



ИММУНО- ТУРБИДИМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

*Точная диагностика-
эффективное лечение*



Основные анализы, определяемые иммунотурбидиметрическим методом

БЕЛКИ ОСТРОЙ ФАЗЫ

С-реактивный белок
α1-Кислый гликопротеид
А1-Антитрипсин
Фибриноген

МАРКЁРЫ ИНФЕКЦИОННЫХ И ИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Ревматоидный фактор
Антистрептолизин О

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

Гликозилированный гемоглобин
Альбумин (в моче)

ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН

Аполипопротеин А1
Аполипопротеин В
Липопротеид (а)

ИММУННЫЙ СТАТУС

Иммуноглобулин G
Иммуноглобулин M
Иммуноглобулин A
Комплемент C3
Комплемент C4



Точная диагностика-
эффективное лечение



Турбидиметрия – это ...

метод исследования светорассеивающих
(мутных) растворов и определения
концентрации веществ в них по
интенсивности прошедшего через
исследуемый раствор светового потока.

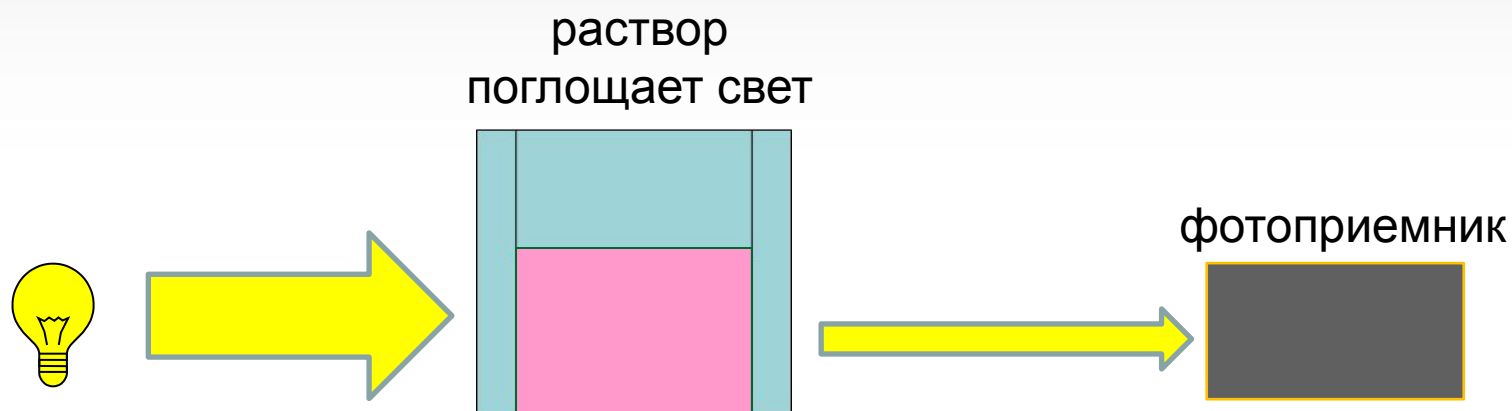


*Точная диагностика-
эффективное лечение*



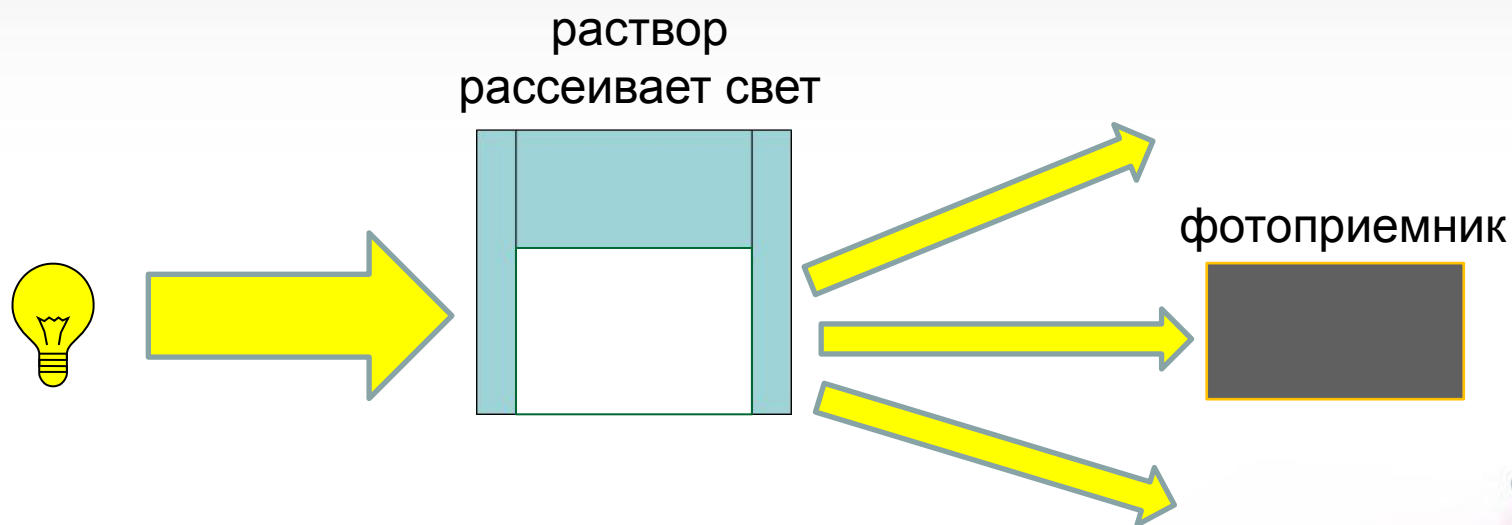
Принцип детекции

ФОТОМЕТРИЯ



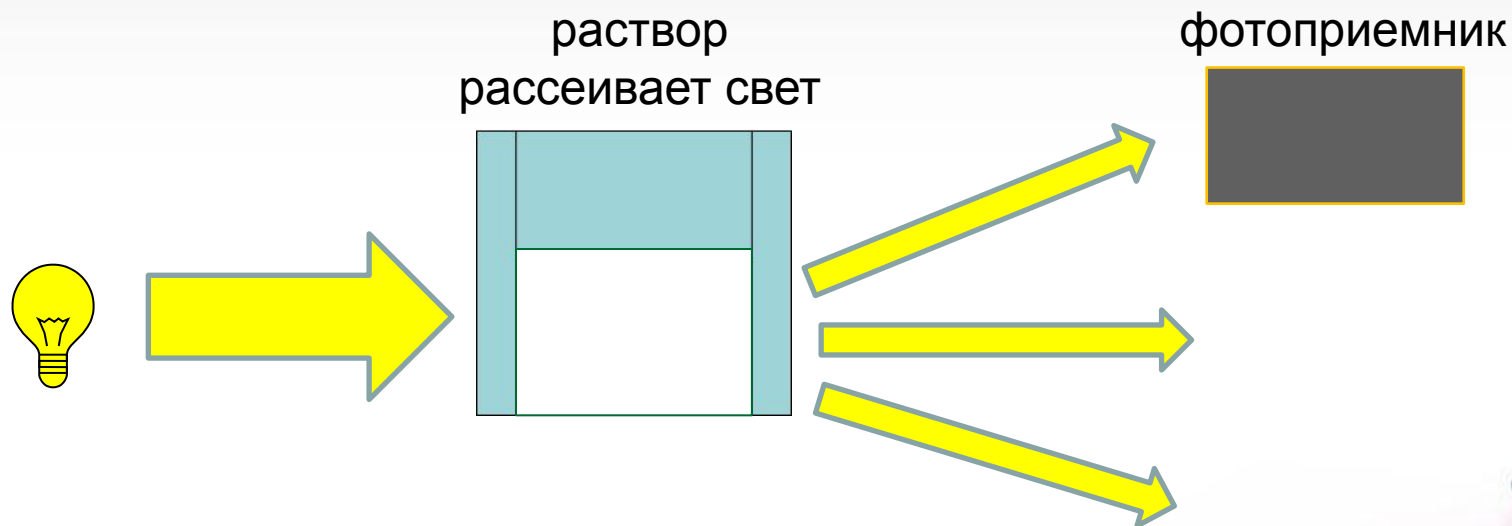
Принцип детекции

ТУРБИДИМЕТРИЯ



Принцип детекции

НЕФЕЛОМЕТРИЯ



Приборы

В качестве турбидиметра можно использовать большинство биохимических анализаторов.



