

Достижения и перспективы акустического безреагентного метода определения компонентов крови

ООО Фирма «БИОМ» Генеральный директор Клемин В.А.
докладчик

ННГУ им Н.И. Лобачевского профессор Гурбатов С.Н.

МГУ им М.В. Ломоносова академик Руденко О.В.
соавторы





Безреагентная диагностика
акустические технологии

www.biom.biz



8 (831) 434 50 80

ЕСТЕСТВЕННЫЙ ВЫБОР

1994



1998



2002



2014



АНАЛИЗАТОР АКУСТИЧЕСКИЙ «БИОМ»

лет

20

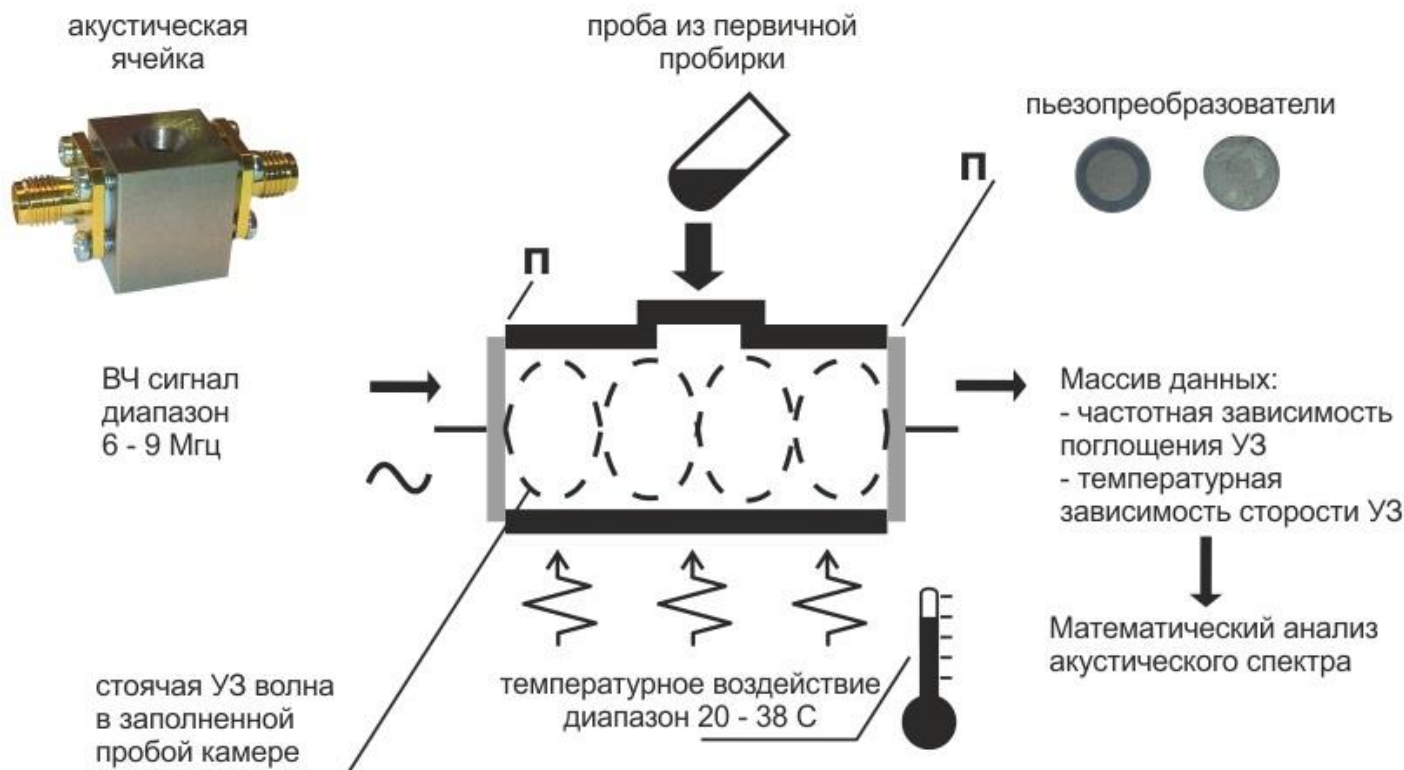
в лабораторной
диагностике



Этапы разработки и внедрения акустического анализатора

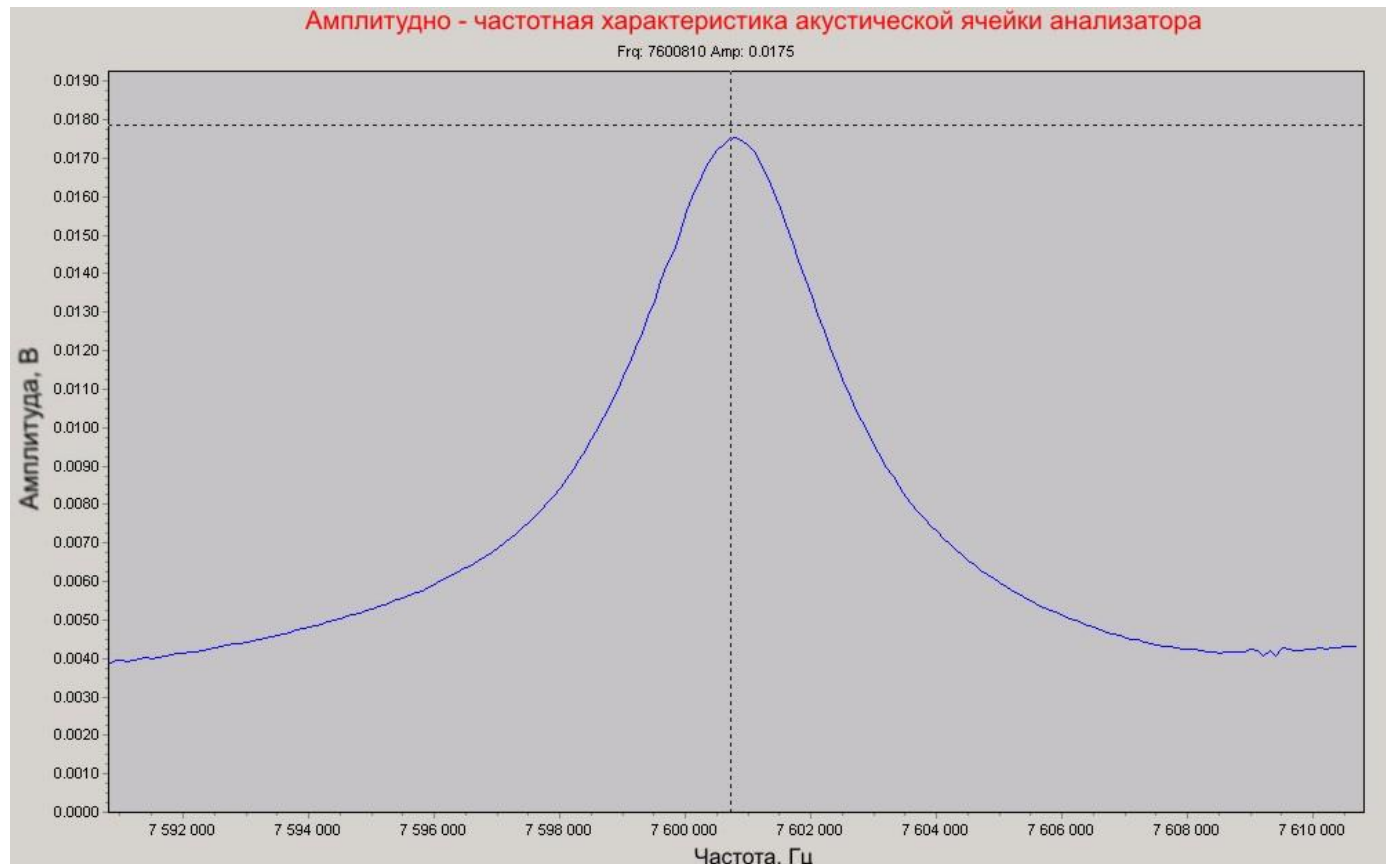
- **70-80 годы XX века** – проводились фундаментальные исследования в области биофизической акустике белков и нуклеиновых кислот.
- **1991 г.** – создан акустический метод и прибор для определения белковых фракций сыворотки крови.
- **1994 г.** – разработан акустический метод определения общего белка и липидного профиля, разработан акустический анализатор «БИОМ».
- **1995 -1998 г.** - выпущена и реализована первая партия приборов из 20 штук. Многие из них до сих пор успешно эксплуатируются.
- **2000 г.** - разработан акустический анализатор 2-ого поколения. Создано метрологическое обеспечение измерений. Разработан акустический метод определения СОЭ и параметров красной крови.
- **2001-2004 г.** - проведение клинических испытаний анализатора в ведущих московских клиниках: больнице им. Боткина, кардиологическом научном центре и военном госпитале им. Бурденко, а также в Ставропольской медицинской академии.
- **2005г.**- утверждение акустического анализатора как изделия медицинской техники.
- **2011г.**- Мегагрант Правительства РФ совместная работа с ННГУ им. Н.И. Лобачевского по совершенствованию и разработке акустических методов. Созданы анализатор 3-го поколения и метод определения Апо А1 и АпоВ.

