

PRAKTYKA LABORATORYJNA

JANUSZ WIERCINŃSKI, JÓZEF CIOŁEK *

Współczesne automatyczne analizatory kliniczne. Cz. I.

Centralne Laboratorium Aparaturowe AR, ul. Akademicka 13, 20-934 Lublin
* Lecznica Zwierząt, ul. Traugutta 5, 37-500 Jarosław

Pierwsze próby wprowadzenia do praktyki laboratoriów klinicznych aparatów automatyzujących proces analiz składników chemicznych w pobranych płynach ustrojowych datują się od lat co najmniej dwudziestu pięciu, kiedy to osiągnięty został odpowiedni postęp w optyce oraz pomiarach sygnałów i rozwoju mikroprocesów (2, 7, 9, 10, 12, 13, 14). W założeniach konstruktorów tej aparatury była nie tylko potrzeba zwiększenia liczby analizowanych prób w stosunku do dotychczasowych możliwości laboratoriów, lecz także obniżenie kosztów analiz przez zmniejszenie ilości zużywanych odczynników i nakładu pracy (4, 8). Automatyzacja procesu analitycznego stwarzała ponadto możliwość eliminacji niektórych błędów wynikłych z ręcznych czynności i nie zawsze powtarzalnych warunków pomiarowych (błędy przypadkowe i grube). Mogło to prowadzić do poprawy stopnia dokładności i precyzji otrzymywanych rezultatów (3). Nie bez znaczenia jest również fakt, że upowszechnienie pomiarów przy pomocy automatycznych analizatorów** powinno ułatwić i przyspieszyć prace dążące do ujednoczenia metod stosowanych w laboratoriach analitycznych.

Produkowane dotychczas automatyczne analizatory kliniczne można podzielić na dwie zasadnicze grupy (5):

1. autoanalizatory umożliwiające oznaczanie w dużej serii prób jednego tylko składnika lub aktywności enzymatycznej. Wśród nich można wyróżnić takie aparaty, w których:

a) wszystkie próby są wstawione do jego pojemników, a analiza przeprowadzana jest w nich jednocześnie (analizatory wirówkowe, np. Centrifichem System prod. Union Carbide),

b) próbki są analizowane kolejno po sobie (Econoflo MAS prod. Burkard Scientific Ltd).

2. autoanalizatory, które pozwalają na określanie w jednej próbie większej liczby składników (do 30). Z uwagi na rodzaj programu analitycznego rozróżnia się wśród nich:

a) analizatory ze stałym programem analiz (aparat wykonuje analizy we wszystkich próbach serii w stałych, zakodowanych w progra-

mie warunkach, np. autoanalizator GSA II firmy Greiner Electronic),

b) analizatory z możliwością dowolnego ustalenia warunków analizy przy każdej osobno analizowanej próbce (np. Corona firma Clinicon).

W chwili obecnej produkowane są aparaty, które stanowią kombinację wymienionych wyżej typów, np. autoanalizatory umożliwiające różne analizy z dużej liczby prób. Pracują one na zasadzie:

— przepływu — analizowane próby pobierane są z próbek odpowiednimi dozownikami i wprowadzane do układu przepływowego aparatu, skąd po wprowadzeniu odpowiednich odczynników przechodzą do urządzenia pomiarowego, np. fotometru z kuwetą przepływową. Przepływ odbywa się w jednym kanale (autoanalizator SP 120 firmy Vickers) lub w wielu kanałach (autoanalizatory: SMA 12/60 — Technicon i 30 kanałowy Hycel M),

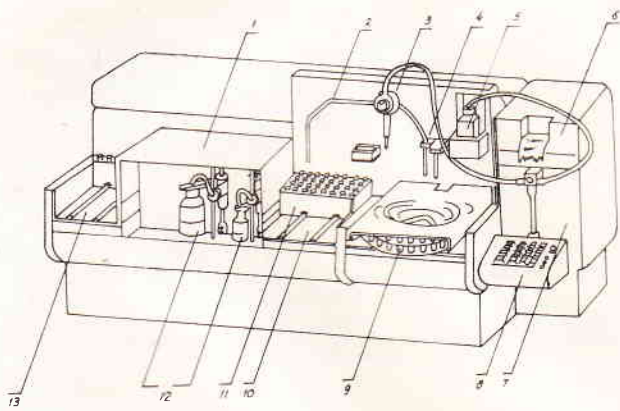
— nieciągłości — próby analizowane są kolejno po umieszczeniu ich w odpowiednich stelażach (gniazdach), skąd odpowiednie ich objętości są wprowadzane do kuwet pomiarowych, do których dozuje się następnie odczynniki oraz przeprowadza proces pomiarowy (autoanalizator FP-901 prod. Labsystem Oy).

