

В.С.Камышников

СПРАВОЧНИК
по клинко-биохимическим
исследованиям и лабораторной
диагностике

3-е издание



Москва
«МЕДпресс-информ»
2009

УДК 616-076/078(035)
ББК 53.4я2
К18

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в любой форме и любыми средствами без письменного разрешения владельцев авторских прав.

Авторы и издательство приложили все усилия, чтобы обеспечить точность приведенных в данной книге показаний, побочных реакций, рекомендуемых доз лекарств. Однако эти сведения могут изменяться.

Внимательно изучайте сопроводительные инструкции изготовителя по применению лекарственных средств.

Камышников В.С.

К18 Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С.Камышников. — 3-е изд. — М. : МЕДпресс-информ, 2009. — 896 с. : ил.
ISBN 5-98322-303-8

В справочнике приведены сведения о современной методологии осуществления лабораторно-диагностических исследований, основывающихся на использовании фотометрического, ионометрического, иммунологического, генетического, молекулярно-биологического, электрофоретического, хроматографического и других видов анализа, выполняемых по технологии ручного и автоматизированного исследования, «жидкой» и «сухой» химии с применением тест-систем отечественного и импортного производства, выдержавших апробацию в лечебно-профилактических учреждениях России и стран СНГ.

Дано описание рекомендуемых к использованию в лабораторной медицине методов клинико-биохимического исследования: белково-азотистого обмена, активности многочисленных ферментов, углеводного, липидного, пигментного, водно-минерального, гормонального обмена, кислотно-основного состояния с клинической интерпретацией результатов лабораторного исследования у больных терапевтического и хирургического профиля.

Представлены также разделы, содержащие основные сведения о технологии и клиническом значении исследования морфологического состава крови, дана оценка иммунных реакций организма, физических, физико-химических свойств и состава мочи, содержимого желудка и двенадцатиперстной кишки, мокроты, цереброспинальной жидкости, трансудатов и экссудатов, синовиальной жидкости.

Справочник предназначен для широкого круга медицинских работников (специалистов клинической лабораторной диагностики, врачей-клиницистов), научных сотрудников, слушателей медицинских академий последиplomного образования, институтов усовершенствования врачей, студентов медицинских университетов и институтов, училищ, колледжей и медико-биологических учебных заведений.

УДК 616-076/078(035)
ББК 53.4я2

ISBN 5-98322-303-8

© Камышников В.С., 2004, 2009
© Оформление, оригинал-макет.
Издательство «МЕДпресс-информ», 2009

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|--|-----------|
| Предисловие | 16 |
| Раздел I. Общие принципы технологии выполнения клинических лабораторных исследований | 19 |
| Часть 1. Клинико-химический анализ и технология его осуществления | 19 |
| Клиническая химия как раздел клинической лабораторной диагностики; основные объекты исследования | 19 |
| Технологии выполнения биохимических исследований методами «жидкой» химии | 21 |
| Приготовление растворов реагентов, их исправление, способы выражения концентрации | 21 |
| Способы исправления растворов | 26 |
| Техника определения коэффициентов поправки для децинормальных растворов | 26 |
| Исправление растворов, коэффициент поправки которых больше 1 | 27 |
| Исправление растворов, коэффициент поправки которых меньше 1 | 28 |
| Приготовление точно санти-, милли- и другой нормальности растворов путем разбавления децинормальных растворов, имеющих фактор поправки | 28 |
| Методология установления содержания метаболитов и активности ферментов биологических жидкостей с использованием на конечном этапе исследования фотометрических и других способов регистрации результатов аналитического определения | 30 |
| Оптические методы количественного анализа | 30 |
| Абсорбционная фотометрия. Фотометры | 37 |
| Современные технологии автоматизированных клинико-биохимических исследований на основе абсорбционного фотометрического анализа (биохимические полуавто- и автоанализаторы) | 40 |
| Нефелометрия, турбидиметрия (иммунотурбидиметрия, лазерная нефелометрия, агрегатометрия, коагулометрия) | 57 |
| Эмиссионный анализ: флюориметрия и пламенная фотометрия. Атомно-эмиссионный спектральный анализ | 59 |
| Иммуноферментный анализ | 63 |
| Автоматизированные устройства для выполнения иммуноферментных исследований | 64 |
| Иммунофлюоресцентный анализ и аппаратура, используемая для его осуществления | 69 |
| Анализ, основывающийся на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР-технология) | 72 |
| Сатурационный анализ: принцип, методология и технология выполнения радиоуклидных исследований – радиоиммунологического анализа (РИА), иммунорадиометрического анализа (ИРМА) | 74 |

| | |
|--|------------|
| Ионометрическое (потенциометрическое) определение электролитов плазмы (сыворотки) крови и других биологических жидкостей..... | 81 |
| Способы фракционирования компонентов биологических жидкостей и тканей (общие представления об электрофорезе, хроматографии)..... | 81 |
| Электрофорез | 81 |
| Хроматография..... | 86 |
| Способы оценки результатов клинико-биохимического исследования на основании фотометрии продуктов реакции, высвобождаемых в конечной точке реакции и в ходе ее протекания | 91 |
| Оценка результатов по калибровочной кривой | 91 |
| Построение простой калибровочной кривой и ее проверка..... | 94 |
| Точная калибровочная кривая | 95 |
| Пример построения калибровочной кривой..... | 95 |
| Оценка результатов по градуировочной таблице..... | 97 |
| Расчет результатов по формуле, в условных единицах | 97 |
| Оценка результатов путем градуировки шкалы прибора | 98 |
| Выбор светофильтра..... | 98 |
| «Сухая» химия и ее использование в клинической лабораторной диагностике | 99 |
| Обозначение размерности показателей лабораторных тестов..... | 103 |
| Современные технологии выполнения автоматизированных гематологических исследований | 105 |
| Краткая характеристика отдельных представителей современных гематологических анализаторов | 108 |
| Проточная цитофлуориметрия..... | 112 |
| Взятие, хранение и доставка в лабораторию биологического материала | 114 |
| Установление диагностической значимости лабораторных тестов | 122 |
| Контроль качества лабораторных исследований..... | 125 |
| Внутри- и внелабораторные ошибки определения. Концептуальные основы влияния лекарственных препаратов на результаты лабораторных исследований.... | 144 |
| Раздел II. Клинико-химический анализ | 151 |
| Часть 2. Методы клинической химии и интерпретация получаемых с их использованием результатов..... | 151 |
| Исследование белкового обмена | 151 |
| Общий белок и белковые фракции | 151 |
| Способы определения общего белка в сыворотке (плазме) крови и других биологических жидкостях | 151 |
| Определение общего белка в сыворотке (плазме) крови биуретовым методом (методом Кингслея—Вейксельбаума) | 157 |
| Количественное определение белка в коротковолновом ультрафиолете | 160 |
| Определение содержания альбумина сыворотки (плазмы) крови | 161 |
| Определение содержания альбумина в сыворотке крови по реакции с бромкрезоловым зеленым | 167 |
| Количественное определение альбумина в сыворотке крови методом, основанным на биуретовой реакции (Слущкий Л.И., 1964)..... | 169 |
| Определение содержания общего белка и его фракций в моче | 170 |

| | |
|--|-----|
| Количественное турбидиметрическое определение белка в моче по помутнению, образуемому при добавлении сульфосалициловой кислоты..... | 170 |
| Колориметрические экспресс-методы определения белка в моче методами «жидкой» и «сухой» химии..... | 171 |
| Определение концентрации белка в моче колориметрическим методом с реактивом Брэдфорда..... | 172 |
| Клинико-диагностическое значение определения общего белка, альбумина в плазме (сыворотке) крови и моче..... | 173 |
| Интерпретация сдвигов в содержании общего белка в плазме (сыворотке) крови..... | 173 |
| Причины, обуславливающие изменение содержания альбумина в крови .. | 176 |
| Факторы, обуславливающие изменение экскреции белковых фракций с мочой..... | 179 |
| Исследование белкового спектра плазмы (сыворотки) крови | 184 |
| Основные требования к технологическим системам и процедуре осуществления зонального электрофореза (на хроматографической бумаге, ацетатцеллюлозной пленке, гелях) белков плазмы (сыворотки) крови..... | 185 |
| Основные требования к приборам, реагентной базе и процессу осуществления электрофореза | 185 |
| Особенности электрофоретического фракционирования белков сыворотки (плазмы) крови на ацетатцеллюлозе и агарозе..... | 192 |
| Методика электрофореза белков сыворотки крови на пленках из ацетатцеллюлозы (с использованием индикатора амидо черный 10 В)..... | 199 |
| Определение белковых фракций сыворотки крови методом электрофореза на пленках из ацетатцеллюлозы (с использованием в качестве красителя бромфенолового синего)..... | 201 |
| Определение содержания С-реактивного белка | 202 |
| Определение содержания в крови тропонина Т..... | 203 |
| Миоглобин как маркер деструктивных изменений в мышечной системе..... | 204 |
| Клинико-диагностическое значение исследования протеинограмм, интерпретация изменений содержания отдельных белковых фракций сыворотки (плазмы) крови..... | 205 |
| Пробы коллоидоустойчивости | 217 |
| Коагуляционная лента Вельтмана | 217 |
| Проба Вельтмана в модификации Тейфля..... | 218 |
| Клинико-диагностическое значение реакции Вельтмана..... | 219 |
| Тимолова проба..... | 219 |
| Тимолова проба по Хуэрго и Попперу..... | 220 |
| Клинико-диагностическое значение теста | 222 |
| Цинк-сульфатная проба..... | 223 |
| Определение содержания бета- и пре-бета-липопротеинов (апо-В-ЛП) сыворотки крови турбидиметрическим методом (по Бурштейну и Самаю) | 223 |
| Проба на содержание в крови патологической фракции липопротеинов – липопротеина X в сыворотке крови | 225 |
| Остаточный азот и его компоненты..... | 226 |

| | |
|---|-----|
| Определение остаточного азота крови гипобромитным методом (по Раппопорту—Эйхгорну) | 227 |
| Клинико-диагностическое значение исследования содержания остаточного азота в сыворотке крови | 229 |
| Мочевина и методы ее определения | 233 |
| Определение содержания мочевины в сыворотке крови и моче по цветной реакции с диацетилмонооксимом..... | 236 |
| Клинико-диагностическое значение исследования концентрации мочевины в сыворотке крови и моче..... | 238 |
| Определение содержания креатинина и креатина в крови и моче..... | 240 |
| Методы определения содержания креатинина с использованием реакции Яффе..... | 243 |
| Определение креатинина в сыворотке крови и моче по цветной реакции Яффе (метод Поппера и соавт.)..... | 243 |
| Процедура кинетического исследования содержания креатинина | 249 |
| Определение содержания креатинина и креатина в крови по методу Яффе..... | 250 |
| Определение содержания креатинина и креатина в моче по методу Яффе | 252 |
| Клинико-диагностическое значение исследования концентрации креатинина и креатина в сыворотке крови и моче..... | 253 |
| Геморенальные пробы (креатинина клиренс-тест)..... | 255 |
| Методика и техника выполнения пробы Реберга..... | 259 |
| Амлазокреатининовый индекс | 260 |
| Мочевая кислота..... | 262 |
| Определение содержания мочевой кислоты по методу Мюллера—Зейферта | 265 |
| Определение содержания мочевой кислоты методом ультрафиолетовой фотометрии..... | 267 |
| Клинико-диагностическое значение исследования содержания мочевой кислоты | 268 |
| Индикан | 274 |
| Определение содержания индикана в сыворотке крови и моче | 274 |
| Аммиак | 276 |
| Методы исследования аммиака..... | 276 |
| Оксид азота | 281 |
| Среднемолекулярные пептиды | 283 |
| Скрининговый метод определения уровня средних молекул (модификация способа А.Бабеля и соавт., 1974) | 284 |
| Модифицированный способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях | 285 |
| Ферменты | 288 |
| Ферменты плазмы (сыворотки) крови | 289 |
| Ферменты мочи | 293 |
| Определение активности альдолаз..... | 296 |
| Определение активности фруктозо-1,6-дифосфатальдолазы в сыворотке крови (метод В.И.Товарицкого, Е.Н.Волуйской в модификации В.В.Ананьева и В.В.Обуховой)..... | 297 |
| Определение активности фруктозо-1,6-дифосфатальдолазы в моче | 300 |
| Клинико-диагностическое значение исследования активности фруктозо-1,6-дифосфатальдолазы в сыворотке крови и моче..... | 300 |

| | |
|--|-----|
| Определение активности фруктозо-1-фосфатальдолазы (кетозо-1-фосфатальдолазы)..... | 302 |
| Определение активности аминотрансфераз..... | 303 |
| Колориметрический динитрофенилгидразиновый метод исследования активности аминотрансфераз в сыворотке крови (по Райтману, Френкелю, 1957) | 312 |
| Ход определения активности аспаратаминотрансферазы | 313 |
| Ход определения активности аланинаминотрансферазы | 314 |
| Клинико-диагностическое значение определения активности аминотрансфераз в сыворотке крови..... | 317 |
| Определение активности фосфатаз | 322 |
| Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови методом конечной точки по Бессею, Лоури, Броку..... | 329 |
| Определение активности щелочной и кислой фосфатаз в сыворотке крови по гидролизу бета-глицерофосфата (метод Бодански) | 332 |
| Клинико-диагностическое значение определения активности фосфатаз | 335 |
| Определение активности альфа-амилазы в сыворотке крови и моче | 339 |
| Определение активности альфа-амилазы методом Каравея | 343 |
| Модификация метода определения активности альфа-амилазы по Каравею .. | 345 |
| Определение активности альфа-амилазы в дуоденальном содержимом | 346 |
| Клинико-диагностическое значение определения активности альфа-амилазы в крови и моче..... | 347 |
| Определение общей активности лактатдегидрогеназы..... | 351 |
| Колориметрический динитрофенилгидразиновый метод определения активности лактатдегидрогеназы в сыворотке крови (по Севелу и Товареку) | 356 |
| Клинико-диагностическое значение определения общей активности ЛДГ и ее изоферментов | 359 |
| Определение активности изоэнзима ЛДГ ₁ или альфа-гидроксibuтиратдегидрогеназы в сыворотке (плазме) крови | 361 |
| Определение активности глутаматдегидрогеназы в сыворотке (плазме) крови | 363 |
| Определение активности креатинкиназы в сыворотке крови | 366 |
| Исследование активности панкреатической липазы в сыворотке крови | 373 |
| Определение активности липазы в сыворотке крови по Гольдштейну и Рою..... | 376 |
| Определение активности холинэстераз | 377 |
| Определение активности сывороточной холинэстеразы колориметрическим методом | 380 |
| Определение активности холинэстеразы в сыворотке крови экспресс-методом с применением индикаторной тест-полоски | 380 |
| Клинико-диагностическое значение исследования активности холинэстеразы сыворотки крови | 382 |
| Исследование активности гамма-глутамилтранспептидазы | 383 |
| Клинико-диагностическое значение определения активности гамма-глутамилтранспептидазы в сыворотке крови..... | 390 |
| Определение активности лейцинаминопептидазы в сыворотке крови и моче | 395 |
| Исследование углеводного обмена..... | 397 |
| Методы определения содержания глюкозы в крови | 397 |

