

## ПОРТАТИВНЫЙ АВТОМАТИЧЕСКИЙ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗАТОР ВРЕМЕНИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ МЕТОДОМ ИМПЕДАНСОМЕТРИИ

### Область техники

[1] Настоящее изобретение относится к области медицинской техники, в частности, к коагулометрам, то есть, анализаторам для определения времени свертывания крови (коагуляции) методом импедансометрии.

### Уровень техники

[2] Система свертывания крови представляет собой механизм, направленный на поддержание оптимальных реологических свойств крови и отвечающий за остановку кровопотери при повреждении сосудистой системы организма. Свертывание крови – сложный ферментативный процесс, в котором задействованы тромбоциты и факторы свертывания, в частности, протромбин. В результате активации тромбоцитов и протромбина в месте повреждения образуется тромбоцитарно-фибриновый сгусток. Нарушения активности протромбина, выработки тромбоцитов и/или факторов свертываемости крови, а также любые нарушения в протекании ферментативных реакций, приводящих к образованию тромбина и фибрина, приводят к нарушениям свертываемости крови (коагулопатии). При этом, замедленная свертываемость крови (гипокоагуляция) приводит к риску обильной кровопотери в случае непреднамеренного повреждения тканей и/или хирургического вмешательства, а слишком быстрая свертываемость (гиперкоагуляция) – к риску тромбозов.

[3] Известно, что коагулопатия может быть обусловлена рядом различных врожденных или приобретенных заболеваний или состояний, а также приемом лекарственных средств, направленных на лечение и/или облегчение указанных заболеваний и состояний.

[4] В частности, коагулопатия наблюдается у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (тромбоз, ишемическая болезнь сердца, мерцательная аритмия, имплантация искусственного клапана сердца), генетическими патологиями (гемофилия, болезнь Виллебранда), инфекциями (геморрагические лихордаки, сепсис, COVID-19), онкологическими заболеваниями (лейкоз), патологиями печени и желчевыводящих путей (цирроз, синдром Бадда-Киари), аутоиммунными заболеваниями (антифосфолипидный

синдром, тромбоцитопеническая пурпура), у пациентов с нехваткой витаминов и микроэлементов (дефицит кальция, витамина К), а также при воздействии токсинов (например, укусах змей и насекомых). Кроме того, гиперкоагуляция характерна для третьего семестра беременности.

**[5]** Помимо прочего, известно, что на время свертывания крови оказывают влияние такие факторы как обострение хронических заболеваний, простудные заболевания и даже смена привычного образа жизни (например, климата, диеты и/или режима дня).

**[6]** Для оценки степени риска перед проведением операционных вмешательств врачам и/или медицинскому персоналу необходимо знать время свертывания крови пациента. Поэтому анализ на время свертывания крови является одним из обязательных анализов перед проведением плановых хирургических вмешательств, проходящих под общим наркозом, и перед родами.

**[7]** Тем не менее, в настоящее время не принято назначать анализ на определение времени свертывания крови пациентам, которым требуется проведение небольших операций под местным наркозом, включая стоматологические операции.

**[8]** При этом, согласно статистике, около 30% всех пациентов на стоматологическом приеме относятся к группе анестезиологического риска. В частности, введение анестезии таким пациентам может привести к расстройству гемодинамики и привести к гибели пациента.

**[9]** Согласно другой статистике, около 74% пациентов пожилого возраста имеют не менее четырех заболеваний, которые могут приводить к коагулопатии, 38% - до шести заболеваний и 13% – восемь и более. Кроме того, многие пациенты недостаточно осведомлены о наличии у них сопутствующих общесоматических заболеваний, которые могут приводить к коагулопатии, что осложняет оценку риска при проведении стоматологического вмешательства.

**[10]** Сердечно-сосудистые заболевания являются наиболее широко распространенной группой заболеваний, вызывающей коагулопатию. При ряде заболеваний сердечно-сосудистой системы пациентам назначают пожизненную терапию антикоагулянтами или антиагрегантами, в частности, антикоагулянтами прямого действия (гепарин, гирудин, фондапаринукс, бивалирудин, дабигатрана этексилат, апиксабан, ривароксабан, эдоксабан) или антикоагулянтами непрямого действия (дикумарин, варфарин, неодикумарин, или пелентан, фенилин, синкумар). Наиболее часто назначаемым

препаратом после оперативных вмешательств в сердечно-сосудистой системе, в частности, после операции по замене сердечного клапана, является варфарин.

**[11]** Влияние различных факторов на свертываемость крови при антикоагулянтной терапии широко изучено. В частности, доказано, что восприимчивость организма к действию антикоагулянтов зависит от особенностей питания, физической активности, функционального состояния печени и почек, сопутствующей терапии и других факторов. Кроме того, известно о влиянии ряда лекарственных средств на активность антикоагулянтов. В частности, из-за высокого риска кровотечений не рекомендуется совместный прием варфарина с нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВС) и антибиотиками, включая ципрофлоксацин.

**[12]** Несмотря на свою информированность о необходимости приема антикоагулянтов в строго определенной, индивидуально подобранной дозе, пациенты могут нарушать режим приема терапии, например, пропускать время приема препарата или принимать препарат в двойной дозе. Кроме того, как указано выше, даже при аккуратном приеме антикоагулянтной терапии время свертывания крови может неожиданно измениться за счет непривычного питания или режима жизни, а также при переходе на препарат, выпускаемый другим производителем.

**[13]** Таким образом, существует потребность в устройстве для определения времени свертывания крови у пациентов, которым требуется оперативное вмешательство, в том числе, стоматологическое, непосредственно перед проведением оперативного вмешательства. Наиболее высока эта потребность стоит перед поликлиническими отделениями и амбулаторными стационарами, где не предполагается проведение сложных хирургических операций, и поэтому такие медицинские учреждения, как правило, не оснащены необходимым реанимационным оборудованием, включая достаточные запасы крови для переливания. Определение времени свертывания крови непосредственно перед проведением хирургического вмешательства, в том числе, в условиях амбулаторной поликлиники или стоматологии, позволило бы минимизировать риски, связанные с неизвестным состоянием свертываемости крови (в том числе, интенсивную неконтролируемую кровопотерю) у пациентов с ранее неустановленной коагулопатией или пациентов, принимающих антикоагулянтную терапию.

