

Automatické imunochemické analyzátory

Petr Breinek



Automatické imunochemické analyzátořy

- Automatizace koncem 80. let
- Uplatnění pro analyty s nízkou koncentrací (nmol/l, pmol/l)
- Využití reakce antigen – protilátka
- Jedná se o uzavřené systémy – pouze pro reagentie výrobce přístroje
- Značená protilátka (případně antigen)
- Většinou heterogenní imunoanalýza (pevný povrch – paramagnetické částice, kulička)
- Doba analýzy 15 – 60 min
- Detekce s vysokou citlivostí (luminiscence)

Automatické imunochemické analyzátořy

- Principy se liší typem značky, separace a detekce
- Jsou opatřeny čtečkou čárového kódu, umožňují tak jednoznačnou identifikaci pacienta
- Zpracovávají vzorky v primární zkumavce
- Požadavky pro jednotlivé analýzy jsou přijímány z LIS
- Cena vyšetření poměrně vysoká - řádově mezi 50 – 200 Kč



Cobas e411



- ✓ Plně automatizovaný analyzátor pro **heterogenní imunoanalýzu** založený na technologii **elektrochemiluminiscence (ECL)**
- ✓ 88 výsledků/h, inkubace 9 – 18 – 27 min
- ✓ 75 vzorků na 15 stojancích, STAT pozice
- ✓ Reagenční disk: 18 různých metod, 2-D čárový kód
- ✓ Programovatelných 60 metod
- ✓ Stabilita reagensů: 7-12 týdnů
- ✓ Dvoubodová kalibrace, individuální a kumulativní QC
- ✓ Spotřeba vody: 12ml/test

ECL

- Elektrochemiluminiscence - proces při kterém luminofory reagují na povrchu elektrody a produkují světlo
- Protilátka (příp. antigen) je označena rutenium(II) tris-bipyridylovým komplexem
- K elektrochemiluminiscenci dochází po vložení napětí na elektrodu a reakci s tripropylaminem (TPA)

Modular E170



- ✓ Analyzátor pro **heterogenní imunoanalýzu** založený na technologii **elektrochemiluminiscence (ECL)**, který je součástí modulárního analytického systému

Cobas® 6000 a 8000



- ✓ Plně automatizovaný modulární analytický systém, používající 3 měřicí principy (**ISE, fotometrii a elektrochemiluminiscenci**)
- ✓ ISE jednotka: 90 nebo 1800 testů/h
- ✓ Fotometrický modul: až 2000 testů/h
- ✓ Imunoanalýza: 170 testů/h

Roche Modular (Roche)



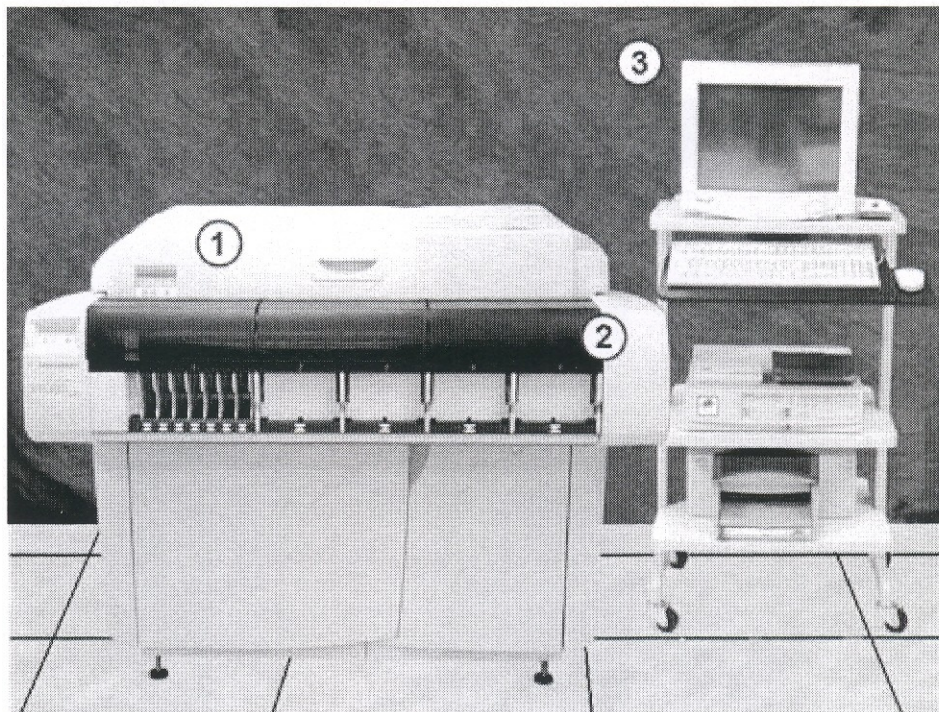
AutoMate 2550 (Beckman Coulter)

