

HISTORIE PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY

Petr Štern

Laboratorní automatizace ve světě začala v padesátých letech.

Období **1950-1959** je někdy nazýváno jako čas pokusů a omylů. Klade se důraz na klasickou techniku kvantitativní biochemické analýzy a počítání buněk se děje manuálně. Vyzdvihuje se zručnost při pipetování a přísné dodržování analytického protokolu. Jedinou instrumentací v laboratoři kromě pH-metrů často bývají fotometry měřící procenta transmitance. Laboratoře si připravovaly často vlastní reagenty. K analýze sodných a draselných iontů se používaly neskladné plamenové fotometry, které byly na počátku rozvoje. Mnohem běžnější byly elektroforetické systémy ke frakcionaci proteinů. Všechny používané systémy vyžadovaly manuální pipetování vzorků a pracnost metod byla vysoká. Lékaři dostávali výsledky z laboratoří obvykle bez doprovodné interpretační informace.

V průběhu dekády se začala objevovat automatizace. Komerční vývoj systému Technicon AutoAnalyzer v roce 1957 zavedl kontinuální průtokovou analýzu jako rutinní technologii v klinické biochemii. Simulace manuálních technik v automatickém systému byla základem pro vývoj zařízení Robot Chemist (Warner-Chilcott Instruments Division). Tyto první chemické analyzátoři byly jednobuněčné systémy, provádějící testy jeden za druhým stejnou metodou. Po ukončení jednoho typu testu mohly být přepnuty na další metodu a provádět požadované analýzy. V té době se analytický postup přizpůsoboval dostupné instrumentaci.

Na konci této dekády začalo několik firem vyrábět plamenové fotometry ke stanovení koncentrace sodných a draselných iontů. Přístroje byly vhodné také pro statimové analýzy. Ve spektrofotometrech se začaly používat kvety s teplotní regulací umožňující měřit aktivitu klinicky významných enzymů v kinetickém režimu. Firmy Coulter a Sarnborn vyvinuly počítače částic pro automatizaci do té doby manuálního počítání buněk při hodnocení kompletního krevního obrazu.

Období **1960-1969** je věnováno automatizaci laboratoří. Tato dekáda byla zahájena rychlou expanzí jednobuněčných analyzátorů do různých typů laboratoří. V roce 1965 byl již dostupný multikanálový analyzátor pro biochemické a hematologické metody. V roce 1968 se konala první konference v Oak Ridge, kde byla představena koncepce centrifugační analýzy. Tehdejší tranzistorová elektronika už umožnila přechod od analogových k digitálním výstupům – používají se tištěné obvody kombinující více funkcí. Při servisu se začíná používat výměna desek s integrovanými obvody místo oprav jednotlivých elektronických prvků. Současně se instalují první laboratorní počítačové systémy. S rozvojem laboratorní medicíny roste také množství laboratorních dat.

Automatizované pracovní stanice v této době mohly provádět pouze fixní konfigurace analýz (batch), které byly obvykle požadovány od téhož vzorku, např. vápník a fosfáty, albumin a celková bílkovina, resp. sodné, draselné a chloridové ionty. Začíná se uplatňovat kontinuální průtoková analýza. Analyzátor SMA 12 umožnil stanovit 12 parametrů rychlostí 30 vzorků/h. Na konci šedesátých let se začína-

jí vyrábět modely SMA 12/60 a 6/60 umožňující vyšetřovat profil 18 parametrů. První diskrétní analyzátoři vyvíjejí firmy AGA, Vickers, Coulter a Damon. Firma Hycel nabízela dokonce diskrétní analyzátor pro 17 parametrů. Laboratorní vyšetření se stala běžnou součástí diagnostického procesu. Automatizace se netýká pouze biochemie, ale objevují se i analyzátoři pro hematologii. AutoAnalyzer stanovuje hemoglobin z celé krve, SMA 4 navíc dokáže počítat leukocyty, erytrocyty a hematokrit. Systém Coulter S měří kromě hemoglobinu, erytrocytů a leukocyty také MCV a další parametry vypočítává.

Šedesátá léta v laboratořích pamatují jen nejstarší pracovníci našeho oboru. Pan profesor Masopust mi popsal jednu příhodu z oné doby. *O dobré laborantky byla tehdy velká nouze a řada jich odcházela jinam, kde bylo více peněz a méně práce, bez pohotovostních služeb. Práce laborantek byla tehdy velmi tvrdá; to byla skutečně ruční práce, vyžadující plné soustředění, přesnost a trpělivost. Výsledky testů musely být prvotřídní, tedy bezchybné, aby nemýlily ošetřujícího lékaře, a tím nepoškodily pacienta. Přitom v laboratoři jsme nebyli korumpováni květinami vděčných pacientů, maximálně jsme dostávali nějakou tu lahvinku, samozřejmě s močí, a ještě netypizovanou, takže se nedala zpeněžit. Stala se mi v této době příhoda, která dokumentuje to, že jsme nebyli nikdy (a nejsme) lukrativní obor. Už pozdě odpoledne jsem opouštěl laboratoř s denním provozem, když mne ve dveřích zastavil udýchaný sanitář s dotazem: „Jsou tady ještě ty dvě lahve s tokajským, které jsem ráno nechal u příjmu?“. Šli jsme se tedy podívat, a lahvinky s pravým Tokajem tam stály na okraji příjmového stolu - netknuty. Zlatavý mok zůstal laborantkami nepovšimnut, protože je vůbec nenapadlo, že to není moč v lahvinkách neoznačených jménem pacienta ani klinikou.*

