



Основы масс-спектрометрии и ее применение в клинической лабораторной диагностике

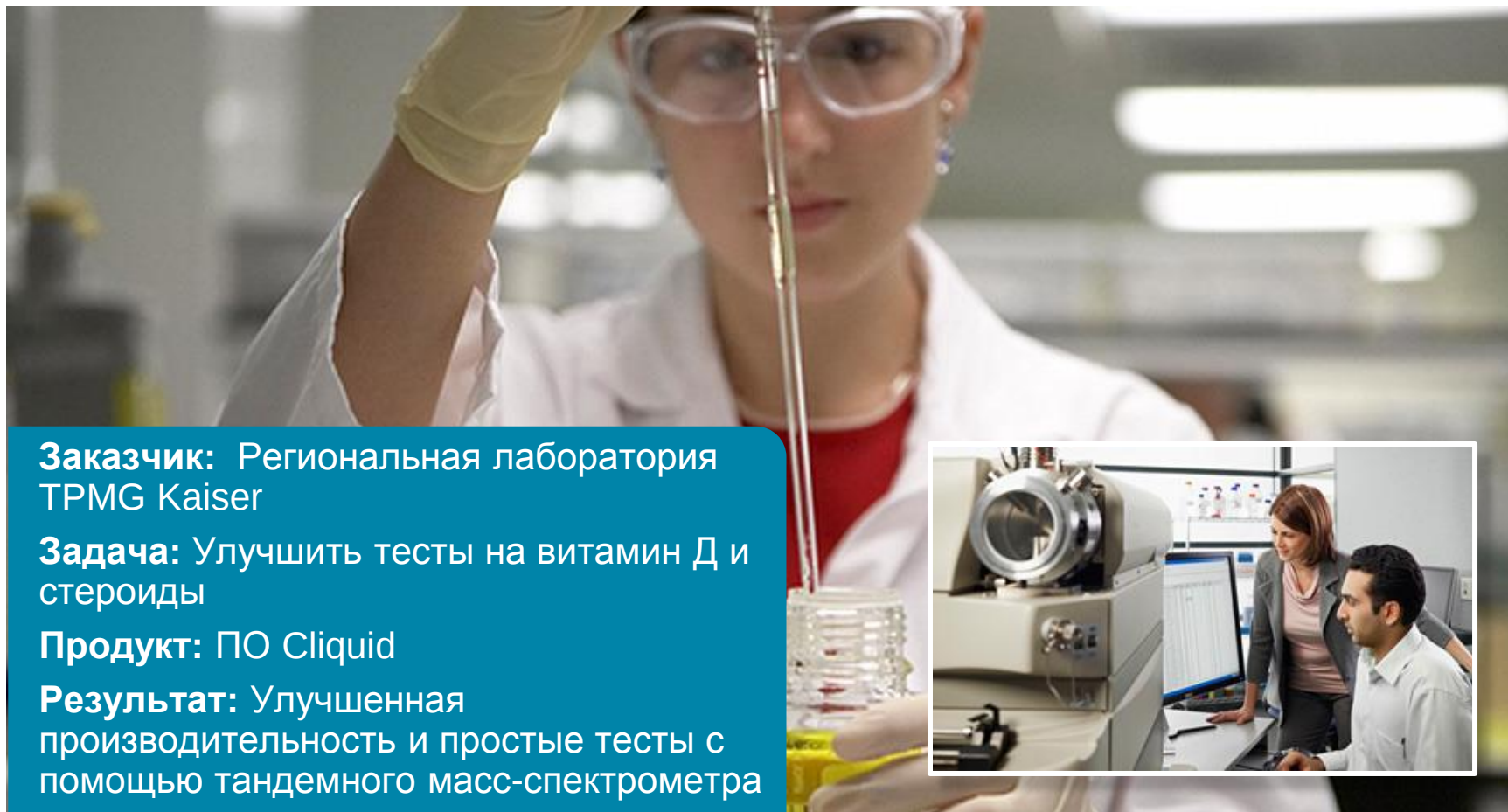
Дудкин П.Ю. - «Агентство Химэксперт»

- 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



Тандемная масс-спектрометрия для клинической диагностики

- Большой потенциал в повышении точности результатов и скорости выполнения анализов
- Снижение издержек в рутинной диагностике *in vitro*

AB SCIEX представил первый масс-спектрометр для диагностики *In Vitro* в феврале 2013



Проверенный
аналитический
метод,
адаптированный
для применения
специалистами
КДЛ

Эволюция масс-спектрометрии в диагностике

На сегодняшний день

Интегрированное решение AB SCIEX

Специализированный клинический анализатор

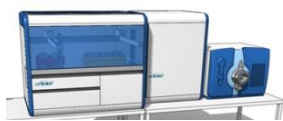
Включение в линию

Лабораторные тесты



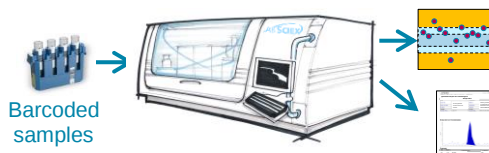
- Маркировка Class I и CE IVD (2a)
- Опытный персонал
- Загрузка партиями
- Меню ПО вызывается вручную

Интегрированные системы, одобренные регулятором



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

Клинический анализатор



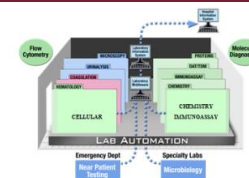
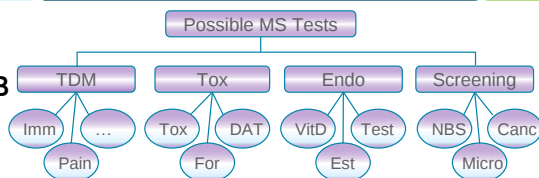
- Средняя сложность, Class II
- Полностью автоматизированные процессы
- Коммуникация через ЛИС
- Обширное меню тестов

