

## ХАРАКТЕРИСТИКА ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ОДНОВОЛНОВЫХ МИКРОФОТОМЕТРОВ МИКРОЛА

Е.Н. Ованесов, НПП «Техномедика», Москва

Бурное развитие науки и технологий привело к появлению широкого спектра импортного фотометрического оборудования. Современная техника отличается как высокой точностью, так и обширными методическими возможностями лабораторных исследований. Но, ничто не дается даром - техника эта отличается и большой стоимостью и значительными затратами на обслуживание. Этим отсекается огромный пласт российских (и не только!) лабораторий, для которых современные технологии оказались недоступными. В числе факторов, затрудняющих продвижение современной аппаратуры в первичное звено здравоохранения, входит и дефицит, и недостаточный уровень квалификации медицинского и обслуживающего персонала.

НПП «Техномедика» разработала серию микрофотометров с общей торговой маркой МИКРОЛА (микрола-боратория), которая доступна практически всем потребителям и, в тоже время, отвечает современным требованиям к качеству лабораторных исследований. Базовым прибором в этой серии стал гемоглобинометр МиниГЕМ, разработанный двенадцать лет назад. За эти годы выпущено свыше 16 тысяч гемоглобинометров, и они используются не только в России, но и десятках зарубежных стран. Гемоглобинометр представляет собой портативный одноволновый фотометр с питанием от внутренних батарей или от сетевого адаптера.

Серия микрофотометров МИКРОЛА включает в себя:

- гемоглобинометр МиниГЕМ 540 для определения гемоглобина гемиглобинцианидным методом с заводской калибровкой (рис.1);
- гемоглобинометр МиниГЕМ 523 для определения гемоглобина модифицированным методом Дервиза-Воробьева с заводской калибровкой (рис.1);
- гемоглобинометр МиниГЕМ+ для определения гемоглобина гемиглобинцианидным и гемихромным методами с заводской и пользовательской калибровками (рис. 2);
- анализатор общего белка в моче Белур 600 с пользовательской калибровкой (рис. 2);
- микрофотометр лабораторный Микрола для биохимических исследований по конечной точке с памятью на 1 методику (рис. 2);
- биохимический анализатор микроБиАн-КТ для биохимических исследований по конечной точке с памятью на 99 методик и возможностью многоточечной калибровки (рис. 3);

- биохимический анализатор микроБиАн для биохимических исследований в кинетике и по конечной точке с памятью на 99 методик и возможностью многоточечной калибровки (рис. 3).



Рис. 1.

Гемоглобинометр МиниГЕМ+



Рис. 2.

Микрофотометр Микрола.



Рис. 3.

Анализатор микроБиАн.

Сравнительные характеристики серии микрофотометров МИКРОЛА приведены в таблице 1.

Конструкция микрофотометров имеет высокую надежность. В ней используются новейшие разработки мировых производителей электронных компонентов. Управление работой микрофотометров и расчет концентрации исследуемых веществ осуществляет микропроцессорная программа.

В качестве источников света используются светодиоды с высокой яркостью, что позволяет работать с приборами даже на освещенном солнцем рабочем месте, не прикрывая открытую фотометрическую ячейку. Срок службы таких светодиодов составляет десятилетия.

Но главной отличительной особенностью микрофотометров является алгоритм обработки оптического сигнала.

Три важных фактора определяют точность фотометрического биохимического определения вещества:

1. калибровка
2. измерение холостой пробы
3. измерение концентрации вещества.

Рассмотрим простейшую оптическую схему устройства для фотометрирования растворов (рис. 4).

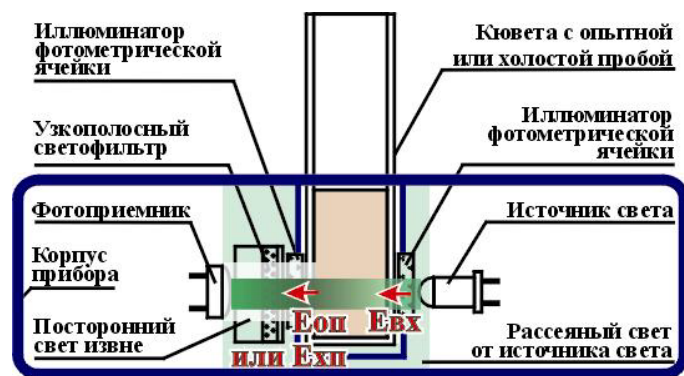


Рис. 4. Простейшая оптическая схема устройства для фотометрирования.

