



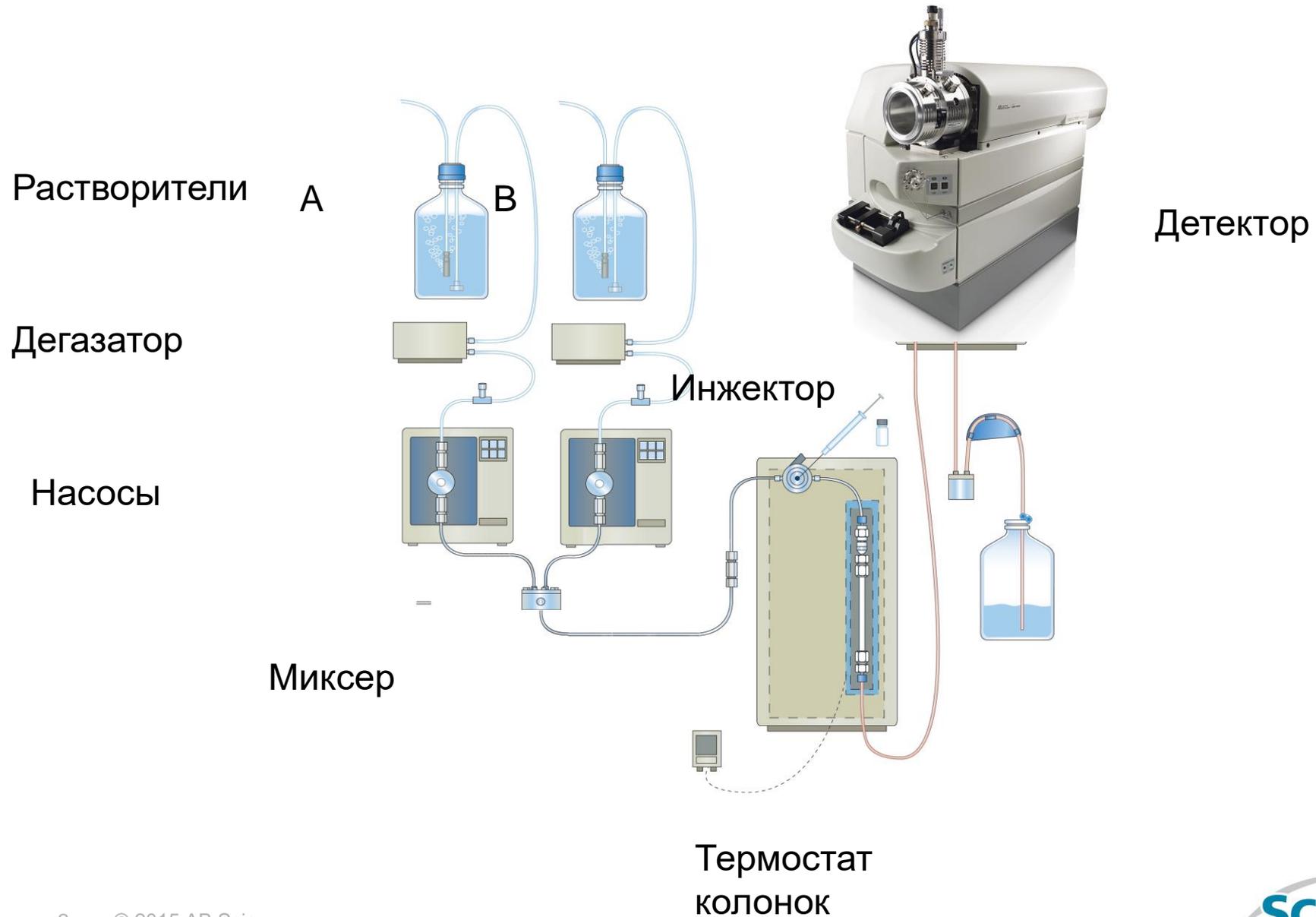
Answers for Science.
Knowledge for Life.™



Применение тандемной масс-спектрометрии в клинической лабораторной диагностике

Мещанкина Т.Е., руководитель направления масс-спектрометрии
ООО «Химэксперт»

