

Автоматизация биохимических исследований

Бабин К. С. АО «Вектор-Бест»



План

- Автоматизация
- Основные принципы биохимического анализа
- Биохимические анализаторы
- Основные принципы адаптации биохимических наборов



Задачи автоматизации

- Максимально автоматизировать процесс исследования
- Уменьшить влияние человеческого фактора
- Сократить расход реагентов
- Обеспечить хорошую внутри- и межлабораторную воспроизводимость
- Внедрить современные методы исследования в рутину лаборатории



БЫЛО



Выборит различные пластиковые пробирки образцами жидкости
© Наталья Васильева / Фотобанк Лори

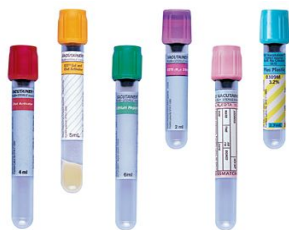
lori.ru/3640348



Результат



Стало



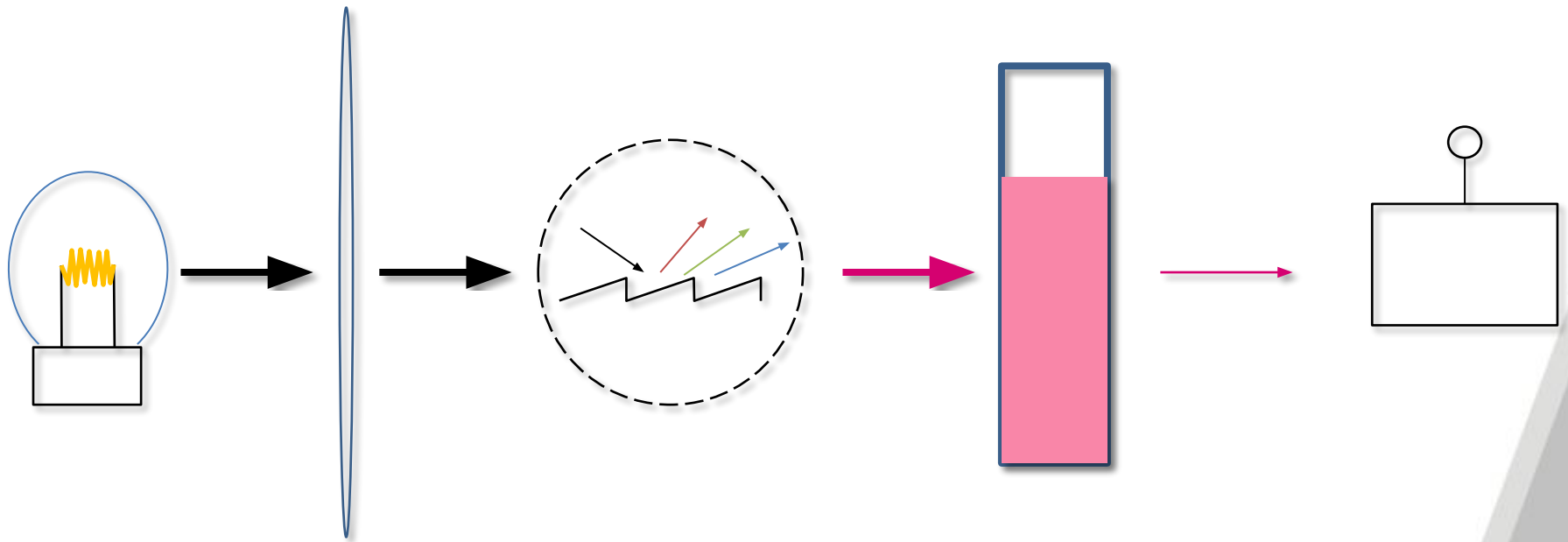
Результат



Основные принципы биохимического анализа



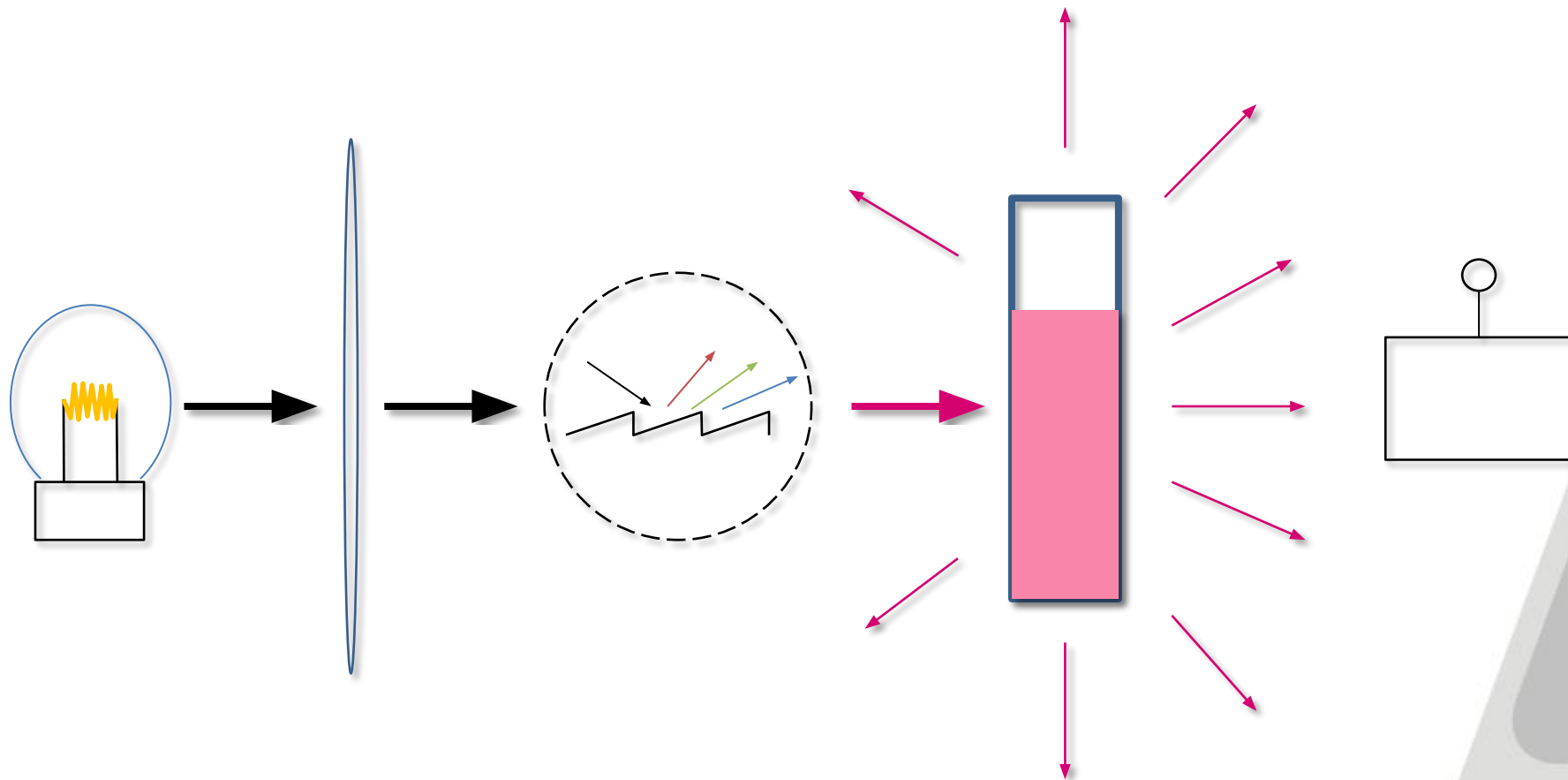
Фотометрия



Закон Бугера-Ламберта-Бера $A = \varepsilon / C$



Турбидиметрия















Биохимические анализаторы



Аналитический процесс

Дозирование пробы
и реагентов

Фотометрические
измерения

Инкубация
реакционной смеси

Расчет результата

Автоматизация



Оборудование для биохимического анализа

Фотометр



Полуавтоматический анализатор



Автоматический анализатор

Фотометрия



Биохимические анализаторы

Автоматические



Полуавтоматические



Полуавтоматический б/х анализатор



Автоматический б/х анализатор



Аналитические характеристики

- Лампа (галогеновая/светодиоды) и светофильтры
 - Качество
 - Стабильность и ресурс
- Дозаторы
 - Точность дозирования
- Кюветы
 - Одноразовые или моющая станция
 - Сухой или водный термостат
- Программное обеспечение