Клинический анализатор в линии



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

- Нет меню тестов



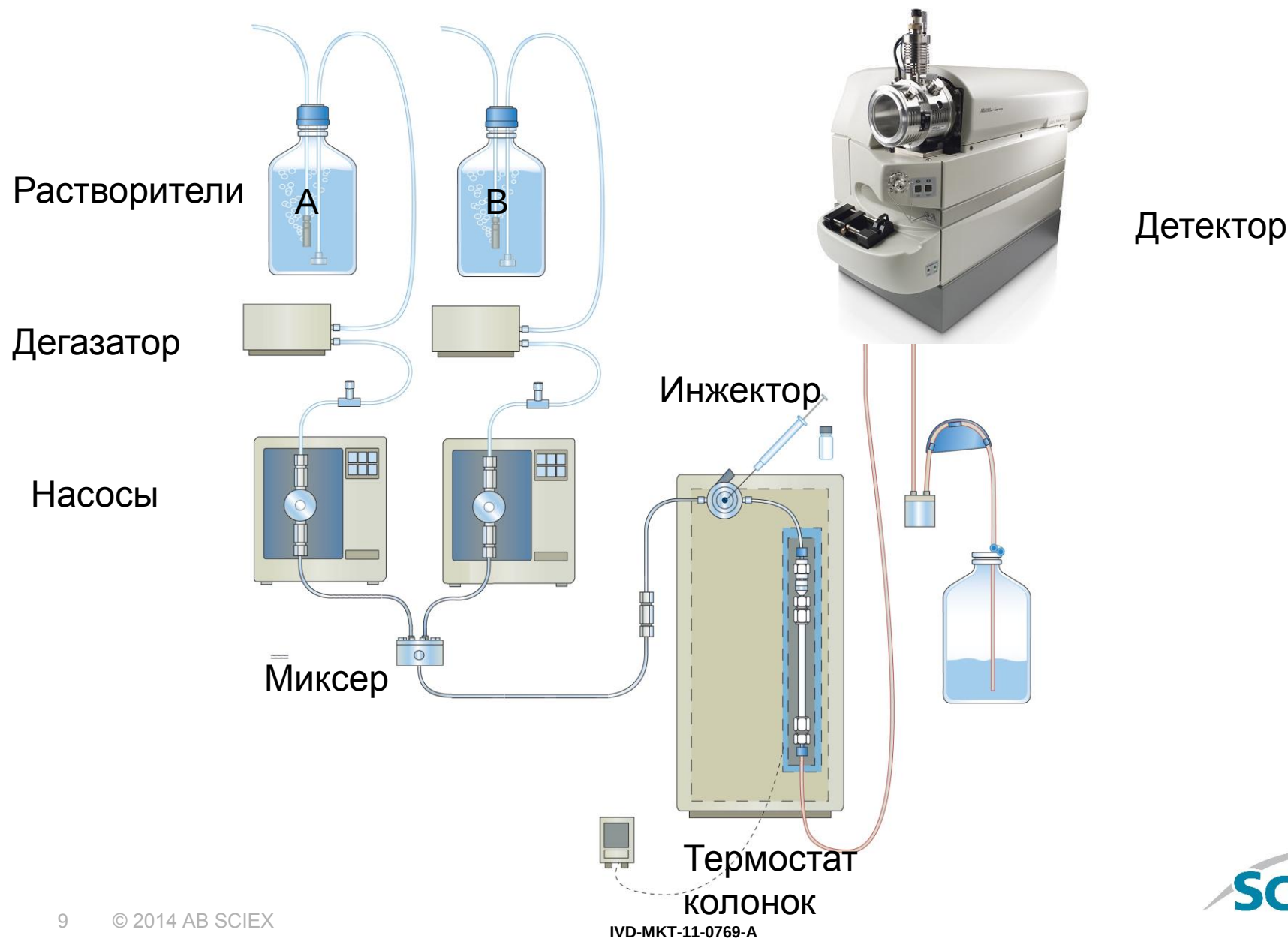


Основы масс-спектрометрии

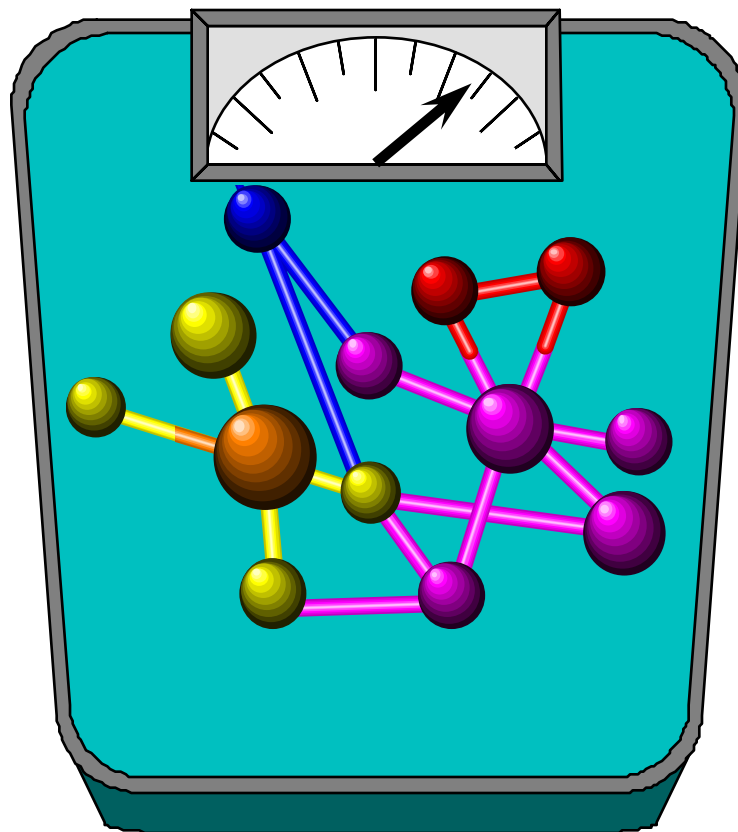
Преимущества тандемной масс-спектрометрии в сравнении с иммунохимическими методами