Жидкостной хроматограф

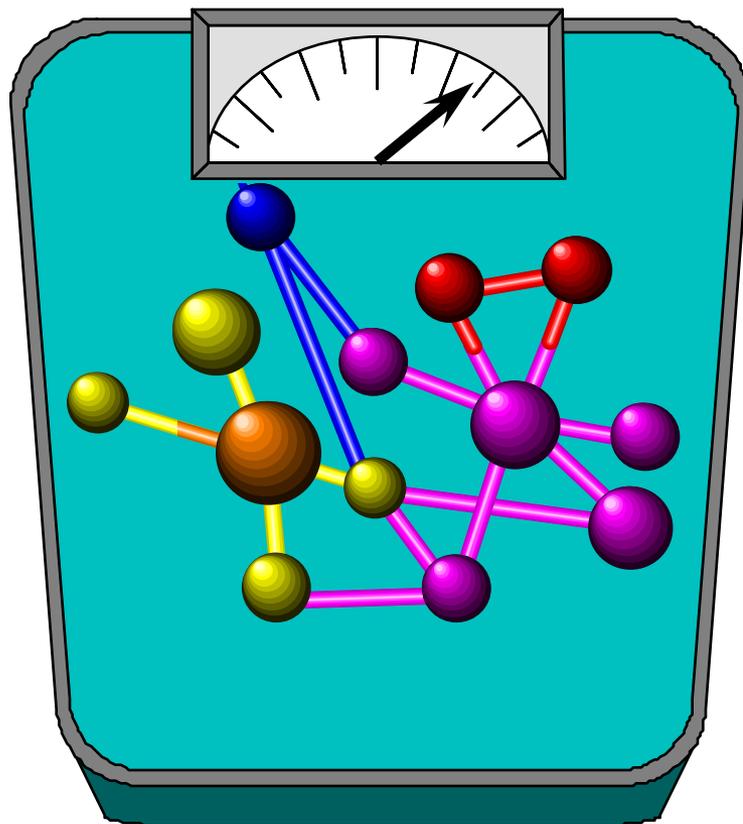


Преимущества метода

- Высокая селективность и специфичность
- Высокая чувствительность
- Простая и экономичная пробоподготовка
- Короткое время выполнения анализа
- Возможность объединения разных классов аналитов в одном анализе
- Низкие издержки на один образец

Что такое масс-спектрометр?

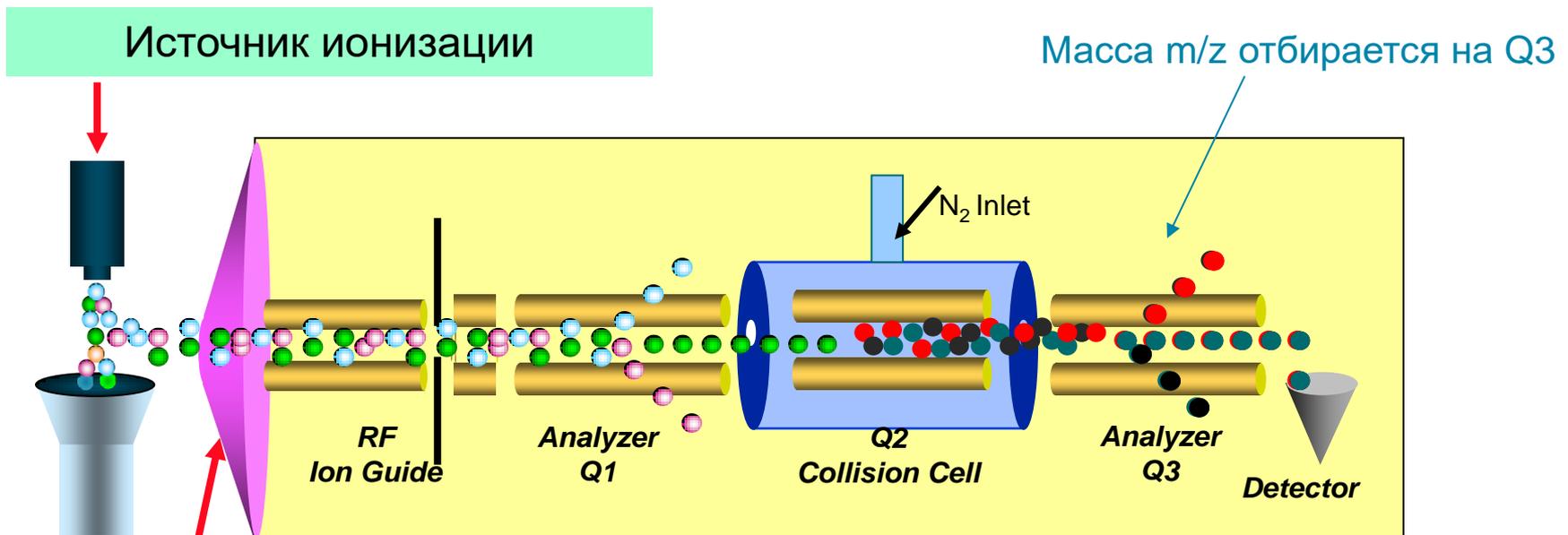
Масс-спектрометр измеряет молекулярную массу вещества



(технически, *отношение* массы к заряду, m/z)

Тандемная масс-спектрометрия

- Ионы массы m/z фильтруются на квадруполе (Q1)
- Фрагментация в ячейке столкновений (Q2)
- Ионы массы m/z фильтруются на втором квадруполе (Q3)





Answers for Science.
Knowledge for Life.™



**Анализ сухих пятен крови на
аминокислоты и ацилкарнитины –
неонатальный скрининг**

Известно более 500 форм наследственных нарушений метаболизма. Классификация:

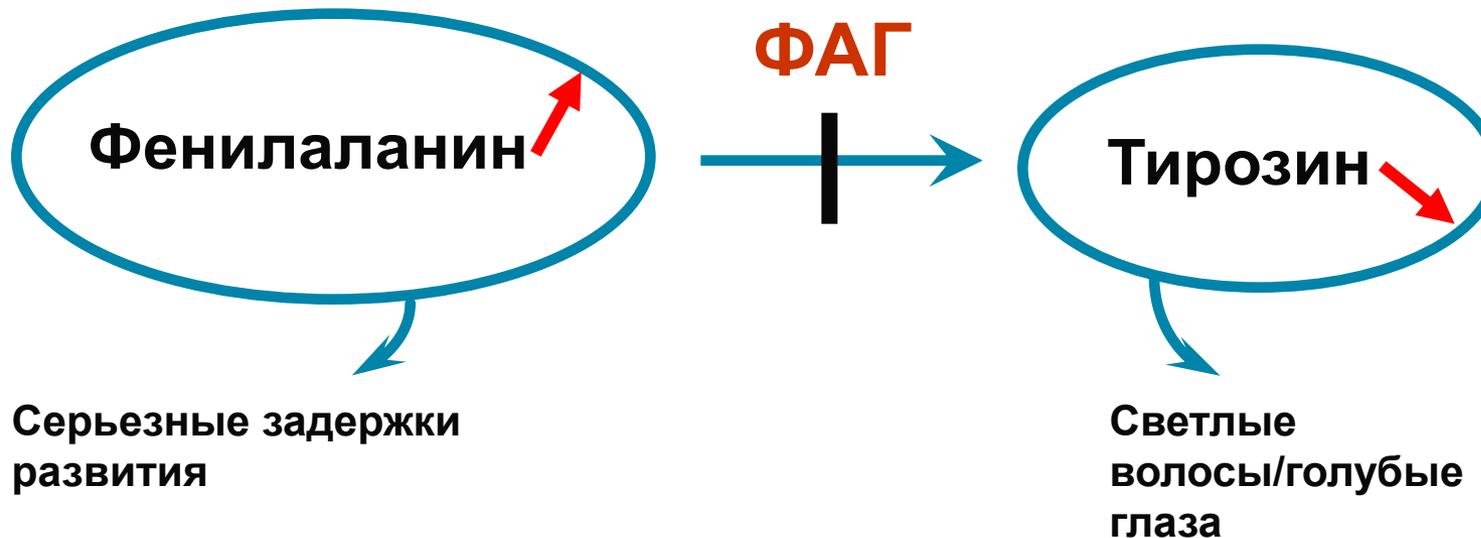
22 подкласса в зависимости от пораженного метаболического пути

Подклассы:	частота
Аминоацидопатии	31%
Органические ацидурии	27%
Дефекты цикла мочевины	21%
Дефекты дыхательной цепи митохондрий	12%
Гликогенозы	8%
Дефекты митохондриального в-окисления	8%
Пероксисомные заболевания	4%

Скрининг НБО и фенилкетонурия

- **Фенилкетонурия : 1 на 10000** встречаемость

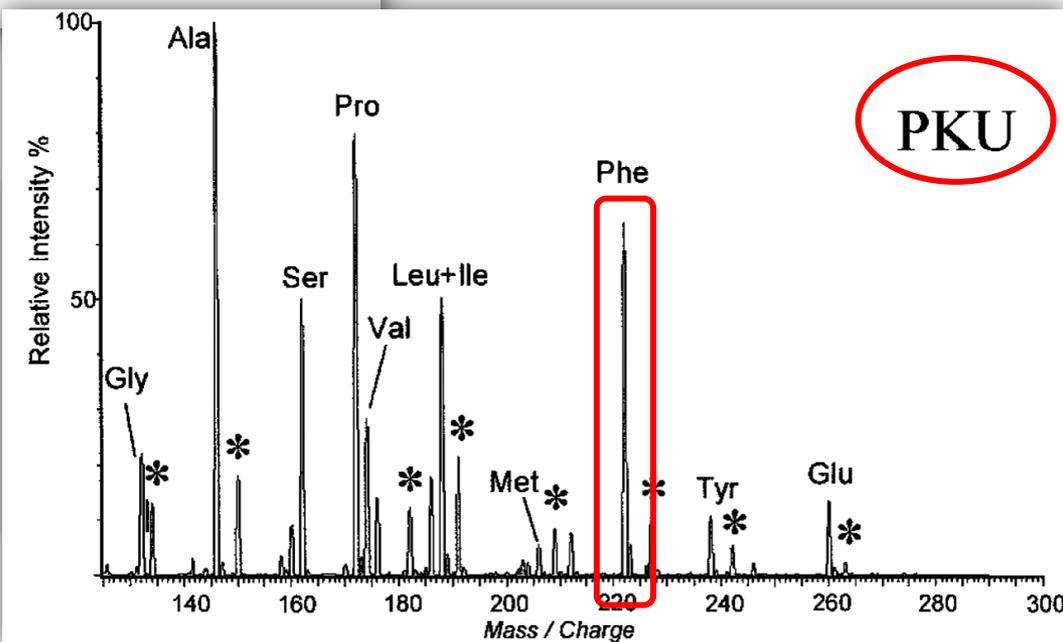
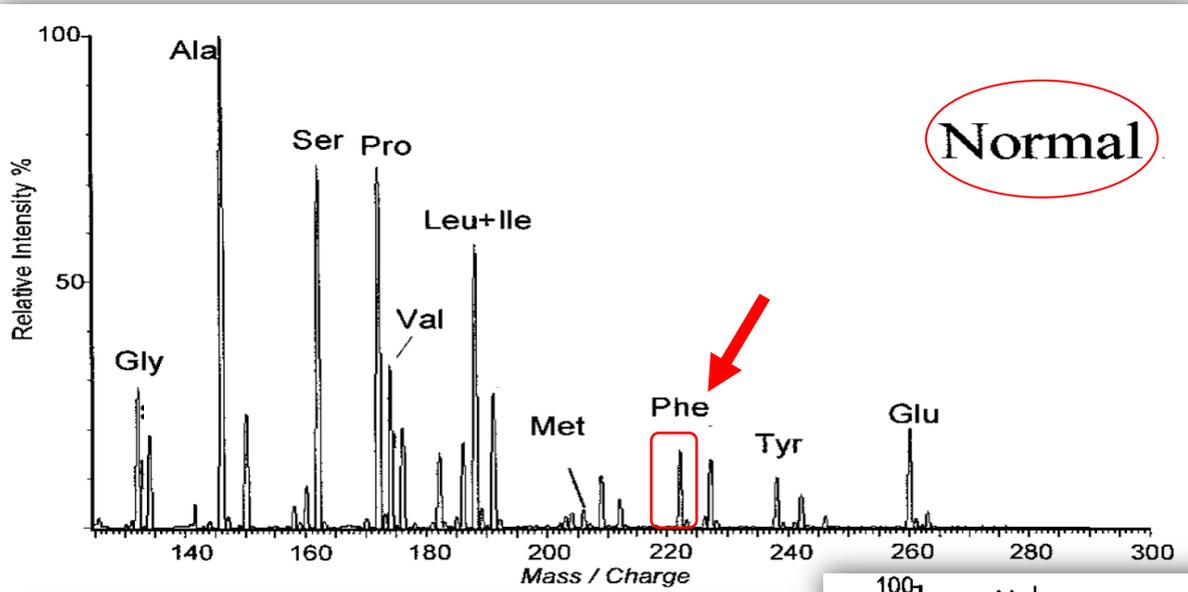
Уровень фенилаланина в пятне крови >240mmol/L – положительный ответ



