

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA ALERGIJA

SLAVICA DODIG*

Zahtjevi što se, glede laboratorijske dijagnostike alergijskih bolesti, postavljaju specijalistima medicinske biokemije i laboratorijske medicine, odnose se na odabir pretraga koje bi trebale: 1. odrediti vrstu alergijske reakcije otkrivanjem humoralnih (IgE) i staničnih posrednika (eozinofilni i bazofilni granulociti) alergijske reakcije; 2. otkriti moguće pokretače alergijske reakcije (specifični IgE prema alergenima i alergenskim komponentama); 3. procijeniti klinički tijek reakcije; 4. omogućiti praćenje uspješnosti alergen specifične imunoterapije; te 5. odrediti dijagnostičku djelotvornost određivanja pojedinih posrednika alergijske reakcije. Posebna pažnja treba biti usmjerena na interindividualne (zbog različite izloženost lokalnim kućnim i vanjskim alergenima) i intra-individualne razlike (zbog dnevnih varijacija ili varijacija zbog različitog vremena izloženosti alergenima) u vrijednostima parametara kojima se dijagnosticira preosjetljivost ili prati učinak terapije.

Deskriptori: ALERGIJA, BAZOFILNI GRANULOCITI, EOZINOFILNI GRANULOCITI, IgE, LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

UVOD

Budući da je prevalencija atopijskih bolesti u trajnom porastu pedijatri se sve više susreću s pacijentima kojima je neophodna cjelovita alergološka dijagnostika (1). Temeljem simptoma, povijesti bolesti i fizikalnog pregleda alergijska etiologija bolesti može se predvidjeti u oko polovice pacijenata (2).

Osnovna laboratorijska dijagnostika alergija temelji se na otkrivanju vrste alergijske reakcije (alergije posredovane IgE-om, odnosno alergije koje nisu posredovane IgE-om) i otkrivanju pokretača koji su do te reakcije doveli (IgE prema alergenskim ekstraktima i alergenskim komponentama). Korak dalje u laboratorijskoj dijagnostici predstavlja otkrivanje križne reaktivnosti između pojedinih alergena odnosno alergenskih komponenti, praćenje kliničkog tijeka reakcije i stupnja težine bolesti (3). Mnoge druge zahtjeve, primjerice praćenje uspješnosti

alergen specifične imunoterapije (ASIT), predviđanje razvoja "alergijskog tijeka", te predviđanje moguće buduće teške alergijske reakcije, u svakodnevnom je radu dostupnim laboratorijskim metodama nemoguće ispuniti.

Laboratorijske pretrage u svakodnevnoj alergološkoj praksi podrazumijevaju određivanje staničnih i humoralnih posrednika alergijske reakcije (Slika 1), kao što su: koncentracije ukupnog i specifičnog IgE-a, broj eozinofilnih odnosno bazofilnih granulocita, koncentracija eozinofilnoga kationskog proteina (ECP) i koncentracija triptaze (1, 2, 4, 5). Identifikacija membranskih biljega bazofilne aktivacije (CD63), oslobađanje histamina iz bazofilnih granulocita te određivanje IgE-a prema alergenskim komponentama metodama na biočipovima (*microarray*) još uvijek nisu zaživjele u svakodnevnoj laboratorijskoj praksi u Hrvatskoj (3).

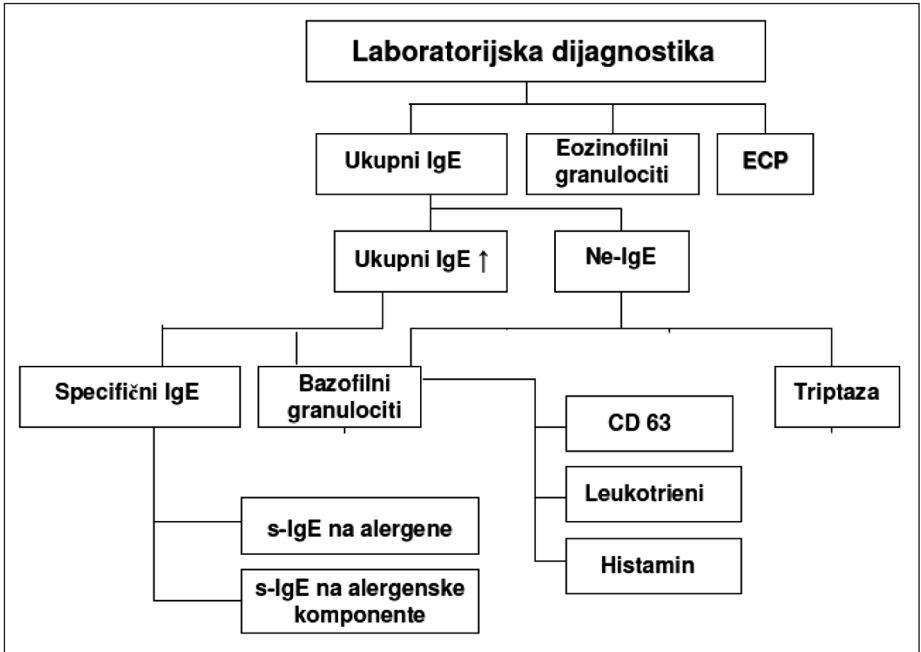
Kako bi se rezultati laboratorijskih analiza mogli što kvalitetnije upotrijebiti u dijagnostičkom postupku, potrebno je poznavati domete tih analiza odnosno njihovu dijagnostičku vrijednost, koja je uvjetovana i predanalitičkim i analitičkim odrednicama. Problem korelacije

