ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 72093— 2025

КЛИНИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Требования к применению метода тандемной масс-спектрометрии для выявления наследственных болезней обмена веществ

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2025

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Ассоциацией специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины» (Ассоциация «ФЛМ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 380 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы ин витро»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 26 мая 2025 г. № 475-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2025

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения. 1
4 Проведение процедуры неонатального скрининга с помощью тандемной масс-спектрометрии 3
5 Реактивы, внутренние стандарты и подготовка проб СПК 5
6 Особенности работы с масс-спектрометрометрами 8
7 Исследование образцов для выявления нарушений при неонатальном скрининге 14
8 Интерпретация результатов и предоставление отчета 19

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КЛИНИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Требования к применению метода тандемной масс-спектрометрии для выявления наследственных болезней обмена веществ

Clinical laboratory testing. Requirements for tandem mass spectrometry method for diagnostics inborn errors of metabolism

Дата введения — 2025—11—01

1 Область применения

Настоящий стандарт предназначен для оказания помощи персоналу лабораторий неонатального скрининга в рутинном применении метода тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) для обнаружения метаболитов в образцах высушенных пятен крови, которые могут указывать на определенные метаболические нарушения.

Настоящий стандарт не предназначен для предоставления общей информации о скрининге всех заболеваний.

Настоящий стандарт не распространяется на подтверждающие или диагностические исследования.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ Р ИСО 15189 Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности

ГОСТ Р ИСО 18113-1 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р ИСО 15189, ГОСТ Р ИСО 18113-1, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **автосемплер:** Механическое устройство, используемое для надежного и воспроизводимого введения заданного объема экстракта исследуемого образца в масс-спектрометрическую систему.

Издание официальное

3.2 **аминокислота:** Органическое соединение, содержащее две основные функциональные группы: аминогруппу (−NH2) и карбоновую группу (−COOH).

Примечание — Наиболее физиологически важными аминокислотами являются те, в которых и аминогруппа, и карбоновые кислоты присоединены к атому углерода в положении 2 (α-углерод).

3.3 **ацилкарнитины:** Сложные эфиры карнитина, которые образуются путем конъюгации жирных кислот и карнитина через спиртовую группу и являются биомаркерами ряда наследственных нарушений обмена веществ (нарушений окисления жирных кислот и органических ацидемий).

Примечание — Жирная кислота в составе ацилкарнитина отражает спектр жирных кислот в митохондриях с длиной цепи от 2 до 20 атомов углерода, может быть насыщенной или ненасыщенной и может содержать гидроксильную или карбоновую кислотные группы. Ацилкарнитины обозначают в соответствии с количеством атомов углерода в углеродной цепи вещества (например, октаноилкарнитин обозначают как «С8»).

3.4 **биомаркер:** Селективный аналит или параметр организма, который измеряют и оценивают как специальный показатель нормальных физиологических или патологических состояний, реакции на терапевтическое вмешательство в определенный промежуток времени.

3.5 **внутренний стандарт:** В масс-спектрометрии это химический аналог исследуемого вещества, меченный стабильным изотопом, который добавляют к образцу экстракта в известной концентрации для количественного определения исследуемого вещества.

3.6 **дериватизация:** Избирательное химическое изменение функциональных групп исследуемого вещества в процессе пробоподготовки.

Примечание — Дериватизацию обычно проводят для улучшения чувствительности, селективности или характеристик удерживания. Например, при неонатальном скрининге примером дериватизации является преобразование карбоновых кислот в бутиловые эфиры.

3.7 **ионизация электрораспылением:** Метод ионизации, применяемый в масс-спектрометрии для получения ионов в газовой фазе из раствора, позволяющий проводить анализ лабильных и/или полярных соединений.

Примечание — Исследуемый раствор распыляют через капилляр в сильное электрическое поле, создавая мелкие капли, которые испаряются (нагретый азот способствует процессу десольватации), в результате чего образуются ионы в газовой фазе. Благодаря тому, что электрораспыление является методом «мягкой ионизации», оно приводит к незначительной фрагментации молекул исследуемого вещества.

3.8 **исследование серии проб:** Определенное количество проб, которое исследуют за период времени, в течение которого считается, что измерительная система обладает стабильной достоверностью и точностью.

Примечание — Аналитический цикл обычно состоит как из образцов для контроля качества, так и из образцов пациентов. Аналитический цикл иногда называют «серией».

3.9 **карнитин:** Молекула/аминокислота, состоящая из семи атомов углерода, содержит три важные функциональные группы: четвертичный аммоний, карбоновую группу и вторичный спирт.

3.10 **масс-спектрометрия;** МС: Метод исследования и идентификации веществ, основанный на разделении ионизированных молекул в зависимости от соотношения их массы к заряду.

3.11 **младенец:** Ребенок в возрасте от 29 дней жизни до 1 года.

3.12 **нижний предел обнаружения;** НПО: Наименьшее количество (концентрация) определяемого вещества в образце, которое может быть обнаружено (или приближенно оценено) с использованием валидируемой методики.

Примечание — Также применяют термины «предел обнаружения», «минимально обнаруживаемая концентрация» (или значение).

3.13 **нижний предел количественного определения;** НПКО: Наименьшее количество (концентрация) вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики с требуемой правильностью и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионностью.

3.14 **новорожденный:** Ребенок в возрасте до 28 дней жизни включительно.

3.15 **повторное скрининговое исследование (ретест):** Исследование, требующее повторного взятия образца крови новорожденных.

Примечание — Причины, требующие повторного взятия образца: если первичный образец был взят до достижения 24-часового возраста, был неприемлем для исследования (например, у недоношенных новорожденных с низким весом при рождении, новорожденных, которым переливали кровь) или результаты были невалидными или неубедительными.

3.16 **повторное исследование образца:** Исследование одного и того же образца с проведением повторной пробоподготовки.

3.17 **подвижная фаза:** Растворитель проточной системы, который используют для подачи экстракта образца в масс-спектрометрическую систему.

3.18 **разрешающая способность масс-спектрометра; разрешение:** Количественная мера, характеризующая способность анализатора разделять ионы с соседними массами или определять точную массу иона.

Примечание — Ширину пика можно измерить несколькими способами. Однако измерение ширины в точке, где интенсивность составляет половину высоты пика, является рутинной практикой.

3.19 **сухое пятно крови;** СПК: Образец капиллярной или венозной крови, взятый для лабораторных исследований, нанесенный на специальный тест-бланк и высушенный в определенных условиях.

Примечания

1 Образцы, собранные с использованием зарегистрированного медицинского изделия, должны давать воспроизводимый результат. Объем крови на одно пятно: от 75 до 100 мкл — для круга диаметром 12,5 мм, от 35 до 50 мкл — для круга диаметром 10 мм.

2 При неонатальном скрининге оптимальным методом является взятие сухого пятна крови непосредственно из пятки без применения антикоагулянтов, поскольку антикоагулянты, в частности гепарин и ЭДТА, влияют на некоторые исследования.

3.20 **тест-бланк:** Бланк (карточка) из специальной фильтровальной бумаги определенных размеров и свойств с напечатанными на нем кругами для внесения капель крови, идентификационных данных пациента и взятого у него образца.

4 Проведение процедуры неонатального скрининга с помощью тандемной масс-спектрометрии

4.1 Неонатальный скрининг с помощью методов тандемной масс-спектрометрии

Образец, используемый для проведения неонатального скрининга методом МС/МС, состоит из сухого пятна крови, нанесенного на тест-бланк. Из образца сухого пятна крови выбивают диск диаметром 3,2 мм с помощью прибора для выбивания бумажных дисков. Этот образец (диск 3,2 мм) экстрагируют в растворителе, содержащем известное количество внутреннего стандарта, для каждого аналита. Использование внутренних стандартов означает, что результаты исследования не зависят от точности переноса количества образца и устойчивы к подавлению или усилению ионов. После проведения экстракции экстракт переносят в 96-луночный планшет для исследования.

Экстракт может быть исследован непосредственно или в виде производных для улучшения чувствительности некоторых соединений (с применением дериватизации). Экстракт вводят в масс-спектрометр, исследования проводят с помощью проточно-инжекционного исследования (без хроматографического разделения компонентов экстракта образца). Детекцию исследуемых веществ (например, аминокислоты, ацилкарнитины) проводят при комбинации двух квадрупольных масс-фильтров. Первый квадрупольный масс-фильтр сортирует исследуемые вещества. Затем их фрагментируют и представляющие интерес фрагменты снова сортируют с помощью второго квадрупольного масс-фильтра. Исследование занимает менее двух минут с момента взятия образца до вывода результатов.

Концентрации исследуемых веществ в образце определяют путем вычисления отношения сигнала от каждого аналита к сигналу от известного количества внутреннего стандарта. Результаты оценивают согласно требованиям нормативных документов и нормативных правовых актов Российской Федерации, позволяющим соотнести концентрации исследуемых веществ с нарушениями обмена веществ, и составляют отчет о результатах.

4.2 Схема лабораторного рабочего процесса

Схема лабораторного рабочего процесса неонатального скрининга с помощью МС/МС-исследования, начиная с получения образца сухого пятна крови и заканчивая аналитическим и постаналитическим этапами, представлена на рисунке 1.