Wyniki analiz są przedstawiane w automatycznych analizatorach klinicznych w formie zapisu analogowego (wykres na taśmie) lub obrazu oscyloskopowego (ekran telewizyjny) względnie w formie cyfrowej (voltometr cyfrowy lub drukarka).

Z punktu widzenia budowy analizatory dzielą się na aparaty o zwartej konstrukcji, bez możliwości wymiany zespołów i na aparaty o budowie modułowej, umożliwiające wymianę jej części składowych w celu rozszerzenia zakresu analiz.

W artykule niniejszym zostaną opisane konstrukcje 3 typów autoanalizatorów, których produkcję podjęto lub rozszerzono w latach 80-tych naszego stulecia i jakie mają, zdaniem autorów największe szanse rozpowszechnienia na rynku europejskim. Są to: autoanalizator CORONA prod. Clinicon — Szwecja (6), analizatory COBAS FARA i COBAS MIRA firmy La Roche — Szwajcaria (1) oraz autoanalizator FP-901 prod. Labsystem Oy — Finlandia (11).

** Termin nie jest zupełnie ścisły — analizatory nie mogą pracować samoczynnie bez udziału człowieka. Wymagają umieszczenia prób w swoich pojemnikach, ponadto wprowadzania do pamięci ich komputerów danych dotyczących programu analiz i sygnału startu pracy lub umieszczenia odpowiednich kart z zakodowanym programem. Na tej samej zasadzie działają jednakże inne tzw. automatyczne analizatory np. automatyczne analizatory aminokwasów.



Ryc. 1. Schemat budowy autoanalizatora klinicznego CLINICON (6)

Objaśnienia: 1 - termostatowany tunel i mieszkadła, 2 - końcówka pipety dozownika, 3 - pipeta urządzenia dozującego odczynnik i próbę, 4 - czujnik poziomu, 5 - zbiornik odczynnika, 6 - drukarka, 7 - urządzenie dozujące, 8 - programator z klawiaturą, 9 - stelaż karuzelowy, 10 - magazynek wejściowy, 11 - wymienne kule w stelażach, 12 - zbiorniki odczynników, 13 - magazynek wyjściowy.

Autoanalizator kliniczny CORONA prod. Clinicon — Szwecja

Analizator kliniczny CORONA (ryc. 1) jest aparatem jednokanałowym, pozwalającym na seryjne analizy składników chemicznych w próbach surowicy krwi (tab. 1). Czyny to przez pomiar fotometryczny procesów kinetycznych zachodzących z udziałem oznaczanych składników lub przez pomiar układów stacjonarnych. Budowę autoanalizatora ujęto schematycznie na ryc. 1. Łączy ona w jedną całość termostat, urządzenie do pobierania i rozcieńczania prób oraz dozowania odczynników z zespołami kalibrującymi i analizującymi. Programowanie pracy analizatora odbywa się przy pomocy klawiszy na desce rozdzielczej, a rezultaty analiz rejestrowane są przez drukarkę.

Mózgiem analizatora jest komputer, który wyposażony jest w mikroprocesor Intel typ 8085. Komputer prowadzi i kontroluje proces analityczny, ustalony wg instrukcji, przy pomocy 38 parametrów wymaganych dla każdej indywidualnej analizy. Tab. 2 ukazuje przykładowo te parametry, określone dla programu przy oznaczeniach bilirubiny. Program wyznacza temperaturę, fotometryczne warunki analizy, wielkość próby i standardów, czas pomiaru, rodzaj procesu, itd.