**[14]** Для оценки свертываемости крови, как правило, применяют три показателя: протромбиновое время (ПТВ), протромбиновый индекс (ПТИ) и международное нормализованное отношение (МНО). ПТВ – это время в секундах, за которое

формируется кровяной сгусток (тромб). ПТИ представляет собой отношение в процентах ПТВ пациента к ПТВ контрольного образца. Следует отметить, что значение ПТВ зависит от применяемого тромбопластина, вызывающего коагуляцию. Для того, чтобы уйти от этой зависимости применяют МНО – отношение в процентах ПТВ пациента к нормальному среднему ПТВ, где для коагуляции крови применяют первичный международный референсный тромбопластин.

**[15]** Наиболее часто в качестве показателя для оценки времени свертывания крови применяют МНО. Как правило, нормальное значение МНО (лечебный диапазон), составляет 0,8 – 1,2. При терапии варфарином целевой уровень МНО составляет 2,0 – 3,0. При этом, лечебный диапазон МНО при терапии варфарином зависит от основного заболевания, при котором назначен варфарин. В частности, при протезировании клапанов нормальным уровнем МНО считается диапазон 2,5 – 3,5.

**[16]** Если уровень МНО выше указанного допустимого интервала, это свидетельствует о высоком риске кровотечений, если ниже – появляется риск образования тромбов (см. [https://med.ru/sites/default/files/docs/anticoagul\\_p.pdf](https://med.ru/sites/default/files/docs/anticoagul_p.pdf)).

**[17]** Для экспериментального определения указанных показателей времени свертывания крови применяют коагулометры. На сегодняшний день известно большое количество стационарных коагулометров, основанных на различных принципах работы, в частности, механическом, оптическом (турбидиметрия и нефелометрия) и оптико-механическом. Подробный обзор известных на сегодняшний день методик и их основные принципы приведены, например, в работе <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00018-7>.

**[18]** Несмотря на ряд очевидных преимуществ, которыми обладают современные стационарные коагулометры, включая высокую точность, хорошую воспроизводимость результатов и возможность анализа проб маленького объема, такие приборы не удовлетворяют одному из основных требований, предъявляемых к коагулометрам согласно настоящей заявке. Стационарные приборы не могут использоваться в ходе приема пациента в кабинете у врача непосредственно перед проведением оперативного вмешательства. Помимо достаточно больших габаритов, такие приборы обладают высокой стоимостью и ими невозможно оснастить большое число кабинетов в каждом медицинском учреждении страны. Кроме того, стационарные приборы не обеспечивают достаточную экспрессность измерений, в частности из-за того, что требуют проведение дополнительной пробоподготовки образца.

[19] В последнее время получили развитие портативные автоматические экспресс-коагулометры, которые пациент может применять самостоятельно в домашних условиях. В таких устройствах особенно остро нуждаются пациенты, принимающие антикоагулянтную терапию. Для проведения анализа подходит цельная капиллярная кровь без дополнительной пробоподготовки. Большая часть таких коммерчески доступных устройств основана на принципе импедансометрии.

[20] Работа <https://doi.org/10.1038/226269a0> (1970) является одной из первых работ, посвященных измерению времени свертывания крови методом импедансометрии в целях контроля антикоагулянтной терапии. Согласно предложенной методике, измерительная ячейка представляет собой стеклянный капилляр с двумя внутренними кольцевыми электродами, изготовленными из смешанной пасты золота и платины и соединенными с двумя выводными электродами. Выводящие электроды проходят через сквозные отверстия, просверленные в стекле и заполненные перед обжигом металлической пастой. Выводы механически связаны с наружной частью стеклянного капилляра эпоксидным компаундом Araldite. Измерения сопротивления проходят по мостовой схеме, в которой уравнивающее сопротивление состоит из аналогичной ячейки, содержащей кровь из того же образца, но в которой коагуляция предотвращена добавлением около 1 мкл 5000 ЕД/мл гепарина. Таким образом, все изменения импеданса сбалансированы по времени, кроме того момента, когда начинается процесс коагуляции. К недостаткам указанной методики можно отнести наличие двух стеклянных капилляров и необходимость добавлять гепарин во второй капилляр.

[21] Попытки автоматизации и миниатюризации метода импедансометрии для определения времени свертывания крови были предприняты, например, в работе <https://www.analog.com/en/analog-dialogue/articles/impedance-measurement-monitors-blood-coagulation.html>. В данной работе изменения проводимости, связанные с образованием фибринового сгустка, проводили непосредственно путем мониторинга общего импеданса образца крови. Предложенное устройство представляет собой полностью интегрированный однокристалльный анализатор импеданса на основе микросхемы AD5933, в котором встроенный генератор частоты сочетается с 12-разрядным аналого-цифровым преобразователем (АЦП) с частотой 1 MSPS. Генератор частоты подает напряжение возбуждения на внешний комплексный импеданс на известной частоте. Сигнал отклика (ток) дискретизируется встроенным АЦП, а дискретное преобразование Фурье (ДПФ) обрабатывается встроенным процессором. Для подачи образца крови в указанное устройство разработан трехслойный микрожидкостной канал. Нижний слой

состоит из двух электродов с трафаретной печатью, которые подключают к контактам порта ввода/вывода схемы AD5933. Верхний полимерный канал состоит из двух резервуаров, соединенных микроканалом. Образец крови, нанесенный в один резервуар, заполняет микроканал и второй резервуар. Химические реагенты, модулирующие реакцию свертывания, могут содержаться либо внутри этого микроканала, либо на центральном связующем слое под резервуарами, что позволяет проводить сравнительные исследования. С резервуарами контактируют электроды, которые подключены к схеме AD5933. К недостаткам указанного устройства можно отнести сложную конструкцию микрожидкостного канала и необходимость применения химических реагентов, которые модулируют реакцию свертывания. Кроме того, микроканал сложно поддается очищению.