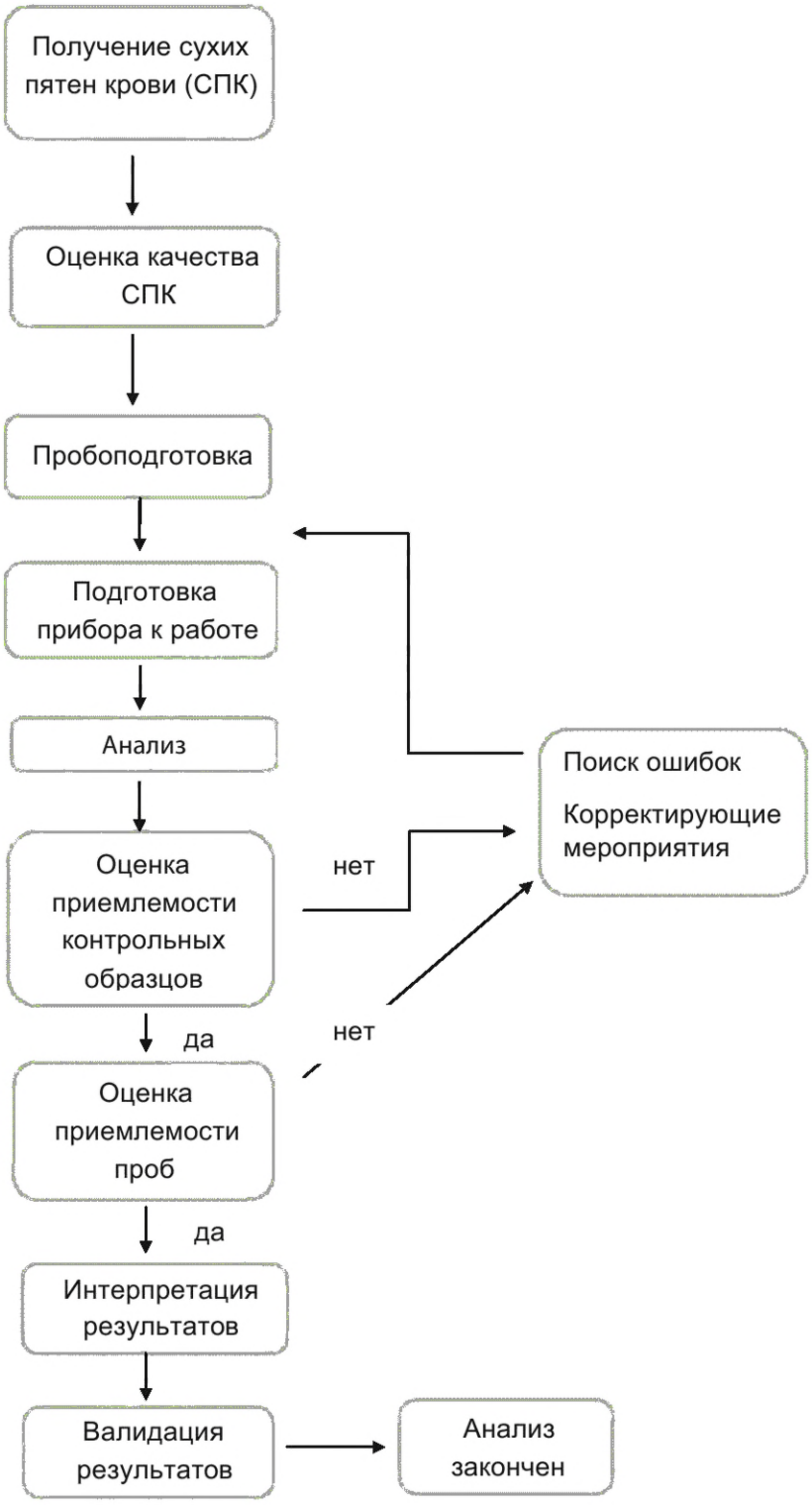

Рисунок 1 — Преаналитические, аналитические и постаналитические процедуры с использованием МС/МС

5 Реактивы, внутренние стандарты и подготовка проб СПК

5.1 Реагенты, применяемые для МС/МС

К реагентами, используемым в МС/МС, относят, например: раствор для экстракции, подвижную фазу, дериватизирующий реагент, растворитель.

5.2 Подготовка проб с использованием дериватизации образцов

Методы подготовки проб ацилкарнитинов и аминокислот должны быть валидированы. Предпочтительно, чтобы зоны подготовки образцов были отделены от зоны эксплуатации оборудования, чтобы избежать контаминации. Основные методы подготовки и исследования дериватизированных образцов были обобщены (см. таблицу 1) и включают следующие общие шаги.

Таблица 1

Шаг	Описание процессов исследования	Комментарий
1	Приготавливают рабочий раствор, содержащий раствор для экстракции и внутренние стандарты	Раствор служит для вытяжки аналитов, подлежащих измерению, из образцов сухого пятна крови
2	Выбивают диски с контрольными и неизвестными образцами в 96-луночные планшеты	Проверяют соответствующий размер и количество (например, 3,2 мм, 1 или 2 диска). Необходимо использовать термостойкие 96-луночные планшеты
3	Вносят рабочий раствор в каждую лунку	Обычно добавляют 100—300 мкл
4	Заклеивают планшет, чтобы минимизировать испарение. Помещают его в шейкер-инкубатор для встряхивания и/или инкубации, чтобы обеспечить полное взаимодействие рабочего раствора с диском сухого пятна крови	Используют подходящее покрытие, например клейкую пленку для ПЦР планшетов, алюминиевую фольгу или предварительно перфорированный полимер. Инкубацию обычно проводят при температуре от комнатной температуры до 45 °С в течение 30—45 мин
5	После экстракции необходимо перенести надосадочную жидкость (элюат) в чистый термостойкий 96-луночный планшет, не трогая остатки диска	Для завершения переноса элюата может быть использована фильтровальная бумага. Необходимо перенести как можно больше элюата образца без указания требования к его количеству
6	Выпаривают раствор для экстракции из элюата под струей азота или осушенного воздуха со строгим контролем за нагреванием	Используют испарители, специально предназначенные для этой цели. Допускается использование слабо нагретого воздуха и непосредственное прогревание планшета. Этот этап следует выполнять в вытяжном шкафу
7	Проводят реакцию дериватизации с высушенными метаболитами, добавляя соляную кислоту (HCl) в бутаноле	Используют 50—100 мкл HCl. Примечание — HCl в бутаноле — очень едкий реактив, и с ним следует обращаться осторожно
8	Заклеивают 96-луночные планшеты и нагревают их до температуры примерно (62,5 ± 2,5) °С	Инкубируют в течение 15—20 мин. Короткое время инкубации или слишком низкая температура могут привести к неполной дериватизации
9	После окончания инкубации выпаривают раствор бутанола с HCl при температуре от 45 °С до 50 °С	Используют ту же процедуру, что и при выпаривании раствора для экстракции (см. шаг 7). Необходимо убедиться, что используемое оборудование устойчиво к коррозии под действием раствора бутанола с HCl
10	Добавляют растворитель в лунки с высушенными метаболитами	Используют летучий растворитель на органической основе, который может быть или не быть слегка подкисленным. Наиболее распространенным растворителем является подвижная фаза, хотя в некоторых лабораториях используют другие органические/водные смеси

Окончание таблицы 1

Шаг	Описание процессов исследования	Комментарий
11	Накрывают/заклеивают 96-луночный планшет	Используют алюминиевую фольгу или предварительно перфорированное покрытие на полимерной основе
12	Помещают планшет в автосемплер для проведения МС/МС-исследования	—

5.3 Подготовка проб без применения дериватизации образцов

Упрощенная процедура подготовки проб позволяет избежать использования подкисленного бутанола, выпаривания и растворения сухого остатка, что позволяет определять ацилкарнитины и аминокислоты, как соответствующие им свободные кислоты. Основной метод подготовки проб и исследования аминокислот и ацилкарнитинов в условиях без дериватизации обычно включает следующие общие шаги (см.таблицу 2).

Таблица 2

Шаг	Описание процессов исследования	Комментарий
1	Приготавливают рабочий раствор, содержащий раствор для экстракции и внутренние стандарты	Раствор для экстракции служит для извлечения аналитов, подлежащих исследованию, из образцов сухого пятна
2	Выбивают диски с контрольными и неизвестными образцами в 96-луночные планшеты	Проверяют соответствие размера и количества (например, 3,2 мм, 1 или 2 диска). Следует использовать термостойкие 96-луночные планшеты
3	Добавляют рабочий раствор для экстракции в каждую лунку	Обычно добавляют 100—300 мкл
4	Заклеивают планшет, чтобы минимизировать испарение. Помещают его в шейкер-инкубатор для встряхивания и инкубации, чтобы обеспечить полное взаимодействие рабочего раствора с диском сухого пятна крови	Используют подходящее покрытие, например клейкую пленку для ПЦР планшетов, алюминиевую фольгу или предварительно перфорированный полимер
5	После экстракции удаляют клейкую пленку и переносят надосадочную жидкость (элюат) в чистый термостойкий 96-луночный планшет, не касаясь дисков	Для завершения переноса элюата может быть использована фильтровальная бумага. Необходимо перенести как можно больше элюата образца без предъявления требования к его количеству
6	Накрывают/заклеивают 96-луночный планшет	Используют алюминиевую фольгу или предварительно перфорированное покрытие на полимерной основе
7	Помещают планшет в автосемплер для проведения МС/МС-исследования	—

5.4 Сравнение методов пробоподготовки без дериватизации и с дериватизацией для исследования

Ацилкарнитины и аминокислоты с помощью МС/МС можно исследовать как дериватизированные (этерифицированные, в основном бутиловые эфиры) или недериватизированные (не этерифицированные, свободные кислоты) виды. Дериватизация усиливает ионизацию в режиме положительных ионов, устраняя потенциальный отрицательный заряд, создаваемый функциональностью карбоновой кислоты в водных или полярных растворах, таких как смеси ацетонитрил/вода или ацетонитрил/метанол. Кроме того, этерификация позволяет свести к минимуму потенциальное воздействие растворителей или других мешающих веществ. Однако справедливо и обратное: этерификация может также вносить некоторые помехи, которые не обнаруживают при измерении ацилкарнитинов и аминокислот в виде свободных кислот.

Как с дериватизацией, так и без нее методы имеют свои достоинства и недостатки. Процесс дериватизации обычно состоит из большего количества этапов, в нем используют агрессивные химические вещества, оборудование для выпаривания и вытяжной шкаф. Однако, поскольку и процесс дериватизации, и последующий перенос удаляют загрязнения и потенциальные помехи, дериватизация повышает эффективность ионизации и позволяет получить более чистый образец перед исследованием.

Процедура пробоподготовки без дериватизации состоит из меньшего количества этапов и исключает необходимость использования агрессивных химикатов, этапов выпаривания, вытяжного шкафа или оборудования для сушки. Данный метод также упрощает добавление маркеров для идентификации дополнительных заболеваний, которые могут разрушаться в кислотных условиях дериватизации. Наборы реагентов, в которых используют метод без дериватизации, также позволяют исследовать сукцинилацетон наряду с аминокислотами и ацилкарнитинами.

«Закупорка» — это потенциальная механическая проблема при использовании метода без дериватизации. Капилляр от автосемплера к детектору может быть забит бумажными волокнами, поскольку диск из сухого пятна крови или остатки ворса с бумаги диска могут находиться в лунке, когда экстракт вводят в МС/МС. Способы избежать «закупорки» включают:

- перенос экстракта в чистый 96-луночный планшет, в котором остаются диски из сухого пятна крови и большая часть мусора;
- центрифугирование планшета перед помещением его в автосемплер;
- установку фильтров в линии для улавливания волокон после инъекции и предотвращения засорения.

