پردازش نمونه‌های بیولوژیکی برای به دست آوردن نتایج نشانگرهای زیستی متعدد

محمد ترکاشوند[1]، عاطفه حسن زاده[2و*]
[1]کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، دانشکده فنی فومن، دانشکدگان فنی، دانشگاه تهران
Email: torkashvand.m@ut.ac.ir
[2]استادیار، دانشکده فنی فومن، دانشکدگان فنی، دانشگاه تهران
Email: hasanzadeh.a@ut.ac.ir

چکیده

تست نقطه مراقبت (POCT) به‌عنوان آزمایش تشخیصی پزشکی در زمان و مکان مراقبت از بیمار (بالین) تعریف می‌شود [1, 2]. این در تضاد با الگویی است که در آن آزمایش به طور کامل یا بیشتر به آزمایشگاه های پزشکی محدود می‌شد، که مستلزم فرستادن نمونه‌ها به دور از محل مراقبت (بالین) و سپس انتظار ساعت‌ها یا روزها برای دریافت نتایج بود، که در این بازه، مراقبت بدون اطلاعات مورد نظر ادامه می‌یابد [3].

در واقع تست‌های نقطه مراقبت، آزمایش‌های پزشکی ساده‌ای هستند که می‌توانند در بالین بیمار انجام شوند. با توجه به اینکه این تست‌ها نتایجی را در مدت چند دقیقه پس از انجام، ارائه می‌دهند، امکان اقدامات مناسب و تصمیم‌گیری سریع در مورد فرآیند مراقبت از بیماران دندان‌پزشکی را میسر می‌سازند. اهمیت این تست‌ها به منظور پردازش نمونه‌های بیولوژیکی در این مقاله مورد بررسی قرار می‌گیرد.

کلمات کلیدي: تست نقطه مراقبت، نشانگرهای زیستی، آزمایش نقطه مراقبت

1. مقدمه

بسیاری از پزشکان از روش نقطه مراقبت برای تهیه گزارشات دقیق در مورد بیماران خود استفاده می‌کنند. رایج ترین شکل آزمایش POC آزمایش خون است که اطلاعات شیمیایی در مورد خون بیمار را ثبت می‌کند. فرآیند تست و مدت زمانی که طول می‌کشد، بسته به تست و دستگاه متفاوت است [4, 5]. برای مثال، در مورد INR و گلوکز فقط یک یا دو دقیقه طول می‌کشد تا نتیجه حاصل شود اما برای آزمایشاتی مانند HbA1C یا لیپیدها ممکن است بین 5 تا 15 دقیقه طول بکشد. از این آزمایشات می‌توان برای تعیین وجود هرگونه عفونت یا بیماری در بدن، از جمله آلرژی، عفونت‌های ویروسی، انگل‌ها، حساسیت‌های غذایی، ایمنی، عفونت‌های قارچی و آزمایش‌های سیستم ایمنی استفاده کرد. نتایج حاصل از این آزمایشات می‌تواند به پزشکان کمک کند تا تصمیم بگیرند که چه درمانی را برای بیمار تجویز کنند. همچنین در بسیاری از موارد، این امکان را به پزشک می‌دهند که وضعیت بیمار را تشخیص دهد، تا اگر پزشک در مورد تشخیص یا برنامه درمانی مطمئن نباشد، امکان اخذ تصمیمات بهتر و مدیریت بالینی فوری بهتری اتخاذ شود [6].

درب رخی مناطق روستایی که با آزمایشگاه مرکزی فاصله زیادی دارند استفاده از POCTهایی مانند کاردیاک تروپونین و بسیاری از آنالیت‌های دیگر می‌توانند به عنوان یک اتاق تریاژ برای بیماران در همان محل عمل کنند به طوری که تصمیم‌گیری برای انتقال بیمار به مراکز تخصصی ِبیمارستانی در همانجا صورت گیرد و از هزینه‌های گزاف و هدررفت زمان برای انتقال بیمار جلوگیری کرد. البته بایستی اشاره شود که هنوز در مقالات مورد خطاهای POCT بحث زیادی صورت نگرفته و مواردی هم که انجام شده بیشتر متمرکز بر خطاهای آنالیتیکال انجام شده است [7].

