

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:

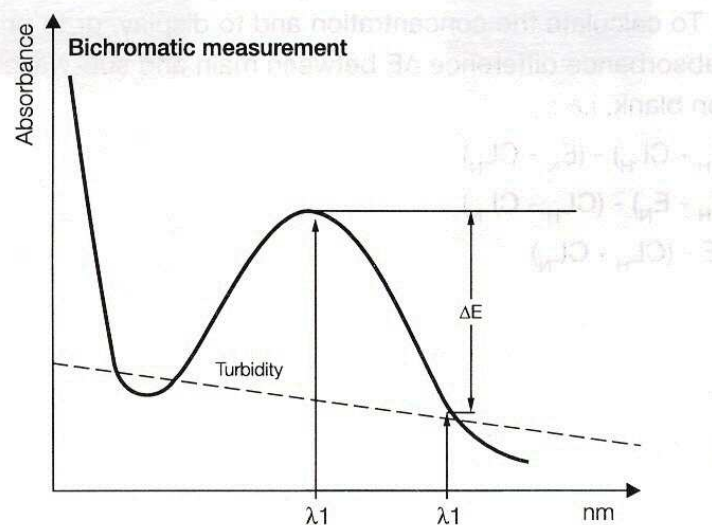
- **Minimální reakční objem: 180 μ l**
- **Objem vzorku: 2 – 35 μ l**
- **Vlnové délky: 340, 376, 415, 450, 480, 505, 546, 570, 600, 660, 700, 800 nm**
- **Reakční teplota: 37°C**
- **Reakční čas: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 minut**

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

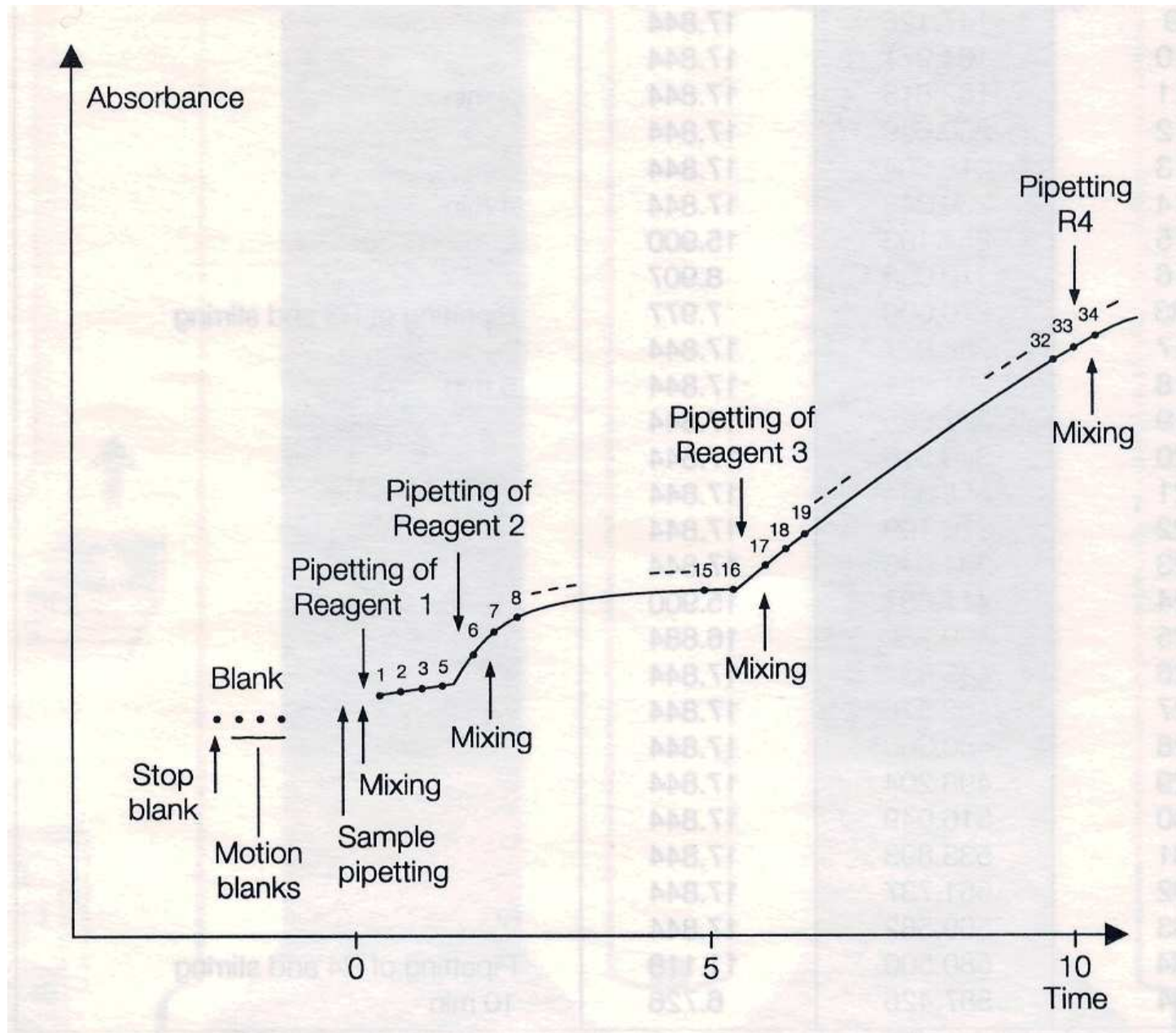
Pořadí přidávání reakčních komponent:

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“

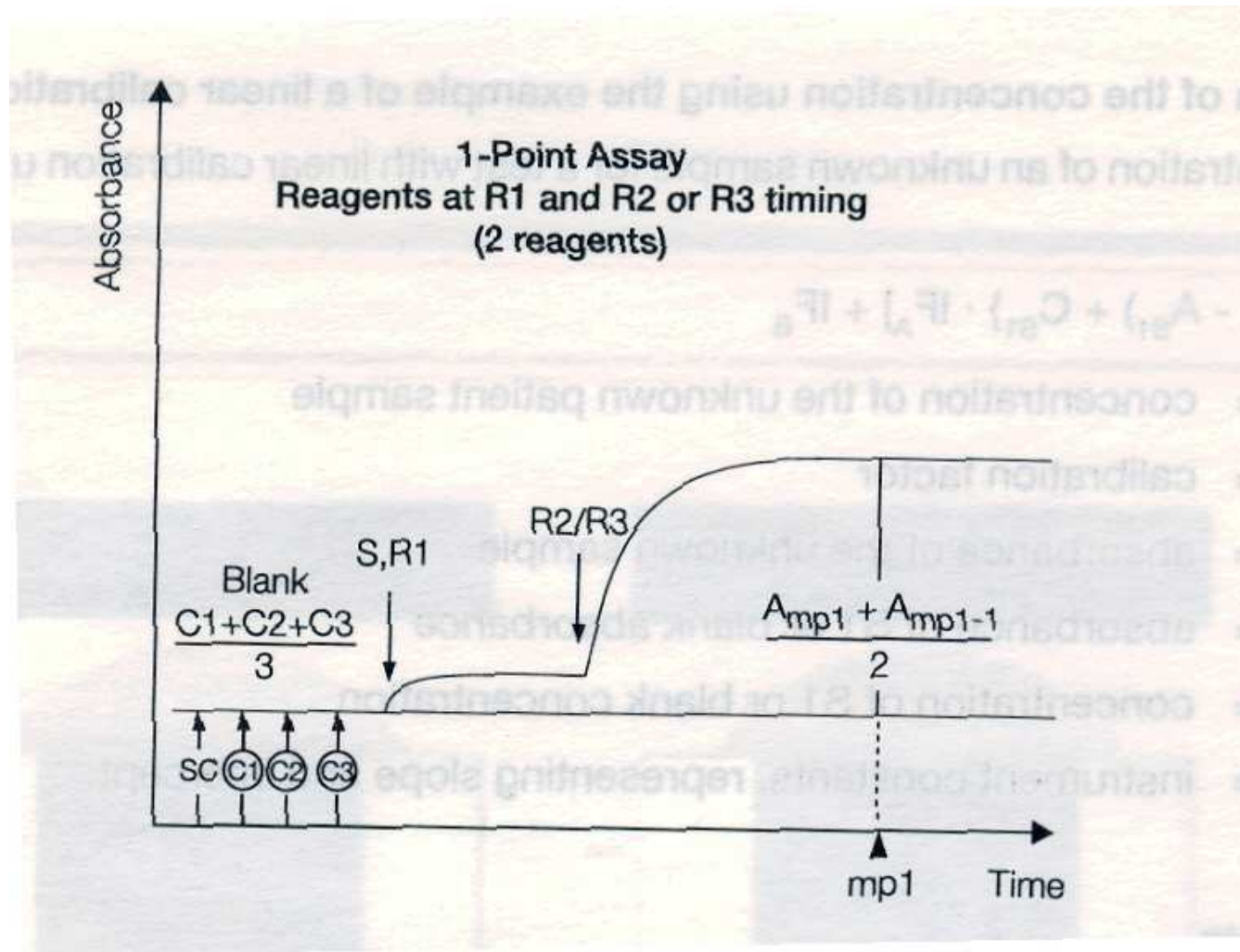
Měřící body reakce:

- 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

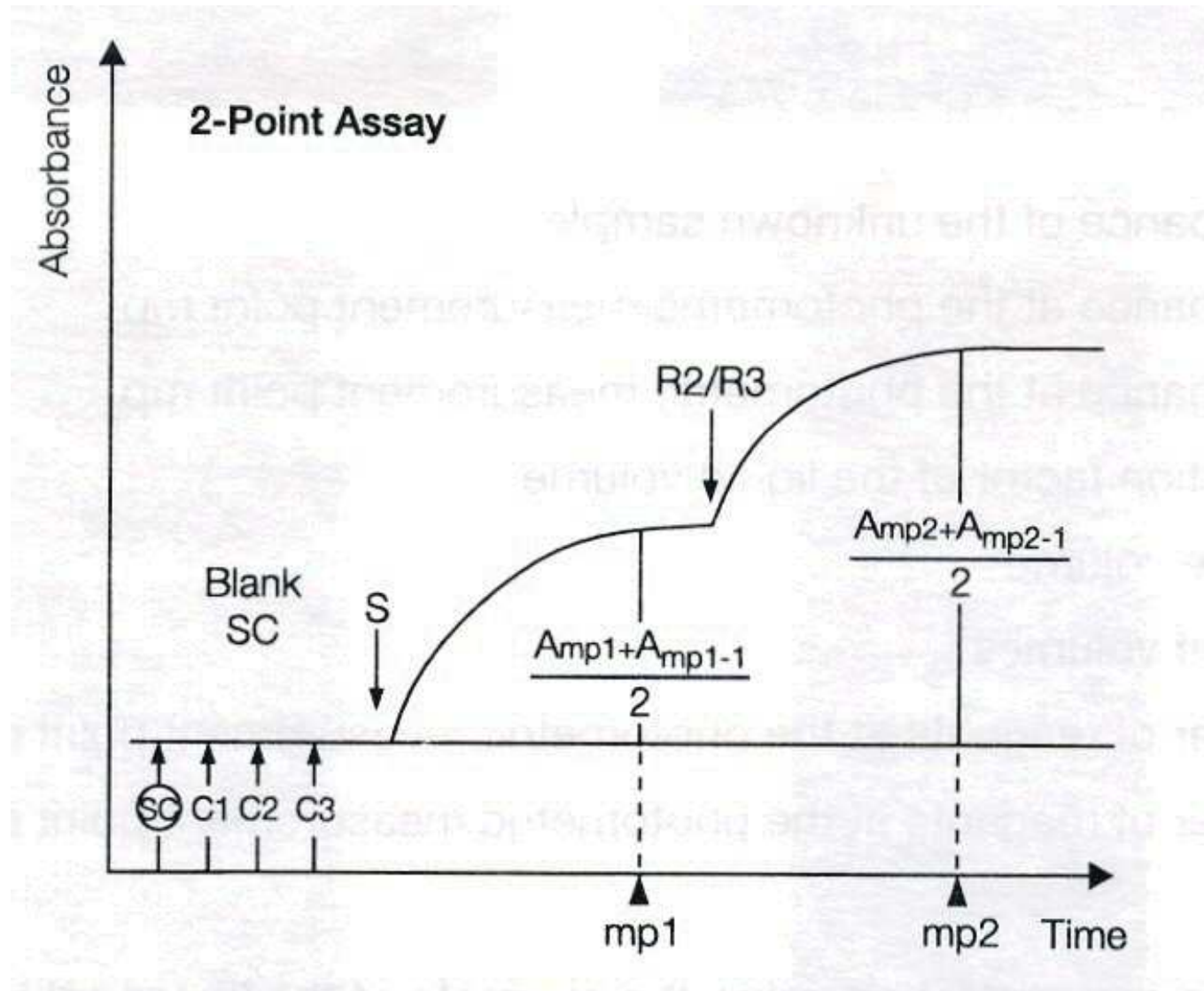


Typy měření:

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



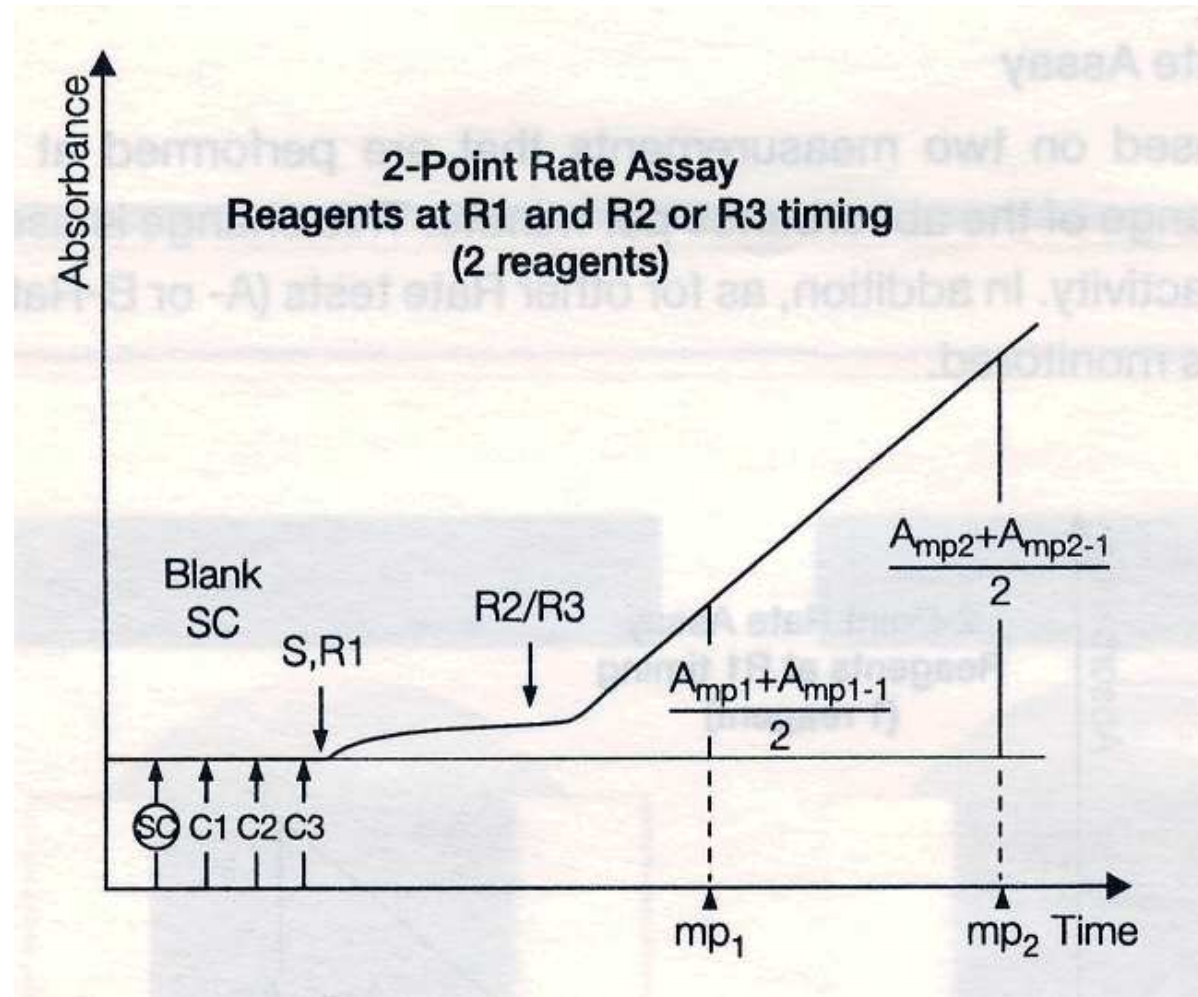
End point - dvojbodové (blank + konec reakce)



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)



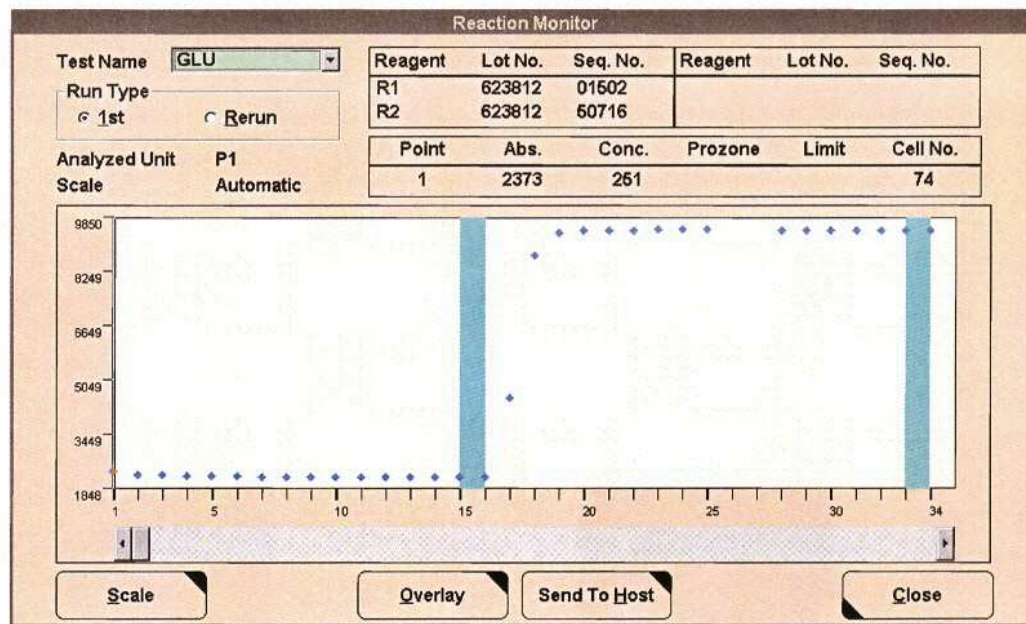


Figure G-88 Reaction Monitor window (P module)

