



КЗВО «Львівська медична академія ім. Андрія Крупинського»

Кафедра лабораторної медицини

Сучасні технології та аналізатори для виконання лабораторних досліджень

Дата: 07.04.2023 р.

Час:

Місце: ауд. 51

Доповідачі:

Заслужений працівник освіти України Федорович У.М.

Федів О.І.

Вінярська М.С

Важливість лабораторної діагностики для медицини важко переоцінити. Близько 70% усіх клінічних рішень у медицині засновані на результатах лабораторних досліджень, а для інфекційних захворювань ця частка наближається до 100%. Тому дуже важливо, щоб лабораторії по всій країні працювали якісно та системно.



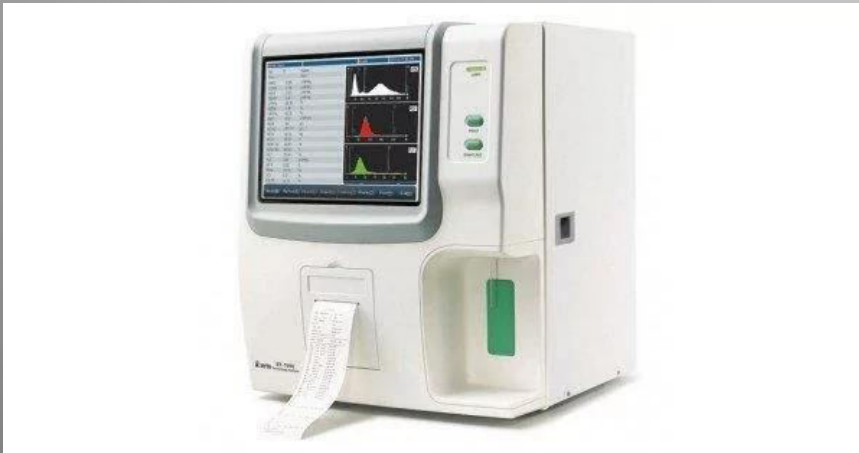
- Останнім часом у світі спостерігається бурхливий розвиток лабораторної діагностики за рахунок автоматизації, запровадження нових методів в повсякденну практику, які значно посилили потужність лабораторій, дозволили прискорити діагностику захворювань.



- Виконання практично всіх видів лабораторних досліджень стає можливим завдяки сучасним технологіям та аналізаторам.
- В даний час комп'ютеризація й автоматизація змінили характер роботи клініко-діагностичних лабораторій. **Автоматизація лабораторних досліджень** в світовій та вітчизняній лабораторіях почалася приблизно з середини 50-х років минулого сторіччя.



- Арсенал сучасних аналізаторів і технічних засобів для проведення лабораторних досліджень різноманітний: і посуд, вакуумні системи забору вакутейнери, різноманітні дозуючі пристрої, звичайні і програмовані фотометри, високопродуктивні аналізатори тощо.



Ще кілька десятиліть тому практично всі види аналізів виконувалися вручну. Тобто оснащення лабораторії передбачало використання такого обладнання і технічних засобів, при роботі з яким потрібно безпосередня участь співробітника в проведенні будь-яких маніпуляцій з досліджуваним зразком.

Зважаючи на це виникали такі складності і проблеми:

- ✓ порушення технології відбору проб, а також змішування зразків;
- ✓ помилки при розрахунку концентрації компонента що визначається;
- ✓ недостатня якість підготовлених препаратів, призначених для цитологічного аналізу;
- ✓ необхідність постійно контролювати хід виконання дослідження, реєструвати отримані дані;
- ✓ ймовірність зараження або нанесення шкоди здоров'ю лаборанта при роботі з небезпечними зразками, наприклад, інфікованим матеріалом;
- ✓ в цілому - низька продуктивність праці.

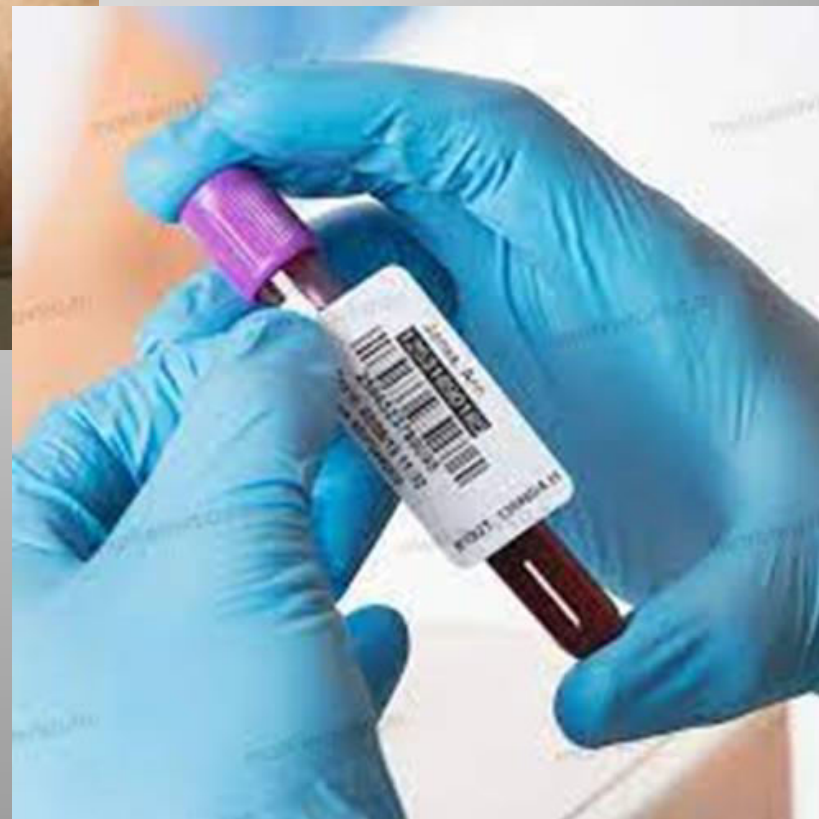
Сучасне оснащення лабораторії, яка передбачає використання високотехнологічного обладнання та стандартизацію методів дослідження, дає можливість:

- ✓ мінімізувати ймовірність помилок, що виникають внаслідок «людського фактора». Це особливо важливо при виконанні рутинних операцій;
- ✓ поліпшити якість підготовлених проб, значно підвищити точність аналізів;
- ✓ домогтися економії дорогих реагентів і біологічних матеріалів;
- ✓ звести до мінімуму необхідність у безпосередньому контакті лаборанта з агресивними хімічними речовинами і досліджуваним матеріалом ;
- ✓ скоротити часові витрати, необхідні на проведення дослідження, оптимізувати роботу співробітників лабораторії;
- ✓ провести оцінку отриманих результатів і навіть формування звітності.

