



АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

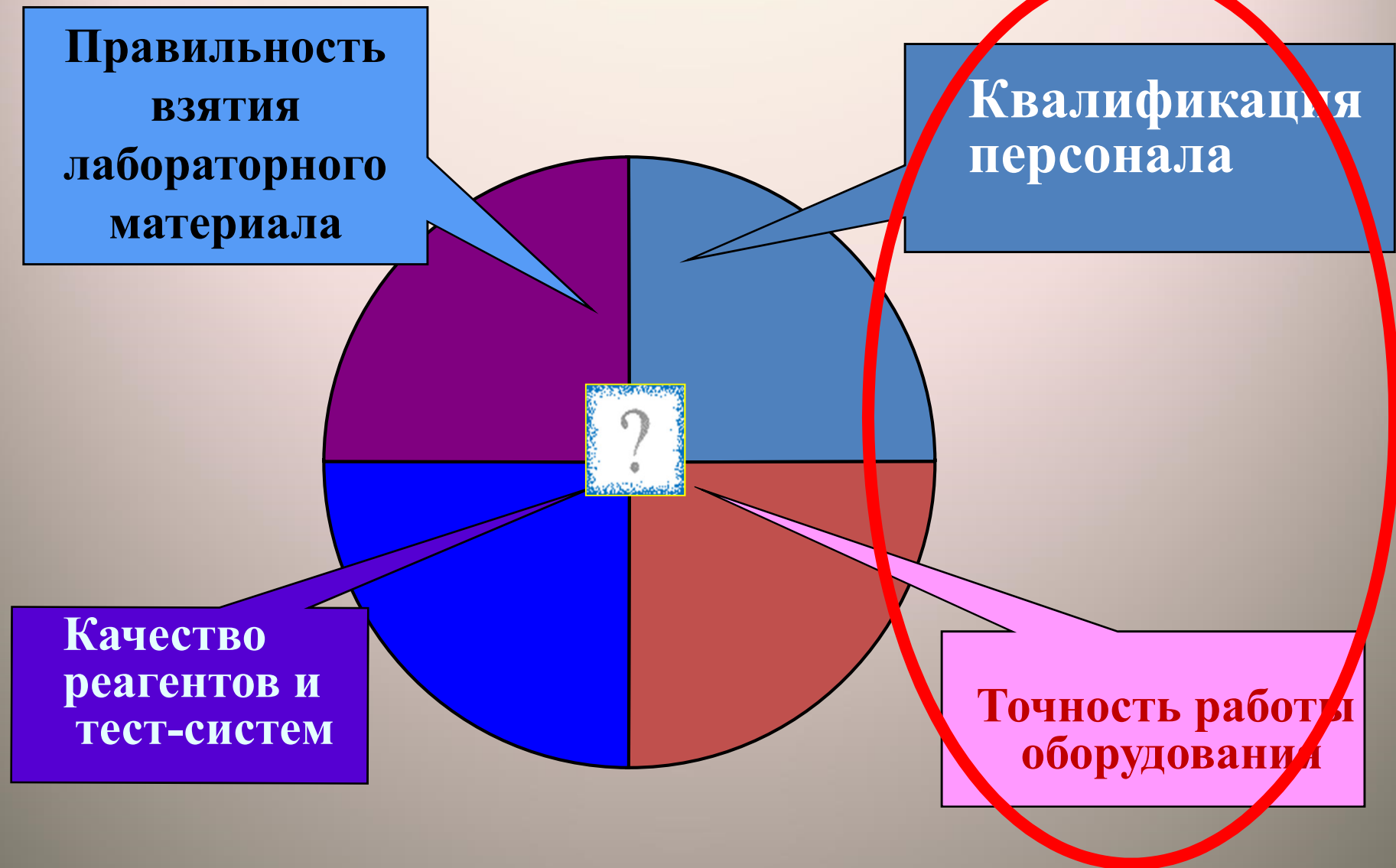
*Пути достижения
100% качества*

Босько И.Л.

