



Основы масс-спектрометрии и ее применение в клинической лабораторной диагностике

Мещанкина Т.Е. - Руководитель направления «Агентство Химэксперт»

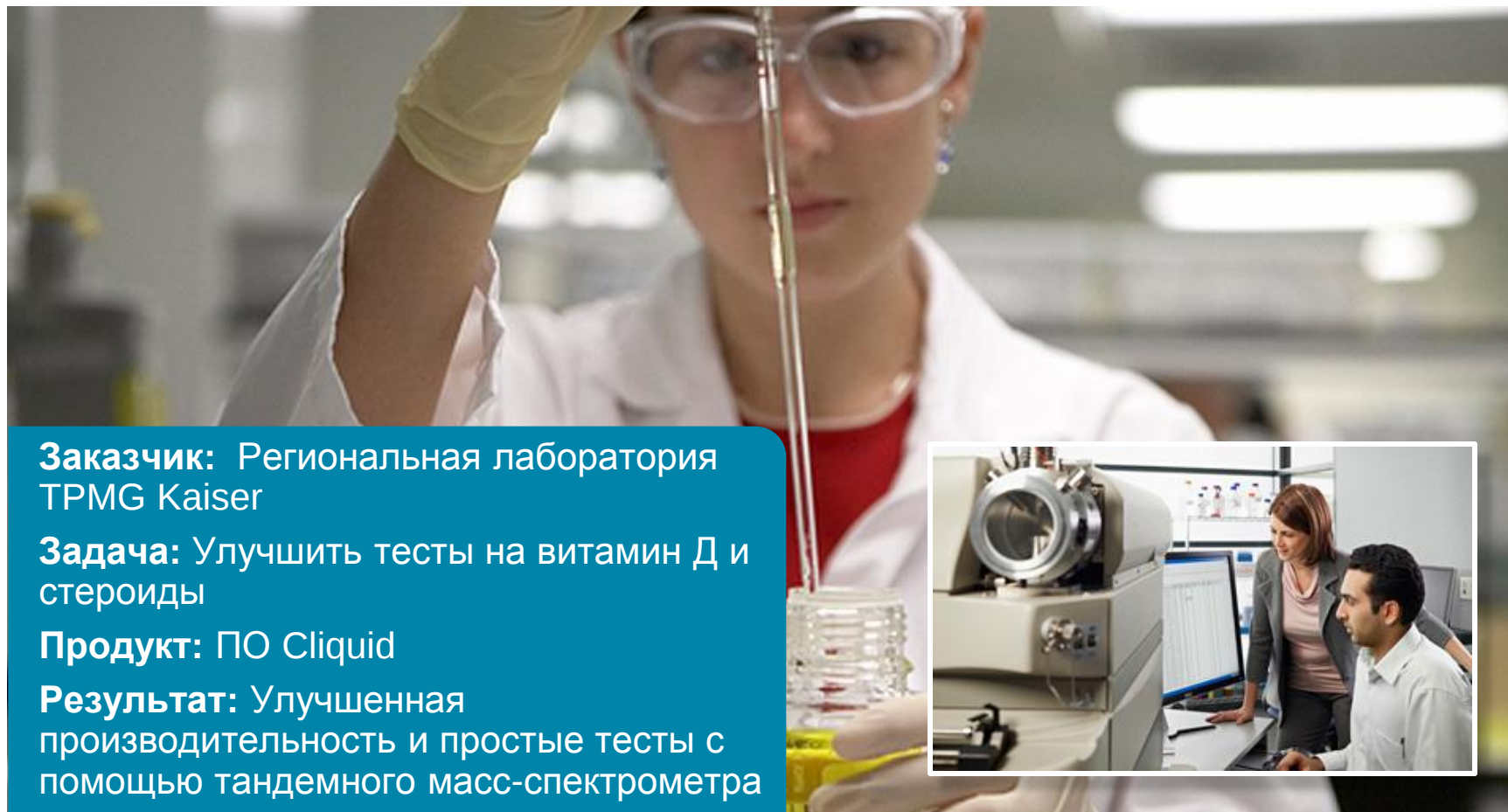


- Основы масс-спектрометрии
- Перспективы применения масс-спектрометрии в клинической лаборатории
- Обзор возможностей и применений

Наши достижения

Преобразуем клинические исследования

Более точные результаты для охраны здоровья



Заказчик: Региональная лаборатория
TPMG Kaiser

Задача: Улучшить тесты на витамин Д и
стероиды

Продукт: ПО Cliquid

Результат: Улучшенная
производительность и простые тесты с
помощью тандемного масс-спектрометра

Наши достижения

Инновационные биомедицинские исследования

Помогаем ведущим врачам-онкологам проникнуть в тайны раковых заболеваний



Заказчик: Центр протеомных исследований, Австралия

Задача: Лучшее понимание онкозаболеваний

Продукт: TripleTOF 5600 и QTRAP

Результат: Обнаружение предсказательных биомаркеров для ранней детекции рака

Преимущества тандемной масс-спектрометрии в сравнении с иммунохимическими методами

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

Эволюция масс-спектрометрии в диагностике

На сегодняшний день

Интегрированное решение

Специализированный клинический анализатор

Включение в линию

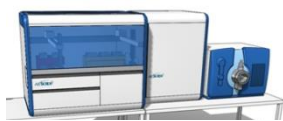
Лабораторные тесты



- Маркировка Class I и CE IVD (2a)
- Опытный персонал
- Загрузка партиями
- Меню ПО вызывается вручную

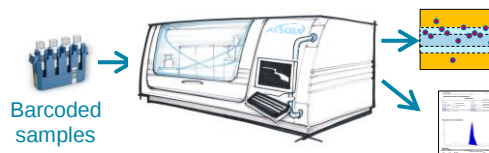
- Нет меню тестов

Интегрированные системы, одобренные регулятором



- Class II (Высокая сложность)
- Автоматизированная пробоподготовка
- Наборы реагентов
- Улучшенное ПО
- Меню тестов

Клинический анализатор

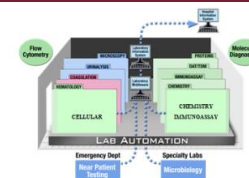
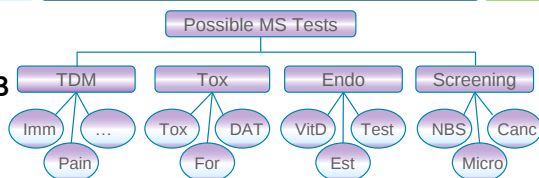


- Средняя сложность, Class II
- Полностью автоматизированные процессы
- Коммуникация через ЛИС
- Обширное меню тестов

Клинический анализатор в линии



- Встраивание в модульный клинический анализатор
- Интеграция в ЛИС
- Средняя сложность Class II
- Полное меню валидированных и утвержденных тестов