 - Калибровка (линейная и нелинейная)
 - Контроль качества



Производительность

- Скорость дозирования
 - Количество рук-дозаторов
 - Количество реакционных кювет или наливная кювета
- Фотометр
 - Цикл измерения
- Методика
 - Количество реагентов
 - Тип методики (конечная точка и т.п.)
- Программное обеспечение
 - Последовательность выполнения:
тест за тестом, пациент за пациентом или
свободный доступ



Удобство в работе

- Штатив для реагентов
 - Емкость
 - Возможность снять штатив
 - Охлаждение
- Штатив для образцов
 - Емкость
 - Возможность снять штатив
 - Специальные чашки, первичные пробирки
- Расход воды и промывочных растворов
- Программное обеспечение
- Открытая или закрытая система
- Надежность



Какой анализатор выбрать?

Перечень
методик

Аналитические
характеристики

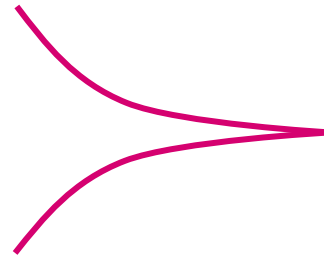
Организация
потоков

Число
исследований

Бюджет
лаборатории



Какие выбрать наборы?



1 Определить тип оборудования

2 Выбрать соответствующие наборы

Основные принципы адаптации наборов к биохимическим анализаторам



Интерфейс программы анализатора

General Info

Name Code Barcode Unit Decimal digits

Visible Type No. of rgt Multiply diluted result

Notes

Filters

F1 F2

Volumes [microlitres]

Sample

R1 R2 R3

Bottle sizes

R1 R2 R3

Reagents

Include blank in calc.

Blank Abs (min; max)

Reagent linearity

Detection limit

Controls

C1 C2 C3

Incubation/Reading time [sec]

Substrate/Sample Start

R1,S -> R2 R1,R2,S -> R3 Final incub.

Kinetic reading time

Kinetic/Fixed Time data

Substrate depletion

Fit limit

Calibrations

No. of Standards

Instrument Factor (Y = aX + b)