- 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

Жидкостной хроматограф

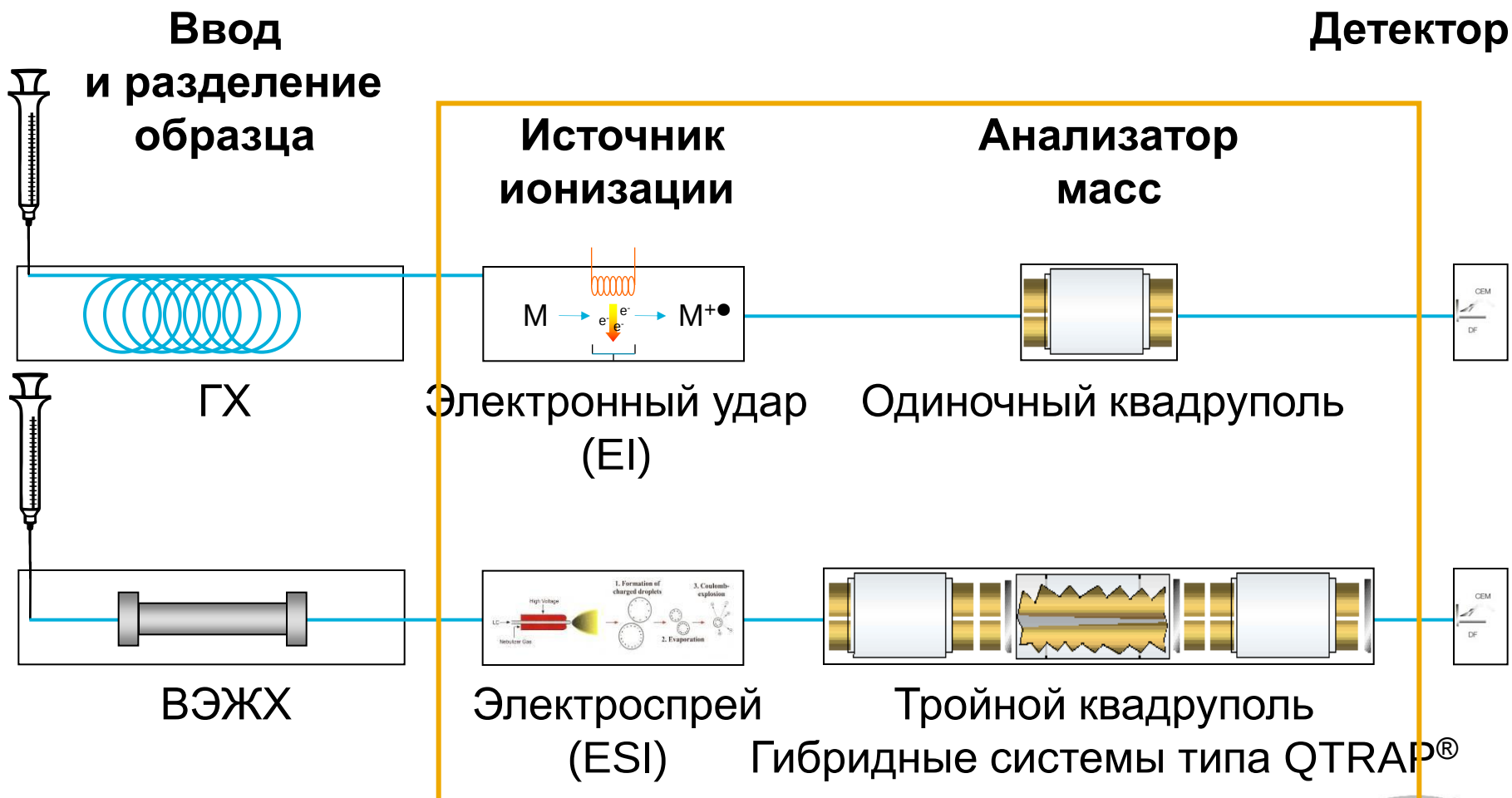


Что такое масс-спектрометр?



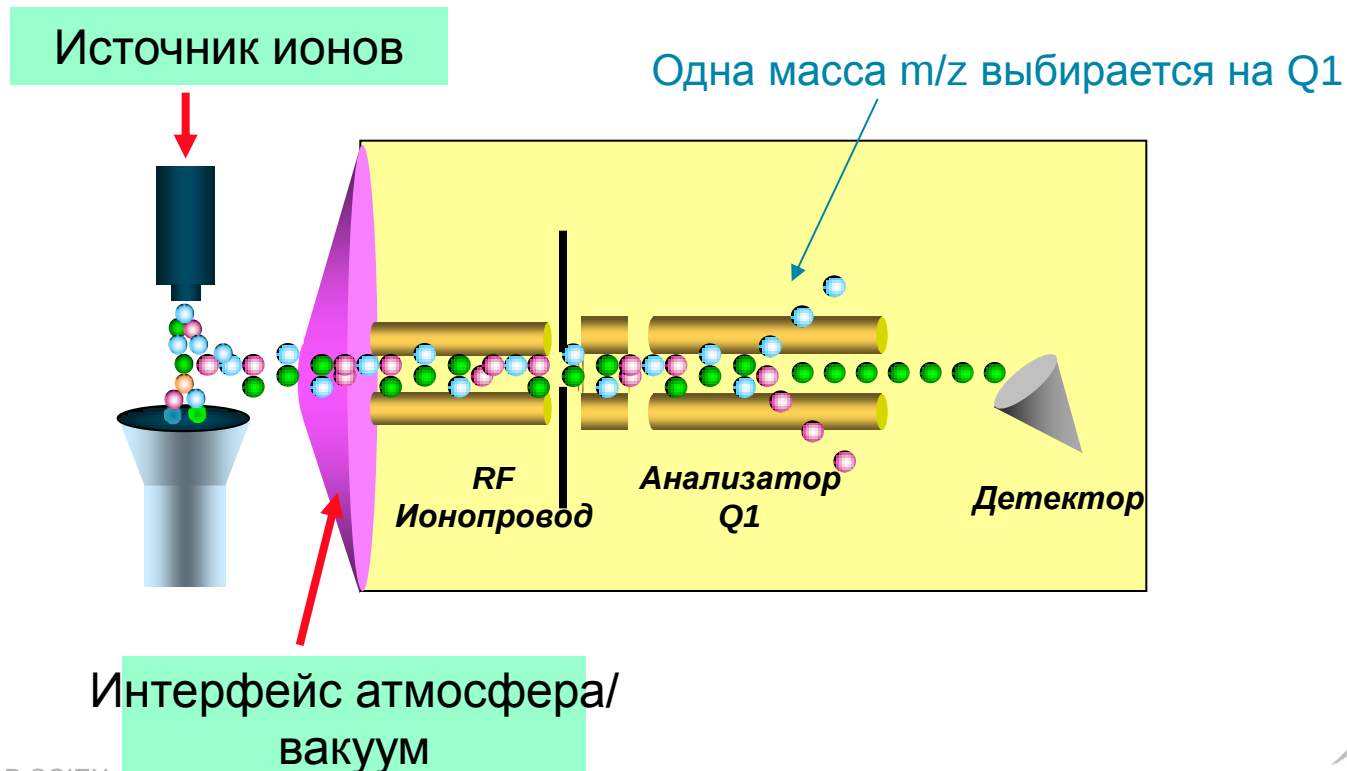
- Масс-спектрометр измеряет молекулярную массу вещества
(технически, *отношение* массы к заряду, m/z)