Аналитическая деятельность:

порядок событий в
лаборатории,
в которой проводится
исследование

Факторы, влияющие на качество лабораторных исследований



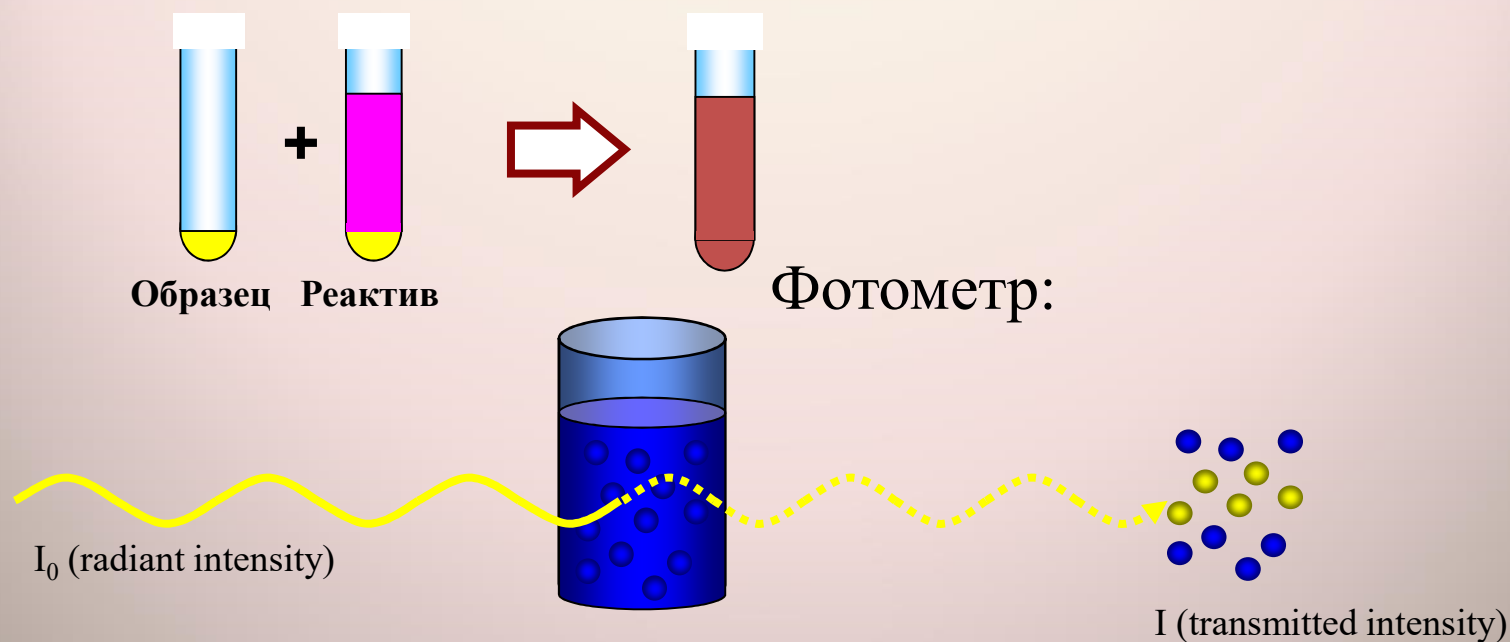
ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПТИЧЕСКОГО ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА



Абсорбционная фотометрия

**Метод анализа, основанный на
измерении степени ослабления
монохроматического светового
потока в результате
избирательного поглощения
света растворенным веществом**

Принцип абсорбционной фотометрии



- Закон Ламберта- Бера:

- $C = E_{\text{опт}} * \epsilon * L$, где C - концентрация в-ва

ϵ - молярная экстинкция

L -толщина слоя в-ва

Спектрофотометрия (колорометрия)

- Измерение **окраски** анализируемого вещества относительно интенсивности окраски эталонного раствора с точно известной концентрацией

ФОТОМЕТРЫ

```
graph TD; A[ФОТОМЕТРЫ] --> B[ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРЫ]; A --> C[СПЕКТРОФОТОМЕТРЫ];
```

ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРЫ

- λ 340-700 нм
- ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СВЕТОФИЛЬТРОВ
- НЕЗНАЧИТЕЛЬНАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

СПЕКТРОФОТОМЕТРЫ

- λ 340-1000 нм
- ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИФРАКЦИОННЫХ РЕШЕТОК И ТРЕХГРАННЫХ ПРИЗМ
- ВЫСОКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

