

# Automatické imunochemické analyzátory

- Automatizace koncem 80. let
- Uplatnění pro analyty s nízkou koncentrací (nmol/l, pmol/l)
- Využití reakce antigen – protilátka
- Značená protilátka (případně antigen)
- Většinou heterogenní imunoanalýza (**imunokomplex či jeho část se naváže na paramagnetické částice, případně kuličku**)
- Doba analýzy 15 – 60 min
- Detekce s vysokou citlivostí (chemiluminiscence, elektrochemiluminiscence, fluorescence..)

# Automatické imunochemické analyzátory

## Základní postup:

- smíchání komponent
- inkubace – vznik **imunokomplexu** antigen - protilátka
- separace (v případě heterogenní imunoanalýzy, časté **využití magnetu**)
- reakce značenky komplexu antigen – protilátka s chemickou látkou startující **reakci s detekovatelným efektem**
- detekce (př. chemiluminiscence)

# Automatické imunochemické analyzátory

- Jedná se o **zcela** uzavřené systémy – pouze pro reagentie výrobce přístroje
- Kazetový systém reagentií - ready to use (ve většině případů)
- Jsou opatřeny čtečkou čárového kódu, detekcí sraženiny, zpracovávají vzorky po pacientech - Random Access
- Reagenční nádobky na jedno použití
- Cena imunochemických vyšetření poměrně vysoká - běžně mezi 50 – 200 Kč
- Principy jednotlivých firem se liší typem **značky, separace a detekce**

# **Analyzátory na heterogenní imunoanalýzu**

# Advia Centaur (Siemens)

**ADVIA Centaur** je plně automatizovaný chemiluminiscenční analyzátor

**Výkon: 240 stanovení za hodinu, analýza trvá 15 minut**

## Princip měření: Chemiluminiscence

- Vytvoří se imunokomplex, značí se acridinium esterem (chemiluminiscenční látka) a naváže se na něj paramagnetické částice ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ).
- Komplex se od nezreagovaných částí oddělí magnetickou separací.
- Značka (acridinium ester) se v alkalickém prostředí oxiduje  $\text{H}_2\text{O}_2$  za vzniku chemiluminiscenční reakce.
- Systém měří kvantitativní množství emitovaného světla (citlivost  $10^{-15}$ ).



# Advia Centaur (Siemens)

- **Reagencie:**  
Kazetový chlazený zásobník s 30 pozicemi - neustále promíchávány  
Vkládání reagensů za provozu  
Automatická kontrola hladiny reagensie
- **Reagenční nádoby:** akrylové, na jedno použití
- **Kalibrace:** Kalibrační křivka se vkládá do analyzátoru pomocí čtečky čárového kódu načtením. Master křivky z příslušného setu.

# Attelica (Siemens)



# Atellica (Siemens)

- **Integrovaný systém pro imuno i klinickou chemii** – nová řada Siemens, jméno Atellica pro všechny analyzátory (hematologie, močová analýza)
- Mohou být spojeny až 3 Atellica IM (imunochemické) analyzátory
- Atellica IM 1300 analyzátor : až 220 testů/ hod.  
Atellica IM 1600 analyzátor: až 440 testů/ hod.
- Posun vzorků (Sample Handler) pomocí patentované Atellica Magline™ - **posun vzorků na magnetickém polštáři**
- **Při pipetování se vytvoří vnitřní alikvot** s objemem dle požadovaných testů a vzorek hned pokračuje dál k další analýze a systém potom z vnitřního alikvotu pipetuje pro jednotlivé imunochemické metody.



# Atellica (Siemens)

- **Kontroly a kalibrátory jsou chlazené na palubě, automaticky prováděné dle nastavení a mohou je využívat všechny spojené analyzátory**
- **Třídící plocha (rozdělí vzorky na ty, které mají požadavky pro Atellicu a ty další)**
- **Připravuje se: odzátkovač**

# cobas e411 (Roche)



- Imunochemické systémy Roche jsou založeny na **elektrochemiluminiscenci** (ECL)- mimořádná citlivost, široký měřicí rozsah a rychlost stanovení
- Jedná se o benchtop analyzátor s kapacitou 86 t/hod
- Operační systém je založen na vkládání dat prostřednictvím dvourozměrného čárového kódu

# **cobas e411 (Roche)**

- **přístroj je vybaven funkcí detekce hladiny, sraženiny či pěny**
- **kontinuální promíchávání magnetických mikročástic**
- **jednorázové špičky - minimalizují kontaminaci**
- **18 pozic pro reagenční soupravy a předzpracující reagenty a diluenty --> maximálně 15 různých metod**

