

## Metoda: Stanovení specifických IgE – ImmunoCAP 250

**Studenttka:** Nikol Bouzková, 2. ročník

**Školitelé:** Ing. Tomáš Vlas

Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

### **Princip:**

ImmunoCAP je vysoce preferovaná technologie, která je obecně známa jako zlatý standard. Je navržena jako nekompetitivní enzymová imunoanalýza s fluorescenční detekcí, kde pevná fáze zajišťuje navázání všech ovšem pouze relevantních protilátek. Toho je docíleno prostřednictvím extrémní vazebné kapacity v kombinaci s optimálním množstvím celulózy v každé ampulce.

Alergen, alergenová komponenta nebo vyvážená směs relevantních inhalačních alergenů kovalentně navázaných na pevnou fázi reaguje se specifickými IgE obsaženými ve vzorku patientského séra (plasmy). Po promytí nespecifických IgE jsou přidány enzymaticky značené protilátky proti IgE, aby utvořily komplex. Po inkubaci jsou nenavázané enzymaticky značené anti-IgE odmyty a vazebný komplex je pak inkubován s rozvíjejícím činidlem. Po zastavení reakce se měří fluorescence eluátu. Čím vyšší fluorescence je, tím více specifických IgE je přítomno ve vzorku.

### **Uplatnění metody:**

Přítomnost alergen-specifických IgE protilátek je charakteristická pro alergické onemocnění. Laboratorní vyšetření spec. IgE protilátek doplňuje jejich detekci kožními testy, případně ji nahrazuje. Pozitivita spec. IgE protilátek je známkou senzibilizace organismu, nemusí znamenat klinické projevy alergie. Nejčastěji je prováděno vyšetřování protilátek proti jednotlivým alergenům (případně alergenovým složkám – tzv. rekombinantním alergenům), možné je provádět i vyšetření proti směsím několika různých alergenů – spíše screening.

### **Úskalí metody:**

Nevýhoda metod využívajících právě fluorescenci spočívá kromě její subjektivity také v tom, že s narůstající dobou odečítání se zkoumaný materiál „vysvítí“, tedy fluorescenční signály po relativně krátkém čase ztrácí svoji intenzitu. Je třeba myslet na to, že při extrémně vysokých hladinách celkového IgE mohou být detekovány zvýšené hladiny spec. IgE, které mají z klinického pohledu charakter falešné positivity.

### **Přístrojové vybavení:**

ImmunoCAP 250 připojený k laboratornímu informačnímu systému (LIS).

### **Odběr a transport:**

Pro vyšetření je vhodné sérum či plasma v heparinu nebo EDTA z kapilární nebo venózní krve odebrané běžným postupem a uchovávané při pokojové teplotě. Množství odebrané krve se řídí podle počtu vyšetřovaných alergenů – 1 ml žilní krve pro vyšetření cca 3-4 alergenů. Vzorek lze při teplotě 2-8 °C skladovat až týden a pro delší uchování je možné vzorek skladovat při teplotě -20 °C, ale měli bychom se snažit vyhnout opakovanému zmrazování.