НЕФЕЛОМЕТРИЯ

➤ Метод основан на измерении интенсивности рассеянного света (ослабление светового потока, прошедшего через мутный раствор)

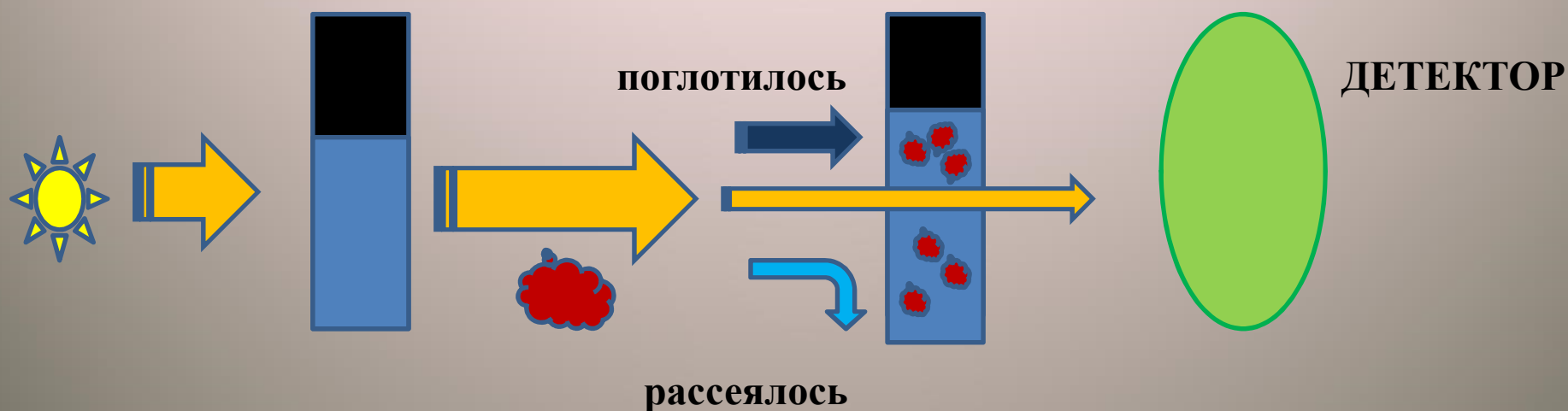
!!! Недостатки:

1. Необходимость дополнительного оборудования – нефелометров
2. Интенсивность рассеянного света сильно зависит от размера частиц и свойств взвеси

ТУРБИДИМЕТРИЯ

- Метод основан на измерении интенсивности света, прошедшего через суспензию

$$I_0 = I_{\text{поглощенная}} + I_{\text{пропущенная}} + I_{\text{рассеянная}}$$



ПРИНЦИПЫ ПРОВЕДЕНИЯ ФОТОМЕТРИИ

- ИЗМЕРЯЕМЫЕ РАСТВОРЫ ДОЛЖНЫ БЫТЬ **ПРОЗРАЧНЫМИ** (окрашенные или неокрашенные)
- ТОЛЩИНА РАБОЧЕГО СЛОЯ КЮВЕТЫ (стандарт 1 см)
- ДЛИНА СВЕТОВОЙ ВОЛНЫ (принцип выбора)

СПОСОБЫ РАСЧЕТА РЕЗУЛЬТАТОВ:

1. ПО КАЛИБРОВОЧНОМУ ГРАФИКУ

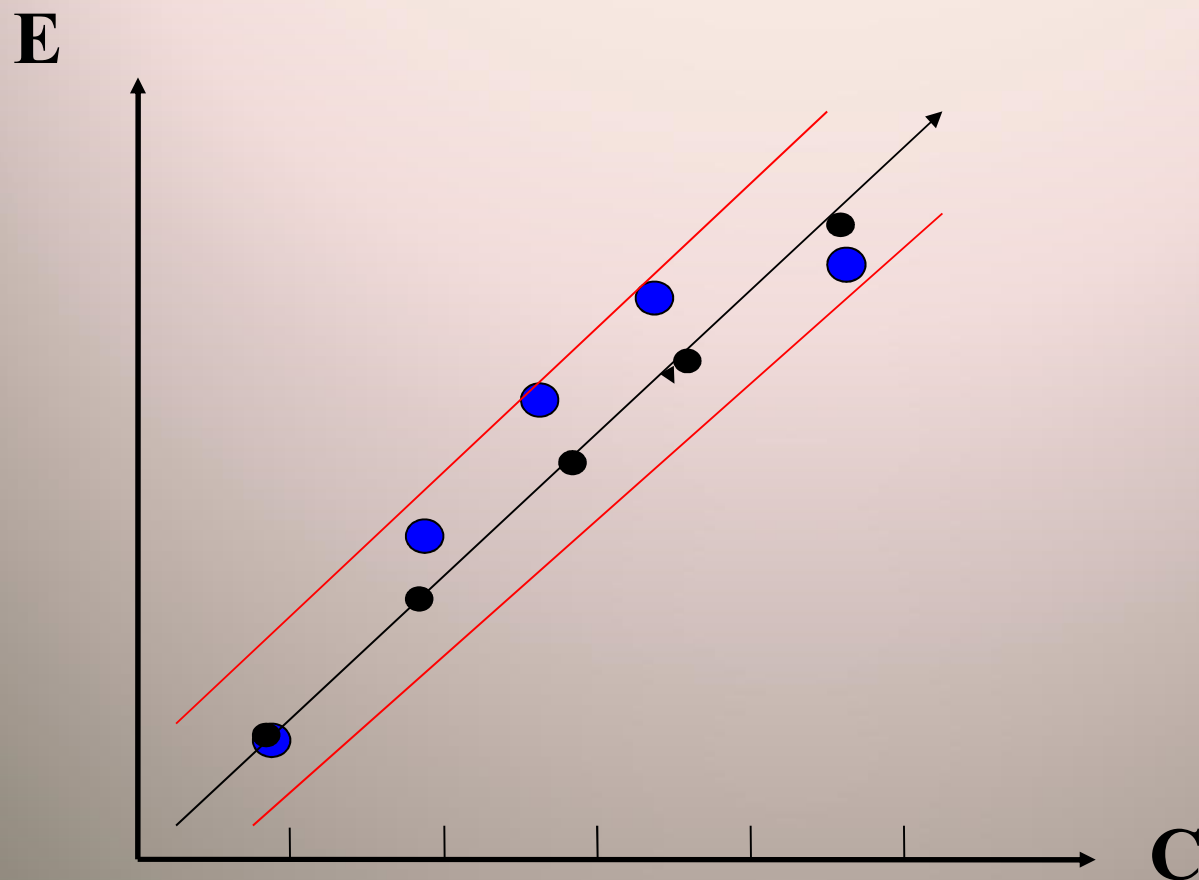
(с дальнейшим расчетом коэффициента = фактора)

2. ПО СТАНДАРТУ (калибровка по 1 точке)

Принцип выбора



Линейность градуировочной зависимости -
наличие прямо пропорциональной зависимости
между концентрацией и аналитическим сигналом

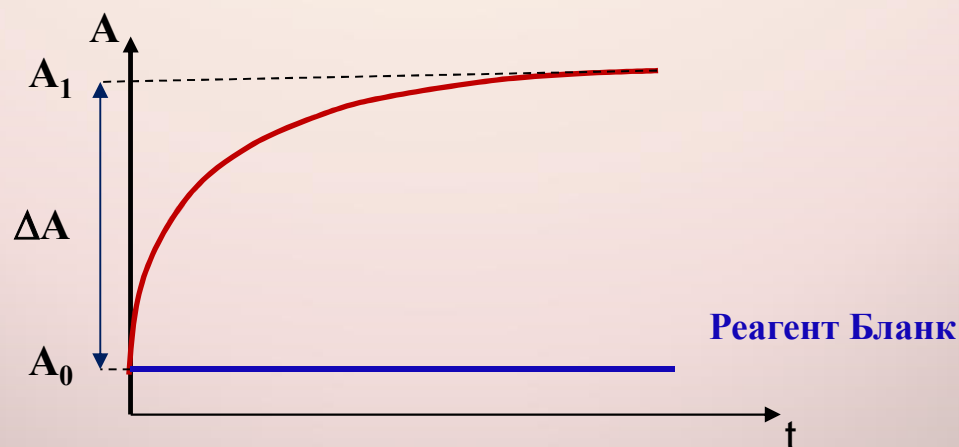


ТРЕБОВАНИЯ К ПОСТРОЕНИЮ КАЛИБРОВОЧНОГО ГРАФИКА

- **Диапазон**
- **Требования к числу точек для установления градуировочной зависимости (4 или 5 -обычная, 10-точная)**
- **Требования к точности приготовления калибровочных растворов**
- **Требования к линейности**

