

**Лабораторные методы
диагностических
исследований
(аналитические методы)**

Основные разделы клинической лабораторной диагностики

- Химико-микроскопическое исследование биологических материалов
- Гематологические исследования
- Исследования системы гемостаза
- Биохимические исследования
- Микробиологические исследования

- Иммунологические исследования

- Исследование реологических свойств крови
- Цитохимические исследования
- Лекарственный мониторинг

- Иммуноферментный анализ
- Методы молекулярной диагностики

Химико-микроскопическое исследование биологических материалов

Моча

- физические свойства
- химическое исследование
- микроскопия осадка

Кал

- физические свойства
- химическое исследование
- микроскопия
- обнаружение простейших
- обнаружение гельминтов

Желудочная секреция

Экссудаты

- физико-химические свойства
- Микроскопия

Спинномозговая жидкость

- физические свойства
- химическое исследование
- микроскопия

Методы исследования системы гемостаза:

- Исследование сосудисто-тромбоцитарного (первичного) гемостаза;
- Исследование свертывания крови (коагуляционный гемостаз);
- Исследование фибринолитической системы крови

Методы клинической биохимии

- Белки и белковые фракции
- Ферменты и изоферменты
- Низкомолекулярные азотистые вещества
- Показатели пигментного обмена
- Глюкоза и метаболиты углеводного обмена
- Липиды, липопротеины и аполипопротеины
- Гормоны
- Неорганические вещества (натрий, калий, показатели метаболизма железа)

- Кислотно-основное состояние

Классификация медицинских изделий

- для общих клинических исследований;
- для биохимических исследований;
- для определения кислотно-щелочного состояния и газов крови;
- для исследований электролитного состава крови и мочи;
- для иммунологических исследований;
- для серологических исследований;
- для морфологических исследований;
- для цитологических исследований

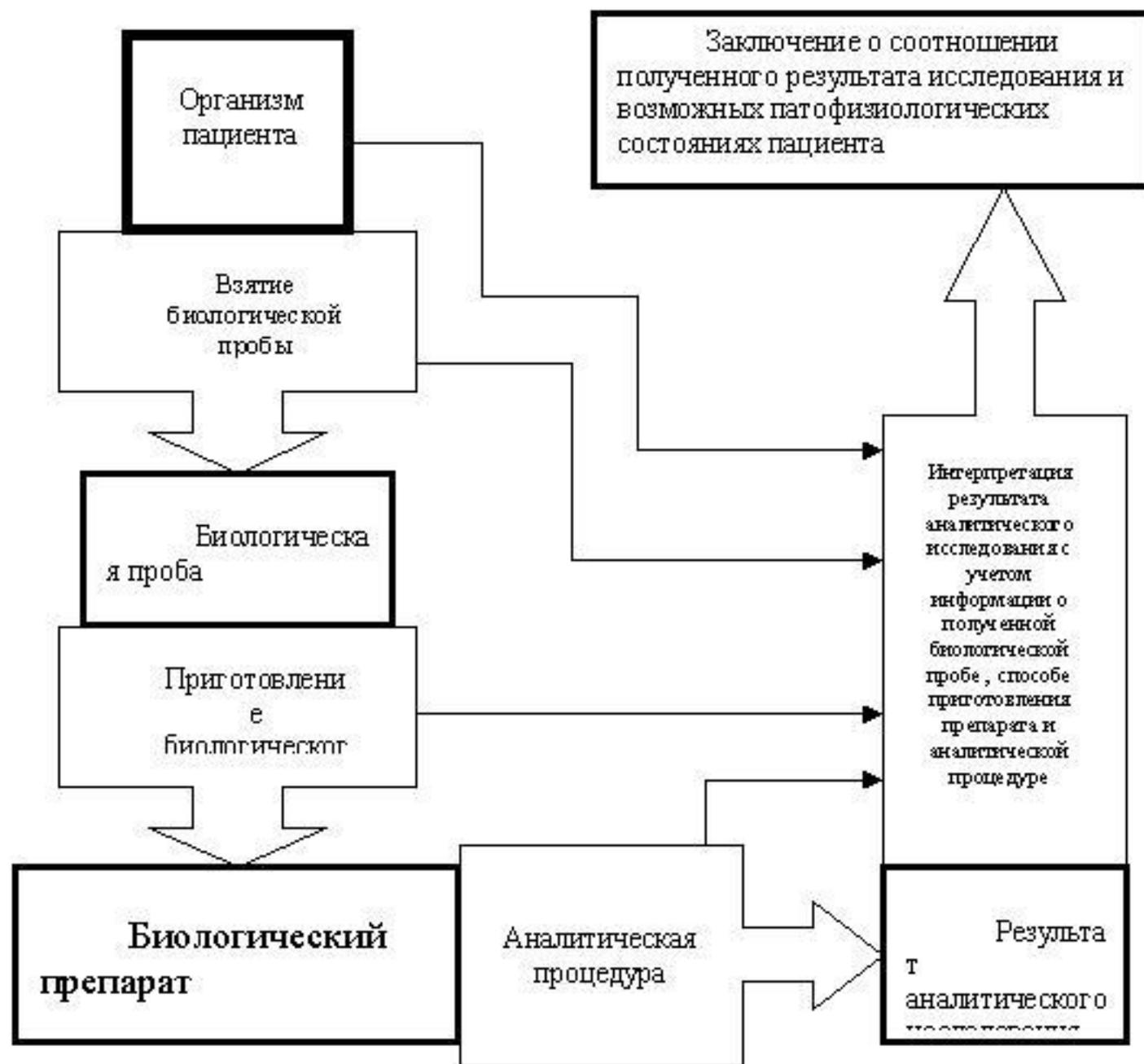
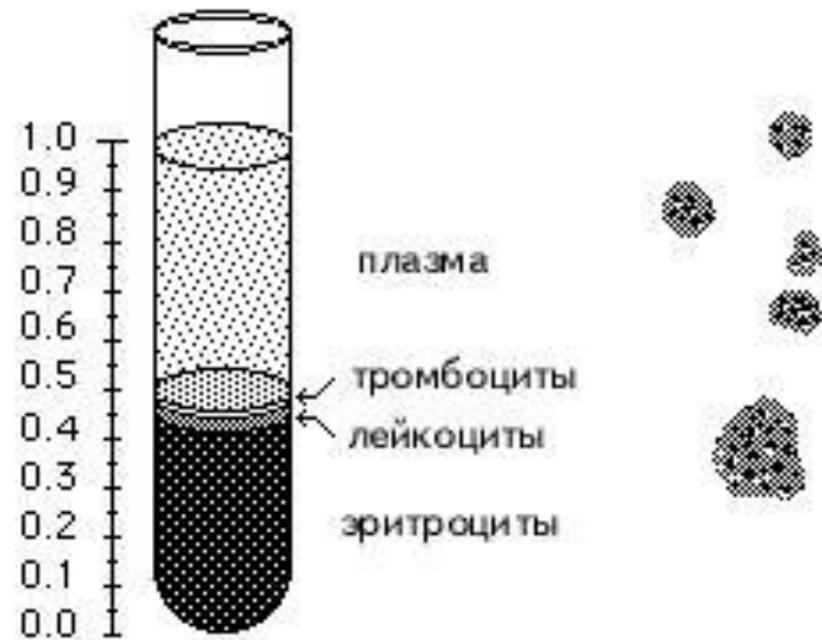


Рис. 1. Обобщенная схема лабораторного исследования

Разделение крови



Общеклинический анализ крови



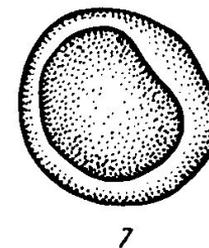
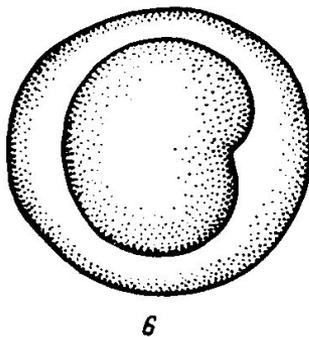
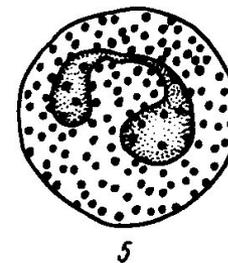
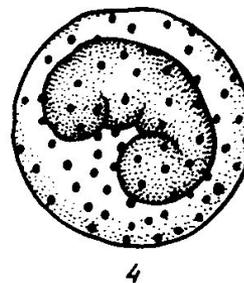
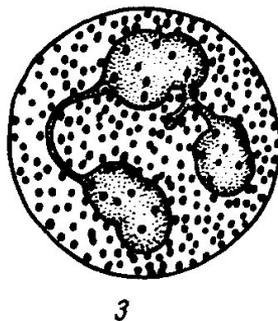
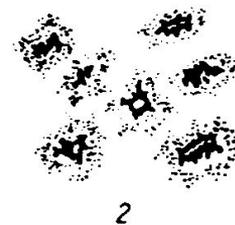
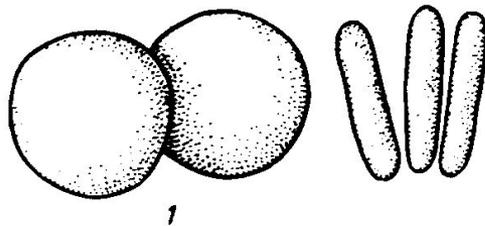
Морфологические характеристики клеток крови

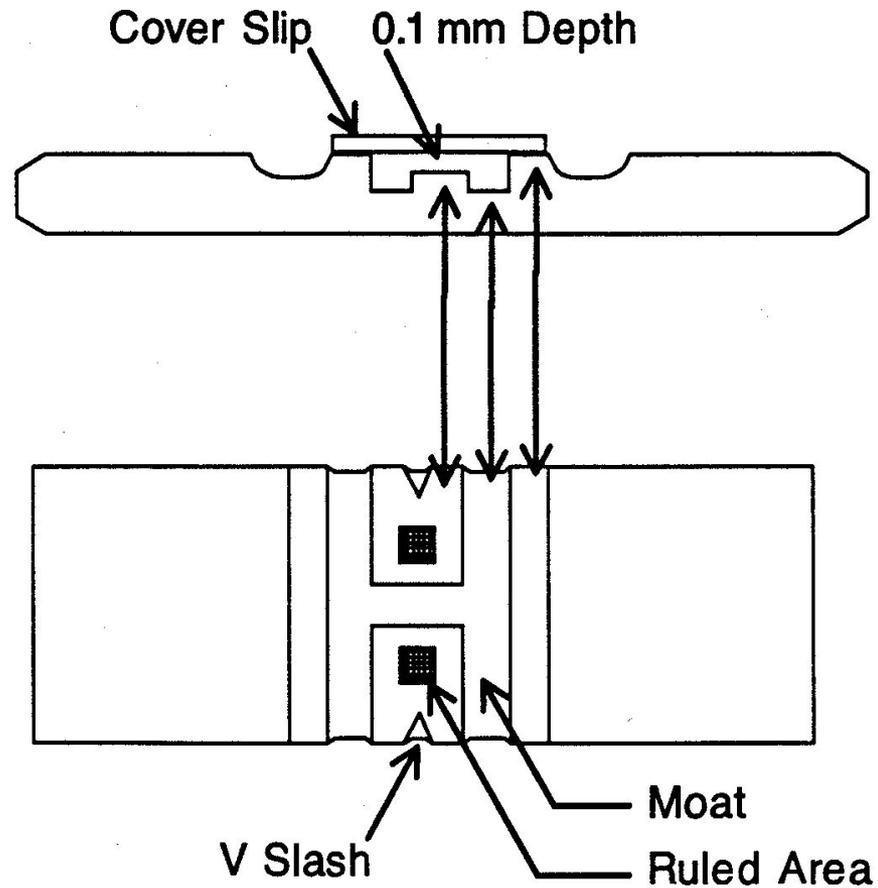
	Объемная концентрация (%)	Численная концентрация (клеток/мм³)	Типичные размеры (мкм)	Объем (мм³)
Эритроциты	46	$(4,2 - 4,8) \cdot 10^6$	7,1÷9,2 * 1,7÷2,4	70 ÷100
Лейкоциты	1,2	$(4 - 8) \cdot 10^3$	8 ÷22	
Тромбоциты	0,3	$(2,5 - 5) \cdot 10^5$	2 ÷ 4	6

Лейкоцитарная формула

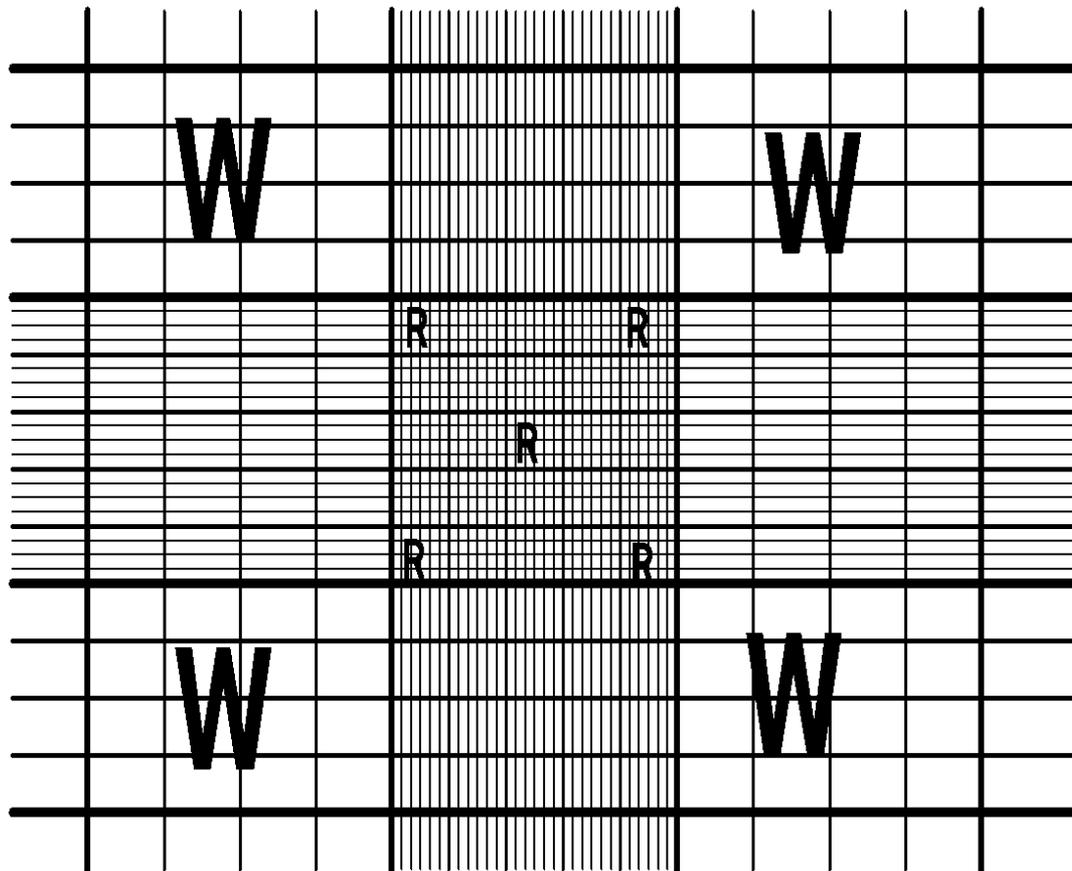
Лейкоциты, 10^9 /л	Эозинофилы, %	Базофилы, %	Нейтрофилы, %			Лимфоциты, %	Моноциты, %
			юные	палочкоядерные	Сегментоядерные		
4,0 - 9,0	1 - 4	0 - 0,5	0 - 1	2 - 5	55 - 68	25 - 30	6 - 8

- 1 - эритроциты;
2 - тромбоциты;
3 - нейтрофил;
4 - базофил;
5 - эозинофил;
6 - моноцит;
7 - лимфоцит.

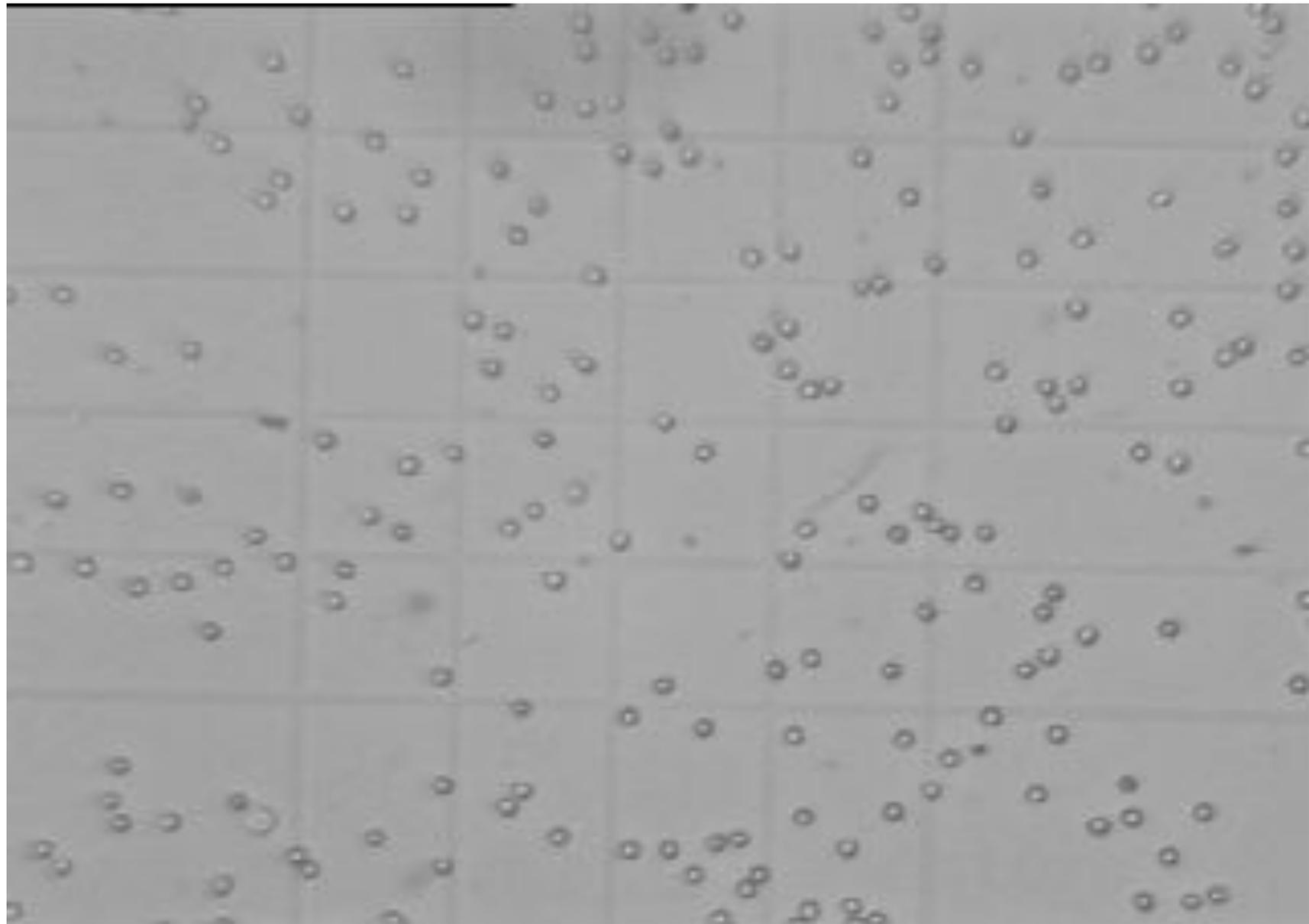


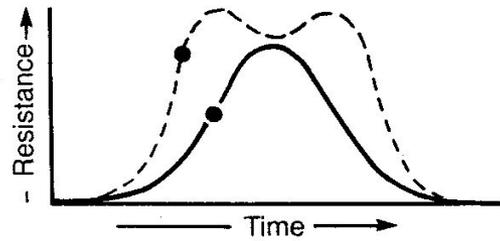
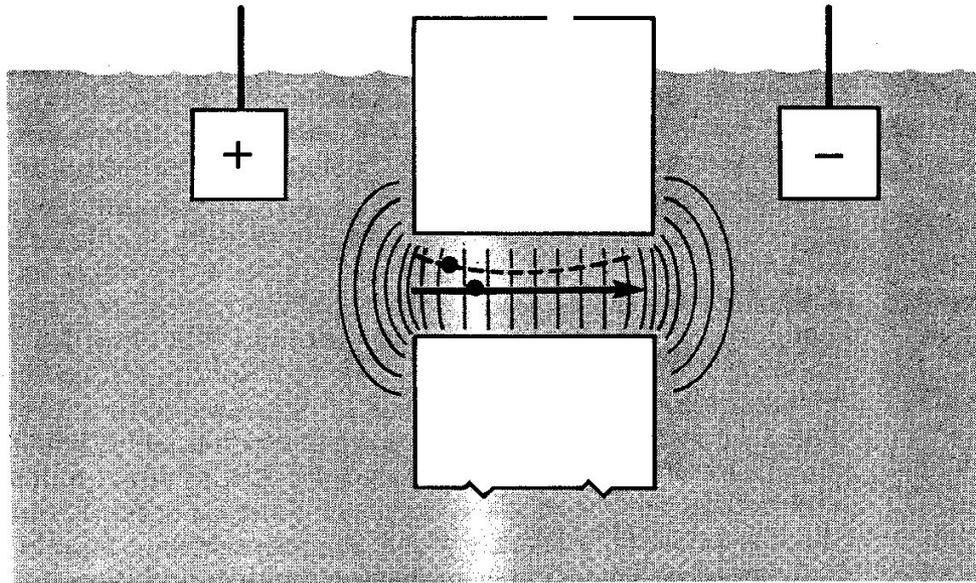


**Камера для микроскопического исследования
клеток крови**



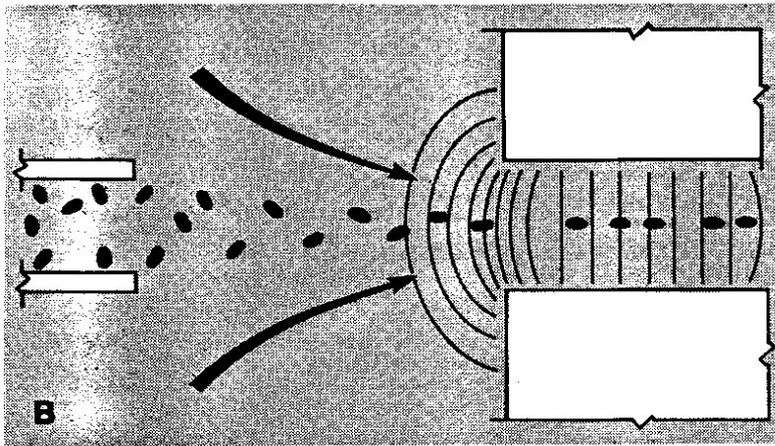
Сетка измерительной области камеры



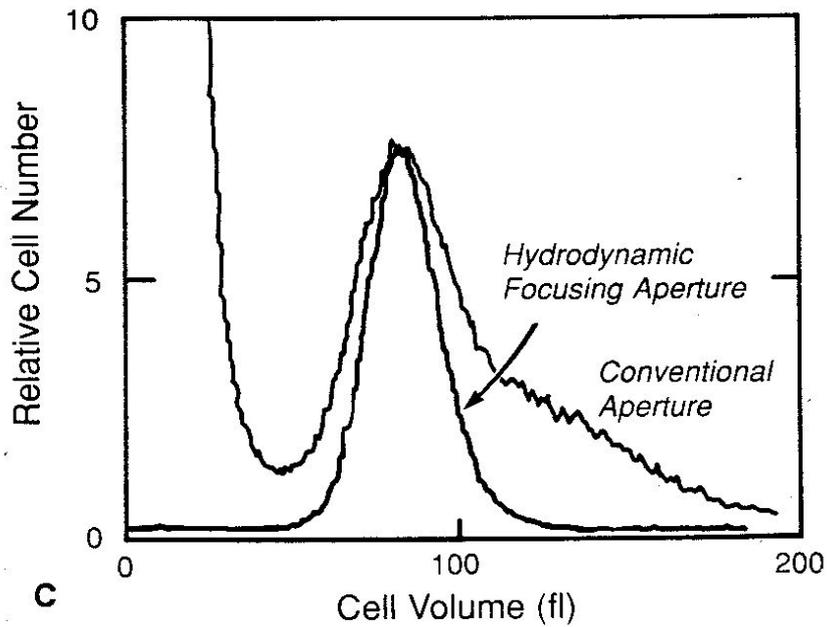


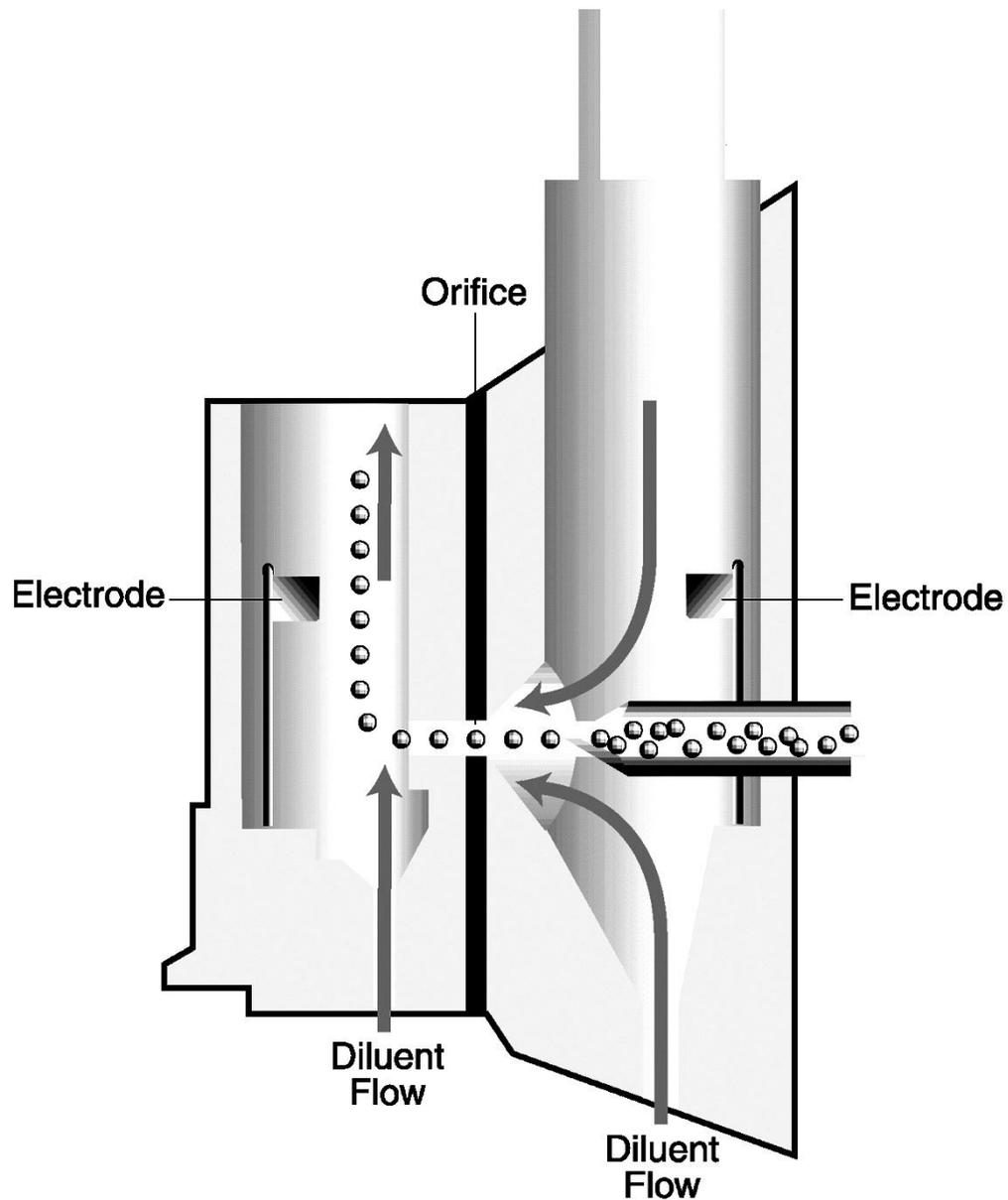
A

Метод Култера (Coulter)



Гидродинамическая
фокусировка клеток





Устройство кондуктометрической измерительной камеры для подсчета клеток с использованием гидродинамической фокусировки

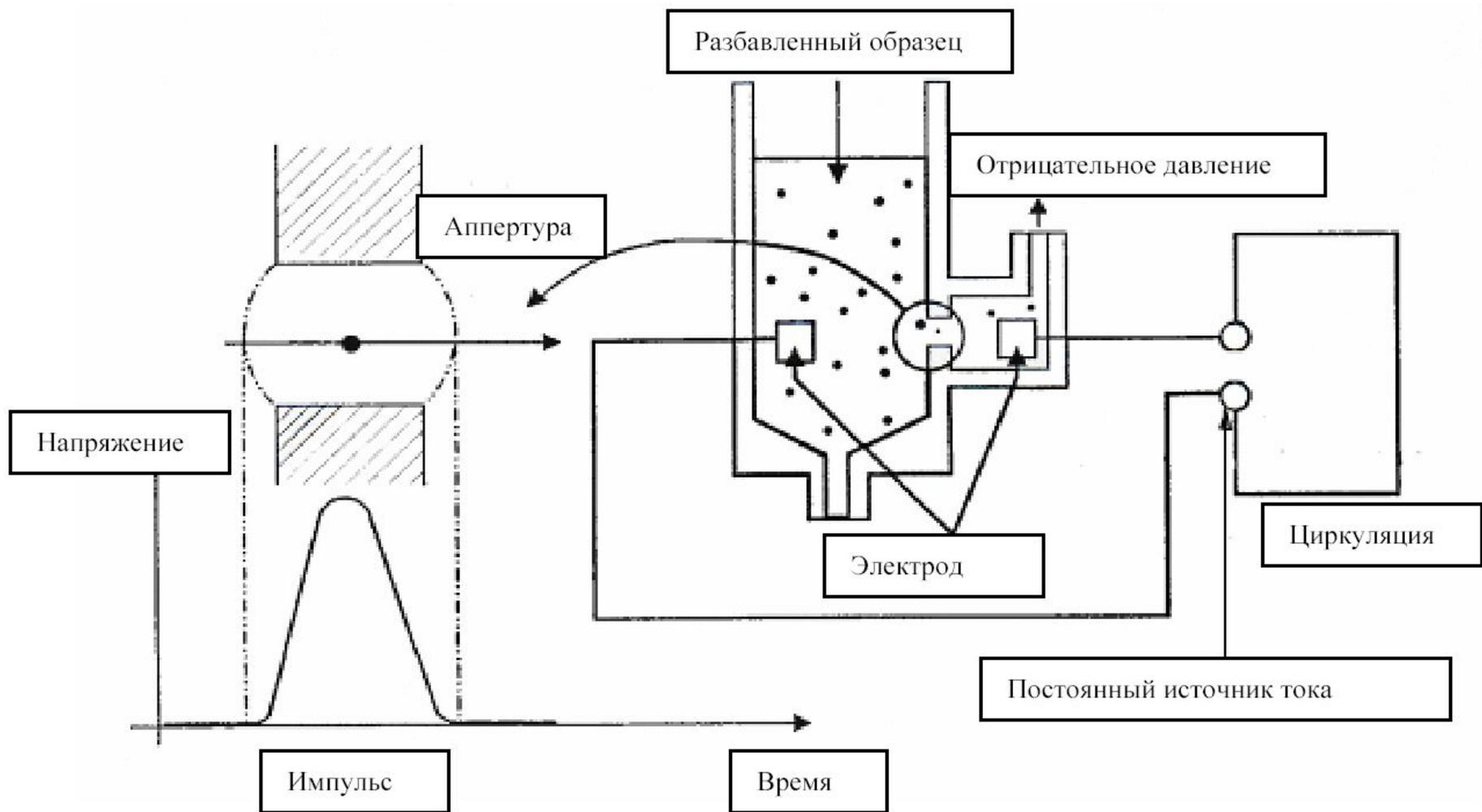


Рисунок 3-2 Метод подсчёта и измерение размеров Coulter

Абсолютный объем частиц V может быть определен из следующего выражения:

$$V = A^2 \cdot f_k \cdot \Delta E / r \cdot i \cdot F,$$

Где

A – площадь поперечного сечения отверстия,

f_k – поправочный коэффициент для учета геометрии отверстия и пути прохождения частицы через него,

r - удельное сопротивление жидкой среды,

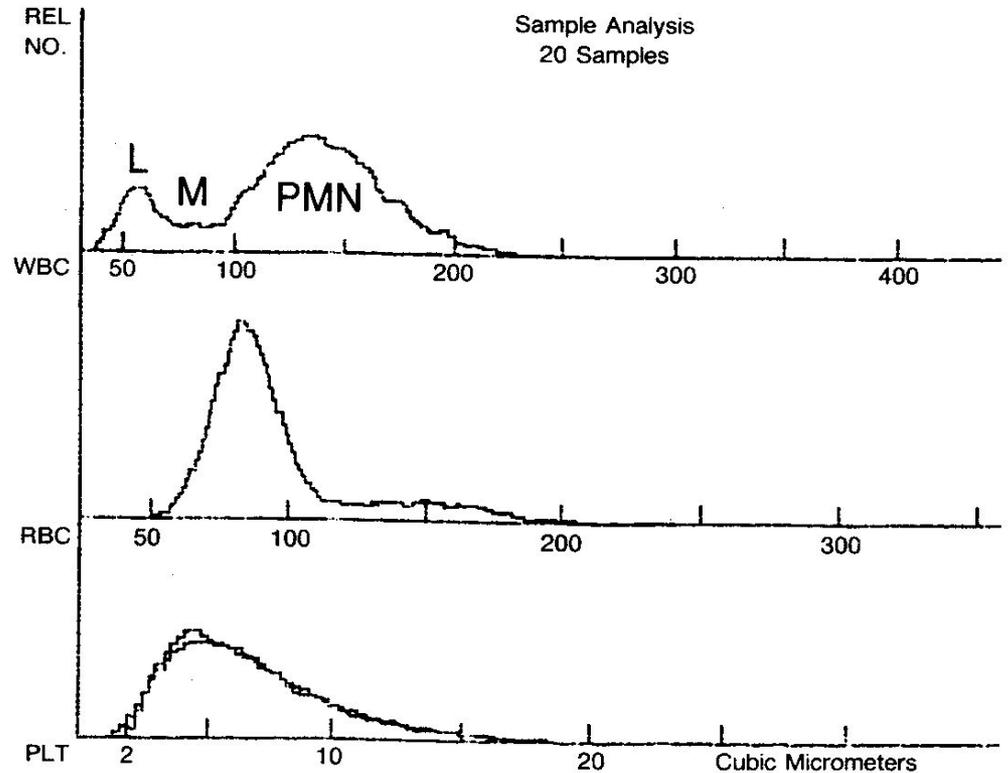
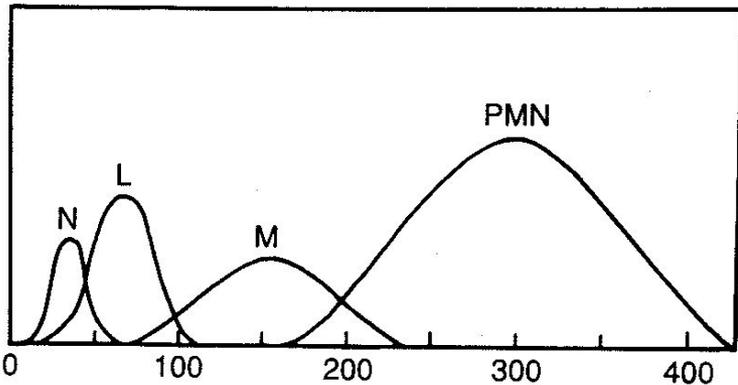
i – ток через отверстие (неизменный),

