

Современные методы диагностики аллергических и псевдоаллергических реакций

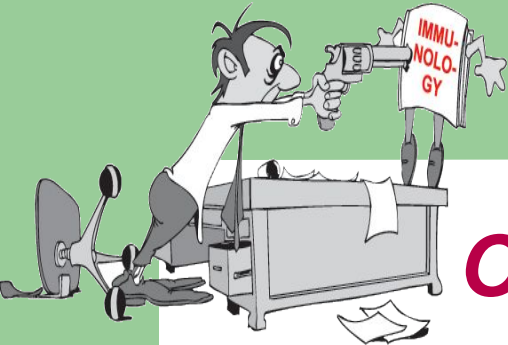
**профессор кафедры биохимии и молекулярной
биологии с курсом **клинической лабораторной**
диагностики**

доктор мед. наук Т.Т. Радзивил



***Иммунология** вместе со всей ее диагностикой и всей ее терапией является сегодня самой популярной и самой скандальной областью медицины*

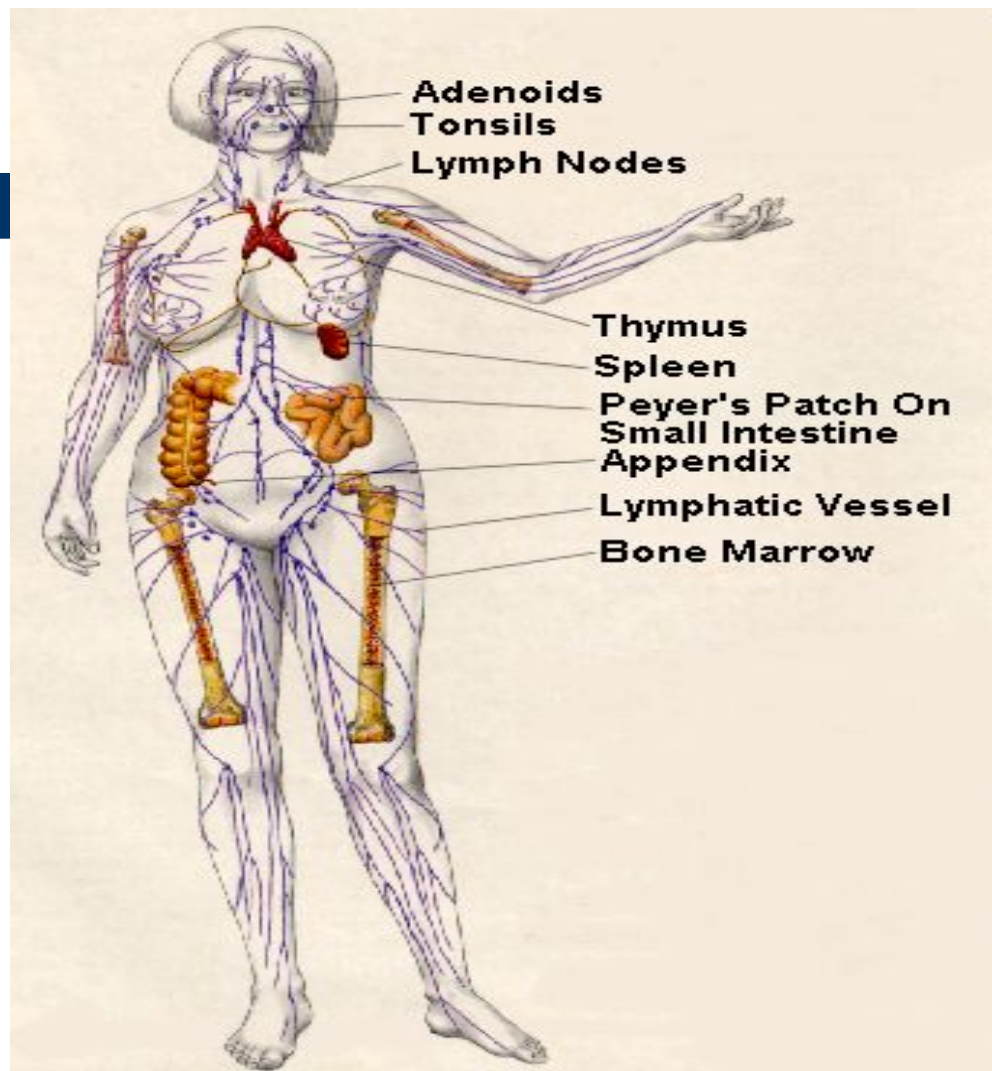




Особенности иммунопатологий

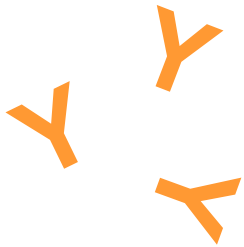
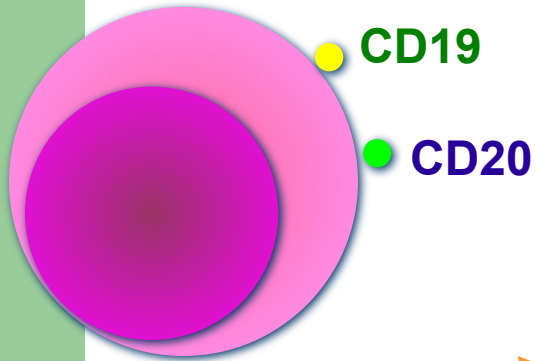
- **«Молодость» и быстрое развитие иммунологии – изменение диагностической значимости маркеров и «гуляющая» норма**
Нарушения в иммунной системе долгое время не сопровождаются субъективными ощущениями у больного - Позднее обращение к врачу
- **Первичный дефект в иммунной системе приводит к поли-органной патологии**
- **Иммунопатология проявляется через нарушение функции различных органов и систем – пациент попадает к «слабо-подготовленному» врачу-специалисту: отсюда загадочные диагнозы и неадекватная терапия**

Органы иммунной системы



Lymphocyte Subsets

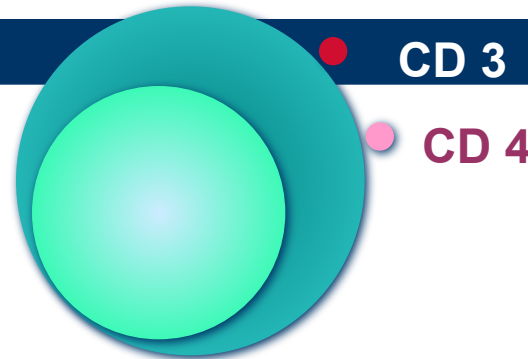
B LYMPHOCYTE



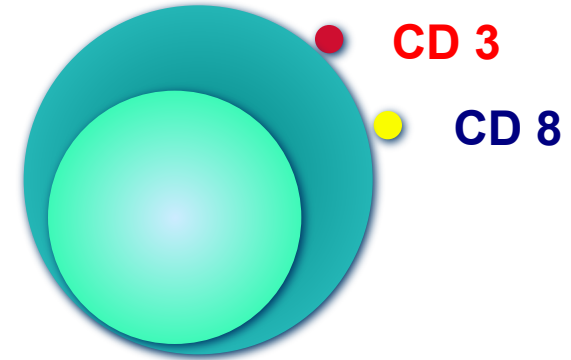
Secretes Antibodies

HUMORAL IMMUNITY

T LYMPHOCYTES



Helper Cells



Suppressor Cells

CELLULAR IMMUNITY



Динамика иммунного ответа

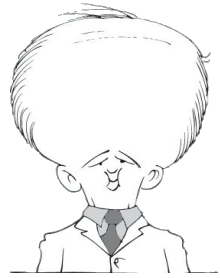
- *Представление антигена*
- *Индуктивная фаза*
- *Эффекторная стадия*





Динамика иммунного ответа

- **Представление антигена** - антиген захватывается макрофагами и переваривается
- **Макрофаг** активизируется и выделяет ИЛ-1, который стимулирует Т-хелперы



Динамика иммунного ответа

Т-хелперы, получив 2 сигнала от макрофагов выделяют **ИЛ-2**, который стимулирует пролиферацию Т-и В-лимфоцитов



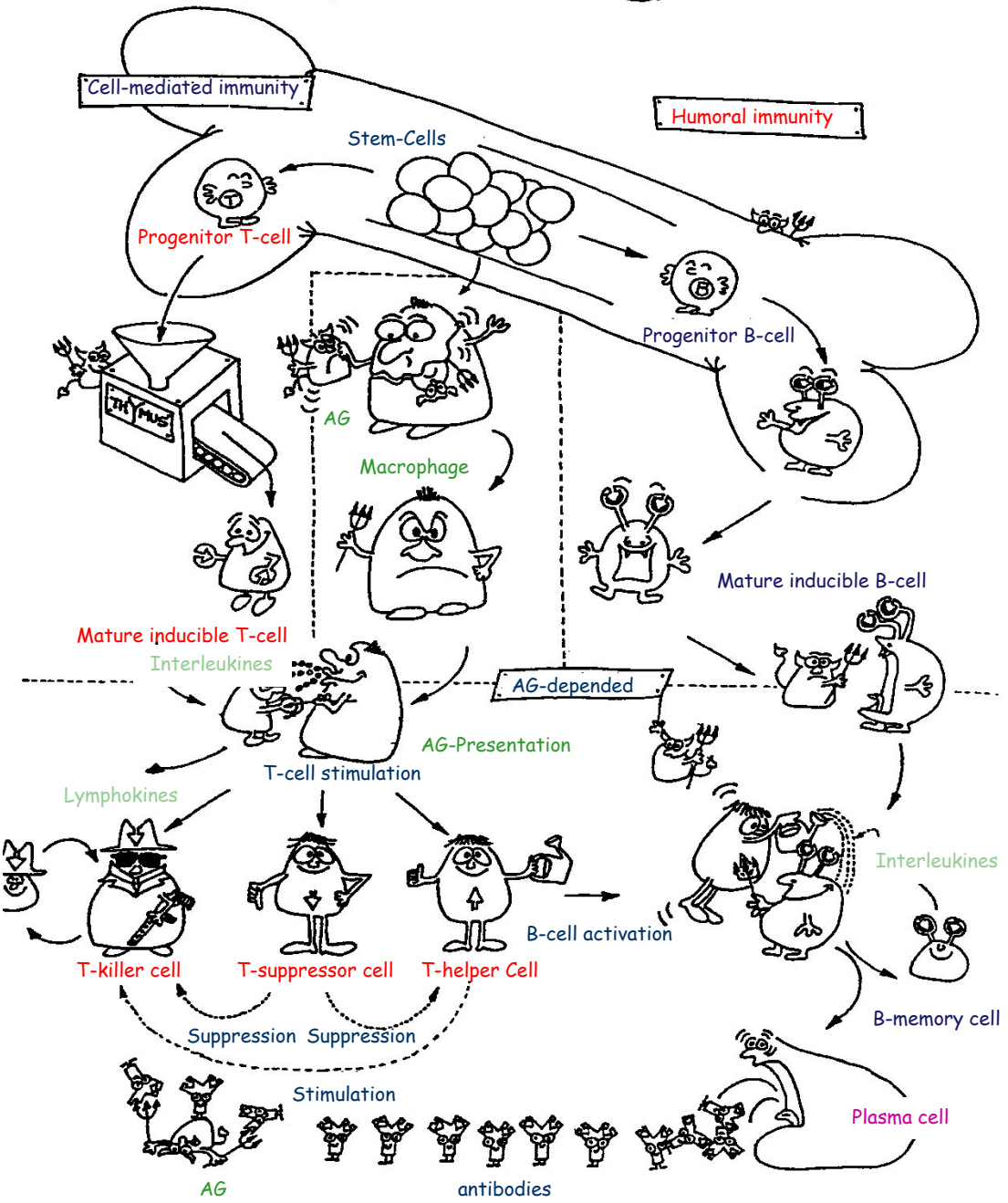
Динамика иммунного ответа

- **В-лимфоциты** превращаются в плазматические клетки, которые синтезируют антитела
- **Т-хелперы** стимулируют Т-супрессоры, которые тормозят иммунный ответ
- Образуются клетки **иммунологической памяти**

