



Харківський національний медичний  
університет  
Кафедра медичної і біоорганічної хімії



*Матеріали  
студентської інтернет конференції*

# **НОВІТНІ АНАЛІТИЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ В ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ**

**IV медичний факультет,  
спеціальність «Технологія медичної діагностики та лікування»**

**114.01.2020р.**

Харків  
2020 р.

НОВІТНІ АНАЛІТИЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ В ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ. СПЕКТРОФОТОМЕТРІЯ	
Костюк В. Науковий керівник Завада О.О.....	3
ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ	
Велика О. Науковий керівник - Завада О. О.....	4
ФЛУОРИМЕТРІЯ	
Жеребна Є. Науковий керівник: Завада О.О.....	5
ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ	
Клименко П. С. Науковий керівник - Завада О. О.....	7
ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ: ВІД СВІТЛОВОГО МІКРОСКОПУ ДО ГЕМАТОЛОГІЧНИХ АНАЛІЗАТОРІВ	
Хнанішо А.О. Науковий керівник - Завада О. О.....	8
ПРОТОЧНА ЦИТОМЕРІЯ	
Астанкова Е. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	13
ФЛУОРИМЕТРІЯ	
Горбенко Є. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	15
ДІАГНОСТИЦАТОМНО АБСОРБЦІЙНА СПЕКТРОМЕТРІЯ	
Гур'янов В. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	17
МАТРИЧНО-АКТИВОВАНА ЛАЗЕРНА ДЕСОРБЦІОННО-ІОНІЗОВАНА ЧАСОПРОЛЪОТНА МАСС-СПЕКТРОМЕТРІЯ	
Резнік О. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	18
ТУРБІДИМЕТРИЧНИЙ МЕТОД	
Мартіянова К. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	20
ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ МЕТОД АНАЛІЗУ	
Ніколаєнко М. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	21
ЕЛЕКТРОФОРЕЗ БІЛКА	
Ушкварок А. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	22
ІМУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ	
Хорошун О. Науковий керівник - Тюпова А. І.....	24
КЛИНИЧЕСКИЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ	
Батюк Д. Науковий керівник: Завада О.О.....	26

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКОЗИРОВАННОГО ГЕМОГЛАБИНА

Ветрова В. Науковий керівник: Завада О.О.....27

РЕФРАКТОМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В СИРОВАТЦІ  
(ПЛАЗМІ) КРОВІ

Сливчак Г.С. ТМДЛ-18-1 Науковий керівник: Завада О.О.....29

# НОВІТНІ АНАЛІТИЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ В ЛАБОРАТОРНІЙ ДІАГНОСТИЦІ. СПЕКТРОФОТОМЕТРІЯ.

*Костюк Вероніка. ТМД18-1. Науковий керівник Завада О. О.*

**Вступ.** На сьогоднішній день дуже важливим є діагностика у повсякденному житті . Завдяки їй люди можуть дізнатись про свій стан здоров'я. Спектрофотометрія займає , мабуть , виняткове місце серед інших фізико-хімічних методів аналізу .

**Актуальність.** У теперішній час дуже актуальний такий метод аналізу , як спектрофотометрія. Він має важливе діагностичне значення в медицині. Тому що завдяки цьому методу можна діагностувати багато хвороби, такі як атеросклероз і у подальшому запобігти їх розвитку.

**Мета роботи** – Дослідити і вивчити новітні аналітичні методи такі як спектрофотометрія.

## **Основи методу.**

- Слово «спектр» в перекладі з латинської означає «поява» або «схема»
- Спектри почали вивчатись ще у 1666 р. І. Ньютоном.( Він першим за допомогою призми розщепив сонячне світло на спектральні складові.)
- В основу спектрофотометрії положений такий метод , як спектроскопія ( почала вивчатися з 1834 р.)
- По спектрам поглинання кількісний аналіз оснований на законі Бугера-Ламберта-Беера , відбиває лінійну залежність оптичної щільності і її похідних від концентрації розчину і товщини яка поглинає шару

## **Недоліки спектроскопії**

- Спектр мають невелике число смуг поглинання;
- Накладення спектрів;
- Недостатня вибірковість

## **Прилад який застосовується в спектрофотометрії**

- Спектрофотометр – це прилад який використовується в спектрофотометрії , для визначення складу речовини за допомогою спектру .

– Головні завдання - це розрахунок колірних координат і побудова спектральної кривої вимірюваного об'єкта.

### **Переваги спектрофотометра**

- Скорочено час отримання спектра;
- Дані експерименту відображаються в графічному вигляді;
- Оперативно застосовуються різні способи обробки отриманих даних;
- Збільшена точність реєстрації та обробки вимірювань;
- Розширено діапазон вимірювань оптичної щільності.

### **Застосування в Спектрофотометрії**

– Спектрофотометрію застосовують в медичній діагностиці для якісного та кількісного аналізу. Наприклад:

- Аналіз електронного спектра поглинання фенілтіоціаната;
- Кількісний аналіз нітросполук ;
- Спектральний аналіз м'яких тканин;
- Визначення білка в сечі.

**Висновок:** Отже спектрофотометрія дуже актуальна в наш час. Тому що с початком розвитку цього аналітичного методу можна набагато швидше і якісніше отримувати результати аналізу , ніж це було раніше . Я вважаю , що завдяки цьому методу можна запобігти розвитку хвороби зв'язані з серцево-судиною системою.

## **ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ**

*Велика О. Науковий керівник - Завада О. О.*

Газову хроматографію застосовують для поділу летючих термічно стійких речовин з молекулярною масою до 500. Вона має величезне значення як для якісного, так і кількісного аналізу і завдяки високій чутливості дозволяє виявляти мікрограммових кількостей речовин (до  $10^{-6}$  г).

Переваги методу:

- ідентифікація і кількісного визначення індивідуальних компонентів складних сумішей;
- вивчення різних властивостей речовин та фізико-хімічних взаємодій в газах, рідинах і на поверхні твердих тіл;
- висока чіткість розділення речовин та мала тривалість процесу, що обумовлено низькою в'язкістю рухомої фази;
- можливість дослідження мікропроб і автоматичного запису отриманих результатів із застосуванням високочутливих приладів
- швидкість виконання дослідження (30-40 хв);
- висока інформативність (орієнтовна ідентифікація збудника по спектру до роду та виду);
- висока чутливість (10-6 г / л);
- можливість проведення дослідження *біологічних рідин організму при важкодоступній локалізації патологічного вогнища;*
- можливість *контролю ефективності лікування*

Використання методу газової хроматографії в клінічній діагностиці дає змогу аналізувати органічні кислоти у сечі, на відміну від інших методів які не можливо використати в таких цілях.

