4. Рясный Ю. В., Чашков М. С., Борисов А. В. Анализ методов измерений S-параметров транзисторов СВЧ // Измерительная техника. 2012. № 10. С. 61—63; Ryasnyi Yu. V., Chashkov M. S., Borisov A. V. Analysis of a method of measuring the S-parameters of microwave transistors // Measurement Techniques. 2012. V. 55. N 10. P. 1209—1213.

5. Designing and Calibrating RF Fixtures for Surface-Mount Devices [Электрон. ресурс]. <http://cp.literature.agilent.com/litweb/pdf/5989-3247EN.pdf> (дата обращения 10.05.2012 г.).

6. Impedance Measurements. Evaluating EMC Components with DC Bias Superimposed [Электрон. ресурс]. <http://cp.literature.agilent.com/litweb/pdf/5989-9887EN.pdf> (дата обращения 10.05.2012 г.).

7. In-Fixture Measurements Using Vector Network Analyzers. Application Note Agilent AN 1287-9 [Электрон. ресурс]. <http://cp.literature.agilent.com/litweb/pdf/5968-5329E.pdf> (дата обращения 10.05.2012 г.).

Дата принятия 22.08.2013 г.

МЕДИЦИНСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ

616-074

Метрологическое обеспечение биохимических автоматических анализаторов

Н. П. МУРАВСКАЯ, Н. Ю. ГРЯЗСКИХ

Всероссийский научно-исследовательский институт оптико-физических измерений, Москва, Россия, e-mail: griazskih@vniiofi.ru

Рассмотрены проблемы метрологического обеспечения биохимических анализаторов, предназначенных для измерений оптической плотности жидкой биологической пробы и последующего пересчета полученного значения в необходимый параметр. Исследованы возможности использования растворов нигрозина для проверки метрологических характеристик биохимических анализаторов. Предложено применение разработанного комплекта мер оптической плотности в качестве средств поверки биохимических анализаторов.

Ключевые слова: метрологическое обеспечение, биохимические анализаторы, меры оптической плотности.

The problems of metrological assurance of automatic biochemical analyzers for measurement of optical density of the liquid biological sample and subsequent conversion of the obtained value to required parameter are considered. The possibilities of using the Nigrosine solutions for verification of the metrological characteristics of biochemical analyzers have been studied. The application of the designed optical density measures as the means of the above measuring instruments verification is suggested.

Key words: metrological assurance, biochemical analyzers, measures of optical density.

Согласно [1] сфера государственного регулирования обеспечения единства измерений распространяется и на измерения в области здравоохранения. Обязательные требования по проведению измерений устанавливают в целях обеспечения потребностей граждан, общества и государства в получении объективных, достоверных и сопоставимых результатов, используемых для защиты жизни и здоровья граждан, охраны окружающей среды, обеспечения обороны и безопасности государства, в том числе экономической.

Клиническая лабораторная диагностика входит в область здравоохранения и является составной частью медицинской диагностики, включающей совокупность исследований *in vitro* биоматериала человеческого организма, основанных на гематологических, общеклинических, паразитарных, биохимических, иммунологических, серологических, молекуляр-

но-биологических, бактериологических, генетических, цитологических, токсикологических, вирусологических методах. Результаты этих исследований сопоставляют с клиническими данными и формулируют лабораторное заключение. Основная задача и условие развития лабораторной диагностики — получение объективных данных о состоянии здоровья отдельно взятого пациента из выделенной группы или населения региона в целом. Получение достоверной информации может быть реализовано на основе современных лабораторных технологий [2, 3].

Одной из областей клинической лабораторной диагностики является клиническая биохимия, использующая методы аналитической химии для исследования биологических объектов. Диагностику заболеваний или патологических состояний организма проводят путем количественного и ка-

чественного определения биохимических показателей в биологических жидкостях организма, изучая характер изменений этих показателей при патологии и ряде физиологических состояний. В настоящее время роль клинической химии (биохимии) в диагностическом процессе значительно возросла, что связано с двумя основными факторами:

открытием большого числа специфических химических соединений, появляющихся в биосредах организма при различных патологиях. Такие соединения часто называют маркерами. Примерами могут служить онкомаркеры, патологические иммуноглобулины, маркеры врожденных ошибок метаболизма и др.;

развитием методов аналитической химии и прогрессом в области техники, который привел к созданию высокочувствительных биохимических и иммунохимических анализаторов, в том числе автоматических, выполняющих широкий спектр анализов с высокой точностью и производительностью и избавляющих исследователей от рутинных операций.