ВЕКТОР
БЕСТ

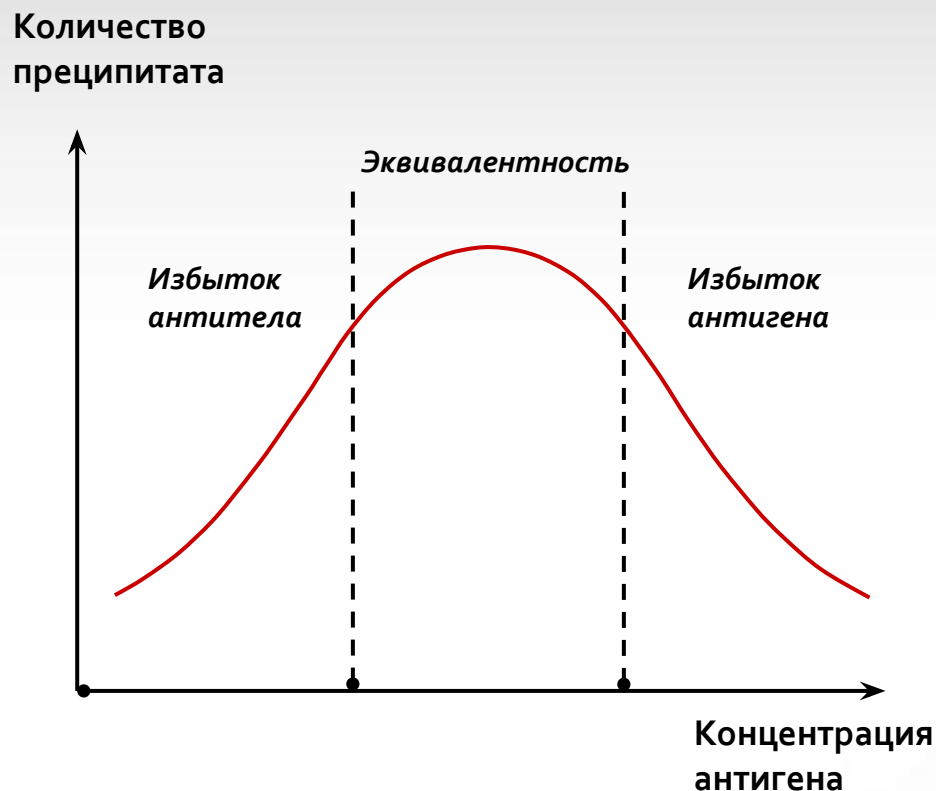


Точная диагностика-
эффективное лечение



Кривая Хайдельберга-Кендалла

Heidelberg & Kendall, 1929.



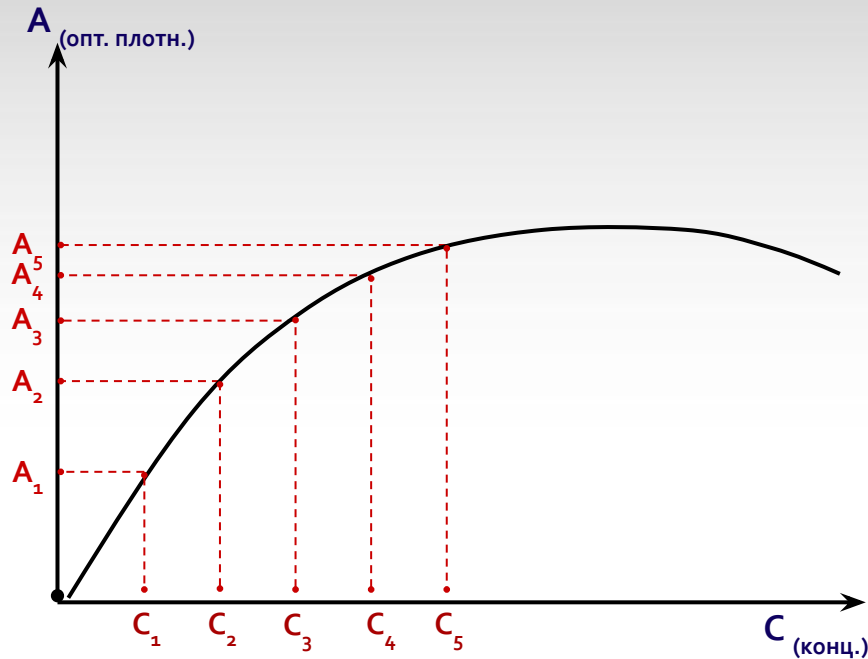
Сложная нелинейная зависимость концентрации антигена от количества образующегося преципитата.

ВЕКТОР
БЕСТ

Точная диагностика-
эффективное лечение



Калибровочная кривая

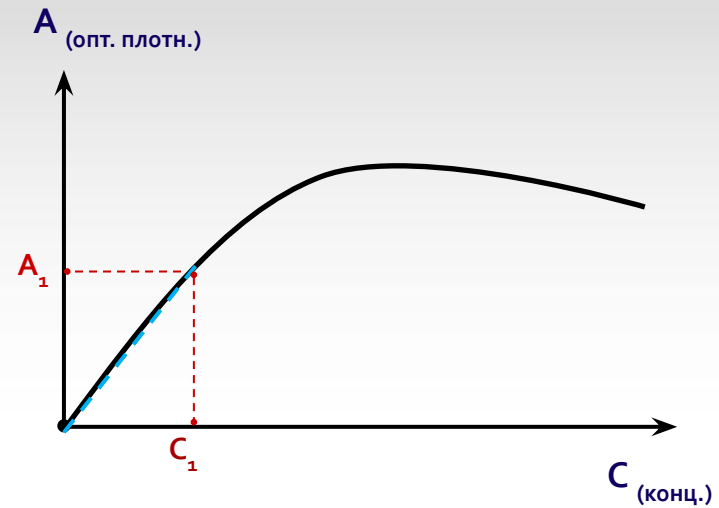
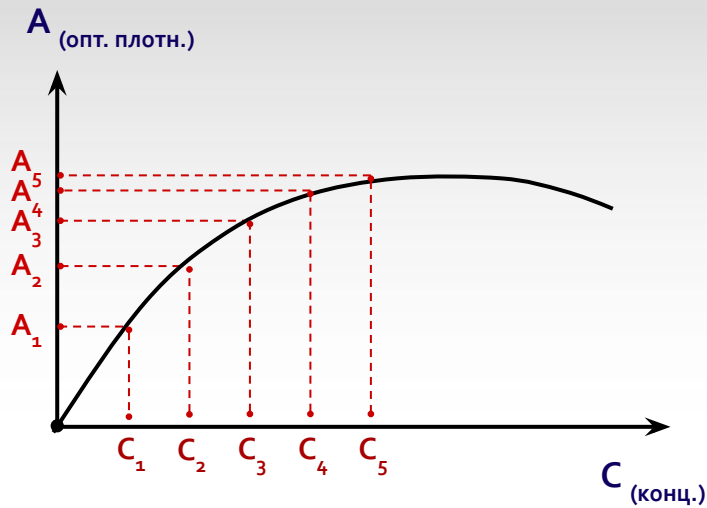