МЕТОД БИОФИЗИЧЕСКОЙ АКУСТИКИ



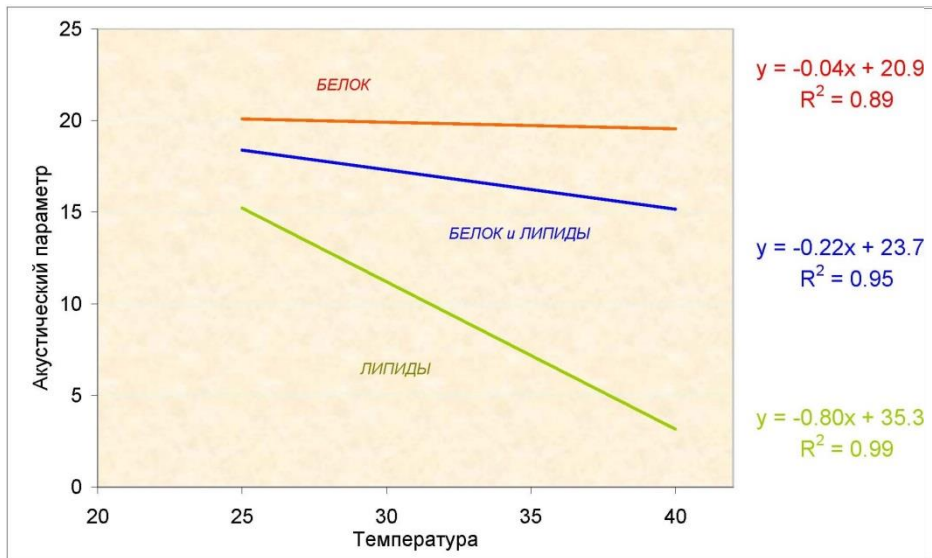
Измеряемые акустические параметры:

- скорость ультразвука V (точность измерения – 0.002%)
- коэффициент поглощения ультразвука α (точность измерения – 0.3%)
- точность поддержания температуры в акустических ячейках $\sim 0.005\text{ }^{\circ}\text{C}$

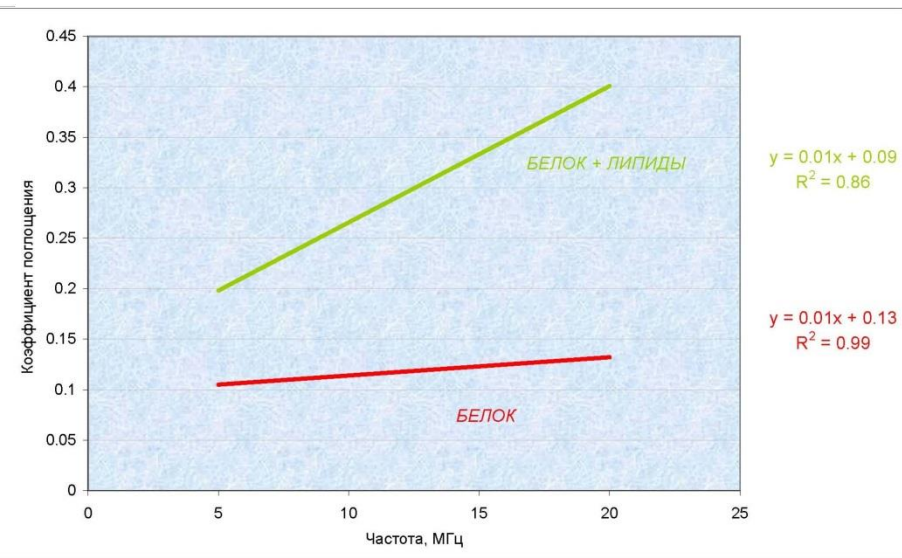


Амплитудно-частотная характеристика акустического датчика (1)

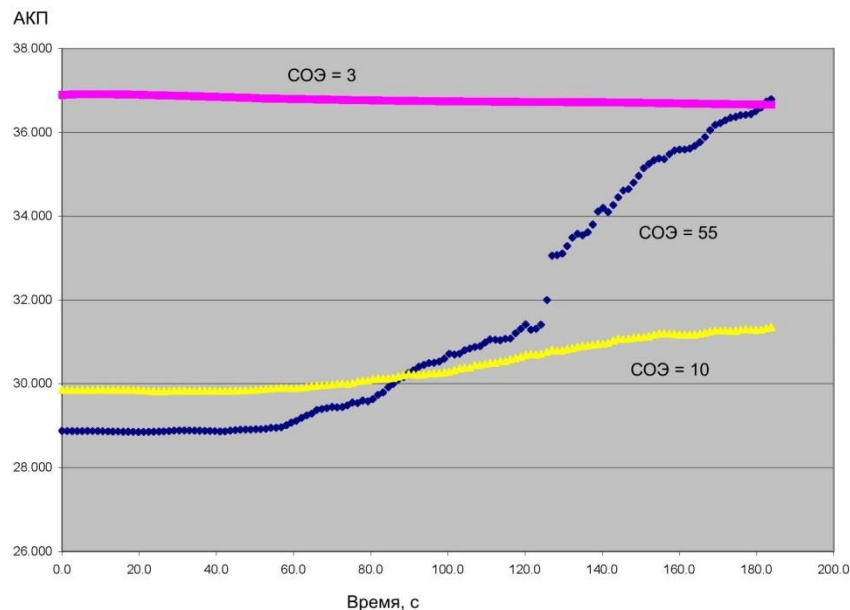
Акустическая ячейка - термостатируемый интерферометр фиксированной длины, собственные частоты которого линейно связаны со скоростью ультразвука. Измеряется резонансная частота ячейки с дистиллированной водой, затем с пробой. Связь между ними выражается через акустический параметр (АКП) и коэффициент поглощения (α - связан с шириной резонансного пика). В ячейках происходит частотное и температурное сканирование исследуемого образца.