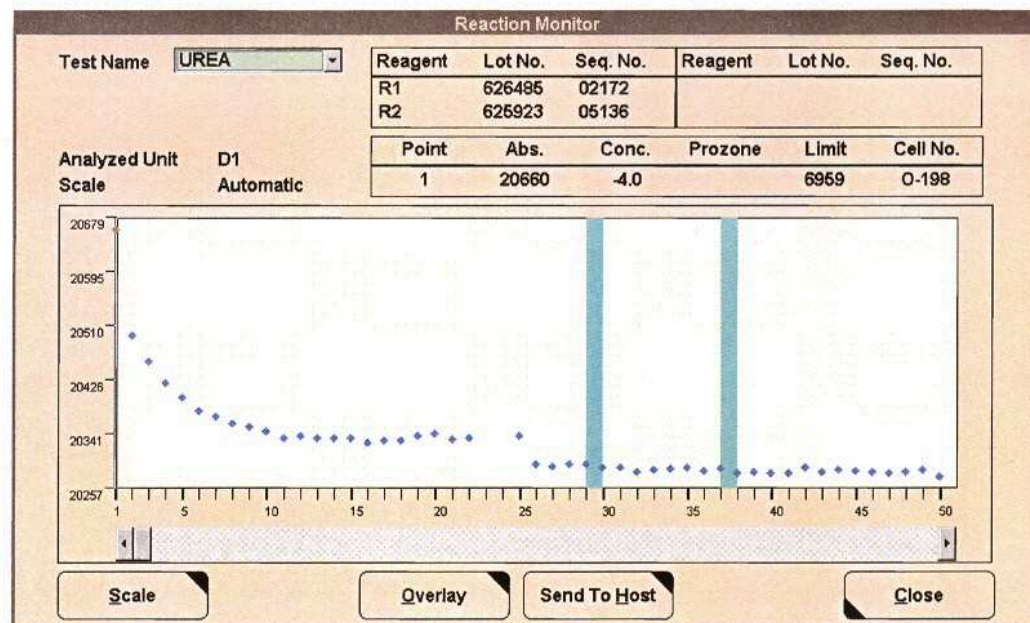
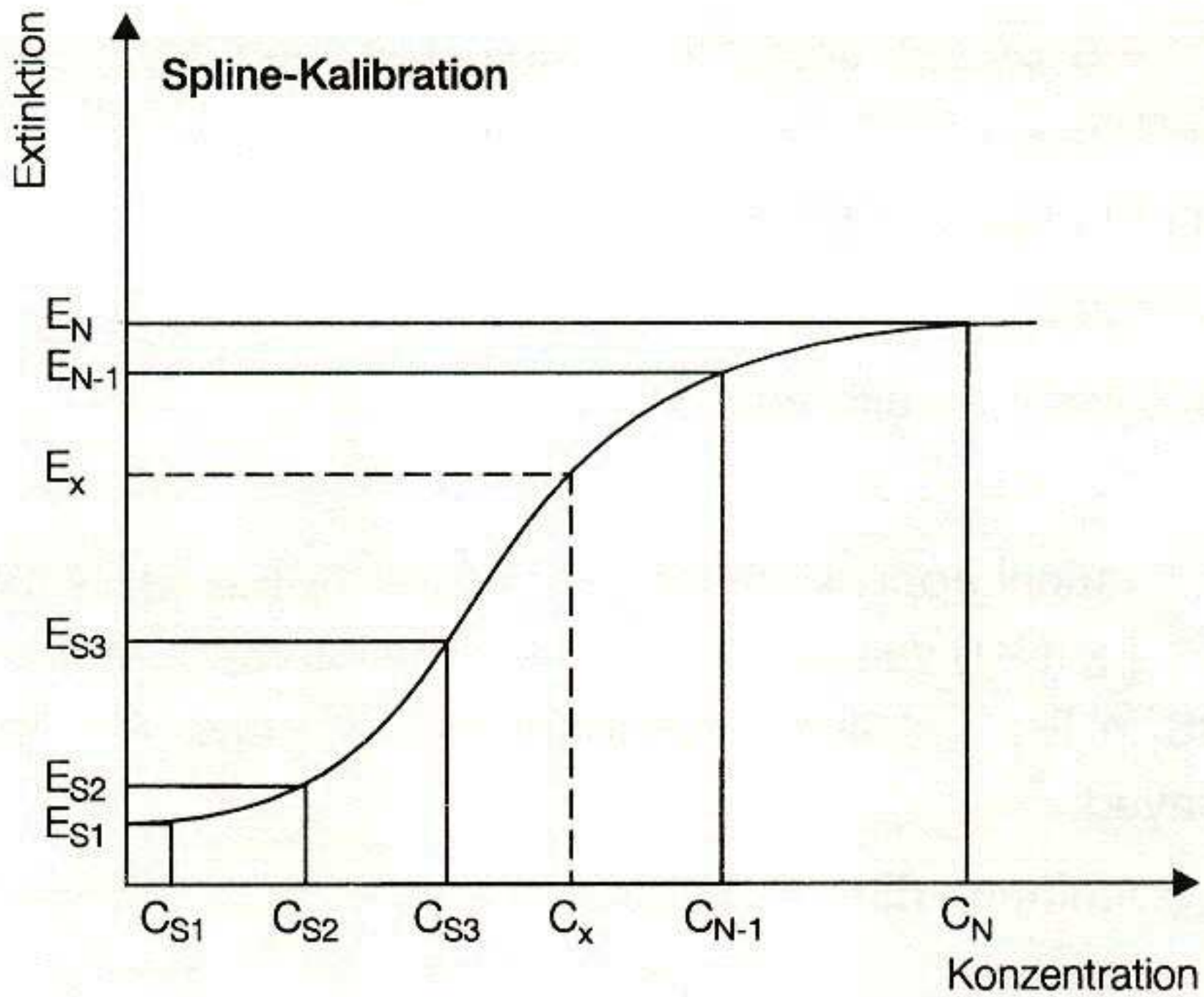