Схематическое устройство ГХ/МС и ЖХ/МС/МС



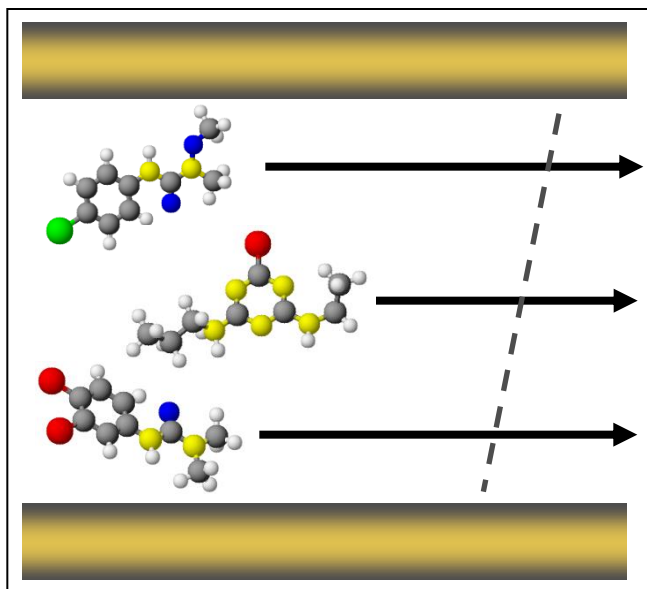
Моноквадрупольные масс-спектрометры

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



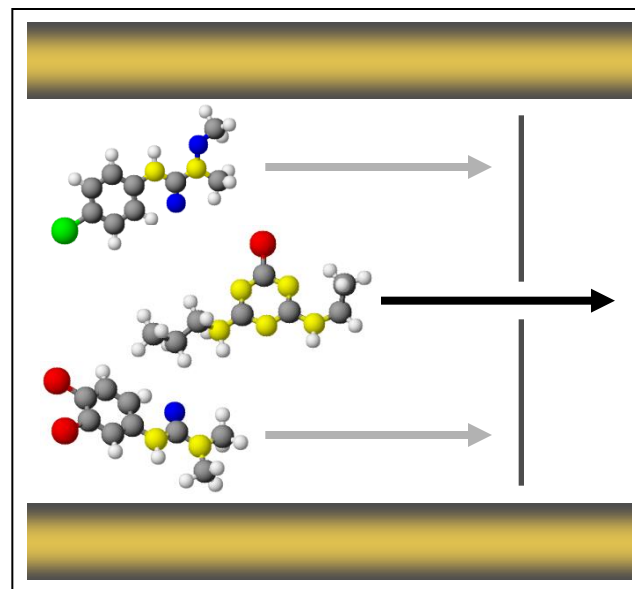
Типы сканирования

Сканирование в МС



- Q1: Режим сканирования

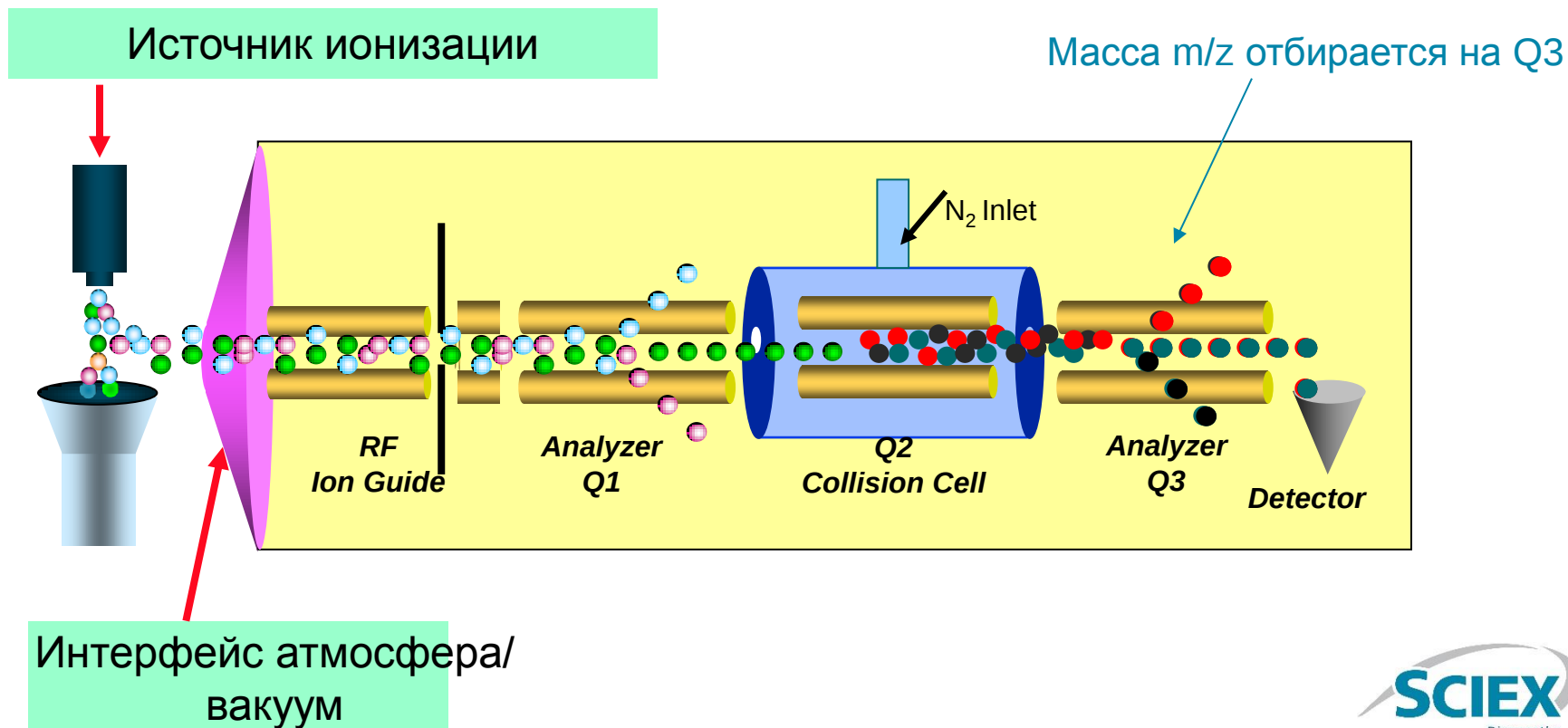
Мониторинг единичных ионов (SIM)

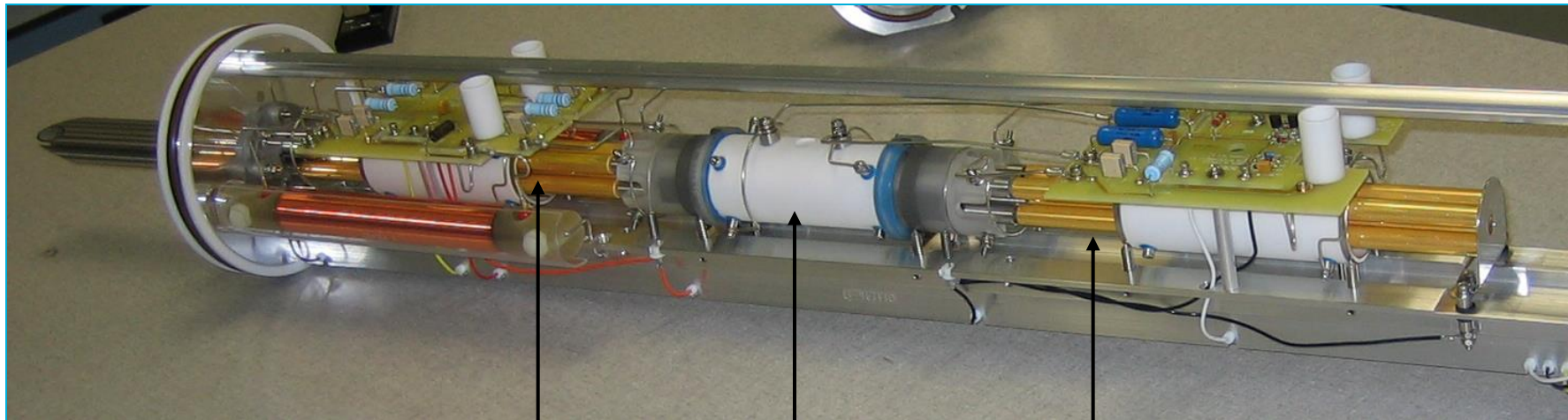


- Q1: Фильтр

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)