Po wprowadzeniu danych programowych, pierwszą czynnością analizatora jest pobranie odczynnika. Przeznaczone do tego urządzenie dozujące składa się z pojedynczej strzykawki (Hamiltona) i jednego zaworu — uruchamianych i kontrolowanych przez mikroprocesor. Strzykawka może odmierzać objętości płynów od 5 do 1000 μ l. Cykl dozowania odczynnika i próby zilustrowany jest na ryc. 2. Rozpoczyna się on pobraniem odczynnika z jego zbiornika przez zassanie strzykawką. Po odwróceniu zaworu ma miejsce zmiana kanału i następuje

Tab. 1. Składniki chemiczne surowicy oznaczane przy pomocy autoanalizatora CLINICON (6)

Enzymy (pomiar w 25, 30 i 37°C)

1. Aminotransferaza alaninowa (AlAT)
2. Aminotransferaza asparaginianowa (AspAT)
3. Dehydrogenaza mleczanowa (LDH)
4. Kinaza kreatynowa (CK)
5. Fosfataza alkaliczna (AlP)
6. Transferaza γ -glutamylowa (γ -GT)

Substraty (oznaczenia kinetyczne)

7. Kreatyna (metoda Jaffego)
8. Glukoza (met. enzymatyczna: NADP \rightarrow NADPH)
9. Trójglicerydy (met. enzymatyczna: NADPH \rightarrow NADP)
10. Mocznik (met. enzymatyczna: NADH \rightarrow NAD)
11. Kwas moczowy (met. enzymatyczna: NADP \rightarrow NADPH)

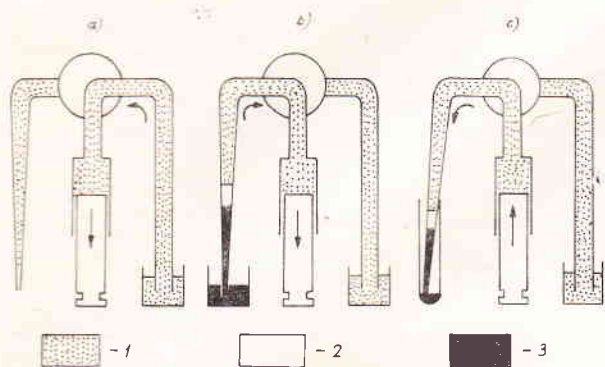
Substraty (oznaczenia w punkcie końcowym)

12. Albumina (zieleń bromokrezolowa)
13. Bilirubina (dwuchloro-dwuazao-fenyl)
14. Wapń (komplekson o-krezoloftaleinowy)
15. Cholesterol (enzymatycznie, aminofenazon)
16. Glukoza (enzymatycznie, aminofenazon)
17. Żelazo (bato-fenantrolina)
18. Białko całkowite (met. biuretowa)
19. Białka surowicy: IgA, IgG, IgM (turbidymetryczne pomiary kinetyczne)

Tab. 2. Przykładowy program analityczny autoanalizatora CLINICON dla oznaczenia bilirubiny surowicy

1. Rodzaj oznaczenia (bilirubina)	22. Współczynnik C (0)
2. Jednostki (μ mol/l)	23. Współczynnik stężeniowy (1,0)
3. Dozownik (tak)	24. Próba odczynnikowa (brak)
4. Temperatura (37°C)	25. Powtarzalność pomiaru (dwukrotnie)
5. Kuweta (7 mm)	26. Próba testowa (próba + kontrola)
6. Typ kuwety (polistyren)	27. Powtarzanie pomiaru próby testowej (pojedyncze)
7. Długość fali (540 nm)	28. Pozycja dozownika próby (1/13, pompa 2/0)
8. Współczynnik filtra (1,0)	29. Pozycja dozownika próby kontr. (1/0, pompa 2/0)
9. Rodzaj procesu (pkt końcowy)	30. Kierunek reakcji (wzrastający)
10. Objętość próby (40 μ l)	31. Częstość dokonywania pomiaru (1 sek)
11. Objętość odczynnika „1” (150 μ l)	32. Czas pomiaru (10 sek)
12. Objętość odczynnika „2” (400 μ l)	33. Zakres dokładności (2)
13. Krzywa standardowa (liniowa)	34. Osiągany poziom górny 25,0 μ mol/l)
14. Liczba standardów (2)	35. Osiągany poziom dolny (0)
15. Stężenie standardu „1” (0, woda dest.)	36. Poziom absorancji (1,8)
16. Stężenie standardu „2” (25,0)	37. Standardowy błąd pomiaru (1,0)
17. Stężenie standardu „3” (0)	38. Maksymalny błąd standardowy (4,0)
18. Stężenie standardu „4” (0)	
19. Stężenie standardu „5” (0)	
20. Współczynnik A (0)	
21. Współczynnik B (1)	

wciągnięcie do końcówki pipety pęcherzyka powietrza oraz próby z podstawianej automatycznie próbówki. Głębokość zanurzenia końcówki jest kontrolowana przez odpowiedni czujnik. Przeniesienie odmierzonej próby z odczynnikiem do kuwety reakcyjnej zachodzi po odwróceniu ruchu strzykawki. Kuwety reakcyjne