| | |
|---|-----|
| Технология скрининговой оценки содержания глюкозы в крови, моче и других биологических жидкостях..... | 405 |
| Условия повышения надежности аналитического определения..... | 407 |
| Определение в моче кетоновых тел и глюкозы с использованием диагностических полосок..... | 408 |
| Качественная проба на содержание глюкозы в моче (с реактивом Гайнеса) | 408 |
| Определение глюкозы в крови и моче по цветной реакции с ортотолуидином | 409 |
| Определение содержания глюкозы ферментативными методами..... | 414 |
| Определение содержания фруктозы в сперме..... | 414 |
| Факторы, обуславливающие поддержание и нарушение гомеостаза глюкозы в организме..... | 415 |
| Тесты толерантности к углеводам..... | 425 |
| Тесты толерантности к глюкозе (ТТГ) | 425 |
| Характеристика гликемических кривых у детей раннего возраста при нагрузке различными углеводами..... | 430 |
| Методы исследования углеводсодержащих белков и их компонентов в крови | 431 |
| Исследование содержания в крови связанных с белками гексоз | 433 |
| Определение содержания в сыворотке крови связанных с белками гексоз по их реакции с орциновым реактивом..... | 433 |
| Метод раздельного определения содержания гексоз гликопротеинов и гликозаминогликанов в сыворотке крови по реакции с орцином | 434 |
| Клинико-диагностическое значение определения общего содержания гексоз, гликопротеинов и гликозаминогликанов в сыворотке крови | 435 |
| Исследование уровня серогликоидов в крови..... | 436 |
| Определение уровня серогликоидов в сыворотке крови по содержанию в них гексоз | 437 |
| Турбидиметрический метод определения уровня серогликоидов в сыворотке крови..... | 438 |
| Клинико-диагностическое значение определения серогликоидов и фракций гликопротеинов в сыворотке крови..... | 439 |
| Отдельные представители фракции гликопротеинов: методы их исследования и интерпретация результатов..... | 440 |
| Определение уровня гаптоглобина в сыворотке крови..... | 441 |
| Определение содержания (активности) церулоплазмينا | 444 |
| Определение уровня церулоплазмينا в сыворотке крови методом Равина..... | 446 |
| Метод определения активности церулоплазмينا с использованием роданида калия | 447 |
| Клинико-диагностическое значение определения активности церулоплазмينا в сыворотке крови..... | 449 |
| Способ идентификации гомозиготных и гетерозиготных фенотипов церулоплазмينا | 450 |
| Определение содержания фибриногена | 451 |
| Гравиметрический метод определения содержания фибриногена плазмы (по Рутбергу) | 451 |
| Исследование гликированных белков (гликозилированного альбумина и гемоглобина) в плазме крови..... | 453 |
| Методы определения гликозилированного гемоглобина | 454 |
| Определение содержания фруктозамина | 457 |

| | |
|---|-----|
| Методология исследования содержания сиаловых кислот | 462 |
| Определение содержания сиаловых кислот по методу Гесса | 462 |
| Определение уровня сиаловых кислот в сыворотке крови по реакции с резорцином (по Свеннерхольму) | 463 |
| Клинико-диагностическое значение определения содержания сиаловых кислот в сыворотке крови | 465 |
| Интерпретация сдвигов в содержании отдельных углеводно-белковых комплексов, сиаловых кислот и белковых фракций сыворотки (плазмы) крови при воспалительных процессах в организме (пневмониях и др.) | 465 |
| Методы исследования метаболитов углеводного обмена | 467 |
| Определение уровня пировиноградной кислоты в крови модифицированным методом Умбрайта | 468 |
| Определение содержания пировиноградной кислоты энзимным методом | 469 |
| Клинико-диагностическое значение исследования пировиноградной кислоты в крови | 470 |
| Определение уровня молочной кислоты | 470 |
| Исследование обмена липидов | 472 |
| Методология исследования общих липидов и их фракций | 474 |
| Определение уровня общих липидов в сыворотке крови по цветной реакции с сульфюфосфованилиновым реактивом | 475 |
| Клинико-диагностическое значение определения уровня общих липидов в плазме (сыворотке) крови | 477 |
| Холестерол | 478 |
| Методы определения общего холестерина | 479 |
| Метод определения уровня общего холестерина в сыворотке крови, основанный на реакции Либермана—Бурхарда (метод Илька) | 484 |
| Методические аспекты определения концентрации свободного и эстерифицированного холестерина в сыворотке (плазме) крови | 486 |
| Непрямой метод определения уровня свободного и эстерифицированного холестерина в сыворотке крови по реакции Златкиса—Зака | 488 |
| Определение уровня свободного и эстерифицированного холестерина в сыворотке крови прямым методом, основанным на реакции Либермана—Бурхарда | 489 |
| Определение уровня свободного и эстерифицированного холестерина в плазме (сыворотке) крови по Н.Станкевичене | 491 |
| Клинико-диагностическое значение исследования холестерина в сыворотке (плазме) крови | 491 |
| Общие фосфолипиды крови и технология их определения | 492 |
| Определение уровня общих фосфолипидов в сыворотке крови по содержанию липидного фосфора | 493 |
| Клинико-диагностическое значение исследования концентрации общих фосфолипидов в сыворотке крови | 495 |
| Разделение фосфолипидов сыворотки методом тонкослойной хроматографии | 495 |
| Методы определения уровня триацилглицеринов в сыворотке крови | 496 |
| Определение содержания триацилглицеринов в сыворотке крови колориметрическим методом (по Gottfried and Rosenberg, 1973) | 499 |

| | |
|---|-----|
| Исследование фракционного состава общих липидов плазмы крови | 500 |
| Клинико-диагностическое значение определения содержания триацилглицеринов и свободных жирных кислот в сыворотке крови | 501 |
| Состав и свойства липопротеинов плазмы крови | 502 |
| Методы фракционирования липопротеинов..... | 506 |
| Определение содержания отдельных липопротеинов методами зонального электрофореза и иммунного анализа..... | 507 |
| Электрофорез липопротеинов в геле агарозы (Титов В.Н., Кантраджян И.Г., Филиппов И.К., 1978) | 512 |
| Липопротеиновое распределение холестерина и значение его исследования для оценки липидного профиля сыворотки (плазмы) крови | 514 |
| Методика установления содержания общего (свободного и эфирсвязанного) холестерина в липопротеинах высокой плотности (ХС-ЛПВП)..... | 516 |
| Метод определения уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (альфа-холестерола) | 519 |
| Значение исследования фракционного состава холестерина ЛПВП для оценки холестеролового коэффициента атерогенности липопротеинового спектра плазмы (сыворотки) крови | 521 |
| Методика определения холестеролового коэффициента атерогенности с учетом фракционного состава ХС-ЛПВП и значение ее использования для диагностики атипично проявляющегося атеросклероза | 521 |
| Дополнительные биохимические тесты оценки атерогенеза и других нарушений липидного обмена | 526 |
| Клинико-диагностическое значение исследования липопротеинового распределения общего холестерина и липидно-белкового спектра плазмы..... | 527 |
| Фенотипирование дислипидемий | 529 |
| Апопротеины (апо-А, апо-В и др.): клинико-диагностическое значение определения..... | 536 |
| Эритроциты и значение их исследования для диагностики нарушений липидного обмена | 537 |
| Метод определения общего содержания холестерина и фосфолипидов в эритроцитах..... | 537 |
| Основные методические аспекты исследования липидного обмена при атеросклерозе и других формах холестериноза..... | 538 |
| Способы коррекции метаболических нарушений при атеросклерозе и значение их использования для профилактики и лечения ИБС | 539 |
| Система перекисное окисление липидов— антиоксидантная защита организма | 540 |
| Антиоксидантные системы..... | 545 |
| Клинико-диагностическое значение исследования и основные приемы коррекции функциональной активности системы ПОЛ—антиоксидантная защита организма | 546 |
| Спектрофотометрическое определение содержания ацилгидроперекисей (диеновых конъюгатов) в плазме (сыворотке) крови..... | 548 |
| Определение диеновых конъюгатов и диенкетонов модифицированным методом Плацера и соавт. (1976) | 549 |

| | |
|--|-----|
| Определение содержания ТБК-активных веществ (малонового диальдегида) в эритроцитах крови | 549 |
| Определение уровня альфа-токоферола в плазме крови..... | 550 |
| Определение проницаемости эритроцитарных мембран (осмотической стойкости эритроцитов)..... | 551 |
| Исследование пигментного обмена | 553 |
| Методы определения билирубина в сыворотке крови..... | 556 |
| Определение содержания билирубина и его фракций в сыворотке крови колориметрическим диазометодом (по Йендрашику–Клеггорну–Грофу)..... | 562 |
| Экспресс-метод определения содержания билирубина в капиллярной крови (скрининговый тест по А.С.Логинову, 1982)..... | 563 |
| Определение показателей пигментного обмена методом «сухой» химии с использованием диагностических полосок («Cormay Uritest-2») | 564 |
| Микрометод определения содержания билирубина в капиллярной крови у новорожденных | 564 |
| Построение калибровочной кривой для определения содержания билирубина сыворотки крови | 566 |
| Метод с использованием готовых к употреблению (коммерческих) наборов реактивов..... | 567 |
| Клинико-диагностическое значение исследования пигментного обмена..... | 568 |
| Обмен порфиринов и их биологическая роль. Порфирии и порфирурии, стерко- и мезобилируинурии..... | 578 |
| Методы исследования уробилиноидов, порфиринов, их предшественников | 581 |
| Прямое определение содержания уробилиногена в моче и кале (метод Watson, модификация Henry)..... | 582 |
| Определение уровня порфиринов в моче | 585 |
| Определение содержания порфобилиногена в моче (качественная реакция) | 585 |
| Особенности нарушения порфиринового обмена при отдельных видах порфирий (порфирурий), их клинические проявления | 586 |
| Водно-электролитный обмен | 588 |
| Исследование минерального обмена | 597 |
| Определение содержания электролитов (калия, натрия, кальция)..... | 597 |
| Исследование содержания калия и натрия в крови и моче методом пламенной фотометрии | 599 |
| Клинико-диагностическое значение исследования электролитов плазмы | 604 |
| Методы определения уровня кальция в сыворотке (плазме) крови..... | 607 |
| Определение уровня общего кальция в сыворотке крови фотометрическим методом, основанным на реакции с глиоксаль-бис-(2-оксанилом) | 611 |
| Клинико-диагностическое значение определения уровня кальция в сыворотке крови..... | 612 |
| Исследование уровня магния в сыворотке (плазме) крови, эритроцитах, моче..... | 613 |
| Определение содержания магния в сыворотке (плазме) крови и эритроцитах по цветной реакции с титановым желтым..... | 614 |
| Клинико-диагностическое значение определения содержания магния в сыворотке (плазме) крови..... | 615 |
| Методы определения концентрации хлорид-ионов в крови, моче и спинномозговой жидкости | 618 |

| | |
|--|-----|
| Определение содержания ионов хлора в сыворотке крови, моче и спинномозговой жидкости меркуриметрическим методом с индикатором дифенилкарбазоном | 621 |
| Метод фотометрического определения содержания хлорид-ионов в сыворотке, плазме крови, спинномозговой жидкости, моче | 623 |
| Клинико-диагностическое значение определения хлорид-ионов в биологических жидкостях | 624 |
| Исследование содержания неорганического фосфора | 625 |
| Определение содержания неорганического фосфора в сыворотке крови и моче по восстановлению фосфорномолибденовой кислоты | 627 |
| Клинико-диагностическое значение определения уровня неорганического фосфора в сыворотке крови и моче | 628 |
| Исследование уровня железа и железосвязывающей способности сыворотки крови | 629 |
| Батофенантролиновый метод определения содержания железа сыворотки крови | 632 |
| Определение общей (ОЖСС) и ненасыщенной (НЖСС) железосвязывающей способности сыворотки крови | 633 |
| Значение определения ферритина сыворотки крови | 635 |
| Клинико-диагностическое значение определения железа и железосвязывающей способности сыворотки крови | 636 |
| Медь | 639 |
| Определение содержания меди в сыворотке крови методом Шмидта в модификации А.Г.Рахманкулова и И.А.Коптевой | 639 |
| Кислотно-основное состояние | 641 |
| Показатели оценки кислотно-основного состояния | 644 |
| Основные причины формирования нарушений кислотно-основного состояния | 648 |
| Исследование гормонально-медиаторного обмена | 654 |
| Общее представление о гормонах и механизме их действия. Классификация | 654 |
| Гормоны гипофиза | 657 |
| Гормоны гипоталамуса | 658 |
| Эктопические гормоны | 659 |
| Гормоны коры надпочечников | 659 |
| Методы определения содержания 17-кетостероидов в моче | 662 |
| Определение содержания 17-кетостероидов в моче по реакции с метадинитробензолом | 664 |
| Клинико-диагностическое значение определения 17-кетостероидов в моче, 17-альфа-гидроксипрогестерона, дегидроэпиандростерона в крови | 669 |
| Определение уровня кортикостероидов в моче | 670 |
| Определение уровня 17-оксикортикостероидов в моче по реакции с фенилгидразином после ферментативного гидролиза (метод Silber, Porter, 1957, в модификации Н.А.Юдаева и М.А.Креховой, 1960) | 672 |
| Клинико-диагностическое значение определения свободных и суммарных 17-оксикортикостероидов в моче | 675 |
| Определение уровня кортикостероидов в периферической крови | 675 |

