

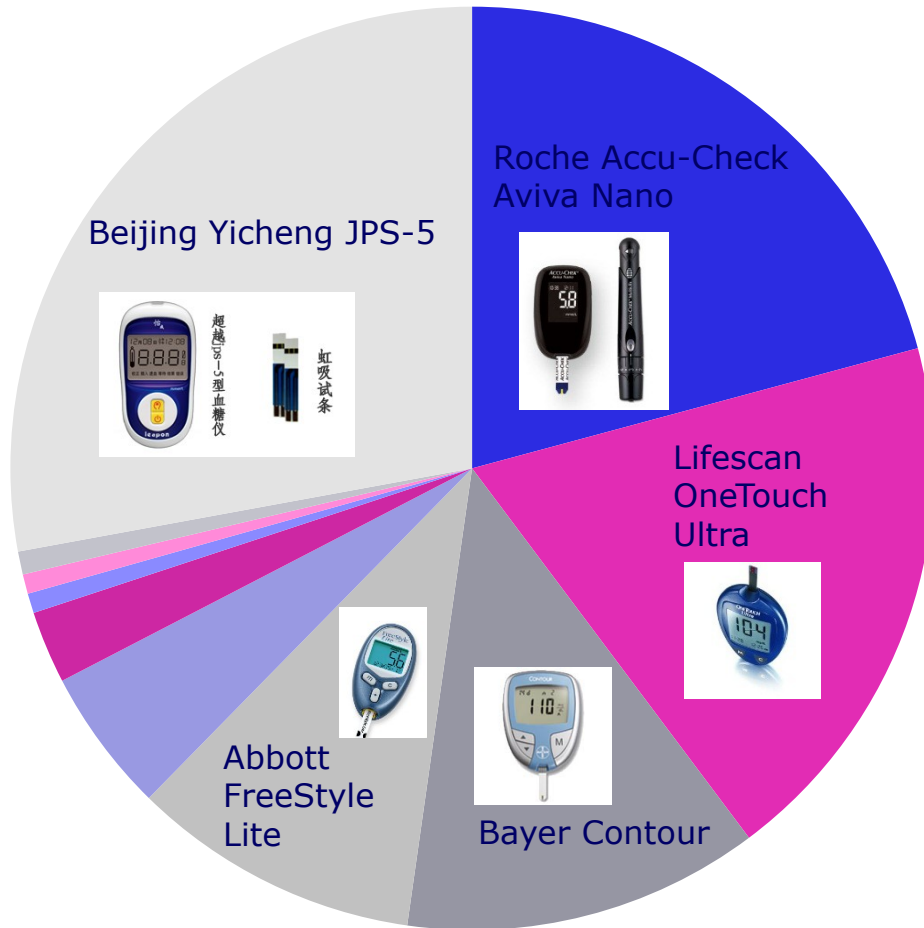
Závěr

- biosensory v praxi
- perspektivy



Trh s biosensory

- 85% tržních nákladů reprezentuje stanovení glukosy



- Roche Diagnostics
- Lifescan
- Bayer Diagnostics
- Abbott
- Molecular Devices Corporation
- Affymetrix
- Nova biomedical
- Biacore
- Others
- China

Rok	Prodej (mil. \$)
1996	600
2000	1500
2002	2500
2004	5040
2006	6800
2009	12800



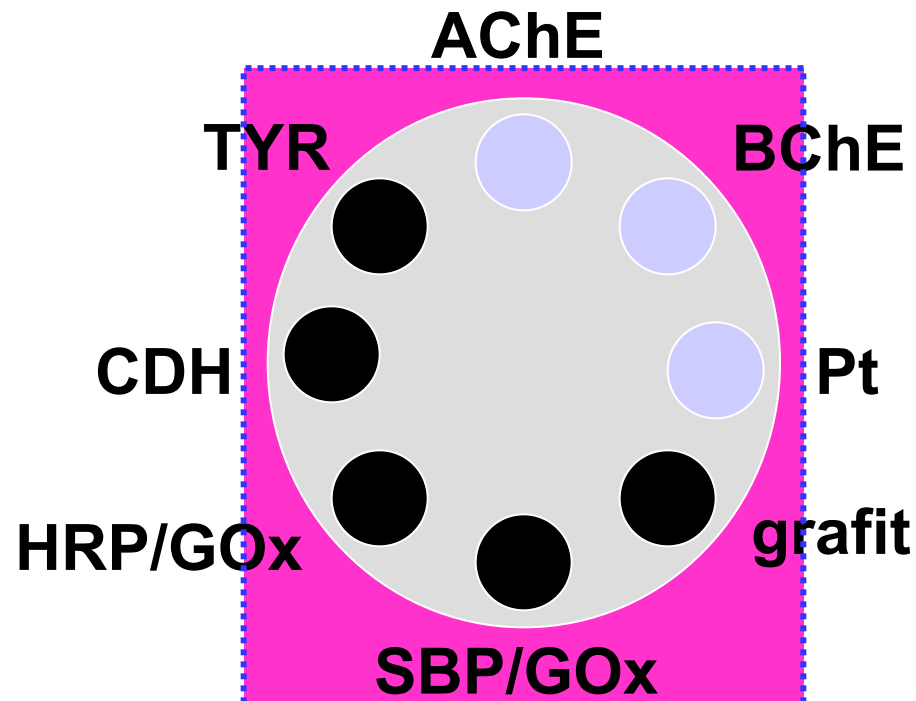
Ochrana životního prostředí

- znečištění zdrojů pitné vody a vodních toků - monitorovací systémy
 - založené na celých buňkách - schopné reagovat na přítomnost širokého spektra toxických látek
- přenosné systémy pro rychlou detekci škodlivin
 - analýza vzorku přímo v místě odběru (in-field, on-site)
- tradici má rychlé biosensorové **stanovení biochemické spotřeby kyslíku (BOD)**, které zkracuje dobu analýzy na několik minut
- BOD sensor založený na mikrobiální vrstvě byl vyráběn již od roku 1983 v Japonsku firmou Nisshin Electric

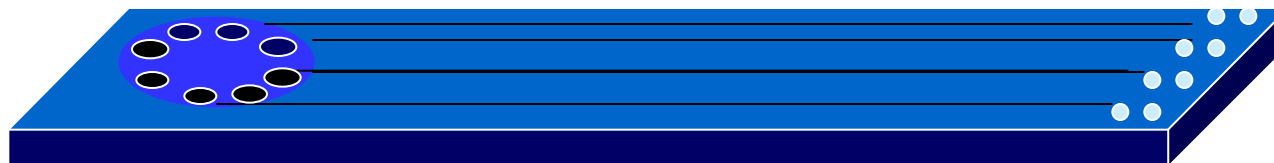


Multikanálový biosensor pro charakterizaci odpadních vod

- acetylcholinesterasa (AChE)
- butyrylcholinestasa (BChE)
- tyrosinasa (Tyr)
- peroxidasy (HRP, SBP)
- celobiosa dehydrogenasa (CDH)
- glukosa oxidasa (GOX)