Номенклатурная классификация медицинских изделий по видам

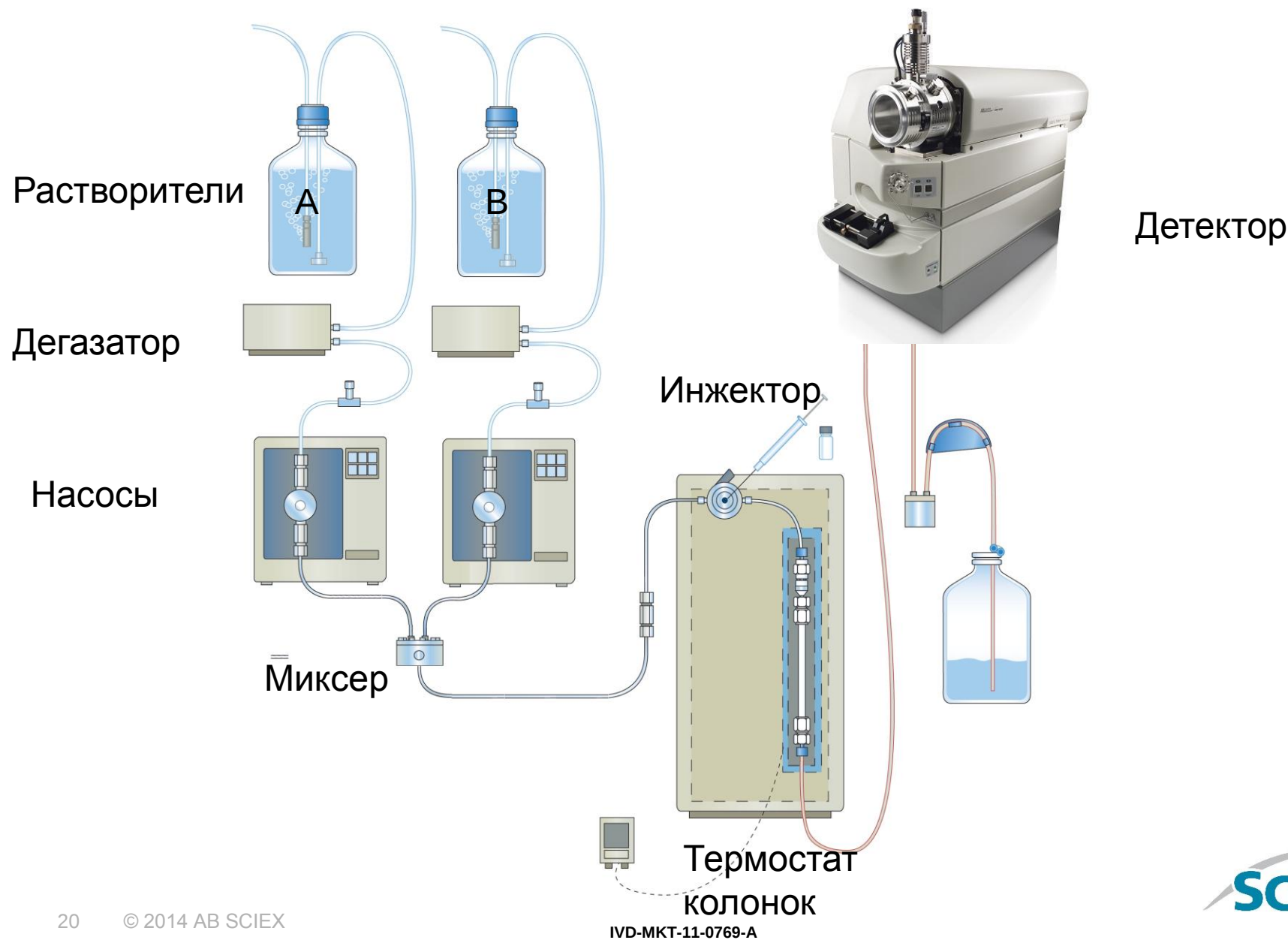
Утверждена приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации (Минздрав России) от 25 сентября 2014 г. N 557н

107660	5. Медицинские изделия для in vitro диагностики (ИВД) 5.01. Анализаторы ИВД	Анализатор масс-спектрометрический ИВД, автоматический	Лабораторный аппарат, работающий от сети (на переменном токе), предназначенный для использования при качественном и/или количественном определении химического состава клинического образца с помощью ионизации образца и разделения полученных ионов по массе с помощью электрического и магнитного поля. Устройство работает при минимальном участии техника и полной автоматизации всех процедурных этапов.
107670	5. Медицинские изделия для in vitro диагностики (ИВД) 5.01. Анализаторы ИВД	Анализатор масс-спектрометрический ИВД, полуавтоматический	Лабораторный аппарат, работающий от сети (на переменном токе), предназначенный для использования при качественном и/или количественном определении химического состава клинического образца с помощью ионизации образца и разделения полученных ионов по массе с помощью электрического и магнитного поля. Устройство работает при минимальном участии техника и полной автоматизации всех процедурных этапов. Устройство работает при минимизированном участии техника и частичной, но не полной автоматизации всех процедурных этапов.