Реакция по конечной точке

Количество вещества определяется измерением поглощения после завершения реакции



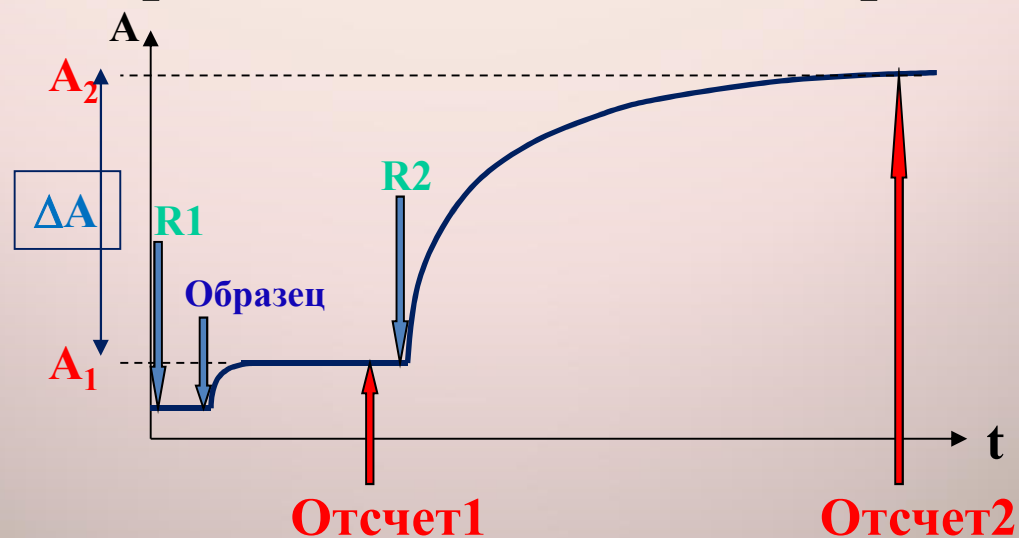
- Окончательное поглощение по конечной точке, которое прямо пропорционально концентрации аналита, измеряется при данной длине волны

$$C = (\Delta A_{\text{(sample)}} / \Delta A_{\text{(cal./std.)}}) * C_{\text{(cal./std.)}}$$

- Результаты измерения по конечной точке независимы от температуры (окраска р-ра должна быть стабильной!)

Реакция конечной точки с Sample Бланком

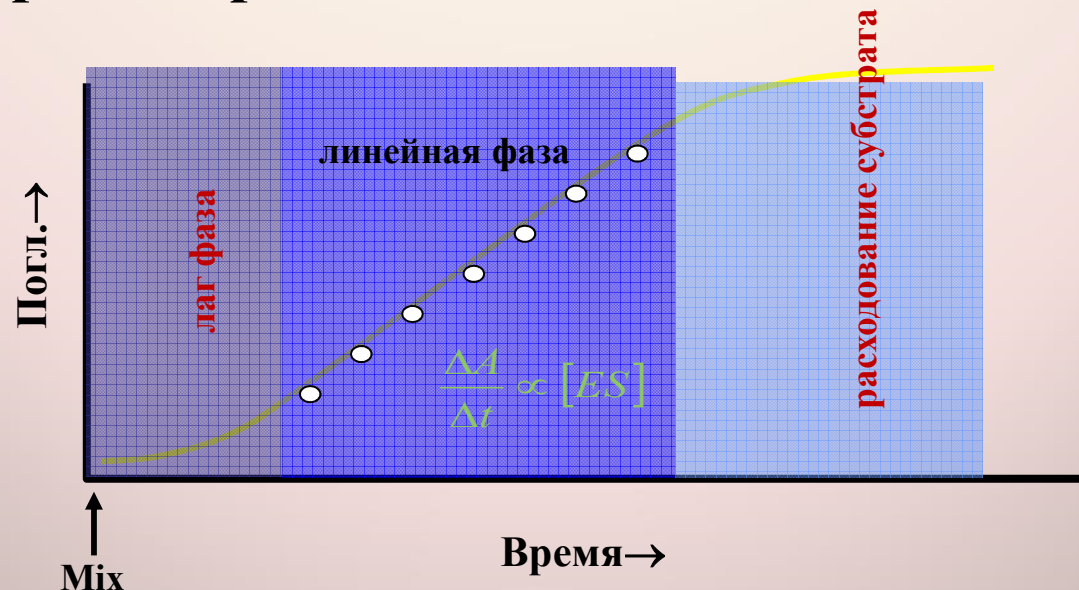
- Поглощение 1 измеряется после добавления образца и до добавления Реагента 2
- Поглощение 2 измеряется после окончания реакции



