

Automatizovaný systém zpracování ELISA testů - UNION

UNION

YHLO BIOTECH

Dynex zavádí na trh nový přístroj na zpracování ELISA testů po jednotlivých vzorcích. Jedná se o vývojově novější a dokonalejší přístroj než dříve používaný Chorus, který jsme již stáhli z naší nabídky. Italský konstruktér Chorusu se poučil z nedostatků předchozího přístroje a zavedl do nového UNIONu řadu inovací.

Předně bylo upuštěno od kinetického vyhodnocení testů a byla zavedena end-point metoda měření po zastavení reakce, což přináší zpřesnění měření a větší standardizaci procesu. Pro měření je použita LED technologie, která zaručuje delší životnost a větší stabilitu světelného zdroje. Duální měření probíhá při 450 a 630nm.

Regulace teploty je řešena Peltierovým článkem, který umožňuje rychlejší temperování přístroje na 37°C a možnost chlazení pro metodiky probíhající při 25°C. Tím se samozřejmě urychlí i příprava zařízení k pracovnímu procesu.

Dalším problémem bylo sledování hladiny pracovních roztoků, kdy docházelo k oxidaci kontaktů na čidlech. To je zde vyřešeno váhovým sledováním roztoků, které tento problém nemá. Díky průběžnému monitorování přístroj včas upozorní na nutnost doplnění roztoků.

Míchání během procesu je i zde provedeno třepáním karuselu, ale navíc je přidána homogenizace vzorků po nařazení vibrací jehly.

Dalším příjemným vylepšením je i pohodlnější vkládání kazet - stripů se všemi potřebnými reagenciemi do karuselu, kde již není problematické vsunutí kazety do drážky v karuselu.

UNION je ovládán počítačem v grafickém prostředí, kde jsou rovněž archivovány výsledky a přes něj je umožněna komunikace s LIS. Na obrazovce je přístup

k veškerým potřebným nastavením přístroje včetně self testu, údržby, sanitace a sledování zásoby pracovních roztoků. Systém čárových kódů sleduje identifikaci kazety, kde jsou uloženy informace o metodice, šarži, expiraci a čísle kazety. Vkládání nových metodik je umožněno QR kódem, který je vždy uveden na krabici soupravy. Kalibrace metodik je platná pro celou šarži a je rozlišena pro semikvantitativní a kvantitativní metodiky. Pro semikvantitativní stanovení je vložen do soupravy jeden kalibrátor, pro kvantitativní stanovení pak více kalibrátorů. Součástí souprav je kontrolní vzorek.

Samozřejmostí je použití nanokeramických jehel s nízkým rizikem přenosu kontaminace, a tím je zajištěna vysoká ochrana proti přenosu mezi vzorky.

Kapacita přístroje je 30 kazet s možností kombinovat testy se stejným protokolem, jedinou nevýhodou přístroje je delší čas zpracování vzorků (dáno použitím klasické ELISA metody), která je ale vyvážena lepší reprodukovatelností výsledků než u kinetické metody.



UNION je ideální pro malé a střední laboratoře vzhledem ke kapacitě přístroje, pro větší laboratoře je pak vhodný jako záložní systém. K dispozici je velké množství testů z oblasti infekční sérologie (viry, bakterie), autoimunity (fosfolipidy, gastroenterologie, revmatologie) a imunochemie (nádorové markery, anémie, fertilita, hormony štítné žlázy).

Podrobný seznam testů je k dispozici na www.dynex.cz nebo u lokálních zástupců.

◆ vkrauz@dynex.cz

Diagnostika B. pertussis a parapertussis

B. pertussis je přenášena kapénkovou nákazou s inkubační dobou 7 až 10 dní (někdy až 21 dní). Diagnostika je mnohdy obtížná, používá se PCR, kultivace a sérologické metody (ELISA a blot). Pertuse není dětským onemocněním a může se vyskytovat i v dospělém věku. Příznaky jsou obvykle záchrvativý kašel se zájknutím a někdy i zvracením. Může se však vyskytnout i jen normální kašel a některý z dalších charakteristických příznaků, nebo dlouhotrvající kašel (více než dva týdny), většina příznaků je však asymptomatických, což bývá hlavně u očkováných osob.

