

# Лабораторная диагностика в экстренном режиме

• Татьяна ХЕЙЛОМСКАЯ,  
• Дмитрий ШАХНИН

Достижения фундаментальных наук (физики, химии, биологии) вместе с усложнением способов исследования биопроб создали основу для миниатюризации процессов анализа при сохранении надежности и информативности их результатов. В свою очередь, это привело к появлению таких средств анализа, которые позволяют проводить лабораторные исследования за пределами лаборатории. Такой подход получил общее название «Анализ по месту лечения» (АМЛ – от английского термина Point-Of-Care-Testing)



Во врачебной практике могут быть ситуации, когда для своевременного проведения лечебных мероприятий нужно оперативно сориентироваться в состоянии пациента, быстро поставить диагноз, предотвратить развитие патологического процесса. В практике семейного врача часто необходимо устанавливать первич-

ный диагноз на дому пациента, и без данных лабораторных анализов это оказывается крайне сложной задачей.

Оптимальное решение проблем экстренной лабораторной диагностики состоит в использовании средств АМЛ, в основе которых лежат два элемента:

- тесно пространственно скомпонованные микродозы аналитических реагентов;
- миниатюрное оптическое или электрохимическое устройство с автономным питанием для детекции и/или регистрации результатов взаимодействия реагентов с аналитом.

Конструктивное решение пространственной компоновки этих элементов позволяет вне специально оборудованной лаборатории выполнять исследование аналитов в малых объемах пробы, получая надежный результат практически в любых условиях.

## Классификация АМЛ

Существует два основных варианта средств АМЛ. Первый, как правило, одноразовый и рассчи-

**Табл. 1. Основные технико-аналитические варианты средств АМЛ**

| Форма миниатюризации аналитики  | Принцип детекции и количественной оценки результата анализа   |
|---|---|
| Диагностические полоски, содержащие аналитические зоны с наборами реактивов для исследования одного или нескольких аналитов («сухая химия») | Визуальная оценка<br>Отражательная фотометрия<br>Биосенсор<br>Цифровая фотокамера и компьютерный анализ изображений |
| Многослойная карточка, содержащая набор реактивов («сухая химия»)   | Фотометрия  |
| Проточное иммуноаналитическое исследование («сухая химия»)  | Визуальная оценка<br>Отражательная фотометрия   |
| Миниатюрная кювета, картридж с набором реактивов («жидкая химия»)   | Фотометрия, в том числе, лазерная<br>Биосенсор  |
| Ферментная и иммунохроматография («жидкая химия»)   | Аналоговый сигнал   |
| Микрочипы   | Фотометрия, флуориметрия, биосенсоры  |

тан на визуальную оценку результатов собственно аналитического элемента. Второй — это сочетание аналитического элемента с устройством для объективной детекции и количественной оценки результатов исследования. Он представляет собой миниатюрную аналитическую систему.

На основании структурного решения аналитических элементов средства АМЛ подразделяются на:

- использующие «жидкую химию» — это готовые к применению растворы или легкорастворимые лиофильно высушенные порошки реагентов в кюветах/картриджах;
- использующие «сухую химию» — это готовые к применению твердые пористые носители в корпусе или без него;
- использующие микрочипы (биочипы, биосенсоры) — готовые к применению твердые носители на основе проводящих или полупроводящих материалов в корпусе или без него.

Основные варианты технических решений для средств АМЛ приведены в табл. 1 (на стр. 14).

По количеству параметров, определяемых последовательно (или параллельно) с помощью одного средства АМЛ, их можно разделить на несколько видов, приведенных в табл. 2.

### АМЛ для «полевых условий»

Современные аналитические устройства для проведения немедленного лабораторного анализа являются портативными, простыми в применении и в то же время основаны на высоких технологиях, что позволяет получать достоверную информацию. Портативные приборы представляют собой цельные прикроватные или переносные экспресс-лаборатории. Существует три основные сферы применения средств АМЛ.

