

Podstawowe testy wykorzystywane w diagnostyce alergii IgE-zależnej i alergii kontaktowej

Basic diagnostic tests of IgE dependent and contact allergy

Iga Butrym¹, Sylwia Płaczkowska², Lilla Pawlik-Sobecka³, Sylwia Smolińska^{4,5}

¹SKN przy Zakładzie Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

³Zakład Praktycznej Nauki Zawodu Analityka, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁴Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

⁵"ALL-MED" Specjalistyczna Opieka Medyczna. Medyczny Instytut Badawczy, Wrocław

Streszczenie

Alergia jest nieprawidłową nadmierną reakcją ustroju przebiegającą z udziałem mechanizmów immunologicznych. Diagnostyka alergii jest złożonym, wieloetapowym procesem, w którym główną rolę odgrywa wywiad lekarski oraz znalezienie jego potwierdzenia w wynikach badań dodatkowych, wśród których najczęściej stosowanymi są testy skórne oraz oznaczanie alergenowo-swoistych przeciwciał klasy IgE w surowicy krwi. Testy skórne mogą być wykorzystywane, z różnym powodzeniem, w diagnostyce wszelkich alergii. Największe znaczenie przypisuje im się jednak w diagnozowaniu alergii kontaktowej oraz alergii wziewnych. W diagnostyce atopii, gdy testy skórne są niemożliwe do wykonania, a ich wynik niezgodny z wywiadem, pomocnym może okazać się oznaczanie stężenia swoistej IgE w surowicy. Oznaczanie swoistych przeciwciał jest także uzupełnieniem diagnostyki alergii pokarmowej, ma duże znaczenie w rozpoznawaniu alergii na jady owadów błonkoskrzydłych i alergii na lateks. Wybór metody zależy więc od jednostki nozologicznej oraz aktualnej wiedzy na temat czułości, swoistości i wartości predykcyjnej stosowanego testu, a także danych uzyskanych w podstawowym badaniu jakim pozostaje wywiad lekarski.

Summary

Allergy is a hypersensitive immune response against non-pathogenic external factors that either enters the body or have a direct contact with the skin or mucosa. Diagnosis of allergy is a complex, multi-stage process in which the main role plays medical history analysis of the disease and its confirmation by additional tests, such as skin tests and allergen-specific IgE serum antibody assays. Skin tests can be used, with variable success, in diagnosis of all allergies. However, they have the greatest significance in diagnosing of contact and inhalation allergies. In the diagnosis of atopic, when skin tests are impossible or their results are not consistent with the interview, measurement of serum IgE levels may be very helpful. Determination of specific antibodies is very important in the diagnosis of allergy to insect venom and latex, it could bring supplementary information to food allergies diagnosis. The choice of method therefore depends on the allergy diagnosis and the current knowledge about the sensitivity, specificity and predictive value of the test used, as well as the data obtained in the medical examination, which remains are basis method in allergy diagnosis.

Słowa kluczowe: immunoglobulina E, nadwrażliwość, testy skórne

Key words: hypersensitivity, immunoglobulin E, skin tests,

Wstęp

Alergia jest nieprawidłową, immunologiczną, nadmierną reakcją ustroju przeciwko niepatogennym czynnikom zewnętrznym. Według wyników programu ECAP (Epidemiologia Chorób Alergicznych w Polsce) cechy alergii deklaruje 40% Polaków. W zależności od wieku i regionu alergiczny nieżyt nosa występował u około 22-

25% osób, astma u 9-11%, pokrzywka u 5-8%, atopowe zapalenie skóry u 4-9%, a alergia pokarmowa u 5-13% [1]. Diagnostyka alergii jest złożonym, wieloetapowym procesem, w którym główną rolę odgrywa wywiad lekarski oraz znalezienie jego potwierdzenia w wynikach badań dodatkowych. Diagnostyka ta przeprowadzana jest w dwóch różnych miejscach: testy skórne wykonywane

są najczęściej przez wykwalifikowane pielęgniarki w gabinetach zabiegowych zlokalizowanych przy poradniach alergologicznych, natomiast badania próbek krwi w laboratoriach medycznych przez diagnostów laboratoryjnych. W diagnostyce alergii kontaktowej i wziewnej podstawową rolę odgrywają testy skórne [2]. W alergii IgE-zależnej/atopii również oznaczanie alergenowo-swoistych przeciwciał klasy IgE w surowicy krwi. Do najtrudniejszych zagadnień w alergologii należą alergia pokarmowa, jak i alergia na leki, a do ich diagnostyki często niezbędne jest wykonanie prób prowokacyjnych. W niniejszym artykule zostaną omówione podstawowe badania wykorzystywane w alergologii, z uwzględnieniem ich metodyki, sposobu przeprowadzania testów, interpretacji oraz przydatności klinicznej uzyskanych wyników.