В методе без дериватизации также предпочтительно использовать режим мониторинга выбранных реакций (SRM) вместо режимов нейтральной потери или полного сканирования для измерения интенсивности сигнала каждого иона, связанного с аминокислотой или ацилкарнитином. Использование режима SRM повышает специфичность, уменьшает помехи, повышает чувствительность и улучшает воспроизводимость.

Однако конечный экстракт получают не таким чистым, как при использовании метода с дериватизацией. Чтобы компенсировать это, лаборатории могут приобретать более чувствительное современное оборудование для метода тандемной масс-спектрометрии. Разбавление конечного экстракта или направление струи зонда электроспрея дальше от отверстия ионопровода уменьшает количество постороннего материала, попадающего в тандемный масс-спектрометр. Данные подходы могут снизить общий сигнал от аналитов, высокая чувствительность оборудования компенсирует эту потерю. Уменьшение попадания загрязняющих веществ в ионопровод приводит к увеличению интервала сложного технического обслуживания, связанного с необходимостью очистки ионной оптики и масс-фильтров типа квадруполь.

Кроме того, ни один из методов пробоподготовки не позволяет количественно определить каждую аминокислоту или ацилкарнитин отдельно, поскольку некоторые аналиты имеют одинаковые массовые переходы и не могут быть различимы ни при одном из подходов. Результаты концентрации аналитов, приведенные в таблице 3, представлены как суммарная концентрация двух аналитов. Значимость невозможности различить аналиты зависит от возможности использования других первичных и вторичных маркеров и/или исследований второго уровня для подтверждения конкретного расстройства, связанного с этими аналитами.

Таблица 3 — Аналиты с идентичными масс-переходами (изобарные пары), неразличимые с помощью МС/МС

Отношение массы иона к его заряду (m/z)	Изобарные пары	Используемый метод подготовки пробы
248	C3DC/C4-OH	Без дериватизации
262	C4DC/C5-OH	Без дериватизации
276	C5DC/C6-OH	Без дериватизации
290	C6DC/C7-OH	Без дериватизации
360	C3DC/C8-OH	С дериватизацией
374	C4DC/C9-OH	С дериватизацией
388	C5DC/C10-OH	С дериватизацией
402	C6DC/C11-OH	С дериватизацией

6 Особенности работы с масс-спектрометрами

6.1 Общие положения

Тандемные масс-спектрометры, использующие в неонатальном скрининге метод МС/МС, как правило, надежны и относительно просты в эксплуатации. Различия в способах вычисления и получения данных, а также чувствительность некоторых соединений могут влиять на значения концентраций аналитов.

6.2 Выбор оборудования, процесса и программного обеспечения

Существует различное оборудование для тандемной масс-спектрометрии. Для целей неонатального скрининга предпочтительно использовать оборудование типа МС/МС. У этих систем должны быть, как минимум, следующие режимы сканирования, обеспечивающие точные и воспроизводимые результаты:

- сканирование всего массового диапазона в квадруполях 1 и 3 (Q1 и Q3);
- МС/МС-исследование ионов-продуктов в режиме тройного квадруполя;
- МС/МС-исследование выбранных реакций фрагментации (мониторинг множественных реакций) переходов;
- МС/МС поиск ионов-предшественников;
- МС/МС поиск ионов-предшественников, потерявших нейтральный фрагмент.

Для определения концентраций аминокислот, ацилкарнитинов, сукцинилацетона и иных биохимических маркеров в неонатальном скрининге используют метод МС/МС. Для данного метода необходимо оборудование с масс-спектрометрическим детектором типа тройной квадруполь с достаточной и необходимой чувствительностью (отношение сигнал/шум) в режиме регистрации мониторинга множественных реакций (+) переходов при вводе 1 пг резерпина (составляет m/z 609,3 > 195,0 — не менее 150 000:1).

Однако решающее значение имеет программное обеспечение, облегчающее исследование и интерпретацию данных. Специализированное программное обеспечение для неонатального скрининга упрощает эти задачи. В целом, системное программное обеспечение должно выполнять следующие задачи:

- управлять оборудованием (т. е. автодозатором, насосом и МС/МС-детектором), собирать данные об образцах и вычислять концентрацию (или псевдоконцентрацию) нескольких аналитов в образце;
- сравнивать вычисленные концентрации аналитов с критериями приемлемости исследования;
- выявлять результаты, выходящие за пределы референсного диапазона и/или ±3 СО;
- автоматически переносить результаты в базу данных, содержащую информацию о пациенте.

Некоторые задачи по обработке данных могут быть решены с помощью автоматизированного программного обеспечения, если лабораторная информационная система не может выполнить эти задачи. Специализированное программное обеспечение для вычисления результатов исследования должно:

- быть удобным для пользователя и простым в освоении;
- быстро вычислять результаты как для отдельного образца, так и для большой партии образцов;
- формировать результаты исследования (отчеты) для всех образцов, а также для образцов, результаты которых выходят за пределы референтных интервалов.

6.3 Производительность системы

Производительность системы должна соответствовать объему работы лаборатории с образцами. Общее правило заключается в том, что одна единица оборудования с тандемным масс-спектрометром может исследовать от 400 до 500 образцов в день (100 000 образцов в год). Лаборатории должны иметь резервный вариант, который может включать дополнительное оборудование МС/МС или соглашение с другой лабораторией для проведения исследования, если это необходимо.

6.4 Калибровка и проверка работоспособности масс-спектрометра (верификация оборудования)

Поскольку калибровку выбранных масс проводят с использованием калибровочных растворов, входящих в комплект тандемного масс-спектрометра, и согласно инструкции изготовителя, данные массы не идентифицируются в сухом пятне крови. Необходимо проверить и оптимизировать МС/МС-параметры для MRM ацилкарнитинов и аминокислот, выделенных из сухого пятна крови. Обычно это

выполняют путем введения концентрированного раствора ацилкарнитинов и аминокислот в оборудование МС/МС и настройки параметров оборудования для получения максимального суммарного ионного отклика (чувствительности). Предпочтительно использовать коммерческие наборы для настройки параметров оборудования (оптимизации) от изготовителей тест-систем для неонатального скрининга и проводить указанную настройку с привлечением квалифицированных представителей изготовителя медицинских изделий.

Помимо первоначальной проверки после настройки, раствор для оптимизации должен быть повторно исследован после технического обслуживания оборудования. Работу оборудования необходимо проверять ежедневно, исследуя контрольный раствор перед началом работы. Контрольный раствор может быть из того же материала, что и раствор для оптимизации, но с концентрацией аналитов в пределах линейного диапазона исследуемых соединений. Использование обоих этих растворов позволяет заблаговременно выявить потенциальные проблемы с оборудованием или методом, тем самым минимизируя время простоя.

6.5 Обработка результатов (количественное исследование)

6.5.1 Общие положения

Определение концентрации исследуемого вещества может быть выполнено двумя способами. Наиболее распространенным является внутренняя калибровка, при которой экстракционный раствор сухого пятна крови содержит внутренний стандарт.

6.5.2 Внутренняя калибровка

Основной принцип вычисления результатов (количественной оценки) заключается в определении соотношения между максимальной интенсивностью исследуемого вещества и интенсивностью внутреннего стандарта. Концентрацию исследуемого вещества определяют путем умножения этого соотношения на концентрацию внутреннего стандарта.

При вычислении целевой концентрации исследуемого вещества учитывают ряд переменных (*RRF*, C_{IS}, V_{ex}, V_{BS}, $I_{\text{аналита}}$), и эти переменные необходимо ввести в программное обеспечение тандемного масс-спектрометра для вычисления. Концентрацию исследуемого вещества $C_{\text{аналита}}$, μM, вместе со связанными переменными вычисляют по формуле

$$C_{\text{аналита}} = \frac{I_{\text{аналита}} \cdot V_{ex} \cdot C_{IS}}{I_{IS} \cdot V_{BS} \cdot RRF}, \quad (1)$$

где $I_{\text{аналита}}$ — интенсивность аналита (например, в cps);

V_{ex} — объем экстракта, мкл;

C_{IS} — концентрация внутреннего стандарта, мкмоль;

I_{IS} — интенсивность внутреннего стандарта (например, в cps);

V_{BS} — объем крови, содержащейся в диске сухого пятна крови (т. е. 3,4 мкл для диска 3,2 мм, при гематокрите 55 %);

RRF — коэффициент пересчета (эффективность экстракции).

6.6 Эксплуатация и обслуживание оборудования

6.6.1 Общие положения

Большинство тандемных масс-спектрометрических систем, используемых в неонатальном скрининге, состоят из трех основных компонентов: автосемплера, бинарного-насоса и тандемного масс-спектрометра. Необходимо учитывать работу системы в целом, настройку компонентов и их текущее техническое обслуживание. Пользователям следует соблюдать рекомендации по условиям эксплуатации (требования к помещениям, электрические характеристики, температура и т. д.) и требования к техническому обслуживанию, предоставляемые изготовителем.

6.6.2 Автосемплер

Автосемплер является первым компонентом системы и отвечает за подачу заданного объема экстракта сухого пятна крови в оборудование. Обычно объем образца (экстракта) составляет от 10 до 20 мкл.

Следует регулярно проверять дозирующее устройство автосемплера, чтобы убедиться в отсутствии загрязнений согласно требованиям изготовителя.

6.6.3 Скорость потока ВЭЖХ насоса

6.6.3.1 Общие положения

Скорость потока мобильной фазы, используемой для МС/МС-исследования, как правило, находится на нижней границе указанного диапазона для насосов ВЭЖХ, поэтому следует контролировать производительность (давление), поскольку уплотнения на насосах со временем могут ухудшаться. Рекомендуется соблюдать технический регламент изготовителя по замене движущихся или изнашивающихся деталей.

6.6.3.2 Исследование с градиентом скорости потока

Чтобы увеличить время нахождения исследуемого вещества в источнике масс-спектрометра, можно использовать программу по градиенту потока (см. рисунок 2). Сначала используют умеренную скорость потока (от 100 до 200 мкл/мин) для подачи экстракта (обычно 10—20 мкл) через капилляр из автосемплера на электроспрей в камере ионизации тандемного масс-спектрометра. Затем скорость потока уменьшают и поддерживают постоянной (от 20 до 30 мкл/мин), чтобы максимально увеличить количество сканирований на одну инжекцию образца. Далее, после сканирования ионов исследуемого вещества, расход увеличивают (от 400 до 500 мкл/мин), как минимум, на 10 с, чтобы промыть капилляр между автосемплером и электроспреем и иглу электроспрея перед введением следующего образца.