Во-первых, в критических ситуациях, как в стационаре, так и в условиях скорой помощи. В этом случае определяют показатели кислотно-щелочного равновесия, газов крови, электролитов, глюкозы, гемоглобина и др.

**Табл. 2. Виды портативных систем АМЛ**

| Виды систем АМЛ       | Виды исследований                           |
|-----------------------|---|
| Узкоцелевые           | Глюкометрия, билирубинометрия               |
| Профильные            | Коагулометрия, сердечные маркеры, наркотики |
| Мультипараметрические | Рутинная биохимия, уринализ                 |

**Табл. 3. Обзор современных клиничко-диагностических возможностей средств АМЛ**

| Виды патологии                              | Аналиты-мишени, материал пробы: кровь (К), моча (М)  | Средства АМЛ   |
|---|--|--|
| <b>Диабет</b>                               | Глюкоза (М)<br>Кетоновые тела (М)  | Диагностические полоски для мочи<br>Отражательный фотометр                                       |
|   | Глюкоза (К)  | Диагностические полоски для крови<br>Отражательный фотометр<br>Глюкометры: фотометры, биосенсоры |
|   | Гликозилированный гемоглобин (К)   | Жидкостный хроматограф   |
| <b>Инфаркт миокарда</b>                     | Тропонины (К)<br>Миоглобин (К)<br>Креатинкиназа-МВ (К)   | Иммуноаналитические тесты<br>Отражательный фотометр  |
| <b>Нарушения гемостаза</b>                  | Протромбиновое время (К)<br>АЧТВ (К)<br>Активированное время свертывания (К)                         | Тест-картриджи, лазерный фотометр  |
|   | Д-Димер (К)  | Иммуноаналитический тест<br>Отражательный фотометр   |
| <b>Поражения печени</b>                     | Билирубин (М)<br>Уробилиноген (М)  | Диагностические полоски для мочи<br>Отражательный фотометр                                       |
|   | Билирубин (К)  | Диагностические полоски для крови<br>Отражательный фотометр                                      |
| <b>Поражения почек</b>                      | Белок (М)<br>Лейкоциты (М)<br>Эритроциты (М)<br>рН (М)<br>Относительная плотность (М)<br>Нитриты (М) | Диагностические полоски для мочи<br>Отражательный фотометр                                       |
|   | Азот мочевины (К)<br>Креатинин (К)   | Биосенсор  |
|   | Альбумин (М)   | Иммуноаналитический тест   |
| <b>Урология</b>                             | Простатический специфический антиген (К)   | Иммуноаналитический тест   |
| <b>Акушерство</b>                           | Хорионический гонадотропин<br>Белок, связывающий инсулино-подобный ростовой фактор-1                 | Иммуноаналитический тест   |
| <b>Вирусные болезни</b>                     | HIV, HCV, HbsAg, HbsAb<br>Ротавирусы   | Иммуноаналитический тест   |
| <b>Инфекционная, паразитарная патология</b> | H. pylori, сифилис, хламидии, стрептококк А, ЛДГ из малярийных плазмодиев (К)                        | Иммуноаналитический тест   |
| <b>Острые состояния</b>                     | Na, K, Cl, рН, рСО <sub>2</sub> , рО <sub>2</sub> , ионизированный Са, Hb, Hct (К)                   | Биосенсоры   |
|   | Лактат (К)   | Фотометрия   |
| <b>Воспаление</b>                           | Интерлейкин-6, С-реактивный белок, прокальцитонин (К)  | Иммуноаналитический тест   |

Во-вторых, в кабинете семейного врача или в небольшом медицинском учреждении, где нет собственной лаборатории. Тогда средства АМЛ применяют для постановки диагноза и определения степени тяжести состояния пациента.

В-третьих, в домашних условиях средства АМЛ используются для осуществления самоконтроля и повышения эффективности лечения (контроль уровня глюкозы; состояние гемостаза у больных, которые принимают антикоагулянты и др.).