in vivo i *in vitro* postupaka svakodnevno je prisutan u dijagnostici alergijskih bolesti. Primjena standardiziranih alergenskih pripravaka, kako za dijagnostičke postupke *in vivo* tako i za dijagnostičke postupke *in vitro* jedan je od preduvjeta za njihovu dobru korelaciju. Nova generacija standardiziranih laboratorijskih metoda i primjena standardiziranih alergenskih ekstrakata pridonijela je boljoj dijagnostičkoj vrijednosti tih metoda.

KONCENTRACIJA UKUPNOG IgE

Koncentracija IgE-a u serumu djece mijenja se od veoma niskih vrijednosti u dojenačkoj dobi do višestruko većih vrijednosti poslije devete godine života (Tablica 1). Povećanje koncentracije IgE-a u prve je tri godine 30-ak %, a nakon 4. godine povećanje je manje, u prosjeku 10-ak %. Poslije devete godine života koncentracija IgE-a ne mijenja se značajnije. Trend povećanja koncentracije IgE-a je podjednak i u djece s atopijom i u djece bez atopije (6).

Temeljem referentnih vrijednosti IgE-a (Tablica 1) ne mogu se strogo odijeliti djeca s dokazanom atopijom od djece bez atopije, jer oko 5% djece bez atopije ima IgE veći od gornjih referen-



Slika 1.
Postupnik laboratorijske dijagnostike alergija. Prikazani su medijatori alergija koje su posredovana IgE-om i alergija koje nisu posredovana IgE-om.

Figure 1
Algorhitm of laboratory diagnosis of allergies. Mediators of IgE-mediated and non-IgE-mediated allergies are presented.

tnih granica odnosno 10-ak % djece s atopijom ima IgE unutar određenih referentnih intervala za dob (6). Iako većina djece s atopijom ima povećane vrijednosti ukupnoga IgE, vrijednosti unutar referentnih intervala moraju se oprezno tumačiti zbog dobnih i sezonskih varijacija.

Djeca s atopijom, čija je koncentracija ukupnog IgE veća od 1000 kIU/L uvijek imaju povećanu koncentraciju sIgE-a na neki alergen. Najizraženije povećanje koncentracije IgE-a imaju bolesnici sa sindromom atopijskog dermatitisa, potom slijede bolesnici sa astmom, cjelogodišnjim alergijskim rinitisom te sezonskim alergijskim dermatisom (7). Kod osoba s preosjetljivošću na sezonske alergene vršna koncentracija IgE-a može se izmjeriti 4-6 tjedana nakon vrhunca peludacije. Iskustvo je pokazalo da se koncentracija IgE-a u egzacerbaciji bolesti, primjerice astme, može prolazno smanjiti tri dana od napadaja.

Vrijednosti IgE-a manje od 10 kIU/L u djece mlađe od 6 godina ne isključuju postojanje senzibilizacije na pojedine alergene, pa ako postoji opravdana

klinička sumnja na alergiju potrebno je odrediti koncentracije sIgE-a na moguće uzročne alergene (8). Iako su mišljenja podijeljena, čini se da bi vrijednosti IgE-a u djece mlađe od 16 godina mogle korelirati sa stupnjem težine bolesti, što vjerojatno ovisi o trajanju izloženosti uzročnome alergenima (9).

