

37. К вопросу о точности определения концентрации глюкозы в плазме крови с помощью голографических сенсоров

А. В. Крайский¹, В. А. Постников², М. А. Шевченко¹

¹ Физический институт им. П. Н. Лебедева Российской академии наук, Москва, Россия

² Институт общей и неорганической химии им. Н. С. Курнакова Российской академии наук, Москва, Россия

Статья посвящена оценке случайной и систематической погрешности определения содержания глюкозы в плазме и сыворотке крови и в модельных растворах глюкозы. Объем измерительной ячейки около 3 мкл. При измерениях исследуемые растворы проходили пробоподготовку. Определение концентрации глюкозы в препаратах крови проводилась по градуировочной кривой, полученной по измерениям в модельном растворе. Прецизионность в исходном растворе получена 0,015 мМ, что составляет 0,3 % для относительной случайной погрешности, что существенно меньше минимального предела ГОСТа для электронного глюкометра и в 7 раз меньше минимального предельно допустимого значения для эталонного анализатора. Систематическая погрешность метода существенно меньше допустимой для электронных глюкометров и сопоставима с допустимой погрешностью эталонных анализаторов.

Ключевые слова: Голографические сенсоры глюкозы, Плазма крови, Сыворотка, Прецизионность, Систематическая ошибка.

Цитирование: Крайский, А. В. К вопросу о точности определения концентрации глюкозы в плазме крови с помощью голографических сенсоров / А. В. Крайский, В. А. Постников, М. А. Шевченко // HOLOEXPO 2019 : XVI международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям : Тезисы докладов. — М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2019. — С. 194–197.

Большинство применяющихся сейчас методов определения глюкозы в крови основаны на различных ферментативных методиках. К существенным недостаткам их относится неустойчивость ферментов, их стоимость и одноразовость. Этих недостатков лишены голографические сенсоры (ГС). К тому же они [1–3] просты в использовании, имеют высокую чувствительность, достаточно высокую точность и широкий спектр областей возможных применений. Они являются голограммами Денисюка, сформированными в матрице полимерного гидрогеля. В матрицу встраиваются специфические вещества, при взаимодействии которых с тестируемыми компонентами раствора изменяется набухание гидрогеля. Вследствие этого изменяется длина волны отраженного излучения тем больше, чем больше концентрация тестируемого вещества. По этому изменению либо визуально, либо с помощью спектрального прибора, либо по цифровому цветному изображению определяют концентрацию тестируемого вещества.

Цель настоящей работы — оценка случайной и систематической погрешности определения содержания глюкозы в плазме и сыворотке крови и в модельных растворах глюкозы.

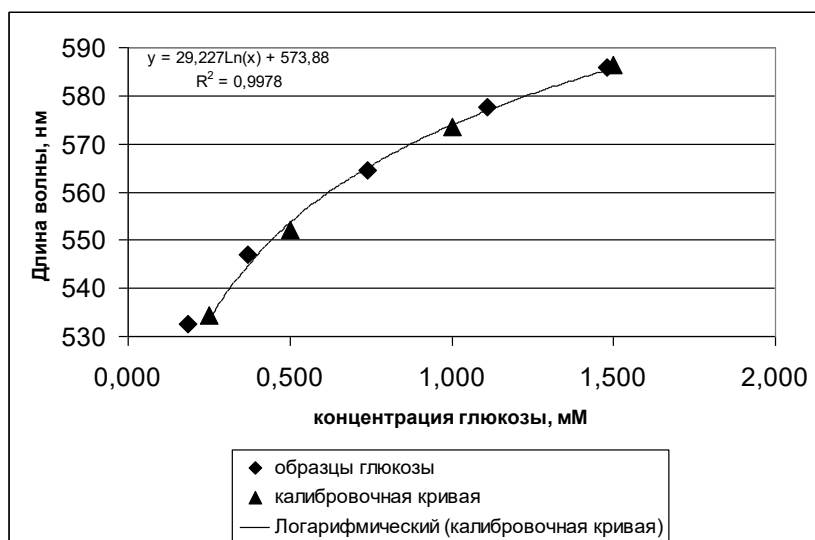


Рис. 1. Градуировочная кривая и образцы глюкозы с различной концентрацией

В работе использовалась матрица сенсора с добавлением производных аминокислотной кислоты. Поверхность сенсора размером около 2 см^2 содержит отдельные, не прикасающиеся зоны активного гидрогеля диаметром 1–3 мм.