POCT اغلب از طریق استفاده از ابزارهای قابل حمل (دستی) و به عنوان مثال، دستگاه سنجش قند خون، دستگاه مطالعه هدایت عصبی) و کیت‌های تست (مانندCRP، HBA1C، هموسیستئین، سنجش بزاقHIV و غیره) انجام می‌شود. هنگامی‌که دستگاه دستی در دسترس نیست، می‌توان از آنالایزرهای Benchtop (رومیزی) یا تجهیزات ثابت نیز استفاده کرد. به‌طور کلی هدف جمع‌آوری نمونه و به دست آوردن نتایج در یک دوره زمانی بسیار کوتاه در محل بالین بیمار یا نزدیک به آن است تا بهترین فرآیند درمان بتواند قبل از خروج بیمار شروع گردد [8].

دستگاه‌های ارزان‌تر، سریع‌تر و دقیق‌تر POCT با مقرون‌به‌صرفه ساختن آن برای بسیاری از بیماری‌ها، مانند دیابت، سندرم تونل کارپ (CTS) و سندرم حاد کرونری، موجب استقبال در استفاده از این دستگاه‌ها شده‌اند [9]. علاوه بر این، اندازه گیری آنالیت‌های مختلف به طور همزمان در یک نمونه بسیار مطلوب است که امکان کمی سازی سریع، کم هزینه و قابل اعتماد را فراهم می‌کند [10]. بنابراین، استفاده و توسعه آزمایش نقطه مراقبت چندگانه (xPOCT) برای تشخیص پزشکی، به خصوص در دهه گذشته اهمیت بیشتری پیدا کرده است [11].

2. سیستم‌های POCT آنالیز چربی

بیماری قلبی عروقی (CVD) علت اصلی مرگ و میر در برخی از کشورها است. از طرفی ارزیابی خطر CVD برای پیشگیری اولیه توسط موسسه ملی سلامت و تعالی بالینی انگلستان برای همه بیماران بالای 40 سال توصیه می‌شود که شامل اندازه گیری لیپید است به عنوان یکی از عوامل مهم بیماری‌های قلبی و عروقی است. این اهمیت استفاده از سیستم‌های آنالیز چربی را عنوان می‌کند. در واقع آزمایش نقطه ای مراقبت (POCT) برای لیپیدها، طبقه‌بندی خطر و مدیریت بیماری‌های قلبی عروقی را در مقایسه با روش استاندارد بهبود می بخشد [12]. از طرفی در مقیاس جهانی نیز بیماری‌های قلبی عروقی با 80 درصد حوادث قلبی عروقی که در کشورهای

کم درآمد و متوسط رخ می‌دهد، علت اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشند. به هدف برطرف شدن این مشکل، می‌توان داده های قابل اعتمادی را در مورد شیوع عوامل خطر در کشورهای در حال توسعه و بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک خانه به خانه و ضمن اجتناب از حمل و نقل و ذخیره مواد بیولوژیکی، با استفاده از ابزار خودکار به دست آورد که برای مثال در مطالعه راپی و همکران ۲۰۰۹ که در ایتالیا انجام شد، ارزیابی حساسیت و ویژگی یک ابزار تست نقطه مراقبت (POCT) کم هزینه و قابل مدیریت و با هدف سنجش کلسترول و تری گلیسیرید انجام شد. دلیل انتخاب ابزار POCT برای به دست آوردن طبقه بندی دقیق جمعیت مورد مطالعه، ویژگی‌های حساسیت و همچنین دقت تشخیصی این ابزار بود [13].

برای نمونه SD LipidoCare Analyzer (شکل 1) یک سیستم مانیتورینگ چربی نقطه مراقبت از SD Biosensor است که برای اندازه گیری کلسترول تام خون، تری گلیسیرید، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)، کلسترول لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)، LDL/HDL، غیر HDL و گلوکز طراحی شده است.