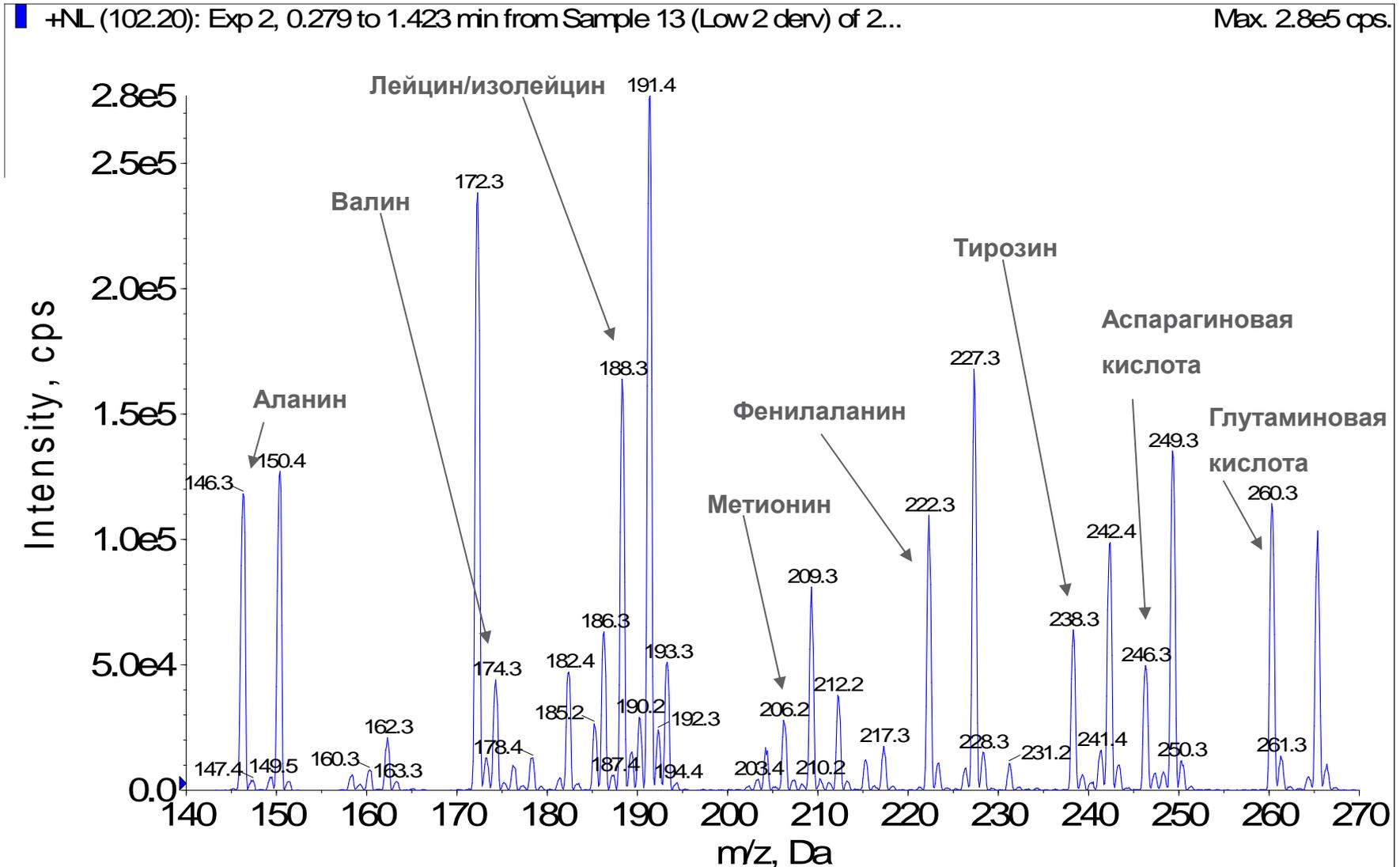
Фенилкетонурия - заболевание, связанное с нарушением метаболизма аминокислот, в результате дефицита энзима – фенилаланингидроксилазы,

- Фенилаланин метаболизируется в тирозин с помощью ФАГ
- **Повышенная концентрация фенилаланина токсична**
- Приводит к поражению мозга и умственной отсталости
- Легко корректируется путем диеты **Ранний диагноз крайне важен**