Сенсор помещается в кювету, где к каждой зоне сенсора, находящейся в отдельной ячейке, независимо от других, по микроканалам осуществляется подвод и вывод исследуемого раствора с помощью перистальтического насоса. Объем одной ячейки — 3 мкл. Кювета с сенсором освещается параллельным пучком белого света лампы накаливания. Отраженный свет фокусируется на оптоволоконный вход спектрометра FSD-8, подключенного к компьютеру. Ширина аппаратной функции составляет 5 нм. Ширина спектра, отраженного от сенсора, находится в пределах 8–20 нм и определяется толщиной пленки, дифракционной эффективностью голографического слоя, однородностью проникновения компонентов раствора внутрь матрицы. Спектр отражения хорошо аппроксимируется функцией Гаусса [4].

Определение концентрации глюкозы в растворе проводилось по градуировочной кривой, которая строилась по измерениям в модельном растворе. В общем случае чувствительность сенсора к глюкозе носит нелинейный характер (рисунок 1) и уменьшается по мере роста концентрации глюкозы. В определенном диапазоне концентраций, зависимость отклика от концентрации может аппроксимироваться линейной функцией. Чувствительностью матрицы к глюкозе является линейный коэффициент, который зависит от ее состава, кислотности буфера. В работе при различных условиях чувствительность находилась в диапазоне 50–440 нм/мм. В настоящей работе исходный раствор проходил процедуру пробоподготовки, в процессе которой он разбавляется в несколько раз [5].

Несомненно, принципиальное значение имеет оценка точности проведенных измерений. Точность измерений характеризуется величиной случайной и систематической погрешности их результатов.

Для определения случайной погрешности, методика была следующая:

$0,3(\text{сыворотка}) + 0,7(\text{буфер}) + 0,1(\text{ВН}) + 0,25(\text{HCl}) + 4(\text{буфер})$ разведение в 17,8 раз.

Для определения систематической погрешности:

$0,5(\text{глюкоза})+0,05(\text{ВН})+0,125(\text{НСІ})+4,5(\text{буфер})$ разведение в 10,35.

Случайная составляющая погрешности измерения, прецизионность, представляет разброс результатов измерений. По ГОСТ Р ИСО 5725-1 при определении содержания глюкозы в сыворотке предельно допустимое значение случайной погрешности — 2,23–8 %. Предельно допустимое значение систематической погрешности — 1,97–6,80 %.

По международному стандарту ISO15197-2013 для электронных глюкометров, при содержании глюкозы более 5,55 ммоль/л не менее 95 % результатов измерений глюкометра должны отклоняться от результатов эталонного анализатора не более, чем на 15 %, а при содержании глюкозы менее 5,55 ммоль/л — на 0,83 ммоль/л. Предел относительного стандартного отклонения измерений таких эталонных анализаторов составляет 1–2 %.

Для определения случайной составляющей погрешности измерений данного метода в работе с помощью голографического сенсора записывались спектры отражения в стационарных условиях с интервалом 30 сек. Длины волн их максимумов измерялись двумя способами — во-первых, вручную оператором и, во-вторых, по вычисленным параметрам аппроксимирующей функции. Затем по полученным данным вычислялось стандартное отклонение. В [6] при чувствительности матрицы к глюкозе 58,14 нм/мМ стандартное отклонение (СО) для 10 измерений обоими методами составило 0,05 нм. Ясно, что прецизионностью определения глюкозы в разведенном растворе является отношение величины СО к чувствительности, которое составляет 0,86 мкМ. Произведение ее и степени разведения (17,8) дает параметр прецизионности в исходном растворе — 0,015 мМ, что составляет 0,3 % для относительной случайной погрешности. Следовательно, случайная ошибка метода существенно меньше минимального допустимого предела для электронного глюкометра по ГОСТ и в 7 раз меньше минимального предельно допустимого значения для эталонного анализатора. Отметим, что СО в нашем эксперименте является характеристикой регистрирующей части установки и не зависит от чувствительности сенсора. Поэтому при максимальной чувствительности наших сенсоров, которая составляла 440 нм/мМ, СО для глюкозы уменьшится в 7,6 раза и прецизионность определения глюкозы в исследуемом растворе составит 0,11 мкМ.