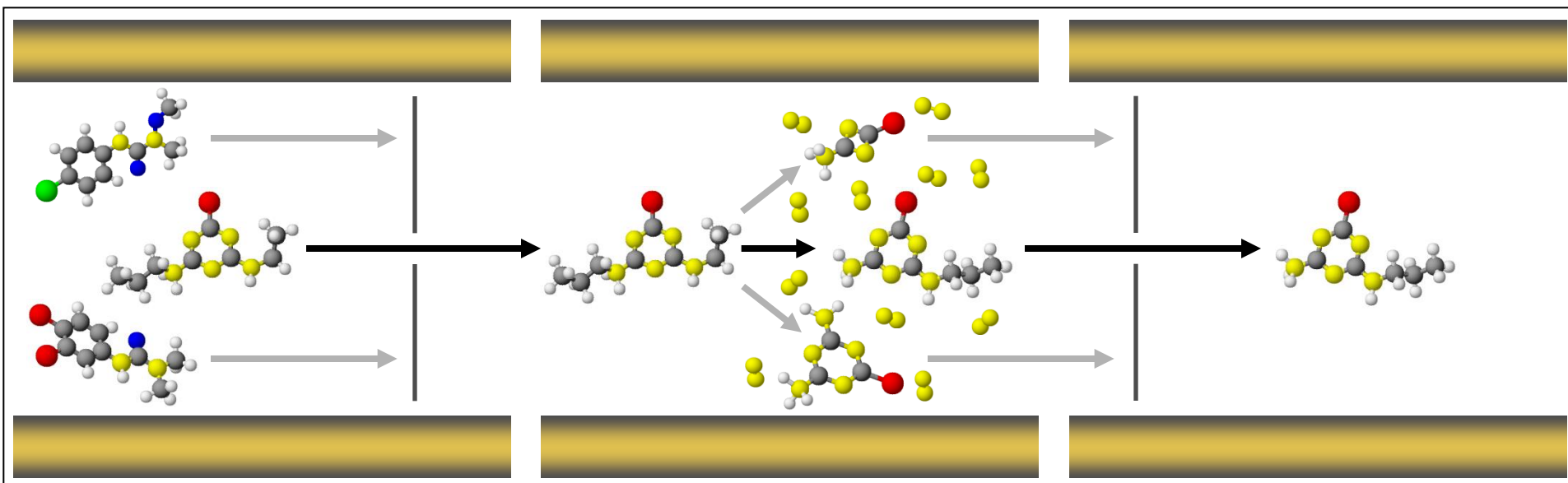


1й набор
квадрупольных
стержней (Q1)

Коллизионная ячейка
(Q2)

2й набор
квадрупольных
стержней (Q3)

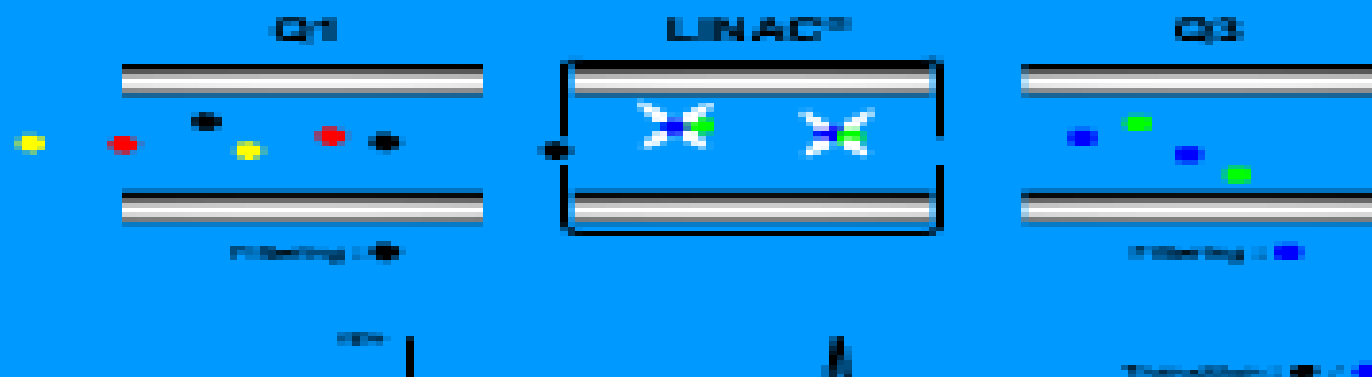
Типы сканирования – Мониторинг множественных реакций (MRM)



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

→ Количественный анализ и целевой скрининг

Multiple Reaction Monitoring (MRM)



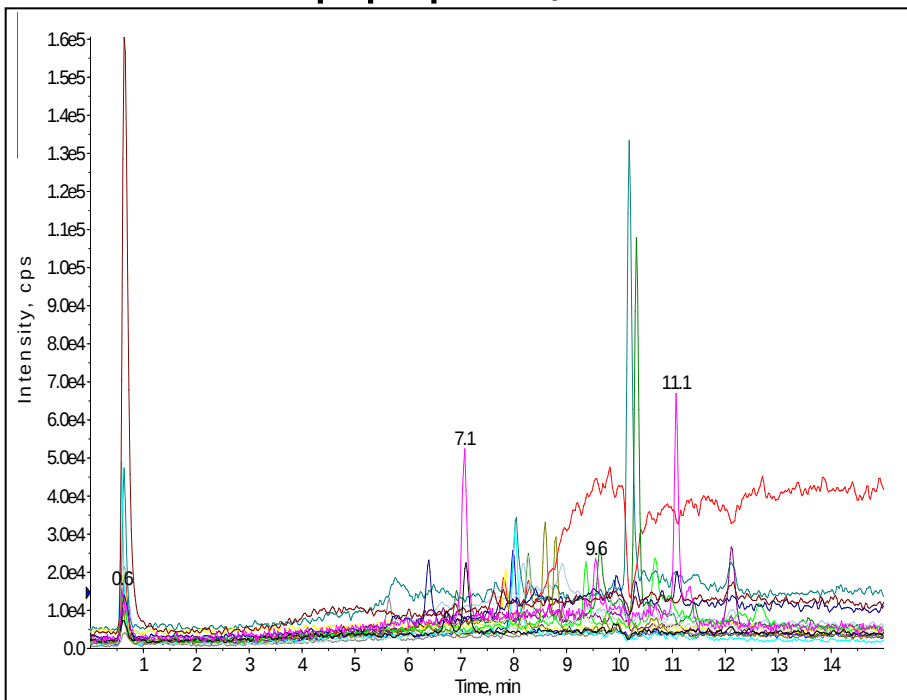
Obtained
Chromatogram :