НБО скрининг методом ВЭЖХ/МС/МС



Неонатальный скрининг – Аминокислоты, контрольный образец с низкими концентрациями



Пример отчета о выполнении теста на аминокислоты и ацилкарнитины (с маркировкой отклонений)



Created with [ClearCore™ MD 1.0](#) – Quantitation Reporter
Printed: 12/06/2014 2:41:14 PM

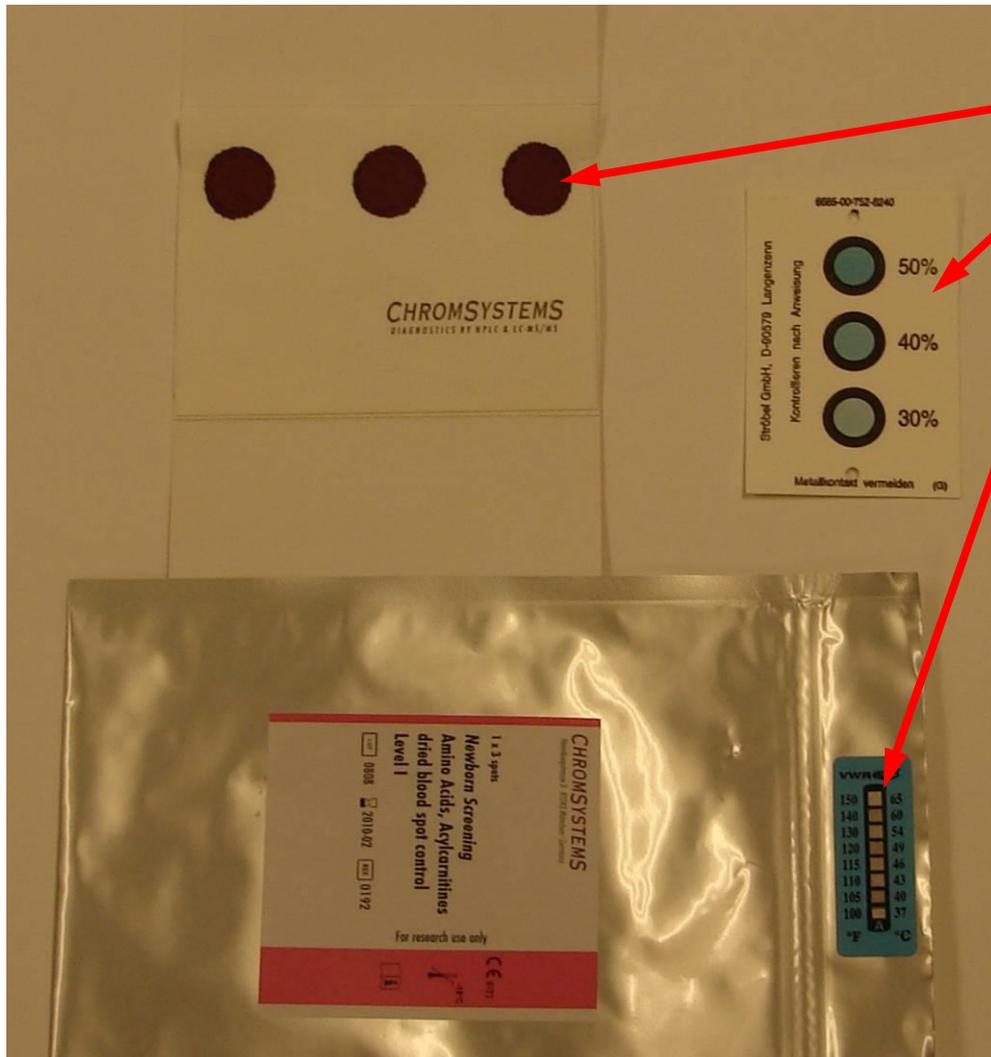
Per Sample Report

Sample: High control

Sample			
Data File		Date	
Sample Number	1	Vial	85
Sample Type		Plate	1
Processing Method			

Test Name	Result	Units	Qualifier	LCL	UCL
Alanine	564.121	µM	PASSED	301	1073
Aspartic acid	219.214	µM	PASSED	199	402
Arginine	116.687	µM	PASSED	88	255
Citrulline	217.906	µM	PASSED	200	343
Glutamic acid	520.168	µM	PASSED	476	908
Glycine	378.808	µM	FAILED_TOO_LOW	641	1184
Leucine	411.888	µM	PASSED	355	712
Methionine	178.572	µM	PASSED	92	368
Ornithine	426.593	µM	PASSED	316	693
Phenylalanine	377.894	µM	PASSED	325	730
Tyrosine	422.728	µM	PASSED	353	679
Valine	276.157	µM	PASSED	275	564
C2-Carnitine	59.929	µM	PASSED	41.8	93.2
C3-Carnitine	12.188	µM	PASSED	9.49	19.8
C4-Carnitine	4.116	µM	PASSED	2.49	6.05
C5-Carnitine	1.902	µM	PASSED	1.36	3.46
C5-DC-Carnitine	3.569	µM	PASSED	1.07	3.58
C6-Carnitine	1.867	µM	PASSED	1.39	2.98
C8-Carnitine	2.037	µM	PASSED	1.47	3.33
C10-Carnitine	1.889	µM	PASSED	1.33	3.51
C12-Carnitine	1.849	µM	PASSED	1.48	3.04
C14-Carnitine	1.812	µM	PASSED	1.32	3.12
C16-Carnitine	11.866	µM	PASSED	8.03	18.2
C18-Carnitine	7.406	µM	PASSED	4.79	12.9
alanine/arginine ratio	4.834		PASSED	0	∞