⇒ zesíťování glutaraldehydem

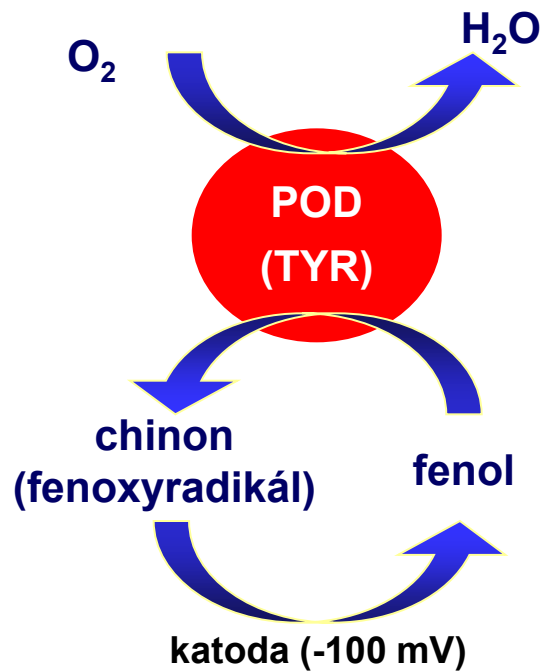
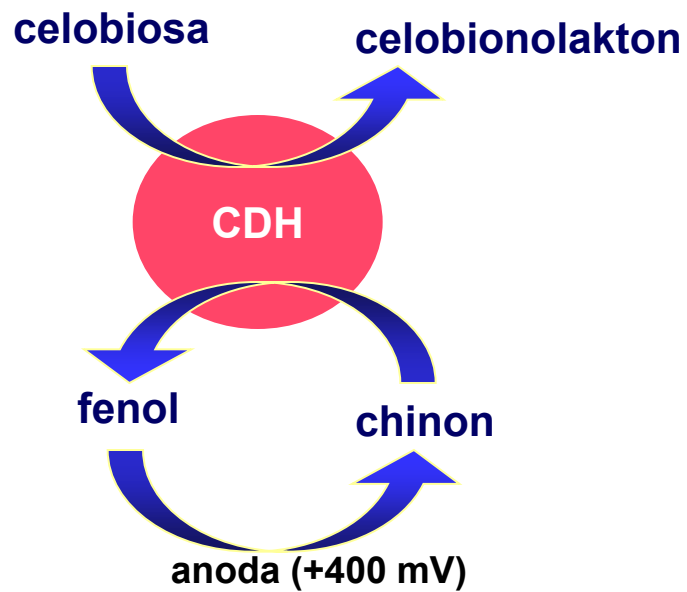
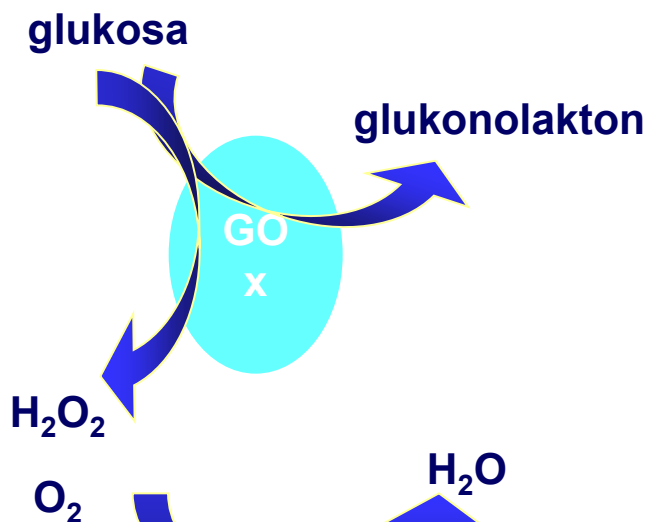
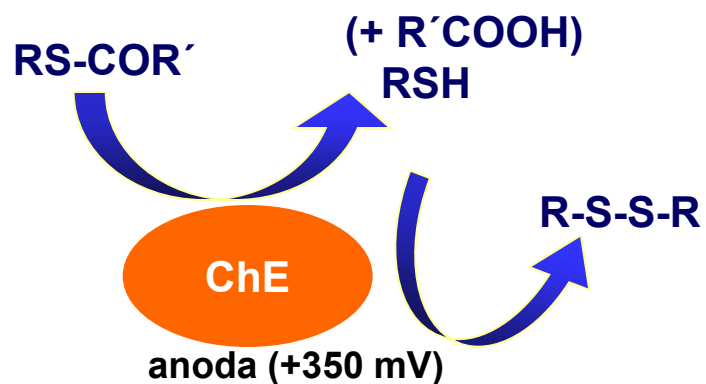


Pt / grafitové pracovní elektrody (7101)

5x1.2 cm



Enzymové reakce



Průmyslové vzorky

Odezvy přepočteny na koncentraci heptenofosu a katecholu

enzymy	Koncentrace (mg/l)									
	pesticid. průmysl		farmaceutický průmysl			papírenský průmysl				
	S01	S02	S03	S04	S05	S06	S07	S08	S09	S10
AChE	0	0.12	0.06	0.01	0.28	0.01	0	0.03	0.08	2.3
BChE	0	0	0.41	0.01	0.03	0.21	0	0	0.03	>10
TYR	0	0	1.1	1.1	0.7	0	0	0	0	0
HRP	0	0	2.9	6.1	2.9	0	0	0	5.3	7.7



Odpadní vody

- vzorky obsahují pesticidy a fenoly
- relativní procentuální odezva je
 - stanovena jako odezva vzorku dělena
 - odezvou pro standard
- výsledky, které je obtížné zhodnotit
 - a porozumět jim

