

Miniaturizace laboratorních metod

Miroslava Beňovská

Příklady výsledků miniaturizace

- Snížení objemu kyvety (reakční objem 100 μ l) - šetrné k životnímu prostředí
- Pipetování vzorku od 1 μ l
- Čipy
- Místo větších elektrod senzory
- Nová generace přístrojů firmy Abbott - Alinity: moduly zabírají
- Vznik jednoskříňových močových analyzátorů

Biosenzor

- Analytické zařízení obsahující citlivý prvek biologického původu, který je buď součástí nebo v těsném kontaktu s fyzikálně-chemickým převodníkem
- Poskytuje průběžný elektronický signál přímo úměrný koncentraci jedné nebo několika chemických látek ve vzorku

Biosenzory

- Specifický druh chemického senzoru - z biologického indikačního prvku a chemického převaděče
- Biologickým prvkem je nejčastěji specifický enzym - enzymové elektrochemické biosenzory
- Enzym katalyzuje specifickou enzymovou reakci se specifickým substrátem
- Výsledkem reakce je měřená tvorba produktu, nebo rozklad substrátu
- Biosenzory pro glukosu, laktát, kreatinin a močovinu
- Součást glukosových analyzátorů, ABR analyzátorů, ale také velkých automatických biochemických analyzátorů (Beckman) – rychlé stanovení - asi 1 min.

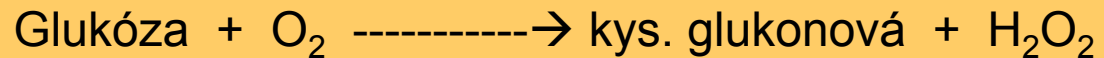
Glukosové analyzátory

Stanovení kapilární glukosy

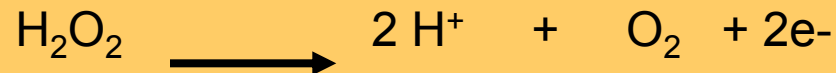
SensoStar G, firma DiaSys

- Enzymatickoamperometrický princip
- Enzymový amperometrický biosenzor (imobilizována glukosoxidasa) na stanovení glukózy využívá k měření vznikající peroxid vodíku:

glukózooxidáza



Vznikající peroxid je oxidován na platinové elektrodě při konstantním potenciálu podle rovnice:



Je měřená časová změna proudu, která je úměrná koncentraci glukózy ve vzorku.

BIOSEN S-line Lab,

EKF-diagnostic, dodává Medesa

- **Automatický analyzátor pro stanovení glukózy nebo laktátu ze séra, krve a plasmy.**
- Využívá elektrochemický princip měření kombinovaný s **čipovou technologií**
Enzymy imobilizované na čipu zajišťují oxidaci glukózy a laktátu ve vzorku za tvorby peroxidu vodíku, ten je redukován na měřících elektrodách.
- Změna protékajícího proudu úměrná koncentraci
- Rozsah měření 0,5 – 50 mmol/l (glukóza), 0,5 – 40 mmol/l (laktát)
- Objem vzorku : 20 μ l , ředí se 1 ml systémového roztoku



POCT glukometry

Princip:

- **Biosenzor (nejčastěji enzymatický biosenzor s amperometrickým principem)**
- **Fotometrie**

POCT glukometry



Seznamte se s našim nejrychlejším glukometrem.
Měření krevního cukru s Accu-Chek Active.
To právě pro Vaše životní tempo.

Rychlý!

- doba měření cca 5 sekund
- malý vzorek - 2 μ l
- paměť na 200 hodnot s uvedením data a času
- průměr za posledních 7 nebo 14 dní
- bezdrátový přenos dat do PC přes infračervený port



Jednoduchá obsluha!

- Jednoduchá obsluha díky automatickému zapínání a vypínání
- uživatelsky přátelský s ikonami čitelný displej se silnými písmeny
- snadné kódování pomocí kódovacího čipu

Bezpečný!

- externí kontrola (viz náčrt shora) prokázala vysokou přesnost glukometru Accu-Chek Active



- téměř v laboratorní kvalitě - systém Accu-Chek Active vykazuje vysokou přesnost s průměrnou CV odchylkou menší než 2%

- dokonalá kontrola nedostatečného množství krve prostřednictvím nové 3. elektrody v optickém systému glukometru
- univerzální vzorky - s Accu-Chek Active můžete používat kapilární, venózní, arteriální nebo neonatální krevní vzorky
 - široké čtecí rozmezí: 0,6 - 33,3 mmol/l (10 - 600 mg/dl)
 - široké teplotní rozmezí: 10 - 40 °C
 - možnost označit kontrolní měření
- pro ještě vyšší bezpečnost možnost vizuální kontroly

POCT glukometry v nemocniční síti

- Software nabízí firmy Abbott, Roche Diagnostic, Johnson and Johnson
- Stav glukometru a kontrola vidět v laboratoři – zajištění kvalitních výsledků
- Výsledky v LIS a NIS
- Učtováno do pojišťovny

Mikročip = integrovaný obvod

- Moderní elektronická součástka
- Spojení (integraci) mnoha jednoduchých elektrických součástek, které společně tvoří elektrický obvod vykonávající nějakou složitější funkci