| | |
|---|------------|
| Определение уровня 11-оксикортикостероидов в плазме крови по их флюоресценции в серно-спиртовом реактиве (Панков Ю.А., Усватова И.Я., 1965)..... | 676 |
| Клинико-диагностическое значение определения кортикостероидов в плазме крови | 677 |
| Функциональные нагрузочные тесты и их использование для выявления нарушений в системе гипоталамус–гипофиз–кора надпочечников | 680 |
| Стимуляционные тесты | 680 |
| Тесты подавления | 681 |
| Половые гормоны..... | 682 |
| Мужские половые гормоны..... | 682 |
| Женские половые гормоны | 685 |
| Щитовидная железа и ее гормоны | 693 |
| Поджелудочная железа как эндокринный орган | 699 |
| Гормоны мозгового слоя надпочечников (катехоламины) | 703 |
| Методы исследования катехоламинов | 703 |
| Определение содержания адреналина, норадреналина, дофамина и диоксифенилаланина (ДОФА) в одной порции мочи (Матлина Э.Ш., Киселева З.М., Софиева И.Э., 1965) | 705 |
| Методы определения метилированных продуктов обмена катехоламинов в моче | 714 |
| Одновременное количественное определение содержания ванилил-миндальной и гомованилиновой кислот в моче | 715 |
| Клинико-диагностическое значение исследования обмена катехоламинов | 716 |
| 5-гидрокситриптамин (серотонин) – 5-гидроксииндолуксусная кислота | 719 |
| Определение уровня 5-гидрокситриптамина в крови флюориметрическим методом по реакции с о-фтальевым диальдегидом..... | 721 |
| Определение содержания 5-гидроксииндолуксусной кислоты в моче..... | 722 |
| Определение содержания 5-гидроксииндолуксусной кислоты в моче по реакции с альфа-нитрозо-бета-нафтолом (Камышников В.С., 1968) ... | 724 |
| Метод определения свободной и связанной форм 5-ОИУК в моче (в модификации Н.Г.Шафрановой и Н.И.Крюковой, 1983)..... | 726 |
| Клинико-диагностическое значение исследования обмена 5-гидрокситриптамина..... | 727 |
| Гистамин–гистаминаза | 729 |
| Определение содержания гистамина в цельной крови по флюоресценции продуктов, образующихся при реакции с о-фтальевым диальдегидом (модификация С.А.Мещеряковой)..... | 731 |
| Определение активности гистаминазы в сыворотке крови..... | 733 |
| Клинико-диагностическое значение исследования системы гистамин–гистаминаза..... | 735 |
| Раздел III. Гематологические исследования, интерпретация результатов | 737 |
| Часть 3. Морфологический состав крови | 737 |
| Клеточные элементы крови и клинико-диагностическое значение их исследования | 737 |
| Эритроциты | 737 |
| Ретикулоциты..... | 743 |

| | |
|--|------------|
| Гемоглобин | 744 |
| Гематокрит | 745 |
| Гемограмма | 746 |
| Цветовой показатель | 746 |
| Лейкоциты и их разновидности | 746 |
| Лейкоциты (общие сведения о клетках крови и причинах, обуславливающих изменение их содержания в крови) | 746 |
| Лейкоцитарная формула | 748 |
| Лимфоциты | 749 |
| Нейтрофилы | 750 |
| Эозинофилы | 752 |
| Базофилы | 752 |
| Моноциты | 753 |
| Плазматические клетки, плазмоциты | 754 |
| Тромбоциты | 754 |
| Раздел IV. Общеклинические исследования, интерпретация результатов | 757 |
| Часть 4. Моча, ее лабораторное исследование | 757 |
| Часть 5. Содержимое желудка и двенадцатиперстной кишки, его исследование | 770 |
| Методы получения и исследования содержимого желудочно-кишечного тракта | 771 |
| Химическое исследование желудочного содержимого | 772 |
| Беззондовые методы определения кислотности желудочного сока | 774 |
| Определение активности уропепсина, или пепсина мочи (по В.Н.Туголкузову) | 774 |
| Характеристика отдельных фаз многомоментного дуоденального зондирования | 777 |
| Часть 6. Содержимое кишечника, его исследование | 781 |
| Часть 7. Мокрота, ее лабораторное исследование | 789 |
| Свойства и состав мокроты при отдельных заболеваниях внутренних органов | 791 |
| Часть 8. Исследование цереброспинальной жидкости (ликвора) | 792 |
| Физические свойства ликвора: прозрачность, окраска, относительная плотность, реакция (рН) | 794 |
| Химическое исследование ликвора | 795 |
| Микроскопическое исследование ликвора | 796 |
| Синдромы цереброспинальной жидкости | 798 |
| Картина цереброспинальной жидкости при поражениях головного мозга | 799 |
| Часть 9. Транссудаты и экссудаты, лабораторное исследование | 801 |
| Часть 10. Исследование синовиальной жидкости и биоптата синовиальной оболочки сустава | 804 |
| Раздел V. Иммунологические исследования | 806 |
| Часть 11. Иммунные реакции организма и их клиническая оценка | 806 |
| Центральные органы иммунитета, Т-, В-лимфоциты | 807 |
| Другие факторы неспецифической защиты | 811 |
| Факторы гуморального иммунитета (антитела, иммуноглобулины) | 811 |
| Мононуклеарно-фагоцитарная система | 813 |
| Иммунологический статус и чувствительность организма | 813 |
| Алгоритм иммунного ответа | 816 |
| Первичный и вторичный иммунодефицит | 817 |

| | |
|--|-----|
| Особенности изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета при отдельных формах патологии | 819 |
| Особенности изменения содержания иммуноглобулинов отдельных классов при наиболее распространенных заболеваниях..... | 821 |
| Клинико-диагностическое значение исследования факторов гуморального иммунитета..... | 822 |
| IgA | 822 |
| IgG | 822 |
| IgM..... | 822 |
| IgG (аллергенспецифические)..... | 823 |
| IgE (аллергенспецифические) | 823 |
| Реакция торможения миграции лейкоцитов | 823 |
| Комплементарная активность сыворотки | 823 |
| Фагоцитарная активность нейтрофилов..... | 824 |
| | |
| Приложения | 826 |
| Нормы (референтные величины) лабораторных показателей..... | 826 |
| Сведения о предприятиях и фирмах, обеспечивающих внедрение приоритетных технологий лабораторно-диагностического исследования в практику лабораторной медицины, а также участвующих в материально-техническом оснащении клинико-диагностических лабораторий лечебно-профилактических организаций современными оборудованием, тест-системами, расходным и контрольным биологическим материалом. | 852 |
| Алфавитный указатель | 871 |

ПРЕДИСЛОВИЕ

Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике представляет собой большое информационное и учебно-практическое пособие, предназначающееся для широкого круга специалистов в области клинической лабораторной диагностики – врачей и биологов клинико-диагностических лабораторий (врачей клинической лабораторной диагностики), медицинских технологов и лабораторных техников, фельдшеров-лаборантов и лаборантов клинико-диагностических лабораторий, а также врачей-клиницистов, научных работников, слушателей академий последипломного образования (МАПО), институтов усовершенствования врачей и студентов учебных заведений медико-биологического профиля.

В книге отражены современные методологии и технологии выполнения клинико-лабораторных исследований, трактовка результатов анализа.

Справочник включает в себя 5 разделов (11 частей).

В первой части книги – «Клинико-химический анализ и технология его осуществления» – изложена стройная система представлений о методологии выполнения клинико-лабораторного анализа, включающая сведения о подготовке к его осуществлению, принципах практической реализации в лаборатории и правильной, с учетом характера проводимой лекарственной терапии, оценке результатов.

В ней даются общие представления о клинической химии как важном разделе клинической лабораторной диагностики, многообразии объектов ее изучения, о приготовлении растворов и способах выражения их концентрации, современной технологии установления содержания субстратов, метаболитов, специфических белков, электролитов и активности ферментов различных биологических жидкостей с использованием фотометрических и других видов исследований.

Детально описываются широко применяемые в последние годы способы оценки результатов фотометрического исследования по конечной точке, методом фиксированного времени кинетического исследования, по калибровочной кривой. Приведены требования к обозначению размерности показателей лабораторных тестов, методике установления их диагностической значимости, осуществлению внутреннего и внешнего контроля качества выполнения клинико-лабораторных исследований. Даются сведения об основных причинах внутри- и внелабораторных ошибок определения, патохимических механизмах влияния лекарственных препаратов на результаты клинико-лабораторных исследований.

Большое внимание уделено не только оптическим методам количественного анализа – абсорбционной и эмиссионной фотометрии (флюориметрии, пламенной фотометрии), но также иммуноферментному, иммунофлуоресцентному, сатурационному (радиоиммунологическому) анализу, ионометрическому определению содержания электролитов плазмы, анализу, основанному на использовании методов «сухой» химии, полимеразной цепной реакции, фракционирования компонентов биологических жидкостей и тканей методами электрофореза и хроматографии.

Особое место отведено используемым в настоящее время технологиям автоматизированных клинико-биохимических исследований (биохимическим полуавто- и автоанализаторам), а также устройствам для выполнения в автоматическом режиме иммуноферментных и гематологических исследований.

Автор справочника стремился не только отразить в книге выдержавшие проверку временем клинико-биохимические методы, в том числе разработанные российскими и белорусскими учеными (химиками-аналитиками, специалистами клинической лабораторной диагностики), но также дать сравнительную оценку методов, реализуемых с применением импортных наборов реагентов, отразить основные тенденции развития технологии клинико-лабораторного исследования, перспективы его дальнейшего совершенствования.

Вторая часть книги — «Методы клинической химии и интерпретация полученных с их использованием результатов» — включает описание рекомендуемых к применению способов исследования белково-азотистого, углеводного, липидного, пигментного, водно-минерального обмена, оценки кислотно-основного состояния, активности многочисленных ферментов, выполняемых с применением отечественных наборов реагентов и тест-систем, поставляемых в лечебно-профилактические учреждения иностранными фирмами, хорошо зарекомендовавшими себя качеством продукции.

Описание технологии исследования предваряется не только обзором используемых для исследования конкретного пути метаболизма методов лабораторного анализа, но и основными сведениями о состоянии процессов обмена в организме человека в условиях нормы и патологии. Интерпретация получаемых при использовании биохимических методов результатов исследований касается сдвигов, определяемых у больных терапевтической и хирургической формами патологии. При этом обращается внимание на перечень лекарственных средств, способных существенно исказить результаты выполнения отдельных видов лабораторного анализа.

В книге весьма большое внимание уделено характеристике лабораторно-диагностических тест-систем широко известных в мире фирм-производителей, а также анализу различных методологий и технологий клинико-лабораторного исследования. Это позволяет специалистам клинической лабораторной диагностики творчески подходить к выбору необходимых им методик исследования, отдавая предпочтение тем из них, которые в наибольшей мере подходят к имеющемуся в лаборатории измерительному оборудованию.

Представлены также большие разделы (III—XI части справочника), содержащие основные сведения о технологии и клиническом значении исследования морфологического состава крови, мочи, содержимого желудка и двенадцатиперстной кишки, мокроты, цереброспинальной жидкости, трансудатов и экссудатов, синовиальной жидкости, иммунных реакций организма.

В справочнике нашел отражение накопленный за многие годы преподавательской работы на кафедре клинической лабораторной диагностики Белорусской медицинской академии последипломного образования личный опыт автора, связанный, в частности, с разработкой им (в процессе выполнения научно-исследовательской работы) оригинальных, доступных к использованию в ординарных клинико-диагностических лабораториях новых способов исследования (липопротеинового распределения свободного и эстерифицированного холестерина и др.) и испытанием предлагаемых к внедрению лабораторно-диагностических систем (наборов реагентов и оборудования) фирм дальнего зарубежья.

Все вышеизложенное позволяет надеяться, что справочник окажется весьма полезным в практической деятельности специалистов многих клинических и параклинических специальностей и прежде всего — в области клинической лабораторной диагностики.

*В.С. Камышников,
профессор, доктор медицинских наук,
заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики
Белорусской медицинской академии
последипломного образования*

РАЗДЕЛ I. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ТЕХНОЛОГИИ ВЫПОЛНЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

ЧАСТЬ 1. КЛИНИКО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ТЕХНОЛОГИЯ ЕГО ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

КЛИНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ КАК РАЗДЕЛ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ; ОСНОВНЫЕ ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая лабораторная диагностика — область медицинской науки, занимающаяся изучением закономерностей изменения состава и свойств биологических жидкостей, клеточных и неклеточных элементов тканей в процессе перехода физиологического состояния организма в патологическое, а также в ходе нормализации процессов жизнедеятельности; установлением лабораторных критериев нормы и патологии, разработкой новых технологий клиничко-лабораторного исследования, повышающих эффективность диагностики заболевания, оценки прогноза и тяжести его течения, контроля за осуществлением медикаментозной терапии. Она возникла и сформировалась на стыке клинической медицины и ряда фундаментальных наук: химии, физики, биологии.

Клиническая лабораторная диагностика включает в себя клиническую химию (клиническую биохимию), клиническую гематологию, общеклинические методы исследования, а также клиническую цитологию, иммунологию, микробиологию, микологию, клиническую лабораторную паразитологию и токсикологию. В настоящее время в крупных, хорошо оснащенных клиничко-диагностических лабораториях с помощью биохимических методов исследования выполняется до 80% лабораторных анализов. Преимущественное использование методов клинической химии объясняется прежде всего тем, что в основе патогенеза большинства заболеваний лежит вторичное и первичное нарушение обмена веществ.

