

Безреагентный способ определения биохимических и гематологических показателей крови

В.В. Долгов, доктор медицинских наук, профессор
Е.Н. Тамарова
В.А. Клемин

Кафедра клинической лабораторной диагностики РМАПО, г. Москва
 ЗАО фирма «БИОМ», г. Нижний Новгород

Клиническая лабораторная диагностика занимает ведущее место среди диагностических служб. В настоящее время в лабораторной практике существует большое количество методов определения биохимических показателей крови. Все методики основаны на использовании реактивов, соответственно, исследования находятся в зависимости от наличия, стоимости и качества диагностических наборов. Каждый из известных диагностических наборов предназначен для определения только одного из компонентов. Немалую долю исследований до сих пор занимают ручные и полуавтоматические методы, требующие значительных временных затрат. Отсутствует единый способ одновременного определения нескольких биохимических показателей. Наиболее распространенным методом выявления диспротеинемий в практике КДЛ является электрофоретическое фракционирование, однако электрофоретические технологии связаны с применением агрессивных агентов, дорогостоящей аппаратуры и являются относительно трудоемкими.

Такая же ситуация сложилась при исследовании гематологических показателей. Для анализа клеток крови с высокой точностью в небольшом объеме с 50-х годов прошлого столетия применяется технология автоматического анализа крови в гематологических анализаторах. Однако анализаторы дороги, поэтому до сих пор сохраняются ручные методы подсчета клеток крови в счетных камерах под микроскопом, что является трудоемким процессом с большим источником ошибок.

Очевидна необходимость совершенствования лабораторной диагностики, замена трудоемких ручных методов на автоматизированные на базе внедрения новой лабораторной техники. Отсутствие адекватного финансирования сдерживает внедрение в практику современных мировых технологий, особенно в поликлиническом звене лабораторной службы.

На этом фоне несомненный интерес представляет акустический (ультразвуковой) метод определения некоторых параметров крови и прибор, предложенный отечественными производителями лабораторной техники ЗАО фирма «БИОМ» (Нижний Новгород) (рис. 1), позволяющий проводить некоторый спектр исследований без применения реактивов в достаточно короткие сроки. Прибор подключается к стандартному компьютеру и принтеру. Современные ультразвуковые технологии являются объективными методами исследования некоторых количественных и качественных особенностей такой сложной биологической среды, какой является кровь.

Способ измерения относительного содержания белка, липопротеидов и воды в биологических жидкостях в предлагаемом методе основан на изменении значений скорости и поглощения ультразвука в биологической среде, зависимость этих параметров от частоты ультразвукового сигнала (резонаторный метод, или метод интерферометра фиксированной длины). Сыворотка или кровь (в зависимости от исследования) помещается в ячейку прибора, ультразвуковой сигнал анализируется и передается в компьютер (рис. 2).

Оригинальные математические модели с применением линейных уравнений, разработанные авторами, позволяют получить количественный и графический результат на экране компьютера. Автоматически создается база данных по пациентам, это позволяет распечатать результаты сколько угодно раз в любое время (рис. 3).

На сегодняшний день разработчиками предлагаются программы для определения:

- концентрации общего белка в сыворотке (г/л);
- фракций белков сыворотки в относительных и абсолютных значениях, в том числе и традиционный графический вариант (как при электрофорезе);
- показателей липидного обмена (общий холестерин, ЛПВП, ЛПНП, триглицериды, фактор атерогенности);
- гематологических показателей цельной крови: гемоглобин, количество эритроцитов, гематокрит, эритроцитарные индексы, СОЭ.

Преимуществом применения данного прибора является одномоментное определение в образце крови или сыворотки сразу нескольких показателей. Например, буквально через 1 минуту одновременно определяются показатели липидного обмена и концентрация общего белка. Распределение белковых фракций может быть получено после дополнительной пробоподготовки уже через 15–20 минут (рис. 4), в то время как для классического электрофореза необходимо минимум 2–3 часа.

Нами проведен сравнительный анализ показаний данного прибора и традиционных методов при исследовании как сыворотки крови пациентов, так и контрольных материалов. Получен высокий коэффициент корреляции с биуретовым методом при определении концентрации общего белка в широком диапазоне значений. $R=0,97$, $p<0,05$ (рис. 5). Линейность сохраняется в диапазоне 10–150 г/л. Воспроизводимость метода соответствует требованиям аналитической точности.

