профиля, что делает невозможным количественный анализ CDT.

Для предотвращения данного вида интерференции необходимо осуществлять осмотр образцов, поступающих на исследование, и в случае обнаружения повышенной вязкости сыворотки провести их предварительную обработку при помощи раствора для обработки проб в соответствии с Инструкциями по применению наборов реагентов для определения CDT на системах Capillarys или Minicap. Такую же обработку следует провести в случае уже обнаруженной интерференции перед повторным исследованием образца (Приложение 5, пример 6).

3. Факторы, ассоциированные с наличием генетических вариантов трансферрина.

В редких случаях у обследуемого могут быть выявлены генетические варианты трансферрина, которые затрудняют точную количественную оценку CDT. Однако в первую очередь следует различать истинные генетические варианты от «ложных».

«Ложный» вариант трансферрина может формироваться в случае длительного хранения образца сыворотки при комнатной температуре. Данное нарушение приводит к разрушению С3 компонента комплемента и появлению «ложного» пика тетрасиалотрансферрина, что может быть ошибочно принято за генетический вариант. Для снятия интерференции «ложного» варианта следует повторить исследование на свежем, правильно подготовленном образце сыворотки.

Истинные генетические варианты трансферрина (Приложение 5, пример 7) в большинстве случаев не препятствуют точной количественной оценке CDT. Тем не менее, сведения о наличии у обследуемого генетического варианта должны быть отражены в Протоколе исследования, а в случае получения положительных результатов, близких к пороговым, рекомендуется повторить анализ через 3-4 недели на образцах свежей сыворотки и подробнее изучить клинические данные пациента.

#### 4. Факторы, ассоциированные с наличием блока ди-тристиалотрансферрина.

В литературных источниках описаны редкие случаи неполного разделения фракций ди- и трисиалотрансферрина, известные также как феномен ди-тристиало-блока (Приложение 5, пример 8). Механизм формирования блока ди-тристиалотрансферрина до конца не изучен, однако большинство авторов указывают на его взаимосвязь с органическими поражениями печени алкогольной и неалкогольной этиологии, в т.ч. алкоголь-индуцированный цирроз. Вследствие неполного разделения фракций ди- и трисиалотрансферрина корректная количественная оценка CDT невозможна. Наличие интерференции данного типа должно быть отражено в заключении о результатах исследования (Приложение 6), а пациенту назначено повторное исследование спустя 3-4 недели.

#### **7.6 Возможные ошибки при интерпретации результатов тестирования**

В редких случаях положительный результат тестирования может быть вызван иными причинами, нежели хроническое злоупотребление алкоголем.

Основными ошибками интерпретации результатов является неполный сбор информации, касающийся факторов способных вызывать неспецифическое повышение уровня CDT (Приложение 7).

В настоящее время установлены следующие факторы, способные стать причиной завышения значений при оценке CDT:

- CDG синдром – редкое наследственное нарушение гликозилирования гликопротеинов;
- Первичный билиарный цирроз;
- Активный хронический гепатит\*;
- Клеточная карцинома печени.

Интерпретация результатов у пациентов с указанными состояниями может быть затруднительной и требует дополнительных подтверждающих анализов. Тем не менее, следует отметить, что рекомендованный в качестве материально-технической базы метод капиллярного электрофореза Sebia позволяет выявлять профили тяжелых хронических поражений печени (цирроз, карцинома, активный хронический гепатит), при которых CDT тестирование и корректная интерпретация полученных данных невозможны, что позволяет избежать выдачи ложных результатов (Приложение 5, пример 8).

\*Примечание: Активный хронический гепатит может приводить к обратному эффекту – занижению значений CDT вследствие формирования на ЭФ профиле блока «2-3- сиало».

## **7.7. Оформление заключения о результатах исследования**

После завершения анализа и интерпретации результатов формируется заключение о результатах исследования с включением в него данных качественной и количественной оценки СДТ (Приложение 6). Заключение должно быть подписано врачом-лаборантом или фельдшером, проводившим анализ.

## **8. Отчетность о проведении тестирования**

Отчет заполняется старшим рабочей группы по проведению тестирования и подписывается всеми ее членами.

Отчет предоставляется в день проведения тестирования в структуры, уполномоченные для обобщения результатов анализа.

Форма отчета устанавливается в Приложении № 12 (на примере обследования учащихся на предмет злоупотребления алкоголем).

## Список литературы

1. Андреев Е.М., Кирьянов Н.А., Леон Д., Макки М., Томкинс С., Школьников В.М. Злоупотребление алкоголем и преждевременная смертность в России на примере Ижевска. Наркология 2008; 7:38-51
2. Анохина И.П. Биологические механизмы зависимости от психоактивных веществ (патогенез). Лекции по клинической наркологии под редакцией Н.Н. Иванца. М., Российский благотворительный фонд "Нет алкоголизму и наркомании", 1995. С.16-39.
3. Губергриц Н.Б., Лукашевич Г.М., Голубова О.А., Беляева Н.В., Загоренко Ю.А. Панкреатогенный сахарный диабет. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2007 (6):11-16
4. Декларация «Молодежь и алкоголь», Стокгольм, 19-21 февраля 2001 г. – Европейское региональное бюро ВОЗ. Копенгаген. 2001 г.- 6 стр.
5. Демографическая политика России: от размышлений к действию: Редакционная статья // Вестн. Московского тер. общества 2008 (10):3.
6. Европейский план действий по борьбе с потреблением алкоголя на 2000-2005 гг. Всемирная Организация Здравоохранения – 2000 г., 44 с.
7. Егоров В.Ф. О состоянии наркологической службы в России и проблемах её совершенствования. Вопросы наркологии. N 1, 1997. С.10-14.
8. Злоупотребление алкоголем в Российской Федерации: социально-экономические последствия и меры противодействия. Доклад Общественной Палаты Российской Федерации. 2009. 84 с.
9. Инструкция пользователя «V8 Operator Manual», Helena Bioscience
10. Инструкция пользователя к набору реагентов «Белковые фракции CDT КАПИЛЛЯРИС (CAPILLARYS CDT)», Sebia
11. Инструкция пользователя к набору реагентов N Latex CDT Kit
12. Инструкция пользователя к набору реагентов Белковые фракции «Белковые фракции CDT МИНИКАП (MINICAP CDT)», Sebia
13. Инструкция пользователя к системе капиллярного электрофореза модельного ряда Capillarys, Sebia
14. Инструкция пользователя к системе капиллярного электрофореза модельного ряда Minicap, Sebia
15. Информационная брошюра ANALIS s.a.: CEofix Application Note 040605 ANALYSIS OF CARBOHYDRATE DEFICIENT TRANSFERRIN using CEofix™ CDT for Beckman Coulter P/ACETM MDQ
16. Информационная брошюра Beckman Coulter: **Системы капиллярного** электрофореза P/ACE™ MDQ
17. Информационная брошюра Dade Behring: N Latex CDT Assay. Highly Specific CDT Testing: The Convenient Way
18. Информационная брошюра Helena Bioscience Europe: V8 Automated Clinical Capillary Electrophoresis
19. Информационная брошюра Helena Bioscience Europe: V8 E-Class
20. Информационный постер ANALIS s.a.: De l'Escaille F., Brohet M., Pourignaux F. Advantages of Capillary Electrophoresis In the determination of Carbohydrate-deficient Transferrin (CDT).
21. Кошкина Е.А. Проблемы алкоголизма и наркоманий в России на современном этапе. Вопросы наркологии. 1993, N 4. С.66-70.

22. Кошкина Е.А., Шамота А.З., Корчагина Г. А., Вышинский К.В. и др. Методы изучения распространённости потребления психоактивных веществ среди различных групп населения: Пособие для врачей психиатров-наркологов. М., ИЧП агентство Пресса, Оренбург, 1997. 82 с.
23. Леонтьева М.В. Особенности распространения употребления алкоголя подростками и молодежью в образовательной среде // Вопр. наркологии 2007 (1):31–38
24. Лозовой В.В., Кремлева О.В., Лозовая Т.В. Профилактика зависимостей: опыт создания системы первичной профилактики. – М.: ООО «АльянсПринт», 2011. – 450 с.
25. Масленникова Г.Я., Лепехин В.А., Оганов Р.Г. Алкоголизм в Российской Федерации: время принятия решений. Профилактическая медицина. 2012; 2:46-49
26. Межличностное насилие и алкоголь в Российской Федерации. Программа по профилактике насилия и Травматизма. Европейское региональное бюро ВОЗ. 2006. 25 с.
27. Нужный В.П. Механизмы и клинические проявления токсического действия алкоголя: Руководство по наркологии / Под ред. Н.И. Иванца. — М.: Медпрактика, 2002. — Т. 1. — С. 74-94.
28. Павлов А.И., Хазанов А.И. Лабораторная диагностика интоксикации алкоголем у лиц с алкогольной болезнью печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2010 (1):44-51
29. Потребление алкоголя и его социальные последствия - забытый аспект. - Европейское региональное бюро ВОЗ. Копенгаген. 2001 г. - 35 стр.
30. Рекламный каталог Bio-Rad: 2010/2011 Clinical HPLC and Toxicology
31. Тарасова О.И., Огурцов П.П., Мазурчик Н.В., Моисеев В.С. Современные лабораторные маркеры употребления алкоголя. КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ И ТЕРАПИЯ 2007; 16(1):1-5
32. Ткач С.М., Сизенко А.К. Естественное течение, диагностика и лечение хронического панкреатита с позиций доказательной медицины. Здоров'я України 2006 (Тематичний номер): 18-21.
33. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. М., 1998. 352 с.
34. Хазанов А.И., Плюснин С.В., С.А. Белякин С.А., Васильев А.П., Бобров А.Н., Павлов А.И., Пехташев С.Г. Хроническая интоксикация алкоголем и заболевания печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2009 (1):43-52
35. Шевченко О.П., Долгов В.В., Олефиренко Г.А. Электрофорез в клинической лаборатории. М.: Реафарм 2006. 160 с.
36. Ягудина Р.И., Куликов А.Ю., Усенко К.Ю. Алкоголизм: затраты государства на лечение и эффект фармакотерапии. Новая аптека 2010. № 3 с. 60-65
37. Alden A., Ohlson S., Pahlsson P., Ryden I. HPLC analysis of carbohydrate deficient transferrin isoforms isolated by the Axis-Shield %CDT method. Clin Chim Acta 2005; 356:143–6.
38. Allen J.P., Litten R.Z., Anton R.F., Cross G.M. Carbohydratedeficient transferrin as a measure of immoderate drinking: remaining issues. Alcohol Clin Exp Res 1994;18: 799–812.
39. Arndt T. Asialotransferrin – an alternative to carbohydrate-deficient transferrin? Clin Chem 2003;49:1022–1023.