Аналіз сечі методом сухої хімії: визначення параметрів сечі за допомогою тест-смужок на автоматичному аналізаторі (колір, прозорість, питома вага, рН, білок, глюкоза, білірубін, уробіліноген, кетонів тіла, нітрити, гемоглобін). Аналіз сечі методом Штернгеймера-Мальбіна: дозволяє виявити в сечі патологічно змінені лейкоцити за допомогою спеціального фарбування. Вважається, що наявність клітин Штернгеймера - Мальбіна в сечі специфічно насамперед для пієлонефриту і відображає активність процесу

## **ФЛУОРИМЕТРІЯ**

*Жеребна Є. ТМДЛ-18-1 Науковий керівник: Завада О.О.*

Одним з найбільш ефективних додаткових методів контролю гомеостазу живих систем є флуоресцентний метод. Флуоресценція - це

випускання, що відбувається при поверненні спареного електрона на більш низьку орбіталь. Спектр випускання речовини являє собою залежність інтенсивності випускання від довжини хвилі при фіксованій довжині хвилі збудження світла.

Флуоресценцію визначають в розчинах з концентрацією від  $10^{-5}$  М іменш, в діапазоні, для якого спостерігається пряма залежність інтенсивності флуоресценції від концентрації. При більш високих концентраціях все більш значна частина надходить світла абсорбується зразком поблизу поверхні кювети, і лінійна залежність величини сигналу від концентрації що визначається речовини порушується.

Спектри флуоресценції специфічні для визначених речовин. Тому флуоресценція може бути застосована для їх ідентифікації.

При кількісних визначеннях інтенсивність флуоресценції розчину випробуваного зразка порівнюють з інтенсивністю флуоресценції розчину стандартного зразка флуоресціюючого речовини відомої концентрації, вимірної в ідентичних умовах на одному і тому ж приладі

Методи дослідження флуоресценції конкретних речовин мають високу чутливість, а також зручним тимчасовим діапазоном, так як випускання флуоресценції відбувається через  $10^{-8}$  с (10 нс) після поглинання світла. За цей час відбувається безліч різних молекулярних процесів, які впливають на спектральні характеристики флуоресціюючого з'єднання. В даний час створені прилади, що дозволяють вимірювати флуоресценцію  $10^{-18}$  з зонда в живій клітині за час близько  $10^{-5}$  с, що набагато перевершує чутливість і швидкодія навіть таких чутливих методів, як радіоізотопний і імуноферментний.

Для проведення флуориметричного аналізу використовують прилади двох типів: фільтраційний флуориметр і спектрофлуориметр.

## ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ

*Клименко П. С. Науковий керівник - Завада О. О.*

Існують, реакції, наприклад, за участю перекису, при яких енергія виділяється у вигляді світла: це явище носить назву хемілюмінісценції. Процеси життєдіяльності супроводжуються хемілюмінісцентним випромінюванням (власна хемілюмінісценції клітин і тканин), обумовленим в основному реакціями за участю вільних радикалів. Деякі організми мають здатність випромінювань світло, видимий неозброєним оком, що називається біолюмінісценція. Вона характерна для деяких грибів, мікроорганізмів, безхребетних. Вперше явище хемілюмінісценції було виявлено в середині ХХ століття італійськими астрономами Л. Коллі і В. Фаччині у вигляді світіння непігментовані тканин рослин.

Хемілюмінісцентний метод діагностики — медико-біологічний метод діагностики різноманітних паталогічних станів та захворювань організму, який базується на результатах всебічного дослідження процесів регуляції вільнорадикального окиснення (ВРО) методом хемілюмінісценції біологічного матеріалу.

Вивчення хемілюмінісценції біологічних об'єктів показує її зв'язок зі вільнорадикальним окисненням в організмі, що протікає без участі ферментів за рахунок відновлення молекулярного кисню до його активних форм: супероксидного аніон-радикала, гідроксильного радикала, синглетно кисню. Основним джерелом цих сполук є аутоокислення ліпідів, головним чином ненасичених жирних кислот, при якому виділяється вільні радикали, які взаємодіють з киснем з утворенням пероксидів.

Вимірювання хемілюмінісценції здійснюється у природних умовах без необхідності спеціальної підготовки матеріалу для дослідження. Для вимірювання хемілюмінісценції використовується хемілюмінісцентна установка ХЛМ-003. Перевагами Х.м.д. є можливість прямої реєстрації реакційноздатних нестабільних короткоживучих радикалів з високою чутливістю; техніка реєстрації хемілюмінісценції проста і доступна, повністю



безпечна для пацієнта, не вимагає спеціальних лабораторних умов і підготовки піддослідного, може виконуватися без відриву від виробництва, що є особливо цінним під час масових профілактичних оглядів і диспансеризації населення.

## **ГЕМАТОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ: ВІД СВІТЛОВОГО МІКРОСКОПУ ДО ГЕМАТОЛОГІЧНИХ АНАЛІЗАТОРІВ**

*Хнанішо А.О. Науковий керівник - Завада О. О.*

В крові міститься три види клітин:

- лейкоцити, що забезпечують імунний захист;
- тромбоцити, які відповідають за згортання крові;
- еритроцити, які здійснюють транспорт кисню і вуглекислого газу.

Ці клітини знаходяться в крові в цілком певних кількостях. Їх зумовлюють вік людини і стан його здоров'я. Залежно від умов, в яких знаходиться організм, кістковий мозок виробляє стільки клітин, скільки їх потрібно організму. Тому, знаючи кількість певного виду клітин крові і їх форму, розмір та інші якісні характеристики, можна впевнено судити про стан і поточних потребах організму. Саме ці ключові параметри - кількість клітин кожного виду, їх зовнішній вигляд і якісні характеристики - складають загальний клінічний аналіз крові.

При проведенні загального аналізу крові проводять підрахунок кількості еритроцитів, тромбоцитів і лейкоцитів. З лейкоцитами складніше: їх кілька видів, і кожен вид виконує свою функцію. Виділяють 5 різних видів лейкоцитів:

- нейтрофіли, що нейтралізують в основному бактерії;
- еозинофіли, що нейтралізують імунні комплекси антиген-антитіло;
- базофіли, які беруть участь в алергічних реакціях;
- моноцити - головні макрофаги і утилізатори;
- лімфоцити, що забезпечують загальний і місцевий імунітет.

