

Oznaczanie alergenowo swoistych IgE

Dr hab. n. med.
**Agnieszka Bojarska-
Junak¹**

Dr n. med.
Anna Mach²

¹Katedra i Zakład Immunologii
Klinicznej UM w Lublinie

²Zakład Diagnostyki
Laboratoryjnej Centralny Szpital
Kliniczny MSW w Warszawie

D I A G N O S T Y K A

Measuring levels of allergen-specific IgE

S U M M A R Y

Allergic diseases are among the most common diseases of modern civilisation. In immune-based diagnostics of allergies, measurements of total serum IgE concentrations and allergen-specific immunoglobulin concentrations, that is IgE-specific allergen concentrations, are used. Proper diagnostics is a prerequisite for effective therapy. Therefore, it is worth having a look at available diagnostic tests and their features, i.e. controls, calibration or antibodies used, which affect the reliability of test results. The paper describes the most significant features of diagnostic tests used to measure levels of allergen-specific IgE. Systematization of information about methods of measuring levels of allergen-specific IgE will allow us to review options offered by contemporary diagnostics, and perhaps it will facilitate selection of the optimal method..

Choroby alergiczne to jedne z najczęstszych schorzeń współczesnej cywilizacji. W immunologicznej diagnostyce alergii wykorzystuje się oznaczenia całkowitego stężenia IgE i stężeń immunoglobulin przeciw konkretnym alergenom czyli swoistych IgE (sIgE). Prawidłowa diagnostyka jest jednym z niezbędnych elementów dobrej terapii. Warto więc przyjrzeć się dostępnym testom diagnostycznym i ich cechom tj. kontrole, kalibracja, czy wykorzystane przeciwciała, które mają wpływ na wiarygodność wyniku testu. W pracy opisano najważniejsze cechy testów diagnostycznych wykorzystywanych do oznaczania IgE specyficznego. Usystematyzowanie wiedzy o metodach oznaczania sIgE pozwoli przyjrzeć się temu, co oferuje współczesna diagnostyka i być może przyczyni się do wybrania metody najbardziej optymalnej.

Bojarska-Junak A.: Oznaczanie alergenowo swoistych IgE. *Alergia*, 2013, 2: 21-25



Diagnostyka chorób alergicznych opiera się przede wszystkim na prawidłowo zebranych wywiadzie oraz na wynikach testów skórnych, czasami testów prowokacyjnych. Często jednak istnieje konieczność potwierdzenia badania przedmiotowego badaniem laboratoryjnym, szczególnie w przypadkach gdy obraz kliniczny nie jest potwierdzony dodatnim wynikiem testów skórnych (1). Od wielu lat ważne znaczenie w diagnostyce chorób alergicznych ma oznaczanie alergenowo swoistych IgE.

Immunoglobulina E (IgE), po raz pierwszy opisana w 1967 roku (2,3) jest jedną z pięciu klas immunoglobulin występujących u człowieka i stanowi poniżej 0,001% stężenia wszystkich pozostałych klas przeciwciał (4). Odkrycie IgE przyczyniło się do znaczącego postępu w patofizjologii i diagnostyce chorób alergicznych. Obecnie stosowanych jest wiele testów radioimmunologicznych, immunoenzymatycznych (ELISA) oraz chemiluminescencyjnych różniących się szczegółami technicznymi, które służą do badania stężeń IgE (5,6,7,8,9). Należy pamiętać, że stężenie IgE w surowicy krwi jest ściśle związane z wiekiem pacjenta.

Podwyższone stężenie IgE w surowicy jest zwykle łączone z obecnością chorób atopowych. Istnieje jednak wiele innych zespołów chorobowych, w przebiegu których może występować podwyższone surowicze stężenie IgE (2,3,10). Tak więc całkowite stężenie IgE w surowicy ma małą wartość jako badanie przesiewowe w kierunku chorób alergicznych. Należy również podkreślić, że IgE wykazuje większe powinowactwo do połączeń z komórkami niż do występowania w postaci wolnej w krwi.

IgE wiąże się z receptorami FcεRI na powierzchni makrofagów, bogatych w ziarnistości mastocytów i bazofili (szczególnie licznych w obrębie błony śluzowej układu oddechowego, pokarmowego oraz skóry właściwej) (4,10). Ta pula przeciwciała IgE jest niedostępna do ilościowej oceny w testach in vitro. Nie należy zapominać, że pula przeciwciał IgE będzie inna w skórze niż w surowicy.