Sample Processing System



Architect i 2000 SR, Abbott

Obrázek 1.4: Primární součásti systému i 2000_{SR}

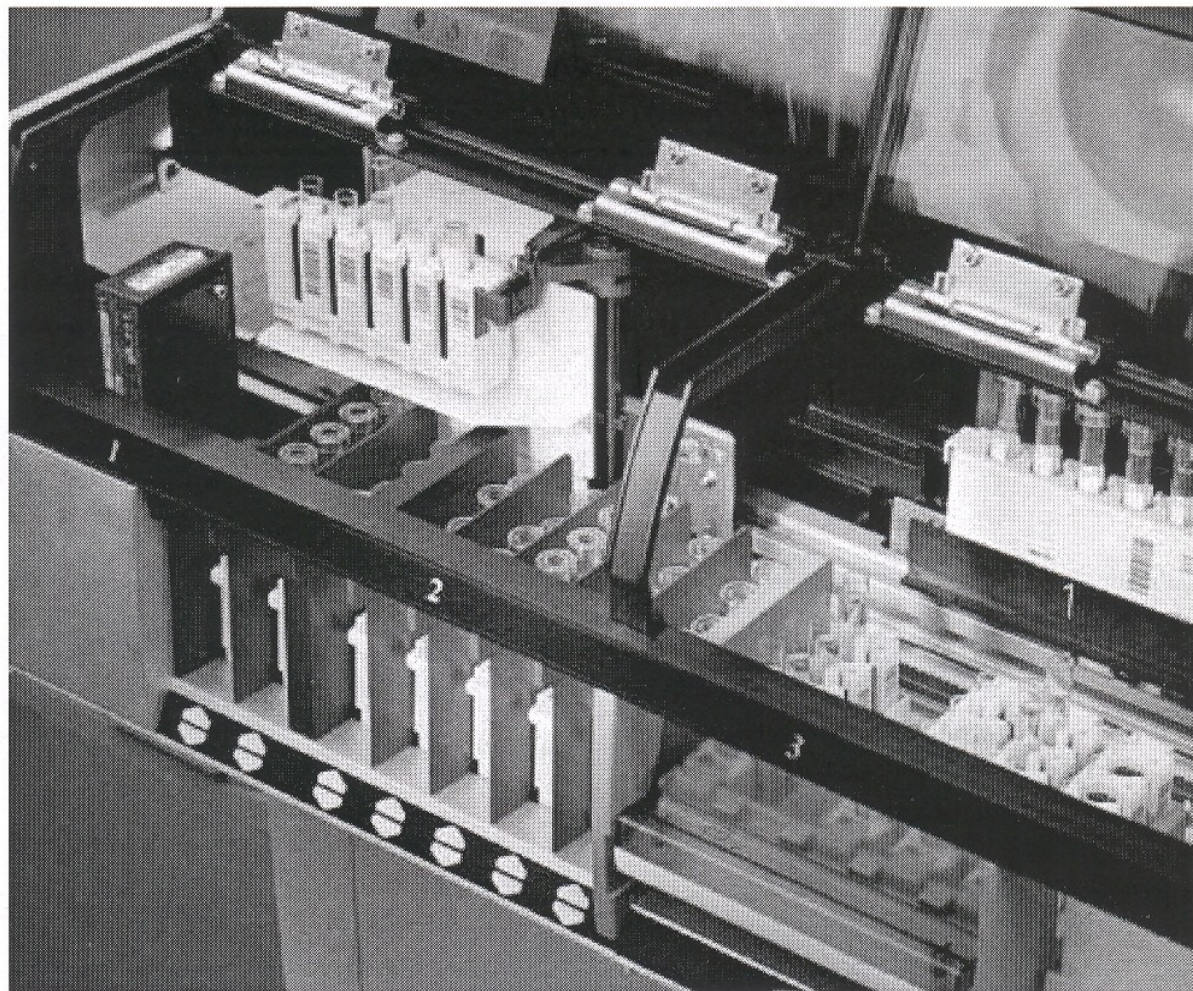


1. i 2000_{SR}TM modul: Diagnostický modul s přednostním zpracováním vzorků, který pro zpracování vzorků využívá metodu CMIA (chemiluminiscenční imunoanalýza na mikročasticích).