Ryc. 2. Urządzenie dozujące i cykle jego działania (6)

Objaśnienia: a) cykl pobierania porcji odczynnika, b) pobieranie pęcherzyka powietrza oraz odmierzonej objętości próby, c) wprowadzanie odczynnika i próby do kuwety reakcyjnej; 1 — odczynnik, 2 — powietrze, 3 — próba.

umieszczone są w specjalnych stelażach. Przesuwają się one z kolejnymi kuwetami przez tunel analizatora, gdzie rozpoczyna się stopniowe ich ogrzewanie aż do uzyskania wybranej temperatury. W każdym momencie tego przemieszczania mogą być dozowane do nich dwa dodatkowe odczynniki, a cała zawartość dokładnie mieszana. Kuwety reakcyjne dostają się teraz w zaprogramowanym momencie do układu optycznego fotometru (ryc. 3), który pracuje z lampą wolframową (340—700 nm), filtrem interferencyjnym i detektorem krzemowym i przeprowadza pomiar bezpośrednio w kuvecie.

Aparat dokonuje oceny rejestrowanych pomiarów 3 metodami:

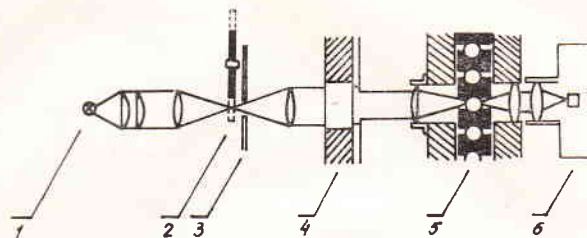
— metodą wyliczania stałej szybkości reakcji (CR). Jest ona stosowana przy określaniu aktywności enzymatycznej;

— metodą pomiarów absorbancji w ustalonych odstępach czasu (FT), która jest wykorzystywana przy oznaczeniach substancji sposobem kinetycznym;

— metodą pomiaru absorbancji w punkcie końcowym reakcji (EP), która jest stosowana przy oznaczeniach składników sposobem stacjonarnym (w punkcie równowagi).

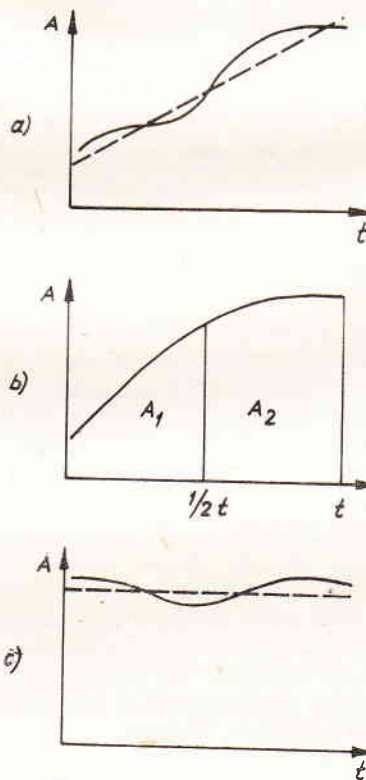
Układ fotometryczny, niezależnie od zastosowanej metody oceny, wykonuje 2 pomiary absorbancji w ciągu sekundy. Równa się to 60 pomiarom w czasie 30 sek. przeznaczonych na cały pomiar jednego składnika w próbce. Jeżeli czas pomiaru przekracza tę wartość, mikroprocesor wylicza sukcesywnie średnie wartości absorbancji.

Przy zastosowaniu metody pierwszej (CR), wykorzystywanej przy określaniu aktywności enzymatycznej, wyliczany jest przyrost absorbancji na jednostkę czasu (nachylenie krzywej $\Delta A/\text{min.}$) (ryc. 4a). Z kontrolowanej krzywej szybkości reakcji komputer określa błąd standardowy i porównuje go do wartości przyjętej w programie analitycznym (tab. 2, pkt 37). Końcowy wynik wyrażany jest w U/l lub $\mu\text{kat/l.}$



Ryc. 3. Układ pomiarowy automatycznego analizatora CLINICON (6)

Objaśnienia: 1 — lampa wolframowa, 2 — przerywacz, 3 — szczelina, 4 — filtr interferencyjny, 5 — stelaż z kuwetami, 6 — detektor promieniowania.