**[22]** В современных коммерчески доступных коагулометрах, основанных на принципе импедансометрии, образец капиллярной крови пациента наносят на тестовую полоску с тромбопластином в качестве активатора свертываемости. К таким устройствам можно отнести, например, CoaguCheck (от Roche, Швейцария) и INRatio (от Hemosense, США). Преимущества указанных устройств подробно раскрыты на сайтах производителей: <https://www.alpha-diagnostics.ru/catalog/koagulyatsiya/coaguchek-inrange/> и <http://www.pointofcare.net/vendors/Hemosense.htm>. Нанесенная на тест-полоску капля крови по капиллярным каналам направляется в зону реакции, где кровь смешивается с активатором свертываемости. Зона реакции содержит два металлических электрода, к которым подается постоянное напряжение. В результате протекания реакции свертывания на тест-полоске оседают слои фибриновых сгустков, вследствие чего происходит повышение импеданса образца крови. По мере изменения импеданса дается оценка динамики образования фибринового сгустка. Измерения проводят при комнатной температуре (от 15 до 32 °С), внутри прибора отсутствуют какие-либо системы нагрева образца. Для проведения одного измерения требуется около 1-2 мин. Точность измерений составляет около 97%.

**[23]** Одним из основных недостатков указанной методики является то, что результат измерений зависит от степени чистоты применяемого тромбопластина (активатора свертываемости). Для каждой новой партии тромбопластина необходимо проводить калибровку анализатора на группе пациентов с нормальной свертываемостью крови, определенной по другим методикам. Кроме того, тест-полоски могут быть повреждены, так как они чувствительны к свету, влаге и температуре. Более того, при применении устройств CoaguCheck и INRatio в медицинских учреждениях требуются постоянные

закупки тест-полосок, доступность которых может быть ограничена, и их грамотная утилизация.

**[24]** Учитывая указанные недостатки, связанные с необходимостью применять тест-полоски, в CN109100394 предложен портативный автоматический коагулометр, основанный на методе импедансометрии, который не требует добавления активатора свертываемости. Чип детектора в указанном анализаторе содержит изолирующую подложку, на которую методом трафаретной печати нанесен измерительный электрод. Над измерительным электродом расположен канал детектирования, который электрически соединен с измерительным электродом, и два конца измерительного электрода выведены на край изолирующей подложки. Указанный анализатор позволяет проводить измерение одного образца крови в течение 10-30 минут, что существенно превышает скорость получения результатов с помощью приборов CoaguCheck (не более одной минуты) и INRatio (не более двух минут). Это обусловлено тем, что в отличие от анализаторов CoaguCheck и INRatio согласно методике, использованной в устройстве согласно CN109100394, кровь сворачивается сама по себе, без добавления активаторов свертываемости, что занимает более длительное время.

**[25]** В CN109100394 не раскрыты такие важные показатели как точность и стабильность измерений, а также температура проведения измерений. Кроме того, в CN109100394 не указано, как происходит очистка и обеззараживание устройства между измерениями. Учитывая, что авторами не указаны ни габариты устройства, ни размеры детекторного канала, который заполняется кровью, невозможно сделать вывод о том, как следует промывать устройство от остатков образца между проведением измерений и насколько это удобно и безопасно для пользователя.

**[26]** С учетом вышесказанного, по мнению авторов настоящего изобретения, существует потребность в портативном экспресс-коагулометре, основанном на принципе импедансометрии, который не требует применения активатора свертываемости крови, в том числе, в виде сменных тест-полосок, и при этом обеспечивает высокую точность измерений. Отсутствие необходимости применения одноразовых тест-полосок позволило бы обеспечить большую доступность устройства и решить ряд проблем с экологией и безопасностью утилизации медицинских отходов класса Б.

**[27]** Для решения указанной технической задачи авторами настоящего изобретения предложено устройство, содержащее многоразовый стерилизуемый чип для ввода пробы вместо одноразовых тест-полосок с активатором свертываемости, и работающее при

постоянной температуре. Постоянство температуры измерений обусловлено наличием в указанном устройстве нагревателя, температура которого автоматически управляется микроконтроллером в зависимости от сигнала, поступающего в микроконтроллер от датчика температуры. Учитывая, что погрешность измерений при проведении коагулометрии методом импедансометрии, главным образом, обусловлена постоянством температуры, так как температура влияет на скорость свертывания крови (см., например, <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1916.sp000220>), постоянство температуры в ходе проведения измерений позволяет обеспечить высокую точность измерений.

**[28]** Принципы работы и конструкционные особенности заявленного устройства более подробно раскрыто в нижеследующем разделе описания изобретения.

#### **Краткое описание чертежей**

**[29]** **Фигура 1** представляет собой функциональную схему анализатора согласно настоящему изобретению на основе чипа Arduino с процессором ATmega328p.

**[30]** На **Фигуре 2** приведен график зависимости электрического импеданса от времени, полученный с помощью анализатора согласно настоящему изобретению при измерении 0,9% раствора NaCl. По оси Y – импеданс в произвольных единицах, по оси X – время в минутах. Начало измерений – 0,6 мин.

**[31]** На **Фигуре 3** приведен график зависимости электрического импеданса от времени, полученный с помощью анализатора согласно настоящему изобретению при измерении образца капиллярной крови пациента, не принимающего антикоагулянтную терапию. По оси Y – импеданс в произвольных единицах, по оси X – время в минутах. Начало измерений – 3 мин. Стрелкой указано время начала коагуляции крови данного образца.

**[32]** На **Фигуре 4** приведен график зависимости электрического импеданса от времени, полученный с помощью анализатора согласно настоящему изобретению при измерении образца капиллярной крови пациента, принимающего антикоагулянтную терапию. По оси Y – импеданс в произвольных единицах, по оси X – время в минутах. Начало измерений – 2 мин. Стрелкой указано время начала коагуляции крови данного образца.



