
**АКУСТИКА ЖИВЫХ СИСТЕМ.
БИОМЕДИЦИНСКАЯ АКУСТИКА**

УДК 539.2, 621.315.592

**АКУСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ БЕЗРЕАГЕНТНОЙ
МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

© 2025 г. А. В. Клемина^{а,*}, С. Н. Гурбатов^а, В. А. Клемин^б

^аФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

“Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского” (ННГУ), пр. Гагарина 23, Нижний Новгород, Россия

^бООО “фирма “БИОМ”, офис 90, ул. Костина 2, Нижний Новгород, Россия

*e-mail: annet17@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.08.2024 г.

После доработки 21.08.2024 г.

Принята к публикации 24.12.2024 г.

Обсуждаются акустические методы безреагентной медицинской лабораторной диагностики на основе прецизионных измерений скорости и затухания звука в биологических жидкостях. Определение этих параметров производится на разных частотах и при разных температурах жидкости с использованием высокочастотных резонаторов. Разработанные методы реализованы в измерительном акустическом анализаторе “БИОМ”. Прибор содержит два ультразвуковых резонатора сверхмалого (порядка 100 мкл) объема. Микропроцессорная система прибора осуществляет управление двумя ультратермостатами и поддерживает температуры в резонаторах в диапазоне (20–38)°С с точностью 0.005°С. Разработанное специальное программное обеспечение позволяет определять акустические характеристики (скорость и поглощение ультразвука) в сыворотке крови, цельной крови и плазме с относительной погрешностью 5×10^{-4} по скорости ультразвука и 10^{-2} по поглощению ультразвука. Такие характеристики позволяют определять общий белок, белковые фракции, параметры липидного спектра и аполипопротеинов А₁ и В, а также упругие свойства эритроцитов пациентов *in vitro*.

Ключевые слова: акустический резонатор, ультразвук, ультратермостат, биосреды

DOI: 10.31857/S0320791925010152, **EDN:** BPGOLD

ВВЕДЕНИЕ

В редакционной статье Акустического журнала, посвященной памяти Виталия Анатольевича Зверева [1], отмечается: “Первое свое научное исследование Виталий Анатольевич выполнил, реализуя идеи М.А. Исаковича о дисперсионных свойствах акустических волн в эмульсиях. Для этого он исследовал особенности распространения модулированных звуковых волн в диспергирующей среде и установил, что распространение таких волн может быть описано с помощью только одного физического параметра — фазового инварианта. Это исследование составило содержание кандидатской диссертации В.А. Зверева, защищенной в 1953 г., и первых его статей в “Докладах АН СССР” и “Акустическом журнале” [2]”. Эту работу В.А. Зверев выполнял, будучи первым аспирантом кафедры акустики, его научным руководителем был Г.С. Горелик. В этой же редакционной статье [1] отмечается

“Продуктивными оказались также разработки в области медицинской акустики. В частности, в соавторстве с медиками В.А. Зверевым был предложен новый диагностический метод в кардиологии — спектральная баллистокардиография, нашедший применение в космической медицине”.

Настоящая статья посвящена одному из медицинских приложений акустики — диагностике биологических жидкостей на основе дисперсионных свойств среды, которая получила развитие от ранних работ В.А. Зверева. Кратко опишем здесь суть метода. В биологической среде при малой концентрации компонентов скорость и затухание звука являются линейной функцией концентрации компонентов жидкости. Каждый из компонентов имеет различную зависимость скорости и затухания звука от частоты и температуры. Таким образом, производя серию измерений скорости и затухания на разных частотах и при разных температурах, мы

имеем принципиальную возможность найти концентрацию компонентов жидкости. В каком-то смысле данная схема близка к классической томографии, где по серии измерений затухания под разными углами удается восстановить свойства отдельных элементарных ячеек. В данной схеме можно сказать, что это томография в частотно-температурном пространстве. Скорость звука при этом определяется по резонансным частотам акустического резонатора. Именно термостабилизированный ультразвуковой резонатор сверхмалого объема является ключевым элементом данной схемы. Более детальное описание как самого прибора, так и методик будет приведено ниже. Верификация данной схемы проводится сравнением с результатами классических биохимических диагностик.