- Сучасне оснащення лабораторій передбачає використання автоматизованих пристроїв, які мають безліч попередньо встановлених режимів дослідження. За допомогою такої техніки вдається проводити серійні дослідження в галузі біохімії, імунології, гематології тощо.
- Стандарти оснащення лабораторії з роками змінюються і удосконалюються, що пов'язано, в першу чергу, з появою більш сучасних, зручних і високоточних приладів і обладнання.
- <https://www.youtube.com/watch?v=F3FMKlHPi1g>

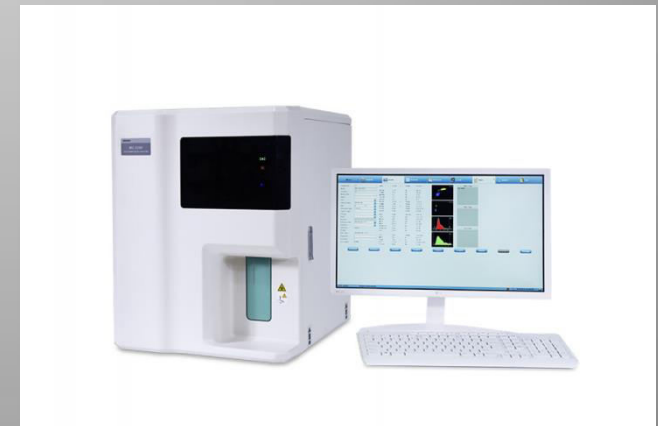


Забір крові і реєстрація



Сучасне обладнання та апаратура для виконання автоматизованих та напіваавтоматизованих лабораторних досліджень у клініко-діагностичній лабораторіях

- Гематологічний аналізатор входить до переліку обов'язкового оснащення лабораторно-діагностичних центрів. Він активно використовується для точних кількісних досліджень крові.
- Залежно від ступеня автоматизації процесу їх роботи, виділяють два види аналізаторів:



Залежно від ступеня автоматизації процесу роботи, виділяють два види аналізаторів:

автоматичний - є повністю автоматизованим пристроєм, здатні обробляти десятки зразків кожну годину, а також тривалий час зберігати в пам'яті отримані результати і роздруковувати їх у разі потреби. Діляться на дві підгрупи. Прилади з першої групи працюють з цілісною кров'ю, другі з розведеною проводиться (без участі лаборанта).

напіваавтоматичний - має аналогічні характеристики з автоматичним аналогом, однак вимагає обов'язкової присутності оператора. Підготовка біоматеріалу проводиться лаборантом, після чого проба переноситься в апарат.

При виборі аналізатора крові, який в повній мірі задовольнить всі потреби лабораторії, слід звертати увагу на такі параметри:

- ✓ кількість показників, що визначають в ході дослідження - їх кількість може варіюватися від 8 до 40 параметрів в залежності від вартості апарату;
- ✓ ступінь автоматизації процесу дослідження;
- ✓ продуктивність тестів на годину;
- ✓ зручність системи видачі результатів;
- ✓ наявність системи контролю якості видаваних результатів;
- ✓ доступність використовуваних при роботі реагентів і обсяг проб.

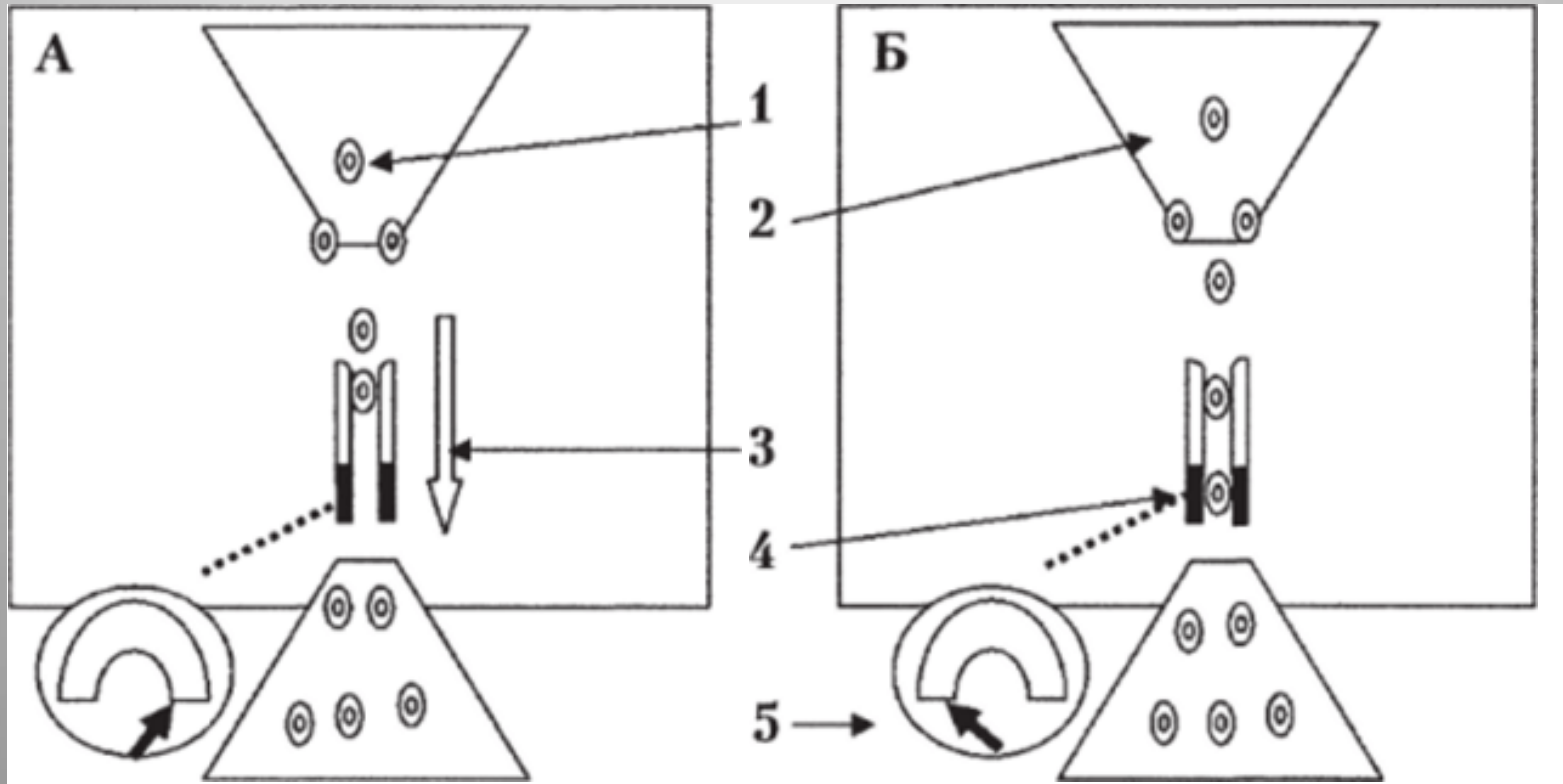
Принципи роботи сучасних аналізаторів крові:

- ✓ Метод Культера (або імпедансний)
- ✓ Фотометричний метод (визначення гемоглобіну)
- ✓ Оптичний (або проточна цитометрія)
- ✓ Флуоресцентна проточна цитометрія

Робота більшості аналізаторів заснована на методі Культера.

- Підрахунок клітин крові здійснюється шляхом пропускання пробки через отвори з мікроскопічним діаметром з визначенням в цей момент сили електричного опору. Прилад враховує амплітуду імпульсів, аналізує їх і встановлює розміри проходять крізь отвори мікрооб'єктів.
- Метод Культера дозволяє підраховувати еритроцити (в розведенні з фізіологічним розчином), тромбоцити, лейкоцити, визначати гематокрит.