## Раскрытие изобретения

**[33]** Согласно первому аспекту настоящего изобретения предложен анализатор для определения времени свертывания крови, содержащий

- a. чип (1), содержащий емкость для образца крови и по меньшей мере два электрода;
- b. микроконтроллер (2);
- c. нагреватель (3), обеспечивающий нагрев указанного образца крови,
- d. датчик (4) контроля температуры указанного образца крови;
- e. блок питания (5),

где чип (1) поддается стерилизации,

где емкость для образца крови закрыта крышкой во время проведения измерений,

где чип (1), нагреватель (3) и датчик (4) контроля температуры выполнены с возможностью электрического соединения с микроконтроллером (2),

где микроконтроллер (2) выполнен с возможностью электрического соединения с блоком питания (5),

где микроконтроллер (2) выполнен с возможностью подключения к устройству (6) обработки данных с передачей данных между микроконтроллером (2) и устройством (6) обработки данных,

где микроконтроллер (2) оснащен программным обеспечением, позволяющим регистрировать значения электрического импеданса образца крови через равные малые промежутки времени с сохранением полученных значений в локальной памяти микроконтроллера (2) и одновременно обрабатывать зарегистрированную зависимость электрического импеданса от времени с получением значения времени свертывания крови, и

где микроконтроллер (2) обеспечивает постоянство температуры нагревателя (3) при регистрации значений электрического импеданса образца крови.

**[34]** В предпочтительном варианте, анализатор дополнительно имеет единый корпус (7), в который встроены микроконтроллер (2), нагреватель (3) и датчик (4) контроля температуры. Чип (1) вводят в анализатор через отверстие, выполненное в корпусе (7). Наличие единого корпуса, в который заключены все элементы анализатора, обеспечивает удобство пользователя и компактность анализатора, а также

предотвращает повреждение элементов анализатора и загрязнение исследуемого образца крови.

**[35]** Чип (1), содержащий емкость для образца крови и по меньшей мере два электрода, предназначен для ввода образца крови в анализатор и обеспечения передачи электрического сигнала от указанного образца крови к микроконтроллеру (2). Предпочтительно, кровь представляет собой цельную капиллярную кровь.

**[36]** Чип (1), содержащий емкость для образца крови, и указанная емкость могут быть выполнены из любого непроводящего материала (диэлектрика), пригодного для медицинского применения. В частности, указанный материал должен быть инертен по отношению к крови и поддаваться стерилизации. Кроме того, указанный материал не должен абсорбировать жидкость. В частности, материал чипа (1) и емкости может представлять собой медицинское стекло или полимер, пригодный для медицинского применения, такой как полиэфирэфиркетон (PEEK), полиэфиримид (PEI), полисульфон (PSU), поликарбонат (PC), полипропилен (PP), акрилонитрил бутадиен стирол (ABS), полиэтилентерефталат гликоль (PETG), полиметилметакрилат (PMMA), поливинилхлорид (PVC), полиуретан, полистирол (PS) или силикон. Кроме того, полимер, пригодный для медицинского применения, может представлять собой полиэтилен (PE), такой как полиэтилен высокой плотности (HDPE) или сверхвысокомолекулярный полиэтилен (UHMW-PE).

**[37]** Чип (1) и емкость для образца крови, содержащаяся в указанном чипе, необязательно выполнены из одного материала. Предпочтительно, указанные чип и емкость для образца крови, выполнены из одного материала.

**[38]** Под «стерилизацией» в контексте настоящего изобретения понимают любой известный способ стерилизации, применяемый в медицинских учреждениях. Материал чипа (1) должен быть устойчив к по меньшей мере одной из следующих технологий стерилизации: термической стерилизации (в частности, стерилизации водяным паром и сухожаровой стерилизации), химической стерилизации (в частности, стерилизации этиленоксидом), плазменной стерилизации и радиационной стерилизации.

**[39]** Чип (1) может иметь любую форму и размер, которые обеспечивают наличие емкости для образца крови достаточного объема.

**[40]** Под «достаточным объемом» образца крови в контексте настоящего изобретения понимают такой объем образца крови, при котором нагреватель (3) не вызывает полного

испарения образца крови из емкости чипа (1) до окончания проведения анализа. Предпочтительно, объем образца крови пациента составляет от 5 до 20 мкл. Предпочтительно, чтобы конструкция чипа позволяла проводить анализ при как можно более меньшем объеме образца крови.

**[41]** Под «емкостью» в контексте настоящего изобретения понимают любое вместительное для образца крови. Указанная емкость выполнена с возможностью заполнения и очищения, например, промывки.

**[42]** Образец крови можно помещать в чип любым способом, в частности, при помощи шприца, пипетки или пипет-дозатора. Предпочтительно, для заполнения чипа применяют шприц, которым предварительно отобрали кровь у пациента.

**[43]** После заполнения емкости образцом, емкость следует закрыть крышкой для удобства пользователя и минимизации испарения крови во время проведения анализа. Предпочтительно, чтобы в закрытом состоянии емкость являлась герметичной.

**[44]** Для обеспечения емкости крышкой чип (1) выполняют разборным. Указанный разборный чип (1) содержит по меньшей мере две детали с по меньшей мере одним механическим разъемным соединением любого типа, например, резьбовым, винтовым, клиновым, шпоночным, шлицевым или шлифовым.

**[45]** В одном из вариантов реализации, указанный разборный чип (1) представляет собой две разъемные пластины, где по меньшей мере в одной из пластин выполнена емкость. Диаметр емкости может быть больше, меньше или равен толщине пластины. В случае, когда емкость выполнена в обеих пластинах, предпочтительно, чтобы при приведении пластин в контакт образовывалась единая емкость. Наиболее предпочтительно обе пластины имеют равную длину и ширину.

**[46]** Указанные пластины могут быть изготовлены из медицинского стекла с шлифованными краями. В частности, в качестве пластин разборного чипа (1) можно применять стандартное предметное стекло размером 77 x 26 мм<sup>2</sup> и толщиной 1,0-1,2 мм со шлифованными краями и лункой диаметром 14-16 мм и глубиной 0,2 мм, например, от Микромед, Россия или Levenhuk, США.

**[47]** Кроме того, указанные пластины могут быть изготовлены из полимера, пригодного для медицинского применения. В таком случае, вместо шлифовки края пластин активируют, например, с помощью плазменной обработки.