Лабораторная диагностика на данный момент является одной из самых высокотехнологичных и приоритетных отраслей медицины. Она позволяет на порядок снизить расходы на лечение за счет раннего выявления и своевременного лечения заболеваний. Одно из наиболее актуальных исследований, включенных Министерством здравоохранения в карту обязательной диспансеризации населения, — оценка риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы — проводится в основном на типовых полуавтоматических биохимических анализаторах. В настоящее время в медицинской лабораторной практике применяется большое количество методов определения биохимических, гематологических показателей крови и параметров свертывающей системы крови: фотометрические, турбодиметрические, электрофоретические и т.д. Все эти методы предполагают применение реактивов, а это значит, что исследования находятся в зависимости от наличия, стоимости и качества диагностических наборов. При этом каждая из известных методик исследования биохимических, гематологических показателей и параметров свертывающей системы крови предназначена для определения только одного из компонентов крови. Не существует единого метода определения сразу нескольких показателей в одном образце крови. Традиционный подход развивается и совершенствуется уже почти 100 лет. Обсуждаемый ниже метод является безреагентным и позволяет определить концентрацию сразу нескольких компонентов.

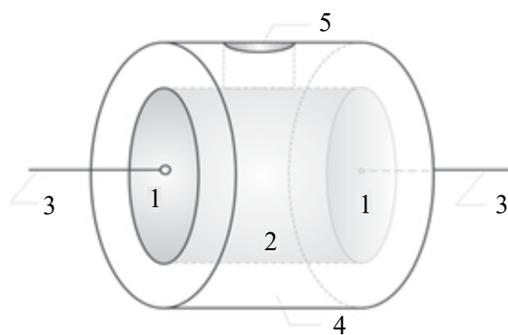
Структура статьи следующая. Поскольку ключевым элементом методики является сам анализатор, то вначале обсуждается акустический анализатор сред “БИОМ”. Далее во второй части кратко обсуждаются методики определения параметров биологических жидкостей: общего белка и белковых фракций, липидных компонентов сыворотки крови, аполипопротеина А₁ и аполипопротеина В, упругости эритроцитов в цельной крови.

1. АКУСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР “БИОМ”

Все традиционные лабораторные анализы выполняются с применением реактивов, которые позволяют измерять концентрацию тех или иных компонентов. Фирма “БИОМ” в начале 1990-х гг. проанализировала ситуацию в медицинской лабораторной диагностике и начала разработку альтернативной безреагентной диагностической системы “БИОМ”, используя новый подход для определения компонентов сыворотки крови и цельной крови пациентов. В результате проведенных исследований и разработок был сконструирован новый тип прибора для лабораторной диагностики — акустический анализатор “БИОМ”. В дальнейшем сам прибор был существенно модернизирован, и были разработаны новые методики, в том числе в рамках Мегагранта Министерства науки и высшего образования РФ (приглашенный ученый академик МГУ им. М.В. Ломоносова О.В. Руденко). Как некоторые элементы анализатора, так и методики определения параметров жидкости защищены патентами.

Работа прибора основана на том, что столбик исследуемой жидкости, находящейся в цилиндрической полости между двумя пьезопреобразователями (рис. 1, 2), является акустическим резонатором, собственные частоты которого линейно связаны со скоростью ультразвука в исследуемой среде [3]. Измерение скорости ультразвука в жидкости, заполняющей ячейку, сводится к определению частоты заданного резонансного пика по максимуму амплитудно-частотной характеристики. Одновременно измеряется ширина резонансного пика на уровне 0,707 от максимума амплитуды или крутизна фазово-частотной характеристики в точке перегиба, связанные с величиной поглощения ультразвука.

Акустический анализатор содержит два ультразвуковых резонатора (рис. 2) для исследований сыворотки крови и цельной крови человека. Каждый резонатор должен определять с высокой точностью акустические характеристики биологических сред с высокой концентрацией компонентов при минимально возможном объеме. В последние годы ультразвуковые резонаторы усовершенствованы в части формы акустических ячеек с выполнением специализированной обработки внутренней поверхности ячеек. Добротность резонатора в настоящей модели ультразвукового резонатора имеет величину 5500 на частоте 8.0 МГц. Высокую добротность удается достичь за счет снижения дифракционных потерь при формировании стоячей ультразвуковой волны в широком частотном диапазоне измерений акустических характеристик биосред, который теперь составляет 1.5–15 МГц. Точность измерения относительной скорости ультразвука в жидкости составляет величину порядка 5×10^{-4} , относительного поглощения — 10^{-2} . В термостатируемых ячейках поддерживается строго заданная температура из диапазона (20–38)°С.