- ✓ линейная
- ✓ кубический полином
- ✓ сплайн
- ✓ логит-регрессия

- измерения проводят на восходящем участке кривой
- используют несколько способов интерполяции
- качество «подгонки» кривой проверяется по отклонению от истинного значения в контрольных материалах



Калибровочная кривая

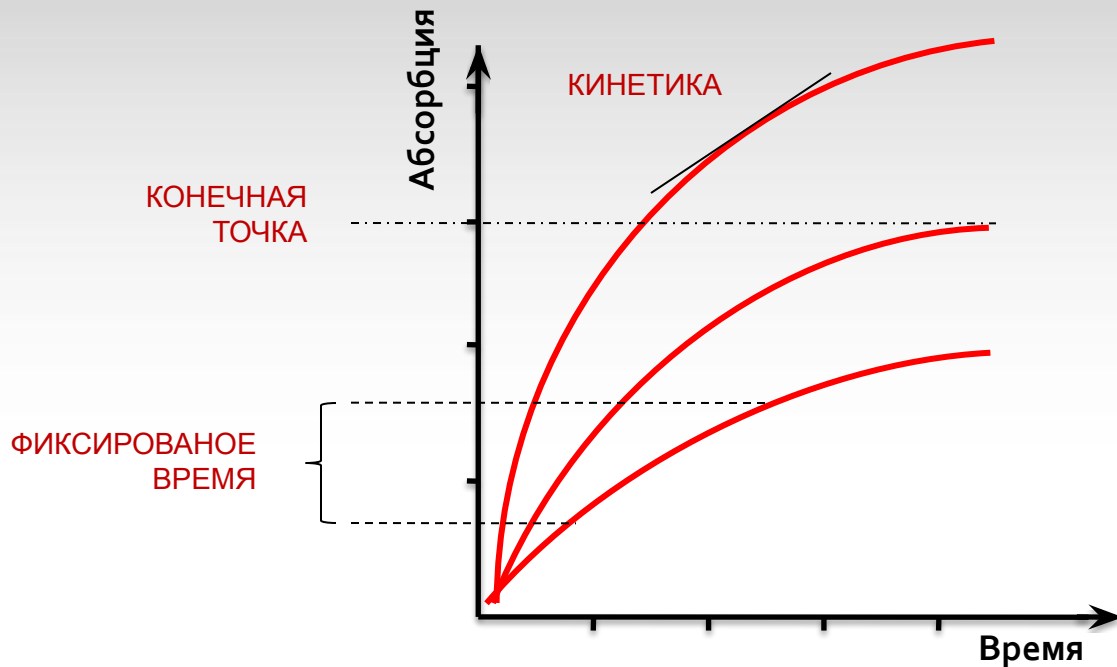


Калибровочный график строится для каждого индивидуального белка, для каждого прибора, при любом изменении условий регистрации и периодически по мере проведения исследования.

Калибровочный график в виде прямой: скорее исключение, чем правило.



Методы измерения



Развитие мутности
(увеличение абсорбции) во
времени.

Конечная точка – измерение проводят относительно холостой пробы.

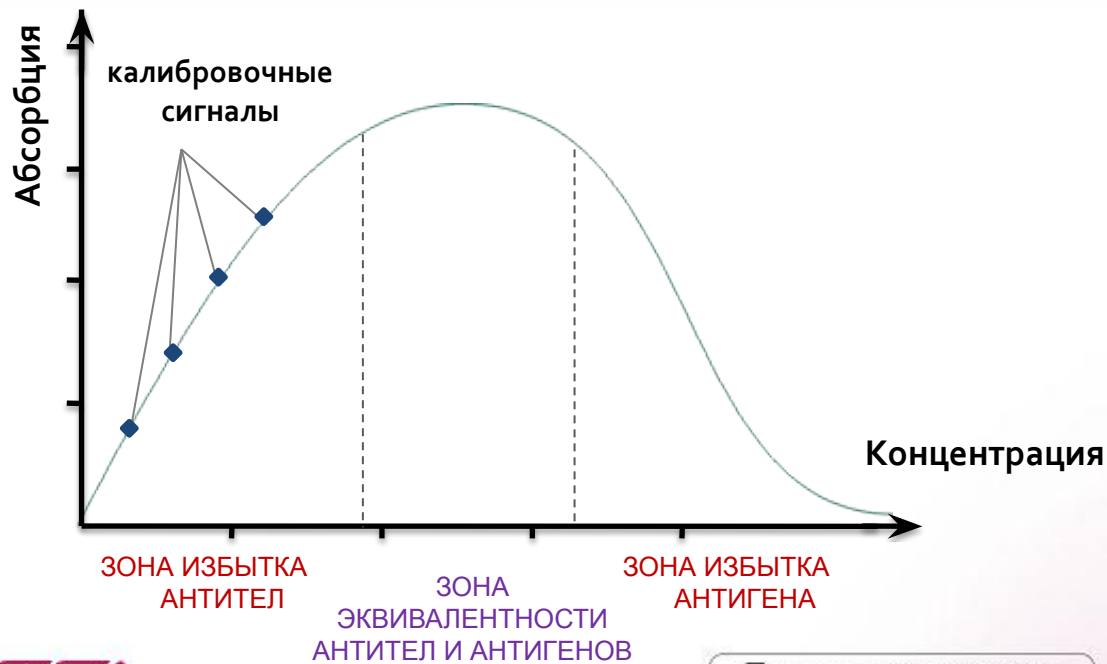
Кинетика – измерение скорости реакции.