**[48]** Емкость может быть выполнена любым подходящим способом, выбор которого обусловлен материалом пластины чипа (1) и соотношением диаметра емкости и толщины пластины. Например, указанная емкость в по меньшей мере одной из пластин чипа (1) может быть выплавлена, вырезана или высверлена. Кроме того, пластины из полимерного материала, пригодного для медицинского применения, могут быть изготовлены литьем под давлением.

**[49]** Предпочтительно, чтобы поверхность указанной емкости, нагреваемая нагревателем (3), имела форму, препятствующую локальному перегреву образца, например, скругленную форму, где выпуклая сторона направлена в сторону нагревателя.

**[50]** Таким образом, в качестве одного из предпочтительных вариантов реализации, чип (1), содержащий емкость для образца крови, представляет собой две разъемные шлифованные пластины, изготовленные из медицинского стекла, в одной из которых выполнена лунка с диаметром больше толщины пластины. В этом случае стенка емкости выступает за границы пластины. Это обеспечивает более равномерный нагрев образца крови нагревателем (3). Вторая пластина не содержит лунку и имеет плоские поверхности. Обе указанные пластины имеют равные длину и ширину.

**[51]** Нагреватель (3) может представлять собой любое коммерчески доступное нагревательное устройство, обеспечивающее нагрев вплоть до температуры проведения измерений, которая составляет  $38,0 \pm 0,2$  °С. В частности, в качестве нагревателя можно применять электрические лампы накаливания или инфракрасные лампы. Предпочтительно, нагреватель представляет собой нихромовый нагреватель с внешним блоком питания.

**[52]** Во время проведения измерений нагреватель предпочтительно расположен под емкостью с образцом крови так, чтобы обеспечивать равномерный нагрев образца.

**[53]** Датчик (4) контроля температуры может представлять собой любой датчик контроля температуры измерительного типа, в частности, терморпару или терморезистор. Наиболее предпочтительно датчик (4) контроля температуры представляет собой терморезистор.

**[54]** Измерения проводят при постоянной температуре, равной  $38,0 \pm 0,2$  °С. Постоянство температуры нагревателя (3) обеспечивают с помощью микроконтроллера (2). Предпочтительно, микроконтроллер (2) сравнивает сигнал от датчика (4) контроля температуры с установленным порогом в  $38,0 \pm 0,2$  °С и, в случае необходимости, меняет

интенсивность нагрева нагревателя (3) за счет цепи обратной связи от датчика (4) контроля температуры к нагревателю (3).

**[55]** В качестве микроконтроллера (2) может быть выбран любой коммерчески доступный микроконтроллер. В частности, в качестве микроконтроллера (2) можно применять 8-разрядный программируемый микроконтроллер с по меньшей мере одним цифровым входом, по меньшей мере одним цифровым выходом с широтно-импульсной модуляцией (ШИМ) и по меньшей мере одним аналоговым входом с разрядностью не ниже 10, такой как Arduino-совместимый контроллер, производимый во многих странах, например, Италии и США. Микроконтроллер (2) запрограммирован таким образом, чтобы регистрировать и сохранять в локальной памяти значения электрического импеданса крови через равные малые промежутки времени. После проведения измерения микроконтроллер можно подключить к устройству (6) обработки данных, например, персональному компьютеру, для анализа полученных экспериментальных данных.

**[56]** Подключение микроконтроллера (2) к устройству (6) обработки данных можно осуществить любым известным способом подключения периферийных устройств к вычислительной технике, например, при помощи USB-соединения любого типа.

**[57]** В результате измерения получают набор точек «время – импеданс» и отстраивают зависимость импеданса от времени (коагуляционную кривую). Известно, что импеданс жидкой крови до коагуляции по существу не меняется в зависимости от времени, тогда как при начале коагуляции значение импеданса резко повышается. Таким образом, для определения времени свертывания крови подходит любая методика, позволяющая определить время начала изменения импеданса.

**[58]** В частности, авторами настоящего изобретения предложено определять значение времени свертывания крови как среднее значение интервала времени измерений, при котором величина первой производной коагуляционной кривой становится отличной от нуля.

**[59]** Предпочтительно, микроконтроллер (2) запрограммирован таким образом, чтобы после каждой регистрации импеданса проверять значение первой производной зависимости импеданса от времени в точке. При этом, если указанное значение равно нулю, измерение продолжается, а если указанное значение оказывается больше нуля,

микроконтроллер (2) завершает проведение измерений и фиксирует полученный результат в локальной памяти.

**[60]** Предпочтительно, анализатор согласно настоящему изобретению оповещает пользователя о завершении измерений, например, с помощью звукового, светового или вибросигнала. Более предпочтительно, характер указанного оповещения отличается в зависимости от конкретного полученного времени свертывания крови. Наиболее предпочтительно, характер указанного оповещения отличается в зависимости от того, укладывается ли полученный результат по времени свертывания крови в допустимый интервал.

**[61]** В частности, в предпочтительном варианте осуществления изобретения, анализатор дополнительно содержит по меньшей мере два световых индикатора (9) свертывания крови, которые расположены на внешней поверхности корпуса (7) и выполнены с возможностью электрического соединения с микроконтроллером (2), при этом, при получении микроконтроллером (2) значения времени свертывания крови, от микроконтроллера (2) поступает электрический сигнал к одному из указанных по меньшей мере двух световых индикаторов (9) свертывания крови, при этом выбор указанного одного светового индикатора (9) свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от микроконтроллера (2), обусловлен полученным значением времени свертывания крови.

**[62]** Более предпочтительно, выбор указанного одного светового индикатора (9) свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от микроконтроллера (2), обусловлен тем, попадает ли полученное время свертывания крови в допустимый интервал.

**[63]** Иными словами, после завершения измерения микроконтроллер (2) дополнительно сравнивает полученное время коагуляции крови с референсным значением. В зависимости от того, укладывается или нет полученное значение в общепринятый норматив, анализатор выдает соответствующий сигнал. Например, в случае положительного результата (полученный результат укладывается в норматив) на корпусе анализатора загорается зеленая лампочка, а в противном случае – красная.