TESTY SKÓRNE

1. Punktowe testy skórne (SPT; skin prick test)

Testy skórne są podstawowym badaniem wykonywanym w przypadku podejrzenia chorób alergicznych. Należą one do najstarszych, a za razem najskuteczniejszych metod wykrywania alergii. Stosowane są rutynowo w diagnostyce alergii IgE-zależnych, określanych również jako nadwrażliwość typu I wg klasyfikacji Coombsa i Gella (klasyczny podział alergicznej nadwrażliwości z 1963 roku), która leży u podłoża rozwoju m.in.: kataru sienne-go, atopowego zapalenia skóry, astmy atopowej [3]. Mechanizm nadwrażliwości typu I polega na reakcji alergenu z przeciwciałami IgE związanymi z receptorami powierzchniowymi (FcεRI, ang. Human Fc epsilon Receptor 1 alpha) komórek tucznych i bazo-filów umiejscowionych w tkankach/błonach śluzowych. Obserwowane objawy kliniczne związane są głównie z uwalnianiem z wymienionych komórek chemicznych mediatorów, takich jak histamina, leukotrieny, aktywatory kinin [4]. Test skórny jest próbą odtworzenia procesu degranulacji komórek tucznych i bazo-filów w warunkach kontrolowanych i standaryzowanych.

Do przeprowadzania testu można używać tylko oryginalnych, odpowiednio przechowywanych, wystandaryzowanych metodą biologiczną odczynników zawierających alergeny. Odpowiednie postępowanie i przechowywanie wyciągów alergenowych pozwala na zachowanie ich mocy, określanej w jednostkach biologicznych – BU/ml (ang. *Biological Unit*) lub jednostkach alergenu AU/ml (ang. *Allergy Units*). W składzie odczynników wykorzystywanych w testach skórnych znajdują się: wyciąg z badanego alergenu określonym stężeniu, ok. 50% glicerolu, 1-6% chlorku sodu, 0,5% fenolu. Zachowanie stałej mocy wyciągu alergenowego zapewnia dodatek glicerolu, a zastosowanie dodatkowych środków zapobiegających procesom degradacji alergenów, ma na celu zapewnienie powtarzalności uzyskiwanych wyników. W związku z tym, wszystkie odczynniki zawierające alergeny muszą być przechowywane w lodówce w temperaturze ok. 4°C, należy unikać ich zamrażania i przegrzewania oraz stosowania po upływie terminu przydatności [5].

Przeprowadzenie SPT wymaga odpowiedniego przygotowania ze strony pacjenta. W przypadku diagnozowania alergii najważniejszą informacją, jaką należy przekazać badanemu, jest zaprzestanie zażywania leków przeciwhistaminowych oraz sedatywnych

na ok. 7 dni przed badaniem, ponieważ mogą one powodować uzyskiwanie fałszywie ujemnych wyników testów skórnych [6]. SPT wykonuje się najczęściej na dłoniowej części przedramion, rzadziej w górnej części pleców. Skóra w miejscu badania powinna być czysta, niezmięcona chorobowo. Nie jest zalecane stosowanie płynów do dezynfekcji skóry, gdyż mogą one spowodować nieswoiste podrażnienia. Pojedyncze krople wyciągów antygenowych aplikuje się w odstępach 2-5 cm, a do ich wprowadzania stosowane są standaryzowane nożyki (ostrze o długości 1 mm), które przy prostopadłym użyciu zapewniają, nakłucie na głębokość ok. 0,4 mm i wprowadzenie do skóry 0,01-0,5 µl wyciągu alergenowego. Reakcję alergiczną, w postaci rumienia lub bąbla, powstałą w wyniku kontaktu z testowanym alergenem, porównuje się do reakcji powodowanej przez kontrolę dodatnią, którą jest histamina o stężeniu 1,0 mg/ml lub 9% roztwór fosforanu kodeiny. U pacjenta zakłada się również kontrolę ujemną, którą stanowi roztwór lub płyn Coca (NaCl, NaHCO₃, fenol, woda destylowana). Kontrole te pozwalają ocenić indywidualną reaktywność skóry na pozostałe/dodatkowe/pomocnicze składniki wyciągu alergenowego [3].