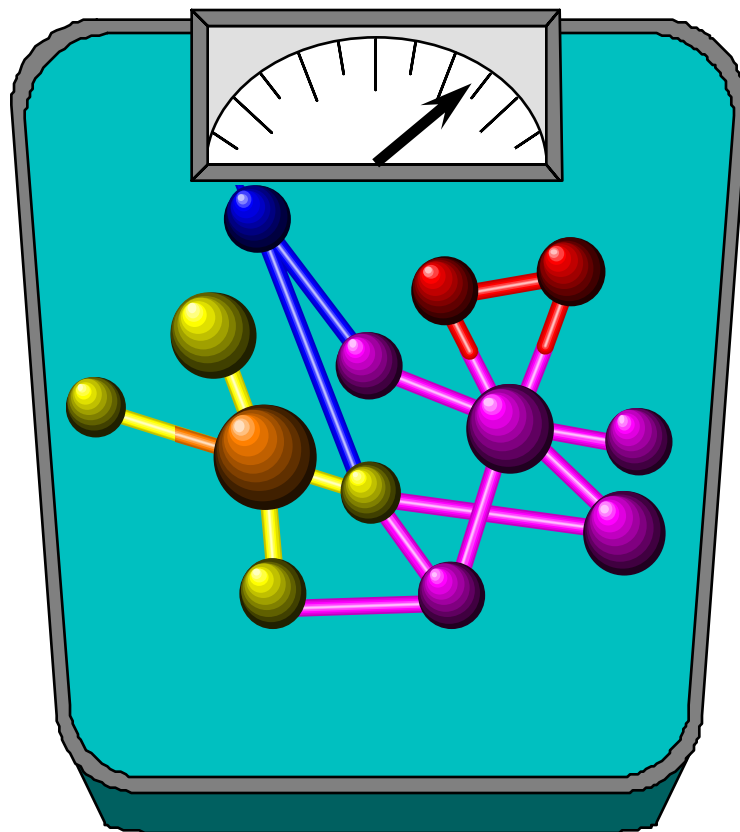


Основы масс-спектрометрии

Жидкостной хроматограф

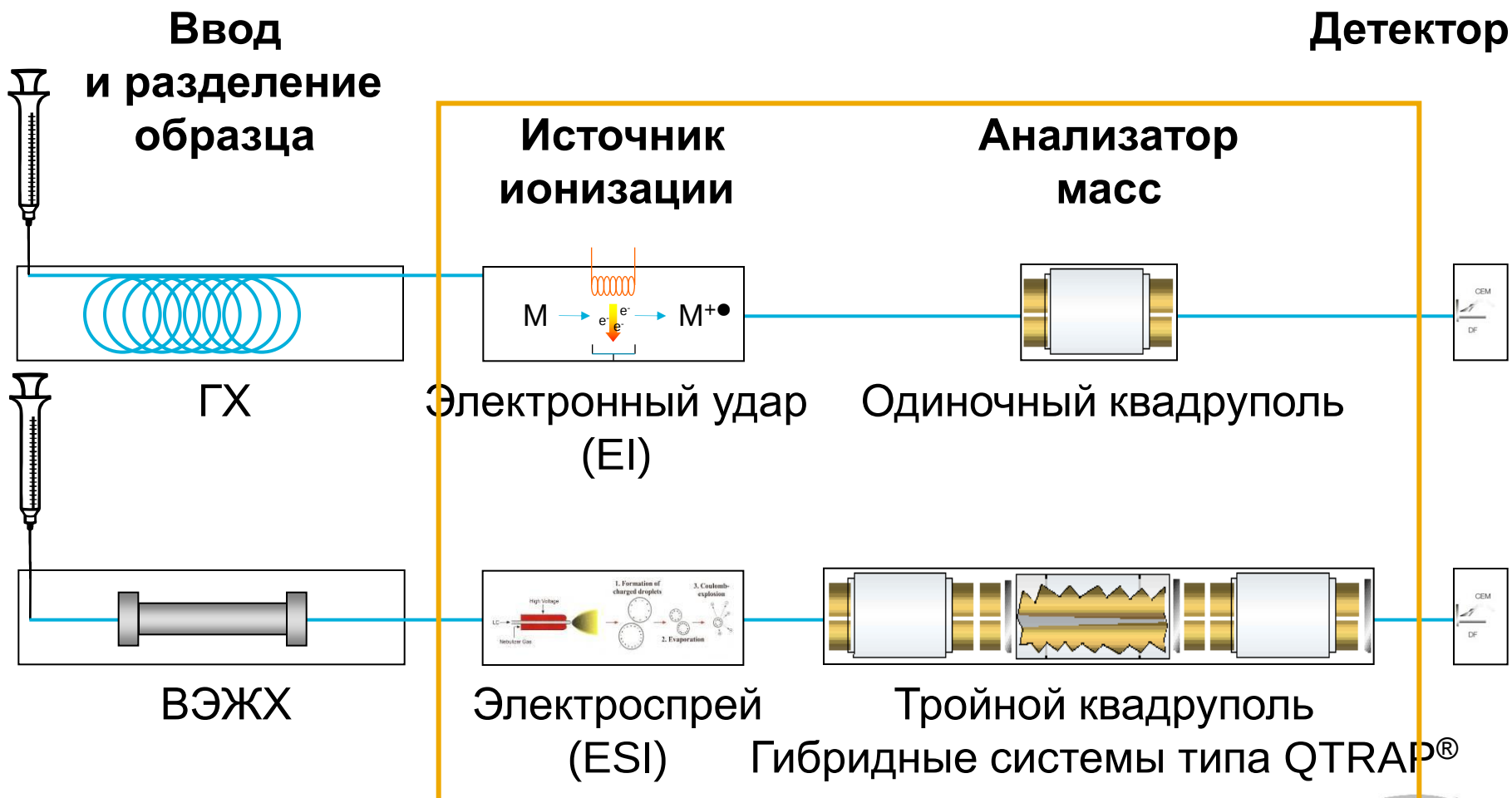


Что такое масс-спектрометр?



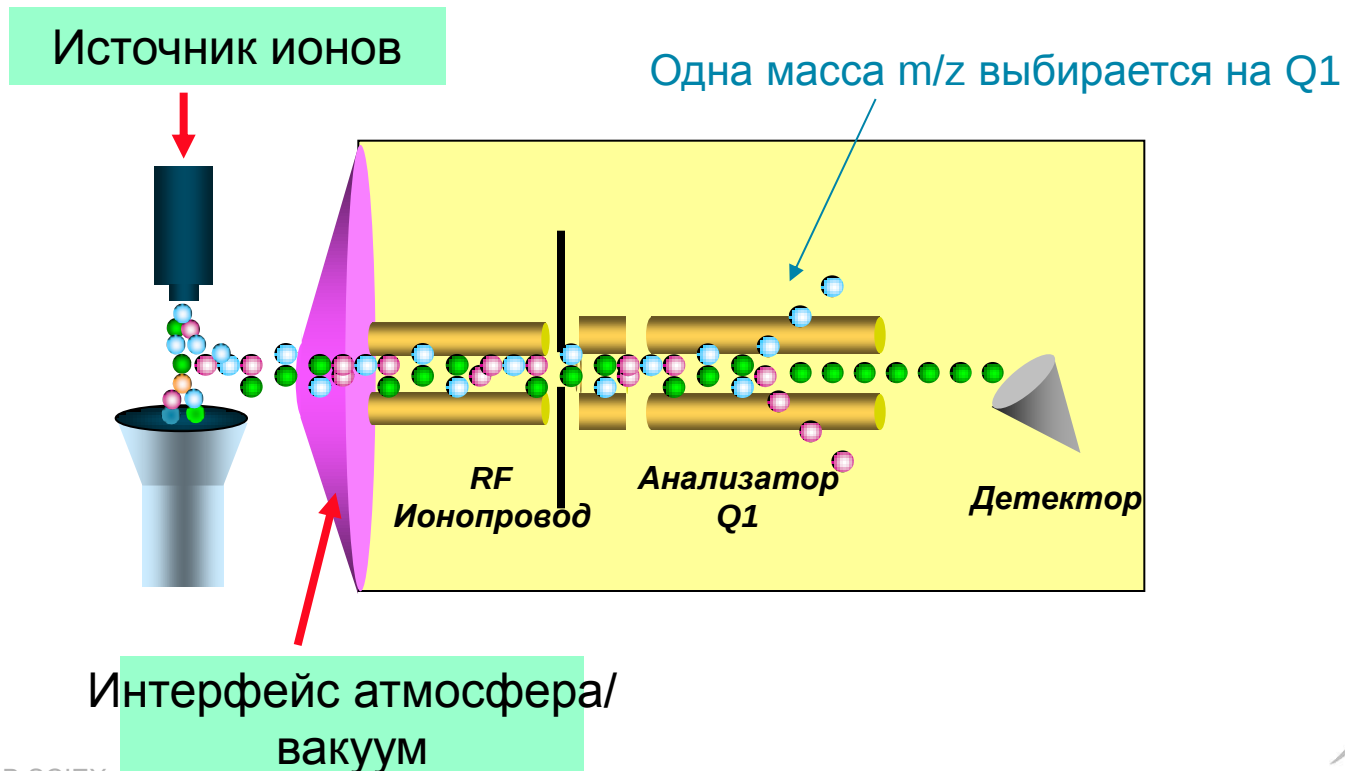
- Масс-спектрометр измеряет молекулярную массу вещества
(технически, *отношение* массы к заряду, m/z)

Схематическое устройство ГХ/МС и ЖХ/МС/МС



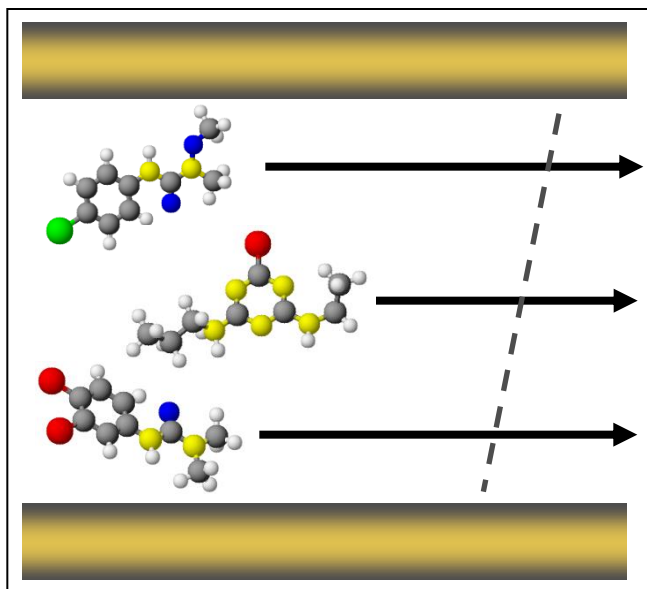
Моноквадрупольные масс-спектрометры

- Аналиты ионизируются в источнике, затем попадают в анализатор масс
- Ионы одной массы m/z выбираются на квадрупольном анализаторе (Q1)
- Квадрупольный анализатор – это *фильтр масс*