a b

Reference Ranges

Sample type

Patient... Min Max

Formula Builder

View Restrictions

Print

Delete

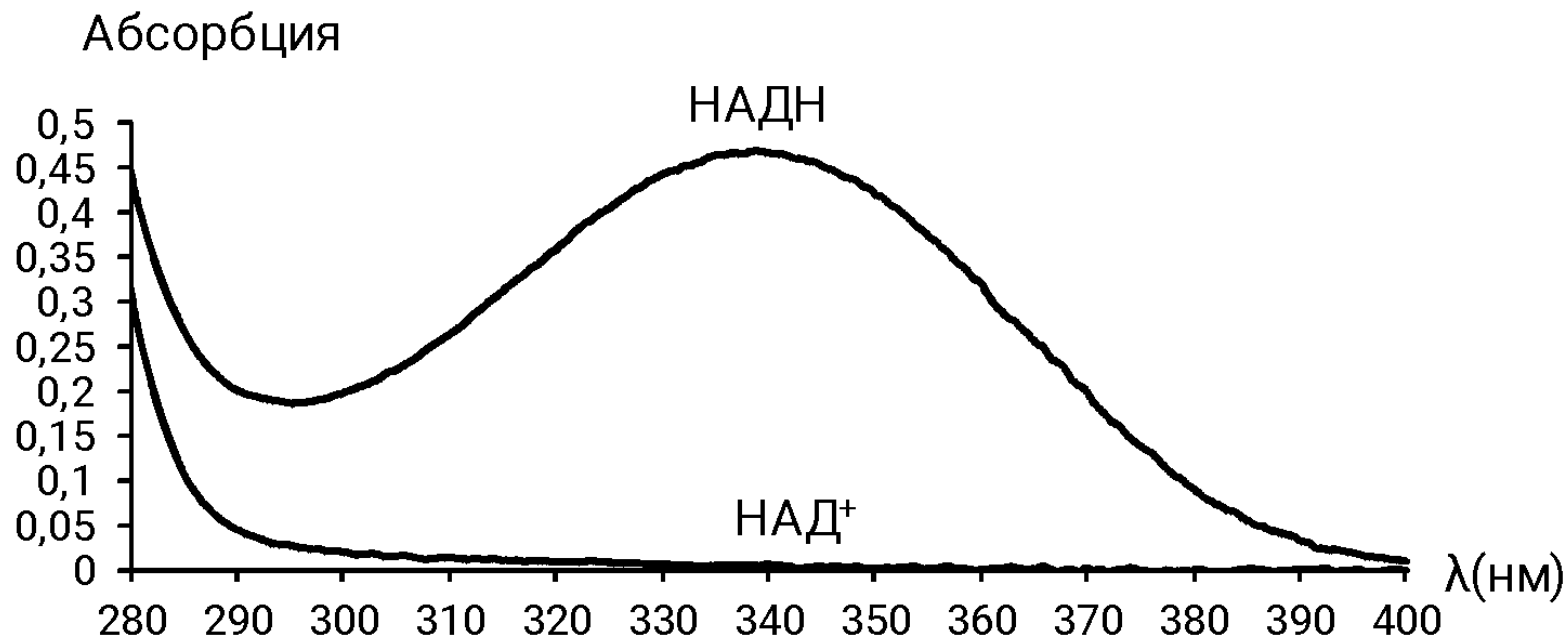
Save

Основные параметры

- **длина волны (*wavelength*)**
 - **основная длина волны (*main wavelength*)**
 - **вторая длина волны (*sub wavelength*)**
- **тип реакции (*method, mode*)**
- **единицы измерения (*unit*)**
- **число значимых знаков после запятой (*decimals*)**
- **температура (*temperature*)**
- **время задержки (*delay time*)**
- **время реакции (*reaction time*)**



Спектры поглощения НАДН и НАД⁺



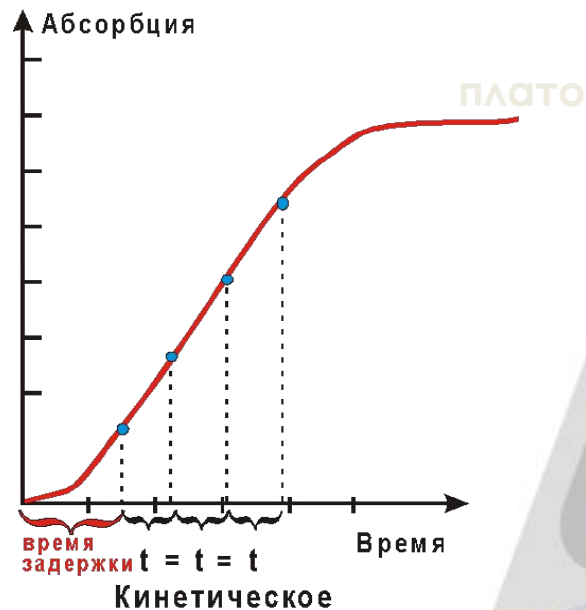
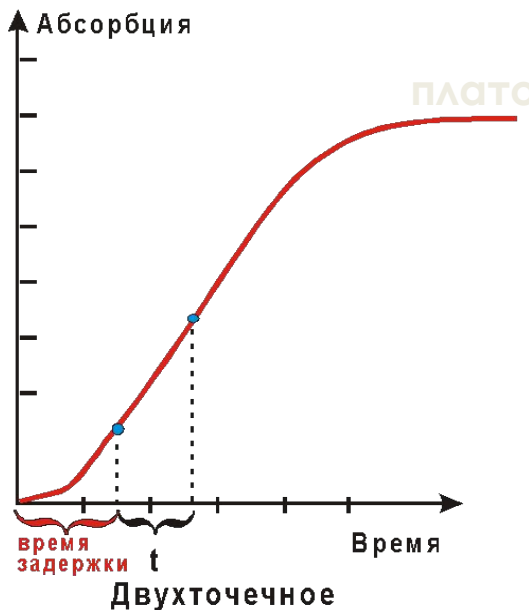
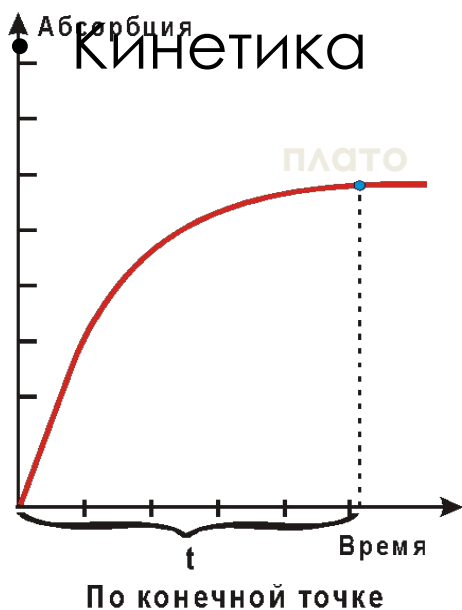
Основные параметры

- **длина волны (wavelength)**
 - **основная длина волны** (*main wavelength*)
 - **вторая длина волны** (*sub wavelength*)
- **тип реакции (method, mode)**
- **единицы измерения** (*unit*)
- **число значимых знаков после запятой** (*decimals*)
- **температура** (*temperature*)
- **время задержки** (*delay time*)
- **время реакции** (*reaction time*)



Тип реакции

- Конечная точка
- Дифференциальная методика
- Фиксированное время



Основные параметры

- **длина волны (wavelength)**
 - **основная длина волны** (*main wavelength*)
 - **вторая длина волны** (*sub wavelength*)
- **тип реакции (method, mode)**
- **единицы измерения (unit)**
- **число значимых знаков после запятой** (*decimals*)
- **температура** (*temperature*)
- **время задержки** (*delay time*)
- **время реакции** (*reaction time*)