Ponadto, okres półtrwania IgE w połączeniu z mastocytami skóry wynosi ponad 15 dni, natomiast w surowicy krwi jest znacznie krótszy (11). Z uwagi na bardzo krótki okres półtrwania IgE w surowicy krwi, stężenie tej immunoglobuliny jest wyjątkowo niskie. Wynika stąd, że metody wykrywające IgE muszą być znacznie czulsze i bardziej swoiste niż powszechnie stosowane testy skórne.

W przeciwieństwie do małej wartości predykcyjnej oznaczania całkowitego stężenia IgE w diagnostyce, pomiar stężenia IgE swoistej dla określonego alergenu ma znaczenie praktyczne. Pierwszą techniką, stosowaną do precyzyjnego oznaczania stężenia swoistej IgE było badanie metodą radioimmunoadsorpcji (radioallergosorbent test - RAST). W metodzie tej alergen jest związany z podłożem stałym (np. z krążkiem bibuły) i reaguje ze swoistymi przeciwciałami IgE w badanej próbce. W kolejnym etapie powstałe kompleksy wiążą się z przeciwciałami przeciw ludzkim IgE, znakowanymi izotopami promieniotwórczymi (najczęściej J125) (12,13,14). Ta oryginalna metoda opisana w 1967 roku przez Wide i wsp. (12) umożliwiła wprowadzenie do praktyki laboratoryjnej testu wykrywającego swoiste przeciwciała IgE reagujące z poszczególnymi alergenami.

Techniki badania IgEs

W ostatnich latach immunotesty zostały udoskonalone pod wieloma względami. Oryginalną metodę radioimmunologiczną wykorzystującą znakowane izotopami przeciwciała poliklonalne zastąpiono metodą enzymatyczną ze znakowanymi enzymatycznie przeciwciałami monoklonalnymi. Opracowano również technikę opartą na zastosowaniu wiązania antygeny na podłożu stałym (solid phase) zwiększając tym samym zdolność wiązania alergenu (15,16,17). Wprowadzono również testy, w których alergen znajduje się w fazie ciekłej, a z fazą stałą wiąże się po związaniu z przeciwciałami IgE rozpuszczonymi także w fazie ciekłej (17). Zastosowana powierzchnia immunoadsorpcyjna wpływa na dokładność wykorzystywanych metod. Im większa jest ta powierzchnia, tym dokładność też jest większa, a zarazem wzrasta również kinetyka reakcji, co pozwala na skrócenie czasu inkubacji. Stosowane powierzchnie immunoadsorpcyjne to m.in.: mikrodołki na mikroplątkach, kulki magnetyczne, dyski bibułowe, mikrocząstki, celuloza a także wykazująca bardzo dużą powierzchnię adsorpcyjną faza płynna (1). Od wielu lat prace w zakresie diagnostyki chorób alergicznych skupiają się na doskonaleniu obecnie używanych metod pod kątem ulepszania ich sprawności diagnostycznej. Obecnie w standardowej praktyce alergologicznej do oznaczeń swoistych IgE najczęściej wykorzystuje się metody immunoenzymatyczne, umożliwiające oznaczanie stężenia IgE dla pojedynczych alergenów. Równie popularne są metody radioimmunologiczne (np. UniCAP, Phadia). Nieco mniej powszechne są techniki oparte na chemiluminescencji (18). W ostatnich latach do użytku został wprowadzony test ImmunoCAP ISAC (Phadia) wykorzystujący technikę microarray, dzięki któremu

istnieje możliwość oznaczenia swoistych IgE jednorazowo dla kilkudziesięciu alergenów. Dość powszechne są także testy wieloalergenowe IgE, np. Polycheck czy Euroline, które także są metodami immunoenzymatycznymi. Ponadto, niedawno do użytku wprowadzono, zestaw panelowy Polycheck plus, uzupełniony o determinanty alergenowe głównych alergenów pyłku brzozy. Zestaw pozwala na lepszą ocenę faktycznej obecności przeciwciał w surowicy chorego (18). Przykłady testów do oznaczenia alergenowo-swoistych IgE przedstawiono w tabeli 1.

