

Laboratorní vyšetření v alergologii

Jana Nechvátalová
Ústav klinické imunologie a alergologie
FN u sv. Anny v Brně

Imunopatologické reakce dle Coombse a Gella

- **I. typ - časná přecitlivělost
IgE**
- II. typ - cytotoxická reakce
ADCC
- III. typ - imunokomplexy
- IV. typ - pozdní přecitlivělost

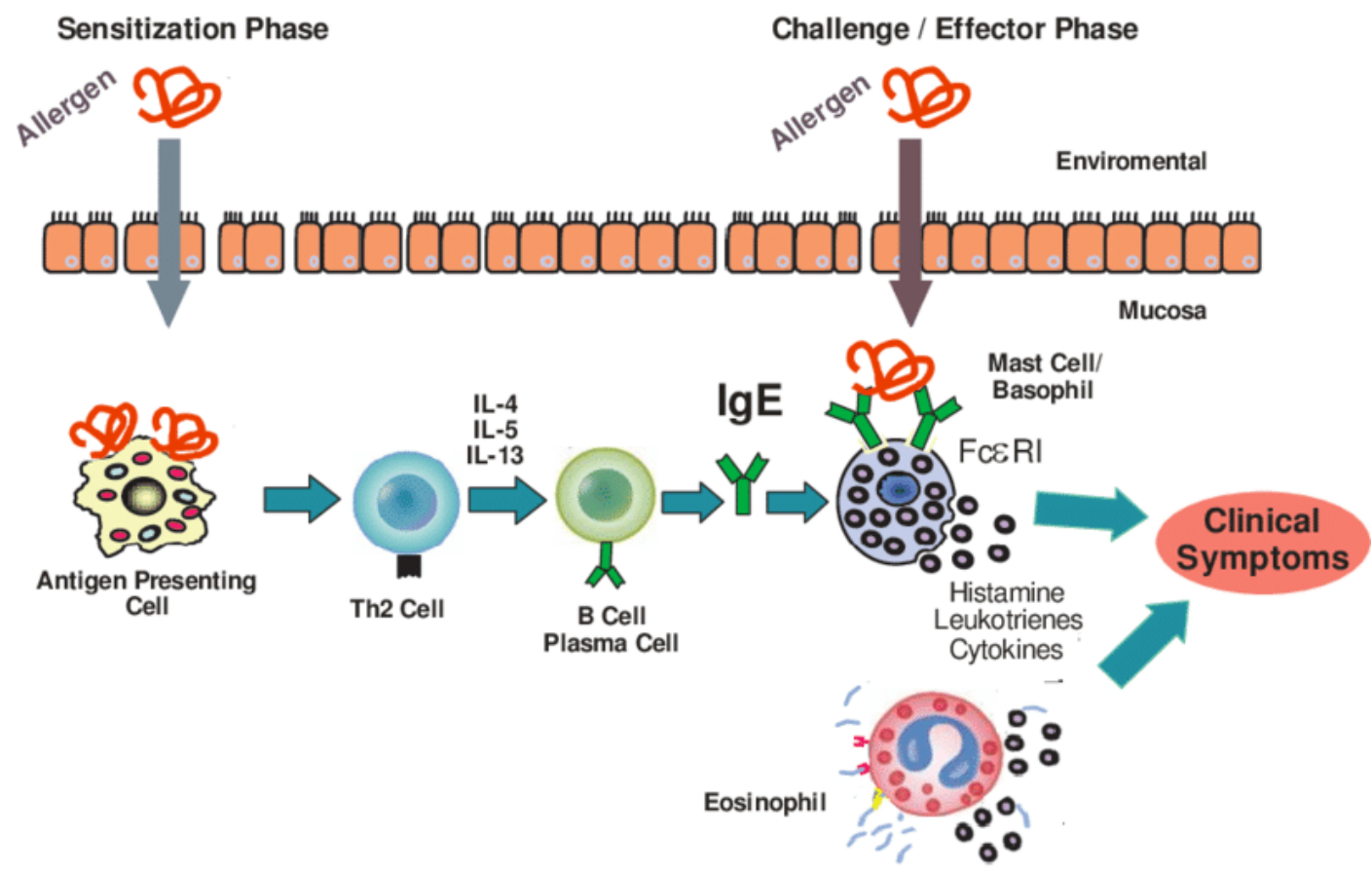
- **Hypersenzitivita (přecitlivělost)**
přítomnost projevů vyvolaných expozicí
definovaným podnětům v dávce, která je
u normálních jedinců tolerována