Nadmiar roztworów testowych usuwany jest ze skóry za pomocą wacika po ok. 5-10 min. od aplikacji. Po upływie ok. 10 min należy przystąpić do oceny SPT z histaminą, czyli kontrola dodatnią, mierząc przezroczystą linijką średnicę najdłuższą i prostopadłą do niej dla powstałego rumienia i bąbla oraz wyliczając średnie średnice lub pola powierzchni, przy czym w dalszej analizie dokonuje się korekty wyników uzyskanych dla alergenów, o miary wartości wyliczonych dla kontroli negatywnej. Po upływie ok. 15-20 min. w analogiczny sposób dokonuje się oceny SPT dla poszczególnych alergenów. Istnieje kilka metod interpretacji reakcji skóry na alergen. Według Amerykańskiej Akademii Alergologii, Astmy i Immunologii (AAAAI; *American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*) wskazany jest pomiar średnicy zarówno bąbla, jak i rumienia. Z kolei Europejska Akademia Alergologii i Immunologii Klinicznej (EAACI, ang. *European Academy of Allergy and Immunology*) zaleca dokonanie pomiaru tylko bąbla, ponieważ jest on konsekwencją reakcji natychmiastowej, natomiast rumień go otaczający jest wynikiem stymulacji receptorów nerwowych i następstwem poszerzenia naczyń w odruchu aksonowym [2]. Przyjmuje się, iż wystąpienie średnicy bąbla >3 mm (powierzchnia >7 mm²) jest potwierdzeniem występowania w badanej skórze swoistych dla danego alergenu przeciwciał klasy E, co świadczy o nadwrażliwości. W celu oceny stopnia uczulenia, należy porównać wynik pomiaru bąbla będącego odpowiedzią na dany alergen, z pomiarami bąbla powstałego w odpowiedzi na roztwór kontroli pozytywnej według zasad przedstawionych w tabeli I. Wynik SPT powinien zawierać komentarz lekarza, co do istotności klinicznej wykrytych nadwrażliwości. W poradni alergologicznej okresowo (np. raz na rok) należy poddawać kontroli jakość badania. W tym celu wykonuje się u ochotników jednocześnie dwa testy, lub też analizuje odczyny z roztworami histaminy. Współczynnik zmienności okresowych badań nie powinien przekraczać 20% [5, 6].

W interpretacji wyników należy pamiętać o znanych czynnikach mogących mieć wpływ na wynik SPT, np. sezonowość (odpowiedź

Tabela I. Skala plusowa oceny testów skórnych wykonywanych metodą prick.

Stopień uczulenia	Różnica między wynikiem pomiaru bąbla będącego odpowiedzią na dany alergen, a pomiarami bąbla powstałego w odpowiedzi na roztwory kontrolne
0	odczyn alergenowy równy odczynowi kontroli negatywnej
+	średnia średnica bąbla alergenowego jest większa od odczynu na płyn kontroli negatywnej, a mniejsza od połowy średnicy bąbla histaminowego
++	średnia średnica bąbla alergenowego jest równa lub większa od połowy średniej średnicy bąbla histaminowego
+++	średnia średnica bąbla alergenowego jest równa średniej średnicy bąbla histaminowego
++++	średnia średnica bąbla alergenowego jest co najmniej dwukrotnie większa od średniej średnicy bąbla histaminowego lub każdy odczyn z pseudopodiami

jest silniej zaznaczona w czasie i po sezonie pylenia odpowiednich alergenów), rytm dobowy (reaktywność skóry jest większa w godzinach popołudniowych niż rano), wiek pacjenta (reaktywność skóry wzrasta do 3 dekady życia, a potem stopniowo maleje; odpowiedź jest więc słabiej wyrażona u małych dzieci i u osób starszych). Czulość testów skórnych jest oceniana na 78-97%, natomiast swoistość na 41-91%. Testy skórne należy traktować jako badanie przesiewowe, ponieważ ich czulość jest większa niż swoistość. SPT są uznane jednak za złoty standard w diagnostyce alergologicznej przez Europejską Akademię Alergologii i Immunologii Klinicznej, ze względu na bezpieczeństwo, łatwość wykonania oraz stosunkowo dużą czulość i swoistość [3].

Polskie Towarzystwo Alergologiczne do diagnozowania alergii wziewnej zaleca zestaw przesiewowych antygenów zawierający: roztocz kurzu domowego, sierść i naskórek kota, sierść i naskórek psa, pyłki traw, pyłki drzew, pyłki chwastów, niektóre pleśnie (*Alternaria* i *Cladosporium*). W poszczególnych przypadkach panel może być rozszerzony o dodatkowe alergeny na podstawie wywiadu z pacjentem (np. o alergeny pokarmowe), wieku badanego oraz epidemiologii uczuleń w danym regionie [6].