شکل 1. SD LipidoCare Analyzer

همچنین آنالایزر Cholestech LDX فاقد CLIA برای اطمینان مهندسی شده است (شکل 2) که نتایجی دقیق، عملی و آسانی در دسترس ارائه می‌دهد که استانداردی را در آزمایش پروفایل لیپیدی، کلسترول و گلوکز در نقطه مراقبت تعیین کرده است.

شکل 2. CHOLESTECH LDX™ ANALYZE

3. آزمایش نقطه مراقبت چندگانه (xPOCT)

هنگام همه‌گیری COVID-19، توسعه سریع POCT با هدف بهبود زمان استفاده و به‌طور ویژه در مقایسه با آزمایش PCR مبتنی بر آزمایشگاه استاندارد طلا اتفاق افتاد [14] که این موارد شامل آزمایش‌های آنتی‌ژن سریع، روش‌های تقویت اسید نوکلئیک جایگزین و حسگرهای جدید بود [15]. از طرفی در سال‌های اخیر، طیف وسیعی از آزمایش‌ها شامل پلت‌فرم‌های مبتنی بر گوشی‌های هوشمند و آزمایش‌هایی برای هدف قرار دادن خون، بزاق، ماده مدفوع، ادرار و اشک پیشنهاد شده‌اند [16].

اهمیت اتصال دستگاه‌های POCT و سوابق پزشکی الکترونیکی در این هست که باعث می‌شود نتایج آزمایش امکان اشتراک گذاری سریع داشته باشند. استفاده از دستگاه‌های تلفن همراه در تنظیمات مراقبت‌های بهداشتی، افراد ارائه‌دهنده مراقبت‌های بهداشتی را قادر می‌سازد تا به سرعت به نتایج آزمایش بیمار ارسال شده از دستگاه POCT دسترسی پیدا کنند [17, 18].

تست‌های POCT، همچنین با توجه به اینکه نتایجی را که در مدت چند دقیقه پس از انجام انجام می‌شوند، ارائه می‌دهند، امکان اقدامات مناسب و تصمیم‌گیری سریع در مورد فرآیند مراقبت از بیماران دندان‌پزشکی را میسر می‌سازند [19]. از طرفی نکته کلیدی در کاربرد POCTها بر بالین بیماران، نقشی است که این گروه از تست‌ها در تصمیم‌گیری گروه پزشکی دارند، زیرا می‌توانند باعث کم شدن زمان لازم تا رسیدن نمونه به آزمایشگاه مرکزی شوند [20].

آنالیت یک ماده شیمیایی یا بیولوژیکی است که با استفاده از ابزار خاصی مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد. در حالی‌که آزمایش نقطه مراقبت، تعیین کمیت یک آنالیت از یک نمونه آزمایشگاهی (مثلاً خون، پلاسما یا ادرار) است، آزمایش نقطه مراقبت چندگانه (xPOCT) که نوع پیچیده‌ترPOCTهای فعلی است، می‌تواند تعیین کننده کمیت همزمان آنالیت‌های مختلف از یک نمونه واحد باشند [11]. در واقع xPOCT کاربردهای نوظهور مهمی در تنظیمات با منابع محدود دارد (مثلاً در کشورهای در حال توسعه، در مطب پزشکان یا در خانه اخیراً برای تشخیص آزمایشگاهی به خصوص توسط افراد غیر متخصص اهمیت بیشتری یافته است).

xPOCT دارای مزایا و کاربردهای باورنکردنی برای مراقبت‌های بهداشتی و فناوری است. این امکان را برای فناوری مقرون به صرفه‌تر، سریع‌تر، قابل حمل، کمتر دردناک‌تر، کم‌تر پیچیده‌تر و در عین حال دقیق‌تر فراهم می‌کند که می‌تواند برای آزمایش شاخص‌های شرایطی که قبلاً به چندین نمونه و چندین ساعت یا چند روز برای انجام آن نیاز داشت، استفاده شود. علاوه بر پیامدهای آن در محیط بالینی، پیچیدگی و قابلیت حمل کم بسیاری از دستگاه‌های تست نقطه مراقبت چندگانه امکان استفاده از آن توسط افراد غیر متخصص را در خانه، هم برای کسانی که به سیستم‌های پایش سلامت در خانه و هم برای سایر مصارف دارویی شخصی نیاز دارند، می‌دهد. به نظر می‌رسد میزان بروز مثبت کاذب یا منفی کاذب کم باشد [21].