40. Arndt T. Carbohydrate-deficient transferrin as marker of chronic alcohol abuse: a critical review of preanalysis, analysis, and interpretation. *Clin Chem* 2001;47:13–27.
41. Arndt T., Erkens M., Holtkamp K., Keller T., Gressner A.M. High prevalence of increased trisialotransferrin concentrations in patients with anorexia nervosa: Implications for determination of carbohydrate-deficient transferrin. *Clinica Chimica Acta* 2007; 379:150–153
42. Arndt T., Gierten B., Gussregen B., Werle A., Gruner J. False-positive ethyl glucuronide immunoassay screening associated with chloral hydrate medication as confirmed by LC-MS/MS and self-medication. *Forensic Sci Int.* 2009; 187 (1-3)
43. Arndt T., Gressner A., Herwig J., Meier U., Sewell A.C. Argininosuccinate lyase deficiency (ASL) and carbohydrate-deficient transferrin (CDT): Experience with four independent CDT analysis methods – misleading results given by the %CDT TIA assay. *Clinica Chimica Acta* 2006; 373:117–120
44. Arndt T., Keller T. Forensic analysis of carbohydrate-deficient transferrin (CDT): implementation of a screening and confirmatory analysis concept is hampered by the lack of CDT isoform standards. *Forensic Sci Int* 2004; 146:9–16.
45. Arndt T., Korzec A., Bar M., Kropf J. Further arguments against including trisialo-Fe2-transferrin in carbohydrate-deficient transferrin (CDT): a study on male alcoholics and hazardous drinkers. *Med Sci Monit* 2002; 8:CR411–8.
46. Arndt T., Meier U., Gressner A.M. Primary biliary cirrhosis is not a clinical condition for increased carbohydrate-deficient transferring: experience with four independent CDT analysis methods. *Clinica Chimica Acta* 2006; 372: 184–187
47. Babor T.F., Higgins-Biddle J.C., Saunders J.B., Monteiro M.G. AUDIT: The Alcohol Use Disorders Identification Test. Guidelines for Use in Primary Care. World Health Organization 2001, 41 p.
48. Barraud J., Schellenberg F., Pagès J-C. Improvement of carbohydrate deficient transferrin measurement by capillary zone electrophoresis using immunosubtraction of immunoglobulins and transferrin. *Ann Biol Clin* 2009; 67(4): 451-5
49. Bianchi V., Ivaldi A., Raspagni A., Arfini C., Vidali M. Use of Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) and a Combination of GGT and CDT (GGT-CDT) to Assess Heavy Alcohol Consumption in Traffic Medicine. *Alcohol & Alcoholism* 2010; 45 (3):247-251
50. Bortolotti F., De Paoli G., Tagliaro F. Carbohydrate-deficient transferrin (CDT) as a marker of alcohol abuse: a critical review of the literature 2001–2005. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 841:96–109.
51. Bortolotti F., Paoli G., Pascali J.P., Tagliaro F. Fully automated analysis of Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT) by using a multicapillary electrophoresis system. *Clinica Chimica Acta* 2007; 380: 4–7
52. Carchon H.A., Chevigne R., Falmagne J.B., Jaeken J. Diagnosis of congenital disorders of glycosylation by capillary zone electrophoresis of serum transferrin. *Clin Chem* 2004;50:101–11.
53. Chrostek L., Cylwik B., Gruszewska E., Panasiuk A., Szmikowski M. N-Latex CDT results in liver diseases. *Alcohol and Alcoholism* 2012; 1-5
54. Conigrave K.M., Degenhardt L.J., Whitfield J.B., Saunders J.B., Helander A., Tabakoff B. CDT, GGT, and AST as markers of alcohol use: the WHO/ISBRA Collaborative Project. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26: 332–339

55. Conigrave, K. M., Saunders, J. B., & Whitfield, J. B. (1995). Diagnostic tests for alcohol consumption. *Alcohol & Alcoholism*, 30, 13–26.
56. Consensus statement on the worldwide standardization of the HbA1c measurement. *Diabetologia* 2007
57. Costantino A., DiGregorio E.J., Korn W., Spayd S., Rieders F. The Effect of the Use of Mouthwash on Ethylglucuronide Concentrations in Urine. *Journal of Analytical Toxicology* 2006; 30:659-662
58. Delanghe J.R., De Buyzere M.L. Carbohydrate deficient transferrin and forensic medicine. *Clinica Chimica Acta* (Article in press)
59. Dibbelt L. Does trisialo-transferrin provide valuable information for the laboratory diagnosis of chronically increased alcohol consumption by determination of carbohydrate-deficient transferrin? *Clin Chem* 2000;46: 1203–5.
60. Emanuele N.V., Swade T.F., Emanuele M. A. Consequences of alcohol use in diabetes. *Alcohol health and research world* 1998; 22 (2):211-218
61. Feher J., Lengyel G., Szabo G. Carbohydrate-Deficient Transferrin as a Marker of Alcohol Consumption. *Hungarian Medical Journal* 2007; 1:73-82
62. Flahaut C., Michalski J.C., Danel T., Humbert M.H., Klein A. The effects of ethanol on the glycosylation of human transferrin. *Glycobiology* 2003;13:191–8.
63. Fleming M. Carbohydrate-Deficient Transferrin: Validity of a New Alcohol Biomarker in a Sample of Patients with Diabetes and Hypertension. *JABFP* 2004; 17:247-255
64. Fleming M.F., Anton R.F., Spies C.D. A review of genetic, biological, pharmacological, and clinical factors that affect carbohydrate-deficient transferrin levels. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28:1347–55.
65. Gonzalo Ph., Pecquet M., Bon Ch., Gonzalo S., Radenne S., Augustin-Normand C., Souquet J-C. Clinical performance of the carbohydrate-deficient transferrin (CDT) assay by the Sebia Capillarys2 system in case of cirrhosis. Interest of the Bio-Rad %CDT by HPLC test and Siemens N-Latex CDT kit as putative confirmatory methods *Clinica Chimica Acta* (Article in Press)
66. Helander A. Absolute or relative measurement of carbohydrate-deficient transferrin in serum? Experiences with three immunological assays. *Clin Chem* 1999;45: 131–5.
67. Helander A. Chromatographic measurement of transferring glycoforms for detecting alcohol abuse and congenital disorders of glycosylation. *Chromatographic methods in clinical chemistry and toxicology* 2007; 87-97
68. Helander A., Bergstro J.P. Determination of carbohydrate-deficient transferrin in human serum using the Bio-Rad %CDT by HPLC test. *Clin Chim Acta* 2006;371: 187–90.
69. Helander A., Bergstro J., Freeze H. H. Testing for congenital disorders of glycosylation by HPLC measurement of serum transferrin glycoforms. *Clin Chem* 2004;50: 954–8.
70. Helander A., Dahl H. Urinary Tract Infection: A Risk Factor for False-Negative Urinary Ethyl Glucuronide but Not Ethyl Sulfate in the Detection of Recent Alcohol Consumption. *Clinical Chemistry* 2005; 51(9):1728-1730
71. Helander A., Dahl H., Swanson I., Bergstrom J. Evaluation of Dade Behring N Latex CDT: a novel homogenous immunoassay for carbohydrate-deficient transferrin. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28(Suppl):33A.

