

ВОПРОСЫ ПРИМЕНЕНИЯ СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ НА ОСНОВЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ МЕТРОЛОГИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ БИОАНАЛИТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ИЗМЕРЕНИЙ

Кулябина Е.В., Кулябина Т.В., к.ф.-м.н., с.н.с.
ФГУП «ВНИИМС», г. Москва
ФГУП «ВНИИМ им. Д.И.Менделеева», г. Санкт-Петербург

В последние десятилетия в РФ активно внедряется новая техника, в частности биоаналитические измерительные комплексы, в клиничко-диагностических лабораториях учреждений здравоохранения, ветеринарных и экологических лабораториях. В связи с широким применением новой техники увеличивается и круг вопросов, обусловленных проблемами, связанными с необходимостью измерения аналитов (искомых, измеряемых веществ), которые, учитывая специфику области применения, в 90% случаев в натуральном виде содержатся в пробах, представляющих собой биологические образцы.

Одним из важных вопросов успешного функционирования данных анализаторов является их достаточное метрологическое обеспечение, без которого получаемые результаты измерений не могут считаться достоверными.

Существующие проблемы метрологического обеспечения биоаналитических средств измерений приведены ниже:

- существование нормативно-технических документов с содержащимися в них требованиями по предельно допустимым уровням содержания, диапазонам измерений и требованиям к точности измерений аналитов;
- определение методов, пригодных для измерений содержания конкретных аналитов, анализ их селективности;
- определение требований к средствам измерений, которые необходимо использовать для измерений;
- наличие стандартных образцов (СО);
- соответствие стандартных образцов измерительным задачам;
- доступность стандартных образцов;
- специфичность и одновременно универсальность стандартных образцов;
- соответствие процедуры пробоподготовки реального анализируемого образца и процедуры подготовки стандартного образца перед измерением;
- наличие аттестованных методик измерений;
- наличие квалифицированного персонала;

- обеспечение прослеживаемости измерений.

Для более полного понимания вышеприведенного перечня вопросов (касающихся непосредственно стандартных образцов) следует кратко коснуться общих инженерно-технических основ, на которых базируется значительная часть созданных и создаваемых измерительных комплексов, применяемых в биоаналитике.

По принципу действия большинство биоаналитических средств измерений являются оптико-электронными приборами. Результаты измерений, проводимых на таких анализаторах, получают путем проведения косвенных измерений. Перед проведением измерений в рамках традиционного подхода средства измерений калибруют по стандартным образцам, либо так называемым калибраторам или стандартам содержания анализируемого вещества (аналита) в растворе, далее проводят анализ, получают результат измерений, например, в единицах оптической плотности, и по значению оптической плотности определяют содержание анализируемого вещества в пробе. Таким образом, на этом этапе возникает вопрос наличия стандартного образца.

В случае проведения измерений содержания аналита в биологической матрице калибровку, тем не менее, проводят по стандартному образцу аналита в растворе, хотя подвергается анализу вещество, содержащееся в биологической матрице - в жидкостях и тканях организма - в плазме и сыворотке крови, спинно-мозговой жидкости, моче, слюне, выпотах. Влияние матрицы при осуществлении такой процедуры калибровки не учитывается.

Результаты исследований, проведённых аналитиками и метрологами [1-4], демонстрируют, что сравнивать результаты калибровки по стандартным образцам, представляющим собой химические растворы, с результатами измерений содержания веществ в живой биологической матрице, означает не учитывать влияние матрицы на ход анализа и результат измерения. И на этом этапе возникает вопрос соответствия стандартных образцов стоящим измерительным задачам.

Одной из проблем, актуальных при осуществлении метрологического обеспечения биоаналитических средств измерений является проблема создания стандартных образцов универсального назначения.

Проблема заключается в совокупности нескольких факторов, действующих одновременно.

Во-первых, достаточно велико разнообразие производимых анализаторов, все они реализуют общий метод измерений, однако каждый имеет свои специфические особенности, ноу-хау, введенные производителем и отличающие данный анализатор от остальных.

Во-вторых, производители средств измерений разрабатывают и производят для каждого анализатора наборы сопутствующих реагентов, предназначенных для измерения содержания искомого аналита. Наборы эти также, в общем, создаются в соответствии с одним принципом, но различаются исполнением и специфичностью.

В-третьих, каждой лаборатории, использующей анализатор, производителями рекомендуется самой определить количественное значение диапазона нормы для каждого аналита, здесь вступает в действие так называемая «методозависимость» результатов измерений, то есть зависимость результатов измерений данного аналита на данном анализаторе в данной лаборатории с данными наборами реагентов от каждого из этих факторов.

Довольно часто роль калибраторов играют входящие в состав набора реагентов стандартные растворы, с определенным содержанием аналита. Это количественное значение содержания аналита, приписываемое им, определяется методом, отличающимся от метода, реализуемого данным конкретным анализатором, и устанавливается производителями. Сведения о прослеживаемости этих приписываемых значений к каким бы то ни было эталонам нередко оказываются недоступны либо недостаточно ясны.

Создавая СО для таких анализаторов, разработчики сталкиваются с проблемой универсальности. Один и тот же СО, охарактеризованный по референтной методике, рекомендованной JCTLM, будучи измерен на разных анализаторах (имеющих одинаковый принцип действия), будет иметь разные количественные результаты измерений. В медицинских измерениях такие ситуации возникают довольно часто, и первым вопросом, который должен интересовать аналитика, будет вопрос о предельно допустимых уровнях содержания или о диапазоне нормы и патологии аналита в лаборатории, из которой были получены результаты.

Таким образом, в настоящее время перед пользователями и разработчиками стандартных образцов стоит задача выбора между двумя путями метрологического обеспечения. Первый — это создание для каждого конкретного анализатора своего специфического СО. Второй — нахождение путей взаимопонимания и взаимодействия между производителями, пользователями анализаторов и метрологами, который позволит создавать универсальные СО, полностью отвечающие измерительным и методическим потребностям. Такой СО будет доступным и унифицированным с практической точки зрения, и прослеживаемым и охарактеризованным с известными точностными характеристиками с точки зрения обеспечения единства измерений.

Литература

1. Identification of matrix effects by means of standard addition. Merck KGaA.
2. Terence G. Hall, Inese Smukste, Karen R. Bresciano, Yunxia Wang, David McKearn and Ronald E. Savage, Identifying and Overcoming Matrix Effects in Drug Discovery and Development.2012.
3. Dharmendra Patel, Matrix effect in a view of LC-MS/MS: an overview, Int.Journal of Pharma and Bio Science, V.2, Issue 1, Jan-Mar 2011.
4. Amit Patel, Matrix effect. Ion Suppression & Enhancement, Apr. 13, 2011.