EUROIMMUN

Pro sérologickou detekci je doporučený odběr párového vzorku v rozmezí 2 až 4 týdnů. Podle doporučení EU Pertstrain group (zástupci 12 evropských referenčních laboratoří) je nutné otestovat vzorek

na přítomnost purifikovaného nedetoxifikovaného PT (pertusový toxin) v mezinárodních jednotkách (IU/ml podle WHO standardu) ve třídě protilátek IgG, kde je nejvyšší senzitivita a specifita. Stanovení protilátek

proti pertusovému toxinu ve třídě IgA má smysl jen při nejasném výsledku IgG, nebo pokud není k dispozici párový vzorek. Není doporučeno používat ELISA testy s více pertusovými antigeny a blotové techniky

vzhledem k problematické kvantifikaci a KFR a nepřímé fluorescenční metodiky vzhledem k nízké senzitivitě a specifitě.

Pro pozitivní výsledek ve třídě IgG je zapotřebí, aby hodnota u párového vzorku vzrostla na dvojnásobek až trojnásobek prvního odběru.

Protilátky proti ostatním antigenům nemají na diagnostiku pertuse další význam: filamentózní hemaglutinin (FHA), pertaktin (PRN), fimbrie (FIM), adenylátcyklázový toxin (ACT) – méně specifické, možnost zkřížené reaktivity (*Bordetella* spp., *Haemophilus* spp., *Mycoplasma pneumoniae*).

Možnosti detekce a rozlišení B. pertussis a parapertussis použitím blotových technik.

V současné době je možné detekovat protilátky pouze proti toxinu pertuse (a-PT), které jsou specifické. V některých blotech bývají deklarovány pozitivní bandy pro Pertactin (PRN), FimN or EntA, které by měly indikovat

pozitivní výsledky pro *B. parapertussis*. V publikacích jsou však protilátky proti Pertactin, Fimbriae a EntA uváděny jako vysoce zkříženě reagující a pozitivní reakce těchto bandů mohou znamenat pozitivitu s ostatními druhy *Bordetella* nebo dokonce s jinými druhy bakterií:

Guiso et al. (2011) "What to do and what not to do in serological diagnosis of pertussis: recommendations from EU reference laboratories" *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 30(3):307-12;

"Anti-PT antibodies are specific for *B. pertussis*, whereas anti-FHA, anti-PRN, anti-FIM and anti-ACT are less specific due to cross-reactivity with other microbial antigens (e.g. other *Bordetella* species, *Haemophilus* species, *Mycoplasma pneumoniae*, *Escherichia coli*). For this reason, in routine diagnosis, only the measurement of anti-PT antibodies is recommended."

Na blotech EUROIMMUNU (EUROLINE *Bordetella pertussis*, DN 2050-1601 A resp. G) lze také s určitou pravděpodobností detekovat obě infekce. Pokud

nejsou na blotu přítomny protilátky proti toxinu (PT), mohou protilátky proti FHA (nebo dalším antigenům jako PRN, Fim, EntA, ACT) být indikací *B. parapertussis* infekcí. Nicméně pouze indikací, protože infekce *B. parapertussis* může být s jistotou identifikována pouze molekulárně-biologickými metodami (PCR). Určitou možnost také nabízí metoda nepřímé fluorescence s nátěrem buněk *B. pertussis* a *parapertussis* (FI 2050-xxxx-1 A resp. G) avšak opět s výhradou, že se jedná o sérologickou metodu.

Pro úplnost je třeba ještě doplnit, že smysluplné stanovení v případě pertusí je kvantitativní stanovení anti-PT IgG protilátek metodou ELISA (v IU/ml), protože je třeba sledovat nárůst koncentrace protilátek v párovém vzorku, což blotové techniky zcela neumožňují. Nevýhodou sérologických testů je také ta skutečnost, že nelze odlišit imunitní odpověď na infekci od imunitní odpovědi po očkování.

◆ vkrauz@dynex.cz

Nová metodika pro stanovení specifického IgE – Dr. Fooke Laboratorien GmbH

DR FOOKE

Do portfolia DYNEXU vstupuje nová metoda stanovení specifického IgE od německé firmy Dr. Fooke Laboratorien. K této změně jsme přistoupili kvůli zvýšení kvality a reprodukovatelnosti stanovení specifického IgE. Hlavním důvodem je skutečnost, že vazba alergenu na celulózu aktivovanou CNBr není tak přesně charakterizována jako vazba biotinu na kapalný alergen, kterou využívá systém Dr. Fooke Laboratorien. Navíc je vazba lidských specifických IgE protilátek lépe ošetřena vazbou na anti-IgE protilátky, které jsou navázané na mikrotitrační desce a je tím potlačena možnost nespecifické vazby alergenu na ostatní imunoglobuliny.

