

**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ И
ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В МИКРОМАТРИЧНОМ ФОРМАТЕ
С ВИДЕОЦИФРОВОЙ РЕГИСТРАЦИЕЙ**

Т.А.Старовойтова*, В.В.Зайко**, Н.А.Стериополо**, Л.П.Мартынкина***,
В.А.Кутвицкий****, А.Е. Туголуков**, С.Г.Волощук*****, Р.Т.Тогузов*****,
Ю.Ю.Венгеров**

martinkina@mail.ru

8-910-444-910-6

**ЦКБ № 1 ОАО «РЖД», Москва, Россия*

***Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия*

**** Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва, Россия*

*****Институт земного магнетизма, ионосферы и распространения радиоволн РАН*

им. Н.В.Пушкова, Троицк, Россия

****** ООО «ОктаМедика», Москва, Россия*

****** Российский государственный медицинский университет, Москва, Россия*

Была сконструирована полная аналитическая платформа для проведения биохимических и иммунохимических исследований в микроматричном формате с видеоцифровой регистрацией. Определены параметры системы позиционирования – смешивания и создано специализированное программное обеспечение для регистрации получаемых результатов. С использованием разработанной системы созданы методики дот-анализа глюкозы в цельной крови и сыворотке и микроальбумина в моче, отличающиеся простотой проведения исследований, высокой производительностью и экономичностью. Определены аналитические характеристики разработанных методов и показана высокая корреляция получаемых данных с результатами референсных лабораторных исследований.

Ключевые слова.

Миниатюризация, видеоцифровая регистрация, платформа для технологии микрочипов, дот-анализ

**ANALYTICAL PLATFORM FOR BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL
STUDIES IN MICROMATRIX FORMAT WITH VIDEO-DIGITAL REGISTRATION**

T.A.Starovoitova, V.V.Zaiko, N.A.Steriopolo, L.P.Martynkina, V.A.Kutvitskiy,
A.E.Tugolukov, S.G.Voloshchuk, R.T.Toguzov, Yu.Yu.Vengerov

The complete analytical platform for biochemical and immunological studies in microarray format with videodigital registration was constructed. The parameters of positioning-mixing system were determined and specialized software for registration of results was created. With the help of the developed system methods of dot- analysis of glucose in blood and serum and dot-analysis of microalbumin in urea were elaborated. These methods are characterized by simplicity of testing, high productivity and efficiency. Analytical characteristics of elaborated methods were determined and high correlation between the data and results of reference laboratory studies was demonstrated.

Key words: Microarray, videodigital registration, platform for microchip technology, dot-analysis

ВВЕДЕНИЕ

Сочетание подходов миниатюризации с системами видеоцифровой регистрации создает базу для разработки принципиально новых вариантов диагностических методов.

Преимущества миниатюризации для клинических биохимических и иммунологических исследований состоят в уменьшении необходимых для анализа объемов исследуемого материала и реагентов, повышении производительности проведения анализов, возможности создания систем серийного и мультиплексного анализа на основе использования матричного формата. Применение видеоцифровой регистрации позволяет решить задачи документирования результатов анализа, объективной оценки данных, получения полуколичественных и количественных результатов.

Поскольку целью работы было создание платформы для определения аналитов, отвечающей требованиям миниатюризации и проведения мультианализа в матричном формате, была поставлена и успешно решена задача изготовления простого и производительного приспособления для формирования упорядоченных матриц образцов на планарных носителях и проведения соответствующих реакций для анализа проб. Приспособление обеспечивает захват воспроизводимых микрообъемов образцов и реагентов, позиционирование и смешивание микрокапель жидкостей на носителе. На втором этапе работы было разработано программное обеспечение для регистрации результатов анализов, проведенных в матричном формате. Затем, созданная полная платформа, включающая устройство нанесения-дозирования жидкостей (система позиционирования) и систему регистрации с программным обеспечением, применялась для конструирования новых вариантов проведения иммунохимических и клинических биохимических определений различных аналитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Контрольные материалы, образцы мочи, крови и сывороток были предоставлены ООО «КДЛ-тест» г. Москвы.

Для оценки метода определения концентрации глюкозы были исследованы 109 образцов цельной крови и 119 образцов сыворотки.

Для апробации метода серийного определения содержания альбумина в моче использовали 67 образцов мочи.

Для **серийного анализа глюкозы** методом «сухой химии» использовали мембрану «NDP» (Австралия). Мембраны нарезали на прямоугольники размерами 30 x 25 мм, помещали на специальные носители и наносили образцы сыворотки с помощью 30-пинового аппликатора

Для **серийного определения альбумина в моче** образцы мочи пациентов наносили на нитроцеллюлозную мембрану «Schleicher & Schull» (Германия) с помощью 30-пинового аппликатора. Для системы дот-определения альбумина в моче была выбрана схема прямого твердофазного иммуноферментного анализа. Свободные участки мембран блокировали нейтральным белком. Проводили реакцию с антител к альбумину с пероксидазой хрена. Для калибровки применяли мочу здоровых людей, не содержащую белка, с добавлением известных количеств сухого альбумина человека.

В качестве референсных методов использовали:

- определение содержания альбумина в моче с применением иммуноферментных тест-систем фирмы «Orgentic» (Германия) и анализатора Wallac 1420 Multilabel Counter (Victor) с программным обеспечением «MultiCalc» (Финляндия).
- определение концентраций глюкозы в цельной крови глюкозооксидазным методом на анализаторе «Эко-Твенти» фирмы «Каре-Диагностика» (Германия) и в сыворотке на биохимическом автоматическом анализаторе «Olympus AU640» фирмы «Olympus» (Япония).

