



 Immunologica

Конференция Биохиммак

Новые технологии в проточной цитометрии
5-7 октября 2011

Аллергодиагностика

Рыжак А.Т., Горчакова М.В., Зуева Е.Е.

Лаборатория клинической иммунологии и
молекулярной диагностики

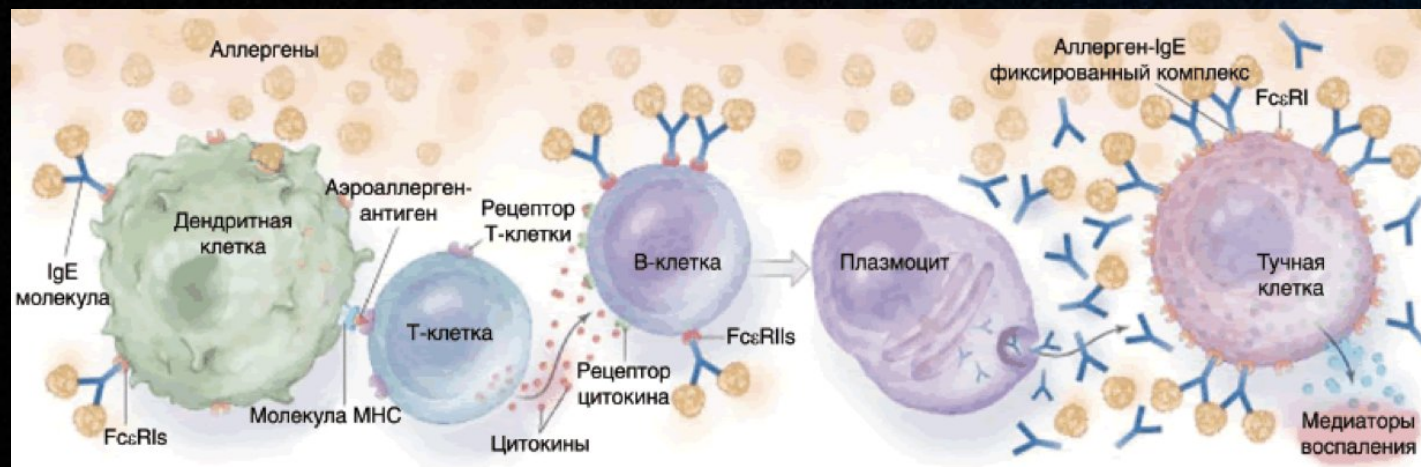
СПбГМУ им.акад.И.П.Павлова

Аллергия – состояние гиперчувствительности организма к некоторым веществам (аллергенам), которое развивается после их **повторного** действия.