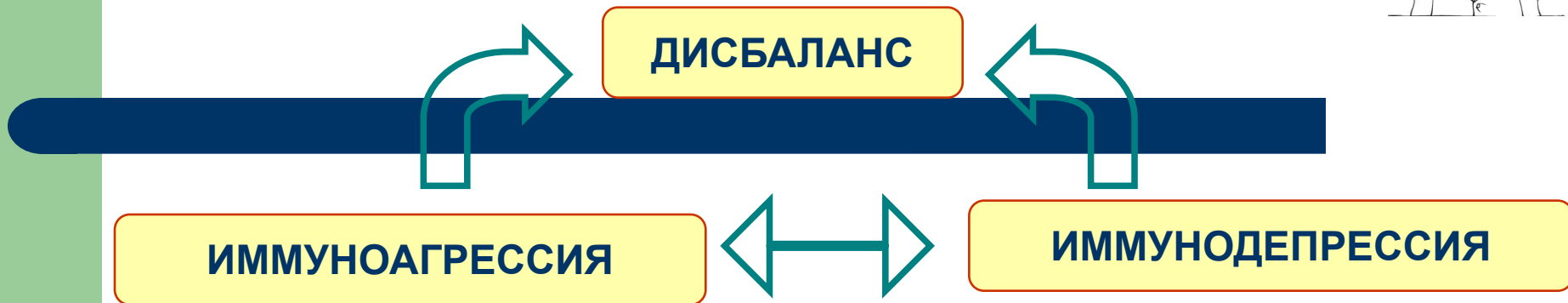
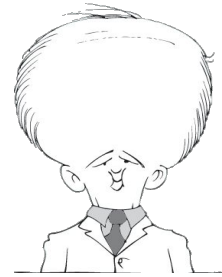
Immune System



Иммунная система



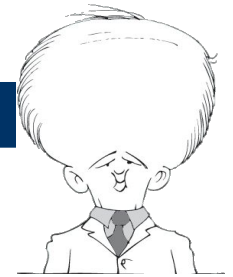
Виды иммунопатологий



-
- Аллергия (ГНТ)
 - Аутоиммунные заболевания (АИЗ)
 - Лимфопролиферативные заболевания (ЛПЗ)
-

-
- Первичные ИД
 - Вторичные ИД
 - Иммунокомпроментированные состояния
-

Иммунодиагностика и иммунотерапия. «простая» логика



ПАЦИЕНТ

КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА

ИММУНОПАТОЛОГИЯ?

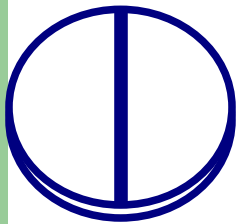
ИММУНОДИАГНОСТИКА

подтверждающий диагноз

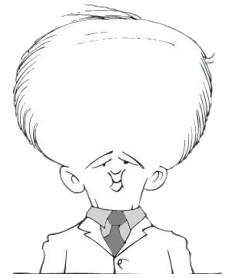
ИММУНОСТИМУЛЯТОР

ИММУНОДИАГНОСТИКА

контроль лечения



Аллергия



- **Специфическая повышенная чувствительность к антигенам (аллергенам) в результате неадекватной реакции иммунной системы**
- **Гиперчувствительность, обусловленная иммунными механизмами**

Распространенность аллергических заболеваний



Западная Европа 25 - 30%

**Отдельные экологически
неблагоприятные регионы 50 - 60%**

Промышленные районы России 15 - 35%

**Заболеваемость среди детей
в крупных промышленных городах 10 - 40%**

Распространенность аллергических заболеваний

Аллергические риниты **10 - 15%**

Атопический дерматит **10%**

Аллергическая крапивница **10%**

Аллергическая астма **5 - 10%**

Аллергия на пищевые продукты **2%**

Распространённость аллергических заболеваний в России

- **Частота аллергических заболеваний в России составляет от 10 до 30%**
- **Более 14% населения страдают сезонным аллергическим ринитом**
- **У 10-20% населения в течение жизни встречается 1 случай крапивницы**
- **Среди многообразия форм крапивницы, идиопатическая составляет 80-95%**

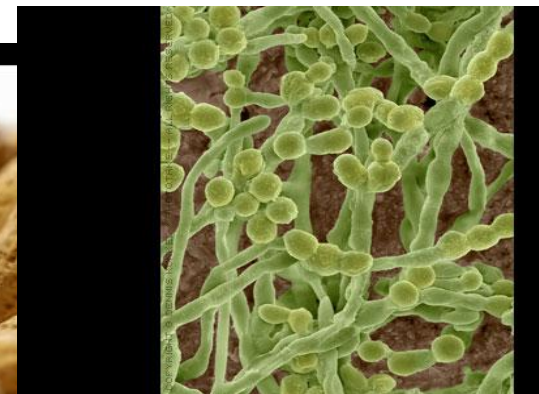
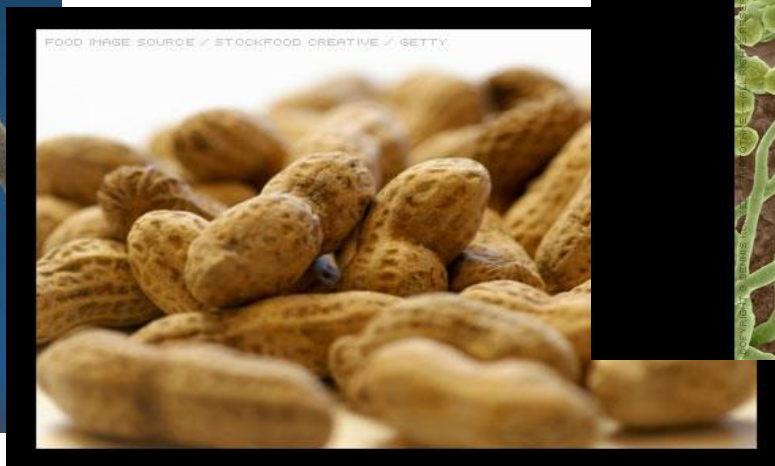


Структура аллергических заболеваний

- На 1-ом месте **аллергический ринит**; при отсутствии адекватного лечения трансформируется в БА
- **Бронхиальная астма**
- **Аллергические дерматиты (АД)**
- Среди АД на 1-ом месте **крапивница**, причём до 80% составляет идиопатическая, т.е. неуточнённой этиологии



Аллергены — вещества, вызывающие аллергические заболевания



Реакции гиперчувствительности (по Gell P., Coombs R. 1969)

Название	АГ-распознающая структура	Эффекторный механизм
Тип I - гиперчувствительность немедленного типа	IgE-антитела	Выброс активных субстанций тучными клетками
Тип II - Цитотоксическая реакция	Антитела IgG1, IgG3	Комплементзависимый цитоллиз
Тип III - Иммунокомплексная реакция	Антитела IgG	Реакция на отложение иммунных комплексов
Тип IV - гиперчувствительность замедленного типа	T-клеточный рецептор	Клеточно- опосредованная реакция (эффекторы - макрофаги)

Реакции гиперчувствительности

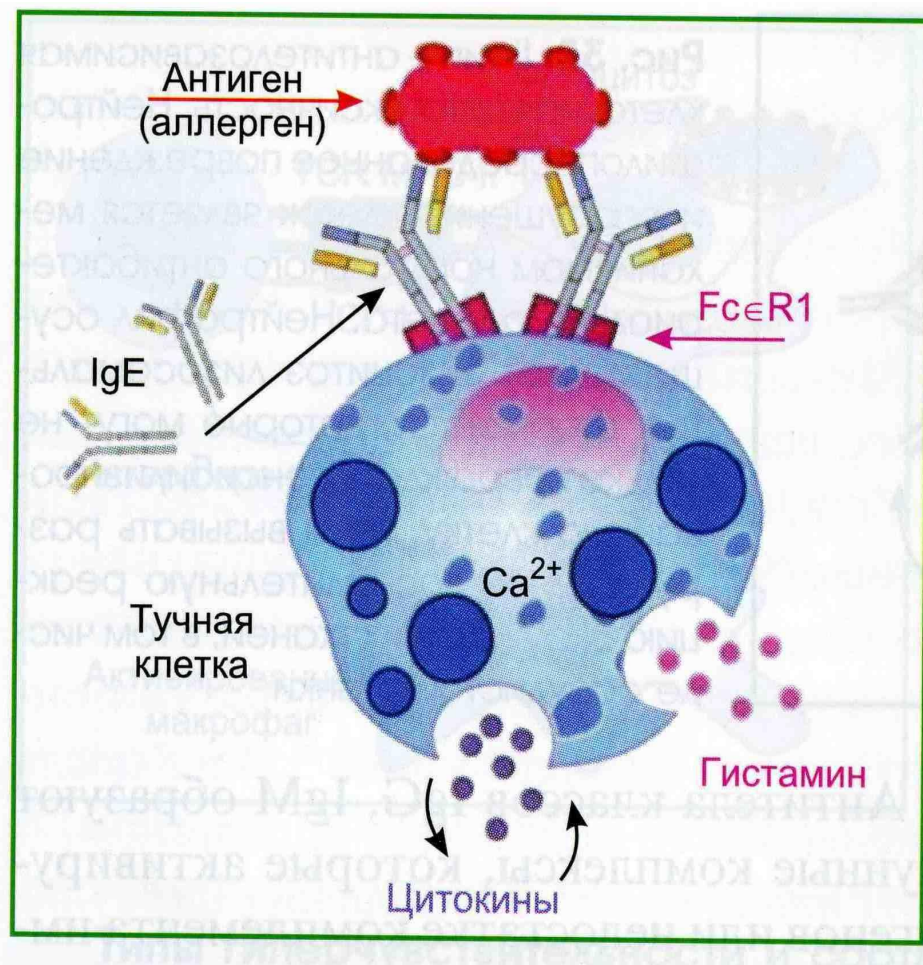
Название	Время развития реакции	Клинические проявления
Тип I - гиперчувствительность немедленного типа	От неск. секунд до 6-12 часов	АШ, приступ БА, ринит, отёк Квинке
Тип IV - гиперчувствительность замедленного типа	Через 24-72 часа	Контактные дерматиты, феномен Артюса