1 - пьезопреобразователь, 2 - камера для образца;
3 - проводник; 4 - корпус датчика;
5 - заливная горловина

Рис. 1. Схематическое изображение акустического датчика.

Акустический анализатор содержит два независимых канала измерения. Каждый канал включает в себя блок акустических термостатируемых ячеек. Соответствующие им фазочувствительные схемы представляют собой генераторы, управляемые напряжением с цепью фазовой автоподстройки частоты (ФАПЧ). Перестройка частоты генераторов производится через цифро-аналоговый преобразователь (ЦАП).

На акустические датчики подается сигнал с частотой, изменяющейся на 10 МГц, из любой части диапазона 1.5–15 МГц (например, от 5.0 до 15.0 МГц). В результате обработки данных, получаемых с пьезоприемников акустических датчиков, в памяти компьютера фиксируются центральные частоты всех резонансных пиков в выбранном диапазоне частот для дистиллированной воды. Затем в обе ячейки прибора помещают исследуемую биологическую среду, а в памяти компьютера фиксируются центральные частоты всех резонансных пиков для этой среды. Затем, компьютером выбираются значения центральных частот резонансных пиков одного и того же номера для дистиллированной воды и для исследуемой среды. Скорость ультразвука может быть вычислена по формуле [4]:

$$V^{(S)} = \frac{2lf_j^{(S)}}{j}, \quad (1)$$

где $V^{(S)}$ — скорость в исследуемой биологической среде, $f_j^{(S)}$ — резонансные частоты в исследуемой биологической среде, j — номер резонансного пика, l — эффективная длина ячейки (ее можно определить на основании известной скорости ультразвуковых волн в дистиллированной воде при заданной температуре [5]).

На основании результатов, полученных по формуле (1) для скорости ультразвука в сыворотке крови или цельной крови $V_{1,2}^{(S)}$ (индексы 1 и 2 определяют порядковым номером



Рис. 2. Акустическая ячейка-резонатор.

ультразвуковых интерферометров в приборе “БИОМ”) и известной скорости ультразвука в дистиллированной воде $V_{1,2}^{(H_2O)}$, вычисляют относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке крови относительно дистиллированной воды. На основании измерений также можно определить и относительное поглощение ультразвука на длину волны в исследуемой биологической среде.

Для подтверждения стабильности и правильности получаемых данных необходимо иметь стандартные среды, свойства которых мало меняются со временем. Для контроля стабильности работы акустической системы “БИОМ” были разработаны растворы солей, акустические свойства (скорость и поглощение ультразвука) которых лежат в диапазоне биологических жидкостей. Для ежедневного контроля качества целесообразно использовать растворы неорганических солей. Эти растворы доступны и стабильны, необходимо только выбрать такие из них, которые по акустическим характеристикам близки к сыворотке крови [6–8]. Для ежедневного контроля качества были исследованы следующие водные растворы неорганических солей: NaCl (хлорид натрия), $NaHCO_3$ (гидрокарбонат натрия) и $MnSO_4$ (сульфат марганца) [9].

Разработанный прибор был использован для систематических исследований сыворотки крови человека (в норме и при различных заболеваниях), на основе которых созданы новые акустические методы определения состава сыворотки крови. Причем, в отличие от биохимических методов, акустические исследования позволяют определять состав этой биологической среды без применения дополнительных реактивов.

2. МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

2.1. Акустический метод определения общего белка и белковых фракций [10]

Сыворотка крови является сложной биологической жидкостью, содержащей множество компонентов, необходимых для жизнедеятельности

организма человека. Важнейшими компонентами сыворотки крови являются глобулярные белки. Их вклад в суммарные акустические характеристики наиболее значителен (до 90%) из-за высокой концентрации в сыворотке крови (75–85 г/л) в норме. Очень часто возникает нарушение соотношения отдельных белков. В таком случае необходим анализ отдельных фракций.