72. Helander A., Eriksson G., Stibler H., Jeppsson J-O. Interference of transferrin isoform types with carbohydrate-deficient transferrin quantification in the identification of alcohol abuse. *Clin Chem* 2001;47:1225–33.
73. Helander A., Fors M., Zakrisson B. Study of Axis-Shield new %CDT immunoassay for quantification of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) in serum. *Alcohol* 2001;36:406–12.
74. Helander A., Husa A., Jeppsson J-O. Improved HPLC method for carbohydrate-deficient transferrin in serum. *Clin Chem* 2003;49:1881–90.
75. Helander A., Olsson I., Dahl H. Postcollection Synthesis of Ethyl Glucuronide by Bacteria in Urine May Cause False Identification of Alcohol Consumption. *Clinical Chemistry* 2007; 53(10):1855-1857
76. Helander A., Wielders J.P., Te Stroet R., Bergstrom J.P. Comparison of HPLC and capillary electrophoresis for confirmatory testing of the alcohol misuse marker carbohydrate-deficient transferrin. *Clin Chem* 2005;51: 1528–31.
77. Hermansson U., Knutsson A., Brandt L., Huss A., Runnberg S., Helander A. Screening for high-risk and elevated alcohol consumption in day and shift workers by use of the AUDIT and CDT. *Occupational Medicine* 2003;53:518–526
78. Hoiseth G., Nordal K., Pettersen E., Morland J. Prolonged urinary detection times of EtG and EtS in patients with decreased renal function. *Alcohol Clin Exp Res* 2012; 36(7):1148-51
79. Immunonephelometric Carbohydrate-Deficient Transferrin Results and Transferrin Variants. Letters to the Editor. *Clinical Chemistry* 2013;59 (6): 997–1000
80. Jeppsson J., Arndt T., Schellenberg F., Wielders J., Anton R., Whitfield J., Helander A. Toward standardization of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) measurements: I. Analyte definition and proposal of a candidate reference method. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45(4): 558–562
81. Jeppsson J-O, Kristensson H., Fimiani C. Carbohydratedeficient transferrin quantified by HPLC to determine heavy consumption of alcohol. *Clin Chem* 1993;39: 2115–20.
82. Jeppsson J-O. Isolation and partial characterization of three human transferrin variants. *Biochim Biophys Acta* 1967;140:468–76.
83. Jeppsson J-O., Arndt T., Schellenberg F., Wielders J.P.M., Anton R.F., Whitfield J.B., Helander A. Standardization of carbohydrate-deficient transferrin: reply to the letter by Tagliaro and Bortolotti *Clin Chem Lab Med* 2008;46(5):727–728
84. Jeppsson J-O., Siebelder C., Whitfield J.B., Schellenberg F. Toward standardization of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) measurements: III. Performance of native serum and serum spiked with disialotransferrin proves that harmonization of CDT assays is possible. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51(5):991–996
85. Jong G., van Dijk J.P., van Eijk H.G. The biology of transferrin. *Clin Chim Acta* 1990;190:1–46.
86. Keating J., Cheung C., Peters T.J., Sherwood R.A. Carbohydrate deficient transferring in the assessment of alcohol misuse: absolute or relative measurements? A comparison of two methods with regard to total transferring concentration. *Clin Chim Acta* 1998;272:159–69.
87. Kissack, J. C., Bishop, J., & Leatherwood, A. (2008). Ethylglucuronide as a biomarker for ethanol detection. *Pharmacotherapy*, 28(6), 769–781.

88. Kraul D., Hackler R., Althaus H. A novel particle-enhanced assay for the immunonephelometric determination of carbohydrate-deficient transferrin wabstractx. *Alcohol Clin Exp Res* 2004;28(Suppl):34A.
89. Landberg E., Pahlsson P., Lundblad A., Arnetorp A., Jeppsson J-O. Carbohydrate composition of serum transferrin isoforms from patients with high alcohol consumption. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 210:267–74.
90. Lanz C., Thormann W. Capillary zone electrophoresis with a dynamic double coating for analysis of carbohydrate-deficient transferrin in human serum: impact of resolution between disialo-and trisialo transferring on reference limits. *Electrophoresis* 2003;24:4272–81.
91. Legros F.J., Nuyens V., Minet E., Emonts P., Boudjeltia K.Z., Courbe A., et al. Carbohydrate-deficient transferrin isoforms measured by capillary zone electrophoresis for detection of alcohol abuse. *Clin Chem* 2002;48:2177–86.
92. Leon D.A., Shlolnikov V.M., McKee M. Alcohol and Russian mortality: a continuing crisis. *Addiction* 2009; 104:1630-6
93. Litten, R. Z., Bradley, A. M., & Moss, H. B. (2010). Alcohol biomarkers in applied settings: Recent advances and future research opportunities. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 34(6), 955–967.
94. Maenhout T.M., Baten G., Buyzere M.L., Delanghe J.R. Carbohydrate deficient transferring in a driver's license regranting program. *Alcohol and Alcoholism* 2012;1-8
95. Maksic N., Vodnik T., Milovanovic S., Radivojevic L., Obradovic I., Dajak M., Majkic-Singh N. Carbohydrate-deficient transferring – a contemporary biomarker in comparison with traditional laboratory markers of chronic alcohol abuse. *JMB* 2010; 29:95-101
96. Martensson O., Harlin A., Brandt R., Seppa K., Sillanaukee P. Transferrin isoform distribution: gender and alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res* 1997;21:1710–5.
97. McDonald H., Borinskaya S., Kiryanov N., Gil A., Helander A., Leon D. Comparative performance of biomarkers of alcohol consumtion in a population sample of working-aged men in Russia: the Izhevsk family study. *Addiction* 2013: 1-11
98. Moon H-W., Yun Y-M., Kim S., Choe W.H., Hur M., Kim J.Q. Determination of Carbohydrate-deficient Transferrin Levels by Using Capillary Electrophoresis in a Korean Population. *Korean J Lab Med* 2010;30:477-84
99. Musshoff F., Albermann E., Madea B. Ethyl glucuronide and ethyl sulfate in urine after consumption of various beverages and foods-misleading results? *Int J Legal Med* 2010; 124(6):623-30
100. Nemtsov A.V. Estimates of total alcohol consumption in Russia, 1980-1994. *Drug Alcohol Depend* 2000; 58:133-42
101. Niemelä, O. (2007). Biomarkers in alcoholism. *Clinica Chimica Acta*, 377, 39–49.
102. Panteghini M., John W.G. Implementation of haemoglobin A1c results traceable to the IFCC reference system: the way forward. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(8):942–944
103. Popova S., Rehm J., Patra J., Zatonski W. Comparing alcohol consumption in central and eastern Europe to other European countries. *Alcohol Alcohol* 2007; 42:465-73

- 104.Ramdani B., Nuyens V., Codden T., Perpete G., Colicis J., Lenaerts A., et al. Analyte comigrating with trisialotransferrin during capillary zone electrophoresis of sera from patients with cancer. *Clin Chem* 2003;49:1854–64.
- 105.Reisfield G.M., Goldberger B.A., Pesce A.J., Crews B.O., Wilson G.W., Teitelbaum S.A., Bertholf R.L. Ethyl Glucuronide, Ethyl Sulfate, and Ethanol in Urine after Intensive Exposure to High Ethanol Content Mouthwash. *Journal of Analytical Toxicology* 2011; 35:264-268
- 106.Schellenberg F., Girre C., Nalpas B., Plat A., Tome A., Pagès J.C. Analytical evaluation of a new capillary electrophoresis method for carbohydrate-deficient transferrin measurement. *Clinica Chimica Acta* 2007; 382:48–53
- 107.Schellenberg F., Mennetrey L., Girre C., Nalpas B., Christophe J. Automated Measurement of Carbohydrate-Deficient Transferrin Using the Bio-Rad %CDT by the HPLC Teston a Variant HPLC System: Evaluation and Comparison with Other Routine Procedures. *Alcohol & Alcoholism* 2008; 43:569–576.
- 108.Schellenberg F., Schwan R., Mennetrey L., Loiseaux M.N., Pages J.C., Reynaud M. Dose-effect relation between daily ethanol intake in the range 0–70 grams and %CDT value: validation of a cut-off value. *Alcohol* 2005;40: 531–4.
- 109.Schellenberg F., Wielders J.P.M. Evaluation of capillary electrophoresis assay for CDT on SEBIA's Capillarys System: Intra and inter laboratory precision, reference interval and cut-off. *Clinica Chimica Acta* 2010; 411:1888–1893
- 110.Schellenberg F., Benard J.Y., LeGoff A.M., Bourdin C., Weill J. Evaluation of carbohydrate-deficient transferrin compared with Tf index and other markers of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 1989;13:605–10.
- 111.Schwan R., Loiseaux M.N., Albuisson E., Legros F.J., Nuyens V., Malet L., et al. Performance of asialotransferrin in detecting alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 2005;29:81–3.
- 112.Schwarz M.J., Domke I., Helander A., Janssens P.M., Van Pelt J., Springer B., et al. Multicentre evaluation of a new assay for determination of carbohydrate-deficient transferrin. *Alcohol* 2003; 38:270–5.
- 113.Shield K.D., Rylett M., Gmel G., Kehoe-Chan T.A., Rehm J. Global alcohol exposure estimates by country, territory and region for 2005 – a contribution to the comparative risk assessment for the 2010 Global Burden of disease study. *Addiction* 2013; 108: 912-22
- 114.Sorvajarvi K., Blake J.E., Israel Y., Niemela O. Sensitivity and specificity of carbohydrate-deficient transferrin as a marker of alcohol abuse are significantly influenced by alterations in serum transferrin: comparison of two methods. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;20:449–54.
- 115.Stibler H. Carbohydrate-deficient transferrin in serum: a new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem* 1991;37:2029–37.
- 116.Stibler H., Allgulander C., Borg S., Kjellin K.G. Abnormal microheterogeneity of transferrin in serum and cerebrospinal fluid in alcoholism. *Acta Med Scand* 1978;204: 49–56.
- 117.Stibler H., Borg S., Joustra M. A modified method for the assay of carbohydrate-deficient transferrin (CDT) in serum. *Alcohol Suppl* 1991;1:451–4.
- 118.Telner A. Alcohol, diabetes and health: a review. *Canadian journal of diabetes* 2002; 26(3):378-381
- 119.The Role of Biomarkers in the Treatment of Alcohol Use Disorders, 2012 Revision Spring 2012; 11 (2): 1-8.