BROJ EOZINOFILNIH I BAZOFILNIH GRANULOCITA

Iako u alergijskim reakcijama sudjeluju mnoge stanice u svakodnevnoj praksi najčešće se na brojačima krvnih stanica određuje broj eozinofilnih i bazofilnih granulocita u krvi i mikroskopski broj eozinofilnih granulocita u nosnom obrisku. Pri tumačenju broja eozinofilnih granulocita u krvi treba imati u vidu dnevni ritam (vrijednosti ujutro manje su od vrijednosti navečer) dinamiku otpuštanja eozinofilnih granulocita iz koštane srži (u cirkulaciji se zadržavaju 8-12 sati) odnosno njihovu migraciju u tkiva zahvaćena alergijom (u tkivima perzistiraju 8-12 dana), te izloženost uzročnom alergenima, osobito ako se radi o sezonskim alergenima. Činjenica da je eozinofilija izraženija u vrijeme izloženosti

Tablica 1.
Gornje granice koncentracije IgE-a u 95% djece prema dobi, pripremljeno prema Dodig i sur (6)

Table 1
Upper limits of IgE concentration in 95% of children according to the age, adapted according to Dodig et al. (6)

Dob/Age (godine/years)	IgE (kIU/L)
<1	20,2
1	30,4
2	38,6
3	57,0
4	57,2
5	65,4
6	73,0
7	82,6
8	76,4
9	98,4
10	102,6
11	104,8
12	101,4
13	97,4
14	94,2
15	105,2
16	100,0

Centilne vrijednosti koncentracije IgE-a određene su s dijagnostičkom osjetljivošću od 84-100%, i specifičnošću od 82-97%, ovisno o dobnoj skupini. Centile values of IgE-concentration are determined with diagnostic sensitivity of 84-100%, and specificity of 82-97%, regarding the age group.

uzročnom alergenima, korelira s težinom alergijske upale i u bolesnika s više alergijskih bolesti (primjerice sindrom atopijskog dermatitisa i astma), omogućuje longitudinalno praćenje bolesnika (10). Zbog migracije u tkiva, u tijeku akutnog astmatskog napadaja u cirkulaciji se broj eozinofilnih granulocita prolazno smanjuje, a nakon tri dana ponovno se pojavljuje eozinofilija. Broj eozinofilnih granulocita treba oprezno tumačiti ako bolesnik ima akutnu bakterijsku ili virusnu infekciju ili prima sistemske kortikosteroide. Eozinofilija postoji i u osoba koje imaju infekciju s parazitima, u bolesnika

*Dječja bolnica Srebrnjak
Odjel za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku

Adresa za dopisivanje:
Prof. dr. sc. Slavica Dodig
Dječja bolnica Srebrnjak
Odjel za kliničko-laboratorijsku dijagnostiku
10000 Zagreb, Srebrnjak 100

s malignim bolestima, sistemskim auto-imunim bolestima, odnosno u bolesnika s hipereozinofilnim sindromom. Općenito se može reći da broj eozinofilnih granulocita u krvi predstavlja nedovoljno osjetljiv parametar specifičnoga upalnog odgovora u tkivima (11). Budući da nalaz kompletne krvne slike sadrži i relativni i apsolutni broj eozinofilnih i bazofilnih granulocita u krvi nije potrebno njihov broj određivati nestandardiziranim metodama.

EOZINOFILNI KATIONSKEI PROTEIN

Određivanje koncentracije ECP-a, toksičnoga proteina oslobođenog iz granula eozinofilnih granulocita, u svakodnevnom radu omogućuje praćenje tijekom alergijske reakcije, jer povećana koncentracija ECP-a (kao i broj eozinofilnih granulocita) ukazuje na akutnu izloženost alergenima odnosno jačinu alergijske upale. Vrijednosti ECP-a u djece <15 µg/L ne ukazuju na alergijsku upalu. Određivanje ECP-a u male djece kod koje se u tijeku respiratorne infekcije razvijaju znakovi piskanja, vrijednosti ECP-a >20 µg/L imaju prediktivnu vrijednost jer ukazuju na povećani rizik pojave astme u školskoj dobi (12). U bolesnika koji dobivaju protuupalnu terapiju određivanje ECP-a može se koristiti za praćenje stupnja alergijske upale. Bolesnik s vrijednostima ECP-a od 15-25 µg/L trebao bi nastaviti s terapijom, a kod bolesnika s vrijednostima ECP-a >25 µg/L terapija bi se trebala korigirati (13). Budući da eozinofilni granulociti degranuliraju u tkivima, koncentracija ECP-a povećana je u tijeku egzacerbacije alergijske bolesti, a nakon primijenjene specifične protuupalne terapije vrijednosti ECP-a vraćaju se unutar referentnih vrijednosti.