TABELA 1 Przykładowe testy ilościowe i półilościowe wykorzystywane przy oznaczaniu swoistych IgE

	metoda oznaczenia	rodzaj ozn.	ilość i rodzaj kontroli	ilość kalibratorów	Dolna granica wykrywalności	zastosowane przeciwciała	przeciwciała w kalibratorach	ilość surowicy	Reakcje krzyżowe	czas wykonania
ImmuCAP / Pharmacia	FEIA fluoro-enzymatyczna	Ilościowe	2 kontrole oznaczane w dubletach w kontrolach ludzkie IgE	5 kalibratorów kalibracja wykonywana co 28 dni	0,1	monoklonalne	ludzkie przeciwciała IgE poddane miareczkowaniu (0,00; 0,35; 0,7; 3,5; 17,5; 100)	40 ul na każdy alergen + 100 ul tzw. "martwej przestrzeni"	Brak reakcji krzyżowych z IgG, IgA, IgD, IgM	1,45 godz.
Polycheck / Biocheck	Immuno-enzymatyczna	Ilościowe	5 pozytywnych i 1 negatywna w kontrolach Ludzkie IgE	5-cio punktowa krzywa kalibracyjna, wykonywana do każdego testu indywidualnie, Kalibracja „real time” z uwzględnieniem tła	0,15	monoklonalne	ludzkie przeciwciała IgE poddane miareczkowaniu (0,00; 0,9, 3,0; 25,0; 158,0; 700,0)	200 ul	Brak reakcji krzyżowych z IgG, IgA, IgD, IgM	ok. 2,5 godz.
AllergyScreen / Mediwiss	Immunoblot	Pół-ilościowe	1 pozytywna i 1 negatywna W kontroli anty-kozie IgG (królicze)	b.d o ilości kalibratorów Kalibracja stała – zaczerpnięta z literatury dla pyłku traw	0,35	poliklonalne	brak indywidualnej kalibracji	250 ul	b.d.	ok. 2,5 godz.
Euroline / Euroimmun	Immuno-enzymatyczna	Pół-ilościowe	1 pozytywna b.d. o przeciwciałach w kontroli.	b.d.	0,35	monoklonalne	brak indywidualnej kalibracji	1000 ul, 400 µl (niezbędne specjalne rynienki inkubacyjne) lub 100 ul-min. 12godz. inkubacja surowicy	b.d	ok. 2,5-3 godz.
Allergodip /	Immuno-	Pół-	1 pozytywna	b.d.	< 1 klasy	monoklonalne	brak	900 µl	Nie jest	22,5 do

Omega	enzymatyczna	ilościowe	i 1 negatywna b.d. o przeciwciałach w kontroli			indywidualnej kalibracji/ kalibracja wg systemu pomiarowego	spodziewana reaktywność krzyżowa z sIgE o innej swoistości	24,5 godz.
--------------	--------------	-----------	---	--	--	---	--	------------

Dzisiejsza technika laboratoryjna prezentuje bardzo wysoki poziom. Obecnie wynik badania można otrzymać wyjątkowo szybko. Ponadto, są to wyniki dokładne, powtarzalne i dzięki temu wiarygodne. Nie zmienia to jednak faktu, że niekiedy mogą pojawić się rozbieżności. Właściwe wykonanie badania zależy między innymi od jakości wykorzystywanych odczynników (16).

Należy podkreślić, że testy wykorzystywane do ilościowego oznaczania IgE powinny być czułe i swoiste. Istotne jest zapewnienie pomiaru ilościowego w jak najszerszym zakresie (19).

Ważną rolę w metodach immunologicznych, w tym wykorzystywanych do oznaczania swoistych IgE, odgrywa rodzaj stosowanych przeciwciał (monoklonalne, poliklonalne).

Swoistość stosowanych przeciwciał w stosunku do różnych epitopów może być różna i nawet przy stosowaniu tego samego standardu może powodować rozbieżność wyników uzyskanych różnymi metodami (17).

