

# 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:**

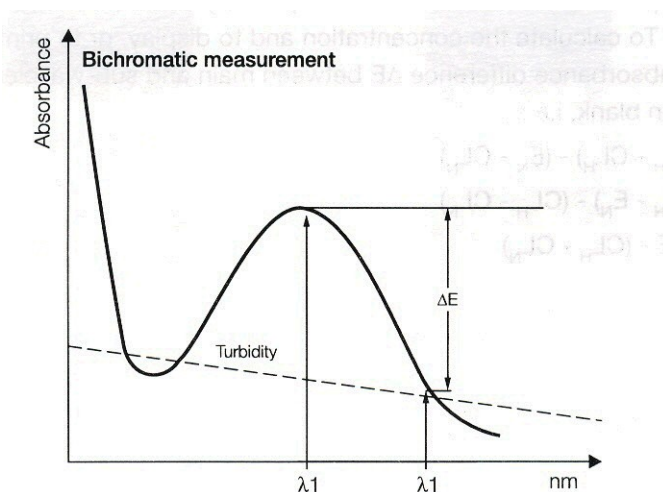
- **Minimální reakční objem: 180  $\mu$ l**
- **Objem vzorku: 2 – 35  $\mu$ l**
- **Vlnové délky: 340, 376, 415, 450, 480, 505, 546, 570, 600, 660, 700, 800 nm**
- **Reakční teplota: 37°C**
- **Reakční čas: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 minut**

## **Stanovení ISE:**

- **Metody: Na, K, Cl**
- **Objem vzorku: 15  $\mu$ 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  $\lambda$  byl co největší
- současně co nejbliže k hlavní  $\lambda$

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

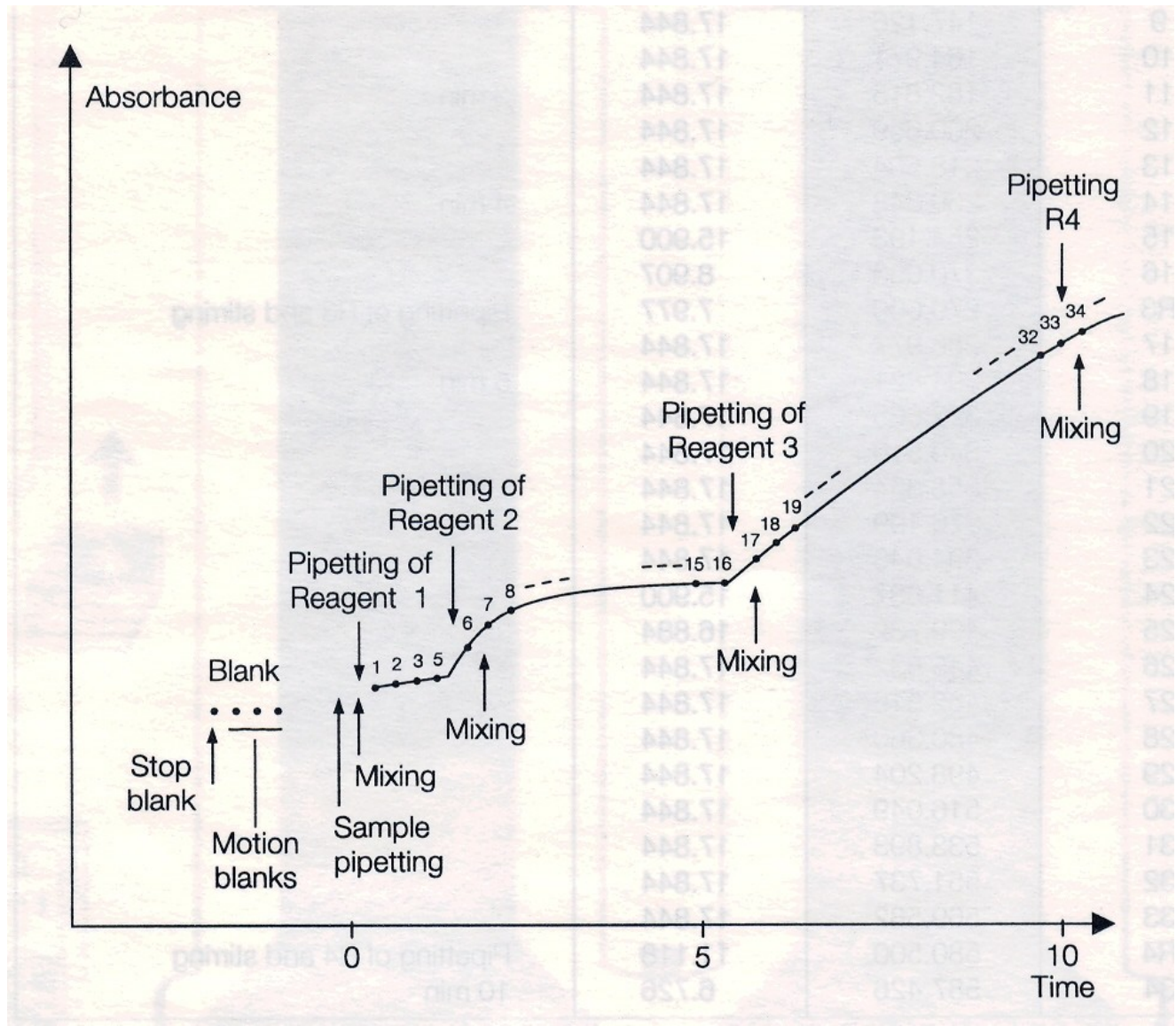
# Pořadí přidávání reakčních komponent:

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:

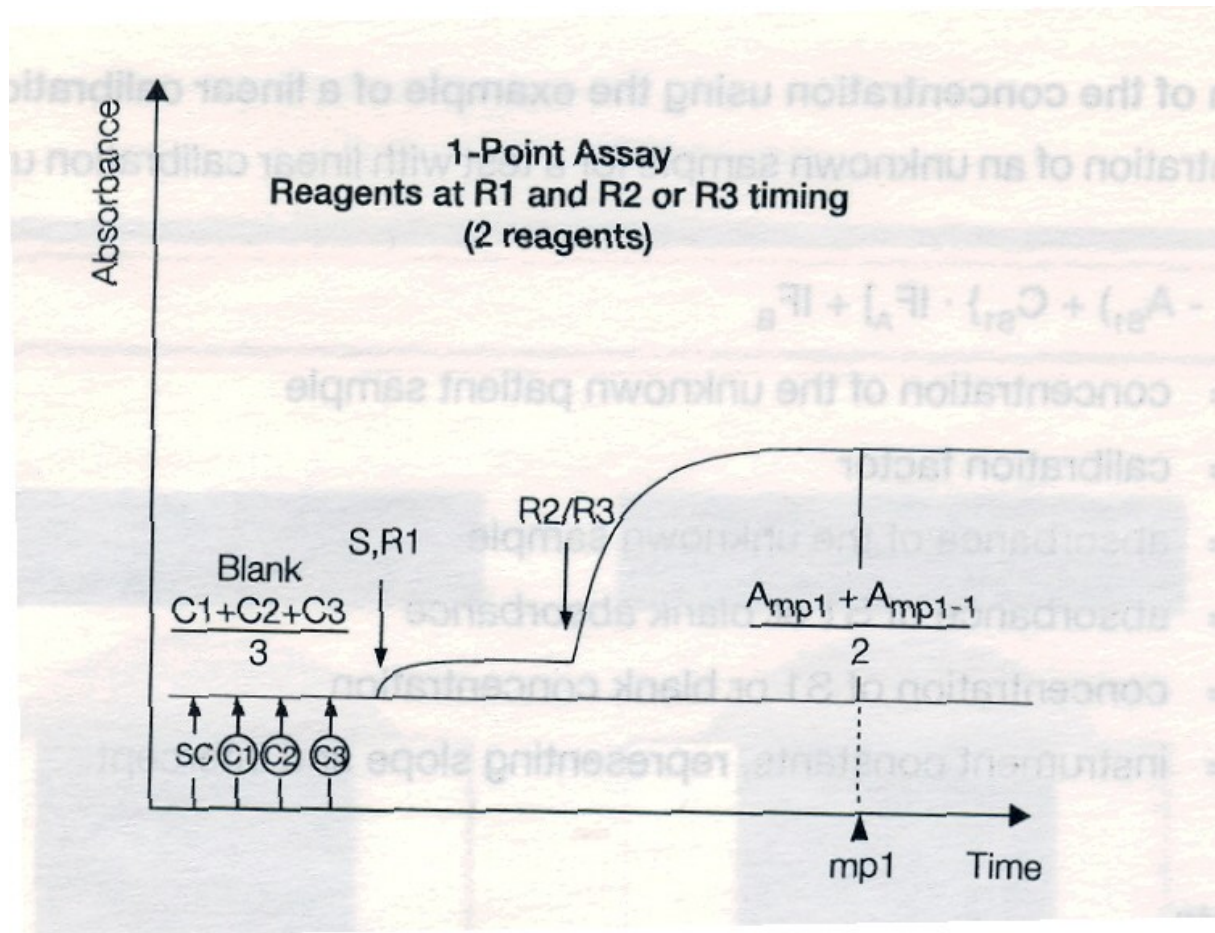
- Absorbance reakčních roztoků v kyvetě je periodicky měřena po každém cyklu přístroje (kolem 20s) během reakčního času ( 3 – 10 minut)
- Přístroje jsou schopny přidávat vzorky a činidla v určité fázi reakčního času dle typu prováděné reakce
- Přesná specifikace měřícím bodem



