

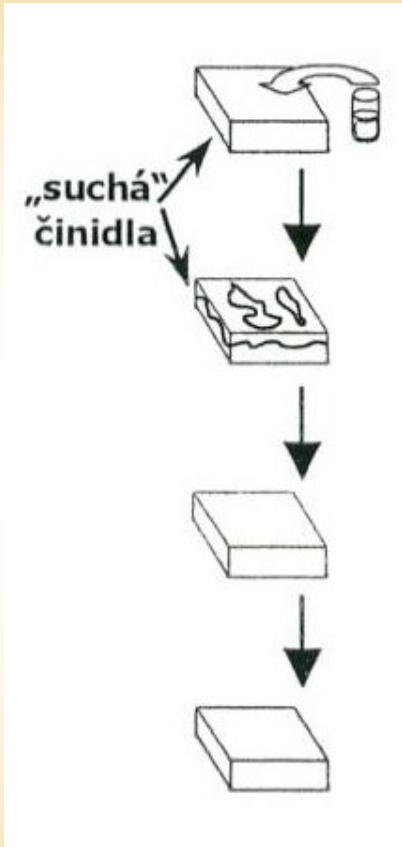
Suchá chemie

Miroslava Beňovská
(vychází z přednášky doc. Šterna)

Využití

- **Močová analýza – diagnostické proužky**
- **POCT – imunoanalytické kazety, diagnostické proužky**
- **Automatické analyzátory – řada analyzátorů Vitros, Ortho**

Průběh reakce



- Analyzovaný vzorek (moč, krev, sérum nebo plasma) je aplikován na povrch pevné fáze
- **Difunduje** do její matrice (u plné krve krevní elementy zůstanou na povrchu – filtrace) a **rozpouští** suché činidlo, které je v matrici dispergováno
- Rozpuštěné **činidlo reaguje s analyzovanou látkou** za vzniku barevného produktu
- Výsledné zbarvení na povrchu pevné fáze je sledováno vizuálně nebo instrumentálně

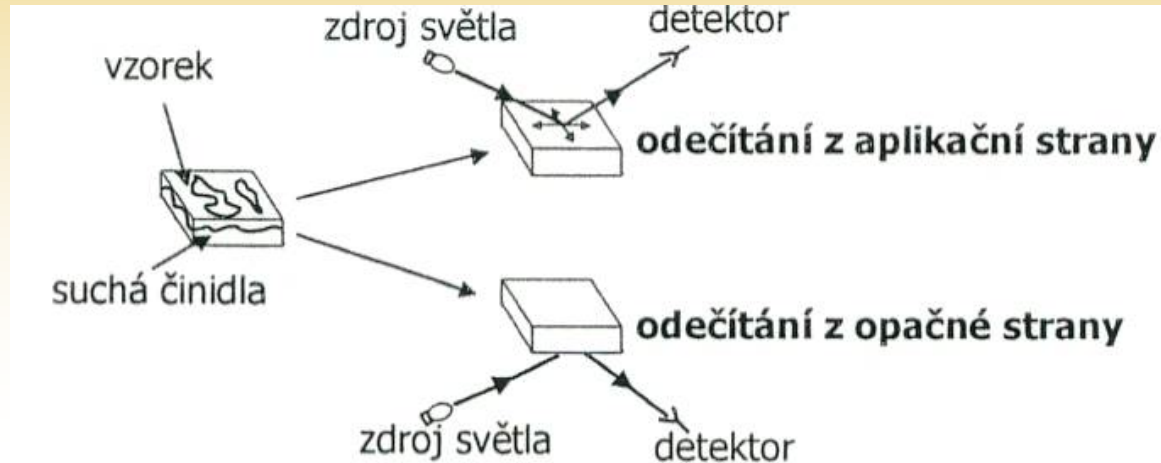
Typy matrice pro suchá činidla

- **Impregnovaná vlákna** – stanovení moče, stanovení glukózy
- **Vícevrstvý film (želatina)**
 - vyvinuty pro kapacitní laboratorní analyzátory stanovující komponenty krve, séra nebo plasmy
 - imunochemické POCT analyzátory