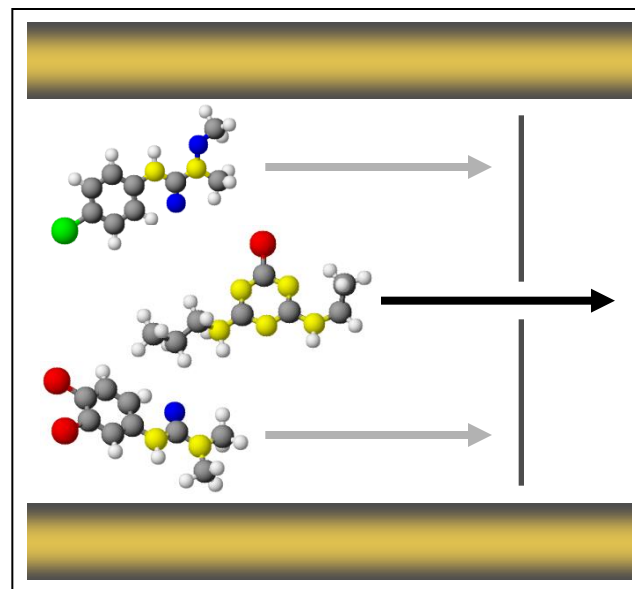
Типы сканирования

Сканирование в МС



- Q1: Режим сканирования

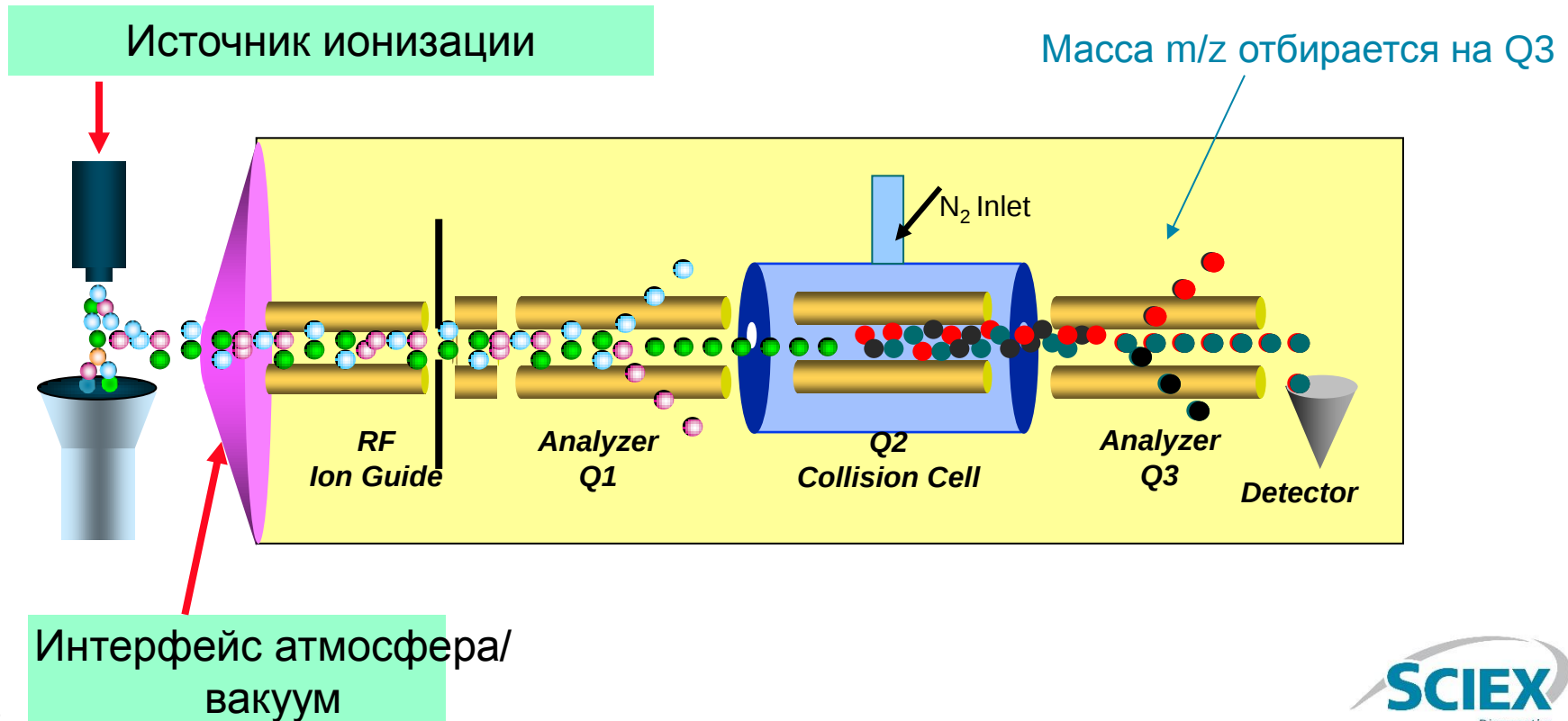
Мониторинг единичных ионов (SIM)

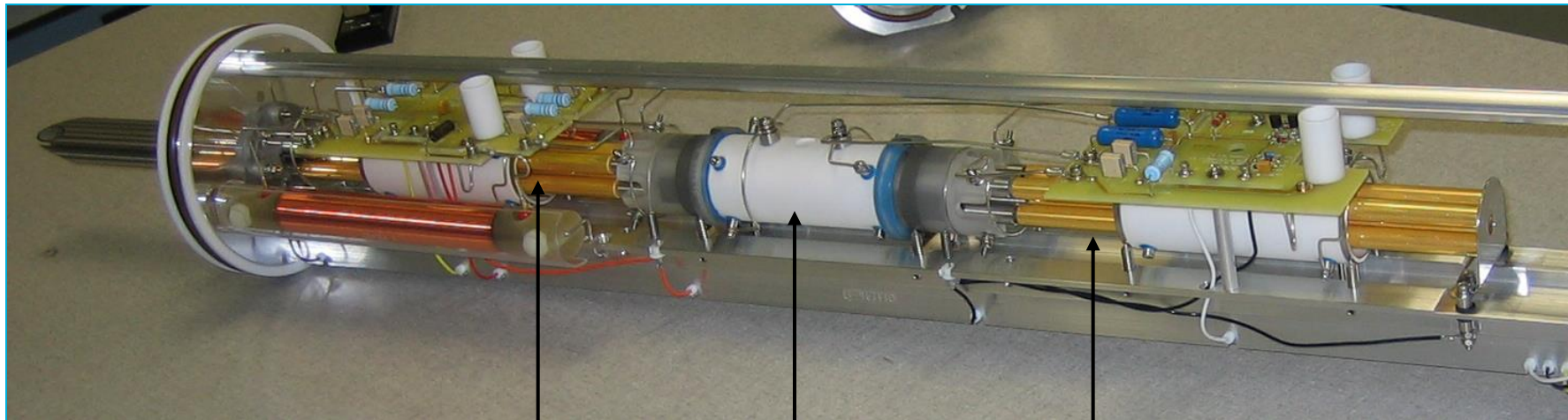


- Q1: Фильтр

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)



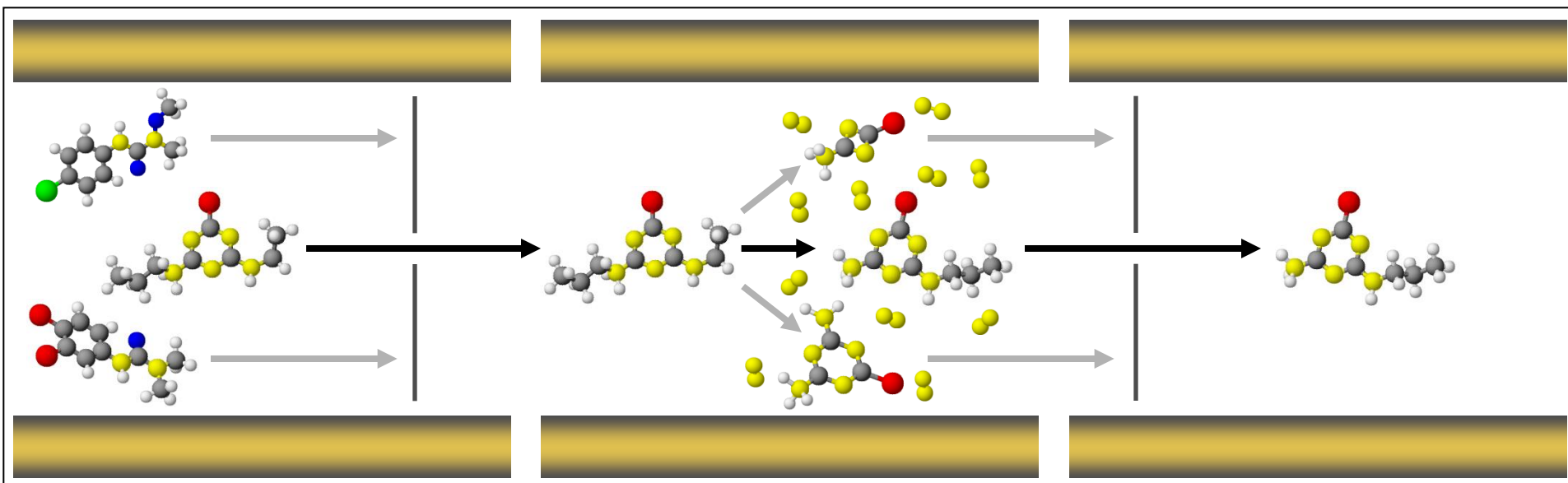


1й набор
квадрупольных
стержней (Q1)