Test prick-by trick to odmiana testu skórniego, w którym wykorzystywane są antygeny natywne. Najczęściej stosowany jest w diagnostyce alergii pokarmowych, gdzie testowane są świeże pokarmy np. owoce, kropla mleka. Próbę wykonuje się nakłuwając badany owoc, a następnie tym samym nożykiem skórę badanego [5]. Do zalet tego testu należy wykorzystanie świeżych alergenów, które nie ulegają degradacji w procesie produkcji czy standaryzacji wyciągu oraz występują w naturalnych proporcjach. Testy te cechują się znakomitą swoistością i wartością predykcyjną wyniku ujemnego [7]. Do wad zalicza się stosunkową trudność wprowadzenia odpowiedniej ilości antygeny (zbyt cienka kropla antygeny może dać wynik fałszywie ujemny) oraz ryzyko wystąpienia uogólnionej reakcji anafilaktycznej.

2. Testy śródskórne

W Polsce testy śródskórne wykorzystywane są w diagnozowaniu głównie alergii na jady owadów i leki (penicylinę) [7, 8]. Jest to technika wprowadzona pierwotnie do wykonywania prób tuberkulinowych. Badanie wykonuje się na skórze przedramienia, zachowując odległość ok. 5-6 cm pomiędzy poszczególnymi antygenami. Za pomocą strzykawki, tzw. tuberkulinówki i igły wprowadzonej pod kątem 45° wstrzykiwane jest śródskórnie 0,02-0,05 ml wodnego roztworu wyciągu alergenowego o wzrastających

stężeniach, tak, aby powstał bąbel o średnicy 3-5 mm. Rozcieńczenie wprowadzonych alergenów jest 1000-10000 razy większe niż w przypadku SPT. Dla reakcji natychmiastowej wynik odczytuje się po ok. 20 min., dla reakcji późnej po 6-8 h, a dla opóźnionej po 24-48 h. Test uważa się za ujemny, gdy średnica zarówno bąbla, jak i rumienia wynosi <5 mm. Do oceny wyniku stosuje się skalę plusową wg Bousqueta i Normana przedstawioną w tabeli II.

W testach śródskórnych, wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne najczęściej powodowane są niewłaściwym wykonaniem badania. Do czynników powodujących wystąpienie wyników fałszywie dodatnich możemy zaliczyć: wykonanie prób w zbyt małej odległości od siebie, wprowadzenie śródskórnie powietrza, podskórne wprowadzenie alergenu, natomiast śródskórne krwawienie może być przyczyną wyniku fałszywie ujemnego [3].

Testy śródskórne są około 100 razy czulsze od SPT, natomiast reakcja wywołana podrażnieniem przyczynia się do zmniejszenia ich swoistości [6]. Wadą testu śródskórnego w stosunku do SPT jest też zwiększone ryzyko wystąpienia reakcji niepożądanych (1-2% do 0,04%) i czasochłonność [3].

Tabela II. Ocena nasilenia odczynu w testach śródskórnych wg Bousqueta i Normana

Nasilenie odczynu	Rumień [mm]	Bąbel [mm]
0	<5	<5
+/-	5-10	5-10
+	11-20	5-10
++	21-30	5-10
+++	31-40	5-10
++++	>40	>15 mm lub liczne pseudopodia

3. Naskórkowe testy płatkowe (NTP)

Naskórkowe testy płatkowe są złotym standardem w diagnozowaniu alergii kontaktowej, którą definiuje się jako swoistą odpowiedź organizmu na substancje chemiczne o małej masie cząsteczkowej (hapteny) lub proteiny, indukowaną przez bezpośredni kontakt tych substancji ze skórą [8]. W przebiegu alergii kontaktowej, czynnikiem decydującym o inicjacji odczynu zapalnego jest rozpoznanie przez receptor swoistego limfocytu obecnego w skórze, alergenu znajdującego się na powierzchni komórki prezentującej antygen. Alergen jest prezentowany układowi odpornościowemu, co wywołuje specyficzną odpowiedź immunologiczną – jest to tak zwana faza indukcji. Przebieg reakcji immunologicznej zależy od

stężenia alergenu, jego właściwości chemicznych, czasu ekspozycji i stanu skóry. Następnym etapem jest czas, jaki upłynął od pierwszego kontaktu z alergenem do wystąpienia zmian skórnych. W ostatniej fazie (fazie ujawniania), gdy dochodzi do ponownej ekspozycji na haptenu, obserwuje się reakcję nadwrażliwości opóźnionej (24-48 godzin od wnikięcia alergenu) w postaci zmian skórnych. U podłoża opisanych zmian leży mechanizm IV typu nadwrażliwości wg klasyfikacji Gell'a Coombs'a [9, 10].