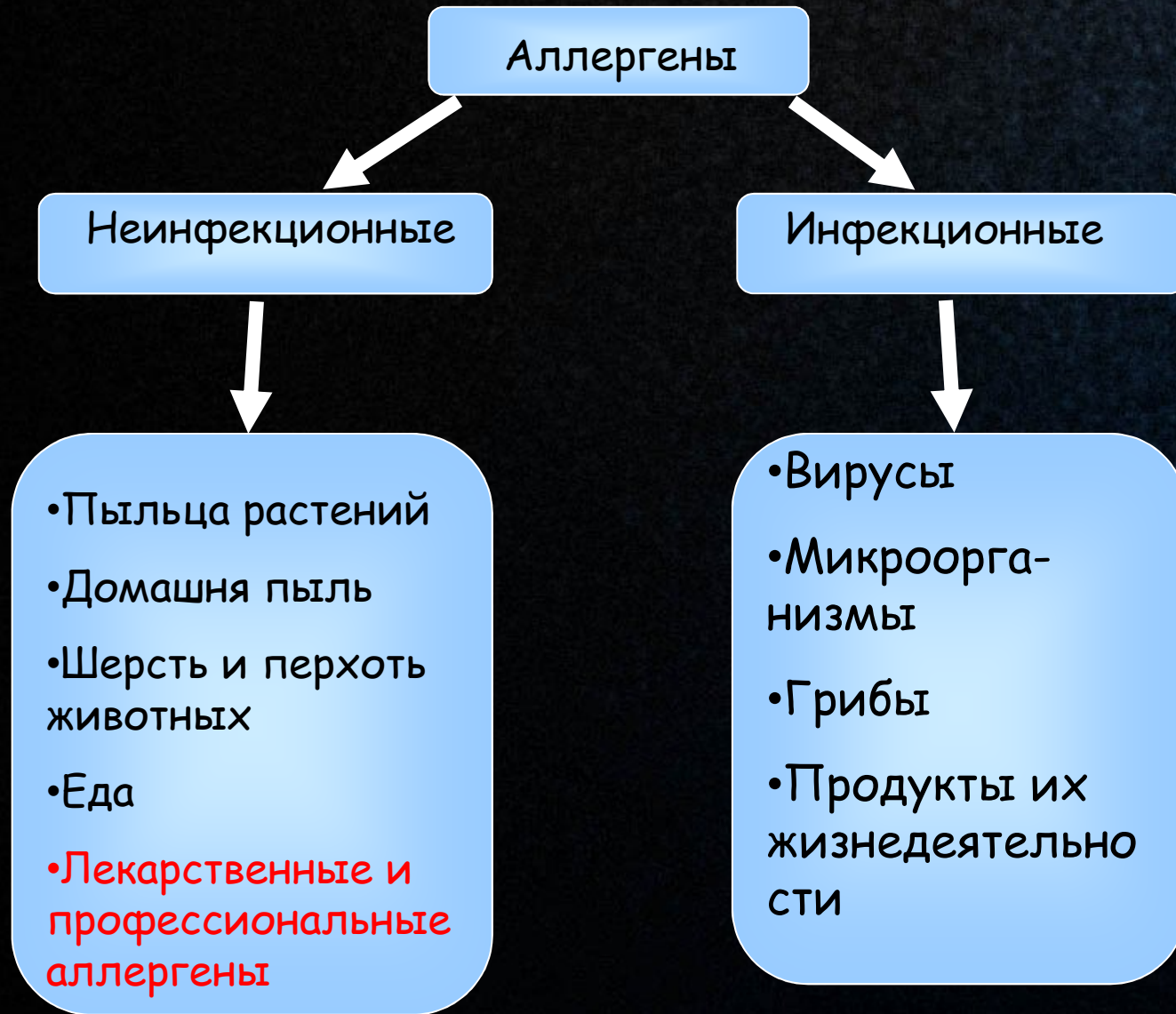
Аллергические заболевания - это гиперреакции организма в ответ на действие окружающей среды, воспринимаемой как потенциальная опасность, даже если это не так.

Механизм иммунного ответа включает выработку защитных антител и биологически активных молекул, задача которых - нейтрализовать антиген.

Иногда иммунная система теряет контроль над этим процессом и реагирует на безобидные вещества как на опасные.



Аллергия - состояние гиперчувствительности организма на некоторые вещества (аллергены), возникающая после их **повторного** воздействия.



• Пищевая непереносимость

Протекает в основном по IgE типу

• Лекарственная непереносимость

- ✓ Истинная непереносимость
- ✓ Псевдореакция
- ✓ Протекает в основном по IgG типу, либо клеточный тип реакции. Очень редко случается при первичном контакте с аллергеном («на конце иглы»)
- ✓ Непереносимость цефалоспоринов кожными тестами выявляется только в 20% случаев

• Непереносимость металлов

Возникает в основном как местная реакция в ротовой полости за счет разницы потенциалов на различных материалах («гальванический элемент») и кислотной среды в ротовой полости.

Реакция идет по клеточному механизму.





Возможности диагностики лекарственной непереносимости и непереносимости металлов методом ИФА

Антимикробные препараты

Пенициллин G
Пенициллин V
Ампициллин
Цефалоспорин
Амоксициллин
Триметоприм
Сульфаметоксазол
Тетрациклин
Гентамицин
Эритромицин
Доксициклин
Стрептомицин
Ципрофлоксацин
Оксациллин
Норфлоксацин

Анальгетики и НПВС

Ацетилсалициловая кислота
Пиразолон-(4-аминоантипирин)
Фенилбутазон
Пироксикам
Ибупрофен
Диклофенак
Парацетамол
Анальгин
Индометацин
Напроксен
Фенацетин
Пеницилламин
Кетопрофен

Местные анестетики и миорелаксанты

Артикаин/Ультракаин
Лидокаин/Ксилокаин
Трокаин/Новокаин
Бензокаин
Трилокаин/Цитанест