- 120.The Role of Biomarkers in the Treatment of Alcohol Use Disorders. Substance abuse treatment advisory. News for the treatment fields. 2006; 5(4):1-8
- 121.Turpeinen U., Methuen T., Alfthan H., Laitinen K., Salaspuro M., Stenman U.H. Comparison of HPLC and small column (CDTect) methods for disialotransferrin. Clin Chem 2001;47:1782–7.
- 122.Use of alcohol and drugs at the workplace. European Foundation for the Improvement of Living and Working Conditions, 2012 (Электронный ресурс: [www.eurofound.europa.eu](http://www.eurofound.europa.eu))
- 123.Wannamethee S.G., Shaper A.G., Perry I.J., Alberti K.G. Alcohol consumption and the incidence of type II diabetes. Epidemiol Community Health 2002; 56:542-548
- 124.Weykamp C., Wielders J.P.M., Helander A., Anton R.F., Bianchi V.,
- 125.Wolff F., Mesquita M., Corazza F., Demulder A., Willems D. False positive carbohydrate-deficient transferrin results in chronic hemodialysis patients related to the analytical methodology Clinical Biochemistry (Article in Press)
- 126.Wolff K., Gross S., Marshall E.J., Keaney F., Sherwood R. The role of carbohydrate deficient transferring as an alternative to gamma glutamyl transferase as a biomarker of continuous drinking: a literature review. Road Safety Research Report No 103.
- 127.Wurst F.M., Wiesbeck G.A., Metzger J.W., Weinmann W. On sensitivity, specificity and the influence of various parameters on ethyl glucuronide levels in urine-results from the WHO/ISBRA study. Alcohol Clin Exp Res 2004; 28(8):1220-8
- 128.Wuyts B., Delanghe J.R., Kasvosve I., Gordeuk V.R., Gangaidzo I.T., Gomo Z.A. Carbohydrate-deficient transferrin and chronic alcohol ingestion in subjects with transferrin CD-variants. Clin Chem Lab Med 2001;39:937–43.

**Информированное согласие на лабораторное исследование на предмет хронического злоупотребления алкоголем**

Я, \_\_\_\_\_  
(фамилия, имя, отчество – полностью)

\_\_\_\_\_ года рождения, проживающий (ая) по адресу: \_\_\_\_\_

Этот раздел бланка заполняется только на лиц, не достигших возраста 15 лет, или недееспособных граждан:

Я, \_\_\_\_\_

Паспорт: \_\_\_\_\_, выдан: \_\_\_\_\_

являюсь законным представителем (мать, отец, усыновитель, опекун, попечитель) ребенка или лица, признанного недееспособным: \_\_\_\_\_

(Ф.И.О. ребенка или недееспособного гражданина – полностью, год рождения)

Настоящим заявлением я подтверждаю свое согласие пройти тестирование на предмет хронического злоупотребления алкоголем и даю согласие на взятие образца моей крови и исследование ее на предмет хронического злоупотребления алкоголем. В процессе взятия крови, как правило, будет необходим один укол иглой. Эта процедура может быть связана с некоторым дискомфортом, включая возможное проявление кровоподтека в месте укола.

Я подтверждаю, что я также получил(а) информацию о:

- целях и процедуре тестирования на предмет хронического злоупотребления алкоголем;
- мерах профилактики;

Я также получил(а) консультацию по поводу того, какие дальнейшие действия мне следует предпринять в зависимости от получения положительного или отрицательного результата тестирования.

Я осведомлен(а) о своем праве отказаться от получения результатов тестирования.

Я ознакомлен (ознакомлена) и согласен (согласна) со всеми пунктами настоящего документа, положения которого мне разъяснены, мною поняты, и добровольно даю свое согласие на тестирование на предмет хронического злоупотребления алкоголем в предложенном объеме.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_года.

Подпись пациента \_\_\_\_\_

Законного представителя \_\_\_\_\_

Расписался в моем присутствии:

Врач: \_\_\_\_\_  
(подпись) \_\_\_\_\_ (должность, ФИО)

**Отказ от проведения лабораторного исследования на предмет хронического злоупотребления алкоголем**

Я, \_\_\_\_\_  
(фамилия, имя, отчество – полностью)

\_\_\_\_\_ года рождения, проживающий (ая) по адресу: \_\_\_\_\_

Этот раздел бланка заполняется только на лиц, не достигших возраста 15 лет, или недееспособных граждан:

Я, \_\_\_\_\_

Паспорт: \_\_\_\_\_, выдан: \_\_\_\_\_

являюсь законным представителем (мать, отец, усыновитель, опекун, попечитель) ребенка или лица, признанного недееспособным: \_\_\_\_\_

(Ф.И.О. ребенка или недееспособного гражданина – полностью, год рождения)

Настоящим заявлением я, пользуясь своим правом, предусмотренным статьей 33 «Основ законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан», отказываюсь от проведения тестирования на предмет хронического злоупотребления алкоголем.

Мне, согласно моей воле, даны полные и всесторонние сведения о целях, порядке и методах тестирования.

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_года.

Подпись пациента \_\_\_\_\_

Законного представителя \_\_\_\_\_

Расписался в моем присутствии:

\_\_\_\_\_ (подпись)

\_\_\_\_\_ (должность, ФИО)

**Перечень реагентов и расходных материалов для определения маркера CDT на приборах  
капиллярного электрофореза Sebia**

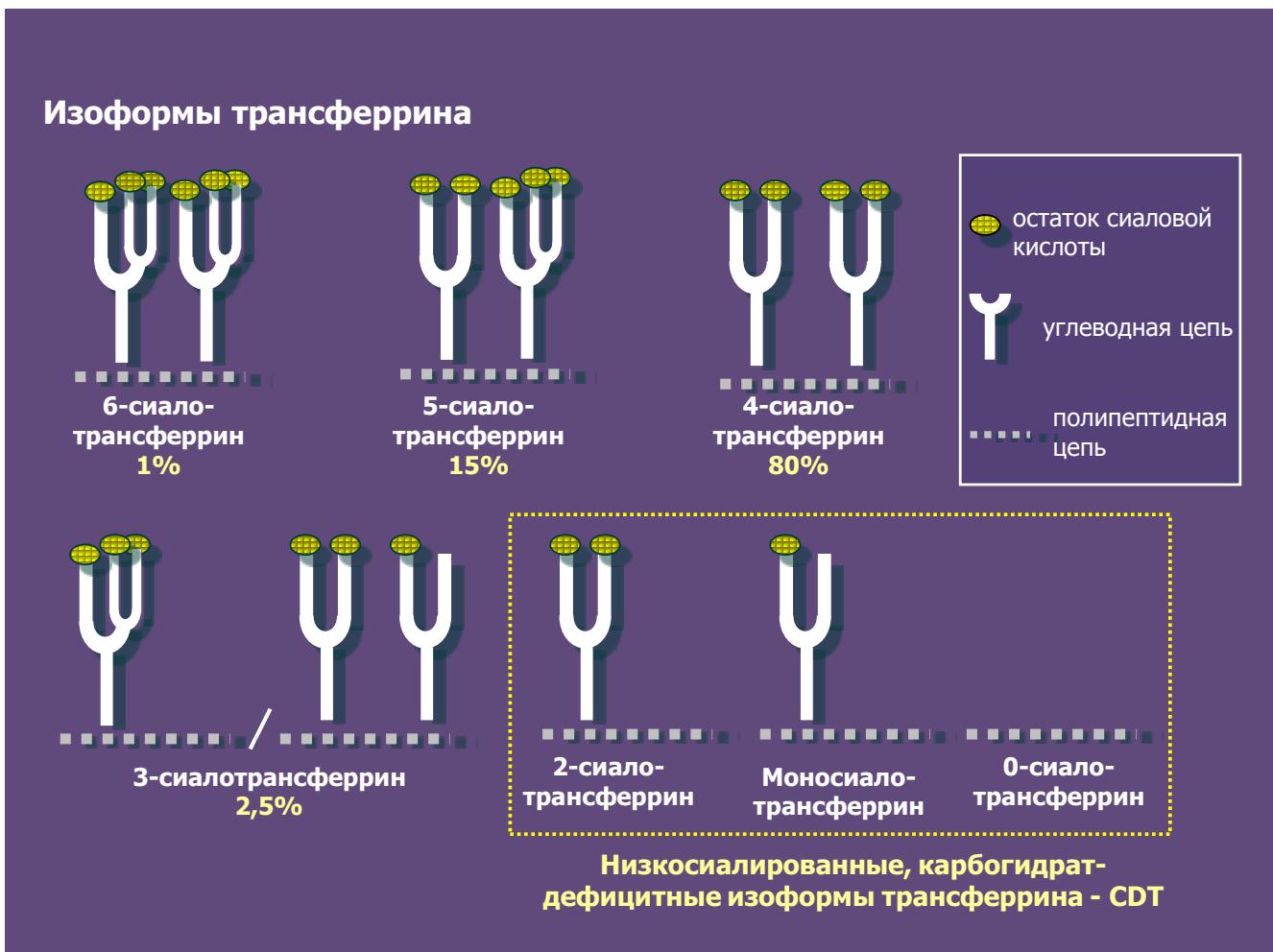
Перечень реагентов и расходных материалов для определения маркера CDT на системе Capillarys (рекомендован для лабораторий, выполняющих 50-100 анализов CDT в день):