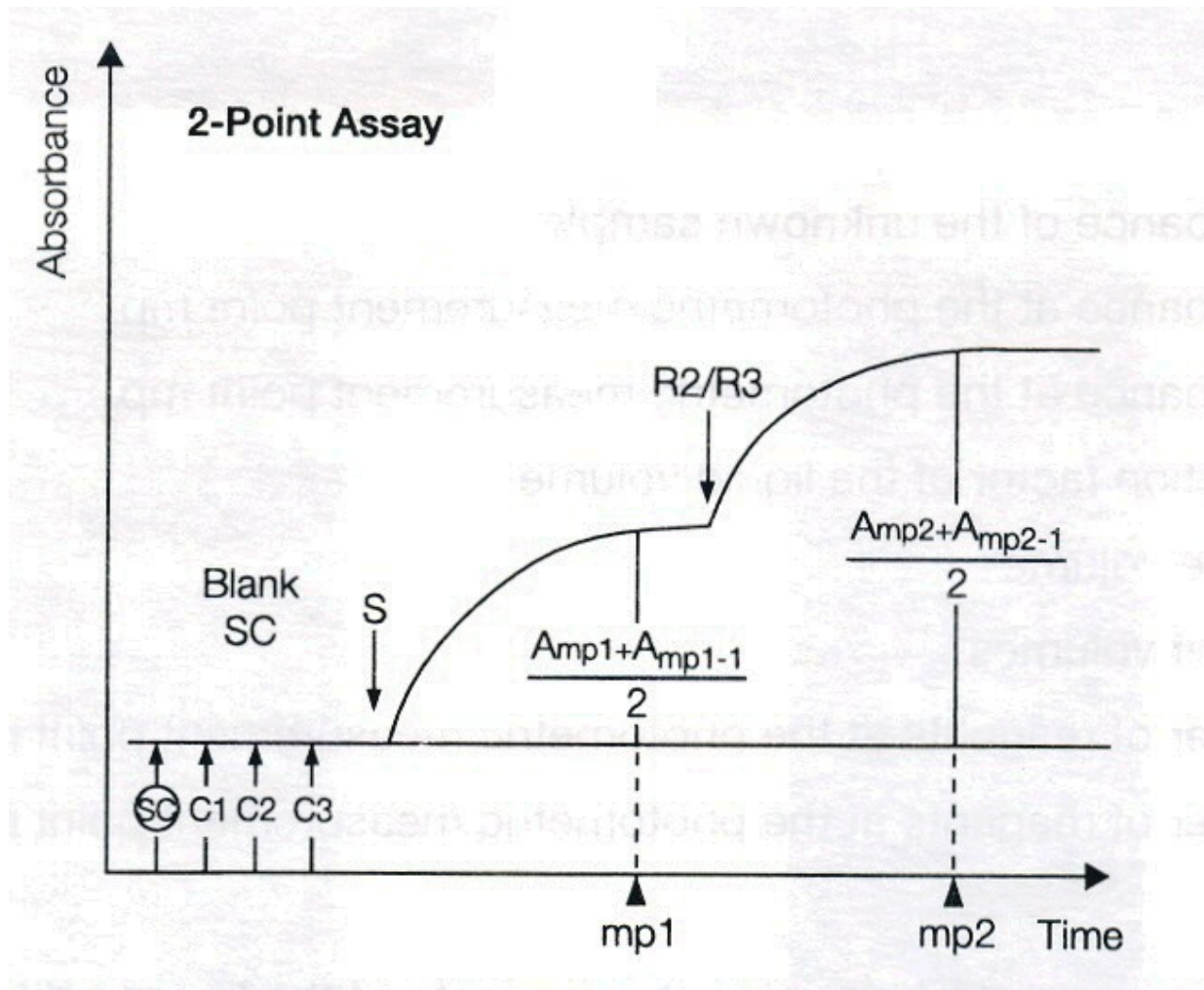


# Typy měření:

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



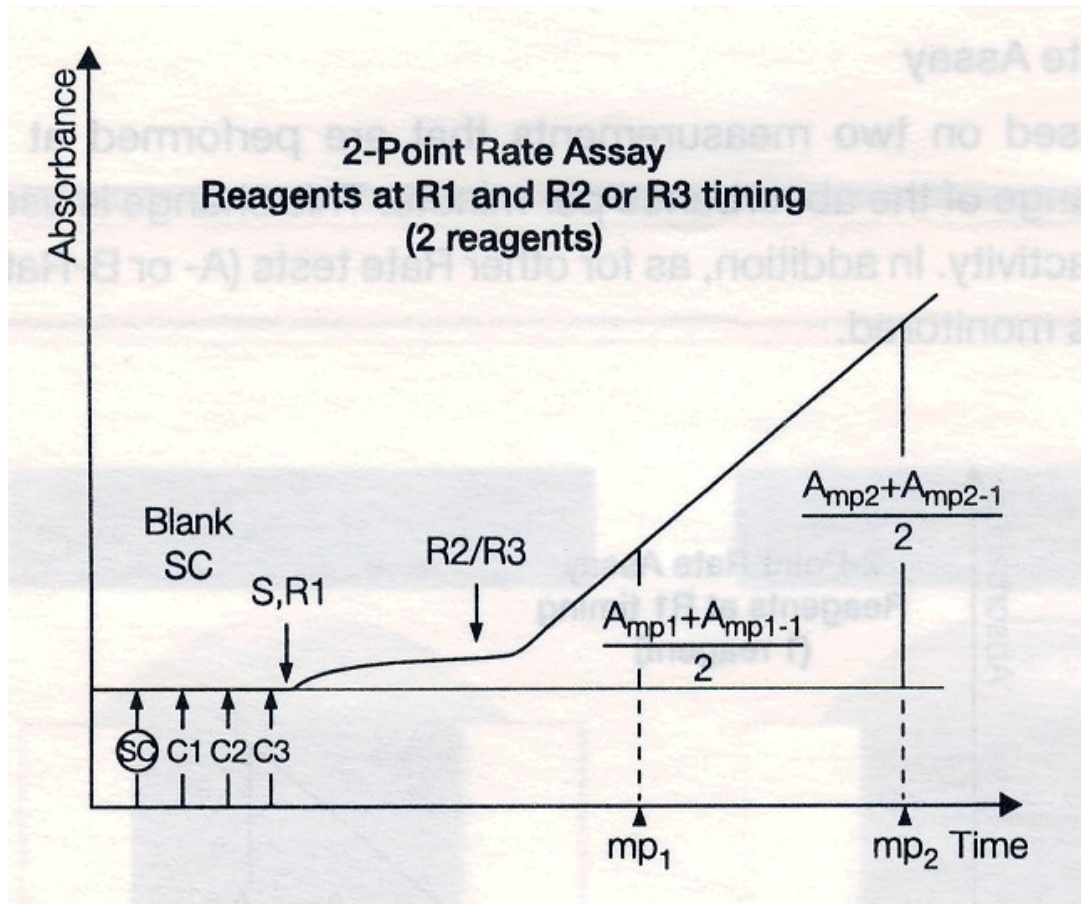