- $\Delta A = A_2 - A_1$
- Поглощение образца вычтено

Кинетическая реакция

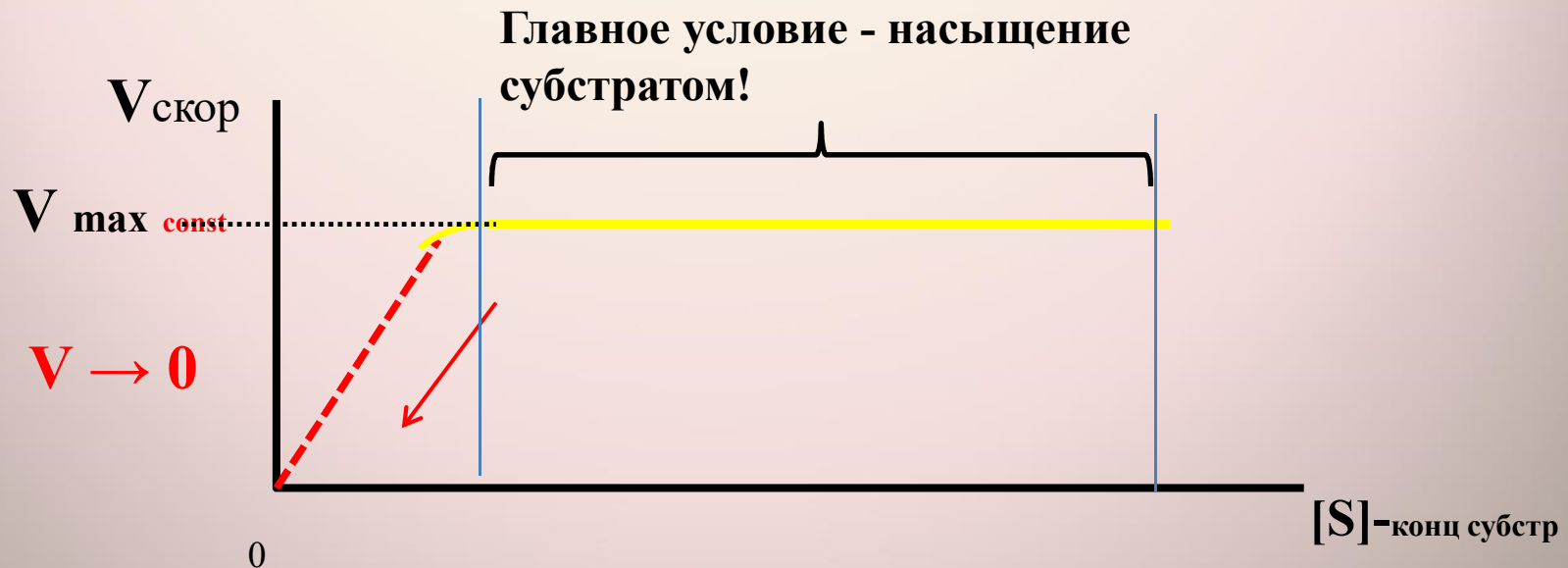
Изменение поглощения измеряется при заданном промежутке времени, внутри которого изменение остается константным (линейным)



- Скорость реакции прямо пропорциональна активности фермента при условии постоянной скорости реакции (условие насыщения субстратом)
- $U/L = \Delta A/\text{мин} \times \text{Factor}$ **Внимание!** $\Delta A/\text{мин} = \text{const}$
- Поглощение может увеличиваться (учет по продукту реакции F+) или уменьшаться (учет по расходу субстрата F-)
- Скорость реакции зависит от температуры