№ п/п	Наименование	Назначение
1	Белковые фракции с разделением В1-В2 КАПИЛЛЯРИС (CAPILLARYS PROTEIN(E) 6)	Первичный запуск и калибровка прибора
2	Контрольная сыворотка для электрофореза НОРМА (NORMAL CONTROL)	
3	Белковые фракции CDT КАПИЛЛЯРИС (CAPILLARYS CDT)	Анализ CDT
4	Раствор для обработки образцов CDT (CDT SAMPLES TREATMENT SOLUTION)	Обработка образцов с интерференцией
5	Контрольная сыворотка для электрофореза CDT (CDT NORMAL CONTROL / 5)	Контроль 1 уровня для анализа CDT
6	Контрольная сыворотка для электрофореза CDT (CDT PATHOLOGICAL CONTROL)	Контроль 2 уровня для анализа CDT
7	Промывающий раствор для электрофореза КАПИЛЛЯРИС/МИНИКАП (CAPILLARYS / MINICAP WASH SOLUTION (2))	Техническое обслуживание прибора
8	Раствор Капиклин (CAPICLEAN)	
9	Реагент Na-гипохлорида - Critical Care/HemosIL Cleaning Agent	

Перечень реагентов и расходных материалов для определения маркера CDT на системе Minicap (рекомендован для лабораторий, выполняющих 10-50 анализов CDT в день):

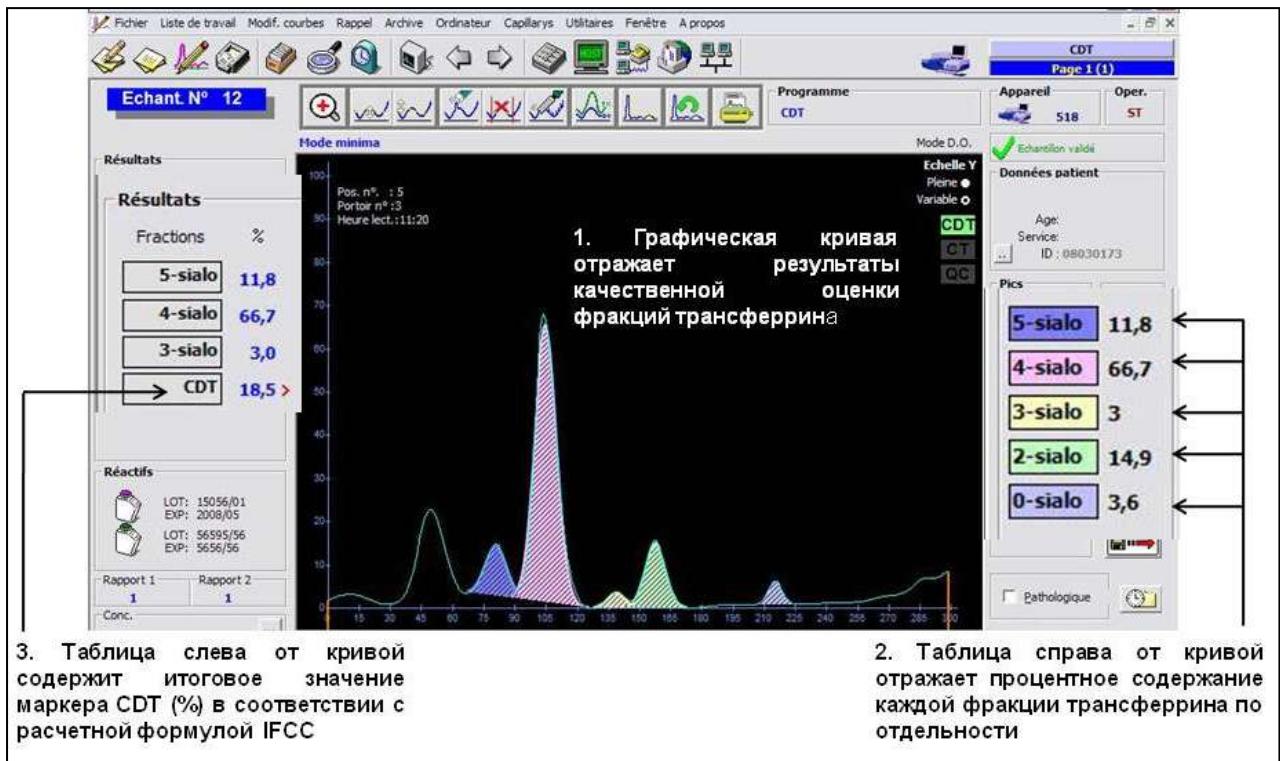
№ п/п	Наименование	Назначение
1	Белковые фракции с разделением В1-В2 МИНИКАП (MINICAP PROTEIN(E) 6)	Первичный запуск и калибровка прибора
2	Контрольная сыворотка для электрофореза НОРМА (NORMAL CONTROL)	
3	Белковые фракции CDT МИНИКАП (MINICAP CDT)	Анализ CDT
4	Раствор для обработки образцов CDT (CDT SAMPLES TREATMENT SOLUTION)	Обработка образцов с интерференцией
5	Контрольная сыворотка для электрофореза CDT (CDT NORMAL CONTROL / 5)	Контроль 1 уровня для анализа CDT
6	Контрольная сыворотка для электрофореза CDT (CDT PATHOLOGICAL CONTROL)	Контроль 2 уровня для анализа CDT
7	Сегменты для разведения образцов	Дополнительные сегменты для разведения образцов
8	Раствор Капиклин (CAPICLEAN)	
9	Реагент Na-гипохлорида - Critical Care/HemosIL Cleaning Agent	Техническое обслуживание прибора

## Изоформы трансферрина и их содержание в сыворотке крови человека

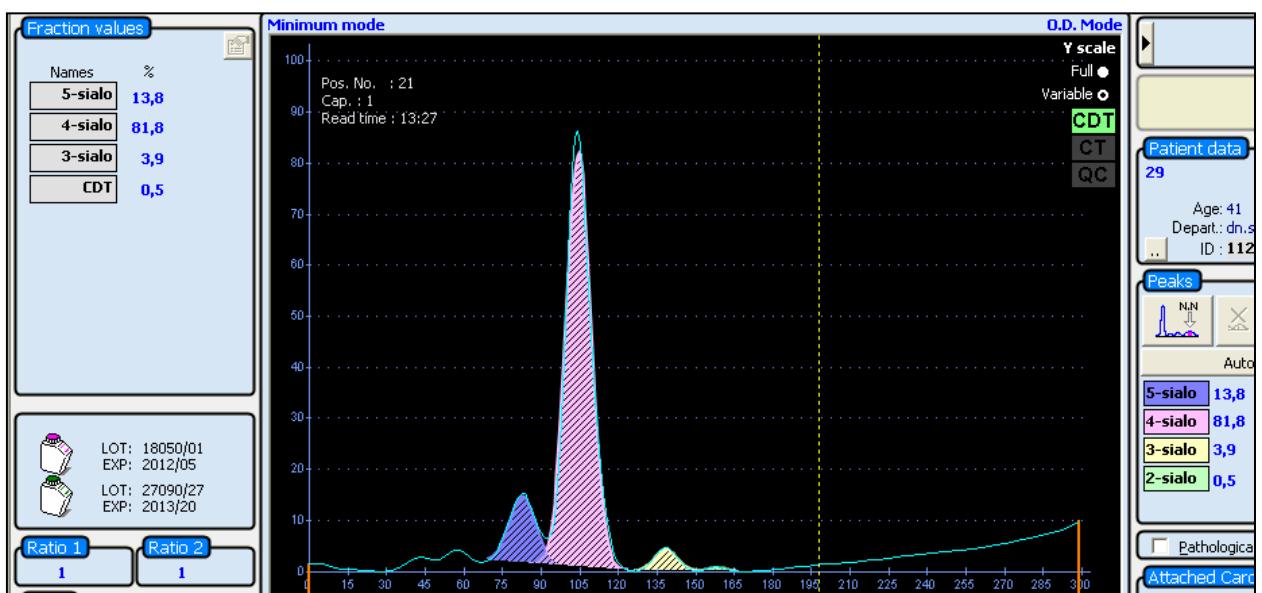


Согласно текущему определению аналита к карбогидрат-дефицитному трансферрину принято относить асиало-, моносиало- и -дисиало- изоформы трансферрина.

