

Metoda: Stanovení specifických IgE – analyzátor IMMULITE 2000 XPI

Veronika Motejzíková, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 2. ročník

Školitelé: Ing. Tomáš Vlas

Princip:

Stanovení specifických IgE je na tomto analyzátoru založeno na dvoukrokové chemiluminiscenční imunochemické reakci, která využívá kinetiku kapalně fáze na pevné fázi v podobě kuliček.

Kapalná fáze je tvořena alergeny nebo směsí alergenů, které jsou kovalentní vazbou navázány na rozpustnou matici, která je značena ligandem. Pevná fáze neboli kuličky jsou potažené antiligandem.

V prvním kroku se pacientské sérum inkubuje společně s potaženou kuličkou a značeným specifickým alergenem po dobu 30 minut. V této fázi se specifické IgE z pacientského séra naváže na ligandem značený alergen a následně se naváže na antiligand na kuličce. Vznikne tzv. imobilizovaný IgE. Zbytek vzorku, který nebyl navázán se odstraní pomocí centrifugačního mytí.

V druhém kroku se do zkumavky s imobilizovaným IgE přidá enzymem (alkalická fosfatáza z telecího střeva) konjugovaná monoklonální myší protilátka proti lidskému IgE v lidské sérové pufované matici. Zkumavku inkubujeme opět 30 minut. Během této inkubace se naváže myší protilátka na imobilizované IgE. Nenavázaný zbytek konjugátu se odstraní opět při centrifugačním mytí.

Poté se do zkumavky přidá chemiluminiscenční substrát, který je přítomností alkalické fosfatázy defosforylován a vznikne nestabilní meziproduct, který při rozpadu vyzáří foton. Vyzářené fotony jsou přímo úměrné množství enzymového konjugátu navázaného na kuličce a jsou detekovány luminometrem.

Uplatnění metody:

Metoda stanovení koncentrace specifických IgE v séru proti alergenům, se využívá v rutinní diagnostice alergických reakcí na potraviny, hmyz, pyl a spoustu dalších alergenů. Mezi výhody metody patří možnost stanovení současného i budoucího rizika a závažnosti alergické reakce nebo přesné zjištění alergenu, neexistuje kontraindikace.

Tato metoda bývá využita zejména u pacientů, kterým jsou kontraindikované kožní testy.

Úskalí metody:

Vyšetření specifických IgE nemá význam, pokud není jasně definován alergen u zkřížené alergie. Kdy nemá cenu prokazovat všechny alergeny.

Přístrojové vybavení:

Za potřebí je analyzátor Immulite 2000 XPI.

Odběr a transport:

Na vyšetření je potřeba do imunologické laboratoře donést nesrážlivou krev nebo sérum. Nesrážlivá krev se odebírá do komerčně vyráběných zkumavek. Po odebrání se krev lehce promíchá, ale nesmí se třepat, protože by mohlo dojít k hemolýze. Poté se nechá 10 až 15 minut stát.

Transport do laboratoře by měl být při 2–8 °C, v co nejkratší době.

Sérum je možno skladovat až 7 dní při teplotě 2-8 °C. Nebo zamrazené pod -20 °C až 6 měsíců. Jen po rozmrazení není vhodné znovu sérum zamrazit.