Определение систематической погрешности проводилось в модельном растворе: в фосфатном буфере с рН 7,4, содержащем 0,15 мМ NaCl. Образцы с известным содержанием глюкозы в диапазоне от 5 мМ до 20 мМ проходили пробоподготовку, полностью переводившую глюкозу в сорбитол. Затем этот образец разводился в фосфатном буфере с рН 7,4, содержащем 0,15 мМ NaCl. Концентрации глюкозы понижались в 10 раз и раствор пропусклся через сенсор. Так получались длины волн для всех концентраций образцов. Также пропусклся калибровочный раствор. Его концентрационная зависимость длины волны аппроксимировалась логарифмической функцией. По этой калибровочной кривой определялись концентрации исследуемых образцов и систематическая погрешность измерений. Ее среднее значение на всем диапазоне исследуемых концентраций составило 3 %. По поведению кривых на рисунке

видно, что СО невелико. Мы считаем, что видимая систематическая ошибка связана с малыми объемами растворов при разведении. Эта характеристика может быть улучшена путем увеличения объемов, использованных в процессе пробоподготовки растворов.

Таким образом, полученный в эксперименте случайный разброс, или прецизионность голографического метода при определении содержания глюкозы в сыворотке крови в 7 раз меньше минимальных предельно допустимых значений этого параметра по стандартам для лабораторных исследований. При максимальной полученной нами чувствительности, данная величина может быть улучшена еще в 7 раз. Систематическая погрешность метода при небольших объемах растворов, использовавшихся при разведении, более чем в 1,5 раза превышает максимальное предельно допустимое значение этого параметра для лабораторных исследований и эталонных анализаторов и в 5 раз меньше допустимой погрешности для глюкометров.

Список источников

- [1] **Millington, R. B.** Holographic sensor for Proteases / R. B. Millington et al. // *Anal. Chem.* — 1995. — Vol. 67. — P. 4229–4233.
- [2] **Крайский, А. В.** Голографические сенсоры для диагностики компонентов растворов / А. В. Крайский, В. А. Постников, В. В. Денискин, Т. Т. Султанов, Т. В. Миронова // *Квантовая электроника.* — 2010 — Том 40. — № 2. — С. 178–82.
- [3] **Postnikov, V. A.** Holographic Sensors for Detection of Components in Water Solutions / V. A. Postnikov, A. V. Kraiskii, V. I. Sergienko // *Holography — Basic Principles and Contemporary Applications.* Dr. Emilia Mihaylova (Ed.) — 2013. — ISBN: 978-953-51-1117-7. — InTech. — P. 103–128. — DOI:10.5772/53564.
- [4] **Крайский, А. А.** Определение параметров голографического слоя по его спектральным характеристикам / А. А. Крайский, А. В. Крайский // *Квант. Электроника.* — 2016. — Том 46. — № 6. — С. 558–566.
- [5] **Kraiski, A. A.** Determination of the parameters of a holographic layer by its spectral characteristic / A. A. Kraiski, A. V. Kraiskii // *Quantum Electron.* — 2016. — Vol. 46. — № 6. — P. 558–566. — DOI:10.1070/QEL14915.
- [6] **Постников, В. А.** Голографические сенсоры для определения глюкозы в модельных средах и сыворотке крови / Г. В. Зайцева, А. Р. Зарицкий, М. М. Кириченко, М. А. Краснова, А. В. Крайский, В. А. Постников, М. А. Шевченко // *Известия ВУЗ'ов ФИЗИКА.* — 2015 — Том 58. — № 11/3. — С. 58–60.
- [7] **Зайцева, Г. В.** Эффекты уменьшения концентрации глюкозы в плазме крови после насыщения крови кислородом / В. А. Постников, В. Е. Тихонов, А. В. Крайский, М. А. Шевченко, В. И. Сергиенко // *Краткие сообщения по физике ФИАН.* — 2017 — № 6. — С. 3–8.