



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**  

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**  
**Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**

# **Vybrané laboratorní metody využívané při diagnostice a terapii alergické rhinitidy**

## **Selected laboratory methods used in the diagnosis and treatment of allergic rhinitis**

**Bakalářská práce**

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: Mgr. Romana Široká Ph.D.

**Barbora Čápková**

---

**Kladno, květen 2016**

Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

Akademický rok: 2015/2016

## Z a d á n í   b a k a l á ř s k é   p r á c e

Student: **Barbora Čápková**  
Obor: Zdravotní laborant  
Téma: **Vybrané laboratorní metody využívané při diagnostice a terapii alergické rhinitidy**  
Téma anglicky: Selected laboratory methods used in the diagnosis and treatment of allergic rhinitis

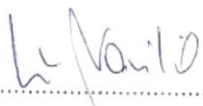
### Z á s a d y   p r o   v y p r a c o v á n í :

Předmětem bakalářské práce bude porovnat vybrané metody využívané při diagnostice a terapii alergické rhinitidy. V teoretické části se bude pojednávat o kožních prick testech a o laboratorních metodách využívaných v alergologii jako je vyšetření specifických imunoglobulinů - IgE a o nejmodernější diagnostice pomocí CRD, tzn. komponentové diagnostice pomocí rekombinantů. Část práce bude věnována alergické rhinitidě, jejích klinických projevech a možnostech terapie, kam patří i specifická imunoterapie, která je využívána při léčbě alergické rhinitis se senzibilizací na pyly jarních stromů (bříza), trav, plevelů, roztočů a zvířat. V praktické části se bude bakalářská práce zabývat porovnáním správnosti indikace ke specifické imunoterapii dle výsledků kožních prick testů a následně provedeného kontrolního laboratorního ověření komponentovou diagnostikou.

### Seznam odborné literatury:

- [1] ŠPIČÁK V., PANZER V., PANZER P. , Alergologie, Galén, c2004, 348 s., ISBN 807262265
- [2] RYBNÍČEK O., SEBEROVÁ E., et al. , Průvodce specifickou alergenovou imunoterapií , ed. 1., ČIA, 2004, 52 s., ISBN 80-900130-6-6
- [3] ANDRÝS C. , Laboratorní příručka: laboratorní vyšetření v klinické imunologii a alergologii. , ed. 2. dopl., TAH, 2007, 163 s., ISBN 9788025409510

zadání platné do: 30.09.2017  
Vedoucí: Mgr. Romana Široká, Ph.D.  
Konzultant: MUDr. Barbora Ouředníková

  
.....  
vedoucí katedry / pracoviště

  
.....  
děkan

/ Kladně dne 18.12.2015

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Vybrané laboratorní metody využívané při diagnostice a terapii alergické rhinitidy vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k bakalářské práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č.121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon).

V Kladně dne:

.....

Barbora Čápková

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala Mgr. Romaně Široké Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce, vstřícnost při konzultacích, cenné rady a čas, který mi věnovala. Dále bych ráda poděkovala MUDr. Barboře Ouředníkové za uvedení do odborné problematiky, trpělivost a ochotu při konzultacích zejména k praktické části bakalářské práce.

## **Abstrakt**

V této bakalářské práci se pojednává zejména o diagnostických metodách využívaných v alergologické praxi při onemocnění alergickou rhinitidou. Mezi nejběžnější vyšetření prováděná alergologem patří: anamnéza, kožní Prick testy, laboratorní stanovení IgE specifických protilátek a komponentová diagnostika. Na základě výsledků těchto vyšetření je lékařem indikován nejvhodnější způsob léčby. Mezi způsoby léčby alergické rhinitidy patří: režimová opatření, farmakoterapie a specifická imunoterapie alergenem (SIT). Cílem této práce je ověřit diagnostickými metodami, především vyšetřením specifických IgE protilátek a komponentovou diagnostikou, vhodnost imunoterapie pro určitý vzorek pacientů. Dále výsledky jednotlivých typů vyšetření příslušně zpracovat a zhodnotit.

## **Klíčová slova**

alergie, alergická rhinitida, komponentová diagnostika, specifická imunoterapie alergenem

## **Abstract**

This bachelor thesis mainly discusses the topic of diagnostic methods applied in allergological practices in the time of allergic rhinitis illness. The most used examination for this illness carried by allergologist includes: anamnesis, dermatological Prick tests, laboratory assessment IgE of specific antibodies and component diagnostics. On the basis of these examination results, the doctor identifies the most suitable method of treatment. Among the methods of allergic rhinitis treatment belong: regime precautions, pharmacotherapy and specific allergen immuno-therapy (SAIT). The aim of this bachelor thesis is to verify through diagnostic methods, mainly through the investigation of specific IgE antibodies and component diagnostics, the pertinence of immunotherapy for specific sample of patients. Further on results of the individual types of investigations will be applicably processed and evaluated.

## **Key words**

allergy, allergic rhinitis, component diagnosis, allergen-specific immunotherapy

## Obsah

1	Úvod.....	9
2	Současný stav.....	10
2.1	Imunitní systém.....	10
2.1.1	Antigeny a protilátky .....	10
2.1.2	Složky imunitního systému.....	12
2.1.3	Mechanismy imunitního systému .....	13
2.2	Alergeny.....	13
2.2.1	Nomenklatura alergenů.....	13
2.2.2	Dělení alergenů .....	14
2.2.3	Rekombinantní alergeny .....	14
2.2.4	Zkřížené reakce alergenů .....	15
2.3	Imunopatologické reakce .....	16
2.3.1	Typ I – anafylaktický, reakce časně přecitlivělosti.....	16
2.3.2	Typ II – cytotoxický .....	16
2.3.3	Typ III – imunokomplexový.....	16
2.3.4	Typ IV – reakce oddálené přecitlivělosti .....	17
2.4	Alergická rhinitida .....	17
2.4.1	Alergeny spouštějící alergickou rhinitidu.....	18
2.4.2	Diagnostika alergické rhinitidy.....	18
2.4.3	Léčba alergické rhinitidy .....	24
2.4.4	Prevence vzniku alergické rhinitidy .....	27
3	Cíl práce.....	29
4	Metodika práce .....	30
4.1	Kožní Prick-testy.....	30
4.2	Laboratorní stanovení specifických IgE.....	32
4.3	Komponentová metoda .....	35

5	Výsledky .....	36
6	Diskuse.....	38
7	Závěr .....	47
8	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	48
9	Seznam použité literatury .....	50
10	Seznam použitých obrázků .....	56
11	Seznam použitých tabulek .....	57
12	Seznam použitých grafů.....	58



# 1 Úvod

V současné době narůstá prevalence i incidence alergických onemocnění. Každý třetí člověk, má zkušenosti s některým z nich. Větší nárůst incidence je zaznamenáván u dětí. Jedním z nejčastěji diagnostikovaných alergických onemocnění je alergická rhinitida, jejímž diagnostickým a terapeutickým metodám se tato bakalářská práce věnuje.

Alergická rhinitida je onemocnění, které se nezdá být závažné, ale komplikuje běžné školní či pracovní aktivity, snižuje kvalitu spánku nebo může narušovat sociální vztahy. Alergická rhinitida postihuje v 10-30 % dospělé osoby a až ve 40 % děti. (1) Na jejím vzniku se podílejí genetické faktory a faktory prostředí. Diagnostika a léčba tohoto onemocnění je velmi aktuálním a stále se vyvíjejícím tématem. Nejedná se totiž jen o mírnění symptomů doprovázejících alergickou rhinitidu (zejména antihistaminiky a nazálními kortikosteroidy), ale také o léčbu s dlouhotrvajícími účinky pomocí SIT (specifické alergenové imunoterapie).

Teoretická část bakalářské práce vysvětluje základy fungování imunitního systému, které tvoří úvod do alergologické problematiky. Objasňuje názvosloví alergenů a jejich různé typy, které spouští alergickou rhinitidu. Popisuje také zkříženou reaktivitu alergenů a typy imunopatologických reakcí. Teoretická část se dále věnuje většině využívaných diagnostických i léčebných metod alergické rhinitidy.

Praktická část se podrobně zabývá vybranými diagnostickými metodami, kterými je třeba ověřit správnost indikace vhodné imunoterapie. Mezi tyto metody patří zejména kožní Prick testy, stanovení specifických IgE protilátek a CRD (laboratorní komponentová diagnostika), jejichž výsledky budou sledovány u vybraného vzorku pacientů z alergologické ambulance, která je pro účel této bakalářské práce poskytla.

## 2 Současný stav

Pro správné pochopení mechanismu vzniku alergických onemocnění, jejich diagnostiky a léčby, je nezbytné porozumět fungování imunitního systému. Imunitní pochody jsou nepostradatelnou součástí řízení organismu. Reakce antigenu s protilátkou je základem sérologických metod, využívaných nejen v alergologii. Na principu vizualizace vzniklého komplexu antigenu s protilátkou funguje většina diagnostických vyšetření. (2) (3)

### 2.1 Imunitní systém

Imunitní systém patří spolu s nervovým a endokrinním mezi systémy regulační. Udržuje integritu organismu tím, že rozeznává i ničí potencionálně škodlivé struktury (mikroorganismy i vlastní poškozené nebo abnormální buňky). Pokud nedojde k odstranění těchto škodlivých struktur, může nastat selhání imunitního systému a mohou se rozvinout autoimunitní onemocnění. (4)

#### 2.1.1 Antigeny a protilátky

##### a) Antigeny

Antigeny jsou struktury, které IS rozpozná a reaguje na ně. Mohou být tvořeny různými chemickými látkami např. proteiny, glykoproteiny, komplexními polysacharidy, lipidy, lipoproteiny nebo fosfolipidy. Nejvíce obvyklé jsou tzv. exoantigeny, pro organismus cizí látky, které jsou zastoupeny infekčními činiteli a jejich produkty. Antigeny pro organismus vlastní se nazývají autoantigeny. (5)

Antigeny jsou rozpoznávány buňkami prezentujícími antigen, což jsou makrofágy, dendritické buňky a B lymfocyty. (5)

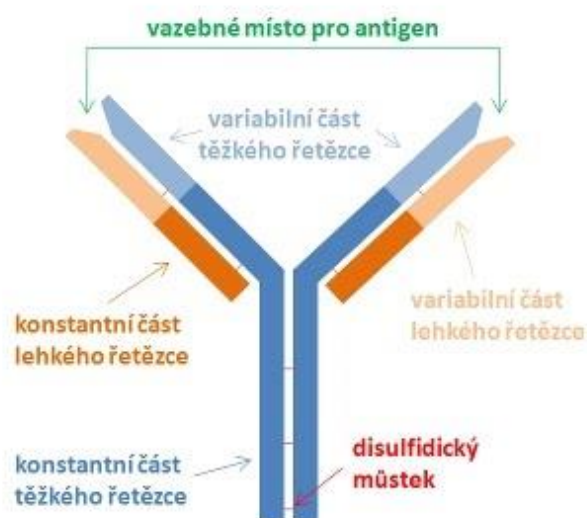
##### b) Protilátky

Protilátky jsou specifické struktury, které jsou syntetizovány jako odpověď na antigen. Specifita je zaměřena proti antigenní determinantě. Protilátky jsou výhradně tvořeny bílkovinami. K nalezení jsou ve tkáních i v krevní plazmě. Převážně jsou nazývány imunoglobuliny. (6)

Imunoglobuliny se dělí do pěti základních skupin: IgG, IgA, IgM, IgD a IgE.