Коллизионная ячейка
(Q2)

2й набор
квадрупольных
стержней (Q3)

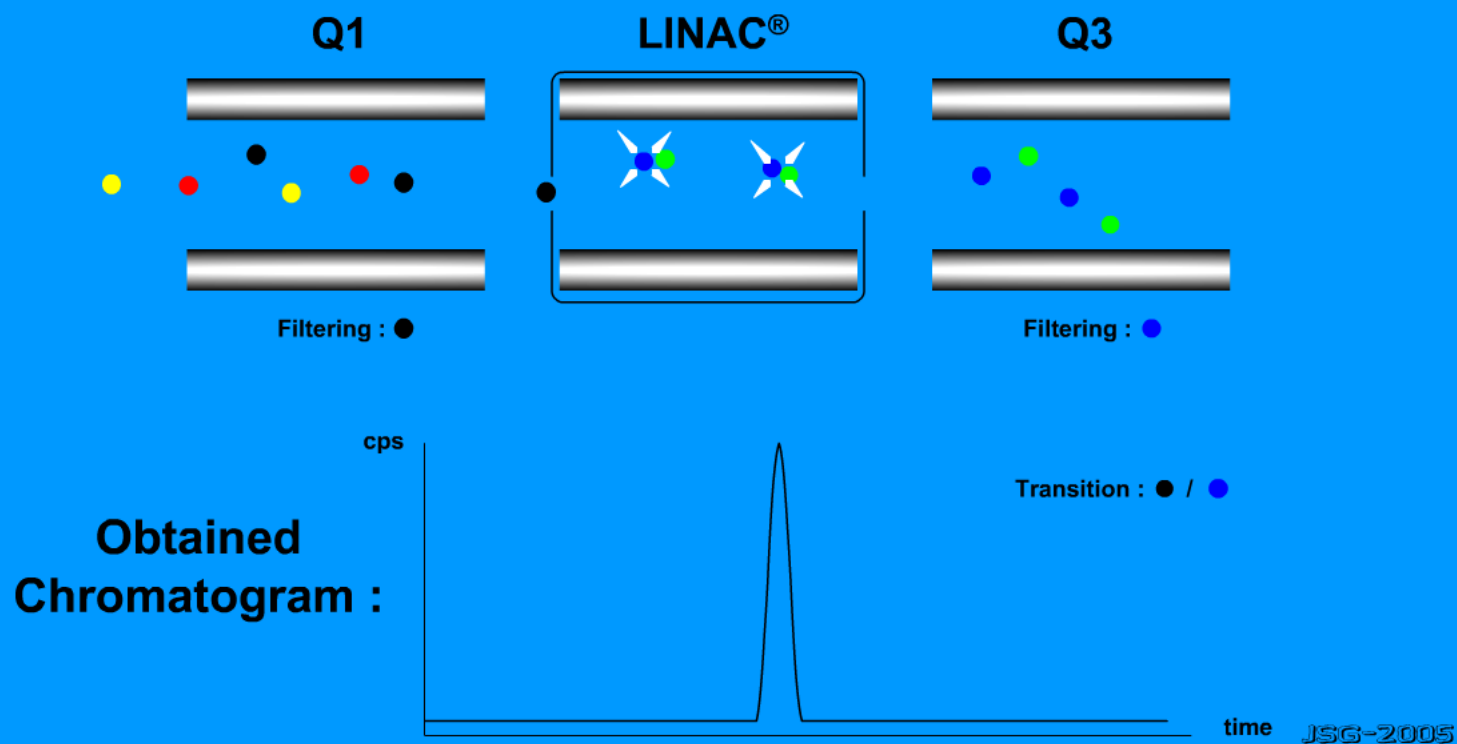
Типы сканирования – Мониторинг множественных реакций (MRM)



- Q1: Фильтр
- Q2: Фрагментация
- Q3: Фильтр

→ Количественный анализ и целевой скрининг

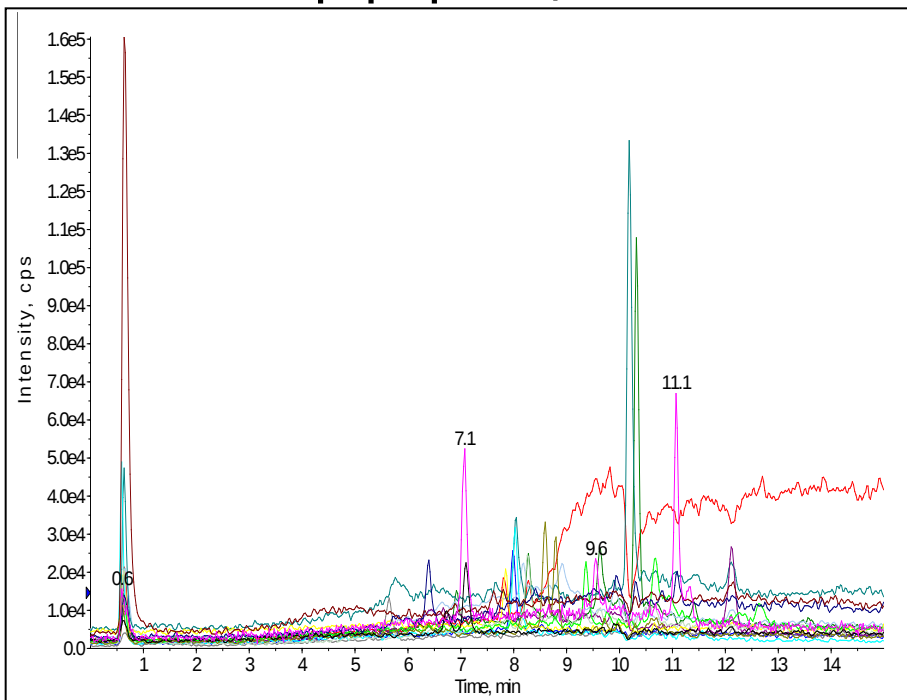
Multiple Reaction Monitoring (MRM)



SIM vs. MRM

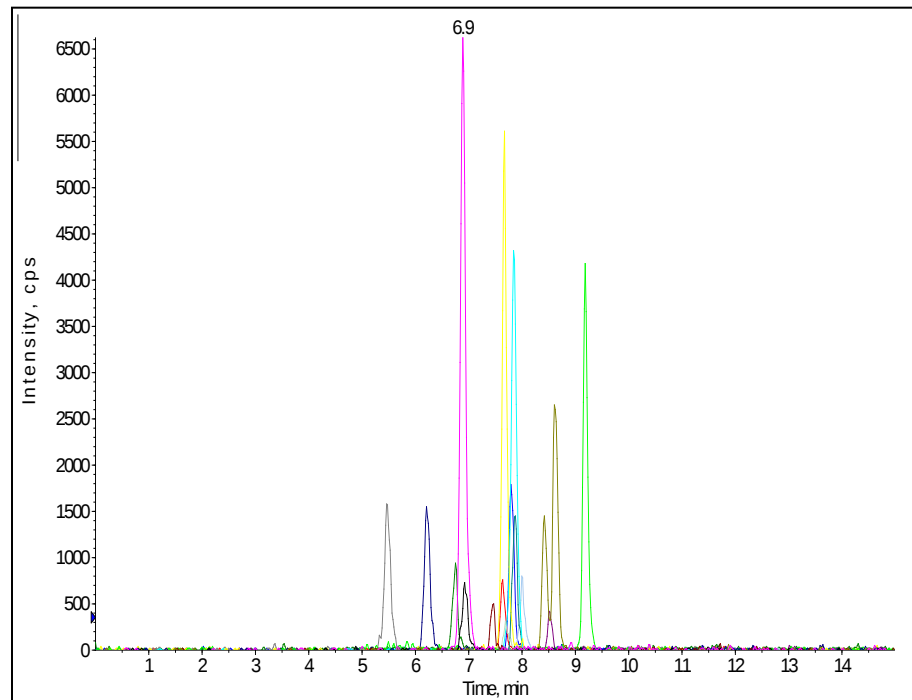
Мониторинг единичных ионов

- Низкая селективность
- Интерференции



Мониторинг множественных реакций

- Отличная селективность
- Отсутствие наложений



Золотой стандарт количественного анализа

Тандемная масс-спектрометрия – замена иммунохимических методов?