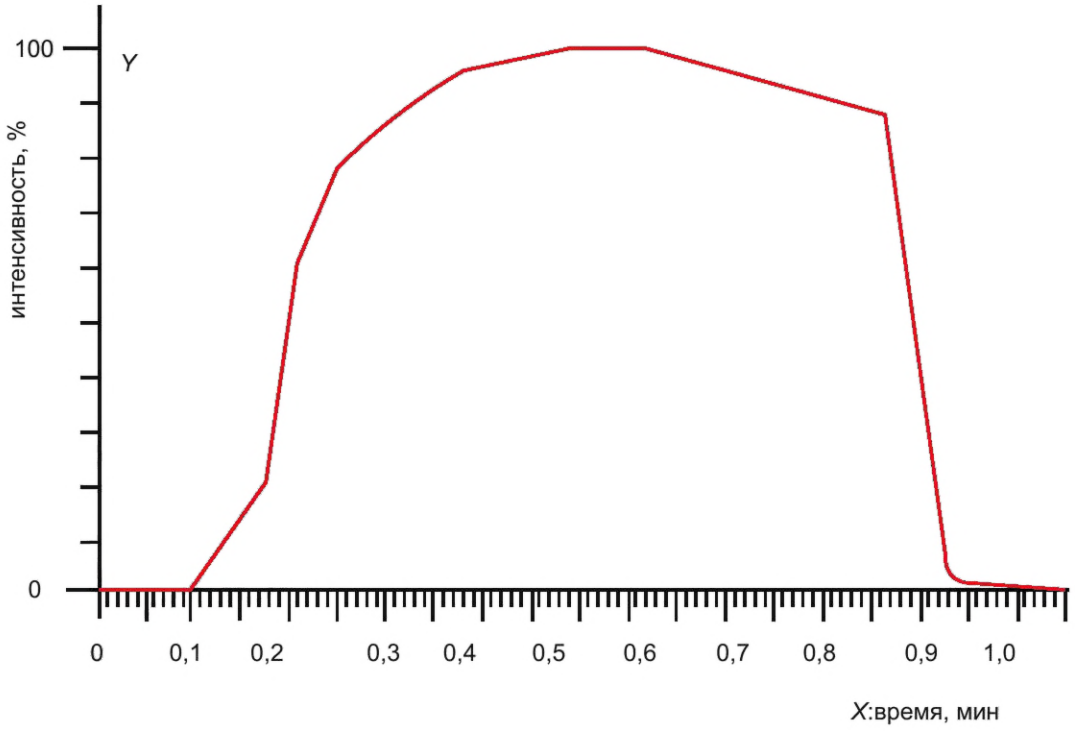

Рисунок 2 — Вид хроматограммы при использовании метода с градиентом потока

Уменьшение скорости потока при каждой инжекции для увеличения времени нахождения образца в системе должно быть соизмеримо с типом и количеством проводимых исследований (например, SRM, Full-scan), чтобы обеспечить достаточную интенсивность ионов при измерениях. Чтобы измерение было статистически значимым, в ходе исследования должно быть получено не менее восьми сканирований на пик (скан или функцию) (режимы: SRM, neutralloss, precursorion).

6.6.3.3 Исследование с постоянной скоростью потока

При постоянном введении образца скорость потока поддерживают постоянной в течение всего исследования. Типичный профиль хроматограммы при данном виде исследования приведен на рисунке 3. Как и при исследовании с градиентом потока, для получения статистически значимого результата рекомендуется провести не менее восьми сканирований (или хроматографический пик должен описываться не менее 8 точками).

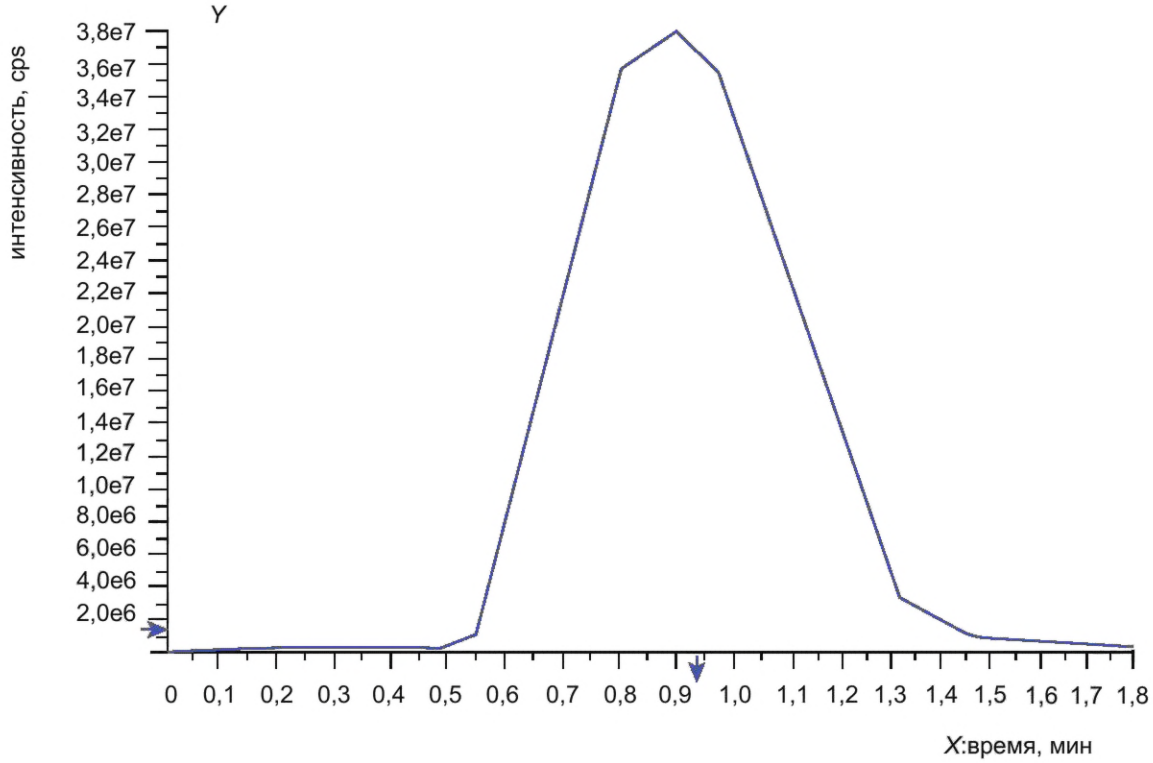

Рисунок 3 — Вид хроматограммы с постоянной скоростью потока

6.6.4 Плановое техническое обслуживание

6.6.4.1 Общие положения

Пользователи должны следовать рекомендациям изготовителей по плановому техническому обслуживанию. Эти действия направлены на обеспечение правильной и надежной работы тандемного масс-спектрометра. Плановое техническое обслуживание необходимо для предотвращения проблем до их возникновения. Процедуры должны быть подробно описаны в стандартной операционной процедуре (СОП) и руководстве по эксплуатации оборудования. Соблюдение требований должно быть задокументировано в журнале технического обслуживания оборудования.

Периодичность планового технического обслуживания зависит от производительности тандемного масс-спектрометра. Однако, в зависимости от количества исследуемых образцов, часто бывает сложно запланировать выполнение работ, поэтому плановое техническое обслуживание следует проводить ежедневно, еженедельно или ежемесячно, независимо от количества исследуемых образцов.

6.6.4.2 Ежедневное техническое обслуживание

Ежедневное техническое обслуживание должно включать в себя те действия, которые необходимы для обеспечения правильной работы тандемного масс-спектрометра в течение одного или нескольких аналитических циклов в течение ежедневной работы или в нерабочее время. Тандемный масс-спектрометр должен быть обеспечен достаточным количеством растворителей и газов. Он должен быть чистым, что необходимо для точного количественного определения результатов. Условия эксплуатации следует проверять и регистрировать ежедневно, чтобы быть уверенным в том, что тандемный масс-спектрометр работает в соответствии со спецификациями, установленными при настройке.

Ежедневное техническое обслуживание включает в себя:

- очистку поверхности источника ионов (по применимости, частоту очистки ионного источника устанавливает изготовитель в зависимости от количества заколов, не обязательно ежедневно);
- контроль объема мобильной фазы;
- проверку давления насоса;
- проверку вакуума в анализаторе;
- проверку давления и расхода распыляющего газа;
- проверку давления коллизионного газа;

- проверку хромотограммы полного ионного тока (TIC), положения массы и разрешающей способности контрольного решения;
- проверку достоверности показаний оборудования (например, температуры и напряжения).

6.6.4.3 Еженедельное или ежемесячное техническое обслуживание

Еженедельные/ежемесячные мероприятия направлены на предотвращение долговременных проблем. Примеры еженедельных/ежемесячных мероприятий по техническому обслуживанию включают:

- замену фильтров (если используется);
- промывку инжекторного отверстия и проверку сливной трубки инжектора;
- проверку сливного контейнера;
- тщательную очистку источника ионов;
- перезагрузку (еженедельно) компьютера;
- проверку узла инжектора на герметичность.

В руководстве по эксплуатации оборудования или у изготовителя возможно получение дополнительной информации, которая может повысить надежность оборудования в течение всего срока эксплуатации.

6.6.4.4 Техническое обслуживание оборудования для масс-спектрометра

Регулярное техническое обслуживание (ТО) должен выполнять квалифицированный персонал специализированных лицензированных организаций. Это включает в себя обследование и очистку деталей тандемного масс-спектрометра, которые обычно не обслуживает оператор. Техническое обслуживание следует проводить не реже одного раза в год или чаще в зависимости от объема образцов в соответствии с эксплуатационной документацией изготовителя оборудования. Плановое ТО, ремонт могут привести к значительному простою оборудования. Лаборатории необходимо обеспечить дублирующее оборудование.

6.6.5 Матричный эффект

При проведении исследования методом МС/МС в систему могут попадать соединения из крови и/или фильтровальной бумаги, что может вызвать подавление ионизации ионов и снизить точность результатов исследования. Эффекты подавления ионизации ионов снижаются при использовании внутренних стандартов, поскольку исследуемое вещество и его внутренний стандарт химически идентичны. Несмотря на это, необходимо, чтобы все «готовые» образцы (например, для контроля качества и внешних калибраторов) были приготовлены в виде матрицы из цельной крови, которую окрашивают и высушивают на фильтровальной бумаге того же типа, что и та, которую используют для взятия образцов (например 903^{TM}).

Несмотря на то, что невозможно вычислить степень подавления ионов в каждом образце сухого пятна крови, исследованном лабораторией неонатального скрининга, знание степени подавления ионов для каждого исследуемого вещества может оказаться полезным для будущих действий по устранению неполадок.