Przeciwciała poliklonalne i monoklonalne

W testach pierwszej generacji stosowano oczyszczone chromatograficznie przeciwciała poliklonalne (17). Niewątpliwym atutem przeciwciał poliklonalnych jest stosunkowo niski koszt uzyskiwania w porównaniu z przeciwciałami monoklonalnymi. Ponadto zdolność do rozpoznawania różnych determinant antygeny sprawia, że przeciwciała poliklonalne mają bardzo wysoką zachłanność (awidność) (20). Jednak wysokie powinowactwo przeciwciał poliklonalnych zwiększa podatność metody na reakcje krzyżowe (21). W nowszych testach stosowana jest mieszanina przeciwciał poliklonalnych i monoklonalnych, (17) lub wyłącznie przeciwciała monoklonalne (np. Polycheck, Allergozyme). Przeciwciała monoklonalne zapewniają wysoką specyficzność i powtarzalność reakcji z antygenem. Dzięki wysokiej swoistości można używać ich w bardzo małych stężeniach eliminując przy tym skłonność przeciwciał do krzyżowych reakcji z innymi białkami oraz wiązanie niespecyficzne (tzw. tło) (20). Obecnie stosowane przeciwciała monoklonalne charakteryzują się wysoką specyficznością, co powoduje, że swoistość reakcji osiągnęła wysoki poziom (1). Należy także pamiętać, że przeciwciała anti-IgE powinny być swoiste dla fragmentu Fc-IgE. Optymalnym byłoby stosowanie zestawu przeciwciał monoklonalnych swoistych wobec więcej niż jednego epitopu fragmentu Fc, o uzupełniających się krzywych zależności odpowiedzi od dawki dla różnych stężeń alergenu (16,17,22). Na podstawie powyższych danych warto podkreślić, że wybierając zestaw do oznaczania IgE należy sprawdzać, jakie przeciwciało jest stosowane w teście.

Metody oznaczania swoistych IgE

Każda metoda pomiarowa dostarcza wyników, które obarczone są pewnym błędem. Różnorodność czynników wpływających na wykonywane pomiary powoduje, że wszelka metoda pomiarowa jest narażona na pogorszenie się jej precyzji i dokładności. Dlatego należy stosować sprawdzony system kontroli jakości badań. Należy podkreślić, że jakość stosowanej metody bezpośrednio przekłada się na wiarygodność wydawanych wyników. W przypadku metod wykorzystywanych w medycynie wszystkie oznaczenia wykonywane metodami immunochemicznymi (w tym również oznaczenia IgE) powinny być zgodne z wartością rzeczywistą. W celu zapewnienia wysokiej jakości testów diagnostycznych wykorzystuje się standardy (kalibratory) oraz materiały kontrolne (23). Każda metoda immunochemiczna wymaga kilku kalibratorów z właściwie przypisaną wartością w oparciu o odpowiedni materiał referencyjny (23). Także testy stosowane do ilościowego oznaczania poziomu swoistych przeciwciał IgE wymagają uwzględnienia krzywej standardowej. W praktyce korzysta się z zestawów odczynników, które są gotowe do użycia lub wymagają tylko prostego przygotowania (np.

rozpuszczenia odczynników liofilizowanych). Producent takich zestawów jest odpowiedzialny za jakość dostarczanych substancji wzorcowych i ich zgodność z zaleceniami światowych organizacji zajmujących się standaryzacją procedur analitycznych. Metody oznaczania poziomu zarówno swoistych, jak i całkowitych IgE powinny być kalibrowane przy użyciu standardu IgE zgodnego z dokumentem WHO 75/502 „International Reference Preparation for Human IgE, 75/502” (16,17,22).

Dostępnych jest kilka sposobów oznaczania swoistych IgE. Metody te można podzielić na: ilościowe, półilościowe oraz jakościowe. Metoda ilościowa (np. zestawy Polycheck, Allergozyme) pozwala określić dokładny poziom IgE. Wyniki wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU/ml. Przy czym jedna jednostka międzynarodowa odpowiada 2,4ng IgE (24). Wyniki oznaczeń wyraża się również w sposób półilościowy, w skali od 0 (oznacza nieobecność wykrywanego swoistego IgE) do 5 lub 6 (wykrywane przeciwciała obecne w bardzo wysokim stężeniu) (1,25,26). Metoda półilościowa wykorzystywana jest w tzw. testach paskowych (np. w zestawach Allergodip, Euoline, AllergyScreen). Po zanurzeniu paska testowego w próbce materiału (surowicy, osoczu), odbarwia się on pod wpływem obecności IgE w próbce. Ocenia się intensywność zabarwienia paska testowego, przez porównanie zmienionego koloru paska ze skalą barwną, gdzie każdy odcień oznacza inną klasę (np. 0 do 4). W testach tych intensywność zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia swoistych alegenowo immunoglobulin IgE w surowicy lub osoczu.