Фиксированное время – первое измерение вскоре после начала реакции, второе – через 3-5 минут. Возможно измерение первой точки до начала реакции.



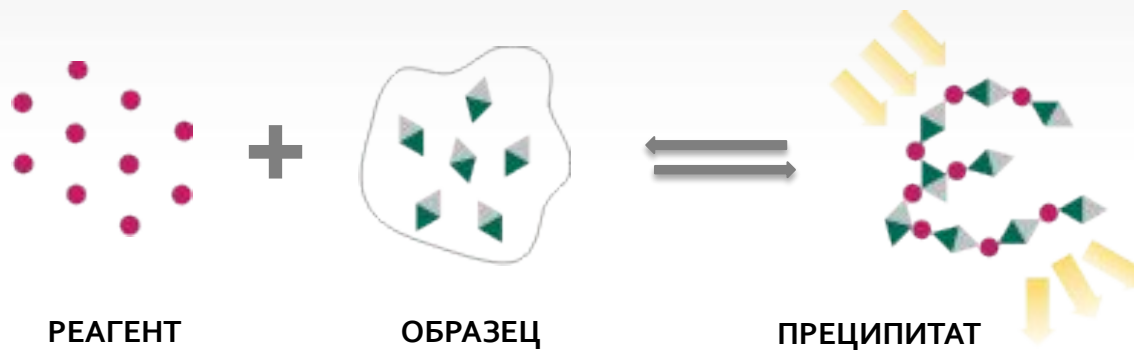
Эффект прозоны

- Определение проводится в зоне избытка антител.
- Прозона - зона избытка антигена
- При высокой концентрации белка пробу необходимо разбавить и провести повторное измерение.



Механизм реакции

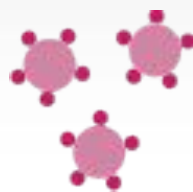
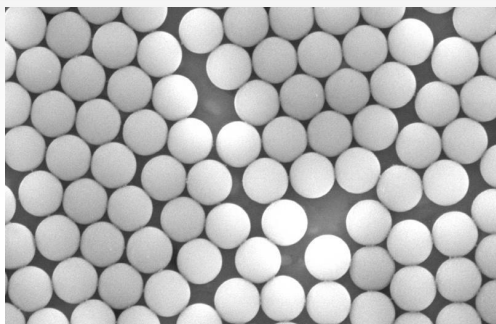
Водорастворимые полимеры (полиэтиленгликоль)



- Ускорение реакции.

Механизм реакции

Частицы полистирола (латекс)



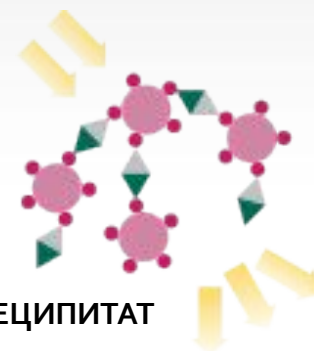
РЕАГЕНТ

+



ОБРАЗЕЦ

⇌



ПРЕЦИПИТАТ

- Ускорение реакции.
- $d = 50-1000$ нм.
- Увеличение чувствительности метода (10^{-9} - (-11) М).



Сравнение методов

ХАРАКТЕРИСТИКА	МЕТОД		
	IT	Latex-IT	ИФА
Специфичность	+++	+++	+++
Чувствительность	+	++	+++
Автоматизация	+++	+++	+++
Время анализа	10 мин	10 мин	1-2 часа



Аналитические характеристики

- **ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ** – минимальное содержание аналита, достоверно определяемое набором.
- **КОЭФФИЦИЕНТ ВАРИАЦИИ** – относительный показатель разброса результатов определения аналита, рассчитанный как отношение среднеквадратичного отклонения к среднеарифметическому, %.
- **ОБЛАСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ** – интервал концентраций аналита внутри которого его можно правильно определять при помощи данного набора с отклонением от истинного значения не превышающим К.В.
- **ПРОЗОНА** – нисходящая зона кривой доза-ответ, в которой определяемая концентрация аналита будет не верна.