Celý proces probíhá v „kapalně“ fázi bez nutnosti hlídání chování celulózního disku při promývání a významné je i zkrácení promývacích cyklů, kde není potřeba použití „soak time“. Celá metodika je zpracována při pokojové teplotě bez třepání a měření je po zastavení reakce při 450 a 630nm, takže není zapotřebí použití „blank“ jamky. Jedinou nevýhodou postupu je nutnost přidání kapalných alergenů po navázání lidských IgE na desku, které Vám zjednodušíme plněním alergenů do desky jako u diskové metody a poskytnutím speciální 8kanálové pipety Clip Tip zdarma včetně špiček ke každé objednané desce s kapalnými alergeny značených biotinem.

Dr. Fooke Laboratorien je dlouholetým tradičním výrobcem testů na stanovení specifického IgE, původně prováděných na discích, ale v současné době zcela preferuje použití kapalných alergenů. Stanovení nativních alergenů je navíc možné kombinovat i s rekombinantními kapalnými alergeny,

které mají stejný protokol a je tedy možné stanovení provádět na jedné desce.

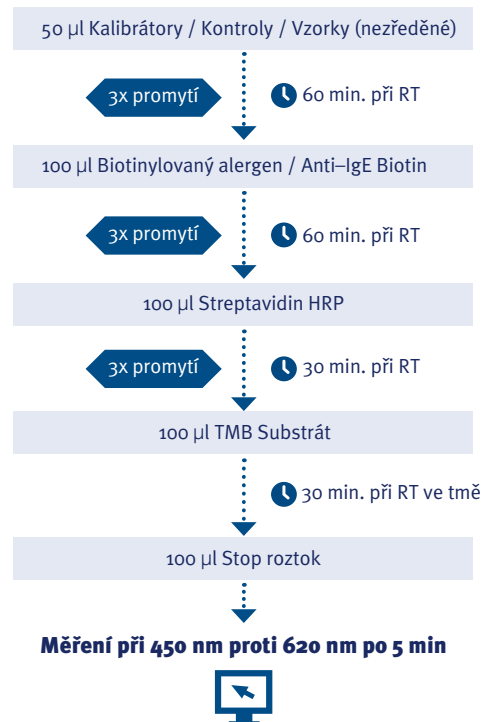
Seznam nativních alergenů obsahuje 890 položek a 40 rekombinantních alergenů. Stejně jako u dosavadní techniky RISA poskytujeme možnost plnění desek kapalnými alergeny s expirací 3 týdny. Kapalně alergeny se objednávají na stejné adrese jako u diskové metodiky (alergeny.dynex.cz), jen je třeba při zadání zvolit kapalně alergeny a způsob objednání je pak stejný. Pro nové uživatele je potřeba zavedení přihlašovacího údajů, které získají od svých regionálních zástupců.

Kromě stanovení specifického IgE společnost Dr. Fooke Laboratorien nabízí také detekci potravinové intolerance ve třídách IgG a IgG4, které jsou ale na celulózních discích.

Dr. Fooke Laboratorien se s velkou úspěšností provádělně účastní kontrolních cyklů a také srovnávací studie se systémem ImmunoCAP je velmi dobrá.

◆ vkrauz@dynex.cz

Testovací schéma REAST specifického IgE Ruční zpracování



PCR box za neinvestiční cenu

ESCO

Zbývají Vám ke konci roku v rozpočtu peníze na nákup neinvestičních položek? DYNEX již dlouhodobě nabízí malý laminární box za cenu pod 40 tisíc Kč. A ani letos se cena neměnila!

Jedná se o kompaktní box s vnitřní šířkou 63cm. Je osazený HEPA filtrem pro účinné čištění vzduchu v průběhu práce a UV lampou pro dekontaminaci povrchů před započatím a po skončení práce. Je ideální pro molekulárně-biologické aplikace a vzhledem k jeho nejčastějšímu použití - pro přípravu reakčních směsí PCR, se často označuje jako „PCR box“. Je to náš nejprodávanější box. Máme jej stále skladem. Jeho vlastnosti společně s bezkonkurenční cenou Vás jistě zaujmou:

- ◆ laminární proudění
- ◆ polyuretanový předfiltr
- ◆ hlavní HEPA filtr
- ◆ účinnost filtrace je > 99,99 % pro částice 0,3µm
- ◆ certifikováno podle EN 61010-1, UL 61010A-1, EN1822 (H 13), ISO 14644.1 Class 3 a dalších norem
- ◆ vestavěná UV lampa s časovým spínačem
- ◆ polykarbonátové čelní sklo, výklopné, s bezpečnostním spínačem UV lampy
- ◆ vestavěné osvětlení 5000 K > 800 Lux (optimální zbarvení a intenzita)
- ◆ antimikrobiální nátěr IsoCide® snižuje riziko kontaminace
- ◆ polička pod UV lampou pro účinnější sterilizaci nástrojů
- ◆ rozměry pracovního prostoru: 630 x 538 x 550mm
- ◆ vnější rozměry: 730 x 617 x 950mm
- ◆ podstava se zabrzditelnými kolečky jako volitelné příslušenství
- ◆ otvory v zadní stěně pro snadný přívod elektriny do boxu