Svakodnevna praksa pokazala je da je dijagnostička vrijednost određivanja ECP-a ograničena zbog mnogih predanalitičkih interferencija, primjerice dnevnog ritma ECP-a (noću su vrijednosti veće nego danju), vrsti gel-separatora i aktivatora koagulacije koji se nalaze u epruvetama za uzorkovanje, temperaturi i vremenu na kojima se odvija koagulacija krvi u epruveti prije centrifugiranja, mogućoj hemolizi uzorka krvi i načinu pohrane uzorka do analize (14). Ti su podatci osobito važni kod longitudinalnog

Tablica 2.
Vrijednosti specifičnih IgE-a u serumu (16)
Table 2
Values of specific IgE in serum (16)

Specific IgE (kUA/L)	Razred Class	Tumačenje Interpretation
<0,35	0	Negativan Negative
0,36-0,70	1	Slabo pozitivan Low positive
0,71-3,50	2	Umjereno pozitivan Moderate positive
3,60-17,50	3	Jako pozitivan High positive
17,60-50,00	4	Izrazito povećan Very high
51,00-100,00	5	Izrazito povećan Very high
>100,00	6	Izrazito povećan Very high

praćenja svakog bolesnika, kako bi se krv uzorkovala uvijek u isto vrijeme, a s uzorkom rukovalo tako da se spriječe barem poznate predanalitičke interferencije.

KONCENTRACIJA ALERGEN-SPECIFIČNIH IgE

Nakon što se kožnim ubodnim testom otkriju alergeni uzročnici biološke preosjetljivosti, potrebno je prisutnost specifičnih IgE usmjerenih protiv tih alergena otkriti u serumu pacijenta s kliničkom slikom alergijske bolesti. Kožno testiranje odražava lokalnu biološku aktivnost IgE-a posredovanu dugo-živućim stanicama, a određivanje sIgE-a u serumu odražava trenutnu imunu aktivnost (15). Postoji mogućnost određivanja sIgE-a prema mješavini alergena, primjerice sezonskim alergenima ili alergenima iz hrane.

Iako se katkad temeljem sIgE-a prema mješavinama alergena može isključiti alergija (u osoba koje ionako imaju malu vjerojatnost alergije), određen broj lažno negativnih rezultata ograničava širu primjenu takvog postupka. Bolju dijagnostičku značajnost ima određivanje sIgE-a prema pojedinačnim alergenima. Ako se koncentracija specifičnih IgE određuje standardiziranom metodom re-

zultati se, osim u razredima 1-6, mogu izražavati kvantitativno, u rasponu od 0,36 do 100 kUA/L (Tablica 2) (4, 16).

Povećana koncentracija sIgE-a ukazuje da je osoba senzibilizirana na određeni alergen, što još uvijek ne mora značiti i dijagnozu alergije. I obratno, negativan nalaz nužno ne isključuje alergiju. Mogući lažno pozitivni i lažno negativni nalazi mogu se izbjeći ako se zahtjevi za analizom odnose na alergene za koje se sumnja da su uzrokovali kliničku sliku, imajući u vidu trenutnu izloženost uzročnom alergenima. Izrazito povećana koncentracija sIgE-a povećava vjerojatnost pojave kliničkih simptoma ako je dijete izloženo alergenima, ali nije utvrđena korelacija između koncentracije sIgE-a i težine simptoma (17). Vrijednosti sIgE-a u rasponu od 0,71 do 3,50 kUA/L (sIgE razred 2), što se interpretira kao graničan nalaz, ne znače nužno i klinički značajnu preosjetljivost za sve vrste alergena ali ukazuju na moguću preosjetljivost koja zahtijeva daljnje praćenje i ponavljanje pretrage kako bi se pravovremeno otkrila izražena preosjetljivost na uzročni alergen (koncentracija sIgE >3,51 kUA/L, sIgE razred 3) (8).

Koncentracija sIgE-a ovisi o vrsti uzročnih alergena. Najbolju dijagnostičku značajnost ima određivanje sIgE-a

prema inhalacijskim alergenima, manju prema nutritivnim alergenima, a najmanju prema alergenima beta-laktamskih lijekova i alergenima otrova opnokrilaca. Takvi podatci usmjerili su istraživanja prema definiranju graničnih vrijednosti sIgE-a za različite alergene. Noviji radovi ukazuju da vrijednosti sIgE koje se do sada nisu smatrale značajnima za dokazivanje preosjetljivosti, razred 0 (sIgE <0,35 kUA/L) i razred 1 (sIgE 0,35-0,70 kUA/L), također imaju prediktivnu vrijednost. U djece mlađe od 2 godine granične vrijednosti sIgE-a (≥0,35 kUA/L) na jaja, brašno ili inhalacijske alergene ukazuju na moguću pojavu alergije u kasnijoj dobi (18). U te djece određivanje sIgE-a može ubrzati ranu dijagnostiku astme posebno u slučajevima bez jasnoga kliničkog očitovanja atopije. Čini se da preosjetljivost na kravlje mlijeko u ranoj dječjoj dobi nije povezana s kasnijim komplikacijama čak ni pri koncentraciji sIgE od 0,70 do 3,50 kUA/L (18). Za pouzdano otkrivanje preosjetljivosti na alergen otrova ose potrebna je visoko osjetljiva metoda za sIgE s granicom detekcije od samo 0,10 kUA/L (19). Ti

Tablica 3.
Dijagnostička djelotvornost graničnih vrijednosti koncentracije specifičnih IgE-a prema alergenima hrane, predvidljive za kliničku reaktivnost kod djece (pripremljeno prema ref. 20).