Благодаря обнаружению врожденных дефектов в процессах метаболизма выделены особые нозологические формы — так называемые «молекулярные болезни». Из более чем 2000 известных наследственных заболеваний около 600 являются ферментопатиями; для некоторой их части точно известен уровень

«метаболического блока». Отмечаемое преобладание биохимических исследований над остальными объясняется и тем, что технологические приемы осуществления химического и физико-химического анализа значительно более разнообразны по сравнению с техникой микроскопии. В связи с изложенным клиническая химия рассматривается как один из главных разделов клинической лабораторной диагностики.

Основными объектами клинико-химического исследования являются: содержимое сосудов и полостей (кровь, спинномозговая жидкость, трансудаты), выделения человеческого организма, ткани.

В настоящее время наиболее широко используемым биологическим материалом считается кровь и моча. К сожалению, незаслуженно мало внимания уделяется изучению эритроцитов, лейкоцитов, слюны, спинномозговой жидкости, содержимого полостей суставов, конденсата паров выдыхаемой влаги. В последние годы анализу подвергаются волосы, ногти, чешуйки кожи и др.

Эритроциты крови принято рассматривать как своеобразный биопунктат тканей. Несмотря на специфические особенности устройства их мембран, в липидном составе эритроцитов много общего с таковым клеток других паренхиматозных органов, прежде всего сердца и печени. Поэтому, констатируя сдвиги в липидном составе эритроцитов, можно составить представление об аналогичных изменениях в клетках других тканей. Это особенно важно для диагностики атеросклероза как одного из проявлений холестериноза. Уже на ранних этапах становления этой распространенной формы мембранной патологии возникают сдвиги в соотношении между содержанием холестерина и общих фосфолипидов в эритроцитах, основная масса которых приходится на мембраны. Примечательно, что алиментарный фактор (различия в питании, нагрузка жирами) практически не сказывается на липидном составе эритроцитов; изменения же его при атеросклерозе значительно опережают липидные нарушения в плазме крови. Еще большую информативность дает исследование фракционного состава холестерина эритроцитов. Так, при инфаркте миокарда отмечено снижение содержания эфирсвязанного холестерина и увеличение – свободного. По мере прогрессирования атеросклероза коронарных артерий, приводящего к формированию инфаркта миокарда, резко повышается активность гидролитических ферментов лейкоцитов (в частности, щелочной фосфатазы), тогда как активность окислительно-восстановительных ферментов, наоборот, падает. Для регистрации этих метаболических сдвигов с успехом могут быть применены цитохимические (полуколичественные) методы анализа.

Помимо традиционно известных биологических жидкостей для определения активности альфа-амилазы, содержания хлоридов, мочевины, гормонов, в том числе альдостерона, кортизола, некоторых других компонентов может быть использована слюна.

Благодаря изучению состава конденсата паров выдыхаемой влаги значительно расширились представления о выделительной функции легких. В конденсате обнаружены не только летучие, но и нелетучие продукты, в том числе биогенные амины и другие высокомолекулярные физиологически важные вещества (Г.И.Сидоренко, Э.И.Зборовский, Н.В.Сыромятникова и др.).

Большое значение имеет исследование экскретов потовых – на содержание хлоридов (главным образом, для диагностики муковисцидоза) и солей железа. Показано, например, что у больных ревматизмом и ишемической болезнью сердца происходят характерные сдвиги в составе липидов, экскретируемых солями железами кожи.

Для диагностики отдельных форм сердечно-сосудистой патологии могут быть использованы волосы. рядом исследователей обнаружено, что содержание кальция в них при инфаркте миокарда падает почти в десять раз.

Использование нетрадиционного биологического материала, а также отдельных, предварительно выделенных компонентов известных биологических жидкостей, например липопротеинов высокой плотности, атерогенных липопротеинов плазмы, эритроцитов крови, значительно повышает информативность клинико-химического исследования.

В настоящее время клиническая лабораторная диагностика поставляет практическому здравоохранению основной объем (до 90%) объективной информации, необходимой для своевременного принятия правильного клинического решения и контроля за эффективностью проводимого лечения.

Достижение более высокого качества клинической лабораторной диагностики на ранних стадиях формирования заболеваний возможно при условиях разработки и внедрения новых технологий лабораторно-диагностического исследования, совершенствования материально-технического обеспечения выполнения клинических лабораторных исследований и кадровой политики в службе клинической лабораторной диагностики, деятельность которой представляет комплекс научных, лечебно-диагностических, образовательных, организационных, экономических и других мероприятий, направленных на повышение уровня оказания медицинской помощи населению страны.

ТЕХНОЛОГИИ ВЫПОЛНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДАМИ «ЖИДКОЙ» ХИМИИ

Приготовление растворов реагентов, их исправление, способы выражения концентрации

Растворение химических веществ является обязательным условием осуществления в организме различных метаболических процессов и выполнения большинства биохимических исследований, в связи с чем необходимо иметь как можно более полное представление обо всем многообразии растворов, их свойствах и способах выражения концентрации.

Раствор — это жидкая, газообразная или твердая гомогенная система, состоящая из двух или более компонентов, относительные количества которых могут быть произвольно изменены в довольно широких пределах.

Жидкие растворы подразделяют на *водные и неводные*. И те и другие представляют собой однородную физико-химическую дисперсную систему, в которой равномерно по отношению друг к другу распределены частицы растворенного вещества, растворителя и продукты их взаимодействия. Обычно растворителем считают тот компонент, который в чистом виде существует в таком же агрегатном состоянии, что и полученный раствор. Если обе составные части системы до растворения находились в одинаковом агрегатном состоянии (например, спирт и вода), то растворителем считается жидкость, взятая в большем количестве.

В зависимости от размера частиц распределенного вещества выделяют три класса дисперсных систем:

- 1) ионно-молекулярные (истинные растворы), размеры частиц распределенного в них вещества не превышают 1 нм;

- 2) коллоидные системы (коллоидные растворы) – с размерами частиц около 100 нм; для такой системы характерно рассеивание проходящего через нее света; феномен Тиндаля;
- 3) грубодисперсные системы, содержащие частицы твердого (суспензии) и жидкого (эмульсии) вещества диаметром более 100 нм.

Все вещества обладают известной растворимостью в воде. Она выражается числом граммов вещества, которое, будучи растворенным при определенной температуре в 100 г растворителя, дает насыщенный раствор. Отсюда следует, что мерой растворимости вещества при данных условиях является концентрация его насыщенного раствора. Поэтому растворимость может выражаться в тех же единицах, что и концентрация, например моль/л раствора. Однако с давних пор растворимость принято выражать числом граммов вещества, растворенного в 100 г растворителя.

При нагревании растворимость твердых веществ в воде, как правило, повышается, а газов – уменьшается. На снижении растворимости с повышением температуры основано выделение растворенного вещества из раствора и очистка его от примесей. Так, если получить насыщенный раствор при высокой температуре, а затем охладить его, то избыток вещества выделится в виде кристаллов определенной структуры. Этот процесс называется кристаллизацией. Он идет тем быстрее, чем больше концентрация раствора (началу кристаллизации способствует встряхивание раствора или внесение в него кристаллика растворенного вещества). В момент установления динамического равновесия между процессами растворения и кристаллизации количество вещества, перешедшего в раствор, не изменяется и растворение практически прекращается.

Раствор, в котором растворенное вещество при данных условиях больше не растворяется, является **насыщенным**. Всякий раствор, в котором растворенного вещества находится меньше, чем в насыщенном, именуется **ненасыщенным**. При особых условиях могут быть получены и **пересыщенные** растворы, к образованию которых «склонны» некоторые вещества, что следует иметь в виду при выполнении биохимических исследований. Так, в процессе определения ионов калия химическим методом, основанным на реакции образования купрумгексанитрита калия-свинца – $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$, получается пересыщенный раствор, для осаждения из которого сформированной комплексной двойной соли требуется длительное потирание стеклянной палочкой о внутренние стенки пробирки (с целью образования центров кристаллизации). В противном случае могут возникнуть ложнозаниженные результаты.

Понятия «насыщенный» и «ненасыщенный» не следует отождествлять с понятиями «концентрированный» и «разбавленный». Концентрированный раствор отнюдь не обязательно должен быть насыщен. Например, раствор, содержащий 20 г KNO_3 в 100 г воды, является концентрированным, но если температура его $20^\circ C$, то он еще далеко не насыщен. Для получения насыщенного раствора при этой температуре нужно было бы взять 31,5 г селитры на 100 г воды. С другой стороны, и насыщенный раствор может быть разбавленным (если вещество мало растворимо). Так, насыщенный раствор гипса при $20^\circ C$ содержит всего лишь 0,21 г вещества в 100 г раствора.

Представление о количественном содержании вещества в растворе выражается понятием **концентрации**.

Концентрацией раствора называется массовое (г, кг) или объемное (мл, л) содержание вещества в определенном количестве или объеме раствора.

По точности выражения концентрации растворы делят на *приблизительные* и *точные*.

Содержание вещества в приблизительных растворах в настоящее время рекомендуется выражать размерностью массовой концентрации, массовых и объемных отношений, заменивших соответствующие выражения отдельных видов процентной концентрации.

Поэтому для получения более полного представления о соответствующих Международной системе единиц (SI) видах неточной концентрации целесообразно обратиться к рассмотрению их аналогов, объединяемых термином «процентная концентрация».

Под процентной концентрацией принято понимать определенное количество вещества (г или мл), содержащееся в 100 г или 100 мл раствора. Это общее определение понятия процентной концентрации включает несколько разновидностей. В зависимости от единиц (объема или массы), используемых для обозначения количества растворенного вещества и раствора, различают весовую (массовую), весо-объемную (массо-объемную), объемную, объемно-весовую (объемно-массовую) процентную концентрацию.

Массовая (весовая) процентная концентрация (%) показывает, сколько граммов вещества содержится в 100 г раствора:

$$\% = [a/(a+b)] \cdot 100.$$

где a – количество растворенного вещества, b – количество растворителя в граммах (в сумме составляют 100 г).

Например, 38% раствором соляной кислоты называют такой раствор, в 100 г которого содержится 38 г хлористого водорода и 62 г воды. Для получения раствора этого вида процентной концентрации навеску вещества вносят в химический стакан, в который затем вливают 62 мл воды (при комнатной температуре 1 мл воды весит примерно 1 г). При приготовлении растворов различных химических реагентов удобно использовать массовую концентрацию.

Массо-объемная (весо-объемная) процентная концентрация (г%) представляет собой отношение количества растворенного вещества в граммах к 100 мл раствора. Размерность этого вида процентной концентрации – г/мл (масса/объем). Например, 10 г% раствор хлористого натрия содержит 10 г соли в 100 мл раствора. Для его получения навеску соли (10 г) вносят в мерный цилиндр или мензурку и доливают водой до метки. В случае водных растворов одинаковой по численному обозначению массовой и массо-объемной процентной концентрации различия в количественном содержании вещества в единице объема практически не выявляются, или же ими можно пренебречь. Однако при использовании неводных растворов они могут быть весьма значительны. Так, в 10 г% растворе жира в тетрахлорметане или, что то же самое, четыреххлористом углероде (жидкости плотностью 1,6 кг/л) на 10 г жира приходится около 90 мл растворителя, тогда как в 10% растворе – значительно меньше – 56 мл.

Объемная процентная концентрация (об%, или ° – градус) есть отношение выражаемого единицами объема (мл) количества растворенного вещества к 100 мл раствора. Размерность этого вида процентной концентрации – мл/мл (объем/объем). Например, 5 об% (5°) раствор этилового спирта содержит 5 мл абсолютного (безводного) спирта и 95 мл воды. Следует, правда, иметь в виду, что при смешивании разных жидкостей, бесконечно растворяющихся друг в друге (как, например, в случае спирта и воды), в силу явления контракции

(т.е. взаимного проникновения молекул одного вещества через промежутки между молекулами другого) конечный объем раствора может составлять менее 100 мл.

Объемно-массовая (объемно-весовая) процентная концентрация, отражающая количество мл вещества, содержащееся в 100 г раствора, редко используется в клинико-лабораторной практике.

Многие химические реактивы приобретаются в виде кристаллогидратов. Готовить из них процентные растворы можно двумя способами.

1-й способ (точный). Предварительно рассчитывают массовое (весовое) количество кристаллогидрата, в котором содержится заданное количество вещества. Пусть, например, требуется приготовить 5% раствор сернокислой меди из кристаллогидрата этого вещества. Для определения необходимой его навески исходят из того, что на одну молекулу сернокислой меди приходится пять молекул воды (молекулярная масса 18 Д), а молекулярная масса кристаллогидрата сернокислой меди составляет 245 г (155 г приходится на чистую соль и $90 (18 \cdot 5)$ – на воду). Путем решения пропорции:

$$\begin{array}{l} 245 \text{ г } \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \text{ содержит } 155 \text{ г } \text{CuSO}_4 \\ x \text{ г } \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 5 \text{ г } \text{CuSO}_4 \end{array}$$

находят требуемую навеску кристаллогидрата (х):

На этикетке бутылки, в которой хранится такой раствор, должно быть написано: «5% (или 5 г%) раствор CuSO_4 ». Это значит, что в 100 г (или 100 мл) раствора содержится 5 г сернокислой меди, а не ее кристаллогидрата.

2-й способ (условный). Часто, готовя процентные растворы, ведут расчет исходя из массы кристаллогидрата. Например, для приготовления 5% раствора медного купороса ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) отвешивают 5 г препарата и приливают к этому его количеству воду до объема 100 мл. По существу такой раствор CuSO_4 не является пятипроцентным. На этикетке сосуда, в котором он хранится, должна быть надпись:

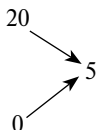
$$5\% \text{ (или } 5 \text{ г\%)} \text{ раствор } \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}.$$

Следует иметь в виду, что неправильное хранение препаратов кристаллогидратов (в частности, из-за плохой герметичности посуды) может приводить к постепенному выходу кристаллизационной воды из кристаллической решетки (выветривание). При этом часть вещества, особенно на поверхности кристаллов, переходит в аморфное состояние. Такой реактив не пригоден для приготовления растворов ни первым, ни вторым способом. В данном случае требуется предварительно перекристаллизовать его (т.е. восстановить кристаллическую структуру реагента) или, если это позволяют химические свойства вещества, прокалить, переведав его, таким образом, в аморфное состояние.