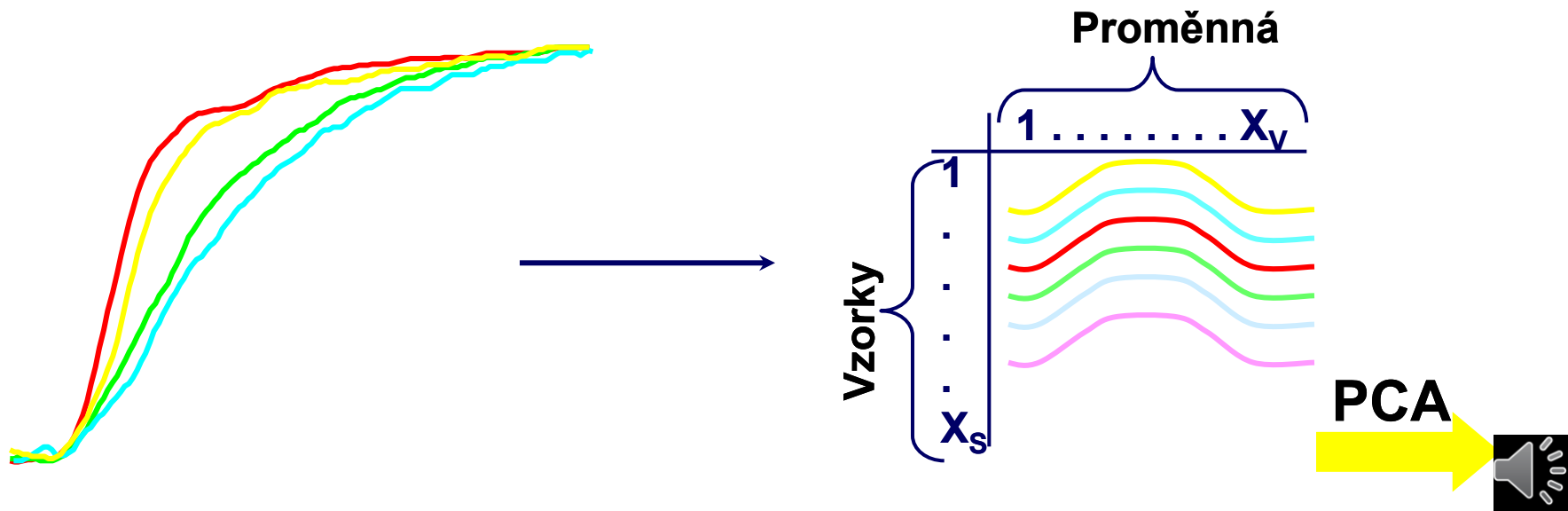
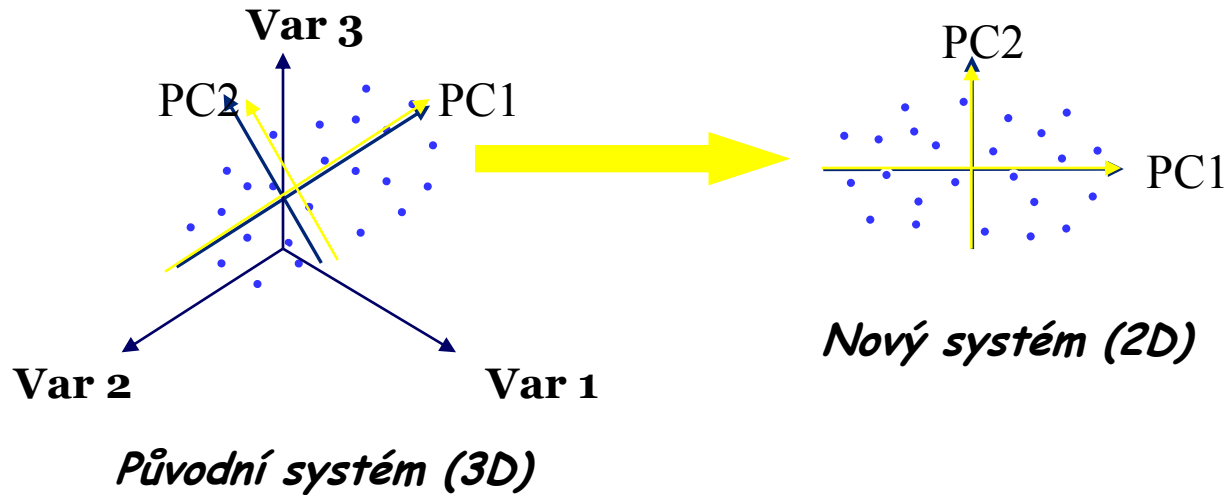


MULTIVARIAČNÍ ANALÝZA



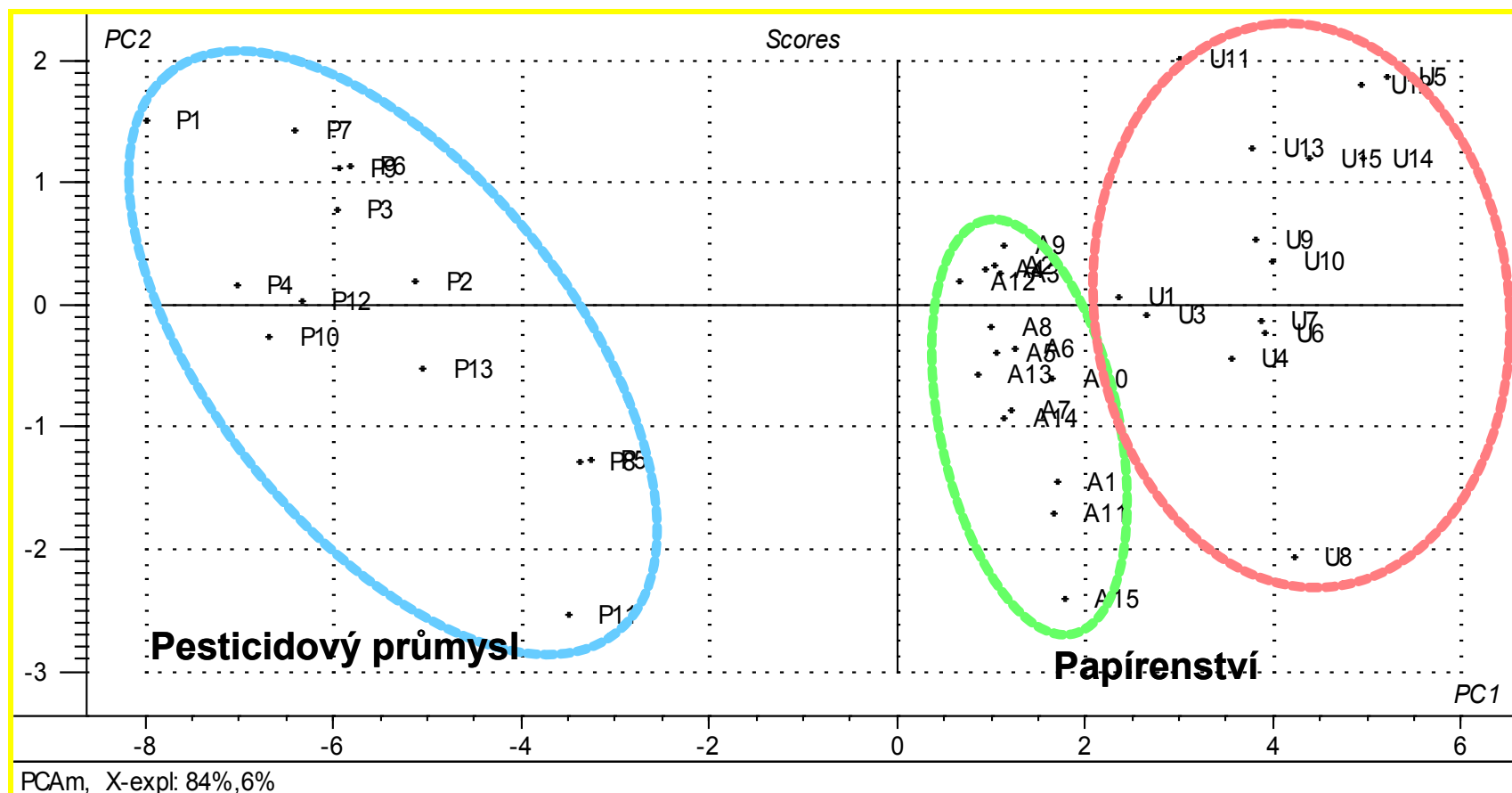
PCA (Principal Component Analysis)