Mikročip (microchip)

Mikročip

- využívaný při analýze či detekci nazývaný anglicky většinou **microarray**
- př. **DNA microarray**

DNA microarrays (čipy)

- Využívají se pro detekci mutací a polymorfismů, sekvenční analýzy

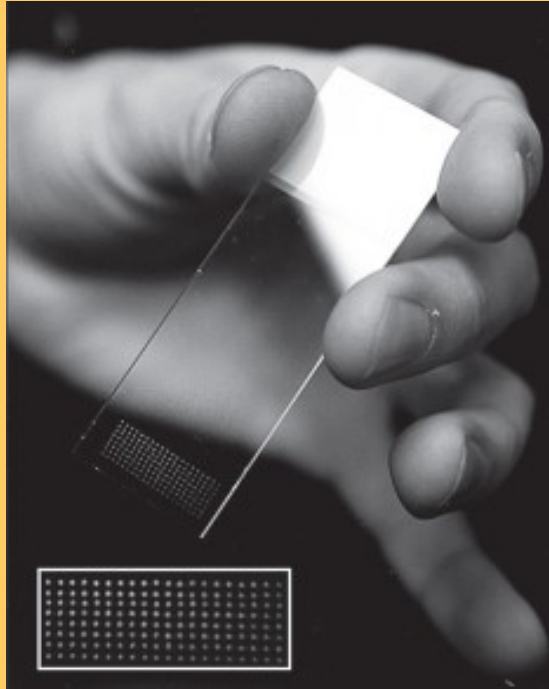
Princip techniky:

- Hybridizační reakce mezi vzorkem DNA a sekvenčně specifickými sondami navázanými na povrchu čipu
- Na čipu imobilizováno až několik stovek tisíců sond specifických vůči různým úsekům DNA
- Možnost analyzovat široké spektrum mutací v genech způsobujících dědičná onemocnění najednou

DNA čipy - materiály

- Možnost snadné imobilizace DNA sond
- Sklo se speciálně upraveným povrchem
- Sondy přeneseny a natištěny na povrch čipu (přístrojem spotter)

DNA microarrays (čipy)



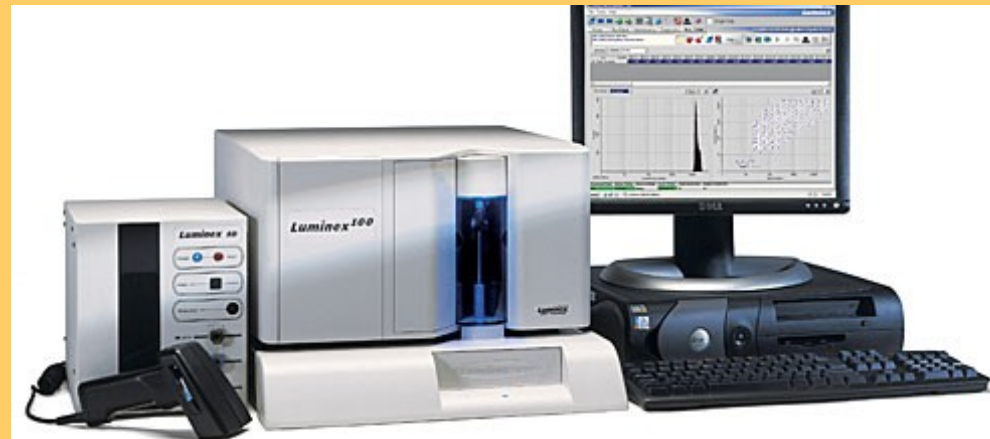
Multiplexové metody (multianalýza)

Princip xMAP technologie (microarraye partical)

- 100 druhů mikrokuliček (magnetické) rozlišených kombinací dvou fluorescenčních barev
- Na každém druhu je navázána molekula vazající specificky jeden analyt
- Na kuličku se naváže analyt a druhá protilátka
- Kuličky protékají přístrojem
- Vyhodnocení **na principu flow cytometrie**
- Měří se fluorescence vzniklá po excitaci dvěma lasery – jeden určuje barvu – druh analytu (kvalita)
druhý - množství analytu (kvantita)
- Přístroj **Luminex 100 IS**

Luminex 100 (100 IS), Luminex Corp.

- Princip flow cytometrie – průchod kuliček
- Nebo možnost **simultanního měření až 100 analytů**
- Měření v jamce mikrotitrační destičky nebo po přepipetování ve zkumavce (panely – př. cytokiny)
- Potřeba velmi malého objemu
- Cenově výhodné
- Možnost měřit imunochemické metody, nukleové kyseliny, enzymy
- Nevýhodou dlouhá inkubace a nutnost práce ve větších sériích



Biočipová array technologie

- Příklad **Evidence, Randox**
- Imunoanalýza založena na simultánní multianalýze
- Na biočipu celé panely příbuzných testů
- Princip ELISA



ALEX, Macro Array Diagnostics

- **POCT systém na stanovení alergenů**
- **Princip – ELISA**
- **Multiparametrový test na alergie - v rámci jediné laboratorní zkoušky lze vyšetřit asi 250 alergenů**
-
- **Umožňuje rychleji a cíleněji zahájit léčbu**