Опыт использования экспресс-тестов в критических состояниях стимулировал распространение подобных аналитических средств и на внебольничные – «полевые» – условия, расширяющие диагностические возможности семейных врачей, когда важен постоянный мониторинг состояния пациента.

Современный арсенал средств АМЛ способен облегчить диагностику многих патологических состояний, некоторые из которых приведены в табл. 3 (на стр. 15).

## Мобильная «сухая химия и иммунохимия»

Наиболее «мобильными» являются средства «сухой химии» и «сухой иммунохимии». Они могут применяться практически в любых условиях: на приеме у врача, дома, в транспорте. Системы «сухой химии» развивались по двум основным направлениям: с применением импрегнированных волокон и с использованием многослойных слайдов. Первым их вариантом стали диагностические полоски («strip tests», «dipsticks»). Они предназначены для

качественного, полуколичественного и количественного определения биохимических компонентов в биологических жидкостях.

В тест-полосках первого типа в качестве носителя используют импрегнированные волокна из чистой альфа-целлюлозы. Бумажные матрицы имеют стандартную плотность волокон и определенную толщину. Реактивы абсорбируются на носителе путем погружения в соответствующие растворы с последующим высушиванием. При необходимости объединения на одной полоске нескольких реакционных зон, содержащих реагенты для анализа различных аналитов, их, как правило, наклеивают на общую полимерную подложку.

Среди первых диагностических тестов на твердофазном носителе реактивов были бумажные полоски для качественного определения сахара в моче, а затем и других ее компонентов. В настоящее время производятся тест-полоски для исследования мочи в виде моно- (на один компонент) и поли-тестов (на несколько компонентов: рН, кетоны, глюкоза, белок, билирубин, уробилиноген, эритроциты, гемоглобин, нитриты, относительная плотность, лейкоциты, аскорбиновая кислота). В поли-тестах могут быть сгруппированы в различных комбинациях диагностические зоны для указанных аналитов, что позволяет более целенаправленно и рационально вести скрининг.

В экспресс-тестах второго типа в качестве подложки используют негнувшийся пластик или другой подобный материал, который может быть прозрачным или



& фото. Минифотометр LP420 с опциональным термостатом Sartorius



& фото. Автоматический анализатор "Apolowako" от "Wako Chemicals".

отражающим (сшитый желатин, агароза, поливиниловый спирт, альгинат, ацетат целлюлозы и т. д.).

Для усиления отражения света, что необходимо для процедуры измерения, поры пластика заполняют неорганическим пигментом, чаще всего – двуокисью титана. В этом случае подложка играет роль отражательного слоя. Реактивная часть системы может состоять из нескольких слоев пленок, содержащих необходимые реагенты в сухой форме. Иногда в систему включены дополнительные промежуточные слои, предназначенные для определения, разрушения ими маскировки интерферирующих веществ, содержащихся в исследуемой пробе, а также слой, обеспечивающий равномерное проникновение биологической жидкости в реактивный слой. В процессе производства реагенты наносят на матрицу путем погружения в соответствующие растворы или внедрения реактивов в синтетическую пленочную матрицу. Отдельные слои с помощью самоклеющихся

& фото. Рефлектометр Reflotron II





Таблица 4. Технические характеристики некоторых анализаторов-отражательных фотометров