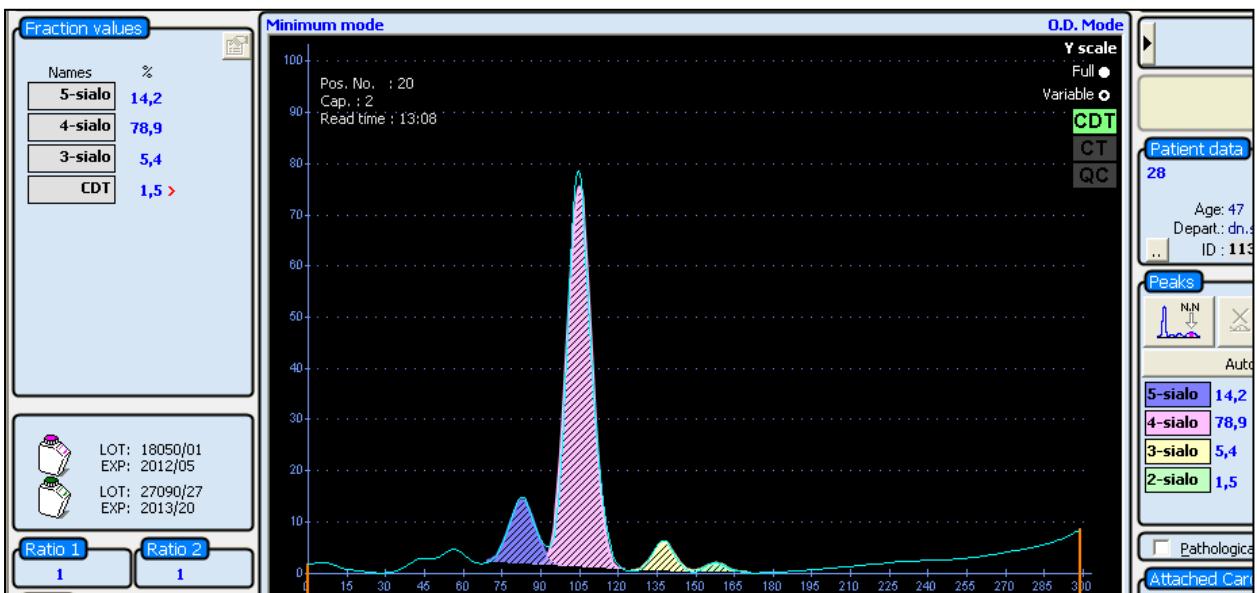
**Представление результатов качественной и количественной оценки карбогидрат-дефицитного трансферрина**



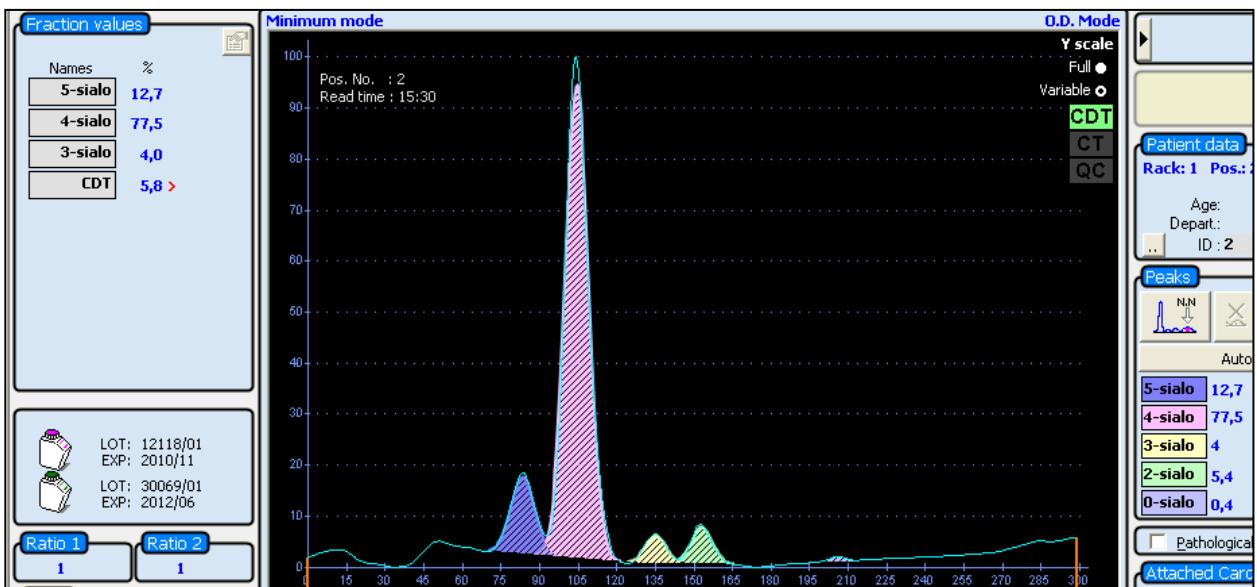
**Пример 1.** Представление результатов качественной и количественной оценки CDT.



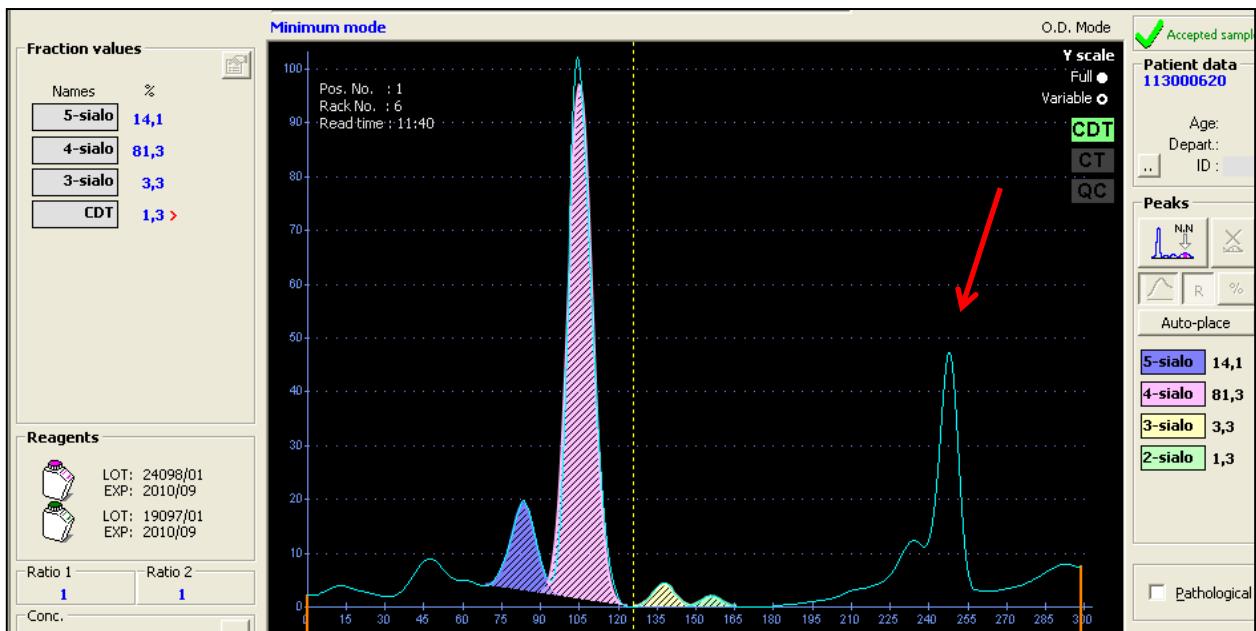
**Пример 2.** Стандартный вид ЭФ профиля без интерференции. Значение маркера CDT находится в пределах физиологической нормы ( $CDT < 1,3 \%$ .)



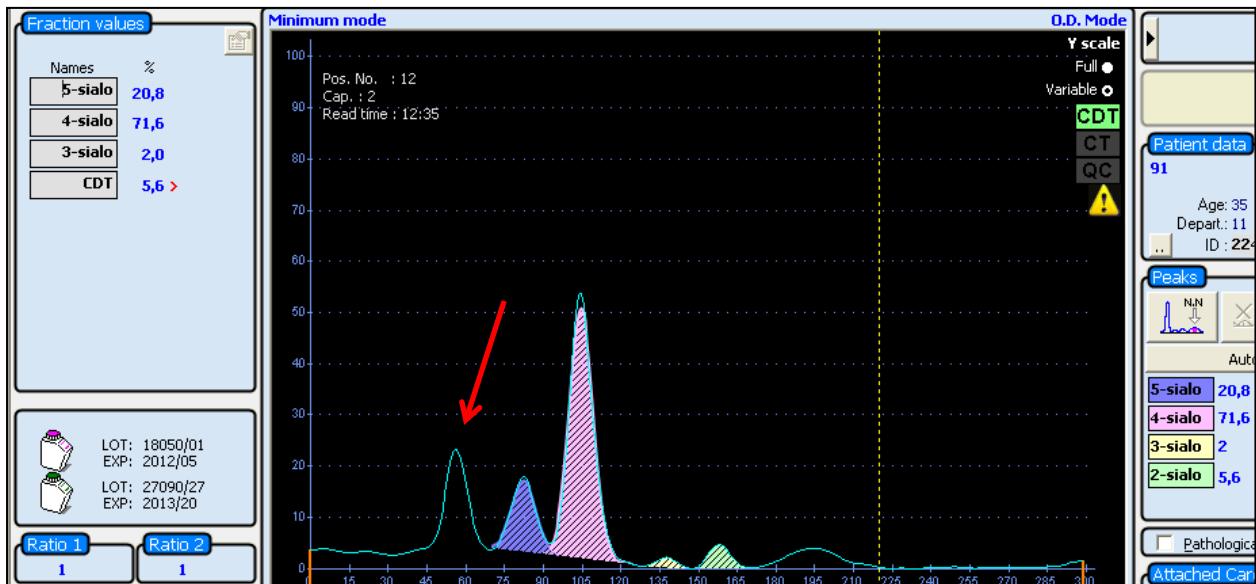
**Пример 3.** Стандартный вид ЭФ профиля без интерференции. Выявлено патологическое повышение маркера CDT в пределах «серой зоны» ( $1,3\% \leq CDT \leq 1,6\%$ ).