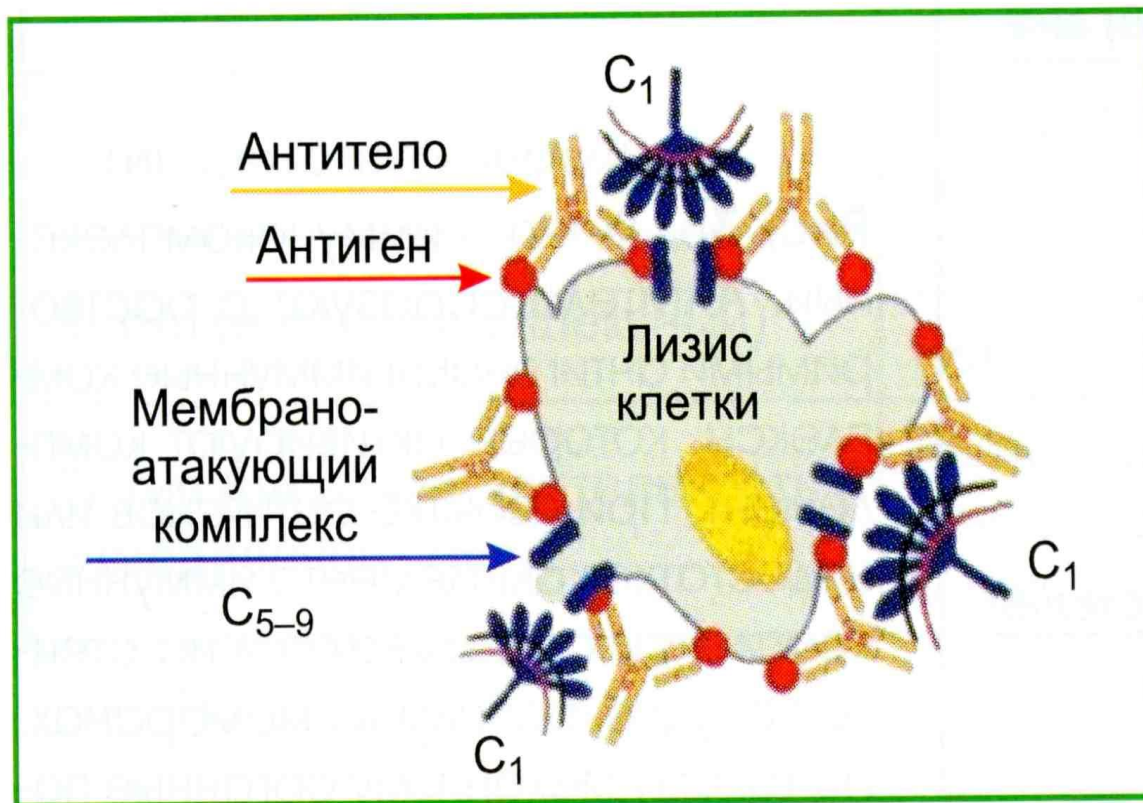
Реакции гиперчувствительности по А.Д. Адо

Название	Время развития реакции	Клинические проявления
Мгновенные	Неск. минут до 1 часа	АШ, крапивница, бронхоспазм
Реакции подострого типа	В течение суток	Различные высыпания, лихорадка
Осложнения затяжного типа	В течение нескольких суток	Контактный дерматит, сывороточная болезнь

I тип – немедленного типа

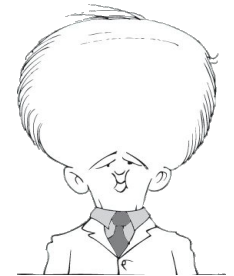
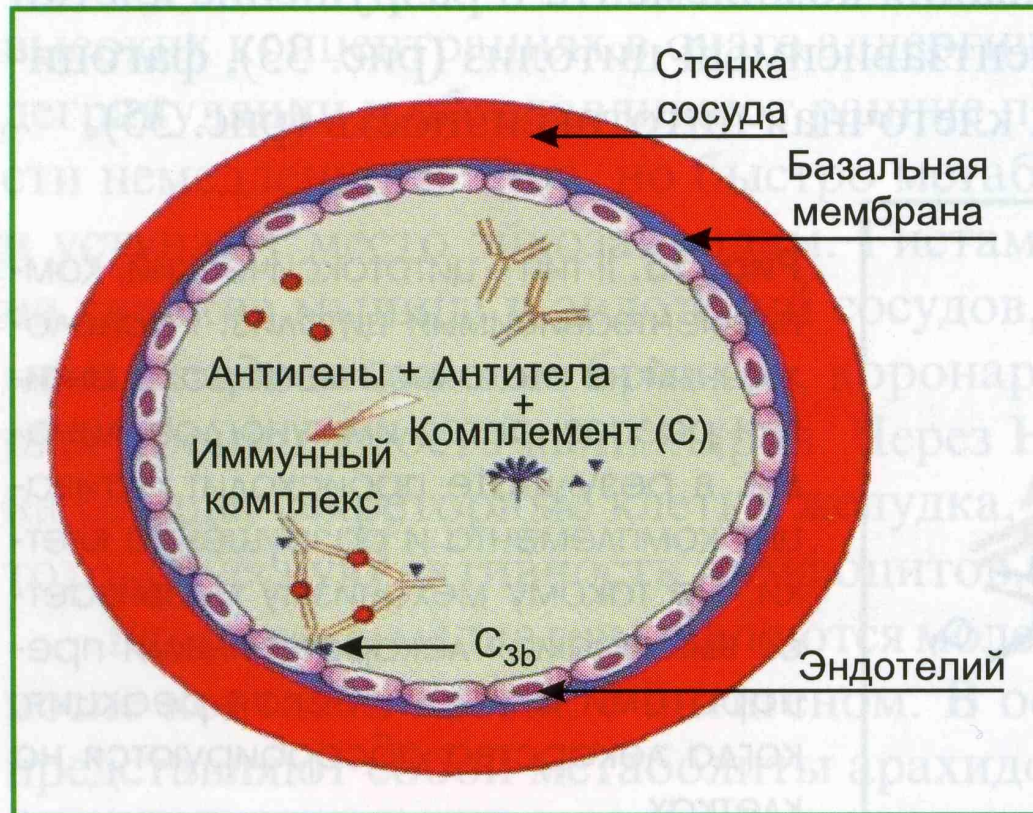


II тип – цитотоксический (комплемент-зависимый цитолиз)

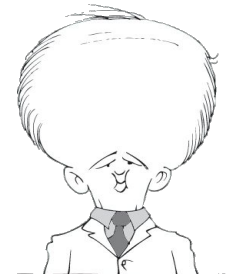
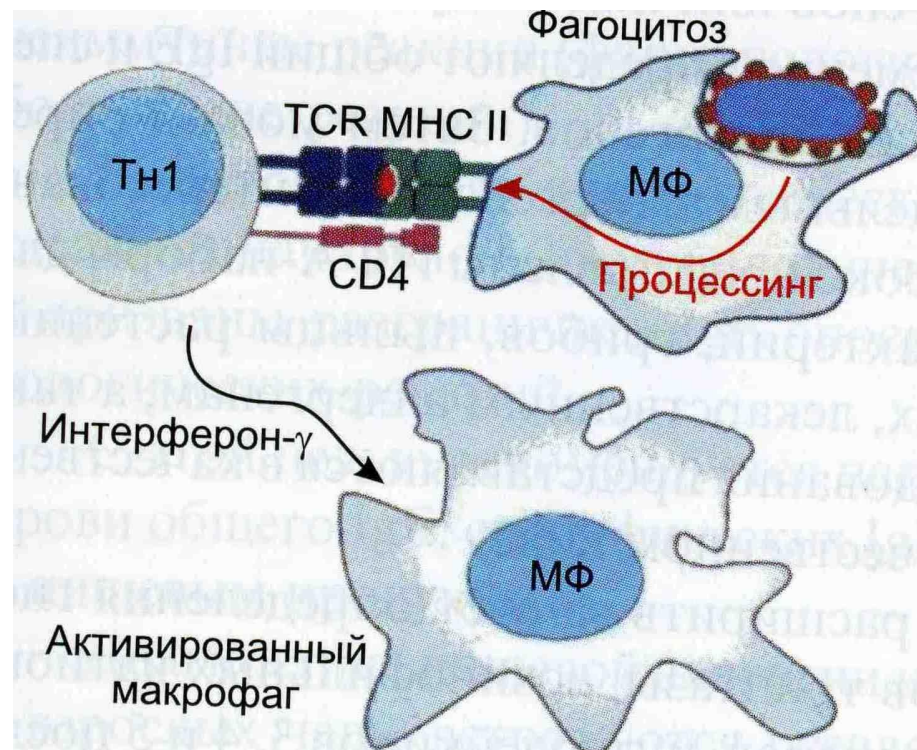


III тип – иммунокомплексный

с участием коплемент

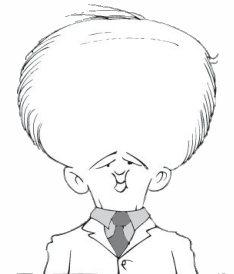
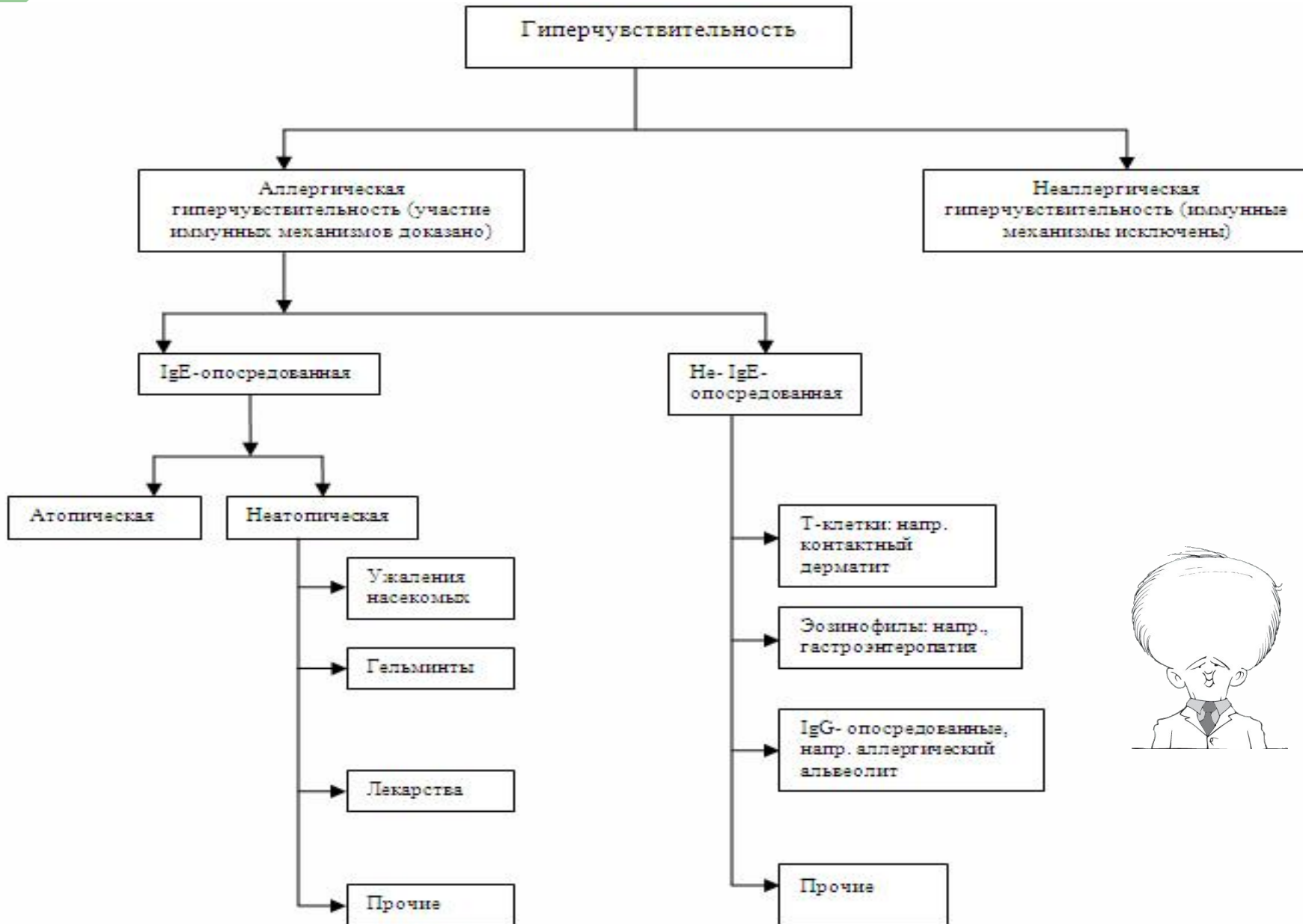