Alergen Allergen	Granična vrijednost Cut-off value (kIUA/L)	Osjetljivost Sensitivity (%)	Specifičnost Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Bjelanjak jajeta Egg white	7	61	95	98	38
Djeca ≤2 godine Infants ≤2 years	2			95	
Mlijeko Milk	15	57	94	95	53
Djeca ≤2 godine Infants ≤2 years	5			95	
Kikiriki Peanut	14	57	100	100	36
Riba Fish	20	25	100	100	89
Soja Soybean	30	44	94	73	82
Brašno Wheat	26	61	92	74	87

PPV - Pozitivna predvidljiva vrijednost (Positive predictive value); NPV - Negativna predvidljiva vrijednost (Negative predictive value)

podatci ukazuju da granične vrijednosti sIgE-a nemaju jednaku dijagnostičku vrijednost za sve alergene, pa će ih biti potrebno korigirati.

Koncentracija sIgE-a prema nutritivnim alergenima može imati predvidljivu vrijednost za klinički ishod izlaganja djece određenim alergenima (Tablica 3), a granične vrijednosti ovise o vrsti alergena i o dobi djeteta (20). Koncentracija sIgE-a na alergene hrane može biti lažno smanjena (negativna) ako se radi o labilnim alergenima (mijenjaju strukturu kuhanjem ili u tijeku industrijske pripreme odnosno u tijeku digestije).

Vrijednosti sIgE-a mijenjaju se ovisno o izloženosti pacijenta uzročnim alergenima, tako da su u osoba preosjetljivih na pelud, primjerice, značajno veće u tijeku sezone peludacije i nakon nje nego prije sezone peludacije. Tu je činjenicu važno znati pri longitudinalnom praćenju bolesnika, osobito ako se temeljem vrijednosti sIgE-a želi pratiti učinak ASIT-a. Imajući u vidu poluživot IgE-a, kod osoba kod kojih treba odrediti kon-

centraciju sIgE-a na alergene lijekova (primjerice glavnih penicilinskih alergenskih komponenti) ili alergene otrova opnokrilaca važno je vrijeme uzorkovanja krvi u kojoj će se odrediti koncentracija IgE-a. Nakon anafilaksije poželjno je koncentraciju sIgE-a na mogući uzročni alergen odrediti 2 do 3 tjedna nakon incidenta. Nije uputno odrediti koncentraciju sIgE-a ako je od incidenta prošlo više od 6 mjeseci. Određivanje koncentracije sIgE-a u tom razdoblju smanjuje pojavu lažno negativnih rezultata. Kao i kod koncentracije ukupnog IgE-a, u egzacerbaciji bolesti, može se koncentracija specifičnog IgE-a prema uzročnome alergenima prolazno smanjiti tri dana od napadaja.

Zahvaljujući primjeni pročišćenih prirodnih i rekombinantnih alergenskih komponenti moguće je postojećom tehnologijom za određivanje sIgE-a ispitivati križnu reaktivnost između alergenskih komponenti sa sličnom strukturom - primjerice postoji križna reaktivnost između glavnog alergena breze Bet v1 s alergenom kikirikija Ara h8 (21, 22). U