Отбор и транспортировка проб



- Пятна крови (3 на карту)
- Индикатор влажности
- Индикатор температуры

Скрининг новорожденных на гемоглобинопатии

Пробоподготовка и метод анализа

- Сухое пятно крови диаметром 3.2 мм
- Расщепление белков в трипсине 30 минут при t 37C
- Растворение в мобильной фазе (ацетонитрил:вода, 50:50 с 0.025% муравьиной кислоты)
- Ввод 2 мкл образца непосредственно в мобильную фазу
- Хроматографический цикл – 60 с
- МРМ метод для следующих видов гемоглобинов: HbS, HbC, HbE, HbD Punjab , HbO Arab, нормальные бета, альфа, гамма и дельта цепочки

Результаты скрининга

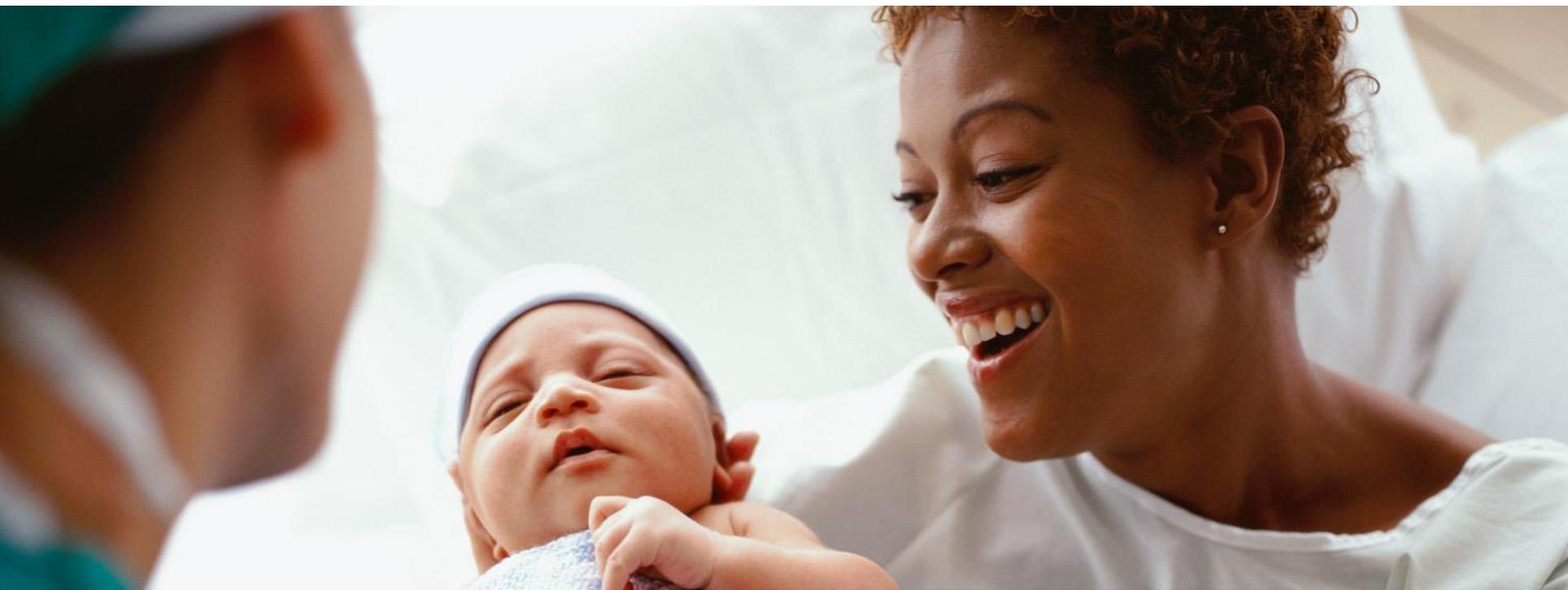
Итоги скринингового анализа 40 000 образцов

- HbS выявлен в 199 образцов
8 из них – HbS/HbF и 3 HbSC.
- HbC выявлен в 39 образцах
- HbD Punjab – в 52
- HbE в 48

Образцы с положительными результатами можно направить на дополнительное подтверждение (секвенирование белков)

Стоимость 1 анализа составила менее 10% от стоимости исследования методом изоэлектрофокусирования

Данные позволяют выявлять расстройства выработки серповидно-клеточных эритроцитов, основные виды талассемии, идентификация потенциальных Hb Lepore и Hb Barts

