

Tryptase-ELISA

ELISA zur quantitativen Bestimmung der Gesamt-Tryptase in humanem Serum oder Plasma

Der Gesamt-Tryptase Level im Blut wird als ein Indikator für die Anzahl und die Aktivität von Mastzellen betrachtet. Diese spielen eine Schlüsselrolle bei allergischen Reaktionen und nehmen unter Entzündungsbedingungen quantitativ zu. Wenn Mastzellen aktiviert werden, geben sie eine Vielzahl von Mediatoren ab, die zu Anzeichen und Symptomen von allergischen Reaktionen führen können. Zu den abgegebenen Mediatoren gehört u.a. die Tryptase. Die Gesamt-Tryptase kann in zwei Isoformen der α -Tryptase und in drei Isoformen β -Tryptase unterschieden werden. Im Gegensatz zu der β -Tryptase, die als inaktive Form in den Granula der Mastzellen bis zur aktiven Ausschüttung durch die Degranulation gespeichert wird, wird die α -Tryptase kontinuierlich von den Mastzellen ins Blut sekretiert (Basalkonzentration). Daher können vorübergehend erhöhte Tryptase Level als Hinweis auf eine allergische Reaktion herangezogen werden. Basal erhöhte Tryptase Level deuten auf eine gesteigerte Aktivität der Mastzellen und das damit verbundene Krankheitsbild der Mastozytose hin.

Der Tryptase-ELISA ist zur Konzentrationsbestimmung der Gesamt-Tryptase in humanem Serum oder Plasma bestimmt.

Erhöhte Tryptase-Konzentrationen können u.a. zur Risikobewertung für allergische Reaktionen hinzugezogen werden. Zusätzlich ist die Gesamt-Tryptase ein WHO-Diagnosekriterium für eine Mastozytose.

Vorteile vom Tryptase-ELISA

- ▲ Risikobewertung für schwere allergische Reaktionen
- ▲ WHO-Diagnosekriterium für eine Mastozytose
- ▲ Bestimmung der Gesamt-Tryptase
- ▲ exzellente Sensitivität und Spezifität

REF 25050  96 Bestimmungen

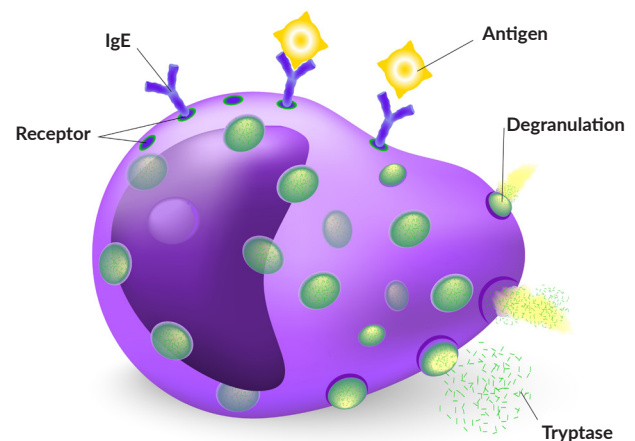


Abbildung 1 Mastzelle

Erwartete Werte

Bei gesunden Personen liegt die Tryptase-Basalkonzentration bei ca. 1-15 $\mu\text{g/L}$. Jeder Mensch hat eine eigene individuelle Basalkonzentration, die normalerweise im zeitlichen Verlauf gleich bleibt. Bei Personen mit einer erhöhten Tryptase-Basalkonzentration, $> 10 \mu\text{g/ml}$, wird ein erhöhtes Risiko für anaphylaktische Reaktionen gesehen.

Bei anaphylaktischen Reaktionen wird im Rahmen der Mastzellaktivierung vermehrt Tryptase ins Blut abgegeben. Spitzenwerte werden 30-90 Minuten nach Beginn der allergischen Reaktion erreicht. Danach sinken die Werte innerhalb von 3-6 Stunden wieder ab (biologische Halbwertszeit beträgt 2 Stunden). 24 Stunden später sollte wieder der normale Bereich erreicht sein. Falls der Wert immer noch erhöht ist, sollte einige Tage später die Basalkonzentration überprüft werden.

Zur Interpretation eines Tryptasewertes ist es wichtig zu berücksichtigen, in welcher Situation der Wert gemessen wurde und zu welchem Zeitpunkt die Messung erfolgte.

Leistungsdaten

Gesamt-Tryptase Konzentrationen von 24 Seren der internen Serumbank der Dr. Fooke Laboratorien GmbH wurden mittels des neu entwickelten ELISA Systems bestimmt. Ebenfalls wurden 43 Seren der Universitätsklinik Ulm zur Evaluierung des Tryptase-ELISAs eingesetzt. Die Ergebnisse wurden mit einer etablierten in-vitro Methode zur Bestimmung der Gesamt-Tryptase (ImmunoCAP® Tryptase, ThermoScientific) korreliert.

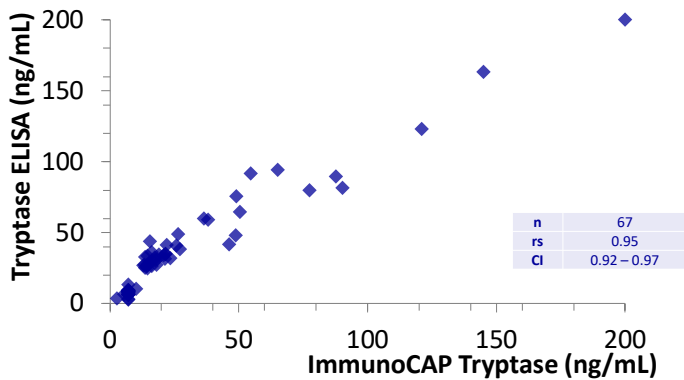


Abbildung 2

Spearman Korrelation zwischen dem Tryptase ELISA (Dr. Fooke Laboratorien) und ImmunoCAP® Tryptase Test (ThermoScientific) mit n=67 Serumproben.