W przeciwieństwie do metod ilościowych, czy półilościowych metody jakościowe pozwalają jedynie oszacować obecność lub brak IgE w surowicy lub osoczu. Są to jedynie testy przesiewowe, dlatego dla uzyskania 100% pewności należy oznaczyć dokładny poziom IgE w krwi przy użyciu metody ilościowej.

Wiadomym jest, że przy wykonywaniu testów immunochemicznych (a oznaczanie IgE należy do tego rodzaju badań) ostateczna kalibracja powinna być stale kontrolowana i weryfikowana dla każdej serii odczynników. Te same wzorce mogą dawać inny sygnał pomiarowy (np. fluorescencja, aktywność enzymatyczna, chemiluminescencja), bowiem kalibracja metod immunochemicznych zależna jest nie tylko od szczegółów analitycznych procedury (od formatu procedury), ale także od kalibratora, próbki, rodzaju i składu bufora oraz rodzaju przeciwciał (23). Wpływ mają również czynniki zewnętrzne jak: temperatura otoczenia, temperatura odczynników, wilgotność powietrza, jakości wody wykorzystywanej do sporządzenia buforu, sposób przechowywania testów, czas od otwarcia opakowania (testu, odczynników czy buforu), ciśnienie atmosferyczne i wiele innych. Wybarwienie kontrolne lub kalibracyjne wykonane w tym samym czasie i tych samych warunkach, co wybarwienia dla odpowiednich alergenów powoduje, że te same czynniki (temperatura, wilgotność, ciśnienie itp.), działają zarówno na kontrole, jak i próbki badane w obrębie tego samego czasu. Należy podkreślić, że w metodach immunochemicznych, ewentualny wpływ warunków zewnętrznych odgrywa istotną rolę w uzyskaniu wiarygodnych wyników. W tym wypadku stała, zewnętrzna kalibracja nie zapewni wiarygodnych wyników. Aby uzyskiwać rzetelne i miarodajne wyniki konieczne byłoby wykonanie kalibracji do każdej nastawionej serii badań. W celu uzyskania wiarygodnych wyników wskazane jest wykonanie kalibracji w tych samych warunkach i w tym samym czasie, co wykonanie oznaczeń prób badanych. Ponadto przeprowadzenie kalibracji dla każdego testu indywidualnie pozwoliłoby z jeszcze większą precyzją przybliżyć się do rzeczywistego wyniku badanej próby. W testach półilościowych, ustalona przez producenta krzywa może być wzięta z zewnątrz i przypisana do testu co jednak sprawia, że badanie może być mniej dokładne. Dobrą praktyką laboratoryjną jest posiadanie dostępu do oryginalnego przebiegu krzywej (23).

Dokonując wyboru zestawów odczynników do ilościowego oznaczenia swoistych IgE należy także zwracać uwagę na czułość analityczną oznaczenia. Idealnym testem diagnostycznym byłby taki, który jest dodatni u pacjentów z objawami chorobowymi a ujemny u wszystkich zdrowych (czułość i swoistość 100%). Żaden z dostępnych testów nie posiada jednak takich parametrów. Czუłość analityczna metod oznaczania IgE wynosi 0,1-0,35 IU/ml, z 90-95% poziomem ufności. Oznacza to, że tylko u takiego odsetka pacjentów ewidentnie uczulonych na określony antygen można wykazać w surowicy obecność alergenowo-swoistej IgE (26,27,28). Stężenie swoistych IgE przekraczające 0,35 IU/ml uważane jest obecnie za wynik dodatni. Warto jednak przypomnieć, że granica 0,35 IU/ml została wyznaczona jeszcze w latach 70 i miała związek z czułością ówczesnych metod diagnostycznych. Ostatnie badania wykazały jednak, że biologiczną granicą dla I klasy przeciwciał jest

stężenie 0,1 IU/ml. Ma to m.in. znaczenie u dzieci, u których wartości przeciwciał przeciwko alergenom roztoczy w zakresie 0,1-0,35 IU/ml są wskazaniem do eliminacji kurzu z otoczenia dziecka (29). Powyższe informacje dodatkowo podkreślają znaczenie czułości stosowanych testów diagnostycznych.