6.6.6 Интерференция

Исследование интерференции осуществляется изготовителем медицинских изделий при их разработке и постановке на производство, а подтверждается — при прохождении процедуры экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий в процессе их регистрации. Информация о потенциальных помехах, которые могут быть вызваны лекарствами, пищевыми добавками или компонентами парентерального питания, воздействию которых мать или ребенок могли подвергаться, должна быть указана в эксплуатационной документации изготовителя медицинских изделий.

6.6.7 Линейность

Значения НПО и НПКО для МС/МС-исследования могут быть установлены (или подтверждены) путем исследования образцов сухого пятна крови с увеличением концентрации исследуемых веществ, которые необходимо определить.

6.6.8 Точность

Чтобы оценить точность исследования, необходимо оценить повторяемость (в пределах цикла) и общую (в пределах лаборатории) точность. Оценка повторяемости и точности может быть разделена на составляющие в рамках цикла и между циклами.

Простой метод оценки повторяемости на одном 96-луночном планшете заключается в проведении 20 повторных исследований образцов пациента (или материала для контроля качества) в трех концентрациях:

- на уровне порогового значения;

- уровне на 50 % ниже порогового значения (при необходимости);
- уровне на 50 % выше порогового значения.

Исходя из среднего значения и стандартного отклонения, можно вычислить коэффициент вариации. Аналогичным образом точность измерений между циклами может быть оценена путем исследования одних и тех же образцов по 20 раз каждый в течение нескольких дней.

Для проверки заявленной изготовителем повторяемости и точности в лабораторных условиях рекомендуется провести как минимум пять исследований с тремя повторениями в каждом при двух или более концентрациях, соответствующих важным для принятия решения значениям, или близких к концентрациям, использованным для подтверждения заявленных характеристик.

6.6.9 Сравнение нескольких единиц оборудования

В лабораториях неонатального скрининга часто используют несколько единиц оборудования для выполнения рутинной работы или для резервного копирования, когда основное оборудование недоступно. Оборудование (особенно оборудование одной модели) должно давать сопоставимые результаты при исследовании одних и тех же образцов при использовании двух и более единиц оборудования (масс-спектрометрическая система). Метод определения погрешности между аналитами, измеренными на нескольких единиц оборудования, заключается в исследовании двух уровней концентрации контрольного материала на каждом оборудовании. Исследование необходимо проводить в течение нескольких серий, чтобы дневная вариативность могла быть учтена при вычислении погрешности. Приемлемая погрешность между концентрациями аналитов, полученными с помощью нескольких единиц оборудования, должна составлять менее 10 %.

Варианты коррекции тех аналитов, которые не укладываются в 10 %, включают корректировки оборудования, такие как потенциалы ионизации, корректировка коэффициента пересчета (RRF) или установление различных пороговых значений для каждой единицы оборудования.

6.6.10 Суммарная аналитическая ошибка

Понимание общей аналитической ошибки важно для определения приемлемости исследования. Можно использовать образцы пациентов или контрольные образцы, а общее количество исследуемых образцов должно быть не менее 40 (одиночных или дубликатов). Для исследования аминокислот, карнитина и ацилкарнитина можно ожидать до 30 %—40 %.

6.6.11 Перенос

Необходимо оценить возможный эффект переноса от проб с высокой концентрацией аналита на результат последующей пробы или проб. Существует несколько потенциальных источников переноса в системе МС/МС, наиболее распространенным источником является порт впрыска автодозатора.

Одна из процедур определения переноса заключается в том, что в лунку 96-луночного планшета после пробы с очень высокой концентрацией аналита в пустую лунку помещают рабочий раствор без пробы («холостая проба») в соответствии с рекомендациями изготовителя. Чтобы не было переноса, концентрация аналитов в пустой лунке должна быть ниже концентрации НПО, определенной ранее.

6.6.12 Верификация

Протоколы верификации используют:

- при смене оборудования для ранее валидированного или верифицированного исследования;
- перемещении оборудования;
- после корректирующих действий для определения причин сбоев при проведении ранее валидированного или верифицированного исследования.

Протоколы используют для подтверждения ранее валидированного метода или характеристик (например, точности, прецизионности, линейности, референсного интервала), заявленных изготовителем. Материалы, используемые для процедур верификации, должны быть из сухого пятна крови и могут включать контрольный или эталонный материал, охватывающий заявленный диапазон, калибраторы, материалы для проверки квалификации и ранее исследованные образцы.

Для определения, соответствующего референсного интервала для исследуемой популяции, должно быть использовано соответствующее количество образцов.

Если оборудование перемещают, процесс перемещения или новые условия могут повлиять на результаты исследования, поэтому процедуры верификации должны быть проведены до того, как оборудование будет снова введено в эксплуатацию.

Результаты верификации должны быть обобщены и утверждены руководителем лаборатории (или соответствующим уполномоченным лицом) перед использованием.

7 Исследование образцов для выявления нарушений при неонатальном скрининге

7.1 Установление и валидация пороговых значений

7.1.1 Общие положения

При определении пороговых значений для исследуемых веществ следует учитывать:

- используемые метод и оборудование;
- предполагаемый возрастной диапазон популяции, подлежащей скринингу;
- требования (ограничения) программы расширенного неонатального скрининга в отношении выявляемых заболеваний;
- количество выявленных ложно-положительных результатов.

Пересмотр пороговых значений допускается при следующих изменениях:

- методики исследования;
- наборов реагентов;
- ремонте с заменой ключевых узлов масс-спектрометра;
- модели масс-спектрометра;
- обнаружении новых биохимических маркеров;
- обновленнии клинической информации по заболеванию и др.

7.1.2 Разработка протокола и его валидация

Первым этапом при установке пороговых значений является разработка протокола МС/МС и выполнение требований по валидации. Процедуру следует продолжать только тогда, когда данные валидации являются приемлемыми.

7.1.3 Исследование образцов для неонатального скрининга

Следующим этапом при определении референтных интервалов является исследование «предположительно нормальных» образцов сухого пятна. Количество образцов для исследования определяет лаборатория исходя из уверенности в том, что собранные данные являются репрезентативными для различных вариантов метода. Часто это может включать сотни или даже тысячи образцов. Концентрации некоторых исследуемых веществ меняются в зависимости от времени взятия и хранения образца, и срока гестации новорожденного. Для разных возрастных групп и групп по сроку гестации необходимо устанавливать разные референтные интервалы.

7.1.4 Вычисление предельных значений исследуемого вещества и/или соотношений биохимических маркеров

На основе полученных данных необходимо выполнить статистическую оценку данных. Как правило, среднее значение и стандартное отклонение вычисляют для каждого исследуемого вещества, а предельное значение определяют при величине стандартного отклонения (от трех до шести раз) от вычисленного среднего значения. Для большинства исследуемых веществ данные не имеют гауссовского распределения, поэтому целесообразно использовать процентили, а не стандартное отклонение.

Процентили, используемые для определения начальных пороговых значений, варьируются от 99,0 % до 99,99 %. Этот процент зависит от совпадения распределения маркерных заболеваний и нормального распределения. Из-за изменчивости концентраций исследуемых веществ в сухом пятне некоторые лаборатории устанавливают предварительную границу, которая является менее дискриминантной, чем статистически полученная граница, и затем повторяют исследование. Повторные результаты, превышающие статистически установленную границу, считают аномальными.

7.1.5 Первоначальная проверка референтных интервалов

Чтобы определить, являются ли вычисленные значения допустимыми, их следует сравнить с данными эксплуатационной документации изготовителя набора или с данными, используемыми в другой лаборатории, использующей аналогичные оборудование и метод. Другим источником для сравнения показателей является пересмотр данных по неонатальному скринингу. Показатели могут отличаться в разных лабораториях из-за различий в методах.

7.1.6 Частота ложно-положительных результатов

Чтобы определить процент положительных результатов, необходимо исследовать дополнительный набор образцов сухого пятна с результатом «норма» (минимум 1000 шт.). Исходя из этих данных в сочетании с требованиями по интерпретации, можно оценить количество «положительных» результатов, которые могут быть получены. Корректировка предельного значения исследуемых веществ допустима, если количество «положительных» результатов выше в среднем регистрируемых (увеличение

предельного значения) или если «положительных» результатов нет (уменьшение предельного значения). В дополнение к приоритетным референтным интервалам, для которых требуется проведение подтверждающего исследования, необходимо установить второй уровень (пограничный), чтобы рекомендовать повторное взятие сухого пятна крови у новорожденных.

7.1.7 Повторная оценка референтных интервалов

7.1.7.1 Определение ложноположительных значений

Основным фактором, определяющим, нужны ли ограничения по содержанию исследуемого вещества, является количество полученных ложноположительных результатов. В течение первых нескольких месяцев рутинного исследования следует тщательно отслеживать пороговые значения. Используя программное обеспечение для статистической обработки данных, следует повторно вычислить пороговые значения исследуемого вещества. Следует рассмотреть возможность корректировки референтных интервалов, если количество ложноположительных результатов превышает ожидаемое. При обновлении пороговых значений для снижения частоты ложноположительных результатов следует учитывать потенциальный эффект увеличения числа ложноотрицательных результатов.

7.1.7.2 Изменения в оборудовании, методологии или внутренних стандартах

Любое изменение в оборудовании, методологии или внутренних стандартах, используемых для измерения данного аналита, требует повторной оценки референтных интервалов.

7.1.7.3 Учет новых клинических данных

Более широкое использование программы неонатального скрининга с использованием МС/МС-исследования позволило выявлять многие расстройства, которые ранее определяли по клиническим симптомам только после того, как ребенок болел в течение некоторого времени. Концентрации исследуемых веществ в предсимптомных случаях могут быть неточно определены до тех пор, пока не будет выявлено достаточное количество случаев и не будут определены клинические результаты. Коррекция референтных интервалов может потребоваться для выявления конкретного заболевания либо для сведения к минимуму выявления доброкачественных состояний. За выявлением ложноотрицательного результата должен последовать пересмотр алгоритма скрининга, включая, при необходимости, пересчет пороговых значений для ключевого аналита.

7.2 Обеспечение качества и контроль качества

7.2.1 Общие положения

Обеспечение качества представляет собой систему процедур, направленных на установление критериев для поддержания необходимого качества работы на всех этапах неонатального скрининга с целью обеспечения надежности результатов исследований. При использовании МС/МС в лаборатории, проводящей неонатальный скрининг, должны быть, помимо прочего, следующие объекты контроля:

- качество образцов;
- работа оборудования (например, давление в насосе, температура, вакуум, газовое давление);
- критерии внутрилабораторного контроля качества (ВЛК);
- критерии приемлемости результатов;
- общее время исследования;
- действия при выявлении аномального результата.