В разработанном акустическом методе концентрация общего белка сыворотки крови определяется по формуле [11]:

$$C_{\text{об}} = \left(\frac{1}{A_{\text{об}}} \right) \alpha_S^T \lambda, \quad (2)$$

где $C_{\text{об}}$ — концентрация общего белка в г/л; $\alpha_S^T \lambda$ — относительное поглощение на длину волны ультразвука в сыворотке крови относительно дистиллированной воды; $A_{\text{об}}$ — концентрационный коэффициент поглощения для общего белка. Заметим, что $A_{\text{об}}$ определяют общепринятым образом с помощью калибровки интерферометра по водным растворам альбумина различной концентрации из диапазона от 10 до 160 г/л (в данном диапазоне зависимость акустических свойств растворов от концентрации белка линейна).

Акустический метод определения белковых фракций базируется на исследованиях скорости ультразвука в сыворотке крови и модифицированной сыворотке, полученной с помощью воздействия на сыворотку разработанными растворами [11]. Предполагалось, что белковые фракции дают аддитивный вклад в относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке крови и двух модифицированных сыворотках, одна из которых не содержит γ -глобулин, а другая β - и γ -глобулины. Принимая во внимание минимальное влияние низкомолекулярных компонентов сыворотки крови на скорость ультразвука в этих биологических средах, для определения процентных долей в сыворотке крови $C_{\text{ал}}$ — альбумина, C_{α_1} — α_1 -глобулина, C_{α_2} — α_2 -глобулина, C_{β} — β -глобулина, C_{γ} — γ -глобулина была использована система из 4-х линейных уравнений для определения 4-х белковых фракций [11], пятая белковая фракция определяется следующим уравнением:

$$C_{\gamma} = 100\% - C_{\text{ал}} - C_{\alpha_1} - C_{\alpha_2} - C_{\beta}. \quad (3)$$

Концентрационные коэффициенты скорости ультразвука для альбумина, α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулинов соответственно при температурах T_1 и T_2 в сыворотке крови определялись на базе исследований белковых растворов как высокоочищенных белков (например, альбумина, γ -глобулина), так и белковых растворов, приготовленных из сыворотки крови путем селективного осаждения определенных белковых фракций. Правыми частями 4-линейных

уравнений являются измеренные на акустическом анализаторе “БИОМ” относительные изменения скорости ультразвука в сыворотке крови и в модифицированных сыворотках при температурах T_1 и T_2 .

При определении общего белка на аппарате “БИОМ” была выполнена проверка воспроизводимости (внутрисерийной и аналитической), правильности (сравнением с контрольными сыворотками Serodos и Serodosplus, Human, Германия) и чувствительности акустического метода. В качестве метода сравнения использовался биуретовый метод определения концентрации общего белка в сыворотке крови [12].

Был проведен регрессионный анализ и рассчитан коэффициент корреляции для оценки связи показателей, полученных двумя методами. Получена высокая степень корреляции ($R = 0.97$) для выборки $n = 80$, n — количество проб. Все полученные значения соответствуют биологически обоснованным нормам аналитической точности клинических лабораторных исследований.

Сравнение результатов акустических исследований белкового спектра проводилось с данными, полученными на электрофоретической системе “Paragon” (Beckman, США) с денситометрией на денситометре Appraise (Beckman, США). При исследовании контрольной сыворотки (Human) на акустическом приборе и электрофоретическим методом на аппарате “Paragon” установлено, что различия для альбумина, α_1 -, α_2 -, β - и γ -глобулинов находятся в пределах, указанных в паспорте на контрольные сыворотки.

2.2. Акустический метод определения липидных компонентов сыворотки крови

Исследование лабораторных показателей липидного обмена у человека является чрезвычайно актуальным для оценки риска развития атеросклероза, нарушений обмена при различных заболеваниях и синдромах [13]. Однако, комплексное исследование показателей обмена липидов и липопротеинов либо достаточно дорого, либо не дает возможности полноценного объективного исследования всего спектра показателей липидного обмена.