2. Podavač RSH (podavač vzorků pro opakované testování): Převážný modul, který přesunuje vzorky do modulu(-lů) k analýze a opakovanému testování.

3. Jednotka SCC (řídící jednotka systému): Počítačový systém, který uživatelům umožňuje řídit modul(-ly) a příbuzné součásti pomocí jednotného centrálního rozhraní.

Architekt i 2000 SR – detail distribučního systému



ARCHITECT i2000/i2000SR

- 25 metod, chlazený karusel
- Velikost reagenčních souprav 100 a 500 testů
- Automatické opakované testování, ředění a reflexe
- Detekce kapalin, detekce sraženin
- Použití čárových kódů
- Možnost integrace s biochemickým analyzátozem ARCHITECT c8000
- Výkon systému je až 200 testů za 1 hodinu (400 pro i4000, 600 pro i6000 a 800 pro i8000)

Architekt i 2000 SR - detekce

Technologie ChemiFlex **CMIA**

(chemiluminiscenční imunoanalýza na paramagnetických mikročásticích)

- měření vyzařovaných chemiluminiscenčních emisí v reakční nádobce

Stručný postup:

1. Změření pozadí po přidavku peroxidu vodíku
 2. Dávkování NaOH (Trigger) do reakční nádoby
 3. Zachycení emitovaného světla a jeho odvedení světlovodem do fotonásobiče
- Značení patentovaným akridiniem

Architect 16200 (Abbott)

principy měření



Fotometrie

- Měření v koncovém bodě (End-point)
- Měření reakční rychlosti (Kinetické metody)
- Turbidimetrie

33 fotometrických bodů

16 vlnových délek (340 až 804nm)

Potenciometrie

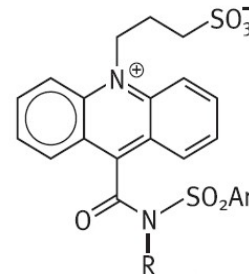
Technologie integrovaných čipů (ICT)

CMIA

Chemiluminiscenční imunoanalýza na paramagnetických mikročasticích

Chemiflex™ patentovaný ester akridinu

- oxidace v kyselém prostředí
- změna prostředí na zásadité
- vzniká nestabilní N-metylakridon
- při přechodu do stabilní formy se uvolní energie v podobě světla



Axsym



- 80-120 testů/ hod
- Měřící principy:
 - MEIA
 - FPIA
 - REA a ICIA
- Robustnost,
- Dotyková obrazovka
- Doba analýzy 15 - 20 min
- Ukončen prodej

Axsym

MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay)

Enzymová imunoanalýza na mikročásticích

- Vzorek se smíchá s reagensy, pak se inkubuje
- Separace na skleněných vlákních matricích
- Přídavek konjugátu s alkalickou fosfatázou
- Přídavek substrátu – 4-methylumbelliferylfosfát (MUP)
- Hydrolýza MUP s ALP
- Fluorescence methylumnelliferonu

Axsym (Abbott)

FPIA – Fluorescenční polarizační imunoanalýza

- Polarizační fluorescenční záření emitováno z indikátoru, kterým je značený analyt
- Hodnota polarizace emitované fluorescence je úměrná rychlosti rotace molekuly
- Rotace je úměrná velikosti molekuly – malé analyty rotují rychleji než komplexy
- Měří se změna v polarizaci emitované fluorescence po vytvoření komplexu analyt-protilátka

UniCell DxI 800



- ✓ Imunochemický systém
 - ✓ Marker (ALP)
 - ✓ Paramagnetické mikročástice
 - ✓ Luminiscenční detekce
- přeměna dioxetanfosfátu na dioxetan
Substrát: Lumi-Phos 530®
- ✓ 200 testů/h (1) 400 testů/h (2)
 - ✓ Doplnováním reagensů za provozu
 - ✓ Údržba: 5 min/d
 - ✓ Kompatibilita s biochemickými analyzátory a s preanalytickou linkou