# cobas e411 (Roche)

**Inkubační jednotka** ( $37 \pm 0,5$  °C):

- Zde probíhá imunochemická reakce (reakce s protilátkou - případně antigenem - značenou **rutenium(II) tris-bipyridylovým komplexem** a **paramagnetickými částicemi**)
- **Délka inkubace – 9 , 18 nebo 27 minut** (časy prakticky odpovídají délce reakce – 9 minut pro statimové metody, 18 rutina, 27 metody, při kterých se analyt nejprve musí uvolnit z endogenních vazeb – př. B12 )
- Po ukončení reakce je reagenční cup s reakční směsí nadávkován do měřící cely

# cobas e411 (Roche)

## Měřicí jednotka:

- Obsahuje fotonásobič, průtokovou měřicí celu, magnetickou jednotku a zesilující obvod (teplota  $28 \pm 0,5$  °C)
- K elektrochemiluminiscenci dochází po vložení napětí na elektrodu a reakci imunokomplexu značeného  $\text{Ru}^{2+}$  s přidaným substrátem (tripropylamin -TPA)
- Při elektrochemiluminiscenci - vysocereaktivní látky reagují na povrchu elektrody a produkují světlo

# Další imunochemické systémy Roche

## - princip elektrochemiluminiscence

(stejný jako cobas e411)

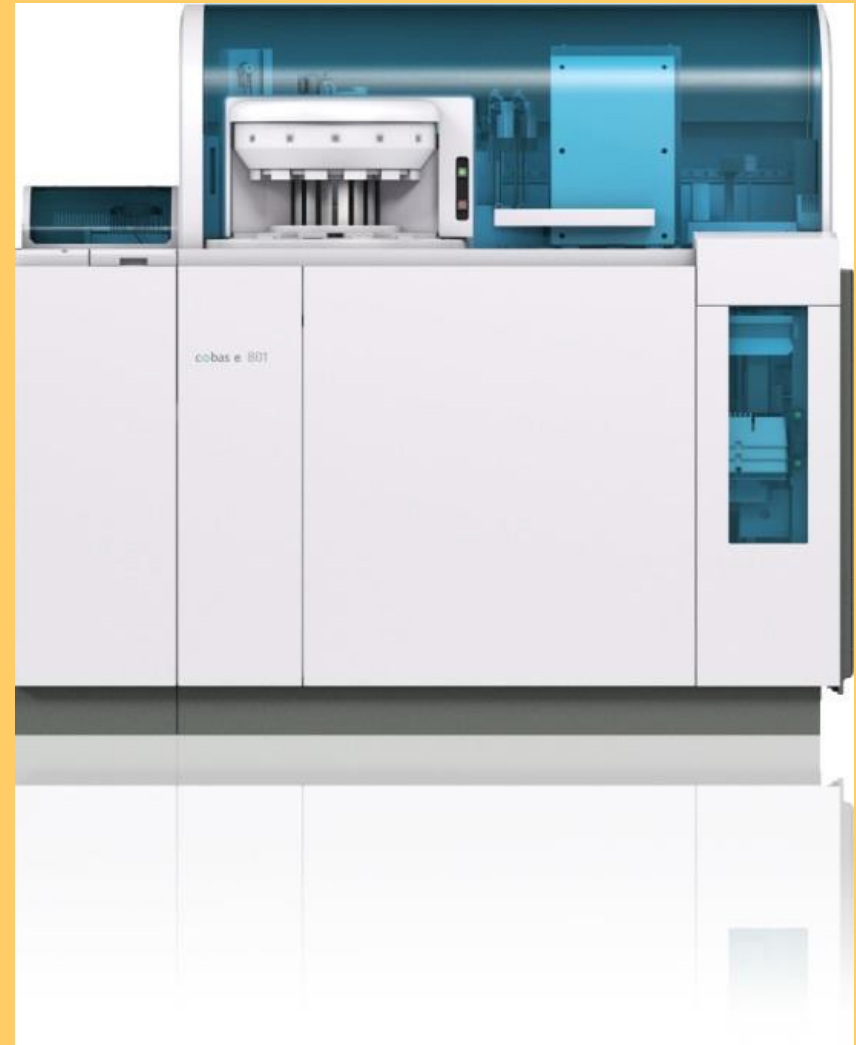
- **moduly e801** viz dále (cobas 8000, cobas pro)
- modul e 402 (cobas pure)  
120 testů/hod



- moduly e601 s výkonem 170 testů/hod. (přístroj cobas 6000)
- moduly e602 s výkonem 170 testů/hod. (cobas 8000)
-