Контрольные материалы и контроль качества

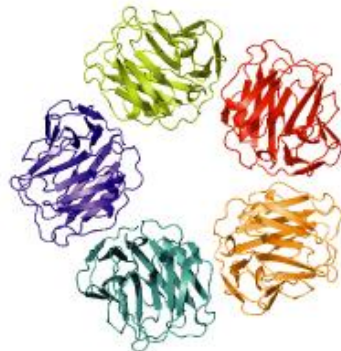
- ❖ В качестве контрольных материалов необходимо использовать специальные **контрольные сыворотки**, содержащие индивидуальные белки, концентрация которых измерена турбидиметрическим методом с использованием иммунохимической реакции.
- ❖ Контроль качества определения индивидуальных белков осуществляют в соответствии с приказом Минздрава РФ от 26.05.03 № 220 и ОСТ 91500.13.0001-2003.
- ❖ **Калибраторы**, входящие в состав наборов, должны быть аттестованы относительно стандартов рекомендованных ВОЗ (certified reference material - CRM470).



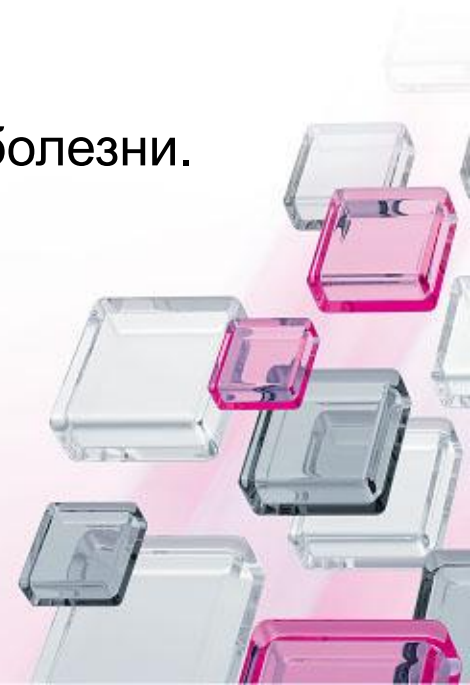
СРБ

С-реактивный белок

- ❖ Один из основных белков острой фазы воспаления. Неспецифический показатель воспаления.
- ❖ Многократно (в 10-100 раз) увеличивается в ответ на воспалительные реакции, паразитарные инфекции, травмы и опухоли.
- ❖ Повышение уровня через 6-10 ч.
- ❖ Имеет прогностическое значение течения болезни.



Точная диагностика-
эффективное лечение



СРБ

С-реактивный белок

- ❖ Присутствует в крови в норме у здоровых людей.
- ❖ Доказана прогностическая значимость СРБ в оценке риска развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Увеличение концентрации СРБ в пределах нормальных значений является индикатором атеросклероза (3-10 мг/л).

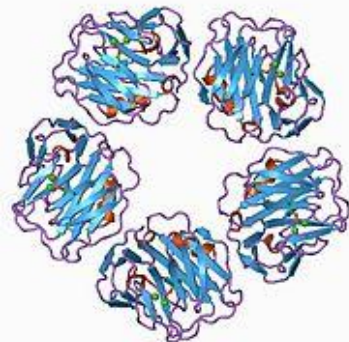
Самостоятельный метод (высокочувствительный СРБ).



СРБ

С-реактивный белок

- ❖ Диагностика воспаления (нормальная концентрация СРБ исключает острое воспаление у взрослых).
- ❖ Контроль эффективности лечения - антибиотикотерапия.
- ❖ Осложнения, персистенция возбудителей инфекции.
- ❖ Дифференциальная диагностика бактериальных и вирусных инфекций.



Точная диагностика-
эффективное лечение



Уровни СРБ при различных воспалительных процессах

10-50 мг/л

>50 мг/л

300 мг/л и более

Вирусные инфекции	Бактериальные инфекции	Тяжёлые генерализованные инфекции
Метастазирование опухолей	Обострение хронических заболеваний	Ожоги
Вялотекущие хронические заболевания	Повреждение тканей (хирургические операции, острый инфаркт миокарда)	Сепсис
Системные ревматические заболевания		

СРБ

Преимущества перед определением СОЭ и лейкоцитоза

СОЭ

- не специфична для острофазного ответа
- долгое время сохраняется высоким после выздоровления
- показания меняются при анемии
- пожилой возраст

и т.д.

лейкоцитарная реакция

- не возникает при локальном воспалении
- не выражена при вирусном воспалении
- реагирует на тяжелую физическую нагрузку

и т. д.

РФ

Ревматоидный фактор

Аутоантитела, принадлежащие ко всем классам иммуноглобулинов, способные связываться с Fc-фрагментами измененных или комплексированных молекул IgG человека.