Immage



- ✓ Poměrová nefelometrie a turbidimetrie v blízké infračervené oblasti (NIPIA)
- ✓ Stanovení proteinů a léčiv
- ✓ 72 vzorků
- ✓ 24 reagensů
- ✓ 180 analýz/h

Advia Centaur (Siemens)



- Pracuje po pacientech při využití principu "RANDOM ACCESS,, - analýzy se provádějí v optimálním časovém rytmu
- Stroj se nemusí zastavovat pro doplnění reagensů a vzorků

SIEMENS

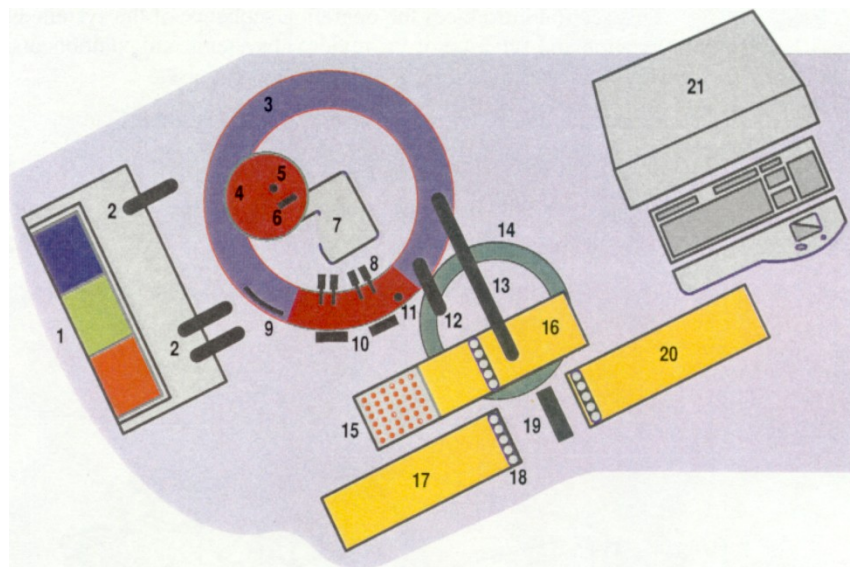
Advia Centaur (Siemens)



SIEMENS

- ✓ plně automatizovaný analyzátor s chemiluminiscenční detekcí pro rutinní i statimová vyšetření
- ✓ 240 stanovení/h, první výsledek je po 15 min, dále každých 15 s
- ✓ Princip měření:
chemiluminiscenční reakce, pevná fáze jsou paramagnetické částice (Fe_2O_3), magnetická separace, značka je AE (acridinium ester), emituje světlo při oxidaci H_2O_2 v alkalickém prostředí
- ✓ Chlazený zásobník s 30 pozicemi
- ✓ Doplnění reagensů, špiček, destilované vody, kyvet, vylití odpadu, odstranění použitých špiček či kyvet za chodu

Advia Centaur (Siemens)



- 1 chlazený zásobník reagentů
- 2 3 reagenční jehly
- 3 inkubační kotouč s květy
- 4 luminometr
- 5 jehla pro dávkování NaOH
- 6 odsávací jehla pro odpad
- 7 dodávání květ
- 8 promývací jehly
- 9 magnety
- 10 promývání
- 11 jehla pro dávkování H₂O₂
- 12 jehla pro dávkování pomocných roztoků
- 13 vzorková jehla
- 14 chlazený zásobník pomocných reagentů
- 15 zásobník špiček
- 16 prostor pro aktuálně dávkované vzorky
- 17 vstup pro vzorky
- 18 stojánek pro vzorky
- 19 vstup pro statim
- 20 výstup hotového vzorku
- 21 softwarové ovládání analyzátoru

Immulite 2000/2500



✓ Princip: **chemiluminiscence**
Ke konjugátu vázanému na reakční kuličce a značenému alkalickou fosfatázou (ALP) je přidán substrát (adamantyl dioxetan fosfát). Účinkem ALP dojde k odštěpení fosfátu a ze substrátu vzniká nestabilní anion, při jehož rozkladu dojde k emisi fotonů