Figure G-89 Reaction Monitor window (D module)

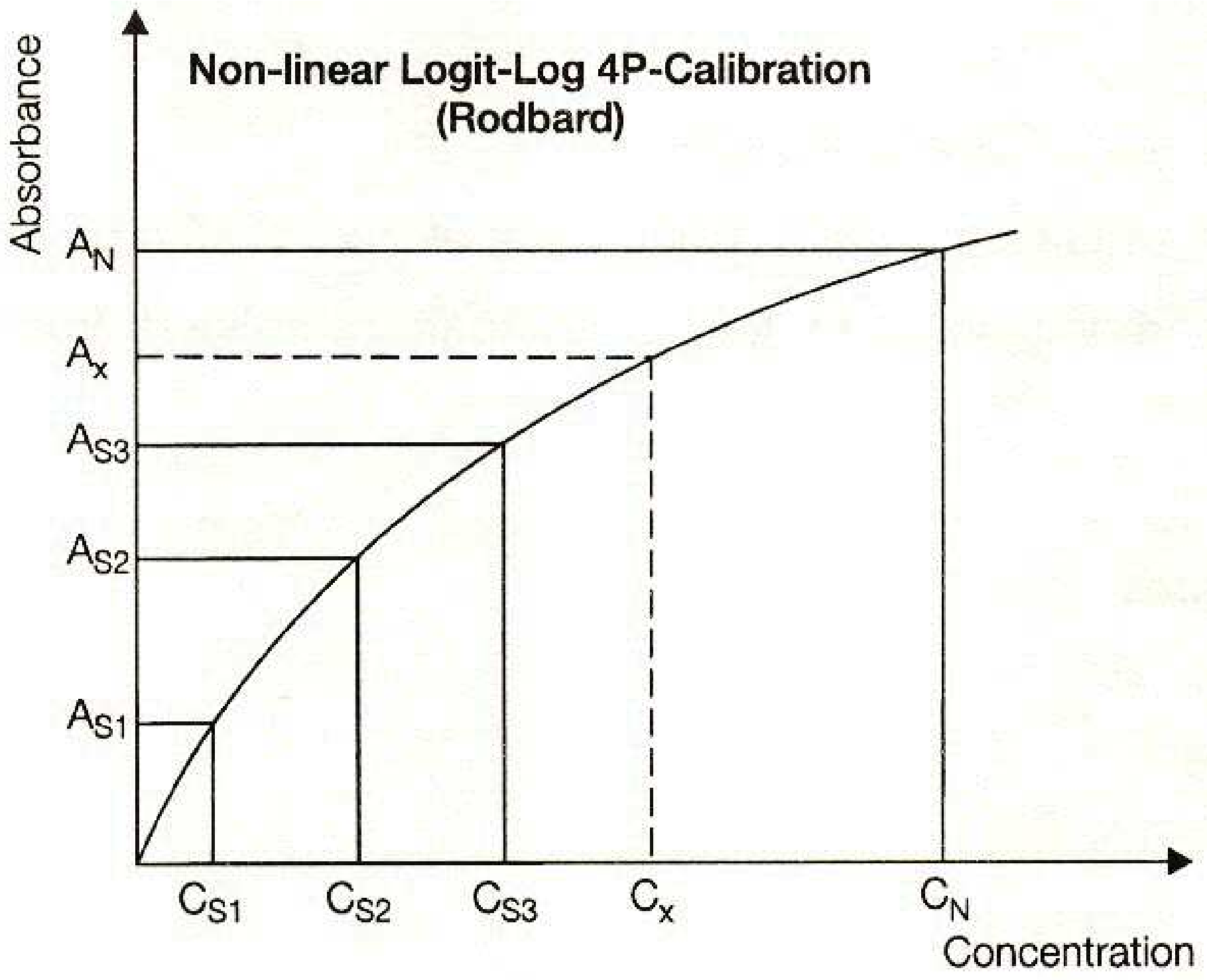
Způsoby kalibrace:

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)



Host Core SE 01 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

Test	Analyze	Calib.	Range	Others
D Ser/PI	Calibration Type	Linear		
3 CHOL P Ser/PI	Point	2		
4 GLU P Ser/PI	Span	2		
Urine	Weight	0		
CSF	Update Type	None		
D Ser/PI	Isozyme Q Channel	Cancel		
6 LDH P Ser/PI	SD Limit	0.1		
D Ser/PI	Duplicate Limit	5 % 20 Abs.		
6 MG P Ser/PI	Sensitivity Limit	-1.6 -0.9		
Urine	S1 Abs. Limit	-32000 32000		
7 S.I. P Ser/PI	<input checked="" type="checkbox"/> Auto Masking			
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				

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.

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	Calib. method	Cause
D1	ALT	2 Point	Timeout
D1	LDH		
D1	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: Blank, 2 Point, Full, Span

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

Help Select the module from the list box.