- Analýza hlavních komponent



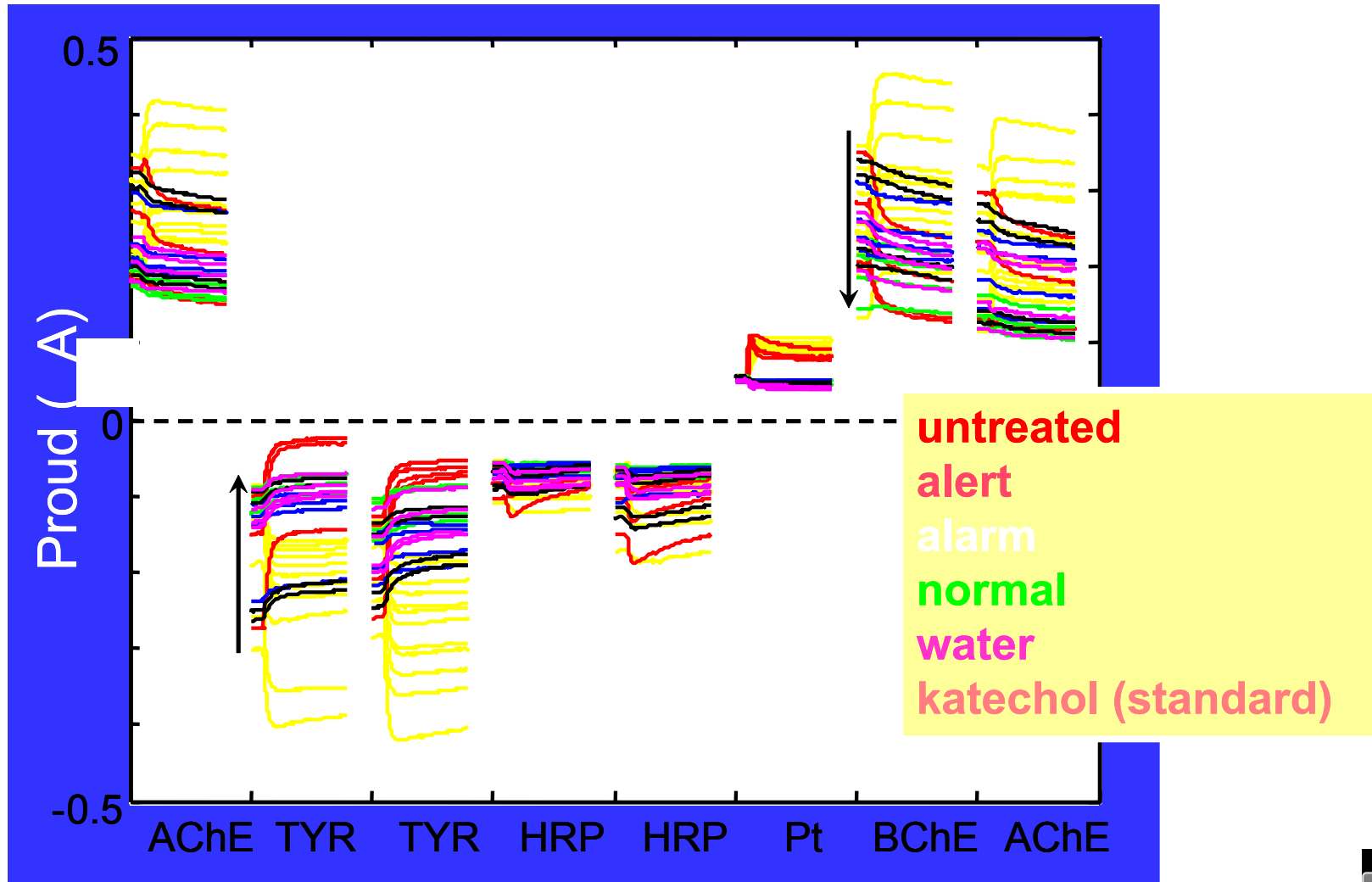
BIOSENSOR + PCA

- Každý vzorek odpovídá 6830 proměnným detekovaným 6-enzymovým senzorem (každá elektrodová odezva je tvořena z 810 proměnným)
- PC1 – separace dle původu, PC2 – separace dle toxicity



Vzorky rozdílné toxicity

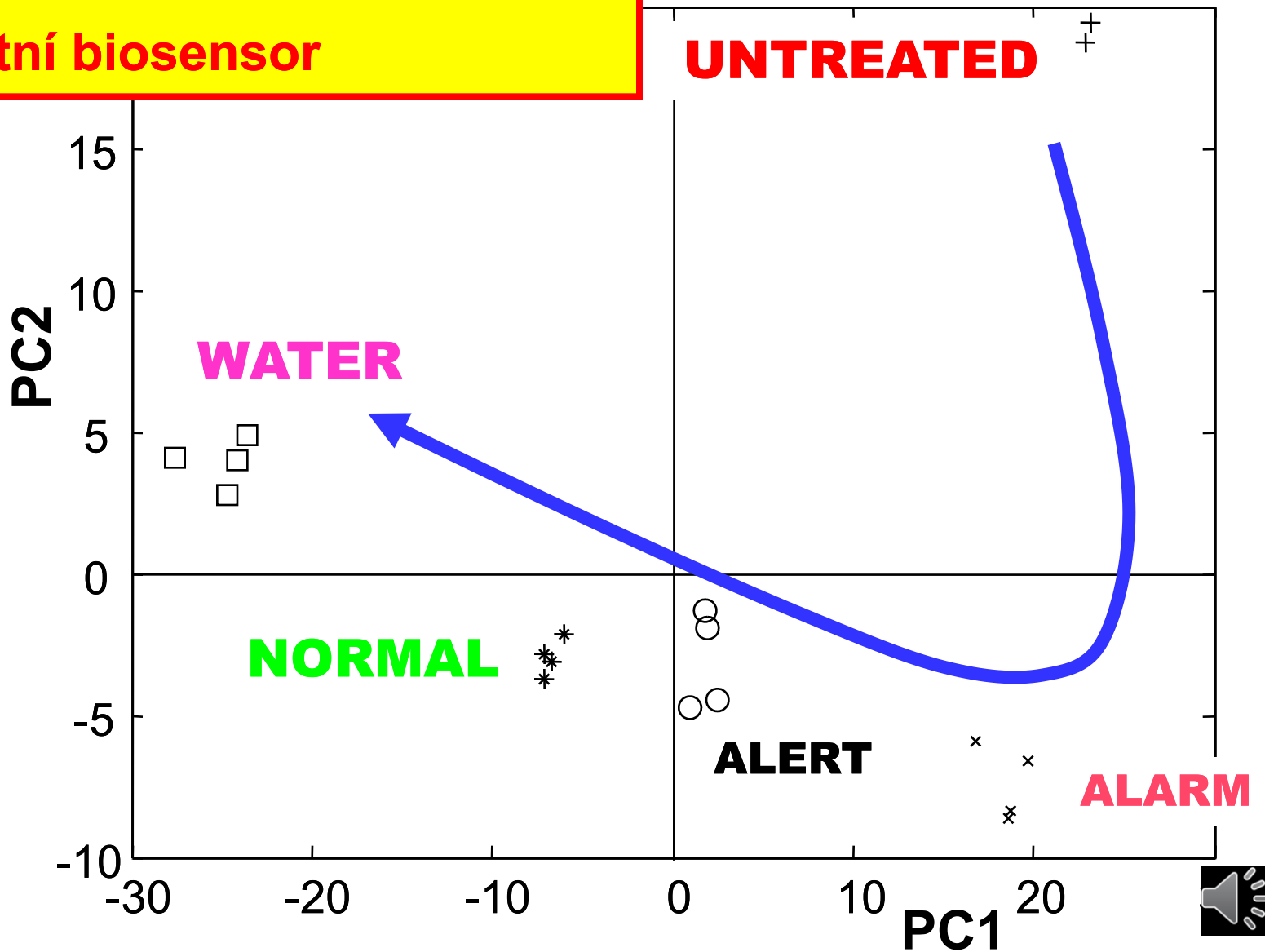
- odezvy 8-elektrodového sensoru pro 32 vzorků (standard), 100 proměnných (400 s)