В каждой лаборатории необходимо определить действия для поддержания точности и надежности проводимого исследования и отслеживать указанные этапы на постоянной основе (например, ежедневно, раз в неделю или раз в месяц). Комплекс мероприятий системы качества позволяет лаборатории проводить качественную и количественную оценку валидности и надежности выполняемых исследований. Важная часть этого процесса — включение контрольных образцов, максимально приближенных к образцу исследуемого биологического материала, с аналитами в установленных концентрациях в исследовании серии проб пациентов. Минимальную частоту проверок определяет руководство лаборатории в соответствии с требованиями действующих нормативных документов.

7.2.2 Требования к контрольным образцам

Материал для контроля качества, используемый для МС/МС, может быть получен из коммерческих источников или приготовлен в лаборатории квалифицированным персоналом. Изготовители контрольных образцов должны указывать ожидаемые концентрации и приемлемые интервалы для каждого аналита. Эти значения можно использовать до того момента, как будет проведено достаточное количество (не менее 20) измерений для вычисления среднего значения и стандартного отклонения, однако целесообразно исследовать контрольные образцы, как неизвестные образцы, в исследовании серии

проб до их рутинного использования для подтверждения того, что концентрации аналита находятся в пределах референтного интервала в соответствии с эксплуатационной документацией изготовителя.

7.2.3 Требования к количеству контрольных образцов для 96-луночного планшета

Для 96-луночного планшета следует использовать не менее двух контрольных образцов. Контрольные образцы должны быть релеванты по содержанию аналитов. Один контрольный образец должен содержать концентрацию аналита, превышающую пороговое значение, а второй — концентрацию, равную пороговому значению или близкую к нему. Контрольные образцы должны помещаться в первых и/или последних лунках планшета. Кроме того, каждая лунка должна содержать внутренний стандарт, интенсивность сигналов которого позволяет отследить любое изменение в работе оборудования.

7.2.4 Требования к стабильности контрольного образца

Стабильность (срок годности) и условия хранения коммерческих контрольных образцов указывает изготовитель. Для контрольного образца, приготовленного в лаборатории квалифицированным персоналом, должны быть обеспечены стабильность и соответствующие условия хранения. Такой контрольный образец следует хранить при температуре минус 20 °С и влажности воздуха не ниже 30 %. В лаборатории должны быть определены способы (например, ежемесячное построение контрольных карт Леви-Дженнингса) проверки работы контрольных образцов для исключения случаев деградации аналита в период его хранения.

7.2.5 Оценка материалов для контроля качества

Подготовленный в лаборатории контрольный образец для контроля качества должен быть оценен для определения функциональных характеристик перед рутинным использованием в исследовании. Цель состоит в том, чтобы исследовать минимум 20 результатов данных из нескольких серий, а затем вычислить среднее значение и стандартное отклонение. Собранные данные о контроле качества следует применять только в том случае, если результаты серии удовлетворяют существующим критериям приемлемости для контроля качества. Если в лаборатории имеется несколько единиц оборудования, данные контроля качества могут быть объединены со всех единиц оборудования, если будет установлено, что результаты каждой единицы оборудования статистически не отличаются от установленных ранее лабораторией. Если результаты статистически различаются (более, чем на ±10 %), то для каждой единицы оборудования следует установить отдельные контрольные диапазоны.

7.2.6 Верификация и мониторинг приемлемого интервала концентраций для контроля качества

В лаборатории необходимо установить приемлемый интервал концентраций для каждого измеряемого аналита. В качестве верхнего и нижнего контрольного предела часто используют среднее значение плюс/минус несколько стандартных отклонений (СО) соответственно. Лаборатории, проводящие скрининг методом масс-спектрометрии, часто используют среднее значение аналита ±3 СО в качестве приемлемого диапазона для ВЛК. Полученные результаты для каждого аналита необходимо вносить в карту Леви-Дженнингса и оценивать на ежедневной, еженедельной или ежемесячной основе. При необходимости проводят корректировку, следуя установленному лабораторией протоколу.

7.2.7 Мониторинг дрейфов и сдвигов

Результаты измерений контрольных образцов должны быть организованы и представлены таким образом, чтобы их можно было ежедневно оценивать для выявления проблем, дрейфов (постепенное уменьшение надежности работы аналитической системы) и смещений (нарушение работы аналитической системы). Полученные данные следует заносить в журнал и/или вносить в карту Леви-Дженнингса. Построение контрольных карт Леви-Дженнингса позволяет выявлять и отслеживать дрейфы и смещения в работе медицинских изделий (МИ ИВД). Под дрейфами понимают постепенное смещение нескольких последовательных значений в сторону увеличения или уменьшения. Смещение определяют как ситуацию, когда несколько последовательных контрольных результатов оказываются по одну сторону от среднего арифметического значения. При выявлении дрейфа или сдвига рекомендуется провести проверку МИ ИВД для выяснения возможных причин (включая деградацию самого контрольного образца).

7.2.8 Хроматограмма полного ионного тока

Необходимо проверить хроматограмму полного ионного тока (TIC) контрольного раствора или первого введенного экстракта сухого пятна крови для установления времени начала и окончания хроматографического пика, а также уровень интенсивности сигнала базовой линии. Это гарантирует оператору, что система МС/МС работает надлежащим образом. TIC следует проверять на нескольких образцах во время серии или в течение дня, если серий несколько. После завершения всей серии TIC оценивают для каждого образца. Значительные изменения TIC от образца к образцу могут указывать на

проблемы в системе МС/МС, включая пузырьки воздуха, проблемы с клапаном переключения потоков или проблемы со системой ввода. Задержка начала хроматографического пика может быть вызвана проблемами с герметичностью хроматографического насоса или обратного клапана. Эти проблемы могут привести к некорректным результатам, поэтому образцы должны повторно пройти процедуру пробоподготовки и быть повторно исследованы.

7.2.9 Мониторинг проведения исследования

Поскольку к каждому образцу добавляют внутренние стандарты, мониторинг ионного сигнала [в режиме селективного мониторинга реакций (SRM), полного сканирования (Full-scan) или режима мультиканального мониторинга реакций (MRM)] внутреннего стандарта позволяет верифицировать пригодность процедуры пробоподготовки и исследования образцов (например, добавления внутренних стандартов, полноты объема ввода, стабильности расхода мобильной фазы). Необходимо мониторить сигнал как минимум одного внутреннего стандарта для каждого класса аналитов, такие как ацилкарнитины — d3-C8, аминокислоты — 13C6-Phe. Если используют два режима сбора данных (Full-scan, MRM), следует также отслеживать интенсивность сигнала по крайней мере для одного внутреннего стандарта для каждого режима.

Вышеупомянутый подход предназначен для выявления серьезных проблем во время процедуры пробоподготовки образцов и/или в работе оборудования и достигается путем проверки значительных потерь ионного сигнала в целевых аналитах. В лаборатории необходимо установить приемлемые критерии интенсивности ионного сигнала (обычно от 10 % до 50 % от ожидаемого среднего значения).

7.3 Внешняя оценка качества

7.3.1 Общие положения

Внешняя оценка качества (ВОК) — система для периодической оценки точности и достоверности лабораторных результатов с использованием образцов с известными концентрациями анализируемого вещества, закодированных вслепую.

Участие во внешней программе оценки качества и ведение учета результатов — наилучший способ, с помощью которого лаборатории могут продемонстрировать свои показатели качества. ВОК оценивает качество процесса измерений на периодической основе (например, ежеквартально или раз в полгода). Участие лаборатории в ВОК имеет рекомендательный характер. С образцами ВОК следует обращаться и исследовать их таким же образом, как и образцы пациентов.

7.3.2 Дополнительные программы проверки квалификации лаборатории

7.3.2.1 Общие положения

В дополнение к ВОК лаборатория может рассмотреть возможность проведения других мероприятий, которые позволят проверить способность лаборатории выявлять образцы с аномальными исследуемыми веществами. Эти мероприятия не должны заменять участие во внешней программе оценки качества.

7.3.2.2 Внутрилабораторный контроль качества

Лаборатория может внедрить программу внутрилабораторного контроля качества (ВЛК), включив в рутинную работу образцы сухого пятна крови с концентрациями исследуемых веществ, выходящими за пределы нормы.

7.3.2.3 Сличительные испытания между лабораториями

Проведение сличительных испытаний между лабораториями неонатального скрининга для исследования образцов как с нормальными, так и аномальными результатами является альтернативным методом подтверждения квалификации лаборатории. Обмен образцами должен происходить не реже двух раз в год. Конечная цель состоит в том, чтобы продемонстрировать, что лаборатории могут должным образом идентифицировать образцы с нормальными и аномальными результатами. Дополнительная информация, полученная в результате обмена, может включать определение погрешности между измеряемыми исследуемыми веществами. Лаборатории должны установить критерии приемлемости результатов исследования.

7.4 Критерии приемлемости результатов

7.4.1 Общие положения

В лаборатории необходимо установить критерии приемлемости результатов исследования образцов при каждом проведении МС/МС-исследования. Критерии приемлемости должны включать оценку результатов исследования как для образцов ВЛК, так и для клинических образцов (неонатальный скри-

нинг), которые готовят и исследуют одинаковым образом в рамках одной партии образцов для исследования.

7.4.2 Результаты внутрилабораторного контроля качества

7.4.2.1 Общие положения

Результаты исследования контрольных образцов во время выполнения исследования являются наиболее важными данными для определения того, является ли МС/МС-исследование приемлемым. Они должны соответствовать образцам, взятым у пациентов. Кроме того, результаты текущего контроля могут быть использованы в качестве предикторов качества результатов выборки. Поскольку внутрисерийные контрольные образцы подготавливают и исследуют таким же образом, как и образцы пациентов, можно ожидать, что тенденция к повышению или снижению показателей исследования, наблюдаемая для внутрисерийных контрольных образцов, будет аналогична результатам этого же исследования образцов пациентов. Несмотря на то, что не существует четких правил, касающихся принятия результатов МС/МС-серии на основе данных контроля внутри серии, приведенные ниже критерии дают некоторые рекомендации. Даже при соблюдении установленных критериев могут возникнуть ситуации, в которых критерии приемлемости для контроля качества могут не соблюдаться. В таких ситуациях руководитель лаборатории должен одобрить серию образцов с письменным обоснованием.