F – коэффициент, учитывающий форму и проводимость частицы,

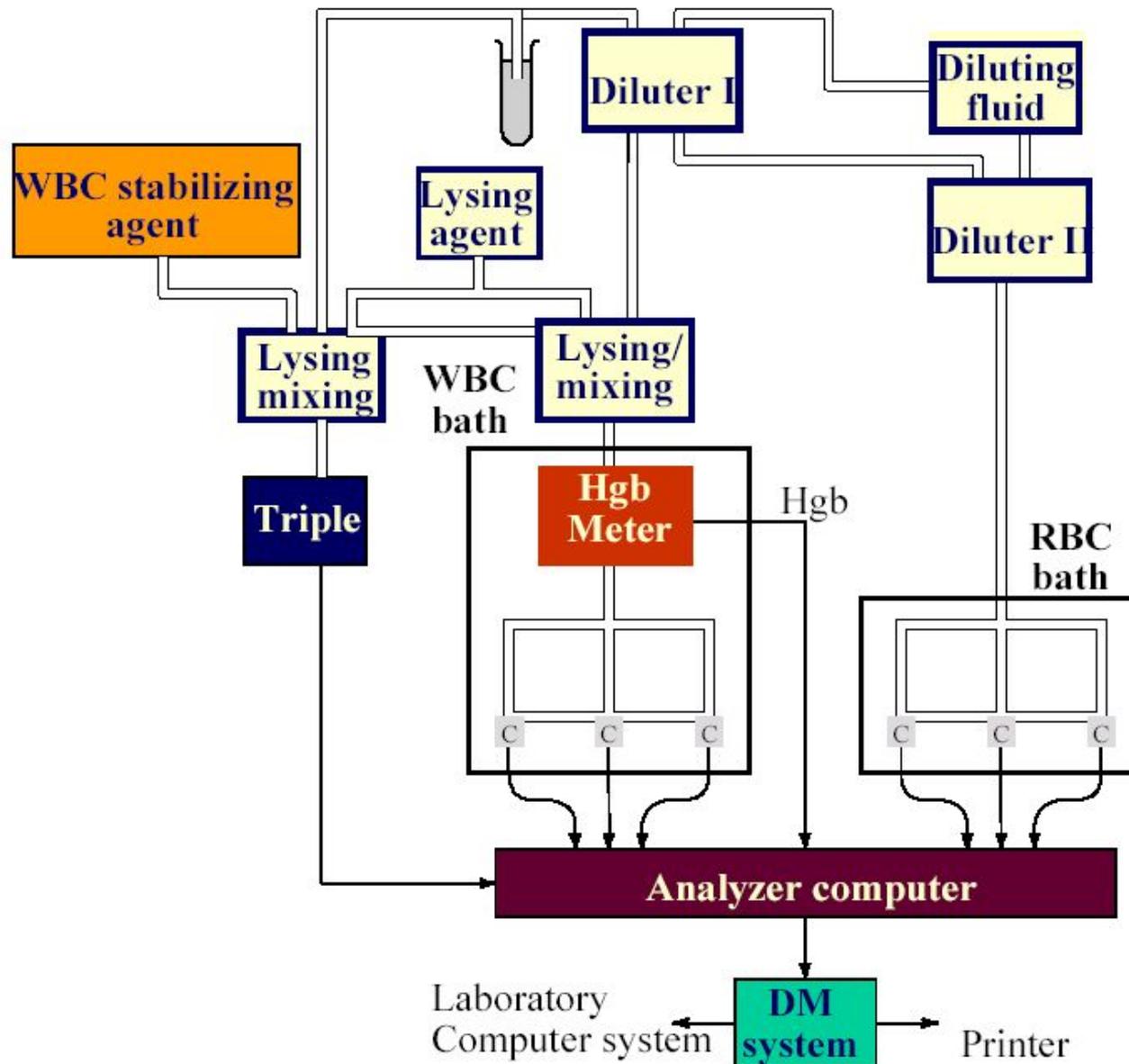
ΔE – амплитуда вырабатываемого импульса напряжения.

Cell type	Size (fL)
Lymphocytes	35 – 90
Monocytes	90 – 160
Granulocytes	160 – 450

Размер белых клеток крови



Number of cells versus cell volume from a Coulter counter. (a) Nucleated RBCs (N), lymphocytes (L), mononuclear cells (M), and polymorphonuclear leukocytes (PMN). (b) Leukocyte differential distribution (WBC), RBC distribution (RBC), and platelet distribution (PLT).



К основным достоинствам кондуктометрических счетчиков частиц относятся:

- высокая скорость счета и измерения частиц;
- хорошая воспроизводимость результатов;
- способность определять малые концентрации частиц;
- малый объем пробы, необходимый для анализа;
- возможность регистрировать кривые распределения по размерам;
- простота конструкции и обслуживания по сравнению с приборами других типов.

Недостатки кондуктометрических счетчиков:

- Анализируемые частицы обязательно должны находиться в жидком электролите, проводимость которого известна.
- Проводимость же биологических жидкостей, величина неопределенная и переменная, зависящая от многих факторов.
- При подсчете микрочастиц кондуктометрическим методом существуют очень жесткие ограничения на диаметр анализирующего отверстия, который должен быть порядка размеров микрочастиц.

Обязательные процедуры обслуживания прибора

- Ежедневно: промывка E-Z раствором для белковой очистки.
- Ежеженедельно: очистка пробоотборника с помощью раствора Probe Cleaner
- Ежеквартально: осмотр состояния блока шприцов, очистка крышек измерительных камер.
- Очистка по требованию прибора с помощью раствора Probe Cleaner:
- Текущие процедуры:
 - Замена реагентов
 - Осушка трубок при коротко-временном выключении прибора
 - Консервация прибора при длительном выключении более 5 дней
- По требованию:
 - Раз в 3-6 месяцев в зависимости от нагрузки на прибор - замена блока обтирки иглы
 - Замена фильтров вакуума или давления
 - Замена наконечника поршня шприца разбавителя (1 раз в год или реже в зависимости от загрузки)

Весь ряд гематологических анализаторов по виду выполняемых исследований можно разделить на четыре типа

- **К первому типу** относятся приборы, выполняющие анализ по небольшому числу показателей, обычно по 6–8, и без дифференцирования лейкоцитов на субпопуляции.
- **Ко второму классу** следует отнести 16-20-параметровые анализаторы, так называемые 3-DIFF системы, способные дифференцировать лейкоциты на три субпопуляции.
- **К третьему классу** относятся так называемые 5-DIFF системы, способные дифференцировать лейкоциты по 5 популяциям и позволяющие определять до 28 параметров.
- **Четвертый класс** – анализаторы с модулем дифференцирования ретикулоцитов. Общее количество параметров, определяемых анализаторами с таким модулем доходит до 40.

- **Пробоподготовка**

По способу подготовки проб гематологические анализаторы делятся на *полуавтоматические анализаторы*,

- В них подготовка проб отделена непосредственно от анализа и производится в специальных приборах — дилютерах.

Вторая группа — *полностью автоматические анализаторы* — в свою очередь делится на еще две группы. Приборы **первой группы** позволяют работать только с предразведенной кровью, **вторая группа** анализаторов может работать непосредственно с цельной кровью. Для гематологического анализа может использоваться как капиллярная анализаторов может работать непосредственно с цельной кровью. Для гематологического анализа может использоваться как капиллярная, так и венозная кровь.

Производительность

- Приборы первых двух классов производят до 60 анализов в час.
- Приборы старшего класса имеют производительность от 60 до 120 анализов в час. Скорость работы приборов лимитирована как самой методикой исследования, так и особенностями подготовки проб.

- **Объем пробы**

Современные гематологические анализаторы используются для анализа от 10 до 300 микролитров цельной крови. Более низкие объемы крови позволяют использовать систему в педиатрии, а также более экономно расходовать кровь, что дает возможность проведения повторных исследований. Кроме того, более низкие объемы проб снижают потребление реагентов.

- **Реагентная база**

Помимо подготовки проб большое значение имеет реагентная база. Количество разных реагентов, используемых анализатором, существенно влияет на себестоимость и качество исследований.

Анализаторы младших классов могут работать как реагентами, произведенными фирмой-изготовителем, так и с реагентами других производителей, что обычно не сказывается на аналитическом качестве исследования, но может существенно повлиять на работоспособность прибора. **Открытые системы**

Закрытые системы - приборы могут работать только с реагентами, произведенными фирмой-изготовителем.

- **Система представления информации**

Обычной формой предоставления результата являются абсолютные и относительные показатели, а также гистограммы и флаги. Использование флагов и гистограмм существенно упрощает расшифровку результатов анализа. Наличие у приборов специальных интерфейсов, позволяющих выводить информацию на принтер, внутри лабораторную сеть или отдельно стоящий компьютер, является в настоящее время обязательным требованием. Также важным является сохранение результатов исследования в памяти прибора.

CBC - 3D®

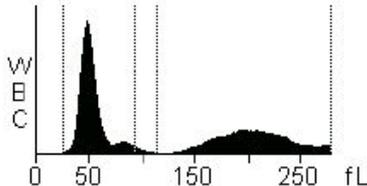
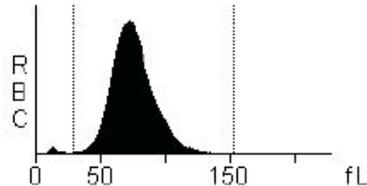
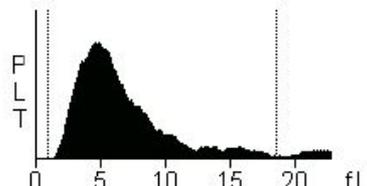


Контрольная кровь для анализаторов Beckman Coulter, Abbott Cell-Dyn, ABX и других. Стабильность в закрытой пробирке 105 суток, в открытой 14 суток. Поставляется в пробирках 5 ml для анализаторов с прокалыванием крышки или 2 ml с завинчивающейся крышкой для анализаторов с ручной подачей пробы.

Название

Поле режима подсчёта

Поле состояния системы

Count	Dog WB		Ready	11:21
Current sample				
	WBC	11.7 × 10 ⁹ /L		
Type: Dog	Lymph#	H 6.0 × 10 ⁹ /L		
Animal:	Mid#	0.2 × 10 ⁹ /L		
Gender:	Gran#	5.5 × 10 ⁹ /L		
Age :	Lymph%	H 51.2 %		
ID : 1	Mid%	L 1.8 %		
Time: 10-13-2005 11:19	Gran%	L 47.0 %		
Mode: Whole Blood	RBC	L 4.72 × 10 ¹² /L		
Owner :	HGB	141 g/L		
	HCT	39.7 %		
	MCV	H 84.3 fL		
	MCH	H 29.8 pg		
	MCHC	355 g/L		
	RDW	H 14.3 %		
	PLT	250 × 10 ⁹ /L		
	MPV	7.8 fL		
	PDW	15.8		
	PCT	0.195 %		
Next sample				
ID : 2				
				Reagents for: >99 Counts
MENU	[MODE] Select count mode, [F1] Next sample, [F2] Unclog, [F3] Start up.			

Поле помощи

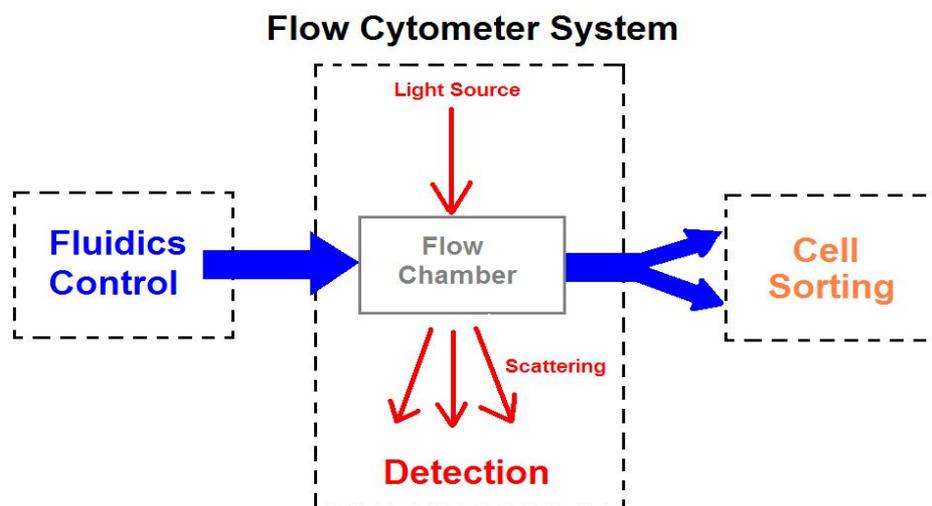
Зона состояния реагентов

Поле отображения ошибок

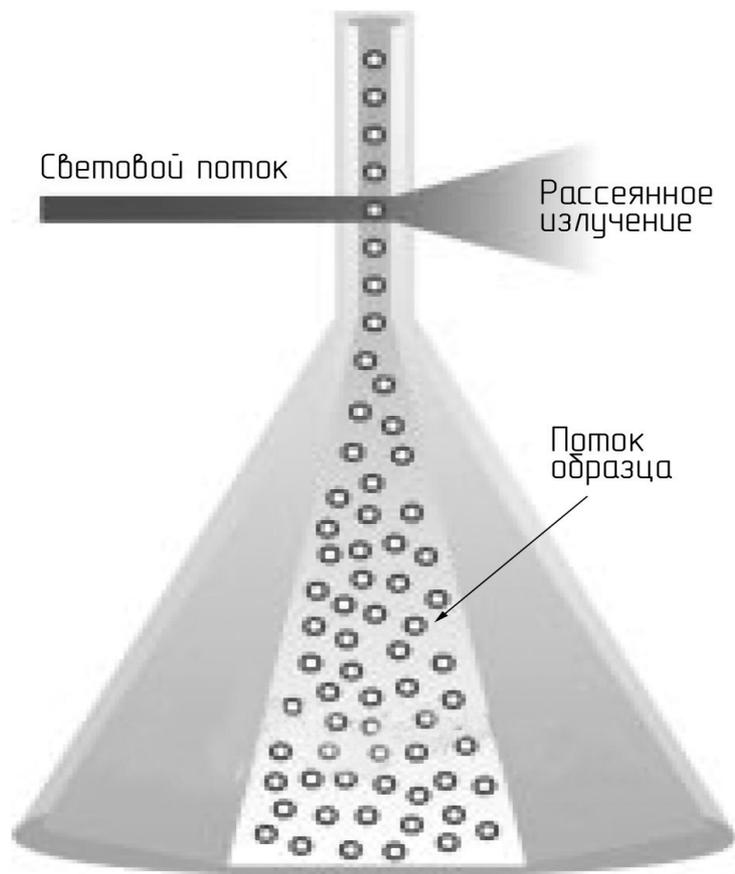
**При выборе гематологического анализатора
следует учитывать целый ряд факторов:**

- Измеряемые параметры
- Метод исследования
- Производительность прибора
- Автоматическая или полуавтоматическая подготовка проб
- Объем пробы
- Реагентная база
- Удобная система выдачи информации
- Наличие программы контроля качества
- Совокупная стоимость владения

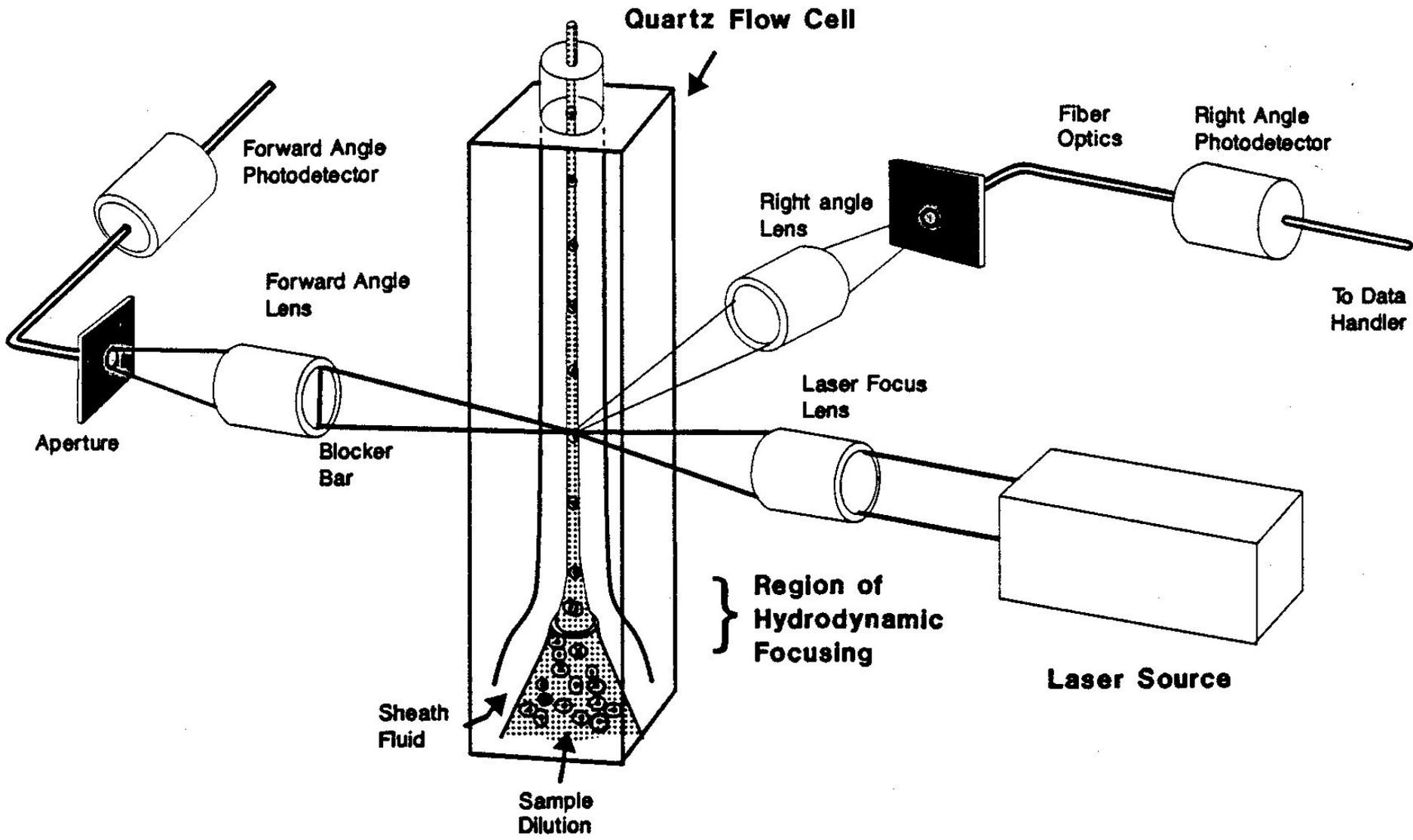
Проточная цитометрия

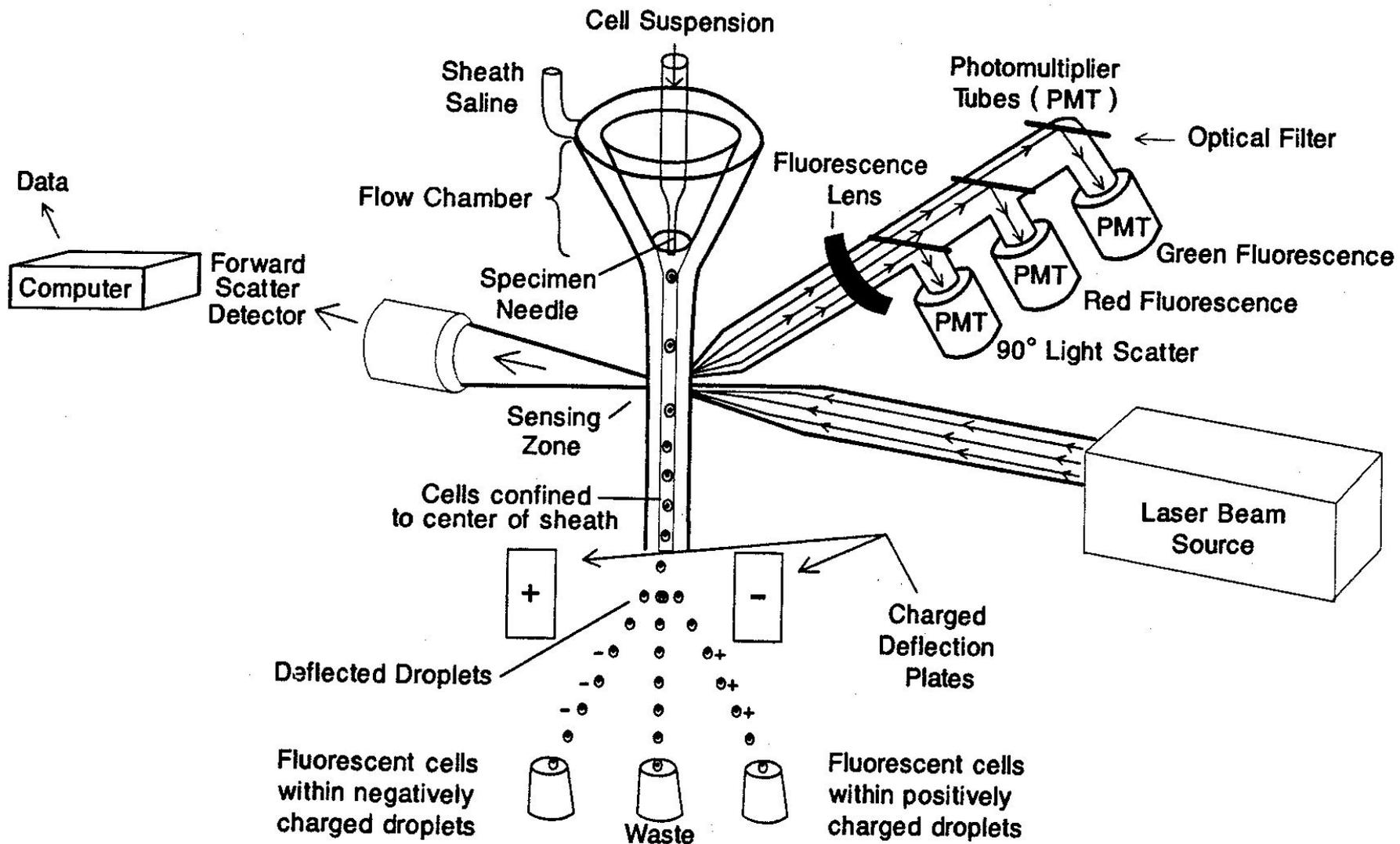


- **Принцип работы оптического счетчика частиц**



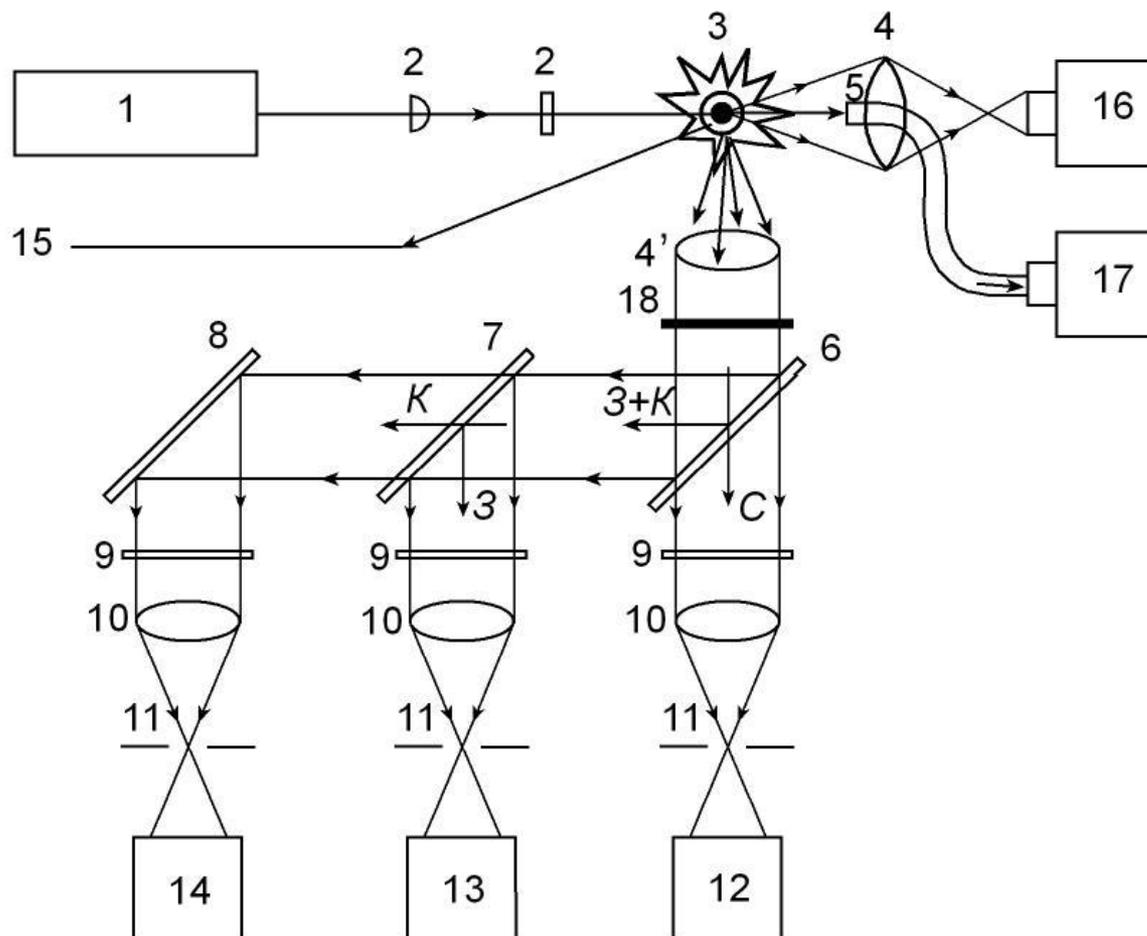
В момент пересечения луча клеткой происходит поглощение и рассеяние света, которое обусловлено клеточным размером, формой, плотностью, окрашиванием и гранулярностью внутриклеточных структур





- **Три стадии:**

- Гидродинамическая или электрокинетическая фокусировка
- Оптическая детекция: анализ рассеянного и флуоресцентного излучения
- Сортировка клеток: воздушно-капельная на основе электрокинеки



Оптическая схема цитометров, построенная по ортогональному принципу. 1 – источник света, 2 – линзы конденсора, 3 – проточная камера (поток с клетками идет перпендикулярно плоскости схемы), 4 – светособирающие линзы, 5 – световод для сбора ослабленного пучка света. 6 и 7 – светоделительные дихроичные пластинки, 8 – зеркало, 9 – барьерные фильтры с длинноволновым пропусканием, 10 – фокусирующие линзы, 11 – полевые диафрагмы, 12, 13, 14 – ФЭУ, 15 – сигнал от электрического датчика объема, 16 – фотодиод регистрации светорассеяния под малыми углами, 17 – фотодиод регистрации ослабления светового пучка, 18 – экваториальная заслонка от отраженного света возбуждения

Optical Detection: Scattering

• Theory and Design

- *Forward angle light scattering (FALS)*: passing cell scatters the light in the forward direction at low angles ($0.5 - 10^\circ$)
 - Photodiodes with filters aligned with laser beam
 - Measures cell size
- *Orthogonal light scattering*: light is reflected and refracted by subcellular structures
 - Coupled with Fluorescence Photomultiplier Tubes (PMTs)
 - Measures granularity of cell.