W Polsce, jak i w całej Unii Europejskiej, najczęściej występuje alergia kontaktowa na nikiel, tiomersal lub substancje zapachowe [11]. Standardowy zestaw alergenów, będących najczęstszą przyczyną kontaktowego wyprysku w Europie zawiera około 30 alergenów. Listy haptenu wchodzących w skład standardowego zestawu, są okresowo uaktualniane w oparciu o najnowsze dane epidemiologiczne. Oprócz panelu standardowego opracowano również gotowe zestawy dla poszczególnych grup zawodowych np. rolników, fryzjerów, stomatologów. Najczęściej testowanymi alergenami kontaktowymi są: związki chemiczne (np. nikiel, chrom, kobalt, formalina); kosmetyki (np. substancje zapachowe, konserwanty i barwniki); leki do użytku zewnętrznego (np. rywanol, euceryna, ichtiol, neomycyna, penicylina); substancje pochodzenia roślinnego (np. furokumaryny z tulipanów, chryzantem, prymuli) [8]. Istotą testu płatkowego jest wywołanie alergicznego, kontaktowego zapalenia na niewielkiej powierzchni skóry w kontrolowanych warunkach. Według zaleceń Sekcji Alergologicznej Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego oraz Standardów Polskiego Towarzystwa Alergologicznego, NTP powinny być wykonywane na skórze pleców, między i nad łopatkami. Lokalizacja ta została wybrana ze względu na wygodę aplikacji oraz stosunkowo najmniejszą uciążliwość dla pacjenta. Istotnym jest również fakt, iż cały proces walidacji testów naskórkowych został wykonany na plecach, a testowanie w innych okolicach powinno być wykonywane w sytuacjach wyjątkowych i interpretowane przez doświadczanego lekarza [8].

Testowany alergen, jeśli występuje w postaci stałej, zostaje bezpośrednio umieszczony na skórze badanego, natomiast jeśli występuje w postaci płynnej, to krążek bibuły o powierzchni 1 cm² zostaje nasączony badaną substancją i przytwierdzony klejem do skóry. Krążki umieszczane są w odstępach minimum 3 cm. Obecnie krążki bibułowe coraz częściej wypierane są przez specjalne komory, napełniane 20 µl roztworu haptenu (najczęściej w wazelinie lub w wodzie), następnie są przytwierdzane na skórze pleców pacjenta. Kontrolę negatywną stanowi rozpuszczalnik lub substancja, w której rozpuszczone są badane alergeny [12, 13].

Ocena zmian skórnych przeprowadzana jest po zdjęciu plastrów, w ściśle określonych odstępach czasowych, zwykle po 2, 3 i 4 dniach, a w przypadku niektórych haptenu nawet po 7 dniach od momentu aplikacji [14]. Dodatkowy odczyt po 7 dniach może ujawnić 10% odczynów dodatnich, które we wcześniejszych odczytach były ujemne [12]. Za wynik dodatni uważa się obecność miniaturowego ogniska wyprysku, któremu towarzyszy miejscowy świąd skóry. Skala stosowana do odczytu testów skórnych przedstawiona jest w tabeli III.

Dodatni wynik testu płatkowego nie jest jednoznaczny z rozpoznaniem alergii kontaktowej na testowany haptenu. Osoby z po-

zytywnym wynikiem tego badania mogą nigdy nie rozwinąć objawów klinicznych w zetknięciu z testowaną substancją. Przy interpretowaniu wyników należy również wziąć pod uwagę fakt, iż wraz ze wzrostem liczby testowanych alergenów rośnie ryzyko otrzymania wyników fałszywie dodatnich. Ostateczny wynik interpretacji wyniku może zależeć od czasu dokonania odczytu, jakości użytych substancji testowych, wcześniejszego narażenia skóry na promieniowanie ultrafioletowe lub stosowania kortykosteroidów [15].

OZNACZANIE STĘŻENIA IgE *in vitro*

Patofizjologiczna rola IgE polega na łączeniu się fragmentu Fc cząsteczki przeciwciała z receptorami FcεRI komórek tucznych i bazofilów, które szczególnie licznie występują w obrębie błony śluzowej układu oddechowego, pokarmowego oraz skóry właściwej. Ta pula reagin nie jest dostępna dla ilościowej oceny ze względu na lokalizację [16]. Ocenie w testach *in vitro* podlega tylko surowicza pula IgE. Obecnie na rynku dostępnych jest wiele metod służących do oceny stężenia całkowitych i alergenowo-swoistych IgE, które różnią się rodzajem nośnika i sposobem detekcji ich obecności. Fazą stałą, z którą związany jest alergen lub przeciwciała anty IgE może być: bibuła, polistyren, gąbka celulozowa, nitroceluloza lub ziarna sefadeksu. Ilość IgE związanego antygenem lub przeciwciałem na immobilizowanym nośniku jest wykrywana dzięki zastosowaniu znakowanych, drugorzędowych przeciwciał klasy IgG lub IgE skierowanych przeciw swoistym IgE. Do znakowania w metodach kolorymetrycznych używa się radioizotopów (metoda *radioallergosorbenttest*, RAST) lub enzymów (ELISA; *enzyme linked immunosorbent assay*). Przy odczycie wyników wykorzystywane są różne metody detekcji, takie jak fotometria i chemiluminescencja. Używane są także metody fluoroenzymologiczne (FEIA; *fluoroenzymimmunoassay*), w których się sygnałem pomiarowym jest fluorescencja wzbudzona przez fluorogenny substrat [17].

