

Parametry metod automatické analýzy

Parametry definují analytickou metodu.

Zadávají se do automatických analyzátorů

takto:

- ruční zadání jednotlivých parametrů (ustupuje, možnost chyby)
- kompletní aplikace od výrobce – instalace z diskety, čárovým kódem nebo přes web, možnost úpravy pouze u některých parametrů

Minimální reakční objem:

- významná charakteristika analyzátoru
- Odvíjí se od něj cena za analýzu jednoho testu (100 – 180 ul - pro R1 činidlo)
- Některé stroje reagentie předředují. Pracují pak s menším objemem a minimálními náklady (Avia 1650, Siemens)

Minimální pipetovací objem – 2 ul:

- Minimální objem se týká vzorku, kontrolních a kalibračních materiálů
- Reagentie jsou pipetovány proti vzorku většinou minimálně v desetinásobném nadbytku
- Při potřebě provést analýzu z menšího objemu vzorku (ředění) se vzorek předředí

Příklady parametrů používaných u automatické analýzy:

Analyzátor na klinickou chemii:

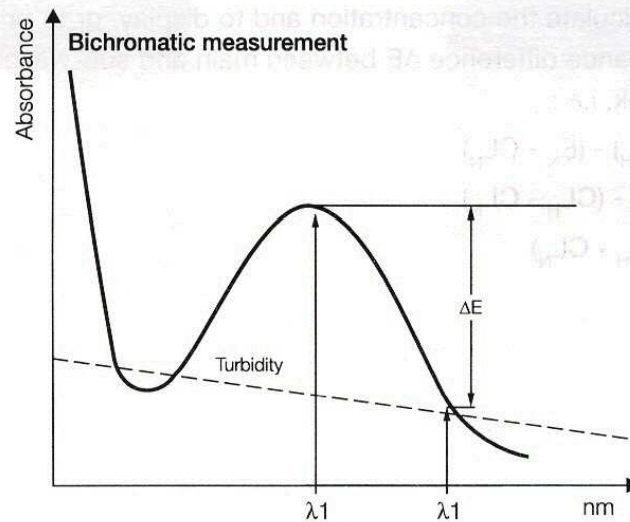
- **Minimální reakční objem: 180 μ l**
- **Objem vzorku: 2 – 35 μ l**
- **Vlnové délky: 340, 376, 415, 450, 480, 505, 546, 570, 600, 660, 700, 800 nm**
- **Reakční teplota: 37°C**
- **Reakční čas: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 minut**

Stanovení ISE:

- **Metody: Na, K, Cl**
- **Objem vzorku: 15 μ l**
- **Objem diluentu:: 450ul/vzorek**
- **Ředění: 1 : 31**
- **Objem vnitřního standardu: 1050 ul/vzorek**
- **Referenční roztok: 130 ul/vzorek**

Vlnové délky, bichromatické měření:

Všechny testy pro klinickou chemii jsou v současné době měřeny simultánně při dvou vlnových délkách – hlavní a vedlejší.



Bichromatické měření

Koncentrace se počítá z rozdílu absorbance obou měření.

Výhodné, neboť kompenzuje :

- variace světelné emise fotometru
- citlivost fotodiod
- bublinky nebo částičky v cestě světla

Hlavní vlnová délka je dána absorpčním maximem reakce

Vedlejší vlnová délka je zvolena tak, aby

- rozdíl absorbancí mezi hlavní a vedlejší λ byl co největší
- současně co nejbliže k hlavní λ

Na analyzátorech bývá běžně možnost využívat pro různé metody 12 vlnových délek

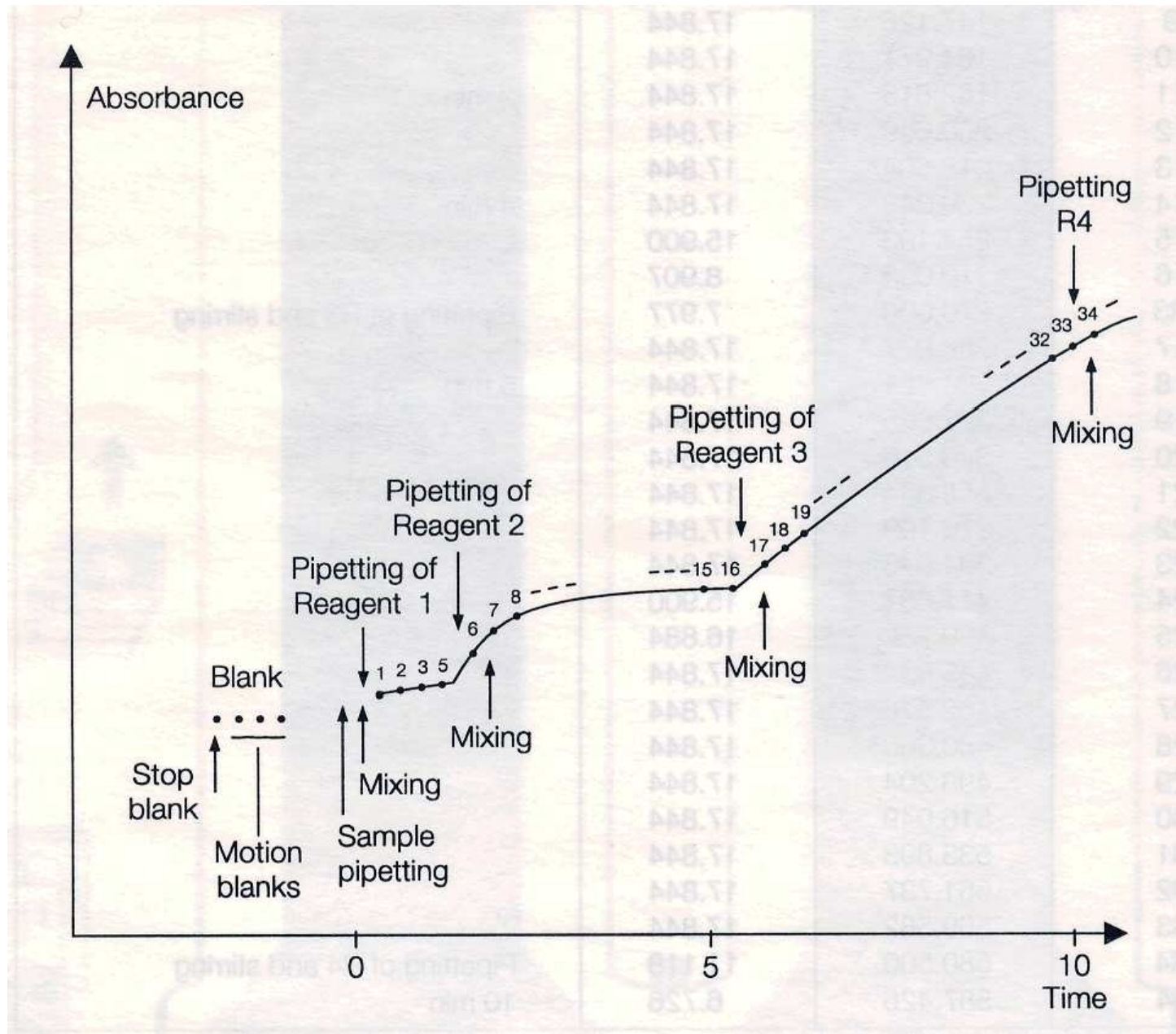
Pořadí přidávání reakčních komponent:

Existují dva typy pipetování

- 1. Nejdříve se pipetuje vzorek (jehla se musí dotknout dna) a potom činidlo - př. analyzátory řady Hitachi, Roche
- 2. Nejprve se pipetuje činidlo (výplach jehly vodou), potom vzorek – př. analyzátory Integra, Roche
- V obou případech jsou jednoreagenční metody označovány jako „Sample start“ a dvoureagenční jako „Substrate start“

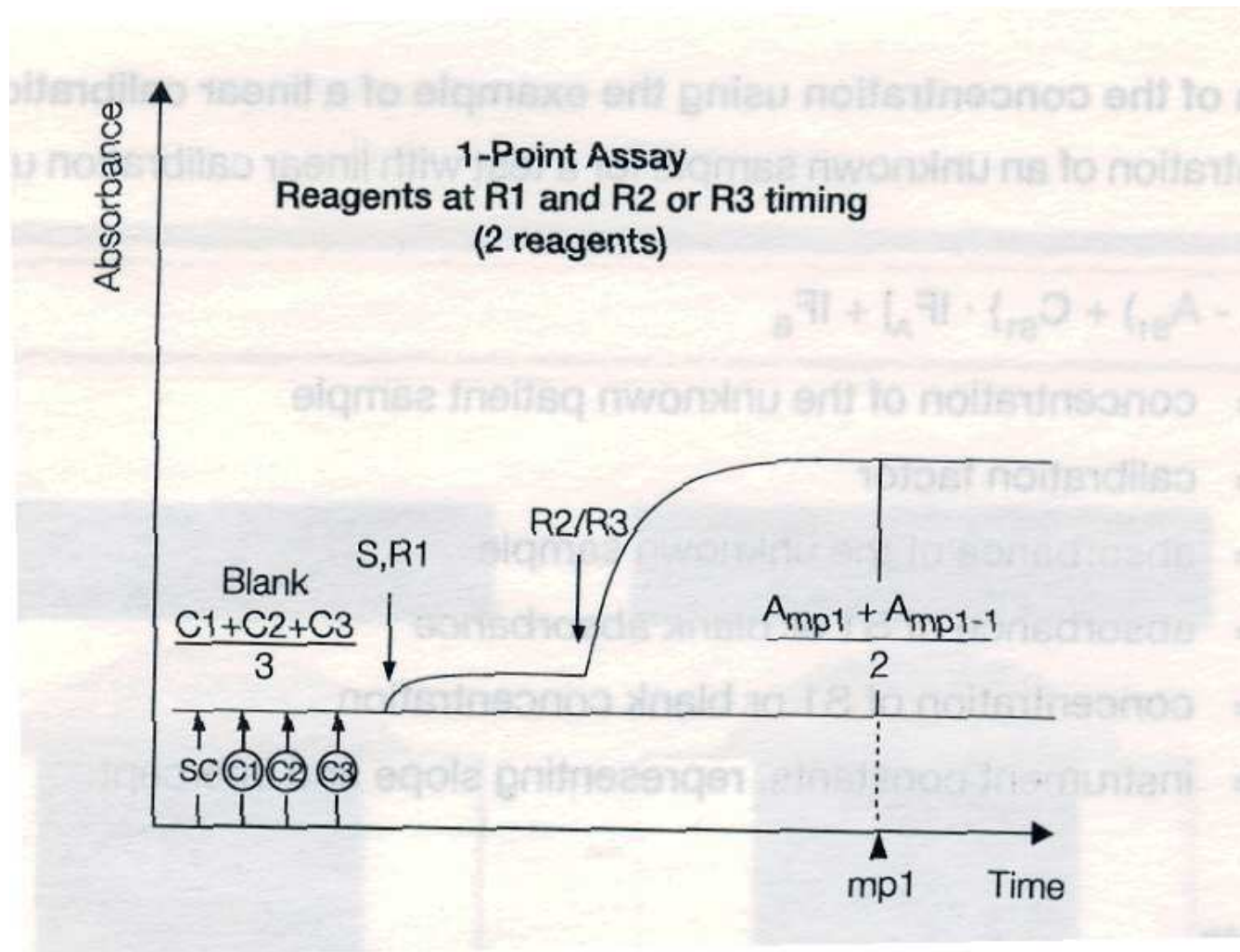
Měřící body reakce:

- Absorbance reakčních roztoků v kyvetě je periodicky měřena po každém cyklu přístroje (kolem 20s) během reakčního času (3 – 10 minut)
- Přístroje jsou schopny přidávat vzorky a činidla v určité fázi reakčního času dle typu prováděné reakce
- Přesná specifikace měřícím bodem