Метод Культера

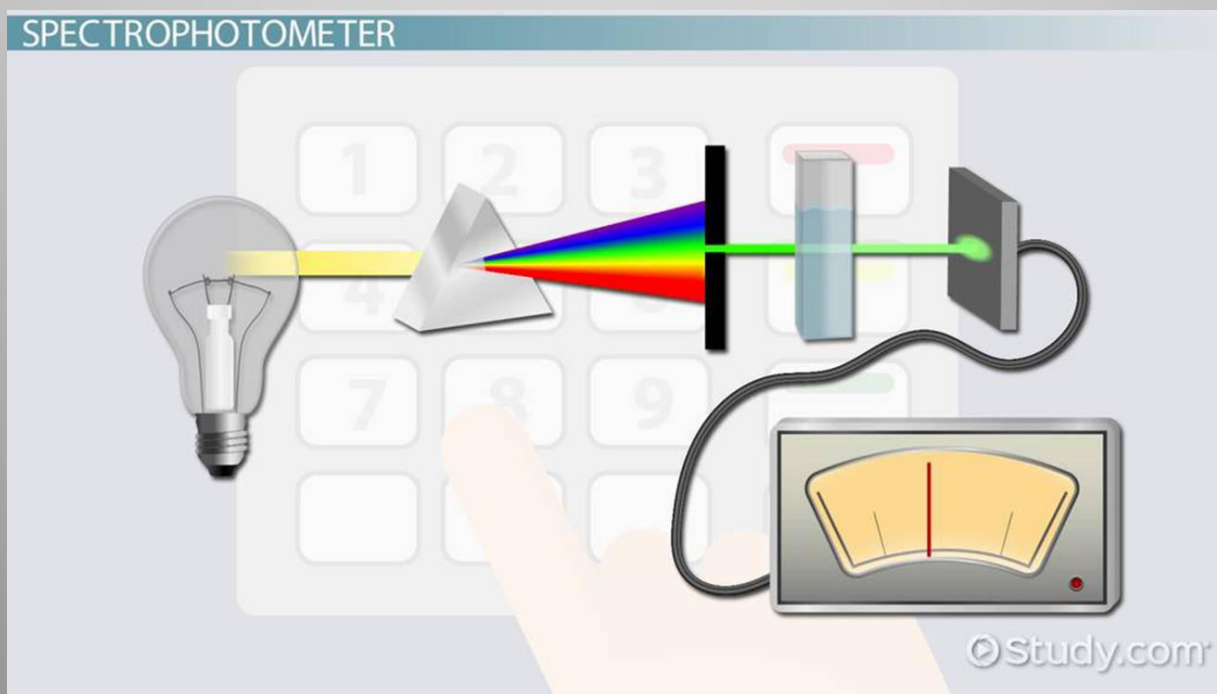


Мал. Принципи роботи гематологічного аналізатора:

- 1 - клітини крові; 2 - буфер (електроліт); 3 - напрямок руху клітини;
4 - електроди; 5 - пристрій, що реєструє

Фотометричний метод (визначення гемоглобіну)

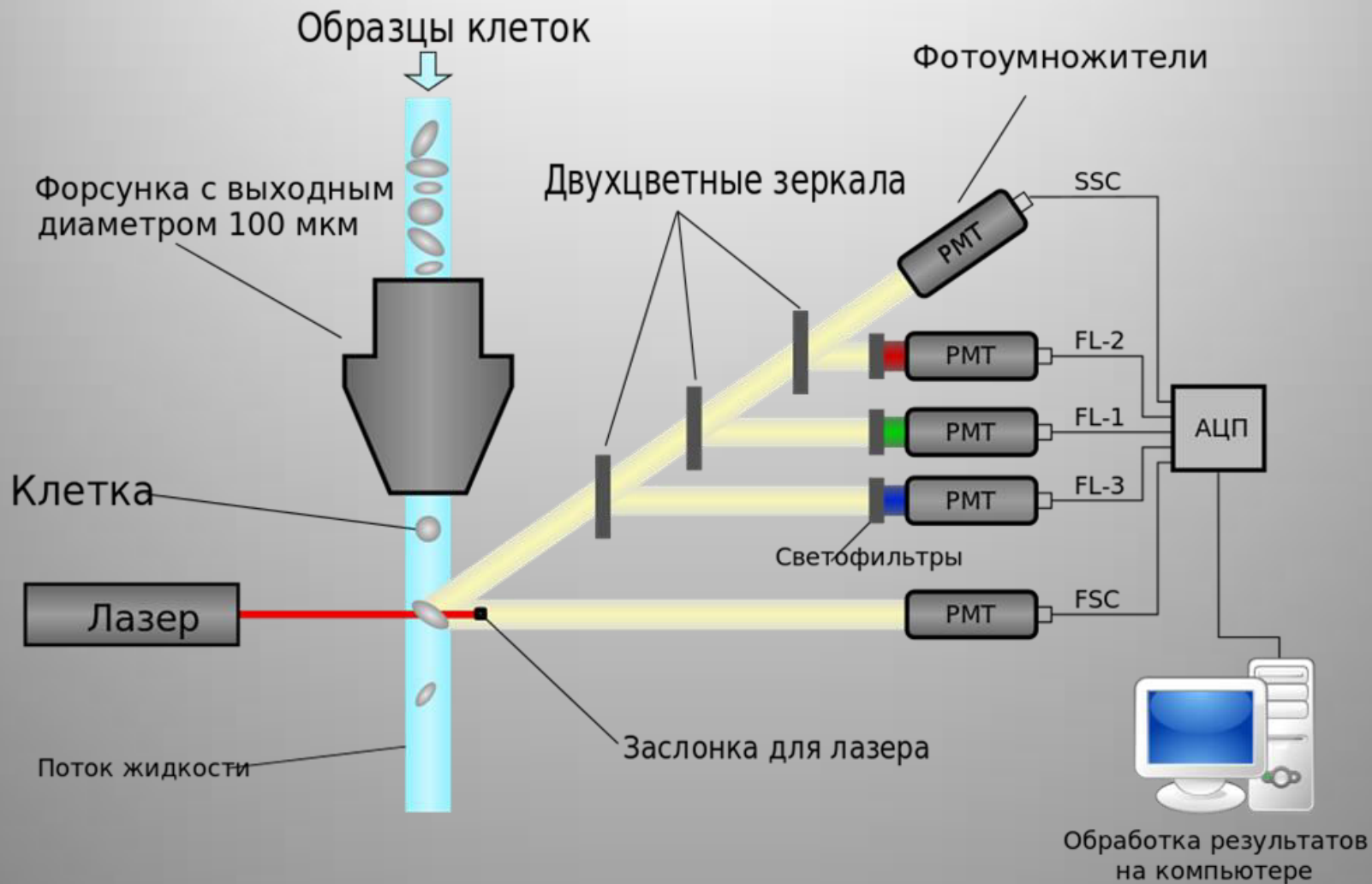
- Група методів аналізу, що базуються на вимірюванні пропускання, поглинання або розсіювання світла досліджуваною речовиною.



Оптичний (або проточна цитометрія)

- метод підрахунку, аналізування та сортування мікроскопічних частинок (найчастіше, клітин) завислих у потоці рідини.
- Метод уможлиблює рівночасно багатопараметрично аналізувати фізичні або хімічні характеристики окремих частинок / клітин, за допомогою оптичних й електричних методів.
- Під час застосування цього методу клітини спочатку гідрофокусують для проходження їх поодинці. Далі їх опромінюють лазером. Для рахування клітин застосовують сигнали світлорозсіювання та флюоресценції від кожної окремої з них.