از طرفی اگرچه تشخیص چند آنالیت عمدتاً از طریق سه رویکرد مختلف به دست می‌آید، اما هدف این فناوری اغلب استفاده از مجموعه‌ای منفرد یا کوچک از نمونه‌های بیولوژیکی برای تقسیم یا جداسازی آنها برای سنجش است:

1) جداسازی منطقه‌ای با استفاده از بخش‌های مجزا از یک شبکه کانال یا آرایه‌ای از الکترودها
2) جداسازی فضایی مکان های شناسایی با کمک نقاط مختلف
3) استفاده از چندین برچسب مانند آنزیم‌ها، مولکول‌های ردوکس، دانه‌ها و رنگ‌ها

سایر دستگاه‌های xPOCT از طیف‌سنجی جرمی (MS) برای شناسایی مستقیم نشانگرهای زیستی استفاده می‌کنند [11]. برای مثال، دفع/یونیزاسیون لیزری با کمک ماتریس (MALDI)-MS برای شناسایی سریع عوامل بیماری‌زا استفاده می‌کنند، اما دستگاه‌هایی که از این فناوری استفاده می‌کنند معمولاً حجیم هستند که استفاده از آنها را دشوار می‌کند [21, 22].

4. پتنت ها و اختراعات(تجاری شده)

برخی پتنت‌های مربوط به تست نقطه مراقبت شامل موارد اشاره شده هستند که البته همه اختراعات نمی‌باشند. انواع فعلی دستگاه‌های تشخیصی که مورد استفاده قرار می‌گیرند عبارتند از:

سیستم‌های مبتنی بر کاغذ – سنجش جریان جانبی مانند تست‌های بارداری، که از نمونه‌هایی استفاده می‌کنند که با ذرات رنگی واکنش نشان می‌دهند و به دستگاه نیاز دارند تا امضای رنگ را بخواند [11].

سیستم‌های مبتنی بر چیپ – این پلتفرم ها، تنظیمات PoC را از طریق کوچک‌سازی، حمل‌پذیری، یکپارچه‌سازی و اتوماسیون عملکردهای سنجش چندگانه روی یک تراشه تسهیل می‌کنند [23].

سیستم‌های مبتنی بر دیسک – دیسک DVD اساساً یک میکروسکوپ اسکن لیزری نوری بسیار پیشرفته و کم هزینه است که توانایی ارائه تصاویر با وضوح بالا برای کاربردهای بیولوژیکی را دارد که به طور خاص برای رفع نیازها در تنظیمات با منابع محدود طراحی شده است [24].

در چند دهه گذشته، تست POCT شاهد نوآوری‌های شگفت انگیزی بوده است. هدف POCT مبتنی بر میکروفلوئیدیک ارائه نتایج سریع برای بهبود تشخیص و تشخیص بیماری با استفاده از حجم کمی از نمونه است. اگرچه دقت و حساسیت POCT در مقایسه با آزمایش‌های (روش های آزمایشگاهی) معمولی هنوز قابل بحث است و بایستی رقابت کند، اما همه‌گیری COVID-19 نیاز به پلتفرم‌های آزمایش سریع‌تر را برجسته کرد و باعث شد که POCT اهمیت بیشتری پیدا کنند. در جدول 1 برخی موارد تجاری معرفی شده اند [25].

جدول1: معرفی برخی موارد تجاری [11].

