

Vybrané imunochemické metody

Praktické cvičení z lékařské biochemie -
teorie

Všeobecné lékařství

Lenka Fialová



2024/2025

Imunochemické metody jsou založeny na specifické reakci antigenu s protilátkou. Pomocí imunochemických metod můžeme vyšetřovat široké spektrum různých analytů, které v imunochemických reakcích mají povahu antigenů nebo protilátek. V praktickém cvičení se seznámíte s vybranými imunochemickými metodami. Zastoupeny jsou metody imunoprecipitační a aglutinační i citlivější imunoanalytická metoda ELISA.

Úloha 1 – Stanovení cirkulujících imunokomplexů

- nespecifická metoda pro stanovení celkových imunokomplexů přítomných volně v séru, založená na měření zákalu, jehož podstatou jsou imunokomplexy precipitované pomocí polyetylglykolu

Úloha 2 – Imunoprecipitační křivka lidského albuminu a stanovení koncentrace albuminu imunoturbidimetricky

- příklad kvantitativní imunoprecipitační metody, u níž imunoprecipitace probíhá v roztoku

Úloha 3 – Stanovení specifických protilátek pomocí ELISA metody

- příklad citlivější imunoanalytické metody se značenými reaktanty pomocí enzymu (peroxidasy)
- metoda použita pro stanovení specifických protilátek namířených proti určitému antigenu

Úloha 4 – Vyhodnocení jednoduché radiální imunodifúze pro stanovení celkových IgG a IgM

- příklad kvantitativní imunoprecipitační metody, u níž imunoprecipitace probíhá v gelu
- metoda použita pro stanovení celkových lidských imunoglobulinů třídy IgG nebo IgM
- v analytickém systému lidské protilátky mají charakter antigenu, protilátkou je zvířecí imunoglobulin namířený proti lidskému imunoglobulinu

Úloha 5 – Stanovení krevní skupiny hemaglutinační zkouškou

- příklad aglutinační reakce – antigeny jsou umístěny na povrchu erytrocytů, jejich přítomnost je prokazována specifickými zvířecími protilátkami

Úloha 6 – Stanovení koncentrace C-reaktivního proteinu pomocí turbidimetrického POCT testu

- příklad kvantitativní imunoturbidimetrické metody pro stanovení antigenu
- pro zvýšení citlivosti metody jsou protilátky navázány na latexové částice

Úloha 7 – Stanovení specifických protilátek pomocí imunoblottu

- příklad kvalitativní imunoanalytické metody s možností stanovit odděleně protilátky namířené proti různým antigenům

Úloha 1 – Stanovení cirkulujících imunokomplexů

Princip:

Imunokomplexy, vznikající při reakci antigenu s odpovídající protilátkou, představují velice heterogenní skupinu imunoreaktantů lišící se velikostí a složením. Vliv na charakter imunokomplexů má velikost a počet epitopů antigenu, afinita i počet vazebných míst protilátek (např. IgG má dvě vazebná místa, IgM 10 vazebných míst) a vzájemný poměr antigenu a protilátek¹. V nízkých koncentracích se vytvářejí imunokomplexy i u zdravých lidí. Přechodně jsou přítomny v průběhu akutních infekcí.

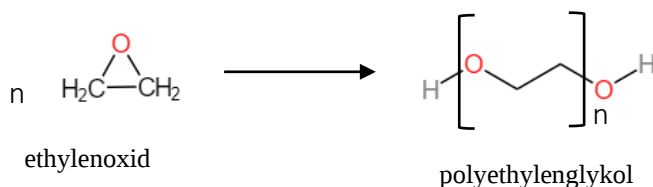
Za určitých okolností se imunokomplexy podílejí na patologických procesech. Důležitou roli hraje vyšší a dlouhodobější antigenní zátěž, vznik větších imunokomplexů (nikoliv velmi objemných) a uplatňuje se i náboj antigenu (např. silně negativně nabitý náboj antigenu usnadňuje aktivaci komplementu). Pokud nejsou imunokomplexy účinně odstraňovány fagocytózou, mohou se usazovat v některých tkáních, typicky v ledvinách na bazální membráně glomerulů, ve stěně cévní nebo kloubech. Poté imunokomplexy spouštějí další imunologické děje, které mohou přispívat k poškození tkání, např. aktivací komplementu².

Stanovení cirkulujících imunokomplexů (CIK) je indikováno jako doplňkové vyšetření u některých autoimunitních onemocnění, u nichž předpokládáme účast imunokomplexů v patogenezi (např. revmatoidní artritida). U těchto stavů, zejména v počáteční fázi nebo při reaktivaci, zaznamenáme zvýšenou koncentraci CIK. Průkaz zvýšených CIK nemusí však znamenat přítomnost depozit imunokomplexů v tkáních. Při deponování imunokomplexů lze ale pozorovat snížení koncentrace CIK. Nižší koncentrace CIK bývají zjišťovány u stavů doprovázených poklesem protilátek.

Metoda stanovení CIK:

Cirkulující imunokomplexy se stanovují jednoduchou metodou využívající jejich precipitace s polyethylenglykolem (PEG), který jako polymer ethylenoxidu (nejjednodušší epoxid) je tvořený dvouhlíkovými jednotkami spojenými etherovými vazbami (obr. 1).

Obr. 1 Polymerace ethylenoxidu a vznik polyethylenglykolu



Precipitace imunokomplexů pomocí PEG je založena na zjištění, že rozpustnost proteinů se snižuje v přítomnosti vysokomolekulárních nerozvětvených polymerů. Čím je vyšší molekulová hmotnost polymeru, tím se proteiny hůře rozpouštějí. Pro průkaz cirkulujících imunokomplexů se obvykle využívá PEG 6000 o průměrné molekulové hmotnosti 6000, který je rozpuštěn v borátovém pufru. Uvedeným způsobem precipitují hlavně větší imunokomplexy v séru, zatímco většina volných imunoglobulinů zůstává rozpuštěna. Vzniklý zákal je hodnocen turbidimetricky při vlnové délce 450 nm.

Pro tuto metodu nejsou k dispozici standardy. Proto jsou výsledné hodnoty vyjadřovány v tzv. arbitrárních jednotkách (nemají návaznost na jednotky SI). Každá laboratoř si musí stanovit vlastní hraniční hodnoty vyšetřením zdravých osob. Pro stanovení cirkulujících imunokomplexů existují ještě další metody. Pomocí jedné z nich se vyšetřují pouze ty rozpustné imunokomplexy, které vážou C1 složku komplementu. Je třeba zdůraznit, že pomocí uvedených metod není možné rozlišení imunokomplexů na základě specifity antigenu.

Referenční hodnoty: 0 – 90 arbitrárních jednotek

¹ Podrobně vysvětleno v úloze 2.

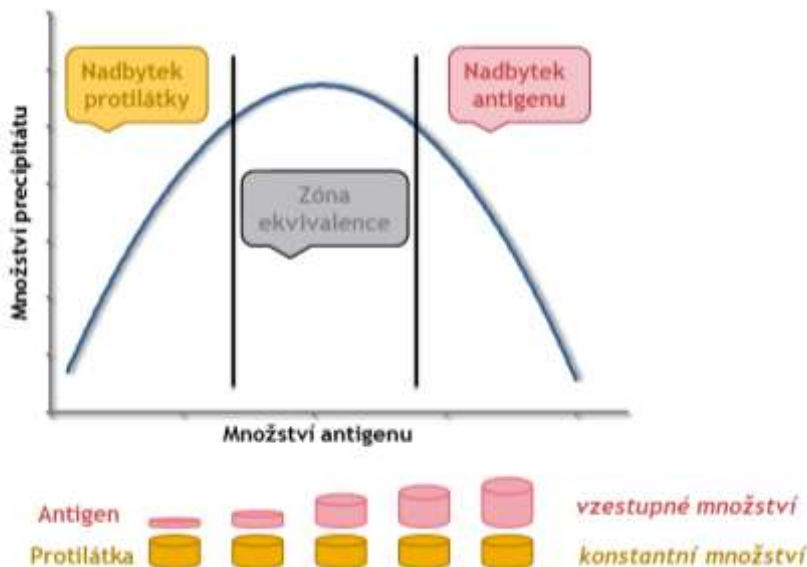
² Podrobnější výklad je předmětem imunologie a fyziologie.

Úloha 2 – Imunoprecipitační křivka lidského albuminu a stanovení koncentrace albuminu imunoturbidimetricky

Princip:

Imunoprecipitační křivka vyjadřuje množství vytvořeného imunoprecipitátu *při různém množství solubilního antigenu a stejném množství odpovídající protilátky*. Získáme ji, jestliže do řady zkumavek, ve kterých je konstantní množství protilátky, budeme přidávat antigen ve vzestupné koncentraci (obr. 2).

Obr. 2 Imunoprecipitační křivka



Po inkubaci, během níž probíhá reakce antigenu s příslušnou protilátkou, změříme v jednotlivých zkumavkách vzniklý imunoprecipitát. Podstatou imunoprecipitátu je prostorová mřížka, která se vytváří propojením epitopů antigenu s jimi odpovídajícími paratopy protilátek. Když dosáhne určité velikosti, ztrácí rozpustnost a precipituje v roztoku.

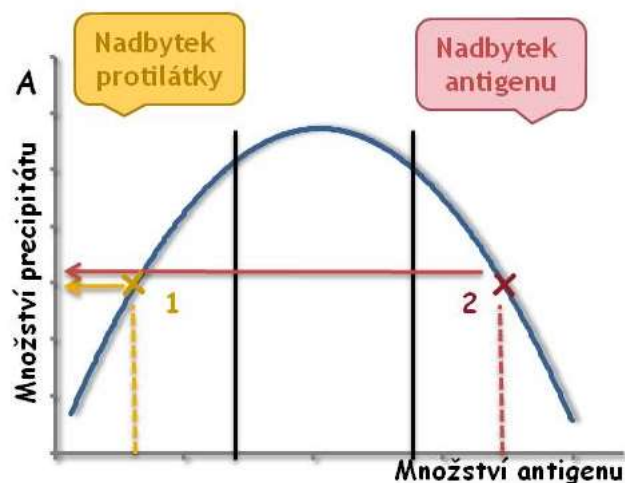
Podmínkou imunoprecipitace **je reakce antigenu s více epitopy** (polyvalentní antigen) s protilátkami, které s těmito epitopy reagují. Pokud tato podmínka není splněna, imunoprecipitace se neuskuteční. Proto hapteny, které jsou vybaveny pouze jedním epitopem, nemohou precipitovat. Podobně monoklonální protilátky, které jsou namířeny pouze proti jednomu epitopu, nejsou vhodné pro imunoprecipitační reakce.

V naší úloze použijeme k sestrojení imunoprecipitační křivky lidský albumin a beraní protilátku proti němu. Albumin je významná bílkovina přítomná v plazmě ve vysoké koncentraci.

Při našem pokusu budeme pracovat s takovými koncentracemi albuminu, které pokryjí všechny oblasti imunoprecipitační křivky – oblast nadbytku protilátky, oblast ekvivalence i oblast nadbytku antigenu. Zákal, který vzniká při reakci albuminu s protilátkou proti němu, lze hodnotit imunoturbidimetricky. Pomocí běžného spektrofotometru můžeme **měřit intenzitu světla, které prošlo zakaleným roztokem v přímém směru**.

Pro stanovení koncentrace albuminu v neznámém vzorku použijeme jako kalibrační křivku lineární, vzestupnou část precipitační křivky (oblast nadbytku protilátky). V této oblasti je koncentrace antigenu přímo úměrná množství vzniklého precipitátu. Je zapotřebí zdůraznit, že pokud chceme imunoprecipitaci v roztoku použít pro stanovení koncentrace nějaké látky, je nezbytné, aby v reakční směsi byl **nadbytek protilátky**. Pokud by tato podmínka nebyla zachována, dostávali bychom při vysokých koncentracích antigenu falešně nízké hodnoty (obr. 3).

Obr. 3 Hodnocení imunoturbidimetrie



Stejnou hodnotu absorbance může poskytnout **vzorek 1** s koncentrací stanovované látky, která leží v **oblasti nadbytku protilátky**, ale i **vzorek 2** s vysokou hodnotou stanovovaného analytu, která leží v **oblasti nadbytku antigenu**. U vzorku 2 bychom za těchto podmínek získali nesprávně nízkou hodnotu absorbance.

Tento jev můžeme ověřit tím, že provedeme dané stanovení v neředěném a ředěném vzorku. Pro správný výsledek je zapotřebí použít vzorek naředěný tak, aby se koncentrace snížila na hodnotu, kdy bude splněna podmínka nadbytku protilátky, a výsledek potom vynásobit zředěním.

Automatické analyzátory, používané v laboratořích klinické biochemie, mají zabudovaný systém, který situaci, že je ve vzorku nadbytek antigenu, rozpoznají.

Imunoturbidimetrické metody jsou široce využívány ke stanovení různých analytů v biologických tekutinách (např. různé plazmatické bílkoviny jako transferin, celkové IgG, IgM).

Úloha 3 – Stanovení specifických protilátek pomocí ELISA metody

Princip:

Metody enzymové imunoanalýzy (EIA) představují velkou skupinu imunoanalytických metod, které využívají jako **značku enzym**. Jednou z EIA metod je tzv. **ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)**. Je pro ni typické, že buď antigen, nebo protilátka jsou pevně zakotveny na pevné fázi, kterou může být povrch jamek mikrotitračních proužků (tzv. stripů). ELISA metody dělíme **na kompetitivní a nekompetitivní**. Mohou být použity **pro stanovení antigenů nebo protilátek**.

Naše modelová souprava ELISA je příkladem **enzymové imunoanalýzy** určené ke stanovení specifických protilátek, jako jsou např. protilátky proti nejrozličnějším infekčním agens (baktérie, viry a další), autoprottilátky namířené proti vlastním strukturám nebo IgE protilátky proti jednotlivým alergenům.

V soupravě je na povrch jamek mikrotitračních proužků navázán specifický antigen (Ag), kterým může být např. virový antigen nebo alergen. V neznámých vzorcích, které přidáváme do jamek, budeme vyšetřovat přítomnost protilátek proti tomuto antigenu. Pokud vzorky obsahují protilátky proti danému antigenu, navážou se na něj a vytvoří s ním imunokomplexy (obr. 4, první krok).

Po promytí nenavázaných složek vzorku se imunokomplexy detekují konjugátem zvířecí protilátky proti lidské protilátce (antiimunoglobulin – anti-Ig) s enzymem peroxidázou. Vznikne imunokomplex tvořený antigenem zakotveným na stěně jamky – lidskou specifickou

protilátkou – konjugátem (obr. 4, druhý krok). Konjugáty, které se nenavázaly, musí být odstraněny promytím.

Množství navázaných značených protilátek se zviditelní enzymovou reakcí, katalyzovanou peroxidázou. Po odstranění nenavázaných molekul konjugátu promytím přidáme substrát, který je pomocí peroxidázy přeměněn na barevný produkt. Enzymová reakce se zastavuje přidáním kyseliny (stop roztok). Podle intenzity zbarvení hodnotíme přítomnost či nepřítomnost protilátek v testovaných vzorcích. (obr. 4, třetí krok). Intenzitu zbarvení je možno hodnotit kvalitativně nebo kvantitativně.

Reakční podmínky nekompetitivní ELISA metody

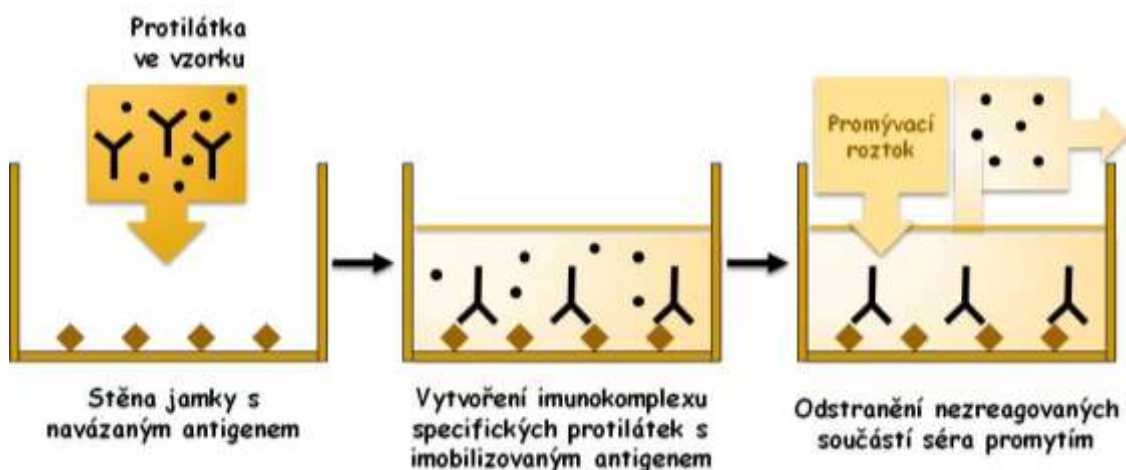
Pro nekompetitivní metodu ELISA pro stanovení protilátek platí, že množství antigenu navázaného na stěnu jamky musí být v nadbytku vzhledem k očekávanému množství protilátek. V případě nedostatečného množství antigenu by se některé protilátky v testovaných vzorcích neměly na co navázat a během promývání by byly odstraněny. Výsledek koncentrace protilátek ve vzorku by pak byl nesprávně (falešně) nižší. Podobně i množství přidávaného konjugátu musí být v nadbytku. Důsledkem jeho nedostatku by byl opět falešně nižší výsledek, neboť by nebyla splněna podmínka, že na všechny imunokomplexy tvořené antigenem a protilátkou ze vzorku, se naváže konjugát.

Vysvětlení některých pojmů

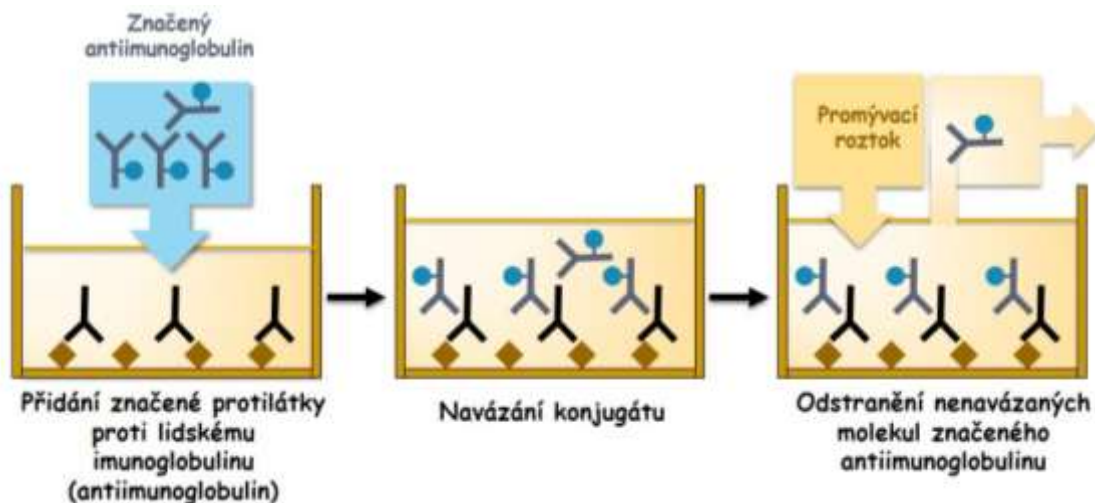
1. **Promývání:** mezi jednotlivými kroky provádění testu ELISA je zapotřebí odstranit z jamek nenavázané složky séra (první krok) nebo protilátek značených enzymem (druhý krok). Provádí se naplněním jamek promývacím roztokem, který je pak odstraňován. Tento postup se několikrát opakuje. Pokud by nebyly vymyty protilátky značené enzymem, bylo by zbarvení ve všech jamkách stejné bez ohledu na množství specifických protilátek ve vzorcích.
2. **Konjugát:** je označení pro spojení dvou či více látek pomocí chemické či jiné reakce. V EIA metodách se konjuguje obvykle zvířecí protilátka proti lidskému imunoglobulinu (anti-Ig) nebo antigen s enzymem, který umožňuje detekci imunokomplexů. V naší ELISA metodě je jako konjugát používán anti-Ig s peroxidázou (anti-Ig/Px).
3. **Substrátový roztok:** liší se podle enzymu, který je součástí konjugátu. Pro peroxidázu je používán derivát benzidinu tetramethylbenzidin, který je v redukovaném stavu bezbarvý. Oxidací peroxidem vodíku v přítomnosti peroxidázy se mění na barevný produkt (obr. 5). Pokud v jamkách není navázaný peroxidázový konjugát, nedojde k barevné přeměně tetramethylbenzidinu a obsah jamek se nezbarví.
4. **Zastavovací (stop) roztok** je slabý roztok kyseliny, kterým se po určité době zastavuje enzymová reakce. Zároveň dojde ke změně barvy z modré na žlutou, která je měřitelná na spektrofotometru při vlnové délce 450 nm. V případě pozitivních vzorků je žluté zbarvení viditelné i okem.

Obr. 4 Provedení nekompetitivní metody ELISA na stanovení protilátek

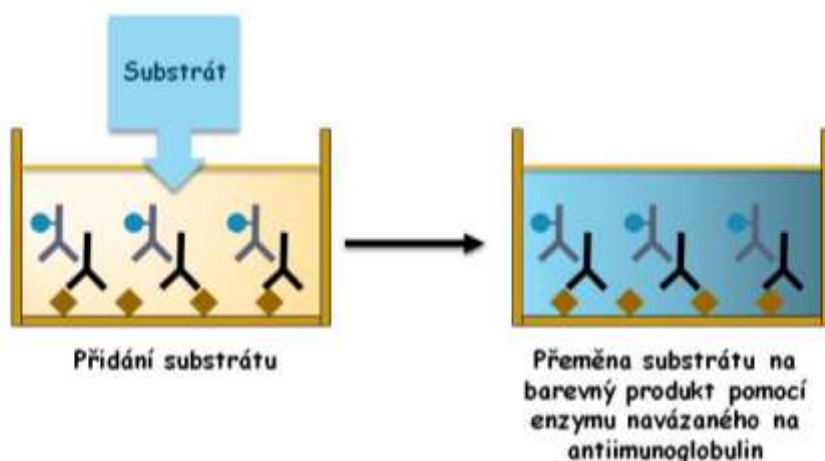
První krok: navázání specifických protilátek ze vzorku na antigen zakotvený na stěně jamky



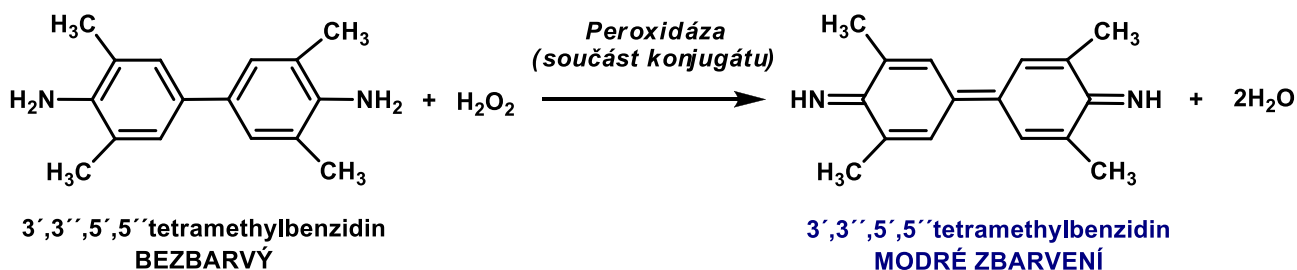
Druhý krok: přidání konjugátu (enzymem značeného antiimunoglobulinu) k imunokomplexům zakotveným na stěně jamky



Třetí krok: vizualizace množství navázaných konjugátů pomocí enzymové reakce



Obr. 5 Podstata chemické reakce katalyzované peroxidázou konjugátu



Hodnocení metody

Kontrola správnosti provedení metody ELISA

V jamkách *se slepých vzorkem* by se *nemělo vyvinout viditelné zbarvení*, neboť místo vzorku je použit ředící roztok, který neobsahuje žádné protilátky. Konjugát, který se nemá na co

navázat, je odstraněn při promývání. Slabě žluté zbarvení může být způsobeno přítomností zbytku konjugátu, který byl nedostatečně vymyt.

Hodnocení vzorků

Pokud jsou v testovaných vzorcích přítomny protilátky proti antigenu navázanému na stěnu jamek, zbarví se obsah jamek po přidání stop roztoku žlutě. Intenzitu žlutého zbarvení je možno hodnotit **kvalitativně nebo kvantitativně**.

a. Kvalitativní hodnocení

Při tomto způsobu hodnotíme vzorky jako pozitivní a negativní. K tomu je zapotřebí znát hranici mezi negativitou a pozitivitou. Podklady pro rozlišení na pozitivní a negativní vzorky dodává obvykle výrobce. V naší ELISA metodě se zpracovává tzv. cut-off kontrolní vzorek, jehož absorbance představuje hraniční hodnotu mezi pozitivními a negativními vzorky. Konkrétní postup při interpretaci výsledků je uveden v návodu k úloze.

Jinou možností pro posouzení míry **pozitivity** vzorku je použití ředění neboli titrace vzorku. Při nízkém ředění jsou všechny jamky s pozitivními vzorky silně zbarveny. Při vyšším ředění zůstanou silně pozitivní vzorky dále intenzivně zbarveny, zatímco u slabě pozitivních vzorků intenzita žlutého zbarvení slábne. **Negativní** vzorky neobsahují specifické protilátky a nenavázaný konjugát je promýváním odstraněn. Jamky se tedy nezbarví. Rovněž protilátky proti jiným antigenům přítomné ve vzorcích se na antigen nezachytí a jsou v dalším kroku také vymyty.

b. Kvantitativní hodnocení

Pokud chceme množství protilátek hodnotit kvantitativně, je zapotřebí společně se vzorky zpracovávat i standardní roztoky v několika ředěních. Intenzita zbarvení v jamkách je v určitém koncentračním rozmezí úměrná množství protilátek přítomných ve vzorku.

Intenzitu zbarvení hodnotíme měřením absorbance pomocí speciálního spektrofotometru s vertikálním paprskem. Hodnoty absorbancí standardních roztoků se použijí pro sestavení kalibrační křivky. Z kalibrační křivky potom odečteme koncentrace protilátek v neznámých vzorcích.

Úloha 4 – Vyhodnocení jednoduché radiální imunodifúze pro stanovení celkových IgG a IgM

Princip:

Antigen (v našem případě lidský IgG nebo IgM), který je nanesen do kruhového startu, radiálně difunduje v agarózovém gelu obsahujícím specifickou (zvířecí) protilátku. Při reakci antigenu se specifickou protilátkou se vytváří precipitační prstenec, jehož plocha je úměrná množství antigenu.

Referenční hodnoty: IgG: 8 – 18 g/l IgM: 0,6 – 1,8 g/l

Úloha 5 – Stanovení krevní skupiny hemaglutinační zkouškou³

Princip:

Jednou z možností využití hemaglutinace je stanovení krevních skupin. Princip spočívá v sérologické reakci mezi aglutinogeny (antigeny) na povrchu erytrocytů a aglutininy (protilátky). Aglutinogeny mají povahu glykoproteinů a jsou vázané v membránách červených

³ Úloha převzata z cvičení Izolace DNA, autor Martin Vejražka [online], rok 2023/2024, [citováno 18. 08. 2024]. Dostupné na izolace-dna-navod-202223.pdf (cuni.cz)

krvinek. Při smíchání erytrocytů s odpovídajícími protilátkami dojde k aglutinaci (shlukování) erytrocytů.

Hodnocení:

Pokud krvinky nesou antigen A nebo B, začnou se v přítomnosti odpovídající protilátky shlukovat.

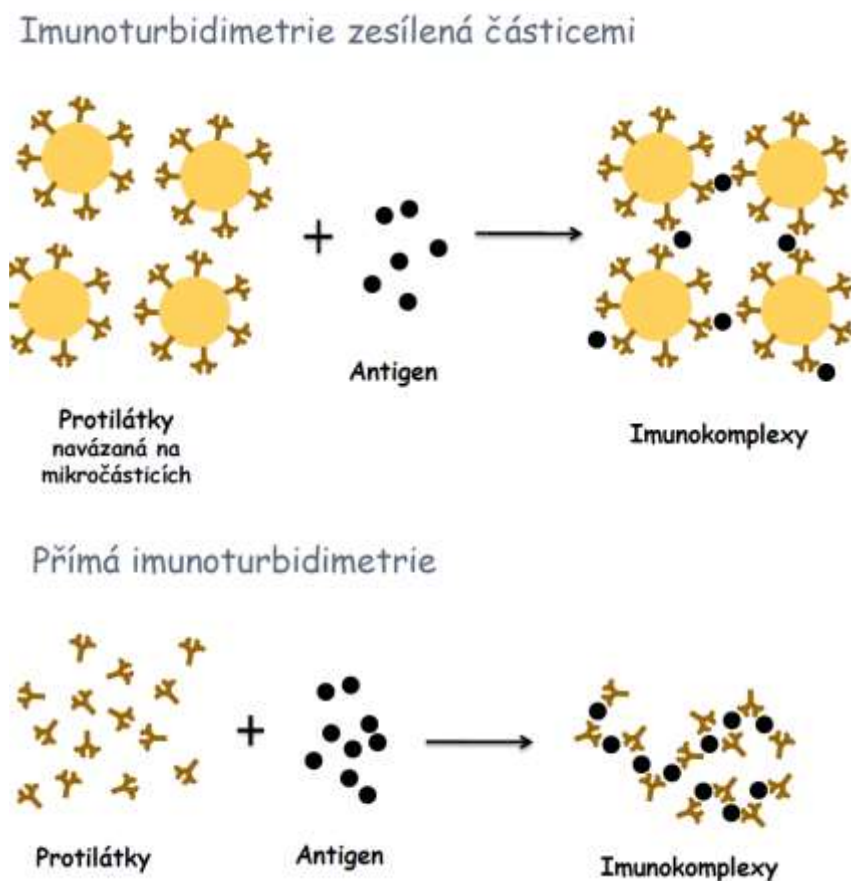
Úloha 6 – Stanovení koncentrace C-reaktivního proteinu pomocí turbidimetrického POCT⁴ testu

Princip:

C-reaktivní protein (CRP) patří do skupiny bílkovin, označovaných jako proteiny akutní fáze.⁵

CRP budeme v naší úloze stanovovat imunoturbidimetrickou metodou, která využívá mikročásteček potažených protilátkami proti CRP (imunoturbidimetrie zesílená částicemi). Tato modifikace zvyšuje citlivost metody, neboť imunokomplexy tvořené CRP přítomným ve vyšetřovaném vzorku a protilátkami navázanými na partikulích vytvářejí rozměrnější agregáty a poskytují intenzivnější zákal než při použití volných protilátek (přímá imunoturbidimetrie) (obr. 6).

Obr. 6 Princip přímé imunoturbidimetrie a imunoturbidimetrie zesílené částicemi



⁴ POCT (point-of-care testing) je označení pro provádění testů v místě péče o pacienta (např. v ambulancích, u lůžka nemocného) s cílem získat rychlou informaci důležitou pro diagnózu, léčbu nebo sledování životně důležitých funkcí. Pro testování v režimu POCT jsou vyvíjeny speciální testovací soupravy, které využívají pouze malé jednoduše ovládané přístroje, popř. přístrojové vybavení nevyžadují.

⁵ Podrobnější informace o C-reaktivním proteinu najdete [zde](#).

Úloha 7 – Stanovení specifických protilátek pomocí imunoblotu

Princip:

Imunoblotové metody kombinují elektroforézu s imunochemickými reakcemi. Nejprve je elektroforézou na polyakrylamidovém gelu rozdělena směs bílkovin. V dalším kroku označovaném jako blotování jsou separované bílkoviny přeneseny na nitrocelulózovou nebo polyvinylidenfluoridovou membránu, kde jsou fixovány. Přenos se děje buď prostou difúzí, nebo za pomoci elektrického proudu.

Zjednodušenou variantou imunoblotu je **imunodot**. Na rozdíl od imunoblotové techniky, u níž je prvním krokem elektroforetické rozdělení proteinů (antigenů), u dot blotu jsou na membránu antigeny nanášeny přímo ve formě proužků nebo skvrn bez předchozí elektroforetické separace. Používají se buď čisté nativní antigeny, nebo antigeny připravené rekombinantní technologií.

Nosiče s již rozdělenými nebo navázanými jednotlivými antigeny určené pro vyšetření přítomnosti některých specifických protilátek v biologickém materiálu jsou komerčně dostupné. To podstatným způsobem zkrátí čas potřebný pro provedení analýzy v klinicko-biochemické nebo imunologické laboratoři. Zpracování vzorku se omezí pouze na inkubaci proužku s vyšetřovaným biologickým materiálem a následnou vizualizaci navázaných protilátek.

Průkaz specifických protilátek v testovaném vzorku s použitím proužků s antigeny zahrnuje několik kroků (obr. 7):

1. Proužek je ponořen do inkubačního roztoku, kde je zvlhčen a poté je k němu přidán **vyšetřovaný vzorek**. Pokud jsou ve vzorku přítomné specifické protilátky, navážou se během inkubace na příslušné antigeny imobilizované na proužku. Nenavázané složky vzorku se odstraní promytím.
2. V dalším kroku se přidá **zvířecí protilátka proti lidskému imunoglobulinu značená enzymem** (konjugát)⁶. Zvířecí protilátka se naváže na lidský imunoglobulin a vznikne imunokomplex tvořený antigenem na proužku, lidskou protilátkou a konjugátem. Promytí odstraní nenavázané molekuly konjugátu.
3. Následuje **přidání substrátu**, který je přeměňován enzymem konjugátu na produkt. V místech proužku, kde se při imunochemických reakcích navázaly protilátky ze vzorku, se objeví barevné linie. Ty jsou důkazem přítomnosti specifických protilátek proti daným antigenům ve vyšetřovaném vzorku.
4. Nakonec se proužek usuší a vyhodnotí se viditelné linie.

Hodnocení

Hodnocení se provádí obvykle vizuálně, popř. pomocí denzitometru. Posuzuje se intenzita zbarvení jednotlivých linií a počet zbarvených linií. Detaily v hodnocení jsou u jednotlivých souprav odlišné a jsou popsány v návodu k dané soupravě.

Využití

Imunoblotové a imunodotové techniky se využívají v klinické praxi **pro semikvantitativní stanovení specifických protilátek** proti různým infekčním agens (např. *Borrelia*, *Helicobacter pylori*, *Treponema pallidum*) a dále na stanovení autoprottilátek namířených proti antigenům vlastního organismu u autoimunitních onemocnění. Výhodou těchto metod je možnost stanovit **větší počet protilátek proti různým antigenům** během jednoho vyšetření. Podle reaktivity konjugátu lze stanovovat jednotlivé třídy imunoglobulinů – IgG, IgM, IgA.

Je možná i varianta, kdy jsou na membráně imobilizovány protilátky. V tomto případě se pomocí specifických protilátek stanovují ve vzorku antigeny.

⁶ Kromě enzymů mohou být v konjugátech se zvířecí protilátkou použity i jiné značky.

Obr. 7 Stanovení specifických protilátek pomocí imunodotu

První krok: navázání specifických protilátek obsažených ve vzorku na antigeny zakotvené v membráně proužku

Navlhčení proužku s navázanými antigeny v inkubačním roztoku a přidání vzorku



Vznik imunokomplexů tvořených specifickými protilátkami obsaženými ve vzorku s antigeny navázanými na membráně proužku



Odstranění nenavázaných molekul konjugátu promytím



Druhý krok: vytvoření imunokomplexů s konjugáty protilátek proti lidským imunoglobulinům

Přidání konjugátu (enzymem značené zvířecí protilátky proti lidským imunoglobulinům)



Navázání konjugátu na již vytvořené imunokomplexy na membráně proužku

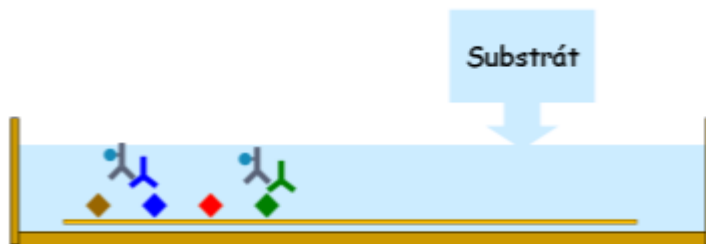


Odstranění nenavázaných složek vzorku promytím



Třetí krok: vizualizace přítomnosti specifických protilátek

Přidání substrátu



Enzymová reakce a vybarvení
proužků v místech, kde se
navázaly specifické protilátky



Čtvrtý krok: usušení proužku



Použitá literatura:

Bartůňková J., Poulík M.: Vyšetřovací metody v imunologii. Grada Praha 2005.

Ferenčík M.: Imunochémia. Alfa, Bratislava, 1989

Kaplan, L.A., Pesce A.J.: Clinical Chemistry, 3rd edition, Mosby 1996

Krejsek, J., Kopecný, O.: Klinická imunologie. Nucleus HK, 2004

Příbalový leták k soupravě ELISA-VIDITEST EDUCO-Diagnostic

Příbalový leták soupravy recomLine Campylobacter IgG/IgA ALL DIAG (český návod LABOSERV s.r.o.)