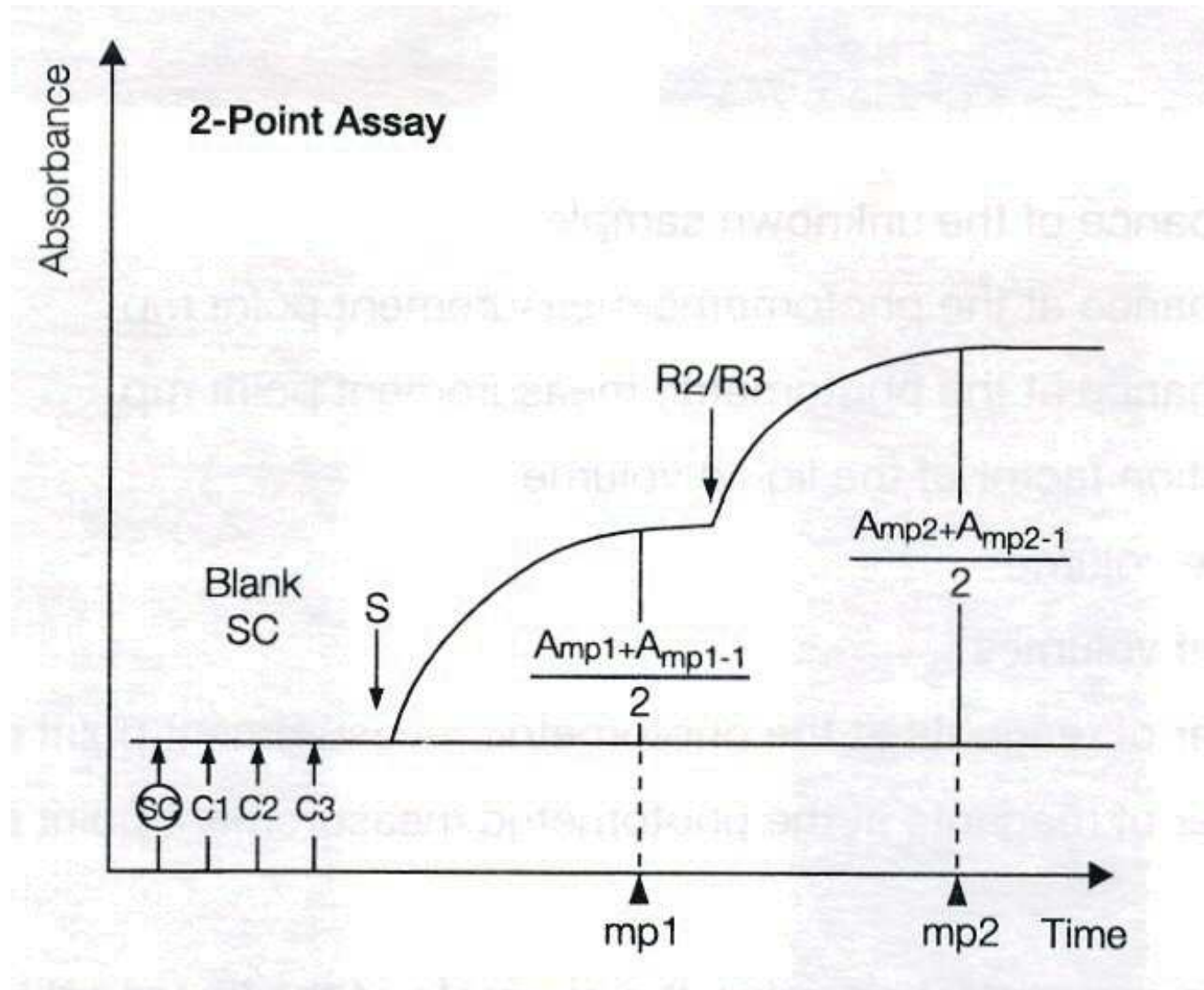


Typy měření:

End point – jednobodové (měří se absorbance na konci reakce)



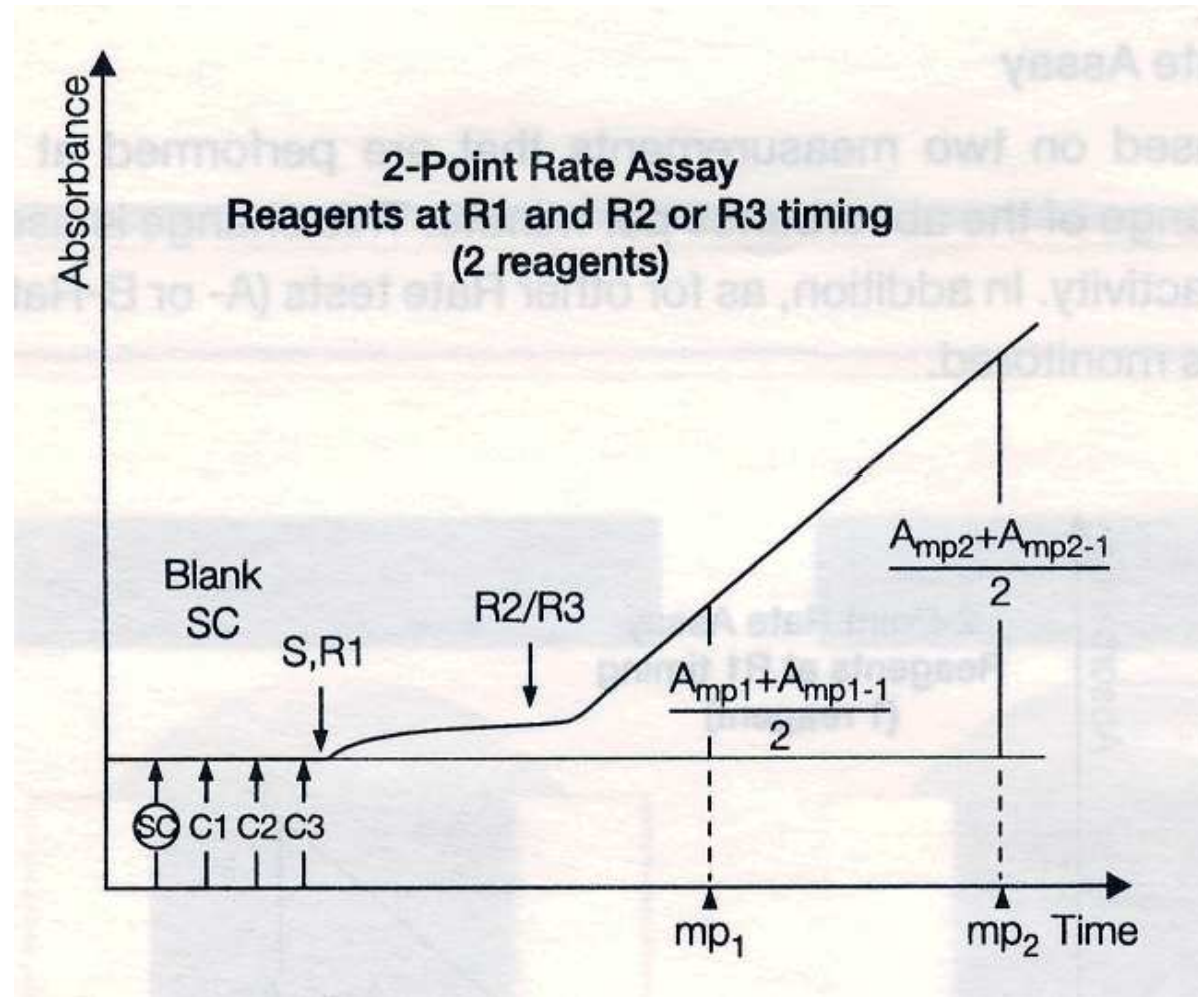
End point - dvojbodové (blank + konec reakce)