В клинических и химических исследованиях широко применяют биохимические анализаторы, при помощи которых можно определить концентрацию электролитов, субстратов, ферментов, липидов, специфических белков, гормонов, лекарственных препаратов и наркотических веществ в сыворотке, плазме, спинномозговой жидкости, моче.

Различают полностью автоматические и полуавтоматические биохимические анализаторы. Автоматические биохимические анализаторы выполняют автоматически большинство операций: отбор материала (исследуемых образцов) и необходимых реагентов, их смешивание и нагрев, анализ, обработку и печать полученных данных, промывание оборудования после завершения всех процедур. Полуавтоматические биохимические анализаторы требуют подготовки анализируемых реакционных смесей вручную, поэтому их использование больше подходит для небольших лабораторий с малым количеством исследуемых материалов.

Принцип действия биохимических анализаторов основан на измерении оптической плотности жидкой биологической пробы и последующем ее пересчете при помощи встроенных программ в необходимый параметр, например концентрацию [4].

Согласно закону Ламберта—Бера концентрация вещества прямо пропорциональна логарифму отношения прошедшего через раствор света [2, 3]:

$$\log(I/I_0) = -k_\lambda \cdot d \cdot c = E, \quad (1)$$

где I/I_0 — доля падающего света, пропущенного исследуемым раствором, I_0, I — количество света, падающего на раствор и прошедшего через него; c — концентрация вещества в растворе; k_λ — коэффициент оптической плотности, зависящий от длины волны, является справочной величиной; d — толщина слоя раствора (длина оптического пути); E — экстинкция или оптическая плотность раствора.

Основными узлами биохимических анализаторов являются: источник излучения; кюветный отсек; приемник излучения; встроенный микропроцессор, служащий для управления анализатором, ввода и вывода данных, расчетов и обработки результатов измерений [4, 5].

Проверку диапазона измерений оптической плотности и определения случайной и систематической погрешностей этих измерений для полуавтоматических биохимических

анализаторов можно выполнять с использованием стандартных мер оптической плотности. Однако для поверки автоматических биохимических анализаторов указанные выше меры во многих случаях не подходят из-за конструкции приборов [6, 7], поэтому приходится применять специально приготовленные растворы (жидкие меры). Такие растворы в определенной области спектра имеют постоянные спектральные характеристики: бихромат калия $K_2Cr_2O_7$ (спектральный диапазон 290—410 нм), сульфат никеля $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ (334—454 нм), сульфат никеля аммония $CoSO_4 [NH_4]_2SO_4 \cdot 6H_2O$ (453—573 нм), сульфат меди $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (400; 600; 650; 700 нм) [5, 8].

В табл. 1 представлены анализы, определяемые большинством современных биохимических анализаторов.

Таблица 1

Длины волн регистрации параметров биопроб при проведении биохимического анализа

Аналит	Длина волны, нм
Ферменты	
Аланинаминотрансфераза	334; 340; 365
Альфа-Амилаза	405
Аспартатаминотрансфераза	334; 340; 365
Гамма-Глутамилтрансфераза	405
Креатинкиназа	334; 340; 365
Лактатдегидрогеназа	334; 340; 365
Панкреатическая амилаза	405
Щелочная фосфатаза	405—430
Субстраты	
Альбумин	540—580
Билирубин	540—580
Гемоглобин	540—546
Глюкоза	500; 546
Гомоцистеин	340
Креатинин	505—515
ЛПВП-Холестерин	600; 700
ЛПНП-Холестерин	600; 700
Мочевая кислота	550
Мочевина	334; 340; 365
Общий белок	520—560
Триглицериды	500; 546
Холестерин	500; 546
Электролиты	
Железо	583—600
Кальций	600; 650
Магний	500—550
Фосфор	340
Хлориды	480

Таблица 2

Концентрация нигрозина в аттестованных смесях и их метрологические характеристики

Номер аттестованной смеси	Соотношение	Объем, мл		Концентрация полученного раствора, г/дм ³	Абсолютная погрешность аттестованного значения растворов нигрозина, г/дм ³
		исходного раствора	используемого дозатора		
1	1:2000	0,025	0,01—0,1	0,00167	0,000037
2	1:1000	0,05	0,01—0,1	0,00334	0,000063
3	1:500	0,1	0,01—0,1	0,00668	0,000120
4	1:100	0,5	0,1—1,0	0,0334	0,000571
5	1:50	1,0	0,1—1,0	0,0668	0,001142
6	1:40	1,25	1,0—10,0	0,0835	0,001476
7	1:25	2,0	1,0—10,0	0,1336	0,002672
8	1:20	2,5	1,0—10,0	0,167	0,003663