Основные параметры

- **длина волны (wavelength)**
 - **основная длина волны** (*main wavelength*)
 - **вторая длина волны** (*sub wavelength*)
- **тип реакции (method, mode)**
- **единицы измерения (unit)**
- **ЧИСЛО ЗНАЧИМЫХ ЗНАКОВ ПОСЛЕ ЗАПЯТОЙ**
- **температура (temperature)**
- **время задержки (delay time)**
- **время реакции (reaction time)**



Основные параметры

- **длина волны (wavelength)**
 - **основная длина волны** (*main wavelength*)
 - **вторая длина волны** (*sub wavelength*)
- **тип реакции (method, mode)**
- **единицы измерения** (*unit*)
- **число значимых знаков после запятой** (*decimals*)
- **температура (temperature)**
- **время задержки** (*delay time*)
- **время реакции** (*reaction time*)

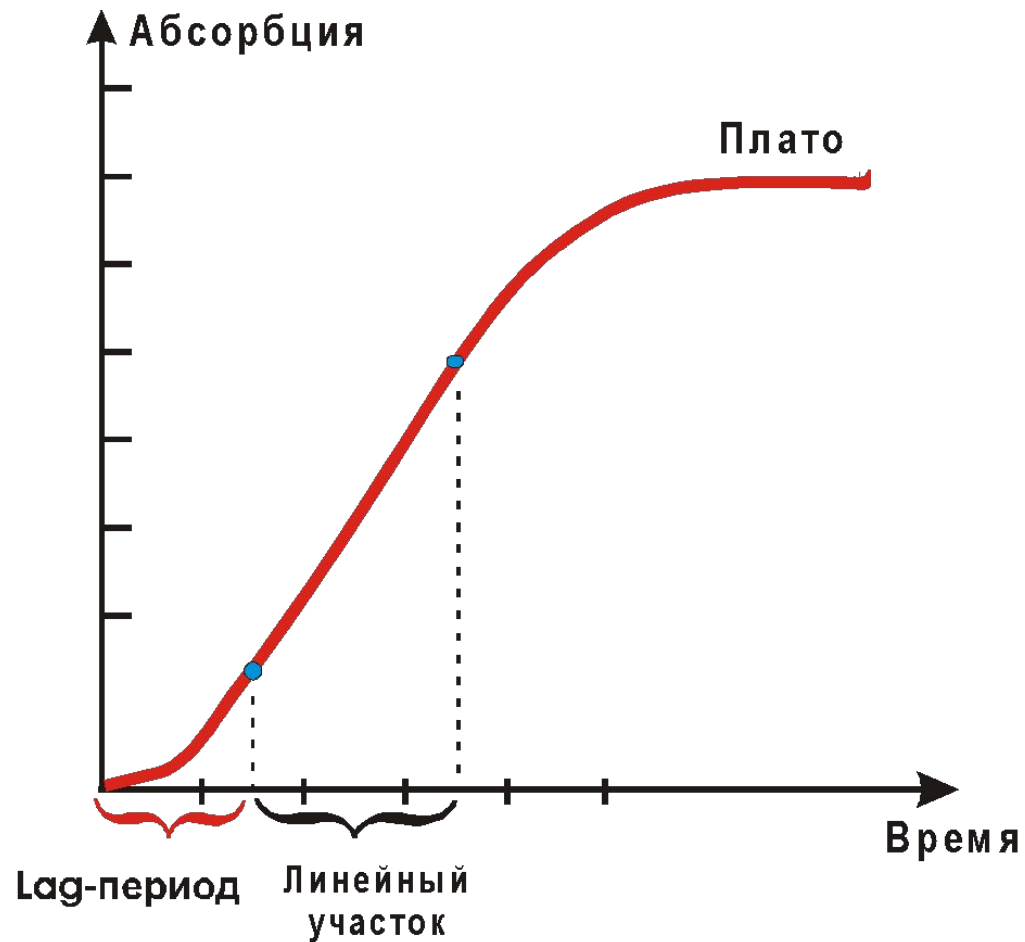


Основные параметры

- **длина волны (wavelength)**
 - **основная длина волны** (*main wavelength*)
 - **вторая длина волны** (*sub wavelength*)
- **тип реакции (method, mode)**
- **единицы измерения** (*unit*)
- **число значимых знаков после запятой** (*decimals*)
- **температура** (*temperature*)
- **время задержки (delay time)**
- **время реакции** (*reaction time*)



Время задержки



Основные параметры

- **длина волны (wavelength)**
 - **основная длина волны** (*main wavelength*)
 - **вторая длина волны** (*sub wavelength*)
- **тип реакции (method, mode)**
- **единицы измерения** (*unit*)
- **число значимых знаков после запятой** (*decimals*)
- **температура** (*temperature*)
- **время задержки** (*delay time*)
- **время реакции (reaction time)**



