

10. Stanovení drogových metabolitů a dalších látek pomocí rychlých testů

V uplynulých 40 letech bylo vyvinuto množství imunologických metod, které vyžadují laboratorní vybavení nezbytné pro analýzu. V posledních letech dochází ke stále většímu a většímu nárůstu počtu nových typů testů, které jsou použitelné přímo v terénu a nepotřebují žádné přístrojové vybavení k jejich provedení.

Jedná se většinou o tzv. imunochromatografické testy. Nejznámějším typem imunochromatografického testu je obyčejný těhotenský test. Je to vlastně první typ imunochromatografického testu na trhu.

Imunochromatografický test může být konstruován jak jako kvalitativní tak jako kvantitativní test.

Pojmy:

diagnostický proužek

kontrolní linie

testovací linie

kontrolní oblast

testovací oblast

poduška pro vzorek

Konstrukce kvalitativního testu:

Jsou využity dvě protilátky, každá se váže k jinému epitopu analyzované molekuly. Jedna z těchto protilátek je konjugována buď k latexovým nebo ke zlatým částicím a je tím značena. Těmto protilátkám říkáme detekční protilátky. Tyto detekční protilátky jsou umístěny na proužku na membráně ze skleněných vláken. Jakmile dojde ke styku této membrány s testovaným vzorkem, protilátky vytvoří s antigenem ze vzorku komplex. Jak vzlíná roztok se vzorkem membránou dál proužkem, pohybuje se i tento komplex, dokud není zachycen zachytávacími protilátkami, které jsou navázány na povrchu nitrocelulózy membrány.

Anti-detekční protilátky mohou být navázány v kontrolní zóně. Tyto protilátky vážou např. detekční protilátky a vytvoří tak kontrolní signál.

Zviditelnění linií

K tomu, aby došlo ke zviditelnění linie je třeba, aby protilátky byly navázány na

a) latexové částice – jsou to organické polymery o velikosti několik nanometrů až stovky mikrometrů. Protilátky k latexovým částicím bývají navázány např. kovalentní vazbou – nejčastěji amino skupinou nebo karboxylovou skupinou.

b) koloidní zlato, které je laboratorně syntetizováno redukcí chloridu zlatnatého. Podle použitých redukčních činidel a jejich koncentrace může být velikost koloidních částic od 1 do 100 nanometrů. Ke konjugaci protilátek ke zlatým koloidním částicím je využito van der Waalsových sil a hydrofobní interakce.

c) lipozómy – používá se kovalentní vazba.

Využití imunochromatografických testů – všude tam, kde se používají imunologické metody pro detekci – kde může být antigen a protilátka k němu:

A) ve zdravotnictví

1. v gynekologii

těhotenské testy – detekce HCG v moči

test menopauzy – detekce folikulostimulačního hormonu

2. ke screeningu

drogové testy – detekce různých drogových metabolitů v moči nebo slinách – THC, MET, OPI, TCA, BAR, BZO

THC - tetrahydrokanabinol – součást marihuany, hašiše, trávy... detegovatelný v moči i ve slinách

MET – methamphetamin, pervitin, piko, péčko – mezi methamphetaminy patří i extáze

OPI – opiáty, heroin, morfin, kodein

TCA – tricyklická antidepresiva

BAR – barbituráty

BZO – benzodiazepiny

testy infekčních chorob – detekce protilátek nebo antigenů

test HIV – HIV1 a HIV2, u nás HIV1 – detekce protilátek

test HBsAg – detekce antigenu

test HCV – detekce protilátek

test TP – Treponema pallidum – detekce protilátek

3. v gastroenterologii

ze slin či krve

test Helicobacter pylori – detekce protilátek

ze stolice

rotaviry

parvoviry

detekce krvácení do stolice – test fekální okultního krvácení

Prováděné testy v rámci cvičení:

Při práci používáme laboratorní rukavice. Se vzorky zacházíme jako s infekčním materiálem. Při testování vycházíme z návodů k použití k jednotlivým testům.

1. Detekce drogových metabolitů v moči
2. Detekce drogových metabolitů ve slinách
3. Detekce protilátek proti H. pylori ve slinách
4. Test fekálního okultního krvácení
5. Detekce PSA (prostatický sérový antigen) z kapilární krve
6. Detekce HIV z kapilární krve