Die Inter- und Intra-Assay Variationen des Tryptase ELISA der Dr. Fooke Laboratorien wurden <10% ermittelt. Vier zufällig ausgewählte Seren zeigten eine Präzision von >90% im Vergleich zum ImmunoCAP® Tryptase.

A) Standardkurve

Standard (ng/mL)	Intra-Assay Variation (%)	Inter-Assay Variation (%)
200	4,15%	3,62%
100	3,18%	4,66%
50	2,81%	5,32%
25	4,91%	5,03%
12,5	5,27%	8,04%
5	4,37%	4,18%
2	5,40%	8,48%
1	5,95%	6,44%

B) Serumprobe

Serum-probe	Intra-Assay Variation (%)	Inter-Assay Variation (%)
#15	2,49%	2,78%
#2	6,92%	7,58%
#6	2,08%	2,24%
#1	0,77%	1,08%
#4	2,88%	3,68%
17-1805	1,80%	1,68%
17-1803	2,33%	2,94%

C) Präzision

Serum-probe	ImmunoCAP (ng/mL)	Tryptase ELISA (ng/mL)	Präzision (%)
18-3200	15,5	14,94	96,25
#25	26,3	24,70	93,52
#32	30,4	30,81	98,67
#38	50,4	52,46	96,07

Abbildung 3

A) Inter- und Intra-Assay Variationen der Standardkurve
B) Inter- und Intra-Assay Variationen der Serumproben
C) Präzision zwischen dem Tryptase ELISA (Dr. Fooke Laboratorien) und dem ImmunoCAP® Tryptase Test (ThermoScientific), n=4 Ergebnisse.

Es wurden die Ergebnisse von 67 Patientenproben, gemessen im ImmunoCAP® Tryptase und Tryptase-ELISA, miteinander verglichen. Es wurde eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 96% ermittelt.

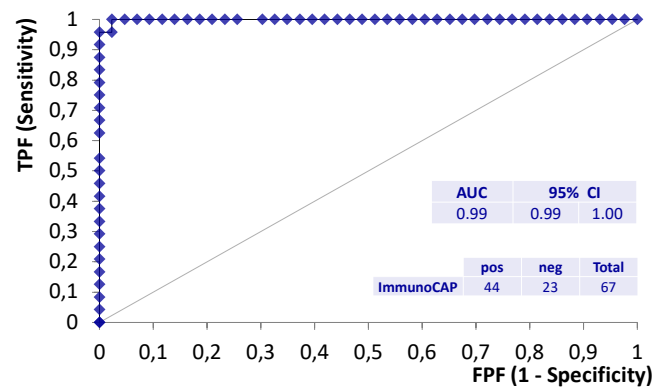


Abbildung 4

ROC Analyse des Tryptase ELISA (Dr. Fooke Laboratorien) gegen ImmunoCAP® Tryptase Ergebnisse (ThermoScientific), n=67 Ergebnisse.

Die Ergebnisse erzielt mit einem vollautomatischen System und die Ergebnisse des manuell durchgeführten ELISAs sind vergleichbar ($R^2 = 0,9916$).

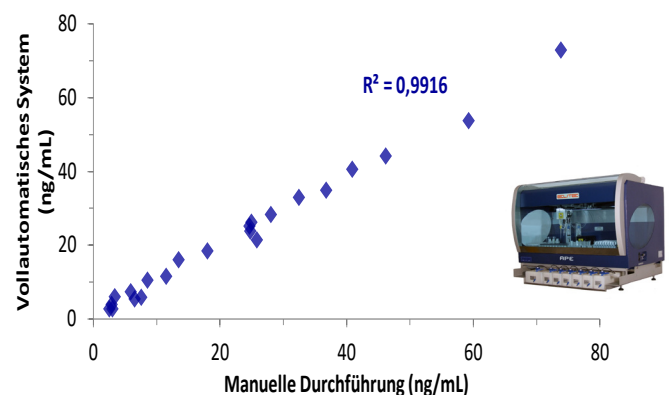


Abbildung 5

Spearman Korrelation zwischen dem manuell und vollautomatisch durchgeführten Tryptase ELISA (Dr. Fooke Laboratorien), n=22 Ergebnisse.

Literatur

- Hogan AD & Schwartz LB (1997) Markers of mast cell degranulation. Methods 13(1):43-52.
- Schwartz LB, Bradford TR, Lee DC, & Chlebowski JF (1990) Immunologic and physicochemical evidence for conformational changes occurring on conversion of human mast cell tryptase from active tetramer to inactive monomer. Production of monoclonal antibodies recognizing active tryptase. Journal of immunology 144(6):2304-2311.
- Alter SC, Metcalfe DD, Bradford TR, & Schwartz LB (1987) Regulation of human mast cell tryptase. Effects of enzyme concentration, ionic strength and the structure and negative charge density of polysaccharides. Biochem J 248(3):821-827.
- Schwartz LB (1985) Monoclonal antibodies against human mast cell tryptase demonstrate shared antigenic sites on subunits of tryptase and selective localization of the enzyme to mast cells. Journal of immunology 134(1):526-531.

DR FOOKE