

Кондаков С.Э.¹, Прокопцева О.С.¹, Розенштейн М.Ю.², Розенштейн А.З.², Черевко Н.А.³

Использование нового формата пробоподготовки в виде сухих пятен крови для измерения концентрации специфических IgG методом ИФА

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Российская Федерация

² Клиника ImmunoHeath, Нью-Йорк, США

³ ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Российская Федерация

Материал и методы. Технология сухих пятен крови (от англ. DBS – Dried Blood Spot) в последние годы получает все более широкое распространение в медицине. Для получения сухих пятен образец жидкой крови пациента по каплям наносят на специальную мембранную карточку из целлюлозного материала и высушивают. Полученный таким образом образец обладает высокой стабильностью при хранении и транспортировке даже при комнатной температуре, что дает возможность направлять сухие образцы крови и различных биологических жидкостей в диагностическую лабораторию посредством курьерской или почтовой службы без использования холодовой цепи. Для проведения анализа из мембраны специальным устройством вырезают круг определенного диаметра, с которого элюируют содержащийся на этом участке высушенный образец. Далее в полученном растворе проводят выявление исследуемых веществ стандартными аналитическими методами. Нами был предложен новый формат пробоподготовки в виде сухих пятен на полосках мембраны из пористого стекловолоконного материала.

Данный формат был успешно применен нами для отбора, хранения и анализа сухих образцов крови для определения титров специфических иммуноглобулинов класса IgG методом иммуноферментного анализа (ИФА) для оценки индивидуальной пищевой непереносимости, опосредованной иммунопатологическими реакциями III типа.

Адаптация коммерческих диагностических наборов для выявления антител в сухих образцах биологических жидкостей зависит от требуемого конечного разведения исследуемого образца для конкретной диагностической системы, а также от типа биологической жидкости, нанесенной на мембрану. В работе использовали образцы сухой цельной крови добровольцев, адсорбированной на стекловолоконной мембране емкостью около 15 мкл жидкости на один маркированный квадратный участок (0,5×0,5 см). Исходя из этого можно считать, что на одном участке мембраны содержится 9–10 мкл плазмы в высушенном виде. Для получения требуемого разведения при анализе сухих образцов крови расширенной тест-системой компании «Биомерика» (Biomerica, США) с целью исключения стадии дополнительного разведения образцов участок мембраны помещали непосредственно в лунку планшета, а затем добавляли 200 мкл буфера для разведения образца. При таком подходе конечное разведение было близко к расчетному, а методика не усложнялась дополнительными стадиями. Для более правильной интерпретации результатов варьировали объем добавляемых положительного и отрицательного контролей от 5 до 15 мкл.

Варьирование отрицательного контроля практически не влияло на интерпретацию результатов. Объем добавленного положительного контроля в пределах 7–10 мкл пропорционально влиял на измеряемую оптическую плотность контрольной лунки. Наиболее точную интерпретацию результатов анализа сухих образцов крови, по сравнению с жидкими образцами сыворотки, получали при использовании аликвоты положительного контроля в объеме 8 мкл.

После установления коэффициента корреляции между образцами сыворотки в сухих пятнах крови и нативной сывороткой, полученной от пациента, была произведена оценка персональной реактивности того или иного продукта по данным измерений в первом и втором случае, как это было описано нами ранее. Результаты интерпретации полностью совпали.

Результаты и обсуждение. Нами показано, что сухие образцы крови могут быть использованы для измерения концентрации специфических IgG методом ИФА без потери качества анализа. При этом использование в качестве исследуемых проб сухих образцов цельной крови, полученных с помощью мембранных носителей, упрощает процедуру хранения и доставки образцов в лабораторию и повышает доступность данной диагностики для удаленных районов.

Кромер В.В.

«Минус фунт» – система нормализации массы тела человека на основе принципов теории автоматического управления

ГАУ ДПО НСО «Новосибирский институт повышения квалификации и переподготовки работников образования», Новосибирск, Российская Федерация

6 лет назад нами была предложена система нормализации массы тела (МТ) человека «Минус фунт» (МФ). В основе системы лежит предположение, что уровень основного обмена (УОО) человека не снижается при отрицательном дисбалансе, не превышающим (по модулю) 400 ккал. Данное предположение подтверждается пилотажным исследованием, опытом использования системы МФ и практикой еще применяющегося, к сожалению,