Температурная зависимость скорости УЗ (2)



Частотный спектр поглощения УЗ (3)



Временная зависимость скорости УЗ
в цельной крови (4)

Обработка в математических моделях позволяет определить концентрацию компонентов в исследуемой пробе. При их создании использованы физические закономерности, выявленные при экспериментальном изучении объекта. Модель может правильно описывать поведение системы, при не раскрытых физических основах процессов. Программный комплекс анализатора использует ряд эмпирически полученных зависимостей рис 2-4.

Метод определения белковых фракций базируется на измерении скорости УЗ в сыворотке и в модифицированной сыворотке крови (не содержит β - и γ - глобулины), полученной воздействием на сыворотку растворами (состав ТХУ и сода). Предполагалось, что белковые фракции дают аддитивный вклад в относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке и модифицированной сыворотке. Поскольку низкомолекулярные компоненты сыворотки крови минимально влияют на скорость ультразвука в этих биологических средах, для определения процентных долей альбумина, α 1-, α 2-, β -, γ - глобулина использовалась система линейных уравнений.

Метод определения липидного профиля использует выявленные закономерности акустических характеристик (скорости и поглощения ультразвука) от липидного состава сыворотки. Предполагая аддитивность вклада отдельных липидных компонентов в температурные зависимости скорости и частотные зависимости поглощения ультразвука.

Метод определения СОЭ использует цельную кровь, разбавленную раствором цитрата натрия 4:1. Под влиянием радиационной силы эритроциты собираются в узлы стоячей ультразвуковой волны и интенсивно агрегируют. Результирующее поведение эритроцитов в поле волны регистрируется как изменение во времени акустического параметра крови (АПК). При патологии эритроциты теряют заряд и агрегируют в узлах стоячей ультразвуковой волны интенсивно, в этом случае изменение во времени АПК имеет вид резко возрастающей функции (4).

Метод «Определение степени адаптации I - VI» направлен на скрининг диагностику онкологических заболеваний внутренних органов на ранних стадиях (когда излечение имеет больше шансов) при прохождении профессиональных осмотров и диспансеризации населения. Новый подход в диагностике злокачественных новообразований основан на использовании принципов биофизической акустики и заключается в определении соотношения связанной и свободной воды в организме. При наличии онкологического или системного заболевания свободной воды в организме становится больше.

Проведенные в 1990– 95 гг. в НИИ КО ОНЦ РАМН г. Москва клинические испытания акустического метода диагностики злокачественных опухолей внутренних органов, подтвердили его высокую диагностическую специфичность (88%), эффективность (89%) и чувствительность (86%). Градация пациентов по группам основана на результатах клинических исследований более 4 000 пациентов (больных с различными терапевтическими заболеваниями, со злокачественными опухолями различных локализаций и практически здоровых лицах):

I и II степень - отсутствие онкориска;

III - низкая степень онкориска;

IV - высокая степень онкориска (предраковые заболевания, онкологические больные с вероятностью 30 %)

V - очень высокая степень онкориска (онкологические больные с вероятностью 65 %)

VI - онкологические больные с вероятностью 91 %.

В настоящее время кроме онкориска метод проводит еще и диагностику наличия системных заболеваний.

Анализатор акустический безреагентный АКБа-01-«БИОМ»



Высокоточные измерения акустических параметров жидких биологических сред. Основная область применения клиническая лабораторная диагностика:

- **белковые фракции** (альбумин, $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β -, γ - глобулины) и общий белок;
- **липидный профиль** (общий холестерин, триглицериды, холестерин ЛПНП, ЛПВП и ЛПОНП);
- **скорость оседания эритроцитов** (с возможностью одновременного определения гемоглобина, гематокрита, количества эритроцитов и их основных индексов)
- **степень адаптации I-VI** (выявление группы риска по онкопатологии внутренних органов и системным заболеваниям)

Основные характеристики

Модель – настольная (габаритные размеры, не более 364×326×116мм; масса 6кг; питание 220 ± 22В; 50Гц)

Метод измерения – биофизическая акустика, без использования реагентов.

Рабочий диапазон резонансных частот ультразвука 5 – 12 МГц

Объем измерительной камеры 95 ± 20 мкл

Абсолютная погрешность измерения резонансной частоты не более ± 2 кГц

Время выполнения анализа (для одной пробы, без учета времени подготовки):

- **общий белок и все белковые фракции** одновременно = **35 с.**
(пробоподготовка ~2 мин)
- **степень адаптации I – VI** (пробоподготовка ~2 мин) = **35 с.**
- **одновременно все компоненты липидного спектра** = **50 с.**
(пробоподготовка не требуется)
- **одномоментно СОЭ и параметры красной крови** = **2.5 мин.**
(пробоподготовка - разведение 4:1 физ раствором ~1 мин)

Программный комплекс «Биохимия»

Файл Правка База Сервис Окно Справка

Биохимия Липиды

Калибровка Липиды Белки Иммуноглобулины

Панель прибора

☐ Калибровочные частоты, кГц ☒ Акустический параметр АКП, %

H1 ▶ 7907.64 S0 ▶ S2 ▶

H2 ▶ 8384.54 S1 ▶ S3 ▶

Таймер 00:00

Прибор готов к калибровке

Биохимия

Результаты исследования

№ п/п	Наименование компонента сыворотки крови	Содержание компонента			Норма, единицы измерения	
		Абсолют.	Относит.	Откл.	Абсолют.	Относит.
1	Общий белок	66.90			(60.0-85.0) г/л	
2	Альбумин	41.09	61.42		(1.8-5.2) %	
3	Глобулин А1	2.06	3.09		(5.0-12.0) %	
4	Глобулин А2	7.15	10.69		(7.9-13.6) %	
5	Глобулин Б	7.64	11.42		(10.0-19.0) %	
6	Глобулин Г	8.96	13.39		(1.2-1.8) %	
7	Ал./Гл.		1.59			
8	Холестерин общ.	4.93			(3.0-5.2) ммоль/л	
9	Холестерин ЛПВП	0.95			(0.8-1.7) ммоль/л	
10	К Атерогенности		4.19	+	(1.8-3.3)	
11	Триглицериды общ.	0.66			(0.3-2.1) ммоль/л	
12	Холестерин ЛПНП	3.67			(2.0-4.1) ммоль/л	
13	Холестерин ЛП ОНП	0.30			(0.3-0.9) ммоль/л	

данных

	Дата	Время	Пол	Возр.	Отделен...	Врач
104	14.01.14	17:38				
	7.4		45			0
107	14.01.14	17:44				
	7.7		45			0
201	14.01.14	19:35				
	3.2		45			0
322	14.01.14	19:43				
	4.9		45			0
1	26.01.14	14:52	М			
	Иванов И.И.		35			0
2	26.01.14	14:55	М			
	Пациент 218		45			0

25 Insert NUM 13.05.14 12:19 Изменение

Графический блок

Фракции белков

Фракции липидов

Комментарий
повтор

Степень адаптации: 2 Нарушение лип. обмена: нет Врач:

Программный комплекс «Гематология»

Анализатор акустический АКБа-01 БИОМ ®

№ пробы	Дата	Время	Данные	Пол	Возраст	СОЭ, мм/ч	Канал/Таймер, мин
▶	1	10.11.12	15:52	Иванов	М	34	18
	2	10.11.12	15:54	пациент 102	М	45	25
	3	10.11.12	17:50			19	
	4	10.11.12	17:51				
	5	10.11.12	18:01			19	
	6	10.11.12	18:02			37	

Клеточные элементы крови	Значение	Степень отклонения	Норма
Гемоглобин	128	-	(132-173) г/л
Количество эритроцитов	4.14	-	(4.3-5.7) * 10 ¹² /л
Гематокрит	36.2	-	(39-49) %
Ср. содержание Hb в эритроцитах	30.85		(27-34) пг
Ср. концентрация Hb в эритроцитах	35.34		(30-38) %
Ср. объем эритроцитов	87.31		(80-99) фл
Скорость оседания эритроцитов	18	+	(2-10) мм/ч

Пуск
 Стоп
 Создать запись ▾
 Поиск
 Печать ▾
 Удалить запись
 Меню ▾

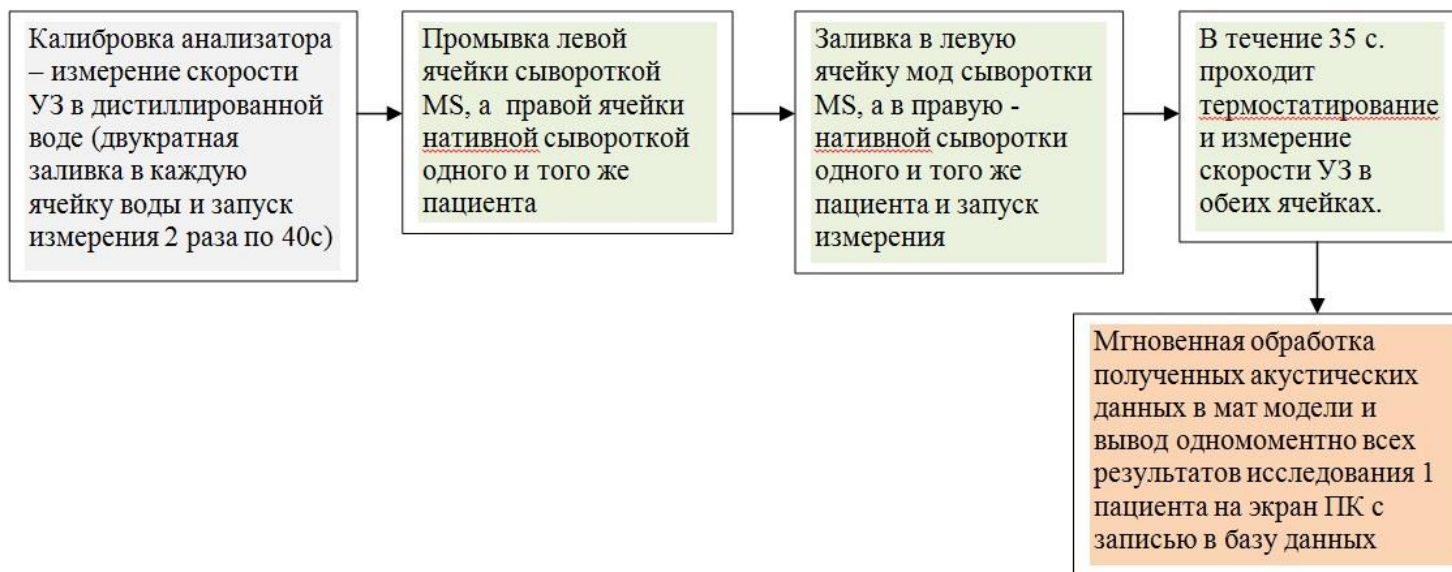
Удалить содержимое яч. [1,2], создать запись
 2

Алгоритм исследования общий белок и белковые фракции сыворотки крови (альбумин, $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β -, γ - глобулины)

1. Подготовка модифицированной сыворотки (MS) для исследования:



2. Анализ фракций



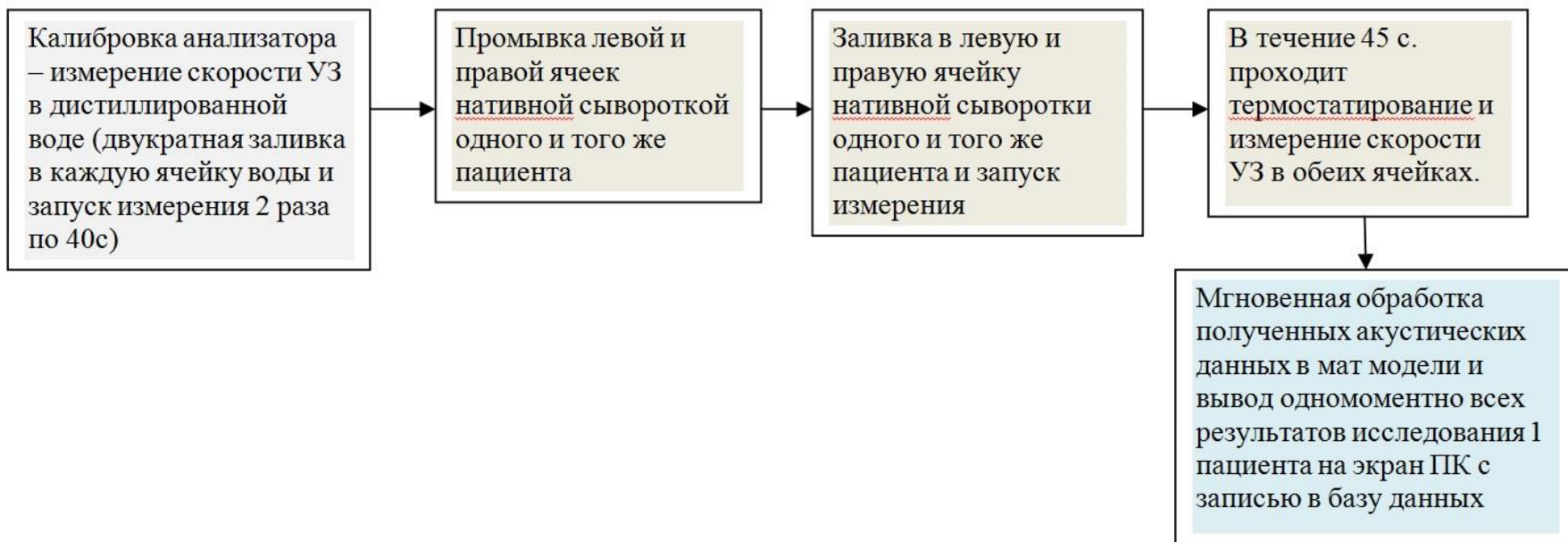
Раствор А ~ 6% ТХУ, Раствор Б ~2% бикарбонат натрия

Алгоритм исследования

Липидный профиль (холестерин общий, триглицериды, холестерин ЛПВП и ЛПНП)

1. Пробоподготовка не требуется, исследуется нативная сыворотка из первичной пробирки

2. Анализ липидов



Алгоритм исследования СОЭ

(+ одновременное определение показателей красной крови)

1. Подготовка цельной венозной/капиллярной крови для исследования

Разлить по лункам чистого, сухого планшета/стекла или микропробиркам цитрат натрия 5% (из расчета разведения крови 4:1)

Добавление из первичной вакуумной пробирки цельной крови в лунки планшета/стекла или микропробирки с цитратом (из расчета 4:1, например 40 мкл цитрата и 120 мкл крови)

2. Анализ СОЭ

Калибровка анализатора – измерение скорости УЗ в дистиллированной воде (двукратная заливка в каждую ячейку воды и запуск измерения 2 раза по 40с)

Промывка левой и правой ячеек физиологическим раствором

Заливка в левую ячейку крови 1 пациента, а в правую – крови 2 пациента и запуск измерения (предварительно перемешав кровь)

В течение 4,5 мин. проходит термостатирование и измерение скорости УЗ в обеих ячейках.