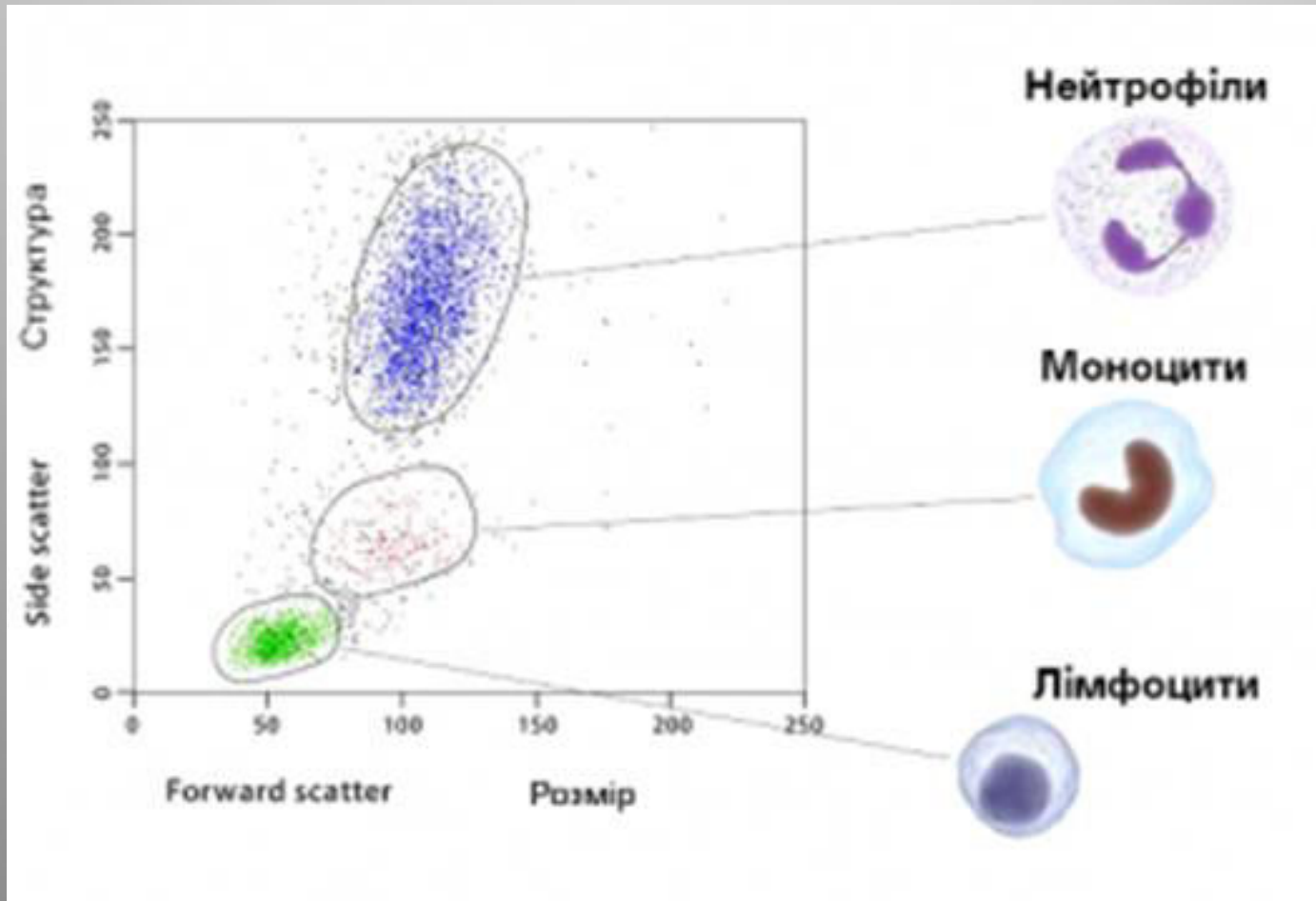
Проточна цитометрія



Імунофенотипування

- Імунофенотипування методом проточної цитометрії є визнаним в усьому світі «золотим стандартом» діагностики в онкогематології.
- Даний метод дозволяє охарактеризувати клітини, що знаходяться в крові, кістковому мозку та інших біологічних рідинах за допомогою проточного цитометра.

Для гемопоетичних клітин кожен етап дозрівання, активації, прояви функціональної спеціалізації або злоякісної трансформації характеризується зміною мембранних характеристик - імунофенотипу. Аналіз цих змін дозволяє дати чітку характеристику захворювання, встановити імунологічний варіант відповідно до сучасної класифікації ВООЗ. Це, в першу чергу, відноситься до клітин-попередників (бластів) і лімфоцитів, функціональні субпопуляції яких морфологічно розмежувати неможливо.



Фотометрична проточна цитометрія

Застосовується у:

- ✓ імунології для оцінки імунного статусу та діагностики імунодефіцитних та імунопатологічних станів;
- ✓ для характеристики імунної відповіді щодо виявлення імунокомпетентних клітин різних типів, для оцінки їх функціонального стану та ступеня активації, для детекції та визначення вмісту цитокінів;
- ✓ в онкогематології — для діагностики лейкозів і лімфопроліферативних захворювань різного генезу;
- ✓ у мікробіології — для виявлення та ідентифікації видового складу бактерій;
- ✓ Дозволяє проводити аналіз клітинного циклу і змісту ДНК, оцінювати швидкість проліферації клітин, а також проводити аналіз клітинної загибелі та оцінювати апоптоз.

Біохімічний аналізатор – це прилад для проведення біохімічних досліджень електролітів, ферментів, гормонів та інших речовин. Такий аналізатор здатний визначити концентрацію і наявність речовин практично у всіх видах біоматеріалу.



Існують 3 основні групи аналізаторів:

- напівавтоматичний біохімічний аналізатор;
- автоматичний біохімічний аналізатор;
- спектрофотометр.

- **Напівавтоматичні аналізатори** здійснюють автоматичне калібрування, видають запит про додавання наступної проби. Оператор вибирає алгоритм розрахунку результатів дослідження, який буде відображений на дисплеї приладу. Деякі модифікації приладів дозволяють проводити порівняння результатів, визначати їх адекватність по бланку, значенням або зміни оптичної щільності.
- Можливі різні варіанти надання інформації: як в електронному, так і друкованому вигляді.



Напівавтоматичний біохімічний аналізатор BioChem SA,
HTI, США

Автоматичні аналізатори вимагають мінімального втручання оператора, робота якого полягає у виборі профілю роботи приладу. Всі інші дії здійснюються автоматично.

<https://youtu.be/T8nXQrmvfs4>



Автоматичний біохімічний аналізатор Zybio EXC 200

Спектрофотометр

- Поділяються на одно - і багатоканальні.
- Принцип роботи приладу заснований на реєстрації величини оптичної щільності і перетворення її шляхом нескладних математичних операцій.
- Від оператора вимагається проведення підготовчої роботи, що включає в себе підготовку реагентів, їх змішування, встановлення режиму системи тощо. Ряд приладів також має додаткові опції, такі як термостатування проб, автоматичний вибір бланків, друк та вивід даних на екран.



Спектрофотометр LabAnaly

Найбільш ефективними є **автоматичні** біохімічні аналізатори, вони мають цілий ряд переваг:

- ✓ висока продуктивність;
- ✓ мінімальні витрати на витратні матеріали;
- ✓ простота і зручність управління.
- ✓ додатково передбачена система охолодження блоку зберігання реагентів.

Автоматичні біохімічні аналізатори діляться
«закритого» та «відкритого» типу.

- Закритий тип дозволяє використовувати реагенти, передбачені виробником, у той час як відкритий лояльний до використання сторонніх реагентів.

Режим і послідовність доступу до тестів:

- **«Тест-за-тестом»** виконує послідовний аналіз параметр за параметром. Актуальний для аналізаторів з потоочною кюветою.
- **«Пацієнт за пацієнтом»** - універсальна система, яка дозволяє вибрати та провести аналіз по всім необхідним параметрам, однак потребує участі спеціаліста.

Конструкція біохімічного аналізатора

- Для **реагентного блока** найбільш розповсюджені «лінійний» і «карусельний» тип конструкцій.
- «Лінійний» блок передбачає зберігання реагентів при кімнатній температурі, кювети поміщають в стрип с гніздами.
- «Карусельний» блок передбачає розміщення реагентів в промислових флаконах. Це зменшує час підготовки тесту, мінімізує витрати реагентів, виключає можливість забруднення. В деяких моделях обох типів є система охолодження.
- **Блок проб** майже ідентичний реагентній, але в «карусельному» блоці в процесі роботи системи можна встановити додаткові калібратори і зразки, прив'язка калібраторів до певних гнізд відсутня.
- Є кілька варіантів виконання **реакційного вузла**: в формі проточної кювети, у вигляді термостатичної платформи з реакційними пробірками, кюветами або планшетами.