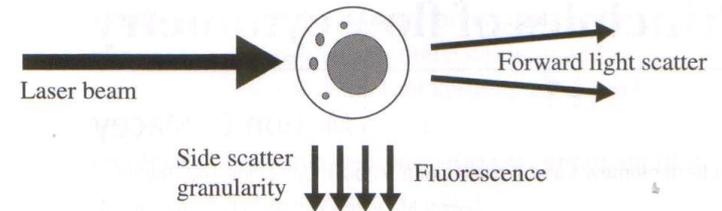


Fig. 1.1 The parameters of flow cytometric analysis: forward angle light scatter, 90° light scatter and fluorescence. Figure from [1]

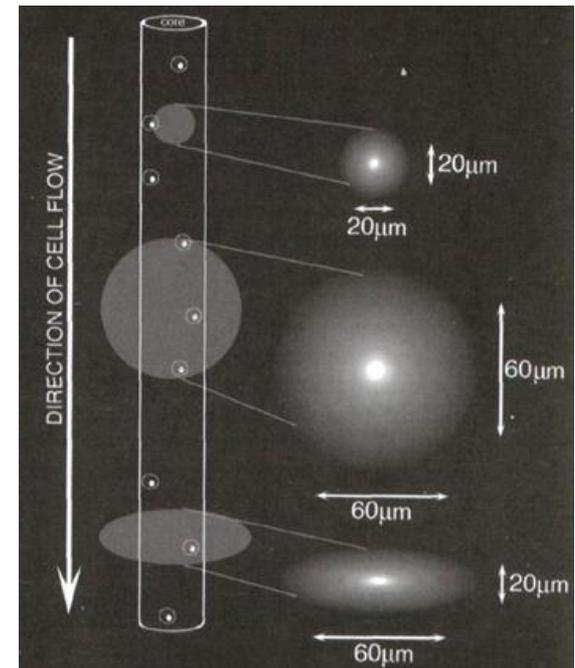
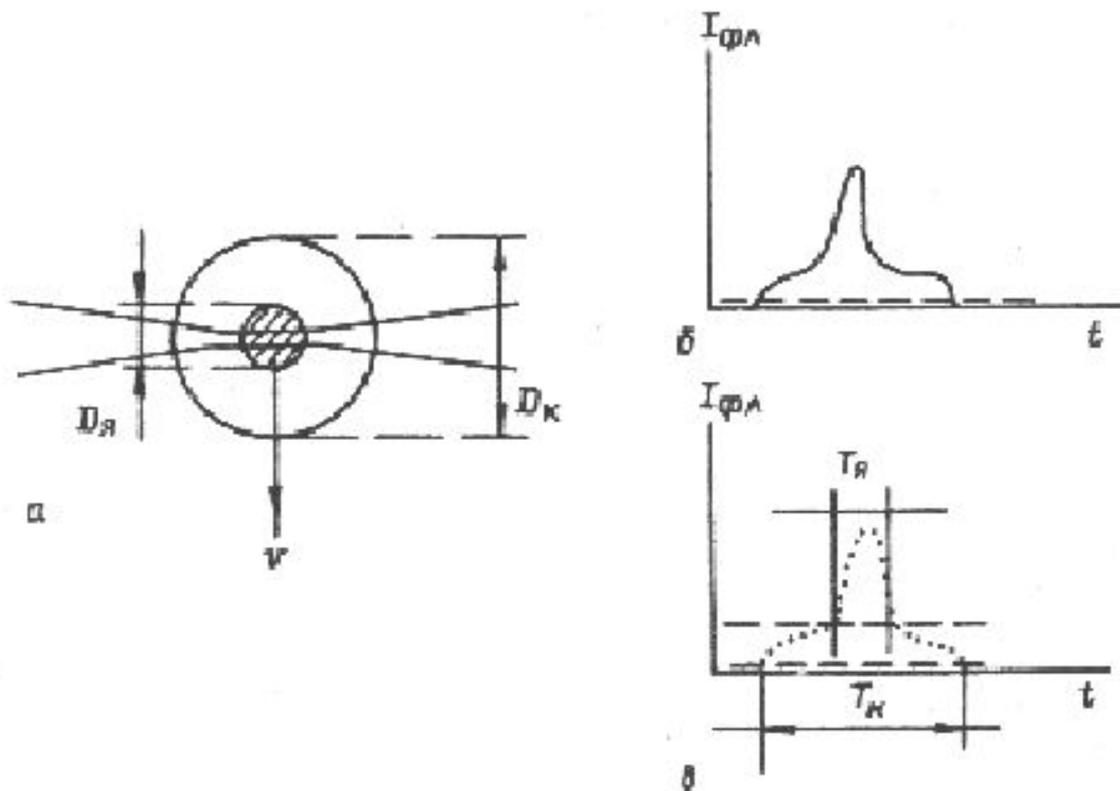


Figure from [3]

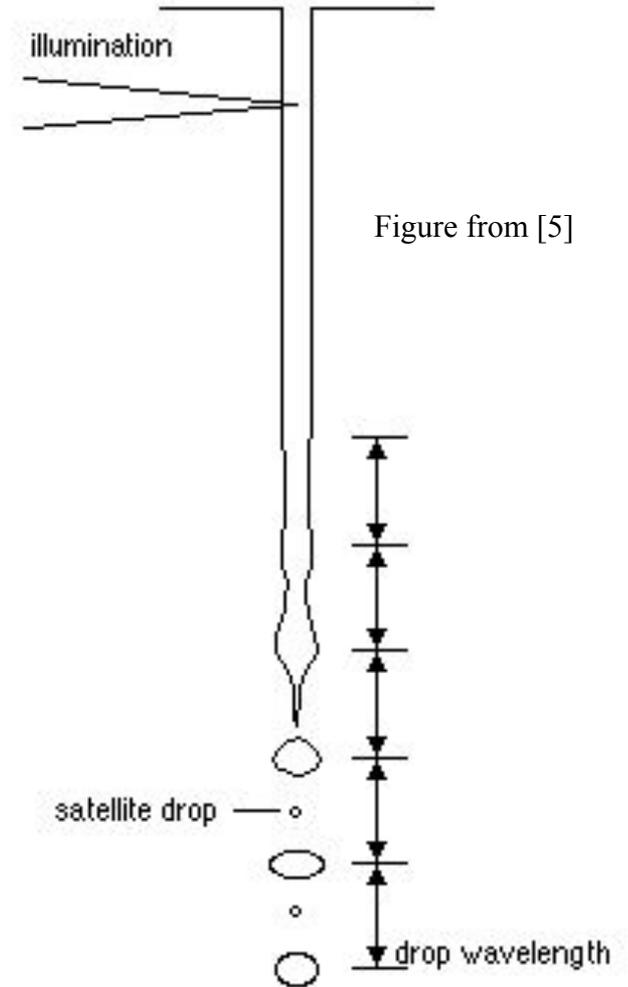


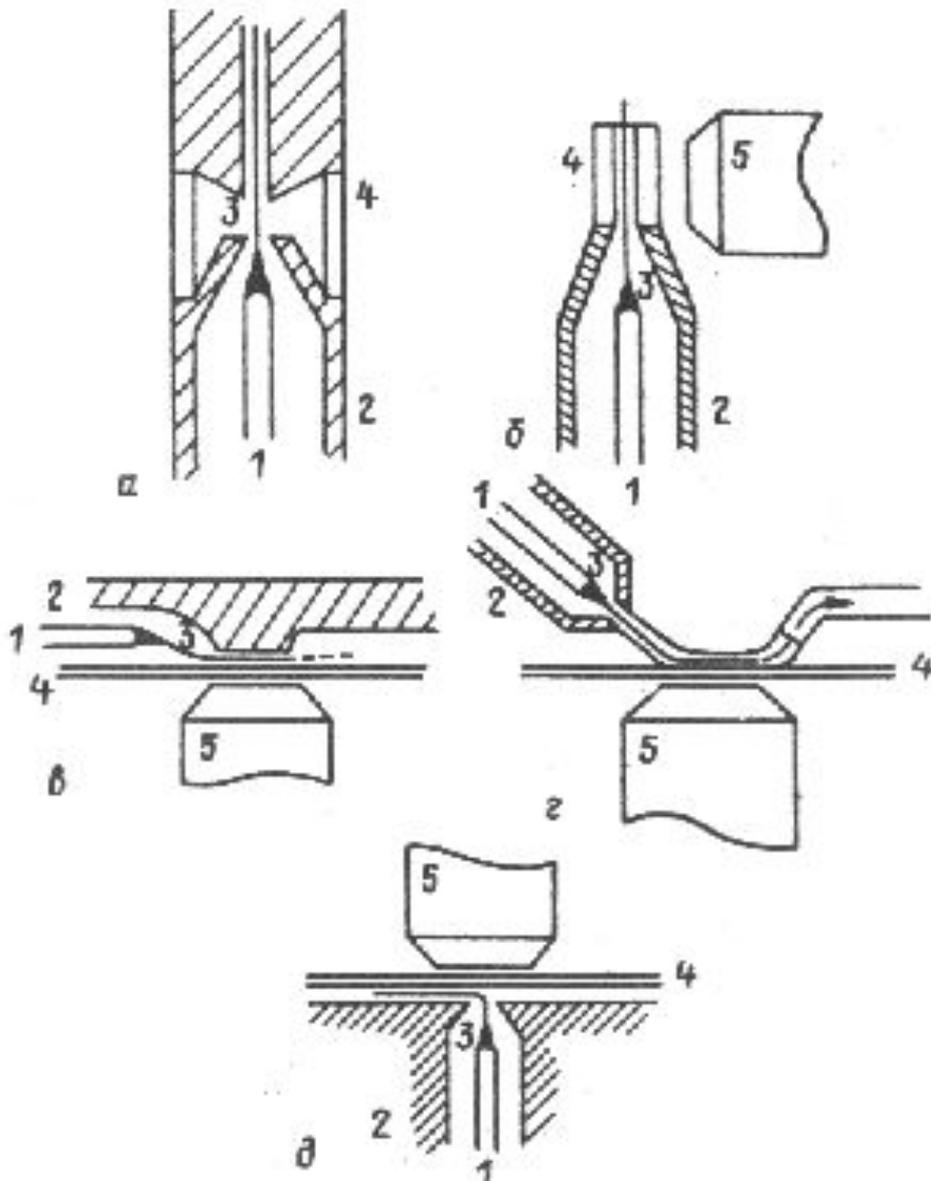
- Сигналы, получаемые при измерении методом "движущейся щели", а - параметры клетки, б - профиль сигнала, в - измеряемые параметры и пороги измерения

Cell Sorting: Droplet

- **Theory**

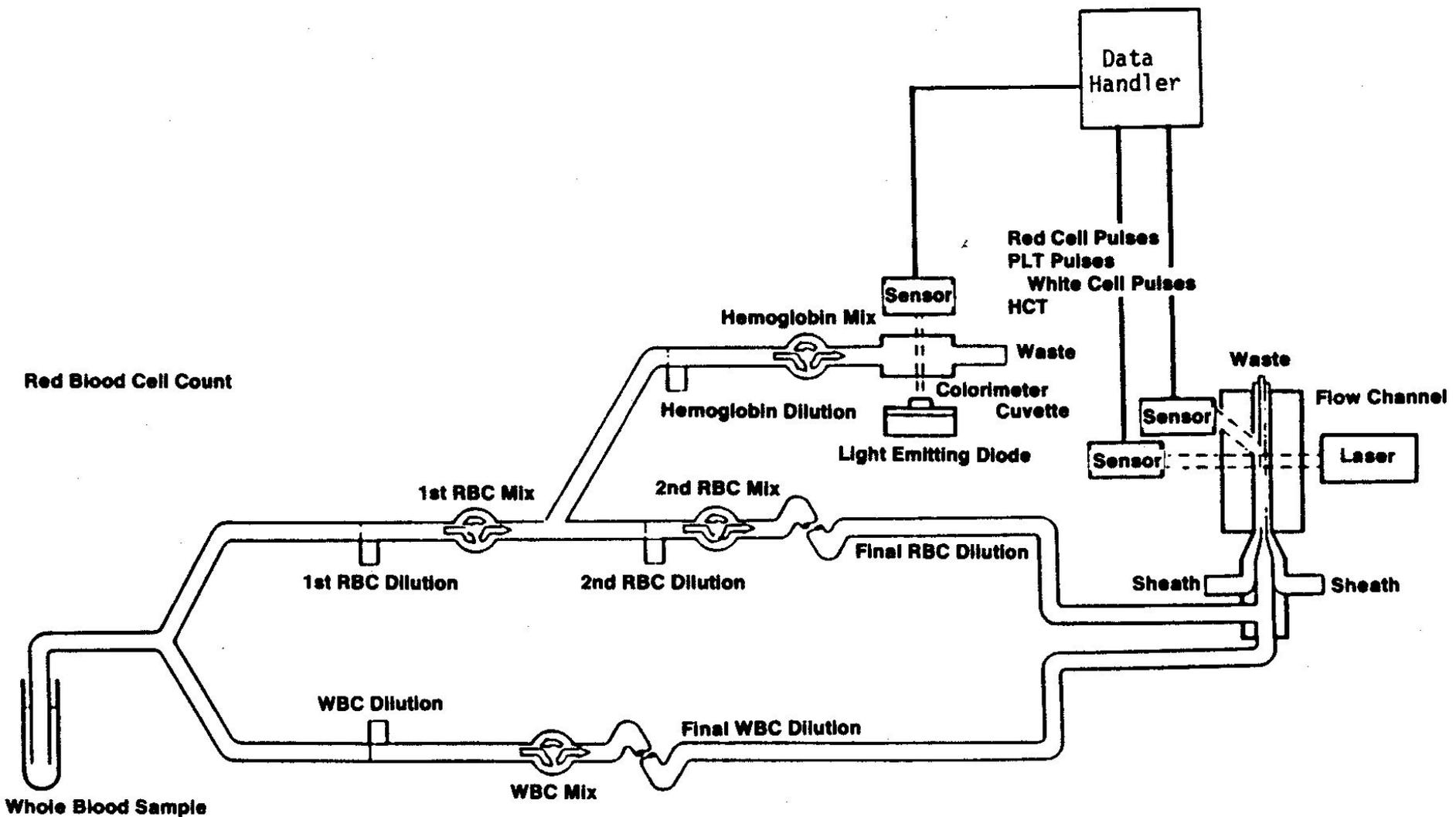
- Piezoelectric transducer used to generate periodic vibrations.
- Fluid stream is vibrated to form drops that are uniformly separated.
- Depending on its characteristics, each drop is charged by a strong electrical pulse.
- External electrical field deflects desired cells into collecting reservoir.





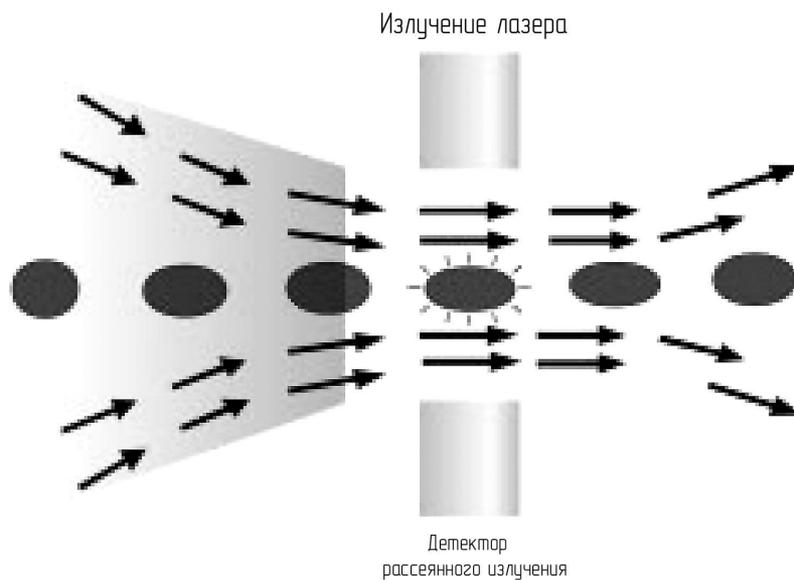
Конструкции проточных кювет анализаторов.

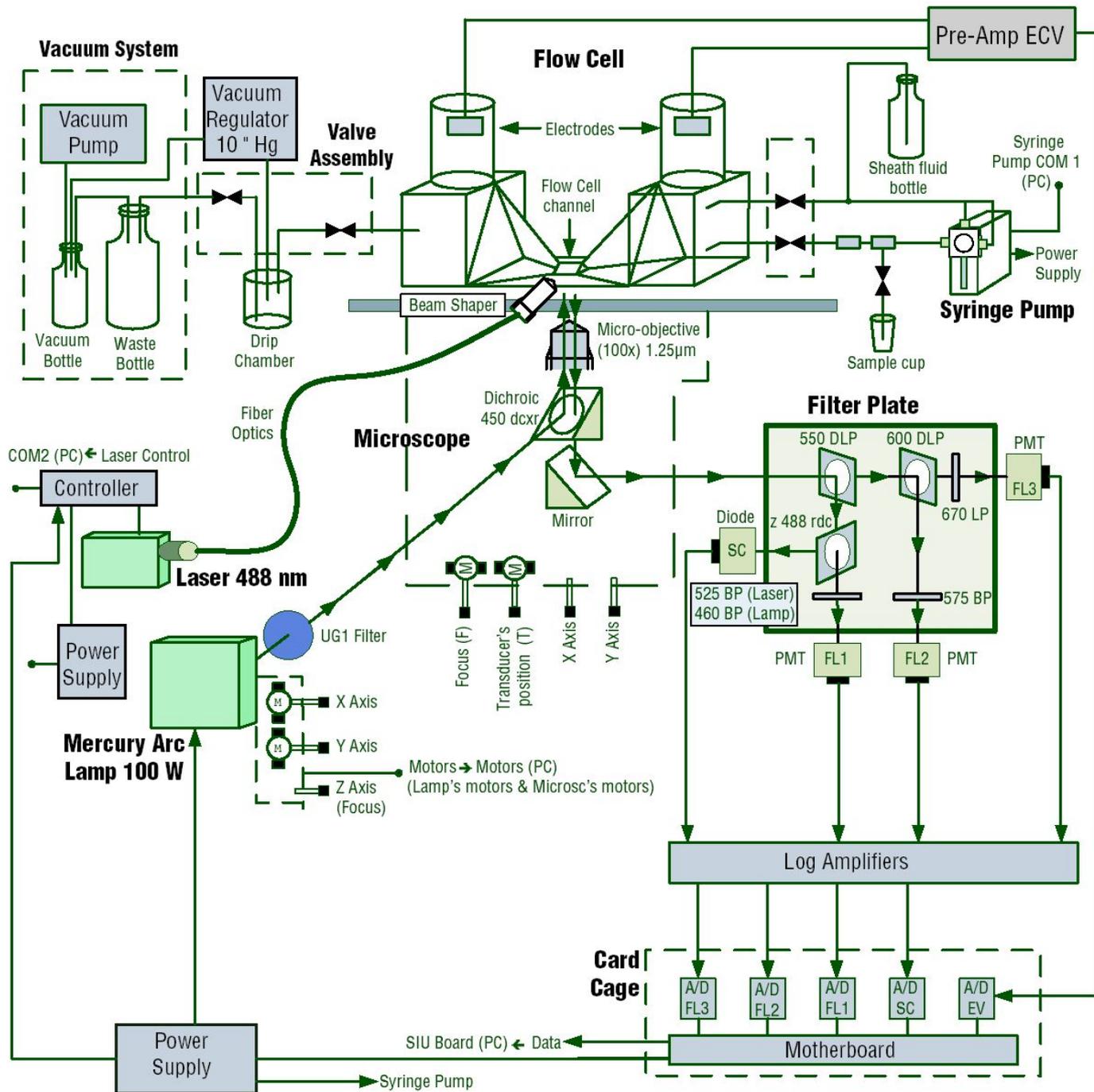
- 1 - сопло-инжектор
- 2 - коническая камера для фокусировки потока
- 3 - поток клеток
- 4 - оптическое окно
- 5 - объектив регистрирующей системы

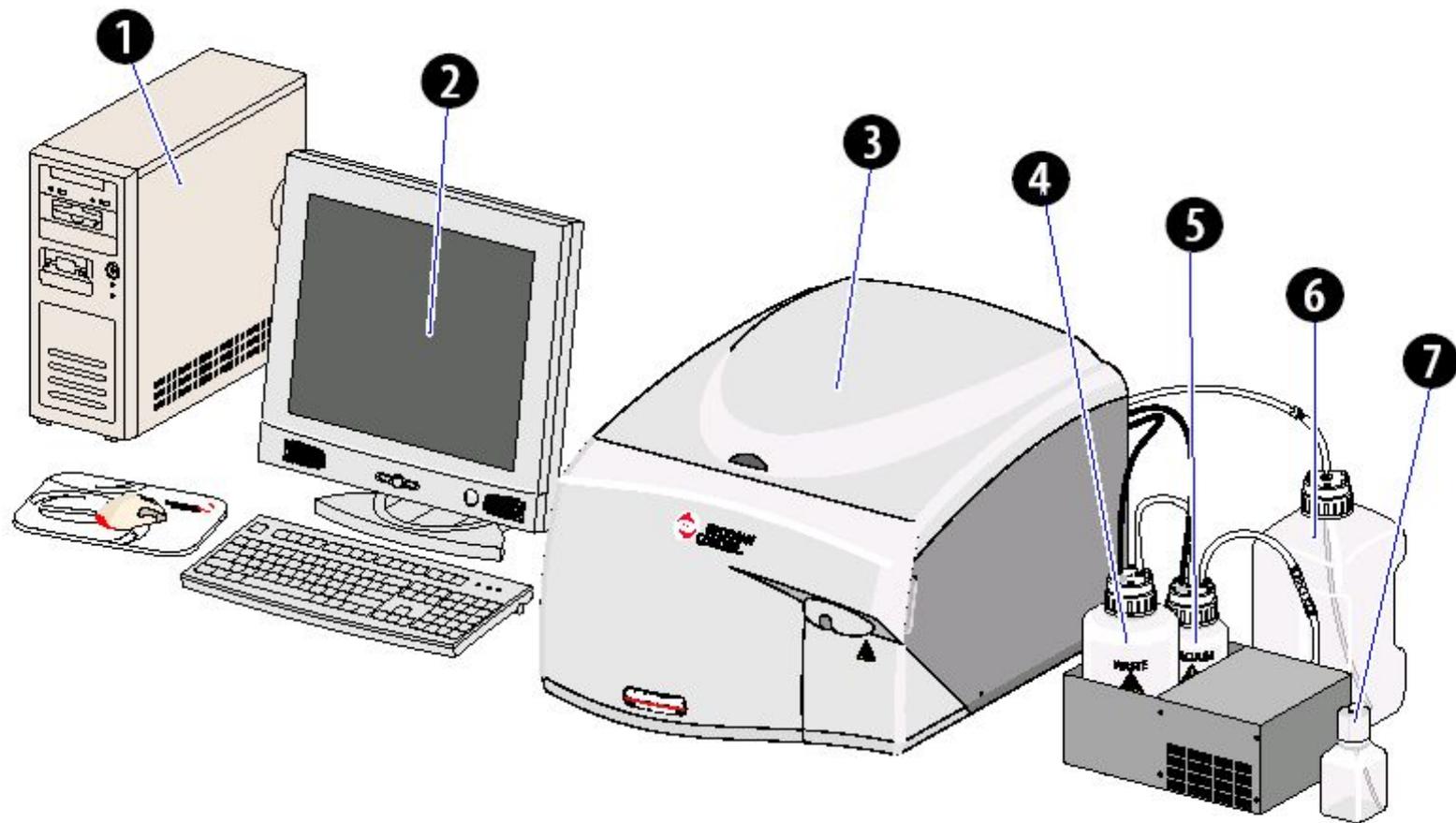


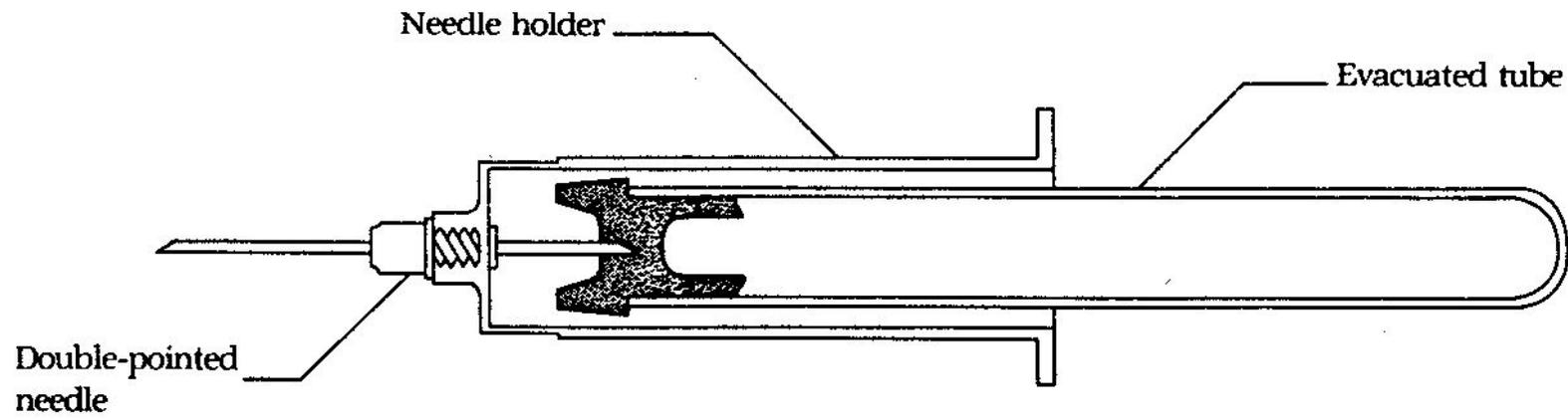
An automatic analyzer aspirates whole blood, divides it, dilutes it, mixes it and then analyzes it for hemoglobin and cell characteristics.

Изменение формы клеток при прохождении через апертуру счетчика

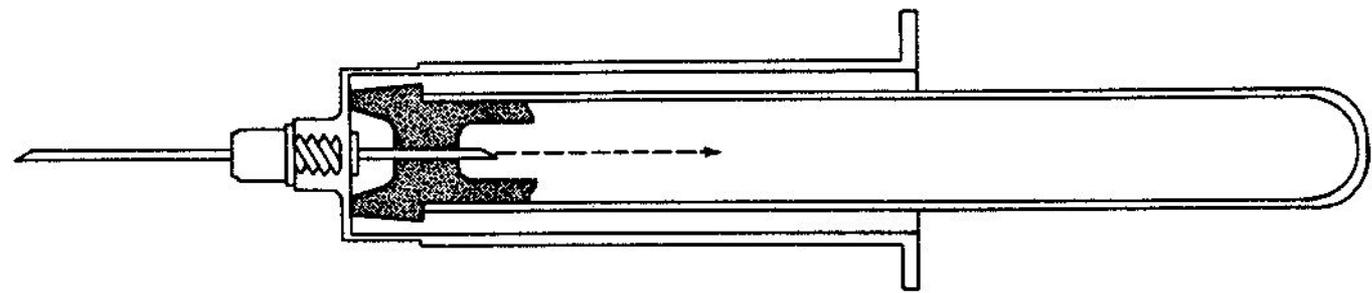








A



B

Вакумные пробирки

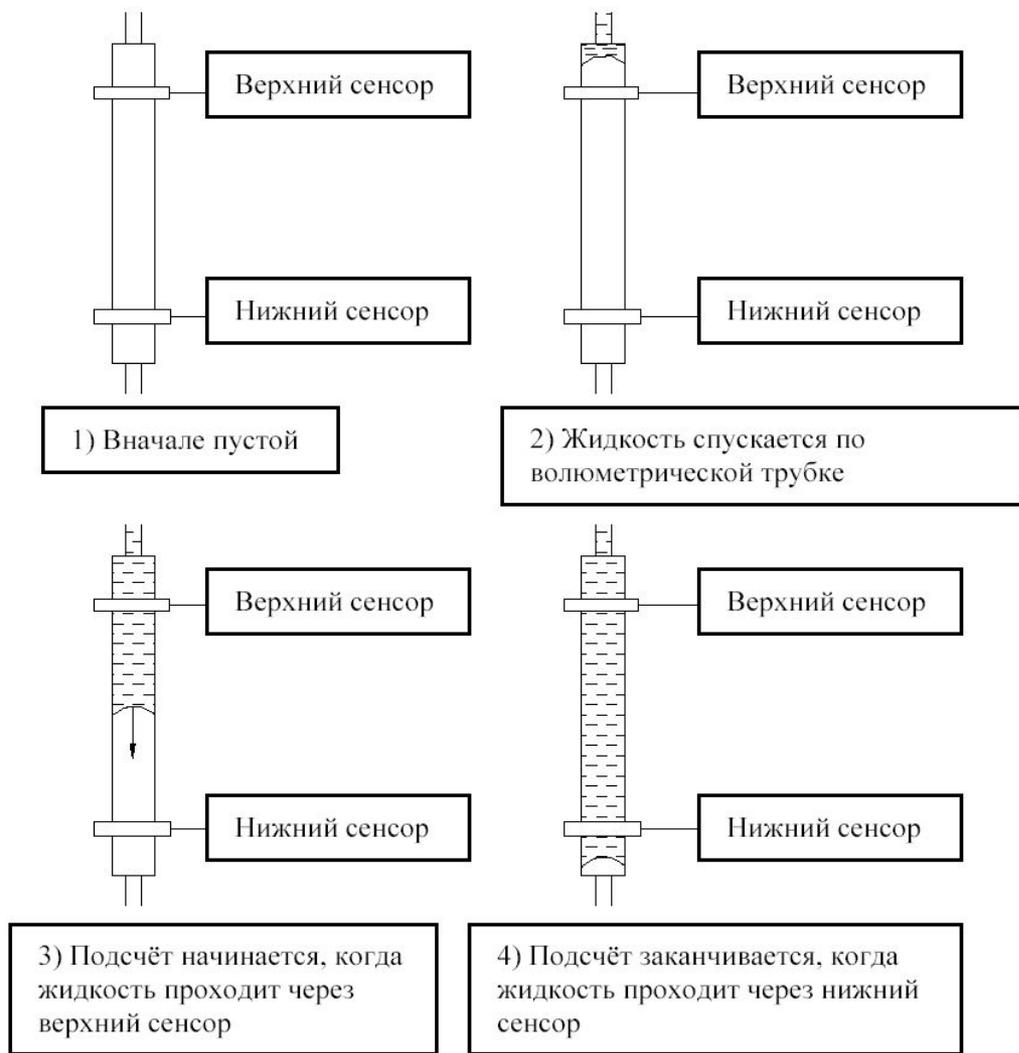
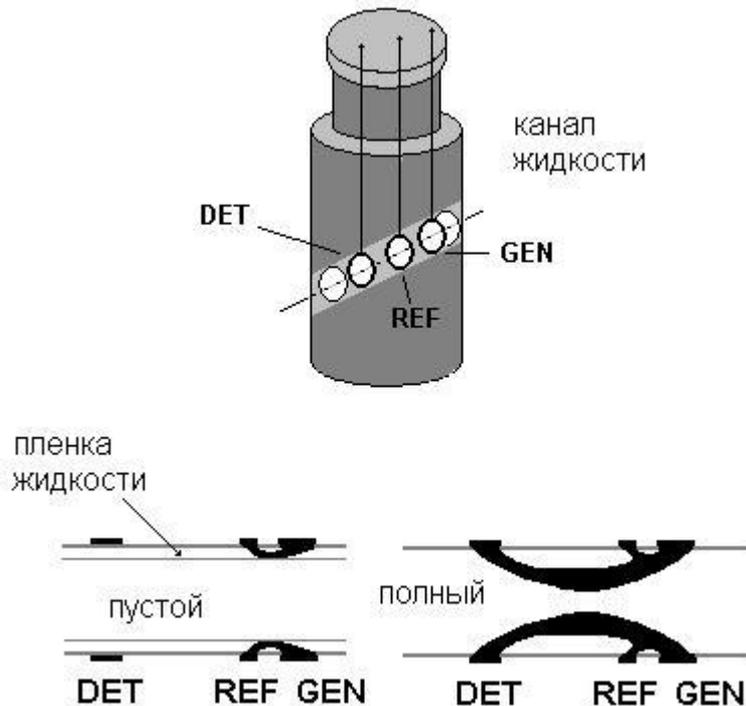
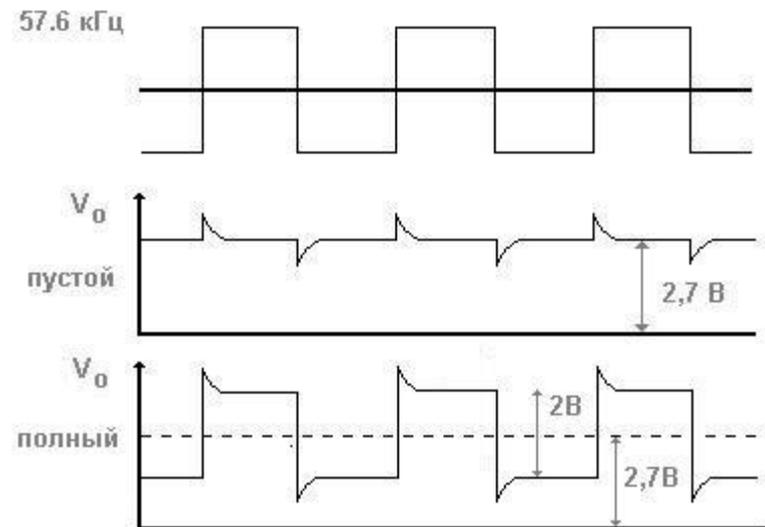


Рисунок 3-3 Процесс волюметрического измерения

Датчик заполнения пробой

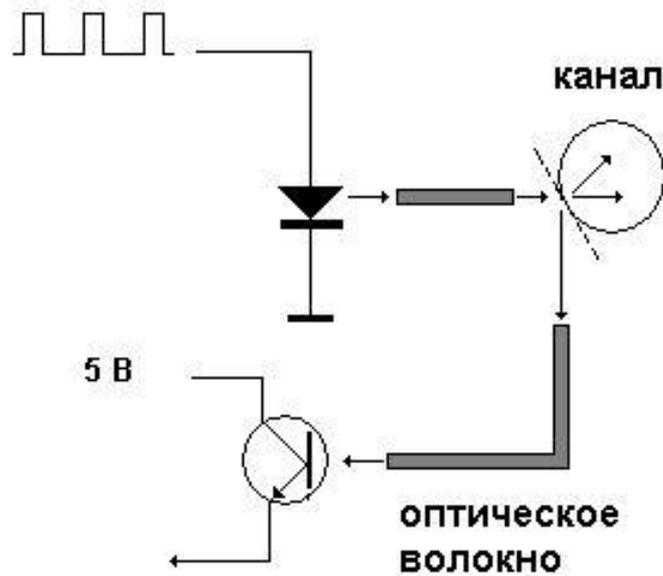


Конструкция датчика пробой

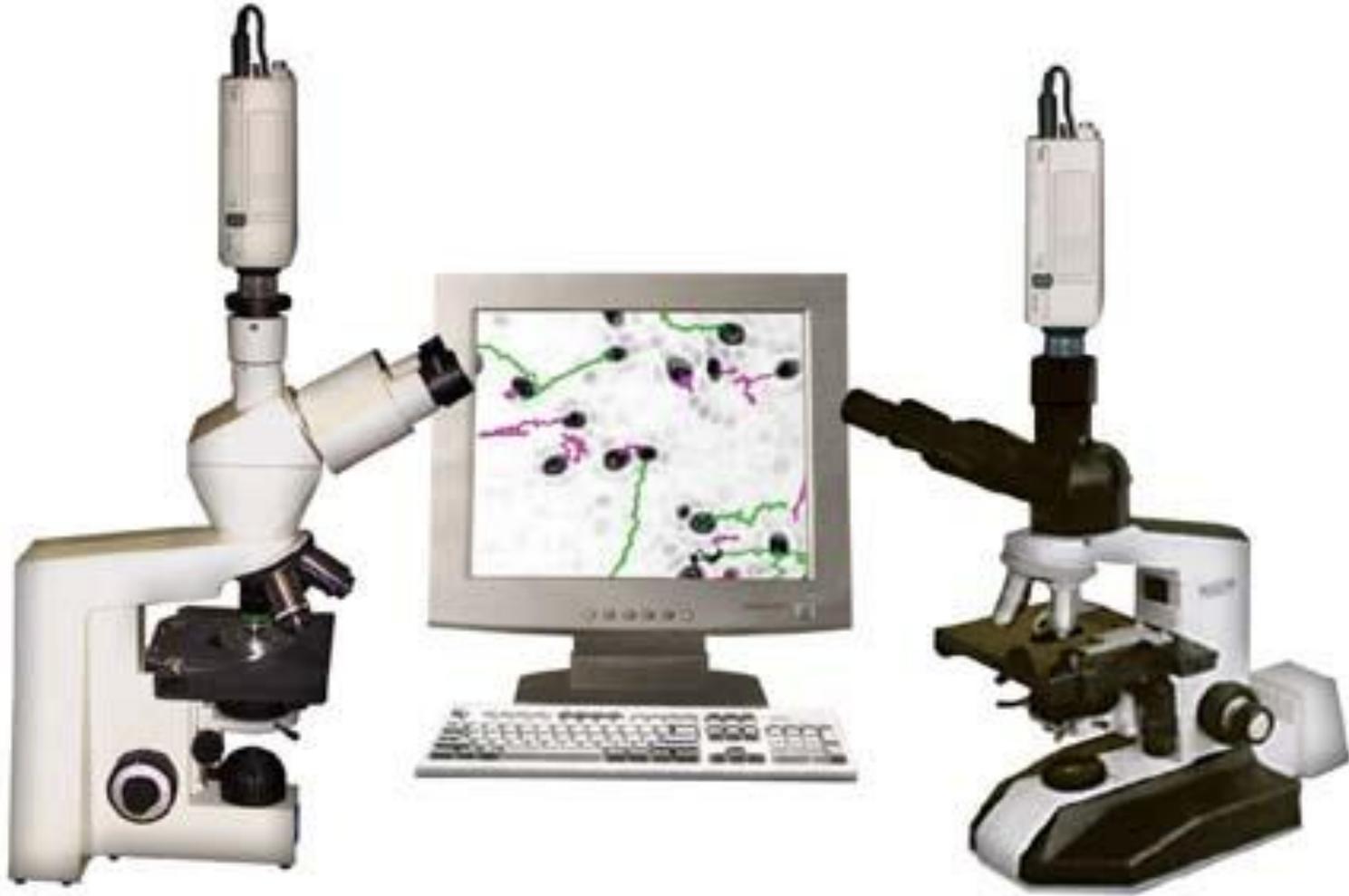


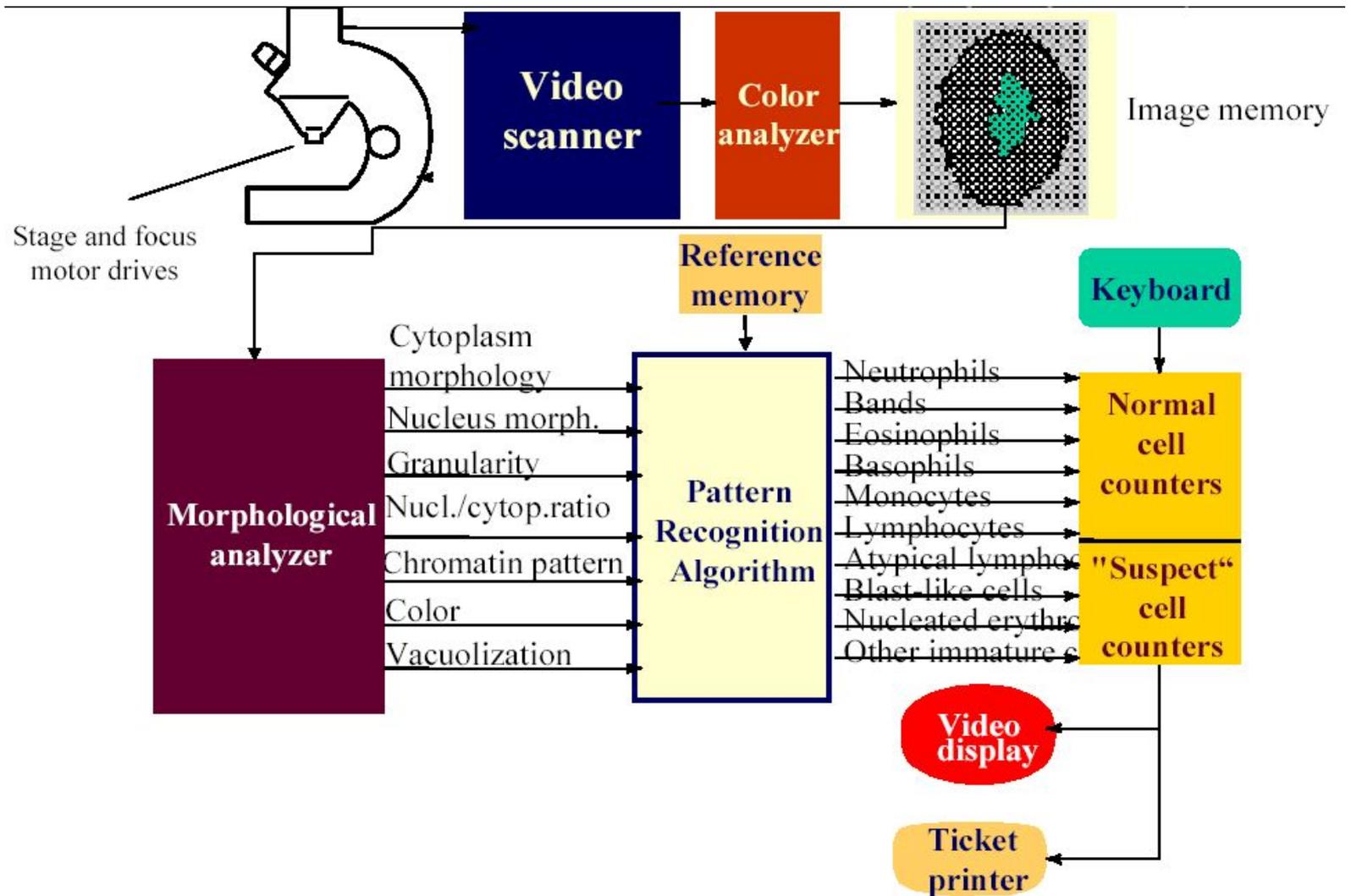
Временные диаграммы сигналов на датчике пробой