# End point - dvojbodové (blank + konec reakce)



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)



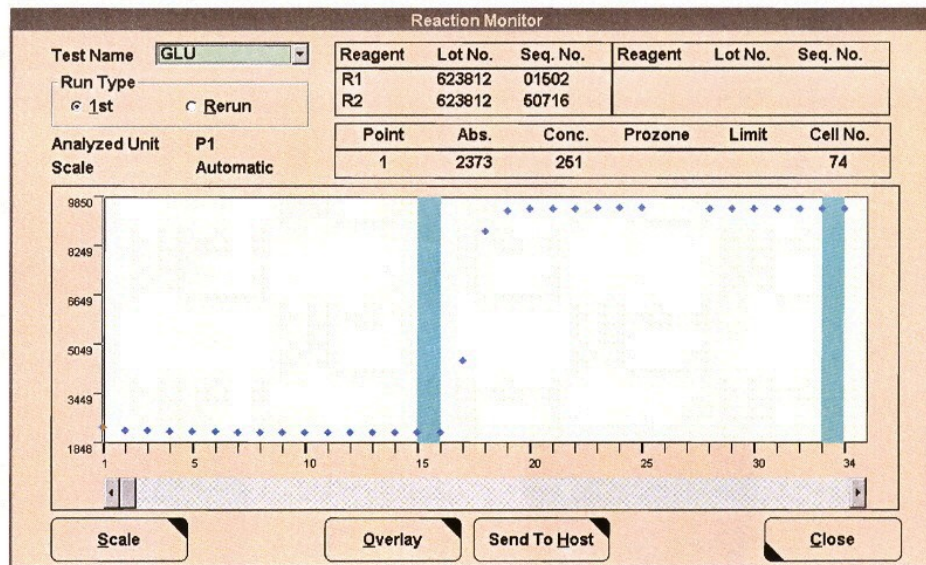


Figure G-88 Reaction Monitor window (P module)