- **IgG** je nejvíce zastoupenou třídou, je tvořen monomerem, prochází přes placentu.
- **IgA**, který je v krvi, má stejné složení jako IgG, ale sekreční IgA je ve formě dimeru.
- **IgM** má vysokou molekulární hmotnost, vzniká jako 1. Ig, působí proti virům a bakteriím. Je pentamerem.
- **IgD** je monomerem, nachází se na povrchu B lymfocytů, poté, co se naváže na antigen, má vliv na rozmach senné rinitidy a alergického astmatu.
- **IgE** lze nalézt např. ve slezině a v GIT, k jeho syntéze dojde při vniknutí parazitů nebo alergenů. Je monomerem. (6)

Všechny molekuly Ig jsou souměrné a tvoří je 2 stejné těžké řetězce (H-řetězce) a 2 shodné lehké řetězce (L-řetězce). Obsahují variabilní domény (1 na každém řetězci), které jsou místem, kam se váže antigen. Ve struktuře protilátek dále nalezneme konstantní domény (1 na L-řetězci, 3-4 na H-řetězci). Spojení mezi řetězci H a L je zajištěno několika disulfidickými vazbami (viz Obrázek 1). (7)



Obrázek 1 – Stavba imunoglobulinu – (8)

## 2.1.2 Složky imunitního systému

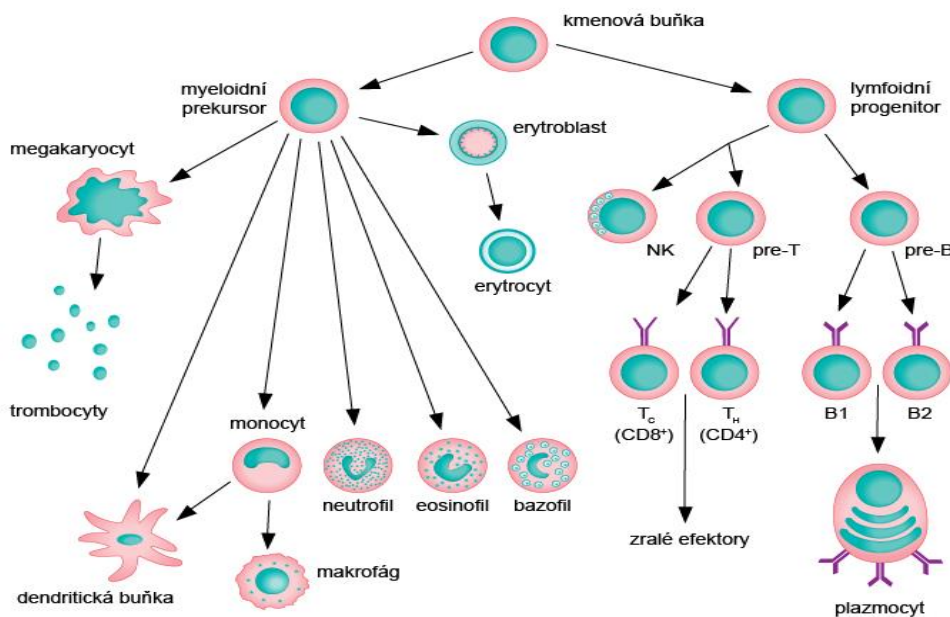
### a) Imunitní orgány

Hlavní složky IS představují primární a sekundární lymfatické orgány. Mezi primární lymfatické orgány patří kostní dřeň (u ptáků Bursa Fabricii) a thymus, tam vznikají a diferencují se buňky IS. T lymfocyty dozrávají v thymu, B lymfocyty v kostní dřeni, poté vstupují do krve. (2)

Do sekundárních lymfatických orgánů zařazujeme opouzdřené lymfatické uzliny, slezinu a neopouzdřenou lymfoidní tkáň, která je spojena se sliznicemi. Patří sem MALT (slizniční lymfatická tkáň), GALT (slizniční lymfatická tkáň v GIT) a BALT (slizniční lymfatická tkáň v dýchacích cestách). (9)

### b) Imunitní buňky (imunocyty)

Imunocyty jsou přítomny ve všech částech lidského těla. Často jejich přenos zajišťuje krev (zejména různé typy leukocytů), dále pak prostupují do extravaskulárních oblastí. Po narození člověka se s erytrocyty a trombocyty vyvíjejí ze společné kmenové buňky v kostní dřeni (viz Obrázek 2). Největší význam v imunitních reakcích mají lymfocyty, granulocyty, makrofágy a dendritické buňky. (4)



Obrázek 2 – Vývoj krevních elementů z kmenové buňky – (10)

### 2.1.3 Mechanismy imunitního systému

#### a) Nespecifická imunita (neadaptivní, vrozená)

Nespecifická imunita je evolučně starší, skládá se ze složky buněčné a humorální. Buněčné složky představují fagocytující buňky a NK buňky (přírodně cytotoxické). Je velmi rychlá (v řádech minut), protože buňky se nacházejí neustále v krvi. Do humorální složky patří komplementový systém, interferony, lektiny a další sérové proteiny. Nespecifická imunita nemá paměť, odpovídá po setkání s antigenem vždy stejnými mechanismy. (9)

#### b) Specifická imunita (adaptivní, získaná)

Specifická imunita je fylogeneticky mladší, stejně jako nespecifická imunita se skládá ze složky buněčné a humorální. Buněčná složka je představována zejména T lymfocyty. Je pomalejší než nespecifická imunita (imunitní odpověď je v řádech dnů až týdnů). Humorální složka je založena na protilátkách. Aktivuje se až po setkání s antigenem, má imunologickou paměť. (9)

## 2.2 Alergeny

Alergeny jsou jakékoli antigeny, které jsou schopny vyvolat imunitní odpověď. Často jsou tvořeny glykoproteiny, proti kterým si organismus alergické osoby tvoří protilátky IgE. Ke klinickým příznakům dochází po opakovaném kontaktu alergenu se senzibilizovanou osobou, zahájení buněčných pochodů a vylíčení mediátorů alergické reakce (např. histaminu, serotoninu, bradykininu, prostaglandinů, leukotrienů). (11)

### 2.2.1 Nomenklatura alergenů

*„Názvosloví, které se používá v současnosti, je platné od roku 1980, kdy bylo stanoveno WHO. V tomto označení se uvádějí první tři písmena (první je velké) z názvu biologického rodu, z něhož pochází alergen, pak je v označení mezera a následuje první písmeno druhu, opět mezera, a pořadové číslo alergenu.“* (3, s. 154)

Alergen pocházející z břízy (*Betula verrucosa*) se označuje jako Bet v 1, jeho izoalergeny jako Bet v 1.01, Bet v 1.02 apod. Např. pátý alergen psa (*Canis domesticus*) se označuje jako Can d 5. (3) (1)

## 2.2.2 Dělení alergenů

Alergeny lze dělit podle mnoha kritérií. Níže jsou uvedeny 3 typy dělení.

### a) Podle vstupní cesty do organismu:

- **Inhalační** – vstup dýchacími cestami
- **Digestivní** – vstup GIT
- **Kontaktní** – vstup přímým kontaktem s kůží
- **Injekční** – vstup krevním oběhem (4)

### b) Podle specifické imunitní odpovědi IgE:

- **Hlavní** – proti hlavním alergenům je specifická imunitní odpověď u 50 % pacientů, kteří jsou alergičtí na tento typ alergenů
- **Vedlejší** – zde je zařazen zbytek alergenů (12)

### c) Podle místa výskytu:

- **Pylové** – zejména trávy z čeledi lipnicovitých (Poaceae), břízovité stromy
- **Zvířecí** – představovány molekulami bílkovin; hlavně u koček, psů
- **Plísňové** – nejvíce alergizující jsou rozmnožovací částice plísní – spory
- **Lékové** – nejčastěji způsobené penicilinovými antibiotiky
- **Potravinové** – alergie nejčastěji na bílkovinné složky potravy
- **Hmyzí** – nejvíce alergizující jsou enzymy (5)

## 2.2.3 Rekombinantní alergenů

Rekombinantní alergenů patří do izolovaných antigenních komponent. Jsou uměle syntetizované podle přírodních alergenů pomocí molekulárně biologických metod. Díky absenci biologických a genetických variací udržují stabilní kvalitu. Rekombinantní alergenů se snadno standardizují a jsou specificky reaktivní podobně jako přírodní alergenů. Pomocí rekombinantních alergenů lze správně diagnostikovat formu alergie a následně vhodně určit její léčbu. (13)

### **Rekombinantní alergeny jsou získávány:**

- umělou syntézou podle přírodních antigenů pomocí molekulárně biochemických metod
- izolací mRNA sloužící k syntéze cDNA
- pomocí PCR
- vektorovým přenosem pomocí plazmidu a následného namnožení genetické informace v hostiteli (13)

### **2.2.4 Zkřížené reakce alergenů**

Ke křížené reakci může dojít, pokud osoba alergická na konkrétní alergen, vykazuje projevy alergické reakce i po setkání s jiným alergenem, se kterým dříve do styku nepřišla (nemohla tedy být vůči němu senzitivní). Nejčastěji je zkřížená reaktivita způsobena podobností ve struktuře těchto alergenů, často botanicky příbuzných. Vyskytnout se mohou i reakce podmíněné panalergeny, což jsou alergeny, které si jsou navzájem velmi podobné a nacházejí se v živých organismech. Nejlépe prozkoumané panalergeny jsou profilin, tropomyosin a LTP (lipid transfer protein). (4) (14)

#### **Zkřížené reakce se vyskytují zejména mezi:**

- břízou, burským oříškem a bojínkem (přes profilin)
- měkkýši, korýši, roztoči a hmyzem (přes tropomyosin)
- zeleninou, ovocem a stromovými ořechy (přes LTP) (14)

Běžně dochází ke zkřížené reaktivitě mezi pylovými alergeny nebo mezi pyly a různými typy ovoce či zeleniny. Klinickým příznakem zkřížených reakcí je tzv. orální alergický syndrom (OAS), projevující se svěděním v ústní dutině, otokem patra, jazyka a tvorbou aftů. (4) (14)

## 2.3 Imunopatologické reakce

Imunopatologické reakce (též reakce přecitlivělosti) patří mezi imunitní reakce, vedoucí k poškození organismu. Rozdělují se do 4 typů. (5)

### 2.3.1 Typ I – anafylaktický, reakce časné přecitlivělosti

Tento typ nejčastěji způsobuje klasické alergie, např. sennou rýmu. Jedná se o imunitní proces, na kterém se podílí žírné buňky (mastocyty) a IgE protilátky. Žírné buňky jsou lokalizovány nejčastěji v dýchacích cestách a nosní sliznici. Velmi podobné žírným buňkám jsou bazofilní leukocyty nacházející se v krevním oběhu. Obsahují množství drobných granul, ve kterých jsou zastoupeny signální látky, zejména histamin. Ten se uvolňuje při degranulaci, ke které dochází aktivací žírných buněk. Aby k aktivaci došlo, musí se IgE protilátka navázat jedním koncem na žírnou buňku a druhým koncem na specifický alergen. Signálem pro spuštění degranulace žírné buňky je přemostění 2 navázaných protilátek IgE, které jsou připojeny na jednu buňku. (11)

### 2.3.2 Typ II – cytotoxický

Při těchto reakcích dochází k tvorbě IgG a IgM protilátek, které jsou vázány na membránové antigeny vlastních buněk. IgG a IgM protilátky aktivují komplement nebo způsobují reakci ADCC (cytotoxicity závislé na protilátce a zprostředkované buňkami). (5)

Mezi alergické reakce, probíhající na výše uvedeném principu, patří zejména transfuzní reakce. Jedná se o inkompatibilitu v AB0 systému, způsobenou protilátkami proti antigenům navázaným na erytrocytech, trombocytech nebo leukocytech. Dále se cytotoxické protilátky uplatňují u tzv. autoimunitních orgánově specifických onemocnění, při kterých dochází k poškození erytrocytů, granulocytů a trombocytů. Mezi tyto onemocnění patří např. autoimunitní cytopenie, Goodpasteurův syndrom nebo puchýřnatá kožní onemocnění. (5)

### 2.3.3 Typ III – imunokomplexový

Imunokomplex, je složený z antigenu a protilátky. Podle jeho fyzikálních či chemických vlastností může být místo degradace fagocyty tvořen a ukládán (mezi tato onemocnění patří např. lupus erythematosus nebo kryoglobulinémie). Pomocí



imunokomplexů dochází k aktivaci komplementu a k zahájení poškozujících reakcí, kterých se účastní zejména neutrofilů a žírných buněk. Vzniká zánět, z kterého se může stát chronický. Mezi tato onemocnění patří např. sérová nemoc (po aplikaci cizorodé bílkoviny) nebo poststreptokoková glomerulonefritida. (12)

### **2.3.4 Typ IV – reakce oddálené přecitlivělosti**

Reakce oddálené přecitlivělosti se účastní T lymfocyty, které se stávají citlivými po setkání se specifickým antigenem. Tyto senzibilizované T lymfocyty napadají okolní tkáň svou toxicitou nebo tím, že do prostředí uvolní rozpustné látky. Tohoto typu reakce se neúčastní protilátky. Jedná se o velmi pomalou reakci, do projevu 1. příznaků uběhne přibližně 48 hodin od kontaktu s látkou, která přecitlivělost způsobila. Tato reakce se projevuje zejména kontaktní dermatitidou, dále granulomatózními vaskulitidami či poškozením při tuberkulóze. (2) (11)

## **2.4 Alergická rhinitida**

Alergická rhinitida je zánět nosní sliznice, který je způsoben alergenem. Je provázen typickými příznaky, mezi které patří: obstrukce nosu, svědění nosní sliznice, kýchání, vodnatá hypersekrece. Dále se u pacienta mohou objevit tmavé stíny pod očima, které jsou dané prosvítající rozšířenou cévní sítí. Mezi další příznaky může patřit dýchání otevřenými ústy (kvůli nosní neprůchodnosti) nebo příčná rýha na kořeni nosu, způsobena jeho třením. (1)

Rozlišuje se několik typů alergické rhinitidy. Podle intenzity se dělí na mírnou, střední a silnou a dle trvání obtíží na intermitentní a perzistující. U rhinitidy intermitentní trvají příznaky méně než 4 dny v týdnu nebo jejich celková doba trvání nepřekročí 4 týdny. Při perzistující alergické rhinitidě je délka příznaků nad 4 dny v týdnu nebo celkově nad 4 týdny. Mírnou rhinitidu neprovází příznaky, které by narušovaly klasické denní činnosti. Při střední či silné rhinitidě je příznaky narušen spánek nebo jiné denní aktivity. Pro upřesnění se ještě využívá dělení na sezonní či celoroční rhinitidu. (15) (1) (16)