Parametry oceny testów swoistych

Zasadnicze znaczenie ma także jakość alergenu. Źródło alergenu stosowanego w testach powinno być dobrze określone. Standaryzacja alergenu w połączeniu z zastosowaniem właściwych proporcji i składu odczynników zapewnia precyzję i powtarzalność wyników, co wpływa na dokładność testu i jego skuteczność w diagnostyce alergii (17,30). Alergeny są grupowane w panele będące podstawą badań przesiewowych, na przykład alergeny wziewne, takie jak pyłki traw, drzew, sierść zwierząt, czy alergeny pokarmowe. Dodatni wynik testu oznacza, że u pacjenta są obecne przeciwciała skierowane przeciwko któremuś alergenowi (lub kilku alergenom) zawartemu w danym panelu (27). Jeśli stosuje się testy z pojedynczymi oczyszczonymi alergenami, cena oznaczenia swoistych IgE jest wysoka, więc zwykle oznacza się tylko wybrane alergeny.

Należy pamiętać, że nie tylko prawidłowo wykonana kalibracja ale również odpowiednie kontrole stosowane na różnych poziomach dają pewność uzyskania wiarygodnego wyniku badania i pozwalają na kontrolę dokładności oznaczeń. Za pomocą kontroli pozytywnych możemy sprawdzić funkcjonalność zestawów testowych. Jednak, dla wykluczenia wyników fałszywie dodatnich muszą być prowadzone również badania z zastosowaniem kontroli negatywnej. Niemniej jednak, niektóre firmy rezygnują z materiałów kontrolnych, celem obniżenia kosztów związanych z produkcją testu. Jednakże, należy pamiętać, że kontrole i kalibratory są nieodzownym elementem każdego testu oraz dobrej praktyki laboratoryjnej. Ponadto, dla sprawdzenia prawidłowości własnego wykonania testu użytkownik może zamówić dodatkowo standaryzowane surowice kontrolne. Szereg firm dysponuje bankami surowic obejmującymi próbki o różnym mianie, służące do kontroli zestawów laboratoryjnych. Kontrole stanowią bardzo istotny element mówiący nie tylko o dokładności i precyzji metody, ale także o poprawności wykonania testu (21,23).

W metodach ilościowych standardowo stosuje się materiały kontrolne dla stężeń w zakresie wartości fizjologicznych, patologicznych wysokich oraz patologicznych niskich. Kontrole stanowią gwarancję dokładności uzyskiwanych wyników (17). Zastosowanie kilku materiałów kontrolnych w jednej serii badań pozwala zweryfikować nie tylko poprawność wykonania procedury ale także wykluczyć błędy analityczne, które mogą mieć wpływ na uzyskane wyniki. Zastosowanie tylko jednej kontroli pozytywnej (jak w testach jakościowych) mówi nam jedynie czy pasek kontrolny miał kontakt z poszczególnymi odczynnikami. Ważnym zagadnieniem jest także rodzaj materiału zastosowanego w kontroli jako matrycy, np. czy jest to ludzkie IgE, czy kozie lub królicze IgG. Niezmiernie ważne jest, aby podany był rodzaj stosowanej substancji wzorcowej oraz metoda, względem której wzorzec był testowany. Brak tych informacji może powodować niezgodność uzyskiwanych wyników w stosunku do norm ogólnie przyjętych i publikowanych w piśmiennictwie fachowym (21,23). Warto podkreślić, że producentów obowiązuje między innymi kalibracja aparatury stosowanej do oznaczeń poziomu IgE, charakterystyka odczynników alergenowych oraz udokumentowanie ich swoistości i ocena powtarzalności (17). W wybieranym zestawie odczynników pożądana jest informacja co może powodować interferencję niespecyficzną i jaki wpływ na oznaczenie mają najczęściej stosowane leki. Chociaż zarówno producenci zestawów odczynników, jak również laboratoria intensywnie pracują nad zminimalizowaniem reakcji krzyżowych, w praktyce często mają one miejsce. Dlatego powinno się zwracać uwagę na możliwość wystąpienia tego typu reakcji.

IgE zarówno całkowite, jak i swoiste jest parametrem niezwykle stabilnym. Długie, nawet kilkuletnie przechowywanie zamrożonych próbek w temperaturze -20°C nie wpływa na wiarygodność uzyskanego wyniku. Oznaczenie IgE można wykonywać w surowicy krwi, ale także w osoczu heparynowym, cytrynianowym czy wersenianowym (25).