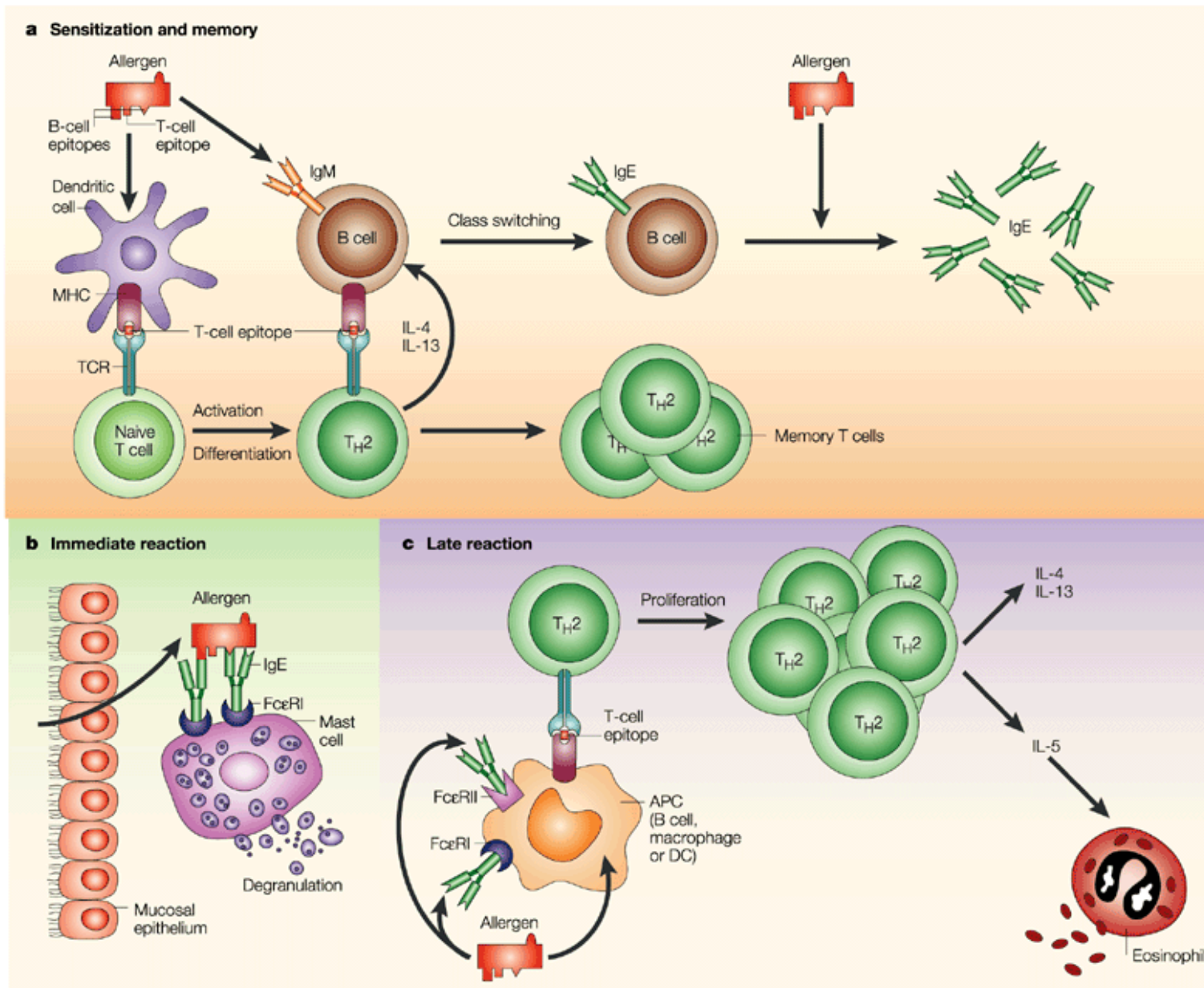
- **Atopie**

dispozice stát se přecitlivělým a tvořit
IgE v odpovědi na setkání s běžnými
antigeny