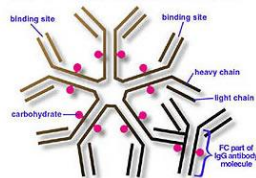


РФ используется для диагностики и мониторинга ревматоидного артрита.

Обязательный критерий при обследовании пациентов с ревматоидным артритом (РА).

- ❖ Выявляется у 70-80% пациентов с РА. 20% - «серонегативный» РА.
- ❖ Определяется через 3-6 месяца после начала заболевания.
- ❖ Высокий титр – прогрессирующее течение, неблагоприятный прогноз.

ВЕКТОР
БЕСТ

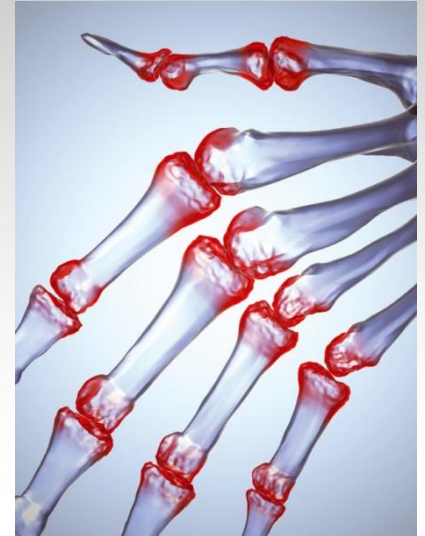


Точная диагностика-
эффективное лечение

РФ

Область применения

- Диагностика
- Оценка тяжести процесса
- Выбор тактики лечения
- Оценка эффективности проводимой терапии



РФ не специфический показатель для РА, выявляют при других заболеваниях (СКВ, туберкулез, инф.эндокардит, вир.гепатит) и у здоровых людей.

ЗДОРОВЫЕ ЛЮДИ

среднего возраста – 2%
старше 65 лет – 20%
старше 80 лет – 30%



Точная диагностика-
эффективное лечение



Альбумин в моче

микроальбумин

Определение альбумина в моче – единственный рутинный метод, позволяющий диагностировать начинающееся поражение клубочков, канальцев почек или нарушении селективности фильтрации ионов по заряду.

ДН-специфическое поражение почек при сахарном диабете, сопровождающееся формированием узелкового или диффузного гломерулосклероза, терминальная стадия которого характеризуется развитием хронической почечной недостаточности (ХПН)

- ❖ ДН в терминальной стадии приводит к инвалидизации и затем к смерти
- ❖ ДН с частотой 40-50% осложняет СД 1 и в 15-30% СД

Альбумин в моче

микроальбумин

Стадии развития ДН по С.Е. Mogensen

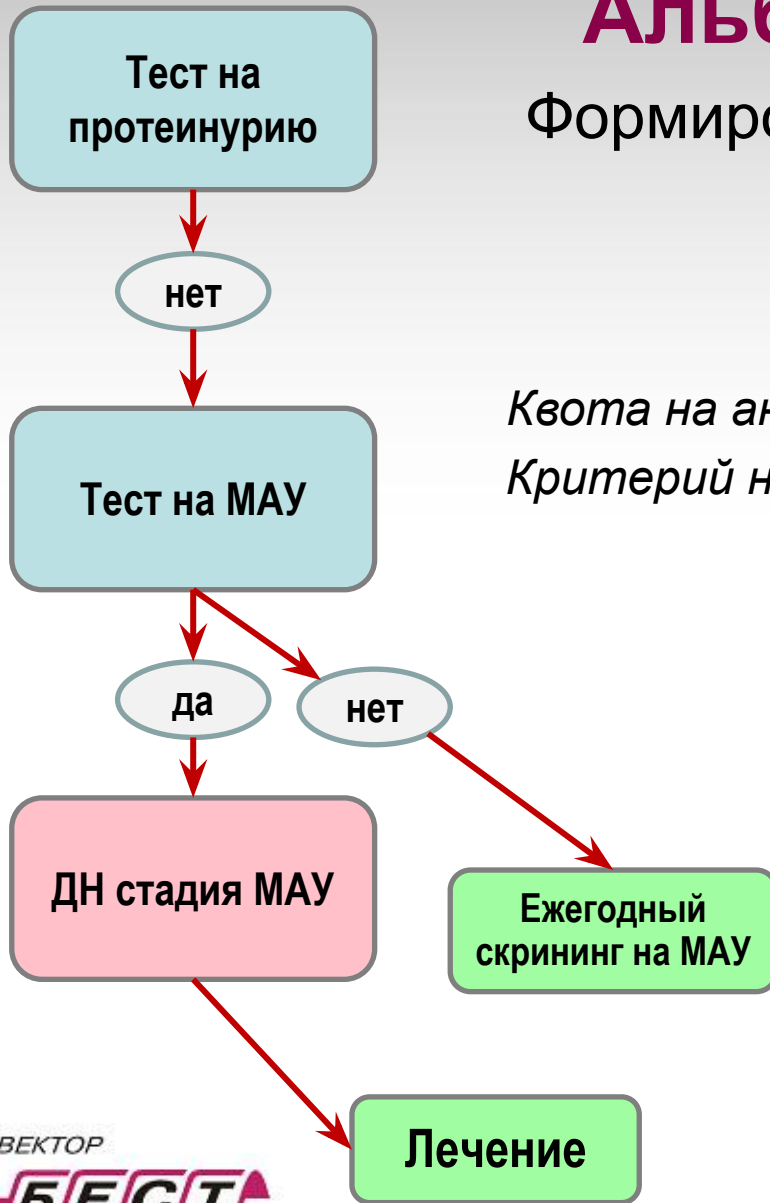
Стадия ДН	Выделение белка, мг/л	Характеристики почки	Сроки развития от начала заболевания СД
1. Стадия гиперфункции	N МАУ < 20	Гипертрофия почек, увеличение почечного кровотока	В дебюте СД
2. Стадия начальных структурных изменений	N МАУ < 20	Утолщение базальных мембран капилляров клубочков, расширение мезангиума	> 2-5 лет
3. Стадия начинающейся ДН	МАУ (20-200)	Углубление морфологических изменений	> 5 лет
4. Стадия выраженной ДН	ПУ > 350	Не менее 50% клубочков склерозировано	> 10-15 лет
5. Стадия уремии	ПУ ≥ 2000	Тотальный гломерулосклероз. Самоотравление организма продуктами обмена веществ.	> 15-20 лет (5-7 лет после начала ПУ)