**[64]** Кроме того, возможна более тонкая настройка анализатора, когда пользователь получает более подробную информацию о времени свертывания крови. В частности, на

корпусе анализатора можно расположить более двух световых индикаторов, где каждый из индикаторов соответствует определенному показателю времени свертывания крови.

**[65]** Предпочтительно, микроконтроллер (2) дополнительно пересчитывает полученное в результате измерения время свертывания крови в показатель МНО. Таким образом, анализатор согласно настоящему изобретению может выдавать сигнал, на основании которого пользователь будет узнавать, находится ли МНО пациента в безопасном допустимом интервале.

**[66]** В еще одном предпочтительном варианте внутри корпуса (7) расположено устройство (8) для обеззараживания, которое предпочтительно представляет собой УФ-диод. Указанный диод может включаться автоматически вместе с анализатором или включаться на определенное время независимо от работы анализатора, например, до, во время и/или после проведения измерений.

**[67]** Согласно второму аспекту настоящего изобретения предложен способ определения времени свертывания крови, включающий:

(i) обеспечение образца крови в емкости для образца крови, который содержится в чипе анализатора,

(ii) обеспечение электрического соединения чипа с микроконтроллером,

(iii) нагрев указанного чипа, содержащего образец крови, до температуры проведения измерений, и

(iv) регистрацию значения электрического импеданса указанного образца крови через равные малые промежутки времени микроконтроллером при постоянной температуре проведения измерений с сохранением полученных значений в локальной памяти указанного микроконтроллера с одновременной обработкой указанным микроконтроллером зарегистрированной зависимости электрического импеданса от времени с получением значения времени свертывания крови,

где указанный чип поддается стерилизации,

где емкость для образца крови закрыта крышкой во время проведения измерений

и

где указанный микроконтроллер обеспечивает постоянство температуры нагревателя при регистрации значений электрического импеданса образца крови.

**[68]** Предпочтительно, указанный способ дополнительно содержит стадию (v) оповещения пользователя о результате анализа, где указанное оповещение

осуществляют при помощи передачи электрического сигнала от микроконтроллера на один из по меньшей мере двух световых индикаторов свертывания крови, которые соединены с указанным микроконтроллером посредством электрического соединения, и где выбор указанного одного светового индикатора свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от указанного микроконтроллера, обусловлен полученным значением времени свертывания крови.

**[69]** Согласно третьему аспекту настоящего изобретения предложено применение анализатора согласно настоящему изобретению для определения безопасности проведения хирургического и/или стоматологического вмешательства у пациента, в том числе, у пациента, принимающего антикоагулянтную терапию. Так, в случае, если анализатор показывает, что время коагуляции крови пациента находится в известном допустимом интервале, пациенту можно проводить хирургическое и/или стоматологическое вмешательство.

### **Пример**

**[70]** Приведенный ниже пример служит иллюстрацией настоящего изобретения и не является ограничивающим объемом настоящего изобретения.

**[71]** Функциональная схема анализатора согласно настоящему изобретению приведена на Фигуре 1. Управление измерениями и сбор данных осуществляют при помощи микроконтроллера Arduino, имеющего аналоговые и цифровые входы, а также цифровые выходы с широтно-импульсной модуляцией (ШИМ) сигнала амплитудой 5 В. При помощи тестового стенда реализована температурная стабилизация образца (см. элементы "Темп. датчик" и "Нагреватель"), необходимая для воспроизводимости результатов эксперимента. Сигнал с температурного датчика с абсолютной погрешностью в 0,2 °С поступает на вход микроконтроллера, который сравнивает его с установленным порогом в 38,0 °С и меняет интенсивность нагрева путем вариации параметра ШИМ по эмпирически подобранному соотношению  $(155 \cdot (T_{ref} - T) / 5,0 + 100) / 255$ , где  $T_{ref} = 38,0$  является желаемой температурой измерительной площадки, а  $T$  – измеренная температура. Сигнал ШИМ поступает на силовой MOSFET, включающий и выключающий ток, проходящий через нагреватель. В качестве нагревателя выбрана стандартная автомобильная лампа мощностью 5 Вт. Согласно измерениям, температура подложки



стабилизируется в течение 2-3 минут с момента включения тестового стенда с точностью  $\pm 0,2$  °С. Время проведения измерений составляет 5-10 минут.

**[72]** Образец крови наносят на измерительную площадку и накрывают крышкой для исключения испарения. Измерительная площадка представляет собой стеклотекстолитовую плату размером 8x8 мм с параллельными медными проводниками шириной 0,5 мм, находящимися на расстоянии 0,5 мм друг от друга. Четные проводники подключаются к источнику 5 В, нечетные идут на вход аналого-цифрового преобразователя (АЦП) микроконтроллера, подключенному к земле через сопротивление 50 кОм. Это сопротивление вместе с измерительной площадкой составляют делитель напряжения, измеряемого АЦП и пересчитываемого в сопротивление образца по стандартной формуле для параллельного соединения сопротивлений.

**[73]** Микроконтроллер осуществляет накопление результатов измерений, выполненных АЦП в течение 5 сек. Далее усредненный сигнал пересчитывается в сопротивление образца и передается в компьютер через последовательный вход по USB кабелю.

**[74]** Погрешность измерений не превышает  $\pm 5$  секунд (или  $\pm 7\%$ ).

**[75]** На Фигуре 2 приведены результаты измерения импеданса в зависимости от времени для образца 0,9% NaCl. Как этого и следует ожидать, импеданс не зависит от времени.