- **Alergie**

klinické projevy specifické imunologické
přecitlivělosti zprostředkované IgE
protilátkami





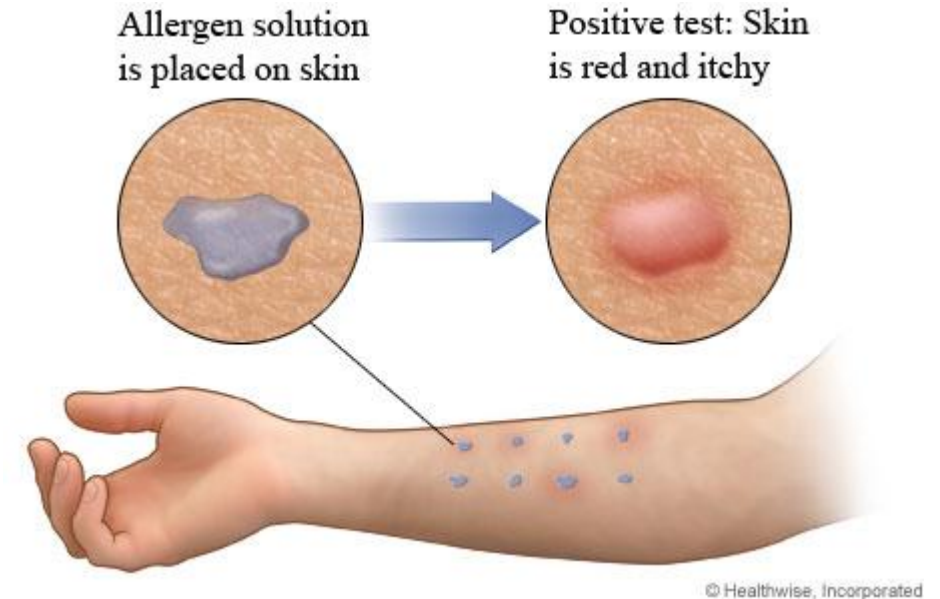
Kožní testy

- **Prick testy**

- zlatý standard
- nanesení kapek alergenů na předloktí, lancetou se naruší povrch kůže, odečtení po 15min.
- pyly, roztoči, zvířata

- **Intradermální testy**

- alergen se aplikuje jehlou intradermálně
- vyšší riziko systémové reakce



Další vyšetření

- **Měření FeNO** - oxidu dusnatého ve vydechovaném vzduchu
 - - pacienti s neléčeným astmatem mají zvýšené koncentrace vydechovaného oxidu dusnatého, což vypovídá o přítomnosti eozinofilního zánětu v dýchacích cestách
- **Spirometrie**
 - - funkční vyšetření kapacity plic, diagnostika obstrukce v dýchacích cestách
- **Bronchomotorické testy**
 - - bronchodilatační test - vyšetření reverzibility obstrukce dých. cest po podání bronchodilatacia (reverzibilita ukazuje na astma)
 - - bronchoprovokační testy - ověření, zda jsou průdušky schopné konstrikce pod vlivem určitého podnětu (metacholin, fyzická zátěž) - což svědčí pro zánět průduškové stěny

Laboratorní diagnostika

Serologické vyšetření

Buněčné vyšetření (Test aktivace bazofilů)

Serologické vyšetření

- Celkové IgE
- Specifické IgE (= alergen-specifické IgE)
- Koncentrace tryptázy
- Stanovení počtu eozinofilů
- ECP

Celkové IgE

- pouze pomocné vyšetření
 - zvýšená konc. IgE - alergie, parazitární onemocnění, polypy, hyper-IgE syndrom, AIDS atd.
 - normální hodnoty < 100 IU/ml (volné IgE)
 - měření - nefelometricky
-
- 1 IU/ml = 2,4 ng/ml
 - 100 IU/ml odpovídá cca 0,0002 g/l