Для **регистрации результатов** использовали аппаратно-программный комплекс «Эксперт-Лаб» или видеоанализатор «Рефлеком» («Синтэко-Комплекс», Россия) и разработанное в ходе исследования программное обеспечение.

Статистическую обработку результатов производили с использованием следующих статистических методов: оценка дескриптивных статистик, проверка нормальности распределения вероятностей, проверка равенства двух генеральных дисперсий, оценка репрезентативности выборки, оценка коэффициентов корреляции Спирмена и Пирсона, регрессионный анализ.

Для расчетов использовали компьютерную программу «STATISTICA-6 for WINDOWS» и MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Разработка многопиновых систем формирования матриц аналитических зон для серийных определений

Исходными требованиями к системе нанесения микрокапель являются ее простота, возможность работы в достаточно миниатюрном формате, воспроизводимость объемов образцов и оптимальное количество образцов (точек), располагаемых на определенной площади мембраны. Немаловажным свойством является и производительность нанесения – то есть время, требуемое для помещения на мембрану определенного количества образцов.

Наиболее перспективной была признана система пинового нанесения исследуемых образцов, предполагающая погружение в образец пинов (микростержней) и последующий перенос формирующейся на пине микрокапли на мембрану.

Размер регистрируемой точки на конечной фазе анализа зависит от характеристик носителя и от объема капли, который, в свою очередь, определяется свойствами анализируемой жидкости, материалом и размером пина, свойствами его поверхности. Также на это оказывают влияние время и степень контакта пина с поверхностью носителя и некоторые другие причины.

Решение задачи быстрого и производительного нанесения на планарный носитель воспроизводимых по объему капель образцов в виде упорядоченной матрицы было достигнуто за счет использования систем, включающих микропланшеты для внесения образцов и соответствующие мультиаппликаторы с расположением нескольких пинов в один или несколько рядов.

С помощью таких аппликаторов были получены матрицы точек различного формата и с разной площадью пятен. На рис. 1 представлены изображения мембран с результатами дот-анализа после нанесения сывороток с различной концентрацией глюкозы на мембрану многопиновыми аппликаторами. Было доказано, что средняя интенсивность окрашивания аналитической точки не зависит от параметров пина и аппликатора в целом, и поэтому для проведения анализов можно использовать аппликатор любого формата.

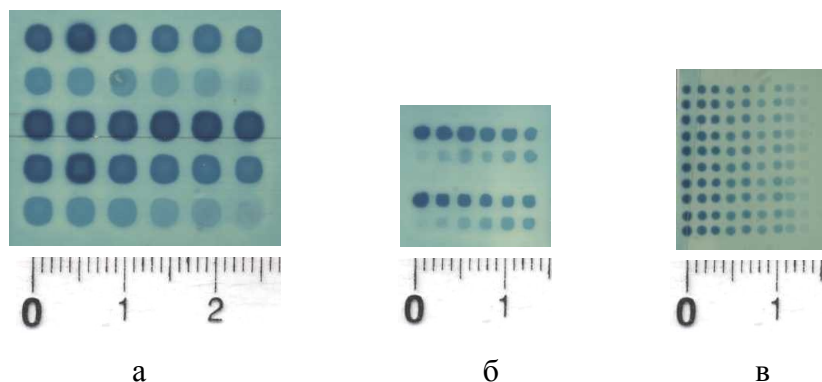


Рис. 1. Изображение мембран с матрицами формируемых точек (а - формат 6 x 5 с шагом 4,4 мм, б – формат 6 x 2 с шагом 2,4 мм (2-кратное нанесение), в - 10 x 1 с шагом 1,25 мм (10 серий различных концентраций глюкозы))

Для продолжения исследований нами был выбран аппликатор, формата 5x6 с шагом 4,4 мм и размерами пинов 1,5x1,5 мм и позволяющий одномоментно формировать тридцать обособленных аналитических точек. Величина объема капель, переносимых этим аппликатором, менее 0,5 мкл и зависит от свойств исследуемой жидкости. Отклонение объема капли, захватываемой каждым пином, не превышает 8% от средней величины, что позволяет получать адекватные результаты при количественных исследованиях аналитов.

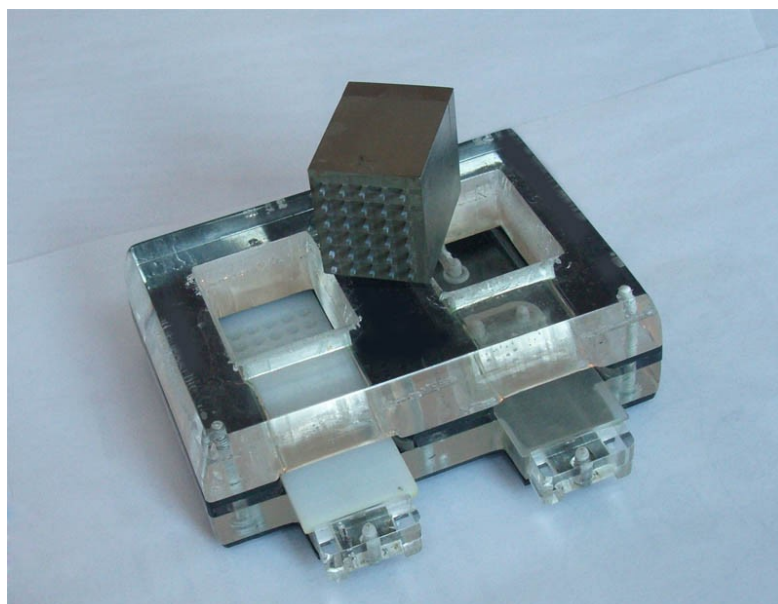


Рис.2. Система позиционирования, разработанная нами для геометрически точного нанесения образцов

Для повышения производительности исследований была создана система позиционирования (рис 2). Система представляет собой основной блок с двумя отделениями, микропланшет и аппликатор. В первое отделение помещается микропланшет с исследуемой жидкостью, второе предназначено для планарного носителя, на котором будет проводиться реакция. Микропланшет и носитель фиксируются с помощью пружинных замков, а стенки блока не позволяют аппликатору отклониться от заданного положения и способствуют точному нанесению жидкости в геометрически заданное место. Такая система дает возможность, не прибегая к сложным действиям, одновременно взять 30 капель одного объема и быстро перенести их, формируя матрицу точек образца, имеющих фиксированное геометрическое положение на носителе, что во много раз повышает производительность аналитической работы.