МІКРОБІОЛОГІЧНА ЛАБОРАТОРІЯ



Мікробіологічна лабораторія

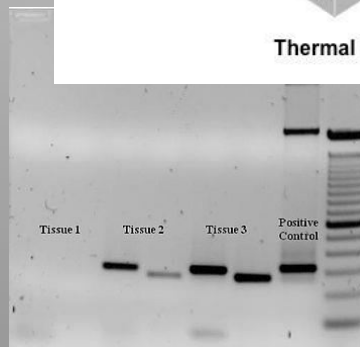
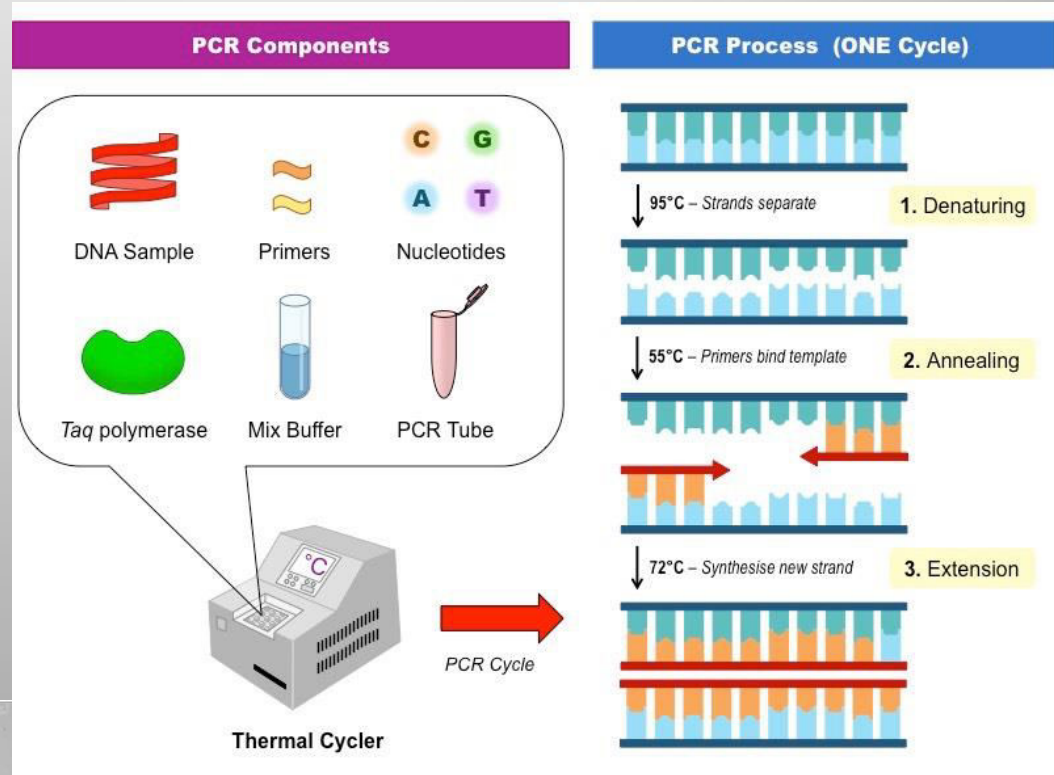
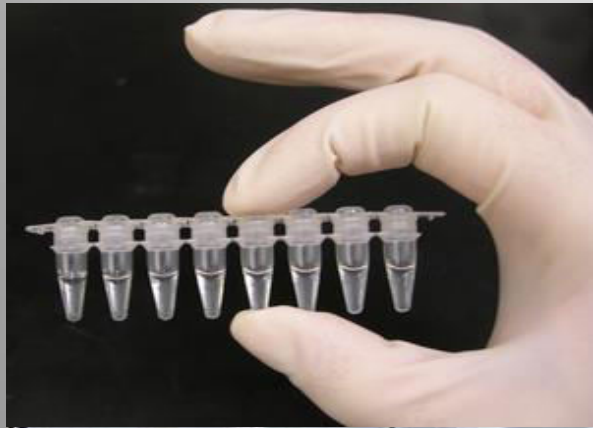
- У сучасній мікробіологічній лабораторії використовуються як уніфіковані методи, так і нові інноваційні методи лабораторних досліджень, покликані на сучасному рівні вирішувати проблеми ідентифікації мікроорганізмів і оцінки їх чутливості до антибіотиків.

Сучасні технології в мікробіологічній лабораторії можуть допомогти виявляти, ідентифікувати та аналізувати різноманітні мікроби та інфекційні хвороби.

Сучасні методи мікробіологічної науки дають змогу виявляти антигени збудників методами **імуноферментного, радіоімуного** аналізів, а також генетичний матеріал збудника молекулярно-біологічними методами, зокрема шляхом **ПЛР**.

Полімеразна ланцюгова реакція

(ПЛР): це метод, який дозволяє виробляти мільйони копій фрагментів ДНК за кілька годин. ПЛР дозволяє виявляти мікробів та ідентифікувати їх ДНК, що дозволяє зрозуміти, який вид мікроба викликає хворобу та які ліки можуть бути найефективнішими для лікування.



Радіоімунний аналіз (РІА)

- Для виявлення антигенів використовують антитіла, позначенні радіоактивним ізотопом. Такі антитіла фіксують на антигені, а комплекс антиген-мічене антитіло виявляють за радіоактивною міткою.



Імуноферментний аналіз (ІФА)

до фіксованих антигенів приєднуються антитіла, позначені ферментом. Утворений комплекс антиген-антитіло-фермент, виявляють за допомогою речовин, що в результаті ферментної реакції змінюють колір.