Световой поток от источника света (лампа накаливания, светодиод) пропускается через кювету с исследуемым раствором и попадает на фотоприемник. Световой поток, проходя через раствор, частично поглощается. Степень поглощения зависит от концентрации гемиглобинцианида. Перед фотоприемником расположен светофильтр, который пропускает световой поток и в значительной мере защищает фотоприемник от постороннего света извне. На фотоприемник попадает также незначительное излучение от источника света, рассеянное конструктивными элементами прибора и не прошедшее через кювету. Это излучение не ослабляется светофильтром. Электрический ток фотоприемника пропорционален падающему на фотоприемник световому потоку  $E$ .

Без учета рассеянного и постороннего света, а также других причин, искажающих результат измерения справедливы соотношения:

$I_{хп} = E_{хп} \cdot K$ , где  $K$  – коэффициент преобразования силы света  $E_{хп}$ , прошедшего через холостую пробу, в электрический ток фотоприемника  $I_{хп}$ ;  $I_{оп} = E_{оп} \cdot K$ ,  $I_{оп}$  измеряется с опытной пробой;

$T_{хп} = E_{хп}/E_{вх}$ ,  $T_{оп} = E_{оп}/E_{вх}$  где  $T$  – коэффициент пропускания соответствующей жидкости;

$D = -\lg T$ , где  $D$  – оптическая плотность раствора;  $D_{оп} = -(\lg E_{вх} - \lg E_{оп})$ ;  $D_{хп} = -(\lg E_{вх} - \lg E_{хп})$ ;

$C = F \cdot D_{отн}$ , где  $C$  – концентрация исследуемого вещества,  $F$  – коэффициент пропорциональности (или фактор),  $D_{отн}$  – оптическая плотность опытной пробы относительно оптической плотности холостой пробы,  $D_{отн} = D_{оп} - D_{хп} = \lg(E_{оп}/E_{хп}) = \lg(I_{оп}/I_{хп})$ .

В случае, если световой пучок монохроматичный или его спектр ограничен светофильтром

с очень узкой полосой пропускания (до 10 нм), последняя зависимость имеет линейный вид (рис.5).

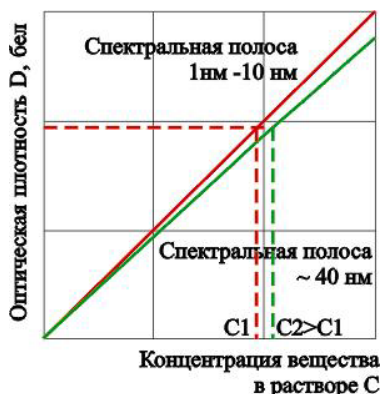


Рис. 5. Зависимость оптической плотности от концентрации вещества в растворе при различной спектральной полосе пропускания светофильтра.

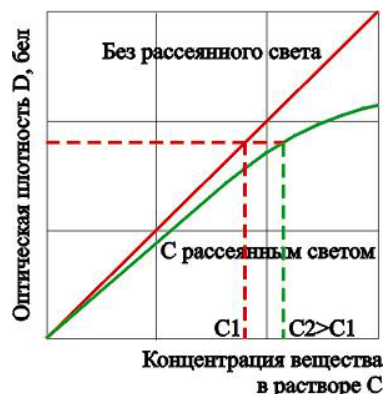


Рис.6. Влияние рассеянного и постороннего света на результат измерения.

В случае попадания на фотоприемник рассеянного и постороннего света, связь между оптической плотностью и концентрацией становится нелинейной (рис.6).



Рис. 7. Влияние холостой пробы на результат измерения.

Правильная и постоянная калибровка значительно снижает влияние негативных факторов при работе на обычных фотометрах. Однако при калибровке фотометра трудно учесть влияние потока постороннего света извне, так как этот поток зависит от взаимного расположения и перемещения внешних источников света в помещении, где проводятся измерения.

Процедура калибровки является наиболее важной при биохимическом исследовании. Неправильно приготовленный или испорченный калибратор приведет к ошибкам измерения.

Следует особо отметить, что качество измерения оптической плотности холостой пробы  $D_{хп}$

существенным образом отражается на качестве измерения концентрации гемоглобина. Если в холостой пробе присутствуют какие-либо включения (пузырьки воздуха, взвесь и тому подобное), оптическая плотность такой «холостой» пробы окажется выше и результат определения гемоглобина на неправильно откалиброванном фотометре будет искажен (рис.7).