### 2.4.1 Alergeny spouštějící alergickou rhinitidu

*"Mezi nejčastější spouštěče alergické rhinitidy patří pyly. Pylová zrnka obsahují alergizující bílkoviny. Mohou být roznášena větrem (větrosprašné rostliny) nebo hmyzem (hmyzosprašné rostliny). Pyly větrosprašných rostlin jsou častější příčinou alergie. Přenášejí se i na velké vzdálenosti. Toto vysvětluje, proč někteří lidé reagují alergicky na pyly rostlin, které se v jejich bezprostřední blízkosti nevyskytují. Pyly hmyzosprašných rostlin se v ovzduší vyskytují v malém množství a šíří se jen na malé vzdálenosti.*

#### **Hlavní druhy rostlin, které mohou být příčinou pylové alergie:**

*Trávy – pýr, srha kostřava, medyněk, jilek, kukuřice, lipnice, bojínek, rákos, psárka*

*Dřeviny – bříza, habr, jírovec, dub, cypřiš, javor, jasan, buk, kaštanovník, olše, vrba, ořešák, líska, olivovník, jilm, topol, platan, lípa*

*Byliny – pelyněk, řepka, hořčice, tolice, vojtěška, drnavec, jitrocel, ambrózie, jetel“ (17)*

### 2.4.2 Diagnostika alergické rhinitidy

Cílem alergologické diagnostiky je vyhledání a prokázání alergenu, ke kterému je pacient hypersenzitivní. (15)

#### **a) Anamnéza**

K diagnostikování alergické rhinitidy může sloužit již odběr anamnézy lékařem, další testy slouží především pro potvrzení tohoto onemocnění. Alergickou rhinitidu může stanovit praktický lékař, alergolog, otorinolaryngolog, oční lékař i lékař pracující na plicním oddělení. U očního lékaře dochází k této diagnostice na základě časté souvislosti alergické rhinitidy s oční konjunktivitidou, u plicního lékaře na základě souvislosti s astma bronchiale. (15)

Na pohovor lékaře s pacientem při první návštěvě v alergologické ordinaci je potřeba vyhradit si více času. Pokud je pacientem dítě, doprovázející rodič musí být plně informován o průběhu nemoci dítěte. (5) (15)

Anamnézu lze dělit podle různých kritérií na:

**Osobní anamnézu** Osobní anamnéza vypovídá o druhu nosních obtíží. Lékař se ptá, kdy obtíže začaly, v jakém prostředí jsou nejvýraznější, případně s jakou činností jsou spojeny. Dále zjišťuje přítomnost ekzémů či astmatu bronchiale, které se projevuje zejména dráždivým kašlem a dýchacími obtížemi. Důležité, jsou také informace o prodělaných onemocněních, užívané medikaci a prodělané vakcinaci. (15) (5) (1)

**Rodinnou a sociální anamnézu** Rodinná anamnéza vypovídá o alergologických onemocněních v rodině. Je důležité, kde pacient bydlí, kolik má spolubydlících. Zjišťují se podmínky bydlení: vytápění, vlhkost, domácí mazlíčci, květiny v bytě, typ peřinové výplně nebo čistota ovzduší v místě bydlení. Lékaře zajímá, zda pacient nebo spolubydlící kouří nebo jak tráví volný čas. (5)

**Pracovní anamnézu** Pátrá se po možném kontaktu s alergenem v pracovním prostředí (u dětí v prostředí školek a škol). Zjišťují se kariérní plány pacienta do budoucna. (1)

**Nynější onemocnění** Týká se onemocnění, kvůli kterému pacient do ordinace přišel. Lékař se ptá, zejména kdy a kde došlo k prvnímu výskytu tohoto onemocnění. Zajímají ho nynější projevy nemoci, zda jsou při nějaké činnosti nebo po požití nějakých potravin příznaky nemoci horší nebo zda byl pacient vyšetřen kožními Prick testy či laboratorními testy, případně jaká byla dosavadní léčba. (5)

## **b) Fyzikální vyšetření**

Je podobné jako vyšetření u obvodního lékaře nebo pediatra. Zvýšená pozornost je však věnována poslechovému a plicnímu nálezu, stavu kůže, očí a nosní sliznice. Vstupní vyšetření je detailnější, než vyšetření kontrolní. (5)

## **c) Kožní testy**

Kožní testy lze dělit na:

**Prick testy** Kožní Prick testy doplňují anamnézu vzešlou z předchozího pohovoru lékaře s pacientem. Pokud je alergie způsobena vzdušnými alergeny, Prick testy ji většinou potvrdí, pokud se jedná o potravinové

alergeny, provádí se další laboratorní vyšetření. Kožní testy se provádí pomocí čištěných alergenových extraktů, které necháme proniknout do kůže pomocí lancety. Jedná se o téměř nebolestivou metodu, která se provádí již u novorozenců. (18)

**Epikutánní testy** Jsou prováděny nejčastěji dermatologem a slouží k detekci pozdního typu přecitlivělosti, který zprostředkovávají antigen-specifické T lymfocyty. Mezi tato onemocnění patří např. kontaktní ekzém. Provádějí se na horní části zad, kam se nalepí komůrky naplněné alergenem rozptýleným ve vazelině (viz Obrázek 3). Komůrky se sejmou přibližně po 48 hodinách, kdy se hodnotí výsledky (erytém, vezikuly nebo mokvání kůže). (19)



Obrázek 3 – Provedení epikutánních testů – (20)

**Atopické epikutánní testy** Slouží k diagnostice pozdního typu přecitlivělosti zejména u atopického ekzému nebo u potravinové alergie. Pro stanovení se využívají inhalační nebo potravinové alergeny, které jsou schopny vyvolat reakce časně i pozdní přecitlivělosti. Provedení je stejné jako u testů epikutánních. (19)

**Intradermální testy** Nejčastěji se provádí při alergické reakci na léky nebo na jed blanokřídlého hmyzu. Slouží pro diagnostiku časného, ale i pozdního typu přecitlivělosti. Princip metody: Po dezinfekci kůže se pod kůži aplikuje 0,02-0,05 ml alergenu, vzdálenost mezi jednotlivými alergeny by měla být minimálně 5 cm. Výsledky hodnotíme po cca 15-20 minutách, pozitivní reakcí je vznik pupenu o velikosti přibližně 3mm. (19) (5)

#### **d) Laboratorní vyšetření**

Vždy se provádí základní soubor laboratorních imunologických vyšetření: KO + diferenciál, stanovení hladiny protilátek IgM, IgG, IgA, celková hladina IgE protilátek, CRP, ANA screen, popř. ECP, sIgE. Některé laboratorní metody důležité pro tuto bakalářskou práci jsou popsány podrobněji. (3) (21)

***Celková hladina IgE protilátek*** Je potvrzeno mnoha studiemi, že celková hladina IgE protilátek v séru pacienta má souvislost s alergickým onemocněním. Pro určení alergie toto vyšetření není dostačující, protože se zvýšené hodnoty IgE nalézají např. u ABPA (alergické bronchopulmonální aspergilózy), AIDS, nosní polypózy. Vyšší koncentraci IgE mohou mít i kuřáci. Naopak mnoho alergiků nemusí mít zvýšenou sérovou koncentraci IgE. Kromě sérových IgE jsou totiž navázané IgE ve tkáních, které se v tomto stanovení neprojevují. Stanovení celkových IgE protilátek se provádí nejčastěji chemiluminiscenčně, metodou ELISA nebo nefelometricky. (21)

***Specifické IgE protilátky*** Vyšetření hladiny alergen-specifických IgE patří mezi základní diagnostické metody v alergologii. Využívá se zejména, pokud nelze provést kožní testy (díky léčbě, která ovlivňuje výsledek testu a nelze ji před kožními testy vynechat – např. léčba antihistaminiky). Koncentrace specifických IgE se stanovuje také, pokud výsledky kožních testů neodpovídají anamnéze a klinickému stavu pacienta. Zjišťuje se sérová hladina IgE proti konkrétnímu alergenu. Tato metoda napomáhá určit reakce přecitlivělosti časného typu. Vychází z testu RAST a má v současné době více modifikací. (22) (23)

#### ***Komponentová diagnostika (CRD = component resolved diagnosis)***

CRD je metoda, která se stále vyvíjí, zejména díky objevování nových poznatků ohledně molekulárního složení alergenů. Komponentovou diagnostikou se rozlišují druhově specifické alergenní komponenty od komponent zkříženě reagujících. Pacienti, u kterých jsou alergické projevy vyvolány druhově specifickými alergenními komponentami, jsou nejlepšími adepty pro specifickou alergenovou imunoterapii. Pokud alergickou senzibilizaci způsobují zkřížené

alergenové komponenty, může být SIT indikována také, ale je třeba zjistit primární příčinu alergické reakce. (24) (25)

Alergenní extrakty obsahují více alergenních komponent, takže je snazší alergii diagnostikovat. Vedle toho často dochází k společné reaktivitě vyšetření, kvůli zkříženě reagujícím alergenům. Komponentová diagnostika umožňuje určit konkrétní alergen a indikovat SIT. Pro praxi je potřebné jak použití alergenních extraktů, tak zjištění jednotlivých komponent. (24) (26) (25)

Alergenem, který v hojné míře způsobuje alergickou rhinitidu je pyl břízy (*Betula verrucosa*). Alergii na pyl břízy mohou vyvolat 4 alergenní komponenty: Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4, Bet v 6 (viz Tabulka 1). PR-10 proteiny, profilin, polcalcin a isoflavon reduktáza jsou hlavní alergenové rodiny rostlin, které způsobují alergické reakce. (27)

Tabulka 1 – Alergenové komponenty břízy – modifikováno podle (27)

ImmunoCAP alergenové komponenty			
Bet v 1	Bet v 2	Bet v 4	Bet v 6
HLAVNÍ BŘEZOVÝ ALERGEN	MINORITNÍ BŘEZOVÉ ALERGENY		
PRP-10	profilin	polcalcin	isoflavon reduktáza
specifický pro břízu	zkříženě reagující	zkříženě reagující	zkříženě reagující
zkříženě reagující			
nestabilní při tepelné úpravě i během trávení	zřídka způsobuje senzibilizaci sám o sobě	zřídka způsobuje senzibilizaci sám o sobě	zřídka způsobuje senzibilizaci sám o sobě
indikace pro SIT pylem břízy	nestabilní při tepelné úpravě i během trávení		

*„Bet v 1-specifické IgE protilátky zkříženě reagují zejména s alergenem olše *Aln g 1* (*Alnus glutinosa*), lísky *Cor a 1* (*Corylus avellana*) a habru *Car b 1* (*Carpinus betulus*). Také však mohou způsobovat zkříženou reaktivitu s ovocem, zeleninou a kořením, např. s alergenem mrkve *Dau c 1* (*Daucus carota*), celeru *Api g 1* (*Apium graveolens*), jablka *Mal d 1* (*Malus domestica*), lískového ořechu *Cor a 2*.*

*Vzhledem ke zkřížené reaktivitě může SIT s extraktem břízy zmírnit symptomy alergie na tyto příbuzné stromy a dokonce je popisováno i zlepšení OAS (orálního alergického syndromu).*

*Pacienti, kteří produkují specifické IgE protilátky proti extraktu břízy, ale chybí jim Bet v I-specifické IgE, jsou nejspíše senzibilizováni jinými alergeny reagujícími zkříženě. A pravděpodobně není senzibilizace na břízu primární. Markery zkřížené reaktivity mohou být Bet v 2 nebo Bet v 4.“ (28, s. 11)*

**Test aktivace bazofilu** Jedná se o vyšetření, jehož použití v alergologii je zpochybňováno, zejména díky různému způsobu provedení mezi laboratořemi a odlišným hodnotám cut-off. Test aktivace bazofilu se provádí především, když se neshodují výsledky specifických IgE protilátek a výsledky Prick testů s klinickými projevy alergického onemocnění. Základem vyšetření je rozeznání znaku bazofilu CD203c a aktivačního znaku CD63 pomocí průtokové cytometrie. Hodnota cut-off by měla být stanovena pro každý vyšetřovaný alergen. Při alergické reakci na hmyzí jed, lze rozlišit druhově specifickou alergickou reakci od reakce způsobené zkříženou reaktivitou alergenů. Test aktivace bazofilu se využívá při diagnostice alergie na léky. Používá se např. při vyšetření přecitlivělosti na neuromuskulární blokátory nebo tam, kde jsou výsledky kožních testů falešně pozitivní. Dalším využitím testu, je zjišťování navození tolerance u potravinové alergie u dětí. (29) (30)

**Stanovení eosinofilního kationického proteinu (ECP) v séru** ECP se stanovuje při alergických projevech (zejména astmatu). Vyšetření by bylo stejně dobře použitelné i při diagnostice alergické rhinitidy, ale je velmi nákladné, proto se využívá především u astmatu, kde není tak dobře kontrolovatelný stav sliznice plic. ECP patří mezi hlavní produkty eosinofilních polymorfonukleárních neutrofilů. Jedná se o užitečný marker alergického onemocnění. Jeho sérová koncentrace je nejspíše příčinou působení cytokinů, které vznikají v plicích, při místní alergické reakci. (15) (31)