1. Oznaczenie całkowitego stężenia IgE w surowicy

Do oznaczania całkowitego stężenia IgE w surowicy obecnie najczęściej są wykorzystywane techniki ELISA. W technice tej, do znakowania drugorzędowych przeciwciał anty-IgE wykorzystuje się enzymy tj. peroksydaza, fosfataza alkaliczna. Przeciwciała anty-IgE związane jest na fazie stałej. Po dodaniu w kolejności: badanej surowicy, przeciwciała anty-IgE znakowanego enzymem oraz substratu, uzyskuje się barwny produkt. Intensywność zabarwienia jest wprost proporcjonalna do stężenia przeciwciał IgE w surowicy. Do wyrażenia całkowitego stężenia IgE w surowicy używane są jednostki międzynarodowe (IU, ang. international unit) w 1ml. Jedna jednostka międzynarodowa odpowiada 2,4 ng przeciwciała.

Tabela III. Interpretacja zmian w testach skórnych.

Skala plusowa	Występujące zmiany skórne
+	rumień
++	rumień i grudki
+++	rumień, grudki, pęcherzyki
++++	wyraźny obrzęk i pęcherzyki

Całkowite stężenie IgE w surowicy osób zdrowych znajduje się w przedziale od 0,4 do 80 IU/ml. W przypadku dzieci chorujących na atopową astmę oskrzelową obserwuje się podwyższone stężenia całkowitej IgE znacznie częściej niż u dorosłych, jednak stwierdzenie prawidłowego stężenia reagin nie jest podstawą do wykluczenia atopowego podłoża choroby u dzieci. Z drugiej strony, podwyższone stężenie całkowitego IgE w surowicy nie zawsze świadczy o atopii, bowiem istnieje wiele zespołów chorobowych, w których przebiegu obserwuje się hiperimmunoglobulinemię E. Do tych schorzeń zaliczyć można: zespół Wiskott-Aldricha, zespół Hioba, chorobę Hodgkina, szpiczak IgE, polekowe śródmiąższowe zapalenie nerek, zespół nerczycowy, pęcherzyce, marskość alkoholową wątroby, aspergilozę oskrzelowo-płucną oraz zakażenia pasożytnicze [16].

2. Oznaczenie alergenowo-swoistych IgE w surowicy

Do oznaczenia stężenia alergenowo-swoistych przeciwciał IgE w surowicy wykorzystywana jest metoda, w której z fazą stałą związany jest pojedynczy alergen, a zasada przeprowadzenia testu jest taka sama, jak opisano powyżej. Uzyskane wyniki wyrażone są w klasach od 0 do 4, a w przypadku metody FEIA od 0 do 6, w zależności od ustalonych arbitralnych stężeń. Im wyższa klasa, tym wyższe stężenie alergenowo-swoistych IgE w surowicy. Za wynik pozytywny uznaje się najczęściej wartości $>0,35\text{IU/ml}$, jednak zakres przedziałów referencyjnych i podział na klasy są ustalane przez producenta testu [18].

