

Metoda: NIF – ANA (Nepřímá imunofluorescence – antinuclear antibodies)

Jan Kráčmar, 2. ročník

Školitelé: Ing. Bc. Tomáš Vlas, Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

Princip:

Detekce protilátek je založena na principu nepřímé imunofluorescenční analýzy. Mikroskopická sklíčka jsou potažena buňkami tkáňových kultur HEP-2. Pokud sérum pacienta obsahuje specifické protilátky, naváží se během první inkubace. Po odstranění nenavázaného materiálu promytím se zbylé navázané protilátky detekují během druhé inkubace anti-lidskými imunoglobuliny konjugovanými s fluoresceinem. Specifické zelené fluorescenční zbarvení komplexu antigen-protilátka se objeví pod fluorescenčním mikroskopem. Tyto komplexy vytvářejí různé vzory podle detekované protilátky, které jsou jasně rozpoznatelné a popsané.

Uplatnění metody:

Vyšetření ANA slouží jako screeningový test – při pozitivě je nutné provést podrobnější vyšetření protilátek

Úskalí metody:

Je třeba dbát zvýšené opatrnosti při práci s mikroskopickými sklíčky – při seškrábání navázaných buněčných kultur nemůže dojít k reakci s patientskými protilátkami. Sklíčka by se rovněž neměla nechat vyschnout během inkubací. Nepoužívají se ikterické, lipemické, hemolyzované nebo bakteriemi kontaminované vzorky.

Přístrojové vybavení:

Mikroskop Olympus BX60

Odběr a transport:

Odběr krve musí být proveden podle platných předpisů. Používají se přednostně čerstvě získané vzorky séra. Použít se dá ale i plazma ve zkumavce s heparinem, citrátem či EDTA. Pokud nelze použít vzorek čerstvý, dají se zkumavky uchovávat při teplotě 2-8°C max. 3 dny. Pro delší uschování je třeba je zmrazit na teplotu -20°C. Vzorky se opakovaně nezmrzují.