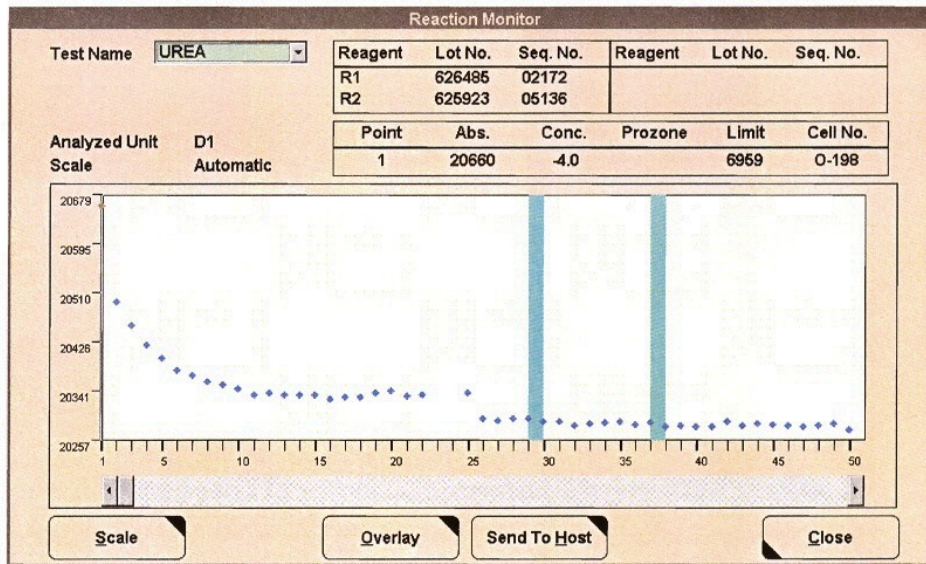
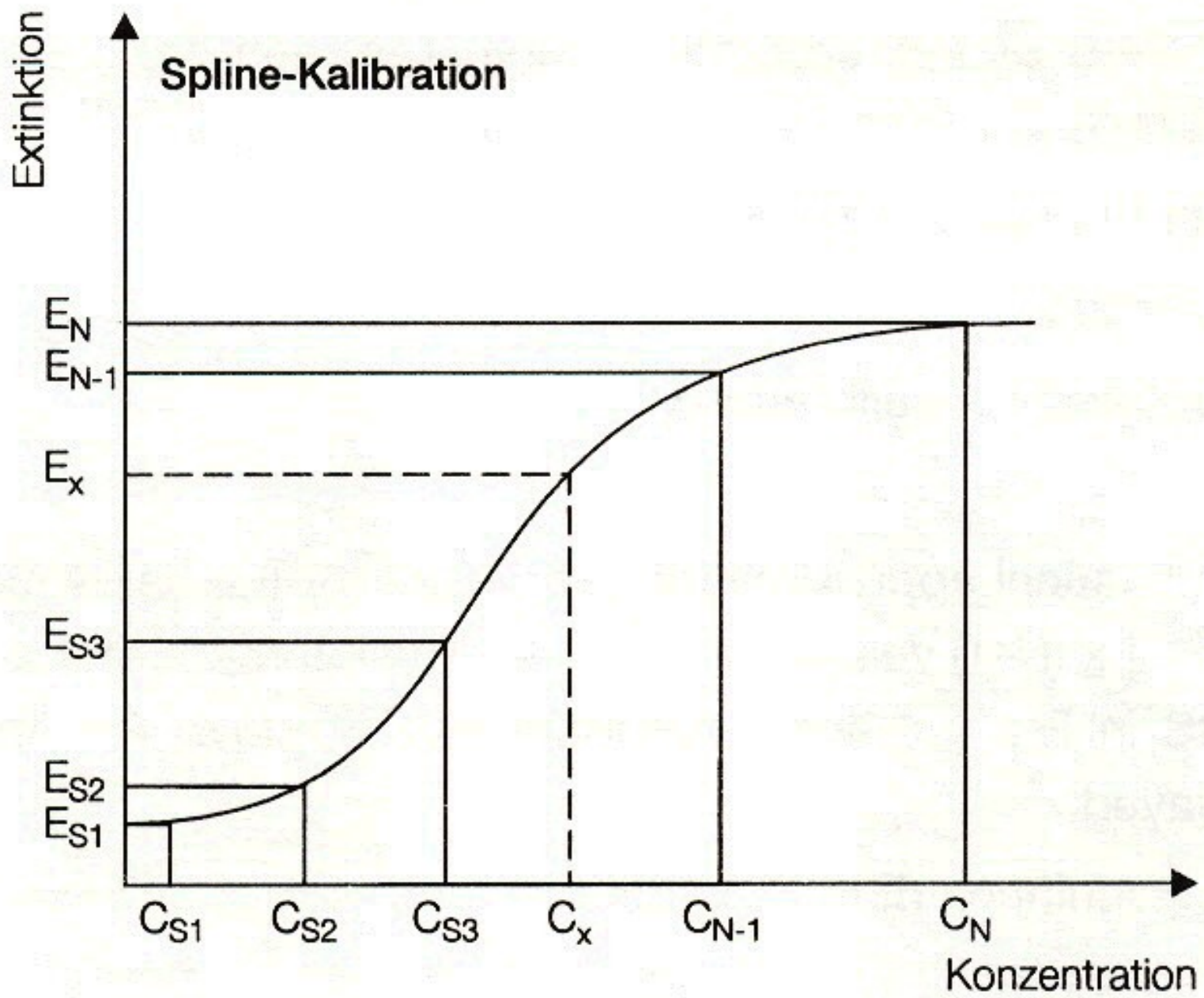