Oznaczenie swoistych IgE ma znaczenie w diagnozowaniu chorób, w patomechanizmie których uczestniczy immunoglobina tej klasy. W diagnostyce tych chorób podstawowe znaczenie, oprócz prawidłowo przeprowadzonego wywiadu z pacjentem, ma badanie SPT. SPT z wyciągami aeroalergenów mają większą swoistość i czułość, jak również niższe koszty w porównaniu z oznaczeniami alergenowo-swoistych IgE w surowicy [7]. W wyjątkowych sytuacjach wykonanie SPT nie jest możliwe, np. przy stosowaniu leków wpływających na reaktywność skóry, przy nasilonym dermatografizmie badanego, przy uszkodzeniu powłok skórnych, a także przy znacznych obawach badanego przed wykonywaniem badań inwazyjnych i w przypadkach wysokiego ryzyka anafilaksji. W takich przypadkach niezbędne jest przeprowadzenie testów laboratoryjnych. Wykonanie oznaczeń w surowicy jest również konieczne w sytuacji niezgodności wyników testu skórniego z danymi z wywiadu. W przypadku ewidentnie dodatniego testu skórniego i jasnego wywiadu lekarskiego, poszukiwanie potwierdzenia w obecności swoistych przeciwciał IgE swoistych nie jest działaniem koniecznym [5]. Stężenie swoistych reagin jest często oznaczane u małych dzieci, nie tylko z powodu trudności wykonania SPT, ale przede wszystkim z powodu ograniczonej wiarygodności tych testów w najmłodszej grupie wiekowej. Wykazanie swoistych IgE nie jest jednoznaczne z klinicznymi cechami uczulenia, gdyż w każdym przypadku wyniki te należy interpretować wraz z danymi z wywiadu. Stężenie alergenowo-swoistych IgE nie wykazują korelacji z nasileniem objawów klinicznych. W przypadku alergii atopowej zgodność wyników oznaczania swoistych IgE w surowicy z wynikami testów skórnych wynosi około 85-95% [7].

W diagnostyce nadwrażliwości na jady owadów błonkoskrzydłych

oznaczanie swoistych IgE jest wykorzystywane rutynowo, nawet przy dodatnich wynikach testów skórnych. Oznaczenie to jest niezbędne w kwalifikacji pacjentów do swoistej immunoterapii jadami. Czułość oznaczeń jest zadowalająca i wynosi $> 80\%$ [16]. W przypadku uczuleń na leki złotym standardem pozostaje próba prowokacyjna, a oznaczanie swoistych IgE rzadko znajduje zastosowanie. Jednak w przypadku, gdy wykonanie próby prowokacyjnej jest niebezpieczne, a wyniki testów skórnych są negatywne, oznaczenie obecności swoistych IgE może zwiększyć prawdopodobieństwo prawidłowego rozpoznania [7, 16].

Niska czułość badania alergenowo-swoistych IgE w stosunku do pokarmów sprawia, że oznaczanie specyficznych IgE w diagnozowaniu alergii pokarmowych ma znacznie drugorzędne. Złotym standardem pozostaje wykonanie podwójnie zamaskowanej próby doustnej kontrolowanej placebo [7].

Duże znaczenie wykrycia obecności alergenowo-swoistych IgE przypisuje się w diagnozowaniu alergii na lateks, ponieważ czułość tego oznaczenia $>90\%$, jednak nadal pierwszeństwo w diagnostyce ma SPT [16].

Testy skórne i oznaczenia alergenowi swoistych IgE wykonywane są z wykorzystaniem naturalnych ekstraktów alergenowych, które w rzeczywistości są mieszaniną wielu alergenów, a dokładniej wielu komponent alergenowych składających się z dużej liczby epitopów specyficznych i niespecyficznych gatunkowo. Te pierwsze odpowiedzialne są za uczulenia pierwotne, natomiast drugie mogą być powodem reakcji krzyżowych. Testy z zastosowaniem takich ekstraktów nie pozwalają na odróżnienie tych dwóch mechanizmów, co stwarza potrzebę wdrożenia metod bardziej specyficznych.

Molekularna diagnostyka alergii IgE zależnych jest metodą oceniającą obecność i miano swoistych przeciwciała klasy IgE, skierowanych przeciwko alergenom rekombinowanym (uzyskanych przy użyciu inżynierii genetycznej) lub wysokooczyszczonym naturalnym składnikom alergenu [19, 20, 21]. Opiera się głównie na technikach wykorzystujących mikromacierze i jednoczesną analizę nawet kilkuset epitopów, pochodzących z różnych źródeł alergenowych. Testy te pozwalają wykryć nie tylko rodzaj alergenu, ale również konkretne białko lub jego fragment, na które pacjent jest uczulony i określić indywidualny profil immunologiczny alergii. Zastosowanie tej innowacyjnej metody daje możliwość odróżnienia uczulenia pierwotnego od reakcji krzyżowych oraz oszacowania ryzyka wystąpienia poszczególnych objawów chorobowych. Pozwala również na personalizację terapii, polegającej na dostosowaniu leczenia i zaleceń dietetycznych do potrzeb konkretnego pacjenta, a w konsekwencji, ogólną poprawę jakości życia alergików.