End point - tříbodové (např. pro ISE)

Kinetické (rate) – měří se změna absorbance za časovou jednotku

Při reakci dochází k nárůstu (stanovení CK) či poklesu absorbance (stanovení ALT, AST)



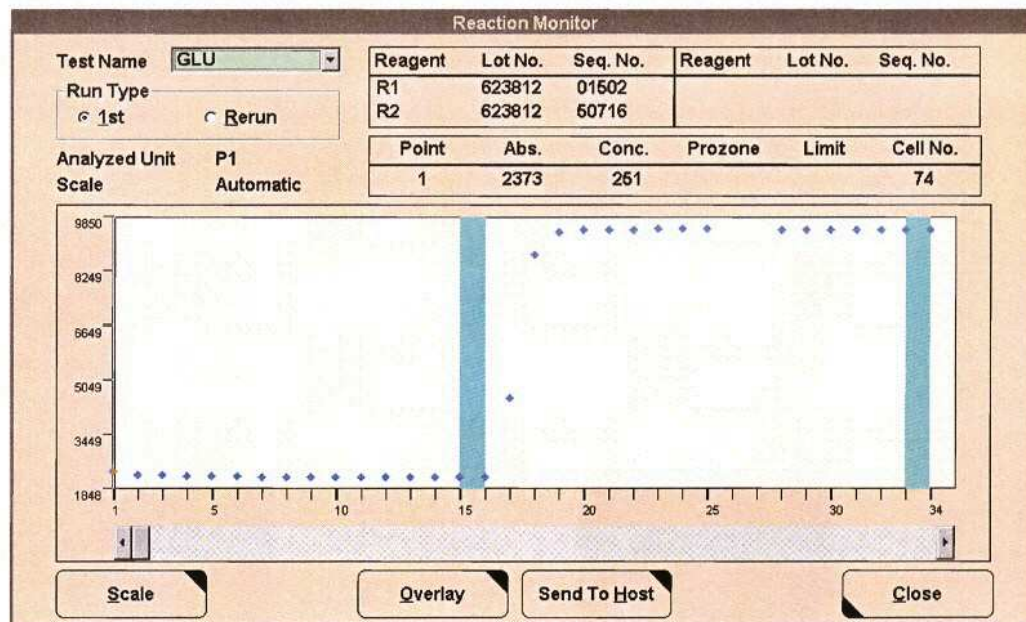


Figure G-88 Reaction Monitor window (P module)