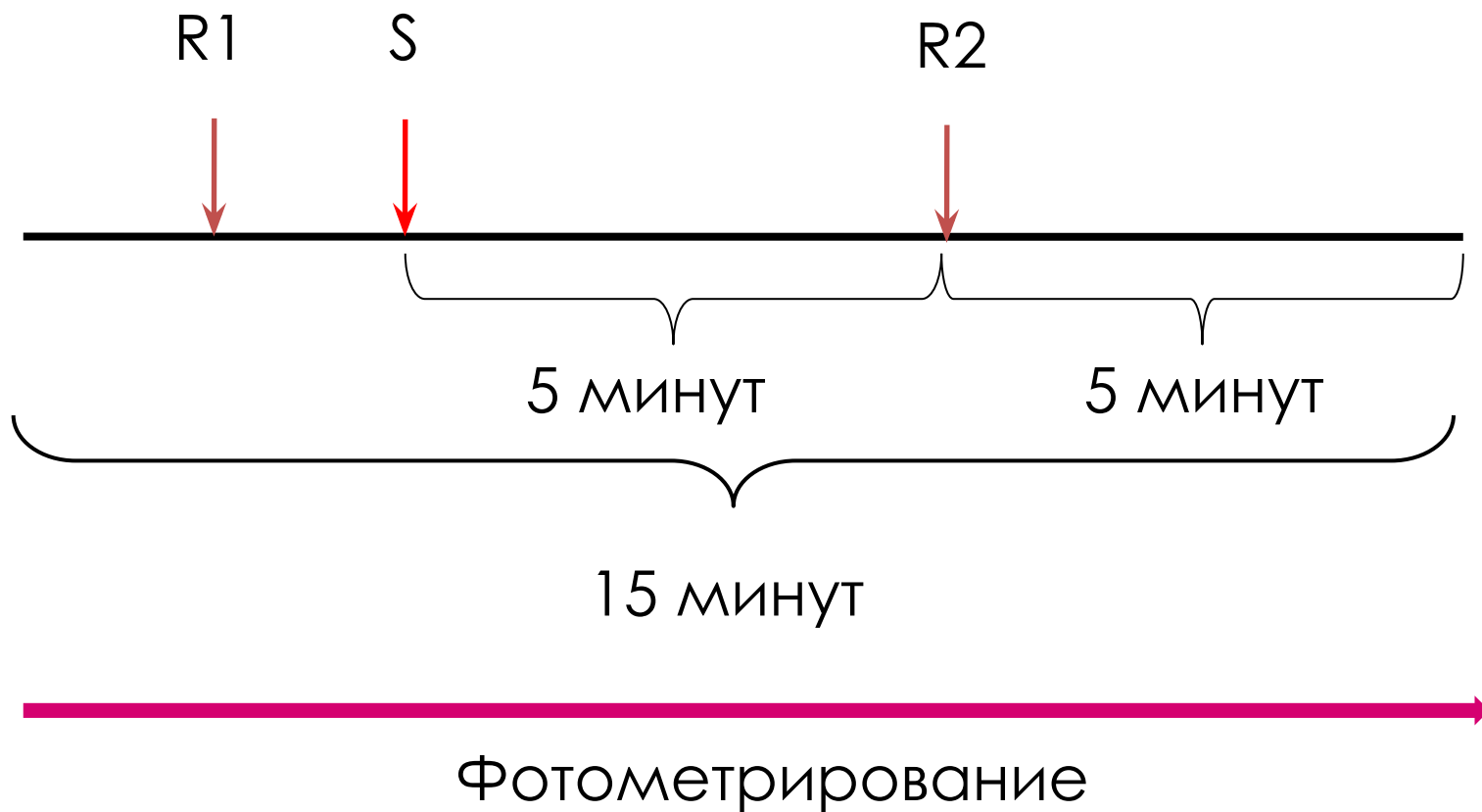
Время реакции



- Минимальное время реакции (считывания) для кинетики определяется чувствительностью прибора
- Количество точек считывания не может быть меньше трех
- Минимальное время для конечной точки определяется временем выходом реакции на плато



Схема анализа (Sapphire-400)



Основные параметры

- **холостая проба (reagent blank)**
- **калибратор (calibrator)**, или **фактор** для ферментов (*factor*)
- **предел абсорбции (absorption limit)**
- **объем образца (sample volume)**
- **объем пробы (reagent volume)**
- **предел линейности (linearity limit, linear range)**
- **нормальные величины (normal range)**
- **засасываемый объем (aspirate volume)**



Основные параметры

- холостая проба (reagent blank)
- **калибратор (calibrator), или фактор для ферментов (factor)**
- предел абсорбции (*absorption limit*)
- объем образца (*sample volume*)
- объем пробы (*reagent volume*)
- предел линейности (*linearity limit, linear range*)
- нормальные величины (*normal range*)
- засасываемый объем (*aspirate volume*)



Расчет активности фермента по формуле Ламберта-Бера

$$E = \Delta A / \text{мин} \times \frac{V \times 1000}{\underbrace{\varepsilon \times l \times s}_F}$$

E – активность фермента, Е/л;

Δ А/мин – изменение оптической плотности реакционной смеси

за 1 мин, ед. опт. плотности/мин

V – объём реакционной смеси, мл;

ε – миллимолярный коэффициент экстинкции, л/ммоль·см;

l – длина оптического пути, см;

s – объём пробы (сыворотки), мл;

1000 – коэффициент пересчёта активности в мкмоль/мин. × л;

F – фактор



Коррекция фактора

По мультикалибратору:

$$F = \frac{C_{\text{калибратор}}}{\Delta A_{\text{калибратор}}}$$

Основные параметры

- холостая проба (**reagent blank**)
- калибратор (*calibrator*), или **фактор** для ферментов (*factor*)
- **предел абсорбции (absorption limit)**
- объем образца (*sample volume*)
- объем реагента (*reagent volume*)
- предел линейности (*linearity limit, linear range*)
- нормальные величины (*normal range*)
- засасываемый объем (*aspirate volume*)



Основные параметры

- холостая проба (**reagent blank**)
- калибратор (*calibrator*), или **фактор** для ферментов (*factor*)
- предел абсорбции (*absorption limit*)
- **объем образца (sample volume)**
- объем реагента (*reagent volume*)
- предел линейности (*linearity limit, linear range*)
- нормальные величины (*normal range*)
- засасываемый объем (*aspirate volume*)



Основные параметры

- холостая проба (**reagent blank**)
- калибратор (*calibrator*), или **фактор** для ферментов (*factor*)
- предел абсорбции (*absorption limit*)
- объем образца (*sample volume*)
- **объем реагента (reagent volume)**
- предел линейности (*linearity limit, linear range*)
- нормальные величины (*normal range*)
- засасываемый объем (*aspirate volume*)



Расчет количества определений



Объем реагентов
в наборе



Объем
реакционной
смеси



Количество
определений в
наборе



Для полуавтоматов



$$500 \text{ мл} / 500 \text{ }\mu\text{л} = 1000$$

Определений в наборе



Для автоматов



$$240 \text{ мл} / 200 \text{ }\mu\text{л} = 1200$$

Определений в наборе



Основные параметры

- холостая проба (**reagent blank**)
- калибратор (*calibrator*), или **фактор** для ферментов (*factor*)
- предел абсорбции (*absorption limit*)
- объем образца (*sample volume*)
- объем пробы (*reagent volume*)
- **предел линейности (linearity limit, linear range)**
- нормальные величины (*normal range*)
- засасываемый объем (*aspirate volume*)