Ryc. 4. Metody oceny rejestrowanych pomiarów posługujące się: a) wyliczaniem stałej szybkości w reakcjach zerowego rzędu, b) różnicą zintegrowanych danych uzyskanych dla połowy i całego czasu pomiaru ($A_2 - A_1$) przy reakcjach I rzędu, c) średnią absorbancją w punkcie końcowym reakcji, A — absorbancja, t — czas pomiaru. Linia ciągłą oznaczono krzywe uzyskane z bezpośrednich pomiarów, linią przerywaną — krzywe poprawione przez komputer.

W metodzie drugiej (FT), stosowanej przy kinetycznym sposobie oznaczania składników surowicy (substratów enzymatycznych), przyrost absorbancji wyliczany jest drogą integracji pomiarów w czasie $1/2 t$ oraz t i stanowi różnicę między dwiema powierzchniami $A_2 - A_1$ (ryc. 4b). Wynik końcowego stężenia oblicza komputer po porównaniu wyników uzyskanych dla badanej próby z wynikami dla prób standardowych.

Metoda pomiaru absorbancji w punkcie końcowym dotyczy oznaczeń, w których nie powinno obserwować się zmiany absorbancji w

czasie. Komputer sprowadza wszystkie pomiary w tej metodzie do wartości średniej. Końcowy rezultat stężenia wyliczany jest po porównaniu tych danych do uzyskanych dla próbki standardowej.

W głównym rejestrze autoanalyzera zautomatyzowanych jest 30 analiz. Każda z nich posiada własny kod i program analityczny. Niezależnie od podstawowego rejestru możliwe jest wykorzystanie specjalnego rejestru przeznaczonego dla użytkownika, umożliwiającego przeprowadzenie dalszych 16 analiz lub analiz z rejestru głównego, lecz prowadzonych w zmienionych warunkach. Kiedy program znajduje się w rejestrze użytkownika, każdy parametr analityczny może być zmieniony i dostosowany do dowolnej analizy.

Pozostałe dwa automatyczne analizatory kliniczne, wymienione we wstępie artykułu, zostaną omówione w jego II części.

Piśmiennictwo

1. Automated Clinical Analysers for the 1980's. Intern. Lab-mate 2, 46, 1985.
2. Bryan D. J., Wearne J. L., Viall A., Musser A. W., Schoonmaker F. M., Thiers R. E.: Clin. Chem. 12, 137, 1966.
3. Efstathiou C. E., Malmstadt H. V.: Intern. Lab. 3/4, 11, 1979.
4. Ersser R. S., Mossman T. G.: Intern. Lab. 3/4, 87, 1979.
5. Ferencik M., Skarka B.: Biochemické laboratorné metódy. Bratislava—Praha, 1981.
6. Frith K.: Intern. Lab. 4, 91, 1980.
7. Pennock C. A., Moore G. R., Colier F. M., Barnes I. C.: Med. Lab. Technol. 30, 145, 1973.
8. Schwartz M. K., Bethune V. G., Fleisher M., Pennacchia G., Mendez-Botet C. J., Lehman D.: Clin. Chem. 20, 1062, 1974.
9. Skeggs L. T. jr.: Am. J. Clin. Path. 28, 311, 1957.
10. Skeggs L. T. jr., Hochstrasser H.: Clin. Chem. 10, 918, 1964.
11. Suovaniemi O., Jarnfelt J.: Intern. Lab. 4, 48, 1982.
12. Thiers R. E., Bryan D. J., Oglesby K.: Clin. Chem. 12, 120, 1966.
13. Thiers R. E., Cole R. R., Kirsch W. J.: Clin. Chem. 13, 451, 1967.
14. Walker W. H. C., Pennock C. A., Mc Gowan G. K.: Clin. Chim. Acta 27, 471, 1970.

Adres autora: doc. dr habil. Janusz Wierciński, ul. Sowińskiego 8, m. 31. 20-040 Lublin

RECENZJE I BIBLIOGRAFIA

AMMAN K., BECKER M.: Nahtverfahren bei tierärztlichen Operationen. (Technika szycia chirurgicznego). Verlag Paul Parey, 1985, str. 79, ryc. 66 ze 118 pojedynczymi rysunkami i schematami, cena 36.—DM.