SIM vs. MRM

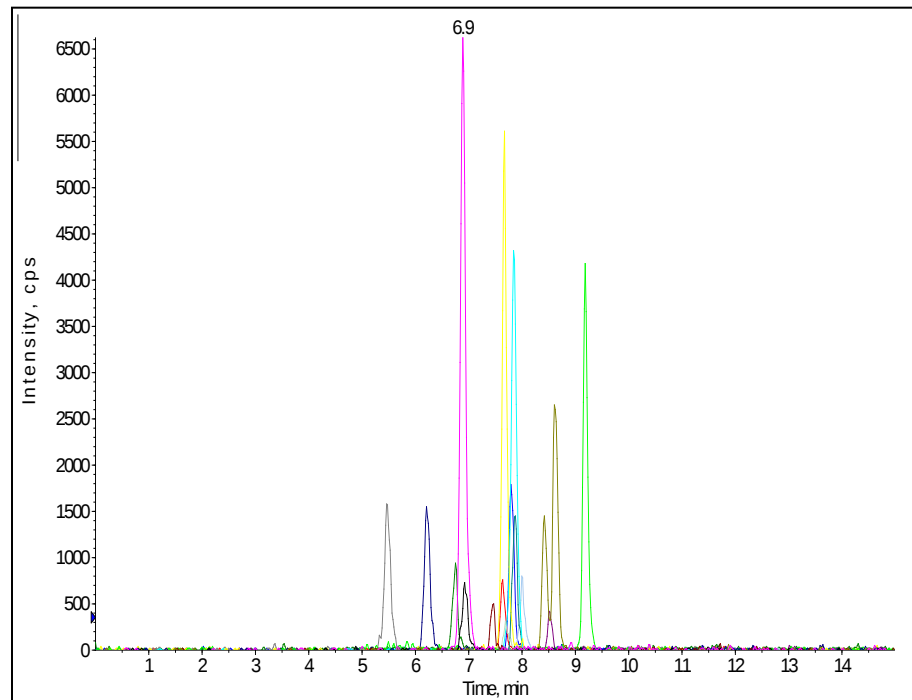
Мониторинг единичных ионов

- Низкая селективность
- Интерференции



Мониторинг множественных реакций

- Отличная селективность
- Отсутствие наложений



Золотой стандарт количественного анализа



Применение масс-спектрометрии в клинической лаборатории

Задачи и проблемы клинических лабораторий

- Точность результатов
 - Ложно-положительные
 - Ложно-отрицательные
- Скорость выдачи результата
- Сложные образцы
- Большие объемы

Необходимость в высокой чувствительности и селективности для количественного и качественного анализа



Диганостика –
новый рубеж
тандемной
масс-
спектрометрии

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

Что AB SCIEX может предложить для диагностики

- Решения, созданные для рутинных лабораторий
- Быстрые и точные результаты, отвечающие современным ожиданиям и требованиям
- Соответствие требованиям регуляторов



Приборы, которые можно использовать для анализа биологических образцов на следовые количества множества соединений в целях диагностики

Для IVD :
Системы
ЖХ/МС/МС AB
SCIEX API
3200MD™ и
3200MD QTRAP®

Готовое решение для рутинной диагностики



Тандемная масс-спектрометрия:
Надежное оборудование + простое ПО = Экспертные результаты
Быстрое внедрение

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



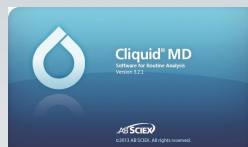
**AB SCIEX
API 3200MD™
QTRAP® 3200MD**

Источник Turbo V™

с зондами
TurboIonSpray® или
APCI



Analyst® MD SW



Cliquant® MD SW

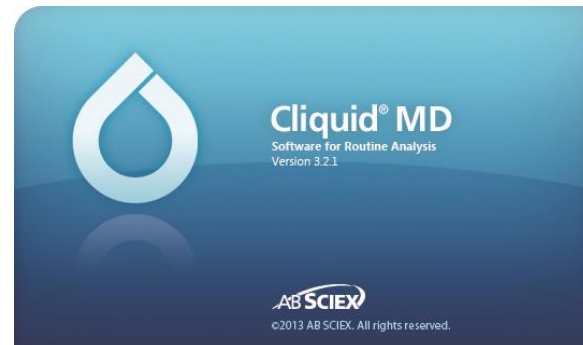
Серия **AB SCIEX 3200MD** устанавливает новый стандарт **надежного рутинного количественного анализа множественных аналитов** в клинической лабораторной диагностике.

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

ПО Cliquant® MD для рутинного анализа

- Идеально для любого рутинного количественного анализа
 - Защищенный вход пользователей
 - Упрощенные процессы управления анализом
 - Упрощенные инструменты обработки данных
 - Упрощенные инструменты выдачи отчетов на базе Microsoft Word с набором сконфигурированных шаблонов
 - Функции архивирования
 - Поддержка русского языка

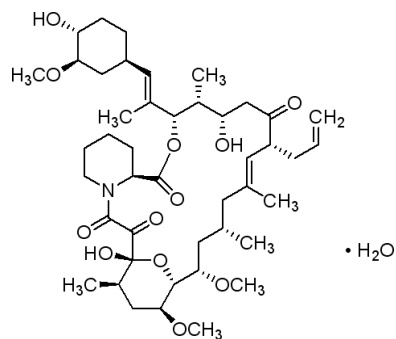




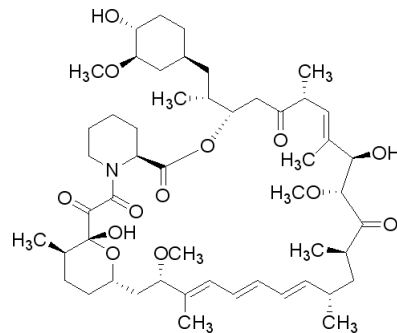
Обзор применений: Лекарственный мониторинг

Анализ иммуносупрессоров

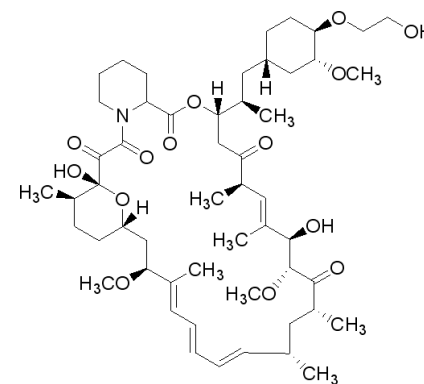
Иммуносупрессоры - структура



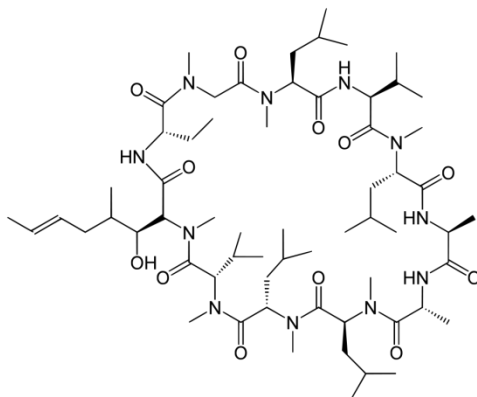
Tacrolimus
(aka FK-506)
MW 822.0



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

Анализ сухих пятен крови на аминокислоты и ацилкарнитины

Предназначен для рутинной количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов с помощью системы [AB SCIEX 3200MD Series](#).