| Характеристики приборов                | Прибор, фирма-изготовитель   |  |  |
|--|--|--|--|
|  | Reflotron II, IV, "Roche Diagnostics"  | Seralyzer III, "Miles"   | DT60 II Kodak Eekta-chem, "Johnson & Johnson"  |
| Оптические характеристики              | Светодиоды (LED 567, 642, 951 нм)  | Ксеноновая импульсная лампа, 9 светофильтров (340, 530, 535, 560, 580, 600, 620, 640, 740 нм)                | Светодиоды: зеленый, красный, желтый   |
| Термостатирование измерительного блока | 25°C; 30°C; 37°C   |  | Встроенный термостат   |
| Измерения кинетические                 | +  |  | +  |
| Измерения по конечной точке            | +  | +  | +  |
| Способ расчета                         | +  | +  | +  |
| Способ выдачи результатов              | дисплей, встроенный принтер,   | дисплей, внешний принтер   | дисплей, термопринтер  |
| Аналиты                                | 16 тестов, ферменты, субстраты, калий  | 15 тестов, ферменты, субстраты, калий, лекарства   | В зависимости от модуля: электролиты, ферменты, кальций, теофиллин, субстраты, лактат, анионный интервал             |
| Использование реактивов других фирм    | Закрытая система   | Закрытая система   | Закрытая система   |
| Встроенные программы контроля качества | –  | –  | –  |
| Примечания                             | Тест-полоски с магнитным кодом, 32 мкл цельной крови или сыворотки или плазмы (калий, холестерин липо-протеидов высокой плотности), автоматич. контроль по контрольной полоске | Тест-полоски, 10 мкл сыворотки или плазмы на 1 определение, автокалибровка, хранение в памяти 25 результатов | "Сухая химия" на слайдах, используется 10 мкл сыворотки или плазмы, анализатор предназначен для экспресс-лаборатории |

пленок или одновременно все слои посредством специальной рамки объединяют в «слайды», представляющие собой многослойные аналитические элементы. Существуют конструкции этих «слайдов» для клинико-химических тестов, для определения электролитов и для иммунохимических определений в сыворотке крови.

Перспективным направлением средств АМЛ стали аналитические устройства, основанные на использовании иммунных взаимодействий гомогенного или гетерогенного типа в пористом матриксе с применением моноклональных антител, которые можно назвать «сухой иммунохимией». В качестве матрикса могут использоваться одно- или многослойные пленки, хроматографические или проточные устройства. Результаты исследований, выполненных с помощью иммуно-аналитических устройств, обычно оцениваются визуально по наличию или отсутствию окрашенных полос в зонах детекции и контрольной.

### «Жидкая химия»

Средства АМЛ, основанные на принципе «жидкой химии», используют традиционные жидкофазные аналитические методы определения содержания аналитов. Практически все они представляют собой прозрачные одноразовые пластиковые кюветы и одновременно служат местом проведения реакции, лежащей в основе аналитического метода и ячейкой для количественного измерения результатов определения (обычно фотометрического считывания). Данные средства АМЛ могут быть пустыми (реагенты добавляются после внесения пробы) или содержать готовые растворы реагентов (один или несколько). Внесение проб и реагентов в кюветы может производиться как вручную, так и с помощью автоматического анализатора. А для регистрации результатов таких тестов используются портативные фотометры или схемы оптической

регистрации в составе автоматических анализаторов.

### Биосенсоры

Отдельную группу устройств АМЛ составляют биосенсоры. В этих аналитических устройствах в качестве компонента используется тот или иной биологический материал (ткань, микроорганизмы, органеллы, ферменты, антитела и др.); производные биологического материала или биомиметики, сопряженные с электрохимическим трансдьюсером (или трансдьюсерной микросистемой) либо интегрированные в них. Трандьюсер может быть оптическим, электрохимическим, термометрическим, пьезоэлектрическим или магнитным. Биосенсорная технология применяется в устройствах для определения глюкозы, гемоглобина и других аналитов.

### Картриджи

Картриджные устройства АМЛ не рассчитаны на визуальную

Табл. 5. Размеры и вес некоторых средств АМЛ

| Прибор   | Вес, г | Размеры, см      |
|--|--------|------------------|
| Глюкометр биосенсорный HemoSmart                   | 64     | 10,0x5,8x2,1     |
| Глюкометр биосенсорный GlucoMen Glyco              | 50     | 8,38x5,5x1,45    |
| Глюкометр-отражательный фотометр Optilite          | 58     | 10,0x5,2x1,5     |
| Глюкометр Precision PCx                            | 280    | 19,7x7,5x5,1     |
| Коагулометр-лазерный фотометр CoaguChek            | 700    | 20,5x11,5x5,0    |
| Многопараметровый биосенсорный анализатор i-STAT 1 | 635    | 17,68x23,48x7,24 |

оценку результатов анализа и поэтому, в отличие от диагностических полосок и иммуно-аналитических устройств, не применяются отдельно от измерительного прибора. Картридж всегда является частью аналитической микросистемы. Оптическая или биосенсорная регистрация результатов исследования в картриджных устройствах АМЛ обеспечивает их точную количественную оценку, что повышает сравнимость данных, полученных с помощью этих устройств и в стационарной лаборатории.