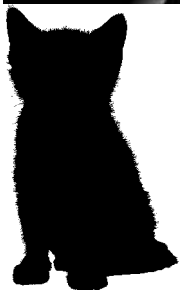
Металлы

Никель
Хром
Ртуть
Золото
Медь
Платина
Кобальт
Палладий

Аллергодиагностика

in vivo

- Кожные тесты
 - скарификационные тесты
 - prick-tests
 - patch-tests
- Провокационные тесты
- Элиминационные тесты



in vitro

- Определение свободных IgE и IgG антител
- Определение медиаторов, высвобождающихся из клеток-мишеней во время аллергической реакции
- Определение активированных клеток, принимающих участие в развитии аллергической реакции

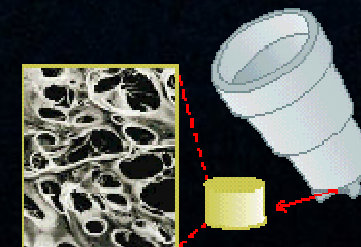
Определение свободных IgE и IgG антител

ImmunoCAP технология



Общий IgE
Специфические IgE, IgA, IgM, IgG
Триптаза: диагностика анафилактических реакций
ЕСР: маркер интенсивности аллергического воспаления

Основная трудность - планирование спектра необходимых диагностикумов на год вперед



Определение активированных клеток, принимающих участие в развитии аллергической реакции

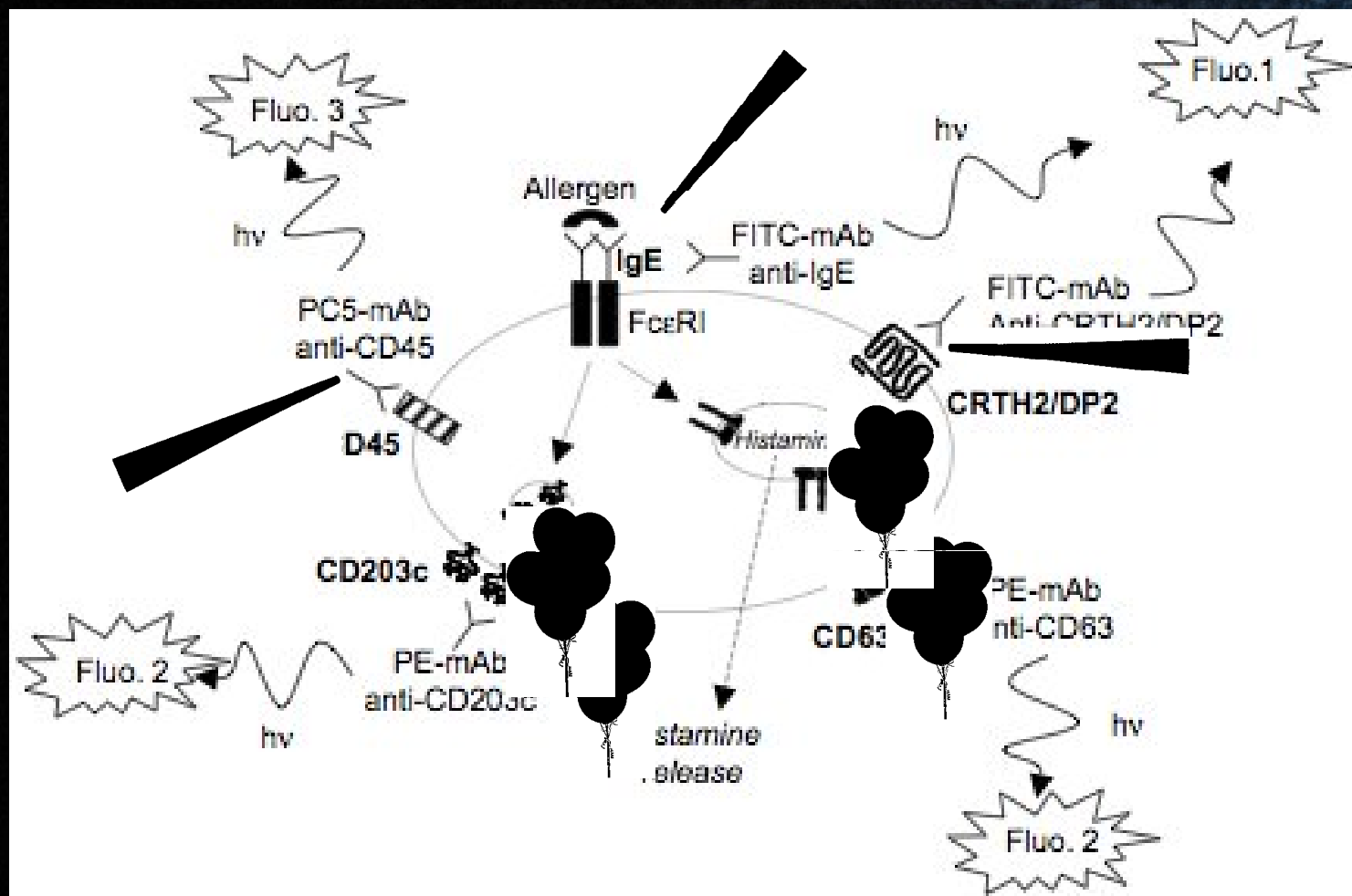
Роль базофилов в развитие аллергического воспаления