. Оптический датчик заполнения трубок

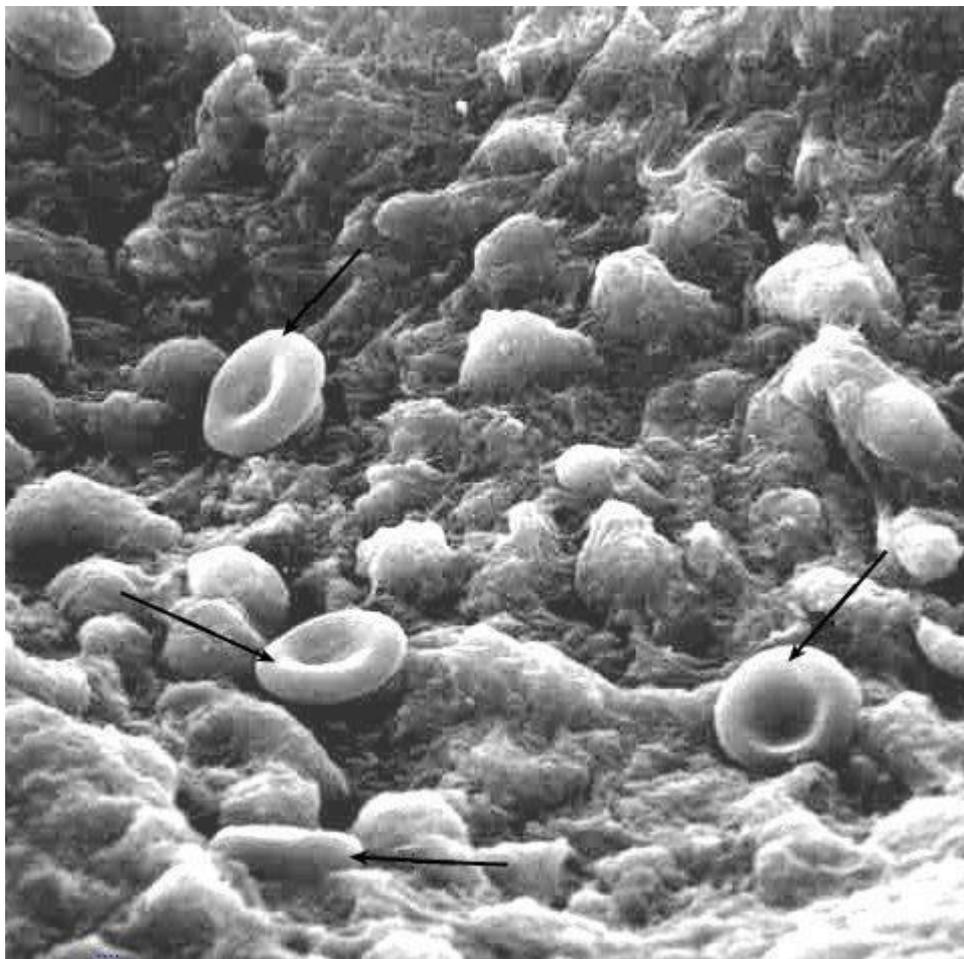


Сканирующая микроскопия



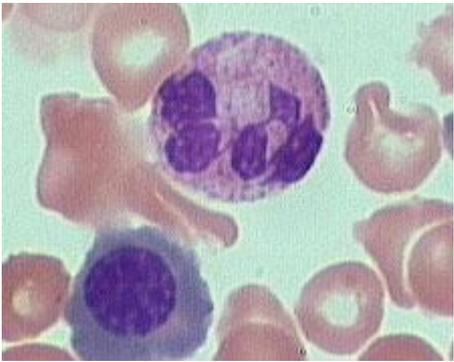


Так выглядят эритроциты на снимке, сделанном в сканирующем электронном микроскопе

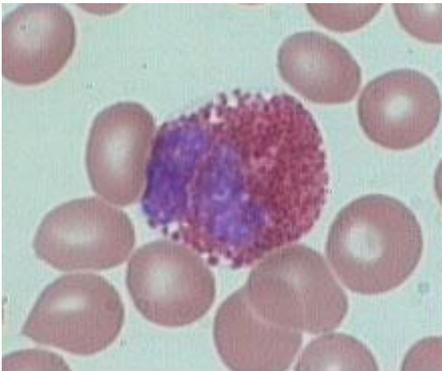




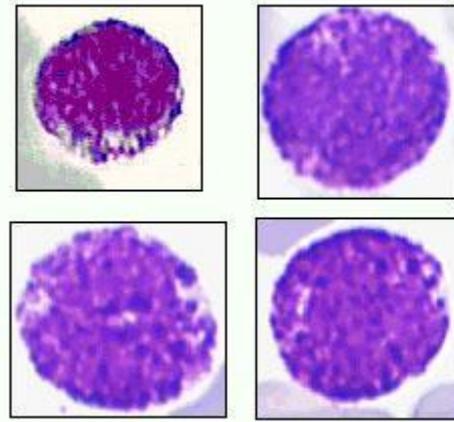
палочкоядерный
нейтрофил



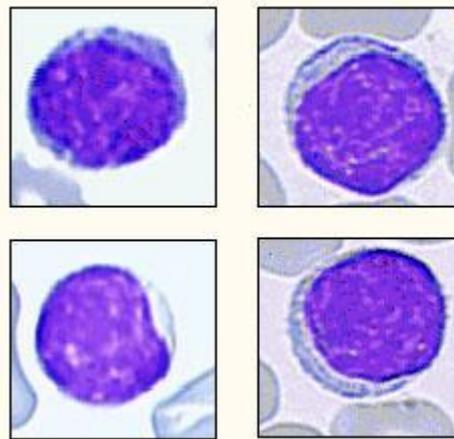
сегментоядерный
нейтрофил



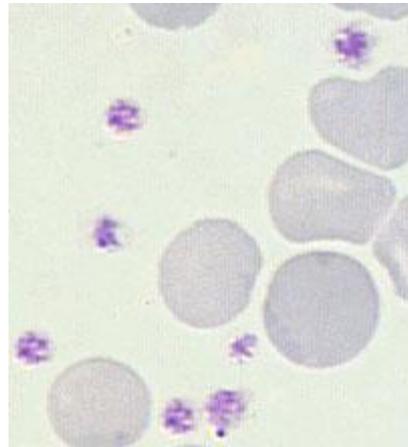
эозинофилы



базофилы



лимфоциты



тромбоциты

Сравнение проточного и микроскопического методов цитоанализа

Тип анализатора	Проточный	Микроскоп+врач или автоматическая система микроскопии
Объем выборки анализируемых объектов	+ Большой (100 000 и более)	- Небольшой (обычно до 1000; макс. 100 000)
Скорость измерений	+ высокая (100 000/мин)	- низкая (обычно до 500/мин; макс. 5000/мин)
Состав измеряемых признаков	- простой (простая морфология, метки)	+ сложный (сложная морфология)
Необходимый объем биоматериала для анализа	- Большой (обычно больше 1 мл, больше 100 000 объектов)	+ Небольшой, могут быть единицы объектов
Возможность обнаружения объектов с низкой концентрацией	- Отсутствует при концентрациях меньше 1/10 000	+ Возможно обнаружение единичных объектов
Разнообразие агрегатных состояний биоматериала	- только суспензия	+ Большое
Наличие визуального контроля	- Нет	+ Есть
Основное диагностическое применение	+ Обнаружение патологии	+ Дифференциальная диагностика

Пульсоксиметрия

Что измеряет пульсоксиметр?

- 1. Насыщение гемоглобина артериальной крови кислородом – среднее количество кислорода, связанное с каждой молекулой гемоглобина. Данные выдаются в виде процента насыщения
- 2. Частота пульса – удары в минуту в среднем за 5-20 секунд.
- 3. Фотоплетизмограмму – изменение объема крови в исследуемом участке

Пульсоксиметр не дает информации о:

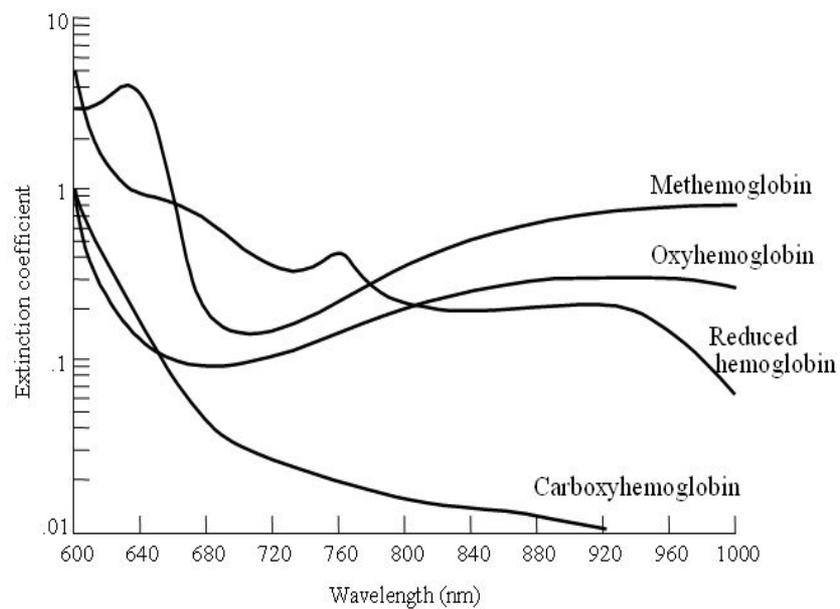
- содержании кислорода в крови;
- количестве растворенного в крови кислорода;
- дыхательном объеме, частоте дыхания;
- сердечном выбросе или артериальном давлении.

Область применения:

- Длительное наблюдение за пациентом
- Мониторинг в операционной и в палатах интенсивной терапии
- Амбулаторный мониторинг
- Контроль во время нагрузочных проб
- Контроль при оксигенной терапии
- Диагностика ночного апноэ
- Кислородная терапия и респираторная поддержка
- Транспортировка больных машинами скорой и неотложной помощи
- Беременность поздних сроков и роды

Фотооксигемометрия

Спектр поглощения различных форм гемоглобина:



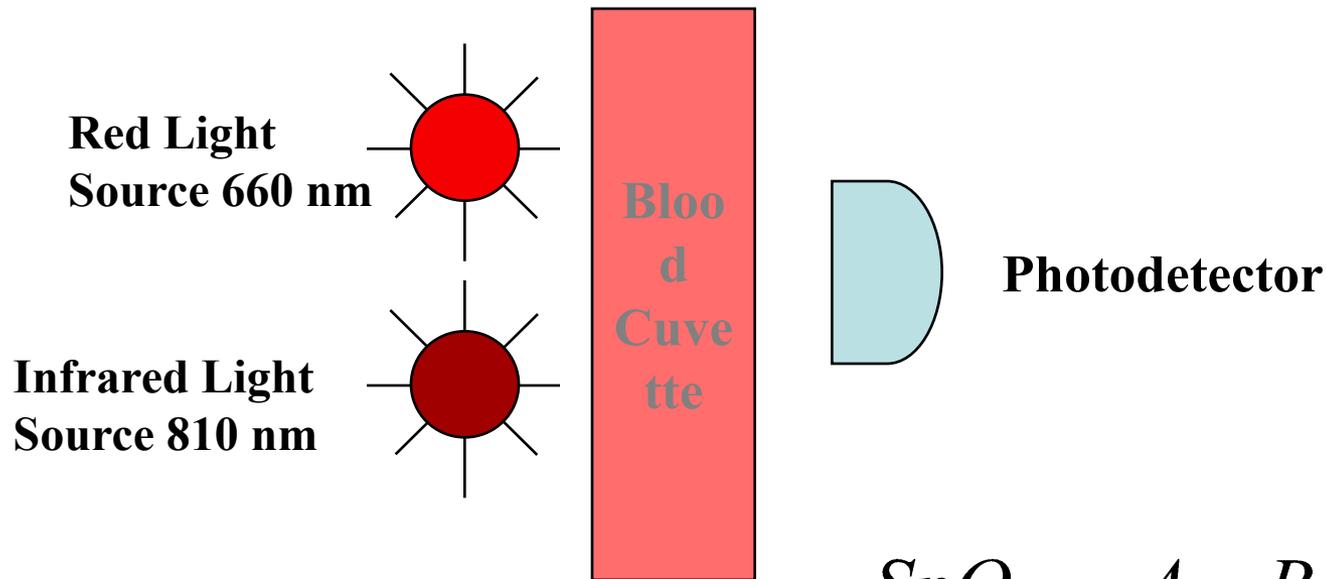
Определение сатурации крови кислородом

$$SpO_2 = \frac{[HbO_2]}{[HbR] + [HbO_2]} * 100\%$$

или

$$SpO_2 = 1 - \frac{[HbR]}{[HbR] - [HbO_2]}$$

Практическое определение SpO_2 при фотооксигемометрии

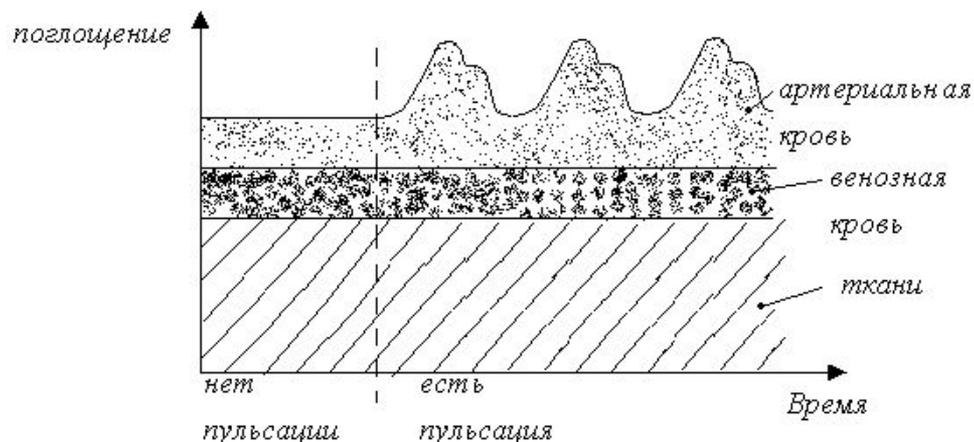


$$SpO_2 = A - B \cdot \frac{D(660\text{нм})}{D(810\text{нм})}$$

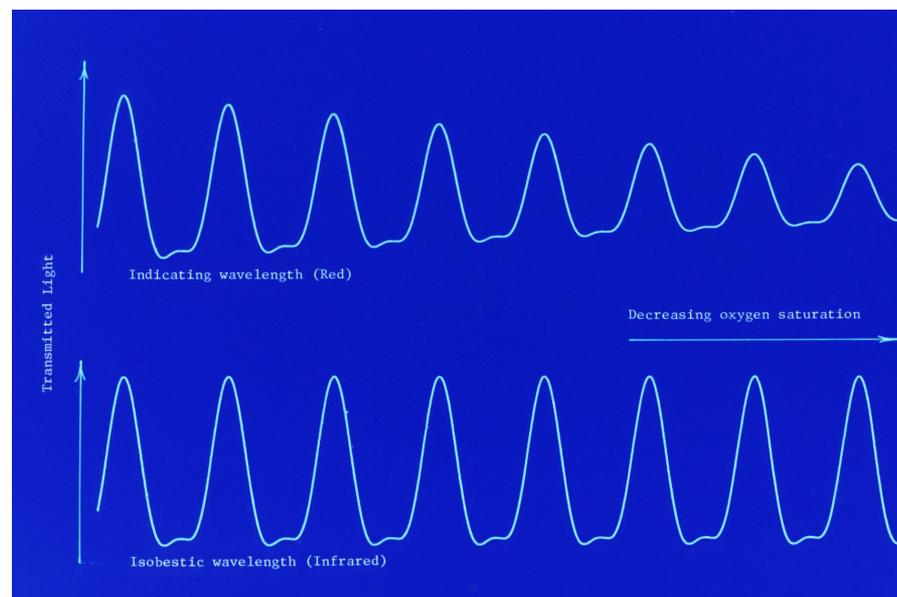
D(660), D(810) – величины оптической плотности крови измеренная с использованием света с λ 660 и 810 нм

A и **B** опытные константы.

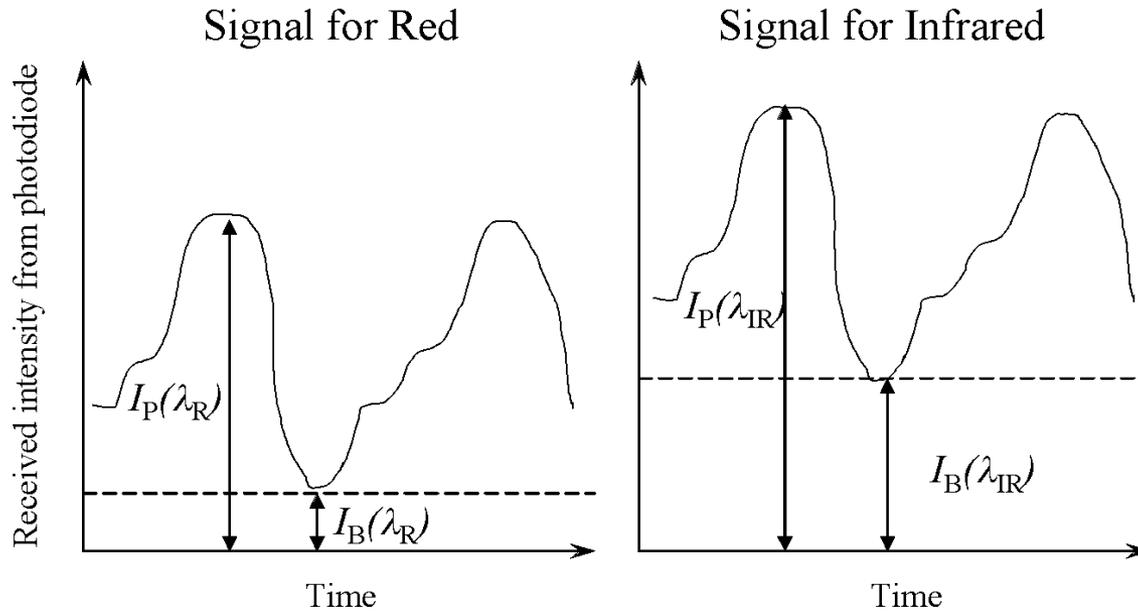
Пульсоксигемометрия



Изменение величины поглощения при пропускании света через биоткань с кровеносными сосудами



Сигналы фотодатчика

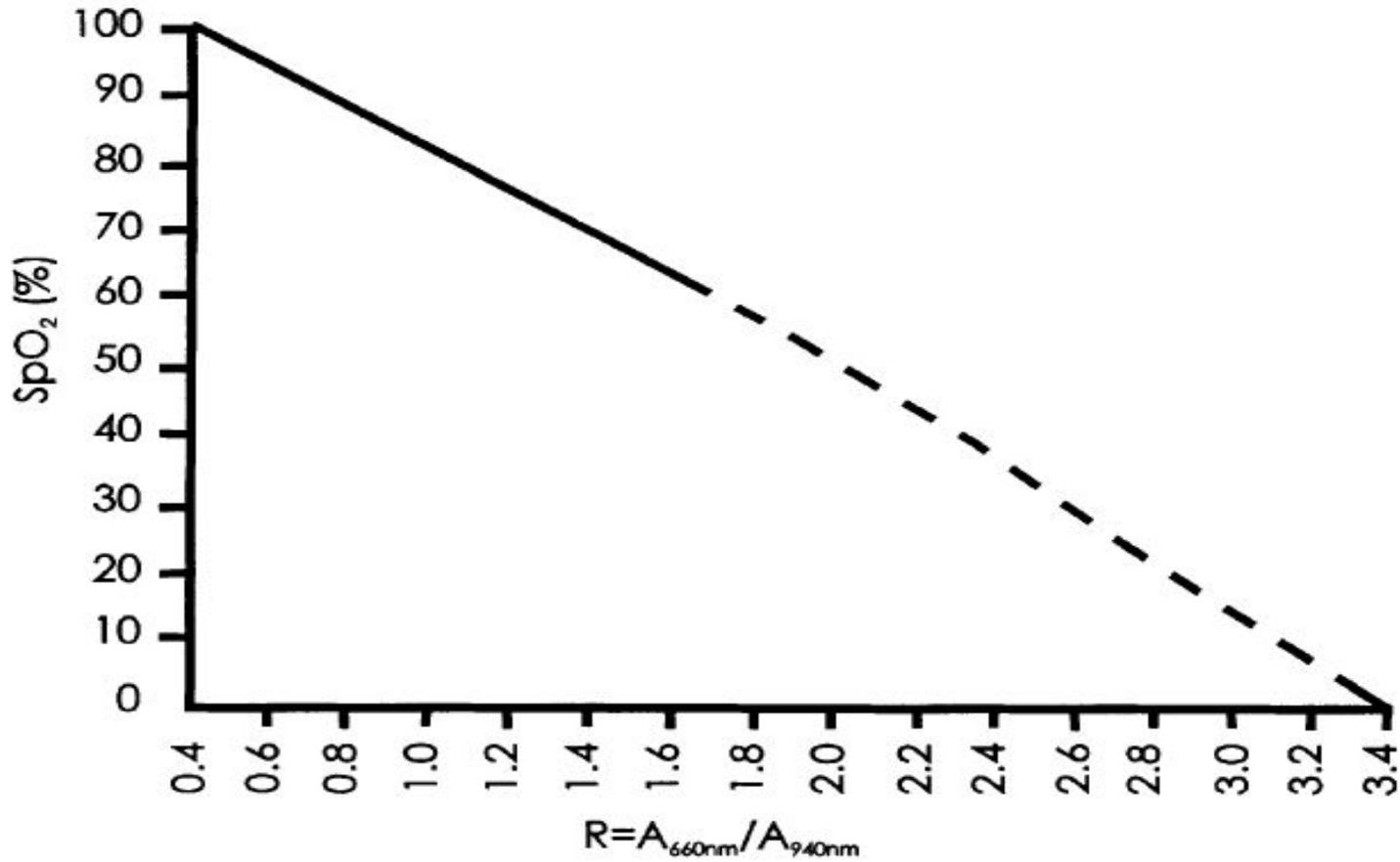


Показатель оксигенации крови

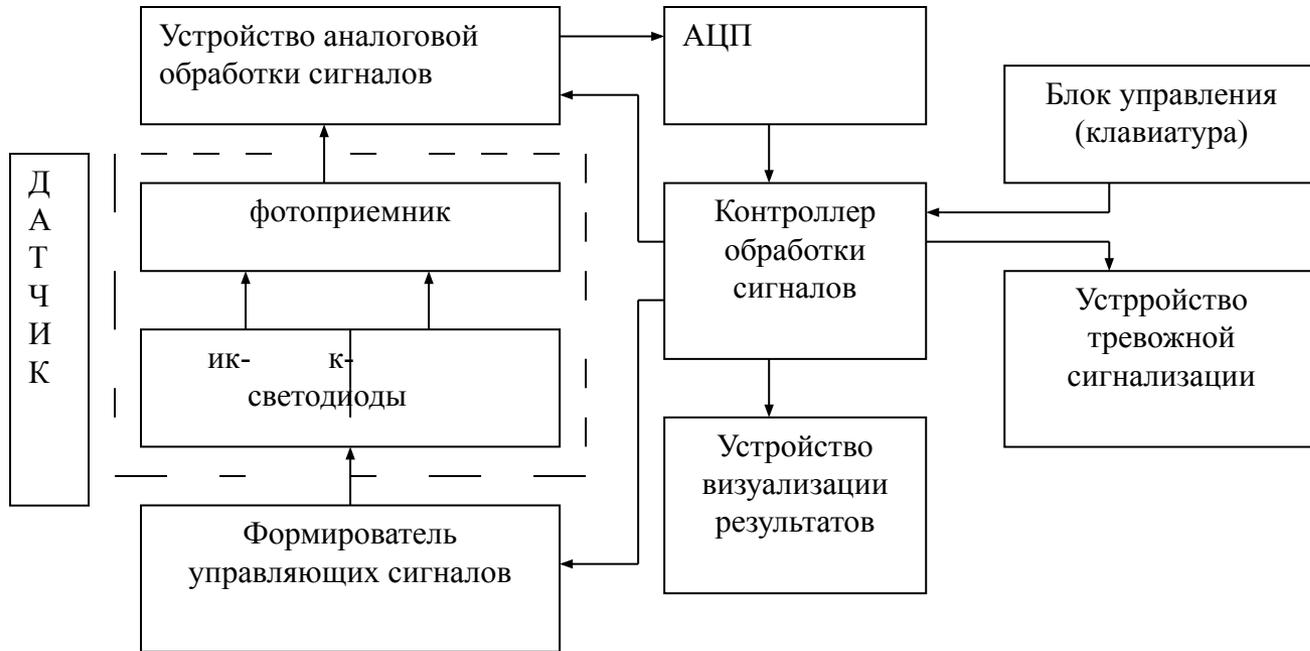
$$R_{OS} = \frac{\Delta A(\lambda_R)}{\Delta A(\lambda_{IR})} = \frac{\ln\left(\frac{I_P(\lambda_R)}{I_B(\lambda_R)}\right)}{\ln\left(\frac{I_P(\lambda_{IR})}{I_B(\lambda_{IR})}\right)}$$

$I_p(\lambda_r)$, $I_p(\lambda_{ir})$ и $I_b(\lambda_r)$, $I_b(\lambda_{ir})$ –
 пульсовые и постоянные
 составляющие поглощения по
 красному и инфракрасному
 каналу

Калибровочная кривая пульсоксиметра



Структурная схема пульсоксиметра



Осциллограммы тока светодиодов

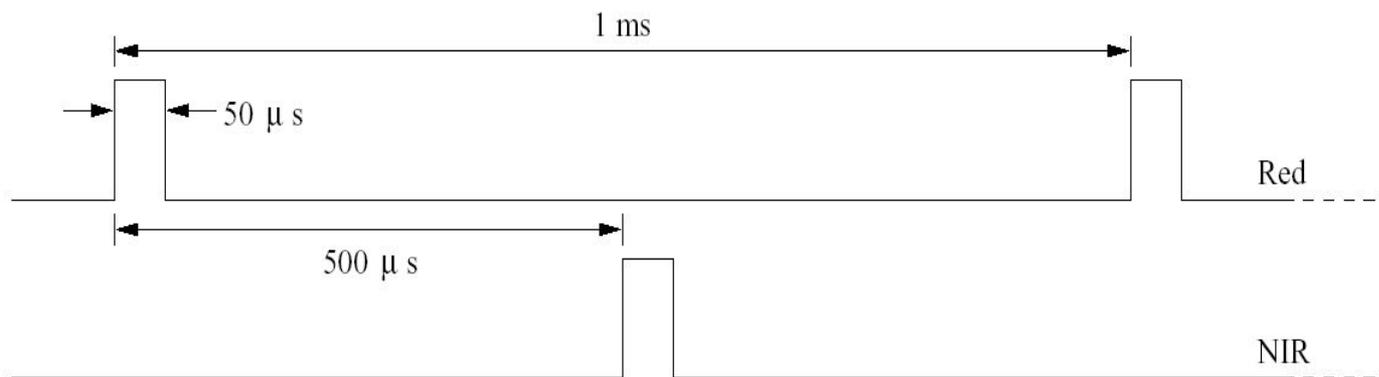
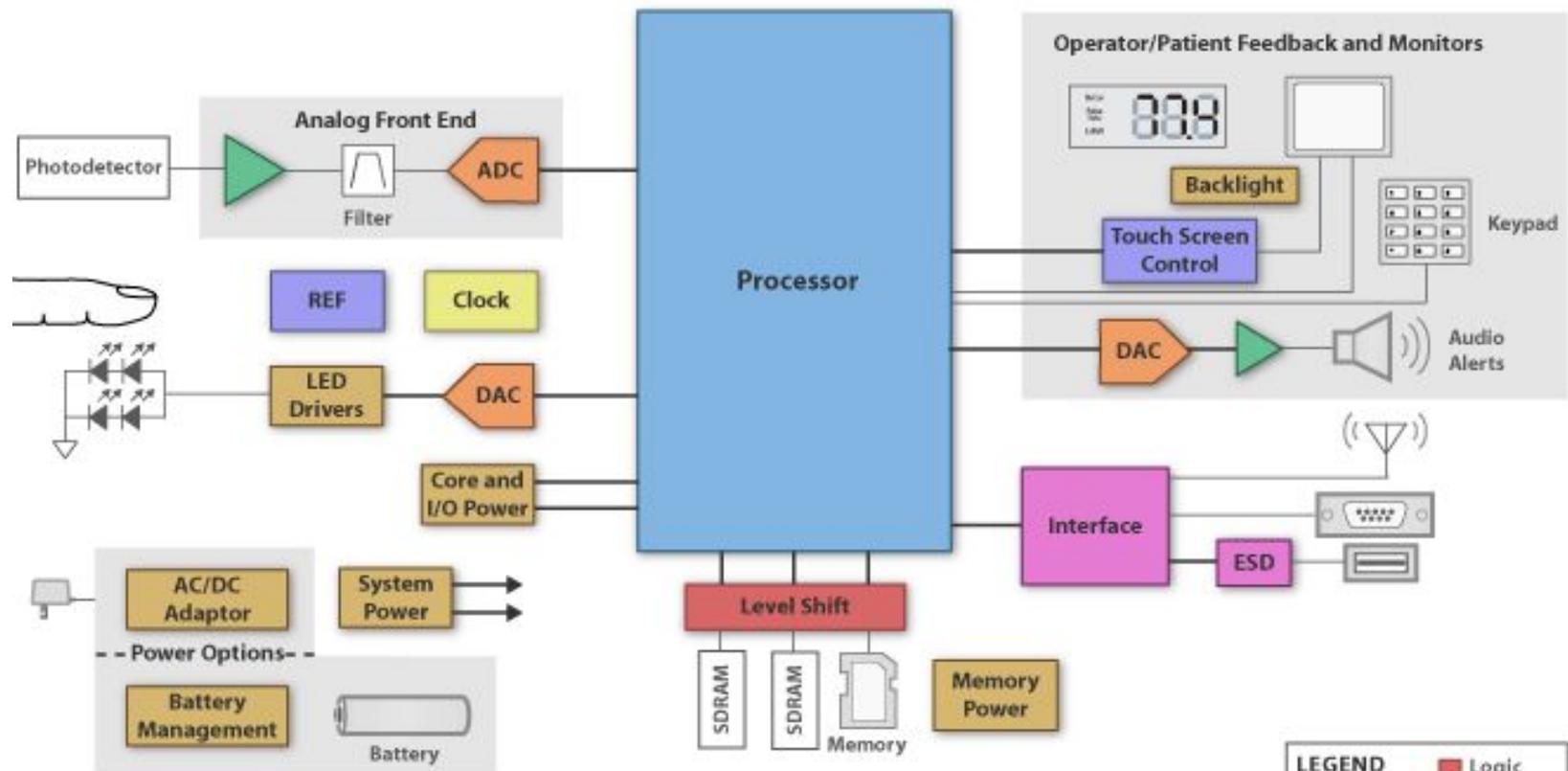


Figure 38: Timing signals for the LED drivers



Product Availability and Design Disclaimer - The system block diagram depicted above and the devices recommended are designed in this manner as a reference. Please contact your local TI sales office or distributor for system design specifics and product availability.