В данной работе были использованы два варианта применения системы позиционирования для аналитических исследований.

Первый вариант предполагает нанесение образца на носитель, уже содержащий реагенты, которые сразу вступают в реакцию с исследуемым веществом, как при серийных определениях концентраций глюкозы на специальной мембране (рис. 3а) или при анализе на специальных стеклах с нанесенными сухими реагентами. Во втором варианте происходит иммобилизация образца на мембрану для дальнейших исследований, как при серийном иммунодот-анализе на микроальбуминурию (рис.3б).

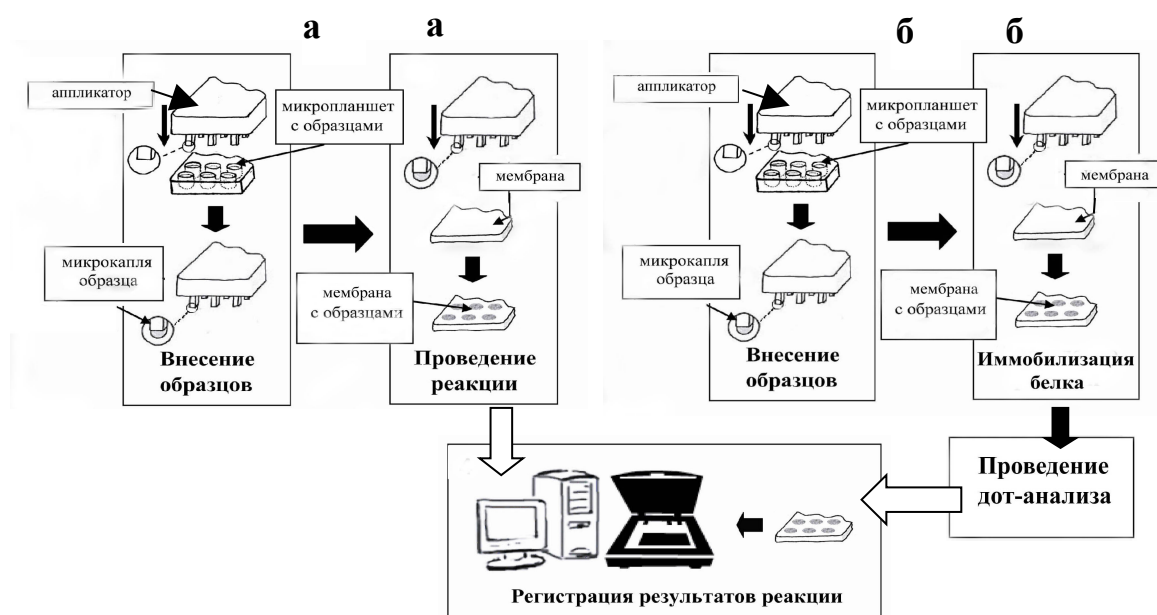


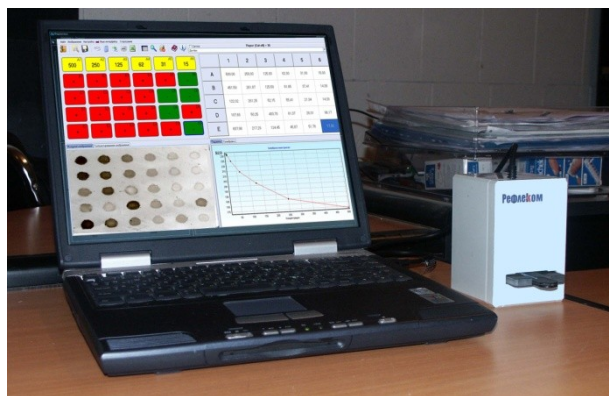
Рис.3. Схема проведения дот-исследований с помощью системы позиционирования (а - серийное определение концентрации глюкозы; б - серийный иммунодот-анализ на микроальбуминурию).

2. Разработка исходных требований и программного обеспечения для дот-определений

Регистрирующая система представляет собой компьютер с программным обеспечением и видеоцифровое устройство (планшетный сканер или видеокамера). Сканерная система представляет возможность сканировать объект в проходящем и в отраженном свете, обладает высокой степенью цветового и пространственного разрешения. Отличительная характеристика анализатора с видеокамерой – быстродействие и отсутствие контакта с образцом, однако разрешающая способность камеры ограничена. В качестве регистрирующего компонента в данной работе был использован аппаратно-программный комплекс «Эксперт-Лаб» и видеоанализатор «Рефлеком» (рис.4).



а



б

Рис. 4. Аппаратно-программный комплекс «Эксперт-Лаб» (а) и видеоанализатор «Рефлеком» (б)

Системы видеоцифровой регистрации дают возможность получать изображение образца, представляющее собой совокупность сигналов, отвечающих всем точкам выбранного объекта. Таким образом, на один объект приходится большое количество регистрируемых цифровых характеристик, количество которых определяется разрешением соответствующего устройства. В случае однородных объектов эти характеристики

усредняются (например, при колориметрических исследованиях), что позволяет уменьшить погрешность измерения из-за возможных случайных помех. Программными методами можно разбить используемый планарный носитель на отдельные так называемые «зоны интереса», соответствующие единичному объекту, и обрабатывать информацию индивидуально по каждой из зон интереса. То есть, при определенном построении программного обеспечения видеоцифровую систему можно рассматривать как многоканальную с произвольным количеством каналов.