Praca powyższa stanowi monograficzne ujęcie problematyki niezwykle ważnej dla lekarzy weterynarii i studentów Wydziałów Weterynaryjnych oraz osób zajmujących się chirurgią, a szczególnie jednym z jej działów tj. szyciem tkanek i narządów.

Autorzy w trzecim, zmienionym wydaniu w sposób przejrzysty i przystępny przedstawili w 9 rozdziałach całość zagadnień związanych z techniką szycia. Opracowanie rozpoczyna opis materiałów i narzędzi używanych do szycia. Obok materiałów używanych do łączenia tkanek niemal tradycyjnie np. len, jedwab, nie brak opisu nowych m.in. PGS i PDS. Jest tu również opis zestawów do łączenia tkanek klamerkami oraz drutem. Autorzy ustosunkowują się do możliwości stosowania klejów w chirurgii.

Następne rozdziały poświęcone są znieczuleniu ran oraz technice wiązania szwów zarówno manualnej, jak i przy użyciu narzędzi, a także opisom rodzajów węzłów i sposobów zakończenia szwów ciągłych. Stosowane w praktyce sposoby szycia ran, ścięgien, naczyń, nerwów, a także żołądka, jelit i pęcherza moczowego wraz z podaniem rodzajów szwów i techniki ich wykonywania ujęte zostały w oddzielnych rozdziałach. Część specjalistyczną kończą opisy szwów stosowanych przy zespалaniu powłok brzusznych po laparotomii u poszczególnych gatunków zwierząt, jak też i szwów przepuklinowych, szycia żwacza, macicy oraz sposobów zespалania jelit.

Zamieszczony na końcu spis literatury zawiera pozycje piśmiennictwa z zakresu szycia chirurgicznego do roku 1984 włącznie.

Walory monografii podnoszą bardzo starannie i poglądowo wykonane rysunki i schematy, które czynią zeń doskonałe opracowanie dydaktyczne godne polecenia jako podręcznik szycia dla studentów weterynarii i początkujących chirurgów, zarówno w praktyce klinicznej, jak i te-

renowej. Znakomita szata graficzna podnosi i eksponuje walory recenzowanej monografii.

Edward Komar

BEIER W., WUNDERLICH S.: Aufgabensammlung zur Biophysik. (Zbiór zadań z biofizyki). VEB Georg Thieme Leipzig, 1985, s. 248, III wydanie, 75 rysunków, 62 tabele i 1 wkładka.

Książka ta przeznaczona jest dla studentów: medycyny, weterynarii, zootechniki i nauk biologicznych. Zbiór zawiera 226 zadań o trzostopniowym poziomie trudności. Wszystkie zadania są szczegółowo rozwiązane. Rozwiązania zawierają podstawowe wzory, ich przekształcenia i słowne wyjaśnienia przeprowadzanych operacji matematycznych. Wielkości występujące we wzorach i ostateczny wynik podawane są wraz z wymiarami.

Cały zbiór podzielony jest na 6 części, w których ilość zadań o kolejnych poziomach trudności jest zróżnicowana:

- I. Ogólne podstawy (19, 20, 6)
- II. Organizm jako całość (11, 13, 6)
- III. Organy i układy organów (15, 20, 13)
- IV. Komórka i układy komórkowe (6, 20, 5)
- V. Organizm i środowisko (16, 14, 6)
- VI. Technika medyczna (9, 15, 12)

Zadania w pierwszej części dotyczą obliczania podstawowych wielkości fizycznych: siły, ciśnienia, energii, długości fal świetlnych i promieniowania rentgenowskiego, zdolności skupiającej układów optycznych, współczynników załamania światła dla różnych ośrodków, oporności zastępczych układów elektrycznych.

W drugiej części podane są między innymi przykłady obliczania wydajności organizmu ludzkiego, pracy wykonywanej przy treningach sportowych, ilości ciepła wydzielanego przez żywy organizm, przyrostów i spadków masy ciała zwierząt, średniej gęstości całego organizmu, zmiany aktywności w czasie rozpadu pierwiastków promieniotwórczych stosowanych w medycynie.

Zadania w trzeciej części dotyczą między innymi pracy serca, wpływu właściwości fizycznych naczyń