Ограничение пульсоксиметрии

Это не монитор вентиляции пульсоксиметрия дает хорошую оценку оксигенации, но не дает прямой информации о прогрессирующих нарушениях дыхания.

Критические больные. У критических больных эффективность метода мала, так как перфузия тканей у них плохая и пульсоксиметр не может определить пульсирующий сигнал.

Наличие пульсовой волны. Если нет видимой пульсовой волны на пульсоксиметре, любые цифры процента сатурации малозначимы.

Неточность

Яркий внешний свет, дрожь, движения могут создавать пульсобразную кривую и значения сатурации без пульса. Анормальные типы гемоглобина (например, метгемоглобин при передозировке прилокаина) могут давать значения сатурации на уровне 85%.

Карбоксигемоглобин, появляющийся при отравлении угарным газом, может давать значение сатурации около 100%.

Красители, включая лак для ногтей, могут спровоцировать заниженное значение сатурации.

Вазоконстрикция и гипотермия вызывают ослабление перфузии тканей и ухудшают регистрацию сигнала.

Значение сатурации ниже 70% не точное, т.к. нет контрольных значений для сравнения.

Нарушение ритма сердца может нарушать восприятие пульсоксиметром пульсового сигнала.

Запаздывающий монитор. Это значит, что парциальное давление кислорода в крови может снижаться гораздо быстрее, чем начнет снижаться сатурация.

Задержка реакции связана с тем, что сигнал усредненный. Это значит, что существует задержка 5-20 секунд между тем, как реальная кислородная сатурация начинает падать и изменяются значения на дисплее пульсоксиметра.

Tissue spectrometer

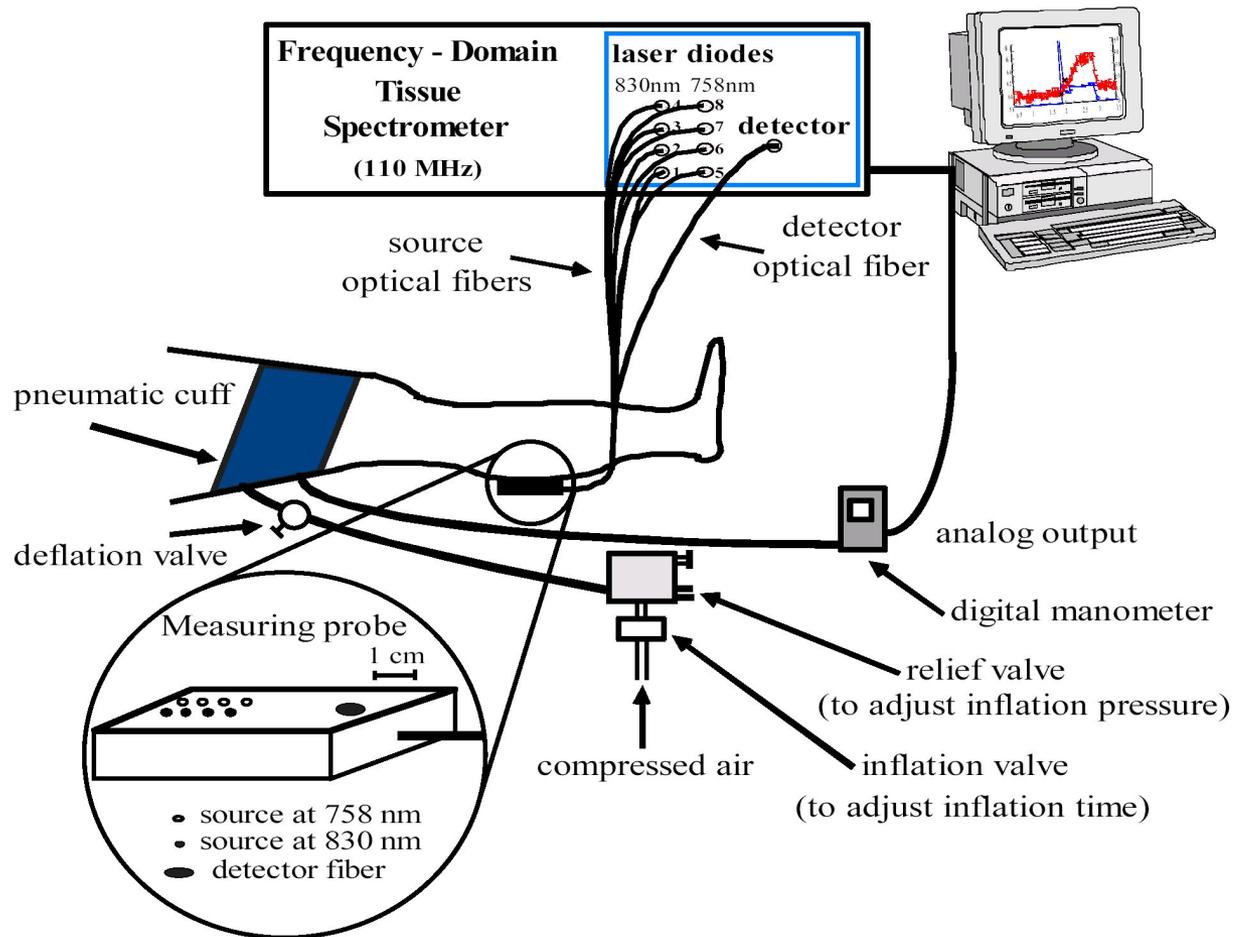


Fig 12. "In vivo" set-up and the measuring probe.

Molecule	Type of test	Normal levels US units (mg/dL)	Normal levels SI units (mmol/L)	Toxic levels (mg/dL)
Total bilirubin	Blood (serum)	0.2–1.0	$3.4\text{--}17.1 \times 10^{-3}$	High levels result in jauntice
Lactate	Blood (serum)	5–12	0.5–1.3	>45
Creatinine				
Female	Blood (serum)	0.6–1.1	$53\text{--}97 \times 10^{-3}$	>4
Male		0.7–1.2	$62\text{--}115 \times 10^{-3}$	
Urea	Blood (serum)	10–20	3.6–7.1	>100
Glucose	Blood	70–105	3.9–5.8	<50 or >400
Sodium	Blood (serum)	136–145 mEq/L	136–145	<120 or >160 mEq/L
Potassium	Blood (serum)		3.5–5.1	<3 or >7.5 mmol/L
Lithium	Blood (serum)	0.8–1.2 mEq/L	NA	>2.0 mEq/L

Table 3.1 Normal and toxic levels of various molecules in the body given in both US and European (SI) units (Pagana and Pagana, 1995). NA denotes “not available”.

Классификация оптических методов исследования

Классификация по спектральным характеристикам оптического излучения:

- а) Фотометрические
- б) Спектрофотометрические

2. *Классификация по виду взаимодействия вещества с излучением:*

- а) Абсорбционная фотометрия
- б) Нефелометрия
- в) Турбидиметрия
- г) Рефлектометрия
- д) Эмиссионная фотометрия
- е) Люминисцентная фотометрия

3. *Классификация методов по объектам исследования:*

- а) Методы исследования биопробы и жидкости (аналитические)
- б) Методы, предназначенные для исследования организма.

Оптические измерительные приборы

- Фотометры и спектрофотометры
- Денситометры
- Флюориметры и спектрофлюориметры
- Пламенные фотометры
- Люминометры
- Нефелометры

Принцип метода

- Фотометрические методы исследования базируются на способности жидких сред (растворов) поглощать световое излучение.
- В основу абсорбционного метода анализа положен обобщенный закон *Бугера–Ламберта–Бера*. Он базируется на двух законах.
 1. Относительное количество энергии светового потока, поглощенного средой, не зависит от интенсивности излучения. Каждый поглощающий слой одинаковой толщины поглощает равную долю проходящего через эти слои монохроматического светового потока.
 2. Поглощение монохроматического потока световой энергии прямо пропорционально числу молекул поглощающего вещества.
- Величина пропускания T обычно измеряется в процентах и меняется в диапазоне от 0 до 100%. Поглощение (абсорбция) A , экстинкция (оптическая плотность) E – величины безразмерные. Часто они оцениваются в Беллах или единицах оптической плотности.

Оптическая схема

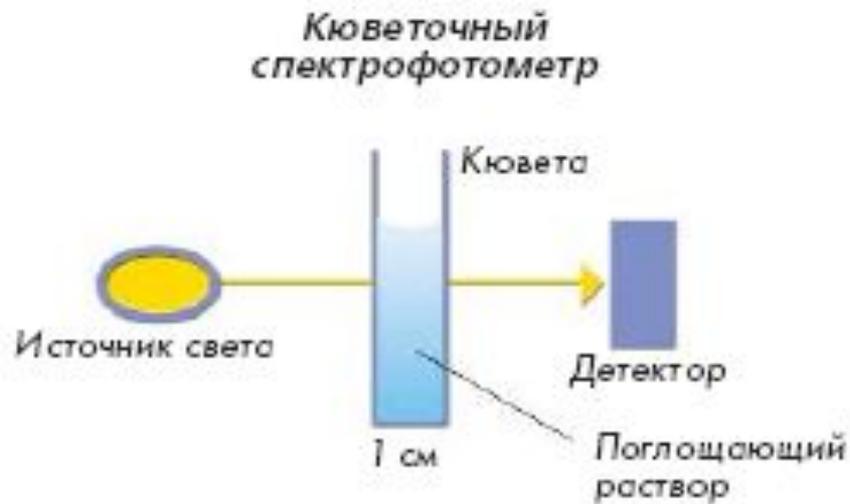
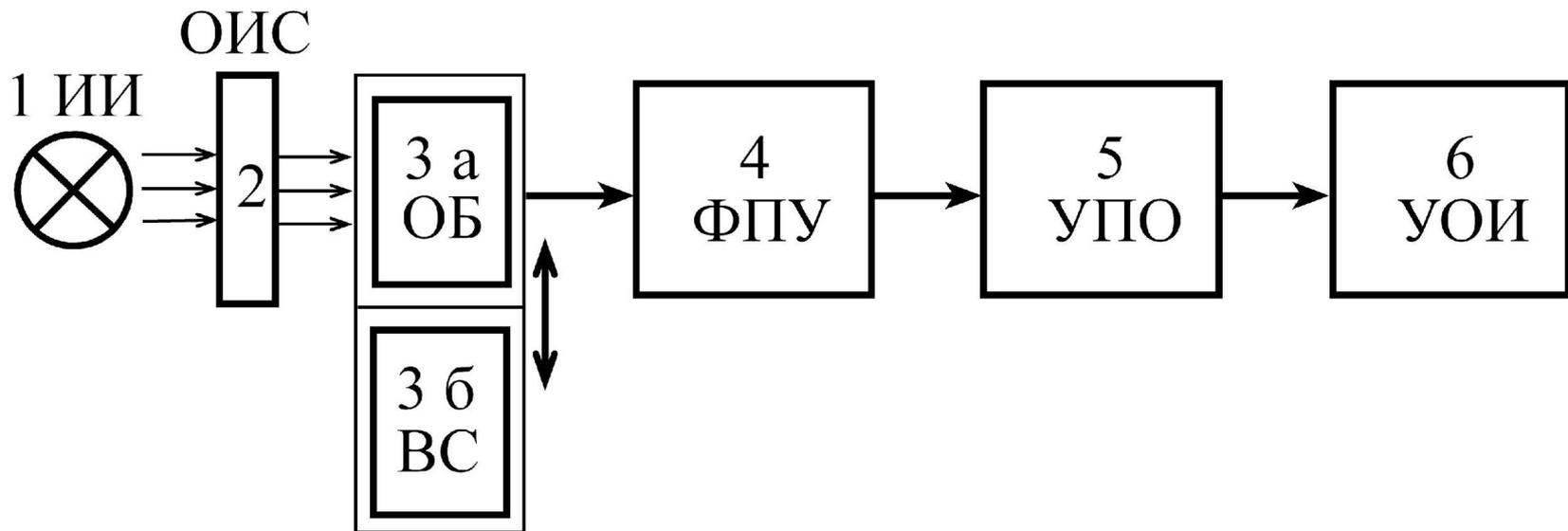


Схема одноканального абсорбционного фотокolorиметра



- 1 – источник излучения 2 – оптическая избирательная система, 3а – исследуемое вещество, 3б – вещество сравнения, 4 – фотоприемное устройство, 5 – устройство преобразования информации, 6 – устройство регистрации и отображения информации.

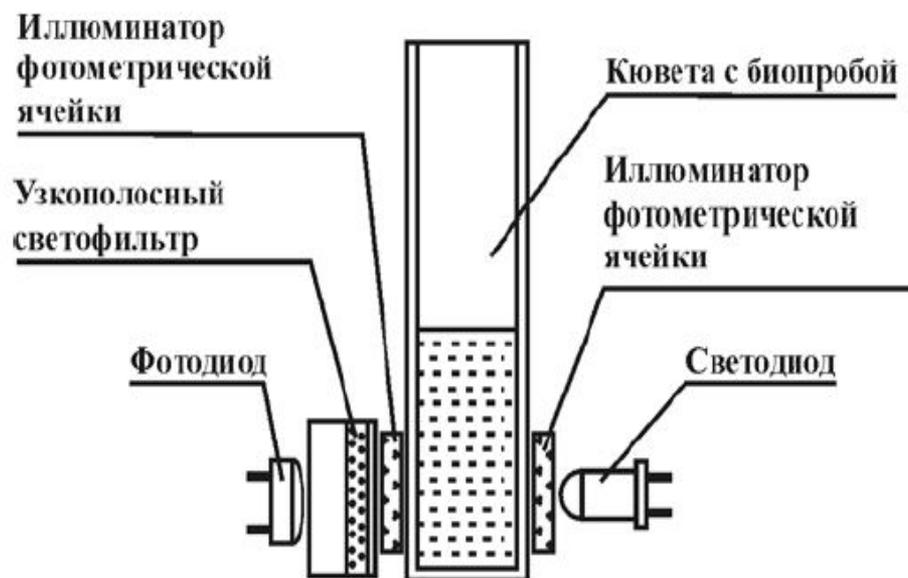


Рис. 122. Гемоглобинометр МиниГЕМ - оптическая схема и внешний вид.

Структура двухлучевого одноволнового фотометра

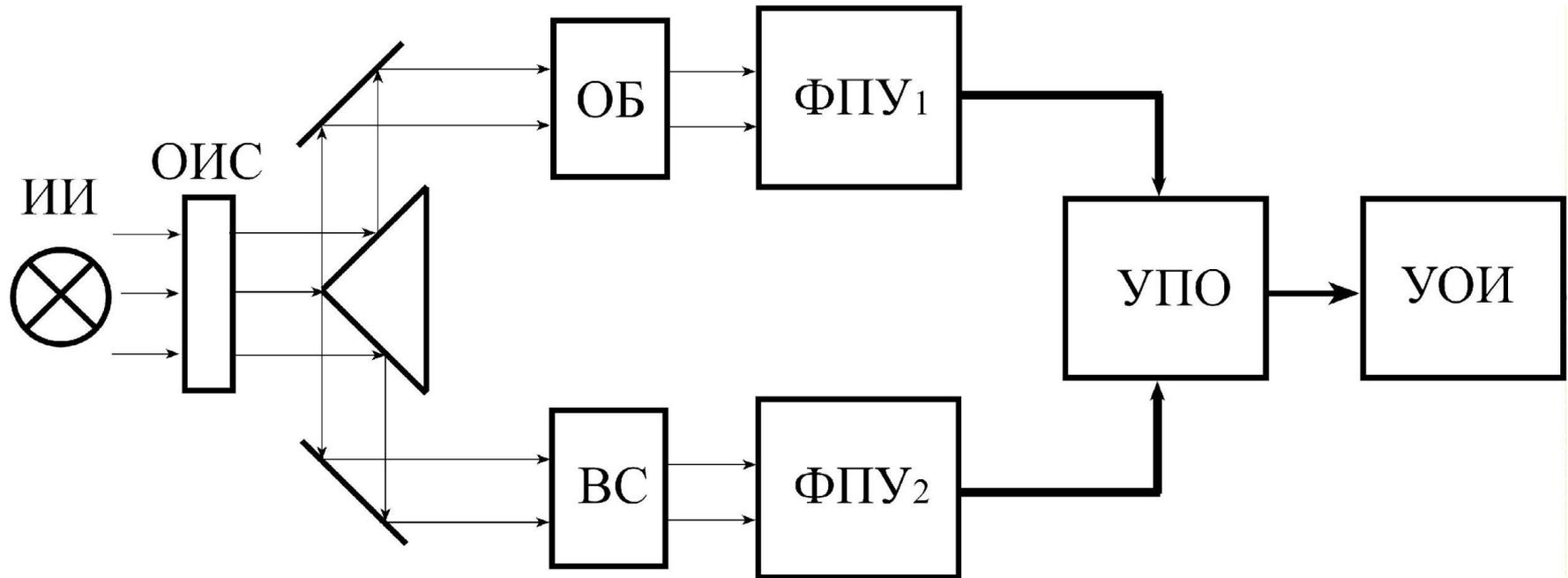
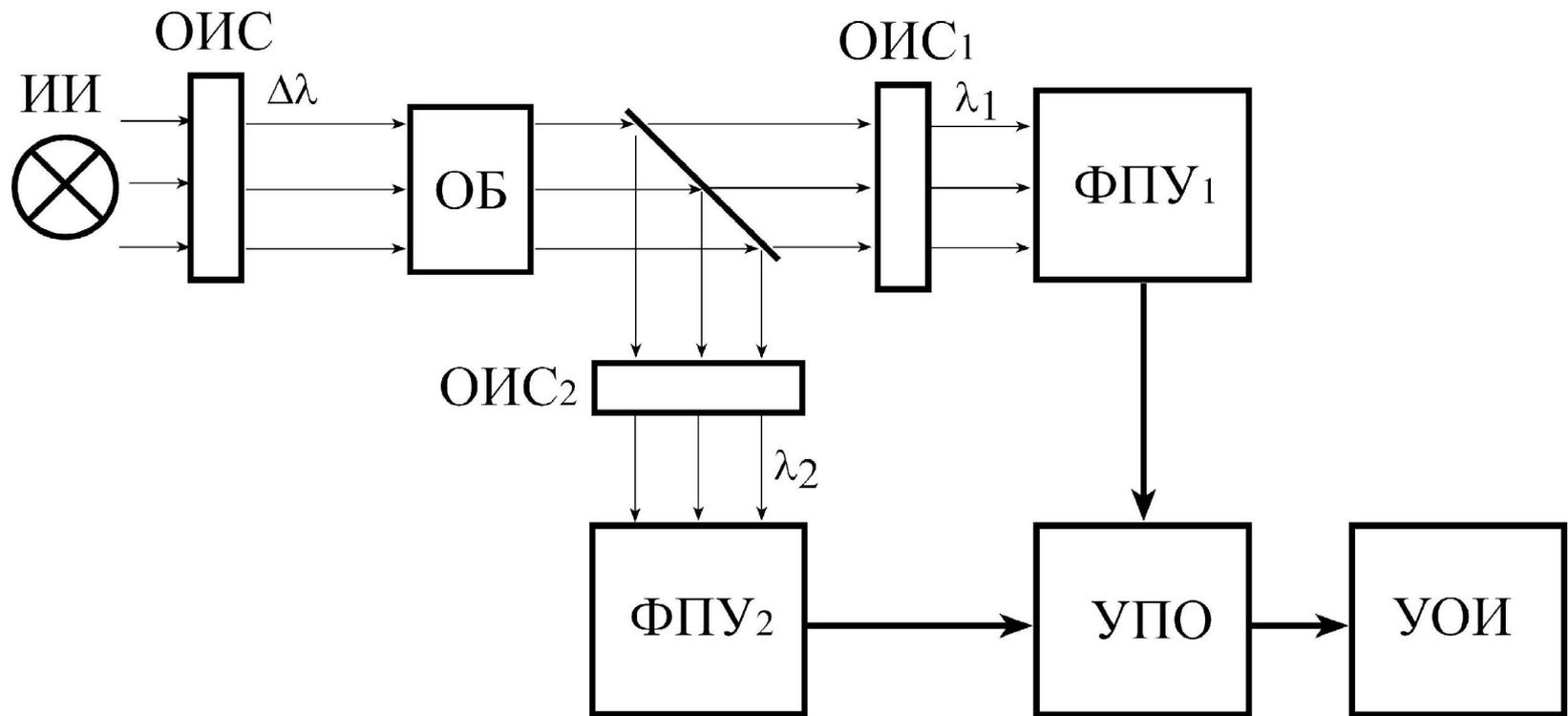
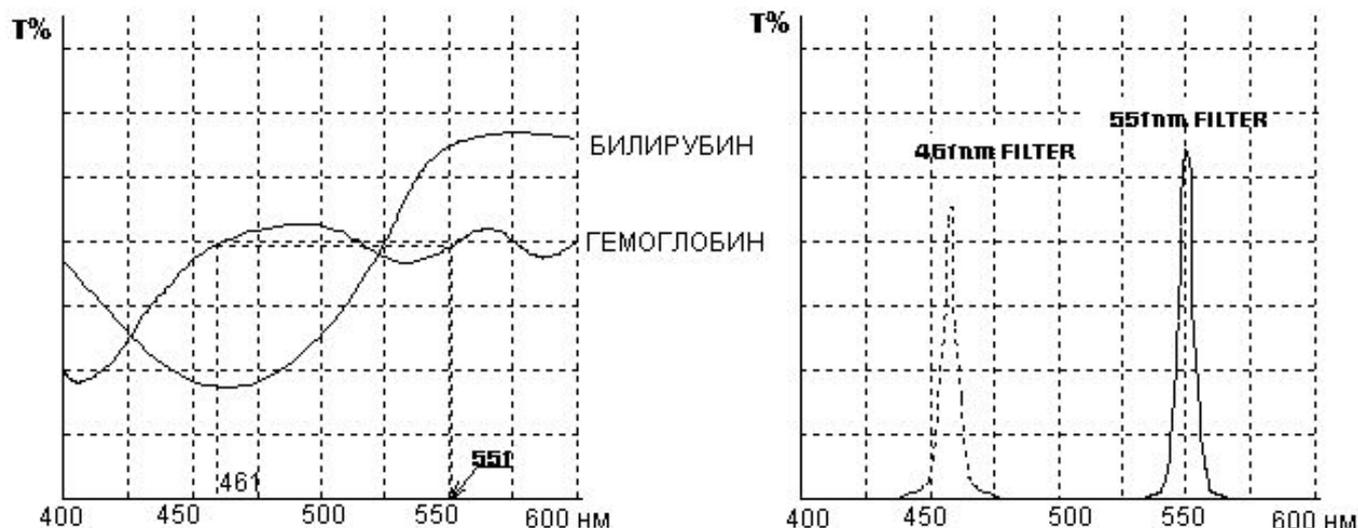


Схема двухволнового одноканального фотометра



Билирубинометры



Билирубинометры разработаны для прямого измерения общего билирубина.

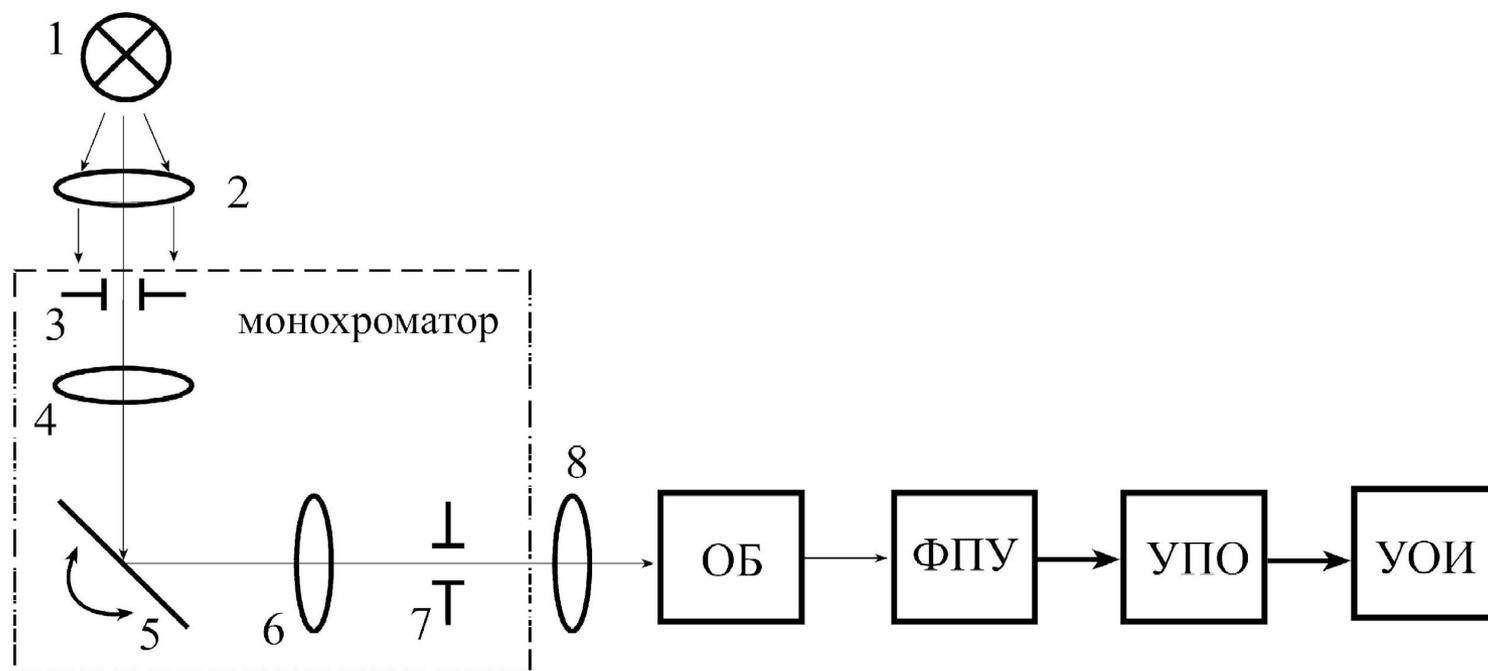
Измерение происходит в гематокритном капилляре с помощью двух длин волн 461 нм и 551 нм. Максимум поглощения (минимум светопропускания) для билирубина в сыворотке наблюдается при 461 нм (как показано на графиках). Но в тестируемой жидкости также находятся и другие агенты, например, гемоглобин вследствие гемолиза, поэтому, для большей точности в данном приборе используется второй фильтр – 551 нм. Конечный результат получается в виде разницы оптических плотностей, полученных на двух фильтрах.

Преимущества метода: очень широкий диапазон измерения общего билирубина: 0–513 мкмоль/л, минимальная погрешность (5%), малый объем пробы крови (2 капли), быстрое измерение, нет необходимости в реактивах.

Спектрофотометры

- Основное отличие спектрофотометра от электрофотоколориметра состоит в возможности пропустить через исследуемую пробу световой поток любой нужной длины волны, проводить фотометрические измерения, сканируя весь диапазон длин волн не только видимого (VIS) света от 380 до 750 нм, но и ближнего ультрафиолета (UV) от 190 до 380 нм.

Обобщенная структурная схема одноканального спектрофотометра



Монохроматоры

- Призмы (220 – 950 нм)
- Дифракционные решетки (200 – 800 нм)

Источники излучения

- Водородные или дейтериевые газоразрядные лампы (200 - 360 нм)
- Галогеновые лампы (200 - 360 нм)
- Лампы накаливания с вольфрамовой нитью (360 – 800 нм)

Биохимические анализаторы

Биохимические анализаторы предназначены для частичной или полной автоматизации анализа крови. В их основу положен оптический измерительный модуль и калориметрические методы измерений.

- **Полуавтоматические биохимические анализаторы**
- **Полностью автоматические биохимические анализаторы**

Автоматические биохимические анализаторы

- “открытые” системы

Режимы доступа:

- “тест за тестом”
- свободный доступ “тест за тестом” и/или “пациент за пациентом”

- “закрытые” системы

Биохимические анализаторы

- **Конструкция реакгентного блока:**
 - “линейный”
 - “карусель”
- **Конструкция блока проб:**
 - “линейный”
 - “карусель”
- **Конструкция реакционного узла:**
 - проточная кювета
 - термостатируемая платформа с пробир





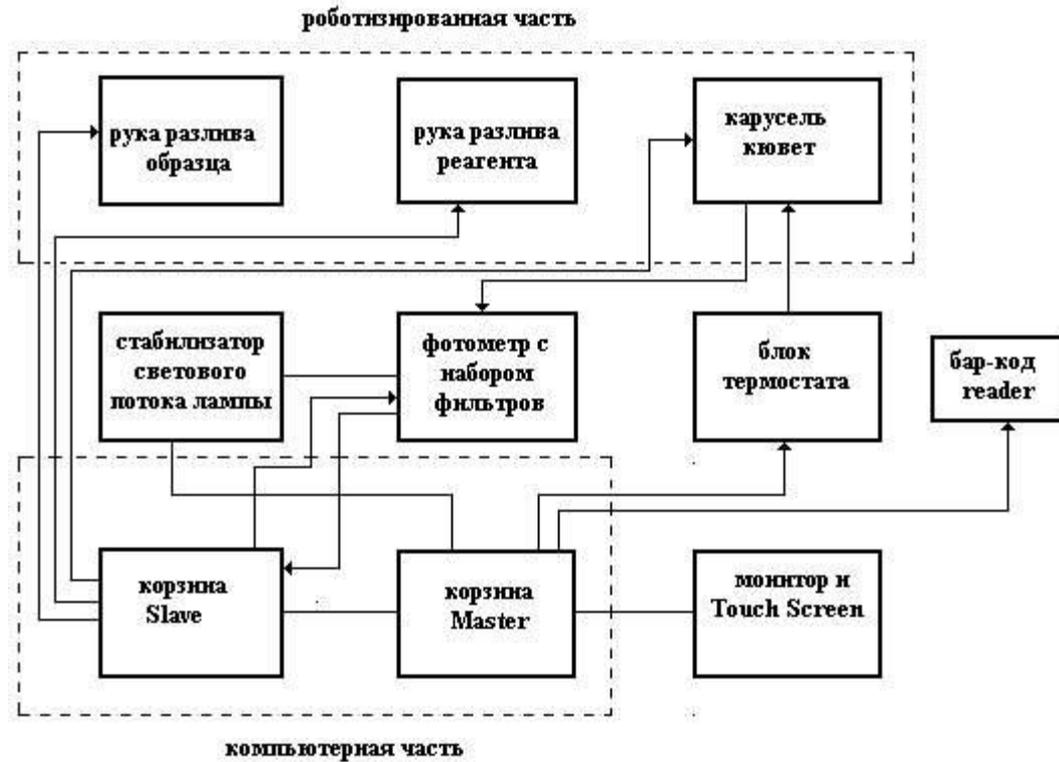
High Performance Diagnostic System

```
.....
PATIENT SPECTRA - MAXIMUM 8.75
.....
PATIENT SAMPLES
PULSE & RUN
CALCULATOR
QUALITY CONTROL
INSTRUMENT SERVICE
PULSE FILES
SPECIAL PROCEDURES
BI-OXYG SERVICE
.....

```

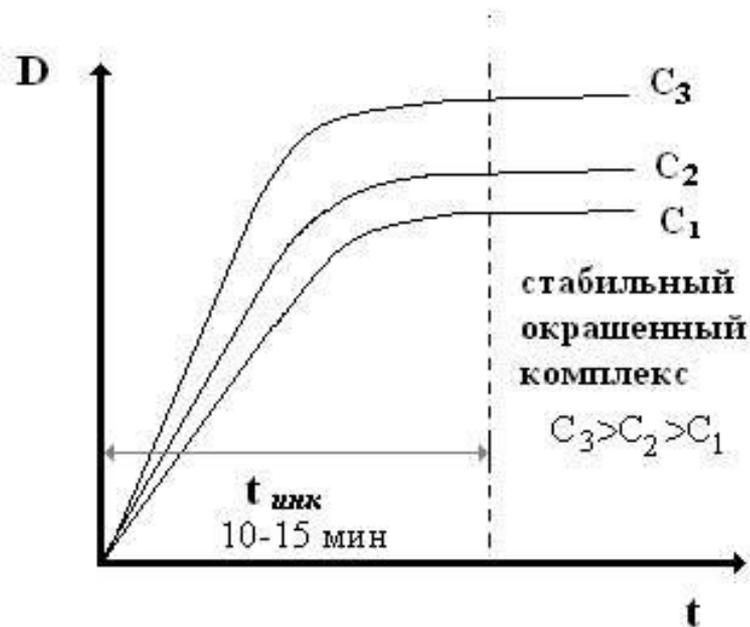
1.17 PM 02-09-81

Блок схема автоматического анализатора “ABBOTT Spectrum“

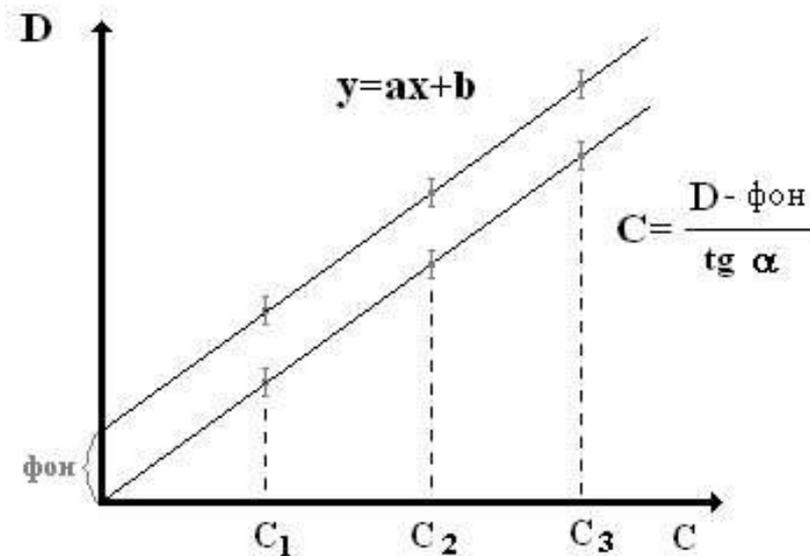


Существуют два метода измерений:

- а) измерения по конечной точке;
- б) измерения по кинетике реакций.