- ✓ 200 testů/h
- ✓ 24 reagensí (chlazené)
- ✓ Inkubace 35 nebo 70min
- ✓ Detekce sraženin

SIEMENS

Kryptor Brahms



- ✓ Technologie TRACE (časově rozlišená zesílená fluorescence)
- ✓ Homogenní imunoanalýza (odpadají promývací a separační kroky)
- ✓ Měření statimových vzorků
- ✓ Připojení k LIS



Kryptor (Brahms)

Princip měření:

- Neradioaktivní přenos energie z donoru (kryptátová struktura s iontem europia v centru) na akceptor (chem. modif. protein)
- Měření signálu emitovaného z imunokomplexu s časovým zpožděním
- Měřený vzorek je ozářen dusíkovým laserem, následně donor (kryptát) emituje fluorescenční signál, po něm emituje signál akceptor

Berthold **Lumat** **LB 9507**



Berthold **Autolumat** **LB 953**



Tosoh Bioscience AIA 900 a 2000



Princip: FEIA (enzymová imunoanalýza s fluorescenční detekcí)

Výkon: 200 testů/h

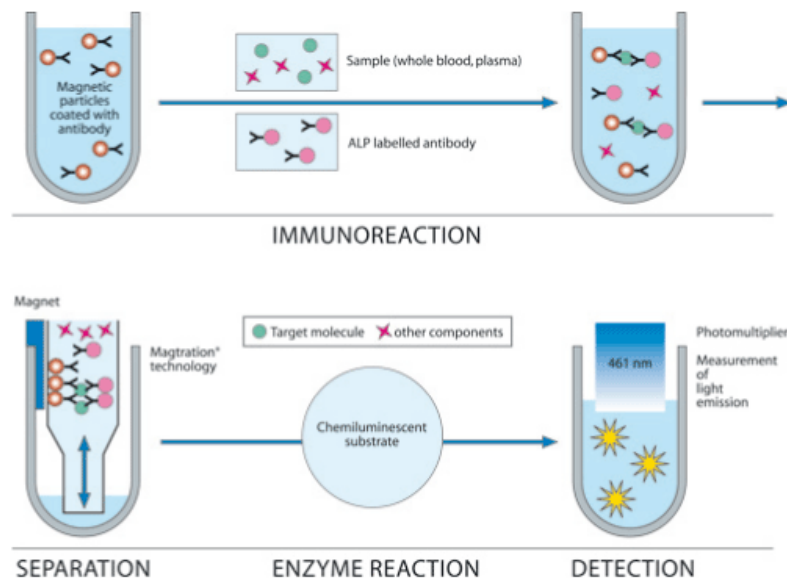
Vzorky: 170 + STAT pozice

Reagencie: 48 metod (960 testů)

Reakční čas: 10 nebo 40 min

Detekce sraženiny, automatické ředění, QC program, ...

Pathfast



Imunochemický analyzátor pro stanovení kardiálních markerů (NT-proBNP, Myoglobin, Troponin I, CK-MB, D-dimery, β -hCG, CRP, Presepsin)

- ✓ Princip: chemiluminiscence se separací pomocí magnetických částic
- ✓ Z jednoho vzorku lze změřit až 6 parametrů
- ✓ Výkon: 18 testů/h
- ✓ První výsledek: po 17min
- ✓ Počet vzorků: 6

RAD 120, Radim

- Patentovaná technologie nazvaná “**Pegasus**”
- Pevná fáze - železitan potažený zirkoniem
- Částice se silnou vazebnou kapacitou k biologicky aktivním molekulám
- Rychlá a efektivní separace
- **Fluorescenční detekce při 450 nm**



RAD 120, Radim - charakteristika

- Kontinuální přidávání reagensů a vzorků za chodu
- Primární, sekundární vzorky, pediatrické kyvety
- Výkon: až 120 testů/hod
- Reflexní testování
- Kalibrace – stabilní až 4 týdny
- Archív pacientů
- Dotyková obrazovka

VIVA-E (Siemens)