Зоны интереса, соответствующие точкам матрицы нанесенных на мембрану образцов, могут быть выделены или оператором, или программой. Автоматическое определение зон интереса в ходе программной цифровой обработки изображений во многих случаях является предпочтительным, однако, оно применимо, когда все параметры используемой системы дозирования-нанесения образцов, химические и иммунологические компоненты проведения тех или иных реакций строго фиксированы и не меняются при проведении однотипных анализов. В этом случае все настройки сканера или видеокамеры, соответствующие геометрическим характеристикам объекта, диапазонам изменений интенсивности окраски точек устанавливаются однократно и сохраняются в памяти компьютера для каждого типа анализа. Затем в каждой зоне интереса происходит идентификация точек объекта (собственно окрашенной зоны) и фона, которую удастся провести на основании известных характеристик интенсивности соответствующих пикселей. Это дает возможность установить зоны окрашенных объектов. Далее происходит расчет средней интенсивности окраски внутри определенной таким образом зоны объекта.

Для регистрации результатов дот-анализа был разработан пакет программного обеспечения «Эксперт-Лаб Видеодот», в котором использован принцип фиксирования зон интереса, соответствующих матрице точек, формируемой с помощью многопиновых систем. Наличие системы позиционирования определяет геометрические параметры матрицы зон интереса.

Для каждой выделенной зоны рассчитывается среднее значение коэффициента светового отражения (КСО). Каждому пикселю присваивается значение, характеризующее его яркость, которое лежит в пределах от 0 («черный» пиксель) до 255 («белый» пиксель) (8-ми битное изображение). КСО для определенной зоны есть среднее значение яркости пикселей, то есть значение суммарной яркости всех пикселей, попавших в эту зону, деленное на площадь выделенной зоны. Для характеристики зоны интереса можно

использовать и величину интенсивности окрашивания аналитических зон, которая рассчитывается по формуле:

$$\text{Int}(\%) = [(255 - \text{КСО}_{\text{пятна}}) - (255 - \text{КСО}_{\text{фона}})] \times 100\% / 255 = (\text{КСО}_{\text{фона}} - \text{КСО}_{\text{пятна}}) \times 100\% / 255$$

На рис.5 показан пример матрицы точек с представлением результатов измерения коэффициента светового отражения в каждой зоне в виде таблицы в разработанной программе «Эксперт-Лаб Видеодот».

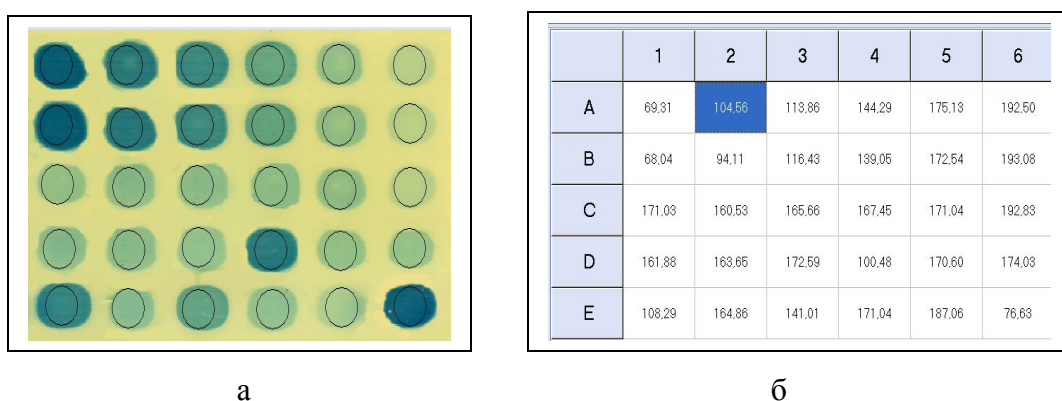


Рис. 5. Фрагменты окон программы «Эксперт-Лаб Видеодот» (**а** - изображение мембраны при одновременном анализе 30 образцов (матрица 5х6 элементов, формат 4,4 мм); **б** - таблица значений коэффициента светового отражения каждой точки)

Программа предусматривает возможность использования калибровочной кривой. Для построения калибровочной кривой необходимо наличие образцов с известным содержанием определяемого вещества. В рамках одной матрицы часть точек может быть использована для нанесения калибраторов (стандартов), по аналогии с иммуноферментным анализом в микропланшетах, и тогда для каждой точки (то есть для каждого образца) могут быть получены результаты измерений в единицах, принятых для данного аналита. Также можно использовать калибровочную кривую, введенную заранее и сохраняемую в памяти компьютера, но в этом случае необходимо проверять стабильность показателей с помощью контрольных образцов, как это делается на биохимических анализаторах.

На рис. 6 показано окно программы «Эксперт-Лаб Видеодот» для введения значений концентрации калибраторов.

После команды «Обработка изображения» программа строит калибровочную кривую и рассчитывает концентрацию аналита в каждой точке внесенных образцов. Результаты появляются в таблице. Так же возможна автоматическая дифференцировка

образцов по отношению к введенному референсному диапазону, выделяя цветом результаты, выходящие за его пределы.