IV тип – гиперчувствительность замедленного типа (>12 часов)

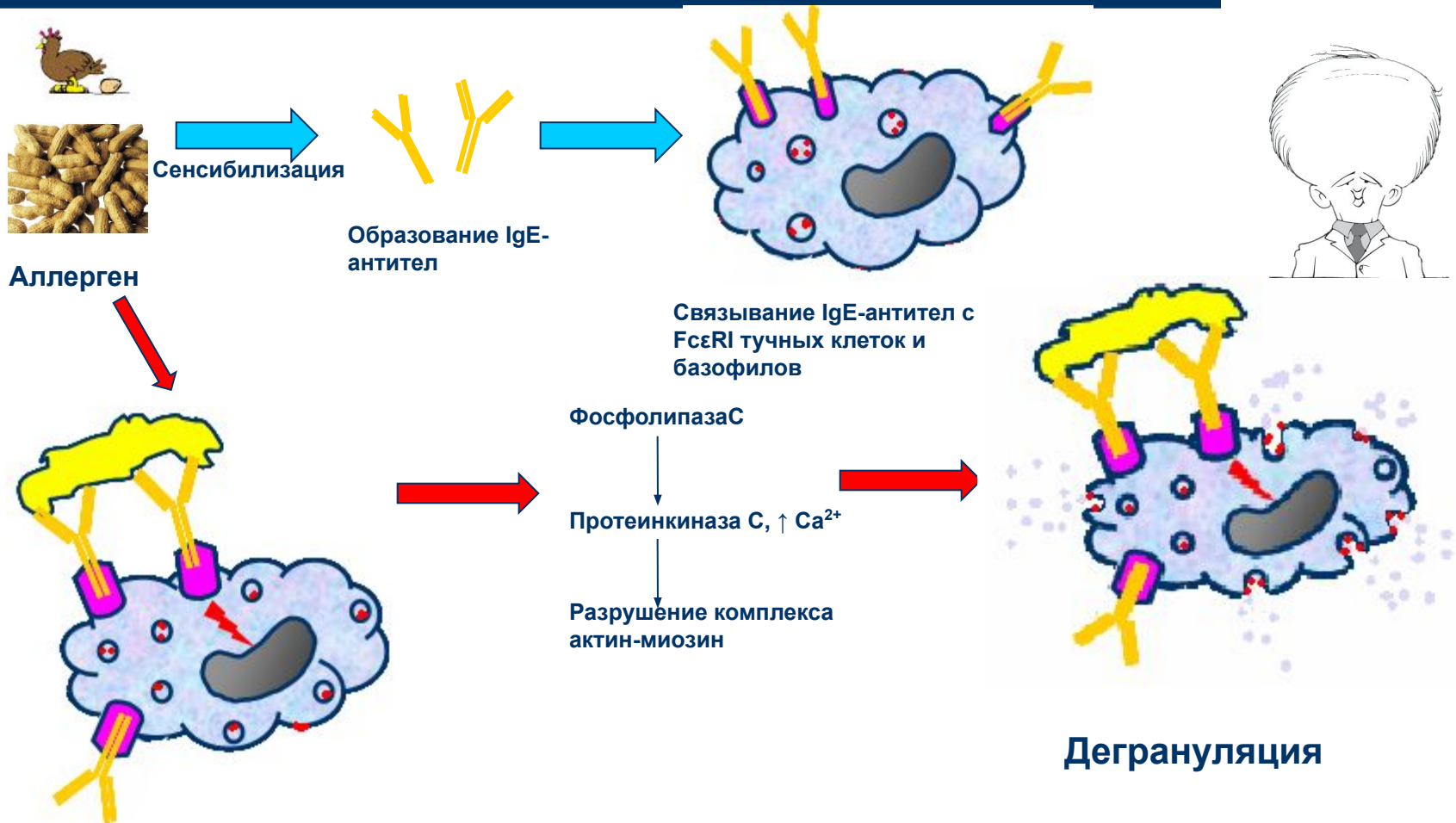


Классификация гиперчувствительности

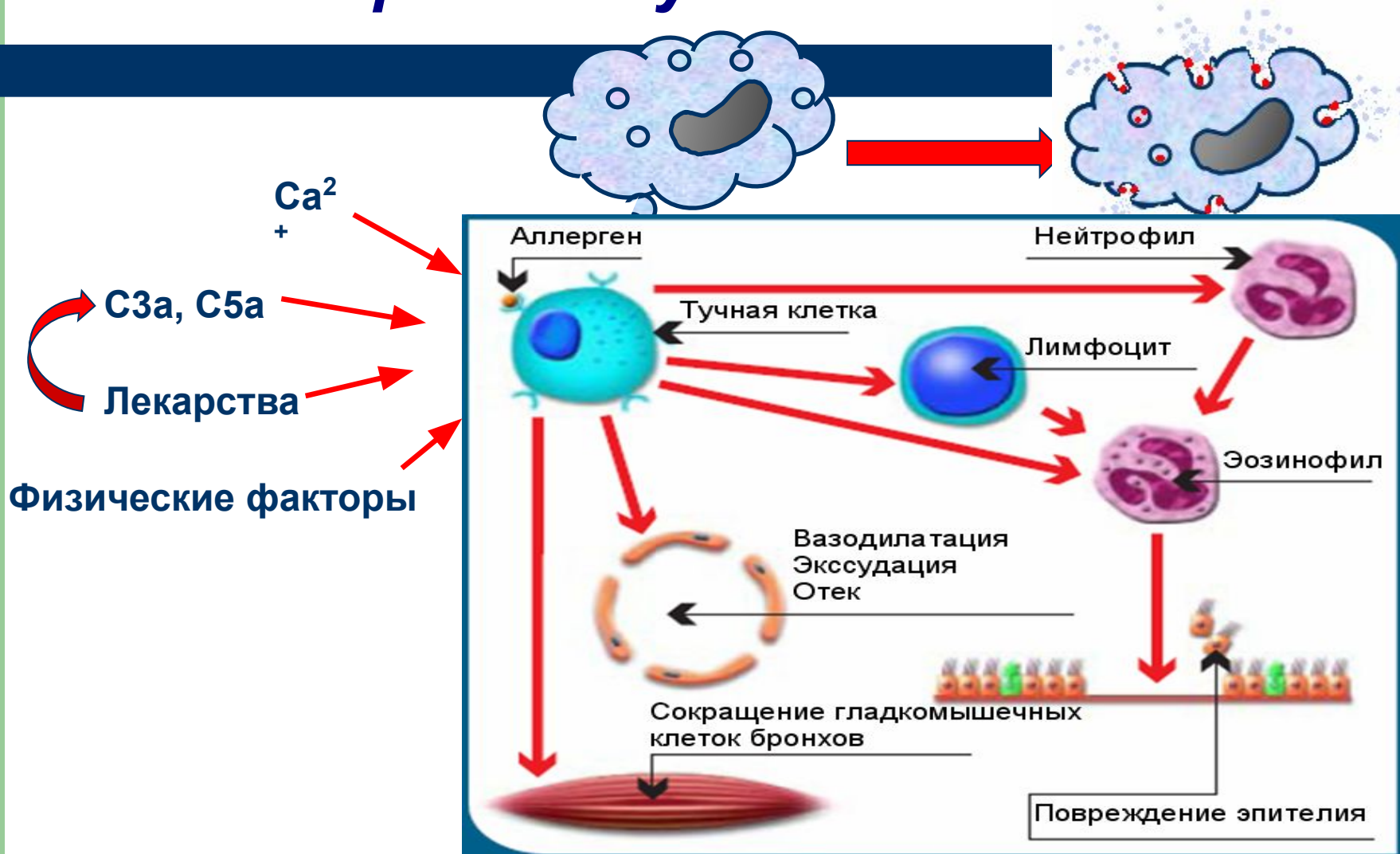
по определению Комиссии номенклатурного комитета EAACI 2001 г