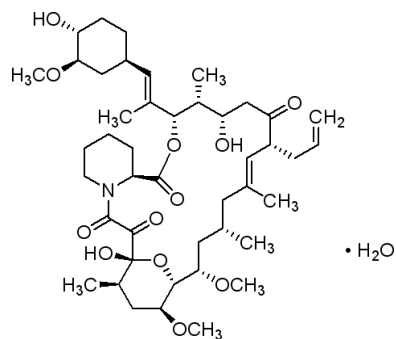
Основные проблемы применения	Применение ИФА	Применение масс-спектрометрии
Проблемы специфичности	Хорошо описанные проблемы кросс-реакций и наложений.	Детекция методом селекции масс позволяет добиться более надежных и достоверных результатов
Низкие пределы количественного анализа	ИФА тесты достигли своих пределов количественного определения	Селективность масс-спектрометра позволяет снизить пределы обнаружения и количественного анализа
Высокие издержки	Обычно высокая стоимость, особенно в случае применения индивидуальных тестов	Низкие эксплуатационные расходы и мультиплексный анализ позволяет снизить издержки
Дефицит антител (сложности с созданием новых тест-систем плюс длинный цикл разработки)	Долгое время разработки новых тестов	Не требует антител для разработки новых тестов



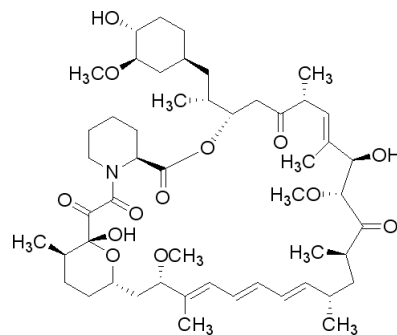
Обзор применений: Лекарственный мониторинг

Анализ иммуносупрессоров

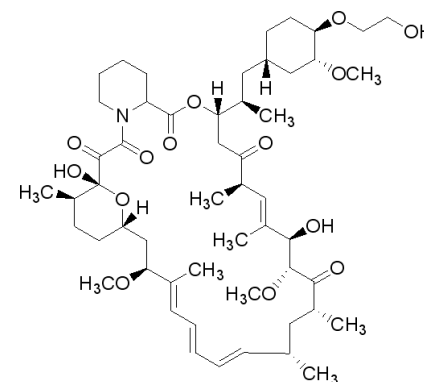
Иммуносупрессоры - структура



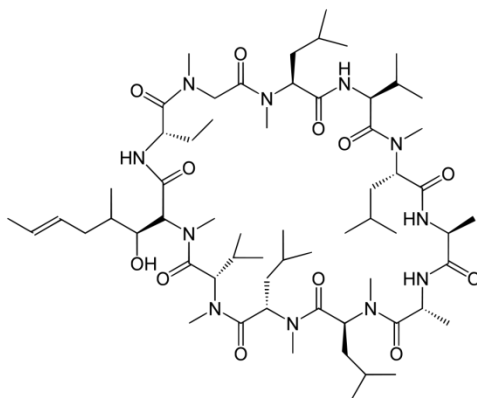
Tacrolimus
(aka FK-506)
MW 822.0



Sirolimus
(aka Rapamycin)
MW 914.2



Everolimus
MW 958.2



Cyclosporin A
MW 1202.6

Преимущества тандемной масс-спектрометрии при анализе иммуносупрессоров

- **Селективность:**
 - Отсутствие кросс-реакций и наложений
- **Чувствительность**
 - Хорошая чувствительность в большом диапазоне концентраций
- **Пробоподготовка**
 - Минимальная пробоподготовка
 - Возможность автоматизации очистки образцов
 - Достаточно небольших количеств образца
- **Точность:**
 - Достоверный и точный количественный анализ с использованием стандартов
- **Гибкость**
 - Одновременное исследование нескольких препаратов
 - Можно объединить с другими панелями исследований

Необходимое оборудование

- Тандемный масс-спектрометр
- Наборы для анализа иммуносупрессоров
- Микроцентрифуга 14000 rpm
- Пипетки 0-200 мкл и 0-1000 мкл
- Одноразовые наконечники
- Стандартная лабораторная посуда

Параметры анализа крови на иммуносупрессоры с использованием тандемного масс-спектрометра

Analyte	S/N	%CV	LLOQ (ng/mL)
<i>Cyclosporin</i>	435	3.9	1.6
<i>Tacrolimus</i>	20	7.2	1.3
<i>Sirolimus</i>	14	8.6	2.3
<i>Everolimus</i>	11	4.3	2.5



Анализ сухих пятен крови на аминокислоты и ацилкарнитины

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

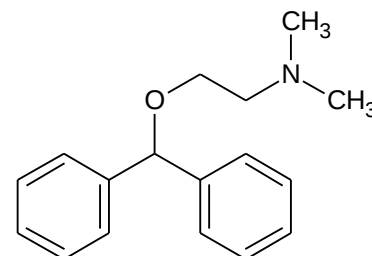
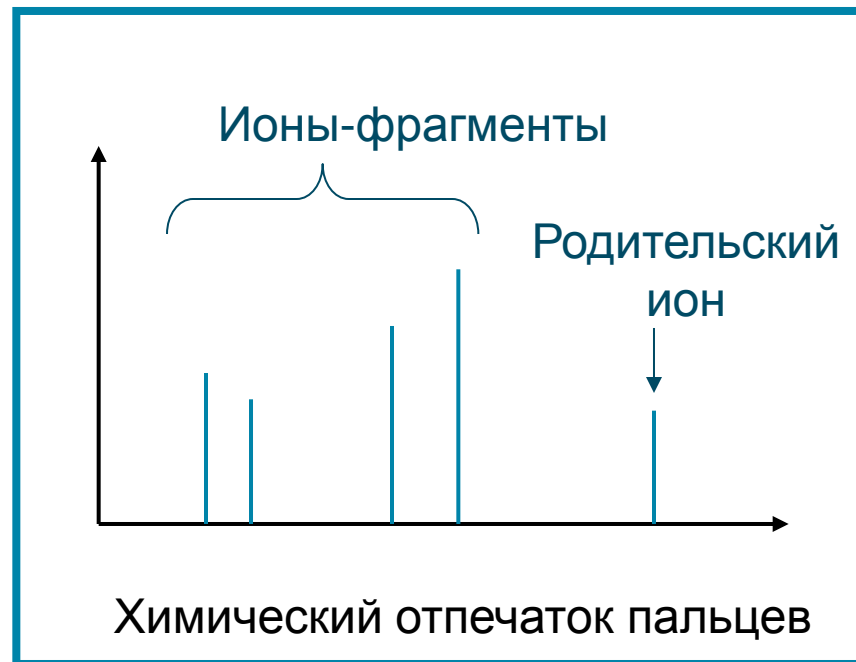
Sample		Date	
Data File		Vial	85
Sample Number	1	Plate	1
Sample Type			
Processing Method			