Specifické IgE

- IgE protilátky namířené proti konkrétním alergenům
- výsledky - ve standardizovaných třídách (I-VI)
- alergen ve formě extraktu (směs proteinových antigenů) nebo rekombinanty (přesná definice alergenu)

Immulate 2000

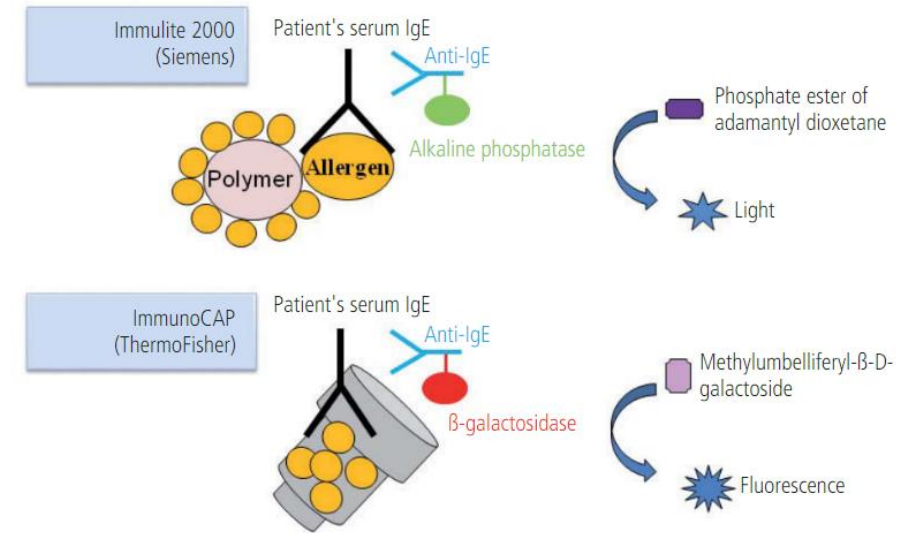
- detekce chemiluminiscence
- měří se počet fotonů / s
- stanovení spec. IgE, ECP

Unicap 100

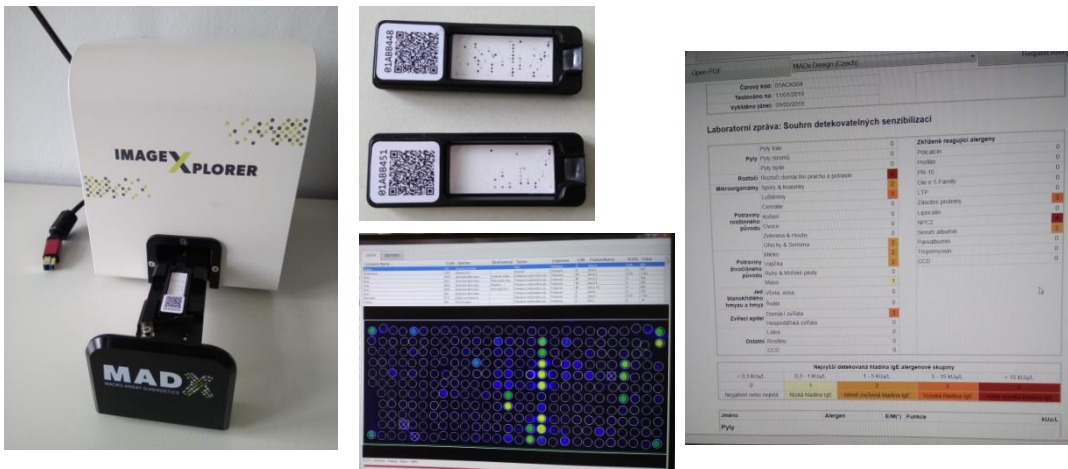
- detekce fluorescence
- až 50x větší kapacita k navázání alergenu
- stanovení spec. IgE proti rekombinantním alergenům, stanovení tryptázy

Alex macro array

- více než 280 alergenů
- enzymová imunoanalýza
- princip podobný jako imunoblot



MJ Goikoetxea et al. J Invest Allergol Clin Immunol 2013; Vol. 23(7): 448-454



ECP (eozinofilní kationický protein)

- koncentrace ECP odráží intenzitu eozinofilního zánětu
- monitorování alergického zánětu v plicích (bronchiální astma)
- zvýšení ECP - také při atopické dermatitidě, parazitárních onemocněních, cystické fibróze, atd.