Основные параметры

- холостая проба (**reagent blank**)
- калибратор (*calibrator*), или **фактор** для ферментов (*factor*)
- предел абсорбции (*absorption limit*)
- объем образца (*sample volume*)
- объем пробы (*reagent volume*)
- предел линейности (*linearity limit, linear range*)
- **нормальные величины (normal range)**
- засасываемый объем (*aspirate volume*)



Основные параметры

- холостая проба (**reagent blank**)
- калибратор (*calibrator*), или **фактор** для ферментов (*factor*)
- предел абсорбции (*absorption limit*)
- объем образца (*sample volume*)
- объем реагента (*reagent volume*)
- предел линейности (*linearity limit, linear range*)
- нормальные величины (*normal range*)
- **засасываемый объем (aspirate volume)**



Полезные рекомендации

- Регулярно проводить сервисное обслуживание анализатора
- Следить за чистотой кювет, наконечников, посуды, картриджей, при этом
 - не использовать моющие средства, содержащие протеазы
 - не использовать для дезинфекции перекись водорода
 - для автоматических анализаторов использовать моющие растворы рекомендованные производителем
 - следить за качеством дистиллированной воды
- Регулярно мыть картриджи и заменять их на новые



Полезные рекомендации

- Для каждой новой серии наборов или при смене фотометрического оборудования следует проводить калибровку/корректировать фактор по сывороточному мультикалибратору
- Ставьте калибратор в 3-4 параллелях
- Проверяйте правильность анализов по контрольным сывороткам
- Правильно выбирайте метод в паспорте мультикалибратора или контрольных сывороток



Полезные рекомендации

Для предотвращения контаминации не рекомендуется последовательно выполнять следующие анализы:

Tg	→	Mg
Tg	→	ALP
Tg	→	ALT,
		AST
Cl	→	Tg
Cl	→	LDH
Cl	→	ALT,
Cl	→	AST
LD	→	ALP
H	→	P
AST	→	LDG



Сборник инструкций к наборам «Вектор-Бест».

Основные параметры для адаптации

ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-НОВО (В-8063)

Кинетический метод (DGKC)

Основные параметры для биохимических анализаторов:



>> КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ
Сборник инструкций

ВЕКТОР
БЕСТ

Высокое качество –
точный результат!

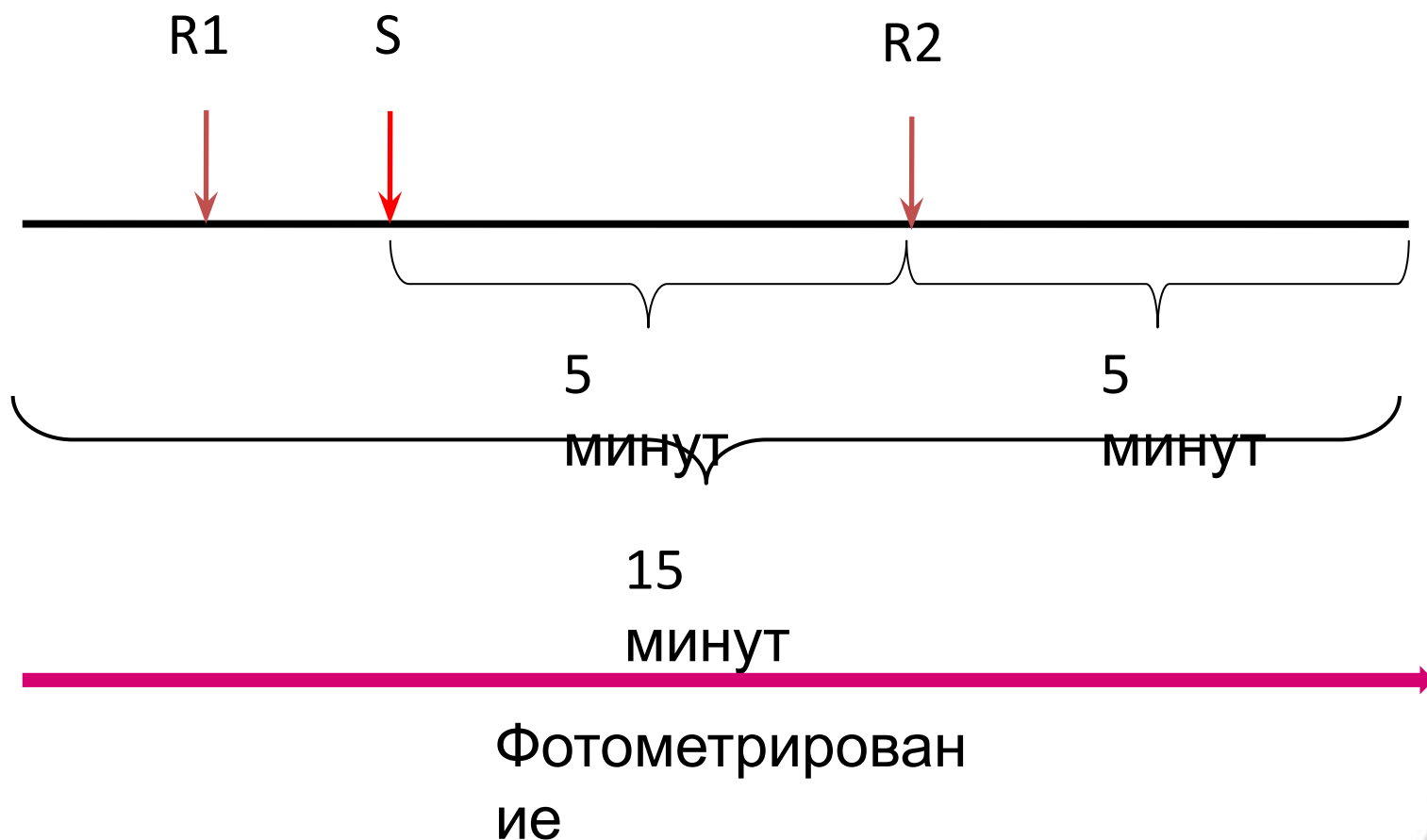
Длина волны	405 нм
Измерение против	Воздуха или воды
Метод измерения	Кинетика
Единица измерения	Е/л
Число знаков после запятой	0
Изменение оптической плотности	Возрастает
Температура	37°C
Соотношение образец:реагент	1:50
Время инкубации (задержка)	60 с
Время реакции (считывания)	60-180 с
Число считываний	≥ 3
Верхний предел абсорбции реагента против воды	0,800 А
Максимально допустимое изменение оптической плотности/мин	0,43 А
Фактор	2757
Линейность	До 1200 Е/л
Нормальные величины в сыворотке крови	70-270 Е/л