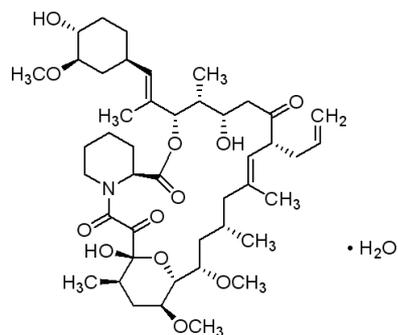


Обзор применений: Лекарственный мониторинг

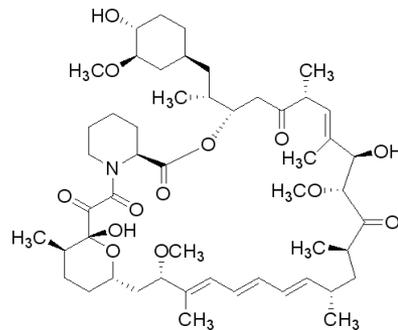
Анализ иммуносупрессоров



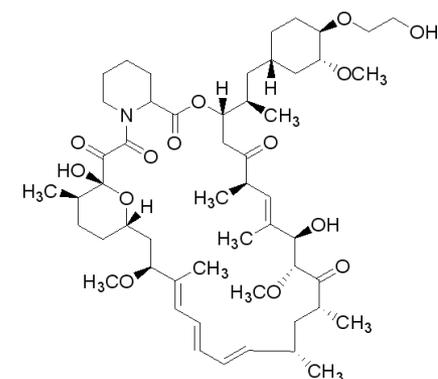
Иммуносупрессоры - структура



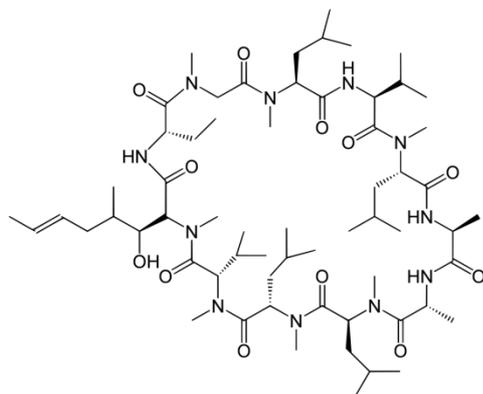
Такролимус
Молекулярный вес
822.0



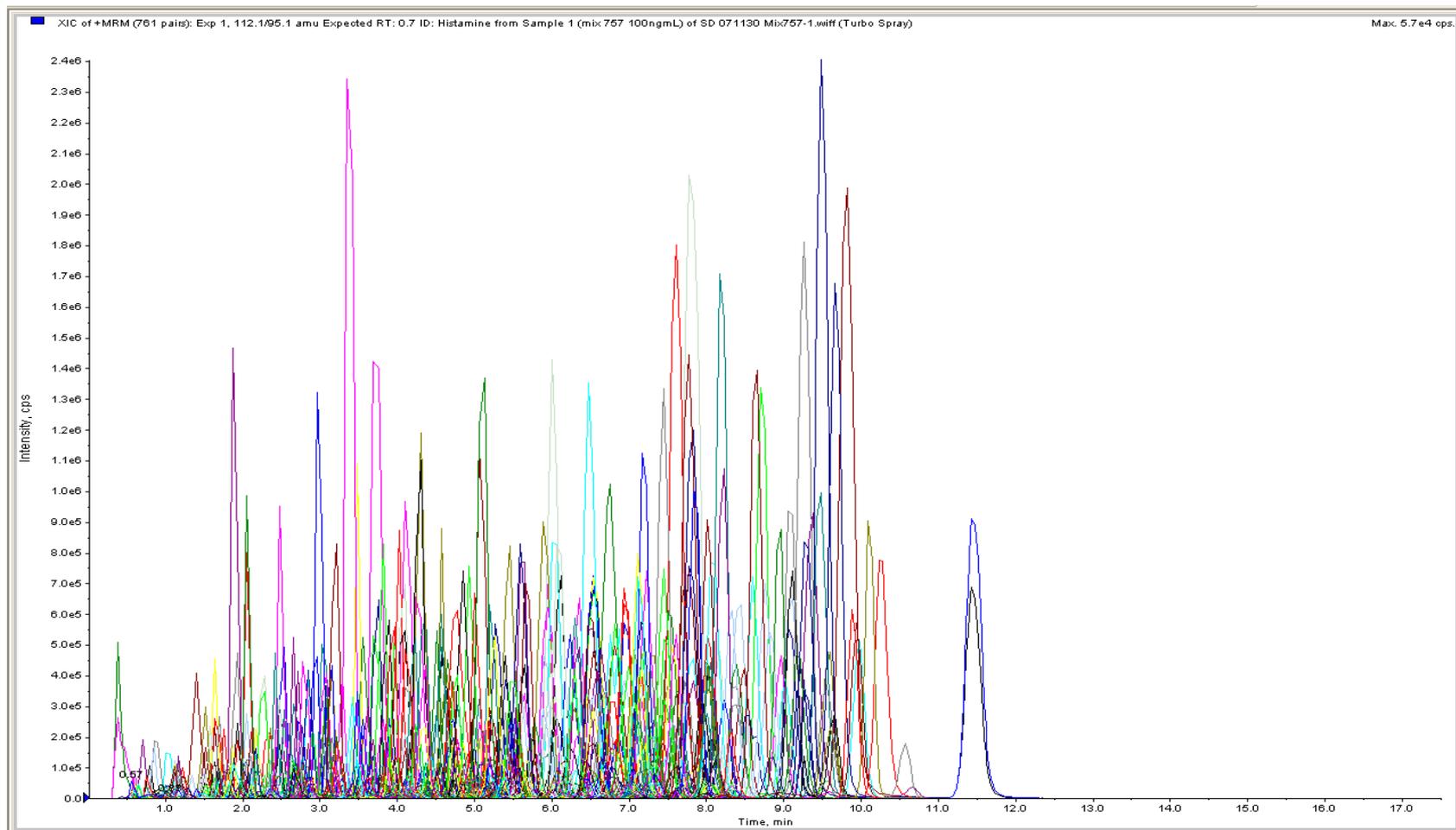
**Сиролимус
(Рапамицин)**
Молекулярный вес 914.2



Эверолимус
Молекулярный вес 958.2



Циклоспорин А
Молекулярный вес 1202.6



700 психоактивных лекарств, проанализированных на 3200
QTRAP®



Answers for Science.
Knowledge for Life.™



Аналитическая токсикология



Association of Laboratory
specialists and organizations
«Federation of Laboratory Medicine»

Ассоциация специалистов
и организаций лабораторной службы
«Федерация лабораторной медицины»

Методические указания

Диагностика потребления наркотических средств, психотропных и других токсических веществ методами иммунохроматографического анализа и высокоэффективной жидкостной хроматографии - тандемной масс-спектрометрии с линейной ионной ловушкой

Москва, 2016 г.

