

УДК 620.192.6

КАЛИБРОВКА И ПОВЕРКА БИОХИМИЧЕСКИХ ИЛИ БИОАНАЛИТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ИЗМЕРЕНИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ГСО СОДЕРЖАНИЯ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ МАТРИЦЕ

© Е. В. Кулябина¹, Т. В. Кулябина²

Статья поступила 11 октября 2013 г.

Рассмотрен вопрос выбора между созданием универсального стандартного образца для метрологического обеспечения нескольких типов анализаторов или специфичных стандартных образцов для каждого типа биоанализаторов. В качестве примера удачного образца рассматривается многокомпонентная тестовая смесь, которая применяется для контроля стабильности параметров хроматографа.

Ключевые слова: биоаналитические средства измерений; поверка; калибровка; ГСО; тестовая смесь.

Одной из проблем, актуальных при метрологическом обеспечении биохимических анализаторов, является создание универсальных стандартных образцов.

Проблема заключается в совокупности нескольких факторов, действующих одновременно. Во-первых, велико разнообразие 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 разрабатывают и производят для каждого анализатора набор сопутствующих реагентов, которые отвечают одному принципу, но различаются исполнением и специфичностью. В-третьих, лаборатории, использу-

ющей анализатор, производители рекомендуют самой определять диапазон нормы для каждого аналита. Здесь вступает в действие так называемая «методозависимость» результатов измерений, т.е. зависимость результатов измерений данного аналита на этом анализаторе в данной лаборатории с определенными наборами реагентов от метода анализа, выбранного в лаборатории. В качестве калибровочных зачастую используют входящие в состав набора реагентов стандартные растворы аналита. Количество аналита, необходимое для них, определяется методом, отличающимся от реализуемого данным конкретным анализатором, и устанавливается производителями. Сведения о прослеживаемости этих приписываемых значений к каким бы то ни было эталонам часто оказываются недоступны.

Создавая СО для таких анализаторов, разработчики сталкиваются с проблемой универсальности. Один

¹ ФГУП «ВНИИМС», Москва, Россия;
e-mail: kuliabina@vniims.ru

² ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева», Санкт-Петербург, Россия; e-mail: ktv@b10vniim.ru

и тот же СО, охарактеризованный по референтной методике, рекомендованной JCTLM VIPM, измеренный на различных анализаторах (имеющих одинаковый принцип действия), имеет разные количественные результаты измерений. В медицинских измерениях такие ситуации возникают довольно часто, и первое, что должно интересовать аналитика, — величина нормы аналита в лаборатории, из которой получены результаты.

Особенно остро вопрос обеспечения единства измерений встает при сопоставлении результатов измерений, касающихся конкретных ситуаций, когда отклонение от установленной нормы влечет за собой подозрение человека в приеме сильнодействующих препаратов, содержащих алкоголь или наркотические средства, в целях, отличных от терапевтических. Такие ситуации возникают при освидетельствовании водителей, людей, работающих на опасных объектах, на производствах, связанных с повышенным вниманием, при контроле детей в возрасте от 12 до 18 лет на подозрение в приеме наркотических средств.

В настоящее время отсутствуют аттестованные методы количественной оценки содержания в крови и моче наркотических средств, психотропных, сильнодействующих веществ и их метаболитов. Необходимо разработать требования по пробоподготовке, так как объект анализа нетрадиционный, достаточно сложный и в результате проведения некорректных процедур возможны потери целевого аналита.

Отдельное направление исследований относится к разработке многокомпонентных стандартных образцов, которые будут охватывать весь интересующий аналитиков диапазон определяемых концентраций веществ в биологических жидкостях.

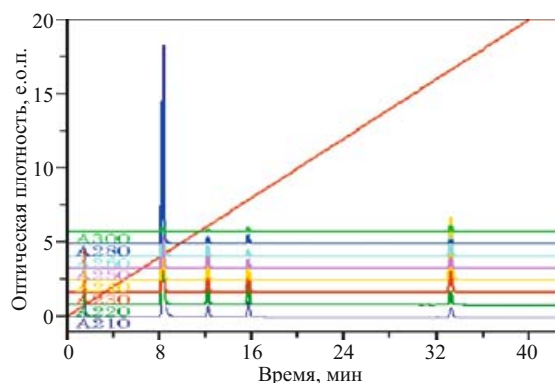
Существуют примеры многокомпонентных смесей, применение которых дает возможность создавать аттестованные методы проведения измерений содержания сложных органических соединений в растворах [1]. Один из примеров — это разработанная тестовая смесь БД-2012, применяемая для контроля стабильности параметров хроматографа, которая играет роль аналога стандартного образца для калибровки [2, 3].

Тестовая смесь состоит из компонентов (бромид калия, уридин, *орто*-нитроанилин, *мета*-нитроанилин, кофеин), растворенных в смеси ацетонитрила с водой с объемной долей ацетонитрила 50 %.