Tablica 4.
Preporučene metode
Table 4
Recommendations for testing

Simptomi (Symptoms)	Metode in vitro
Alergijski rhinitis (Allergic rhinitis) Astma (Asthma)	sIgE - sezonski alergeni (trave, stable, korovi, plijesni) sIgE - seasonal allergens - grass, tree, weed, mould sIgE - cjelogodišnji alergeni (grinje iz kućne prašine, epitel mačke), imajući u vidu sezonsku preosjetljivost sIgE - perennial allergens (house dust mite, cat), consider seasonal hypersensitivity
Urtikarija/angioedem/anafilaksija/ gastrointestinalni simptomi Urticaria-angioedema / Anaphylaxis / Gastrointestinal symptoms	sIgE - alergeni hrane (bjelanjak jajeta, mlijeko, bakalar, brašno, kikiriki, soja) sIgE - food allergens (egg white, milk, cod, wheat, peanut, soy bean)
Ekcem Eczema	sIgE - inhalacijski i nutritivni alergeni sIgE - inhalant allergen plus food allergen
Alergija na lateks/otrove opnokrilaca/alergene penicilina Latex allergy / Venom allergy/Penicillin allergy	sIgE - alergeni i alergenske komponente specifični za agense 2-3 tjedna do 6 mjeseci nakon incidenta/testovi aktivacije bazofilnih granulocita sIgE - allergen and allergen components specific IgE to relevant agents 2-3 weeks to 6 months after event/basophil activation tests
Moguća anafilaksija Possible anaphylaxis	Određivanje triptaze u serumu između 1 i 6 sati nakon incidenta. Razmotriti sIgE na lateks (vrijeme operacije)/ testovi aktivacije bazofilnih granulocita Measure serum tryptase between 1 and 6 hours after event. Consider latex IgE(in perioperative setting)/basophil activation tests
Oralni alergijski sindrom Oral Allergy Syndrome	sIgE - alergeni koji križno reagiraju s alergenima peluda stabala (osobito alergenima peluda breze): termo-labilni alergeni voća, povrća i orašastih plodova (lješnjak, badem, kikiriki i orah). Zbog termo-labilnosti mogu dati lažno-negativne rezultate sIgE-a. Negativan test ne isključuje alergiju. Cross-reactive allergens with tree pollen allergens (particularly birch pollen allergens): heat-labile allergens from fruits, vegetables and nuts (especially hazel and almond, but also peanut and walnut). As these allergens are heat-labile, false-negative results of sIgE are possible. Negative tests here do not exclude allergy.

nekim europskim centrima moguće je, s pomoću biočip tehnologije, iz vrlo male količine seruma simultano odrediti panele sIgE-a prema većem broju alergenskih komponenti (23).

AKTIVACIJA BAZOFILNIH
GRANULOCITA

Ovoj skupini pretraga pripadaju određivanje koncentracije oslobođenoga histamina, leukotrijena ili površinskih biljega (CD 63) nakon što se bazofilni granulociti aktiviraju uzročnim alergenom *ex vivo* (24, 25). Zasad te metode još uvijek nisu doživjele kontinuiranu svakodnevnu primjenu, ali će, kada postanu dio svakodnevne laboratorijske dijagnostike unaprijediti laboratorijsku dijagnostiku u području ispitivanja uloge bazofilnih granulocita u alergijskim bolestima.

TRIPTAZA

Procjenjivanje kliničkoga tijeka alergijske reakcije teoretski je moguće

određivanjem koncentracije triptaze, enzima iz granula bazofilnih granulocita, kao biljega anafilaksije (rana reakcija) ili ECP (kasna reakcija) (26). Povećana koncentracija triptaze (>13,5 µg/L) može se dokazati unutar 3-6 sati poslije anafilaktičke reakcije, a nakon 12-14 sati koncentracija triptaze se vraća unutar graničnih vrijednosti. Ima naznaka da bi se njezina koncentracija mogla pratiti u svrhu praćenja alergen specifične imunoterapije osoba preosjetljivih na otrove opnokrilaca (27).

PRAĆENJE USPJEŠNOSTI ALERGEN-
SPECIFIČNE IMUNOTERAPIJE

Bilo bi korisno kad bi postojali biomarkeri temeljem kojih bi se mogla pratiti uspješnost ASIT-a. Međutim, u tom području još uvijek postoje brojni, zasa-da neriješeni problemi, koji se odnose na interindividualne i intraindividualne varijacije te na laboratorijske metode:

- različiti imunološki patomehanizmi koji su doveli do alergijske bolesti;

- istodobna primjena simptomaticke i protuupalne terapije;

- dugotrajnosti provođenja ASIT-a (nema pokazatelja koji bi u ranoj fazi terapije mogli predvidjeti ishod ASIT-a);

- odabir biomarkera i definiranje njihovih graničnih vrijednosti koje bi pokazale postoji ili ne postoji zaštitno djelovanje nekog dijela imunološkog sustava;

- vrijeme izloženosti alergenima u trenutku uzorkovanja krvi;

- stalno mijenjanje i unapređivanje laboratorijskih postupaka, pa se katkad rezultati s početka ASIT-a ne mogu pouzdano uspoređivati s rezultatima na kraju ASIT-a;

- mnogi od laboratorijskih postupaka kojima bi se mogli odrediti neki biomarkeri (imunoglobulinski podrazredi, subpopulacije stanica, citokini) još su u okvirima znanstvenih istraživanja.