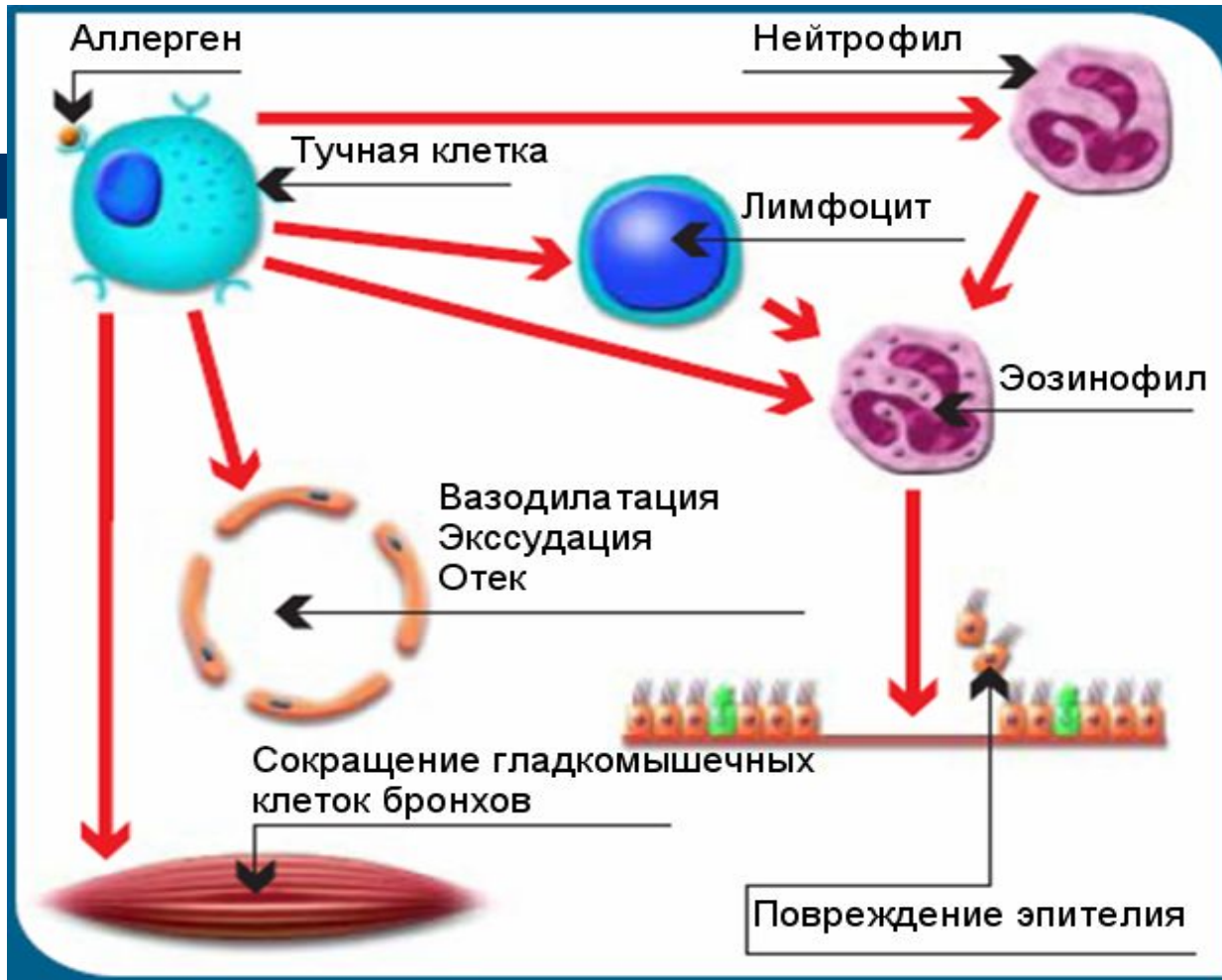


Специфическая дегрануляция базофила/тучной клетки



Неспецифическая дегрануляция базофилов/тучных клеток



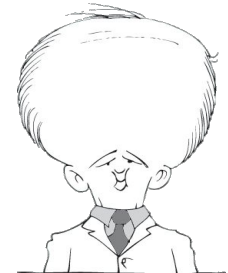


Продукты, выделяемые базофилами/тучными клетками при дегрануляции

Немедленно: гистамин, серотонины,
гепарин, хондроитинсульфат, фактор
активации тромбоцитов

В течение 10-45 минут: лейкотриены,
простагландин D2, тромбоксан A2

В течение 2-12 часов: ИЛ3, 4, 5, 6, 13, ГМ-
КСФ, хемокины



Клинические проявления аллергии

РЕСПИРАТОРНАЯ (ДЫХАТЕЛЬНАЯ) АЛЛЕРГИЯ

КОЖНЫЕ ПРОЯВЛЕНИЯ АЛЛЕРГИИ - АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ ДЕРМАТОЗЫ

АЛЛЕРГИЯ К ПИЩЕВЫМ ПРОДУКТАМ - ПИЩЕВАЯ АЛЛЕРГИЯ

АЛЛЕРГИЯ НА НАСЕКОМЫХ - ИНСЕКТНАЯ АЛЛЕРГИЯ

ЛЕКАРСТВЕННАЯ АЛЛЕРГИЯ

ИНФЕКЦИОННАЯ АЛЛЕРГИЯ

Восприятие пациента...





Классификация побочного действия лекарств (1959 г.)

- **Передозировка** – абсолютная при увеличении дозы; относительная – при нарушении функции печени, почек; кумуляционная
- **Непереносимость** – нежелательные побочные эффекты препарата, усиленные у данного больного
- **Идиосинкразия** – не отождествлять с аллергией – необычные реакции на впервые в жизни вводимые препараты, бывает при ферментопатиях
- **Аллергические реакции, в которых лекарство выполняет роль аллергена** — лекарственная аллергия



Современная классификация побочного действия лекарств

1. **Токсические реакции**

- **Передозировка**
- **Токсические реакции от терапевтических доз, связанные с замедлением метаболизма лекарств**
- **Токсические реакции в связи с функциональной недостаточностью печени, почек**
- **Отдаленные токсические эффекты (тератогенность, канцерогенность)**

2. **Суперинфекции и дисбактериозы**

3. **Реакции, связанные с массивным бактериолизом под действием лекарства (реакция Яриша-Герсгей-мера и др.)**

4. **Реакции, обусловленные особой чувствительностью субпопуляции**

- **Необычные реакции, отличные от фармакологических, обусловленные, вероятно, энзимопатиями**

5. **Псевдоаллергические реакции**

6. **Аллергические реакции**

7. **Психогенные реакции**

8. **Лекарственные эмболии**

Лекарственная аллергия (ЛА)

- Это **специфическая иммунная реакция на лекарственные препараты**, сопровождающаяся общими или местными клиническими проявлениями
- ЛА развивается только при **повторном введении препарата**
- На **впервые в жизни вводимый препарат ЛА не развивается**



Факторы риска

- **рост потребления лекарственных препаратов населением;**
- **широкое распространение самолечения вследствие доступности лекарств (возможности приобретения их без рецептов);**
- **недостаточность или запаздывание медицинской информации о побочных действиях лекарственных средств;**
- **полипрагмазия и политерапия;**
- **загрязнение окружающей среды промышленными отходами;**
- **заболевания инфекционного, паразитарного, вирусного или другого характера, сами по себе не являющиеся аллергическими, но в силу особенностей патогенеза создающие возможность формирования сенсибилизации и выработки аллергических антител в ответ на самые различные аллергены, в том числе и лекарственные (в частности, часто возникают аллергические реакции на пенициллин у больных микозами стоп);**

Факторы риска

- **применение для лечения и откорма птицы, скота антибиотиков, витаминов и других препаратов, создающих возможность сенсibilизации населения за счет примесей, содержащихся в пищевых продуктах (мясо, молоко), полученных от этих животных;**
- **наследственная, генетически обусловленная предрасположенность;**
- **наличие других видов аллергии (бактериальной, пыльцевой, пищевой и др.);**
- **применение депо-препаратов (например, бициллин), продукты метаболизма которых могут усиливать аллергенное действие друг друга;**
- **физико-химическая структура, высокая сенсibilизирующая активность препарата.**

Особенности лекарственных осложнений аллергического характера

- **Не напоминают** фармакологического действия препарата
- **Возникают от минимальной дозы** вводимого препарата
- **Никогда не развиваются на впервые в жизни вводимый препарат**
- **Исключение составляет скрытая сенсibilизация к пенициллину.**
Остальными препаратами надо лечиться, чтобы развилась аллергическая реакция
- **Лекарственная аллергия всегда имеет объективные проявления** – кожный зуд, бронхоспазм, ринит и т. д.

Особенности лекарственных осложнений аллергического характера

- Аллергические реакции при последующем введении препарата не только повторяются, но и утяжеляются
- Аллергические реакции на лекарства не зависят от путей введения препарата
- В отличие от истинных аллергических реакций при псевдоаллергических отсутствуют антитела и иммунные Т-лимфоциты
- Течение лекарственной аллергии трудно предсказуемо и определяется как свойствами препарата, так и состоянием организма

Особенности лекарственных осложнений аллергического характера

- *При аллергической реакции начало **всегда с кожного зуда и высыпаний** и только позднее поднимается температура, воспаляются лимфоузлы и т.д.*
- *При инфекции наоборот – **начало с температуры**, затем сыпь*
- *Кожные высыпания легко переходят в пиодермию*
- *Хроническое течение*

Отличия аллергических реакций от псевдоаллергических

	<i>Аллергические</i>	<i>Псевдо-аллергические</i>
От дозы вводимого препарата	<i>Не</i> зависят	Зависят
Реакции на первое введение препарата	<i>Не</i> развиваются	Возникают
Повторное введение препарата	<i>Усиливаются</i>	<i>Не</i> всегда
Пути введения	<i>Не</i> зависят	Зависят

Отличия аллергических реакций от псевдоаллергических

	<i>Аллергические</i>	<i>Псевдо-аллергические</i>
Количество вводимых препаратов	1-2	На все группы препаратов
Клинические проявления	60-80% крапивница	30% крапивница, вегето-сосудистые проявления
Аллергоанамнез	Отягощён	Не отягощён
Сопутствующие заболевания	Атопические болезни	Заболевания ж-к-тр., печени, почек, нарушение обмена веществ

Отличия аллергических реакций от псевдоаллергических

	<i>Аллергические</i>	<i>Псевдо-аллергические</i>
Реакция на плацебо	<i>Не</i> возникают	Возникают
Эозинофилия	<i>часто</i>	<i>нет</i>
Уровень IgE	<i>повышен</i>	<i>В норме</i>
АД	<i>понижено</i>	<i>повышено</i>

Диагностическими критериями ЛА служат следующие признаки

- **Установление связи клинических проявлений с приемом лекарства**
- **Смягчение или исчезновение симптомов после отмены**
- **Отягощенный по аллергии личный и семейный анамнез**
- **Хорошая переносимость препарата в прошлом**

Диагностическими критериями ЛА служат следующие признаки

- **Исключение других видов побочного действия (токсического, фармакологического, и пр.)**
- **Наличие латентного периода сенсibilизации — не менее 7 дней**
- **Сходство клинических симптомов с проявлениями аллергии, но не с другим эффектом**
- **Положительные аллергологические и иммунологические тесты**

Лекарственная аллергия

1. Антибиотики

- Пенициллин
- Бициллин
- Стрептомицин

2. П/столбнячная сыворотка (часто у атопиков с эпидермальной сенсibilизацией)

3. Ароматические амины

- Сульфаниламиды
- Новокаин
- Дикаин
- Гипотиазид
- Аминазин

4. Аспирин и препараты пиразолонового ряда

- Баралгин

5. Витамины (группы В)

6. Гормоны (инсулин, АКТГ)

7. Препараты йода





Лекарственная аллергия

- **Общие детерминанты** имеются у **пенициллина и цефалоспоринов**
- **Новокаин, сульфаниламиды и ПАСК** — также имеют близкие антигенные свойства
- **Йод и все препараты его содержащие** (раствор Люголя, йодконтрастные препараты)
- **Пиразолоновые препараты, ацетилсалициловая кислота и фенилпропионаты** (бруфен)
- **Левомецетин и синтомицин**, особенно при его местном применении
- **Кокарбоксилаза и витамин В1**
- **Супрастин и эуфиллин**
- **Аминазин и пипольфен**
- **Стрептомицин и аминогликозиды** (гентамицин, мономицин, канамицин)



***Анафилактический шок —
тяжелое, угрожающее жизни
патологическое состояние,
развивающееся при контакте с
некоторыми антигенами-аллергенами
у сенсibilизированного человека***

Анафилактический шок - острая тяжелая системная угрожающая жизни реакция гиперчувствительности, сопровождающаяся выраженными нарушениями гемодинамики (согласно международным рекомендациям (WAO): **снижение систолического артериального давления ниже 90 мм рт. ст. или на 30% от исходного уровня**), приводящими к недостаточности кровообращения и гипоксии во всех жизненно важных органах

Код МКБ-10: T78.0 Анафилактический шок, вызванный патологической реакцией на пищу;

T78.2 - Анафилактический шок, неуточненный;

T80.5 - Анафилактический шок, связанный с введением сыворотки;

T88.6 - Анафилактический шок, обусловленный патологической реакцией на адекватно назначенное и правильно примененное лекарственное средство





Анафилактический шок вид

аллергической реакции немедленного типа, возникающей при повторном введении в организм аллергена

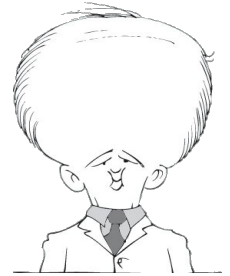
Анафилактический шок характеризуется быстро развивающимися преимущественно общими проявлениями: снижением АД, температуры тела, свертываемости крови, расстройством ЦНС, повышением проницаемости сосудов и спазмом гладкомышечных органов