У свою чергу, нейтрофіли за ступенем зрілості поділяють на: паличкоядерні, сегменто, міелоцити, метаміелоцити.

Відсоток кожного виду лейкоцитів в їх загальному обсязі називають лейкоцитарною формулою, яка має важливе діагностичне значення. Наприклад, чим більше виражений бактеріальний запальний процес, тим більше нейтрофілів в лейкоцитарній формулі. Наявність нейтрофілів різного ступеня зрілості говорить про тяжкості бактеріальної інфекції. Чим гостріше процес, тим більше в крові паличкоядерних нейтрофілів. Поява в крові метаміелоцитів і міелоцитів говорить про вкрай важкої бактеріальної інфекції. Для вірусних захворювань характерно збільшення лімфоцитів, при алергічних реакціях - збільшення еозінофілів.

Крім кількісних показників, вкрай важлива морфологія клітин. Зміна їх звичайної форми і розмірів також свідчить про наявність певних патологічних процесів в організмі.

Важливий і найбільш відомий показник - кількість в крові гемоглобіну - складного білка, що забезпечує надходження кисню до тканин і виведення вуглекислого газу. Концентрація гемоглобіну в крові - головний показник при діагностиці анемії.

Ще один з важливих параметрів - це швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ). При запальних процесах у еритроцитів з'являється властивість злипатися один з одним, утворюючи невеликі згустки. Володіючи більшою масою, злиплі еритроцити під дією сили тяжіння осідають швидше, ніж поодинокі клітини. Зміна швидкості їх осідання в мм / год є простим індикатором запальних процесів в організмі.

Кров брали саме з безіменного пальця, на що були цілком серйозні причини: анатомія цього пальця така, що його травмування дає мінімальну загрозу сепсису в разі інфікування ранки. Забір крові з вени вважався куди більш небезпечним. Тому аналіз венозної крові не був рутинним, а призначався за потребою, і в основному в стаціонарах.

Варто зазначити, що вже на етапі забору починалися значні похибки. Наприклад, різна товщина шкіри дає різну глибину уколу, разом з кров'ю в пробірку потрапляла тканинна рідина - звідси зміна концентрації

крові, крім того, при тиску на палець клітини крові могли руйнуватися. Для підрахунку різних клітин потрібні були різні пробірки. Для еритроцитів - з фізіологічним розчином, для лейкоцитів - з розчином оцтової кислоти, де еритроцити розчинялися, для визначення гемоглобіну - з розчином соляної кислоти. Окремий капіляр був для визначення ШОЕ. І на останньому етапі робився мазок на склі для подальшого підрахунку лейкоцитарної формул.

Для підрахунку клітин під мікроскопом в лабораторній практиці використовувався спеціальний оптичний прилад, запропонований ще в ХІХ столітті російським лікарем, ім'ям якого цей прилад і був названий - камера Горяєва. Вона дозволяла визначити кількість клітин в заданому мікрообсязі рідини і представляла собою товсте предметне скло з прямокутним поглибленням (камерою). На неї була нанесена мікроскопічна сітка. Зверху камера Горяєва накривалася тонким покривним склом. Ця сітка складалася з 225 великих квадратів, 25 з яких були розділені на 16 малих квадратів. Еритроцити вважалися в маленьких смугастих квадратах, розташованих по діагоналі камери Горяєва. Причому існувала певна правило підрахунку клітин, які лежать на кордоні квадрата. Розрахунок числа еритроцитів в літрі крові здійснювався за формулою, виходячи з розведення крові і кількості квадратів в сітці. Після математичних скорочень досить було пораховані кількість клітин в камері помножити на 10 в 12-го ступеня і внести в бланк аналізу.

Лейкоцити вважали тут же, але використовували вже великі квадрати сітки, оскільки лейкоцити в тисячу разів більше, ніж еритроцити. Після підрахунку лейкоцитів їх кількість множили на 10 в 9-го ступеня і вносили в бланк. У досвідченого лаборанта підрахунок клітин займав в середньому 3-5 хв. Методи підрахунку тромбоцитів в камері Горяєва були дуже трудомісткі через малу величину цього виду клітин. Оцінювати їх кількість доводилося тільки на основі забарвленого мазка крові, і сам процес був теж досить трудомістким. Тому, як правило, кількість тромбоцитів розраховували тільки за спеціальним запитом лікаря.

Зараз повністю змінилася технологія забору крові. На зміну скарифikator і скляним капілярах з пробірками прийшли вакуумні контейнери. Використовуються тепер системи забору крові малотравматичні, процес повністю уніфікований, що значно скоротило відсоток похибок на цьому етапі. Вакуумні пробірки, що містять консерванти і антикоагулянти, дозволяють зберігати і транспортувати кров від точки забору до лабораторії. Саме завдяки появі нової технології стало можливим здавати аналізи максимально зручно - в будь-який час, в будь-якому місці.

На перший погляд, автоматизувати такий складний процес, як ідентифікація клітин крові і їх підрахунок, здається неможливо. Але, як завжди, все геніальне просто. В основі автоматичного аналізу крові лежать фундаментальні фізичні закони. Технологія автоматичного підрахунку клітин була запатентована в далекого 1953 році американцями Джозефом і Уолессом Культера. Саме їх ім'я стоїть в назву світового бренду гематологічного обладнання Beckman & Coulter.

Апертурная-імпедансний метод (метод Культера або кондуктометрический метод) заснований на підрахунку кількості та оцінці характеру імпульсів, що виникають при проходженні клітини через отвір малого діаметру (апертуру), по обидва боки якого розташовані два електроди. При проходженні клітини через канал, заповнений електролітом, зростає опір електричному струму. Кожне проходження клітини супроводжується появою електричного імпульсу. Щоб з'ясувати, яка концентрація клітин, необхідно пропустити через канал певний обсяг проби і порахувати кількість з'явилися імпульсів. Єдине обмеження - концентрація проби повинна забезпечувати проходження через апертуру тільки однієї клітини в кожен момент часу.

Сучасні апарати BeckmanCoulter використовують метод багатопараметричної проточної цитометрії на основі запатентованої технології VCS (Volume-Conductivity-Scatter). VCS-технологія має на увазі оцінку обсягу клітини, її електропровідність і світлорозсіювання.