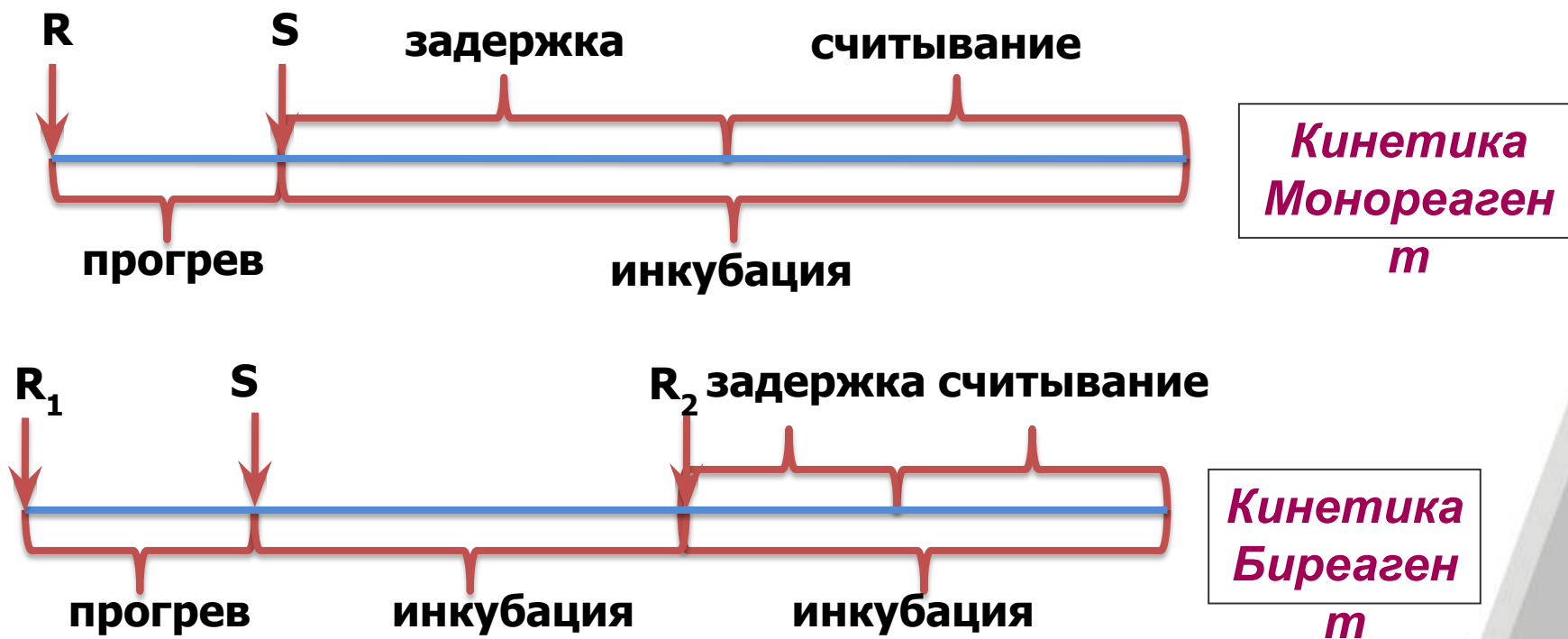
Спасибо за внимание!



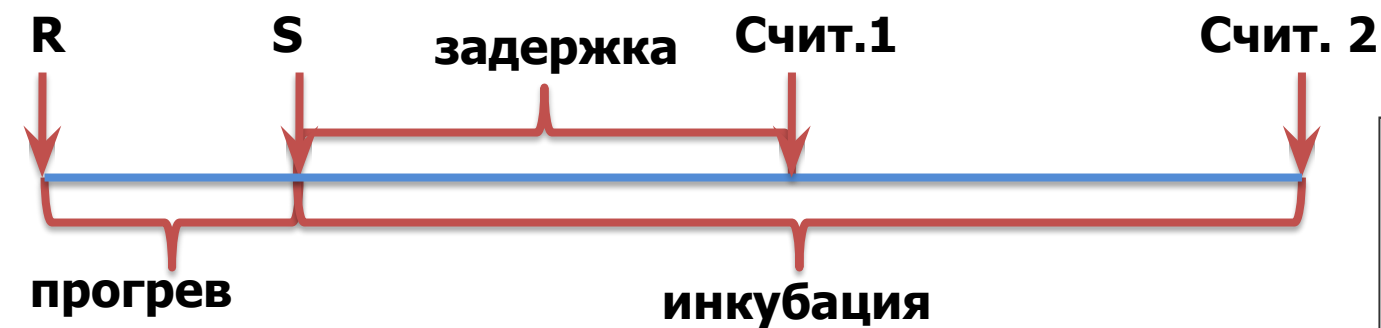
Схема анализа (Sapphire-400)