Причины анафилактического шока(АШ)

- **Лекарственная аллергия**
- **Аллергия к ужалению насекомых**
- **Пищевые аллергены**
- **Холодовой АШ**
- **При лечении аллергенами**



Группы риска



- **Наличие наследственной предрасположенности**
- **Аллергическая конституция у больного**
- **Хронические очаги инфекции**
- **Полиппрагмазия, эффект суммации лекарств**

Патогенез АШ

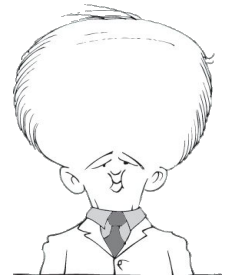
3 стадии

- ***Иммунологическая***
- ***Патохимическая***
- ***Патофизиологическая***



Варианты течения анафилактического шока

- **Типичный**
- **Гемодинамический**
- **Абдоминальный**
- **Церебральный**
- **Асфиктический**



Причины смерти от АШ

- *Смерть на высоте коллапса*
 - *Смерть от асфиксии*
 - *Смерть от отёка мозга*



Лекарственная аллергия - диагностика

- **Сбор аллергологического анамнеза**
- **Кожные тесты**
- **Провокационные тесты**
- **ТТЕМЛ по А.Д. Адо**
- **Лабораторные методы**



К кожным пробам надо относиться критически

- **Многие лекарства обладают местораздражающим действием и дают на коже ложноположительные реакции**
- **Кожные пробы, поставленные пациенту, сенсibilизированному к данному препарату, могут спровоцировать анафилактический шок. Поэтому кожные пробы потенциально опасны**
- **Помнить, что аллергия формируется в процессе лечения, а пробу мы ставим до начала лечения и она может быть отрицательной. Поэтому отрицательная кожная проба не исключает вероятность ЛА**

К кожным пробам надо относиться критически

- **Если больной ранее не получал данное лекарство, то и кожные пробы с ним проводить не надо**
- **Кожные пробы совпадают только у 30% пациентов и то у аллергиков**
- **У детей раннего возраста, иногда у пожилых людей при ЛА - кожные пробы отрицательны**



В настоящее время разрешённым тестом для диагностики ЛА является *тест торможения естественной миграции лейкоцитов по А.Д. Адо.*

Это прямой *провокационный* тест – при поступлении в организм аллергена происходит *торможение* миграции лейкоцитов

Противопоказания для ТТЕМЛ по А. Д.Адо

- **Наличие острых заболеваний**
- **Заболевания полости рта (кариес, пародонтоз) – результаты могут быть ложноположительными**
- **Постоянный длительный приём стероидов**
- **Отсутствие зубов**
- **У маленьких детей, которые не могут выполнить требования врача**
- **Пробы не ставятся с пролонгированными препаратами**

Диагностика гиперчувствительности немедленного типа

Стадия	Диагностика
<ul style="list-style-type: none">• Иммунологическая - образование IgE-антител к аллергену и их фиксация на тучных клетках и базофилах	Специфический IgE в сыворотке Общий IgE в сыворотке Специфический IgG4
<ul style="list-style-type: none">• Патохимическая – дегрануляция тучных клеток и базофилов	Исследование дегрануляции/активации базофилов
<ul style="list-style-type: none">• Патофизиологическая – клиническое проявление	Провокационные тесты Анамнез

Псевдоаллергия

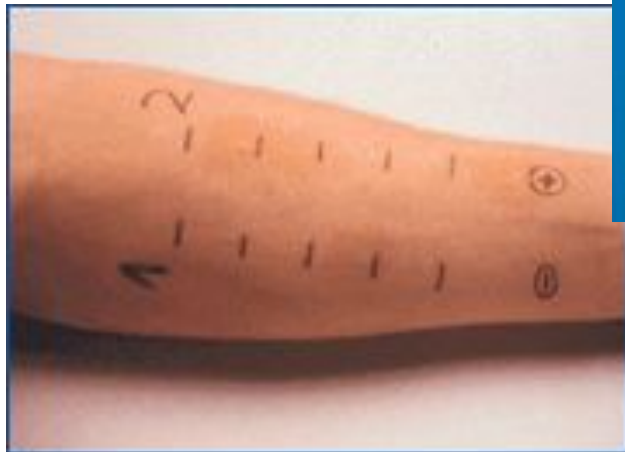
Кожное тестирование – основной метод специфической аллергодиагностики

Аллерген воздействует на клетки кожи

- *Prick (укольный) тест*
- *Скарификационные пробы*
- *Внутрикожные пробы*
- *Patch (аппликационный) тест*

Укольный тест – “золотой стандарт” аллергодиагностики

- Учёт реакции через 15 минут по отношению к (+) и (–) контролям.
- Самый специфичный из всех кожных тестов.



Внутрикожная проба



Аппликационный *patch*-тест

- **Для выявления аллергических реакций замедленного типа на контактные аллергены**
- **Учёт реакции через 48 и 72 часа**
- **Для диагностики пищевой аллергии при atopическом дерматите у детей**
 - **Положительная проба ассоциируется с поздней фазой клинической реакции, наблюдаемой при пищевом провокационном тесте**



Провокационные пробы

**Аллерген воздействует на клетки
шокового органа**

- **Конъюнктивальный тест**
- **Эндонозальный тест**
- **Ингаляционный тест**
- **Пищевой провокационный тест**



Назальный провокационный тест

- *Аллерген в виде пудры, с хорошей назальной абсорбционной способностью, стандартизован и дозы оттитрованы в AU*
- *Капсулы содержат порошок аллергена в 2-х дозировках и плацебо, пригодны для распыления с помощью ингалятора*



Пищевой провокационный тест



- **Тест двойного- слепого плацебо контролируемого провокационного исследования - "золотой стандарт" диагностики пищевой аллергии**
- **Желатиновые капсулы содержат 10-кратно увеличивающиеся дозы высушенного пищевого продукта и плацебо**

Профилактика АШ



- Избегать полипрагмазии
- Назначение ЛС строго по показаниям
- **Наблюдение за пациентом** в течение не менее 30 минут после введения ЛС
- Просветительская работа среди пациентов об опасности самолечения

Чего нельзя делать

- Нельзя назначать лекарственное средство, ставшее причиной развития анафилактического шока, комбинированные средства, его содержащие, перекрестно-реагирующие препараты
- Нельзя употреблять пищевой продукт, вызвавший развитие АШ
- Нельзя использовать лекарственные средства, содержащие пыльцу растений у больных с подтвержденной сенсibilизацией к пыльцевым аллергенам
- Нельзя начинать лечение АШ с введения антигистаминных препаратов

Лабораторные методы диагностики



Алгоритм аллергодиагностики



Лабораторные методы

1. *Определение IgE и Ig G антител*
2. *Определение катионного белка эозинофилов (ЕСР)*
3. *Клеточные тесты*

Преимущества использования тестов *in vitro*

- Нет противопоказаний к обследованию
- Не вызывают дополнительной сенсibilизации, **нет риска анафилактических реакций**
- Нет возрастных ограничений, возможно проводить в самом **раннем возрасте**
- Большое число тестируемых аллергенов, выявление поливалентной сенсibilизации
- Использование сыворотки для исследования в любой лаборатории (**тесты на расстоянии**)

Показания к определению общего IgE

- **Первичная диагностика атопии**
- **Первичная и вторичная профилактика аллергии**
- **При первичных иммунодефицитных состояниях**
- **При IgE-миеломе**
- **Вспомогательный метод диагностики гельминтозов**

Показания к определению специфического IgE

- **Уточнение причинно-значимого аллергена во всех случаях, особенно при сомнительных результатах кожного тестирования**
- **Дифференциальная диагностика аллергических и неаллергических (псевдоаллергических) заболеваний**
- **Выявление *скрытой (субклинической) сенсibilизации* – обнаружение высоких уровней специфических IgE-антител при отсутствии клинических проявлений свидетельствует о повышенном риске возникновения аллергических реакций на данные аллергены**

Показания к определению специфического IgE

- **Мониторинг концентрации IgE при проведении специфической иммунотерапии**
- **Затруднение или невозможность проведения тестов *in vivo*:**
 - **ранний детский возраст**
 - **пациенты с высокой степенью сенсibilизации**
 - **обострение основного заболевания**
 - **декомпенсированные состояния болезней сердца, печени, почек и системы крови**

Показания к определению специфического IgE

- период после острой аллергической реакции**
- невозможность отмены антигистаминных, гормональных и других препаратов**
- измененная реактивность кожи**
- исследование с большим количеством аллергенов одновременно**

Ложноположительные результаты

- **Ложноположительные результаты могут быть из-за перекрёстного реагирования аллергенов**

Перекрестно-реагирующие аллергены

Аллергены	Перекрестно-реагирующие аллергены и продукты, содержащие их
Клещ <i>Dermatopagoides pteronyssimus</i>	Клещ <i>Dermatopagoides farinae</i> , амбарные и паразитирующие клещи, паутинные клещи (садовых и декоративных растений)
	Пыльца ольхи, орешника, бука, граба, каштана, ясеня
Пыльца березы	Свежие фрукты: яблоко, персик, вишня
	ндитерских изделиях)
	Овощи: морковь, петрушка, сельдерей, помидоры
Пыльца тополя	Пыльца ив, осины
Пыльца сорных трав	Дыня, арбуз, кабачки, баклажаны, подсолнечник (подсолнечное масло, семечки, халва, майонез), горчица, сырой картофель, мед и др. продукты пчеловодства
Пыльца злаковых трав	Изделия из ржаной и пшеничной муки, овса, кофе, какао
Пыльца трав семейства бобовых	Соевые бобы, горох, арахис
Пыльца полыни и амброзии	Пыльца амброзии и полыни, ромашки, подсолнечника, специи, морковь, сельдерей

Перекрестно-реагирующие аллергены

Пыльца полыни и амброзии	Пыльца амброзии и полыни, ромашки, подсолнечника, специи, морковь, сельдерей
Сельдерей	Морковь, арбуз, огурцы
Мука	Мука из ржи, овса, кукурузы, риса, отруби,
Овальбумин (аллерген куриного яйца)	Птичьи перья
Плесневые грибки	Пекарские, пивные и винные дрожжи (квашеные и ферментированные продукты, вина, сыр)
Пенициллин	Цефалоспорин, амоксициллин
Желатин	Модифицированный желатин (например, в плазмозаменителях)
Латекс	Фигус Бенджамена, экзотические фрукты (авокадо, бананы, папайя, киви)