Перший параметр - обсяг клітини - вимірюється з використанням принципу Культера на основі оцінки опору при проходженні кліткою апертури при постійному струмі. Величину і щільність клітинного ядра, а також її внутрішній склад визначають за допомогою вимірювання її електропровідності в змінному струмі високої частоти. Розсіювання лазерного світла під різними кутами дозволяє отримати інформацію про структуру клітинної поверхні, гранулярності цитоплазми і морфології ядра клітини. Отримані по трьох каналах дані комбінуються і аналізуються. В результаті клітини розподіляються по кластерам, включаючи поділ за ступенем зрілості еритроцитів і лейкоцитів (нейтрофілів). На основі отриманих вимірів цих трьох розмірностей визначається безліч гематологічних параметрів - до 30 в діагностичних цілях, більше 20 в дослідницьких цілях і понад сто специфічних розрахункових параметрів для вузькоспеціалізованих цитологічних досліджень. Дані візуалізуються в 2D- і 3D-форматах. Лікар-лаборант, який працює з гематологічним аналізатором BeckmanCoulter, бачить результати аналізу на моніторі приблизно в такому вигляді.

А далі приймає рішення - чи треба їх верифікувати чи ні. Чи варто говорити, що інформативність і точність сучасного автоматичного аналізу у багато разів вище мануального? Продуктивність машин подібного класу - близько сотні зразків за годину при аналізі тисяч клітин в зразку. Згадаймо, що при мікроскопії мазка лікарем аналізувалося тільки 100 клітин!

Однак незважаючи на ці вражаючі результати, саме мікроскопія досі поки залишається «золотим стандартом» діагностики. Зокрема, при виявленні апаратом патологічної морфології клітин зразок аналізується під мікроскопом вручну. При обстеженні хворих з гематологічними захворюваннями мікроскопія пофарбованого мазка крові проводиться тільки вручну досвідченим лікарем-гематологом. Саме так, вручну, додатково до автоматичного підрахунку клітин, виконується оцінка лейкоцитарної формули у всіх дитячих

аналізах крові на замовлення, зробленим за допомогою лабораторного онлайн-сервісу LAB4U.RU.

Технології автоматизованого гематологічного аналізу продовжують активно розвиватися. По суті вони вже замінили мікроскопію при виконанні рутинних профілактичних аналізів, залишивши її для особливо значущих ситуацій. Ми маємо на увазі дитячі аналізи, аналізи людей, що мають підтверджені захворювання, особливо гематологічні. Однак в доступному для огляду майбутньому і на цій ділянці лабораторної діагностики лікарі отримають апарати, здатні самостійно виконувати морфологічний аналіз клітин з використанням нейронних мереж. Знизивши навантаження на лікарів, вони в той же час підвищать вимоги до їх кваліфікації, оскільки в зоні прийняття рішень людиною залишаться тільки нетипові та патологічні стани клітин. Кількість інформативних параметрів аналізу крові, що збільшилися багаторазово, піднімає вимоги до професійної кваліфікації і лікаря-клініциста, якому необхідно аналізувати поєднання значень маси параметрів в діагностичних цілях. На допомогу лікарям цього фронту йдуть експертні системи, які, використовуючи дані аналізатора, надають рекомендації щодо подальшого обстеження пацієнта і видають можливий діагноз.

## **ПРОТОЧНА ЦИТОМЕРІЯ**

*Астанкова Е. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Проточна цитометрія – дослідницька технологія, що дозволяє на основі вимірів оптичних параметрів, охарактеризувати фізичні та біохімічні властивості клітин. В ході аналізу одночасно виробляють фотометрію і флуориметр окремих клітин, які в складі ламінарного потоку рідини по черзі пересувають монохроматичний світловий потік, створюваний лазером.

Проточна цитометрія дозволяє охарактеризувати фізичні та біохімічні властивості суспензії клітин в діапазоні їх розмірів від 0,2 до 150 м.

Переваги методу проточної цитометрії:

1. Короткий час аналізу (за рахунок високої швидкості руху клітин по капілярам до 1 тисячі клітин/с);

2. Аналіз великої кількості клітин (до 108 клітин);

3. Висока точність вимірювання інтенсивності флуоресценції і світлорозсіювання.

Зразками є: кістковий мозок, ліквор, суглобна, плевральна або асцитична рідини, а також суспендовані клітини крові і різних тканин.

В ході аналізу:

Можливо визначати 5-10 різних параметрів клітини: розмір, зміст ДНК, білків (цитокінів, транскрипційних факторів) і ліпідів, антигенні властивості і активність ферментів, а також можливі дослідження клітинного циклу, моніторинг стану вірусного процесу, кількісний аналіз внутрішньоклітинних компонентів і кількісні вимірювання шляхом диференціювання інтенсивності розсіювання / флуоресценції при різних довжинах хвиль.

Проточна цитометрія в її сучасних варіантах -мультіпараметрический аналіз. Це дозволяє мінімізувати необхідний обсяг біологічного матеріалу (до 100 мкл), знизити час пробопідготовки і фактичного аналізу, скорочуючи тим самим, шлях від отримання зразка до клінічної інтерпретації результату - відповіді лабораторії клініці

Недоліки: Проходячи через системи приладу клітини піддаються деяким несприятливим впливам (лазерне випромінювання, перепади тиску) що трохи знижує відсоток життєздатних клітин на виході в порівнянні з вихідним матеріалом. Також, при сортуванні на проточному цитометрі буває скрутним дотримання абсолютної стерильності, що обмежує застосування даного методу в клінічній практиці.

**ВИСНОВОК:** Таким чином, можна зробити висновок про те, що метод проточної цитометрії є перспективним напрямком, має безліч переваг, функцій і має високу чутливість і швидкість аналізу. Різностямованість методу дозволяє використовувати його в різних сучасних і значущих клінічних напрямках і наукових дослідженнях. В даний час створюється все більш

універсальні і багатофункціональні цитометрії, розробляються більш потужні системи управління, роблячи даний метод раціональніше і актуальніше в сучасному світі, і зокрема в медицині

Список використаних джерел:

1. Хайдуков С.В., Зурочка А.В. Проточна цитометрія як сучасний метод аналізу в біології та медицині, М. 2007.

2. Ісаєв В.Л., Пінчук В.Г., Ісаєва Л.М. Сучасні методи автоматизованих цитологічних досліджень. - Київ: Наук. думка, 1988. - 218 с.

3. Полетаєв А.І. Проточна цитометрії та сортування в цитології, молекулярної біології, біотехнології та медицині. М., ВІНІТІ, 1989, 87с.

## **ФЛУОРИМЕТРІЯ**

*Горбенко Є. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Флуорометр, або люмінесцентна спектрофлуорометрія, є методом аналізу, заснованим на вимірі флуоресценції.

Флуоресценція - випускання світла хімічною речовиною, що знаходиться в збудженому стані, при переході в основний стан.