Мгновенная обработка полученных акустических данных в мат модели и одномоментный вывод всех результатов исследования 1 и 2 пациентов на экран ПК с записью в базу данных

Общий бланк результатов биохимического исследования образца сыворотки крови пациента



Акустическая
система

Клинико - диагностическая лаборатория

БИОМ

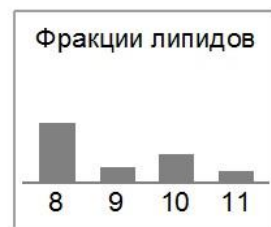
Дата **05.04.14**

Данные пациента

Время **15:24**

№	Фамилия	Пол	Возраст	Отделение	Диагноз	Врач
315	пациент 1	М	55			

Результаты исследования



Нарушение
лип. обмена
нет

№ п/п	Наименование компонента сыворотки	Содержание комп.		Степень откл.	Норма, единицы измерения	
		абсолют.	относит.		абсолют.	относит.
1	Общий белок	75.04			(60.0-85.0) г/л	
2	Альбумин	41.32	55.06			(55.0-65.1) %
3	Глобулин А1	4.22	5.62	+		(1.8-5.2) %
4	Глобулин А2	6.54	8.72			(5.0-12.0) %
5	Глобулин Б	8.20	10.92			(7.9-13.6) %
6	Глобулин Г	14.76	19.68	+		(10.0-19.0) %
7	Ап./Гл.		1.23			(1.2-1.8) %
8	Холестерин общ.	5.30		+	(3.0-5.2) ммоль/л	
9	Холестерин ЛПВП	1.46			(0.8-1.7) ммоль/л	
10	К Атерогенности		2.63			(1.8-3.3)
11	Триглицериды общ.	1.17			(0.3-2.1) ммоль/л	
12	Холестерин ЛПНП	3.26			(2.0-4.1) ммоль/л	
13	Холестерин ЛП ОНП	0.53			(0.3-0.9) ммоль/л	

Подпись: _____ /

Бланк результата гематологического исследования цельной крови пациента



Анализатор акустический
АКБа - 01 - БИОМ®

Дата **10.02.14**

Данные пациента

Время **20:01**

№	Данные	Пол	Возраст	Отделение	Диагноз	Врач	№ ист. бол.
120	пациент 1	Ж	35				

Результаты исследования

№ п/п	Клеточные элементы крови	Значение	Степень отклонения	Норма, единицы измерения
1	Гемоглобин	135		(117-155) г/л
2	Количество эритроцитов	4.60		(3.8-5.1) * 10 ¹² /л
3	Гематокрит	44.2		(35-45) %
4	Ср. содержание Hb в эритроцитах	29.27		(27-34) пг
5	Ср. концентрация Hb в эритроцитах	30.45		(30-38) %
6	Ср. объем эритроцитов	96.01		(81-100) фл
7	Скорость оседания эритроцитов	12		(2-15) мм/ч

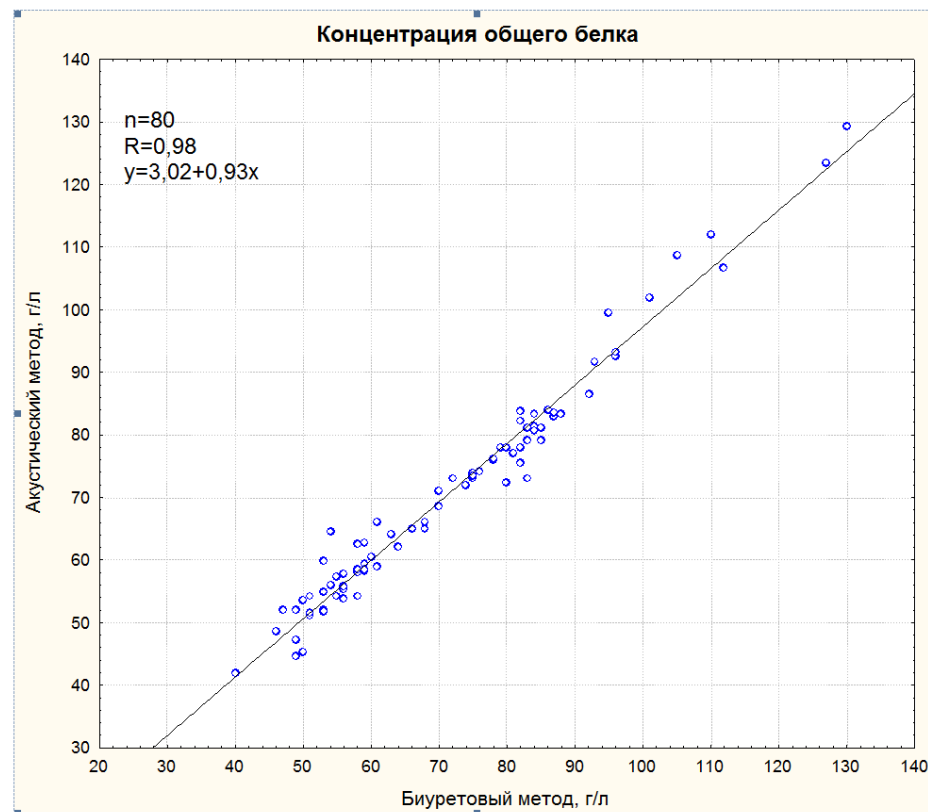
Подпись: _____ /

Высокая корреляция и низкий коэффициент вариации

Коэф вариации, смещение и корреляция определения общего белка
(исследования г. Москва, РМАПО, больница им Боткина)

Общий белок	“Serodos” (Human)		Сливная сыворотка	Предельные значения ОСТ 91500.13.0001		
	CV ₁₀ , %	B ₁₀ , %		CV ₁₀ , %	CV ₁₀ , %	B ₁₀ , %
Сходимость	0,26		0,23			
Воспроизводи мость	1,7	-3	0,72	3		±5

Чувствительность метода по
общему белку ~10 г/л
Коэффициент корреляции
0.98



Средние коэф. вариации (CV10%) внутрисерийной воспроизводимости на сыворотках (Serodos. Биоконт, сливная своротка). г. Ставрополь ГМА

	Общий ХС (%)	ХС-ЛВП (%)	ТГ(%)	ЛПНП(%)
Средние значения	3,28	1,3	5,72	8,1
0,5 CV ₁₀ % (ОСТ 91500.13.0001)	4,0	-	9,0	-

Чувствительность метода по общему холестерину не менее 1 ммоль/л.