Кроме чисто оптических факторов на результат измерения оказывает влияние и нестабильность электрических параметров схемы преобразования силы света в электрический сигнал. В обобщенном виде это можно представить, как нестабильность коэффициента  $K$ . Этот недостаток также компенсируется калибровкой фотометра, но только на непродолжительное время.

Таким образом, качество биохимического определения зависит и от качества калибраторов и от конструктивных особенностей используемого фотометра.

Алгоритм обработки сигналов оптико-электронного тракта серии микрофотометров МИКРОЛА позволяет значительно ослабить влияние рассмотренных негативных факторов.

Алгоритм измерения сигналов, соответствующих опытной пробе, содержит следующие фазы:

- измерение  $I_{оп}$  – электрического тока, соответствующего оптическому коэффициенту пропускания кюветы с опытной пробой, когда кювета опущена в фотометрическую ячейку ;

- измерение  $I_{аоп}$  – электрического тока, соответствующего оптическому коэффициенту пропускания оптической схемы без кюветы в цикле измерения опытной пробы.  $I_{аоп}$  характеризует состояние оптико-электронного тракта прибора и хранится в памяти прибора. Значение  $I_{аоп}$  из предыдущего цикла измерения используется при вычислении концентрации гемоглобина в текущем цикле. Измерение  $I_{аоп}$  является функцией самоконтроля гемоглобинометра, а его оперативное изменение – функцией саморегулирования. Эти функции обеспечивают многолетнюю стабильность измерений на микрофотометрах серии МИКРОЛА.

- измерение  $I_{d1}$  – электрического тока при выключенном светодиоде в цикле измерения с кюветой в цикле измерения опытной пробы;

- измерение  $I_{d2}$  – электрического тока при выключенном светодиоде в цикле измерения без кюветы в цикле измерения опытной пробы;

Такой же алгоритм измерения сигналов, соответствующих холостой пробе:

- измерение  $I_{хп}$  – значение электрического сигнала, соответствующего оптическому коэффициенту пропускания кюветы с холостой пробой, когда кювета опущена в фотометрическую ячейку;

- измерение  $I_{ахп}$  – электрического тока, соответствующего оптическому коэффициенту пропускания оптической схемы без кюветы в цикле измерения холостой пробы;

- измерение  $I_{d3}$  – электрического тока при выключенном светодиоде в цикле измерения с кюветой в цикле измерения холостой пробы;

- измерение  $I_{d4}$  – электрического тока при выключенном светодиоде в цикле измерения без кюветы в цикле измерения холостой пробы;

Концентрация исследуемого вещества  $C$  и электрические сигналы связаны следующим выражением:

$$C = (\lg(I_{аоп} - I_{d2}) - \lg(I_{оп} - I_{d1}) - \lg(I_{ахп} - I_{d3}) + \lg(I_{хп} - I_{d4})) \cdot F = (D_{оп} - D_{хп}) \cdot F = D_{отн} \cdot F.$$

$F$  – коэффициент пересчета оптической плотности в концентрацию исследуемого вещества (фактор). Значение фактора устанавливается при калибровке прибора и хранится в энергонезависимой памяти прибора.

Приведенный алгоритм работы микрофотометров обеспечивает точные и стабильные измерения, Он учитывает, как влияние рассеянного и постороннего света, так и изменения состояния оптико-электронного тракта приборов.

Особенностью конструкции серии микрофотометров МИКРОЛА является автоматическое включение приборов при опускании кюветы в фотометрическую ячейку. При опускании кюветы приборы переходят в активный режим, производят измерение и выводят результат на дисплей. При вынимании кюветы приборы переходят в пассивный режим ожидания с минимальным энергопотреблением. Приборы не имеют кнопок включения и выключения питания, каких-либо ручек для регулирования. Таким образом, фотометрирование опытных проб максимально автоматизировано, что обеспечивает высокую производительность измерений и минимизирует ошибки оператора.

Достоинством микрофотометров МИКРОЛА является также относительно невысокая стоимость. Ими можно оснащать отдельные рабочие места в лаборатории, приобретая приборы по мере необходимости и при наличии финансовых возможностей.

В заключение приведем некоторые доступные биохимические методики (тесты) для микрофотометров МИКРОЛА с разными длинами волн.