Початковий перехід речовини з основного в збуджений стан відбувається за рахунок поглинання ним світлової енергії, при опроміненні ультрафіолетовим, видимим або іншим електромагнітним випромінюванням.

Метод флуорометрії є високочутливим, але флуоресцентними властивостями володіє обмежене коло з'єднань: ароматичні, гетероциклічні та карбонільні сполуки.

Спектр випускання флуоресценції є залежність інтенсивності флуоресценції від довжини хвилі або частоти.

Для подальшого розвитку методу флуорометрії перспективна для використання в якості джерел збудливого випромінювання безелектродних розрядних трубок з парами металів, що живляться мікрохвильовим УВЧ генератором



Це бажано не тільки для флуориметрії. Насичення парової фази - важливий фактор у всіх поверхневих методах сканування *in situ*, але флуоресцентні вимірювання найбільш придатні для отримання лінійних залежностей.

Кількісний люмінесцентний аналіз (або так звана флуориметрія) заснований на передбачуваній залежності між інтенсивністю люмінесценції і концентрацією аналізованої речовини. При флуориметричних визначеннях виходять з пропорційності інтенсивності люмінесценції кількості поглинаючих і випромінюючих центрів і частці поглиненого світла

Як правило, чутливість флуориметричного методу значно вища фотометричного. Головною умовою успішного застосування люмінесцентних реакцій для кількісного аналізу є досить повне перетворення поглинутої енергії в люмінесцентне випромінювання. Флуориметричне вимірювання виконуються як візуально, так і за допомогою об'єктивних методів реєстрації виникає випромінювання.

Фільтровий флуориметр ФЛЮОРАТ-02-2М використовується при



виконанні рутинних вимірювань об'єктів, для яких попередньо встановлено спектральні характеристики люмінесценції.

Селекція світлових потоків здійснюється спеціально підібраними світлофільтрами. Як джерело світла використовується імпульсна ксенонова лампа високого тиску, що забезпечує достатні світлові потоки у всьому

спектральному діапазоні оптичних методів - від жорсткого ультрафіолету до червоної межі видимого світла.

Список використаних джерел:

1. <https://www.lumex.ru/methods/lyumineszczenciya.php>

2. <https://chem21.info/info/433708/>

## **ДІАГНОСТИЦІАТОМНО АБСОРБЦІЙНА СПЕКТРОМЕТРІЯ**

*Гур'янов В. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Атомна абсорбція – процес поглинання електромагнітного випромінювання специфічної довжини хвилі атомом в основному стані з переходом в збуджений стан. Атоми в основному стані поглинають енергію з резонансної частотою, і внаслідок такого резонансного поглинання електромагнітне випромінювання ослабляється. Поглинена енергія фактично прямо пропорційна кількості присутніх атомів.

Атомно-абсорбційна спектрометрія – техніка визначення концентрації елемента у випробуваному зразку шляхом вимірювання поглинання електромагнітного випромінювання атомним паром елемента випробуваного зразка. Випробування проводять при довжині хвилі однієї з ліній поглинання (резонансних ліній) елемента. Кількість поглиненого випромінювання, в Відповідно до закону Бугера-Ламберта-Бера, пропорційно концентрації елемента.

Визначення проводять шляхом порівнювання зі стандартними розчинами з відомими змістами визначається елемента методом калібрувального графіка (метод I), або методом стандартних добавок (метод II).

Атомно-абсорбційний спектрометр виводять на режим відповідно до інструкцією заводу-виробника і встановлюють необхідну довжину хвилі. У генератор атомного пара вводять контрольний розчин і налаштовують реєструючий пристрій на максимум пропускання. Значення для контрольного розчину може бути визначено шляхом використання розчинника для установки приладу на нульове значення. вводять розчин порівняння визначається елемента з найбільшою концентрацією і налаштовують прилад так, щоб

отримати максимальний реєстрований сигнал. Щоб уникнути забруднення і ефекту пам'яті ретельно промивають прилад. Після завершення аналізу прилад промивають водою Р або підкисленою водою.

Методи атомно-абсорбційної спектрометрії застосовують в аналізі практично будь-якого технічного або природного об'єкта. Сучасні методики АА визначення дозволяють визначити зміст майже 70 елементів періодичної системи. З технічних об'єктів методами атомно-абсорбційної спектрометрії аналізують метали, сплави, продукти гідрометалургійної переробки руд і так далі. Наприклад, в золоті визначають зміст срібла, свинцю і міді, в ґрунтах, добривах, рослинах - цинк, залізо, магній, мідь і інші елементи. Даний метод часто використовують у клінічних та різних біологічних аналізах (кров, сироватка крові та інші) на визначення свинцю, ртуті та вісмуту.

## **МАТРИЧНО-АКТИВОВАНА ЛАЗЕРНА ДЕСОРБЦІОННО-ІОНІЗОВАНА ЧАСОПРОЛІТНА МАСС-СПЕКТРОМЕТРІЯ**

*Резнік О. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Технологія MALDI-ToF MS (Matrix-Assisted Lazer Desorption Ion-ization Time-of-Flight Mass Spectrometry – матрично-активована лазерна десорбція іонізація з часопролітною поділом) – один з напрямків лабораторної діагностики інфекційних захворювань, який активно розвивається в останні роки. В основі методу лежить процедура м'якої іонізації досліджуваного матеріалу (аналіту), що дозволяє в присутності особливої речовини, так званої матриці, під впливом лазера іонізувати біологічні макромолекули (пептиди, білки, ДНК, олігонуклеотиди, ліпополісахариди і цукри) без їх фрагментації і деструкції.

Матриця-речовина кислої природи, яка будучи сокрystalлізована з аналітом, при впливі лазерного імпульсу забезпечує передачу енергії лазера молекулам досліджуваного об'єкта, іонізуючи їх та переводячи в газову фазу. Найбільш широко застосовується а-ціано-4-гідроксикоричні кислота, сінапінова кислота, ферулова кислота і дігідробензойна кислота.

Після десорбції переважно однозарядні іонізовані молекули прискорюються в електричному полі, потрапляють в розділову частину приладу (що представляє собою трубу, в порожнині якої підтримується вакуум), після проходження якої іони досягають детектора. Швидкість руху і, відповідно, час проходження відстані від точки іонізації до детектора, обернено пропорційна масі іонів. Знаючи довжину шляху переміщення іона від іонізатора до детектора, а також час цього переміщення, можна обчислити швидкість руху іона і на підставі її значення, розрахувати масу частинок, присутніх в аналіті, а також генерувати спектр, що характеризує якісний склад досліджуваного об'єкта.