Высокая степень миниатюризации этого класса устройств позволяет, с одной сто-

роны, одновременное проведение большого числа аналитических определений в одной пробе, с другой стороны, интеграцию всех компонентов устройства АМЛ в пределах одного кремниевого кристалла (чипа) в составе устройств «система-на-чипе» («system-on-chip», SoC).

### Измерительные приборы АМЛ

Семейство измерительных приборов АМЛ становится все более разнообразным по применяемым в них физическим принципам измерения, среди которых: абсорбционная и отражательная фотомет-

рия, турбидиметрия, оптическая детекция движений, электрохимия, фотоцифровая регистрация и анализ изображений.

Отражательные фотометры или рефлектометры – особый вид фотометрических устройств для количественного измерения света, отраженного поверхностью. В клинической лабораторной диагностике они находят применение при использовании различных вариантов «сухой химии».

В настоящее время на рынке лабораторных приборов представлено немало вариантов полуавтоматических и полностью автоматизированных анализаторов мочи и крови, основанных на использовании сочетания «сухой химии» и отражательной фотометрии. Подробное сравнительное описание технических характеристик некоторых многопрофильных настольных анализаторов, работающих с использованием средств «сухой химии», приведено в книге В.В. Меньшикова «Анализ по месту лечения» (Москва, 2003).



#### & КОМЕНТАРИЙ.

Анна ЛУНЕВА, главный специалист МОЗ по лабораторной медицине, президент Всеукраинской ассоциации клинической химии и лабораторной медицины

Приближение своевременной и качественной медицинской помощи к больному, независимо от места его проживания или нахождения, – сегодня одна из трудно разрешимых проблем. И это относится не только к жителям сельской местности, вынужденным по любому поводу обращаться в районную больницу. Подавляющее большинство машин «скорой помощи» в городах не оснащено средствами для первичной диагностики. Возможность проведения качественных экспресс-анализов, в том числе, и вне лабораторных условий, действительно имеет исключительно важное значение. И применение АМЛ во многом решает эту задачу. Применение средств АМЛ, например, может быть перспективным в ЛПУ, вообще не имеющих в своем распоряжении лаборатории (для справки: к таким ЛПУ принадлежат 28% самостоятельных амбулаторно-поликлинических учреждений, 12,9% туберкулезных санаториев и 14,2% участковых больниц) или имеющих только одного лабораторного работника со средним образованием.

Учитывая существенные проблемы с кадровым и техническим обеспечением медицинского обслуживания

в сельской местности, целесообразным является применение АМЛ в практике семейного врача. Опыт применения экспресс-тестов в критических ситуациях стимулировал общее развитие и распространение подобных аналитических средств во внебольничных – «полевых» условиях. Речь идет о расширении диагностических возможностей семейных врачей, имеющих дело с ранними проявлениями патологий, когда именно лабораторные данные могут помочь выбрать правильную тактику лечения; или с хроническими заболеваниями, когда важен постоянный мониторинг состояния пациента для эффективного купирования болезни и предотвращения ухудшения состояния больного.

К сожалению, положения «Общегосударственной программы развития первичной медико-санитарной помощи на принципах семейной медицины на период до 2013 года» не содержат путей решения проблем лабораторной диагностики в практике семейного врача. Поэтому целесообразным было бы принятие отдельной Государственной программы обеспечения семейного врача адекватными и быстрыми методами лабораторной диагностики.