### 2.4.3 Léčba alergické rhinitidy

V současné době není možné úplně vyléčit alergickou rhinitidu. Lze ovšem eliminovat alergický zánět na nosní sliznici a úplně odstranit obtěžující nosní příznaky a zamezit progresi onemocnění. V léčbě alergické rhinitidy využíváme více metod, které jsou v mnoha případech účinné jen v kombinaci. (1)

#### a) Režimová opatření

Snaha o zamezení styku s alergenem je mnohdy jedním s nejdůležitějších kroků v odstranění příznaků alergické rhinitidy. Podstatné je vědět, na které alergeny je pacient přecitlivělý a vyhýbat se jim, již od vzniku obtíží. Do kontaktu s inhalačními alergeny, které nejčastěji způsobují alergickou rhinitidu, se pacient dostává nejběžněji doma nebo v pracovním prostředí. Proto by režimová opatření měla být nejvýraznější (a většinou nejsnáze proveditelná) právě tam. (15)

Pro lepší povědomí o přítomnosti alergenů v ovzduší existuje ve většině zemích Evropy pylová informační služba (PIS), která poskytuje lékařům i pacientům „předpověď“ na další období. (32)

#### b) Farmakoterapie

Používané medikamenty v léčbě alergické rhinitidy se dělí do několika skupin, které se odlišují mechanismem působení a také tím, zda léčí symptomy onemocnění nebo působí dlouhodobě profylakticky. Účinek jednotlivých farmakoterapeutik je uveden – viz Tabulka 2. (33)

**Antihistaminika** Hrají důležitou roli v léčbě alergií. Dělí se do 3 generací.

Pro léčbu alergické rhinitidy se využívají zejména antihistaminika cetirizin nebo loratadin, která se řadí do II. generace. (5)

**Kortikosteroidy** Mají ze všech farmakoterapeutik největší protizánětlivý účinek. Používají se jejich lokální formy – nazální preparáty, které mají minimální systémové účinky. Systémově podávané kortikosteroidy jsou určeny pro nejtěžší případy. (33)

**Kromony** Léčba kromony má podobné, ale výrazně slabší účinky, než léčba kortikosteroidy. Využívá se především u dětí, díky naprosté bezpečnosti



(nejsou zde žádné vedlejší účinky). Využívá se především kromoglykát sodný. (15)

**Antileukotrieny** Jsou využívány zejména u kombinace onemocnění alergickou rinitidou a průduškovým astmatem. Dají se využívat jako doplněk k léčbě antihistaminiky i kromony, protože mají jiný mechanismus účinku. Jednou z výhod léčby antileukotrieny je perorální podání. (15)

**Dekongestiva** Léčí symptomy alergické rinitidy. Používají se v nasální nebo perorální formě a jen krátkodobě. Při delším užívání se může rozvinout rezistentní rhinitis medicamentosa. (33)

**Anticholinergika** Nepoužívají se příliš často, protože mají velmi omezené působení. Léčí jen symptomy alergické rinitidy. Patří sem např. ipratropium bromid. (33)

**Podpůrná nosní léčba** Je léčba nemedikamentózní, zařazují se sem různé inhalační i proplachovací roztoky (především s obsahem solí) nebo použití mastí. Doporučen je také léčebný pobyt u moře nebo v solné jeskyni. (5)  
(33)

Tabulka 2 – Účinek léků na nosní symptomy – modifikováno podle (34)

Léky		Nosní symptomy				
		Kýchání	Sekrece	Obstrukce nosu	Svědění nosu	Oční příznaky
<b>Antihistaminika</b>	<i>Perorální</i>	++	++	+	+++	++
	<i>Nasální</i>	++	++	+	++	0
	<i>Topická oční</i>	0	0	0	0	+++
<b>Kortikosteroidy</b>	<i>Nasální</i>	+++	+++	+++	++	++
<b>Kromony</b>	<i>Nasální</i>	+	+	+	+	0
	<i>Topické oční</i>	0	0	0	0	++
<b>Dekongestiva</b>	<i>Nasální</i>	0	0	++++	0	0
	<i>Perorální</i>	0	0	+++	0	0
<b>Anticholinergika</b>		0	++	0	0	0
<b>Antileukotrieny</b>		0	+	++	0	++

### c) **Specifická imunoterapie alergenem (SIT)**

SIT je léčebná metoda, která reguluje imunitní odpověď pacienta směrem od atopické reakce k fyziologické imunitní odpovědi. Na rozdíl od farmakoterapie, dochází k ovlivnění mechanismu vzniku alergické reakce. Další výhodou může být preventivní účinek léčby, kdy SIT zamezuje vzniku nových přecitlivělostí nebo ke gradaci onemocnění, např. od alergické rhinitidy k astmatu. (35)

Při SIT se do organismu nemocného vpravují předem určené dávky terapeutického alergenu, ke kterému je alergik hypersenzitivní. Tyto alergenové dávky se postupně zvyšují, až do dosažení limitní dávky, která vyvolá toleranci, při kontaktu s tímto alergenem. (35)

Terapeutický alergen lze podat podkožně (subkutánně) nebo pod jazyk (sublinguálně). Při podání tabletové formy alergenu pod jazyk, se téměř od začátku podává finální dávka alergenu. Pokud se alergik takto léčí déle než 3 roky, přetrvává dlouhodobý terapeutický efekt. Doporučená doba léčby je na 3 až 5 let. (23)

Přípravky určené pro vakcinaci musí být purifikované a standardizované pro konkrétní alergen. Využívá se několik typů vakcín: vakcíny vodné a vakcíny modifikované fyzikálně či chemicky (lze i kombinace těchto modifikací). Chemickou modifikací vznikají tzv. alergoidy, u fyzikálně modifikovaných vakcín je alergen navázán na nosič např. tyrosin. Účinkem modifikací je vyvolat specifickou IgE odpověď a zvýšit imunogenicitu. (36) (35)

Důležitá je zejména včasná indikace SIT. Indikovat a provádět léčbu by měl pouze alergolog. Pacienti by měli být varováni před touto léčbou mimo zdravotnické zařízení. Specifická imunoterapie alergenem je indikována zejména, při projevech inhalační alergie (pylové, z roztočů). Jedná se především o alergickou rhinitidu, alergické astma a polinózu. Další indikací je alergie na jed blanokřídlého hmyzu. Kontraindikacemi pro použití této léčby jsou např.: těžké průduškové astma, choroby vyžadující aplikaci adrenalinu, nádorová onemocnění, autoimunitní onemocnění, terapie beta blokátory. Omezení indikace SIT může být problém určení konkrétních alergenových spouštěčů.

To znamená, jaké jsou tvořeny obecné a specifické IgE protilátky v organismu pacienta. (36) (37) (35)

Při specifické imunoterapii alergenem může dojít k některým nežádoucím účinkům, se kterými je pacient před začátkem léčby vždy obeznámen. Nežádoucí reakce se dělí na lokální a systémové. Lokální reakce jsou buď časné (do 20 až 30 minut po podání terapeutického alergenu) nebo pozdní (objevují se po 30 minutách až několika hodinách). Mezi lokální reakce zařazujeme např. otok a bolestivost místa vpichu nebo podkožní granulomy. Systémovými reakcemi mohou být kopřivka, těžké astma, angioedém, v krajních případech rozvoj anafylaktického šoku. (23)

#### **2.4.4 Prevence vzniku alergické rhinitidy**

Mezi nejdůležitější faktory, mající vliv na průběh alergické rhinitidy, patří faktory prostředí. Tyto faktory jsou také nejsnáze ovlivnitelné. Míru alergické přecitlivělosti mohou ovlivňovat samotné alergeny (nejčastěji inhalační), dále znečištění ovzduší, pasivní kouření nebo zdravotní stav pacienta. (15) (11)

Zvyšující se počet alergických onemocnění je neúmyslně podporován potlačením přirozené obranyschopnosti organismu. Mezi látky, které potlačují autoimunitu, patří očkovací séra, širokospektrální antibiotika či umělá výživa, nahrazující mateřské mléko. Dochází tedy k omezení běžného bakteriálního osídlení organismu a vyšší senzibilizaci k alergenům. (15) (11)

#### **Rozlišujeme primární, sekundární a terciální prevenci:**

***Primární prevence*** Začíná u dětí po narození, kdy dochází k velkému náporu antigenů z vnějšího prostředí. Mezi doporučení ke snížení alergické přecitlivělosti patří kojení mateřským mlékem, omezení bytových alergenů a nekuřácký režim v místě pobytu dítěte. (11)

***Sekundární prevence*** Týká se lidí, u kterých již došlo k senzibilizaci. Cílem je zamezit gradaci již vzniklého onemocnění. Mezi principy prevence patří vyhýbání se alergenům, na které je jedinec přecitlivělý nebo SIT. (15)

***Terciální prevence*** Terciální prevencí lze zabránit rozvoji vzniklého alergického onemocnění pomocí farmakoterapeutik a zamezením styku s alergeny. (38)

### 3 Cíl práce

Cílem teoretické části této bakalářské práce je popsat základní principy a složky imunitního systému. Zaměřit se na alergologickou problematiku, konkrétně na onemocnění – alergickou rhinitidu. Detailněji objasnit její patofyziologii, klinické projevy, diagnostiku prováděnou lékařem včetně laboratorních a pomocných vyšetřovacích metod a nakonec uvést i jednotlivé terapeutické možnosti.

Praktická část je zaměřena především na laboratorní metody využívané v diagnostice alergické rhinitidy, zejména na metodu CRD a její využití u pacientů senzibilizovaných na pyl břízy, kteří byli indikováni k systémové imunoterapii. Pomocí této metody je cílem ověřit senzibilizaci na hlavní alergeny (Bet v 1), které jsou obsaženy v terapeutických vakcínách. U takto senzibilizovaných pacientů bude léčba pomocí SIT vhodná a lze předpokládat její účinnost. Pacienti senzibilizovaní na alergeny vedlejší (Bet v 2, Bet v 4) indikováni naopak nebudou i přes to, že mohou mít stejné klinické projevy a pozitivní výsledky kožních Prick testů.

Průzkum bude proveden na vzorku 25 pacientů z alergologické ambulance, kteří trpí příznaky alergické rhinitidy a jejichž výsledky fyzikálních i laboratorních testů, byly pro tuto práci poskytnuty.

## 4 Metodika práce

Rešerše teoretických aspektů k alergické rhinitidě, její diagnostice a léčbě, byla provedena na základě dostupných písemných i internetových zdrojů.

Praktická část bude realizována na vzorku 25 pacientů léčících se v alergologické ambulanci, která pro účely této práce poskytla jejich anamnézy a výsledky testů. Tito pacienti do ambulance přišli s příznaky, které provázejí alergickou rhinitidu. Nejčastěji se jednalo o pocit ucpaného nosu, svědění nosní sliznice, hojnou vodnatou sekreci, kýchání, svědění a slzení očí. Na základě pacientovy anamnézy a základního fyzikálního vyšetření alergologem, byla alergická rhinitida diagnostikována.

Podle informací získaných pohovorem lékaře s pacientem, byl k bližšímu určení alergenů, způsobujících toto onemocnění použit diagnostický kožní Prick test využívající séra alergenů, se kterými pacienti nejčastěji přišli do styku. Vzhledem k rozmanitosti typů alergenů je práce zaměřena jen na jeden alergen a to pyl břízy (*Betula verrucosa*).

Pyl břízy obsahuje 4 typy alergenních komponent, a to: Bet v 1, Bet v 2, Bet v 4 a Bet v 6. Hlavní alergenní komponenta břízy, která je u pacientů hledána a která potvrzuje správnost indikace je Bet v 1. Přecitlivělost na tuto komponentu se zjišťuje pomocí komponentové diagnostiky CRD. Vyšetření kožními Prick testy se provádí přímo v alergologické ambulanci, pro vyšetření specifických IgE a alergenních komponent jsou odesílány krevní vzorky do laboratoře Synlab v Praze. Laboratorní vyšetření alergenních komponent a specifických IgE protilátek se provádí ze srážlivé žilní krve (odebrané do zkumavky bez protisrážlivého činidla). Laboratoř Synlab využívá zkumavky vyráběné společností VACUTAINER.

### 4.1 Kožní Prick-testy

Pacientovo předloktí se očistí a fixou se označí a očíslovají místa, kam se nanesou alergenní extrakty. Sestřička, provádějící vyšetření, pomocí lancety s krátkým hrotem naruší pokožku v místě kapky alergenního extraktu (viz Obrázek 4). Vyčká se přibližně 1 minutu a odsají se nevstříbané kapky extraktů tamponem. Lanceta i tampon se pro každý vzorek extraktu používá nová (sterilní), aby se jednotlivé alergenní extrakty nesmíchaly. Výsledky se hodnotí po 15 minutách.