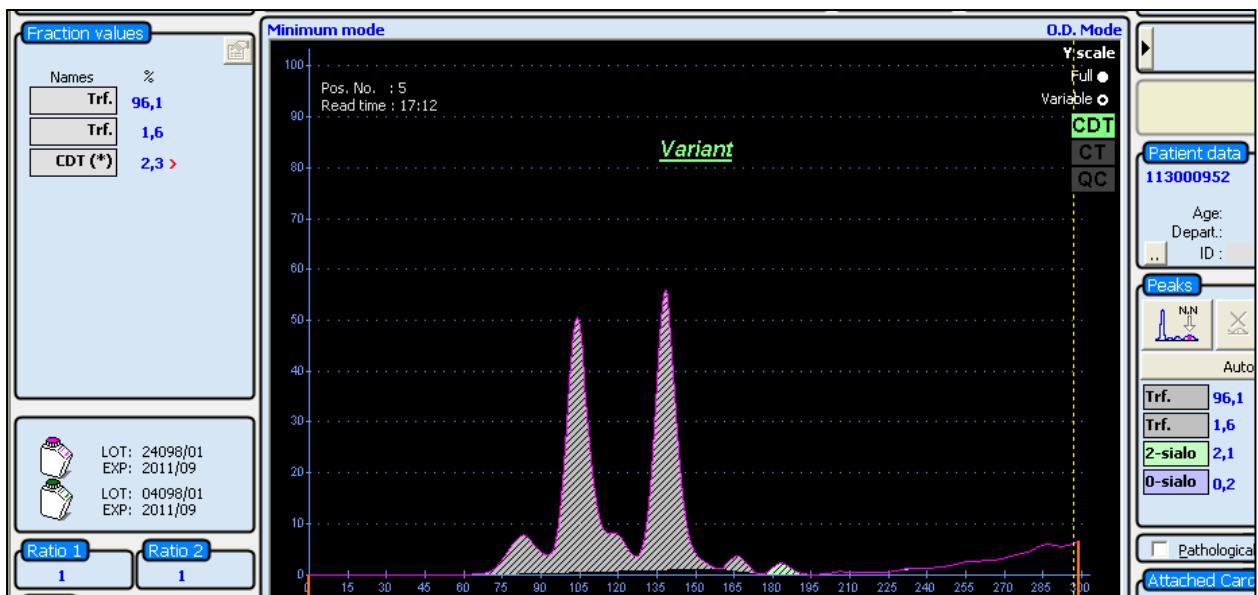
**Пример 4.** Стандартный вид ЭФ профиля без интерференции. Выявлено патологическое повышение маркера CDT ( $CDT > 1,6\%$ ).



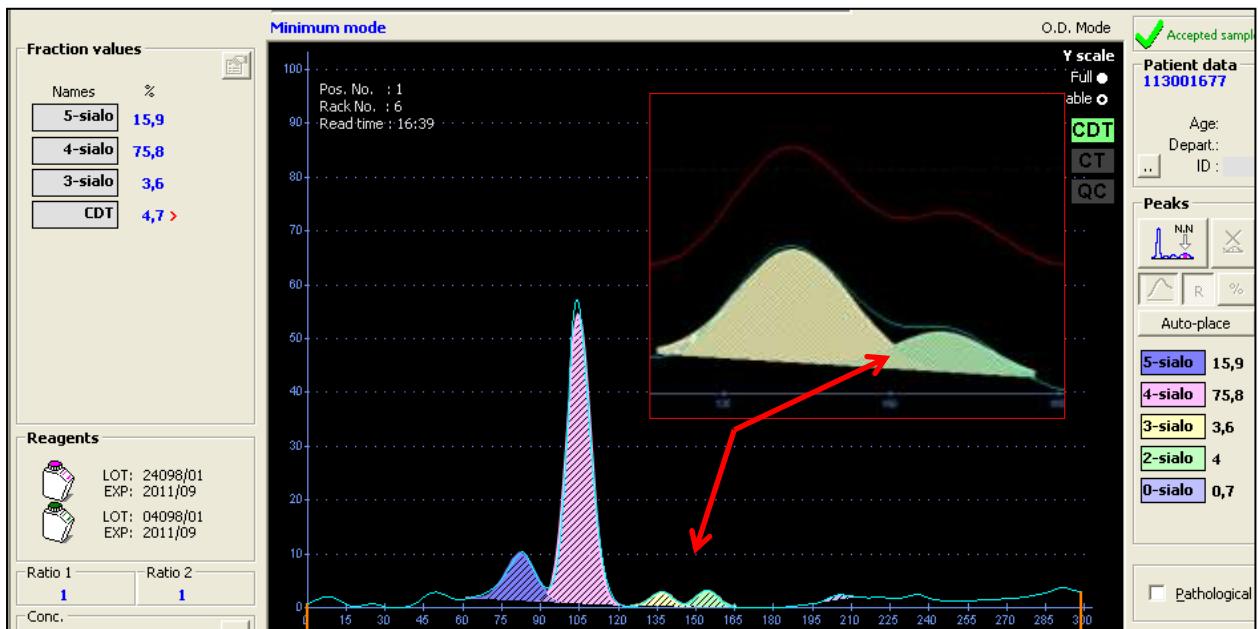
**Пример 5.** Интерференция, ассоциированная с нарушениями условий взятия, хранения и транспортировки образцов (разрушение С3 компонента комплемента). Требуется обработка раствором для снятия интерференции.



**Пример 6.** Интерференция, ассоциированная с наличием моноклонального компонента. Требуется обработка раствором для снятия интерференции.



**Пример 7.** Генетический вариант трансферрина (не препятствующий количественной оценке CDT)



**Пример 8.** Интерференция, ассоциированная с наличием блока ди-трисиалотрансферрина (увеличенное изображение демонстрирует неполное разделение фракций ди- и трисиалотрансферрина), характерного для тяжелых хронических поражений печени.

Министерство  
здравоохранения и  
социального развития  
Российской Федерации  
(наименование медицинского  
учреждения)

Заключение о результатах исследования №\_\_\_\_\_

фамилия, имя, отчество, пол, дата рождения обследуемого

номер медицинской карты амбулаторного больного

Врач психиатр-нарколог \_\_\_\_\_  
фамилия, инициалы врача, подпись

Результаты исследования карбогидрат-дефицитного трансферрина (CDT)

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_\_\_г. № образца\_\_\_\_\_ № этикетки\_\_\_\_\_

количество образца и условия его хранения (температура)

Метод исследования: капиллярный электрофорез

**Результаты качественного анализа CDT:**

1. Стандартный вид ЭФ профиля без интерференции. Результаты качественного анализа подтверждают возможность количественной оценки CDT.	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
2. На ЭФ профиле выявлены признаки интерференции:	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
2.1 Выявлена интерференция, ассоциированная с нарушениями условий взятия, хранения и транспортировки образцов	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
2.2 Выявлена интерференция, ассоциированная с нарушением реологических свойств сыворотки / наличием моноклонального компонента	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
2.3 Выявлена интерференция, ассоциированная с наличием генетических вариантов трансферрина	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
2.4 Выявлен блок ди-трисиалотрансферрина – маркер патологии печени, в т.ч. алкоголь-индуцированного цирроза печени. Количественная оценка CDT невозможна.	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
3. С целью снятия интерференции проведено повторное исследование сыворотки крови обследуемого:	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
3.1 В результате повторного исследования интерферирующее воздействие снято. Результаты качественного анализа подтверждают возможность количественной оценки CDT.	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>
3.2 В результате повторного исследования интерферирующее воздействие не снято. Результаты качественного анализа	(поставить отметку, если соответствует)	<input type="checkbox"/>

свидетельствуют о невозможности количественной оценки CDT.

**Результаты количественного анализа CDT:**

Значение CDT < 1,3 %. Значение маркера CDT находится в пределах физиологической нормы.

(поставить отметку, если соответствует)

Значение  $1,3\% \leq CDT \leq 1,6\%$ . Выявлено патологическое повышение маркера CDT в пределах «серой зоны». Рекомендуется повторное исследование спустя 3-4 недели.

(поставить отметку, если соответствует)

Значение CDT > 1,6%. Выявлено патологическое повышение маркера CDT.