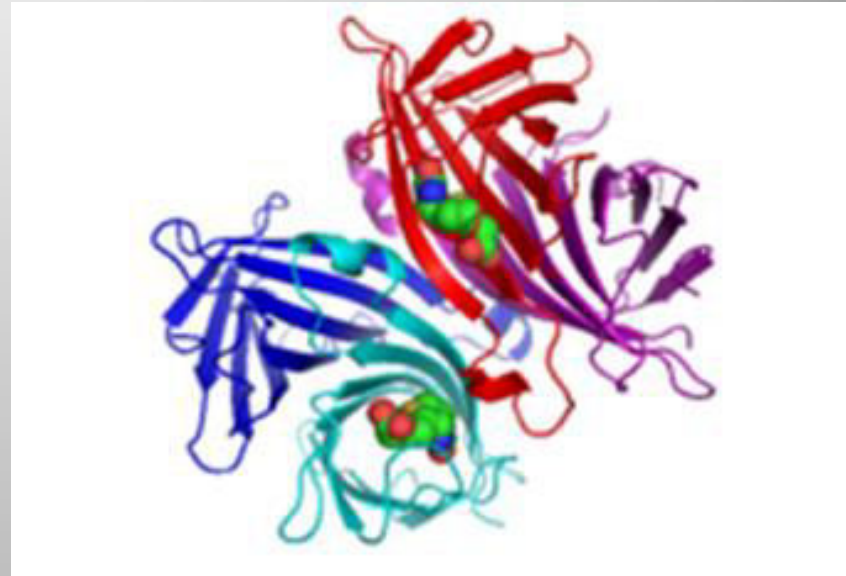


Аналізатор для ІФА

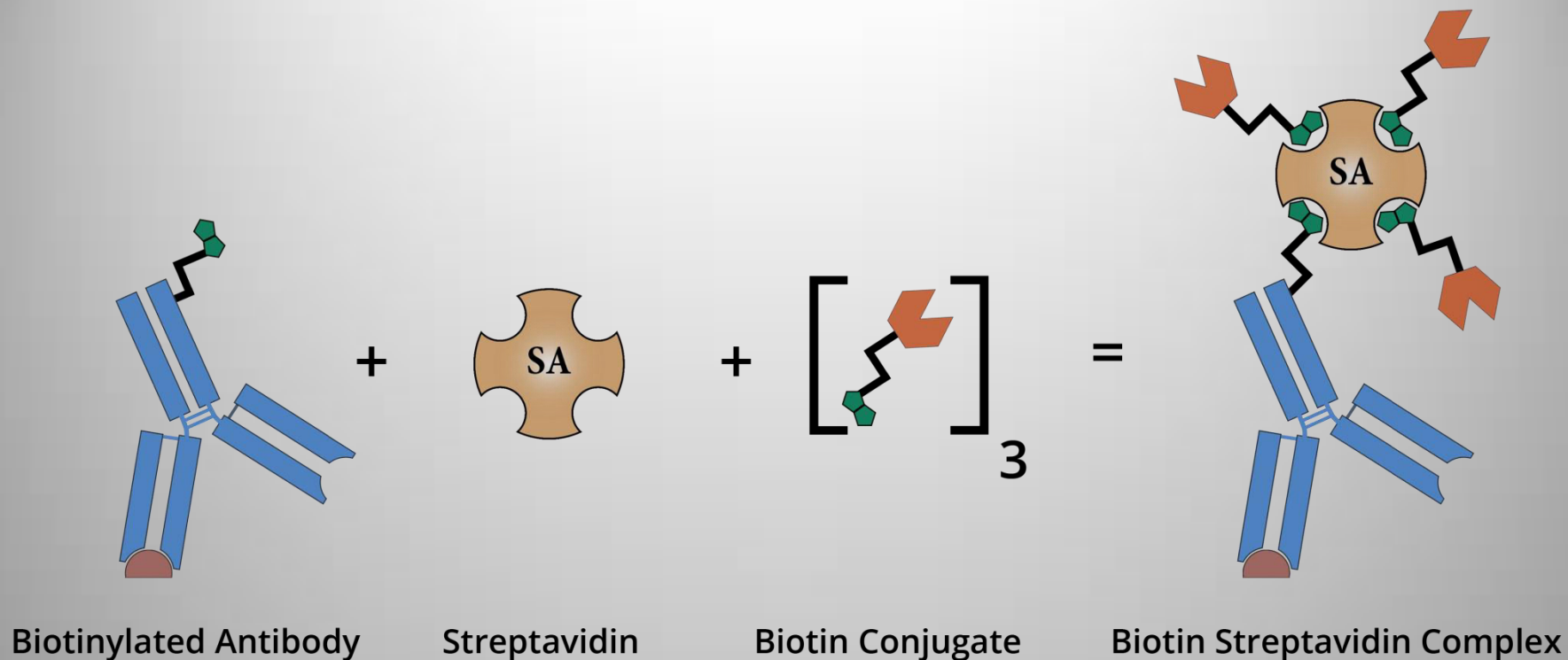


Біотин-стрептавідинові технології

- В останні роки для підвищення чутливості ІФА розроблено метод молекулярного підсилення ферментативної реакції на основі біотин-стрептавідинової взаємодії, де поряд з біотинільованими специфічними антитілами використовують пероксидазний кон'югант стрептавідину. Цю технологію молекулярного підсилення на основі біотин-стрептавідинової взаємодії використовують для підвищення чутливості ІФА при визначенні антигену.



Тетрамірна структура стрептавідіна з 2 зв'язаними біотинами

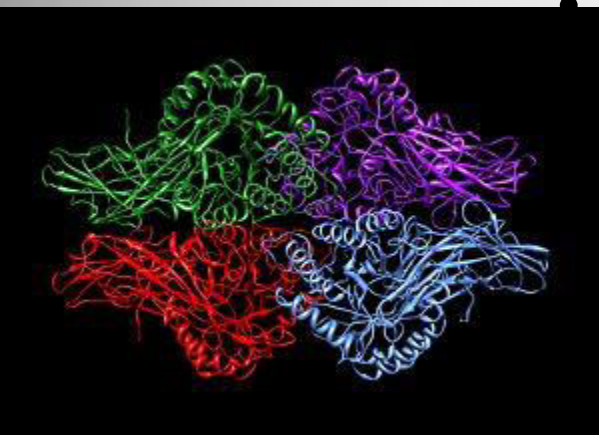


Ілюстрація взаємодії стрептавідин-біотин.

Полівалентні властивості стрептавідину дозволяють йому з високим ступенем афінності зв'язувати до чотирьох молекул біотину.

Біотин зазвичай кон'югований з ферментом, антитілом або білком

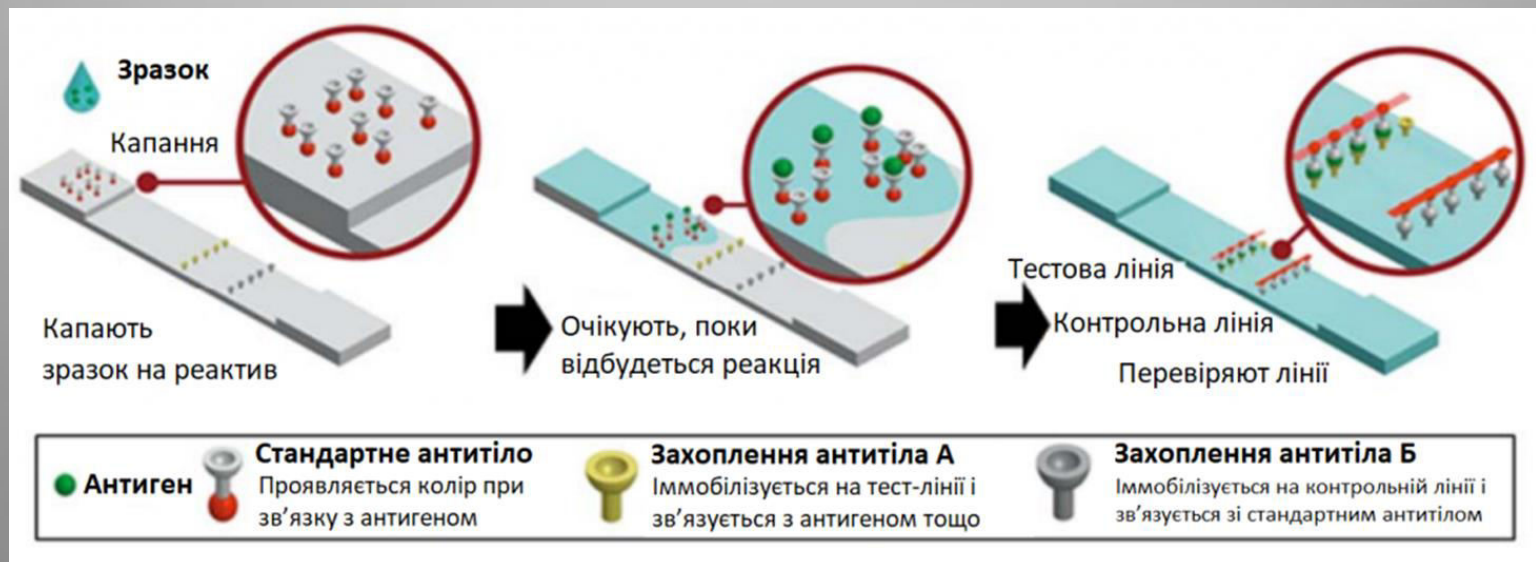
мішенню.



Стрептавідин очищений білок з бактерії *Streptomyces avidinii*. Стрептавідин має надзвичайно високу спорідненість до біотину (вітамін В7). Зв'язування біотину зі стрептавідином є одним із найсильніших нековалентних взаємодій, відомих у природі. Стрептавідин широко використовується в молекулярній біології та біонанотехнології через стійкість стрептавідин-біотинового комплексу до органічних розчинників, денатурантів, детергентів, протеолітичних ферментів та екстремальних значення температури та рН.