Celulózová impregnovaná vlákna

- **Celulózová matrice** (firma Bayer – Siemens) porézní či polopropustná
- Reagencie v suché formě distribuovány
 - **do matrice**
 - **na povrchu matrice**
- Postupná impregnace a zasoušení jednotlivých činidel
- **Činidla oddělena** separační vrstvou polymeru (ta při hydrataci praskne)

Reflexní fotometrie



- **Impregnovaná vlákna mají vysokou opacitu (neprůhlednost)**
- **Ke stanovení jejich zbarvení nutno využít reflexní fotometrii**
 - měření reflexe plochy na kterou byl aplikován vzorek (Bayer – Siemens)
 - měření ze stejné strany jako nanesen vzorek, ale na jiném místě (Roche, vhodné i pro plnou krev – přístroj Reflotron)
 - měření z opačné strany než aplikován vzorek (vícevrstvé filmy)

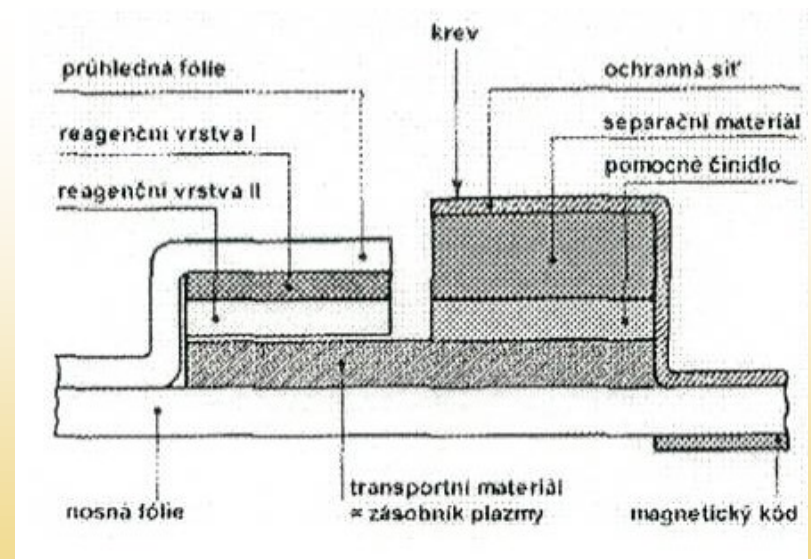
Stanovení z plné krve – skleněná vlákna (přístroj Refletron)

Vrstva skleněných vláken je vhodná:

- ke **kvantitativnímu zadržení erytrocytů**
- zajištění **dávkování** vhodného množství plasmy na reakční vrstvu (vzhledem k různému množství hematokritu nesmí být plasmy nedostatek ani přebytek) – vrstva skleněných vláken – **rezervoár plasmy**

Skleněná vlákna

- Transportní vrstvou se dostává plasma pod reakční zónu
- Start reakce se provede přitlačením reakční zóny na rezervoár plazmy
- Tím si reakční zóna odebere potřebné množství vzorku a přebytek je vytlačen mimo reakční zónu



Vícevrstvý film

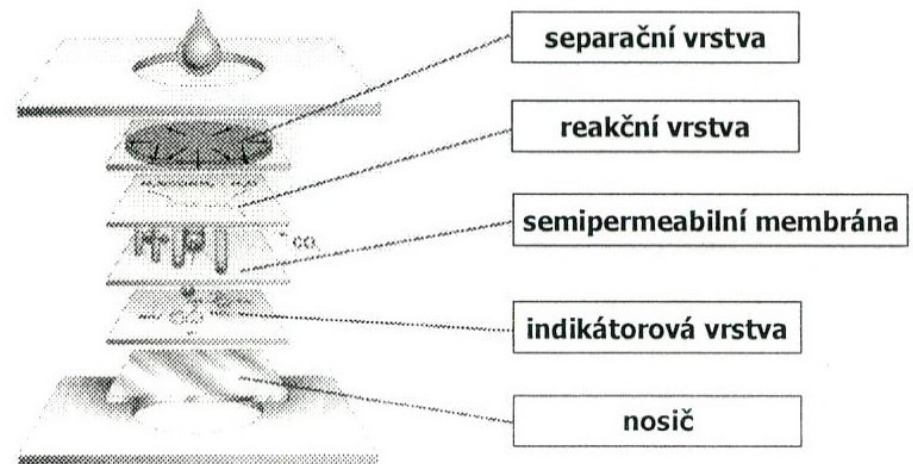
- Technika poprvé popsána v r.1978
- Činidla neobalují vlákna – jsou uložena v **tenkých plochých vrstvách**
- Jako podkladová báze bílkovina – zpravidla **želatina**
- Činidla umístěna v matrici hydrofilního polymeru – ten nanesen na **průhlednou plastovou fólii** (během nasávání polymer zbobtná – tak reguluje množství séra)