UMJESTO ZAKLJUČKA

Alergijske bolesti mogu zahvatiti brojne organe odnosno sustave. Očituju se na očima, koži, probavnom i dišnom sustavu, te središnjem živčanom sustavu, a mogu se očitovati i kao sustavna alergijska reakcija. Iako se radi o različitim očitovanjima, neki su patomehanizmi tih bolesti zajednički, pa je i opći pristup laboratorijskoj dijagnostici zajednički. Neke metode primjenjuju se u probiru alergija (ukupni IgE, broj eozinofilnih granulocita), a neke u otkrivanju preosjetljivosti na određene alergene ili alergenske komponente (određivanje specifičnih IgE-a). Posebna pažnja treba biti usmjerena na činjenicu da postoje interindividualne (zbog različite izloženost lokalnim kućnim i vanjskim alergenima) i intraindividualne razlike (zbog dnevnih varijacija, vremena izloženosti alergenima) u vrijednostima parametara kojima se dijagnosticira preosjetljivost ili prati učinak terapije. U Tablici 4. prikazane su metode koje bi se mogle preporučiti kao racionalna laboratorijska dijagnostika preosjetljivosti na alergene.

Od dijagnostičkih se postupaka očekuje da budu točni i precizni, da imaju što manje interferirajućih čimbenika (28, 29). Kako bi se rezultati in vitro metoda mogli koristiti u kliničkoj praksi nužno je poznavati domete tih pretraga (definirane granične vrijednosti i parametre dijagnostičke djelotvornosti), njihove prijeanalitičke, analitičke i poslijeanalitičke interferencije. Budući da su podatci o dijagnostičkoj djelotvornosti u literaturi značajno različiti, bilo bi najbolje imati vlastite rezultate (30-32).

Posljednjih su dvadesetak godina u Hrvatskoj učinjeni značajni naponi kako bi se metode laboratorijske dijagnostike alergija harmonizirale i kako bi rezultati dobiveni u različitim laboratorijima bili usporedljivi, što je doprinosilo značajnim uštedama u zdravstvenom sustavu. Međutim, danas, u eri tržišne ekonomije, svjedoci smo uvođenja metoda kojima dijagnostička djelotvornost nije dostigla već utvrđene standarde, pa je velika odgovornost na svima koji u uvođenju standardiziranih metoda odlučuju.

LITERATURA

1. Downs SH, Marks GB, Sporik R, Belosouva EG, Car NG, Peat JK. Continued increase in the prevalence of asthma and atopy. Arch Dis Child 2001; 84: 20-3.
2. Williams PB, Ahlstedt S, Barnes JH, Soderstrom L, Portnoy J. Are our impressions of allergy test performances correct? Ann Allergy Asthma Immunol 2003; 91: 26-33.
3. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. Clin Exp Allergy 2010; 40: 1442-60.
4. Johansson SGO. ImmunoCAP. Specific IgE test: an objective tool for research and routine allergy diagnosis. Expert Rev Mol Diagn 2004; 4: 273-9.
5. Payne V, Kam PC. Mast cell tryptase: a review of its physiology and clinical significance. Anaesthesia 2004; 59: 695-703.
6. Dodig S, Richter D, Benko B, Živčić J, Raos M, Nogalo B, Čepelak I, Dodig M. Cut-off values of total serum IgE between nonatopic and atopic children in North-West Croatia. Clin Chem Lab Med 2006; 44: 639-47.
7. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils and eosinophils. J Allergy Clin Immunol 2010; 125: 73-80.
8. Zrinski Topić R, Dodig S, Živčić J. Raos M. Allergen specific immunoglobulin E in children under 6 years old with total immunoglobulin E below 10 kU/L. Labmedicine 2011; 42: 158-60.
9. Kovač K, Dodig S, Tješić-Drinković Dorian, Raos M. Correlation between asthma severity and serum IgE in asthmatic children sensitized to Dermatophagoides pteronyssinus. Arch Med Res 2007; 38: 99-105.
10. Dodig S, Raos M, Zrinski Topić R. Eozinofilija u djece sa sindromom atopijskog ekcema/dermatitisa. Paediatr Croat 2010; 54: 59-63.
11. Wardlaw AJ, Brightling C, Green R, Woltmann G, Pavord I. Eosinophils in asthma and other allergic diseases. Brit Med Bull 2000; 56: 985-1003.
12. Hyvärinen MK, Kotaniemi-Syrjänen A, Reijonen TM, Piippo-Savolainen E, Korppi M. Eosinophil activity in infants hospitalized for wheezing and risk of persistent childhood asthma. Pediatr Allergy Immunol 2010; 21: 96-103.
13. Dodig S. Current laboratory diagnosis of allergy. Rad. Medical Sciences 2008; 32: 117-28.
14. Zrinski Topić R, Dodig S. ECP - current concepts and controversies. Biochemia Medica 2011; 21: 111-21.
15. Ahlstedt S. Understanding the usefulness of specific IgE tests in allergy. Clin Exp Allergy 2002; 32: 11-6.