Імунохроматографія

- Значним досягненням технологій імунологічних досліджень є імунохроматографічні методики. Суть полягає в тому, що компоненти реакції (антигени та мічені антитіла), пересуваючись на хроматографічному папері взаємодіють між собою виявляються на основі кольорової ферментної реакції.
- Імунохроматографія значно спростила дослідження і сучасні тест-системи можна використовувати біля ліжка пацієнта, у поліклінічних і домашніх умовах.



Тест-система для виявлення маркера гепатиту В HBs- антигена



Швидкий тест на антитіла IgM/IgG до коронавірусу COVID-19



Швидкий тест назальний антиген на коронавірус CITO TEST COVID-19 Ag



Автоматизована мікробіологія

- - мікробіологічні дослідження з використанням автоматизованих закритих систем ідентифікації мікроорганізмів та визначення їх антибіотикочутливості

ПРИЛАД ДЛЯ ФАРБУВАННЯ ЗА ГРАМОМ



Прилад працює в автоматичному режимі.

- Завантажується в корзину PolyStainer двадцять предметних стекол.
- Далі, в залежності від обраної програми, корзина поміщається в один з чотирьох змінних контейнерів.
- Прилад дозволяє використовувати кілька (до чотирьох) реагентів для фарбування, тим самим забезпечується виконання широкого спектру забарвлення.
- Препарати висушуються потоком теплого або холодного повітря.

ХРОМОГЕННІ ПОЖИВНІ СЕРЕДОВИЩА



- В кінці XX століття в бактеріологічну практику увійшли диференціальні середовища нового покоління - хромогенні, принцип дії яких заснований на виявленні високоспецифічних ферментів у мікроорганізмів. До таких ферментів відносяться, наприклад, бета-D-глюкуронідаза *Escherichia coli* або бета-D-глюкозидаза ентерококів. Для виявлення унікального ферменту і, відповідно, ідентифікації мікроорганізму, до складу середовища вводять хромогенний субстрат - речовина, при розщепленні якого цим ферментом утворюються забарвлені і / або флуоросціюючі продукти. В результаті колонії забарвлюється в певний колір або набуває здатності до флуоресценції при ультрафіолетовому опроміненні. Хромогенні середовища призначені для швидкого (протягом 24 год) виявлення в досліджуваному матеріалі цілого ряду мікроорганізмів, що мають велике значення для клінічної та санітарної мікробіології: *E. coli* та інші коліформні бактерії, сальмонели та ентерогеморрагічні ешерихії (*E. coli* O157: H7), ентерококи і *Staphylococcus aureus*, клостридії та синьогійна паличка, а також *Candida albicans* та інші актуальні гриби і бактерії.

Апарати для приготування поживних середовищ



Весь цикл роботи на приладі проходить в 3 етапи:

Додавання сухої основи середовища та перемішування з дистильованою водою . Якщо потрібно додаються додаткові компоненти – вітаміни, кров, селективні домішки тощо. Управління відбувається з сенсорного екрану з інтуїтивним меню.

Розлив середовища у лабораторний посуд за обраної температури.

Зручний інтерфейс обладнання дозволяє швидко запрограмувати нову програму приготування або використати вже існуючу.

Легка в обслуговуванні, може бути пересувною між кімнатами для розливу і приготування середовищ.

Автономні анаеростати і газогенеруючі пакети



BD GasPak™ 100 і 150



BD GasPak™ EZ

Автоматичний мікробіологічний ділютер



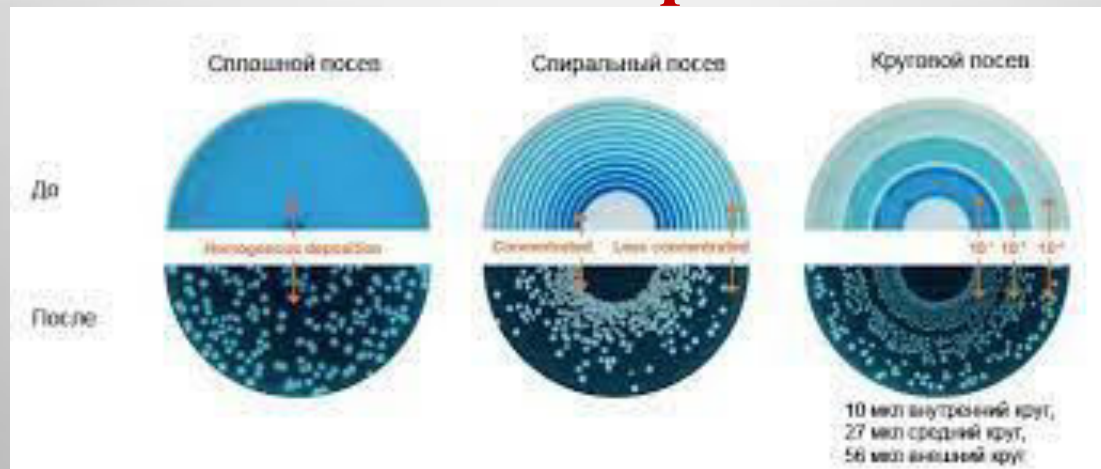
- Дозволяє проводити розведення і подальший автоматичний посів суспензій на тверді середовища.
- Розведення і посів повністю автоматизовані, кількість суспензії відома в кожній точці чашки Петрі. Це підвищує точність підрахунку колоній, звільняє від додаткових розведень зразка, значно скорочує час проведення аналізу та витрати на витратні матеріали

Автоматичний мікробіологічний ділютер



- Після послідовних автоматичних розведень отримана суспензія розподіляється на чашку Петрі одним із способів:
 - суцільний газон,
 - в формі спадної логарифмічною спіралі
 - круговим методом.

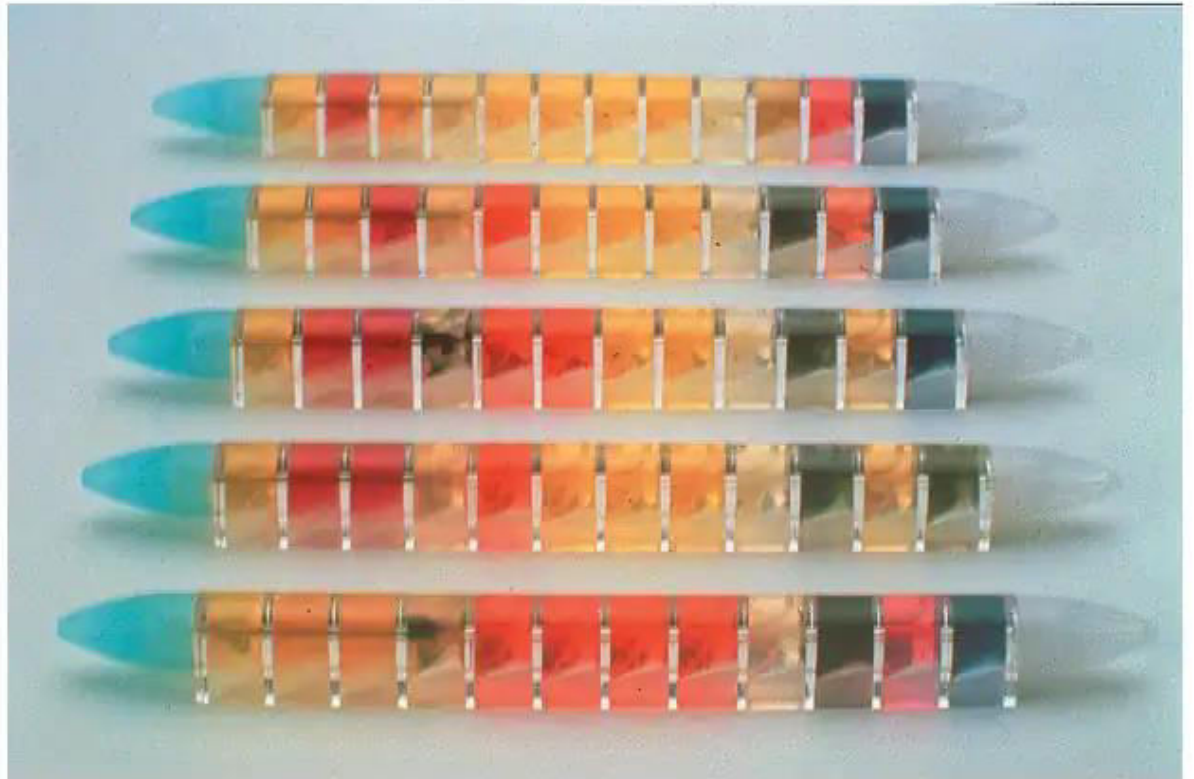
Переваги автоматичного мікробіологічного ділютера