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	∞



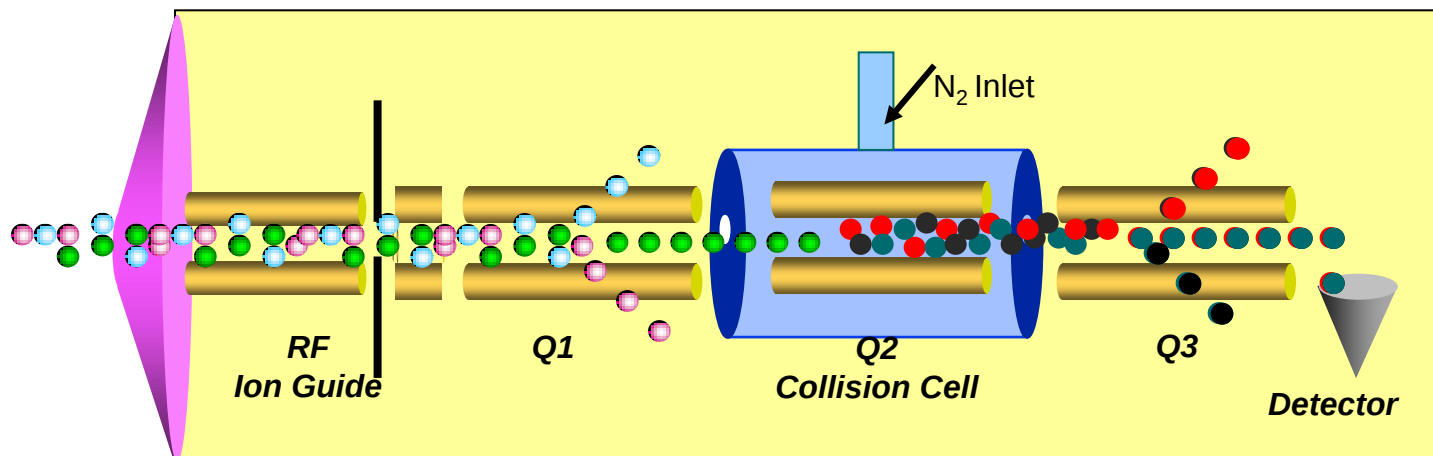
Химико-токсикологический анализ

Подтверждение с помощью ВЭЖХ/МС библиотек

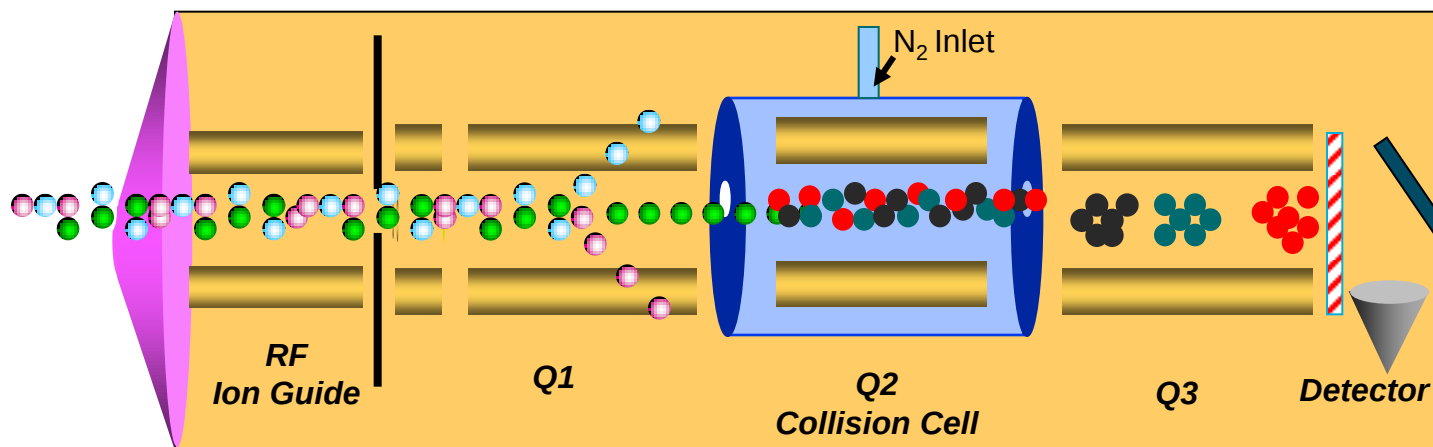


МС/МС спектр уникален для каждого соединения

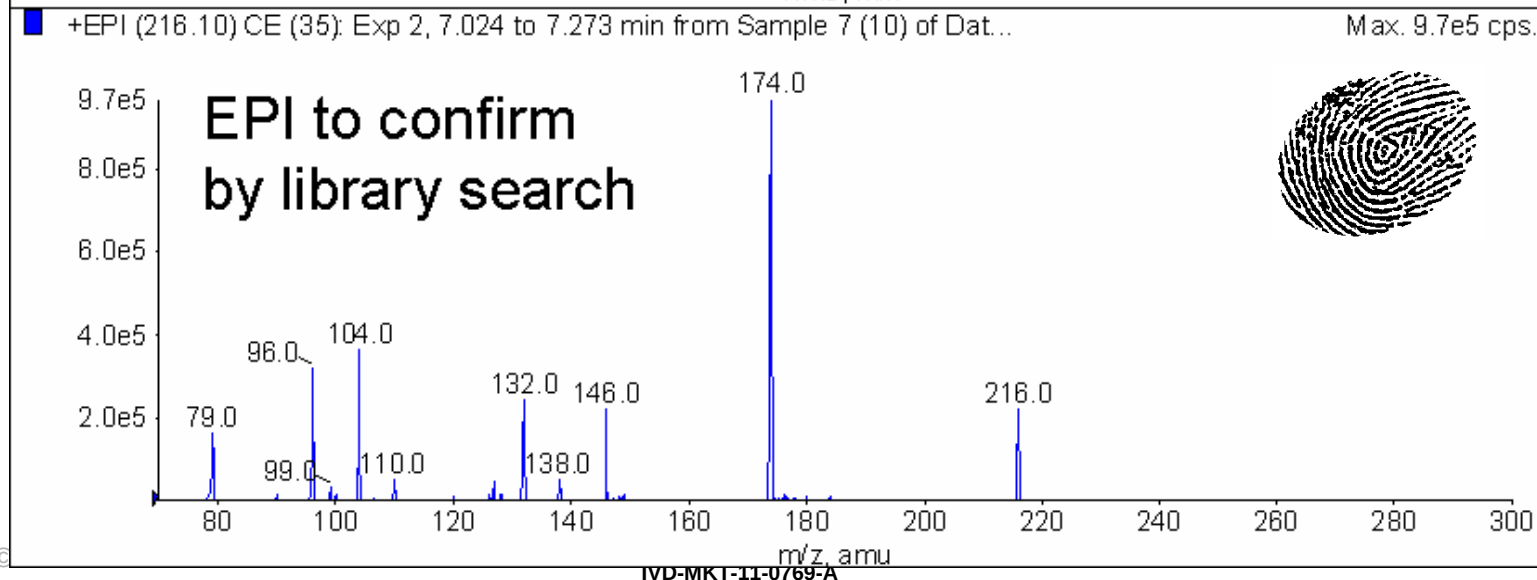
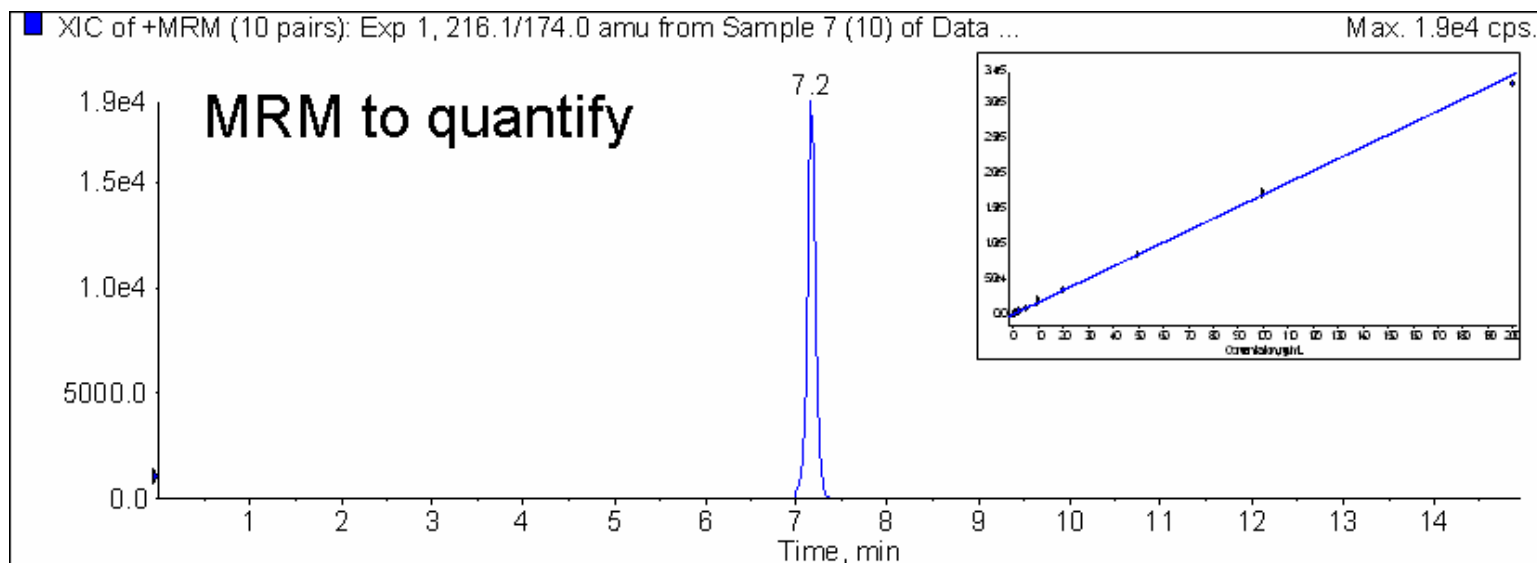
Тандемная масс-спектрометрия