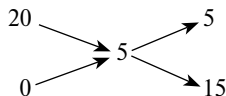
Поскольку в соответствии с требованиями Международной системы единиц в качестве единицы массы и объема раствора используются килограмм (кг) и литр (л), то для получения необходимых показателей размерности значения отдельных видов процентной концентрации требуется умножить на 10. При этом массовая (весовая) и объемная процентная концентрация преобразуются в массовое и объемное отношения с размерностью г (кг)/кг, мл (л)/л, а массово-объемная (весово-объемная) процентная концентрация – в массовую концентрацию с размерностью г (кг)/л.

Для приготовления неточных растворов используются аптекарские, технические (техно-химические) весы и неточная мерная посуда (цилиндры, мензурки). В случае если возникает потребность в получении приблизительных растворов путем разбавления более концентрированных, можно воспользоваться простым и быстрым способом, определяемым правилом «креста».

Пусть необходимо разбавить 20% (200 г/л) раствор сернистого аммония до 5% (50 г/л). Составляют первую запись:

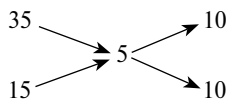


где 20 – показатель концентрации взятого раствора, 5 – показатель требуемой концентрации и 0 – вода. Из 20 вычитают 5 и полученное значение записывают в правом нижнем углу. Из 5 вычитают 0 и записывают цифру в правом верхнем углу. После этого схема принимает вид:



Это означает, что для получения 5% раствора нужно 5 объемов 20% раствора смешать с 15 объемами воды.

Если смешивать два исходных раствора одного и того же вещества для получения раствора промежуточной концентрации, то из схемы устраняется «0». Пусть смешиванием 35% и 15% раствора требуется приготовить 25%. В этом случае схема примет вид:



Следовательно, для приготовления 25% раствора нужно взять по 10 объемов обоих исходных растворов. Приведенными схемами можно пользоваться только тогда, когда не требуется достижения особой точности приготовления растворов.

Точные растворы характеризуются размерностью молярной (моль/л), моляльной (моль/кг), нормальной (гэкв/л, вал/л) концентрации и титра (Т). Для получения растворов точной концентрации применяют исходные вещества (т.е. реактивы квалификации «х.ч.», строго отвечающие своей химической формуле, устойчивые к воздействию света и воды, негигроскопичные, не взаимодействующие с углекислым газом воздуха, обладающие большой молекулярной массой: это обстоятельство позволяет свести к минимуму техническую ошибку взвешивания), фиксаналы, точную мерную посуду и весы для очень точного взвешивания (аналитические, полумикрохимические, микрохимические). Поскольку не всегда удастся получить точный раствор нужной концентрации путем растворения приготовленной навески вещества или содержимого некоторых ампул (фиксаналов), его приходится проверять путем титрования, находить коэффициент поправки и при необходимости исправлять.

Способы исправления растворов

Базируются на расчете коэффициента (фактора) поправки. Коэффициент поправки — это число, которое показывает, во сколько раз данный раствор отличается от близкого к нему по концентрации точного раствора определенной нормальности (0,1 н, 0,01 н и др.).

Определение коэффициента поправки (К) дает возможность получить нужную концентрацию раствора — добавлением воды или реактива. Коэффициент поправки чаще всего устанавливают по отношению объемов взаимодействующих точного определенной нормальности и испытуемого растворов.

Техника определения коэффициентов поправки для децинормальных растворов

Один из растворов (удобнее испытуемый) наливают в бюретку. Приблизительно 35–50 мл точного раствора из бутылки отливают в сухой чистый сосуд (колбу). Из сосуда отбирают (желательно пипеткой Мора) в три конические колбы или химических стакана (параллельные пробы) три порции точно отмеренных объемов жидкости (чаще по 10 мл) для проведения последующего титрования.

К отмеренным порциям раствора прибавляют подходящий индикатор и производят титрование. Результаты записывают. Если они оказываются близкими (расхождение между пробами не превышает 0,1 мл, максимум 0,2 мл), рассчитывают среднеарифметическую величину. Если же расхождение в результатах титрования более значительно, необходимо протитровать еще одну пробу, отбросить данные титрования пробы с отличающимися результатами (по-видимому, в этом случае была допущена техническая ошибка) и определить среднюю величину из трех близко совпадающих результатов титрования. Остатки точного раствора из сосуда, в который была отлита его часть, удаляют (опускать пипетки или вливать ранее отлитую жидкость в основную массу точного раствора категорически запрещается!) и производят расчет.

Расчет. Поскольку К — это число, показывающее, во сколько раз данный раствор отличается от близкого к нему по концентрации раствора точной нормальности, его определяют, рассчитывая отношение объема титрованного раствора (V_T) (строго определенной нормальности) к объему испытуемого раствора ($V_{\text{исп.}}$):

$$K = V_T / V_{\text{исп.}}$$

При взаимодействии точного и проверяемого раствора могут иметь место три случая.

1. Растворы взаимодействовали в одинаковых объемах. Например, на титрование 10,0 мл 0,1 н раствора пошло 10,0 мл испытуемого. Уже на основании одного этого можно заключить, что нормальность их одинакова и испытуемый раствор строго децинормальный:

$$K = 10,0 \text{ мл} : 10,0 \text{ мл} = 1,00.$$

2. На взаимодействие с определенным объемом точного раствора пошел меньший объем испытуемого раствора. Например, на 10 мл 0,1 н пошло 9,5 мл испытуемого:

$$K = 10,0 \text{ мл} : 9,5 \text{ мл} = 1,05.$$

3. На взаимодействие с определенным объемом точного раствора пошел больший объем испытуемого раствора. Например, на 10 мл 0,1 н пошло 10,5 мл испытуемого:

$$K = 10,0 \text{ мл} : 10,5 \text{ мл} = 0,95.$$

Коэффициент поправки больше единицы, если испытуемый раствор концентрированнее точного определенной нормальности, и меньше единицы, если испытуемый раствор относительно разбавлен (т.е. если концентрация его меньше, чем у раствора сравнения). Коэффициент поправки принято рассчитывать с точностью до второго знака после запятой.

В практической работе фактор поправки широко применяют при титровании так называемыми установленными растворами. В этом случае результаты каждого титрования умножают на значение k и таким образом определяют, сколько было бы затрачено на титрование не приблизительного, а точного раствора определенной нормальности (например, децинормального). Поскольку умножать на числа, несколько превышающие единицу (например, 1,01, 1,03 и т.п.), удобнее, чем на величину меньше единицы (0,97, 0,98 и т.п.), а исправлять более концентрированные растворы легче, чем растворы меньшей концентрации, то, если нет оснований сразу рассчитывать на получение точного раствора, стараются приготовить его несколько концентрированнее точного раствора (определенной нормальности).

Растворами, фактор поправки которых значительно отличается от единицы, пользоваться не рекомендуется, так как даже в известном приближении их нельзя отнести к 0,1 н, 0,01 н и другим точным растворам. Допускается использовать растворы со значениями K от 0,95 до 1,05.

Исправление растворов, коэффициент поправки которых больше 1

Такие растворы более концентрированы и, следовательно, нуждаются в разбавлении. Коэффициент поправки показывает, во сколько раз данный раствор крепче раствора определенной концентрации (например, децинормального). Этот способ исправления чрезвычайно прост, в связи с чем в ряде случаев предпочитают готовить растворы более крепкие.

Пример. На титрование 5 мл точного 0,1 н раствора HCl пошло 4,6 мл раствора NaOH . Всего раствора NaOH 200,0 мл. Вначале находят K , а затем разницу между его численным значением и единицей:

$$1) 5,0 : 4,6 = 1,086 \quad (K = 1,086).$$

$$2) 1,086 - 1,000 = 0,086.$$

Это означает, что 0,086 мл воды следует добавить к каждому миллилитру щелочи, чтобы сделать концентрацию раствора щелочи равной точно 0,1-нормальной.

3) Рассчитывают дополнительный объем воды, который нужно добавить к имеющемуся раствору:

$$200 \cdot 0,086 = 17,2 \text{ мл}.$$

Аналогичный расчет может быть применен и тогда, когда первоначальная концентрация исходного раствора вообще неизвестна.

Пример. Нужно приготовить 0,1 н раствор едкого натра. В лаборатории имеется бутылка, на дне которой содержится несколько прилипших к нему кристаллов препарата. Для растворения кристаллов в бутылку налито приблизительно 100–150 мл дистиллированной воды. Получен раствор неизвестной концентрации. На титрование 10 мл этого раствора пошло 40,5 мл 0,1 н (!) кислоты. Коэффициент поправки раствора щелочи равен:

$$K = 40,5 \text{ мл} : 10,0 \text{ мл} = 4,05.$$

Значит, раствор оказался в 4,05 раза концентрированнее децинормального и должен быть разведен в 4,05 раза. Следовательно, к каждому миллилитру раствора надо добавить по 3,05 мл воды.

Исправление растворов, коэффициент поправки которых меньше 1

Очевидно, в таких растворах недостает какой-то части грамм-эквивалента (г-эquiv). Эту недостающую часть можно легко определить, если рассчитать разность между титром раствора определенной нормальности (теоретический титр) и титром данного раствора.

Полученная величина показывает, сколько вещества (г) надо прибавить к 1 мл раствора для доведения его до концентрации заданной нормальности.

Пример. Фактор поправки 0,1 н раствора NaOH = 0,90. Объем раствора составляет 1900 мл. Требуется привести раствор к 0,1 н.

$$\text{г-эquiv NaOH} = 40 \text{ г.}$$

Отсюда теоретический титр (Т) для 0,1 н раствора 0,0040. Практический титр (Т · К) раствора в приведенном примере равен:

$$0,0040 \cdot 0,9 = 0,0036 \text{ г/мл.}$$

Разность между теоретическим и практическим титром составляет:

$$0,0040 - 0,0036 = 0,0004.$$

Поскольку объем всего раствора 1900 мл, для его исправления к нему следует добавить NaOH в количестве:

$$1900 \cdot 0,0004 = 0,76 \text{ г.}$$

Приготовление точно санти-, милли- и другой нормальности растворов путем разбавления децинормальных растворов, имеющих фактор поправки

Если из неточно приготовленных децинормальных растворов (0,1 н, или 0,1 N) готовят более разбавленные, соответствующие разведения производят с учетом фактора поправки децинормального раствора.

В тех случаях, когда раствор оказывается относительно концентрированнее, чем строго децинормальный (с К больше 1), для приготовления сантинормального необходимо взять исходного раствора во столько раз меньше по сравнению с 0,1 н, во сколько он концентрированнее децинормального.

Первоначально рассчитывают, сколько всего потребуется 0,1 н (!) раствора, и найденный объем делят на фактор (К) поправки. Пусть, например, требуется приготовить 100 мл 0,01 н раствора из 0,1 н раствора с $K = 1,05$. Если бы раствор был точным (0,1 н), следовало бы взять его 10,0 мл, внести в мерную колбу и довести водой до 100 мл; но так как имеющийся в наличии раствор концентрированнее точного в 1,05 раза, его необходимо взять не 10,0 мл, а $10,0 \text{ мл} : 1,05 = 9,52 \text{ мл}$.

Если же раствор относительно разбавлен (К меньше 1, например 0,90), то при делении 10,0 мл на К объем раствора увеличивается во столько раз, во сколько данный раствор разбавленнее точно децинормального:

$$10,0 : 0,90 = 11,1 \text{ мл.}$$

Таким образом, при приготовлении разбавленных титрованных растворов из более концентрированных рассчитывают объем раствора точной нормальности и полученное число делят на показатель К исследуемого раствора.

Значения титра (Т) выражаются числом с четырьмя значащими цифрами.

Пусть, например, в 1 л раствора содержится 5,843 г серной кислоты; отсюда титр его равен:

$$T = 5,843 : 1000 = 0,005843 \text{ г/мл.}$$

Практически важным представляется приготовление точных растворов кальция хлорида (весьма гигроскопического вещества, используемого для выполнения коагулологических, биохимических и некоторых других исследований) и трихлоруксусной кислоты (ТХУ).

Применяя так называемые «*переходные*» формулы, становится возможным переходить из отдельных видов точной концентрации к концентрации неточной и навеске вещества (Р) в любом объеме раствора. С этой целью используют численные значения нормальности (N), грамм-эквивалента (Э), молярности (M), грамм-молекулярной массы (моль, г-моль), титра (Т) и объема раствора (V):

$$P_{\text{л}} = N \cdot \text{Э}$$

$$P_{\text{л}} = M \cdot \text{г-моль}$$

$$T = \frac{M \cdot \text{г-моль}}{1000}$$

$$T = \frac{N \cdot \text{Э}}{1000}$$

$$C\% = \frac{N \cdot \text{Э}}{10}$$

$$C\% = T \cdot 100$$

$$P_{\text{л}} = T \cdot V$$

$$P_{\text{V}} = \frac{M \cdot \text{г-моль} \cdot V}{1000}$$

$$P_{\text{V}} = \frac{N \cdot \text{Э} \cdot V}{1000}$$

$$N = \frac{T \cdot 1000}{\text{Э}}$$

$$M = \frac{T \cdot 1000}{\text{М}}$$

Методология установления содержания метаболитов и активности ферментов биологических жидкостей с использованием на конечном этапе исследования фотометрических и других способов регистрации результатов аналитического определения

Оптические методы количественного анализа

Оптический количественный анализ основывается на регистрации изменений, происходящих с лучом света при прохождении его через исследуемый раствор, а именно: интенсивности поглощения — абсорбционная фотометрия; свечения молекул и атомов вещества — флюориметрия, пламенная фотометрия; величины отклонения монохроматического светового потока от первоначального направления его распространения — рефрактометрия, изменения угла вращения плоскополяризованного света — поляриметрия.