kombinace sensorů s chemometrií (PCA)
zjednodušuje interpretaci komplexních dat
na uživatelsky přístupnější názornou formu

inteligentní biosensor

Zjednodušená klasifikace



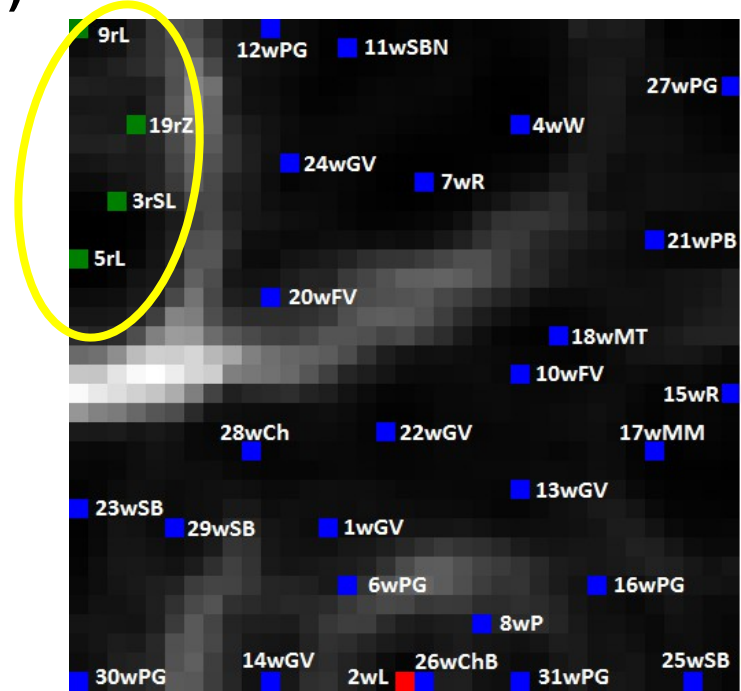
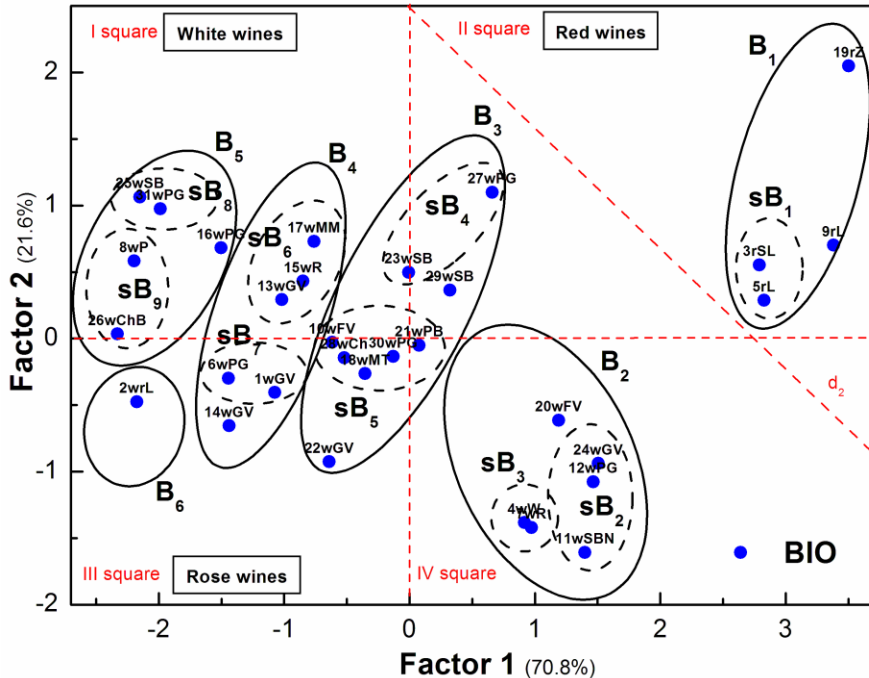
Potravinářství, biotechnologické procesy

- biosensorové systémy analyzující kontinuálně odebírané vzorky (on line) - návaznost na řídicí systémy
- stanovení sacharidů, některých vitamínů a detekce bakteriální kontaminace - kontrola čerstvosti potravin, kontrola obsahu cizorodých látek (rezidua antibiotik)
- kontrola kvality produktů - na základě hodnocení vůně („**elektronický nos**“) a chuti („**elektronický jazyk**“)
 - potvrzení původu, originality, přítomnosti náhražek



Bioelectronic tongue for wines

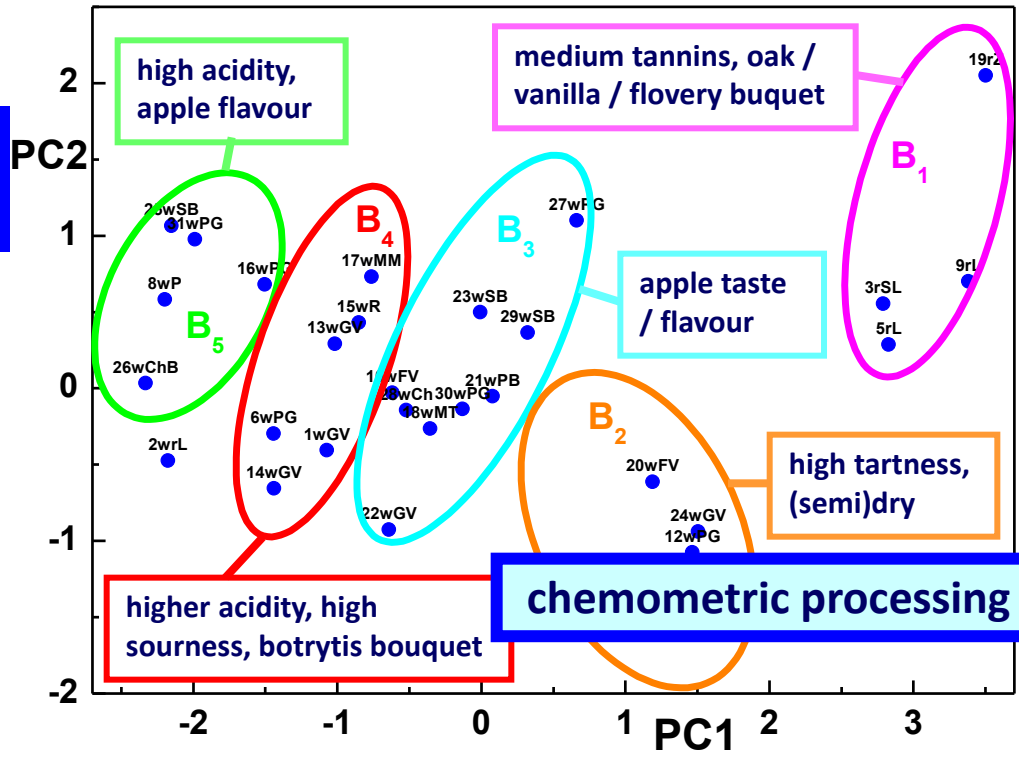
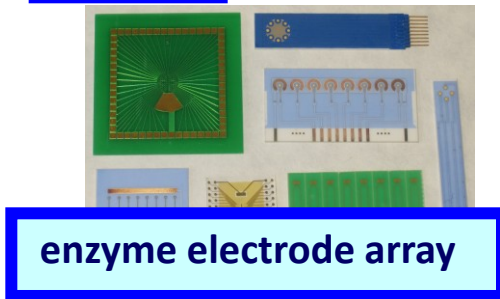
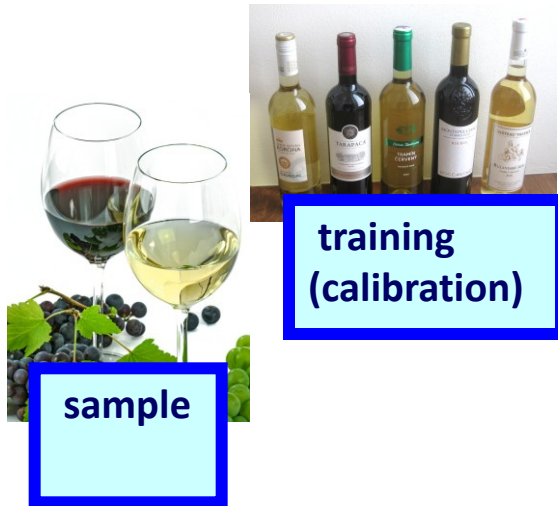
- processing by PCA (principal component analysis) or SOM (artificial intelligence, self-organizing maps)