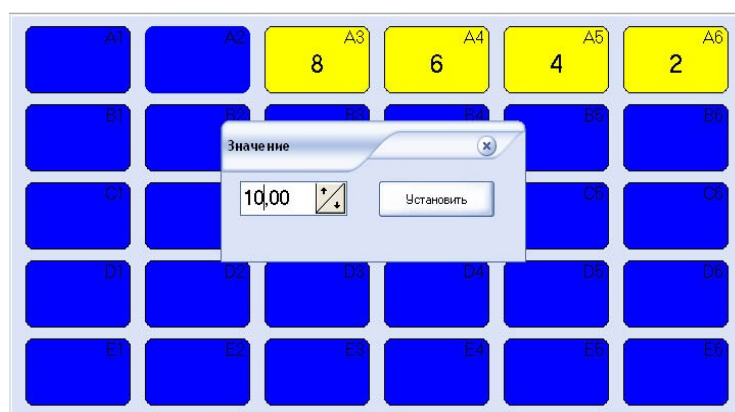


Рис. 6. Введение значений концентрации калибраторов в разработанной программе «Эксперт-Лаб Видеодот» .

На рис. 7 показано окно программы «Эксперт-Лаб Видеодот» после введения в настройках концентраций стандартных образцов глюкозы и расчета концентрации анализата по полученной калибровочной кривой. В левом нижнем углу расположено изображение матрицы точек на мембране. В правом нижнем углу - калибровочная кривая зависимости КСО для точек стандартов от концентрации глюкозы в них. В правом верхнем углу окна программы представлены результаты в виде концентрации глюкозы в образцах.

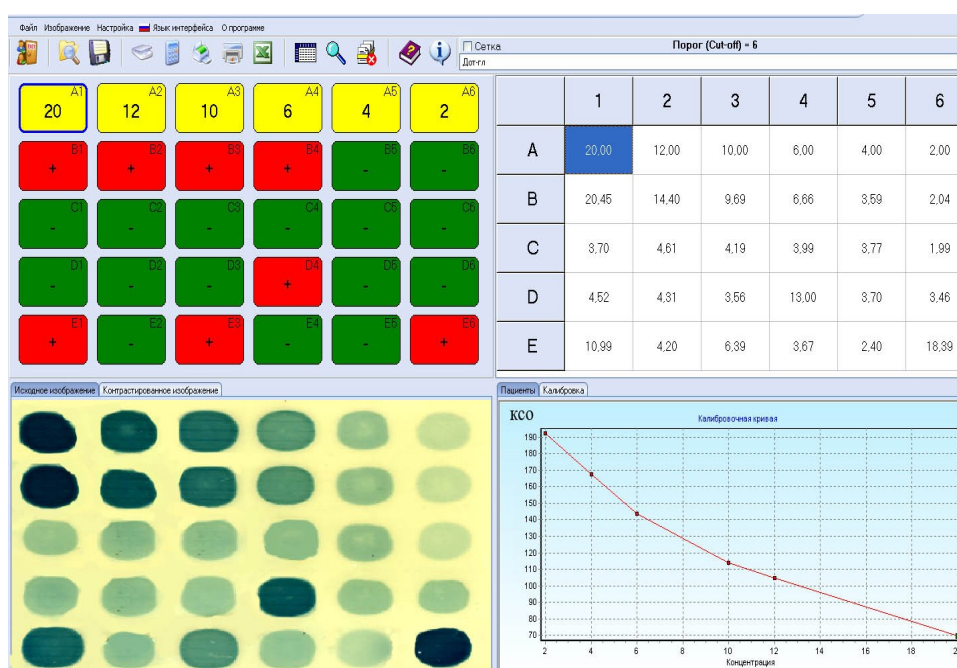


Рис. 7. Окно программы «Эксперт-Лаб Видеодот» после введения в настройках концентраций стандартных образцов и референсного диапазона глюкозы.

Предложенная платформа для мультидот-анализа, включающая систему позиционирования для высокопроизводительного нанесения образцов биожидкостей, систему регистрации и программное обеспечение «Эксперт-Лаб Видеодот» является перспективной для проведения различных серийных биохимических анализов на основе планарных тестов «сухой химии» и дот-иммунохимических определений. На базе этой платформы были разработаны клинический биохимический и иммунохимический варианты анализа - определение глюкозы крови и тест на микроальбуминурию (определение альбумина в моче).

3. Система серийного определения глюкозы крови

Серийное определение концентрации глюкозы в цельной крови или сыворотке производили на основе технологии «сухой химии» с использованием мембран «Меридиан», разработанной фирмой «NDP» (Австралия), для чего на мембрану с помощью системы позиционирования наносили капли цельной крови или сыворотки. Результаты измерений концентрации глюкозы в единицах ммоль/л, получали с помощью программы «Эксперт-Лаб Видеодот».

На рис. 7 показано окно программы «Эксперт-Лаб Видеодот», с калибровочной кривой зависимости КСО от концентрации глюкозы и таблицей расчетных концентраций в ммоль/л.

Была проведена проверка воспроизводимости измерения КСО при нанесении образцов с разной концентрацией глюкозы мультиаппликаторами различных форматов. Данные исследования отражены в таблице 1. Отклонение величины КСО от среднего значения не превышает 5%.

Таблица 1.

Коэффициент вариации (CV_{20}) измерения коэффициента светового отражения для различных концентраций глюкозы в образцах, нанесенных аппликаторами разных форматов.