Из табл. 1 следует, что современные биохимические анализаторы имеют широкий спектр рабочих длин волн. Применение жидких мер для проверки диапазона и определения случайной и систематической погрешностей измерений оптической плотности биохимических анализаторов — неудобный и трудоемкий процесс в связи с тем, что необходимо использовать большое количество реагентов для проверки точности и воспроизводимости анализаторов на всех встроенных интерференционных светофильтрах. Таким образом, возникла необходимость создания более простой меры оптической плотности для испытаний по утверждению типа автоматических биохимических анализаторов, а также их дальнейшей поверке. В качестве такой меры ВНИИОФИ было предложено применение растворов нигрозина [9], имитирующих нейтральные светофильтры, которые одинаково снижают количество пропускаемого света по всему спектру.

Нигрозин представляет собой краситель черного цвета и выпускается в трех видах: спирто-, водо- и жирорастворимый. В результате испытаний на стабильность было выявлено, что наиболее устойчивым раствором является нигрозин водорастворимый [10]. Для приготовления аттестованных смесей нигрозина разной концентрации и оптической плотности исходный раствор развели в следующих соотношениях: 1:2000; 1:1000; 1:500; 1:100; 1:50; 1:40; 1:25; 1:20. Для этого в колбу объемом 50 см³ при помощи соответствующего дозатора поместили исходный раствор и разбавили до необходимой отметки дистиллированной водой (табл. 2).

Рассчитанные значения метрологических характеристик приготовленных смесей нигрозина также приведены в табл. 2.

Приготовленные аттестованные смеси были опробованы на автоматических биохимических анализаторах разных изготовителей, характеристики которых представлены в табл. 3.

Полученные значения относительного среднего квадратического отклонения (СКО) измерения оптической плотности аттестованных смесей нигрозина на испытываемых анализаторах представлены в табл. 4.

На основании проведенных исследований разработан и внесен в Государственный реестр средств измерений Комплект мер оптической плотности КМОП-Н № 46997-11. Комплект состоит из пяти мер оптической плотности, которые

представляют помещенный в герметичные ампулы водный раствор нигрозина различной концентрации, оптимальной для проведения измерений на автоматических биохимических анализаторах.

Таблица 3

Спектральные характеристики биохимических анализаторов

Анализатор	Рабочие длины волн, нм	Диапазон измерения оптической плотности, Б
Chemray 240 (КНР)	340; 405; 510; 546; 578; 630; 670	0,0001—3,5
Vegasys (Италия)	340; 405; 492; 510; 546; 578; 620	0,001—2,5
EOS-Bravo Forte (Италия)	340; 405; 492; 505; 546; 578; 630; 700	0,001—2,5
EOS-Bravo (Италия)	340; 405; 492; 505; 546; 578; 630; 700	0,001—2,5
BioChem FC-200 (США)	340; 405; 450; 510; 546; 578; 630; 670	0,001—3,0
BioChem FC-360 (США)	340; 380; 405; 450; 505; 545; 578; 600; 650; 700	0,001—3,0
Metrolab 2300 (Аргентина)	340; 380; 405; 450; 505; 600; 650; 700	0,01—3,0
ChemWell 2900 (США)	340; 405; 505; 545; 580; 630	0,2—3,0
Sapphire 350 (Ирландия)	340; 380; 405; 450; 505; 546; 578; 600; 650; 700	0,1—3,5

Метрологические и технические характеристики КМОП-Н [7, 11]

Спектральный диапазон	340—800 нм
Диапазон измерения оптической плотности	0—4 Б
Оптическая плотность мер* в кювете 10 мм при длине волны 546 нм, Б:	
№ 1	0,05 ± 0,04
№ 2	0,15 ± 0,05
№ 3	1,75 ± 0,25
№ 4	3,0 ± 0,5
№ 5	3,5 ± 0,5
Допускаемая абсолютная погрешность измерений оптической плотности мер, Б:	
№ 1, 2	± 0,007
№ 3, 4, 5	± 0,07
Габаритные размеры:	
диаметр меры	15 мм
объем раствора нигрозина в мере	(5,0 ± 0,5) см ³
Масса одной меры	не более 30 г
Условия эксплуатации:	
температура окружающей среды	15—25 °С
относительная влажность воздуха	не более 80 %
атмосферное давление	94—106 кПа

* Истинные значения оптической плотности мер определяются в процессе поверки комплекта для длин волн, оговоренных потребителем, в пределах установленного спектрального диапазона.