Разработка акустического безреагентного метода определения липидных компонентов сыворотки крови человека базируется на исследованиях частотных зависимостей поглощения ультразвука и температурных зависимостей скорости ультразвука в растворах белков и сыворотке крови, содержащей разное количество белка и липидных компонентов [11].

Анализ результатов исследований сывороток крови с различными значениями липидных компонентов позволил выявить четкие закономерности акустических характеристик (скорости и

поглощения ультразвука) от липидного состава сыворотки. Предполагая, как и в случае белковых фракций, аддитивность вклада отдельных липидных компонентов в температурные зависимости скорости, частотные зависимости поглощения ультразвука на длину волны, а также в температурные зависимости поглощения ультразвука, можно определить концентрацию липидных компонентов сыворотки крови — холестерина общего ($C_{X_{об}}$), холестерина липопротеинов высокой плотности ($C_{X_{ЛПВП}}$) и триглицеридов ($C_{ТГ}$) путем решения системы из 3-х уравнений. Правые части уравнений этой системы представляют собой температурные коэффициенты скорости и поглощения ультразвука и частотный коэффициент поглощения ультразвука в сыворотке крови, измеренные на акустическом анализаторе “БИОМ” в диапазоне температур 20–38°C и в диапазоне частот 4–9 МГц.

Концентрация холестерина липопротеидов низкой плотности $C_{X_{ЛПНП}}$ определяется по формуле:

$$C_{X_{ЛПНП}} = C_{X_{об}} - (C_{X_{ЛПВП}} + C_{X_{ЛПОНП}}), \quad (4)$$

где $C_{X_{ЛПОНП}} = C_{ТГ} / 2.2$, что справедливо для $C_{ТГ} < 4.5$ ммоль/л.

Величины концентрационных коэффициентов в системе уравнений для определения липидных компонентов сыворотки крови (холестерина общего, холестерина липопротеидов высокой плотности, триглицеридов и холестерина липопротеидов низкой плотности) определяют общепринятым образом после выбора температур T_1 и T_2 ($T_2 > T_1$) и частот f_1 и f_2 ($f_2 > f_1$) с использованием сывороток с известными значениями липидных компонентов, например сывороток крови фирмы Human (Германия): Serodos — сыворотка с паспортными значениями в области нормальных показателей липидных компонентов человека и Serodosplus — сыворотка с паспортными значениями в области патологии липидных компонентов человека.

Проведено сравнительное исследование сыворотки крови лиц с различным содержанием холестерина общего (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) на биохимическом автоматическом анализаторе Architect С-8000 (Эббот) и на акустическом анализаторе “БИОМ” для оценки качества определения показателей липидного обмена. При определении липидного спектра сыворотки различными методами (биохимическим и акустическим) статистически значимых различий не выявлено.

2.3. Акустический метод определения аполипопротеина A_1 и аполипопротеина В [14]

Апо A_1 — основной белковый компонент липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), синтез

которого происходит в печени и определяется генами. ЛПВП — “полезная” фракция холестерина. Фермент необходим для того, чтобы клетки-макрофаги не поглощали холестерин, а выводили его в русло сосудов для дальнейшей переработки печенью. Таким образом, нарушается звено развития атеросклероза, так как из макрофагов образуются пенные клетки и в дальнейшем атеросклеротические бляшки. Аполипопротеин В (или апоВ) играет роль в метаболизме и транспорте липидов. Его высокие значения способствуют риску развития атеросклероза. Используемые в настоящее время методы определения аполипопротеина A_1 и аполипопротеина В сыворотки крови обладают рядом существенных недостатков, общими из которых являются: длительное время проведения анализа; зависимость результатов от качества используемых реактивов; чувствительность существующих методов к температуре, мутность сыворотки, обусловленная высокой концентрацией липопротеидов, богатых триглицеридами. Кроме того, каждый из известных методов предназначен для определения только одного из компонентов.

Был разработан акустический способ определения апо A_1 и апоВ сыворотки крови, включающий пропускание ультразвука с изменяющейся частотой через пробы с дистиллированной водой и через пробы с сывороткой крови при двух разных температурах, и определение величин относительных скоростей прохождения ультразвука через пробы [14]. Способ определения аполипопротеина A_1 и аполипопротеина В в сыворотке крови основан на том, что эти компоненты сыворотки крови содержат в своей структуре и липиды, скорость ультразвука в которых зависит от температуры, и белок, поглощение ультразвука в котором зависит от частоты ультразвукового сигнала. В результате определение концентрации апо A_1 и апоВ сводится к решению системы двух линейных уравнений.

