

Metoda: Imunohistochemické barvení na přístroji BENCHMARK ULTRA – VENTANA

Radek Halama, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 2. ročník

Školitelé: Petr Ferczadi, Dis.; Gabriela Suchá

Princip metody:

Pro imunohistochemické reakce se využívají specifické (především monoklonální) primární protilátky, které lokalizují antigeny, na které se navážou. Vazba protilátky na antigen se vizualizuje nepřímou metodou detekce. Běžné je použití sekundárních protilátek (směs protilátek), které jsou nasměrovány proti primárním protilátkám a jsou značeny enzymem. Následně je celý komplex vizualizován pomocí substrátu z peroxidu vodíku a 3,3–diaminobenzidin tetrachlorid (DAB) chromogenu. Výsledkem je vznik hnědé sraženiny v místě vazby protilátky s antigenem.

Nejedná se o klasické histologické barvení – jde o zvýraznění reakce antigenu s protilátkou!

Uplatnění metody:

Imunohistochemie je spojením technik, které využívají monoklonální nebo polyklonální značené protilátky, kterými lokalizujeme a vizualizujeme příslušné tkáňové antigeny. Imunohistochemie je využívána ke specifickému průkazu látek v preparátech, objasnění distribuce prokazovaných látek (schopných zúčastnit se reakce jako antigeny), a to extra i intracelulárních strukturních a informačních molekul, enzymů nebo sekrečních produktů. V současnosti je role imunohistochemie v diagnostické praxi u řady chorob prakticky nezastupitelná.

Pomocí rychlého imunohistochemického vyšetření může lékař velmi přesně stanovit diagnózu pacienta a nasadit příslušnou léčbu. Některé protilátky jsou tak specifické, že v případě positivity se může nasadit konkrétní lék, který cílí přesně na danou formu nádoru, a nejen lék obecný.

Úskalí metody:

Plně automatický imunostainer je citlivý na jemnou elektroniku a systém detekce, co se týče kamery, která kontroluje každé sklíčko, dále snímače kódů, ohřev skel v barvicí jednotka atd.

Laborant, který manipuluje s reagensy musí dbát na pokyny stroje, řídit se množstvím testů u protilátek a detekčních systémů, dále musí dávat pozor na možnou záměnu reakčních pufrů, promývacích roztoků a olejů. V případě záměny hrozí ucpání tenkých hadiček přivádějících roztoky do barvicí jednotky. Při dodržování všech postupů a pravidelném servisu a kvalitní práce laboranta je funkce přístroje maximální.

Přístrojové vybavení:

Plně automatický Imunostainer BENCHMARK ULTRA – VENTANA

Pro správnou funkci přístroje musí být do přístroje vloženy reakční pufr, promývací roztoky a oleje, dále jednotlivé monoklonální protilátky v dispenzerech a detekční souprava, která zajistí všechny potřebné kroky imunohistochemického barvení.

Odběr a transport:

Odběr materiálu je shodný s klasickým histologickým vyšetřením. Materiál je zpracován formol – parafinovým procesem (tkáň fixovaná ve fixační tekutině), z parafinových bloků krájíme řezy

silné 1 μm , které po usušení vkládáme do stroje, který zajistí celý průběh imunohistochemického vyšetření.

Lze využít i pro zmražené řezy v rámci imunofluorescenčního vyšetření.

Biopsie se po odběru ihned odešle do laboratoře ústavu patologie ve fixované podobě (svoz, potrubní pošta, přinesení sanitářem).