# Modul e801 (Roche)

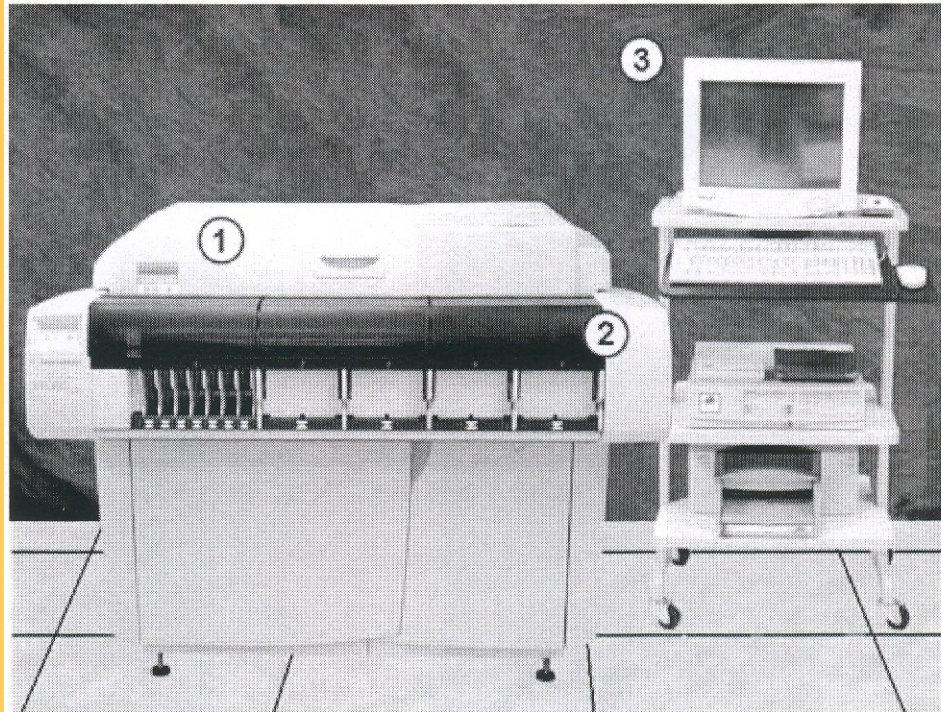
- Imunochemický modul série cobas 8000 (momentálně nejmodernější)
- 48 pozic pro reagentie
- Výkon až 300 testů/hod.
- Doplnování reagentů za provozu





# Architekt i 2000 SR (Abbott)

Obrázek 1.4: Primární součásti systému i 2000<sub>SR</sub>



1. i 2000<sub>SR</sub><sup>TM</sup> 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.

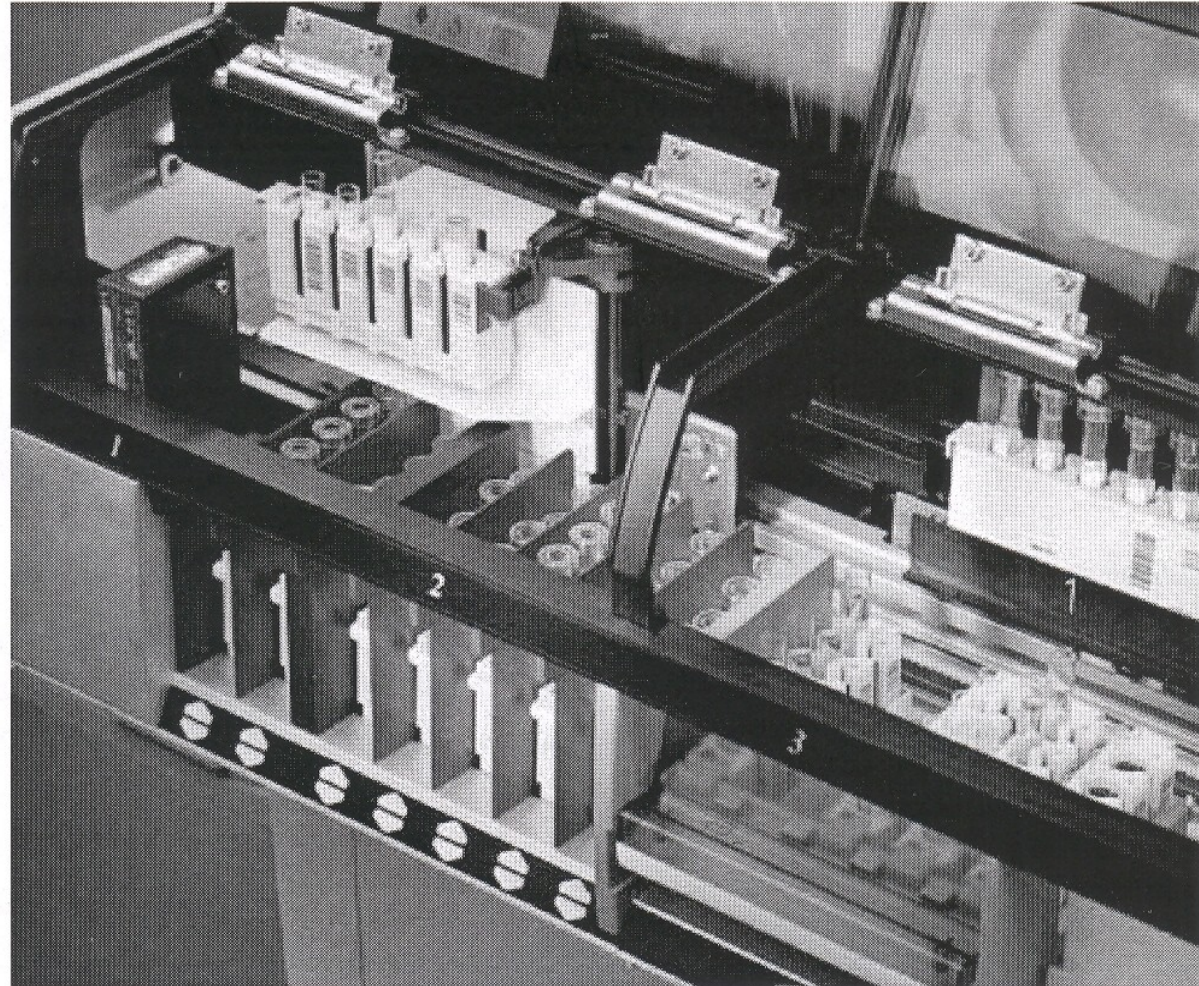


# ARCHITECT i2000/i2000SR

- **Až 25 metod na palubě, chlazený karusel**
- **Velikost reagenčních souprav 100 a 500 testů (výhodné pro různě velké laboratoře)**
- **Automatické opakované testování, ředění a reflexe**
- **Detekce kapaliny, detekce sraženin**
- **Možnost integrace s biochemickým analyzátozem ARCHITECT c8000**
- **Možnost spojit až čtyři jednotky dohromady – viz.výkon**
- **Výkon systému je až 200 testů za 1 hodinu (400 pro i4000, 600 pro i6000 a 800 pro i8000)**

# Architect i 2000 SR (Abbott)

– detail distribučního systému



# Architect i 2000 SR (Abbott)

**Technologie ChemiFlex CMIA** (chemiluminiscenční imunoanalýza na paramagnetických mikročásticích)

- značení patentovaným **akridiniem**
- měření vyzařovaných chemiluminiscenčních emisí v reakční nádobce

Stručný postup:

1. **Změření pozadí po přidavku peroxidu vodíku**
2. **Přidání NaOH do reakční nádobky**
3. **Zachycení emitovaného světla a jeho odvedení světlovodem do fotonásobiče (PMT)**

# Aliniti (Abbott)

- Integrovaný systém pro imuno (Aliniti i) i klinickou chemii (Aliniti c)
- **Novinka firmy, dostává se na trh**
- **Princip stejný jako u imunochemických systémů Architect**
- Až čtyři moduly v jedné sestavě
- **Zabírá malou plochu**
- **Léky nejsou v nabídce (jsou na Aliniti c – klinický modul)**



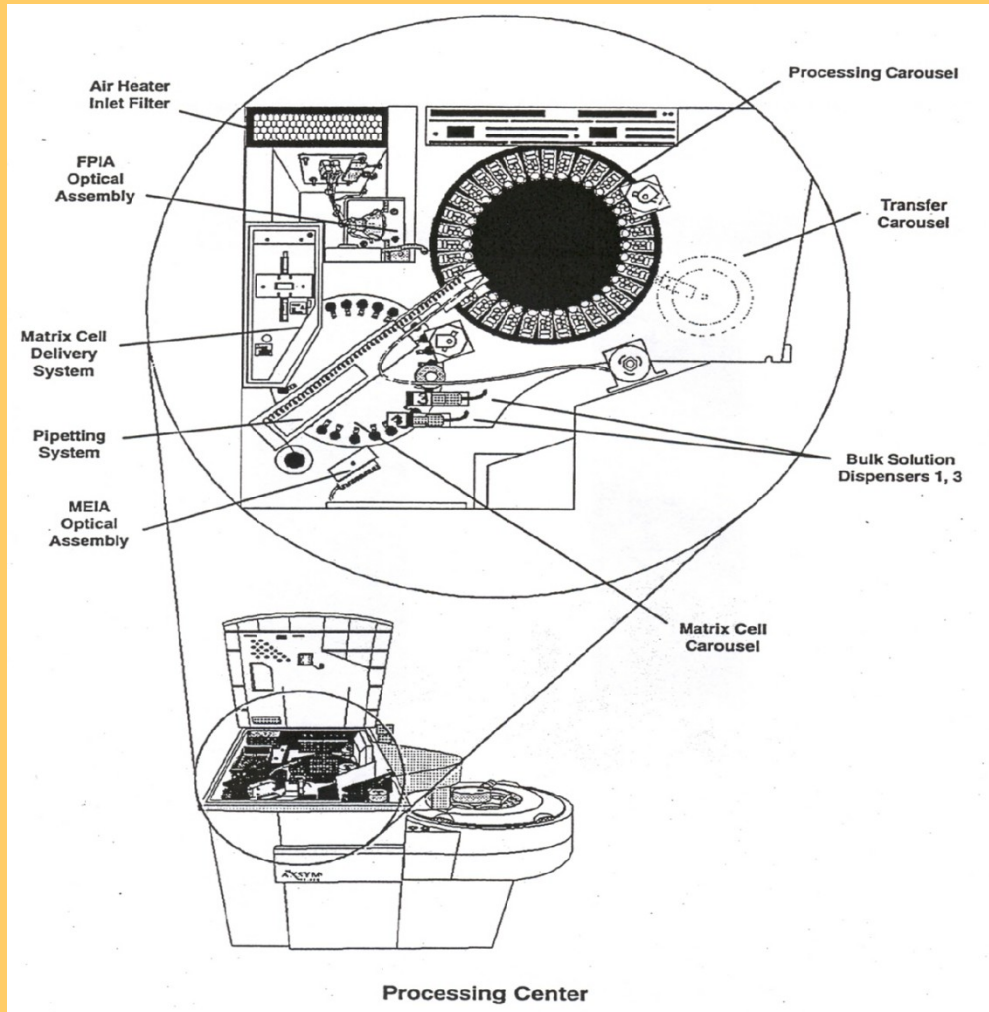
# Axsym (Abbott)



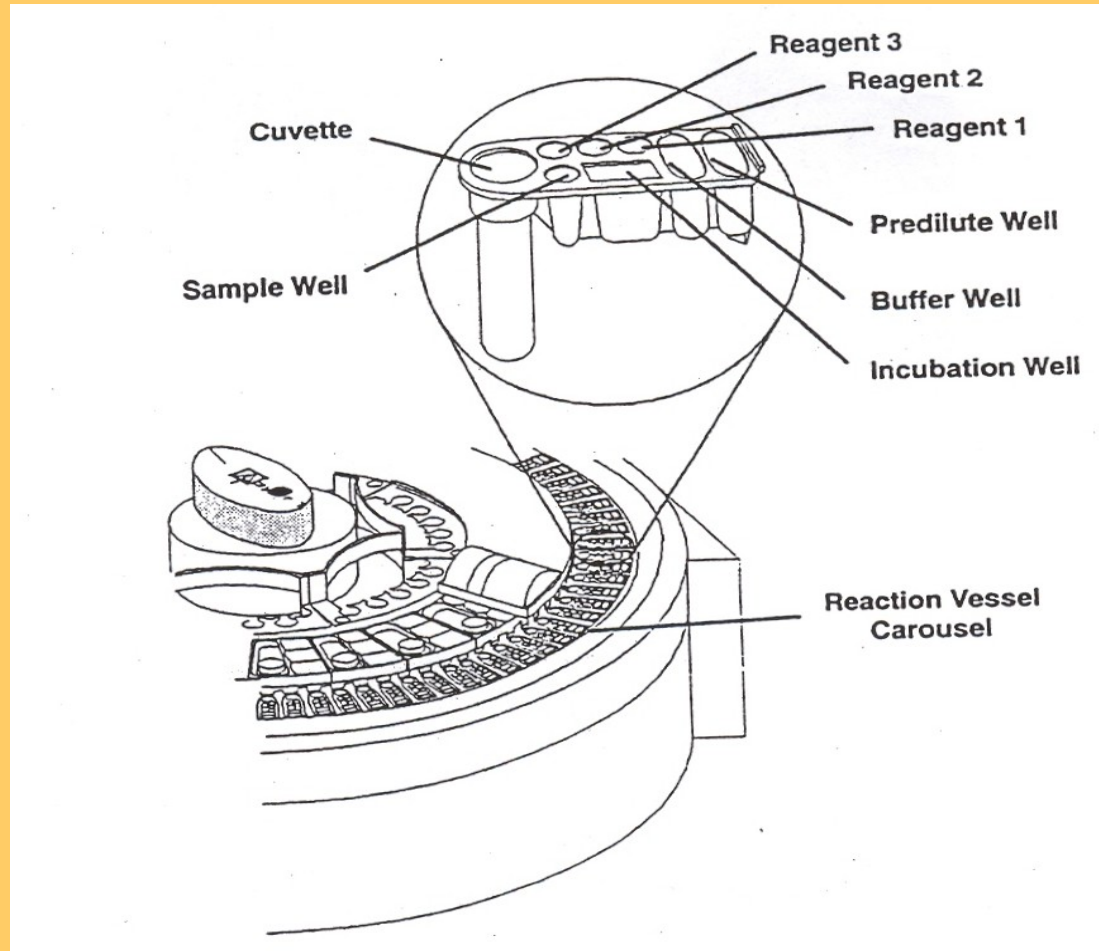
- Systém již **stažen z trhu**  
– byl velmi rozšířený
- 80-120 testů/ hod
- Měřící principy – MEIA, FPIA
- Robustnost
- Dotyková obrazovka
- Doba analýzy 15 - 20 min
- Technologie zabraňující tvorbě pěny



# Axsym - procesní centrum



# Axsym - reakční nádobka



# AxSYM (Abbott)

## MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay)

### - Enzymová analýza na mikročasticích

- Vzorek se smíchá s reagensy, pak se inkubuje
- Separace probíhá na skleněných vlákních matricích ve válečku (jeden váleček pro jeden test)
- Přídavek konjugátu s alkalickou fosfatázou
- Přídavek substrátu – 4-methylumbelliferylfosfát (MUP)
- Hydrolýza MUP alkalickou fosfatázou
- Vznik fluorescence methylumbelliferonu + její vyhodnocení



# Axsym (Abbott)

## FPIA – Fluorizační polarizace

- Polarizační fluorescenční záření emitováno ze značky, kterou je **fluorescein**, kterým je **označen** přidávaný **stejný analyt** jako je ten, který stanovujeme
- Hodnota polarizace emitované fluorescence je úměrná rychlosti rotace molekuly
- Rotace odpovídá velikosti molekuly – malé analyty rotují rychleji než komplexy
- Měří se změna v polarizaci emitované fluorescence po vytvoření komplexu analyt-protilátka
- Princip je vhodný pro malé molekuly jakou mají např. léky

# Unicel Dxl 800 (Beckman Coulter)



- kompaktní plně automatický uzavřený systém umožňující provádění imunoanalytických stanovení
- jako značku využívá **alkalickou fosfatázu**
- paramagnetických mikročastic jako nosiče protilátek resp. antigenů
- chemiluminiscenční detekci využívající přeměny **dioxetanfosfátu** na dioxetan

# UniceL Dxl 800 (Beckman Coulter)

- **Výkon:**  
Až 400 testů /hodinu  
Rychlé uvolnění vzorku ze systému zajišťuje interní alikvot, z kterého jsou následně pipetovány jednotlivé metody
- **Jednoduchá obsluha:**  
Minimální „kontakt“ obsluhy s řídicím softwarem.
- **Nepřetržitý provoz**  
Doplňování reagensů a spotřebního materiálu za plného provozu  
  
Minimální údržba (5min.denně)

# Unicel Dxl 800 (Beckman Coulter)

- Kontrola integrity vzorků – detekce sraženiny a bublin
- Až 50 metod na palubě
- Kompatibilita s biochemickými analyzátory a s preanalytickou automatizací – Power Processor®
- Široká nabídka testů

# Dxl 9000, Beckman

- Novinka
- Výkon 450t/hod
- Nový substrát s výrazně vyšší stabilitou
- Léky na modulu nebudou
- Bez denní údržby
- Více pipetorů – lze pipetovat některé metody současně
- Menší pipetovací objem, vnitřní alikvot jen pokud je dostatek materiálu
- Zkrácení délky některých metod na 10 min



# Immolute 2000 (Siemens)

## **Účinnost:**

- Výkon 200 testů
- Random Access
- 24 chlazených reagensů
- Automatické opakování vzorků s hodnotou mimo technický limit

## **Maximální integrace:**

- Primární zkumavky
- LIS interface

# **Immulite 2000 (Siemens)**

- **Detekce sraženin**
- **Enzymově zesílená chemiluminiscence**
- **Stanovení 3. generace**
- **Dotyková obrazovka**
- **Nevýhodou je dlouhá doba inkubace – 35 nebo 70 minut**

# Immulite 2000 (Siemens)

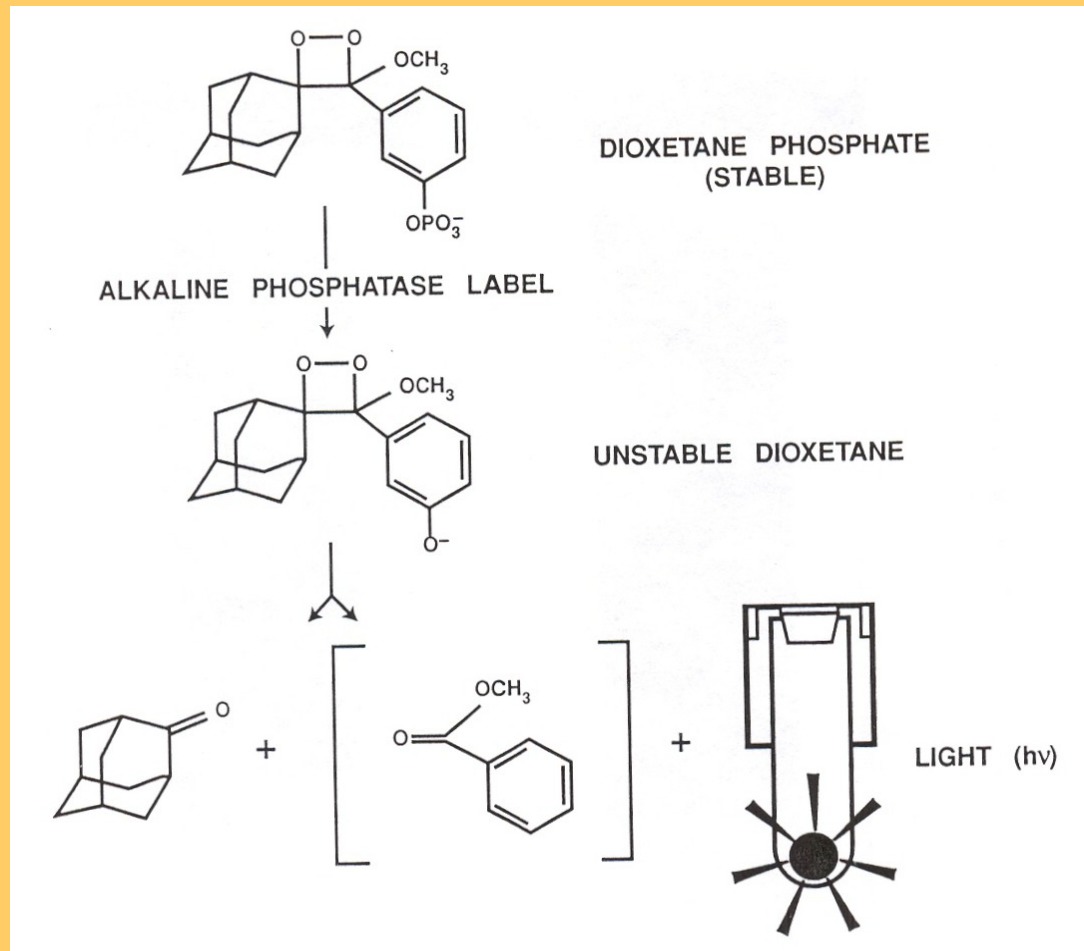
## Princip měření:

- Ke konjugátu (jeho součástí je analyt, který stanovujeme) vázanému na reakční kuličce a značenému alkalickou fosfatázou je přidán luminogenní substrát (adamantyl dioxetan fosfát)
- Dojde k odštěpení fosfátu a ze substrátu vzniká nestabilní anion, při jehož rozkladu dojde k emisi fotonů (chemiluminiscenční reakce)



# Immulite 2000

## Chemická reakce substrátu



# LIAISON XL (DiaSorin)



- **Více než 100 metod**
- **Chemiluminiscenční detekce**
- **Separace na paramagnetických mikročásticích**
- **Až 180 testů/hod**
- **V poslední době rozšířený**

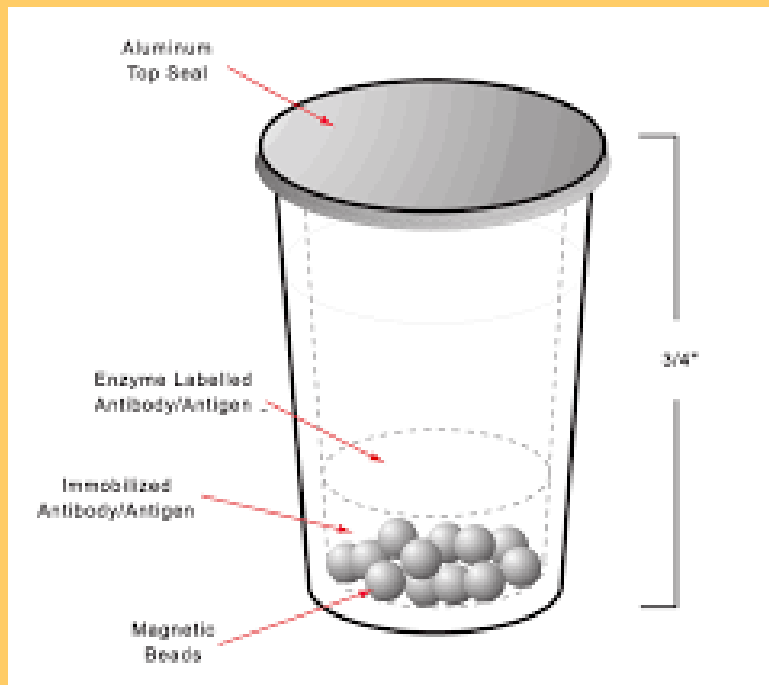
# CL-960i (mindray)

- **Malý, plně automatizovaný imunoanalyzátor**
- **Až 180 testů/hod, 15 reagenčních pozic**
- **Superparamagnetické mikročástice, magnetická separace**
- **Reagencie značené ALP**
- **Substrát – AMPPD (derivát 1,2-dioxo-cyclohexanu)**

**Firma mindray má k dispozici i větší imunoanalyzátory  
– CL-1200i, CL-2000i**

# AIA-2000 (TOSOH)

- Fluorometrická enzymo-immunoanalýza (FEIA)
- **Unikátní balení reagensů** – suché (bez odpadu) - **v reagenčních kelímcích** s Al folií k propíchnutí (jeden kelímek/ test se stabilitou 1 rok) – nestane se, že otevřená reagence proexpiruje
- 200 testů/hod
- 20 minutové testy (většina)
- Automatizovaná denní údržba
- Stabilita kalibrace 90 dnů



# 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**

**reagencií**

# Noveos (Hycor)

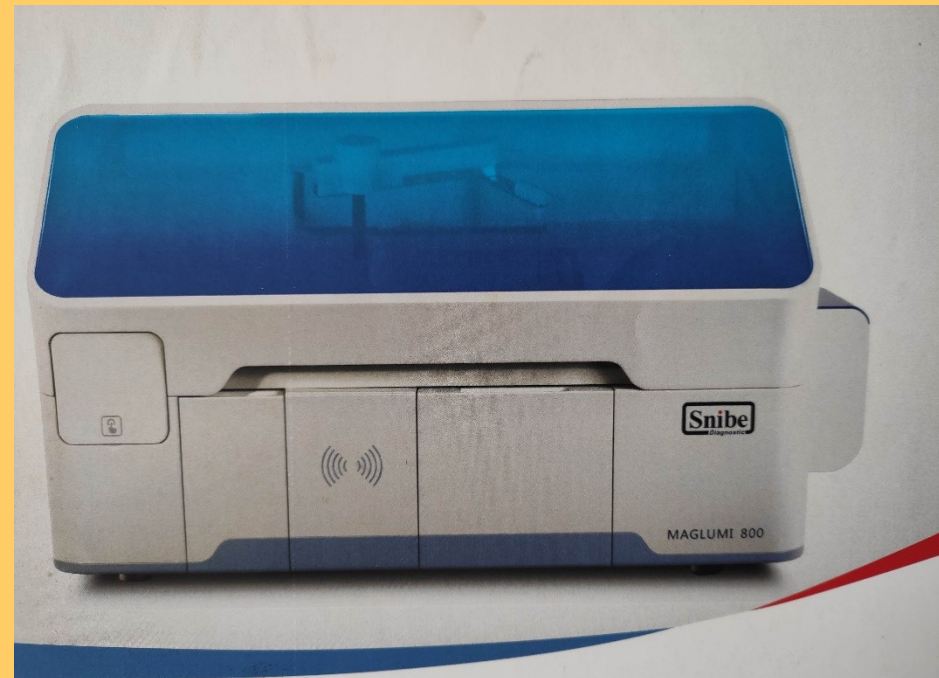
## Nový přístroj na alergy

- 140 alergenů v systému současně
- Balení každého alergenu po 75 testech
- Princip ELISA



# Maglumi 800 (Snibe)

- CLIA
- Značka-ABEI
- Separace na magnetických mikročásticích
- 180 testů/hod
- Délka testu -17 min
- 154+ parametrů (včetně aldosteronu, gastrinu atd.)
- K dispozici různé velikosti přístrojů MAGLUMI 600 - 4000



# **Analyzátory na homogenní imunoanalýzu**



# Kryptor (Brahms)

Využívá **homogenní imunoanalýzu**  
Odpadají promývací a separační kroky

## Princip měření:

- Při reakci probíhá neradioaktivní přenos energie z donoru (kryptátová struktura s iontem europia v centru) na akceptor (chem. modif. protein)
- Měřený vzorek je ozářen dusíkovým laserem, následně donor (kryptát) emituje fluorescenční signál, po něm emituje signál akceptor
- Měříme signál emitovaný z imunokomplexu s časovým zpožděním

# Dimension Vista 1500 (Siemens)

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



# VIVA-E (Siemens)

system na testování drog



# VIVA – E (Siemens)

## Princip:

- Technika EMIT - **homogenní enzymatická imunoanalytická technika** - 10 min. test, 65 testů/hod
- Test založen na kompetici mezi stanovovanou látkou ve vzorku a stejnou látkou **značenou enzymem glukoso-6-fosfát dehydrogenázou (G6PDH)** o vazebná místa na protilátce
- Aktivita enzymu klesá při vazbě na protilátku- koncentrace látky ve vzorku je tedy úměrná změně aktivity enzymu
- Aktivní enzym mění nikotinamidadeninukleotid (**NAD**) na **NADH** --> změna absorbance (spektrofotometricky vyhodnocujeme)
- (Endogenní sérová G6PDH neinterferuje, koenzym NAD působí pouze s bakteriálním enzymem (*Leuconostoc mesenteroides*) použitým v testu)
- **Metoda je semikvantitativní – skupinový test**