Obrázek 4 – Provedení kožních Prick testů – (39)

Pozitivní reakcí je vznik kopřivkového pupenu o velikosti min. 3 mm, který doprovází erytém (červené zbarvení kůže, viz Obrázek 5). Při každém testování se používá pozitivní a negativní kontrola. Pozitivní kontrolou je nejčastěji kodein fosfát, dříve se používal histamin. Jako negativní kontrola se běžně zařazuje rozpouštědlo, ve kterém je alergen rozpuštěn. Pozitivní reakce u pozitivní kontroly a negativní reakce u negativní kontroly je nezbytným předpokladem validity každého testování. U pylů obecně (platí tedy i pro pyl břízy) vyšetření dosahuje velmi dobré senzitivity a specifity.



Obrázek 5 – Pozitivní reakce u kožních Prick testů – (40)

## 4.2 Laboratorní stanovení specifických IgE

Stanovení specifických IgE protilátek bylo provedeno v laboratoři Synlab na analyzátoru UniCAP 250 vyráběného firmou Phadia (dnes Thermo Scientific, viz Obrázek 6) metodou FEIA (fluorometrickou enzymatickou imunoanalýzou). Analyzátor je automatizován (sám měří i hodnotí výsledky). Reagencie pro tento analyzátor rovněž vyrábí firma Phadia. Složení jednotlivých šarží reagensů s alergenními extrakty se může mírně lišit. Rozdíly ve složení jsou způsobeny např. zeměpisnou polohou (místem, kde se odebírá vzorek pro zpracování alergenního extraktu) nebo vlivem počasí. Metoda UniCAP poskytuje kvantitativní rozbor alergen-specifických protilátek v séru nebo plazmě. Využívá se jako vyšetřovací laboratorní metoda pro klinickou diagnózu poruch, zprostředkovaných alergickými protilátkami ve spojení s dalšími klinickými nálezy.



Obrázek 6 – Analyzátor UniCAP 250 od firmy Phadia – (41)

### Součásti analyzátoru:

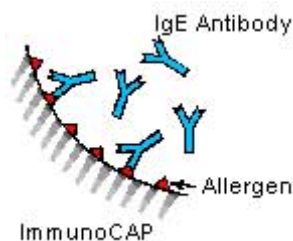
- 1 – Zastavovací a vyvíjecí roztok
- 2 – Zásobní pořadače, čekající na místo ve skladovací komoře
- 3 – Skladovací komora pro dopravníky se zkontrolovanými čárovými kódy
- 4 – Ředící roztoky a destičky pro ředění vzorků
- 5 – Identifikační systém pro reagentie a vzorky
- 6 – Chladicí komora
- 7 – Stripy s jednotlivými vzorky nebo kalibrátory
- 8 – Ovládací centrum s dotykovou obrazovkou
- 9 – Vstup pro jednotlivé vzorky pacientů a kontrolní vzorky



Tento test je navržen jako sendvičový imunologický test využívající dvě protilátky, které se naváží na různé místo antigenu. Základem inovativní technologie UniCAP je trojrozměrná struktura reakčních kelímků pokrytých vrstvou celulózy, která tvoří pevnou fázi. Tím je umožněno navázání všech alergenů ze vzorku pacienta. Tato technika tedy disponuje velkou vazebnou kapacitou pevné fáze. Dochází k navázání všech přítomných protilátek bez ohledu na jejich afinitu. Metoda UniCAP vykazuje vysokou citlivost také díky tomu, že umožňuje detekovat i velmi nízké koncentrace specifických IgE protilátek. Citlivost i specifčnost testu se pohybuje v rozpětí 77-94 % podle konkrétního alergenů.

Test lze rozdělit na čtyři po sobě jdoucí fáze (viz Obrázek 7, Obrázek 8, Obrázek 9, Obrázek 10).

#### **První fáze:**



Obrázek 7 – Princip testu UniCAP – první fáze – (42)

Alergen je kovalentně navázán na celulózu, pokrývající reakční kalíšky. Po přidání pacientova séra dochází k navázání specifických IgE ze séra na alergen. Inkubace probíhá 30 minut.

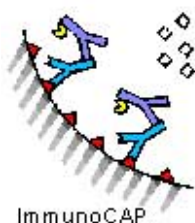
#### **Druhá fáze:**



Obrázek 8 – Princip testu UniCAP – druhá fáze – (42)

Dochází k promytí, kdy se odstraní IgE protilátky nenavázané na alergen. Ke směsi je přidána protilátka, která je označená enzymem. Začne se tvořit komplex značené protilátky s navázanými IgE. Směs se nechá inkubovat.

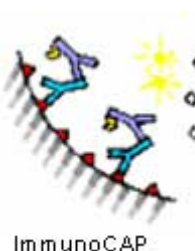
### Třetí fáze:



Obrázek 9 – Princip testu UniCAP – třetí fáze – (42)

Nenavázané enzymem značené IgE jsou odstraněny promytím. Přidá se fluorescenční činidlo, se kterým je komplex inkubován.

### Čtvrtá fáze:



Obrázek 10 – Princip testu UniCAP – čtvrtá fáze – (42)

Po ukončení inkubace se měří fluorescence eluátu. Čím vyšší jsou hodnoty fluorescence, tím více je přítomno specifických IgE ve vzorku pacienta. S využitím kalibrační křivky celkových IgE jsou hodnoty fluorescence převedeny na koncentraci, ve které se výsledek vydává. K vyhodnocení výsledků slouží porovnání hodnot vzorků pacientů s hodnotami kalibrátorů.

Využívají se kalibrátory, které odpovídají standardu pro přípravek 75/502 dle WHO. Naměřené hodnoty specifických IgE ze vzorku se hodnotí proti kalibrační křivce celkových IgE a vyjádří se jako koncentrace alergen specifických protilátek (kU/l). 1  $\mu$ g IgE odpovídá 1U. UniCAP je schopen detekovat specifické IgE v rozmezí 0,1-100 kU/l. Výsledky testů jsou hodnoceny dle uvedených referenčních mezí (viz Tabulka 3).

Tabulka 3 – Referenční meze pro určení výsledků specifických IgE

Třída specifických IgE	Koncentrace specifických IgE (kU/l)	Výsledek
0	méně než 0,35	Negativní
1	0,35-0,69	Nejasný
2	0,70-3,49	Pozitivní
3	3,50-17,40	Pozitivní
4	17,50-49,90	Vysoce pozitivní
5	50,00-99,90	Vysoce pozitivní
6	Více než 100	Vysoce pozitivní

### 4.3 Komponentová metoda

Laboratorní stanovení alergenních komponent bylo provedeno na stejném analyzátoru, jako stanovení specifických IgE, tedy na analyzátoru UniCAP 250 od firmy Phadia v laboratoři Synlab v Praze. Princip stanovení je identický se stanovením specifických IgE proti extraktům (směsím). Jak bylo řečeno v teoretické části, kožní Prick testy poskytují výsledky na podobné úrovni jako stanovení specifických IgE. Těmito testy lze zjistit, který „kompletní“ alergen je zodpovědný za alergickou reakci. Komponentovou diagnostikou lze určit konkrétní alergenní komponentu zodpovědnou za alergickou reakci, ověřit indikaci pro SIT a vyloučit zkříženou reaktivitu.

Firma Phadia pro analyzátor UniCAP užívá pro kompletní alergen břízy a jeho alergenní komponenty označení – viz Tabulka 4.

Tabulka 4 – Značení alergenu břízy a jednotlivých alergenních komponent břízy užívaných ve výsledcích metodou ImmunoCAP podle firmy Phadia

Typy alergenů	Firemní označení	Hlavní alergenní složka
<b>Kompletní alergen břízy</b>	t3	
<b>Komponenta Bet v 1</b>	t215	PRP-10
<b>Komponenta Bet v 2</b>	t216	profilin
<b>Komponenta Bet v 4</b>	t220	polcalcin
<b>Komponenta Bet v 6</b>	t225	isoflavon reduktáza

## 5 Výsledky

V tabulce (viz Tabulka 5) jsou uvedeny výsledky vyšetření u vzorku 25 pacientů léčících se v alergologické ambulanci. Výsledky zahrnují kožní diagnostické Prick testy (SPT) na alergenový extrakt břízovitých stromů (bříza, líska, olše, habr) a břízy (*Betula verrucosa*) a dále vyšetření specifických IgE protilátek. První číslo u SPT udává velikost pupenu a druhé číslo velikost okolního zarudnutí (obě hodnoty jsou uvedeny v mm). Dále je v tabulce uveden případný výskyt orálního alergického syndromu (OAS).

Tabulka 5 – Výsledky diagnostických testů vzorku 25 pacientů trpících alergickou rhinitidou

Vzorek pacientů	SPT břízovité stromy	SPT bříza	sIgE Bet v 1 (kU/l)	OAS	Indikace pro SIT
Pacient 1	5/15	4/8	24,80	jablko	ano
Pacient 2	6/20	4/8	59,60	–	ano
Pacient 3	6/25	5/10	3,23	kešu, pistácie	ano
Pacient 4	4/8	3/6	> 100,00	–	ano
Pacient 5	8/15	5/12	86,80	mrkev	ano
Pacient 6	8/15	8/10	33,80	–	ano
Pacient 7	10/25	7/20	6,87	jablko, lískový ořech	ano
Pacient 8	8/15	8/15	6,66	broskev, vlašský ořech	ano
Pacient 9	8/15	5/10	0,21	–	ne
Pacient 10	5/20	10/30	> 100,00	–	ano
Pacient 11	10/20	8/25	4,04	broskev, jablko	ano
Pacient 12	10/25	3/5	15,30	–	ano
Pacient 13	10/15	3/7	88,80	–	ano
Pacient 14	10/25	4/10	8,78	–	ano
Pacient 15	2/6	2/6	10,90	–	ano
Pacient 16	5/15	4/15	3,08	jablko	ano
Pacient 17	3/8	5/12	17,40	–	ano

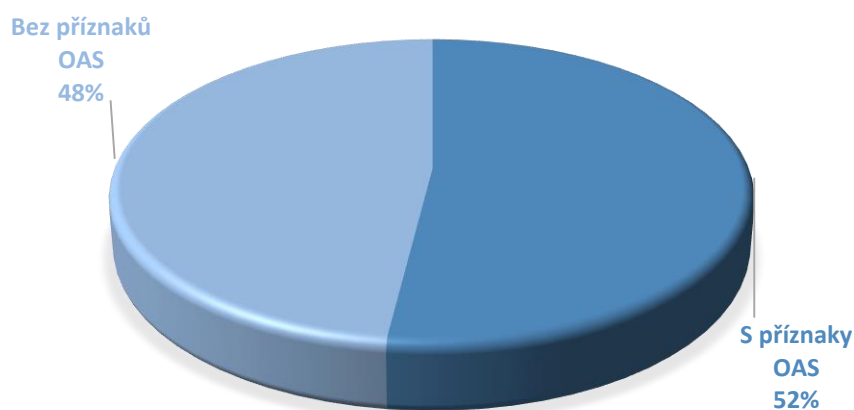
Tabulka 5 pokračování – Výsledky diagnostických testů vzorku 25 pacientů  
trpících alergickou rhinitidou

Vzorek pacientů	SPT břízovité stromy	SPT bříza	sIgE Bet v 1 (kU/l)	OAS	Indikace pro SIT
Pacient 18	7/15	2/3	6,00	lískový ořech	ano
Pacient 19	5/20	7/15	90,20	jablko, peckovité ovoce	ano
Pacient 20	7/15	2/3	6,00	jablko, lískový ořech	ano
Pacient 21	7/15	6/20	4,04	lískový ořech	ano
Pacient 22	10/25	5/15	2,36	–	ano
Pacient 23	4/8	5/15	15,90	lískový ořech	ano
Pacient 24	10/20	8/10	8,06	–	ano
Pacient 25	5/15	3/7	33,27	peckovité ovoce	ano

## 6 Diskuse

Cílem práce bylo potvrdit indikaci pro SIT při senzibilizaci na pyl jarních stromů, trav, plevelů, roztočů a zvířat. Vzhledem k rozsáhlému spektru vyšetřovaných alergenů by byl překročen rozsah bakalářské práce, proto byla tato práce zaměřena jen na jeden alergen, a to pyl břízy (*Betula verrucosa*).

Pyl břízy patří mezi alergeny, které nejčastěji způsobují alergickou rhinitidu. Již v roce 2013 trpělo alergií na pyl břízy 20-30 % obyvatel severní a střední Evropy. Každým rokem se tato čísla zvyšují. Pylová sezóna pro břízu trvá přibližně 1-2 měsíce, ale způsobuje pro alergiky výrazné problémy. Zkříženou reaktivitou mezi proteiny, které jsou obsaženy v některých potravinách a alergenními komponenty pylu břízy může dojít až u 50-93 % pacientů ke vzniku OAS. (43) V průzkumu této bakalářské práce byl OAS diagnostikován u 13 pacientů z 25 vyšetřovaných (viz Graf 1).