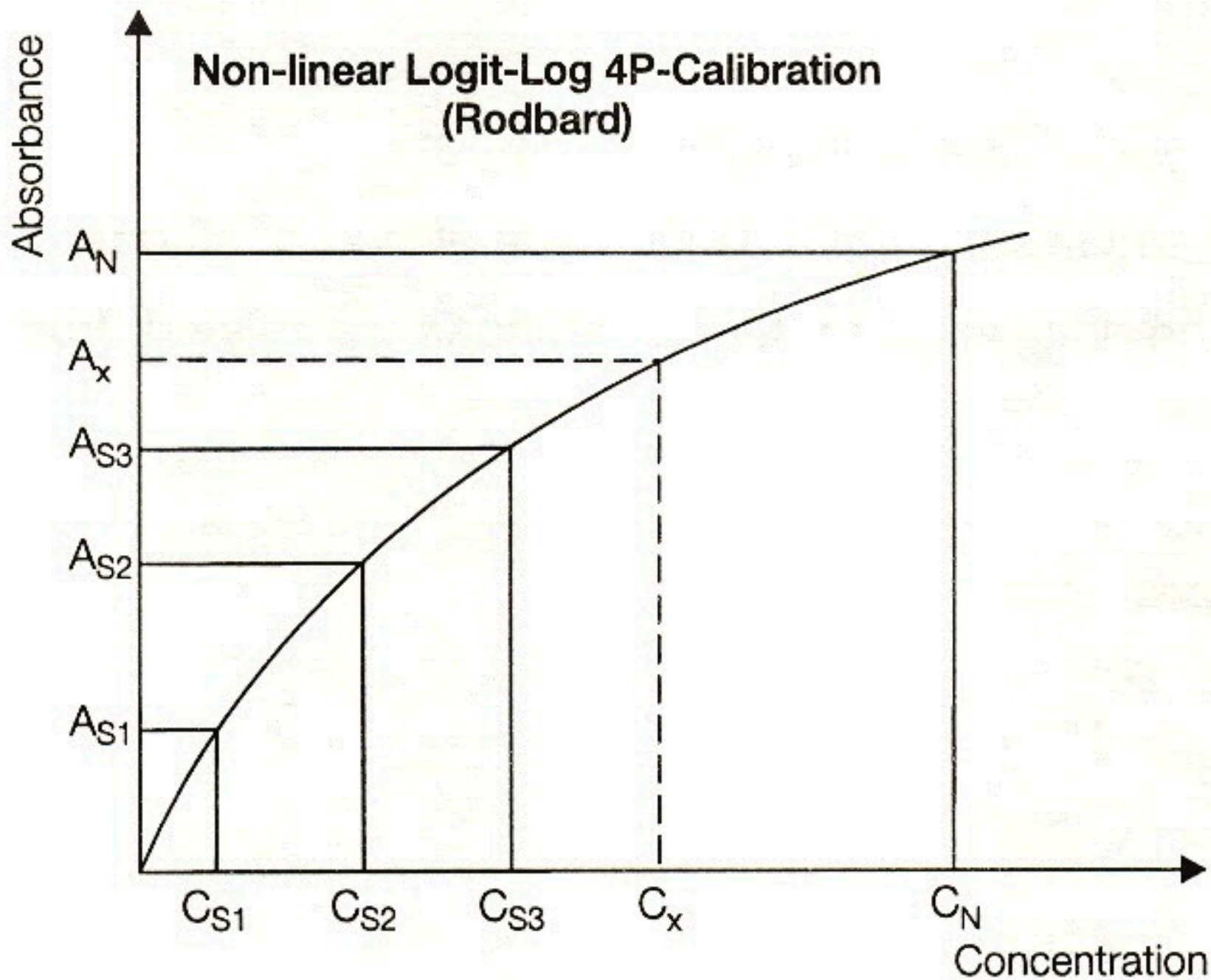
Figure G-89 Reaction Monitor window (D module)

# 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)







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
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

Analyze Calib. Range Others

Calibration Type: Linear

Point: 2

Span: 2

Weight: 0

Update Type: None

Isozyme Q Channel: Cancel

SD Limit: 0.1

Duplicate Limit: 5 % 20 Abs.

Sensitivity Limit: -1.6 -0.9

S1 Abs. Limit: -32000 32000

Auto Masking

Auto Calibration

Timeout

Blank: 1

Span: 1

2 Point: 2

Full: 1

Changeover

Module: Cancel

Lot: Cancel

Bottle: Cancel

Save

Delete

Read Barsheet

Help

Select the test from the list box.