Однією з основних областей застосування MALDI-ToF MS-аналізу в біології та медицині традиційно вважалася клінічна і біологічна хімія, в якій даний метод використовувався для якісної і кількісної детекції біомолекул різної природи в клінічному матеріалі: сироватці крові, сечі, слині, цереброспинальній рідині, сльозах, фрагментах тканин .

Процедура виконання MALDI-ToF MS-аналізу досить проста і не вимагає великої кількості часу і спеціальних навичок персоналу. Для дослідження необхідна чиста культура мікроорганізму (одинична ізольована колонія), зібрана в експоненційній фазі росту. Далі можливе нанесення на спеціальну металеву підкладку-мішень чи чистої культури без додаткової обробки, або екстракту, отриманого після попередньої обробки суспензії досліджуваної культури фізичними або хімічними методами.

До недоліків методики MALDI-ToF MS-ідентифікації можна віднести високу вартість обладнання, неможливість проведення ідентифікації та міжвидової диференціації деяких груп мікроорганізмів, пов'язаної зі схожістю їх мас-спектрометричних профілів, низькою якістю спектрів через стійкість окремих об'єктів до компонентів стандартних протоколів пробопідготовки.

З огляду на високу продуктивність, швидкість аналізу і простоту методики MALDI-ToF MS-ідентифікації добре вписується в алгоритм функціонування мікробіологічних лабораторій, особливо при необхідності

масштабних скринінгових досліджень первинних посівів. Універсальність платформи MALDI-ToF MS дозволяє не тільки ідентифікувати мікроорганізм, але і визначати його властивості, наприклад, такі, як стійкість до антибактеріальних препаратів і генетичний профіль.

## **ТУРБІДИМЕТРИЧНИЙ МЕТОД**

*Мартіянова К. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Агрегація – здатність тромбоцитів з'єднуватися один з одним. Агрегацію тромбоцитів викликають різні за своєю природою речовини: тромбін, колаген, АДФ, адреналін, серотонін та ін.

Турбідиметричний метод – це метод, який заснований на вимірюванні зміни інтенсивності потоку світлової енергії, що пройшов через дисперсну систему. Зміна потоку світлової енергії викликано як поглинанням, так і його розсіюванням дисперсної системою. Метод аналогічний колориметричному методу, але в ряді випадків вимір може відбуватися в потоці «білого світлу» без застосування смугових фільтрів.

Більшість сучасних приладів може визначати і відстежувати надлишок антигенів автоматично. Вплив фонового розсіяння зменшено в ряді приладів відмовою від вимірювання розсіювання під кутом  $90^\circ$  і електронним вирахуванням фонових сигналів.

Основні компоненти, які використовуються при побудові турбідиметричних приладам, включають джерело світла, фільтр і фокусує світловий потік систему лінз, кювету з зразком і детектор з пристроями відображення і реєстрації результату. Як джерело світла зазвичай використовуються ртутні дугові, лампи, вольфрамо - йодисті лампи і гелій-неонові лазери. Лазери випромінюють монохроматичне світло, сконцентрований в вузький і інтенсивний промінь. Однак лазери дуже дорогі і можуть випромінювати обмежений набір фіксованих за частотою хвиль.



1. Флуктаційний метод – заснований на аналізі флуктуацій світлопропускання, викликаних випадковим зміною числа частинок в оптичному каналі.

2. Метод Г.Я.Левіна і М.Н.Ехоріхіной: полягає в обчисленні інтегральної оптичної щільності суспензії тромбоцитів:

а) Ступінь агрегації – за сумарною максимальною інтегральною оптичної щільності тромбоцитарних агрегатів

б) Швидкість агрегації – за сумарною інтегральною оптичної щільності тромбоцитарних агрегатів через 180 с. після початку процесу агрегації.

Перевага турбідиметричного аналізу полягає в тому, що вимірювання можуть бути виконані практично на будь-якому колориметрі або фотометрі. Підвищення чутливості турбідиметричним дослідженням може бути досягнуто за рахунок використання спектрофотометрів з високоякісними детекторами.

## **ІМУНОФЕРМЕНТНИЙ МЕТОД АНАЛІЗУ**

*Ніколаєнко М. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Імуноферментний аналіз (скорочено ІФА, англ. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) - лабораторний діагностичний імунологічний метод виявлення антигенів і антитіл, заснований на визначенні комплексу «антиген-антитіло» за рахунок введення в один з компонентів реакції ферментативної мітки з подальшою її детекцією за допомогою відповідного субстрату, що змінює своє забарвлення. ІФА виник на пограниччі двох наук – імунохімії й інженерної ензимології та став одним з найпоширеніших методів дослідження.

Чутливість методу ІФА і час проведення методики визначається кінетичними і термодинамічними характеристиками реакції антиген-антитіло, співвідношенням реагентів, активністю ферменту і роздільною здатністю методу його детекції. Кількісний аналіз імунохімічних реакцій може бути проведений по продуктам або по субстратах реакцій, які залишилися у вільному стані. Для цього використовують два основних підходи:

Перший підхід – спрямований вплив на ферментативну активність комплексу Аг-Е за допомогою пов'язаного Ат, що веде до гальмування або, навпаки, до зростання швидкості ферментативної реакції. Такою ІФА може бути реалізований в однофазній системі - в розчині і тому називається гомогенним або Рідкофазний. Це ІФА без попереднього фізичного поділу мічених лігандів від їх імунохімічних комплексів.

Другий підхід – фізичне поділ за допомогою твердої фази, що зв'язує мічений реагент. Це гетерогенний або твердофазний ІФА. В якості твердої фази використовуються стінки судин, в яких проводиться аналіз. Існує безліч варіантів постановки ІФА, з яких найбільшого поширення набув гетерогенний варіант імуноферментного аналізу, при якому антиген (обумовлений з'єднання) або антитіла фіксується на твердій фазі (лунках полістиролового планшета). Це так званий твердофазний імуноферментний аналіз. В якості твердої фази в більшості комерційних діагностичних наборів використовують полістиролові 96-тиямкові планшети або полістиролові кульки.

## **ЕЛЕКТРОФОРЕЗ БІЛКА**

*Ушкварок А. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Білковий електрофорез – це тест, який вимірює специфічні білки в крові. Тест розділяє білки в крові на основі їх електричного заряду. Тест на електрофорез білка часто використовується для пошуку аномальних речовин, званих М білками. Наявність М білків може бути ознакою типу раку, який називається мієломою, або множинною мієломою. Мієлома вражає лейкоцити,

що називаються плазматичними клітинами в кістковому мозку. Білковий електрофорез також перевіряє на інші білки та імуноглобуліни.