**[76]** На Фигурах 3 и 4 приведены результаты измерений коагуляционных кривых для образцов капиллярной крови пациента, не принимающего антикоагулянтную терапию, и пациента на антикоагулянтной терапии, соответственно.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Анализатор для определения времени свертывания крови, содержащий

- a. чип (1), содержащий емкость для образца крови и по меньшей мере два электрода;
- b. микроконтроллер (2);
- c. нагреватель (3), обеспечивающий нагрев указанного образца крови,
- d. датчик (4) контроля температуры указанного образца крови;
- e. блок питания (5),

где чип (1) поддается стерилизации,

где емкость для образца крови закрыта крышкой во время проведения измерений,

где чип (1), нагреватель (3) и датчик (4) контроля температуры выполнены с возможностью электрического соединения с микроконтроллером (2),

где микроконтроллер (2) выполнен с возможностью электрического соединения с блоком питания (5),

где микроконтроллер (2) выполнен с возможностью подключения к устройству (6) обработки данных с передачей данных между микроконтроллером (2) и устройством (6) обработки данных,

где микроконтроллер (2) оснащен программным обеспечением, позволяющим регистрировать значения электрического импеданса образца крови через равные малые промежутки времени с сохранением полученных значений в локальной памяти микроконтроллера (2) и одновременно обрабатывать зарегистрированную зависимость электрического импеданса от времени с получением значения времени свертывания крови, и

где микроконтроллер (2) обеспечивает постоянство температуры нагревателя (3) при регистрации значений электрического импеданса образца крови.

2. Анализатор по п. 1, где время свертывания крови, полученное микроконтроллером (2), представляет собой среднее значение интервала времени измерений, при котором величина первой производной коагуляционной кривой становится отличной от нуля.

3. Анализатор по п. 1, где чип (1) выполнен из непроводящего материала, пригодного для медицинского применения, который выбран из медицинского стекла или полимера, пригодного для медицинского применения, в частности, полипропилена или фторопласта.

4. Анализатор по любому из пп. 1-3, в котором микроконтроллер (2), нагреватель (3) и датчик (4) контроля температуры встроены в единый корпус (7), причем в корпусе (7) выполнено отверстие для введения чипа (1) внутрь корпуса (7).

5. Анализатор по п. 4, дополнительно содержащий устройство (8) для обеззараживания пространства внутри корпуса (7), где устройство (8) для обеззараживания предпочтительно представляет собой УФ-диод.

6. Анализатор по любому из пп. 4-5, дополнительно содержащий по меньшей мере два световых индикатора (9) свертывания крови, которые расположены на внешней поверхности корпуса (7) и выполнены с возможностью электрического соединения с микроконтроллером (2),

где, при получении микроконтроллером (2) значения времени свертывания крови, от микроконтроллера (2) поступает электрический сигнал к одному из по меньшей мере двух световых индикаторов (9) свертывания крови, и

где выбор указанного одного светового индикатора (9) свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от микроконтроллера (2), обусловлен полученным значением времени свертывания крови.

7. Анализатор по п. 6, где выбор указанного одного светового индикатора (9) свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от микроконтроллера (2), обусловлен тем, попадает ли полученное время свертывания крови в допустимый интервал.

8. Способ определения времени свертывания крови, включающий:

- (i) обеспечение образца крови в емкости для образца крови, который содержится в чипе анализатора,
- (ii) обеспечение электрического соединения чипа с микроконтроллером,

(iii) нагрев указанного чипа, содержащего образец крови, до температуры проведения измерений, и

(iv) регистрацию значения электрического импеданса указанного образца крови через равные малые промежутки времени микроконтроллером при постоянной температуре проведения измерений с сохранением полученных значений в локальной памяти указанного микроконтроллера с одновременной обработкой указанным микроконтроллером зарегистрированной зависимости электрического импеданса от времени с получением значения времени свертывания крови,

где указанный чип поддается стерилизации,

где емкость для образца крови закрыта крышкой во время проведения измерений,  
и

где указанный микроконтроллер обеспечивает постоянство температуры нагревателя при регистрации значений электрического импеданса образца крови.

9. Способ по п. 8, где время свертывания крови, полученное микроконтроллером, представляет собой среднее значение интервала времени измерений, при котором величина первой производной коагуляционной кривой становится отличной от нуля.

10. Способ по любому из пп. 8-9, дополнительно содержащий стадию (v) оповещения пользователя о результате анализа,

где указанное оповещение осуществляют при помощи передачи электрического сигнала от микроконтроллера на один из по меньшей мере двух световых индикаторов свертывания крови, которые соединены с указанным микроконтроллером посредством электрического соединения, и

где выбор указанного одного светового индикатора свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от указанного микроконтроллера, обусловлен полученным значением времени свертывания крови.

11. Способ по п. 10, где выбор указанного одного светового индикатора свертывания крови, к которому поступает электрический сигнал от указанного

микроконтроллера, обусловлен тем, попадает ли полученное значение времени свертывания крови в допустимый интервал.

12. Применение анализатора по любому из пп. 1-7 для определения безопасности проведения хирургического и/или стоматологического вмешательства у пациента.

13. Применение по п. 12, где пациент принимает антикоагулянтную терапию.

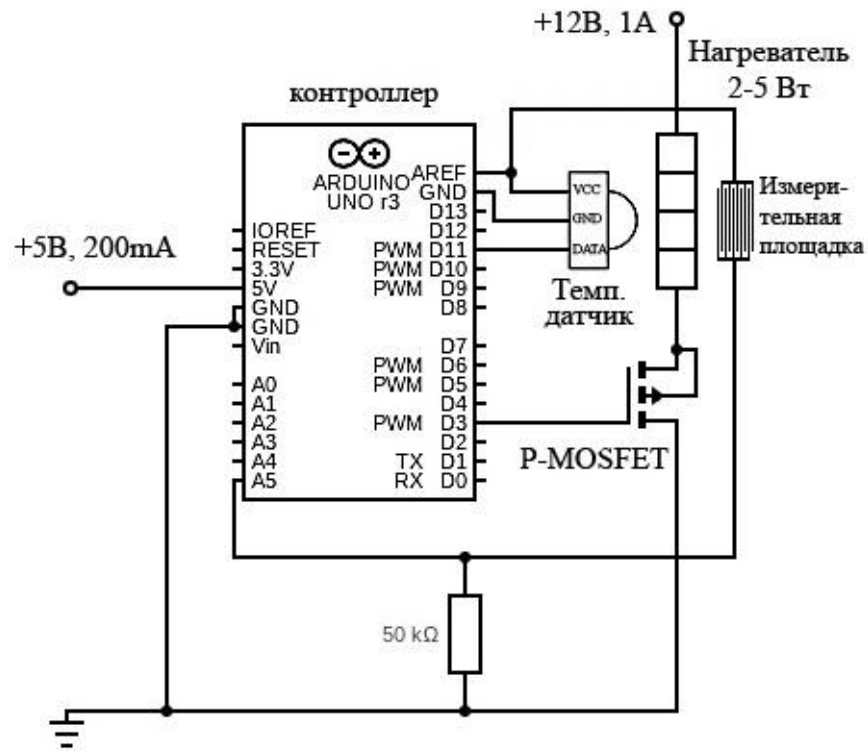
## **ПОРТАТИВНЫЙ АВТОМАТИЧЕСКИЙ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗАТОР ВРЕМЕНИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ МЕТОДОМ ИМПЕДАНСОМЕТРИИ**