Należy zaznaczyć, że u danego pacjenta powinno się oznaczać poziom IgE zawsze tą samą metodą i na analizatorze tego samego producenta, ponieważ wyniki uzyskane różnymi metodami lub na

analizatorach różnych producentów mogą być rozbieżne.

W testach skryningowych (przesiewowych) istotna jest łatwość ich wykonania i dokładność. Należy jednak pamiętać, że testy przesiewowe często nie są diagnostyczne w ścisłym znaczeniu tego słowa a osoby z dodatnimi lub podejrzanymi wynikami muszą być skierowane do dalszej diagnostyki. Warto więc rozważyć zasadność rezygnacji z metody ilościowej, umożliwiającej kontrolę otrzymywanych wyników na różnych poziomach oznaczania badanego markera. Ponadto późniejsza konieczność stosowania metody ilościowej do potwierdzenia wyników może przyczynić się do podwojenia kosztów wykonywanych badań. Powinno się podkreślić, że ilościowe oznaczenie miana swoistych przeciwciał IgE może być uzupełnieniem testów skórnych. Metody ilościowej oceny poziomu swoistych przeciwciał IgE mogą być również wykorzystywane do dokumentacji rozwoju uczulenia w czasie oraz do oceny ryzyka wystąpienia reakcji na ekspozycję na alergen (17).

W związku ze wzrostem częstości chorób alergicznych intensywnie poszukuje się nowych, skutecznych, bardziej czułych, metod diagnostycznych. Duży nacisk kładziony jest m.in. na możliwość wczesnego rozpoznania choroby. Należy pamiętać, że niezależnie od zastosowanego testu, podstawą diagnostyki jest wywiad lekarski, a następnie wyniki badań laboratoryjnych. Wybierając metodę diagnostyczną warto wybrać taką aby w sposób jak najbardziej optymalny zbliżyć się do rozpoznania właściwej jednostki chorobowej.



Pracę nadesłano 2013.05.13
Zaakceptowano do druku 2013.05.20

Piśmiennictwo dostępne w redakcji.

Oznaczenia alergenowo-swoistych IgE – okiem praktyka

Prof. dr hab n. med. Andrzej Emeryk

Kierownik Kliniki Chorób Płuc i Reumatologii Dziecięcej, UM w Lublinie

Choroby alergiczne są uznawane za epidemię XXI wieku. Ich powszechność sprawia, że do gabinetów alergologicznych trafia coraz więcej pacjentów. Jako lekarze praktycy, dążymy do szybkiego postawienia prawidłowego rozpoznania choroby alergicznej oraz do udowodnienia (lub wykluczenia) mechanizmu IgE-zależnego danej choroby alergicznej. Jest to podstawą skutecznej terapii, w tym immunoterapii.

W natłoku pracy zawodowej i spraw prywatnych trudno nam czasem znaleźć czas, aby pochylić się nad wynikami badań alergologicznych pod kątem ich czułości i specyficzności, a w efekcie wiarygodności danego wyniku laboratoryjnego i naszego rozpoznania. Tym bardziej cieszy mnie fakt omówienia dostępnych metod oznaczania alergenowo-swoistych IgE (asIgE) w surowicy w jednym artykule napisanym przez immunologa klinicznego. Autorka pracy szeroko przedstawiła praktycznie wszystkie dostępne dla alergologa metody oznaczania asIgE, przypominając czytelnikom ich zasady i kładąc nacisk na aspekty praktyczne tej wiedzy. Najważniejsze cechy poszczególnych metod diagnostycznych autorka zestawiała w przejrzystej tabeli. Tabela ta pozwala w szybki sposób spojrzeć na to, co oferuje współczesna diagnostyka laboratoryjna w zakresie oznaczania asIgE, porównać poszczególne metody pod wieloma względami.

Ludzkie IgE w kontrolach i objęcie przez nie całego wyniku, kalibracja do serii badań lub do indywidualnego testu, zastosowanie przeciwciał monoklonalnych, granica wykrywalności już od 0,1kU/L, mała ilość pobranej krwi od pacjenta (do 200ul), krótki czas wykonania, jak również cena adekwatna do jakości to cechy które, pozwolą wybrać najwłaściwszy test diagnostyczny.

Zamknij

Drukuj