В соответствии с этим оптические методы количественного анализа подразделяются на:

- 1) рефрактометрию,
- 2) поляриметрию,
- 3) фотометрию:
 - а) абсорбционную:
 - спектрофотометрию,
 - нефелометрию (собственно нефелометрию и турбидиметрию, в частности, все более широко используемую в настоящее время иммунотурбидиметрию),
 - атомно-абсорбционную фотометрию,
 - б) эмиссионную:
 - флюориметрию,
 - пламенную фотометрию,
 - атомно-эмиссионный спектральный анализ.

Рефрактометрия базируется на измерении показателя преломления света при прохождении его через оптически неоднородные среды. Ранее метод рефрактометрии применялся в основном для определения содержания общего белка в плазме (сыворотке) крови. Поскольку преломляющая способность сыворотки зависит от уровня не только белков, но и небелковых компонентов, рефрактометрический анализ давал ложнозавышенные результаты.

В основе **поляриметрии** лежит свойство прозрачных веществ — вращать плоскость поляризованного луча света.

Известно, что естественный, неполяризованный луч представляет собой совокупность волн, колебательные движения которых равномерно распределены вдоль множества плоскостей, проходящих через линию распространения луча (рис. 1). Если луч сложного (белого) света пропустить через пластинку поляроида или призму николя (кальцит), то каждая волна этого пучка разложится на составляющие, направленные по взаимно перпендикулярным осям поляроида (николя). Так как поляризующий материал обладает способностью поглощать одну из этих составляющих, электромагнитные колебания в выходящем пучке света происходят только в одной плоскости, в связи с чем такой луч света называют плоскополяризованным. Если на его пути поместить второй поляроид, то через него подобным же образом пройдет только та составляющая луча, плоскость колебаний которой будет параллельна оси поляроида.

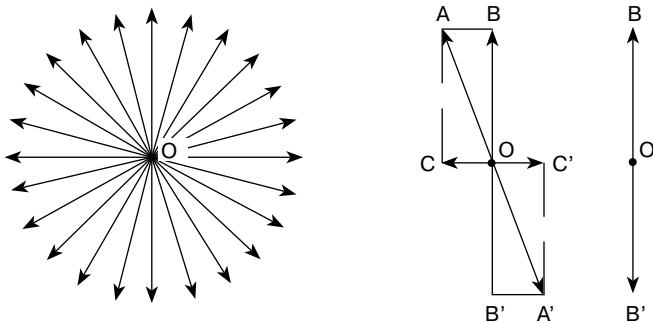


Рис. 1. Векторы колебаний для обыкновенного и плоскополяризованного электромагнитного излучения.

Поскольку же в пучке поляризованного света колебания совершаются только в одном направлении, при повороте второго поляроида (анализатора) на 90° мощность светового пучка падает до нуля. Очевидно, поляризованный луч света будет проходить через призмы николя только в том случае, если их оси находятся в одной плоскости.

Ранее в клинико-лабораторной практике широко применялся поляриметр, приспособленный для определения концентрации растворов глюкозы и других углеводов (так называемый сахариметр). Схема его устройства приведена на рисунке 2.

Более 80% используемых в клинико-диагностических лабораториях методов биохимического исследования базируется на принципе **абсорбционной фото-**

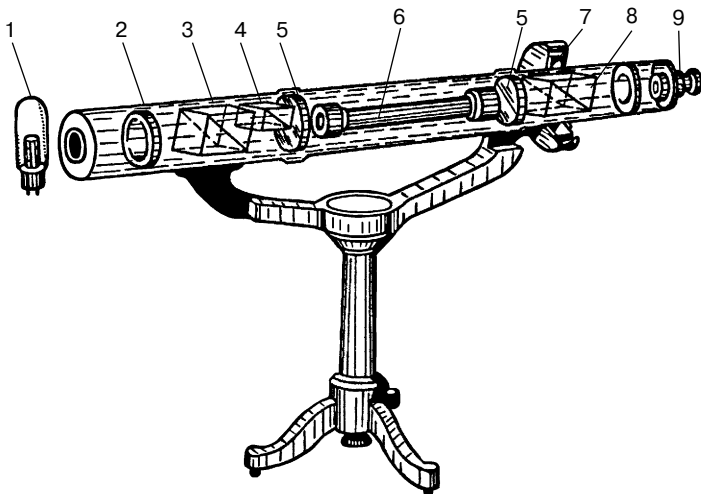


Рис. 2. Схема типичного поляриметра:

- 1 – натриевая лампа; 2 – коллиматор; 3 – николю-поляризатор; 4 – полутеневого николю;
- 5 – защитное окно; 6 – трубка для образца; 7 – калиброванный круг; 8 – николю-анализатор;
- 9 – окуляр.

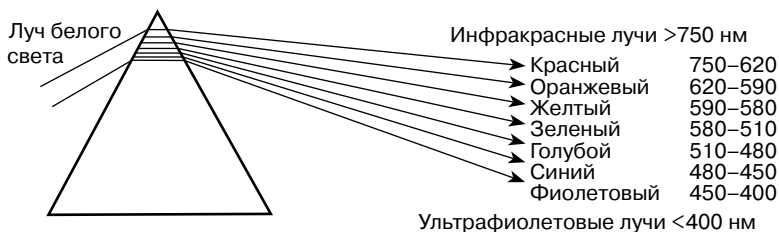


Рис. 3. Разложение солнечного луча призмой.

метрии. Для уяснения особенностей проведения этого вида фотометрического анализа требуются определенные сведения из области природы света и его взаимодействия с веществом.

Свет представляет собой одну из форм электромагнитного излучения, которое распространяется в виде волн. Он характеризуется частотой (ν), длиной волны (λ) и постоянной скоростью распространения в вакууме (c , 300 000 км/с). Эти величины связаны одна с другой следующим отношением:

$$\nu = c/\lambda.$$

При взаимодействии света с веществом могут иметь место два случая:

- 1) свет, проходя через вещество, поглощается очень слабо: вещество достаточно прозрачно. Отношение скорости света в вакууме к его скорости в данном веществе составляет показатель преломления вещества. Поскольку он во многом зависит от длины волны, свет при прохождении через прозрачную стеклянную призму разлагается в спектр по длинам волн (рис. 3). По обе стороны от видимого спектра располагаются невидимые лучи: инфракрасные и ультрафиолетовые;
- 2) вещество поглощает значительную часть световой энергии. Согласно квантовой теории, энергия света поглощается порциями, квантами. При этом отдельные молекулы, обладающие совокупностью близко расположенных один от другого энергетических уровней, могут, поглощая кванты света, переходить с относительно низкого энергетического уровня на более высокий. Оказавшись в таком «возбужденном» состоянии, они способны флуоресцировать или претерпевать фотохимические изменения. В результате «возбуждения» сложных атомов испускаются электромагнитные волны самых разнообразных частот, образующих спектр испускания.

В зависимости от состояния излучающего тела он может быть сплошным или линейчатым. Так, сплошной спектр испускания дает раскаленная вольфрамовая нить, спектр линейчатый имеют газы, пары ртути.

При прохождении через слой вещества оно поглощает те длины волн, которые само способно излучать в определенных условиях. Так образуется спектр поглощения.

Электронные спектры молекул обычно охватывают область электромагнитных излучений с длиной волны от 100 до 800 нм. Видимая область, воспринимаемая человеческим глазом, соответствует интервалу длин волн от 400 до 760 (800) нм. Интервал между 200 и 400 нм называется ближней ультрафиолетовой областью, а область длин волн меньше 200 нм носит название далекой, или вакуумной, ультрафиолетовой области.

Указанный диапазон электромагнитных излучений создается при «возбуждении» электронов, располагающихся на внешнем электронном слое. В случае если «возбуждаются» электроны внутреннего слоя (например, потоком быстрых электронов – в трубке Рентгена), то испускаются рентгеновские лучи (с длиной волны от 0,001 до 1 нм).

Абсорбционный анализ основан на физическом свойстве веществ избирательно поглощать монохроматический поток световой энергии. При помощи его измеряется «светопоглощение» раствора или интенсивность окраски, которая непосредственно связана с концентрацией вещества в растворе.

Измерение интенсивности потока световой энергии, прошедшей через исследуемый раствор, всегда производится относительно раствора сравнения, при приготовлении и исследовании которого применяются растворитель и кюветы, аналогичные используемым в опытном образце. Вследствие этого поглощение светового потока стенками кюветы и отражение его в окружающую среду кюветой и растворителем могут не приниматься во внимание.

Зависимость между ослаблением интенсивности параллельно направленного монохроматического светового потока, толщиной поглощающего слоя и концентрацией выражается объединенным законом Бугера–Ламберта–Бера:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l c},$$

где I_t – интенсивность света, прошедшего через раствор, I_0 – интенсивность падающего на раствор света, l – толщина слоя раствора (см), c – концентрация поглощающего свет раствора вещества, ϵ – коэффициент погашения (абсорбции, экстинкции). Он является коэффициентом пропорциональности и показывает, какая часть светового потока поглощается раствором толщиной 1 см. Если концентрация раствора составляет моль/л и $l = 1$ см, то $\epsilon = A$.

Логарифм отношения I_0/I_t представляет собой величину абсорбции, или оптическую плотность вещества (раствора), обозначаемую буквой A (ранее оптическая плотность обозначалась буквами D , E):

$$A = \lg \frac{I_0}{I_t} = \epsilon l c.$$

Отношение интенсивности монохроматического потока излучения, прошедшего через исследуемый объект, к интенсивности первоначального светового потока именуется пропусканием, или прозрачностью (светопроницательностью), раствора и обозначается буквой T . Обычно величину T выражают в процентах:

$$T (\%) = I_t/I_0 \cdot 100.$$

Светопроницаемость раствора дает представление о том, какая часть светового потока пропускается через раствор, а оптическая плотность характеризует долю света, поглощаемого им. Характерно, что оптическая плотность (абсорбция – A , или экстинкция – E , D) показывает величину светопоглощения безотносительно к абсолютной величине интенсивности падающего на кювету монохроматического светового потока.

Прямо пропорциональная зависимость между величинами, характеризующими процесс абсорбции, толщиной поглощающего слоя и концентрацией вещества в растворе может быть получена только при постоянном молярном коэффициенте поглощения. Величина оптической плотности (A) является

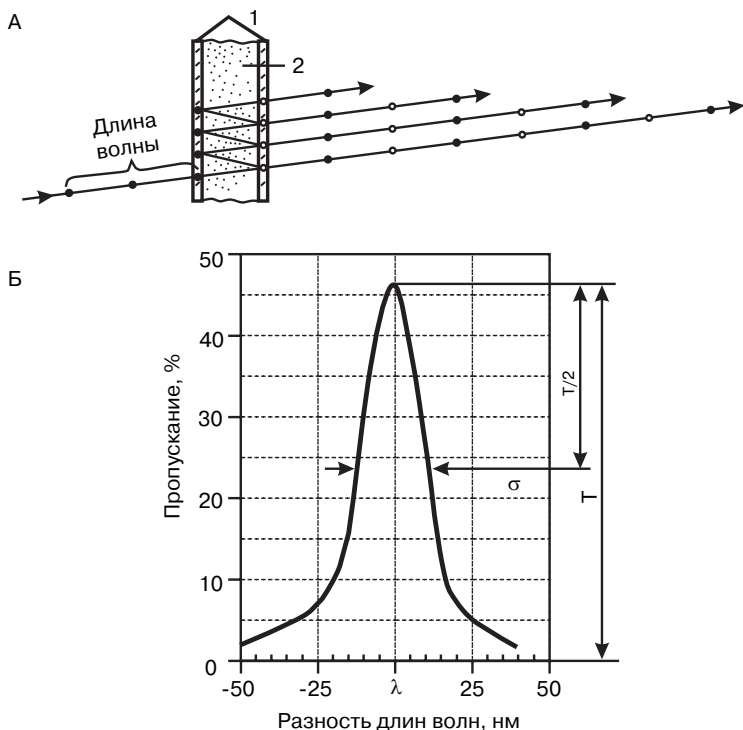


Рис. 4. Устройство (А) и характеристика пропускания (Б) типичного интерференционного фильтра:

1 – полупрозрачные пленки из серебра; 2 – прозрачная разделяющая пленка (толщиной в полдлины волны); λ – длина волны в максимуме, T – пропускание в максимуме, σ – полуширина.

функцией длины волны и не зависит от концентрации вещества в растворе. По этой причине именно абсорбция (но не светопропускание) характеризует индивидуальные свойства поглощающего вещества.

Весьма важное условие получения надежных результатов при выполнении абсорбционной фотометрии – достижение монохроматизации светового потока. Для этой цели наиболее часто применяются светофильтры. Наряду с обычными фильтрами (окрашенными стеклами), недостатком которых является широкая полоса пропускания, все более широко применяются так называемые интерференционные светофильтры. Они представляют собой обычно стеклянную пластинку, на которую нанесены две (или более) полупрозрачные металлические пленки, разделенные слоем прозрачного вещества. Расстояние между металлическими пленками определяет длину волны проходящего света.

Свойство светофильтра к пропусканию света обусловлено явлениями интерференции (рис. 4, А).

Как видно из рисунка 4, А, часть падающего излучения подвергается многократному внутреннему отражению слоями серебра. Лучи, выходящие из

пластинки, усиливают друг друга только при тех длинах волн, которые вдвое больше длин волн, определяемых расстоянием между слоями серебра. При других длинах волн лучи ослабляют друг друга.

Типичная кривая пропускания светофильтра показана на рисунке 4, Б.

Как видно, в отличие от обычного, интерференционный светофильтр пропускает практически монохроматический световой поток. Помимо свойства к достижению высокой степени монохроматизации света с относительно высоким его пропусканием интерференционные светофильтры обладают большой термостойкостью: последнее связано с тем, что они не поглощают, а отражают не прошедший через них свет. Это позволяет применять их с высокоинтенсивными источниками светового (и теплового) излучения.

Самым лучшим способом выделения узких спектральных интервалов является применение монохроматоров, устроенных на базе призмы или дифракционной решетки. При использовании источника света, излучающего сплошной спектр, такие устройства позволяют получать практически любую длину волны.

В качестве основных приемников излучения в ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях спектра применяют фотоэлементы, фотосопротивления и фотоумножители.