Сравнительный анализ результатов Hitachi 917 г. Москва ГВКГ им. Бурденко и «БИОМ» (n=340)

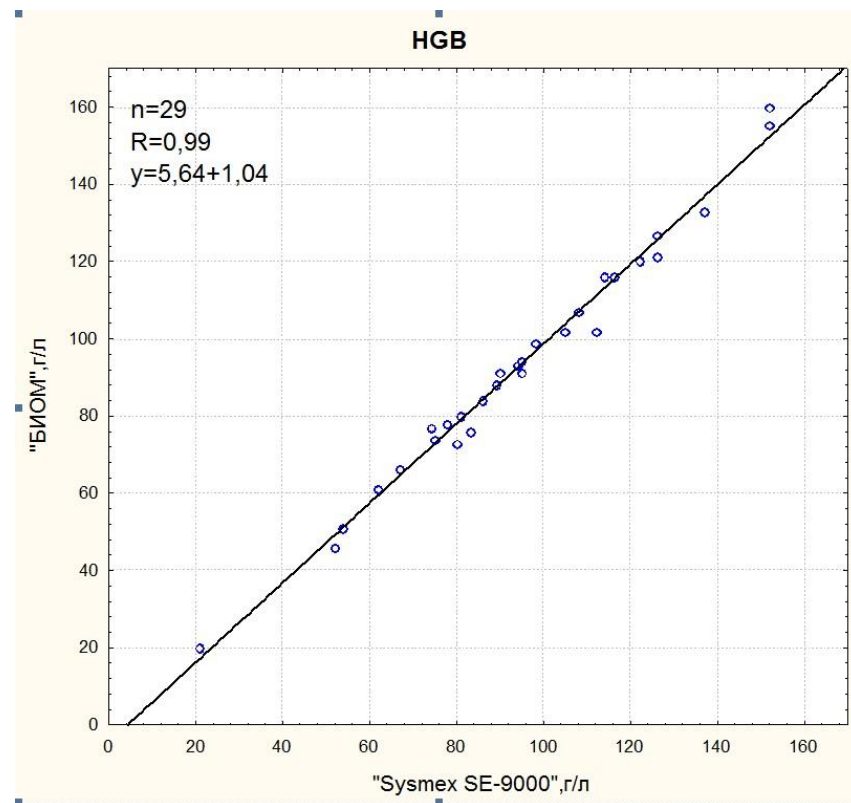
Компонент сыворотки крови	Коэффициент корреляции
Общий белок	0.97
Холестерин общий	0.84
Триглицериды	0.81
Холестерин ЛПВП	0.69

Коэф вариации и смещение показателей красной крови, полученные путем десятикратного повторного измерения образца на анализаторе «БИОМ».

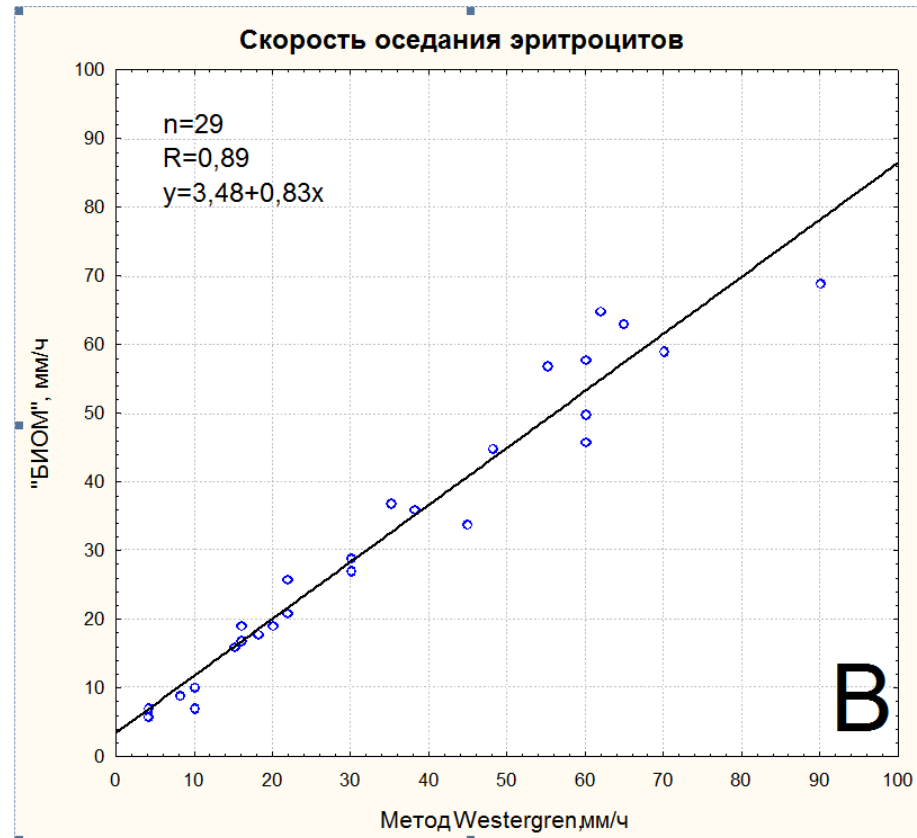
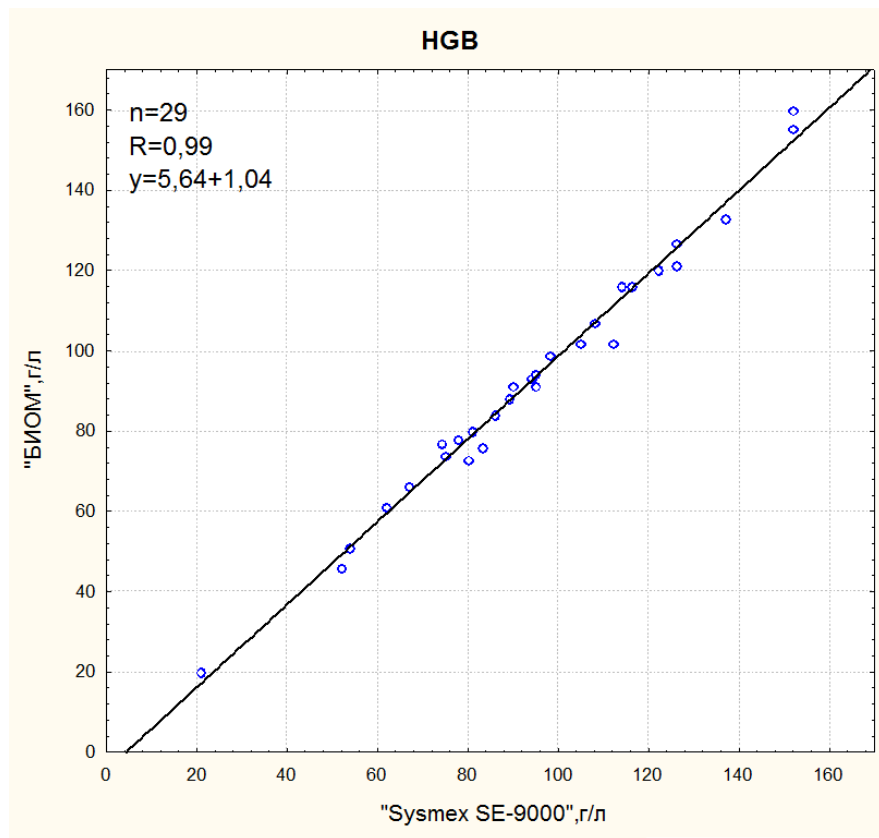
Корреляция акустического метода с референсным (правильность по данным анализатора Sysmex 9000, г. Москва РМАПО, больница им Боткина)