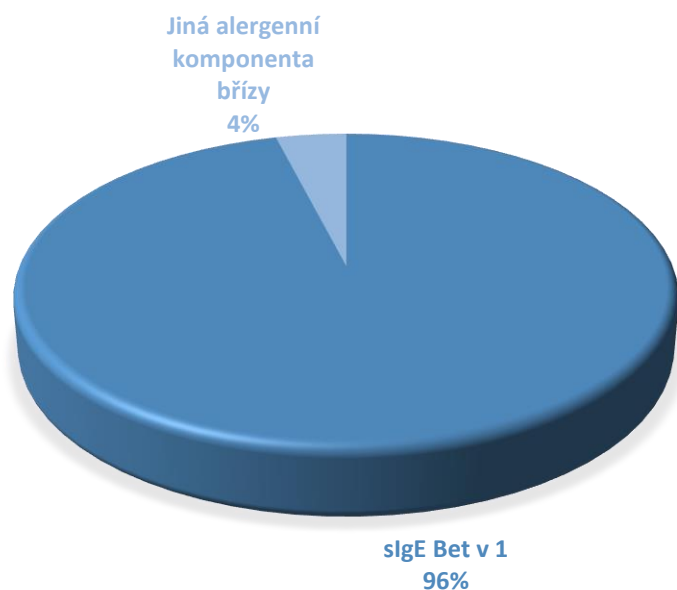
Graf 1 – Přítomnost OAS u vzorku 25 pacientů s alergickou rhinitidou

Základním prvkem všech kaskád jednotlivých navzájem na sebe navazujících vyšetření je anamnéza pacienta a základní fyzikální vyšetření alergologem. Provedení kožních Prick testů patří také k rutinním metodám používaným v alergologické diagnostice. Kožními Prick testy jsou zjišťovány senzibilizace na alergenové extrakty (směsi alergenů). U vzorku 25 pacientů, jejichž výsledky vyšetření byly k této práci poskytnuty, byly výsledky kožních Prick testů na pyl břízy pozitivní (erytém měl

v průměru 3 mm a více). Jak bylo v teoretické části této bakalářské práce uvedeno, kožní Prick testy poskytují „stejný“ výsledek (potvrzení alergického onemocnění), jako vyšetření specifických IgE. Při těchto metodách se k samotnému provedení testu využívá alergenových extraktů. Oba diagnostické testy dokáží přítomnost alergického onemocnění, není ale jisté, zda byla odhalena skutečná příčina alergie. (19)

Extrakt z pylu břízy obsahuje více alergenových komponent. Některé jsou pravou příčinou alergické reakce, jiné pouze zkříženě reagující. Pro správnou léčbu alergického onemocnění je tedy důležité odhalit, zda pozitivní výsledek kožního Prick testu nebo hladiny specifických IgE způsobila druhově specifická alergenová komponenta Bet v 1. (24)

V průzkumu praktické části této bakalářské práce byla u 24 z 25 pacientů potvrzena přítomnost Bet v 1. Pozitivita proti Bet v 1 je tedy indikací pro SIT. Pokud je pacient k Bet v 1 negativní (je většinou pozitivní proti Bet v 2 nebo Bet v 4) SIT extraktem břízy by nepřinesla zlepšení. Proto pacient z alergologické ambulance, u kterého nebyla prokázána přítomnost Bet v 1 komponenty, nebyl k SIT indikován (viz Graf 2).



Graf 2 – Ověření správnosti indikace SIT pylem břízy na základě komponentové diagnostiky

U ostatních 24 pacientů byla komponenta Bet v 1 prokázána, proto jsou tito pacienti indikováni pro SIT. Pro břízu je typická zkřížená reaktivita přes PRP-10 např. se sójou nebo s arašídou. Vyšetření pomocí alergenových extraktů i alergenových komponent má

tedy své výhody i nevýhody. Tyto vyšetření se ovšem navzájem dobře doplňují. Diagnostickými metodami využívajícími alergenové extrakty lze podchytit přítomnost alergie zejména díky směsi alergenových komponent, které extrakt obsahuje. Na druhé straně komponentovou diagnostikou se určí primární alergenová komponenta, na kterou pacient reaguje, tudíž dojde k vyloučení zkřížené reaktivity a k poskytnutí vodítka pro indikaci SIT. (24) (28)

Diagnostika alergenních komponent je založena na metodách, jejichž principem je navázání alergenu v kapalně fázi (např. Immulite 2000) nebo na metodách, kde dochází k navázání alergenu na pevnou fázi (níže popsané metody). (44)

Stanovení alergenních komponent u vzorku 25 pacientů, jejichž výsledky vyšetření byly v této práci použity, bylo provedeno v laboratoři Synlab přístrojem ImmunoCAP 250, který pracuje na principu FEIA. Kromě tohoto principu stanovení se využívá také multiplexová metoda ISAC (Immuno Solid-phase Allergen Chip), která patří v klinické praxi k nejnovějším vyšetřením. Touto diagnostickou metodou lze stanovit až 112 sIgE pocházejících z 51 zdrojů. V laboratoři Synlab je pro metodu ISAC využíván analyzátor ImmunoCAP® ISAC sIgE 112 od firmy Phadia. (45) (46)

Vyšetření je založeno na kombinaci biočipové technologie „microarray“ a komponentové diagnostiky. Cílovou skupinou jsou zejména pacienti, kteří trpí senzibilizací k mnoha alergenním zdrojům. Problémem u těchto alergiků je rozlišit pravou příčinu alergie (druhově specifický alergen) od panalergenu (zkříženě reagujícího alergenu). Výhodou této diagnostické metody je nízký objem venózní či kapilární krve pacienta potřebné pro vyšetření (30 µl). (28) (47)

V první fázi vyšetření se IgE ze vzorku pacienta naváží na imobilizované alergenní komponenty (rekombinantní nebo purifikované nativní). Tyto alergenní komponenty jsou nejčastěji vyráběny za pomoci bakterií (E-coli) nebo kvasinek. Ve druhé fázi se IgE protilátky detekují pomocí fluorescenčně značených IgE protilátek proti lidským IgE protilátkám. Hodnota fluorescence je odečítána za pomoci zvláštního skeneru. Analýza výsledků probíhá pomocí softwaru MIA (Phadia Microarray Image Analysis). Software MIA má uživatelsky přívětivé rozhraní, umožňuje automatické odečítání výsledků a jejich interpretaci v podrobné výsledkové zprávě tzv. ISAC Xplain. V této zprávě je uvedeno, zda se jedná o molekulu s primárně alergenním účinkem či molekulu zkříženě



reaktivní, zda pochází z jednoho nebo více alergenních zdrojů a také jakou mají alergenní molekuly stabilitu, což informuje o závažnosti alergické reakce. (48) (47) (49)

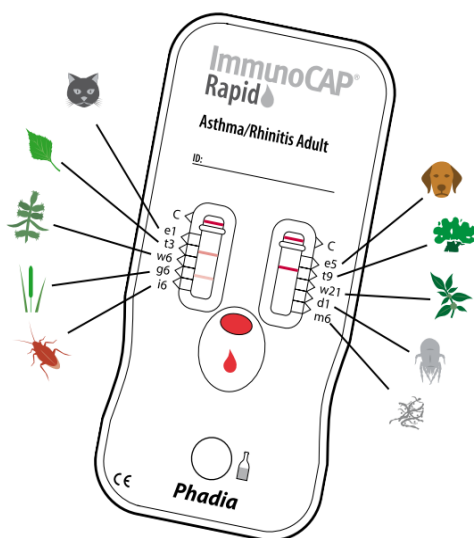
ImmunoCAP ISAC je semikvantitativní metodou vydávající výsledky ve ISU-E (ISAC standardizovaných jednotkách pro sIgE). Kritéria pro hodnocení metody jsou uvedena v tabulce – viz Tabulka 6. (50)

Tabulka 6 – Vyhodnocení metody ImmunoCAP ISAC – modifikováno podle (50)

ISU-E	Hodnocení
< 0,3	Negativní
0,3-0,9	Nejasný
1-14,9	Pozitivní
≥ 15	Vysoce pozitivní

Přecitlivělost na extrakt břízy (t3) lze stanovit i pomocí přenosného diagnostického analyzátoru ImmunoCAP Rapid pro POCT vyšetření vyráběného firmou Phadia (viz Obrázek 11), který je k dispozici ve Španělsku, Švýcarsku, Itálii, Velké Británii, USA a Japonsku. Tento přístroj umožňuje vytvořit IgE profil pacienta během několika minut a poskytnout základní diagnostiku pro pacienty s příznaky alergie. Přístroj využívá 10 základních skupin diagnostických alergenových extraktů (podobné extraktům využívaným pro sIgE). Diagnostickým materiálem je 110 µl kapilární krve. Výsledky testů jsou kvalitativní nebo semikvantitativní (Japonsko a USA) a jsou odečítány buď vizuálně, nebo za pomoci vodítka umožňující barevné rozlišení (Japonsko) nebo samostatnou čtečkou (USA). (51)

Přístroj ImmunoCAP Rapid vytváří spolehlivý jednoduše popsany IgE profil u dětí i dospělých s příznaky alergické rhinitidy nebo astmatu. Výsledek tohoto POCT vyšetření pomáhá určit další krok léčby (medikaci nebo návštěvu alergologa). (51)



#### Alergení extrakty:

- e1 – kočka
- t3 – bříza
- w6 – pelyněk
- g6 – bojínek
- i6 – šváb
- e5 – pes
- t9 – olivovník
- w21 – drnavec
- d1 – roztoči
- m6 – plísň

Obrázek 11 – Přístroj ImmunoCAP Rapid – modifikováno podle (52)

#### **V klinických studiích využívajících diagnostiku přístrojem ImmunoCAP Rapid bylo zjištěno následující:**

- 1) Rozpoznání alergického onemocnění u více než 95 % pacientů.
- 2) Vysoká predikční schopnost rozpoznat druhově specifické alergeny.
- 3) Velká míra shody mezi pozitivním výsledkem testu ImmunoCAP Rapid a specifickými IgE (např. pomocí ImmunoCAP 250) vztaženým na 1kU/l.
- 4) Snadné provedení testu a dostupnost výsledků za 20 minut. Vyšetření je tedy vhodné i pro použití v ordinaci lékaře. (51)

Po správné diagnostice druhově specifické alergenní komponenty (v případě břízy tedy Bet v 1) následuje indikace specifické imunoterapie alergenem.

SIT je (ještě kromě režimových opatření) jedinou terapeutickou metodou, která řeší podstatu onemocnění. Ostatní léčebné metody pouze mírní příznaky doprovázející alergická onemocnění. Léčba pomocí SIT má terapeutický účinek (snižuje přecitlivělost k alergenům) a preventivní účinek (brání vzniku nových senzibilizací). Principem léčby je podávání alergenových extraktů, které obsahují všechny alergenní proteiny vyvolávající alergické reakce. Problémem přírodních alergenových extraktů je jejich standardizace. Složení přípravků pro injekční a perorální podání totiž není přesně předepsáno. Jednotlivé šarže výrobků se mohou mírně lišit zejména na molekulární úrovni (díky zeměpisné

poloze odkud jsou získávány, vlivu počasí apod.). Přírodní alergenové extrakty často nedisponují vysokou kvalitou, protože obsahují i mnoho alergenů, na které není pacient senzibilizován. Tento problém by mohly vyřešit alergeny rekombinantní. Tyto alergeny by měly stálou kvalitu a definované množství terapeutického alergenu. Klinický účinek rekombinantních alergenů je předmětem studií. Kritérii pro vyhodnocení jednotlivých studií jsou klinické příznaky onemocnění a léčebný účinek. Podle WHO by měly být výsledky studií hodnoceny jako procentuální pokles celkového klinického skóre (klinické příznaky + léčebný účinek) ve dvou skupinách. V jedné s podáním léčebného přípravku a v druhé s podáním placebo, přitom skupina, ve které byl podán léčebný přípravek, musí vykazovat minimálně o 20 % lepší výsledky než skupina s placebem. (37) (53)

Ve studii, hodnotící rekombinantní připravenou vakcínu pro SIT pylem břízy, byla srovnávána léčba přirozeným purifikovaným Bet v 1 a rekombinantním Bet v 1 s běžně používaným extraktem pylu břízy a placebem. Studie se účastnilo 134 pacientů s alergickou rhinitidou, kteří docházeli na léčbu po dobu dvou let. Po počáteční části léčby byl terapeutický alergen (placebo) injekčně aplikován v dávce 15 µg jedenkrát za měsíc. Výsledky studie byly vyhodnoceny v pylové sezóně a jsou uvedeny v tabulce – viz Tabulka 7. Procentuální skóre příznaků i léčby udává rozdíl mezi skupinou, ve které byl podáván léčebný přípravek a skupinou, kde bylo podáváno placebo. Celkové skóre udává zmenšení závažnosti nemoci v léčené skupině oproti skupině, kde bylo podáváno placebo. Při provedení kožních Prick testů po 1 a po 2 letech léčby byl zjištěn významný pokles reaktivity na rekombinantně připravený alergen břízy Bet v 1 i na přirozený (purifikovaný) alergen břízy Bet v 1 oproti alergennímu extraktu břízy. Studie tedy v teoretických aspektech potvrdila účinnost rekombinantně připravené alergenní komponenty Bet v 1, jakožto účinné složky vakcíny pro SIT. (53)

Tabulka 7 – Výsledky studie použití rBet v 1 pro SIT – modifikováno podle (53)