◆ tvydareny@dynex.cz

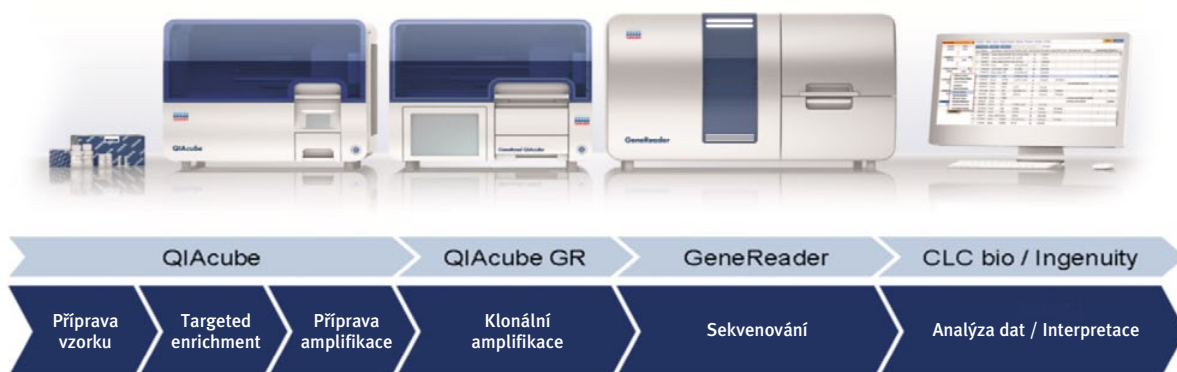


33 000 Kč
bez DPH
(39.930 Kč vč. DPH)

NGS systém GeneReader



V posledních letech došlo k technologickému pokroku přístrojové techniky a bioinformatických nástrojů, které umožnily používat technologii NGS (sekvenování nové generace) ve stále větším počtu laboratoří. Díky tomu je možné zodpovědět stále více otázek týkajících se závažných onemocnění a poskytnout tak naději nemocným pacientům na nejhodnější léčbu. Aplikace NGS v klinickém výzkumu mají velký vliv na identifikaci genetických variant, které ovlivňují lidské zdraví, a umožňuje identifikovat více markerů onemocnění v rámci jedné analýzy.



NGS systém GeneReader

Společnost QIAGEN uvedla v letošním roce na trh novou platformu pro sekvenování nové generace - sekvenátor GeneReader System, který je unikátním řešením pro klinickou praxi na poli onkogenetických vyšetření. Jedná se o první opravdu kompletní řešení, které Vám umožní automatizovaně zpracovat Vaše vzorky a vygenerovat automaticky uživatelem nastavený výstupní report, který je velkou přidanou hodnotou tohoto sys-

tému, protože správně data interpretovat je těžší než je získat. Standardizované postupy umožňují rychle a přesně identifikovat genetické markery asociované s prokázanou terapií.

Izolace nukleových kyselin je prvním krokem samotné analýzy. Vysoce kvalitní nukleové kyseliny jsou nejdůležitějším faktorem pro získání přesných a spolehlivých výsledků. Přístroj QIAcube, který je součástí celého

systemu, proto poskytuje maximální komfort pro automatizovanou přípravu vzorků, minimalizuje artefakty a zvyšuje přesnost sekvenčních dat.

Tato platforma umožňuje v současné době diagnostiku nejvíce relevantních genů (KRAS, NRAS, KIT, BRAF, PDGFRA, ALK, EGFR, ERBB2, PIK3CA, ERBB3, ESR1, RAF1), které se podílí na vzniku nejčastějších typů rakovin (prsou, plic, ovarii, kůže a kolorektální

karcinomy). Speciálně navržený panel genů byl vybrán na základě QIAGEN databáze, která zahrnuje klinicky relevantní nálezy, ověřená léčiva, profesionální doporučení odborných společností, aktivně probíhající klinické zkoušky, primární literaturu a ověřené klinické případy. Tato databáze zahrnuje více než 10 milionů nálezů, 2 miliony ontologických tříd a 50 tisíc spojení fenotypových projevů s prokázanými onemocněními. QIAGEN tak klade důraz na správnou a klinicky relevantní interpretaci výsledků.