Podsumowanie

Testy skórne mogą być wykorzystywane, z różnym powodzeniem, w diagnostyce wszelkich alergii. Największe znaczenie przypisuje im się jednak w diagnozowaniu alergii kontaktowej oraz na alergeny wziewne. Gdy testy skórne są niemożliwe do wykonania, a ich wynik niezgodny z wywiadem, pomocnym może okazać się oznaczanie stężeń swoistej IgE w surowicy. Oznaczanie swoistych reagin jest także uzupełnieniem diagnostyki alergii na pokarmy

i ma duże znaczenie w rozpoznawaniu alergii na jady owadów błonkoskrzydłych i alergii na lateks. Wybór metody zależy więc od jednostki nozologicznej oraz aktualnej wiedzy na temat czułości, swoistości i wartości predykcyjnej stosowanego testu, a także danych uzyskanych w podstawowym badaniu jakim pozostaje wywiad lekarski.

Piśmiennictwo

1. Samel-Kowalik P, Lipiec A, Tomaszewska A i wsp. Występowanie alergii i astmy w Polsce – badanie ECAP. *Gaz Farm* 2009; 3: 32–34.
2. Gliński W, Rudzki E. *Alergologia dla lekarzy dermatologów*. Czelej, Lublin 2002.
3. Wiśniewska – Barcz B, Orłowska E. Testy skórne w diagnostyce alergologicznej. *Alergologia Współczesna* 2001; 9: 15–23.
4. Lasek W. Nadwrażliwość. In: Gołąb J, Jakóbskiak M, Lasek W, Stokłosa W. *Immunologia*. Wyd PWN SA, Warszawa, 2012: 326–361.
5. Kruszewski J, Silny W, Mazurek H i wsp. Standardy w alergologii część I. Testy skórne. *Prz Alergol* 2006; 1: 51–59.
6. Kruszewski J. Ogólne zasady diagnostyki chorób alergicznych. *Alerg Astma Immun* 2006; 1: 1–10.
7. Glück J. Wykrywanie swoistych IgE – in vivo czy in vitro? *Alerg Astma Immun* 2012, 17: 51–56.
8. Śpiewak R. Alergia kontaktowa – diagnostyka i postępowanie. *Alerg Astma Immun* 2007; 12: 109–127.
9. Bartoszak L, Czarnecka-Operacz M. Contact allergy in children with atopic dermatitis. *Post Dermatol Alergol* 2007; 3: 120–126.
10. Śpiewak R. Alergia kontaktowa i alergiczny wyprysk kontaktowy. *Alergologia Polska* 2014; 150–157.
11. Schafer T, Bohler E, Ruhdolf S, et al. Epidemiology of contact allergy in adults. *Allergy* 2001; 56: 1192–1196.
12. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, et al. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy* 2011; 67: 18–24.
13. Rogala B, Glück J. Testy skórne. In: *Alergia, choroby alergiczne, astma*. Tom I. Fal A (red.). *Medycyna Praktyczna*, Kraków 2011: 185–94.
14. Johansen JD, Aalto-Korte K, Agner T, et al. European Society of Contact Dermatitis guideline for diagnostic patch testing – recommendations on best practice. *Contact Dermatitis* 2015; 73(4): 195–221. doi: 10.1111/cod.12432.
15. Śpiewak R. Atopy and contact hypersensitivity: a reassessment of the relationship using objective measures. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005; 95: 61–65.
16. Małolepszy J, Mędrala W, Kuna P i wsp. Standardy w alergologii część II. Oznaczenie całkowitego stężenia IgE i alergenowo-swoistych IgE w surowicy. *Prz Alergol* 2004; 1: 55–57.
17. Gogolewski G, Jarzab J, Wolańczyk-Mędrala A, Mędrala W. Oznaczenie stężeń IgE oraz IgG4. In: *Podstawy alergologii*. Mędrala W (red.). *Wydawnictwo Medyczne*, Wrocław; 2006: 193–200.
18. Bojarska-Junak A. Oznaczenie alergenowo swoistych IgE. *Alergia*, 2013, 2: 21–25.
19. Balińska-Miśkiewicz W. Diagnostyka molekularna alergii pokarmowej – czy wiemy więcej? *Postepy Hig Med Dosw* 2014; 68: 754–767.
20. Jutel M, Solarewicz-Madejek K, Smolinska S. Recombinant allergens – the present and the future. *Hum.Vacc.Immunother* 2012 vol. 8 no. 10, p. 1534–1543
21. Dyga W. Diagnostyka alergii oparta na komponentach alergenowych. In: *Alergologia*. K. Obtulowicz (red.) PZWL, Warszawa, 2016: 68–69.

Autor do korespondencji:

dr Sylwia Płaczkowska
Diagnostyczne Laboratorium Naukowo-Dydaktyczne
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
50-556 Wrocław, ul. Borowska 211A
tel. +48 71 7854167
e-mail: sylwia.placzkowska@umed.wroc.pl

Otrzymano: 5.07.2017

Akceptacja do druku: 30.09.2017

Konflikt interesów: nie zgłoszono