Хроматограмма тестовой смеси БД-2012 приведена на рисунке.

Измерения выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке с обращенной фазой с УФ-детектированием на 8 длинах волн. Режимные параметры хроматографа устанавливают и контролируют по аттестованной смеси БД-2012, заменяя таким образом процедуру традиционной градуировки.

Процедура контроля работы хроматографа заключается в воспроизведении на нем хроматографи-



Хроматограмма тестовой смеси БД-2012

ческих и спектральных параметров компонентов аттестованной смеси БД-2012 в установленных для них пределах.

Программа автоматически рассчитывает расхождение между экспериментальными значениями хроматографических и спектральных параметров (X_i) и соответствующими параметрами, установленными для аттестованной смеси БД-2012 ($X_{i0 \text{ БД-2012}}$).

Расхождения не должны превышать значение предела воспроизводимости (R_i), установленное для каждого параметра смеси БД-2012:

$$\frac{|X_{i1 \text{ БД-2012}} - X_{i0 \text{ БД-2012}}| \cdot 200}{|X_{i1 \text{ БД-2012}} + X_{i0 \text{ БД-2012}}|} \leq R_{i \text{ 2012}}. \quad (1)$$

Если условие (1) выполняется, то характеристики хроматографа находятся в заданных пределах и прибор готов для измерений.

После проведения серии анализов определения пробы повторяют анализ смеси БД-2012.

Если для смеси БД-2012 выполняется условие

$$\frac{|X_{i1 \text{ БД-2012}} - X_{i0 \text{ БВ-2012}}| \cdot 200}{|X_{i1 \text{ БД-2012}} + X_{i0 \text{ БВ-2012}}|} \leq r_{i \text{ 2012}}, \quad (2)$$

то переходят к обработке результатов измерений хроматографических и спектральных параметров компонентов анализируемых проб.

Если условие (2) не выполняется, то результаты анализов серии исследуемых образцов считаются непригодными для обработки; требуется настройка режимных параметров хроматографа в соответствии с руководством по его эксплуатации и методикой измерений.

По хроматограмме вычисляют объем удерживания, спектральные отношения, высоту, площадь и коэффициент асимметрии пика исследуемого вещества. Проводят идентификацию и расчет массовой концентрации, используя БД-2012. Метрологические харак-

Метрологические характеристики методики

Параметр X	Диапазон измерений	Показатель точности (границы погрешности измерений) при $P = 0,95$		Предел повторяемости ($n = 2, P = 0,95$)		Предел воспроизводимости ($m = 2, P = 0,95$)	
		относительный δ , %	абсолютный Δ	относительный r , %	абсолютный $r_{\text{абс}}$	относительный R , %	абсолютный $R_{\text{абс}}$
Массовая концентрация, мг/мл	0,2	± 8		4		8	
Удельная площадь пика S_{a210} , е.о.п. · мкл/мг/мл	125 – 1250	± 4		3		5	
Объем удерживания V_R , мкл	150 – 4300	± 7		4		8	
Спектральное отношение S_i/S_{210}	0,10 – 1,00		$\pm 0,03$		0,02		0,03
	Свыше 1,00 – 10,0	± 4		4		8	
Площадь пика S_{210} , е.о.п. · мкл	25 – 250	± 3		3		5	

теристики методики установлены по результатам межлабораторного эксперимента и приведены в таблице.

Таким образом, в настоящее время перед испытателем и разработчиком СО стоит вопрос выбора между двумя концепциями: создание для каждого конкретного анализатора своего специфического СО либо союза между производителями анализаторов, пользователями и метрологами, который позволит разработать унифицированный СО, полностью отвечающий потребностям пользователей и поверителей. Такой СО будет доступным и универсальным для практических целей и с точки зрения требований по обеспечению единства измерений будет прослеживаемым и охарактеризован известными точностными параметрами.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Барам Г. И.** Развитие метода микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии и его применение для исследования объектов окружающей среды / Под ред. Б. А. Руденко. — М.: Наука, 2003. С. 32 – 60.
2. **Барам Г. И., Азарова И. Н., Кулябина Е. В., Рутенберг О. Л.** Метрологическое обеспечение баз данных ВЭЖХ-УФ. Исследование и выбор веществ-маркеров для контроля свободного объема хроматографической колонки / Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2010. Т. 76. № 2. С. 66 – 70.
3. **Барам Г. И., Азарова И. Н., Кожанова Л. А., Кулябина Е. В., Рутенберг О. Л.** Метрологическое обеспечение баз данных. Исследование и выбор веществ-маркеров для контроля погрешности установки длины волны спектрофотометрического детектора УФ-диапазона хроматографической системы. Международная научно-практическая конференция «Метрология-2009». — Минск: Бел. ГИМ, 2009. — 340 с.