Показатели крови	Кровь пациента		ОСТ 91500.13.0001	
	CV10, %	B10, %	CV10, %	B10, %
HGB	0,5	-1,25	4	±5
RBC	0,6	-4,3	4	±7
HCT	0,5	+6,8		

Чувствительность метода по гемоглобину ~20 г/л
Коэф корреляции гемоглобин 0.99



Коэф корреляции гематокрит 0.99 Коэф корреляции СОЭ 0.89
(с методом Вестергрена)



Сравнение анализаторов для скрининга липидного профиля (ХС,ТГ, холестерин ЛПВП и ЛПНП), включенного Минздравом в карту обязательной диспансеризации как оценка риска развития ССЗ

Характеристики	АКБа-01- «БИОМ»	<u>Humalyzer 2000/</u> <u>Clima MC-15,</u> (полуавтомат)	<u>Cholestech Ldx</u> system (экспресс система)	<u>HumaStar 300</u> (автоматический анализатор)
Производительность (весь липидный профиль), мин	1	25	20	15
Стоимость анализатора, <u>руб</u>	~ 445 000	~ 350 000	~ 105 000	~ 2 800 000
Реактивы и калибраторов на 1 исследование, мл	Нет	~ 450	Картридж 1 <u>шт</u> / исследование	~ 300
Определение <u>Апо</u> <u>A1 и Апо В</u>	Есть Без реактивов	Нет	Нет	Есть ~ 500р/анализ
Себестоимость 1 анализа, <u>руб</u>	~ 3	~ 350	~ 700	~ 250

Сравнение устройств для определения белковых фракций сыворотки крови

Характеристики	АКБа-01- «БИОМ»	SCANION, (полуавтомат)	<u>Sebia</u> , MINICAP (капиллярный электрофорез)
Время исследования 1 пробы (с подготовкой, при минимальной загрузке), мин	~ 5	~ 60	~ 25
Стоимость анализатора, руб.	~ 397 000	~ 450 000	~ 1 500 000
Реагенты и вспомогательные растворы	Растворы ТХУ~6% и бикарбонат натрия ~2%	Реагенты и мембраны	Реагенты
Себестоимость 1 анализа, руб.	~ 10	~ 150	~ 110

АКБа-01- «БИОМ» в процессе анализа белковых фракций сыворотки крови определяет общий белок

Различные по используемым технологиям СОЭ - метры

Характеристики	АКБа-01- «БИОМ»	VES-MATIC 20	Roller 20PN
Используемый метод	Биофизическая акустика	Westergren	Измерение скорости агрегации эритроцитов
Исследование капиллярной крови	Есть	Нет	Есть
Время исследования 1 пробы (с подготовкой, при минимальной загрузке), мин	~ 5	~ 20	~ 5
Стоимость анализатора, руб.	~ 400 000	~ 250 000	~ 1 500 000
Расходные материалы	Раствор цитрата натрия 5%	Вакуумные пробирки	Смарт-карты
Стоимость расходных материалов на 1 анализ, руб.	~ 0	~ 20	~ 40

АКБа-01- «БИОМ» в процессе исследования СОЭ может определить гемоглобин, гематокрит, кол-во эритроцитов и их основные индексы

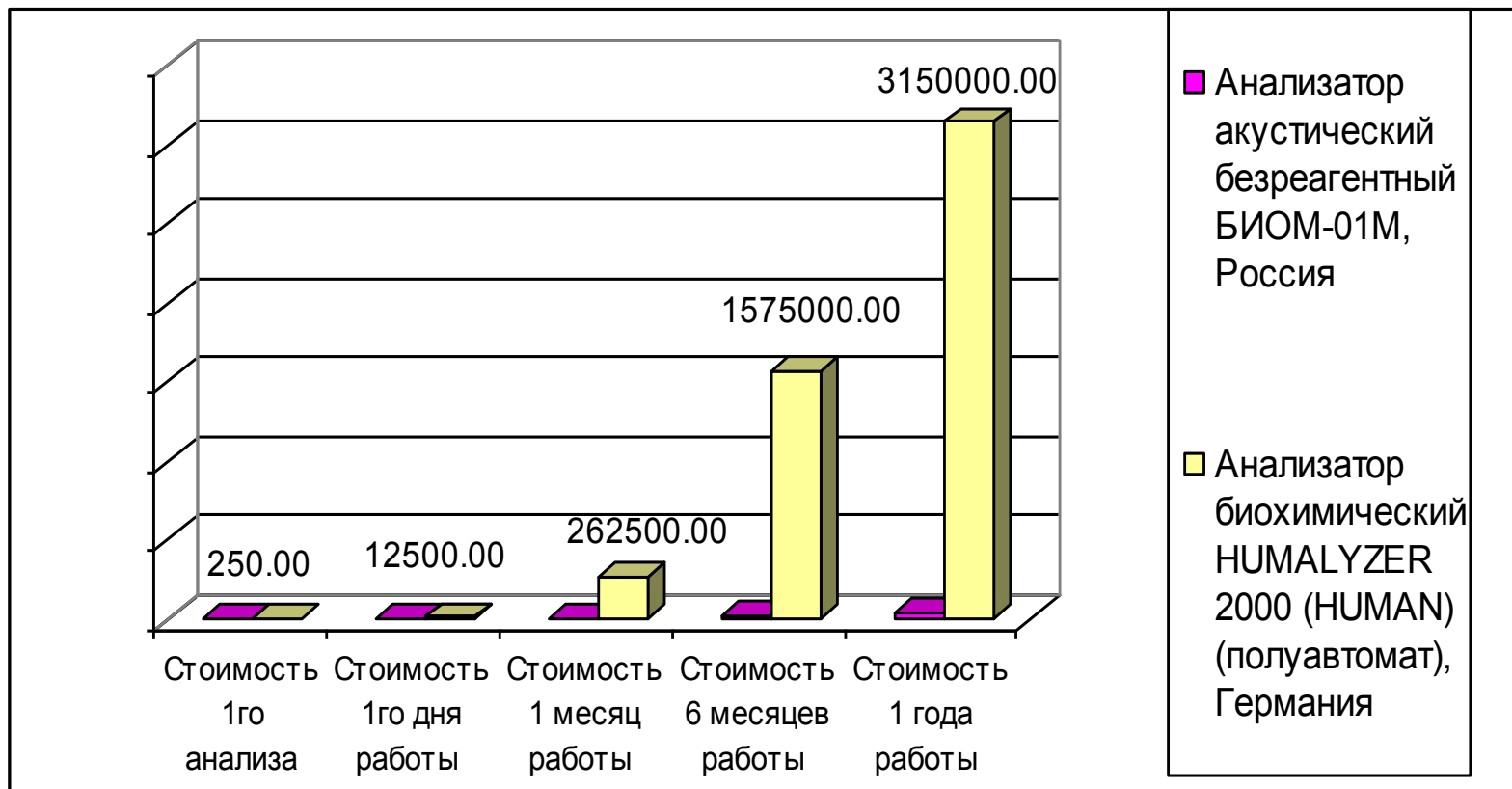
Особенности акустического метода

- **не требуется реагентов** и дорогостоящих расходных материалов;
- **одномоментное определение** в образце крови или сыворотки нескольких показателей;
- **простота и технологичность** (результат практически не зависит от квалификации оператора и экономит значительное время);
- **доступное обслуживание** в послегарантийный период и техподдержка;
- **компактность прибора** (позволяет экономить полезное пространство и использовать в мобильных лабораториях);
- **мультифункциональность** (один прибор способен заменить несколько устройств, например СОЭ-метр и анализатор белковых фракций).