اسم	قیمت	عملکرد	نوع تست های قابل جوابدهی	نحوه ورودی نمونه خون	تصویر
microINR - Testing at home	$774.00	این سیستم تنها به 3 میکرولیتر خون مویرگی نیاز دارد و به گونه ای طراحی شده است که اجازه می دهد دستگاه اندازه گیری را برای نمونه برداری به انگشت ببرد، یا بالعکس. با استفاده از فناوری میکروسیال، این ابزار شامل یک سیستم بینایی مصنوعی تعبیه شده است که قابلیت های رابط و تشخیص را فراهم می کند. این سیستم(دستگاه) همچنین بهترین کیفیت ها را برای یک دستگاه تست INR قابل حمل ارائه می دهد که این موراد به ترتیب : بی نیازی به فشار دادن دکمه در طول آزمایش، شناسایی خودکار نوار، نیاز به حداقل حجم نمونه و طراحی آسان برای استفاده می باشند.	تعیین سطح INR با استفاده از خون مویرگی(capillary) **(y blood**	**نیش زدن انگشت بدون درد** : نیش زدن ملایم انگشت فعال سازی اجباری فاکتور بافت را کاهش می دهد - کمتر مستعد خطاهای حجم نمونه ناکافی است	

RAPIDLab® 1200 Systems	$250.00	آنالایزر گاز خون ®RAPIDLab 1200نیاز به تجزیه و تحلیل دقیق فرآیند را در تمام مراحل توسعه کاربردهای پردازش زیستی برطرف می کند. **ویژگی‌های آنالایزر:** فناوری مبتنی بر کارتریج با استفاده کاربری آسان نتایج برای همه پارامترها در حدود 60 ثانیه در دسترس است دارای منوی تست جامع همراه با رابط صفحه نمایش لمسی رنگی بصری اتوماسیون کامل QC و کالیبراسیون انطباق را تضمین می کند دمای نمونه های مختلف را بررسی میکند.(Accommodates)	آنالایزر گاز خون	سیستم نمونه برداری خودکار Biosafe با تشخیص و پاکسازی لخته	
CBC HemoScreen Analyzer	US $ 1799-2199	HemoScreen تجزیه و تحلیل خون را بسیار ساده می کند. از یک کارتریج یکبار مصرف استفاده می کند که شامل تمام معرف های لازم است و نیازی به نگهداری یا کالیبراسیون ندارد و برای آزمایش شمارش کامل خون(Blood Count test) عالی است.	شاخص های RBC، تعداد WBC، هموگلوبین، WBC 5-diff و پارامترهای پلاکتی را ارائه می دهد. همچنین برای ارزیابی خون‌شناسی نوزادان ایده‌آل است.	نتایج آزمایش ها در عرض 5 دقیقه تنها با استفاده از 20 میکرولیتر خون مویرگی/وریدی به دست می آید.	
sinocare	$12.39	نوار تست نیازی به کدگذاری ندارد، می توان آن را به طور خودکار شناسایی و با قرار دادن آن شناسایی کرد. این سیستم تشخیص فوق حساس می تواند قند خون را تنها در 5 ثانیه تشخیص دهد.	تست دیابت/ تست قند خون	نمونه خون 0.6 میکرولیتر	

5. نتیجه‌گیری

همچنانکه بررسی شد پردازش یک نمونه بیولوژیکی برای به دست آوردن نتایج نشانگرهای زیستی متعدد، امکان انجام آزمایش POCT را برای بیمارانی که ممکن است شرایطی داشته باشند که نیاز به تایید چندین نشانگر زیستی و آزمایش قبل از تشخیص دارند را میسر سازد (به عنوان مثال بسیاری از انواع سرطان‌ها [21]). در حقیقت POCT از غلظت آنالیت‌ها استفاده می‌کند تا اطلاعاتی در مورد وضعیت فیزیولوژیکی بیمار در اختیار کاربر قرار دهد [21].