Pro léta **1970-1979** je typické řízení analyzátorů počítači. To se objevilo i v názvu tehdy vyrobeného Techniconu SMAC (Sequential Multiple Analyzer Plus Computer). Počítače byly součástí vybavení tří tehdejších centrifugačních analyzátorů GEMSAEC (Electro-Nucleonics), CentrifChem (Union Carbide) a RotoChem (American Instruments Company). Všechny tyto analyzátoři byly již vybaveny mikroprocesory. Mechanické vačky prvních analyzátorů definitivně dosloužily. Nově jsou používány v analyzátořích Du Pont ACA reagenční nádobky označené čárovým kódem.

Na začátku sedmdesátých let se začínají používat iontově selektivní analyzátoři ke stanovení aktivity sodných a draselných iontů. Tato technologie byla poprvé uplatněna v analyzátořích Photovolt Stat Ion a SMAC. V polovině sedmdesátých let se široce používaly v analyzátořích ASTRA firmy Beckman, v oblasti ISE byly např. specializované analyzátoři Nova a Orion.

Ke konci sedmdesátých let vyvinuly IL a Roche druhou generaci centrifugačních analyzátorů, které byly rychlejší, umožňovaly automatické dávkování vzorku a byly schopné se přizpůsobit k LIS.

Při automatizaci měření krevního obrazu se uplatňovaly jak zobrazovací techniky, tak cytochemická kontinuální průtoková analýza. Zobrazovací techniky byly vyvinuty pro analyzátor LARC (Corning Scientific Instruments) a Hematrak (Geometric Data Corporation). Tyto systémy byly vybaveny mikroskopy umožňujícími digitální zpracování obrazu k identifikaci jednotlivých morfologických struktur bílých krvinek. Systém Hemalog-D (Technicon Instrument Corporation) využíval cytochemického barvení

a následného rozptylu světla k určení populačního diferenciálu. Místo prohlížení 100 buněk bylo nyní prohlíženo 30 000. Navíc k hodnocení automatem nebylo zapotřebí dřívějších zkušeností, tak potřebných při manuální práci.

Z tohoto období již mohu přispět vlastními dojmy. Uvádím některá témata 11. Kongresu Společnosti klinické chemie a laboratorní diagnostiky NDR z roku 1975 v Görlitz: *Pozitivní identifikace vzorků paměti počítače s rozpoznáváním pro automatické ředění; Organizace práce v klinicko-chemické laboratoři s pomocí elektronického zpracování dat (malý počítač Robotron 4200); Metody laboratorní automatizace s počítači a jejich význam; Úkoly a práce počítačů v Klinicko-chemické laboratoři Lékařské akademie Drážďany; Kontrola kvality v automatizované laboratoři s využitím KRS 4200; Organizace elektronického zpracování dat v Ústavu klinické chemie a laboratorní diagnostiky Okresní nemocnice Schwerin a její význam pro územní péči o pacienty; Model klinicko-chemické automatizované laboratoře se sekvenční analytikou.*

Následující dekáda **1980-1989** je charakterizována analyzátory s přímým přístupem (random access) kteréhokoliv vzorku k jakékoliv analýze, pro kterou jsou v systému vytvořeny vhodné předpoklady. Na analyzátorech bylo možné provádět v sérii kolem 30 typů testů a přístroje provedly 120 až 480 analýz/h. Počet zpracovaných vzorků závisel na počtu vyšetření z jednotlivých vzorků požadovaných. Tyto systémy byly složitější a dražší než dříve používané analyzátory pracující po metodách, ale umožnily snadnou a nepřetržitou dostupnost všech metod, pro které měl analyzátor reagentie.

V této době byl vyvinut také vícevrstvý film Kodak Ektachem – jako nouzové uplatnění, když veřejnost neocenila vynález vícevrstvého „plastického“ filmu v kinech. Detekce analytů se prováděly reflexní fotometrií nebo ISE, jak známe z analyzátorů Vitros dodnes.

Tehdejší dávkovače odměřovaly 3 μ l vzorku a kolem 300 μ l činidla. Téměř všechny analyzátory používaly písty firmy Hamilton. Některé systémy používaly jednoúčelové kyvety, jiné byly vybaveny permanentními kyvetami.