Развитие окраски комплекса по времени



Калибровочная кривая при измерениях по конечной точке

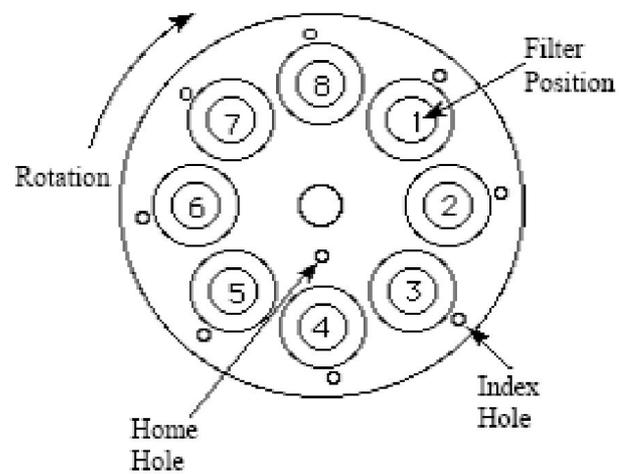
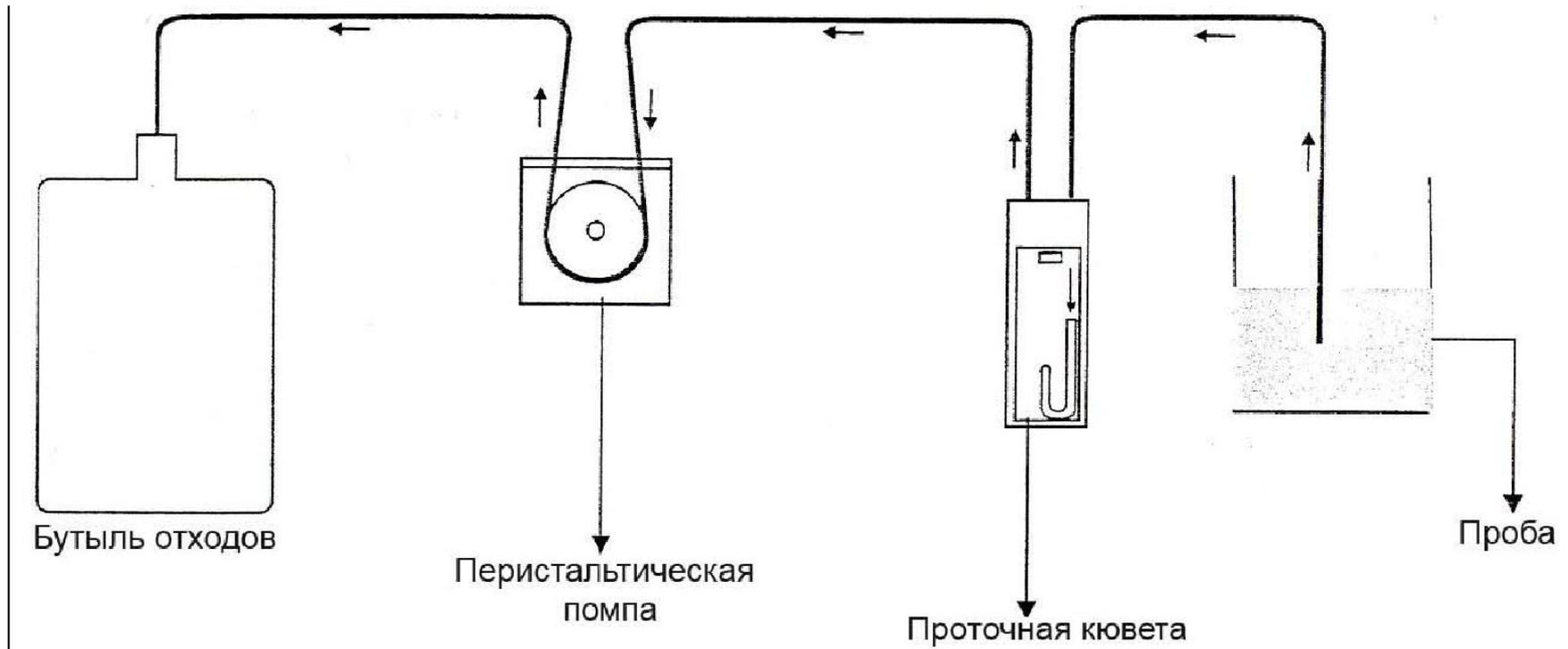
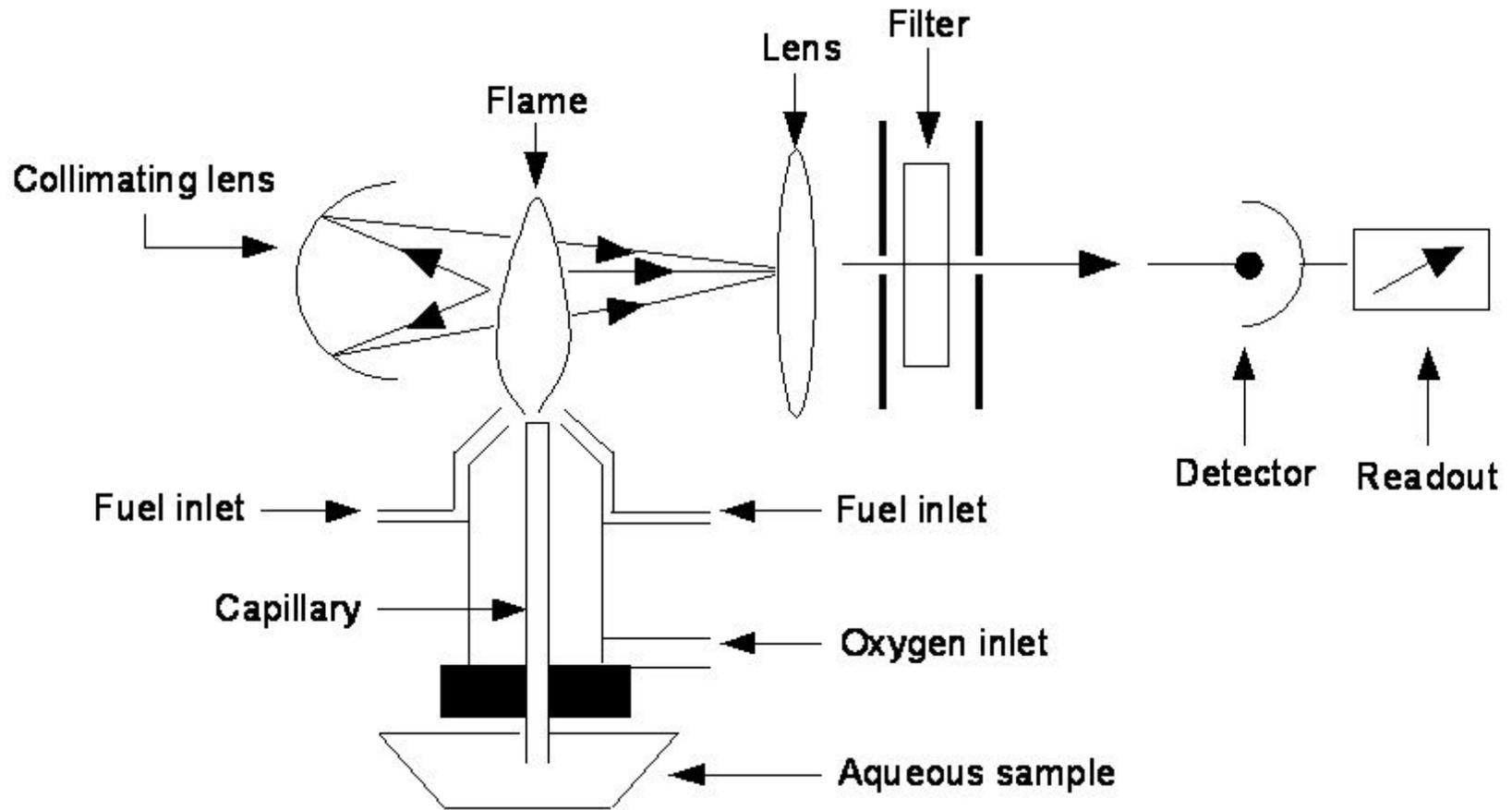


Figure #4.7.1a Filter Wheel Positions



Гидравлическая схема полуавтоматического биохимического анализатора





The flame photometer aspirates a sample containing metal ions and heats it to incandescence. Detector output is proportional to concentration

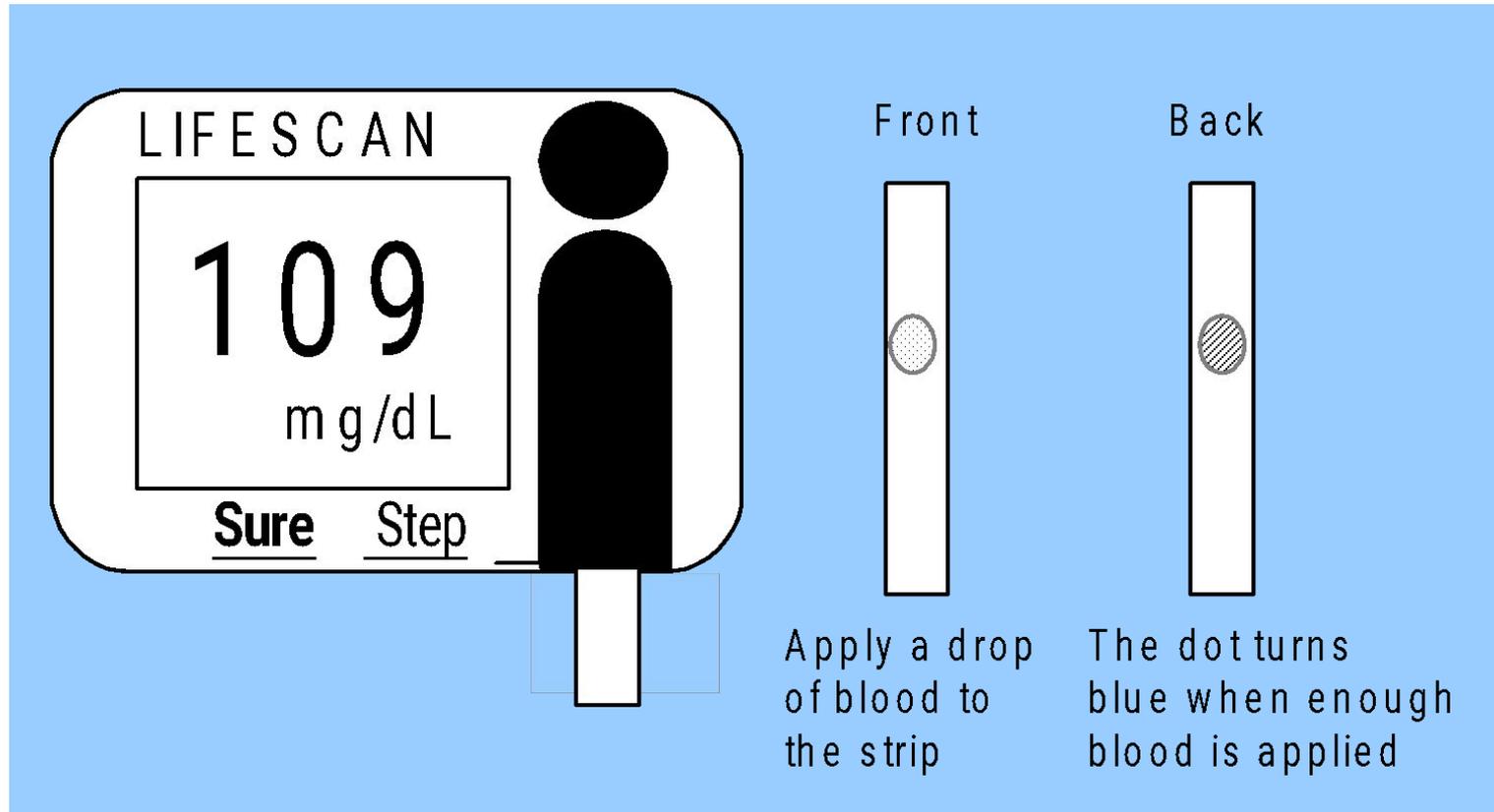
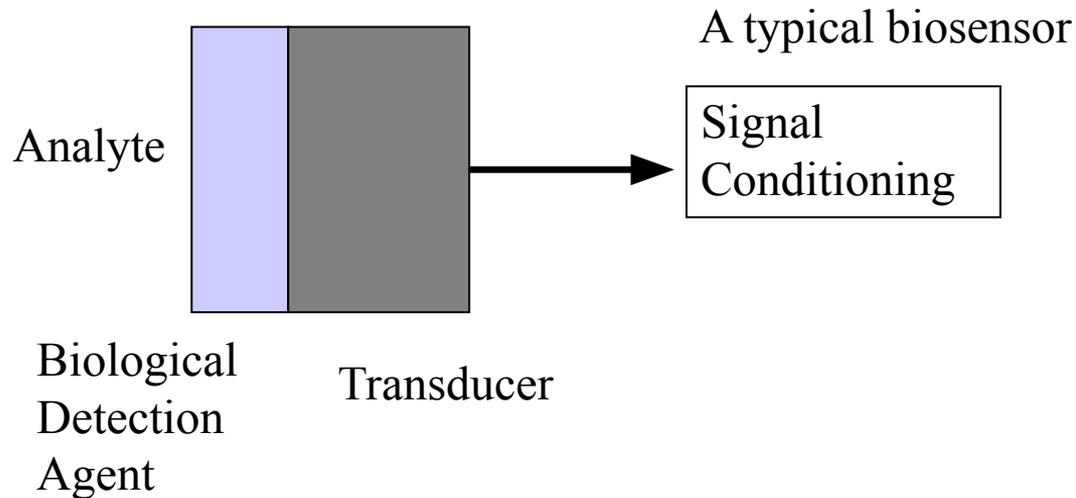


Figure 3.3 LifeScan, Inc., a system by Johnson and Johnson for self-monitoring glucose levels.

Chemical Sensors (Biosensors)

Biosensors produce an output (electrical) which is proportional to the concentration of biological analytes.



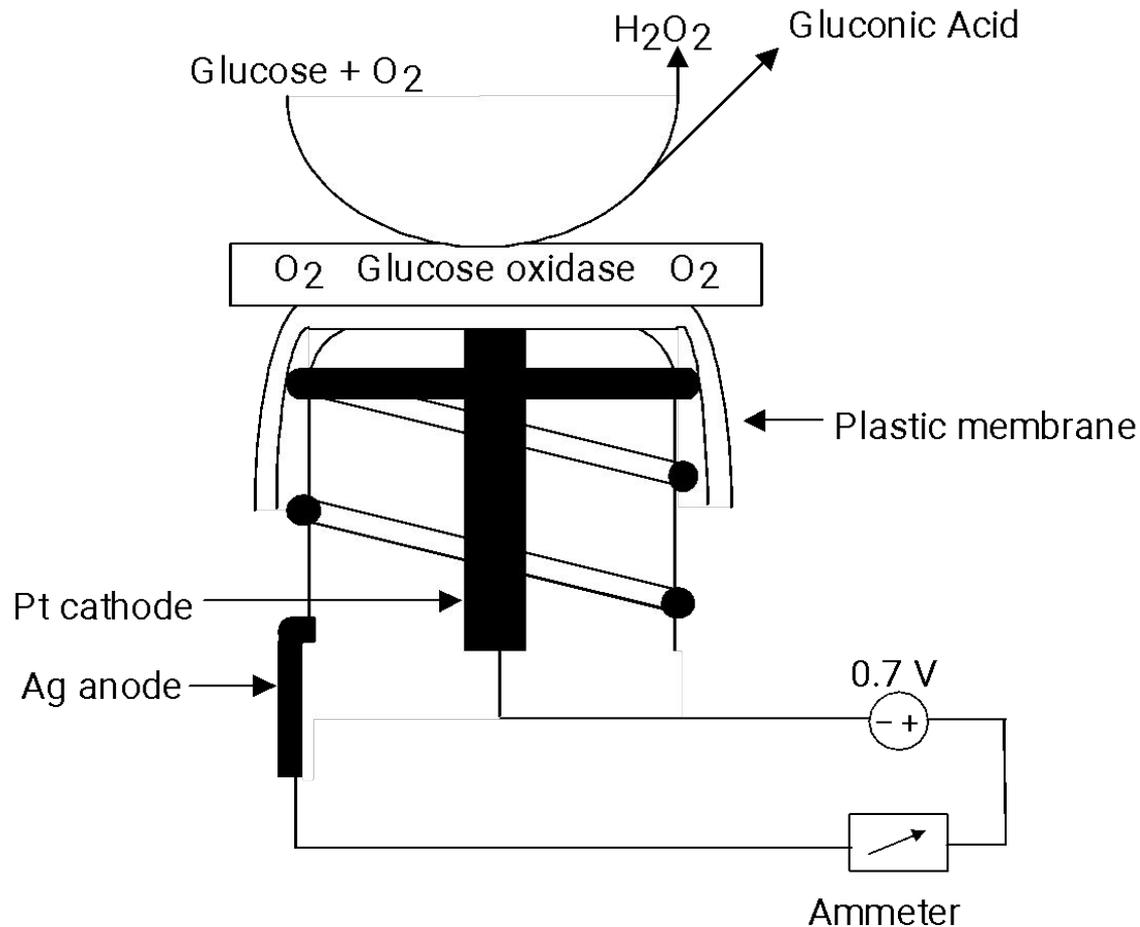
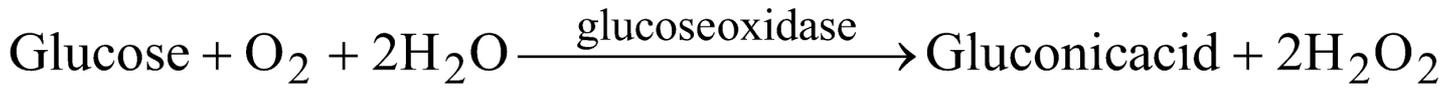


Figure 3.5 In the glucose enzyme electrode, when glucose is present, it combines with O_2 , thus decreasing the O_2 that reaches the cathode.

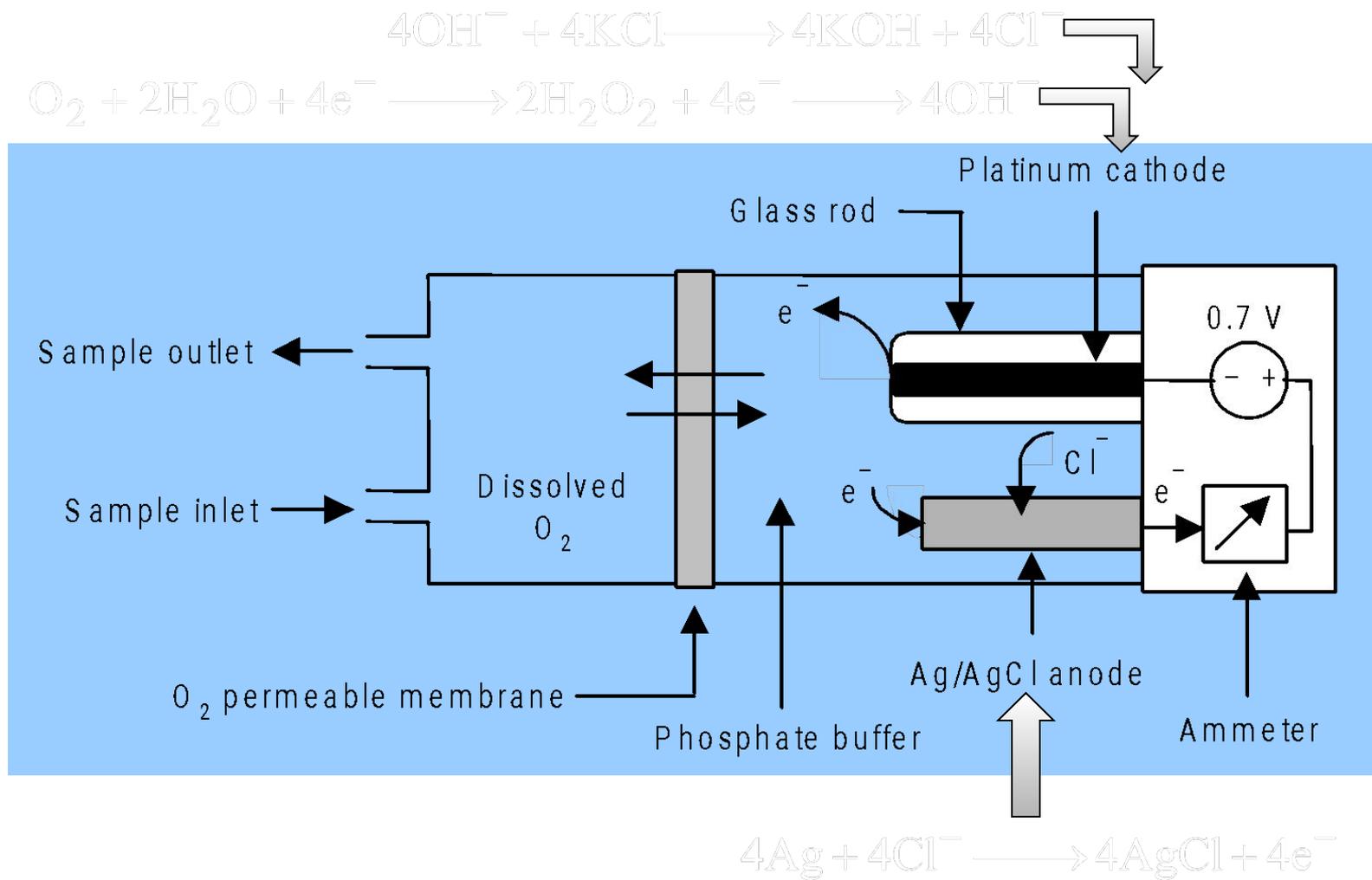


Figure 3.4 In the PO_2 electrode, O_2 dissolved in the blood diffuses through a permeable membrane. Current is proportional to PO_2 (Hicks et al., 1987).

Analyte	Method of assay
Glucose	Amperometric biosensor
Urea	Potentiometric biosensor
Lactate	Amperometric biosensor
Hepatitis B	Chemiluminescent immunoassay
<i>Candida albicans</i>	Piezo-electric immunoassay
Cholesterol	Amperometric biosensor
Penicillins	Potentiometric biosensor
Sodium	Glass ion-selective electrode
Potassium	Ion-exchange-selective electrode
Calcium	Ionophore ion-selective electrode
Oxygen	Fluorescent quenching sensor
pH	Glass ion-selective electrode

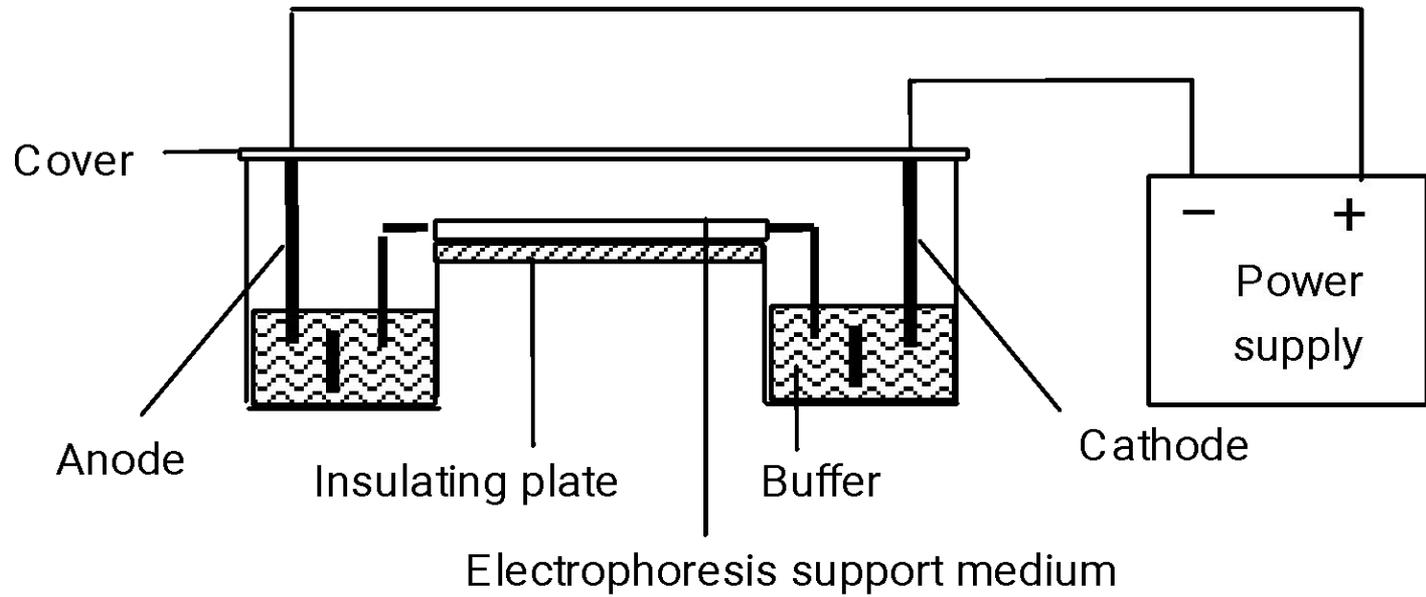


Figure 3.19 In an electrophoresis system, charged molecules move through a support medium because of forces exerted by an electric field.

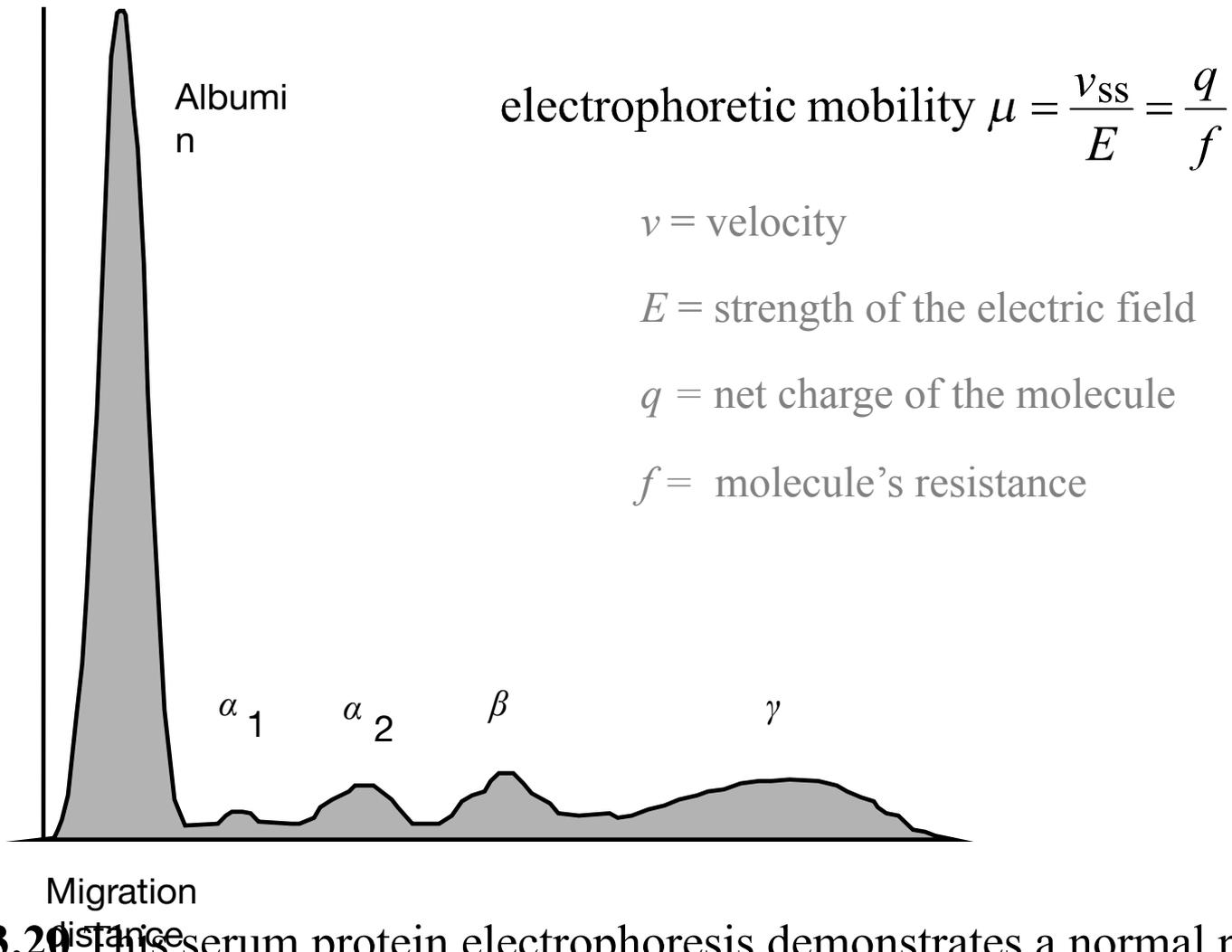
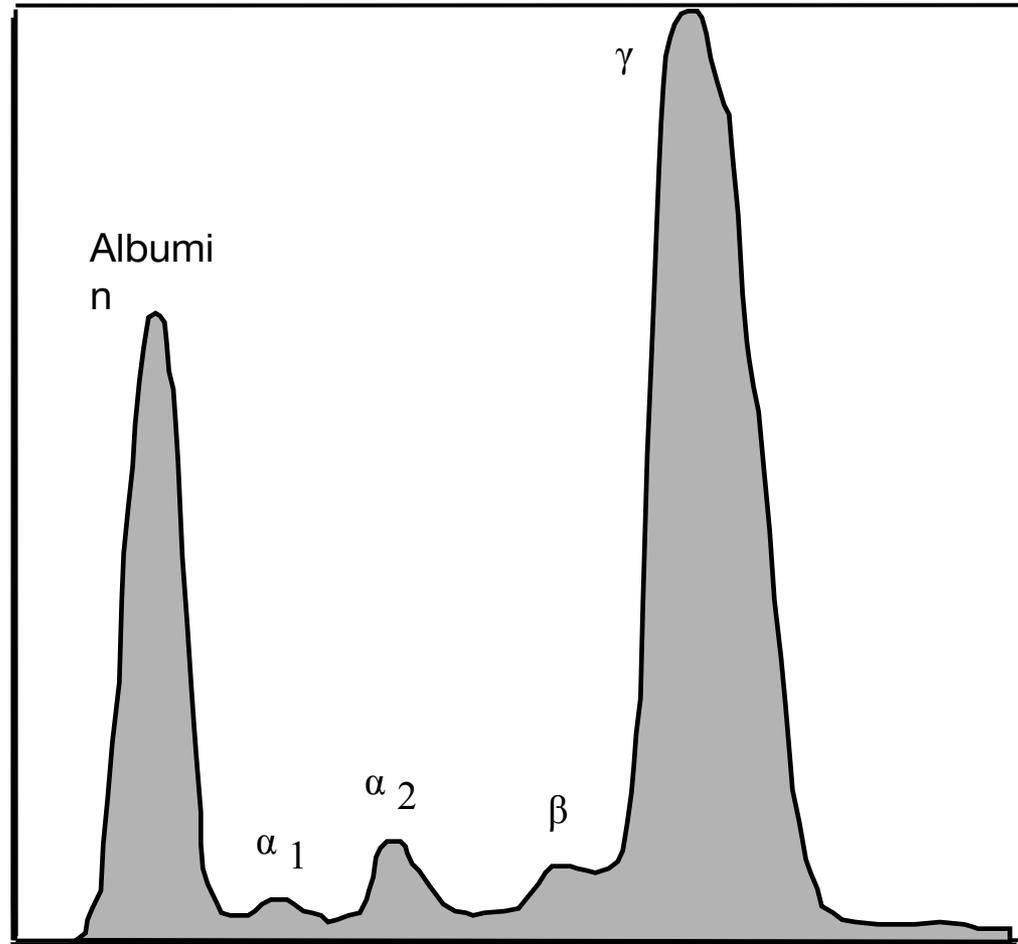


Figure 3.20 This serum protein electrophoresis demonstrates a normal pattern, with the largest peak for albumin.



Migration

Figure 3.21 This serum protein electrophoresis demonstrates a decrease in the albumin and an increase in gamma globulins.