- levels of lactate determined using biosensor with lactate oxidase, sums of other carboxylic acids measured as inhibition effects on biosensors with sarcosine oxidase and fumarase / sarcosine oxidase channels



Bioelectronic tongues: taste



Result: good product!
(safety, originality, age, adulteration, composition, ...)



Vojenská oblast

- detekce **chemických otravných** látek (sarin, soman, ...) - biosensory s cholinesterasou
- detekce **biologických bojových prostředků** - nutnost vysoké specifity stanovení (anthrax, botulin, ...) - imunosenzory, přenosné systémy PCR, průtočná cytometrie
- obrana proti bioteroristickým útokům



Detekce použití chemických zbraní

- chemické zbraně reprezentují bojové otravné látky ze skupiny nervově paralytických sloučenin jako sarin a soman
- inhibují cholinesterasu, což se také využívá v detekčních systémech na bázi biosensorů
- již mnoho let existuje detektor NAIAD od firmy Thorn EMI, využívající průběžnou elektrochemickou detekci aktivity imobilisované cholinesterasy
- miniaturizovaný biosensor tohoto typu pro osobní použití se vyvíjí také u nás
- zájem o tuto oblast výrazně stoupl po skončení války v Perském zálivu (1991), mimoto byl sarin použit teroristy při útoku na tokijské metro (1995), v Iráku, Sýrii (?)



BioNA

Biochemical
Nerve Agent Detector

měřicí část



výměnný biosensorový blok



BioNA

Biochemical
Nerve Agent Detector

Specifications

detectable agents:	type "G" and "V"
limit of detection in air:	1 ng/L
detection speed:	30 sec (15 sec at 10 ng/L)
detector:	electrochemical sensor with immobilized acetylcholinesterase
weight:	500 g
dimensions:	120 x 80 x 35 mm
power supply:	2 x 1.5 V batteries
working temperature:	5 - 40°C
warning signalization:	visual and acoustic

Information

Military Technical Institute of Protection

P.O. Box 547

60200 Brno (Czech Rep.)

Tel.: +420-5-41183001

E-mail: vtuo_chem@telecom.cz



Detekce biologických zbraní

- biologické zbraně – zbraně hromadného ničení „chudých“ zemí
- jsou předmětem zájmu v souvislosti se situací v Iráku, kde bývalý režim vlastnil zásoby různých bakteriologických zbraní a toxinů
- mimo vojenskou oblast existuje značná obava z teroristického zneužití, protože jejich příprava je ve srovnání s jinými zbraněmi hromadného ničení velmi snadná – obavy z anthraxu



BBP: toxiny

- Abrin - rostlina ***Abrus precatorius***
- Aflatoxiny - plísně ***Aspergillus flavus*** a ***parasiticus***
- Batrachotoxin - kolumbijská žába ***Phyllobates aurotaenia***
- Botulotoxin A - bakterie ***Clostridium botulinum***
- ***Clostridium perfringens*** toxin
- ***Corynebacterium diphtheriae*** toxin
- Microcystiny (Cyanginosiny) - modrozelená sinice ***Microcystis aeruginosa***
- Palytoxin - zoanthidní korál genus ***Palythoa***
- Ricin - rostlina castor bean ***Ricinus communis***
- Saxitoxin - dinoflagelata ***Gonydulax (Ganyaaulax) catenalla*** a ***tamarensis***
- Shigatoxiny (Vero cytotoxiny) - bakterie ***Escherichia coli*** EHEC
- S. dysenteria toxin - bakterie ***Shigella dysenteriae***
- Staph. Enterotoxin - bakterie ***Staphylococcus aureus***



BBP: víry

- **Argentinská hemorhagická horečka (AHF)**
- **Bolivijská hemorhagická horečka (Machupo)**
- **Dengue, Ebola, Hanta, Chikengunya, Japonská encefalitida, Junin**
- **Krymsko-konžská hemorhagická horečka (CCHF), Kyasanurská lesní horečka, Lassa horečka**
- **Lymfocytární choriomeningitida, Marburg, klíšťová encefalitida**
- **Variola (smallpox, spalničky), Venezuelská encefalitida, žlutá horečka,**



BBP: bakterie a plísně

■ bakterie:

Bacillus anthracis (anthrax), Brucella melitensis (brucelosa), Clostridium botulinum (botulismus), Corynebacterium diphtheriae, Francisella (Pasteurella) tularensis (tularemie), Chlamydia psittaci (psitakosa), Mycobacterium tuberculosis (tuberkulosa), Pseudomonas mallei / pseudomallei, Rickettsie, *Coxiella burnetti* (Q-horečka), Salmonella typhi / paratyphi (tyfus), Vibrio cholerae (cholera), Yersinia (Pasteurella) pestis (mor),

■ plísně:

Coccidioides immitis (kokcidiosa), Histoplasma capsulatum, Nocardia asteroides



Bio Detector

- **Biological Detector (BD) je automatický systém pro detekci BOL vyvinutý společně ETG a americkou armádou, principem je LAPS biosensor**
- **současně lze detekovat až 8 různých agentů (bakterie, viry, toxiny), je lehce možné rozšířit o nová stanovení. Odezva do 15 minut, 95% pravděpodobnost detekce, 0.1% falešných poplachů, akustická i optická indikace.**
- **v jednom pouzdře obsahuje jednotky vstupu vzorku, průtočného systému, detektoru LAPS, zásobníku reagensů**
- **vzorek je kapalný objemu 1 ml, s ním se provádí současně 8 imunochemických testů - BOL-specifické protilátky jsou značeny fluoresceinem, na který se ve druhém stupni váže anti-fluoresceinová protilátka značená ureázou, detekce je potenciometrická - změna pH, "adresace" jednotlivých míst na nosném pásku se provádí osvětlením**



BD

Bio Detector



Klinická oblast

- in vitro stanovení prováděná v centralizovaných nemocničních laboratořích
- decentralizované uplatnění biosensorů zahrnuje ordinaci lékaře, nemocniční pokoje, operační sály
- aplikace určené široké veřejnosti budou limitovány, výjimkou jsou osobní glukometry diabetiků a těhotenské testy
- velký potenciál pro tzv. „welfare“ oblast – stárnoucí populace se bude více zajímat o zdravotní stav – preventivní kontroly a měření
- in vivo aplikace jsou směřovány především na výzkum umělého endokrinního pankreatu



Monitorování glukosy



Evolution of Blood Glucose Monitor products

Past

Present

Future

The original
Miles
Glucometer

MediSense
Mediated
sensor

Pelikan Sun
painless
Sampling

CGM
Medtronic
Guardian

Non-invasive
monitoring
(research)

Supramolecular
Devices?