Клеточные тесты

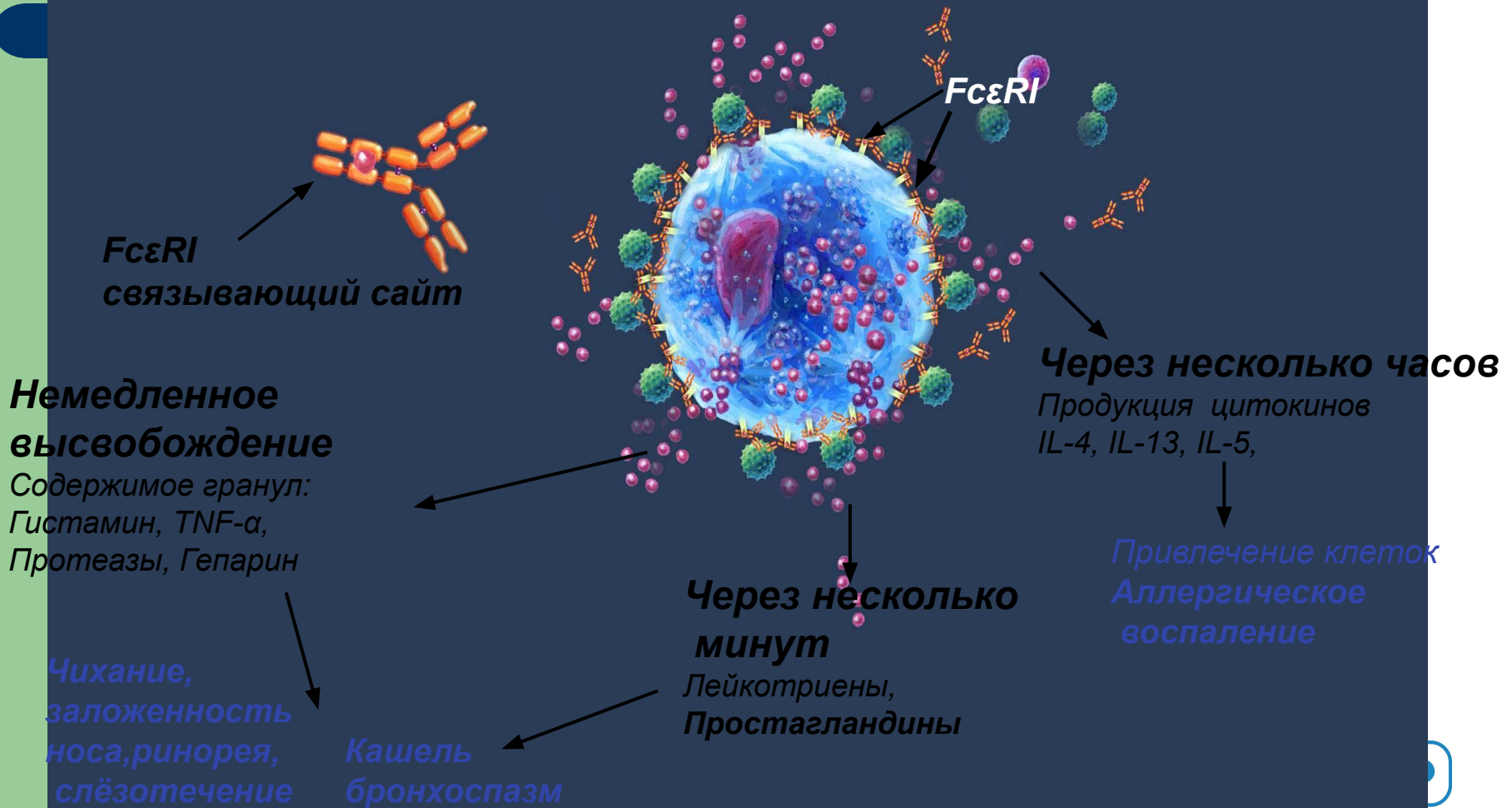
Тесты выявляют повышенную чувствительность клеток-мишеней к воздействию аллергена



IgE-зависимая дегрануляция и

ВН

МИ



Базофильные тесты

- **Реакция**

- дегрануляции**

- базофилов**

Визуальный подсчет процента дегранулированных клеток после инкубации с аллергеном относительно контроля по окраске толлуидиновым синим.

- **Базофил**
активирующий
тест

Цитометрическое определение процента дегранулированных клеток после инкубации их с аллергеном по экспрессии CD63 или CD203c.

- **Тесты**
высвобождения
медиаторов:
гистамина,
лейкотриенов

Количественное или процентное определение высвободившихся медиаторов из клеток после инкубации их с аллергеном.

CAST (Cellular Antigen Stimulation Test)

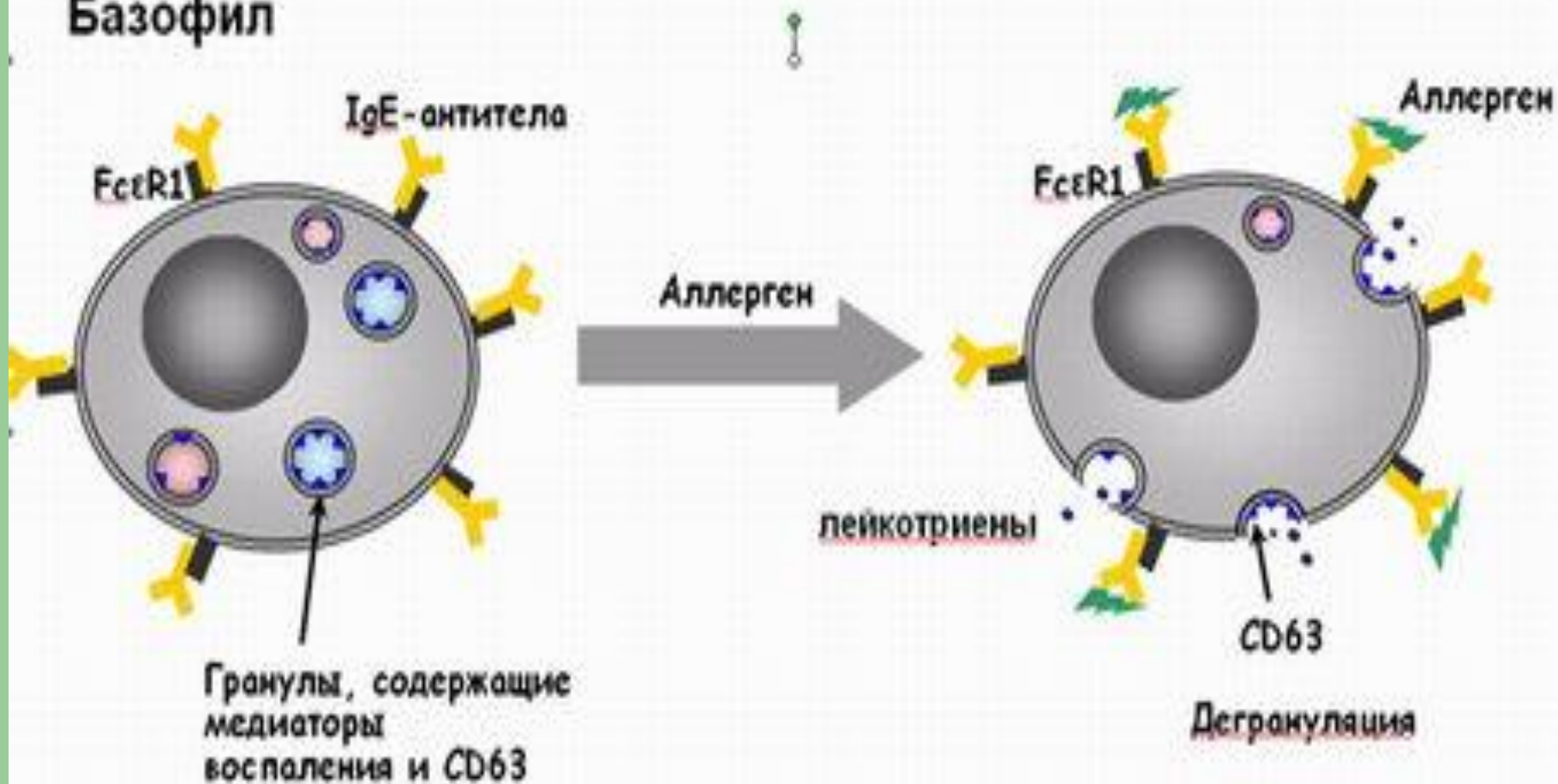
Технология CAST (Cellular Antigen Stimulation Test), метод антигенной стимуляции клеток) основана на определении **сульфидолейкотриенов** (LTC₄, LTD₄, LTE₄), секретируемых примированными IL-3 базофилами под действием аллергенов *in vitro*. Его также называют провокационным тестом *in vitro*. Метод патентован, авторы - проф. De Weck и д-р Sainte-Laudy. Благодаря синтезу сульфидо-лейкотриенов (sLT) *de novo* анализ CAST® обладает высочайшей специфичностью по сравнению с классическим тестом высвобождения гистамина

Протокол исследования включает три этапа: выделение популяции лимфоцитов из стабилизированной ЭДТА крови, стимуляция лимфоцитарной суспензии специфическими аллергенами и иммуноферментный анализ синтезированных базофилами во время стимуляции лейкотриенов

Тест высоко чувствителен и специфичен, особенно при **лекарственной гиперчувствительности**

активация базофила аллергеном

Базофил



Диагностика иммуноагрессий

АЛЛЕРГИЯ

- Специфические IgE
- Активация базофилов *in vitro*
- Медиаторы аллергии (Hs, ФЛА₂ – эйкозаноиды, др.)

АИЗ

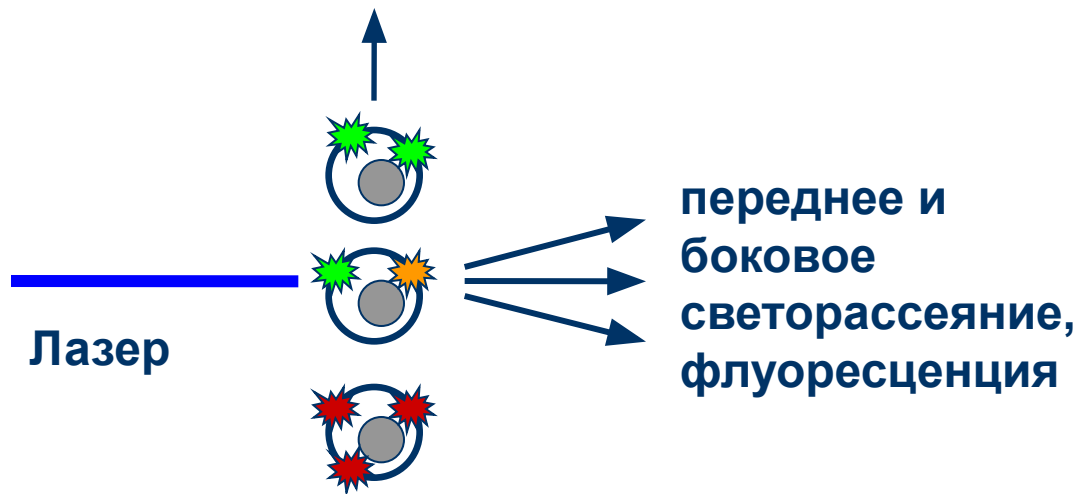
- Органоспецифические аутоантитела
- Органонеспецифические аутоантитела
- Маркеры иммунного воспаления (ЦИК, СРБ, др.)
- Факторы предрасположенности – HLA

ЛПЗ

- Количественно-морфологические характеристики
- Линейно-ассоциированные маркеры
- Дифференцировочные маркеры