		С, ммоль/л	1	2	4	6	8	10
--	--	---------------	---	---	---	---	---	----

CV₂₀ %	формат апликатора	6x5	3,8	3,67	2,03	2,41	4,6	0,98
		10x1	3,45	2,6	4,3	2,24	3,65	3,05
		2x6	3,36	4,65	2,87	3,57	2,06	1,66
		C, ммоль/л	12	15	20	25	30	40
CV₂₀ %	формат апликатора	6x5	1,25	0,54	1,35	3,58	2,01	3,25
		10x1	2,36	1,53	2,14	4,04	3,18	2,59
		2x6	2,28	2,54	3,5	4,69	2,54	1,98

На трех уровнях аттестованных контрольных сывороток была определена внутрисерийная (вс) и межсерийная (мс) воспроизводимость определения глюкозы в сыворотке. Были рассчитаны коэффициенты вариации (CV), которые оказались ниже предельно допустимого значения CV=5% при измерении концентрации глюкозы (приказ № 45 МЗ РФ от 07.02.2000). Данные по воспроизводимости результатов для определения содержания глюкозы в контрольных сыворотках отражены в таблице 1.

Для оценки чувствительности метода сывороточный калибратор с содержанием глюкозы 10,4 ммоль/л разводился забуференным раствором альбумина с созданием низких концентраций глюкозы (по данным референсного метода). Чувствительность разработанного метода составила 2,02 – 2,18 ммоль/л. Диапазон измерений - от 2,0 до 20,0 ммоль/л.

Таблица 2

Данные по воспроизводимости результатов для определения содержания глюкозы в контрольных сыворотках

Концентрация глюкозы в контрольных сыворотках, ммоль/л	CV _{вс} , %	CV _{мс} , %
4,13-5,7	2,79	3,86
5,30-7,16	2,99	4,01
13,1-17,7	3,08	4,45

На рис. 8 представлены данные сопоставления результатов определения глюкозы методом серийного дот-анализа и соответствующим референсным методом для 109

образцов цельной крови и 119 сывороток здоровых людей и пациентов с сахарным диабетом. Очевидно хорошее совпадение результатов, что доказывает и уравнение линии тренда ($ax+b$): коэффициент a близок к единице, а величина отклонения b меньше значения ошибки метода. Коэффициенты корреляции Пирсона равны 0,97 и 0,98 (при $p=0,05$), это показывает, что различия между результатами референсных и разработанного нами метода статистически незначимы.

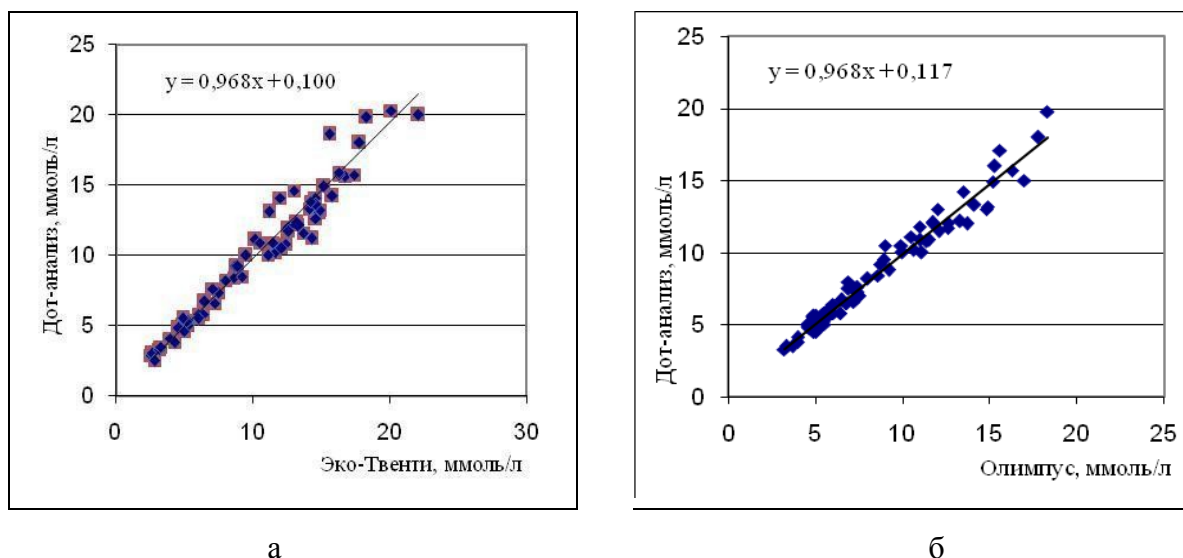


Рис. 8. Сопоставление результатов определения глюкозы методом дот-анализа и глюкозооксидазным методом в цельной крови (а) и в сыворотке (б).

Серийное измерение глюкозы крови с применением системы матричного дот-нанесения образцов и видеоцифровой регистрации отличается высокой производительностью. Время проявления цветового пятна на мембране составляет не более 60 секунд. Первый этап анализа состоит в помещении по 10 мкл каждого образца цельной крови или сыворотки в лунки планшета. Планшет и слайд с мембраной фиксируются в соответствующих отделениях системы позиционирования. С помощью 30-пинового аппликатора необходимое количество образца переносится на мембрану. После проявления окраски слайд сразу же помещается в сканер, в специально отведенное для этого фиксированное место – зону регистрации. Время регистрации результатов также не превышает 30-40 секунд. Вся процедура (после заполнения планшета) занимает не более 2-3 минут, причем результаты, представленные в электронной форме, могут сохраняться в базе данных и распечатываться.

4. Система серийного определения альбумина в моче – тест на микроальбуминурию.

В процессе разработки системы серийного анализа были подобраны оптимальные размеры и форма пинов, объемы образцов мочи в планшетах, типы используемых нитроцеллюлозных мембран, а также параметры иммунологической системы определения, такие как концентрация конъюгата, время инкубации, состав блокирующего буфера, другие параметры теста.

На рис. 9 представлен типичный вид мембраны, на которую нанесены с помощью 30-пинового аппликатора (формат 5x6, шаг 4,4 мм; наносимые капли объемом менее 0,5 мкл) пробы мочи, содержащие различные концентрации альбумина, после проведения процедуры анализа. Очевидно, что интенсивность окрашивания пятен возрастает с повышением концентрации альбумина в пробах.