- Newman, J.D. and Turner, A.P.F. (2008) Historical perspective of biosensor and biochip development. In: Handbook of Biosensors and Biochips (Eds R. Marks, D. Cullen, I. Karube, C. Lowe and H. Weetall) John Wiley & Sons. ISBN 978-0-470-01905-4



Klíčové inovace

- **Sample detection**
- **Reduction of humidity effects**
- **Fill efficiency**
- **Under-fill detection**
- **Instrument and in-sample temperature correction**
- **Reduction of and compensation for haematocrit effect**
- **Reduction of and compensation for electrochemical interference**
- **Detection of abnormal events**
- **Automatic coding of strips**
- **Integration**



User Interface

Help Transform Results into Meaningful Insights with Bayer's CONTOUR® USB Meter.

- + Storage capacity for 2,000 results on your meter
- + Plug & play technology for instant access to patterns and trends
- + Bayer's GLUCOFACTS® DELUXE software can help you discover valuable insight
- + Knowledge you can share with your healthcare professional



Learn how to test using your CONTOUR® USB meter from Bayer.



Get detailed information about how to use features.



Discover Bayer's GLUCOFACTS® DELUXE software for tracking testing trends on your computer.

Glukometry dnes ...

- běžně v lékárnách, e-shopech, propojení s mobilem

glukometr | Alza.cz x +
 https://www.alza.cz/search.htm?exps=glukometr

Poslední 2 kusy za tuto cenu

DOPRAVA ZDARMA

-10% 1 995,-
1 795,-
 bez DPH 1 561,-
Skladem 2 ks

Beurer GL50
 Glukometr vhodný pro osobní použití pro měření obsahu cukru v krvi, podsvícený LCD displej, jednoduché měření, doba měření cca 5 sekund, 480 pamětí s datem a časem, 100 částí balení je odběrové pero, 5 jehel, 5 testovacích proužků, baterie, pouzdro, návod

DOPRAVA ZDARMA

★★★★★
1 259,-
 bez DPH 1 040,-
Skladem > 5 ks

iHealth BG5
 Příslušenství glukometr pro iOS zařízení iPhone a iPad, bezdrátový, bluetooth

DOPRAVA ZDARMA

-7%
1 325,-
 bez DPH 1 152,-
Rozbaleno skladem

iHealth AGS-1000I
 Příslušenství testovací proužky pro iHealth glukometr BG5, aplikace iHealth Gluco-Smart, po načtení QR kódu na víčku balení aplikace automaticky sleduje množství spotřebovaných testovacích proužků a jejich expiraci

DOPRAVA ZDARMA

★★★★★
 -10% 1 349,-
1 208,-
 bez DPH 1 000,-

DOPRAVA ZDARMA

★★★★★
1 929,-
 bez DPH 1 500,-

VÍCE NEŽ 98% SPOLEHLIVOST

★★★★★
559,-
 bez DPH 400,-



Glukosa kontinuálně

- FreeStyle Libre monitoruje a ukládá data o hladině glukosy - hodnoty koncentrace aktualizuje každou minutu
- přilepí se na paži, funguje kontinuálně 14 dní
- data do čtečky se přenáší bezdrátově



... do čtečky lze zasunout i klasický páskový biosensor



Laboratorní klinické analyzátořy

přístroj	firma	glukosa + analyty
■ AUTOSTAT	Daiichi (Japonsko)	
■ EBIO Plus	Eppendorf / BST (Německo)	laktát, citrát, vit. C
■ Enzymat	Seres (Francie)	sacharóza, alkohol
■ ESAT	PGW Medingen (Německo)	laktát
■ EXSAN	(Litva)	laktát
■ GLUCO	Fuji Electric (Japonsko)	
■ i-Stat	I-Stat Corp. (USA)	močovina
■ Model 860	Ciba Corning (USA)	
■ NOVA 16	Nova Biomedical (USA)	močovina, kreatinin
■ Satellite G	MediSense (USA)	
■ YSI SELECT	Yellow Springs Instr. (USA)	laktát, etanol, cholin

Většinou se jedná o malé stolní přístroje, často doplněné zásobníkem vzorků



Někdy jsou biosensory příliš dobré...



- **glukosový / laktátový sensor**
 - přední měřící a zadní kontaktní pohled
- **trvanlivost příliš dlouhá – potřeba omezit „životnost“**
 - přidání obvodu počítajícího provedené analýzy,
 - po dosažení stanoveného počtu ukončení použitelnosti
 - integrovaný inkrementální čítač (1-wire counter)