Оборудование для иммуноферментного анализа



**Инкубатор - шейкер
StatFax 2200**



**Мойка для ИФА-
иммунопланшетов
StatFax 2600**



**Микропланшетный
автоматический
фотометр Stat Fax
2100**

Производитель: Awareness Tehnology, США

ELISA microplate reader



Hidex Chameleon microplate reader



Позволяет измерять:

- **Оптическую плотность**
- **Люминесценцию**
- **Флуоресценцию**
- **Жидкостную сцинтилляцию**

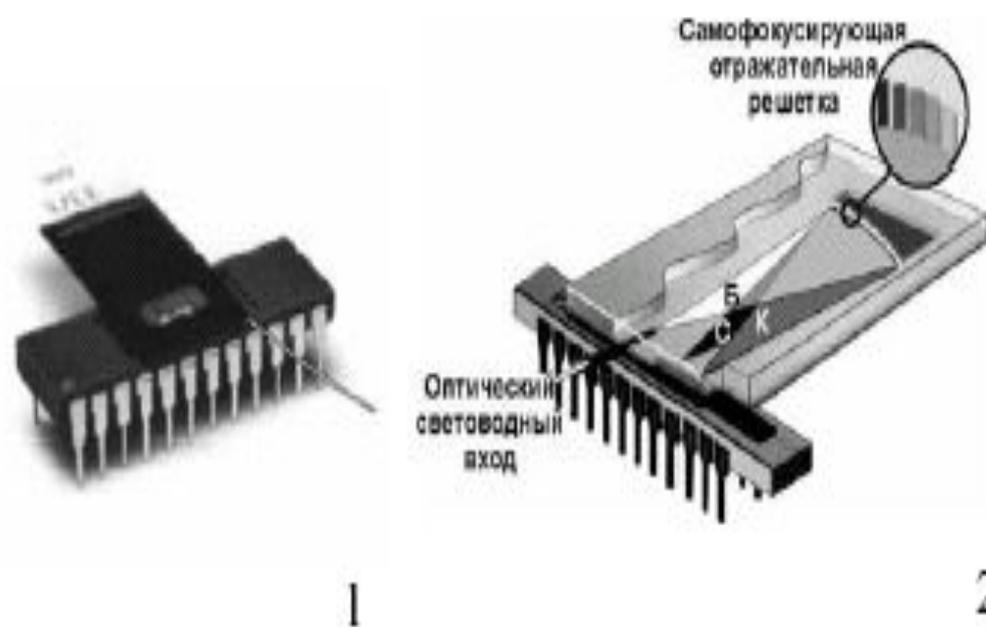


Рис. 115. **Микроспектрофотометр** фирмы MicroPart на основе микроэлектронного чипа с фотодиодной линейкой.
1 – общий вид; 2 – конструкция чипа: Б – белый свет, С- синий участок спектра, К- красный участок спектра

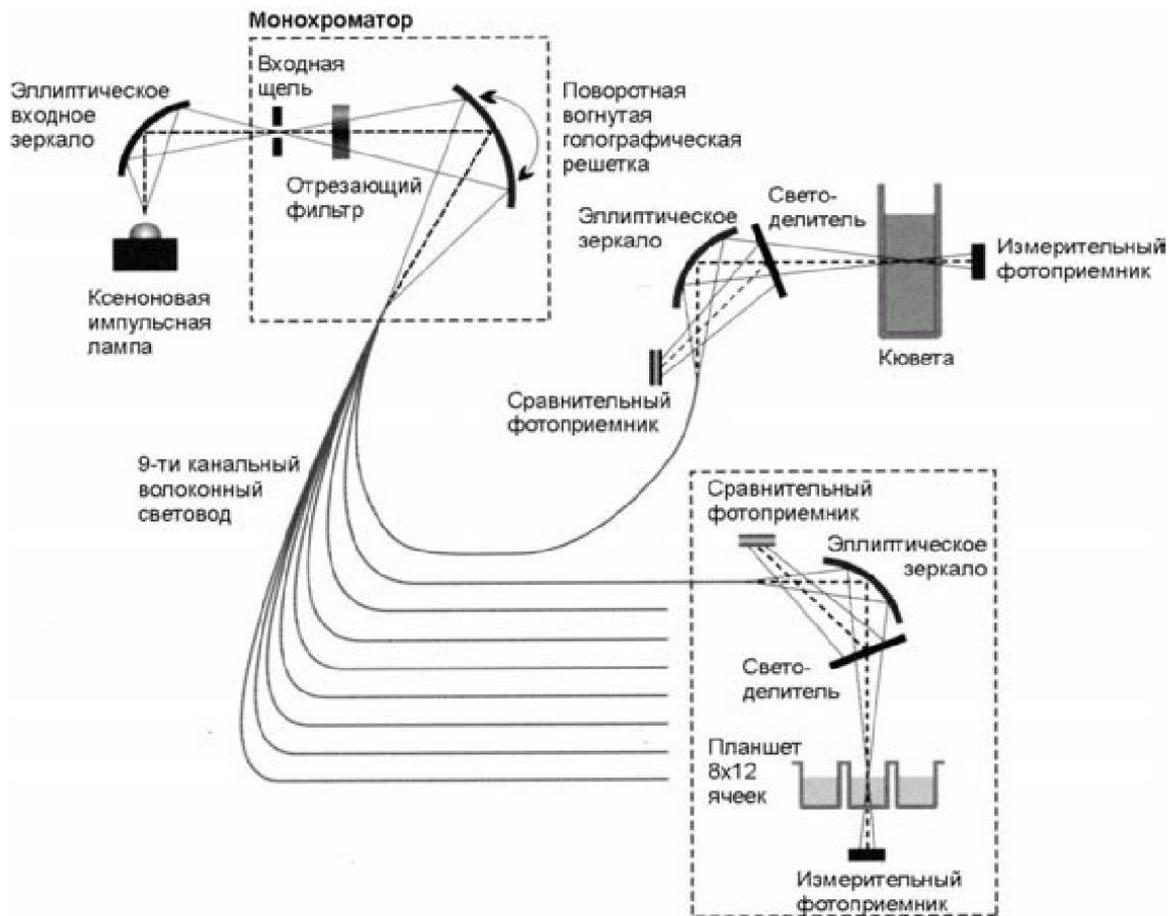
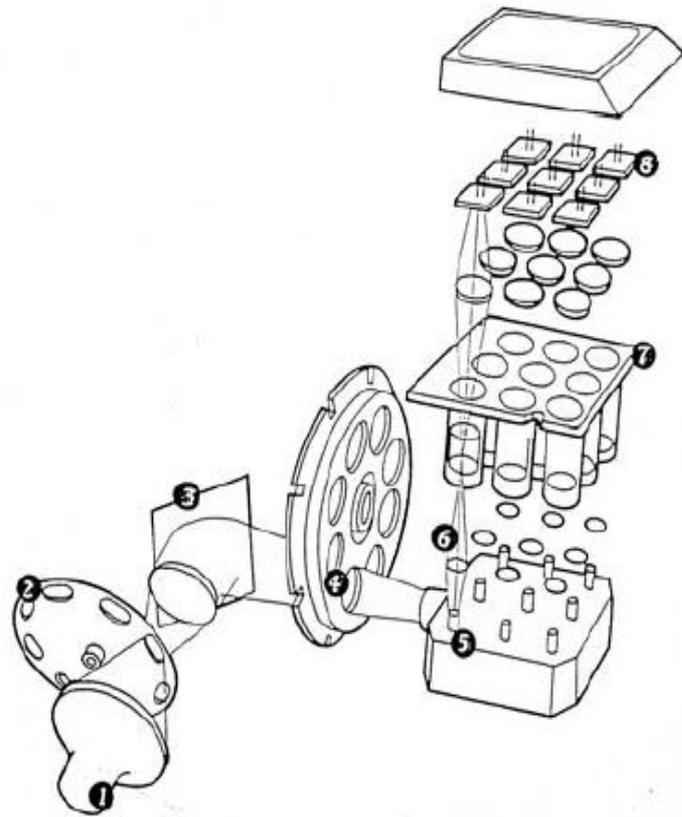


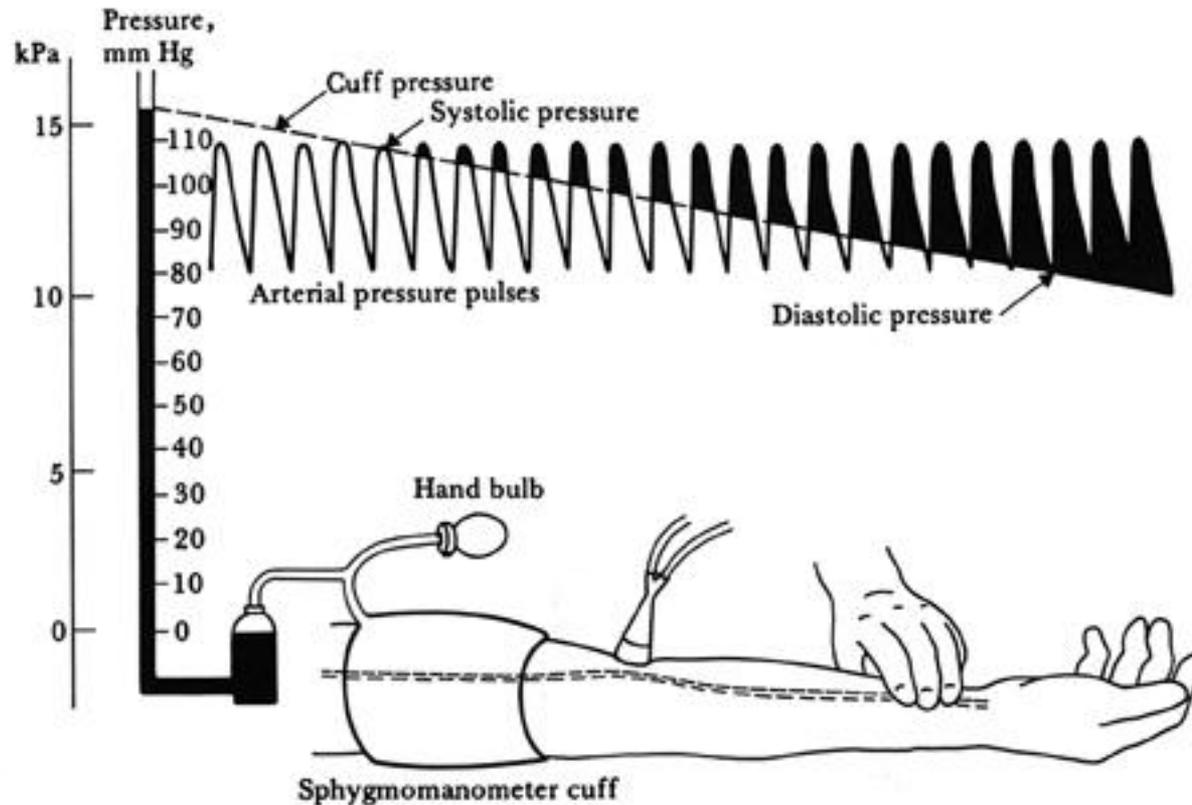
Рис. 114. Волоконный световод минимизирует оптическую схему планшетного фотометра SPECTRAmax PLUS

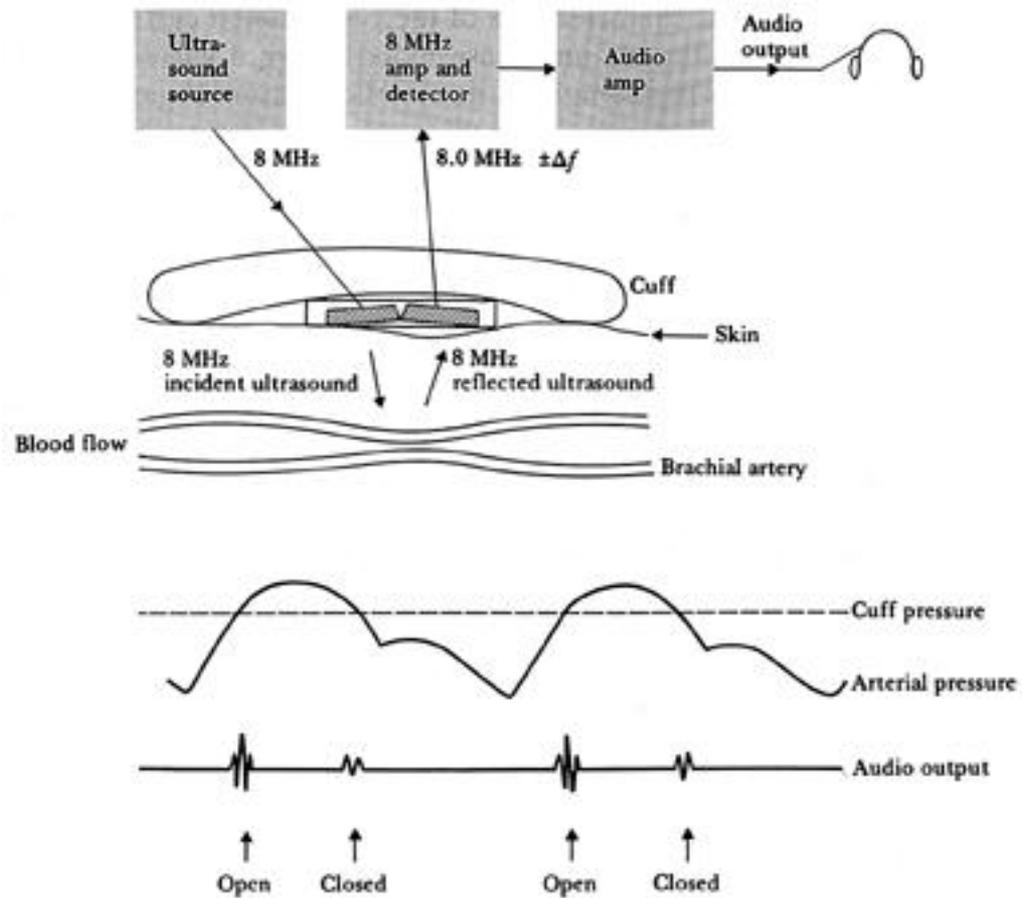
Рисунок 123. Оптическая схема девяти канального анализатора FP-901.

1 – галогеновая лампа; 2 – obtюратор (прерыватель света – вращающийся диск с отверстиями); 3 – поворотное зеркало; 4 – турель с узкополосными интерференционными фильтрами; 5 – оптоволоконный разветвитель света на 9 каналов; 6 – 9 коллимирующих линз; 7 – 9-ти луночный планшет; 8 – кремниевые фотодиоды.

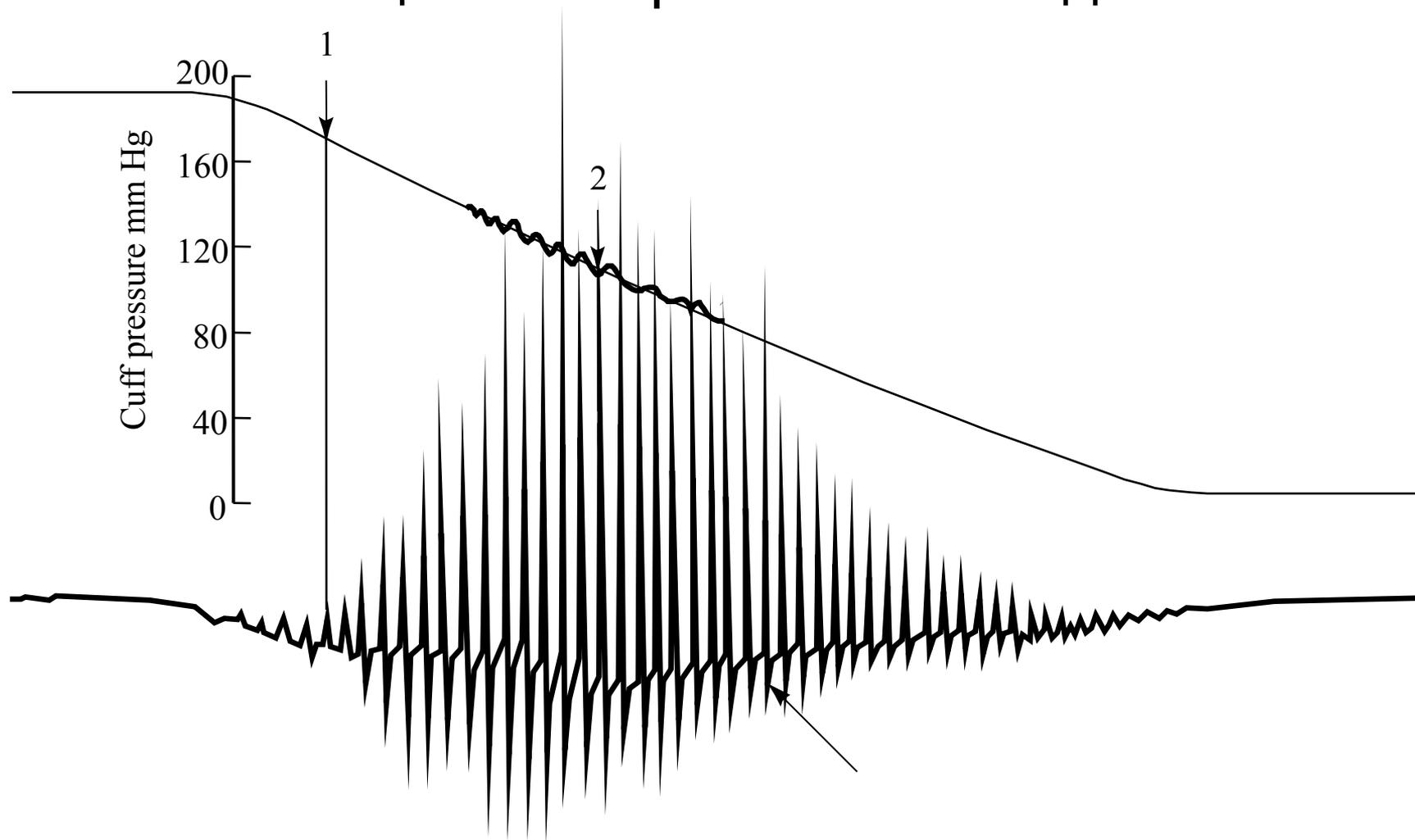


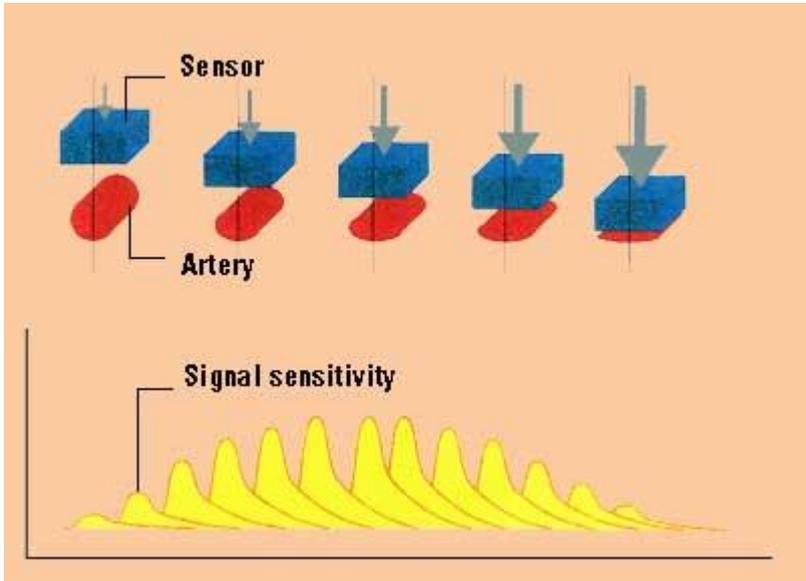
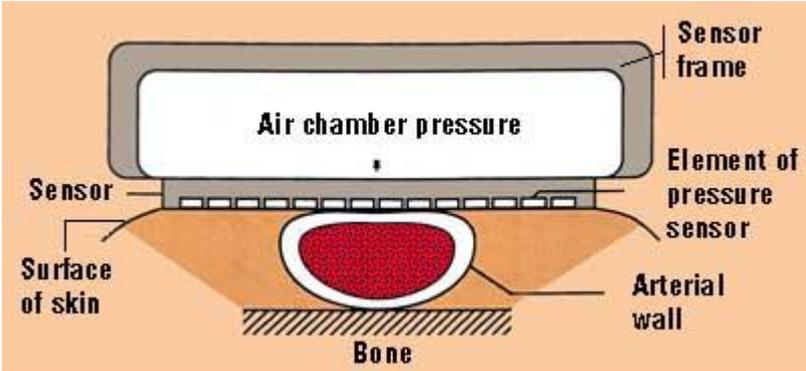
Измерение давления крови