Подтверждена возможность использования данного метода в качестве скрининга для оценки распределения белковых фракций. Случаи изменения уровня отдельных фракций достоверно коррелируют с электрофоретическим распределением на системе Paragon (Beckman, США) с последующей денситометрией. Хорошо выявляются случаи нефротического синдрома, повышения уровня гамма-глобулинов, однако в группе пациентов с паразитозами чувствительность метода составила не более 75%. Следовательно, не показано применение данного прибора для гематологических отделений и специализированных центров. Ложноположительных результатов зафиксировано не было.

В настоящее время проводится анализ возможности использования данного прибора в лабораторной медицине для измерения концентрации гемоглобина, подсчета эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, определения эритроцитарных индексов и СОЭ при скрининге.

Проанализировано не менее 800 проб пациентов одновременно на гематологическом анализаторе Sysmex-9000 и акустическим методом при помощи прибора «БИОМ». Получен высокий коэффициент корреляции для гемоглобина $R=0,99$, $p<0,05$, количества эритроцитов $R=0,92$, $p<0,05$, гематокрита $R=0,96$, $p<0,05$. Одновременно прибор проводит измерение СОЭ (достаточно 5–10 минут). Значения по СОЭ коррелируют с методом определения Westergren. Показано, что метод может быть применен в лабораторной медицине для измерения этих параметров при скрининге (рис. 6). На сегодняшний день существуют сложности с определением эритроцитарных индексов (MCV, MCH, MCHC). Точность их определения уступает гематологическим анализаторам, следовательно, возможно выявление случаев анемий на основе данных прибора без дифференцировки. Для определения других параметров цельной крови (WBC, PLT) методические аспекты уточняются в настоящее время. □



Рис. 1. Акустический анализатор биосред БИОМ-01. Внешний вид

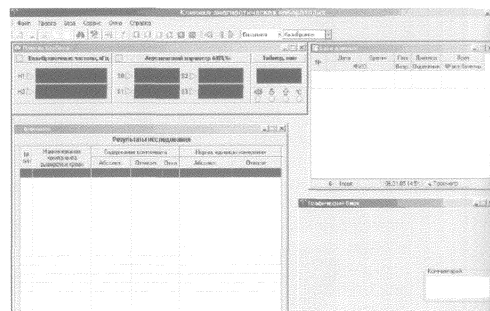


Рис. 2. Интерфейс программы

№	Дата	Время	Пол	Диагноз	Врач	
5	05.05.04	16:16	М		Петрова Е.М.	
		Имя	Фамилия	Возраст	Отделение	№ ист. болезни
		Иванов Иван Иванович	Иванов И.	37	амбулатор.	231

Рис. 3. Сведения о пациенте помещаются в базу данных

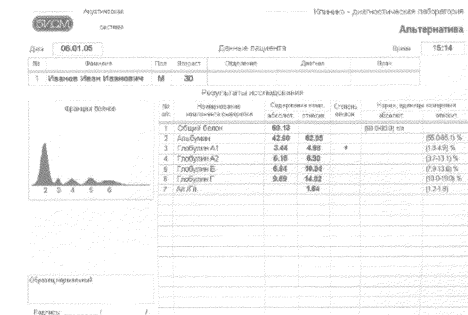


Рис. 4. Распределение белковых фракций в абсолютных (г/л) и относительных (%) единицах измерения. Бланк выдачи результатов

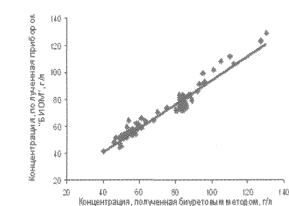


Рис. 5. Концентрация общего белка, полученная двумя методами. $R=0,97$ ($p<0,05$)

№	Фамилия	пол	возраст	Оценки	Диагноз	Врач	№ ист. бол.
4	Николаева Н.Г.	ж	55	12			1125

№	Показатели	Значение	Степень отклонения	Норма, единицы измерения
1	Гемоглобин	69	---	110-154 г/л
2	Количество эритроцитов	2,55	---	(3,7-4,7) * 10 ¹² /л
3	Гематокрит	21,4	---	32-45%
4	Центровой показатель	0,81	---	0,86-1,05 усл. ед.
5	Ср. содержание Hb в эритроцитах	26,92	---	24-33 г/л
6	Средняя концентрация Hb в эритроцитах	32,10	---	30-38%
7	Ср. объем эритроцитов	83,88	---	79-96 фл
8	Скорость оседания эритроцитов	48	+++	2-15 мм/час

Рис. 6. Гематологические показатели крови. Образец