- постановка одного дослідження на 1 чашці Петрі замість 5-6 чашок;
- автоматизований відбір проби;
- автоматичне приготування до 6 розведень;
- відсутність крос-контамінації за рахунок запатентованої системи дезінфекції;
- точно відкалібрований стандартизований обсяг проби, що засівається;
- висока відтворюваність результатів;
- можливість працювати тільки в режимі розведення;
- економія робочого часу персоналу і витратних матеріалів

Ручні тест-набори для ідентифікації ентеробактерій і грамнегативних оксидазопозитивних бактерій

Пластикові туби з
відсіками, що містять
середовища для
визначення різних
біохімічних реакцій

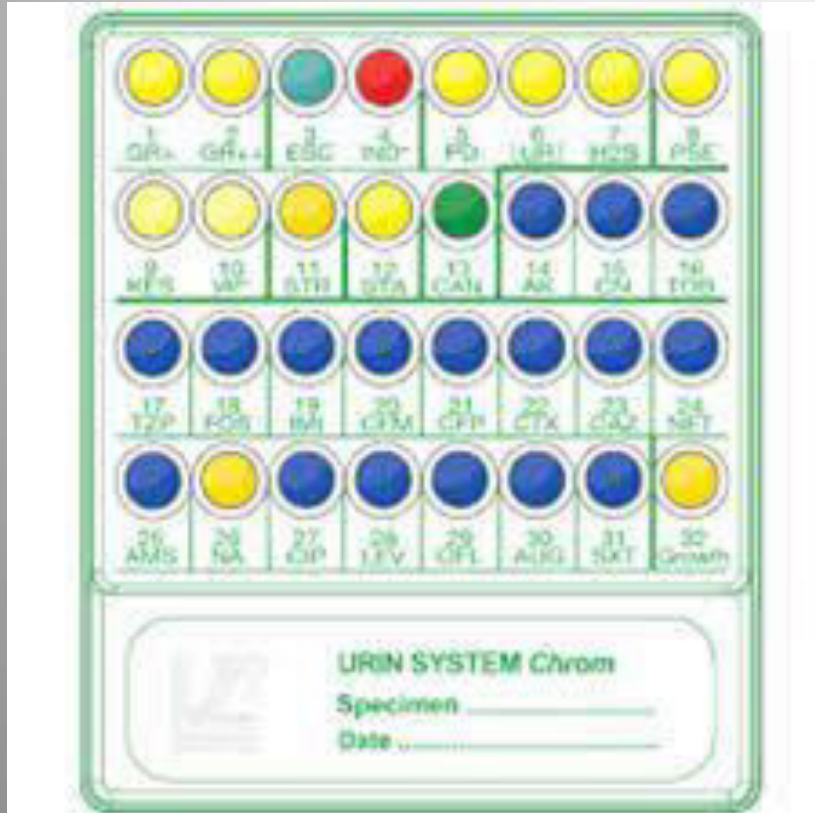


Експрес-тести

- Тести на основі латекс-аглоутинації для діагностики:
- - стафілококів (Staphyloslide [™]),
- - Стрептококів (Streptocard [™]),
- Менінгококів (Directigen [™] Менінгітіс Комбо тест),
- - токсинів C.difficile (ColorPac [™]) тощо.



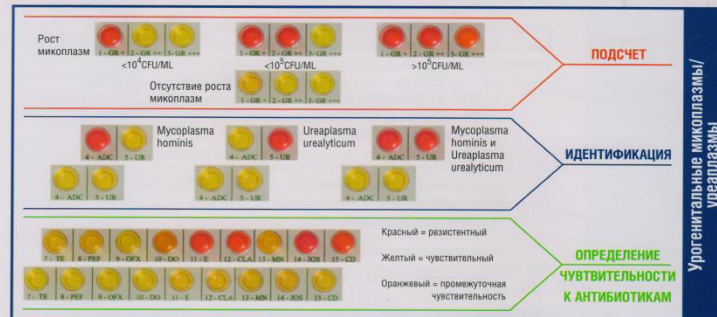
Экспрес-тести



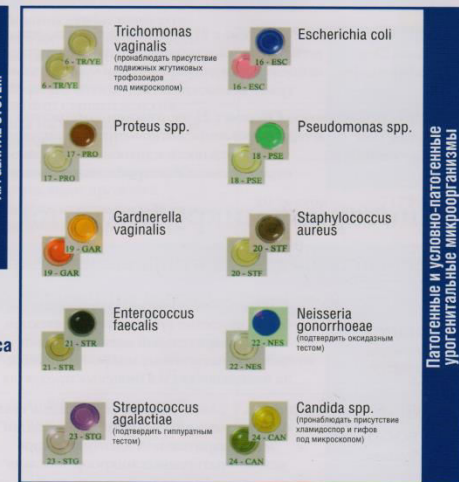
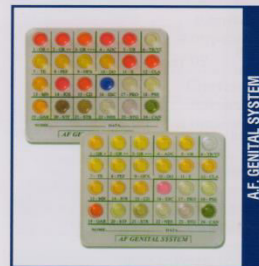
A.F. GENITAL SYSTEM



Культивирование, подсчет и определение чувствительности урогенитальных микоплазм, скрининг патогенных и условно-патогенных микроорганизмов



Урогенитальные микоплазмы / уреаплазмы



- Инновационный метод
- Результаты через 18-24 часа
- Отличная поддержка в микробиологии

Приложение 1
Номер по каталогу: 74156

Системи для ідентифікації мікроорганізмів



Аналізатори для ідентифікації мікроорганізмів і визначення чутливості до антибіотиків



Crystal™ Phoenix™

Phoenix™

Bactec™

Мікробіологічний аналізатор

- VITEK®2 – повністю автоматизована система, що забезпечує ідентифікацію грам(-), грам (+) бактерій, дріжджів та визначення чутливості до антимікробних препаратів за 5-8 годин <https://youtu.be/FPukn8f2RsE>



Мікробіологічний аналізатор ВІОМІС V3



- Забезпечення якості лабораторних послуг є одним зі стратегічних напрямів розвитку медичної галузі. Лабораторні послуги мають бути ефективними і орієнтованими на потреби пацієнта.
- Лабораторну якість можна визначити як точність, надійність і своєчасність виданих результатів. Лабораторні результати повинні бути настільки точними, наскільки можливо, всі аспекти лабораторної діяльності повинні бути надійними, результати аналізів повинні видаватися вчасно для ефективного використання в лікувально-діагностичних цілях та для потреб громадської охорони здоров'я.

- *Дякуємо за увагу!*