System na testování drog s technologií EMIT



SIEMENS

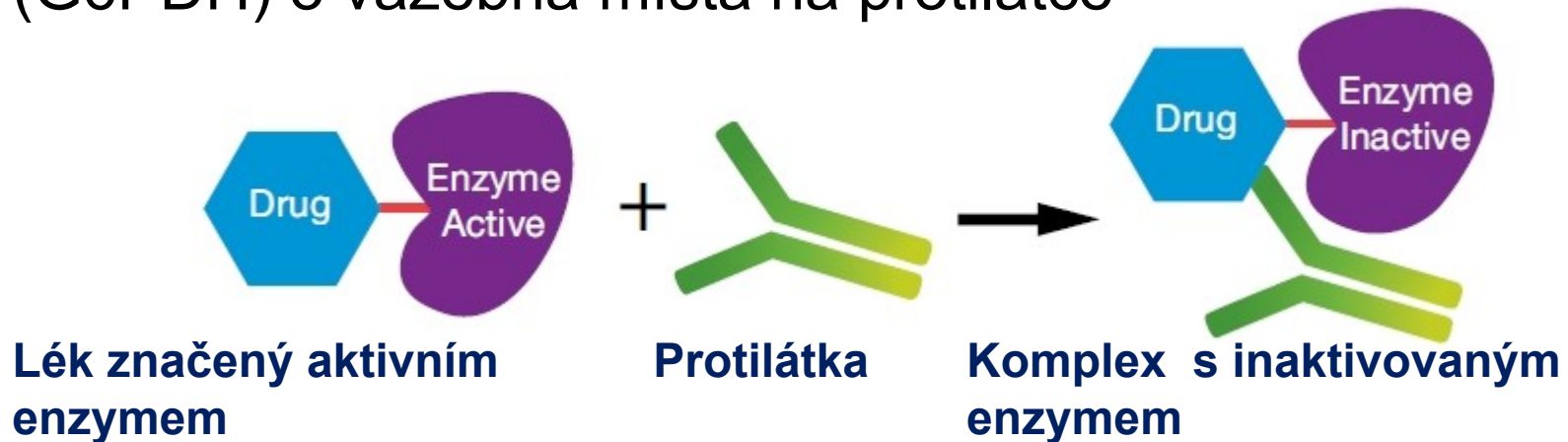
Princip: VIVA – E

- ✓ Technologie **Emit® II** - **homogenní enzymatická imunoanalytická technika**
 - ✓ Výsledek: do **10 min**
 - ✓ Výkon: do **65 testů/h** (se 3 reagensiemi), do **130 testů/h** (se 2 reagensiemi)
 - ✓ Kapacita: **51 vzorků**
 - ✓ Reagencie: **12 metod EMIT** v přístroji
-
- **Test založen na kompetici** mezi látkou ve vzorku a látkou značenou enzymem **glukoso-6-fosfát dehydrogenázou (G6PDH)** o vazebná místa na protilátce
 - Aktivita enzymu klesá při vazbě na protilátku, proto lze koncentraci látky ve vzorku měřit podle změny aktivity enzymu
 - Aktivní enzym mění nikotinamidadeninukleotid (NAD) na NADH --> změna absorbance (spektrofotometricky)
 - Endogenní sérová G6PDH neinterferuje, koenzym NAD působí pouze s bakteriálním enzymem (*Leuconostoc mesenteroides*) použitým v testu

Princip EMIT (1)

Homogenní enzymatická imunoanalytická technika

Test založen na kompetici mezi látkou ve vzorku a látkou značenou enzymem glukoso-6-fosfát dehydrogenázou (G6PDH) o vazebná místa na protilátce