Vyhodnocení	Extrakt pylu břízy	Rekombinantní Bet v 1	Přirozené Bet v 1
Skóre příznaků	48 %	49 %	58 %
Skóre léčby	67 %	64 %	64 %
Celkové skóre	59 %	57 %	57 %

Dále bylo zjištěno, že pacienti hypersenzitivní např. k pylům trav mohou být různě citliví v molekulárním profilu senzibilizace. Byl tedy navržen koncept léčby CRT

(component-resolved therapy). Jedná se o způsob léčby, kdy je pro SIT použit přípravek, který by měl odpovídat specifické IgE odpovědi u konkrétního pacienta. IgE odpověď se s věkem stává intenzivnější a složitější. (37)

Jedním druhem trav, jehož pyl ve velké míře způsobuje alergickou rhinitidu je bojínek (*Phleum pratense*). Bojínek je tvořen osmi alergenními proteiny, které způsobují alergenní hypersenzitivitu (viz Obrázek 12). Mezi tyto molekuly patří: Phl p 1 (který se v populaci vyskytuje nejčastěji), Phl p 5, Phl p 4, Phl p 6, Phl p 2, Phl p 11, Phl p 12, Phl p 7. Problém je, že pacient, může být pozitivně testován na jednu i více těchto alergenních komponent. Pokud by byl pacient pozitivně testován např. na Phl p 1, Phl p 6 a Phl p 12, vysoce účinným přípravkem pro SIT by byla vakcína o tomto konkrétním složení. Zatím neexistují vakcíny o přesném složení individuálně připravené pro každého pacienta. Zejména kvůli vysokým finančním nákladům, každá nová vakcína by totiž musela projít samostatným klinickým testováním. Navíc v případě alergie na pyly trav se nedoporučuje podávat vakcínu složenou jen z pylů jednoho druhu trav. V praxi se totiž jedná téměř vždy o složenou reaktivitu na různé typy trav. (37)

Co se týká alergenového složení vakcín, využívají se zejména vakcíny se směsí alergenů. Při alergii na pyly trav je ideálně kombinováno 5 až 6 jejich různých typů ve směsi. Směsné vakcíny se používají jen s příbuznými druhy alergenů. Pokud je potřeba léčit pomocí SIT nepříbuzné alergeny, využívá se oddělená aplikace. (35)

	Struktura <sup>a</sup>	Molekulová hmotnost (kD) <sup>b</sup>	Biologická funkce <sup>c</sup>	IgE-pozitivita u Evropanů senzibilizovaných na pyl trav (%) <sup>d</sup>
Phl p 1		33-36	expanzin	68-96
Phl p 4		55-60	enzym berberinových můstků	70-88
Phl p 5		29-38	ribonukleáza	50-100
Phl p 2		11-12	neznámá	28-68
Phl p 6		13	neznámá	44-68
Phl p 11		20	inhibitor trypsinu	35-53
Phl p 12		14	profilin	10-15,2
Phl p 7		6	protein vázající vápník	5-8

Obrázek 12 – Charakteristika osmi alergenních molekul *Phleum pratense* – (37)

Léčba pomocí SIT představuje pro pacienta jistý závazek. Podávání terapeutického přípravku totiž patří výhradně do rukou alergologa (případně zdravotní sestry pod dohledem alergologa). Pacient tedy musí v pravidelných intervalech navštěvovat alergologickou ambulanci (někdy až po dobu 5 let). Toto omezení se netýká preparátů perorálních, které si pacient dává sám dle přiložených instrukcí. Nevýhodou těchto preparátů je nižší a pomalejší účinek než u injekčních preparátů. Dalším omezením pro pacienta může být finanční náročnost léčby. V současné době dodává přípravky pro SIT více firem, jejichž cenové náklady se liší, tudíž je většinou možné pacientům nabídnout více variant. Výběr jednotlivých přípravků může být zúžen podle aktuální dostupnosti alergenů. Výše doplatku jednotlivých vakcín se může lišit dle konkrétního alergenu obsaženého v přípravku, pojišťovny nebo lékárny. (54)

Mezi nejznámější firmy, dodávající přípravky pro SIT patří česká firma SEVAC (nyní SEVAPHARMA, a.s.), francouzský výrobce STALLERGENES a francouzská firma ALK. (54)

Výrobce SEVAPHARMA, a.s. nabízí standardizované alergenové přípravky určené pro diagnostické účely: kožní Prick testy a intradermální testy. Další skupinou nabízených přípravků jsou látky pro subkutánní a sublinguální způsob podání SIT. Léčebné přípravky dodávané touto firmou patří mezi finančně nejdostupnější a jsou většinou plně hrazeny pojišťovnou. Nevýhodou těchto terapeutických alergenů je jejich nižší kvalita, účinnost a častější výskyt nežádoucích reakcí. (55) (54)

Firma STALLERGENES vyrábí standardizované terapeutické alergeny o větší čistotě a s méně častými nežádoucími reakcemi doprovázející léčbu SIT. Jsou dostupné v subkutánní i sublinguální formě a prokazují vyšší účinnost. Mezi přípravky se sublinguálním podáním vyráběné firmou Stallergenes patří Oralair® a Staloral®, k subkutánnímu podání je k dispozici přípravek Phostal®. Léčba SIT pomocí přípravků vyráběných touto firmou je pro pacienta finančně náročnější. Kromě terapeutických přípravků jsou vyráběny také diagnostické sady s roztoky alergenových extraktů (Alyostal® Prick) pro provedení kožních Prick testů. Firma Stallergenes se také ve významné míře podílí na výzkumu a vývoji nových přípravků pro SIT. Společnost věnuje cca 20 % svého ročního obrátu právě na výzkumnou činnost (v roce 2012 činil roční obrat 240 mil EUR). (54) (43) (56)

Dánský výrobce ALK se také specializuje na výrobu diagnostických i léčebných alergenových přípravků. Pro diagnostiku se využívá přípravek Soluprick, mezi léčebné vakcíny patří Grazax® a Alutard SQ®. Firma nabízí standardizované alergeny o vysoké kvalitě. K aplikaci udržovacích dávek pacient dochází jedenkrát za 4-8 týdnů. Výrobce ALK nabízí přípravky pouze pro subkutánní podání. (54) (57)

## 7 Závěr

V teoretické části této bakalářské práce byly shrnuty nejběžnější metody využívané v diagnostice a léčbě alergické rhinitidy.

Praktická část byla věnována současné metodice vyšetření specifických IgE protilátek a komponentové diagnostice. V průzkumu byla zjištěna pozitivita kožního Prick testu na extrakt břízovitých stromů a břízy u všech 25 pacientů z alergologické ambulance, jejichž výsledky jednotlivých diagnostických metod byly pro tuto práci poskytnuty. Provedením komponentové diagnostické metody v laboratoři Synlab na analyzátoru ImmunoCAP 250 od společnosti Phadia, byla stanovována přítomnost alergenní komponenty Bet v 1, která je indikací pro SIT. Dle referenčních hodnot pro specifické IgE byla u 24 pacientů (96 %) zjištěna pozitivní hodnota sIgE Bet v 1 a pouze 1 pacient (4 %) byl pro toto vyšetření negativní (pozitivní reakci kožních Prick testů způsobovala jiná alergenní komponenta břízy, nejspíše Bet v 2). U 24 pacientů (96 %) tedy byla potvrzena správnost indikace SIT. Protože některé alergenní komponenty pylu břízy jsou zkříženě reaktivní (kvůli podobnosti alergenních molekul zejména mezi pyly a potravinami) byl u 13 pacientů (52 %) diagnostikován orální alergický syndrom, projevující se svěděním v ústní dutině, otokem patra, jazyka a tvorbou aftů.

V diskuzi bylo pojednáváno o některých nejnovějších diagnostických metodách v alergologii (metody ISAC a metoda pro POCT stanovení). Uvedeny byly také nejznámější dodavatelé i jejich konkrétní přípravky pro SIT pomocí alergenních extraktů využívaných v současné klinické praxi. Otázkou budoucnosti je přínos rekombinantních alergenů a SIT využívající přípravky o složení na bázi konkrétních alergenních komponent.

## 8 Seznam použitých zkratek a symbolů

ABPA	„Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis“, alergická bronchopulmonální aspergilóza
ADCC	„Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity“, buněčná cytotoxicita závislá na protilátkách
AIDS	„Acquired Immune Deficiency Syndrome“, syndrom získaného selhání imunity
ANA screen	„Antinuclear Antibodies“, screening antinukleárních protilátek
BALT	„Bronchus-Associated Lymphoid Tissue“, slizniční lymfatická tkáň dýchacích cest
cDNA	„Complementary Deoxyribonucleic Acid“, komplementární deoxyribonukleová kyselina
CRD	„Component Resolved Diagnosis“, komponentová diagnostika
CRP	C-reaktivní protein
CRT	„Component Resolved Therapy“, komponentová léčba
ECP	„Eosinophil Cationic Protein“, eosinofilní kationický protein
ELISA	„Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay“, analytická enzymatická metoda využívající se ke stanovení antigenů
FEIA	Fluorometrická enzymatická imunoanalýza
GALT	„Gut-Associated Lymphoid Tissue“, slizniční lymfatická tkáň v GIT
GIT	gastrointestinální trakt
Ig	imunoglobulin
IS	imunitní systém
ISAC	„Immuno Solid-phase Allergen Chip“, mikročipová komponentová diagnostická metoda
ISU-E	„ISAC Standardized Units of sIgE“, ISAC standardizované jednotky pro sIgE
kD	kilo-Dalton
KO	krevní obraz
kU/l	kilo-Unit/litr
LTP	Lipid Transfer Protein



MALT	„Mucosa-Associated Lymphoid Tissue“, slizniční lymfatická tkáň
MIA	„Phadia Microarray Image Analysis“, software pro hodnocení výsledků metody ISAC
mRNA	„Messenger Ribonucleic Acid“, informační ribonukleová kyselina
NK buňky	„Natural Killer cells“, přirození zabíječi
OAS	orální alergický syndrom
PCR	„Polymerase Chain Reaction“, polymerázová řetězová reakce
PIS	pylová informační služba
POCT	„Point Of Care Testing“, vyšetření v blízkosti pacienta
PRP-10	Pathogenesis Related Proteins, skupina proteinů způsobujících alergická onemocnění
RAST	„Radioallergosorbent test“, radioalergosorbentní test
rBet v 1	rekombinantně připravená alergenní komponenta Bet v 1
sIgE	specifické imunoglobuliny E
SIT	„Specific Immunotherapy“, specifická alergenová imunoterapie
SPT	„Skin Prick Test“, kožní Prick testy
WHO	„World Health Organization“, světová zdravotnická organizace

## 9 Seznam použité literatury

- (1) HUMLOVÁ, Zuzana. *Alergická rinitida, její diagnostika a terapie* [online]. b.r., , 131-135 [cit. 2016-03-15]. Dostupné z:  
<http://www.internimedica.cz/pdfs/int/2010/03/04.pdf>
- (2) ČÁP, Petr a Miroslav PRŮCHA. *Alergologie v kostce*. Vyd. 1. Praha: Triton, 2006. ISBN 8072547798.
- (3) FERENČÍK, Miroslav. *Imunitní systém: informace pro každého*. Vyd. 1. české. Praha: Grada, 2005. ISBN 8024711966.
- (4) LITZMAN, Jiří, Pavel KUKLÍNEK a Ondřej RYBNÍČEK. *Alergologie a klinická imunologie*. Vyd. 1. Brno: Vydavatelství IDVPZ, 2001. ISBN 8070133457.
- (5) ŠPIČÁK, Václav a Petr PANZNER. *Alergologie*. 1. vyd. Praha: Galén, 2004. ISBN 807262265x.
- (6) LEDVINA, Miroslav, Alena STOKLASOVÁ a Jaroslav CERMAN. *Biochemie pro studující medicíny*. Vyd. 2. V Praze: Karolinum, 2009. ISBN 9788024614144.
- (7) ALBERTS, Bruce. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York: Garland Science, 2002. ISBN 0815340729.
- (8) Imunitní systém. *Biomach, výpisky z biologie* [online]. b.r. [cit. 2016-03-29]. Dostupné z: <http://www.biomach.cz/biologie-cloveka/imunitni-system>
- (9) HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTŮŇKOVÁ. *Základy imunologie*. 4. vyd. Praha: Triton, 2009. ISBN 9788073872809.
- (10) BERNACIKOVÁ, Martina, Kateřina KAPOUNKOVÁ, Jan NOVOTNÝ, Jindřich VOMELA a Naděžda VOMELOVÁ. *Fyziologie člověka* [online]. Brno: Fakulta sportovních studií, Masarykova univerzita, 2014 [cit. 2016-03-29]. ISBN 978-80-210-7697-6. Dostupné z:  
[https://publi.cz/books/151/images/pics/Obr80\\_vyvoj\\_krevnich\\_elementu.jpg](https://publi.cz/books/151/images/pics/Obr80_vyvoj_krevnich_elementu.jpg)
- (11) GAMLIN, Linda. *Alergie od A do Z*. Vyd. 1. Praha: Reader's Digest Výběr, 2003. ISBN 8086196445.