**340 нм.** Кинетика - АСТ, АЛТ, КК-МВ, КФК, ЛДГ, мочевины; Конечная точка - иммуноглобулины IGA, IGM, IG, мочевины, фосфор, С реактивный белок, неорганические фосфаты, глюкоза в крови и моче.

**405 нм.** Кинетика - А-Амилаза, ГГТ, ЩФ, КФ, активность антитромбина III, активность плазминогена, активность протеина С, анти Ха активность гепарина; Конечная точка - креатинин, натрий, гликогемоглобин HbA1, активность антитромбина III, активность плазминогена, активность протеина С, анти Ха активность гепарина.

**492 нм.** Кинетика – креатинин; Конечная точка - хлориды.

**523 нм.** Конечная точка – гемоглобин (1), глюкоза, триглицериды, холестерин, билирубин общий, мочева кислота.

**540 нм.** Конечная точка - гемоглобин (4), глюкоза, триглицериды, холестерин, холестерин-ЛВП, белок общий, альбумин, билирубин общий, билирубин прямой+общий, лактат, мочева кислота, магний .

**580 нм.** Конечная точка - липаза, калий, кальций, железо, хлориды.

**600 нм.** Конечная точка - общий белок в ликворе и в моче ПГК, общий белок в моче Бредфорд, общий белок в моче ССК.

**620 нм.** Конечная точка – железо, альбумин, HDL-холестерин, LDL-холестерин, кальций, ревматоидный фактор.

Таблица 1.

№ пп	Параметр/мик-рофотометр	МиниГЕМ 540	МиниГЕМ 523	МиниГЕМ +	Белур 600	Микрола	микроБиАн КТ	микроБиАн
3	<b>Спектральный диапазон</b>	540 нм	523 нм	540 нм	600 нм	400– 800 нм	340 - 700 нм	340 нм -700 нм
4	<b>Количество светофильтров</b>	1	1	1	1	1	1	1
5	<b>Рабочая длина волны</b> (из указанного списка)	540 нм	523 нм	540 нм	600 нм	405, 492, 523, 540, 580, 600, 620 нм	340, 405, 492, 523, 540, 580, 600, 620 нм	340, 405, 492, 523, 540, 580, 600, 620 нм
6	<b>Полоса пропускания светофильтра</b>	40 нм	40 нм	40 нм	40 нм	(8 ± 2) нм	(8 ± 2) нм	(8 ± 2) нм
7	<b>Фотометрический метод измерения</b>	Конечная точка	Конечная точка	Конечная точка	Конечная точка	Конечная точка	Конечная точка	Кинетика, конечная точка
<b>Примерное число доступных биохимических методик (тестов)</b>								
8	<b>340 нм</b>						<b>микроБиАн КТ 340</b> 8 тестов	<b>микроБиАн 340</b> 8 тестов по конечной точке, 8 тестов в кинетике
9	<b>405 нм</b>					<b>Микрола 405</b> 6 тестов	<b>микроБиАн КТ 405</b> 6 тестов	<b>микроБиАн 405</b> 6 тестов по конечной точке, 7 тестов в кинетике
10	<b>492 нм</b>					<b>Микрола 492</b> 1 тест	<b>микроБиАн КТ 492</b> 1 тест	<b>микроБиАн 492</b> 1 тест по конечной точке, 1 тест в кинетике
11	<b>523 нм</b>		<b>МиниГЕМ 523</b> 1 тест			<b>Микрола 523</b> 6 тестов	<b>микроБиАн КТ 523</b> 6 тестов	<b>микроБиАн 523</b> 6 тестов по конечной точке,
12	<b>540 нм</b>	<b>МиниГЕМ 540</b> 1 тест		<b>МиниГЕМ+</b> 2 теста		<b>Микрола 540</b> 15 тестов	<b>микроБиАн КТ 540</b> 15 тестов	<b>микроБиАн 540</b> 15 тестов по конечной точке
13	<b>580 нм</b>					<b>Микрола 580</b> 5 тестов	<b>микроБиАн КТ 580</b> 5 тестов	<b>микроБиАн КТ 580</b> 5 тестов по конечной точке
14	<b>600 нм</b>				<b>Белур 600</b> 3 теста	<b>Микрола 600</b> 3 теста.	<b>микроБиАн КТ 600</b> 3 теста	<b>микроБиАн 600</b> 3 теста. по конечной точке
15	<b>620 нм</b>					<b>Микрола 620</b> 5 тестов	<b>микроБиАн КТ 620</b> 6 тестов	<b>микроБиАн 620</b> 6 тестов по конечной точке