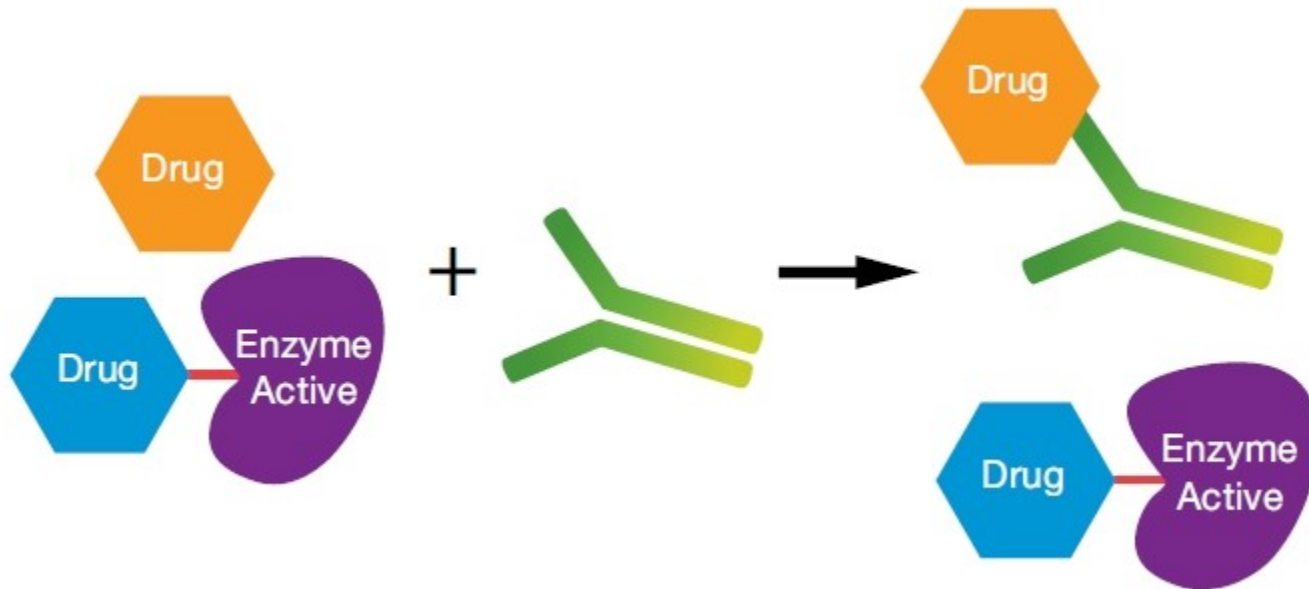


Vazbou protilátky na značený antigen dochází k inaktivaci enzymu

Princip EMIT (2)

Homogenní enzymatická imunoanalytická technika

Po přidání vzorku obsahujícím stanovovaný lék dochází k soutěži léku s lékem značeným enzymem o vazebná místa na



Lék značený aktivním enzymem + stanovovaný lék

Protilátka

Stanovovaný lék soutěží o protilátku, výsledkem je to, že enzym zůstává částečně aktivní

Čím větší je koncentrace stanovovaného léku ve vzorku, tím větší je stanovovaná aktivita enzymu

- Aktivní enzym mění nikotinamidadeninukleotid (NAD) na NADH --► změna absorbance (spektrofotometricky)
- Endogenní sérová G6PDH neinterferuje, koenzym NAD působí pouze s bakteriálním enzymem (*Leuconostoc mesenteroides*) použitým v testu

Dimension Vista 1500

Intelligent Lab Systém - Siemens

- Integrovaný systém - (klin. chem., ISE, imuno)
- **Technologie LOCI** - založena na přenosu kyslíku
- První **homogenní imunoanalýza s chemiluminiscenční detekcí** – novinka
- **Vysoká citlivost**



SIEMENS

VIDAS® a miniVIDAS®



- ✓ **Princip: ELFA** (Enzyme Linked Fluorescent Assay)
- ✓ Výkon: do 100 testů/2h, STAT pozice, 12 vzorků současně
- ✓ miniVIDAS je kompaktní verzí systému VIDAS (PC, tiskárna, klávesnice)

Evidence, Randox

- Biočipová array technologie
- Imunoanalýza založena na simultánní multianalýze
- Na biočipu panel příbuzných testů
- Princip ELISA



Elisys Quattro - HUMAN

Plně automatický ELISA analyzátor středního výkonu



Více než 40 ELISA testů
Až 7 desek naráz
4 nezávislé inkubátory
Čtečka čárového kódu zkumavek
Automatická kontrola množství reagensů

ELISA reader a promývačka (washer)



Závěr

✓ **Automatizace heterogenní imunoanalýzy = možnost dostupného a rychlého stanovení celé řady analytů (tumorové markery, kardiomarkery, hormony, léky, vitaminy,...)**

Ale:

✓ **Problémy se standardizací → s pravdivostí → se srovnatelností výsledků → s EHK,...**

Specifita protilátek, interference, závislost na analytickém systému, ...