Принцип действия фотоэлементов основан на явлении фотоэффекта, которое заключается в том, что при действии света вещество (представленное обычно одновалентным металлом: цезием и др.) испускает электроны, которые в безвоздушном пространстве лампы устремляются со стороны фотокатода к аноду.

На практике выделяют два типа фотоэлементов: с внешним и внутренним фотоэффектом. Фотоэлементы с внешним фотоэффектом могут быть вакуумными и газонаполненными. Вакуумные фотоэлементы обладают значительно меньшей интегральной чувствительностью (микроамперы/люмен), чем газонаполненные, так как наполнение газом вызывает усиление фототока вследствие ионизации газа фотоэлектронами.

Освобождение электронов происходит не только в металлах, но и в полупроводниках, что увеличивает их электропроводность при освещении. Фотоэлементы с внутренним фотоэффектом носят название фотосопротивлений.

Широкое применение нашли фотоэлементы с запирающим слоем, которые, обладая высокой чувствительностью, не требуют внешнего источника напряжения.

Фотоумножители – весьма совершенный тип фотоэлектрического приемника света высокой чувствительности. В нем сочетается фотоэлемент с внешним фотоэффектом, дающий фототок, и усиление фототока путем вторичной электронной эмиссии. Вторичная электронная эмиссия заключается в том, что при ударе о поверхность вещества электроны выбивают из него электроны, называемые вторичными, причем каждый электрон выбивает несколько вторичных. Схема фотоумножителя приводится на рисунке 5.

Наиболее широко фотоумножители используются в приборах для эмиссионной фотометрии (флюориметры и др.).

К *оптическим измерительным приборам*, используемым в клинической лабораторной диагностике, относятся:

- фотометры и спектрофотометры;
- денситометры (предназначаемые для сканирования разделенных на носителях фракций анализируемых веществ);

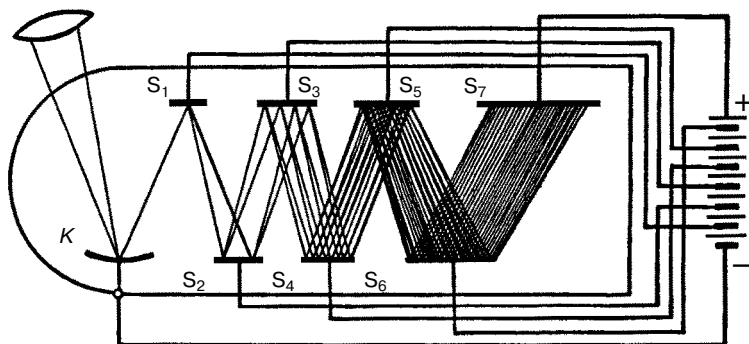


Рис. 5. Принципиальная схема электронного фотоумножителя.

- нефелометры и турбидиметры, позволяющие судить о содержании взвешенных частиц в объеме жидкости (в частности, о выраженности коллоидно-осадочной реакции) по интенсивности светорассеяния;
- флуориметры (применяемые для определения концентрации сложных органических веществ – витаминов, гормонов и др. – путем измерения интенсивности флуоресценции);
- поляризационные флуориметры;
- пламенные фотометры, используемые для измерения интенсивности светоизлучения (эмиссии) внесенных в пламя ионов металла;
- люминометры – приборы, позволяющие измерять количество излученного света (светосумму) и на основании этого судить о содержании в биологических жидкостях некоторых веществ (ацилгидроперекисей и др.), при разложении которых ионами металлов переменной валентности либо другими реактивами происходит кратковременное излучение света;
- атомные абсорбциометры, используемые для измерения поглощения монохроматического светового потока атомами вещества, находящегося в раскаленном газе (в пламени газовой горелки), что позволяет судить о содержании атомов (ионов) металлов (многочисленных микроэлементов) в анализируемых средах (биологических жидкостях, сточных водах, экстракте из продуктов питания и др.).

Как и в эмиссионном методе фотометрии пламени, анализируемый раствор вводится с помощью распылителя в пламя в виде аэрозоля. Измеряется, однако, не излучение, а поглощение монохроматического светового потока атомами исследуемого элемента. Метод пригоден для определения элементов, находящихся в пламени в виде свободных атомов.

Поскольку находящимися в пламени атомами вещества поглощается около 99% монохроматического света, чувствительность атомно-абсорбционного метода гораздо выше, чем метода, основанного на фотометрии пламени;

- атомно-эмиссионные многоканальные спектрометры (в частности, АЭМС производства НПО «Белинтераналит»). Принцип исследования на приборах такого типа сводится к тому, что подготовленная к анализу проба помещается в камеру образца источника возбуждения спектра. Под действием электрического разряда анализируемое вещество испаряется

и его атомы возбуждаются в области разряда. Свет, излучаемый атомами, собирается оптической системой и попадает в полихроматор, где происходит его разложение по спектральным составляющим. Регистрация спектра с помощью оптического многоканального анализатора позволяет по интенсивности или площади спектральных линий анализируемых элементов измерять в одной пробе содержание 10 и более химических элементов одновременно.

Абсорбционная фотометрия. Фотометры

В процессе фотометрического измерения обращают внимание на значения оптической плотности исследуемого образца.

Если оптическая плотность раствора равна 1, через него проходит 10% интенсивности светового потока (остальные 90% – поглощаются). Для большинства современных приборов это крайняя величина, выше которой уже трудно получить надежные результаты; для обычных же измерительных лабораторных приборов она находится вне диапазона получения достоверных данных. Во всех выпускавшихся ранее рутинных, предназначенных для измерения оптической плотности приборах наибольшая точность достигается при значениях абсорбции около 0,3 (т.е. когда через раствор проходит половина падающего на него света); по мере снижения или увеличения ее точность измерения, а следовательно, и достоверность получаемых результатов уменьшаются.

Абсорбция света раствором (т.е. Величина абсорбции, или оптической плотности) есть произведение концентрации вещества на толщину слоя раствора. Поэтому не имеет существенного значения, фотометрируется ли данный раствор в кювете с длиной оптического пути 1 см или тот же раствор, предварительно разведенный в 2 раза, но в кювете с длиной оптического пути 2 см и т.д. Удлинение оптического пути приводит к повышению чувствительности лишь в том случае, если объем раствора остается прежним за счет сокращения поперечного сечения кюветы. Однако возможности такого варианта фотометрии ограничены, поскольку, чем уже и длиннее кювета, тем большие требования предъявляются к фокусировке и юстировке пучка света. Поэтому большинство биохимических методик рассчитано на проведение измерений в кювете с длиной оптического пути 1 см (10 мм); значительно реже используется кювета с длиной оптического пути 0,5 см (5 мм), а кюветы с длиной оптического пути 2 см (20 мм) практически не применяются. Нужно стремиться к тому, чтобы фотометрия осуществлялась в кюветах с толщиной слоя 10 мм: такой режим фотометрии самый правильный. Повышение чувствительности фотометрии достигается обычно путем использования специальных (более узких и длинных) кювет, что позволяет прийти к значительному сокращению объема фотометрируемого раствора. Однако следует иметь в виду, что, если объем раствора оказывается меньше 0,5 мл, точность отмеривания снижается, и поэтому возрастают ошибки в результатах измерения. В большинстве современных прецизионных приборов используются объемы фотометрируемой жидкости 0,5–1,0 мл при длине оптического пути 1 см (10 мм).

Точность фотометрии значительно возрастает, если благодаря использованию проточных кювет отпадает необходимость каждый раз вынимать кювету для заполнения ее новой порцией исследуемого раствора. Выполнять серийные анализы на таких приборах, оснащенных проточными кюветами, проще и быстрее, чем при использовании съемных кювет.

Фотометрические приборы подразделяются на обычные фильтровые фотометры и спектрофотометры. В последних участки спектра выделяют при помощи призм или дифракционных решеток; это позволяет установить любую длину волны в весьма большом диапазоне (спектрофотометры типа СФ-4, СФ-26, СФ-46, РV-1251 с «СОЛАР» и др.).

При выполнении клинико-биохимических исследований фотометрия чаще всего проводится в области длин волн 400–700 нм. Особенно широко распространена регистрация содержания НАД · Н и НАДФ · Н по поглощению света с длиной волны 340 нм, т.е. в ближнем ультрафиолетовом диапазоне. Для фотометрических измерений в видимой и ближней инфракрасной области пригодны кюветы из обычного стекла; для ближней ультрафиолетовой области нужны кюветы из специальных сортов стекла — так называемого увиолевого стекла, в коротковолновой ультрафиолетовой области пригодны только кюветы из кварца и сапфира.

При проведении фотометрических исследований оценку результатов чаще всего производят тремя способами:

- по конечной точке (измерение в конечной точке);
- по фиксированному времени (примером может служить прямой псевдокинетический метод Яффе);
- кинетически (кинетическое измерение).

Определение по конечной точке состоит в учете образования продукта за некоторое (порой относительно длительное) время инкубации. Расчет результатов производится по стандарту.

Способ исследования по методологии «фиксированного времени» основан на применении спектрофотометров или фотометров с обычными светофильтрами, оснащенных термостатирующим кюветным отделением, и установлении количества нарабатываемого (расходуемого) продукта за определенный промежуток времени с последующим расчетом концентрации (активности) по стандарту.

Кинетический метод исследования, как правило, является ферментативным. Выполняется при условии выделения строго монохроматизированного светового потока (благодаря применению фотометров с интерференционными светофильтрами или спектрофотометров) с использованием термостатируемой кюветы (при температуре 25°C, 30°C и чаще всего 37°C). После старта реакции через определенный интервал времени (например, 60 с втроекратно) находят изменение оптической плотности. Из полученных значений рассчитывают среднюю величину изменения абсорбции (А) и с использованием определенных (соответствующих температуре инкубации) коэффициентов производят расчет с выражением результатов в ЕД/л (кат/л) и их производных.

Методы второй и особенно третьей группы обладают рядом существенных преимуществ перед одноточечными (конечной точки): их выполнение занимает мало времени, они не связаны с применением агрессивных жидкостей, точны, позволяют получать достоверные результаты (в особенности при исследовании активности ферментов, когда к тому же не требуется разводить в определенное количество раз сыворотку крови для предотвращения эффекта «разбавления» при гиперферментемии).

Подавляющее их большинство базируется на использовании оптического теста Варбурга, состоящего в ферментативном (с участием лактатдегидрогеназы, ЛДТ) превращении НАД · Н в НАД (и наоборот), существенно отличающихся величиной светопоглощения при длинах волн 340, 334 и 365 нм (см. схему).



Основывающийся на этом оптическом эффекте принцип используется для определения содержания пировиноградной (ПВК) и молочной (МК) кислот ферментативным методом, в котором под влиянием ЛДГ катализируются прямая и обратная реакция их взаимопревращения.

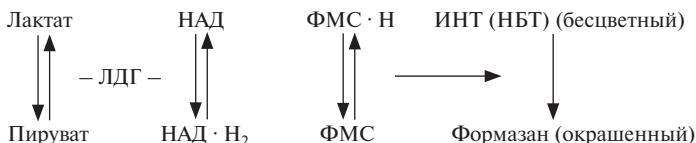
При определении активности многих ферментов, содержания субстратов, метаболитов, некоторых электролитов ход энзиматических процессов в реакционной смеси «замыкается» на превращении ПВК в МК (и наоборот) с участием лактатдегидрогеназы и НАД · Н (НАД). Так, в методике определения активности аланинаминотрансферазы используются следующие реакции:

1) Аланин + α-кетоглутаровая кислота → ПВК + Глутаминовая кислота;

2) $\text{ПВК} \xrightarrow[\text{ЛДГ}]{\text{НАД} \cdot \text{H}_2} \text{МК} + \text{НАД}$.

Наряду с ЛДГ используется также малатдегидрогеназа (МДГ). Кинетическим методом, базирующимся на оптическом тесте Варбурга, можно исследовать активность более 100 ферментов.

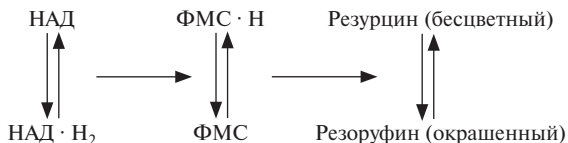
Чтобы избежать необходимости измерять оптическую плотность растворов всегда в ультрафиолетовой области, применяют колориметрические методы. Образующийся в результате ферментативной реакции восстановленный НАД – НАД · Н₂ и НАДФ · Н₂ превращает специальное индикаторное вещество (например, формазан) в окрашенный продукт, количество которого легко определять фотометрически в видимой области спектра. Примером этого может служить определение активности лактатдегидрогеназы:



Еще более удобны прямые колориметрические методы с использованием тио-НАД (ТНАД · Н) и тио-НАДФ (ТНАДФ · Н).

При восстановлении этих окисленных форм производные никотинамид-адениндинуклеотида окрашиваются в желтый цвет и могут быть определены при длине волны 398 нм.

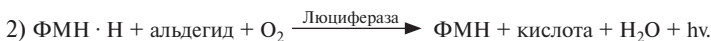
Флюориметрические методы в 100–1000 раз более чувствительные, чем аналогичные, базирующиеся на абсорбционном фотометрическом анализе. Они обычно основаны на собственной флюоресценции пиридинкоферментов (НАД-содержащих кофакторов реакции). Благодаря использованию флюоресцентной редоксиндикаторной цепи чувствительность этих методов становится гораздо выше.



Полученный в ходе этой реакции резуруфин флюоресцирует в 100 раз сильнее НАД · Н₂.

При реакции с бактериальной люциферазой флюоресценция продукта в 1000 раз превышает флюоресценцию НАД · Н₂.

В последнее время для определения активности НАД(Ф)-зависимых оксидоредуктаз все более широко применяют биолюминесцентный метод, основанный на использовании биферментной системы НАД(Ф) · Н: флавиномононуклеотид (ФМН)-оксидоредуктаза-люцифераза из светящихся бактерий. Реакция светоизлучения протекает в результате ферментативного окисления НАД(Ф) · Н в цепи последовательных реакций:



Данный метод позволяет абсолютно специфично и с высокой чувствительностью определять восстановленные пиридиннуклеотиды (НАД · Н₂, НАДФ · Н₂) и ферменты, катализирующие реакции с их участием.