Stop Logoff S. Stop Alarm Print Start

Figure G-92 Status screen

Workplace		Reagent		Calibration		QC		Utility																																														
System		Maintenance		Application		Calc. Test		Special Wash																																														
Report Format		Module Set																																																				
Test		Analyze		Calib.		Range		Others																																														
<ul style="list-style-type: none"> 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 		<p>Standards</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>(1)</th> <th>(2)</th> <th>(3)</th> <th>(4)</th> <th>(5)</th> <th>(6)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calibrator Code</td> <td>501</td> <td>401</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Concentration</td> <td>0.0</td> <td>470</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Rack No. - Pos.</td> <td>S0002-1</td> <td>S0002-2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sample Volume</td> <td>5.0</td> <td>5.0</td> <td>10.0</td> <td>10.0</td> <td>10.0</td> <td>10.0</td> </tr> <tr> <td>Diluted S. Volume</td> <td>0.0</td> <td>0.0</td> <td>0.0</td> <td>0.0</td> <td>0.0</td> <td>0.0</td> </tr> <tr> <td>Diluent Volume</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>			(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	<p>Save</p> <p>Delete</p> <p>Read Barsheet</p>	
	(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																																																

? 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	Reagent	Lot No.	Seq. No.	Position
Linear	R1	624528	34560	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
<input type="text" value="1436"/>	<input type="text" value="5590"/>

Cancel

Working
Information

Update

OK

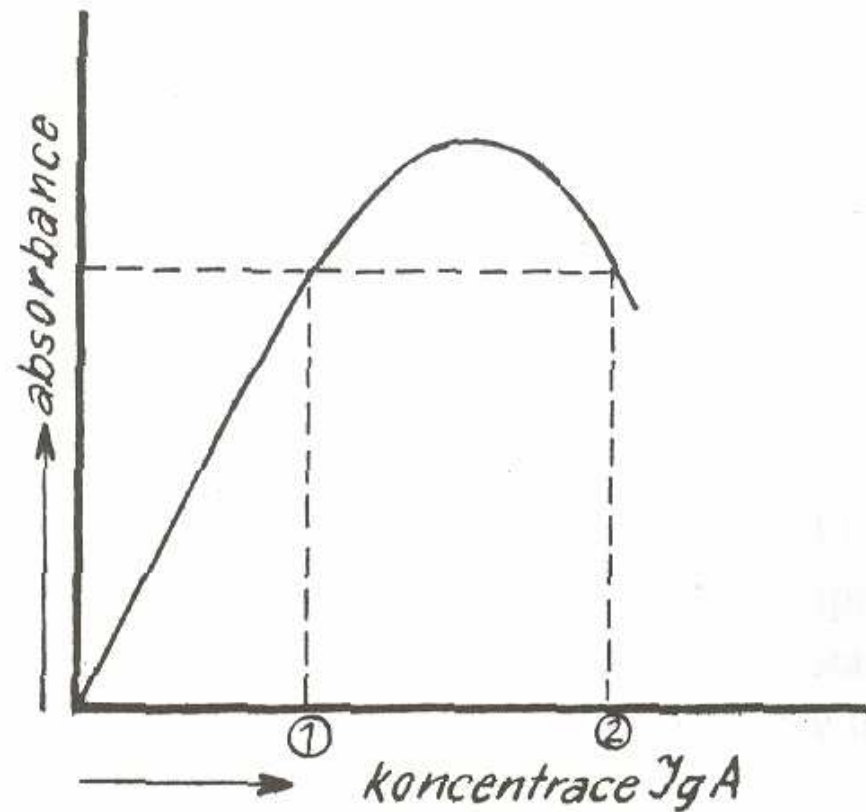
Figure G-269 Calibration Result (Photometry) window