Automatizace a minimální ruční manipulace se vzorky je kritickým krokem pro přípravu knihoven. Použití přístroje QIACube umožňuje ušetřit až 50 % času na přípravu knihovny a dokonce až 75 % času na manuální manipulaci v porovnání s přípravou knihoven ostatními způsoby.

Klonální amplifikace pomocí nově vyvinutého přístroje GeneRead QIACube poskytuje komfortní řešení s výraznou úsporou času. Dotykový displej umožňuje jednoduchou orientaci v jednotlivých krocích přípravy. Amplifikované vzorky jsou následně vhodné pro okamžité použití v sekvenátoru.

Sekvenátor GeneReader se flexibilně přizpůsobí požadavkům každé klinické laboratoře zpracovávající vzorky pro vyšetření onkomarkerů. Přístroj umožňuje až 4 nezávislé běhy najednou s možností paralelního spouštění. Spolu s počítačovou pracovní stanicí Vám umožní účinně naplánovat a vyhodnotit průběh sekvenace.

Kompletní bioinformatické řešení Vám následně poskytne analýzu a interpretaci získaných dat pomocí QCI softwarů. Moduly QCI-A (analýza) a QCI-I (inter-

pretace) Vám umožní získat z Vašich dat maximum. Pomocí QCI-A modulu poskytuje optimalizovaný alignment získaných readů, variant calling, filtrování a další postupy, které jsou přehledně zobrazeny v rámci programu. Po kontrole dat Vám modul QCI-I umožní najít a interpretovat genové varianty s klinickým dopadem. Tyto nálezy lze následně propojit díky QIAGEN databázi s mnoha detailními informacemi týkající se léčby nebo výzkumu. Výstupem QCI-I modulu může být uživatelem definovaný report, který je předkládán klinickým pracovníkům pro důležitá rozhodnutí o následné léčbě.

Díky výše uvedenému je zřejmé, že systém GeneReader je ideálním řešením pro klinickou diagnostiku v onkologii.

◆ mmikesova@dynex.cz

PCR macroarray potatoe virus kit

Molekulárně biologické metody mají své právoplatné místo nejen v klinické medicíně, ale i ve veterinární diagnostice a v současnosti i ve fytopatologii. Firma Bioreba letos certifikovala a uvedla na trh jedno z možných řešení karanténních virů u brambor v oblasti diagnostiky.



PCR macroarray potatoe virus kit je diagnostická souprava pro multiplex detekci virů PVA, PVM, PVS, PVX, PVY (O- and N-type), PLRV, PMTV and PSTVd v jedné reakci. Souprava zahrnuje osmijamkové stripy formátu mikrotitrační destičky, reagentie pro extrakci virové RNA a reagentie pro Real Time PCR. Cenová nákladnost PCR je redukována možností provádět reakci ze směsi až 10

vzorků současně při zachování vysoké citlivosti (vyšší než ELISA). Časová náročnost reakce je 5 hodin. Formát soupravy činí 96 nebo 192 vyšetření. Oba formáty mohou být využity jak k detekci z jednotlivých vzorků listů nebo hlíz, tak ze směsi až 10 vzorků. Izolace se provádí z 0,2g vzorku rostlinné tkáně. Reagentie pro mastermix jsou v barevně identifikovatelných zkumavkách, nehrozí

záměna roztoků. Vyhodnocení se provádí okometricky. Dno mikrotitrační jamky je rozděleno na 25 pravidelných čtverců. V jednotlivých rozích jsou kontroly hybridizace a uprostřed kontrola Real Time PCR. Na ostatních pozicích se detekují jednotlivé viry. Výsledek tvoří kombinace spotů na dně mikrotitrační jamky.

◆ rkordiovsky@dynex.cz

Metoda zahrnuje následující kroky

1

Izolace RNA ze vzorků hlíz nebo listů.

2

Reverzní transkripce a amplifikace prostřednictvím specifických primerů.

3

Hybridizace amplifikované biotinem značené cDNA se specifickými sondami navázanými v macroarray mikrotitrační jamce.

4

Vizualizace výsledku je zajištěna barevnou reakcí pomocí streptavidinu konjugovaného alkalické fosfatázy a NBT/BCIP substrátu.



DYNEX
 ČR: Lidická 977, 273 43 Buštěhrad, Česká republika
 Tel.: +420 220 303 600, email: office@dynex.cz
 SR: Nové Kalište 17, 974 04 Banská Bystrica, Slovenská republika
 Tel.: +421 484 155 045, email: dynex@isternet.sk
 www.dynex.cz

Informační bulletin firmy Dynex

◆ DYNEX