6. مراجع

1. Kost, G.J., N.K. Tran, and R.F. Louie, *Point-of-Care Testing: Principles, Practice, and Critical-Emergency-Disaster Medicine.* Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation, 2006.
2. Quesada-González, D. and A. Merkoçi ,*Nanomaterial-based devices for point-of-care diagnostic applications.* Chemical Society Reviews, 2018. **47**(13): p. 4697-4709.
3. Nichols, J.H., *Point-of-care testing*, in *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*. 2020, Elsevier. p. 323-336.
4. Howick, J ,.et al., *Current and future use of point-of-care tests in primary care: an international survey in Australia, Belgium, The Netherlands, the UK and the USA.* BMJ open, 2014. **4**(8): p. e005611.
5. Luppa, P. and R. Junker, *Point-of-care testing: principles and clinical applications*. 2018: Springer.
6. St John, A., *The evidence to support point-of-care testing.* The Clinical Biochemist Reviews, 2010. **31**(3): p. 111.
7. Rooney, K.D. and U.M. Schilling, *Point-of-care testing in the overcrowded emergency department–can it make a difference?* Critical Care, 2014. **18**(6): p. 1-7.
8. King, K.R., et al., *Point-of-care technologies for precision cardiovascular care and clinical research: National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group.* JACC: Basic to Translational Science, 2016. **1**(1): p. 73-86.
9. Tolonen, U., et al., *A handheld nerve conduction measuring device in carpal tunnel syndrome.* Acta neurologica scandinavica, 2007. **115**(6): p. 390-397.
10. Spindel, S. and K.E. Sapsford, *Evaluation of optical detection platforms for multiplexed detection of proteins and the need for point-of-care biosensors for clinical use.* Sensors, 2014. **14**(12): p. 22313-22341.
11. Dincer, C., et al., *Multiplexed point-of-care testing–xPOCT.* Trends in biotechnology, 2017. **35**(8): p. 728-74.2
12. Plüddemann, A., et al., *Point-of-care testing for the analysis of lipid panels: primary care diagnostic technology update.* The British journal of general practice, 2012. **62**(596): p. e224.
13. Rapi, S., et al., *Point-of-care testing of cholesterol and triglycerides for epidemiologic studies: evaluation of the multicare-in system.* Translational Research, 2009. **153**(2): p. 71-76.
14. Qin, Z., et al., *Fighting COVID-19: integrated micro-and nanosystems for viral infection diagnostics.* Matter, 2020. **3** :(3)p. 628-651.
15. Song, Q., et al., *Point-of-care testing detection methods for COVID-19.* Lab on a Chip, 2021. **21**(9): p. 1634-1660.
16. Azzi, L., et al., *Diagnostic salivary tests for SARS-CoV-2.* Journal of dental research, 2021. **100**(2): p. 115-123.
17. Ventola, C.L., *Mobile devices and apps for health care professionals: uses and benefits.* Pharmacy and Therapeutics, 2014. **39**(5): p. 356.

18. Wang, X., et al., *Audio jack based miniaturized mobile phone electrochemical sensing platform.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2015. **209**: p. 677-685.

19. Shirazi, S., C.M. Stanford, and L.F. Cooper, *Testing for COVID-19 in dental offices: Mechanism of action, application, and interpretation of laboratory and point-of-care screening tests.* The Journal of the American Dental Association, 2021. **152**(7): p. 514-525.

20. Shaw, J.L.V., *Practical challenges related to point of care testing.* Practical laboratory medicine, 2016. **4**: p. 22-29.

21. Rusling, J.F., *Multiplexed electrochemical protein detection and translation to personalized cancer diagnostics.* Analytical chemistry, 2013. **85**(11): p. 5304-5310.

22. Araz, M.K., A.M. Tentori, and A.E. Herr, *Microfluidic multiplexing in bioanalyses.* Journal of Laboratory Automation, 2013. **18**(5): p. 350-366.

23. Arshavsky-Graham, S. and E. Segal, *Lab-on-a-chip devices for point-of-care medical diagnostics*. 2020, Springer.

24. Banerjee, I. and A. Russom, *Lab-on-DVD: Optical Disk Drive-Based Platforms for Point-of-Care Diagnostics*, in *Frugal Innovation in Bioengineering for the Detection of Infectious Diseases*. 2018, Springer. p. 23-38.

25. Sachdeva, S., R.W. Davis, and A.K. Saha, *Microfluidic point-of-care testing: commercial landscape and future directions.* Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2021: p. 1537.