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

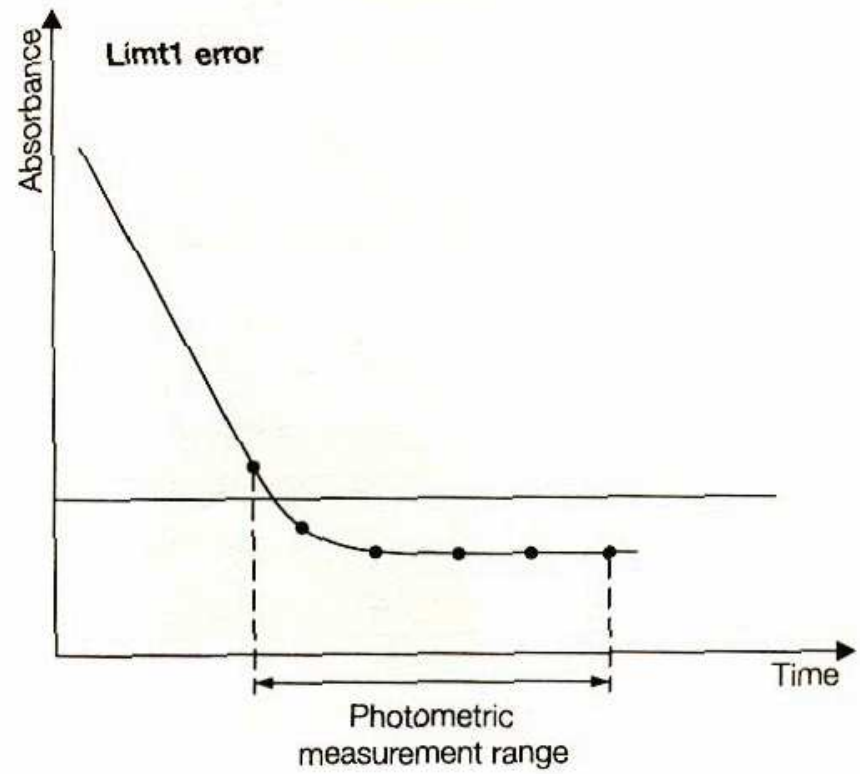
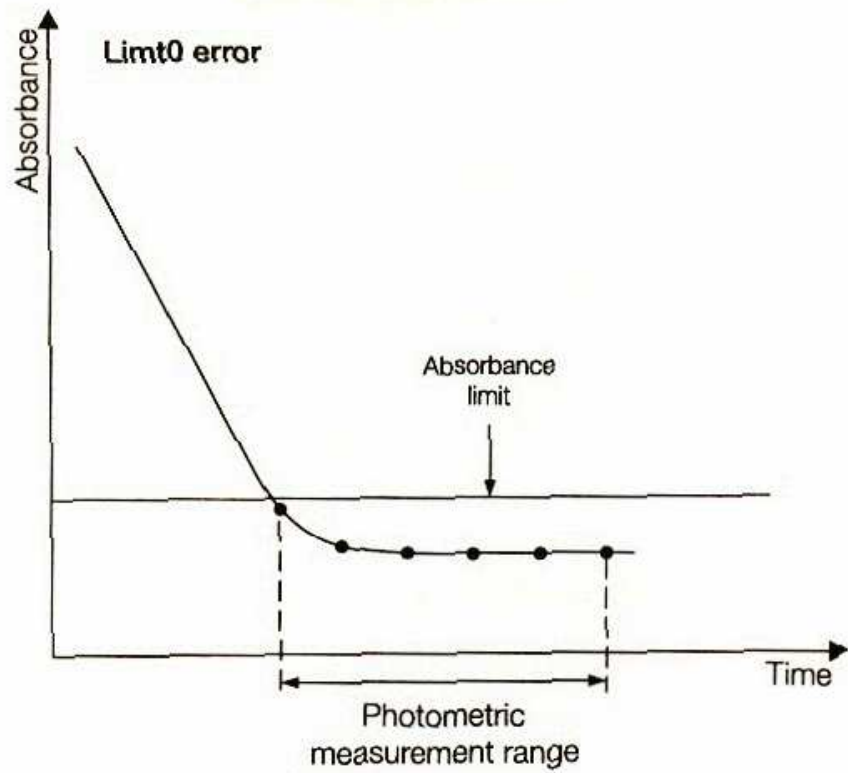
- Je prováděn automaticky u všech kinetických metod
- Linearita je kontrolována pomocí lineární regresní analýzy. Není-li splněna, vzorek je označen chybovým hlášením (př. Lin.)

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		Normal		3.0		0.0		0		Reagent Volume			
5 LDH P Ser/PI		Decrease		2.0		0.0		0		R1		190 0 418 28 Timing			
D Ser/PI		Increase		6.0		0.0		0		R2		0 0 418 0 T2			
6 MG P Ser/PI		Diluent		Water		Diluent		418		0		R3		110 0 418 28 T3	
Urine		Abs. Limit		6500		Decrease									
7 S.I. P Ser/PI		Prozone Limit		0		0		0		0		0		Lower	
8 TG P Ser/PI		Cell Detergent		Detergent 1											
D Ser/PI		Twin Test		Cancel		Barsheet Version 1		Save							
9 UREA P Ser/PI		Delete		Read Barsheet											
Urine		Help		NUM											
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															

- Stop
- Logoff
- S. Stop
- Alarm
- Print
- Start

? Help 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: Cord SE01 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
D Ser/PI	Application Code 672			Expected Values
3 CHOL P Ser/PI	Unit U/L			Male
4 GLU P Ser/PI	Report Name Test05			99 Year -99999 999999
Urine	Data Mode Active			100 Year -99999 999999
CSF	<input checked="" type="checkbox"/> Automatic Rerun			-99999 999999
D Ser/PI	Technical Limit 0 1200			Female
5 LDH P Ser/PI	Repeat Limit -99999 999999			99 Year -99999 999999
D Ser/PI	<input type="checkbox"/> Control Interval Time 1			100 Year -99999 999999
6 MG P Ser/PI	<input type="checkbox"/> Qualitative			-99999 999999
Urine	(1) 0 --			Default
7 S.I. P Ser/PI	(2) 0 -			Sex
D Ser/PI	(3) 0 +-			<input checked="" type="radio"/> Male <input type="radio"/> Female
9 UREA P Ser/PI	(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