Каталитические методы могут быть осуществлены и без использования пиридинкоферментов (НАД, НАД · Н₂): примером может служить определение активности щелочной и кислой фосфатаз, холинэстеразы, гамма-глутамилтранспептидазы. В большинстве своем они реализуются путем фотометрии раствора в видимой области спектра. Более детально этот принцип исследования описан в главе «Ферменты».

Современные технологии автоматизированных клинико-биохимических исследований на основе абсорбционного фотометрического анализа (биохимические полуавто- и автоанализаторы)

Одной из особенностей современной медицины является расширение спектра и объема выполнения лабораторно-диагностических исследований. Это стало возможным благодаря разработке новых, более информативных (по сравнению с ранее известными) лабораторных тестов, а также автоматизации самой технологической процедуры анализа при проведении клинико-биохимических, гематологических, общеклинических, иммунологических, гормональных исследований.

Практикуемый в большинстве ординарных клинико-диагностических лабораторий ручной (мануальный) метод анализа базируется на непосредственном участии лаборанта в осуществлении всех основных этапов клинико-лабораторного исследования: взятии биологического материала, реагентов, их смешивании, инкубации, регистрации аналитического сигнала (на фотометре или другом приборе), расчете концентрации определяемого вещества. При этом даже незначительные отклонения в условиях выполнения анализа (неизбежно

возникающие при постановке большого количества проб) способны существенно повлиять на конечный результат лабораторного исследования.

Стандартизация режимов определения, достигаемая автоматизацией всей процедуры анализа, естественно, повышает и надежность его выполнения, притом за более короткий период времени и с использованием значительно меньшего (чем при мануальном исследовании) объема реагентов и биологического материала.

Основные принципы функционирования и типы технологических устройств, используемых для автоматизированного биохимического исследования. Автоматизация биохимических исследований в мировой лабораторной практике началась приблизительно с середины 50-х годов прошлого столетия. Первым толчком к ее проведению послужило создание фотометров и спектрофотометров с контролируемой температурой кюветы, так как это позволило реализовать на практике принцип кинетического исследования субстратов, ферментов и других веществ. В дальнейшем эти аппараты стали наделять электронной функцией автоматического перевода регистрируемых значений абсорбции в показатели концентрации или активности.

Появление автоматических фотометров, исключаящих из практики оператора стадию расчетов, дало возможность проводить измерения не только в режиме конечной точки (когда реакция уже завершилась), но также в режиме:

- фиксированного времени (измерение результата через определенный интервал времени после начала реакции);
- кинетики (ряд измерений с определенным интервалом времени и расчетом активности фермента по средней величине изменения абсорбции за этот интервал времени);
- дифференциальном (расчет концентрации по разности абсорбции образца и «бланка»);
- бихроматическом (расчет концентрации по разности абсорбции, измеренной на двух длинах волн).

Дальнейшая автоматизация фотометров привела к появлению проточной кюветы, исключившей ошибки, связанные с постановкой кюветы в измерительный модуль и ее термостатированием, и позволяющей экономнее расходовать реактивы, поскольку при толщине поглощающего слоя 1 см объем кюветы составляет не более 100 мкл. С учетом объемов подводящих трубок и необходимости несколько раз менять реакционную смесь в кювете до начала измерения объем раствора, требуемый для проведения измерений, составляет 0,5–1,0 мл.

Наряду с одно- и двухканальными появились и многоканальные фотометры, позволяющие измерять одновременно большое количество проб, что существенно ускорило процесс измерения.

Главным отличием автоматических фотометров (спектрофотометров) от автоанализаторов является необходимость вручную смешивать образец с реактивами. Поэтому, если укомплектовать автоматический фотометр устройством, автоматически смешивающим определенный объем пробы с определенным объемом реактива, такой комплекс может рассматриваться уже как автоанализатор.

Практически все автоматические фотометры снабжены программой внутреннего контроля (автоматически сообщают о возникших неисправностях) и могут подключаться к компьютеру. Число каналов программирования у подавляющего большинства автоматических фотометров позволяет без перепрограммирования выполнять все биохимические исследования.

Отдельными представителями обычных и автоматизированных фотометров (биохимических полуавтоматизаторов) являются:

- Vitalon 400 – полуавтоматический анализатор для биохимического и иммунотурбидиметрического анализа с проточной кюветой. Прибор оснащен проточной кварцевой кюветой (элемент Пельтье), минимальный объем реакционной смеси составляет 200 мкл. Анализатор оснащен 7 светофильтрами: 340, 405, 500, 546, 578, 620, 670 нм. В памяти прибора сохраняются 160 запрограммированных методик анализа, 1000 результатов измерений проб по пациентам и методикам, построенные калибровочные кривые, а также результаты анализа контроля качества за год. Анализатор обеспечивает контроль качества измерений на двух уровнях с демонстрацией графиков Леви–Дженнинга. Имеется возможность графического отображения кинетических измерений и калибровочных кривых на цветном жидкокристаллическом дисплее в процессе анализа, возможность задания различных параметров печати и работы с наливной кюветой. Прибор полностью адаптирован к реагентам ВИТАЛ (для определения 38 параметров биологических жидкостей человека: липидов, ферментов, электролитов, субстратов и специфических белков).
- Высокопроизводительный полуавтоматический биохимический анализатор CLIMA MC-15 (Испания). Предназначен для проведения биохимических и иммунотурбидиметрических исследований. Является открытой системой, в которой используется моно- и бихроматический режим измерения с высоким разрешением. Для монохроматизации светового потока используются интерференционные светофильтры: 340, 405, 500, 546, 578, 630 и 670 нм. Имеется термостат на 4 мультикюветы ($37 \pm 0,2^\circ\text{C}$). Производительность прибора составляет: по конечной точке до 900 определений/ч, по кинетике – до 600 определений/ч. Методы измерений: абсорбция, конечная точка, кинетика, фиксированное время, дифференциальный и мультистандартный. Минимальный объем реактива – 0,5 мл. В анализаторе используются 15-секционные мультикюветы. Имеется возможность проводить одновременное измерение в 15 пробах по одному параметру (режим «batch»); разных проб по различным параметрам (режим «random»); одной пробы по 15 параметрам (режим «profile»). Количество программируемых методик в памяти – 60.
- Полуавтоматический биохимический анализатор Metrolab 1600 предназначен для определения активности ферментов, содержания субстратов, электролитов, гормонов, исследования факторов коагуляции, осуществления лекарственного мониторинга. Имеются встроенная проточная кювета объемом 30 мкл и держатель обычных кювет (допускается возможность использования любых квадратных кювет с длиной оптического пути 10 мм). Поддерживается температура исследования 25, 30 и 37°C . Имеется 100 каналов программирования, возможность построения до 30 нелинейных калибровочных кривых. Методы измерения: по конечной точке с холостой пробой или без нее, калибровка по стандарту или по фактору, режим нелинейной калибровки, кинетики [двухточечной с измерением до 600 с, прямое считывание турбидиметрических измерений (коагулометрия) возможность просмотра и печати реакционной кривой для ручной корректировки результатов].

– Биохимический автоматический анализатор *Kuadro* (Италия) – малогабаритный прибор (масса 40 кг), обладающий производительностью 120–140 тестов в час. Располагает штативом для образцов (до 72 образцов), штативом для реагентов (на 18 позиций), каруселью для проведения реакций (216 ячеек: 12 секторов по 18 ячеек) с нагревающейся инкубационной системой. Фотометрическая система представлена колесом фильтров (6 стандартных и 1 дополнительный): 340–620 нм. Имеется встроенный термопринтер.

Техника автоматического лабораторного анализа к настоящему времени достигла высокой степени совершенства. Разработано несколько десятков вариантов конструкции автоанализаторов для осуществления биохимических, гематологических и иммунохимических исследований. Известные в мире биохимические автоанализаторы могут быть подразделены (несколько условно) на три основных типа.

1. Одноцелевые биохимические автоанализаторы, с помощью которых в анализируемой пробе определяется лишь один компонент биологической жидкости и ткани. К числу таковых могут быть отнесены, например, анализатор «Глюкоза-2» фирмы «Бекман», автоматическое устройство для определения уровня глюкозы в сыворотке (плазме) крови германо-российского производства (ESAT-6660), автоматический титратор для определения содержания кальция и т.д.

2. Автоматы для определения так называемых родственных компонентов. Это, например, автоанализатор аминокислот, принцип действия которого основан на хроматографическом их разделении (по Штейну и Муру); автоматический атомно-абсорбционный пламенный спектрофотометр.

3. Многоцелевые биохимические автоматические устройства, предназначенные для установления содержания в биологических жидкостях большого количества различных по химической природе компонентов, которые в лечебно-профилактических учреждениях республики наиболее широко применяются для выполнения ординарных и некоторых специальных клинико-лабораторных исследований.

Технико-аналитические возможности биохимических автоанализаторов во многом зависят от заложенного в них принципа действия: поточного или дискретного (см. рис. 6).

Впервые поточный принцип действия автоанализатора был предложен Скеггсом (1954). Согласно этому принципу, все химические реакции при анализе проводятся в потоке транспортируемых по трубкам и разделенных воздушными прослойками проб.

Приборы такого типа («Техникон АА2») широко использовались в республиканских кардиологических центрах бывшего СССР для осуществления советско-американской программы проведения эпидемиологических исследований в области кардиологии, а именно: для определения стандартизованными методами содержания общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности, триацилглицеринов сыворотки крови.

Около 30 лет тому назад Я.Ружичка и Э.Хансен, К.Стюарт предложили новую разновидность непрерывного поточного анализа – поточно-инъекционный анализ (ПИА).

Особенностью его является введение (инъекция) определенного объема образца в непрерывный поток носителя. При большой скорости движения носителя, малом объеме анализируемой жидкости и достаточно узкой (капил-

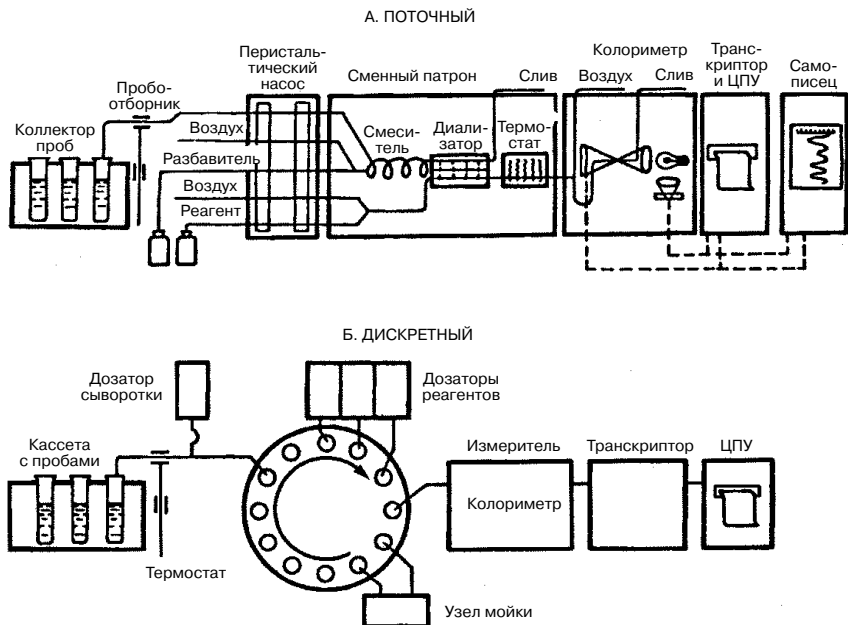


Рис. 6. Принцип устройства и функционирования биохимических автоанализаторов (Комаров Ф.И., Коровкин Б.Ф., Меньшиков В.В. Биохимические исследования в клинике. — Л.: Медицина, 1976. — С. 356).

лярной) трубке отдельные пробы не смешиваются друг с другом, а лишь немного разбавляются жидкостью-носителем. Это позволяет отказаться от разделения (сегментирования) жидкой зоны пузырьками воздуха (технологический принцип, используемый в автоанализаторах Скеггса).

Автоанализаторы, использующие дискретный принцип работы, применяются в клинико-лабораторной практике с начала 1960-х годов. Согласно этой технологии из специального пробоотборника в реакционную емкость приготовителя вносятся анализируемая проба, разбавитель (при необходимости) и соответствующие реагенты. Смесь термостатируется, после чего измеряется ее оптическая плотность (в видимой, ультрафиолетовой области). Возможно также использование других способов детектирования.

Основными узлами дискретных автоанализаторов являются: карусели (картриджи) с исследуемым биологическим материалом и реагентами, дозаторы (манипуляторы), блок измерения концентрации определяемого компонента, регистрирующее устройство и система управления комплексом перечисленных модулей.

В дискретных автоанализаторах вместо центрифугирования и диализа (традиционные процедуры предварительного отделения белков) используется большее разбавление проб, при котором помехи от присутствия белков в большинстве реакций становятся ничтожно малыми.

Владимир Семенович Камышников

**СПРАВОЧНИК
ПО КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИМ
ИССЛЕДОВАНИЯМ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ**

Главный редактор: *В.Ю.Кульбакин*
Ответственный редактор: *Е.Г.Чернышова*
Корректоры: *Т.А.Редькина, Е.А.Бакаева, О.А.Эктова*
Компьютерный набор и верстка: *Д.В.Давыдов, А.Ю.Кишканов*

ISBN 5-98322-303-8



9 785983 223035

Лицензия ИД №04317 от 20.04.01 г.
Подписано в печать 27.11.08. Формат 60×90/16.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Объем 56 п.л.
Гарнитура Таймс. Тираж 2000 экз. Заказ №3232

Издательство «МЕДпресс-информ».
119048, Москва, Комсомольский проспект, д. 42, стр. 3
Для корреспонденции: 105062, Москва, а/я 63
E-mail: office@med-press.ru
www.med-press.ru

Отпечатано с готовых диапозитивов
в ООО «Типография «Новости»
105005, Москва, ул. Фр. Энгельса, 46