Тест на електрофорез білка

використовується також для діагностики інших станів, що впливають на плазматичні клітини. До них відносяться макроглобулінемія Waldenström, моноклональна гамопатія з невизначеним значенням (MGUS) та первинний амілоїдоз.

Білковий електрофорез також може бути використаний для діагностики:

- Проблеми із щитовидною залозою
- Діабет
- Анемія
- Захворювання печінки
- Погане харчування або нездатність засвоювати поживні речовини
- Певні аутоімунні захворювання

Цей тест може знадобитися, якщо є стан, що впливає на плазматичні клітини; робиться за допомогою зразка крові. Голка використовується для відбору крові з вени на руці чи руці.

Електрофорез білків підрозділяється також на одновимірний і двовимірний (2D-) електрофорез, препаративний і аналітичний, а також електрофорез нативних білків і електрофорез в присутності детергенту. Різновидом методу електрофорезу є ізоелектричного фокусування і ізотахофорез. У разі використання імунологічних методів для виявлення розділених білків говорять про імуноелектрофорез.

Ризики під час проведення тесту:

Здійснення аналізу крові за допомогою голки несе певні ризики. До них відносяться: кровотеча, інфекція, синці та почуття неміцності.

Список використаної літератури:

1. Аналитическая химия: Учебник / Под ред. Ищенко А.А.. - М.: Academia, 2017. - 512 с.



2. Вершинин, В.И. Аналитическая химия: Учебник / В.И. Вершинин, И.В. Власова, И.А. Никифорова. - СПб.: Лань, 2017. - 428 с.

3. Зенкевич, И.Г. Аналитическая химия. В 3-х т. Т.3. Химический анализ: Учебник для студ. высших учебных заведений / И.Г. Зенкевич. - М.: ИЦ Академия, 2010. - 368 с.

## **ІМУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ**

*Хорошун О. Науковий керівник - Тюпова А. І.*

Реакція імунофлюоресценції (РІФ) для визначення антигенів була запропонована у 1950 р. А. Кунсом. Даний метод ґрунтується на тому, що імуноглобуліни можуть необоротно зв'язуватись з флюоресцентними барвниками (флюорохромами) і не втрачати антитільної активності і можливості зв'язувати антигени. Імунні комплекси, що утворилися при зв'язуванні антигенів міченими антитілами виявляють за допомогою люмінісцентного мікроскопа. При опроміненні коротковолновим світлом (ультрафіолетовим, фіолетовим, синім) виявляється специфічне люмінісцентне світіння, наприклад, ізотіоціонат флюоресцеїна дає жовто-зелений колір, інші флюорохроми – інші люмінісцентні забарвлення. Хоча методи імунофлюоресценції складніші, ніж описано вище, вони матимуть значні переваги серед інших методів, а саме: можливість швидкого визначення різноманітних антигенів (бактеріальні, вірусні, внутрішньоклітинні, тканинні,) при малій кількості матеріалу; на одному предметному склі можна виявити антитіла до декількох різноманітних антигенів; при виявленні внутрішньоклітинних і тканинних антигенів можна встановити їх локалізацію. Методи флюоресценції застосовуються також для виявлення антигенів на поверхні мембран живої клітини. Існує декілька різновидів РІФ: метод прямої флюоресценції, метод непрямой флюоресценції.

Метод прямої флюоресценції використовуємо за наявності мічених флюорохромом антитіл до певного антигена. Розчин мічених імуноглобулінів

наносимо на препарат, що містить антигени (зрізи тканин, препарати бактерій або фіксованих вірусів). Проводимо інкубацію, після чого відмиваємо препарат від надлишка антитіл, а далі виявляємо зв'язані антигеном антитіла за допомогою люмінесцентного мікроскопа.

Метод непрямої флюоресценції передбачає наявність мічених флюорохромом антиімуноглобулінових антитіл, які можуть приєднуватись до Fc-фрагментів антитіл діагностичної сироватки, які вже специфічно зв'язалися з антигенами. Антиімуноглобулінові антитіла отримують шляхом імунізації кіз або баранів кролячими діагностичними сироватками. Спочатку препарати антигенів обробляють розчинами різних діагностичних сироваток (немічені антитіла), а після інкубації і відмивки надлишкової кількості антитіл препарати заливають розчином антиімуноглобулінових антитіл мічених флюорохромом. Світіння виявляють тільки в тому препараті, де відбулося специфічне зв'язування антигена з антитілами діагностичної сироватки. Непряма імунофлюоресценція у порівнянні з прямим методом має перевагу в тому, що не потребує наявності багатої кількості мічених антитіл до різних антигенів. За допомогою непрямої імунофлюоресценції можна проводити серологічну діагностику інфекційних захворювань, виявляючи антигени мікроорганізмів (наприклад мікоплазм) або антитіла у сироватці хворих.

Прямий метод дозволяє виявити і ідентифікувати антиген. Для цього потрібно мати на кожен вірус флуоресцентну сироватку

Непрямий метод дозволяє не тільки виявити і ідентифікувати антиген, але і виявити і визначити титр антитіл. Крім того, цим методом можна виявляти однієї міченої сироваткою антигени різних вірусів, тому що він заснований на використанні антивидових сироваток. Найчастіше застосовують сироватки проти глобулінів кролика, бика, коня і сироватки проти глобулінів морської свинки

Переваги РІФ: висока специфічність і чутливість; простота техніки постановки; потрібна мінімальна кількість компонентів. Це експрес-метод діагностики, так як протягом декількох годин можна отримати відповідь. До

недоліків можна віднести суб'єктивізм в оцінці інтенсивності світіння і, на жаль, іноді флуоресцентні сироватки бувають поганої якості. В даний час РІФ широко застосовують в діагностиці вірусних хвороб тварин.

## **КЛИНИЧЕСКИЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ**

*Батюк Д. Науковий керівник: Завада О.О.*

В клинической практике применяется Зональный электрофорез, когда возможно разделение смеси вещества на фракции или отдельные зоны.

Ацетатцеллюлоза – до сегодняшнего дня остается одним из самых популярных методов. Преимущества – недорогой метод. Недостатки – небольшое количество методов, невозможность проведения иммунофиксации.