Среднее квадратическое отклонение результата измерения оптической плотности биохимических анализаторов

Анализатор	СКО результата измерения оптической плотности растворов нигрозина, %							
	1:2000	1:1000	1:500	1:100	1:50	1:40	1:25	1:20
Chemray 240	*	2,85	2,25	0,63	0,69	0,53	*	*
Vegasys	2,21	2,05	0,86	1,08	1,11	1,13	*	*
EOS-Bravo Forte	2,32	0,6	0,14	0,08	0,05	0,03	0,03	*
EOS-Bravo	0,38	0,2	0,07	0,06	0,08	0,06	0,13	*
BioChem FC-200	*	0,41	0,38	0,05	0,07	*	*	*
BioChem FC-360	*	0,13	0,18	0,01	0,03	*	*	*
Metrolab 2300	*	1,0	0,89	0,24	0,29	0,28	*	*
ChemWell 2900	*	1,37	1,25	0,11	0,44	0,69	*	*
Sapphire 350	1,06	0,96	0,89	0,37	0,33	0,33	0,29	0,35

* Полученные значения оптической плотности выходят за границы диапазона измерения оптической плотности испытуемого анализатора.

Проверка диапазона измерения оптической плотности, случайной погрешности измерения, а также линейности автоматических биохимических анализаторов при помощи мер из КМОП-Н возможна во всем диапазоне длин волн, применяемых в методиках медицинского лабораторного исследования.

Таким образом, с применением КМОП-Н можно поверять автоматические биохимические анализаторы, конструкция которых не позволяет проводить поверку при помощи стандартных мер оптической плотности. Также использование КМОП-Н при поверке дает возможность учитывать погрешность дозирующих устройств анализатора, что позволяет оценить с большей точностью измерения при проведении биохимического анализа. Применение КМОП-Н делает поверку экономически выгодной и менее трудоемкой.

Л и т е р а т у р а

1. **Федеральный закон** РФ от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений».
2. **Меньшиков В. В.** Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. М.: Медицина, 1987.
3. **Камышников В. С.** Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник. Т. 1. Минск: Интерпрессервис, 2002.
4. **Дылдин Д. Р., Шибанов А. Н.** Методы измерения в клинической биохимии [Электрон. версия]. <http://unimedao.ru/articles/6826/9672/item/144> (дата обращения 28.05.2013 г.).

5. **Меньшиков В. В.** Клинико-лабораторные аналитические технологии и оборудование: Учеб. пособие. М.: Издат. центр «Академия», 2007.

6. **Муравская Н. П. и др.** Проблемы метрологического обеспечения средств измерений медицинского назначения в области лабораторной медицины // Проблемы метрологического обеспечения в здравоохранении и производстве медицинской техники: Тез. докл. X Всерос. науч.-техн. семинара. М.: ВНИИОФИ, 2009.

7. **Муравская Н. П., Грязских Н. Ю.** Метрологическое обеспечение анализаторов биохимических автоматических // Проблемы метрологического обеспечения в здравоохранении и производстве медицинской техники: Тез. докл. 1-й Всерос. науч.-техн. конф. М.: ВНИИОФИ, 2011.

8. **Royden N.** Rand Practical Spectrophotometric Standards // Clin. Chem. 1969. V. 15. N 9. P. 839—863.

9. **Bhanawat S. C., Ramarao V. V., Vishwanath U.** Development of fast and accurate method for testing of nigrosine // Proc. XI Int. Seminar on Mineral Processing Technology (MPT-2010). P. 300—307.

10. **ГОСТ 4014—75.** Красители органические. Нигрозин водорастворимый. Технические условия.

11. **Муравская Н. П., Грязских Н. Ю.** Применение мер оптической плотности КМОП-Н в целях метрологического обеспечения приборов в лабораторной диагностике // Фотометрия и ее метрологическое обеспечение: Тез. докл. 19-й науч.-техн. конф. М.: ВНИИОФИ, 2013.

Дата принятия 28.08.2013 г.