Кинетическая реакция

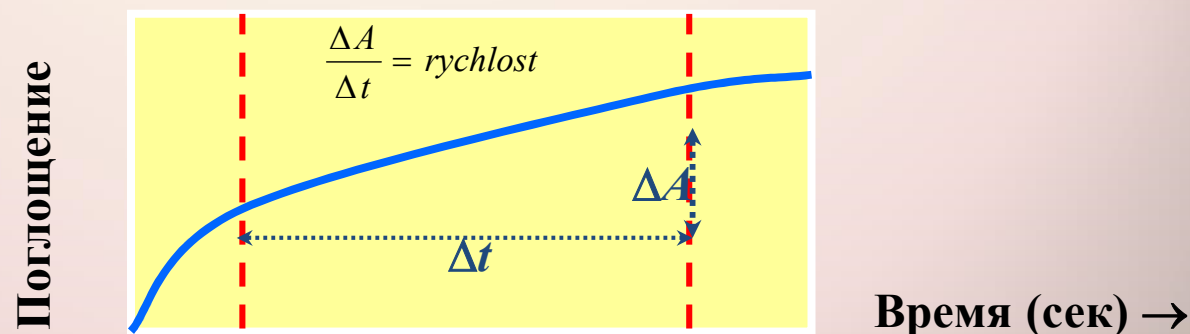
Уравнение Михаэлиса-Ментен – основное уравнение ферментативной кинетики



Внимание! $\Delta A/\text{мин} = \text{const}$

Кинетика двух точек / Фиксированное время

Скорость образования продукта измеряется в течение фиксированного времени



- Данный тип реакции используется для определения субстратов, напр. креатинина или мочевины

Разница между кинетической и Fixed Time реакцией :

Кинетическая реакция:

- несколько измерений в линейной части определения (выбирает пользователь)

Фиксированное время:

- после лаг фазы 2 измерения в точно определенное время

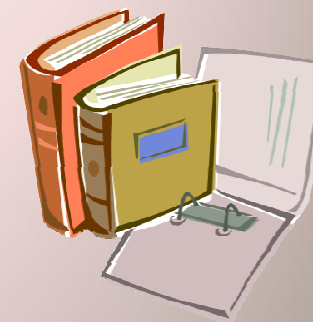
ИНСТРУКЦИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Читайте внимательно!

- **метод определения**
- **состав реагентов и концентрация реакционной смеси**
- **стабильность реагентов, рабочего реагента**
- **аналитический метод = длина волны, температура, соотношение реагентов, последовательность добавления реагентов, объем образца,...**
- **референтные (нормальные) величины**
- **рабочие характеристики – предел определения, точность, воспроизводимость, интерференции,...**
- **другую важную информацию (утилизация отходов,...)**

Налаживание и внедрение методики в работу лаборатории

- **Выбор методики (на основе медицинских критериев для решения определенных клинических задач)**
- **Подготовка (приборы, реактивы, оборудование, обучение персонала)**
- **Налаживание (отработка методики)**
- **Валидация методики:**
 - **установление градуировочной зависимости (калибровка)**
 - **проверка правильности и воспроизводимости методики**
- **Налаживание внутрилабораторного контроля качества**
- **Организация преаналитического этапа**
- **Обеспечение клиницистов необходимой информацией**
- **Начало выдачи результатов в клинику**
- **Участие во внешнем контроле качества**



ПРОВЕДЕНИЕ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА УЧАСТИЕ ВО ВНЕШНЕМ КОНТРОЛЕ

Контроль качества предусматривает систему мероприятий, направленных на повышение:

- **воспроизводимости,**
- **правильности (точности)**
- **сходимости результатов обследования больных**

Основная цель аналитического внутрилабораторного контроля:

Путем исследования специальных проб, которые обрабатываются одновременно с пробами пациентов, определить – **сохраняются ли основные характеристики методики** (воспроизводимость и правильность) в установленных для них пределах в данной лаборатории

**Контрольные пробы играют
роль "свидетеля" для проб
пациентов**

Условия принятия методики

Методика принимается, если:

$$CV_{\text{полученный}} < CV_{\text{требуемый}}$$





**Контролируются
все выполняемые
исследования!**





*Спасибо за
внимание!*