

Metoda: Stanovení specifického IgE pomocí multiplexové metody ISAC

Studentka: Denisa Kubelová, 2. Ročník – Zdravotní laborant

Školitelé: Ing. Tomáš Vlas

Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

Princip:

Jedná se o vysoce specializovanou a moderní metodu, která je založená na biočipové technologii a umožňuje tak v průběhu jednoho vyšetření prověřit specifické IgE protilátky proti 112 rekombinantním a nativním komponentům z celkových 51 zdrojů alergenů. Celý proces probíhá na skleněném biočipu ve tvaru destičky, kde jsou ve formátu tzv. microarray ukotveny alergeny, které reagují se specifickým IgE v patientském vzorku. Po vymytí nespecifického IgE a přidání fluorescenčně značené protilátky dochází ke vzniku příslušných komplexů. Následná inkubace a promytí zajistí odstranění nenavázaných fluorescenčně značených protilátek proti lidskému IgE. Celková doba jednoho analytického běhu je 3 hodiny a 45 minut a inkubace se provádějí za pokojové teploty. Při vyhodnocování výsledků se měří míra fluorescence a čím vyšší její hodnoty jsou, tím je více přítomných specifických IgE protilátek ve vzorku.

Úskalí metody:

Závěrečná klinická diagnóza by měla být provedena po vyhodnocení všech klinických a laboratorních nálezů a v nezávislosti na výsledcích jakékoliv jednotlivé diagnostické metody. Problematiku představují potravinové alergie, kde mohou cirkulující IgE protilátky zůstat nedetekovány i přes přesvědčivou klinickou anamnézu. Může tak dojít k zaměření protilátek na alergeny, u kterých dochází ke změnám v průběhu průmyslového zpracování, vaření či trávení. To zapříčiní jejich nepřítomnost v původním jídle, na které je pacient vyšetřován.

Důležité je také dodržování správného pracovního postupu při provádění metody, jelikož jeho změna nebo modifikace může způsobit ovlivnění výsledků.

Uplatnění metody:

ISAC je semikvantitativní in vitro test, který slouží ke stanovení alergen-specifických IgE protilátek v lidském séru nebo plazmě.

Užívá se v klinických laboratořích jako pomocná analýza pro diagnostiku alergických onemocnění, mezi jejichž klinické projevy patří astma, senná rýma, atopický ekzém a gastrointestinální symptomy. Umožňuje interakci s širokým spektrem alergenů, jako jsou např. pyly stromů a trav, plísňe, hmyz, chemické látky, zvířecí či potravinové alergeny. Tato metoda se nejčastěji provádí v návaznosti na předchozí vyšetření, která zahrnují kožní testy a vyšetření specifických IgE protilátek proti alergenním zdrojům.

Přístrojové vybavení:

Při této metodě se užívá magnetické míchadlo na promývání vzorků a vlhkostní komora pro jejich inkubaci. Pro vyhodnocení je potřeba přístroj LuxScan 10k Microarray Scanner ke změření fluorescence a software Phadia MIA, který zajišťuje analýzu snímků naskenovaných čipů a jejich uložení do databáze.

Odběr a transport:

Jako materiál lze použít heparinizované vzorky séra nebo plazmy (objem 30 μ l) z žilní či kapilární krve. Vzorky krve se odebírají standardními postupy a uchovávají za pokojové teploty pouze pro přepravní účely po dobu max. 5 dnů.

Při teplotě 2–8 °C je možné vzorky uchovávat po dobu jednoho týdne a v případě nutnosti delšího skladování musí teplota dosahovat -20 °C. Je důležité se vyhnout

opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků. Pro použití se homogenní vzorky vytemperují na pokojovou teplotu.