Принцип учета результатов теста активации базофилов

CRTH2 -
chemoattractant
receptor-
homologous
molecule
экспрессируется на
базофилах,
эозинофилах, Th2
и Tc2-лимфоцитах

CD203c
экспрессируется на
базофилах
Экспрессия
значительно
повышается после
активации
базофилов



**Базофилы
позитивны по
CD45, IgE
CRTH2**



**В состоянии покоя
на базофилах нет
CD63 и мало
CD203c**



**При активации на
базофилах есть
CD63 и много
CD203c**

Определение активированных клеток, принимающих участие в развитии аллергической реакции

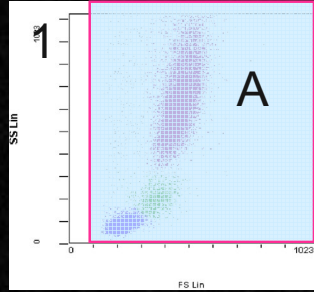


- Метод - проточная цитометрия
- Инкубация образца крови с исследуемым аллергеном

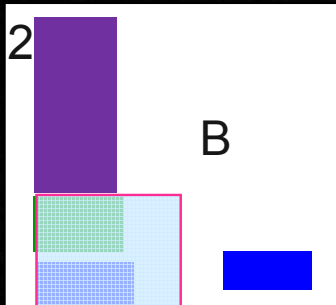
- Исключение $CD3^+$ Т-лимфоцитов
- Исключение неактивированных и покоящихся клеток ($CRTH2^{pos}CD203c^{dim}CD3^{neg}$)
- Анализ активированных клеток $CRTH2^{pos}CD203c^{bright}CD3^{neg}$