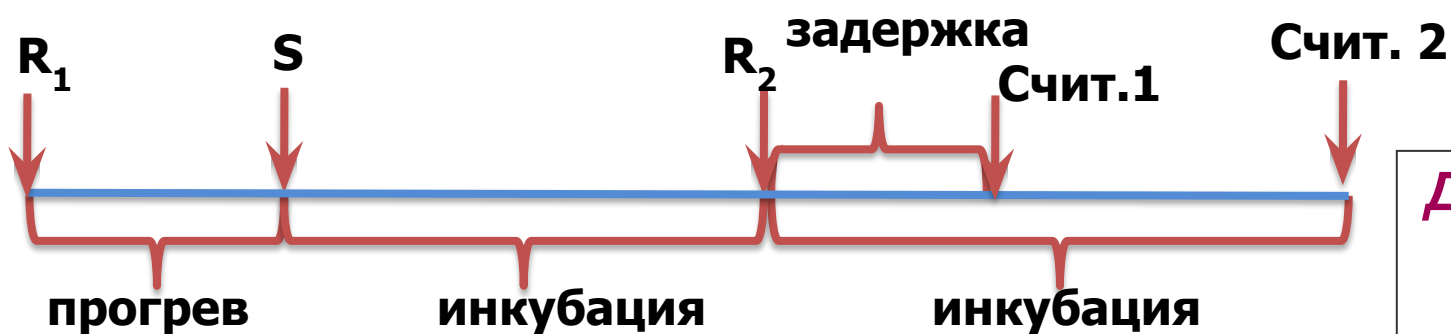
Схемы анализа



Схемы анализа



*Двухточечная кинетика
Монореагент*



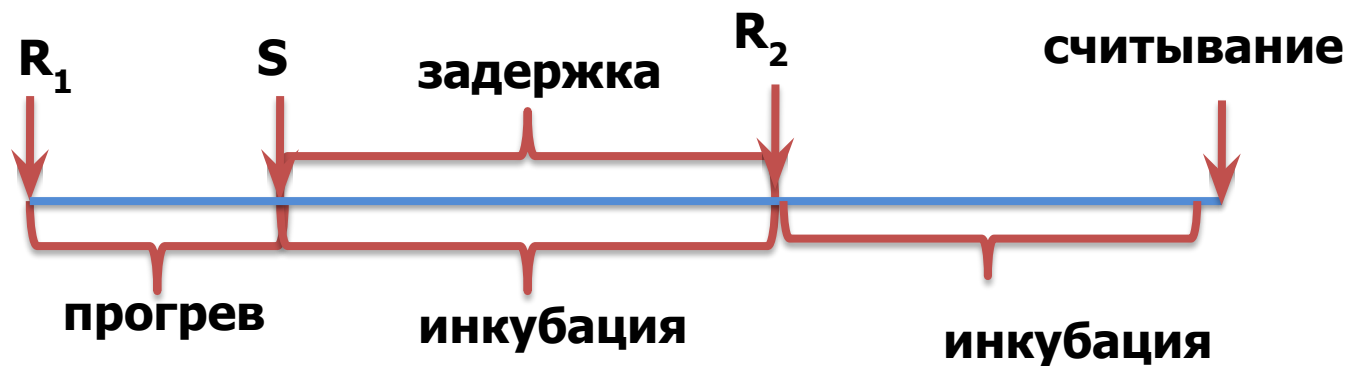
*Двухточечная кинетика
Биреагент*



Схемы анализа



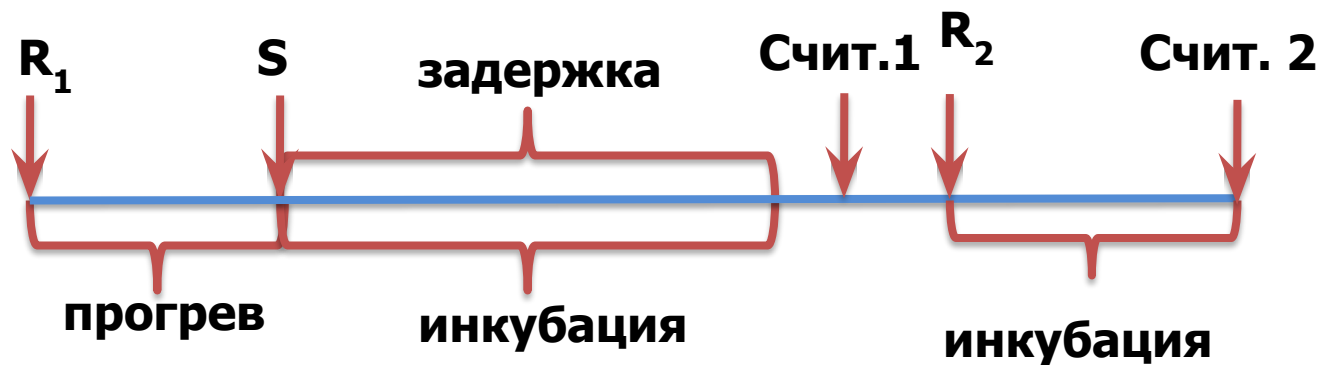
Конечная точка
Монореаген
t



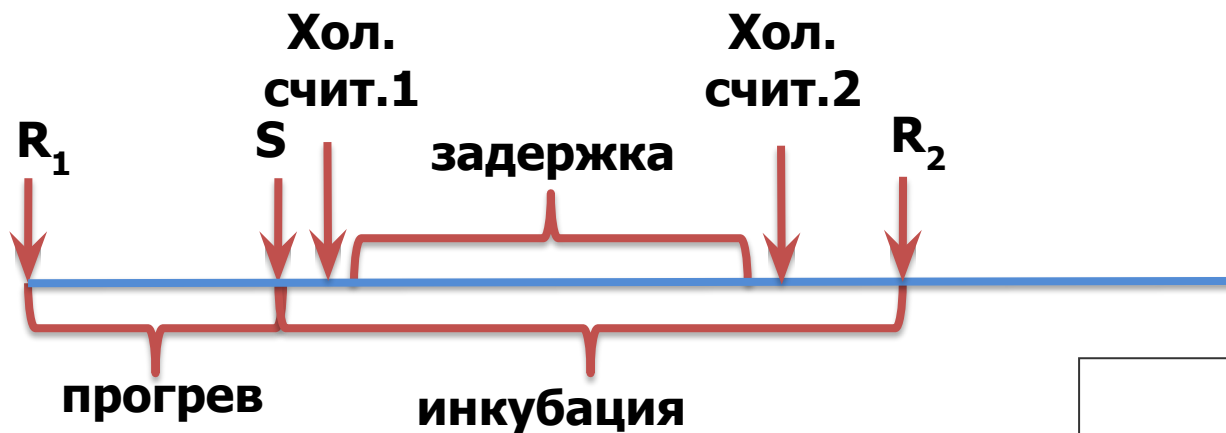
Конечная точка
Биреаген
t



Схемы анализа



Дифференциальная методика



С движущаяся холостая проба