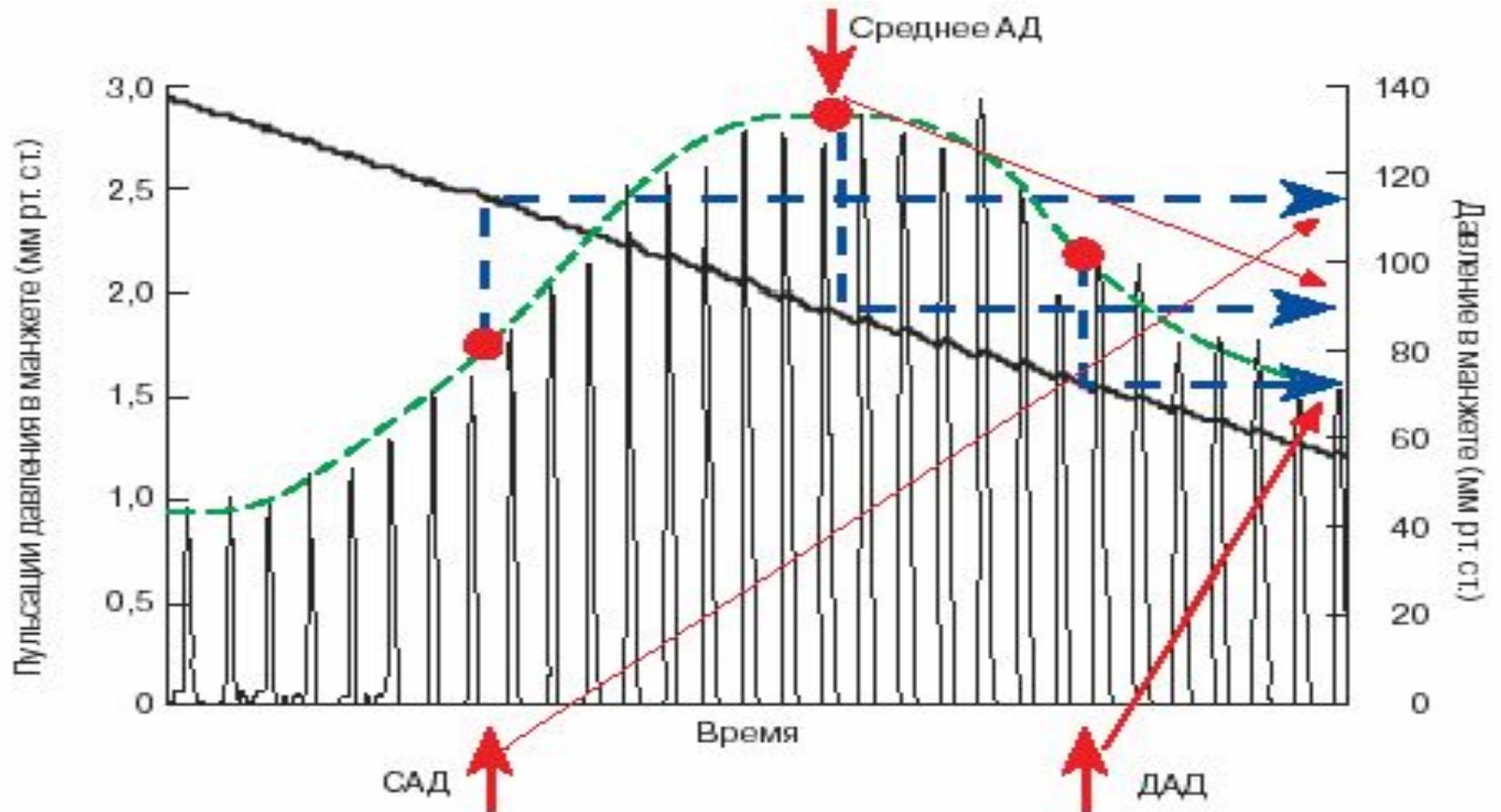


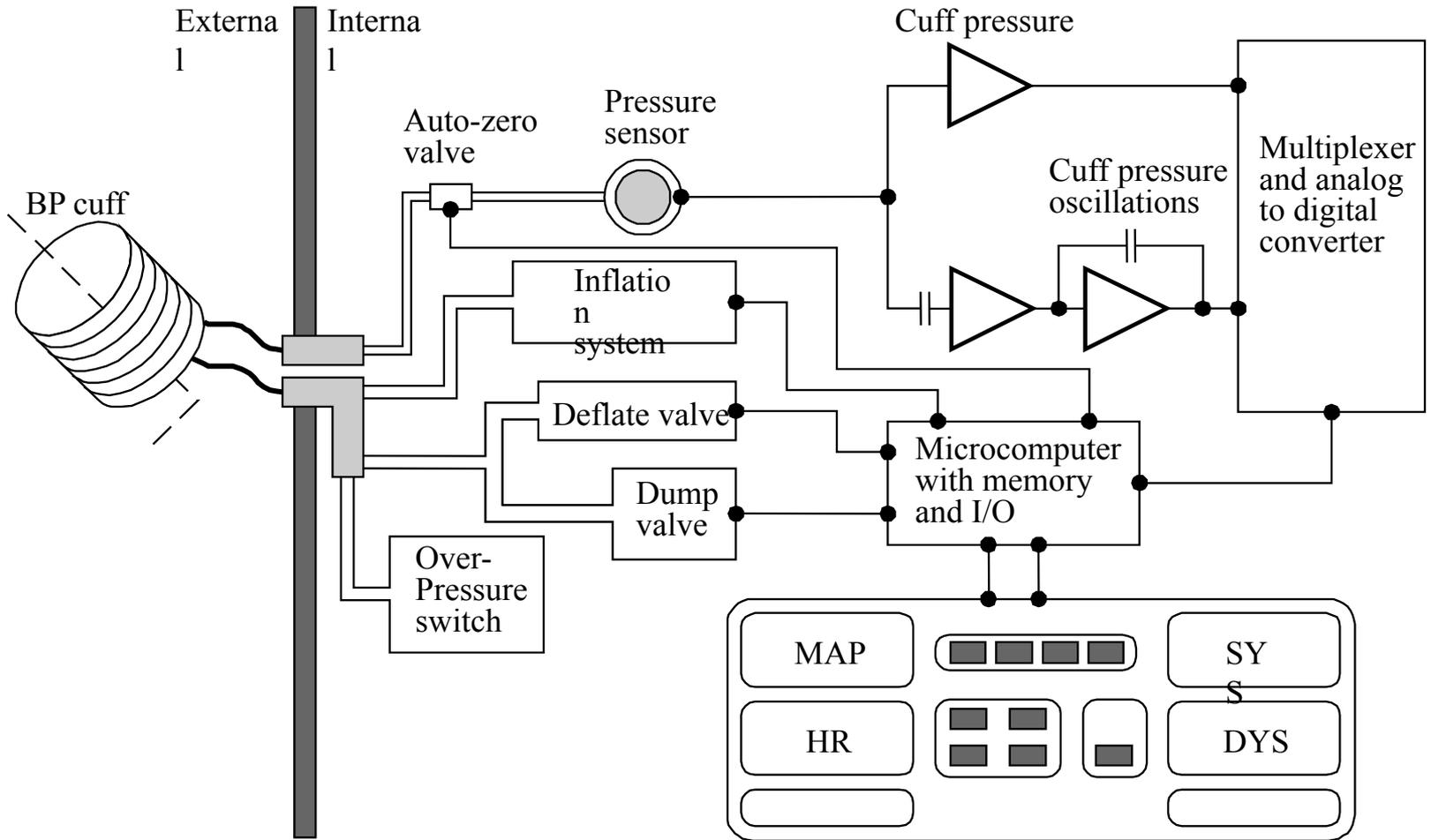
Осциллометрический метод

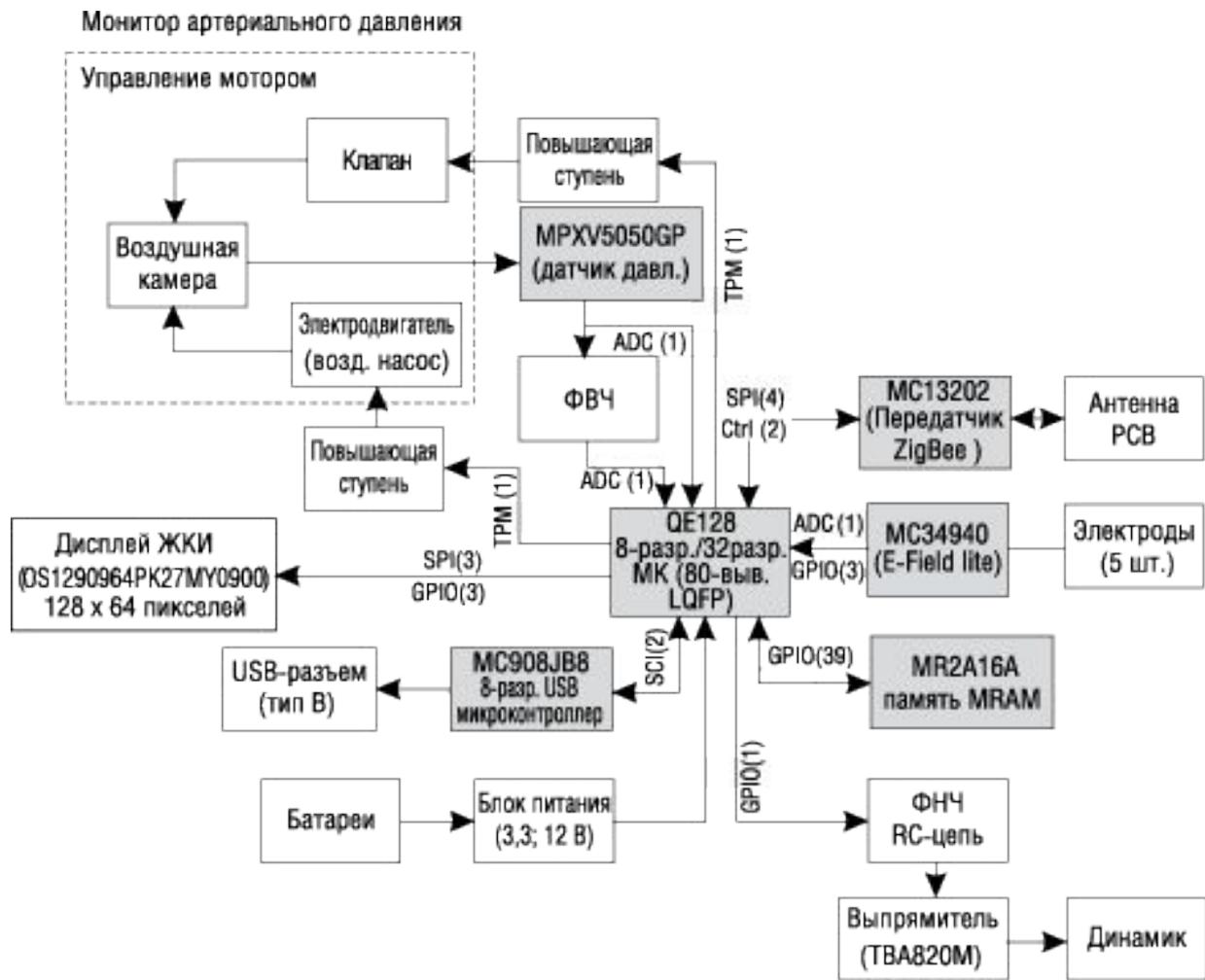




Анализ осциллограммы

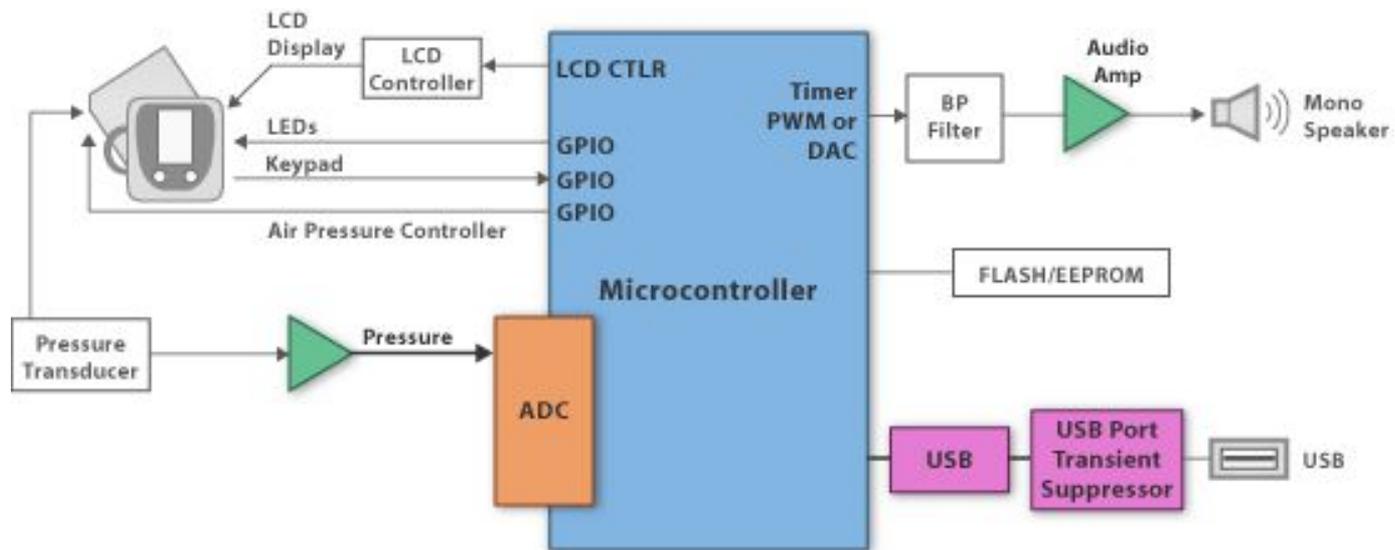




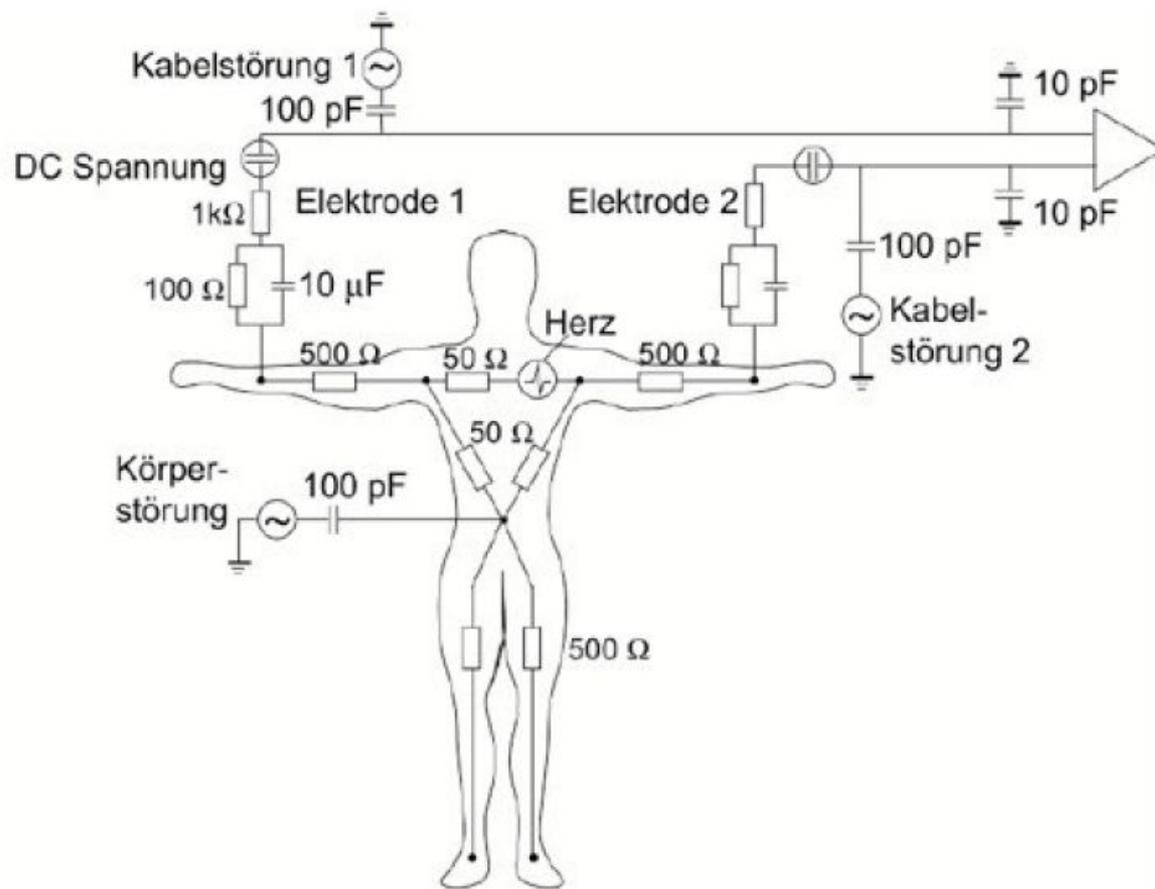


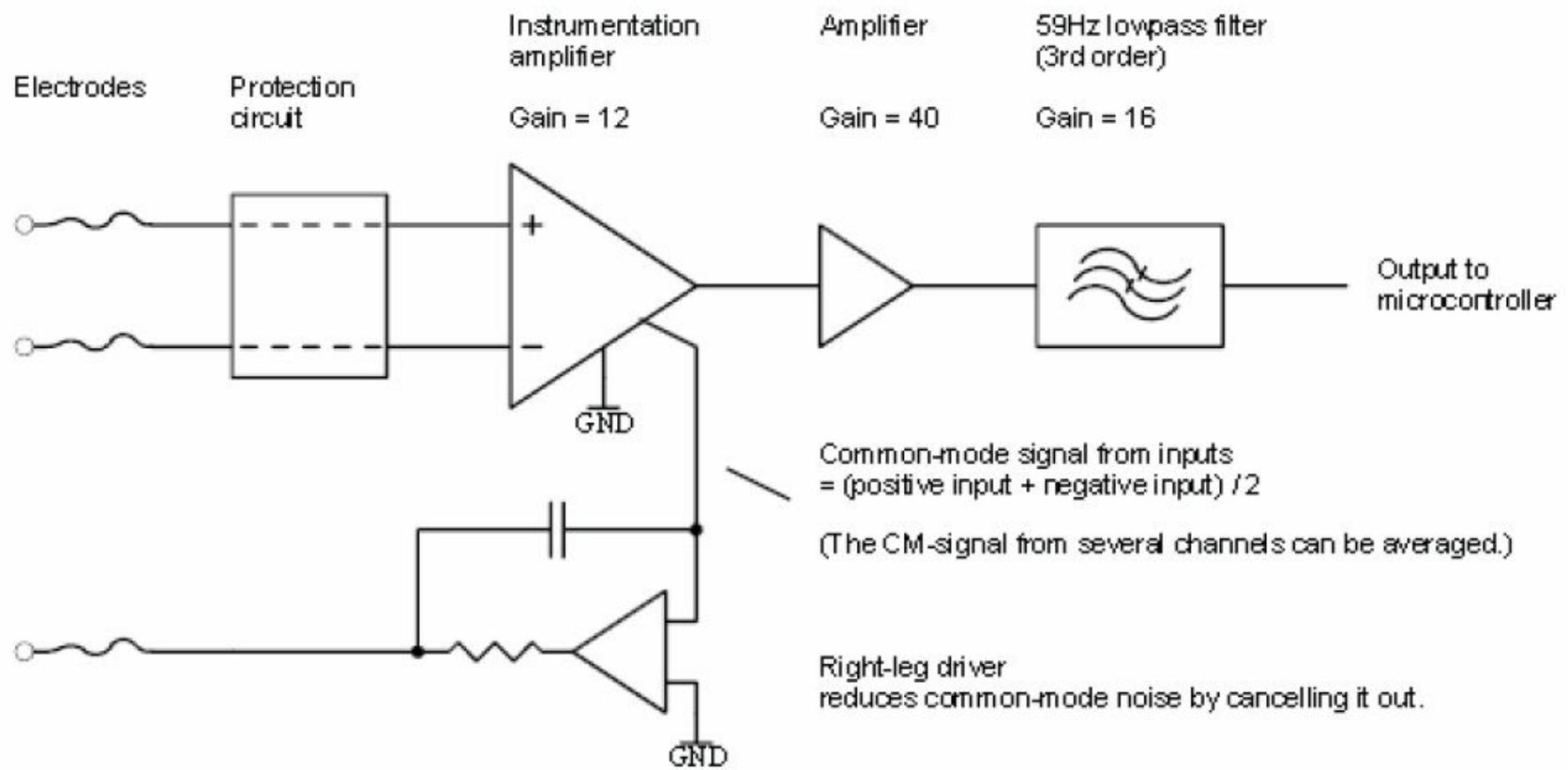
•

• Рис. 1. Блок-схема монитора артериального давления (Серым цветом выделены модули, построенные на компонентах Freescale Semiconductor)

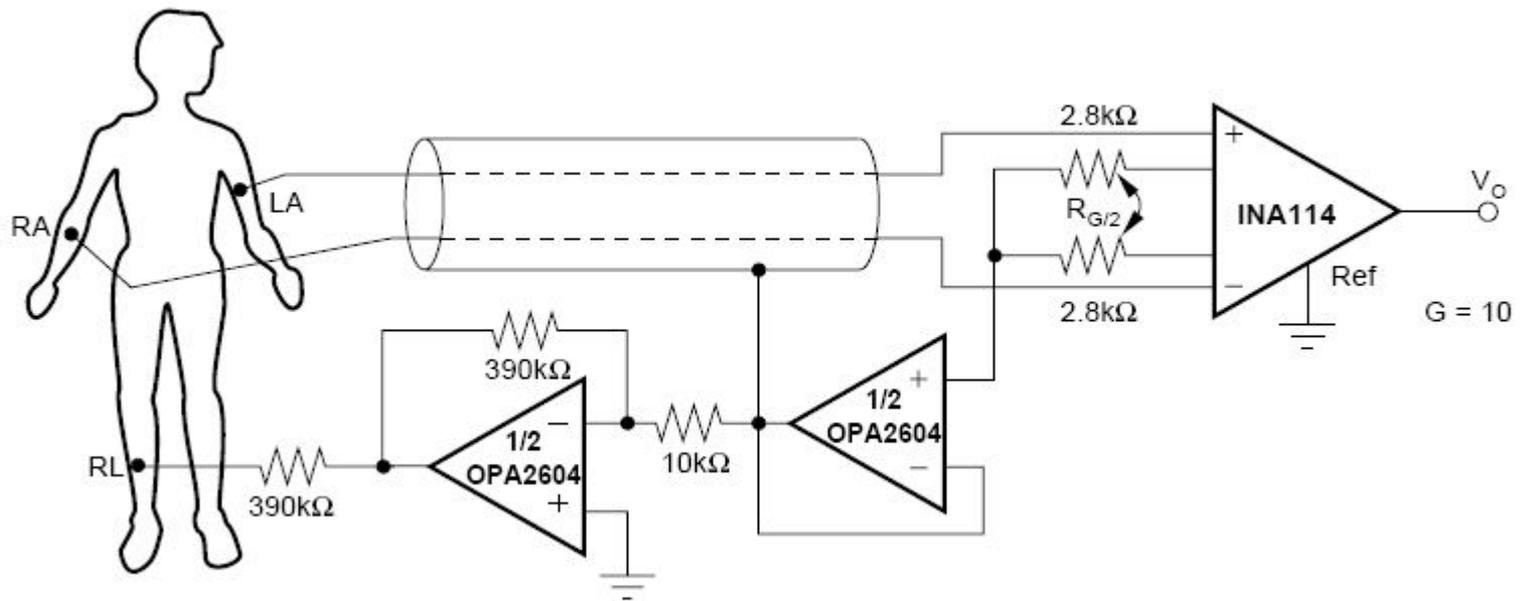


Product Availability and Design Disclaimer - The system block diagram depicted above and the devices recommended are designed in this manner as a reference. Please contact your local TI sales office or distributor for system design specifics and product availability.





SOURCE 
FEED BACK 
NEGATIVE FEEDBACK



Plethysmography (3)

Electric-Impedance Method

Different tissues in a body have a different resistivity. Blood is one of the best conductors in a body ($\rho = 1,5 \Omega\text{m}$)

A constant current is applied via skin electrodes

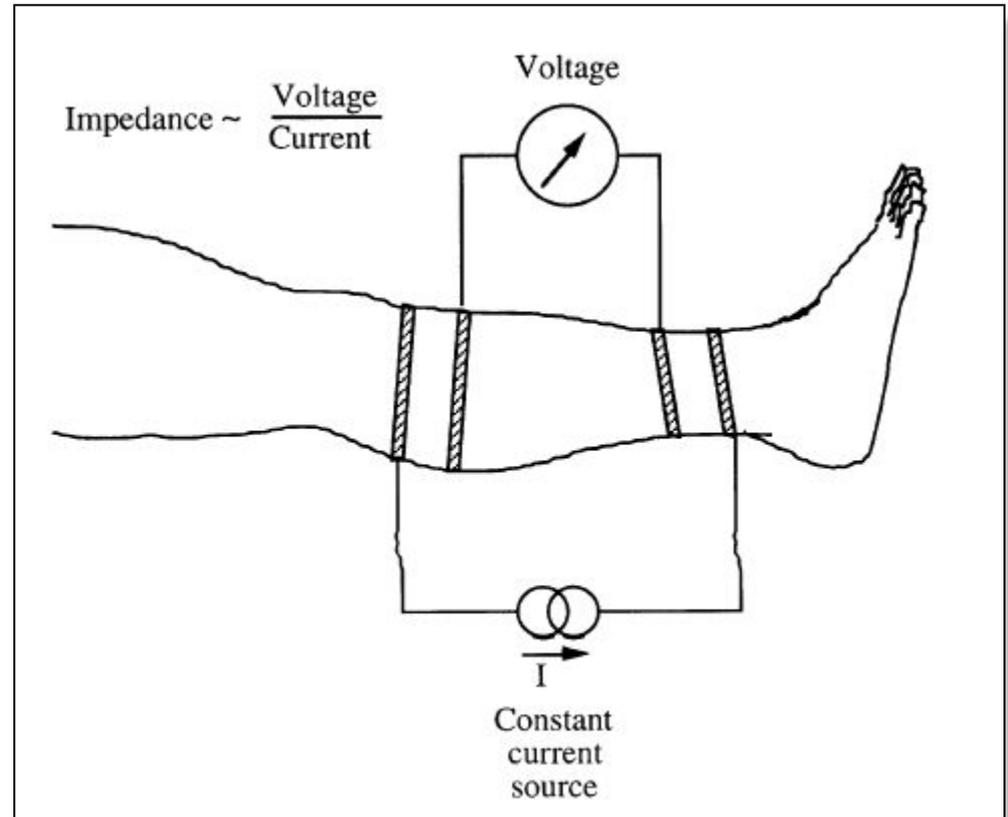
$$I = 0,5 - 4 \text{ mA rms (SNR)}$$
$$f = 50 - 100 \text{ kHz}$$

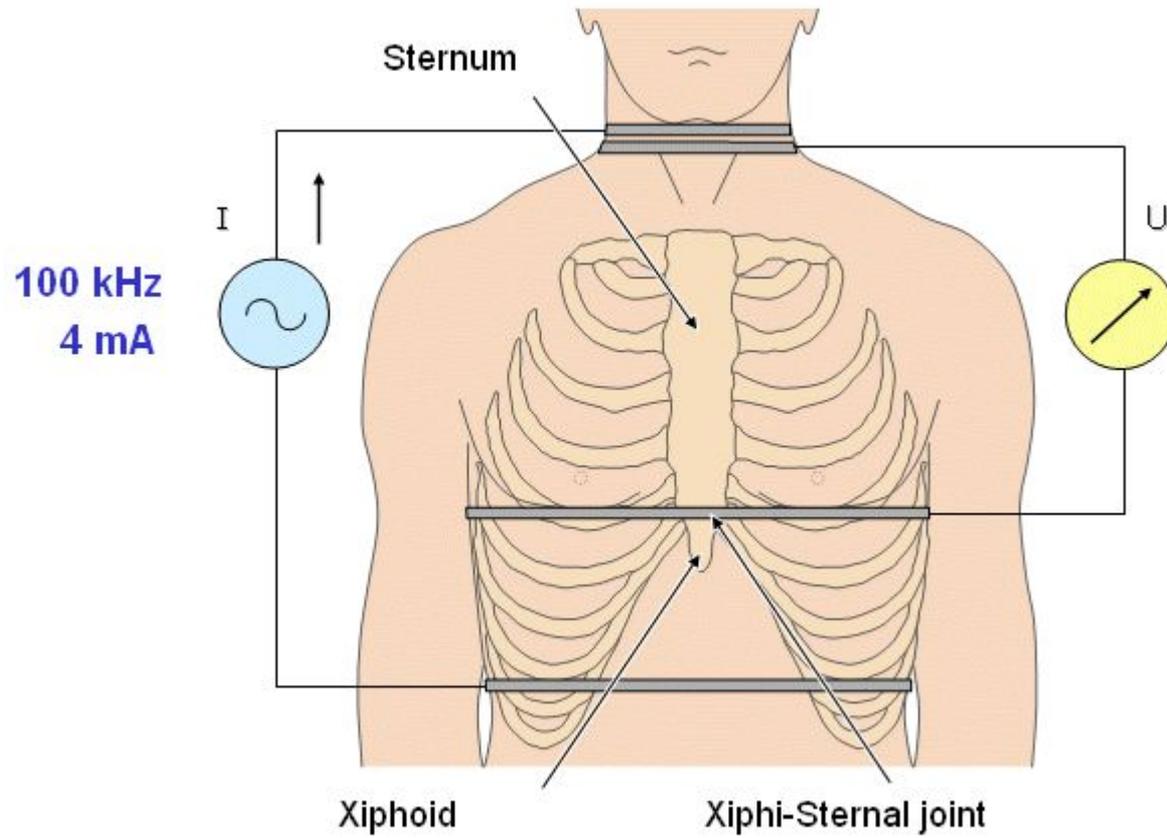
($Z_{\text{skin-electrode}} + \text{shock}$)

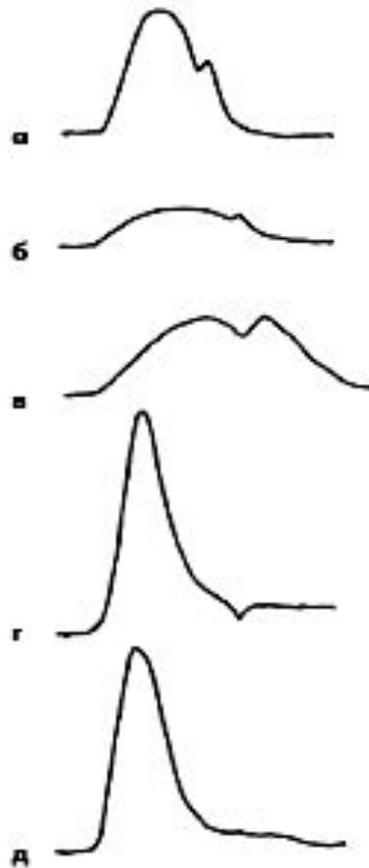
The change in the impedance is measured

$$\Delta Vol = \rho \frac{L^2}{Z_0^2} \Delta Z$$

The accuracy is often poor or unknown







- Схематическое изображение различных типов реографической кривой: а — норма, б — уменьшение кровенаполнения органа (гиповолемический тип кривой), в — повышение тонуса сосудов, г — понижение тонуса сосудов, д — увеличение кровенаполнения органа (гиперволемиа).

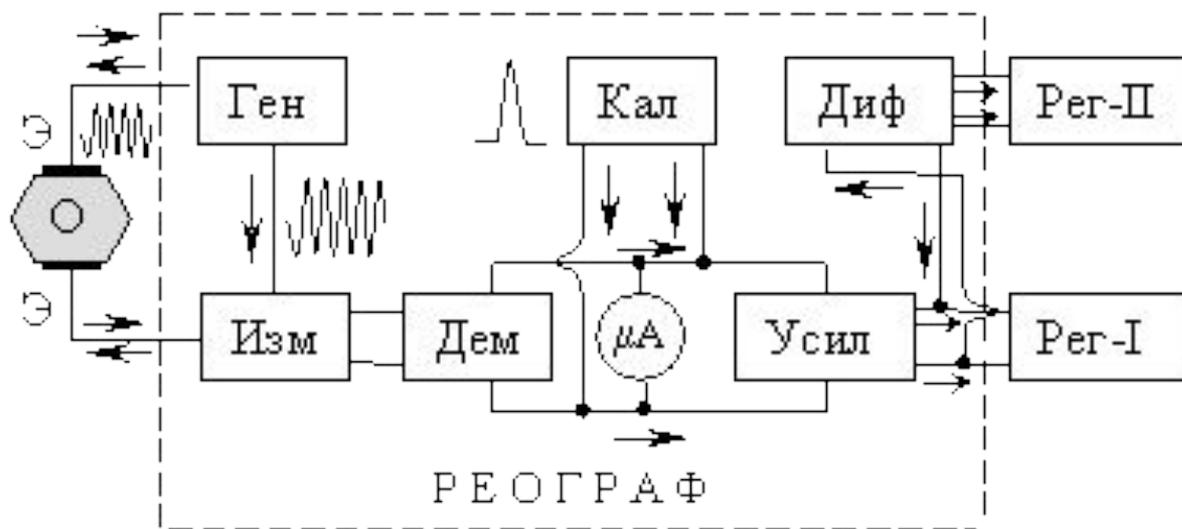


Рис. 5

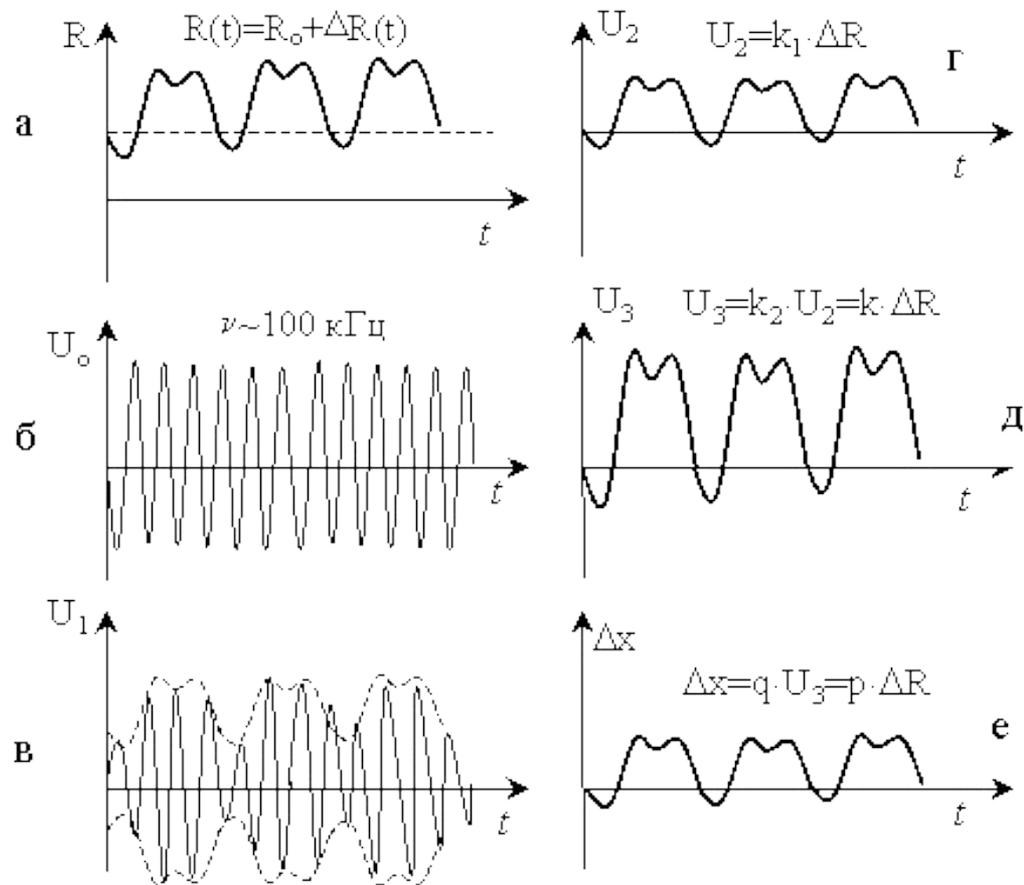
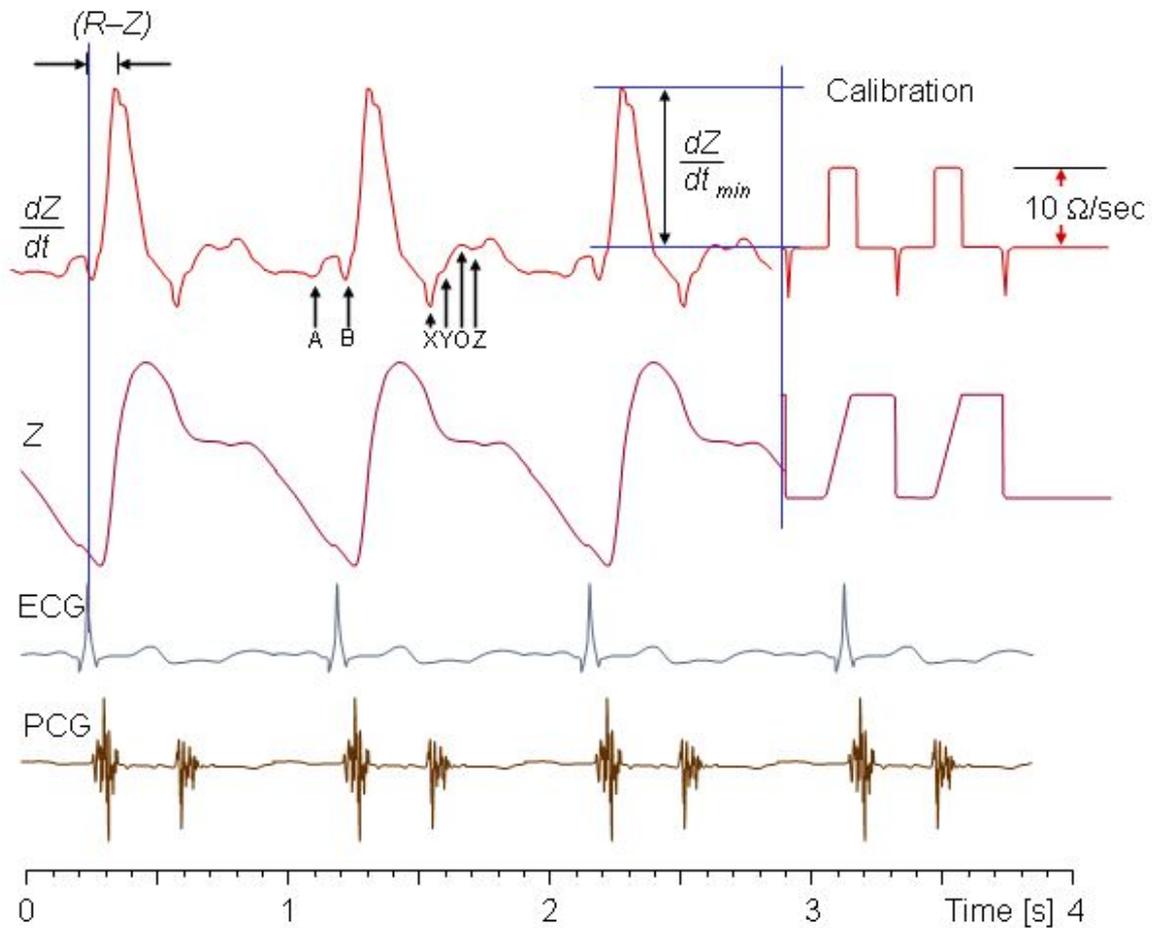
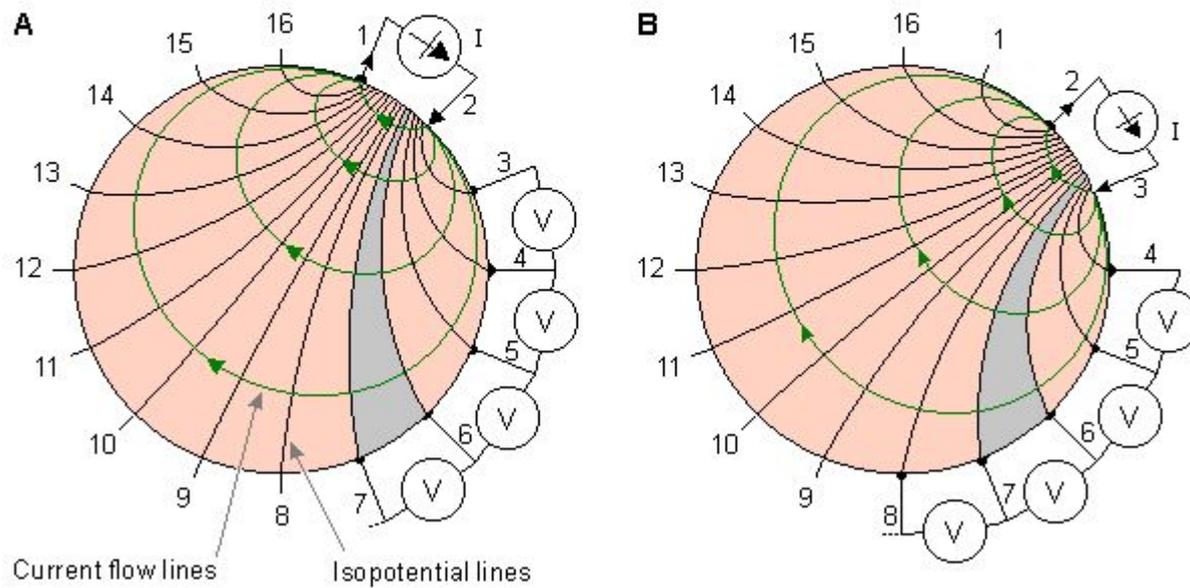


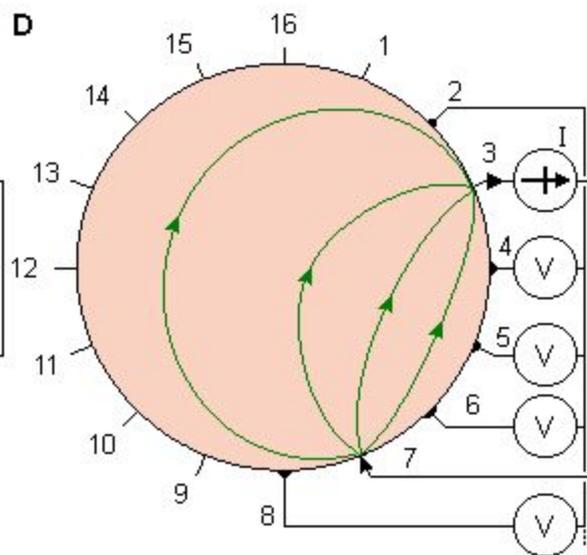
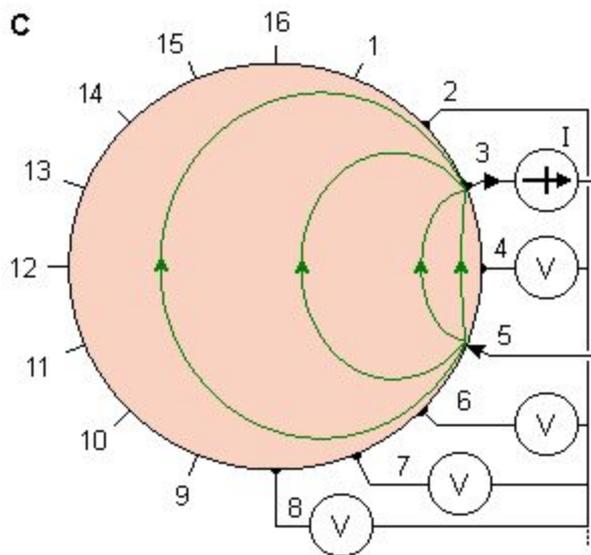
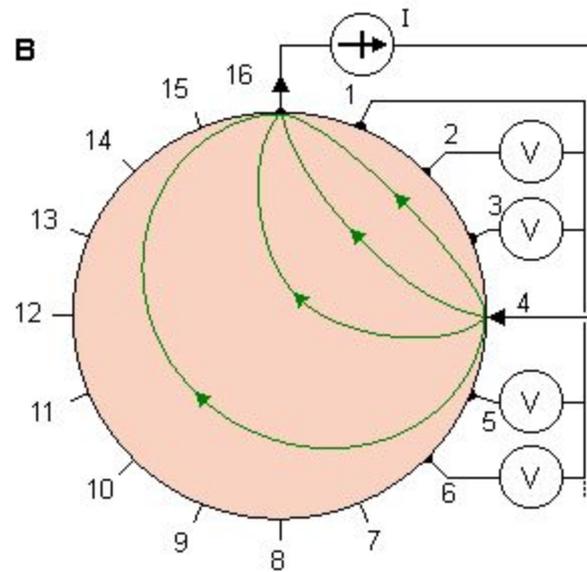
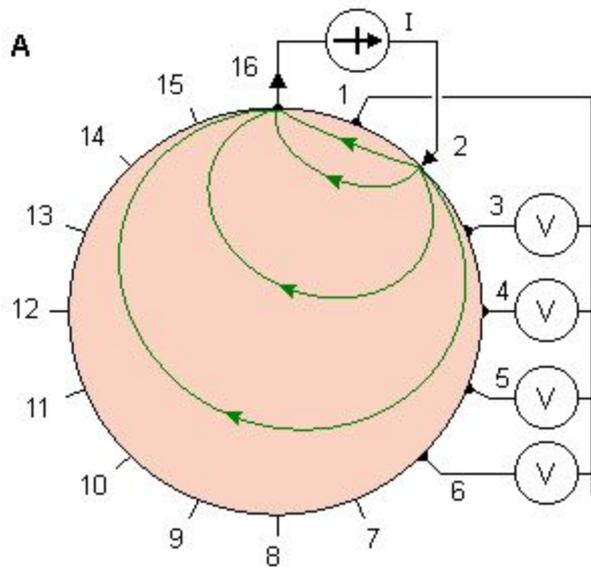
Рис. 7



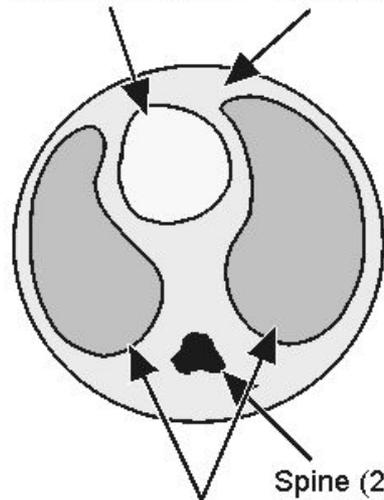
Thorax impedance curve

Impedance Tomography





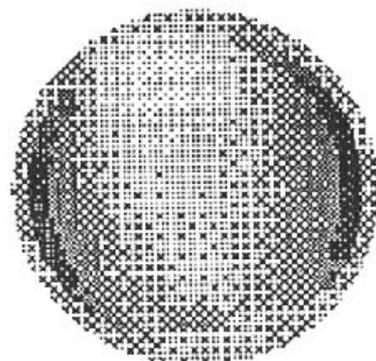
Heart ($150 \Omega\text{-cm}$) Background ($300 \Omega\text{-cm}$)



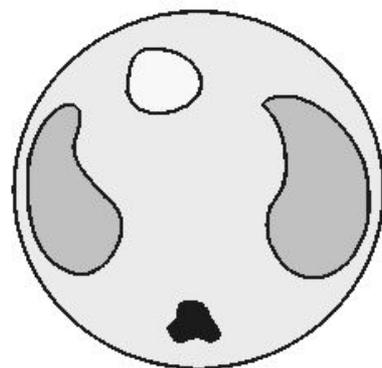
Lung ($1200 \Omega\text{-cm}$)

Spine ($2000 \Omega\text{-cm}$)

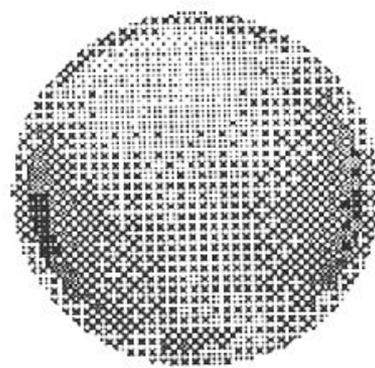
(A)



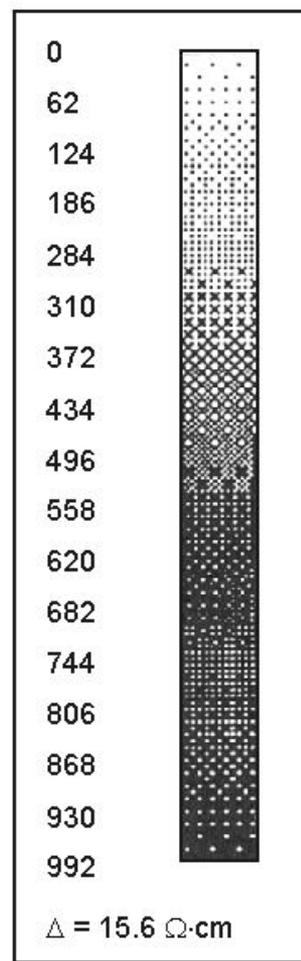
(B)



(C)



(D)



(E)