Следует помнить

- Только первые **3 стадии** ДН могут быть обратимыми при рано начатом лечении.
- Для своевременной диагностики необходимо использование высокочувствительных методов, позволяющих выявлять небольшие количества альбумина в моче.
- На стадии протеинурии терапия нарушений углеводного обмена уже не способна остановить или существенно затормозить быстрое прогрессирование ДН.
- Определение уровня общего белка наиболее эффективно на стадии протеинурии.

Альбумин в моче

Формирование группы риска



Квота на анализ: **0,5**

Критерий назначения: **стаж диабета**

ПГК 80-120 мг/л (31%)

Оценка информативности методов определения МАУ для ранней диагностики ДН у пациентов с СД 2 типа
ГОУ ВПО НГМУ Росздрава; МБУЗ ГКБ №1, ЗАО «Вектор-Бест»



Точная диагностика-
эффективное лечение



Благодарю за внимание

*Точная диагностика-
эффективное лечение*

www.vector-best.ru



Наборы для определения микроальбумина

Аналит	Кат. №	Фасовка
Микроальбумин-Ново (56)	B-9515	<u>1×45 мл; 1×7,5 мл</u> (калибратор 1×1 мл)
Микроальбумин-Ново (контроль)	B-9519	1×1 мл (уровень 1); 1×1 мл (контроль 2)



Наборы для определения СРБ и РФ

Аналит	Кат. №	Фасовка
С-реактивный белок-Ново (латекс)	В-9501	<u>1×40 мл; 1×10 мл</u> (калибратор 1×1 мл)
Ревматоидный фактор-Ново (латекс)	В-9507	<u>1×40 мл; 1×10 мл</u> (калибратор 1×3 мл)
Антистрептолизин О-Ново (латекс)	В-9511	<u>1×40 мл; 1×10 мл</u> (калибратор 1×1 мл)

ВЕКТОР
БЕСТ



Точная диагностика-
эффективное лечение

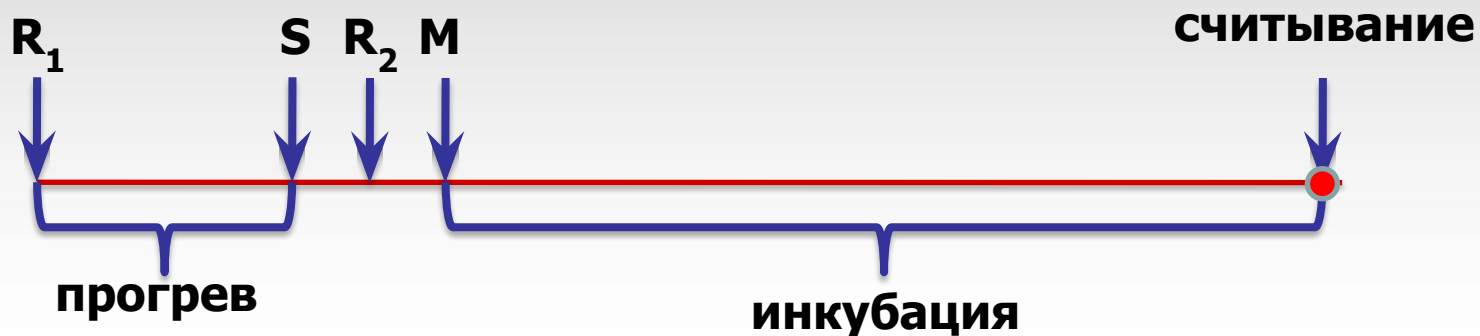




*Точная диагностика-
эффективное лечение*



РФ (фиксированное время)



СРБ (фиксированное время)