- набор реагентов
- Данные для диагностики около 40 заболеваний, связанных с наследственными нарушениями обмена веществ полученные в результате анализа сухого пятна крови
- Простая конфигурация оборудования — не требуется хроматографическое разделение

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

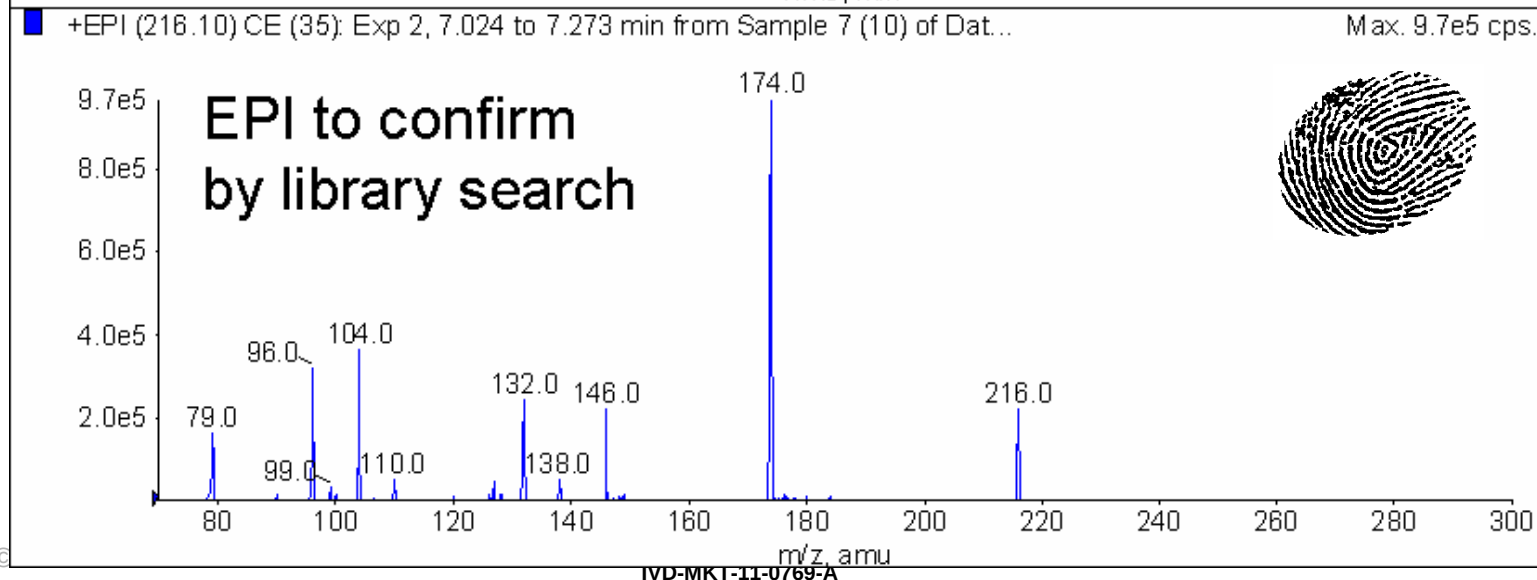
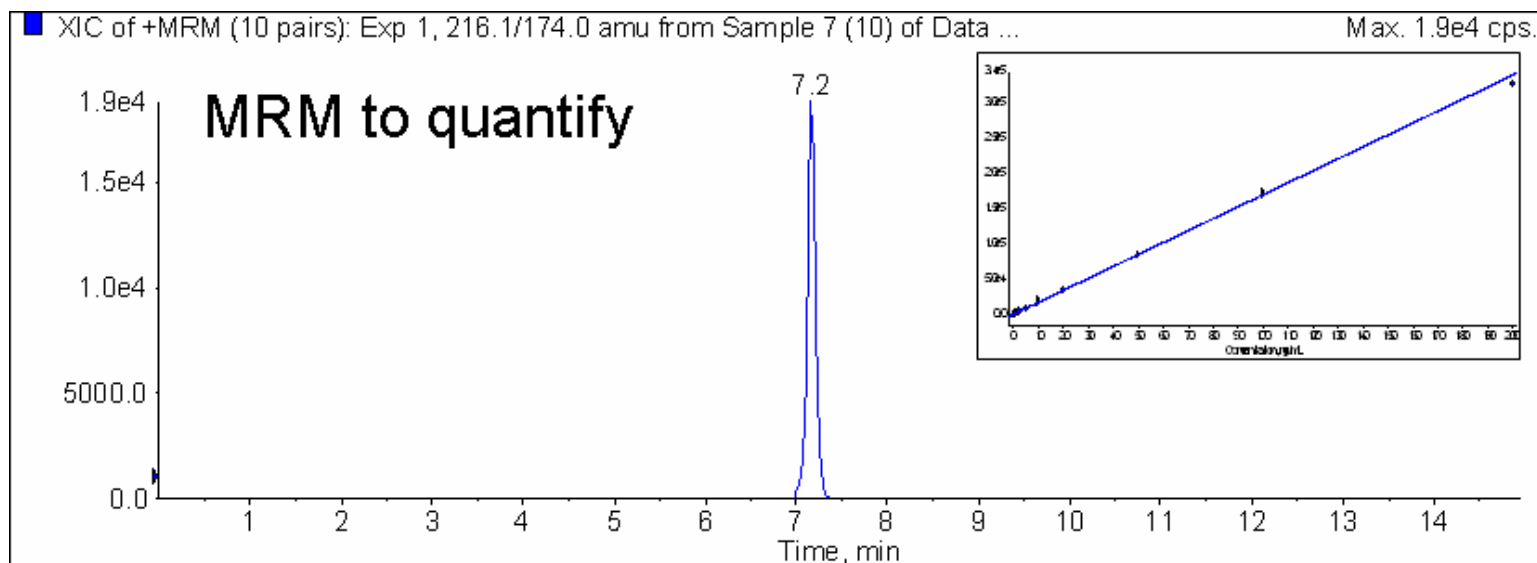
Sample			
Data File		Date	
Sample Number	1	Vial	85
Sample Type		Plate	1
Processing Method			