Экономические аспекты практического использования акустического анализатора «БИОМ»

- Внедрение анализатора от 397000руб для комплектации «Общий белок и белковые фракции» до 750000руб (установка всех выполняемых методик)
- Благодаря компактности и multifunctionality один анализатор заменяет несколько устройств (например анализатор белковых фракций и СОЭ-метр), экономя финансы и площадь
- Ежегодный эффект экономии реагентов и расход. материалов:
 - метод «Липидный профиль» ~ 1 300 000 руб в год;
 - метод «Белковые фракции» ~580 000 руб в год;(суммы тратит КДЛ работая на автоматическом биохимическом анализаторе / системе капиллярного электрофореза среднего уровня выполняя 20 анализов в день, при использовании полуавтоматов суммы значительно увеличиваются)
- Проста метода, технологичность, единовременное определение ряда компонентов в одной пробе позволяет лаборатории с небольшой нагрузкой выполнять исследования со значительной экономией времени проведения анализов.
- Малая потребляемая мощность (не более 30 Вт) от электросети позволяет также экономить финансовые средства.

Диаграмма сравнения стоимости эксплуатации акустического анализатора «БИОМ» и типового полуавтоматического биохимического анализатора



Исследование липидного профиля (ХС, ТГ, холестерин ЛПВП и ЛПНП) из расчета выполнения 50 анализов в день. Себестоимость анализа включает реагенты, контроли, калибраторы, промывочные растворы, амортизацию оборудования, з/п .

Перспективные акустические методики анализатора «БИОМ»

- **Создана и тестируется акустическая безреагентная методика определения Аполипопротеина А1 и Аполипопротеина В.**

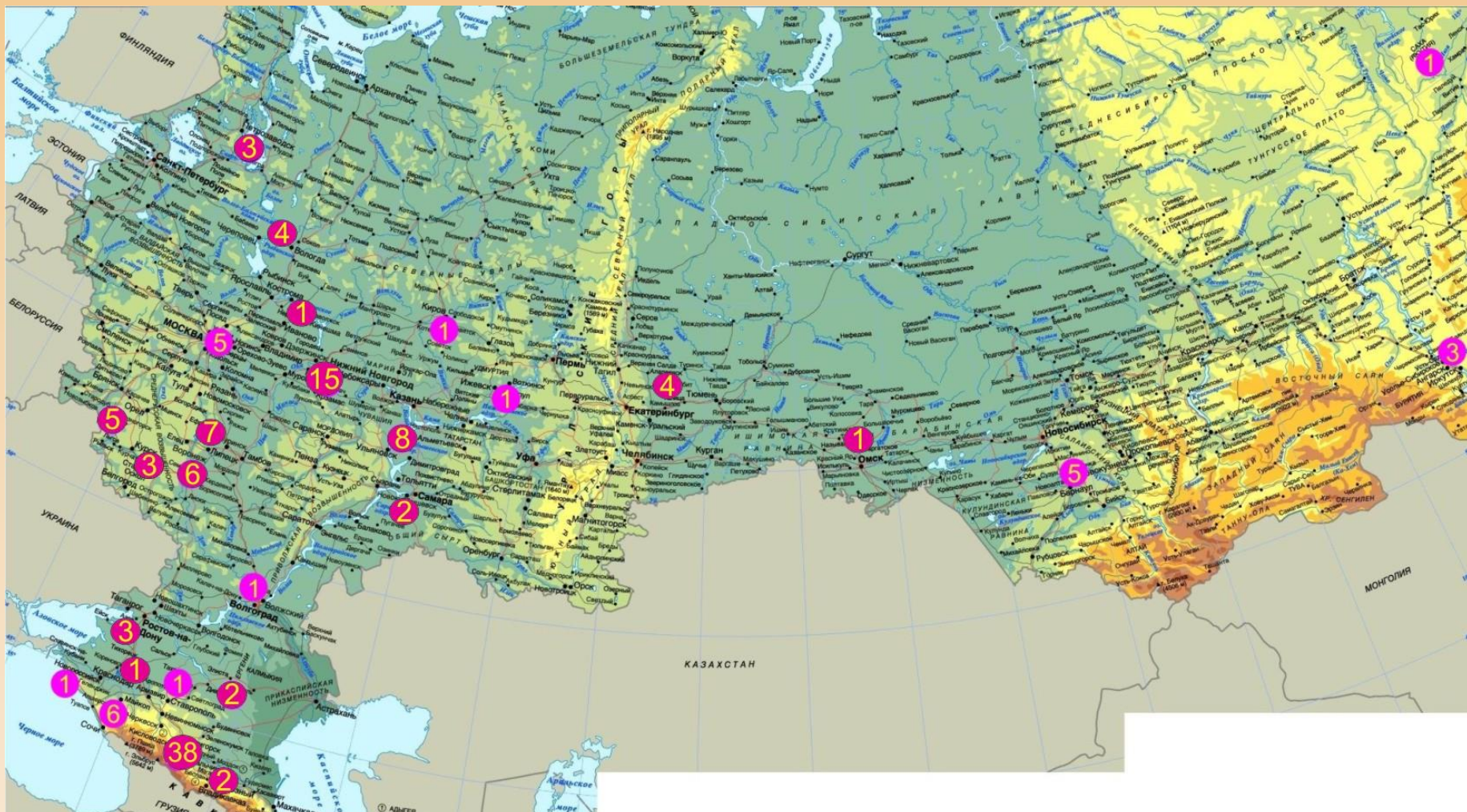
Многочисленные исследования доказали, что Апо А1 и Апо В имеют большое значение как маркеры риска атеросклероза коронарных артерий. Разработанный нами метод не требует пробоподготовки. Время измерения одной пробы – 45 с.

Сравнительный анализ результатов исследований, полученных на автоматическом биохимическом анализаторе лаборатории «Гемотест», г. Москва и акустическом анализаторе «БИОМ» при определении общего белка, апоА1 и АпоВ (количество пациентов 170)

Наименование компонента сыворотки крови	Коэффициент корреляции
Общий белок	0.98
Аполипопротеин А1	0.89
Аполипопротеин В	0.93

- **Впервые удалось измерить адиабатическую сжимаемость эритроцитов.**
- **Акустический метод позволяет определить вязкость крови.**

Наши клиенты



Более 140 лабораторий различных ЛПУ РФ (15 из Нижегородского региона) выбрали и успешно работают на нашем анализаторе (на карте отмечен не полный список поставленного оборудования).

Спасибо за внимание!

ЗАО Фирма «БИОМ»
603098 Нижний Новгород,
ул. Ветеринарная, д. 3, офис 74
Тел/Факс: (831) 434-50-80, 423-97-96
сайт: www.biom.biz
e-mail: info@biom.biz