Табл. 6. Технические характеристики некоторых анализаторов для систем АМЛ

| Характеристики приборов                | Прибор, фирма-изготовитель  |   |   |
|--|---|---|---|
|  | LP20 (LP420), Dr.Lange  | S40 Hitachi   | Apolowako Wako Chemicals  |
| Оптические характеристики              | Лампа накаливания, 3 свето-фильтра (520, 546, 578 нм)   | Лампа накаливания, 12 светофильтров (340-800 нм)  |   |
| Термостатирование измерительного блока | Опция LP420 (LT400 на 18 позиций, 37°C)   | 37°C  | 37°C; 2-10°C для реагентов  |
| Измерения кинетические                 |   | +   | +   |
| Измерения по конечной точке            | +   | +   | +   |
| Способ расчета                         | +   | +   | +   |
| Способ выдачи результатов              | дисплей, внешний принтер  | дисплей, внешний принтер  | дисплей, внешний принтер, интеграция в LIMS   |
| Аналиты                                | 16 тестов, суб-страты (для LP420 – 40 тестов, ферменты, субстраты, металлы)   | 20 тестов, ферменты, субстраты  | 14 тестов, ферменты, субстраты  |
| Использование реактивов других фирм    | Открытая система  | Закрытая система  | Закрытая система  |
| Встроенные программы контроля качества | –   | –   | +   |
| Примечания                             | Лиофилизированные реагенты в прозрачных закрывающихся кюветах, 10 мкл капиллярной крови или сыво-ротки, или плаз-мы, автоматический контроль (для LP420 – опция дозатора) | Прозрачные картриджи, со-держащие готовые жидкие реагенты, ячей-ку для проведе-ния реакции и фотометри-чес-кую кювету, ис-пользуются те же реа-генты, что и для боль-ших автоматических анализа-торов, данные о реагентах на-несены в виде штрих-кода | Прозрачные кюветы для про-бодод-го-товки и проведения 6 анализов из 1 про-бы (600 мкл крови или мочи), готовые жидкие реагенты в картрид-жах с РЧ-идентифицируемы-ми микрочипами (6 на борту), забор пробы из ваку-тайнеров |

Наряду с моноцелевыми отражательными фотометрами, разработаны полуавтоматические и полностью автоматические измерительные приборы для регистрации результатов различных биохимических исследований биоматериалов с помощью средств «сухой химии».

В табл. 4 (на стр. 17) приведены технические характеристики некоторых многопрофильных настольных анализаторов, работающих с использованием средств «сухой химии», которые могут применяться при необходимости приближения лабораторных исследований к месту лечения.

Аналитические инструменты АМЛ, использующие средства «жидкой химии», обычно построены по принципу абсорбционных фотометров. Самые простые, портативные имеют термостатированное кюветное отделение и порт для передачи данных анали-

зов на компьютер или принтер. Они могут комплектоваться термостатами, дозаторами и микроцентрифугами. Перечисленные комплектующие могут входить в состав автоматизированного анализатора.

В табл. 6 приведены технические характеристики некоторых многопрофильных настольных анализаторов, работающих с использованием готовых реагентов («жидкая химия») в фотометрических кюветах.

Портативность и миниатюрность средств АМЛ диктуется условиями их применения вне стен лаборатории: в клиническом отделении, в приемной семейного врача, в машине скорой помощи, на дому у пациента. Естественно, портативный прибор должен быть небольших размеров и достаточно легким (табл. 5 на стр. 18), иметь автономный источник питания.

## Заключение

Результаты исследований, выполненных с помощью средств АМЛ, могут с успехом использоваться в клинической практике. Зарубежный опыт достаточно убедительно свидетельствует об этом:

- в больничных и амбулаторных условиях ускоряется принятие диагностических решений;
- обоснованное лечение начинается немедленно, тем самым удается предотвратить назначение неэффективных лекарственных средств;
- сокращаются сроки лечения и улучшаются исходы заболеваний;
- уменьшаются расходы на лечение и время нетрудоспособности пациента.