Stanovení počtu eozinofilů

- obrana organismu před mnohobuněčnými parazity
- při alergickém zánětu

- absolutní a relativní počet - diferenciální rozpočet leukocytů
- eozinofily < 5% (<0,7 × 10⁹/l) leukocytů

- monitorování alergického zánětu v plicích (bronchiální astma)
- zvýšený počet eozinofilů - alergická a parazitární onemocnění

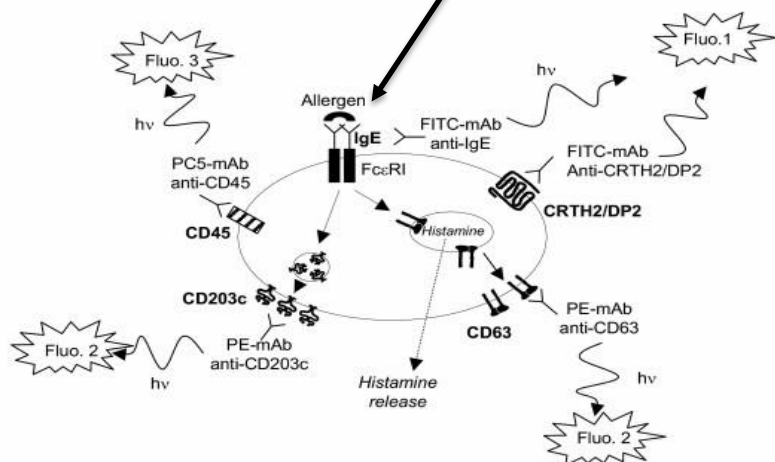
Tryptáza

- mediátor uvolňující se z mastocytů při jejich aktivaci a následné degranulaci (při anafylaktická reakci)
- delší poločas rozpadu než histamin
- krev se odebírá 30min - 3h po reakci (kontrola poklesu hladiny za 1-2 týdny)
- zvýšená koncentrace tryptázy - při mastocytóze (nahromadění žírných bb v kůži či jiných orgánech - vyšší riziko anafylaktické reakce po bodnutí hmyzem)

Test aktivace bazofilů (bazotest)

funkční test umožňující vyšetření aktivace basofilů po setkání se s určitým alergenem in vitro

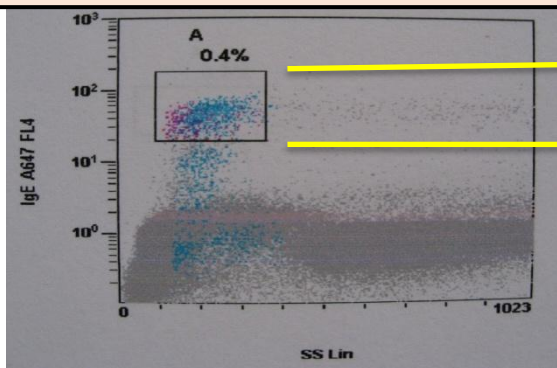
na povrchu bazofilů - FcεRI (receptor pro IgE)
- CD203c



založen na expresi aktivačního znaku (CD63) na povrchu periferních bazofilů po jejich expozici alergenem in vitro

Reakce přecitlivělosti jsou podstatou alergických onemocnění. Reakce přecitlivělosti I. typu neboli **IgE mediovaná alergie** - je zprostředkována protilátkami IgE. IgE se naváže na bazofily ve fázi senzibilizace. Při dalším setkání s alergenem – alergen přemostí IgE, to vede k aktivaci bazofilů - masivnímu uvolnění produktů degranulace bazofilů a mastocytů → **zvýšená exprese CD63 a CD203c** na aktivovaných bazofilech.

ohraničíme **subpopulaci bazofilů** (IgE pozitivní)
- sledujeme expresi CD63 (viz.obr.) a CD203c (není uvedeno)



Sledujeme expresi CD63 na povrchu bazofilů