Vícevrstvý film

Stanovení močoviny - film má pět vrstev:

- 1. Zadržení vysokomolekulárních látek a reflexní vrstva při fotometrii**
- 2. Reagenční vrstva – hydrofilní matrice s ureázou hydrolyzuje močovinu na $\text{NH}_3 + \text{CO}_2$**
- 3. Semi permeabilní membrána – propouští amoniak**
- 4. Indikátorová vrstva – barevná reakce mezi NH_3 a merocy-aninovým indikátorem**
- 5. Transparentní vrstva jako nosič**

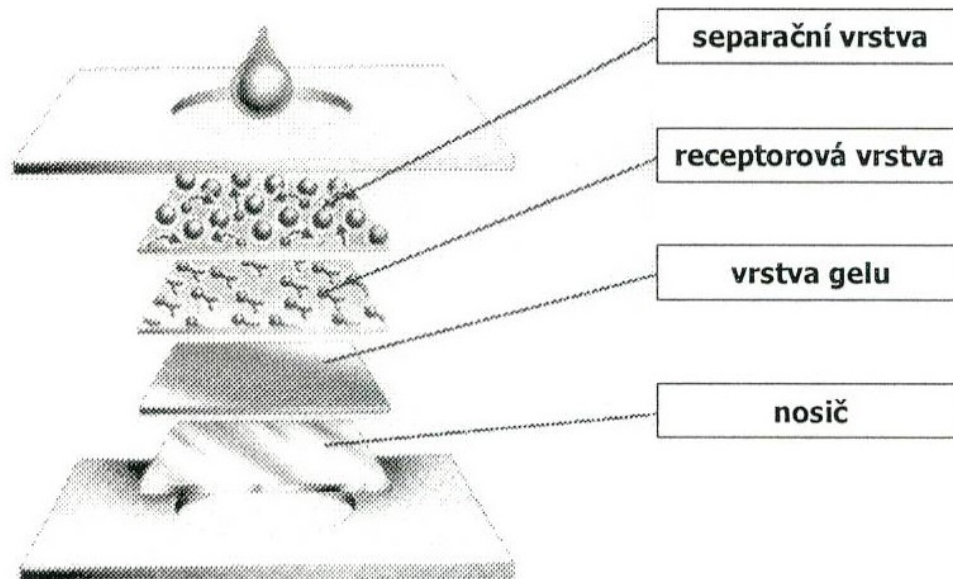
Příklad stanovení substrátu močovina



Vícevrstvý film – příklad imunoanalytického stanovení

- Imunologické destičky obsahují vrstvy s protilátkou
- Nízkomolekulární analyty – kompetitivní princip (digoxin)
- Vysokomolekulární analyty - nekompetitivní princip (CRP)

Příklad imunostanovení



Vícevrstvý film - využití

- Firma **Fuji** – horní rozptylová vrstva z tkaniny na bázi celulózy (zachytí destičky a erytrocyty)
- Vyšší homogenita matrice filmu umožňuje získat přesné výsledky (**Johson & Johson**) - využití na analyzátorech J& J Vitros 250 a 950, Ortho - ty nahrazují klasické automatické analyzátory

Analyzátory řady Vitros, Ortho

- Pracují bez kapalných reagensů
- Reakční zónu tvoří tzv. „**slide**“, na kterém je zabudována suchá reagenční multivrstva na podložce z polystyrenu
- Princip - **reflexní fotometrie** - výpočet koncentrace využívá Williams – Clapperova vztahu – pro kalibrační křivku nutné tři koncentrační hladiny
 - **potenciometrie**
- Doba analýzy - test do 5 minut



J a J Vitros 950, Ortho