Start

Stop

Logoff

S. Stop

Alarm

Print

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	Dt.	Test	Calib. method	Cause
D1	P1	ALT	2 Point	Timeout
D1	E1	LDH		
D1	ISE	AST		
D1	4	UREA		
D1	5	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

Start Up

S. Stop

Blank

2 Point

Full

Span

Alarm

Print

Reject Release

Calib Trace Calibration Result Reaction Monitor Instrument Factor Start Up Setting Save

Help Select the module from the list box.

Start

NUM

Figure G-92 Status screen

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
- 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

Analyze

Callb.

Range

Others

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

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

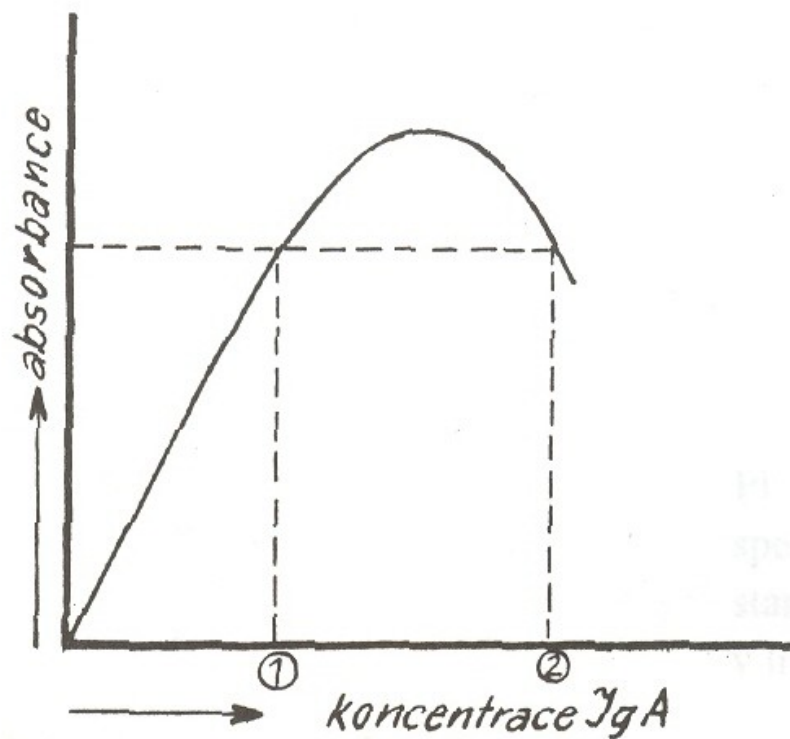
# Ověření integrity výsledku:

- 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 regrese analýzy. Není-li splněna, vzorek je označen chybovým hlášením (př. Lin.)

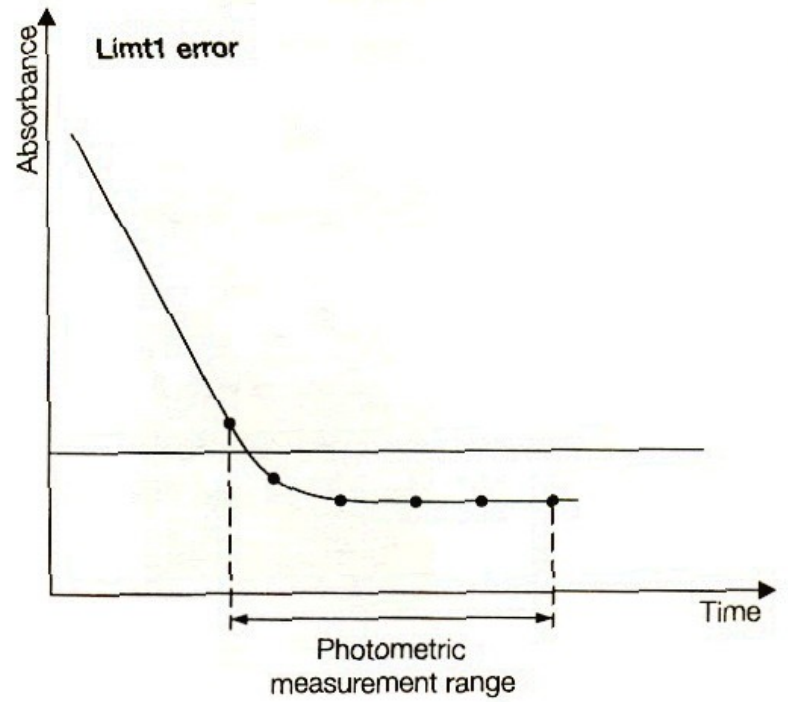
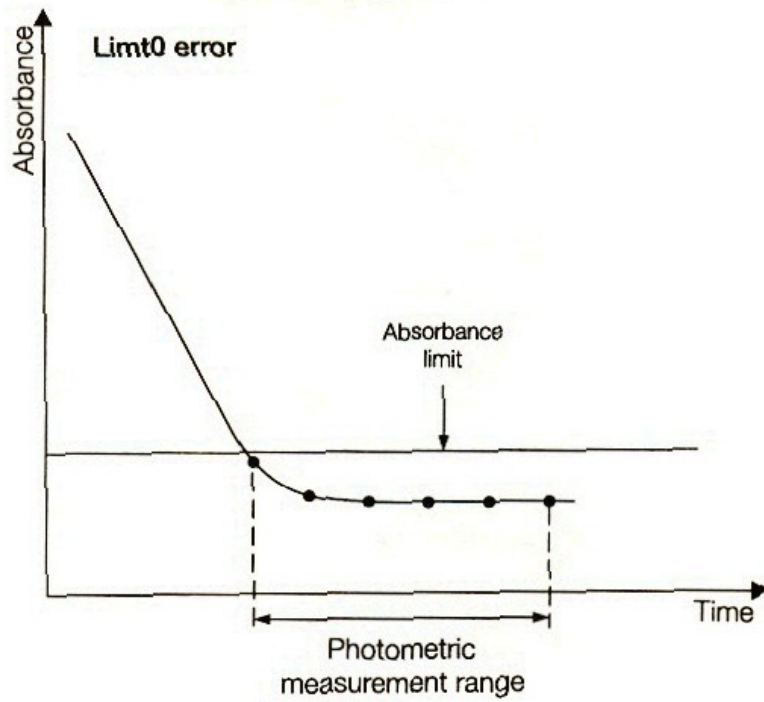
## Test na dodržení absorbančního limitu