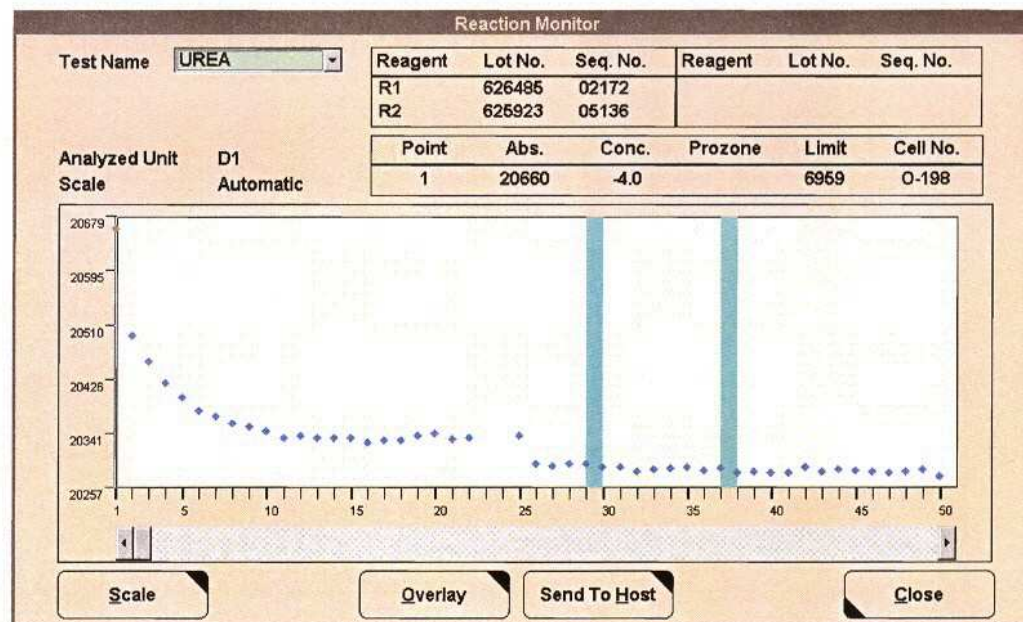
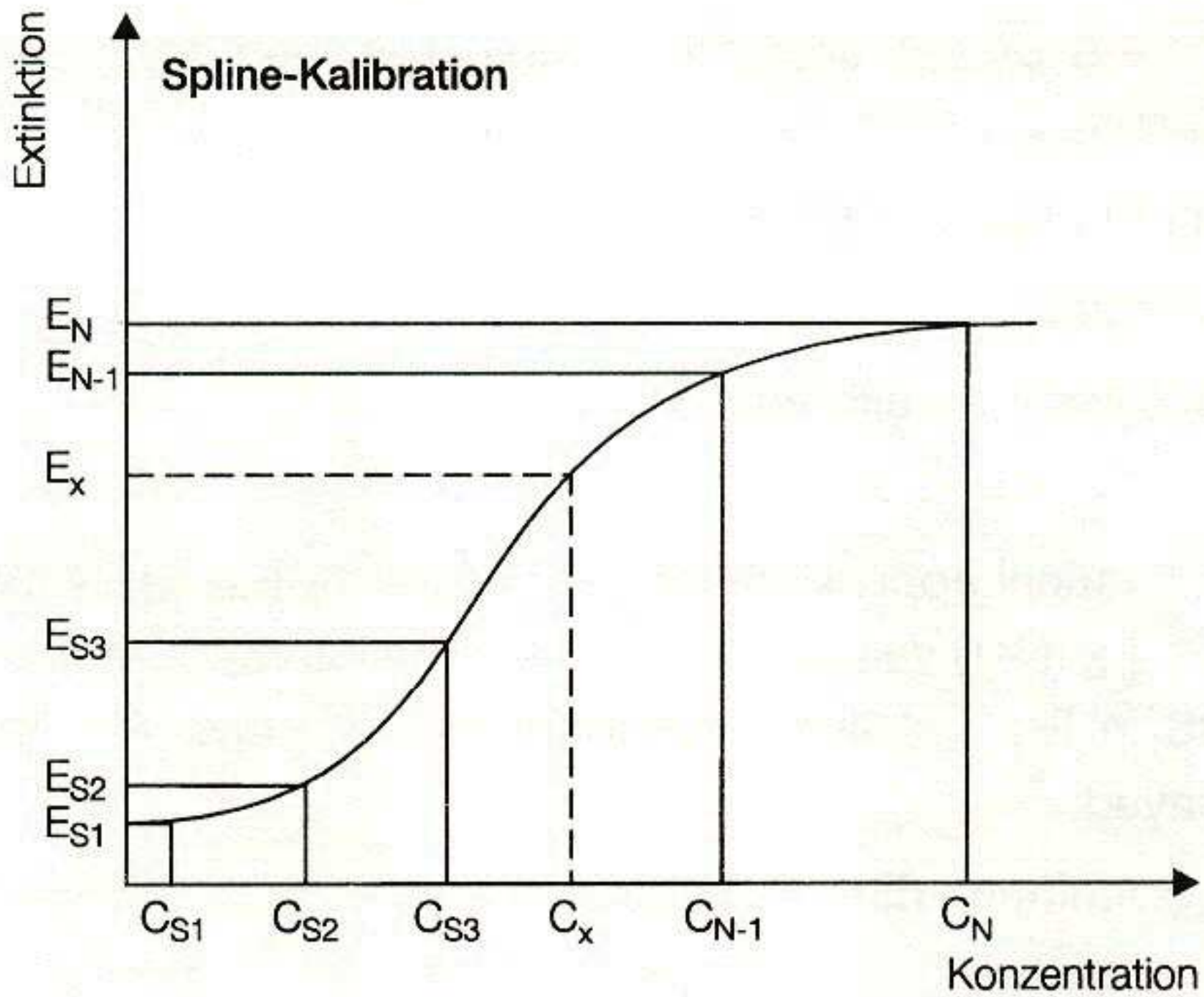


Figure G-89 Reaction Monitor window (D module)

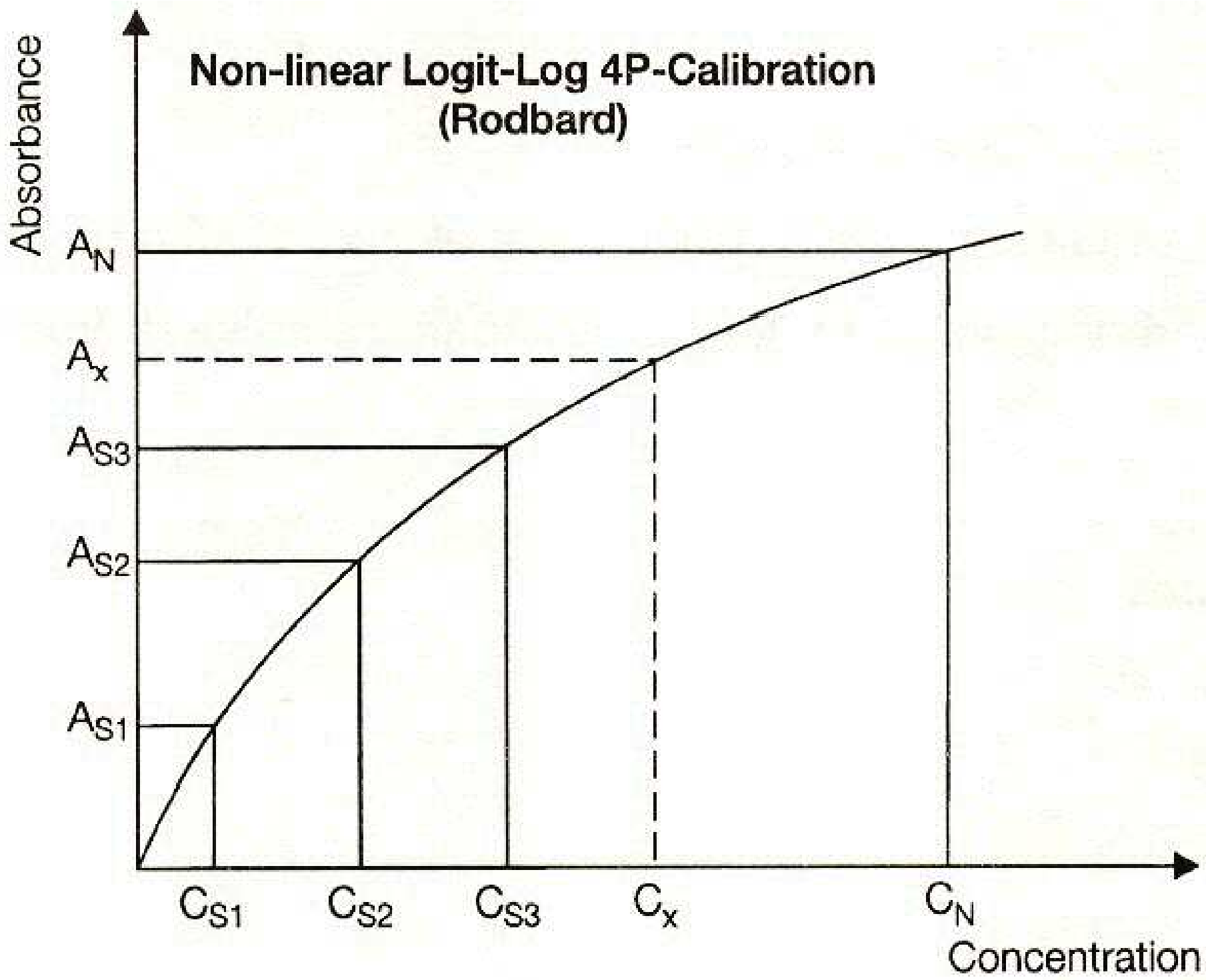
Způsoby kalibrace:

Automatické analyzátory umožňují např. tyto typy kalibrace:

- Lineární dvoubodovou
- Nelineární Logit-log 3P
- Nelineární Logit-log 4P
- Nelineární Logit-log 5P
- Nelineární exponenciální
- Nelineární Spline
- Isoenzym P
- Isoenzym Q
- Nelineární Point to Point
- ISE (tříbodová)



Non-linear Logit-Log 4P-Calibration (Rodbard)



Workplace

Reagent

Calibration

QC

Utility

System

Maintenance

Application

Calc. Test

Special Wash

Report Format

Module Set

Test		
	D Ser/PI	
3	CHOL	P Ser/PI
4	GLU	P Ser/PI
	Urine	
	CSF	
	D Ser/PI	
6	LDH	P Ser/PI
	D Ser/PI	
6	MG	P Ser/PI
	Urine	
7	S.I.	P Ser/PI
8	TG	P Ser/PI
	D Ser/PI	
9	UREA	P Ser/PI
	Urine	
	D Ser/PI	
10	OPI3Q	P Urine
11	IGG	P Ser/PI
12	ALB	P Ser/PI

Analyze

Calib.

Range

Others

Calibration Type

Linear

Point

2

Span

2

Weight

0

Update Type

None

Isozyme Q Channel

Cancel

Auto Calibration

Timeout

Blank

1

Span

1

2 Point

2

Full

1

Changeover

Module

Cancel

Lot

Cancel

Bottle

Cancel

SD Limit

0.1

Duplicate Limit

5

%

20

Abs.

Sensitivity Limit

-1.6

-0.9

S1 Abs. Limit

-32000

32000

Auto Masking

Save

Delete

Read Barsheet

Help

Select the test from the list box.



Start

NUM

Figure G-286 Calib sub-screen (Photometric Test)

Touch the Status tab on the Calibration screen to display the Status screen.

Host Core ISE D1 P1 E1 Stand By admin 02/01/28 (Mon) 22 30

Workplace Reagent Calibration QC Utility

Status Calibrator Install

Module: All Remaining Time: 20

Module	Test	Calb. method	Cause
D1	ALT	2 Point	Timeout
D1	LDH		
D1	AST		
D1	UREA		
D1	GLU		
P1	1-1 CHOL	Blank	Calib Now
P1	1-2 GLU	2 Point	Timeout
P1	1-3 GLU	2 Point	Calib Now
P1	1-5 CHOL	Blank	Calib Now
P1	1-6 GLU	2 Point	Calib Now
P1	1-7 S.I.		
P1	1-8 OPI3Q		
P1	1-9 LDH	2 Point	Timeout
P1	1-12 MG	2 Point	Timeout

Method: Blank, 2 Point, Full, Span

Buttons: Start Up, Blank, 2 Point, Full, Span, Reject, Release, Calib Trace, Calibration Result, Reaction Monitor, Instrument Factor, Start Up Setting, Save, Print, Alarm, S. Stop, Logoff, Stop

Help: Select the module from the list box.

NUM

Figure G-92 Status screen

Workplace Reagent Calibration QC Utility

System Maintenance Application Calc. Test Special Wash Report Format Module Set

Analyze Calib. Range Others

Test

- D Ser/PI
- 3 CHOL P Ser/PI
- 4 GLU P Ser/PI
- Urine
- CSF
- D Ser/PI
- 5 LDH P Ser/PI
- D Ser/PI
- 6 MG P Ser/PI
- Urine
- 7 S.I. P Ser/PI
- 8 TG P Ser/PI
- D Ser/PI
- 9 UREA P Ser/PI
- Urine
- D Ser/PI
- 10 OPI3Q P Urine
- 11 IGG P Ser/PI
- 12 ALB P Ser/PI

Standards

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Calibrator Code	501	401	0	0	0	0
Concentration	0.0	470				
Rack No. - Pos.	S0002-1	S0002-2				
Sample Volume	5.0	5.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Diluted S. Volume	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Diluent Volume	0	0	0	0	0	0

Save

Delete Read Barsheet

? Help Select the test from the list box.