Гранулированный материал (гелевый электрофорез). «Золотой стандарт в электрофорезе». Самый популярный носитель – агароза. Благодаря высокому содержанию жидкости, электрофорез идет, как в жидкой среде, в то же время структура геля уменьшает свободную диффузию, как в процессе разделения, так и после. Большой выбор методов.

Капиллярный электрофорез – самый современный и автоматизированный метод. Преимущества – высокая разрешающая способность, воспроизводимость, производительность, полная автоматизация процесса. Недостатки – перечень методов значительно ниже, чем у гелевого.

Электрофорез белков:

- Миеломная болезнь и злокачественные новообразования;
- Иммунодефициты;
- Гемоглобинопатии;
- Генетические нарушения (дефициты или аномалии белков);
- Гипопротеин и гипоальбуминемии;
- Контроль парентерального питания;
- Диагностика заболеваний печени;

Применение электрофореза в клинической диагностике:

- Наследственные патологии синтеза Hb (серповидно-клеточная анемия);

- Электрофорез гемоглобинов;
- Угнетение синтеза цепей Hb (талассемия);
- Персистенция фетального Hb;
- Электрофорез изоферментов (КК, ЛДГ, ЩФ);
- Инфаркт миокарда и ИБС – ЛДГ, КК;
- Черепно-мозговая травма – КК;
- Инфаркт легкого – ЛДГ;
- Рак печени и легких – КК;
- Дистрофия мышц – КК, ЛДГ;
- Нефротический синдром;
- Электрофорез липидов;
- Дифференциальная диагностика нарушений липидного обмена;
- Оценка риска развития атеросклероза;
- Изоэлектрофокусирование IgG;
- Диагностика рассеянного склероза;
- Цирроз печени -ЩФ;
- Обструкция желчных путей -ЩФ;
- Заболевания костных тканей, остеосаркома -ЩФ;
- Паратиреоидные расстройства –ЩФ

## **СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКОЗИРОВАННОГО ГЕМОГЛАБИНА**

*Ветрова В. Науковий керівник: Завада О.О.*

Определение гликозированного гемоглобина в настоящее время завоевало заслуженную популярность у эндокринологов и специалистов по клинической лабораторной диагностике, так как:

1. Отражает средний уровень концентрации глюкозы в крови пациента на протяжении 2-3 месяцев, предшествующих исследований

2. Позволяет в большинстве случаев обойтись без проведения теста с нагрузкой глюкозой, который не всегда безопасен для больного и может быть выполнен, если уровень глюкозы в крови на тощак превышает 6,0 ммоль/л.

Объединенная комиссия IUPAC по биохимической номенклатуре рекомендует использование термина "гликирование" для присоединения моносахарида к белку.

Методы определения гликозированного гемоглобина:

1. Колориметрические методы
2. Иммунохимические методы
3. Аффинная хроматография
4. Электрофорез
5. Высокоэффективная жидкостная хроматография
6. Ионообменная хроматография

Сравнение результатов определения, полученных иммунохимическим и хроматографическим и хроматографическим методом.

Одним из самых широко распространённых иммунохимических методов определения HbA<sub>1c</sub> является метод иммуноингибирования латексной агглютинации. В отсутствие Hb1 частицы латекса, покрытые моноклональными антителами к HbA<sub>1c</sub>, подвергаются агглютинации под воздействием синтетического полимера (агглютинатора). Такая среда обладает довольно высокой абсорбцией при турбидиметрическом исследовании. HbA<sub>1c</sub> конкурирует с агглютинатором за места связывания (антитела) на латексах частицах, уменьшая агглютинацию и, следовательно, абсорбцию.

Степень снижения абсорбции коррелирует с уровнем HbA<sub>1c</sub>.

- Указанный подход используется, например, в реагентах картриджах прибора DCA 2000 фирмы "Bayer" и наборах реактивов фирмы "Roche" для биохимических анализаторов. Лабильный HbA<sub>1c</sub> не участвует в реакции, так как удаляется в ходе предварительной подготовки образца. Использование реактивов Roche Diagnostica и программного обеспечения для выполнения методики ВЭЖХ анализатора предусматривает введение формулы,

позволяющей пересчитать результаты анализа в строгом соответствии с данными, которые были бы получены с помощью референтного метода ВЭЖХ.

Возможность автоматизации анализа, получение результата через 6-8 минут. Высокая специфичность иммунохимического метода определения HbA1c делают этот способ определения весьма привлекательным, но дорогим, чем миниколоночные методы.

Содержит данные, которые помогают сравнить и систематизировать вышеизложенный материал по нескольким основным параметрам.

Дает представление о том, какую неоднозначную картину результатов можно было бы получить, если воспользоваться различными вариантами анализа гликозилированного Hb в одном и том же образе.

## **РЕФРАКТОМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В СИРОВАТЦІ (ПЛАЗМІ) КРОВІ**

*Сливчак Г.С. ТМДЛ-18-1 Науковий керівник: Завада О.О.*

Відомо способи визначення концентрації загального білка в сироватці (плазмі) крові можна розділити на:

- азотометричний: класичний метод Кельдаля (1883) і його модифікації;
- засновані на визначенні щільності сироватки (плазми);
- гравіметричні (вагові);
- нефелометрические;
- спектрофотометричні, які полягають у вимірі ступеня світлопоглинання в ультрафіолетовій області (200-220 або 280 нм);
- колориметрические, що ґрунтуються на кольорових реакціях білків з певними реактивами або на неспецифічній зв'язуванні барвника;
- флюориметрические;
- поляриметричні;
- інші, до яких відносять амінокислотний аналіз, метод атомно-абсорбційної спектрофотометрії та ін.

Рефрактометричний спосіб заснований на здатності розчинів білка до заломлення світлового потоку. При температурі 17,5 ° С показник заломлення води дорівнює 1,3332, при тій же температурі показник заломлення сироватки коливається в межах 1,3480-1,3505. У зв'язку з тим, що концентрація електролітів і небілкових органічних сполук, що впливають на її здатність заломлення, невелика і досить постійна в сироватці, величина показника заломлення сироватки крові залежить в першу чергу від вмісту в ній білків

Калібрування приладу проводять сироваткою з відомою концентрацією білка. Простота робить рефрактометрі зручним методом для визначення вмісту білка в сироватці крові.

Однак, на показник заломлення впливають небілкові компоненти сироватки крові, наприклад мінеральні речовини, пігменти, вуглеводи, ліпіди, фракції залишкового азоту. При деяких патологічних станах їх зміст збільшується, що призводить до значних помилок у визначенні. Це стосується дослідження жовтяничних і хілезний сироваток, а також сироваток хворих на цукровий діабет і страждають уремією.