2.4. Акустический метод определения упругости эритроцитов в цельной крови [15]

При исследовании реологических свойств эритроцитов рассматривается исследование деформируемости эритроцитов или ее обратной величины — упругости (модуль упругости Юнга). Понимание состояний реологических свойств крови является важнейшим компонентом оценки микроциркуляции пациента и представляет собой непростую задачу. Особенно важно исследование упругости эритроцитов при гипергликемии и гиперхолестеремии, поскольку пациенты при этом страдают сахарным диабетом и различными сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Используемые в настоящее время методы определения упругости эритроцитов (методы определения модуля упругости Юнга) обладают рядом

существенных недостатков, общими из которых являются:

- недостаточная точность и длительное время проведения анализа (от 1.5 до 4 ч),
- подверженность эритроцитов к воздействию реактивов, которые могут изменять их упругость.

Акустический метод определения упругости эритроцитов позволяет проводить измерения быстро (в течение 5–7 мин), точно и без применения реактивов. Акустический метод определения упругости эритроцитов в цельной крови пациентов характеризуется тем, что для проведения исследования используется цельная венозная кровь, предварительно стабилизированная КЗ ЭДТА, и плазма крови, получаемая после центрифугирования цельной крови в течение 5 мин при 3000 об/мин. В камере Горяева выполняют подсчет количества эритроцитов в цельной крови.

Упругость эритроцитов исследуют методом ультразвуковой (акустической) интерферометрии с использованием Акустического анализатора “БИОМ”. Поскольку скорость звука зависит как от упругости эритроцитов, так и их концентрации, то определение упругости эритроцитов проводится путем сравнения скорости звука дистиллированной воды, плазмы крови и цельной крови и соответствующей обработки данных [15].

Проведенные сравнительные исследования акустического метода определения упругости эритроцитов при гипергликемии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа различной степени тяжести в Приволжском окружном медицинском центре показали высокую чувствительность акустического метода и продемонстрировали возможность использования акустического метода для наблюдения за лечением таких пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новые акустические методы безреагентной медицинской лабораторной диагностики позволяют определять общий белок, белковые фракции и параметры липидного спектра сыворотки крови на уровне экспертных биохимических систем. Разработанный с использованием акустического анализатора “БИОМ” акустический метод безреагентной диагностики определения аполипротеина А₁ и аполипротеина В позволяет достоверно выявлять группы повышенного риска по сердечно-сосудистой патологии. Был разработан новый акустический метод определения упругости эритроцитов в цельной крови *in vitro* без реагентов. Все существующие методы определения упругости эритроцитов определяют их изолированно от крови под воздействием реагентов и длительно (от 2 до 5 ч). Акустический метод позволяет определять упругость эритроцитов за 5–7 мин.

Акустический анализатор “БИОМ” утвержден Минздравом РФ в качестве медицинского прибора. Пять лет назад для акустического анализатора “БИОМ” создан ультразвуковой интерферометр нового поколения со специализированной обработкой внутренней поверхности акустических ячеек и разработкой системы цифрового ультратермостатирования. Это позволило расширить рабочий диапазон частот, который сейчас изменяется от 1.5 до 15 МГц, и увеличить точность термостатирования до 0.005°C. В результате увеличилась точность измерения относительной скорости ультразвука в сыворотке крови до 5×10^{-4} и относительного поглощения ультразвука в сыворотке крови до 10^{-2} .