Stop

Logoff

S. Stop

Alarm

Print

Start

NUM

Figure G-288 Others sub-screen

Calibration Result (Photometry)

Calibration Type Linear	Reagent R1	Lot No. 624528	Seq. No. 34560	Position 1-1
-----------------------------------	----------------------	--------------------------	--------------------------	------------------------

Test	Module	S1 Abs.	K	A	B	C	L	H	I
ALT	D1	-2	-56477						
ALT	P1	4	-54500						
CHOL	P1	1436	5590						
CHOL	P1	1427	5547						
GLU	D1	28	323						
GLU	P1	28	325						
GLU	P1	11	329						

S1 Abs.	K
1436	5590

Cancel

Working Information

Update

OK

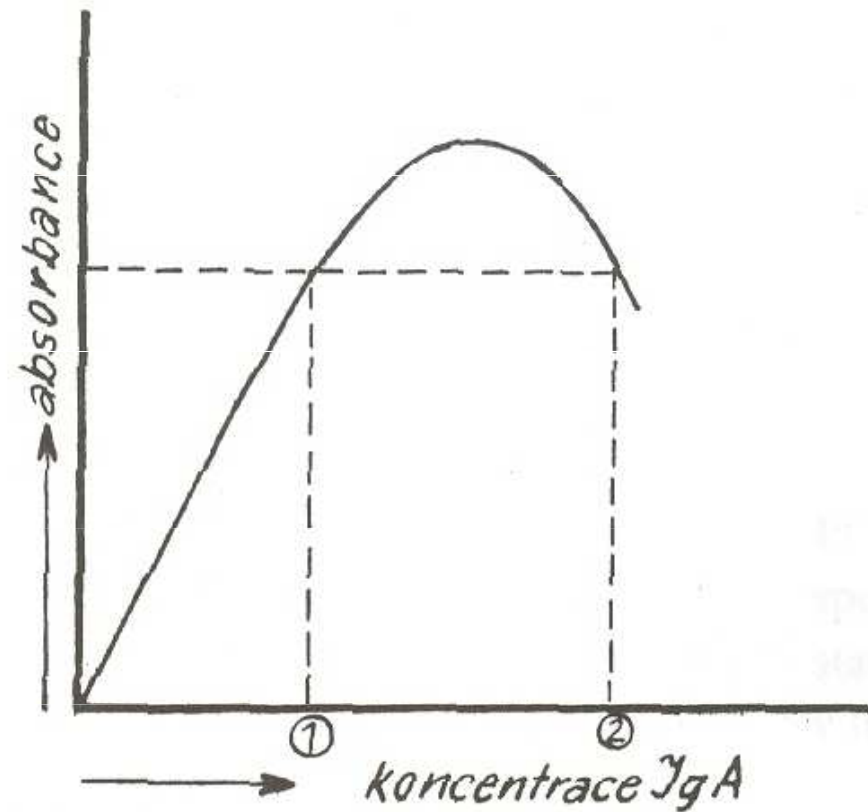
Figure G-269 Calibration Result (Photometry) window

Ověření integrity výsledku:

- Aby se zabránilo vydání nesprávného výsledku při extrémní koncentraci, analyzátory automaticky provádí zkoušky na ověření správnosti výsledku
- Není-li výsledek po technické stránce v pořádku, je označen chybovým hlášením a ve většině případů automaticky naředěn
- Používají se následující zkoušky: Test detekující Hook efekt , test na linearitu, test na dodržení absorbančního limitu

Test detekující Hook efekt

- při nadbytku antigenu u imunoturbidimetrických stanovení (Prozone Check)
- koncentrace antigenu je tak vysoká, že dochází k rozpouštění precipitátu



Test detekující Hook efekt

- Objevuje se u imunoturbidimetrických stanovení
- Koncentrace ve vzorku vysoká
- Leží na pravé straně Heidelbergovi křivky
- Chybně stanovená nízká koncentrace měřením absorbance je s využitím Prozone Check detekována a označena chybovým hlášením
- Stanovení je pak znovu provedeno z menšího objemu nebo z naředěného vzorku
- Prozone Check je nejčastěji proveden následovně: Po skončení reakce se stoupající směrnici absorbance je přidán další definovaný objem antigenu. Absorbance je měřena před i po přidání antigenu (viz 1-Point Assay)

Test na linearitu

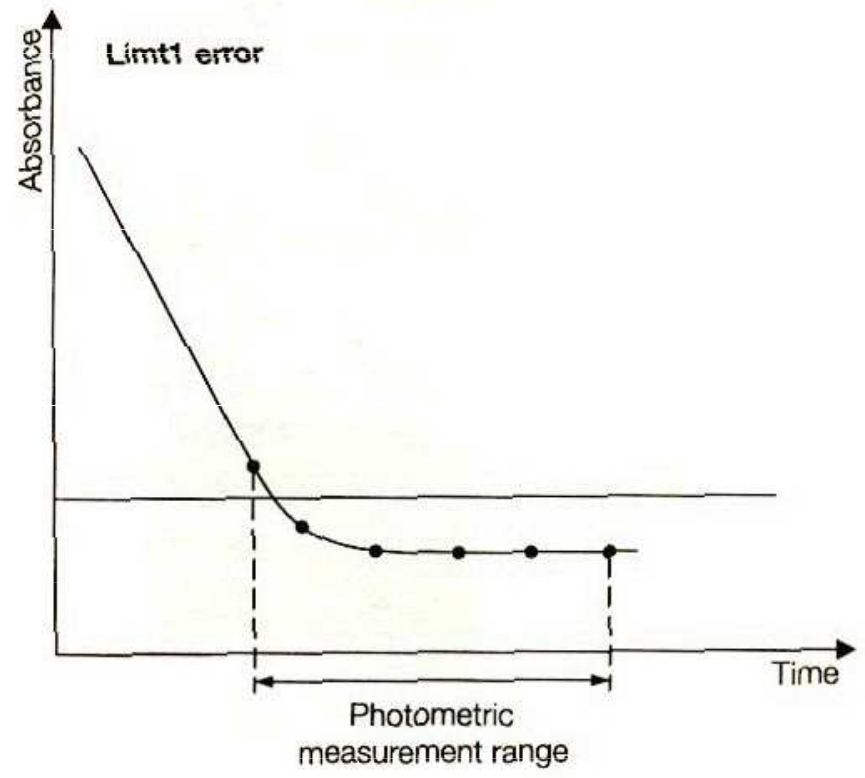
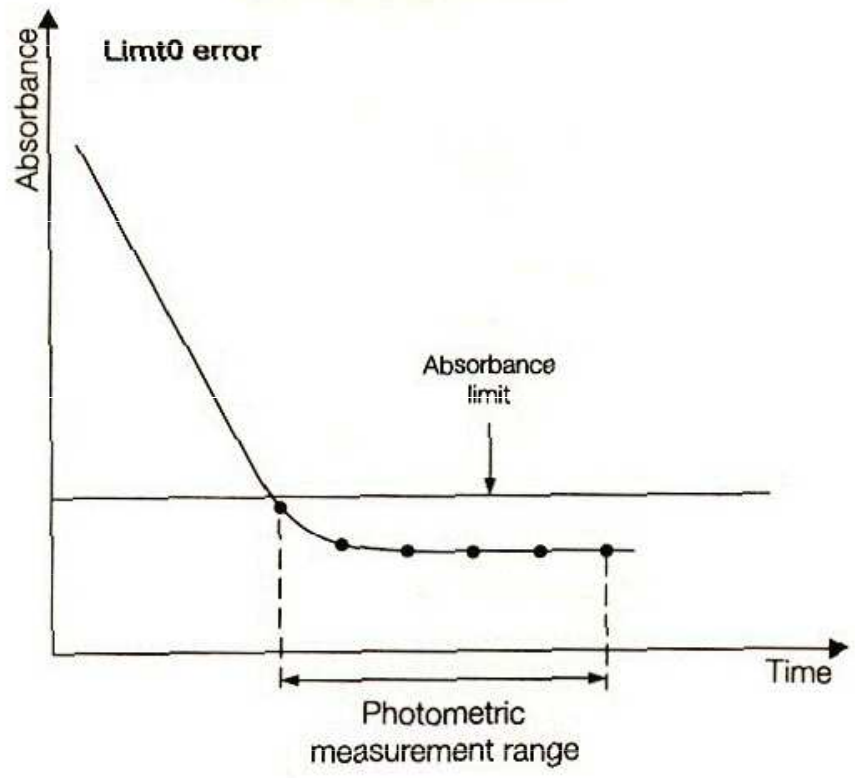
- Je prováděn automaticky u všech kinetických metod
- Linearita je kontrolována pomocí lineární regresní analýzy. Není-li splněna, vzorek je označen chybovým hlášením (př. Lin.)