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	∞

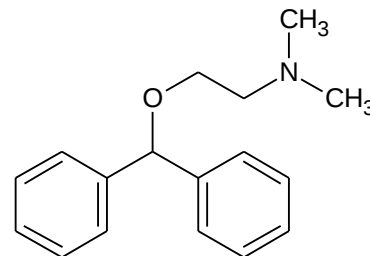
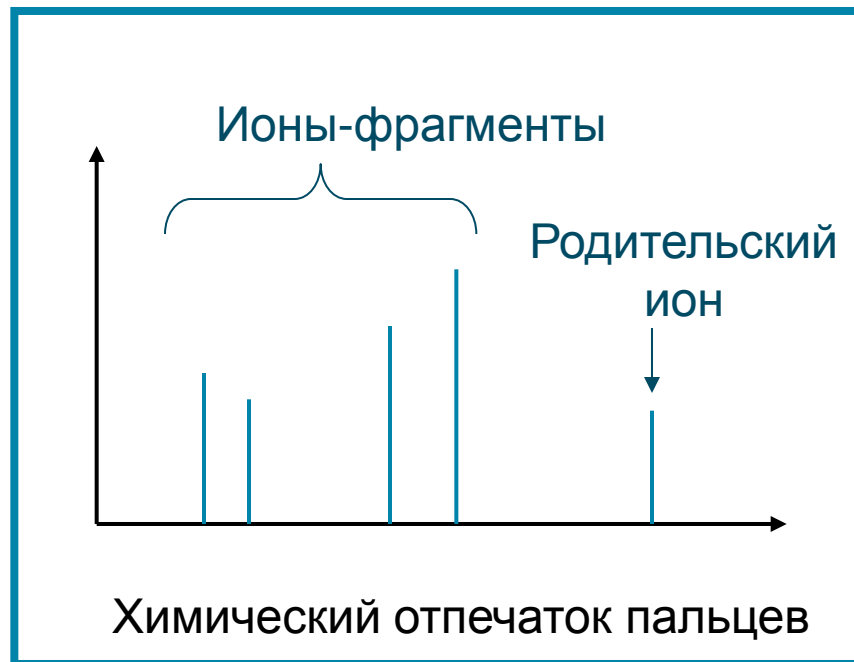


Химико-токсикологический анализ

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

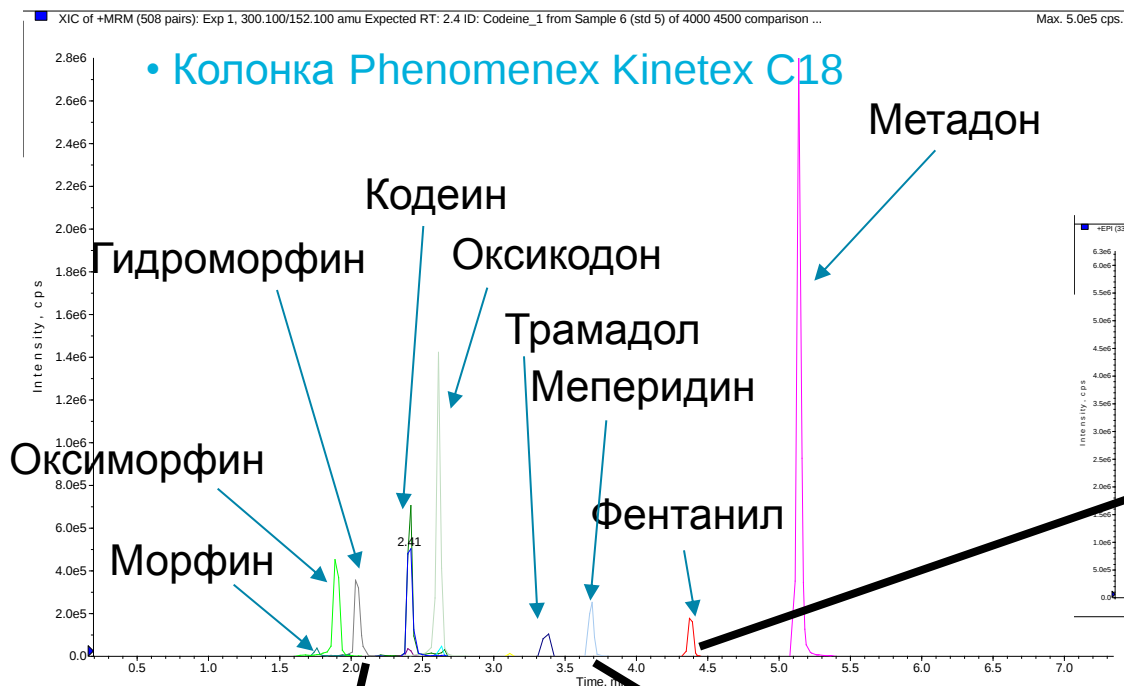


Подтверждение с помощью ВЭЖХ/МС библиотек

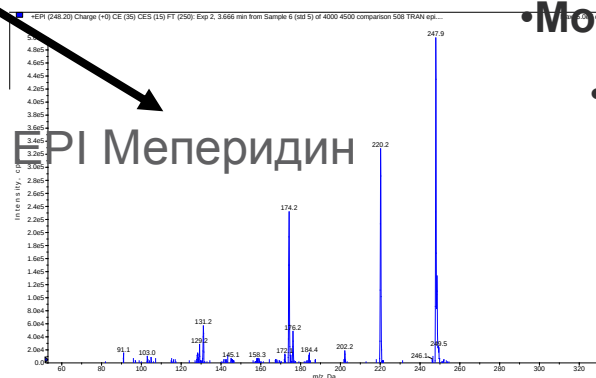
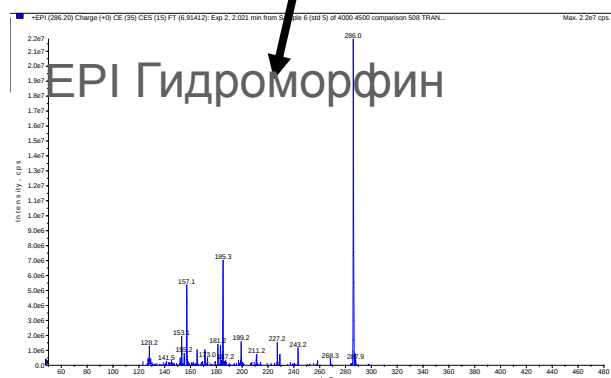
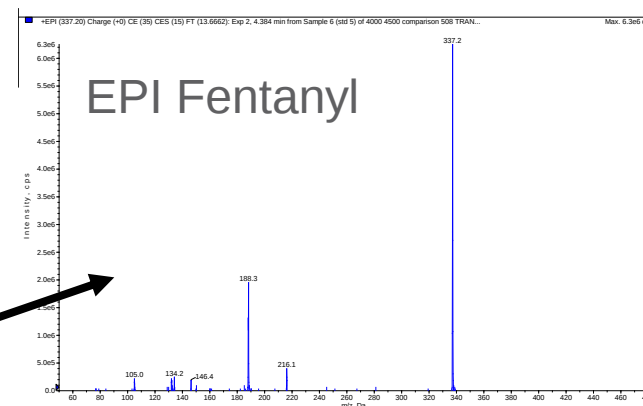


МС/МС спектр уникален для каждого соединения

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>Бензодиазепины</i>	<i>30-40 заболеваний, связанных с НБО</i>	<i>Стероиды</i> <i>T3/T4</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>

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