- 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

- 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
- D Ser/PI
- 87 Na Ser/PI
- Urine

Analyze

Calib.

Range

Others

Assay/Time/Point

2 Point Rate

10

20

25

0

0

Wavelength (2nd/Primary)

700

340

Sample Volume

Normal

3.0

0.0

0

Decrease

2.0

0.0

0

Increase

6.0

0.0

0

Diluent

Water

Diluent

418

0

Abs. Limit

6500

Decrease

Prozone Limit

0

0

0

0

0

Lower

Cell Detergent

Detergent 1

Twin Test

Cancel

Barsheet Version 1

Save

Delete

Read Barsheet

? Help

Select the test from the list box.

Stop

Logoff

S. Stop

Alarm

Print

Start

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

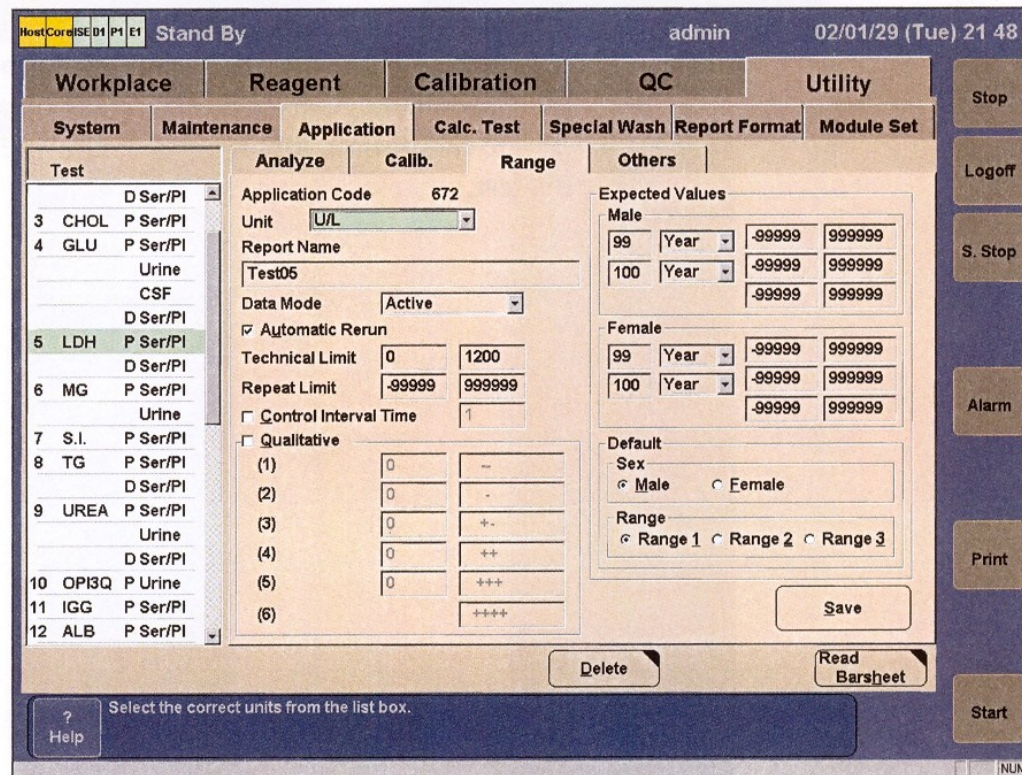


Figure G-287 Range sub-screen

# 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 nařaděných vzorků při různých vlnových délkách

# Sérové indexy