SS



1. FS/SS
гейт А – лейкоциты без дедбриса



2. CD3 PC7/SS
гейт В – моноциты и лимфоциты без Т-клеток

CD3 PC7

3. CRTH2 FITC / CD203c PE,
гейт С – все CD203c(+)CD3(-) события

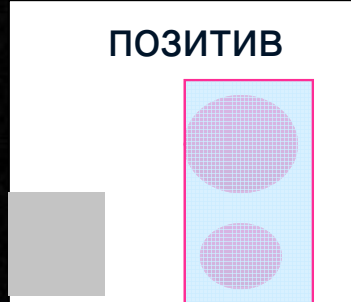
4. CRTH2 FITC / CD203c PE

Гейт В

CD203c



позитив



аллерген



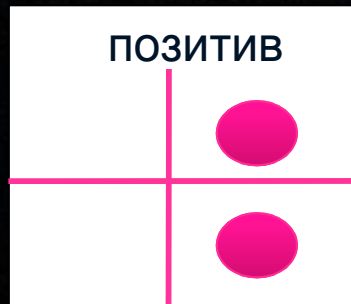
CRTH2 FITC

Гейт С

CD203c



позитив



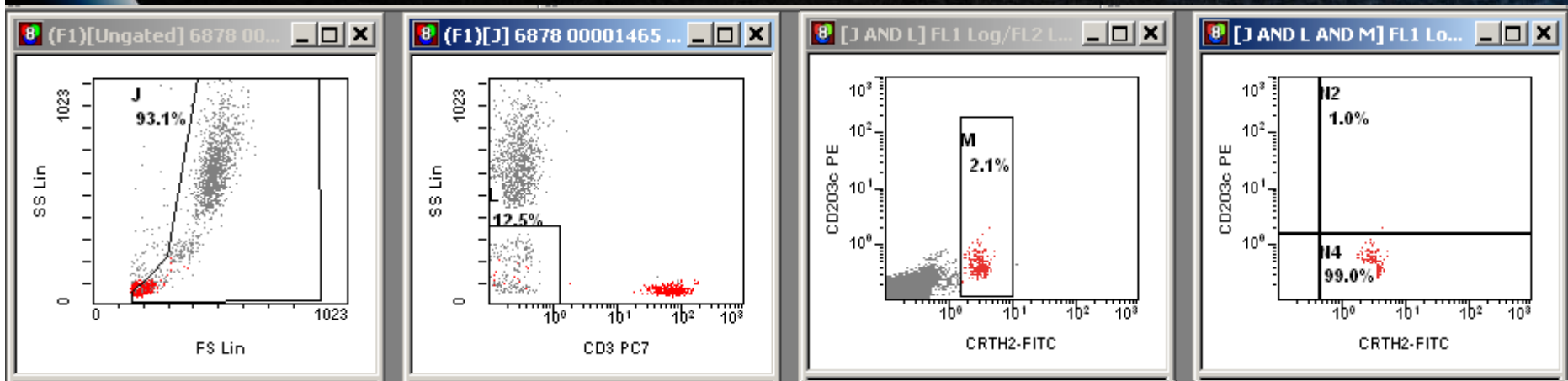
аллерген



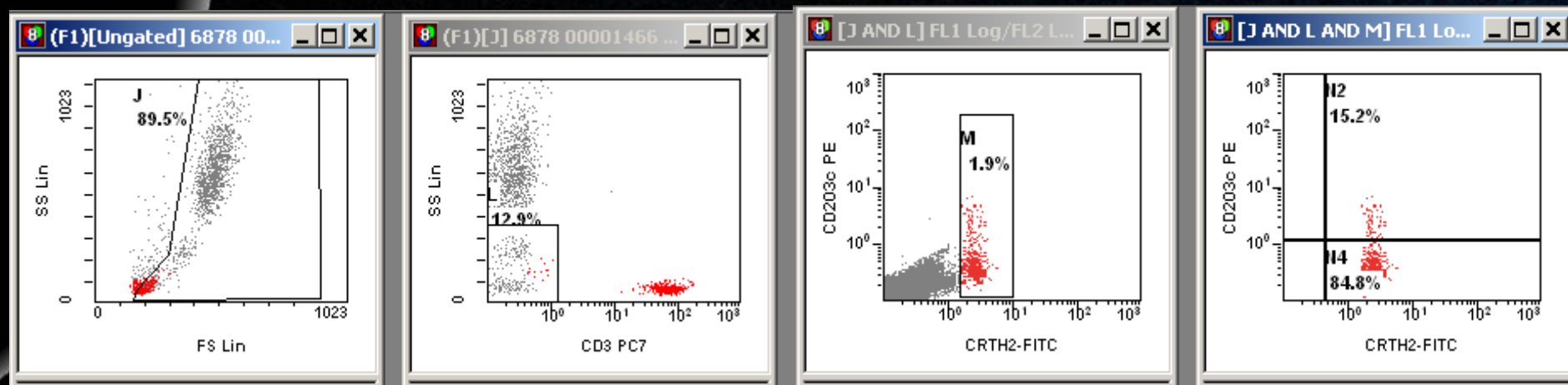
CRTH2 FITC

Проведение исследования крови

Негативный контроль

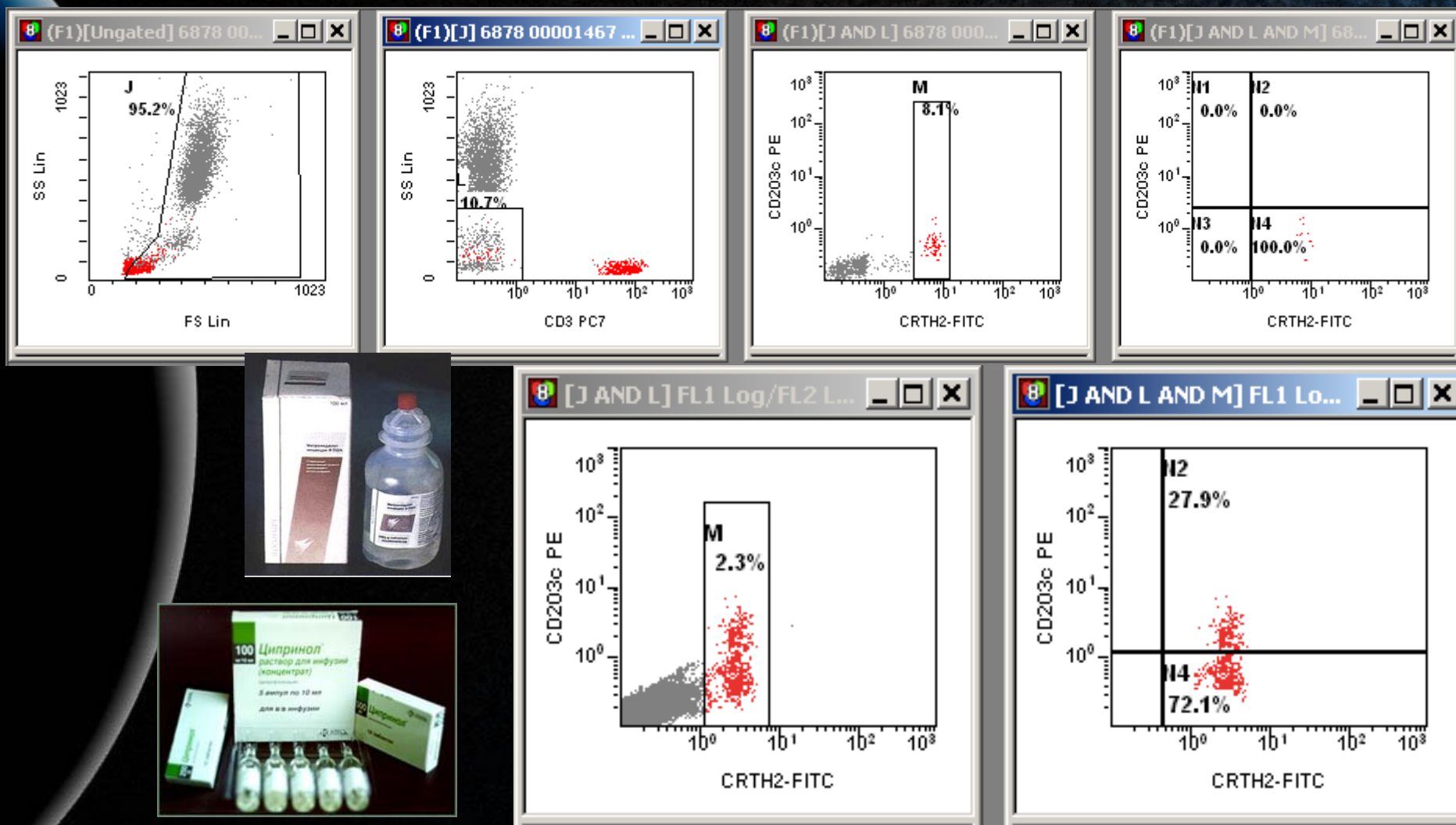


Позитивный контроль



Лекарственная непереносимость

0 – не противопоказано
1 - не рекомендовано
2 - противопоказано



Прв проведении исследования на дегрануляцию базофилов с препаратом Ципринол относительное содержание активированных базофилов составляет 27,9%

Препарат	% активированных базофилов
новокаин	1,5
септанест	0
визин	1,8
аналгин	0
Тиамин хлорид	0,5
кетанов	0
Натуральная слеза	2,0
пиридоксин	0
ультоп	72,6
микразим	27,5
сумамед	0,2
церукал	2,3

мелисептол

лизафин

в разведениях 1:10, 1:100, 1:1000, 1:2000 происходит разрушение клеток крови. Сохранные базофилы не выявлены. Проведение исследования невозможно. Данный факт не является особенностью клеток крови пациентки, а обладает повторностью в ряду из нескольких образцов здоровой крови

Координированная работа профессионалов:



КОГДА УСПЕХ - НЕ ПРОСТО ВЕЗЕНИЕ