(поставить отметку, если соответствует)

Количественная оценка маркера CDT не может быть произведена вследствие наличия неустранимых интерферирующих факторов

(поставить отметку, если соответствует)

**Протокол исследования прилагается** \_\_\_\_\_ (поставить отметку, если соответствует)

**Врач (фельдшер)** \_\_\_\_\_  
фамилия, инициалы врача, подпись

Пример оформления протокола исследования  
(обязательное приложение к заключению о результатах анализа)

# Phoresis

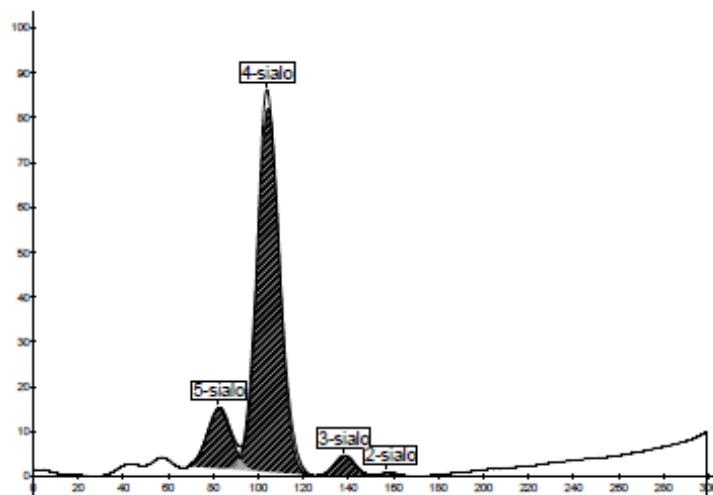
Стандартный отчет

Ф.И.О.  
29

Номер образца: 23

Дата: 22/04/11

ID : 112



## Electrophoresis

Fractions	%	Ref. %	Ref. g/dl
5-sialo	13,8		
4-sialo	81,8		
3-sialo	3,9		
CDT	0,5	[ Normal < 1,3 ]	
		(2-sialo = 0,5)	

Комментарий:

Подпись

**Опросный лист обследуемого на факт хронического злоупотребления алкоголем**

(заполняется врачом или фельдшером со слов пациента)

«\_\_\_» 20\_\_\_ г.

№\_\_\_\_\_

(ФИО или код освидетельствованного, возраст)

1. Причина направления на исследование \_\_\_\_\_  
(скрининговое исследование, освидетельствование  
после происшествия и др.)
2. Дата и количество последнего предположительного приема алкоголь-содержащих веществ  
(приблизительно, если возможно) \_\_\_\_\_
3. Частота приема алкоголь-содержащих веществ (приблизительно, если  
возможно) \_\_\_\_\_
4. Предварительный клинический диагноз \_\_\_\_\_  
(указать заболевания, которыми болеет  
освидетельствованный – хронические, острые, из истории болезни или со слов пациента)
5. Принимались ли освидетельствованным лекарственные препараты за последние 3 месяца:  
 Нет     Да    Какие, как долго \_\_\_\_\_
6. Переносил ли освидетельствованный инфекционные заболевания за последние 3 месяца:  
 Нет     Да    Какие, как долго \_\_\_\_\_
7. Для женщин: есть ли у освидетельствованной в данный момент менструация или беременность  
 Нет     Да    Какое состояние \_\_\_\_\_
8. Страдает ли освидетельствованный заболеваниями иммунной системы (автоиммунные  
заболевания, иммунодефицитные состояния):  
 Нет     Да    Заболевание \_\_\_\_\_
9. Страдает ли освидетельствованный заболеваниями печени:  
 Нет     Да    Заболевание \_\_\_\_\_
10. Страдает ли освидетельствованный железодефицитной или иными формами анемии:  
 Нет     Да    Заболевание \_\_\_\_\_
11. Пребывал ли освидетельствованный за последний месяц в состоянии алкогольного опьянения:  
 Нет     Да    Как часто (приблизительно, если возможно) \_\_\_\_\_

Ф.И.О. врача (фельдшера) \_\_\_\_\_

(подпись)

Министерство  
здравоохранения и  
социального развития  
Российской Федерации  
(наименование медицинского  
учреждения)

**Направление на исследование образцов крови на предмет хронического злоупотребления  
алкоголем**

№\_\_\_\_\_

наименование лаборатории

наименование структурного подразделения медицинского учреждения, выдавшего направление

Условия и длительность хранения образца(ов) \_\_\_\_\_

Дата и время отправки образцов в лабораторию\_\_\_\_\_

**Образцы биологического материала**

№ п/п	Объект исследования	№ этикетки	Количество образца, мл
1	2	3	4

Врач (фельдшер) \_\_\_\_\_

Фамилия, инициалы, подпись

М.П.

Министерство  
здравоохранения и  
социального развития  
Российской Федерации  
(наименование медицинского  
учреждения)

**Справка о доставке образцов крови на исследование хронического злоупотребления  
алкоголем**

наименование лаборатории

Дата и время отправки образцов \_\_\_\_\_

**Образцы биологического материала**

№ п/п	Объект исследования	№ этикетки	Количество образца, мл
1	2	3	4

Ответственный за доставку образцов \_\_\_\_\_

фамилия, инициалы лица, осуществляющего перевозку образцов биологического материала

Дата и время доставки образцов в лабораторию \_\_\_\_\_

Выявленные несоответствия \_\_\_\_\_

Ответственный за приемку образцов  
уполномоченное лицо

должность, фамилия, инициалы, подпись

Штамп лаборатории

**Методика получения сыворотки крови**

Венозная кровь, взятая без антикоагулянтов в центрифужную стеклянную или пластиковую пробирку, отстаивается в ней при комнатной температуре (+15 - 20°C) до образования сгустка в течение 30 минут. Тонкой стеклянной палочкой проводят по внутренним стенкам пробирки (по кругу) для отделения сгустка от стенок пробирки и центрифугируют 10 минут (1000-1500 g). Полученную сыворотку переливают в одноразовые пластиковые пробирки с завинчивающимися пробками. К анализу допускается сыворотка при хранении ее в условиях холодильника при температуре 2- 8°C не более 10 дней. При необходимости более длительного хранения образцы сыворотки крови должны быть заморожены (-18-24°C) в течение 8 часов с момента их взятия. Замороженная сыворотка пригодна для исследования в течение месяца.

Министерство  
здравоохранения и  
социального развития  
Российской Федерации  
(наименование медицинского  
учреждения)

**Заключение**

**Медицинского учреждения о прохождении обследования на предмет хронического  
злоупотребления алкоголем**

от « \_\_\_\_ » 20 г.

- 1. Выдано** \_\_\_\_\_  
(наименование и адрес учреждения здравоохранения)
- 2. Наименование, почтовый адрес учреждения, куда представляется Заключение** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
- 3. Фамилия, имя, отчество** \_\_\_\_\_  
(Ф.И.О. учащегося)
- 4. Пол (мужской/ женский)** \_\_\_\_\_
- 5. Дата рождения** \_\_\_\_\_
- 6. Адрес места жительства** \_\_\_\_\_
- 7. Заключение: Тестирование на предмет хронического злоупотребления алкоголем прошел.**

**Врач психиатр-нарколог** \_\_\_\_\_  
(подпись) \_\_\_\_\_ (Ф.И.О.)

**Руководитель медицинского учреждения** \_\_\_\_\_  
(подпись) \_\_\_\_\_ (Ф.И.О.)

**М. П.**

**ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ АКТ**

от \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

**по результатам лабораторных исследований учащихся на предмет хронического злоупотребления алкоголем**

(наименование учреждения)

За \_\_\_\_\_ г.,  
проведенного медицинским учреждением \_\_\_\_\_

(лицензия № \_\_\_\_\_, срок действия \_\_\_\_\_)

## 1. Установлено:

Общее число учащихся, подлежащих лабораторному исследованию по поименному списку  
(всего) \_\_\_\_\_Число учащихся, подлежащих по списку на дату проведения лабораторного исследования  
(всего), \_\_\_\_\_1.1 Число учащихся, подлежащих тестированию на предмет хронического злоупотребления  
алкоголем и фактически прошедших:

Подлежало медицинскому осмотру (на момент осмотра)		Число учащихся, прошедших осмотр	
Всего	в т.ч. женщин	Всего	в т.ч. женщин

7.2. Число учащихся, осмотренных полностью, \_\_\_\_\_, в % к итогу \_\_\_\_\_%;  
в том числе женщин, \_\_\_\_\_, в % к итогу \_\_\_\_\_%.7.3. Число учащихся, осмотренных не полностью, \_\_\_\_\_, в % к итогу \_\_\_\_\_%;  
в том числе женщин, \_\_\_\_\_, в % к итогу \_\_\_\_\_%.7.4. Число учащихся, не осмотренных, \_\_\_\_\_, в % к итогу \_\_\_\_\_%;  
в том числе женщин, \_\_\_\_\_, в % к итогу \_\_\_\_\_%.

В том числе по причине:

7.4.1. Убытия \_\_\_\_\_

7.4.2. Болезни \_\_\_\_\_

7.4.3. Отказа \_\_\_\_\_

7.4.4. Другие причины \_\_\_\_\_

1.5 Полнота выполнения анализа СДТ методом капиллярного электрофореза:

№ п/п	Исследований регламентировано		Исследований фактически проведено		Из них положительные	
	Всего	в т.ч. женщ.	Всего	в т.ч. женщ.	Всего	в т.ч. женщ.

7.5. Полнота выполнения осмотров врачом психиатром-наркологом учащихся с положительными результатами в соответствии со стандартом медицинского обследования:

Осмотру подлежало		Осмотрено фактически		% выполнения	
Всего	в т.ч. женщ.	Всего	в т.ч. женщ.	Всего	в т.ч. женщ.

8. Предложения и выводы по результатам осмотра руководителю образовательного учреждения:

---



---



---



---

Подписи:

Врач психиатр-нарколог \_\_\_\_\_  
(Ф.И.О., подпись)

Главный врач \_\_\_\_\_  
(Ф.И.О., подпись)

М.П.

С актом ознакомлен:

Руководитель образовательного учреждения \_\_\_\_\_  
(Ф.И.О., подпись)

М.П.