Test na dodržení absorbančního limitu

- Naměřená absorbance vzorku je tak vysoká, že nelze zajistit spolehlivé výsledky
- U vzorků se objeví chybové hlášení (př. Lim 1) a musí se ředit
- Integrita výsledku je zajištěna nastavením absorbančního limitu

Test na kontrolu vyčerpání substrátu

- Uplatňuje se absorpční limit i kontrola linearity
- Není-li reakce lineární, do výpočtu jsou zahrnuty pouze body z lineární oblasti



Workplace		Reagent		Calibration		QC		Utility					
System		Maintenance		Application		Calc. Test		Special Wash		Report Format		Module Set	
Test		Analyze		Calib.		Range		Others					
Urine		Assay/Time/Point		2 Point Rate		10		20		25		0 0	
CSF		Wavelength (2nd/Primary)		700		340							
D Ser/PI		Sample Volume						Reagent Volume					
5 LDH P Ser/PI		Normal		3.0		0.0		0		R1		190 0 418 28 Timing	
D Ser/PI		Decrease		2.0		0.0		0		R2		0 0 418 0 T2	
6 MG P Ser/PI		Increase		6.0		0.0		0		R3		110 0 418 28 T3	
Urine		Diluent								R4		0 0 418 0	
7 S.I. P Ser/PI		Water											
8 TG P Ser/PI		Diluent		418		0							
D Ser/PI		Abs. Limit		6500		Decrease							
9 UREA P Ser/PI		Prozone Limit		0		0 0 0 0		Lower					
Urine		Cell Detergent		Detergent 1									
D Ser/PI		Twin Test		Cancel						Barsheet Version 1		Save	
10 OPI3Q P Urine													
11 IGG P Ser/PI													
12 ALB P Ser/PI													
D Ser/PI													
87 Na Ser/PI													
Urine													

Select the test from the list box.

Figure G-284 Analyze sub-screen (Photometric Tests)

Technický limit – výsledky, které leží mimo technický limit jsou označeny chybovým hlášením a nesmí být vydány dokud nejsou zopakovány - nejčastěji po naředění

Repeat limit – výsledky jsou technicky správně, jsou pouze mimo limit zvolený laboratoří pro opakování

Host: Cordi SE B1 P1 E1 Stand By admin 02/01/29 (Tue) 21 48

Workplace Reagent Calibration QC Utility

System Maintenance Application Calc. Test Special Wash Report Format Module Set

Test	Analyze	Calib.	Range	Others
3 CHOL P Ser/PI	Application Code 672			Expected Values
4 GLU P Ser/PI	Unit U/L			Male
Urine	Report Name Test05			99 Year -99999 999999
CSF	Data Mode Active			100 Year -99999 999999
5 LDH P Ser/PI	<input checked="" type="checkbox"/> Automatic Rerun			-99999 999999
D Ser/PI	Technical Limit 0 1200			Female
6 MG P Ser/PI	Repeat Limit -99999 999999			99 Year -99999 999999
Urine	<input type="checkbox"/> Control Interval Time 1			100 Year -99999 999999
7 S.I. P Ser/PI	<input type="checkbox"/> Qualitative			-99999 999999
8 TG P Ser/PI	(1) 0 --			Default
D Ser/PI	(2) 0 -			Sex
9 UREA P Ser/PI	(3) 0 +-			<input checked="" type="radio"/> Male <input type="radio"/> Female
Urine	(4) 0 ++			Range
D Ser/PI	(5) 0 +++			<input checked="" type="radio"/> Range 1 <input type="radio"/> Range 2 <input type="radio"/> Range 3
10 OPI3Q P Urine	(6) 0 ++++			
11 IGG P Ser/PI				
12 ALB P Ser/PI				

Save

Delete Read Barsheet

? Help Select the correct units from the list box.

NUM

Figure G-287 Range sub-screen

Možnost korekce na nespecifické výsledky

- Existuje možnost vložit korekční faktory – např. pro kreatinin, kdy se u Jaffého metody projevuje vliv reakce proteinů

Sérové indexy:

- U metod, které využívají kinetické měření, lze stanovit stupeň potenciální interference způsobené bilirubinem, hemoglobinem nebo lipémií - tzv. sérové indexy
- Test je založen na měření naředěných vzorků při různých vlnových délkách

Sérové indexy