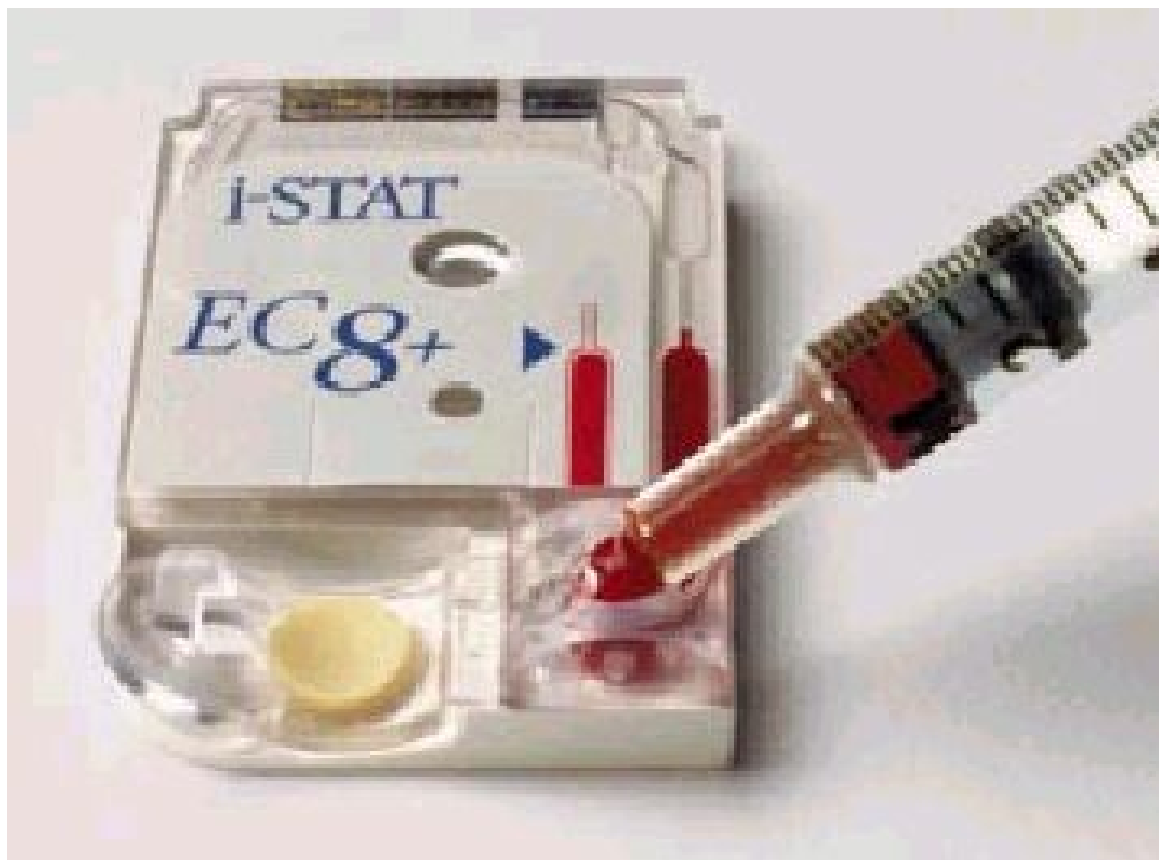


- předpoklad: analýza vzorků v místě jejich odběru (operační sál, lůžko pacienta) může podstatným způsobem zkrátit dobu do získání výsledků
- lze tedy urychleně provést kroky vedoucí ke zlepšení stavu pacienta
- decentralizované měření
- multikanálový elektrochemický biosensor, poskytující informace o klíčových látkách, analyzovaných při krizových situacích pacientů
- základní modul na jedno použití obsahuje měřicí sensory, zásobní roztok standardu a prostor pro nakápnutí vzorku krve
- **POINT OF CARE DIAGNOSTICS**



i-STAT - měřicí modul

- **analyty:** sodík, draslík, chloridy, oxid uhličitý, pH, močovina, glukóza a hematokrit
- program pak dopočítává další parametry jako např. koncentrace hemoglobinu, přebytek bází a podobně.



i-STAT

- po nakápnutí vzorku krve se měřicí modul zasune do přístroje
- vyčká se zobrazení výsledků
- měřicí modul je na jedno použití



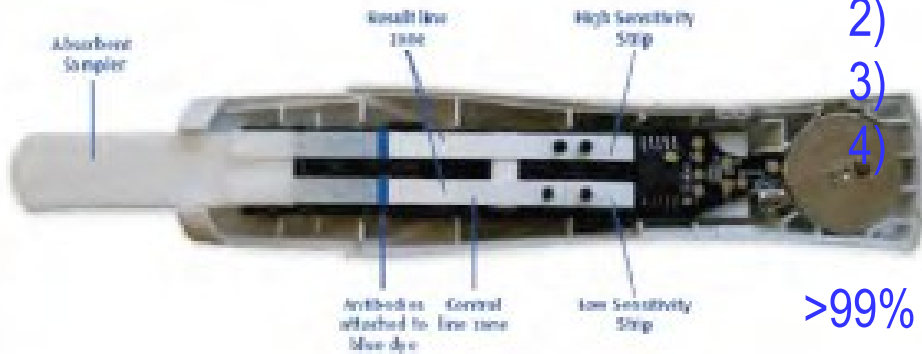
i-STAT - aplikace

- **hlavní kritérium vývoje:**
- **minimalizovat možnost chyb způsobených uživatelem (pouze naplní otvor pro vzorek krve a zasune modul do přístroje)**
- **zaručit vysokou kvalitu výsledků (ve výměnné kartridži je inkorporován kalibrační roztok). V rukou uživatelů - lékařů a sester - přístroj poskytuje výsledky srovnatelné kvality jako centrální laboratoř.**
- **přístroj původně směřován pouze do nemocnic, objevuje se i v ordinacích praktických lékařů a veterinářů, dokonce ve vojenství a objevil se na palubě při letech raketoplánů.**



Těhotenské testy

Pregnancy Tests with Conception Indicator



Launched July 2008, measures urinary hCG using both a low sensitivity and a high sensitivity strip. Control lines and results read using red light to measure density of lines by reflectometry yielding 4 possible semi-quantitative results:

- 1) Not pregnant
- 2) Pregnant with conception 1-2 weeks ago
- 3) Pregnant with conception 2-3 weeks ago
- 4) Pregnant with conception >3 weeks ago

>99% accurate in detecting pregnancy & 92% accurate in time predictions. Same price as visual strips.



Perspektivy

- **miniaturizace, nanotechnologie, integrace**
- **multiparametrové, paralelizace**
- **umělé biorekogniční elementy**
 - **na bázi kombinatorický technik – aptamery (SELEX), genetické knihovny**
 - **proteinové inženýrství - rekombinantní proteiny s vylepšenými vlastnostmi, chimérní biomolekuly**
 - **makromolekulární chemie – otisky analytu v polymerní struktuře - MIP (molecularly imprinted polymers)**



SUPPORTING AGENCIES (No. of projects)

NATIONAL NATURAL SCIENCE FOUNDATION OF CHINA (5,805)

NATIONAL SCIENCE FOUNDATION OF CHINA (1338)

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (1,166)

NATIONAL SCIENCE FOUNDATION (962)

FUNDAMENTAL RESEARCH FUNDS FOR THE CENTRAL UNIVERSITIES (681)

NATIONAL BASIC RESEARCH PROGRAM OF CHINA (631)

EUROPEAN UNION (437)

NATIONAL BASIC RESEARCH PROGRAM OF CHINA 973 PROGRAM (408)

PROGRAM FOR NEW CENTURY EXCELLENT TALENTS IN UNIVERSITY (269)

CHINA POSTDOCTORAL SCIENCE FOUNDATION (254)

CHINESE ACADEMY OF SCIENCES (250)

PRIORITY ACADEMIC PROGRAM DEVELOPMENT OF JIANGSU (180)

FAPESP (178)

0.85%
0.60%
0.55%
0.53%
0.45%
0.45%
0.44%
0.43%
0.42%
0.42%
0.41%
0.36%
0.35%
0.34%
0.33%
0.32%
0.32%
0.32%
0.31%
0.31%
0.29%
0.28%
0.27%
0.27%
0.26%
0.25%
0.25%
0.25%
0.25%
0.22%
0.22%
0.22%
0.17%
0.14%
0.13%



Biosensory v Česku

- **MU Brno**
 - **enzymy a protilátky, piezosensory / SPR / elektrochemie / nano...**
 - **životní prostředí / klinika / vojenské aplikace**
- **Biofyzikální ústav Brno**
 - **nukleové kyseliny / elektrochemie**
- **VÚ radiotechniky Praha**
 - **SPR, imunosensory**
- **VÚ Třeboň**
 - **fotosystém, elektrochemie**
- **UJEP Ústí nad Labem**
 - **fotosystém, elektrochemie, optické techniky**
- **BVT Technologies Brno**
 - **sítotisk, enzymy, výroba sensorů**
- **Služba výzkumu Postřelmov**
 - **imobilizace enzymů, výroba biomembrán**



Biosensory

- malé a levné
- rychlé, citlivé a specifické
- uživatelsky přívětivé