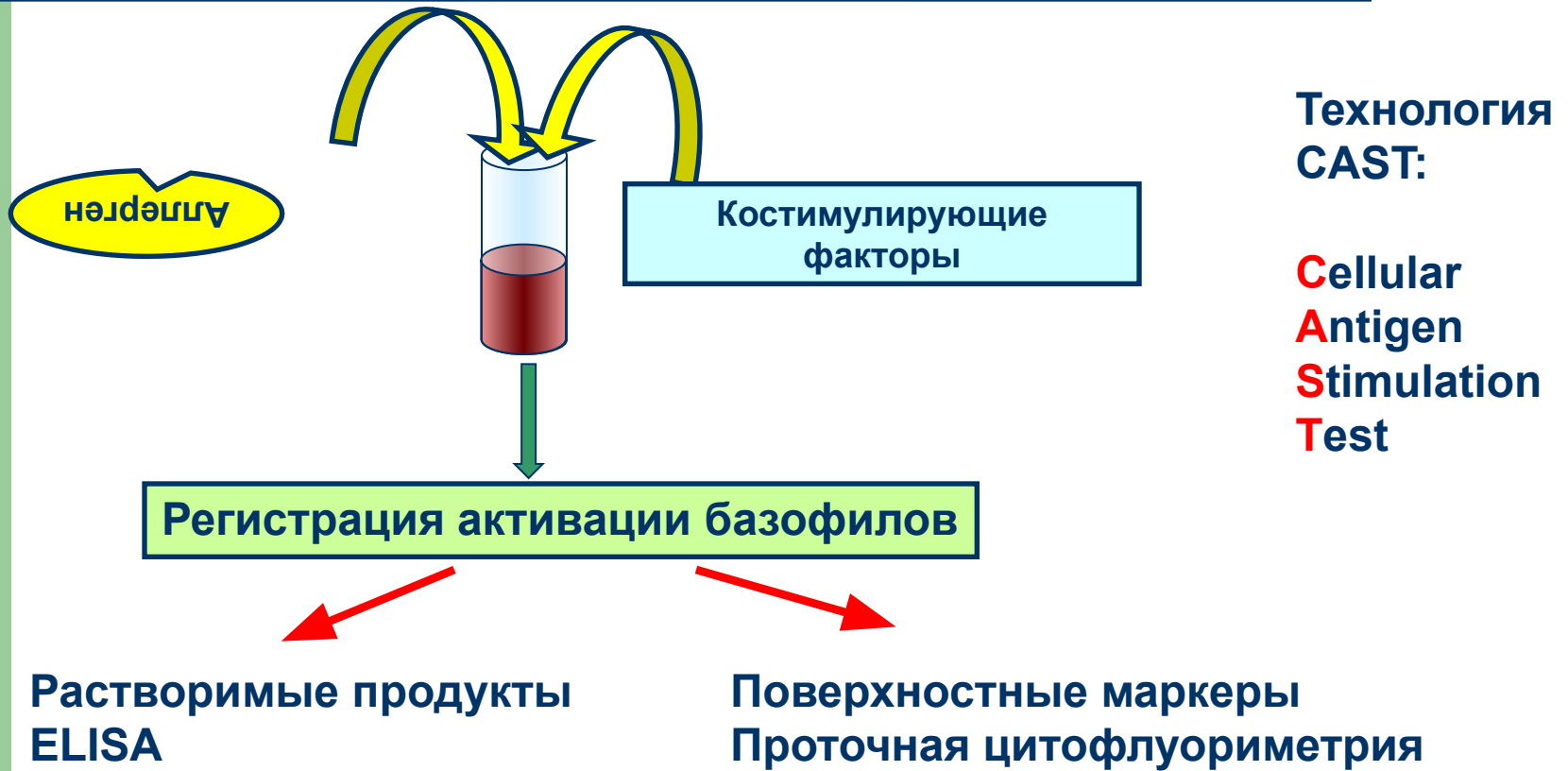
Проточная цитофлуориметрия

Исследование клеток или частиц в потоке по параметрам светорассеяния и флуоресценции



Исследование малых популяций клеток

Исследование активации базофилов



Тест активации базофилов
Исследование активации/дегрануляции базофилов
с помощью проточной цитофлуориметрии

Исследование маркеров активации/дегрануляции

↑ CD45, CD11b, CD11c, **CD63, CD203c**, CD13, CD164, CD107a

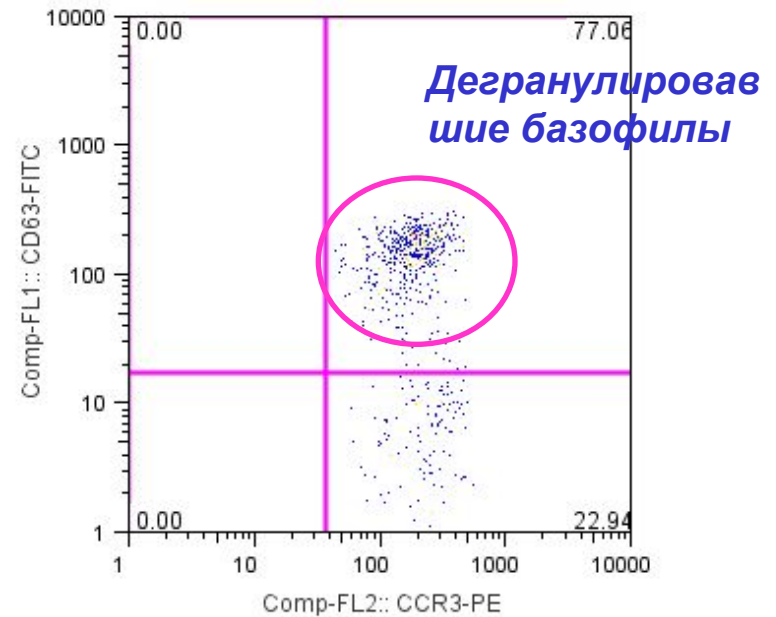
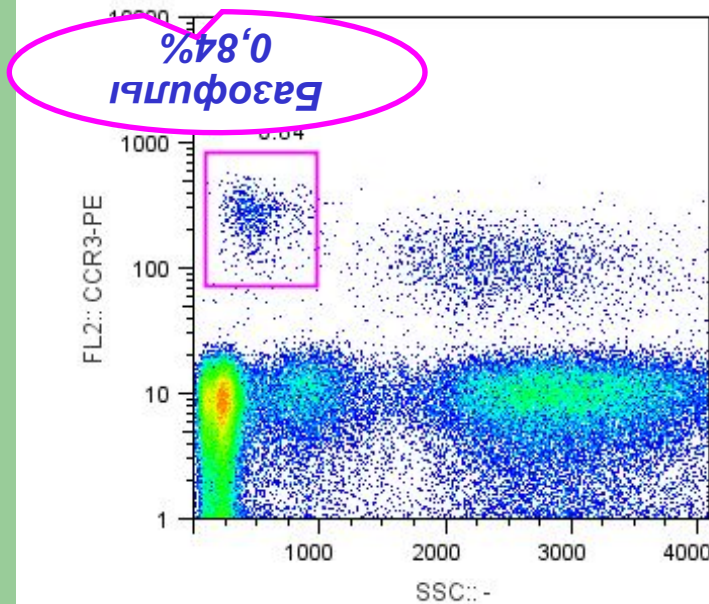
CD63 – классический маркер дегрануляции

CD203c – специфический маркер активации
базофилов



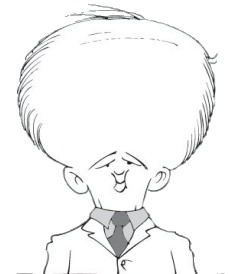
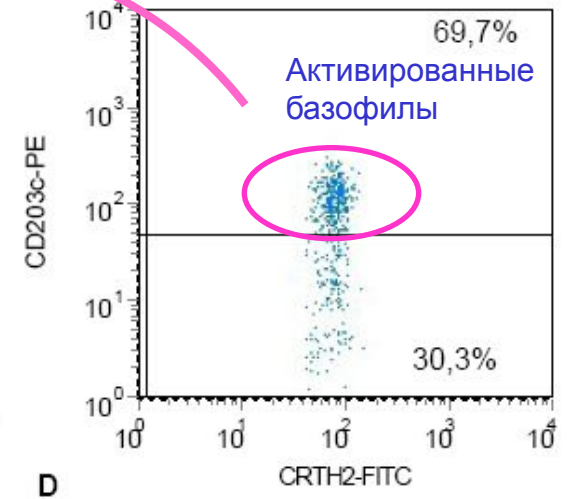
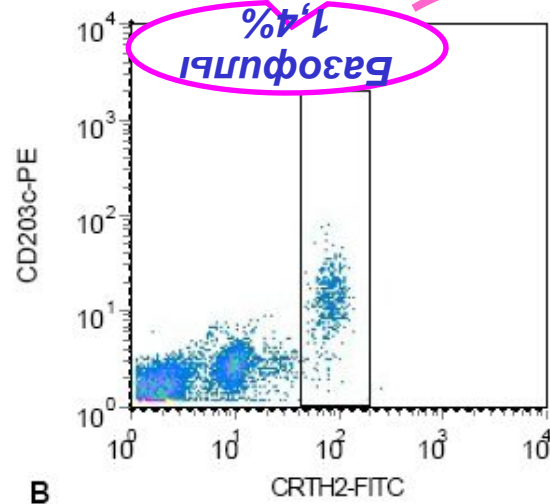
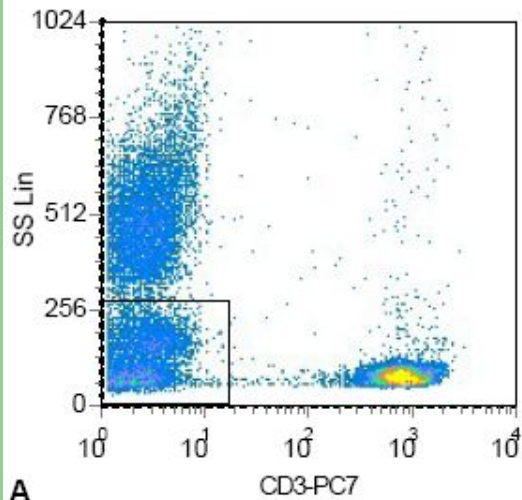
Тест активации базофилов

Исследование активации/дегрануляции базофилов с помощью проточной цитофлуориметрии



Тест активации базофилов

Исследование активации/дегрануляции базофилов с помощью проточной цитофлуориметрии



Тест активации базофилов
Исследование активации/дегрануляции базофилов
с помощью проточной цитофлуориметрии

Выбор маркера:

CD63 или CD203c?

CD203c – более специфичный для базофилов маркер

CD63 – более исследованный

В отношении разных аллергенов – разная значимость маркеров

Специфичность – 95-100%, Чувствительность 85-98%



Тесты активации базофилов и антигенной стимуляции клеток – достоинства и недостатки

Достоинства

- **Хорошая альтернатива провокационным тестам**
- **Единственный тест для дифференциальной диагностики псевдо- и истинной аллергии (особенно в отношении лекарственных средств)**

Недостатки

- **Функциональный тест – значимость преаналитической стадии**
- **Отсутствие стандартов**
- **Небольшой опыт применения, разногласия в значимости маркеров**



Тесты функциональной активности лейкоцитов при действии аллергенов

- **Реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ)**

Подсчёт процента подавления миграции лейкоцитов крови при инкубации их с аллергеном относительно контроля по определению длины пробега лейкоцитов в капиллярах.

- **Тесты высвобождения интерлейкинов**

Количественное определение продукции IL-4, IL-5, IL-13 при инкубации лейкоцитарной взвеси крови с аллергеном.



Уже сегодня диагностический потенциал для оценки нарушений в иммунной системе является поистине безграничным. Однако остаются вопросы: «кто будет определять, что нужно исследовать у конкретного пациента», «кто будет интерпретировать результаты» и «кто за это будет платить»

Спасибо за внимание!