Příkladem analyzátorů s přímým přístupem k analýzám byly DACOS (Coulter), DEMAND (Cooper) a Hitachi 705. Továrna Technicon začala používat fluorované uhlovodíky zajišťující integritu vzorku a činidla u svých analyzátorů RA-1000 (úspěšně) a CHEM 1 (méně úspěšně). Analyzátor PARAMAX (American Dade) používal činidla ve formě tablet, které byly podle potřeby rozpouštěny.

Několik ukázek ilustrujících situaci osmdesátých let u nás. *Na konferenci Biolab 80 Kladno se referovalo o: digitálním výstupu fotometru Spekol, vztahu laborantů k výpočetní technice, využití kalkulačky TI 59 při zpracování laboratorních statistických výpočtů, centrifugačním analyzátoru Centrifichem 400. Na sjezdu v Českém Krumlově 1982 byla automatizace jen v posterové části. Sdělení se zabývala organizací příjmu, ale také použitím výpočetního automatu Consul 266 k hodnocení oGTT a výpočtu clearance. V roce 1984 jsme s ing. Novákem uvedli v časopise BCB přehled 52 tehdy používaných analyzátorů. Na sjezdu v Žilině 1985 se referovalo o: analyzátoru Hitachi 705, komparaci Hitachi 705 a OLLI 3000, analyzátoru EPOS, Centrifichem 400 a 600. V roce 1987 se v Ústí nad Labem konala konference "Biochemické analyzátory". Zde byly prezentovány zkušenosti s analyzátory: Progress Plus (Kone), RA 1000 (Technicon), Cobas Fara a Cobas Mira (Roche), EPOS (Eppendorf), SBA 300 (Gillford), Impact 400 (Corning), Encore II a Spirit (Baker).*

Poslední dekáda století **1990-1999** bývá označována jako éra konsolidace, i když u nás k tomu docházelo teprve ke konci této dekády. Výrazný celosvětový tlak na snížení nákladů ve zdravotnictví se projevil také ve snižování ceny velké laboratorní techniky. Software analyzátorů umožňoval sledovat: kvalitu provedení analýzy, výsledky, přístroj a jeho jednotlivé pracovní kroky; provést rozhodnutí o opakované analýze, reflexním testu a zrušení testu; koordinovat celkový počet laboratorních operací tak, aby byla dodržena doba odevzy, propustnost, využití a doba provozuschopnosti přístrojů. Úplná automatizace se zavádí zejména v Japonsku, kde byla již na více než 100 místech. Nicméně hlavním světovým trhem pro laboratorní automatizaci jsou středně velké laboratoře, a u nich se uplatňuje modulární automatizace. Také v našich laboratořích se začínají objevovat kombinované moduly biochemických a imunochemických analyzátorů. Dávkovací technika se dostala na hranice možnosti mechanických dávkovačů (1 μ l) a měřících kyvet (80 μ l), kdy kapilarita, tvar kyvety a způsob míchání roztoku hrají podstatně větší roli než dříve. V roce 1991 je k dispozici automatizovaná centrifuga, ale její zapojení do analytické linky je až v následující dekádě. Vývoj nových analytických systémů do jisté míry stagnuje a úsilí výrobců směřuje především k automatizaci preanalytické a postanalytické fáze, jakož i k vytvoření spojovacích cest a řídicího softwaru pro multimodulární systémy.

První dekáda 21. století dosud běží. V našich laboratořích zaznamenáváme další postup konsolidace, vstup prvních preanalytických automatů, rozsáhlé zavádění POCT glukometrů v nemocnicích, vyšší podíl robotizace v imunochemických analyzátořech a používání chemických mikročipů (ojediněle). Hmotnostní spektrometry ve spojení s GLC nebo HPLC se stávají alespoň ve velkých laboratořích běžným vybavením. Dochází i k automatizaci při vyšetřování vzorků arteriální krve na elektrochemických analyzátořech a nabízí se softwarově řízené zaplavování elektrod podle množství vzorku. Automatizované modulární komplexy jsou tak snadno obsluhovatelné, že v některých (např. německých) laboratořích pracují nepřetržitě, přestože je to z energetického hlediska nehospodárné.

Praktické dopady rozvoje molekulární biologie byly v devadesátých letech menší než předpokládaly prospektivní studie, nicméně vědecký rozvoj tohoto oboru je grandiózní. V laboratorní praxi je rozvoj limitován cenovou náročností těchto analýz (chybí levné biočipy) a poměrně vysokými požadavky na zručnost a zkušenost laboratorního personálu (komplexní automatizace dosud chybí). Futurologové píší krásné myšlenky, ale je třeba se trochu držet při zemi, např. nanotechnologie je v podstatě bombastický výraz, protože fotolitografie rentgenovými paprsky může vytvářet součásti velikosti od 100 nm a menší to už nejde prostě z fyzikálního principu. Také úvahy o sekvenování lidského genomu každého jednotlivce pro zjišťování individuálních predispozic jsou v této dekádě předčasné. Nicméně srovnám-li psaní v algolu, které jsem se učil na vysoké škole, s úrovní současné počítačové komunikace, pak realizace takové myšlenky nemusí být vzdálená několik generací.