7.4.2.2 Критерии приемлемости ВЛК для исследования

Наиболее консервативный критерий приемлемости исследования заключается в том, что его принимают только в том случае, если все контрольные исследуемые вещества находятся в пределах указанного диапазона (например, в пределах ±3 СО). Если концентрация контрольного исследуемого вещества выходит за допустимые пределы, необходимо принять решение о проведении повторного исследования или признать серию непригодной. Наиболее применимыми для оценки серий считают правила Вестгарда. Следует изучить изменения и тенденции (систематическая и случайная ошибки) в результатах контрольных образцов, которые могут быть связаны с техническими проблемами или методологией.

7.4.2.3 Критерии приемлемости для индивидуальных аналитов, входящих в состав ВЛК

Альтернативой критериям приемлемости для проведения исследования является установление критериев приемлемости, при которых результаты исследования будут приняты, если один или несколько исследуемых веществ окажутся за пределами допустимого диапазона только для одного из отдельных аналитов ВЛК, при условии, что в состав ВЛК входит не менее 20 исследуемых веществ. Точное количество исследуемых веществ, выходящих за пределы допустимого диапазона, зависит от внутренних требований лаборатории, но должно быть сведено к минимуму (от двух до пяти на один ВЛК при условии, что измеряют не менее 20 исследуемых веществ).

7.4.2.4 Критерии приемлемости, включающие несколько контрольных образцов

Если один контрольный аналит находится за пределами диапазона всех контрольных значений на 96-луночном планшете, то МС/МС-исследование следует считать несостоявшимся и повторить. Если на 96-луночном планшете исследуют более двух контрольных образцов, можно разработать требования к приемлемости, при которых исследование проводят даже в случае обнаружения исследуемого вещества за пределами диапазона измерений. В данном случае рекомендуется, чтобы на каждый контрольный аналит проводилось только одно наблюдение за пределами допустимого диапазона. Например, если постановка (серия) включает три контрольных образца на 96-луночном планшете и один из трех результатов на фенилаланин (Phe) находится за пределами допустимого диапазона, то серия может быть принята.

7.4.2.5 Другие критерии приемлемости

Один из подходов заключается в установлении различий между первичными и вторичными исследуемыми веществами. Критерии могут быть более строгими (например, отсутствие результатов контрольных образцов, выходящих за пределы допустимого диапазона) для первичных аналитов и менее строгими (например, допускается, чтобы некоторые результаты контрольных образцов выходили за пределы допустимого диапазона) для вторичных аналитов.

Некоторые программы неонатального скрининга могут принимать результаты образцов, выходящие за пределы допустимого диапазона, для ускорения представления результатов. Например, если контрольный аналит находится на высоком уровне, а у пациента нет результатов по этому показателю, превышающих пороговое значение, то в данном случае возможно рассмотреть необходимость повторного исследования. Это не относится к тому случаю, когда контрольный уровень исследуемого вещества находился за пределами допустимого интервала. Лабораториям следует осторожно относиться к данным практикам, так как это может привести к получению ошибочных результатов.

7.4.3 Повтор серий исследований тандемной масс-спектрометрии

Все серии, которые были признаны неприемлемыми на основании критериев приемлемости для контрольных образцов, должны быть исследованы повторно для всех исследуемых веществ. Необходимость проводить повторное исследование серии может указывать на проблемы в работе оборудования или метода, которые следует изучить и устранить.

7.4.4 Критерии приемлемости результатов исследований для единичных образцов

Критерии приемлемости для единичных образцов должны основываться на значениях интенсивности внутренних стандартов для данного исследования. Следует пересмотреть по крайней мере один образец внутреннего стандарта для каждого класса исследуемых веществ (ацилкарнитины и/или аминокислоты). Для отдельных образцов, у которых интенсивность внутреннего стандарта не соответствует минимально установленному уровню, следует повторить исследование.

8 Интерпретация результатов и предоставление отчета

8.1 Интерпретация результатов исследования

8.1.1 Общие положения

Подходы в интерпретации результатов исследования в первую очередь основаны на установленных пороговых значениях для метаболитов, которые считают ключевыми биомаркерами наследственных болезней обмена веществ (НБО). Как правило, в каждом МС-исследовании количественно определяют несколько десятков метаболитов (аминокислот и ацилкарнитинов). Многие из этих соединений являются частью одного и того же метаболического пути или являются субстратами и продуктами (фенилаланин преобразуется в тирозин). Что касается связанных (вторичных) метаболитов, то их концентрации также могут быть выражены в виде соотношения (например, соотношение фенилаланин/тирозин), также известного как молярное соотношение. Молярные соотношения повышают точность результатов скрининга, поскольку на молярное соотношение не влияют изменения объема сухого пятна крови. Кроме того, молярные соотношения могут повысить чувствительность к выявлению заболеваний.

Как правило, результаты исследований и их интерпретация должны быть информативными в отношении вероятности заболевания, предоставляя как количественную (концентрации и соотношения метаболитов), так и качественную информацию (интерпретация характерных изменений, связанных с конкретными метаболическими профилями, например повышение фенилаланина и соотношения фенилаланин/тирозин, характерного для фенилкетонурии в противовес неспецифическому повышению фенилаланина и ряда других аминокислот на фоне применения парентерального питания). Например, повышенная концентрация аминокислот у недоношенного ребенка, получающего полное парентеральное питание, менее информативна, чем исследование с повышенным содержанием аналита у доношенного новорожденного.

8.1.2 Отчет о результатах исследований

Неонатальный скрининг с помощью МС/МС-исследования — метод количественного определения метаболического профиля, при котором один или несколько метаболитов могут указывать на одно или несколько генетических нарушений. Метаболический профиль нескольких метаболитов часто более важен, чем повышение уровня одного маркера. Независимо от подхода к интерпретации, если руководитель лаборатории неонатального скрининга будет работать с персоналом, проводящим краткосрочное наблюдение, и специалистами по генетике, чтобы определить, какие исследуемые вещества будут использованы для выявления нарушений, входящих в программы неонатального скрининга, интерпретация которых будет предоставлена медицинским учреждением для проверки положительных результатов, рекомендуется разработать внутреннее руководство для конкретных заболеваний со ссылками на исследуемые вещества. Интерпретация должна основываться на концентрации первичного исследуемого вещества, концентрации вторичного исследуемого вещества, соотношениях (при необходимости) и любой соответствующей клинической информации (например, полное парентеральное питание, внутривенные переливания, прием антибиотиков). В руководстве следует рассмотреть возрастные ограничения в той степени, в которой новорожденный отличается от младенца более старшего возраста (например, старше 72 ч).

Отчет о результатах исследования как с отрицательным, так и с положительным результатом, должен соответствовать общим критериям. Отчет должен содержать:

- ФИО пациента или другие идентификационные данные;

- наименование и адрес лаборатории;
- дату и время взятия образцов;
- дату получения образца лабораторией;
- дату и время исследования;
- дату и время выдачи отчета о результатах;
- результаты исследования с указанием единиц измерения;
- соответствующие рекомендации для лечащего врача (при наличии).

8.1.3 Схемы интерпретации

8.1.3.1 Общие положения

Лаборатории используют различные схемы интерпретации, начиная от простой концентрации и референтных интервалов до использования значений концентраций и соотношений метаболитов. Многие подходы учитывают возраст ребенка на момент взятия пробы, состояние питания, состояние после переливания крови, вес ребенка при рождении или вес на момент взятия образца, гестационный возраст и другие факторы, такие как состояние образца, для внесения постаналитических корректив в схему интерпретации результатов исследования. В таблице 4 приведены возможные схемы интерпретации результатов исследования, варьирующиеся от простых до сложных методов для измерения одного, двух и нескольких метаболитов.

В качестве метаболитов используют символы *X*, *Y*, *Z*. Возможные комментарии оценки изменений метаболитов относительно референтных интервалов: низкое значение, нижняя граница нормы, нормальное значение, верхняя граница нормы, пограничное значение, умеренное повышение, высокое значение. Так же возможно использование оценки рисков в баллах от 0 до 100 с учетом изменения относительно референтных интервалов, а также с учетом лабораторных особенностей исследования, методики пробоподготовки. В оценке риска используют динамические средние и медианы.

Таблица 4

Пример интерпретации	Концентрации	Соотношение концентраций	Комментарии	Интерпретация результатов
Оценка концентрации одного метаболита (ключевой биомаркер)	*X* = 200 мкмоль	—	Умеренное повышение *X*	Базовый риск НБО при неонатальном скрининге: 40 %, без парентерального питания: (+ 20 %), суммарный риск: 60 %
Оценка концентрации двух метаболитов	*X* = 200 мкмоль *Y* = 50 мкмоль	*X*/*Y* = 4	Умеренное повышение *X*; нижняя граница нормы *Y*; высокое значение соотношения *X*/*Y*	Базовый риск НБО при неонатальном скрининге: 75 %, без полного парентерального питания: (+20 %), суммарный риск: 95 %
Оценка концентрации более двух метаболитов	*X* = 300 мкмоль *Y* = 100 мкмоль *Z* = 450 мкмоль	*X*/*Y* = 3 *Z*/*X* = 1,5	Умеренное повышение *X*; нижняя граница нормы *Y*; умеренное повышение *Z*; высокое значение соотношения *X*/*Y*; нормальное значение соотношения *Z*/*X*	Базовый риск НБО при неонатальном скрининге: 75 %, преждевременные роды (8 недель): (–10 %), полное парентеральное питание (–10 %), декстроза (–10 %), суммарный риск: 10 %

8.1.3.2 Интерпретация результатов для одного аналита (селективный биохимический маркер для наследственных болезней обмена веществ (НБО)

Основным подходом к интерпретации и последующему представлению результатов является предоставление концентрации одного метаболита (первичный метаболит) вместе с концентрацией порогового значения. Рассмотрим на примере скрининга фенилкетонурии и фенилаланина в качестве метаболита *X*. Можно отметить, что результат 200 мкмоль для *X* в два раза превышает концентрацию верхнего значения референтного интервала. Результат является вероятно положительным для фенилкетонурии и достаточно выше базового уровня. Некоторые лаборатории регистрируют этот случай как умеренное повышение уровня фенилаланина. Другие лаборатории могут присвоить код или оценку, связанную с конкретным описанием результата (например, умеренное повышение Phe у доношенного новорожден-

ного). Они могут корректировать свою интерпретацию в зависимости от качества образца, времени взятия и хранения образца, состояния питания, срока беременности или других характеристик.

8.1.3.3 Интерпретация результатов для двух метаболитов

Исследование двух аналитов чаще всего проводят с помощью МС/МС-исследования.