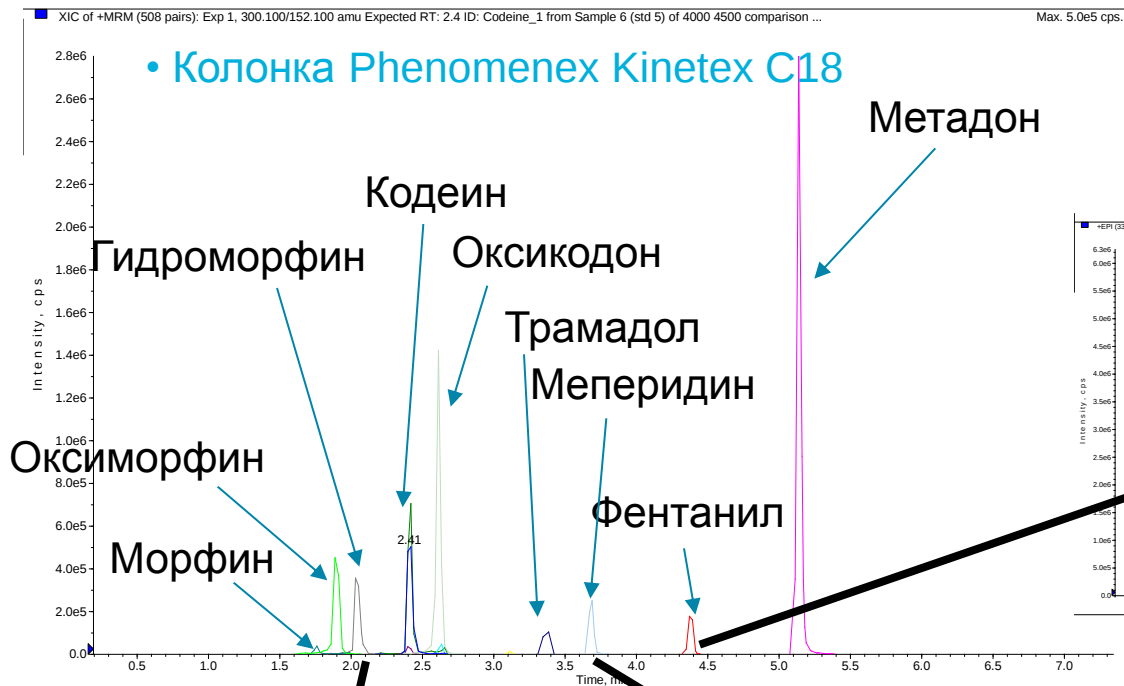
Технология QTrap



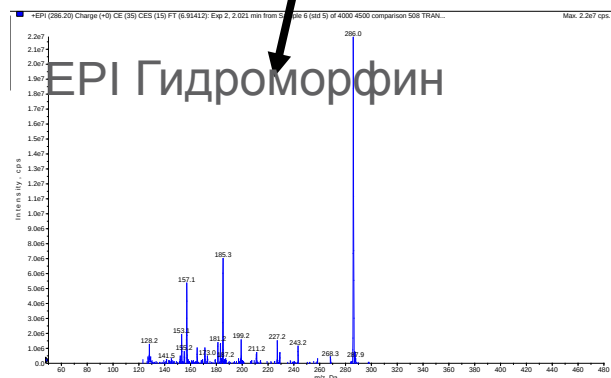
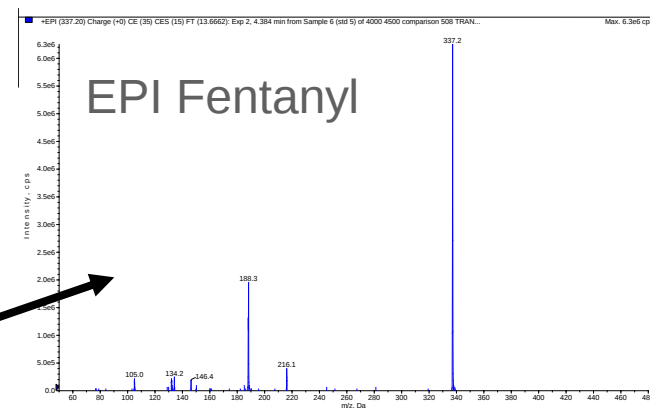
Скрининг и Количественный анализ на основе MRM + Подтверждение на основе библиотек



Анализ мочи на наркотики с помощью системы QTRAP® 4500



Простая
пробоподготовка
(разбавление)



• Мониторинг 508 переходов

• 2 перехода на каждое
соединение

• sMRM-IDA-EPI

• Объем 10 мкл

Обзор методов тандемной масс-спектрометрии для клиники

Лекарственный мониторинг	НБО	Биомаркеры	Токсикология
<i>Иммуносупрессоры</i> <i>Антиретровирусные препараты</i> <i>Антиконвульсанты</i> <i>Нейролептики</i>	<i>30-40 заболеваний, связанных с НБО</i>	<i>Стероиды</i> <i>Т3/Т4</i> <i>Витамин Д</i> <i>Гомоцистеин</i> <i>Желчные кислоты</i> <i>Метанефрины</i> <i>Катехоламины</i> <i>Онкологические биомаркеры</i>	<i>Поиск неизвестных токсикантов</i> <i>(в т.ч. при острых отравлениях)</i> <i>Идентификация наркотических и контролируемых препаратов</i> <i>Обезболивающие препараты</i> <i>Опиаты</i> <i>Бензодиазепины</i>

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®, 4500MD и наборов реагентов

Потому что достоверные клинические результаты стоят того



Экспертная
поддержка и
лучшая из
доступных
технологий



Questions and Answers