Перспективы дальнейшего применения акустического анализатора “БИОМ” в медицинской лабораторной диагностике направлены на разработку акустических методов безреагентного определения специфических белков сыворотки крови.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (государственное задание № FSWR-2023-0031).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Памяти Виталия Анатольевича Зверева // Акуст. журн. 2024. Т. 70. № 2. С. 297–298.
2. Зверев В.А. Модуляционный метод измерения дисперсии ультразвука // Акуст. журн. 1956. Т. 2. № 2. С. 142–145.
3. Клемина А.В., Демин И.Ю., Клемина В.А. Исследование акустического резонатора сверхмалого объема для медико-биологических приложений // Вестник ННГУ. Сер. Радиофизика. 2006. Вып. 1. № 4. С. 59–66.
4. Grosso V.A., Mader C.W. Speed of sound in pure water // J. Acoust. Soc. Am. 1972. V. 52. P. 1442–1446.
5. Eggers F., Funck Th. Ultrasonic measurements with milliliter liquids samples in the 0.5–100 MHz range // Rev. Sei. Instr. 1973. V. 44. P. 969–978.
6. Михайлов И.Г. Распространение ультразвуковых волн в жидкостях. Л.: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1949. 151 с.
7. Millero F.J., Vinokurova F., Fernandez M., Hershey P.J. PVT properties of concentrated electrolytes. 4. The speed of sound and molal compressibilities of NaCl, Na₂SO₄, MgCl₂, MnSO₄ solutions from 0 to 100 °C // J. Solution Chemistry. 1987. V. 16. № 4. P. 269–284.
8. Стюэр Дж., Егер Э. Распространение ультразвуковых волн в растворах электролитов // В кн. Физическая акустика. Под. ред. Мэзона. М.: Мир, 1968. Т. 2. С. 371–485.
9. Клемина А.В. Акустическая интерферометрия биологических жидкостей для медицинской лабораторной диагностики // Дис. канд. физ.-мат. наук. Н. Новгород, 2010. 129 с.
10. Гурбатов С.Н., Демин И.Ю., Клемина А.В., Клемина В.А. Акустический анализ состава сыворотки

- крови человека // Акуст. журн. 2009. Т. 55. № 4–5. С. 496–505.
11. Клемин В.А., Долгов В.В., Клемина А.В. Способ определения общего белка, белковых фракций и липидных компонентов сыворотки крови. Патент на изобретение РФ № 2253115. 2005.
 12. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под ред. Меньшикова В.В. М.: Медицина, 1987. 368 с.
 13. Долгов В.В., Титов В.Н., Творогова М.Г., Ройтман А.П., Шевченко Н.Г. Лабораторная диагностика нарушений обмена липидов. Учебное пособие. М.: РМАПО, 1999. 55 с.
 14. Руденко О.В., Клемин В.А., Гурбатов С.Н. Способ определения аполипопротеина А₁ и аполипопротеина В. Патент на изобретение РФ № 2535142. 2014.
 15. Гурбатов С.Н., Клемина А.В., Веселова Т.А., Садовская А.И. Акустический способ определения упругости эритроцитов в цельной крови человека при гипергликемии. Заявка на изобретение РФ № 2023129201/14(064884). 2023.

Acoustic Methods of Reagentless Medical Laboratory Diagnostics

A. V. Klemina^{a,*}, S. N. Gurbatov^a, V. A. Klemin^b

^aNizhni Novgorod State University, Nizhny Novgorod, 603022 Russia

^bLLC "Firma "БИОМ", Nizhny Novgorod, 603000 Russia

*e-mail: annet17@yandex.ru

Acoustic methods of non-reactive medical laboratory diagnostics based on precision measurements of sound velocity and attenuation in biological fluids are discussed. These parameters are determined at different frequencies and at different fluid temperatures using high-quality resonators. The developed methods are implemented in the measuring acoustic analyzer "БИОМ". The device contains two ultra-small ultrasonic resonators (about 100 μ l) in volume. The microprocessor system of the device controls two ultrathermostats and maintains temperatures in the resonators in the range (20–38)° C with an accuracy of $\pm 0.005^\circ$ C. The developed special software makes it possible to determine the acoustic characteristics (speed and absorption of ultrasound) in blood serum, whole blood and plasma with a relative error of $\pm 5 \times 10^{-4}$ in terms of ultrasound velocity and $\pm 10^{-2}$ in terms of ultrasound absorption. This made it possible to determine the total protein, protein fractions, parameters of the lipid spectrum and apolipoproteins A₁ and B, as well as the elastic properties of patients' erythrocytes *in vitro*.

Keywords: acoustic resonator, ultrasound, ultrathermostat, biomedica