Рассмотрим на примере скрининга фенилкетонурии (см. таблицу 4): *X* — фенилаланин, а *Y* — тирозин. Эти метаболиты связаны как субстрат (фенилаланин) и продукт (тирозин) фермента фенилаланингидроксилазы, дефектного фермента при фенилкетонурии. При снижении активности этого фермента концентрация фенилаланина в крови со временем увеличивается из-за поступления с пищей и катаболизма белка. Тирозин со временем снижается, но медленнее. Это снижение происходит медленнее, чем увеличение фенилаланина, из-за поступления тирозина с пищей и катаболизма белка. При использовании двух аналитов можно определить молярное соотношение фенилаланин/тирозин. Это соотношение является более специфичным показателем фенилкетонурии в паре с повышенным фенилаланином. При использовании двух метаболитов можно получить больше информации на всех уровнях и типах отчетов. В целом, двойные метаболиты повышают как чувствительность, так и специфичность неонатального скрининга методом МС/МС.

8.1.3.4 Интерпретация результатов более двух аналитов

Исследование более двух метаболитов также широко используют при МС/МС. Поскольку в каждом исследовании измеряют десятки аминокислот и ацилкарнитинов, сочетание концентраций и соотношений метаболитов значительно расширяет информации о биохимическом профиле.

Рассмотрим на примере заболевания фенилкетонурии: *X* — фенилаланин, *Y* —тирозин, *Z* — лейцин/изолейцин. Добавление молярного соотношения фенилаланин/лейцин (*X*/*Z*) для интерпретации улучшает возможность отличать истинно положительные результаты от ложноположительных, обусловленных наличием парентерального питания. В состав многих лекарственных препаратов для парентерального питания входят фенилаланин и лейцин, но не тирозин (тирозин присутствует в виде ацетилтирозина), что приводит к более низким концентрациям тирозина по отношению к фенилаланину и лейцину. Следовательно, при использовании парентерального питания соотношение фенилаланин/тирозин будет высоким (т. е. предположительная интерпретация фенилкетонурии). Однако процент ложноположительных результатов будет уменьшен при исследовании соотношения фенилаланин/лейцин, которое в этом случае будет нормальным.

8.2 Оценка внешних источников ошибок

8.2.1 Общие положения

Программа неонатального скрининга с помощью МС/МС-исследования выявляет новорожденных с наследственными нарушениями обмена веществ, определяя аномальные (либо избыточные, либо недостаточные) концентрации определенных аминокислот, карнитина, ацилкарнитина и ряда иных соединений. Часто внешние факторы (например, материнский фактор, питание и др.) могут влиять на эти концентрации и приводить к неправильной интерпретации. Важно уметь отличать истинные отклонения, вызванные возможным нарушением обмена веществ, от отклонений, вызванных другими факторами.

Среди этих факторов наиболее часто встречаются парентеральное питание, лекарственные препараты и специальные диеты. Заболевания матери, которые могут привести к отклонению показателей скрининга от нормы, также являются внешними факторами. Подходы, используемые для оценки этих эффектов, включают распознавание определенных аномальных характеристик исследуемых веществ, использование соответствующих референтных интервалов, соотношений исследуемых веществ и методов исследования второго уровня. Эти подходы играют важную роль в определении того, вызвано ли отклонение от нормы каким-либо заболеванием или внешним фактором.

8.2.2 Влияние парентерального питания

В первые недели жизни недоношенным детям назначают парентеральное питание в качестве источника питания, поскольку они не способны всасывать питательные вещества через кишечный тракт. Сухое пятно крови для неонатального скрининга следует собирать в первые дни жизни, но при этом необходима специальная интерпретация, поскольку у младенцев, получающих парентеральное питание, часто наблюдаются необычные аминокислотные и ацилкарнитиновые профили, отражающие состав источника питания. Во многих случаях сухое пятно крови загрязняется раствором парентерального питания из-за неправильного взятия, и результаты показывают заметное повышение содержания нескольких аминокислот (например, метионин, фенилаланин, валин, лейцин, аргинин). О загрязнении парентеральным питанием свидетельствует наличие пиков декстрозы в профиле ацилкарнитина. Не-

которые растворы для парентерального питания обогащены только аминокислотами с разветвленной цепью, что приводит к появлению ложной интерпретации о наличии болезни «кленового сиропа» (лейциноз). Несмотря на то, что использование соотношений между аминокислотами (например, фенилаланин/тирозин, метионин/фенилаланин, лейцин/аланин) может помочь в интерпретации результатов неонатального скрининга, во многих случаях частота истинных и ложноположительных результатов может быть дифференцирована с помощью методов исследования второго уровня, направленных на метаболиты, более специфичные для конкретного заболевания. В качестве примера можно привести количественное определение алло-изолейцина (для «лейциноза»).

В состав парентерального питания часто не входит карнитин, поэтому после длительного приема он может привести к низкой концентрации свободного карнитина в крови ребенка. Это часто заметно при повторном исследовании повторно взятого образца после того, как ребенок длительное время находился на парентеральном питании.

Компоненты раствора для внутривенного введения могут иметь массу в пределах единицы или двух от ацилкарнитина, используемого для выявления конкретного расстройства. Если концентрация компонента достаточно высока, может возникнуть интерференция (перекрытие пиков) с ацилкарнитином, вызывающая повышение пика ацилкарнитина, что может привести к ложноположительному результату. Существуют интерференционные пики при *m*/*z* 343 и m/z 399, которые вызывают ложное повышение С8 (*m*/*z* 344.1) и С12 (*m*/*z* 400.1) соответственно. Благодаря опыту, персонал, работающий с использованием МС/МС, может распознавать потенциальные пики помех, просматривая профиль полного сканирования образцов с аномальными результатами.

При лечении некоторыми препаратами, например вальпроевой кислотой, в крови образуется 8-углеродный ацилкарнитин. Отличительным фактором между повышением С8, связанным с терапией вальпроевой кислотой, и повышением, связанным с дефицитом среднецепочечной-ацил-КоА дегидрогеназы (MCAD), является соотношение С8 и С10, которое значительно повышается у пациентов с дефицитом MCAD, но не у тех, кто получает препараты вальпроевой кислоты. Вальпроевую кислоту не часто назначают новорожденным, поэтому обычно это не является проблемой в программах неонатального скрининга.

Прием карнитина повышает уровень свободного карнитина, коротко- и среднецепочечных ацилкарнитинов.

Прием пивалатов (т. е. пивалиновых эфиров антибиотиков или кортикостероидов) матерями или новорожденными рассматривают как наиболее распространенную причину ложно повышенного уровня С5-карнитина из-за образования пивалоилкарнитина, что может привести к снижению концентрации карнитина. Эфиры неопентаноата в средстве для дезинфекции трещин сосков или в качестве увлажняющего крема являются потенциальной причиной ложноположительных результатов на С5-карнитин.

Прием цефотаксима может вызывать аномальные концентрации С16:1-ОН.

8.2.3 Специальные добавки к молочным смесям

К числу добавок к молочным смесям, влияющих на результаты неонатального скрининга, относится масло, содержащее триглицериды со средней цепью (МСТ масло). Эту добавку широко используют, особенно для детей с низкой массой тела при рождении. Добавка содержит жирные кислоты с длиной цепи 6, 8, 10 и 12 атомов углерода. Пропорция отдельных видов варьируется в разных видах молочных смесей, но большую часть составляют кислоты с длиной цепи С8 и С10. Их использование может привести к увеличению концентрации С6, С8, С10 и С12 в сухом пятне крови. Для обнаружения этого интерферента необходимо исследовать профиль в режиме полного сканирования (Full-scan) и использовать соотношения аналитов.

8.2.4 Влияние заболеваний матери

Внедрение МС/МС для неонатального скрининга позволило выявить бессимптомных или не диагностированных матерей с метаболическими нарушениями из-за аномальных концентраций исследуемых веществ в образцах крови их ребенка.

8.2.5 Влияние внешней среды

Неправильное обращение с образцами сухого пятна крови также может привести к недостоверным результатам. Образцы, подвергшиеся воздействию чрезмерного нагревания или влажности, могут иметь аномальные повышенные или пониженные значения концентрации аналитов.

Во многих случаях для интерпретации результатов необходимо исследование профиля полного сканирования или использование соотношений.

8.3 Предоставление результатов

8.3.1 Нормальные результаты (отрицательный результат скрининга)

Отчет об отрицательных результатах скрининга (иначе называемых нормальным результатом) часто формируется программой и/или посредством лабораторной информационной системы. В медицинское учреждение должен быть отправлен письменный отчет по почте, факсу или в электронном виде.

8.3.2 Положительные результаты неонатального скрининга

Отчет о положительном результате скрининга должен включать результат скрининга, его интерпретацию и рекомендации по дальнейшим действиям. Часто необходимо указывать сроки выполнения последующих действий, контактную информацию и список заболеваний. В большинстве программ неонатального скрининга есть две категории сообщений об аномальных результатах с различными рекомендациями.

Первая категория предназначена для сообщений о пограничных результатах, когда результаты могут не свидетельствовать о высоком риске развития расстройства. В этом случае может быть рекомендовано повторное взятие образца сухого пятна крови новорожденного. Следует проявлять осторожность при включении дефектов окисления жирных кислот в пограничную категорию, поскольку ацилкарнитины могут нормализоваться ко второму скринингу.

Вторая категория предназначена для сообщения о результатах, которые представляют собой высокий риск развития заболевания. В этом случае может быть рекомендовано как можно скорее провести подтверждающее исследование.

По завершении процесса исследования следует немедленно связаться с лечащим врачом в случае положительных результатов, которые указывают на высокий риск потенциального заболевания.

8.3.3 Инициирование последующих мероприятий

Лабораторное выявление наследственных заболеваний с помощью МС/МС-исследования является лишь одним из компонентов программы неонатального скрининга. Младенцев с положительными результатами скрининга направляют на дальнейшее наблюдение, которое включает в себя передачу результатов лечащему врачу или специалисту по генетике, чтобы обеспечить новорожденным с положительными результатами скрининга соответствующее подтверждающее исследование и диагностику.

Медицинский персонал, осуществляющий последующее наблюдение, должен тесно сотрудничать со специалистами по генетике, чтобы определить, какие рекомендации (например, повторное исследование, консультация) должны быть предоставлены медицинскому учреждению в момент получения аномальных результатов. Тип и срочность подтверждающего исследования могут зависеть от конкретного положительного результата, а также от предполагаемого заболевания (заболеваний).

УДК 579.61:006.354 ОКС 11.100.99

Ключевые слова: скрининг, исследование, неонатальный, новорожденные, требования, тандемная масс-спектрометрия, наследственные болезни обмена веществ

Редактор *Н.А. Аргунова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *С.И. Фирсова*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 28.05.2025. Подписано в печать 10.06.2025. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,77.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru