

Vliv inhibitoru CCD na výsledky stanovení multiplových metod ISAC a ALEX

Studentka: Kristýna Procházková, ZL 3

Školitelé: Ing. Tomáš Vlas

Východisko: Multiplové metody ISAC a ALEX se používají v imunologických laboratořích k diagnostice alergických onemocnění. Principy obou metod jsou podobné. Alergenové molekuly jsou navázány na pevném nosiči (u ISAC metody se jedná o skleněné sklíčko s polymerizovaným povrchem, kde jsou molekuly ukotveny v tripletech; u metody ALEX se jedná o nitrocelulózovou membránu v kazetě čipu) a po inkubaci s patientským sérem (u metody ALEX se sérum ředí v diluentu obsahujícím CCD inhibitor) dojde k případnému navázání specifických IgE protilátek. V dalším kroku se na vzniklé imunokomplexy naváže značená protilátka proti lidskému IgE. Měří se intenzita vzniklého zabarvení či fluorescence.

Stanovení ISAC umožňuje testování 112 různých rekombinantních i nativních alergenových molekul a stanovení ALEX umožňuje testování na 157 alergenových extraktů a 125 molekulárních komponentů. Vlivem zkříženě reagujících sacharidových determinant dochází ke zkřížené reaktivitě a tím ke ztížené interpretaci výsledků a vzniku falešně pozitivních hodnot. CCD inhibitor u metody ALEX by měl omezovat tuto zkříženou reaktivitu a poskytovat tak přesnější výsledky.

Cíl: Cílem mé bakalářské práce bylo zjistit, zda CCD inhibitor u metody ALEX skutečně zabraňuje zkřížené reaktivitě, která je způsobena vlivem podobných sacharidových struktur. Použití CCD inhibice by mělo snížit množství falešně pozitivních výsledků, kterými je zatížena metoda ISAC.

Metodika: Sledovaný soubor je tvořen celkem 199 pacienty ÚIA FN Plzeň. U každého pacienta byl proveden test ISAC a ALEX a získala jsem tak hodnoty specifických IgE protilátek proti různým alergenovým molekulám, které jsou součástí vyšetřovacích čipů. V čipech je směs rekombinantních alergenů a nativních extraktů, u kterých hrozí vysoké riziko zkřížené reaktivity. Z celého souboru jsem vybrala tedy pouze ty alergeny, které byly u metody ISAC i ALEX nativní a rostlinné. Dále jsem u každého vybraného alergenu spočítala počet pozitivních výsledků, které byly získány měřením pomocí obou metod. Jako pozitivní se u metody ISAC považuje hodnota specifických IgE protilátek proti určitému alergenu $\geq 0,35$ ISU a u metody ALEX také hodnota $\geq 0,35$ kU_A/ml. Četnosti pozitivních výsledků u jednotlivých alergenů jsem nakonec mezi metodami porovnávala a graficky zpracovala.

Výsledky: Četnosti pozitivních výsledků se u jednotlivých alergenů lišily různě. Celkové počty pozitivních výsledků u metody ISAC a ALEX se lišily jen o pár hodnot. Pomocí měření metodou ISAC jsem získala celkem 140 pozitivních výsledků a pomocí měření metodou ALEX jsem získala celkem 133 pozitivit. Kromě samotných alergenů jsem testovala i indikátory CCD reaktivity, které měří hladinu anti-CCD protilátek. Pro metodu ISAC se indikátor nazývá Mux f 3 a pro metodu ALEX Hom s LF. Opět jsem zde porovnávala četnost pozitivit mezi oběma metodami. U metody ISAC jsem naměřila 31 pozitivních hodnot a u metody ALEX jsem naměřila jen 15 pozitivních hodnot.

Závěr: Dle získaných výsledků usuzuji, že CCD inhibitor skutečně snižuje množství pozitivních výsledků a omezuje nežádoucí zkříženou reaktivitu. Pro ještě přesnější výsledky bych doporučila u metody ALEX provádět preinkubaci, která by měla CCD inhibici zvýšit na 95 %.