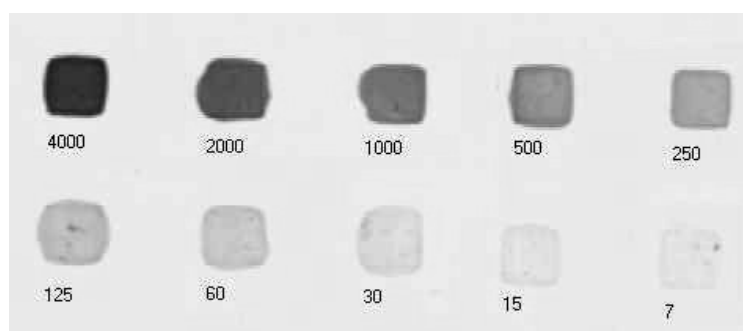


Рис. 9. Видеоизображение мембраны с нанесенными пробами мочи после проведения всех этапов реакции выявления альбумина. Цифрами на рисунке указана концентрация альбумина в пробах (мг/л).

Таблица 3.

Воспроизводимость (CV_{20}) при измерении коэффициента светового отражения, вычисленная для различных концентраций альбумина (мг/л) в образцах после проведения дот-анализа

С, мг/л	7,8	15,6	31,25	62,5	125	250	500	1000
---------	-----	------	-------	------	-----	-----	-----	------

CV ₂₀ %	11,1	8,72	9,76	9,98	8,68	7,96	5,22	4,51
--------------------	------	------	------	------	------	------	------	------

Из табл.3 следует, что коэффициент вариации (CV₂₀) интенсивности окрашивания пятен после проведения иммунологических реакций не превышает 10% при концентрациях альбумина более 10 мг/л.

Для проведения серийного анализа были подобраны типы используемых нитроцеллюлозных мембран и оптимальные параметры иммунологической системы детекции, такие как: концентрации конъюгатов, время инкубации, состав блокирующего буфера, другие параметры теста.

В 30-луночный микропланшет помещали по 10 мкл проб мочи, планшет вставляли в систему позиционирования, в другое отделение помещали носитель с нитроцеллюлозной мембраной «Schleicher & Schull» и с помощью аппликатора переносили капли проб на мембраны. После проведения иммунохимической реакции результаты анализировали с помощью программы «Видеодот».

На рис.10 представлено окно программы «Эксперт-Лаб Видеодот» после введения концентраций стандартных образцов (первый ряд) и пороговой величины концентрации альбумина (20 мг/л). Показаны калибровочная кривая зависимости КСО для полученных точек от концентрации альбумина в стандартных образцах, схематическое изображение матрицы образцов с выделением отрицательных и положительных проб и результаты в виде концентрации альбумина в исследуемых образцах.

С помощью проб с низким содержанием белка (по данным референсного метода) была определена чувствительность разработанного метода определения альбумина в моче, которая составляла 10-15 мг/л. Как известно, пороговым значением для выявления микроальбуминурии является 20 мг/л. Можно сделать вывод, что данный иммунологический тест на основе видеорегистрации в мультidot-формате обладает достаточной чувствительностью и может быть использован в практике выявления микроальбуминурии.

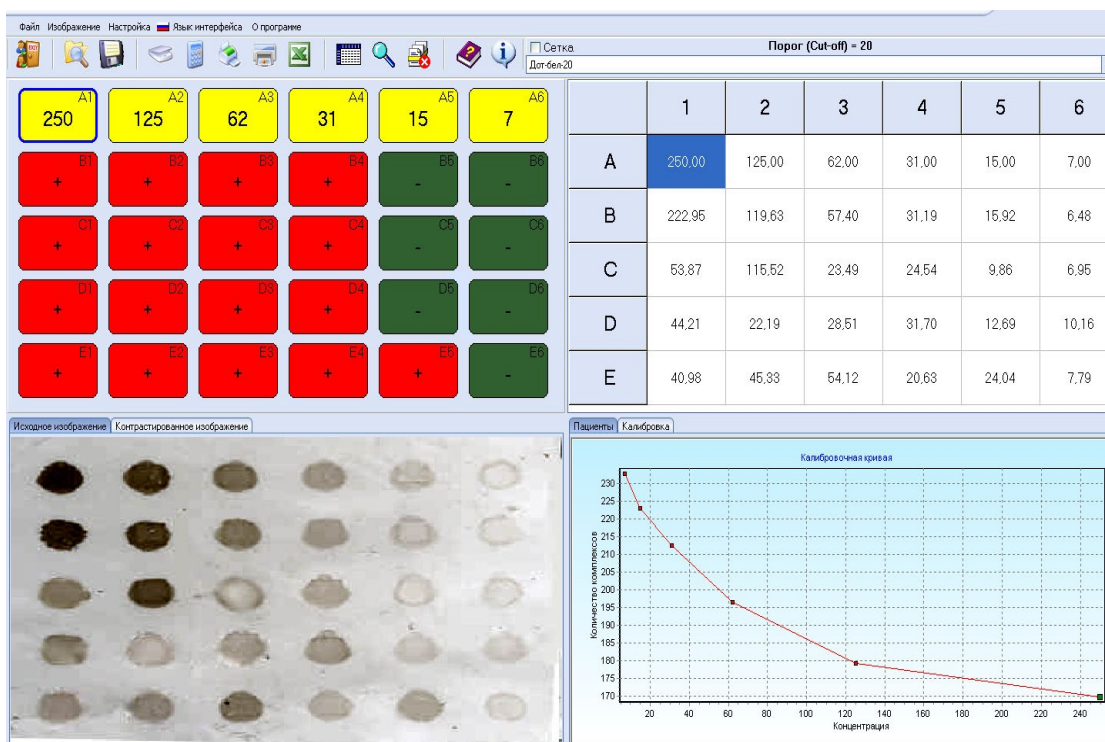


Рис 10. Окно программы «Видеодот» после обработки результатов дот-анализа по определению содержания альбумина в образцах мочи пациентов

На рис. 11 показаны результаты сопоставления данных определения альбумина методами серийного дот-анализа и иммуноферментного анализа для 67 образцов мочи от здоровых людей и пациентов с сахарным диабетом.