16. Plebani M. Clinical evaluation and cost-benefit analysis of a new system (Pharmacia CAP system) for the identification of specific IgE. Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, 1991; 52: 5103-40.
17. Matsui EC, Sampson HA, Bahnson HT. Allergy, Allergens and Environmental Exposures. Allergen-Specific IgE as a Biomarker of Exposure Plus Sensitization in Inner-City Adolescents With Asthma. Allergy 2010; 65: 1414-22.
18. Kotaniemi-Syrjänen A, Reijonen TM, Romppanen J, Korhonen K, Savolainen K, Korppi M. Allergen-specific immunoglobulin E antibodies in wheezing infants: the risk for asthma in later children. Pediatrics 2003; 111: 255-61.
19. Guerti K, Bridts CH, Stevens WJ, Ebo DG. Wasp-venom-specific IgE: Towards a new decision threshold? J Investig Allergol Immunol 2008; 18: 316-23.
20. Sampson HA. Food Allergy. J Allergy Clin. Immunol. 2003; 111: 540-7.
21. Mothes N, Valenta R, Spitzauer S. Allergy testing: the role of recombinant allergens. Clin Chem Lab Med 2006; 44: 125-32.
22. Nicolaou N, Custovic A. Molecular diagnosis of peanut and legume allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2011; 11: 222-8.
23. Bohle B. The impact of pollen related food allergens on pollen allergy. Allergy, 2007; 62: 3-10.
24. Rudolf M, Milavec-Puretić V, Lipozenčić J, Malenica B. Clinical usefulness of cellular antigen stimulation test in detection of aspirin allergy. Acta Dermatovenerol Croat. 2005; 13: 93-6.
25. Demoly P, Lebel B, Arnoux B. Allergy review series X: Progress in diagnosis of allergy in vitro - Allergen induced mediator release tests. Allergy 2003; 58: 553-8.
26. Edston E, van Hage-Hamsten M, Johansson SG. Tryptase - at last a useful diagnostic marker for anaphylactic death. Allergy 1996; 51: 443-4.
27. Cichocka-Jaros E, Dorynska A, Pietrzyk JJ, Spiewak R. Laboratory markers of mast cell and basophil activation in monitoring rush immunotherapy in bee venom-allergic children. Immunotherapy 2011; 3: 1013-7.
28. Williams PB, Barnes JH, Szeinbach SL, Sullivan TJ. Analytic precision and accuracy of commercial immunoassays for specific IgE: establishing a standard. J Allergy Clin Immunol. 2000; 105: 1221-30.
29. Dolen WK. IgE antibody in the serum-detection and diagnostic significance. Allergy 2003; 58: 717-23.

30. Jung YG, Kim KH, Kim HY, Dhong HJ, Chung S. Predictive Capabilities of Serum Eosinophil Cationic Protein, Percentage of Eosinophils and Total Immunoglobulin E in Allergic Rhinitis without Bronchial Asthma. J Int Med Res 2011; 39: 2209-16.
31. Choi IS, Koh YI, Koh JS, Lee MG. Sensitivity of the skin prick test and specificity of the serum-specific IgE test for airway responsiveness to house dust mites in asthma. J Asthma 2005; 42: 197-202.
32. Hamilton RG. Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity. J Allergy Clin Immunol 2010; 125 (2): 284-96.

Summary

LABORATORY DIAGNOSIS OF ALLERGY

S. Dodig

The requests made to medical biochemistry and laboratory medicine specialists for laboratory diagnosis of allergic diseases refer to a battery of tests that should provide the following: 1. determine the type of allergic reaction by detecting humoral (total IgE) and cellular mediators (eosinophil and basophil granulocytes) of allergic reaction; 2. identify a possible triggers of allergic reaction (specific IgE to allergens and allergen components); 3. assess the clinical course of allergic reaction (tryptase); 4. enable specific immunotherapy monitoring; and 5. estimate diagnostic efficiency of determination of particular mediators of allergic reaction. Special attention must be directed to interindividual variations (because of different exposure to different local indoor/outdoor allergens) and intraindividual variations (because of diurnal variations, or variations caused by different time of exposure to allergen) of the parameters that are used for the diagnosis of hypersensitivity and for the monitoring of therapy.

Descriptors: ALLERGY, BASOPHIL GRANULOCYTE, EOSINOPHILN GRANULOCYTE, IgE, LABORATORY DIAGNOSIS

Primljeno/Received: 25. 1. 2012.

Prihvaćeno/Accepted: 5. 4. 2012.