Тип: нормы и правила в сфере охраны здоровья

Проект методических указаний



Association of Laboratory
specialists and organizations
«Federation of Laboratory Medicine»

Ассоциация специалистов
и организаций лабораторной службы
«Федерация лабораторной медицины»

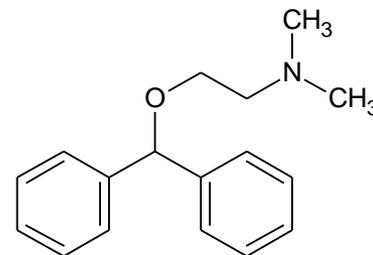
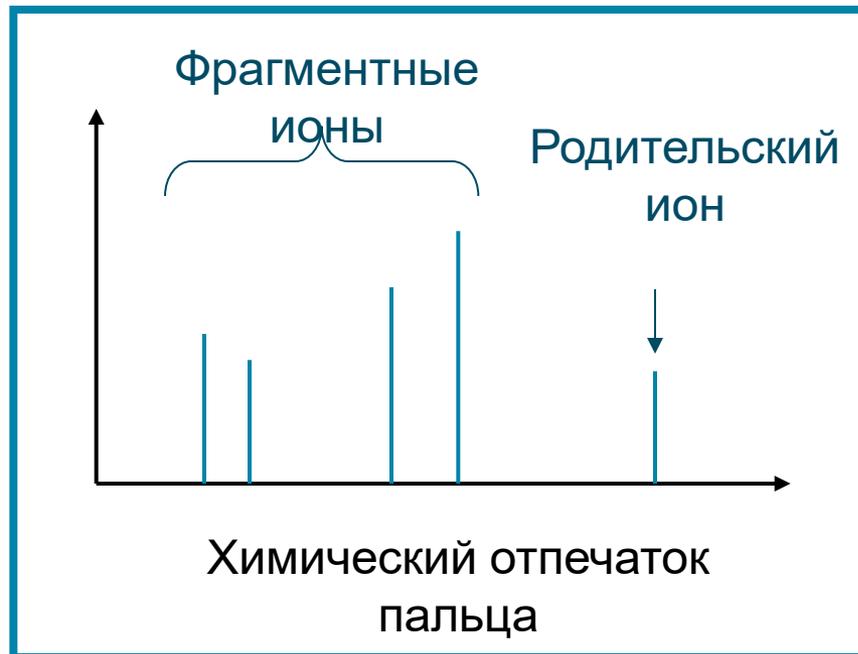
Методические указания

«Правила проведения химико-токсикологических исследований на предмет наличия в организме человека наркотических средств, психотропных и иных токсических веществ (их метаболитов) при проведении медицинских осмотров и медицинских освидетельствований отдельных категорий граждан»

14. Подтверждающие исследования мочи проводятся методами газовой и/или жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием с использованием технических средств, обеспечивающих:

- регистрацию и обработку результатов исследования путем сравнения полученного результата с данными электронных библиотек масс-спектров, рекомендованных Центральной химико-токсикологической лабораторией Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова;

Использование МС/МС библиотек



- Анализ стероидов
 - Панель стероидов
 - Тестостерон
 - Низкие концентрации тестостерона
 - Эстроген/Эстрадиол
- Биомаркеры
 - Витамин D
 - Гомоцистеины
 - Гомованилиновая кислота
 - Метанефрины
 - Т3/Т4/FT3/FT4
 - Этилсульфаты и этилглюкорониды
 - Метаболиты никотина
 - Гемоглобинопатии

Для лабораторий, нуждающихся в новых технологиях для повышения скорости анализа, селективности и чувствительности - результаты, которым можно доверять



**AB SCIEX
API 3200MD™
QTRAP® 3200MD**

Источник Turbo V™

с зондами
TurboIonSpray® или
APCI



Analyst® MD SW



Cliquant® MD SW

Серия **AB SCIEX 3200MD** устанавливает новый стандарт **надежного рутинного количественного анализа множественных аналитов** в клинической лабораторной диагностике.

Также доступна с **уникальной функцией QTRAP®**, позволяющей **проводить одновременный количественный и качественный анализ** повышая таким образом **уровень достоверности**.

Понятный оператору интерфейс – **ПО Cliquant® с поддержкой русского языка**, а также специализированная **методическая и сервисная поддержка**, позволяет серии **3200MD** стать **идеальной стартовой системой** для КДЛ

Выводы

- Тандемная масс-спектрометрия – универсальная технология с большим потенциалом применения в клинических лабораториях
- Масс-спектрометрия является альтернативой иммунохимическим методам и позволяет повысить достоверность, снизить издержки, снизить количество выполняемых анализов
- Технология AB SCIEX разработана с учетом обширного опыта в области клинических исследований, что дает уверенность в успешном внедрении в клиническую лабораторную диагностику масс-спектрометров API 3200MD™ & 3200MD QTRAP®



Answers for Science.
Knowledge for Life.™