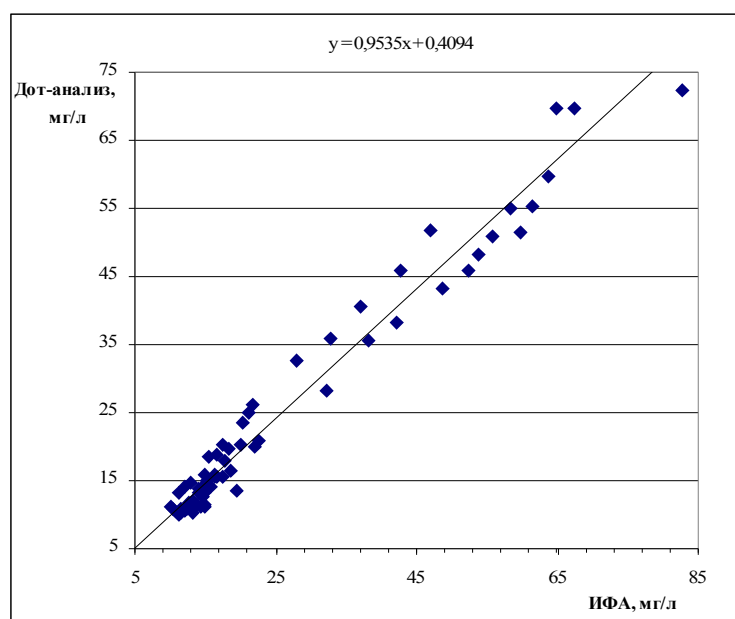


Рис. 11. Сопоставление результатов определения альбумина методом дот-анализа (мембрана «Schleicher & Schull») и ИФА с использованием тест-систем фирмы «Orgentic» (Германия) и анализатора «Wallac 1420 Multilabel Counter (Victor)» (Финляндия)

Результаты показывают хорошее совпадение данных с референсным методом во всем диапазоне концентраций альбумина в моче у обследованного контингента больных. Коэффициент корреляции Спирмана составляет 0,985 (при $p=0,05$). С помощью предложенного метода серийного определения альбумина в моче можно достоверно определять уровни альбумина, начиная с 10-15 мг/л, что позволяет применять этот метод для выявления микроальбуминурии.

ВЫВОДЫ

В ходе экспериментов была создана система нанесения, обеспечивающая внесение точных количеств образцов, и разработано специализированное программное обеспечение «Эксперт-Лаб Видеодот» для регистрации результатов дот-анализа. Предложены простые и производительные методы серийного определения глюкозы в сыворотке и цельной крови и альбумина в моче. Аналитические характеристики разработанных методов отвечают требованиям по качеству, предъявляемым к определению этих аналитов. Сравнительный анализ результатов, полученных по предлагаемой нами технологии и референсными лабораторными методами, доказал высокую аналитическую надежность разработанных нами методов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vengerov Y.Y., Voloshuk S.G., Barsky V.E. et al. Multifield image analysis approach: imagers, hardware, software // 1st International Meeting on Imaging Technique in Planar Chromatography (ITPC'99). – 1999. – Jezersko (Slovenia), eds. Vovk I., Prosek M., Medja A. – P.73-76.
2. Венгеров Ю.Ю. Микроминиатюризация лабораторных технологий: перспективы и проблемы // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – N9. – С. 5.

3. Старовойтова Т.А., Волощук С.Г., Максимова Е.В. и др. Высокопроизводительные скрининг методы на основе микро-дот анализа с видеоцифровой регистрацией. // Клиническая лабораторная диагностика . – 1999. – №10. – С. 16.
4. Венгеров Ю.Ю., Барский В.Е., Папченко А.А. и др. Способ проведения клинического и биохимического анализа биологических жидкостей и устройство для его осуществления (варианты). // Патент на изобретение № 2157994, Бюл. №29 от 20.10.2000
5. Волощук С.Г., Старовойтова Т.А., Кутвицкий В.А., Туголуков А.Е., Зайко В.В., Стериополо Н.А., Егоров Е.Е. , Барский В.Е. , Мартынкина Л.П. , Венгеров Ю.Ю.. Системы видеоцифрового анализа для лабораторной диагностики. Аппаратура и программное обеспечение. // Лабораторная медицина. – 2002. – №5. – С. 82-87.
6. Зайко В.В., Старовойтова Т.А., Волощук С.Г., Стериополо Н.А., Мартынкина Л.П., Кутвицкий В.А., Туголуков А.Е., Тогузов Р.Т., Венгеров Ю.Ю. Системы регистрации и анализа изображений для задач клинической лабораторной диагностики. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. - №10. - С. 25-26.
7. Венгеров Ю.Ю., Барский В.Е., Волощук С.Г., Егоров Е.Е., Туголуков А.Е., Кутвицкий В.А., Мартынкина Л.П., Зайко В.В., Черных В.С., Старовойтова Т.А., Стериополо Н.А., Калачева О.С. Способ проведения клинического и биохимического анализа биологических жидкостей. // Патент № 2325644, Бюл. №15 от 27.05.2008