### **РЕФЕРАТ**

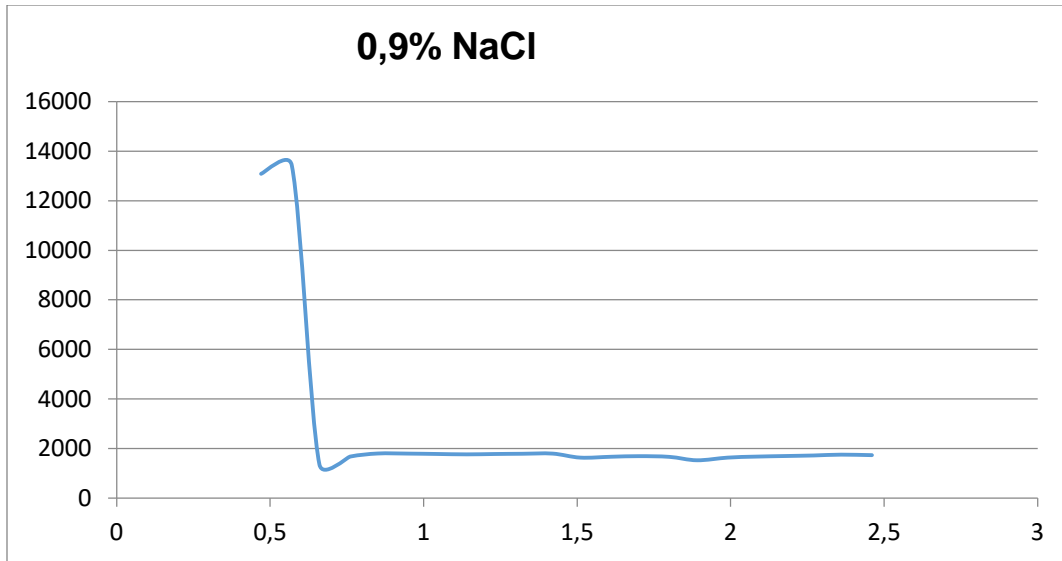
Согласно настоящему изобретению предложены портативный автоматический анализатор времени свертывания крови при постоянной температуре методом импедансометрии, содержащий многоцветный чип для ввода образца, поддающийся стерилизации. Применение в указанном анализаторе многоцветного чипа для ввода образца повышает коммерческую доступность анализатора и позволяет решить ряд экологических проблем, связанных с утилизацией пластиковых отходов, и медицинских отходов класса Б, содержащих кровь, поскольку не требует тест-полосок, пропитанных активатором свертываемости, которые необходимы для проведения измерений в известных коммерчески доступных аналогах. Указанные преимущества делают заявленный анализатор более доступным, в том числе для бюджетных амбулаторных медицинских учреждений, включая поликлинические учреждения общего профиля и стоматологические поликлинические учреждения. Кроме того, проведение измерений при постоянной температуре позволяет существенно повысить точность получаемых результатов.

Согласно настоящему изобретению также предложено применение указанного анализатора для определения безопасности проведения хирургического и/или стоматологического вмешательства у пациента, включая пациентов принимающих антикоагулянтную терапию, что позволяет существенно снизить риск неконтролируемой кровопотери у таких пациентов.

Кроме того, согласно настоящему изобретению предложен способ определения времени свертывания крови с помощью анализатора, содержащего стерилизуемый чип и проводящий измерения при постоянной температуре.



Фигура 1

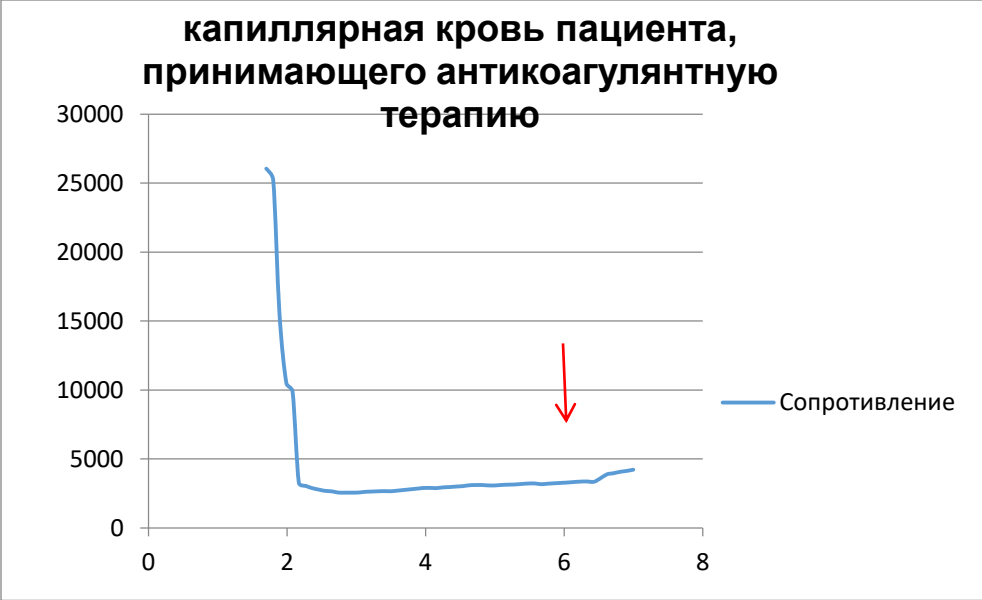


**Фигура 2**



**Фигура 3**





**Фигура 4**