- (12) BARTŮŇKOVÁ, Jiřina a Eva VERNEROVÁ. *Imunologie a alergologie*. 1. vyd. Praha: TRITON, 2002. Vnitřní lékařství, sv. 2. ISBN 8072542893.
- (13) JANŮ, Veronika, Šárka KOPELETOVÁ a Petr KUČERA. *Stanovení senzibilizace na rekombinantní alergeny* [online]. In: . b.r., s. 4-6 [cit. 2016-03-13]. Dostupné z: <http://www.imulab.cz/upload/LI2012/4.Stanoveni%20senzibilizace%20na%20rekombinantni%20alergeny.pdf>
- (14) ŠÁCHA, Pavel. Zkřížená alergie. In: *Celostní medicína* [online]. 2008 [cit. 2016-04-18]. Dostupné z: <http://www.celostnimedicina.cz/zkrizena-alergie.htm>
- (15) SEBEROVÁ, Ester. *Alergická rýma: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, 2006. Farmakoterapie pro praxi, sv. 17. ISBN 8073450976.
- (16) SPICKETT, Gavin. *Oxford handbook of clinical immunology and allergy*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 2013. Oxford medical publications. ISBN 9780199603244.
- (17) Alergická rýma. *Alergologicko-imunologická ambulance pro děti Ostrava* [online]. b.r. [cit. 2016-03-29]. Dostupné z: <http://www.allergology.cz/pro-rodice/alergicka-ryma/>
- (18) BIDAT, Étienne a Christelle LOIGEROT. *Alergie u dětí*. Vyd. 1. Praha: Portál, 2005. Rádci pro rodiče a vychovatele. ISBN 8071789364.
- (19) LIŠKA, Martin. *Vyšetřovací metody v alergologii* [online]. b.r. [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/vysetrovaci-metody-v-alergologii-463461>
- (20) ALFAfarm Curatest [online]. In: . b.r. [cit. 2016-04-20]. Dostupné z: <http://www.pro-ordinace.cz/uploaded/products/large/pro-ordinace52f1573353b31.jpg>
- (21) BARTŮŇKOVÁ, Jiřina a Milan PAULÍK. *Vyšetřovací metody v imunologii*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2011. ISBN 9788024735337.
- (22) ANDRÝS, Ctirad. *Laboratorní příručka: Laboratorní vyšetření v klinické imunologii a alergologii*. 2. dopl. vyd. Hradec Králové: TAH, 2007. ISBN 9788025409510.

- (23) RYBNÍČEK, O. a E. SEBEROVÁ *Průvodce specifickou alergenovou imunoterapií (SIT)*. 1. vydání. Praha: ČIA, 2004. ISBN 80-900130-6-6.
- (24) ADAMEC, Tomáš a Martin HRUBIŠKO. *Alergenová imunoterapie: ve znamení komponentové diagnostiky* [online]. b.r. [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: <http://www.tribune.cz/clanek/31808-alergenova-imunoterapie-ve-znameni-komponentove-diagnostiky>
- (25) LUENGO, Olga a Victória CARDONA. *Component resolved diagnosis: when should be used?* [online]. b.r. [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1186/2045-7022-4-28/fulltext.html>
- (26) FÁBRYOVÁ, Adriana. *Alergie pod skličkom* [online]. b.r. [cit. 2016-03-19]. Dostupné z: [http://www.alergoimun.sk/files/Komponentov\\_diatnostika.pdf](http://www.alergoimun.sk/files/Komponentov_diatnostika.pdf)
- (27) VERNEROVÁ, Eva. *Dnešní pohled na alergická onemocnění* [online]. In: . Ústav imunologie 2.LF UK a FN Motol v Praze, b.r. [cit. 2016-04-18]. Dostupné z: [imunologie.lf2.cuni.cz/soubory\\_vyuka/Alergie%202015\\_Vernerova.ppt](http://imunologie.lf2.cuni.cz/soubory_vyuka/Alergie%202015_Vernerova.ppt)
- (28) GRÖSCHLOVÁ, Zuzana. *Využití rekombinantních alergenů v diagnostice a terapii*. NsP Mělník, 2009. Atestační práce.
- (29) ŠETINOVÁ, I. a M. HAVRANOVÁ *Test aktivace bazofilů a jeho místo v diagnostice alergií* [online]. b.r. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: [http://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3300\\_10\\_1.pdf](http://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3300_10_1.pdf)
- (30) HONZOVÁ, Stanislava a Marie HAVRANOVÁ. *Test aktivace bazofilů, jeho přínos pro klinickou praxi* [online]. Imunologické centrum, Imumed s.r.o., b.r. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: <http://www.tigis.cz/images/stories/Alergie/2003/04/06honz.pdf>
- (31) *Laboratorní metody: ECP - eosinofilní kationický protein* [online]. b.r. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: <http://synlab.cz/metody/ecp-eosinofilni-kationicky-protein>
- (32) *Pylová informační služba* [online]. b.r. [cit. 2016-04-25]. Dostupné z: <http://www.pylovasluzba.cz/pis>
- (33) SEBEROVÁ, Ester. *Stanoviska a doporučení ČSAKI: Alergická rýma* [online]. b.r. [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: <http://www.csaki.cz/alergicka-ryma>

- (34) KRČMOVÁ, Irena. Alergická rýma - klinické aspekty a léčba. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2011 [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: <http://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2011/04/05.pdf>
- (35) PANZNER, Petr. *Specifická alergenová imunoterapie* [online]. b.r. [cit. 2016-03-28]. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/specificka-alergenova-imunoterapie-163576>
- (36) HRUBIŠKO, Martin a Václav ŠPIČÁK. *Polyalergie a polysenzitivita - je vhodná alergenová imunoterapie?* [online]. b.r. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: [http://www.tigis.cz/images/stories/Alergie/2012/3\\_2012/hrubisko.pdf](http://www.tigis.cz/images/stories/Alergie/2012/3_2012/hrubisko.pdf)
- (37) MATRICARDI PAOLO, M. *Třídění IgE odpovědí do skupin podle molekulárních profilů a jeho možné důsledky pro specifickou imunoterapii* [online]. b.r. [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: [http://www.co-allergy.cz/coaci-clanek/trideni-ige-odpovedi-do-skupin-podle-molekularnich-profilu-a-jeho-mozne-dusledky-pro-specifickou-imunoterapii-48267?confirm\\_rules=1](http://www.co-allergy.cz/coaci-clanek/trideni-ige-odpovedi-do-skupin-podle-molekularnich-profilu-a-jeho-mozne-dusledky-pro-specifickou-imunoterapii-48267?confirm_rules=1)
- (38) WORLD HEALTH ORGANIZATION, . *Prevention of Allergy and Allergic Asthma* [online]. Geneva, 2003 [cit. 2016-03-25]. Dostupné z: [http://www.who.int/respiratory/publications/WHO\\_NMH\\_MNC\\_CRA\\_03.2.pdf](http://www.who.int/respiratory/publications/WHO_NMH_MNC_CRA_03.2.pdf)
- (39) *Allergologie* [online]. In: . b.r. [cit. 2016-04-18]. Dostupné z: <http://www.lungenarzt-kirchdorf.at/allergologie/>
- (40) *Allergy notes* [online]. In: . b.r. [cit. 2016-04-18]. Dostupné z: <http://allergynotes.blogspot.cz/2012/01/needleslancets-are-tools-of-choice-for.html>
- (41) *LABEDUCATION* [online]. In: . b.r. [cit. 2016-04-20]. Dostupné z: <http://www.labeducation.co.uk/img/phadia-250.png>
- (42) *ImmunoCAP® Platform* [online]. b.r. [cit. 2016-04-16]. Dostupné z: <http://www.viracoribt.com/Learning-Lab/ImmunoCAP-Platform>
- (43) *Sublingvální roztok pro alergenovou imunoterapii pylem břízy v dávce 300IR prokázal dlouhodobou účinnost a bezpečnost u dospělých s alergickou rinokonjunktivitidou v průběhu 2 pylových sezón* [online]. Praha, 2014 [cit. 2016-04-21]. Dostupné z: <http://www.stallergenes.cz/odbornici-ve-zdravotnictvi/novinky/detaily/hash/480e6dcf86/back/5874/news/sublingvalni->

roztok-pro-alergenovou-imunoterapii-pylem-brizy-v-davce-300ir-prokazal-dlouhodob.html

- (44) HUMLOVÁ, Monika. *Vyšetřovací metody v alergologii* [online]. In: . b.r., s. 32 [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: [http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/kia/humlova\\_alergo.pdf](http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/kia/humlova_alergo.pdf)
- (45) *Alergeny* [online]. b.r. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://synlab.cz/media/editor/files/zadanky/alergologie/Alergeny.pdf>
- (46) *ImmunoCAP ISAC – When you need the bigger picture in allergy* [online]. b.r. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-ISAC/>
- (47) *Synlabianer: odborný časopis pro lékaře* [online]. 2013, (3) [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: [http://www.synlab.cz/media/files/synlabianer/synlabianer-2013-03\\_2.pdf](http://www.synlab.cz/media/files/synlabianer/synlabianer-2013-03_2.pdf)
- (48) *Principles of the test procedure* [online]. b.r. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-ISAC/Test-Principle-ImmunoCAP-ISAC/>
- (49) *ImmunoCAP ISAC for tricky cases* [online]. b.r. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-ISAC/For-which-patients-is-ImmunoCAP-ISAC-useful/>
- (50) *Stanovení alergií pomocí specifických IgE protilátek s využitím alergenních komponent - 112/51 ImmunoCAP® ISAC* [online]. b.r. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://www.imunologie.cz/immunocap.htm>
- (51) *Rapid result for first-line evaluation* [online]. b.r. [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: <http://www.phadia.com/en/Products/Allergy-testing-products/ImmunoCAP-Rapid/>
- (52) *Product sheet ImmunoCAP Rapid* [online]. In: . b.r., s. 1 [cit. 2016-04-24]. Dostupné z: [http://www.phadia.com/Global/A%20Document%20Library/Allergy/Promotion%20Material/Product%20and%20Assay%20Sheets/ImmunoCAP%20Rapid/Product\\_Sheet\\_ImmunoCAP\\_Rapid\\_Asthma\\_Rhinitis\\_Adult.pdf](http://www.phadia.com/Global/A%20Document%20Library/Allergy/Promotion%20Material/Product%20and%20Assay%20Sheets/ImmunoCAP%20Rapid/Product_Sheet_ImmunoCAP_Rapid_Asthma_Rhinitis_Adult.pdf)
- (53) PAULI, Gabrielle a Hans-Jørgen MALLING. Současné možnosti využití rekombinantních alergenů v imunoterapii. *Curr Opin Allergy Clin Immunol/CS*

- [online]. 2011, (8), 17-22 [cit. 2016-04-23]. Dostupné z:  
<http://www.prolekare.cz/pdf?id=35754>
- (54) *Informace pro nemocné o alergenové imunoterapii* [online]. In: . b.r. [cit. 2016-04-21]. Dostupné z: <http://www.akialerg.com/docs/csy/aki-vakcin.pdf>
- (55) *Jarní stromy: Nové standardizované alergeny dřevin ve směsi pro perorální aplikaci* [online]. In: . b.r., s. 2 [cit. 2016-04-21]. Dostupné z:  
[http://www.ceskamedicina.cz/archiv/refe\\_cz/jarni\\_stromy.pdf](http://www.ceskamedicina.cz/archiv/refe_cz/jarni_stromy.pdf)
- (56) *Katalog produktů společnosti Stallergenes* [online]. b.r., , 8 [cit. 2016-04-21].  
Dostupné z: <http://www.stallergenes.cz/odbornici-ve-zdravotnictvi/dokumenty-ke-stazeni.html>
- (57) *ALK - Česká republika* [online]. b.r. [cit. 2016-04-25]. Dostupné z:  
<http://www.alk-abello.com/cz/Pages/Welcome.aspx>

## 10 Seznam použitých obrázků

Obrázek 1 – Stavba imunoglobulinu – (8).....	11
Obrázek 2 – Vývoj krevních elementů z kmenové buňky – (10).....	12
Obrázek 3 – Provedení epikutánních testů – (20).....	20
Obrázek 4 – Provedení kožních Prick testů – (39) .....	31
Obrázek 5 – Pozitivní reakce u kožních Prick testů – (40).....	31
Obrázek 6 – Analyzátor UniCAP 250 od firmy Phadia – (41).....	32
Obrázek 7 – Princip testu UniCAP – první fáze – (42) .....	33
Obrázek 8 – Princip testu UniCAP – druhá fáze – (42).....	33
Obrázek 9 – Princip testu UniCAP – třetí fáze – (42) .....	34
Obrázek 10 – Princip testu UniCAP – čtvrtá fáze – (42).....	34
Obrázek 11 – Přístroj ImmunoCAP Rapid – modifikováno podle (52) .....	42
Obrázek 12 – Charakteristika osmi alergenních molekul <i>Phleum pratense</i> – (37).....	44



## 11 Seznam použitých tabulek

Tabulka 1 – Alergenové komponenty břízy – modifikováno podle (27) .....	22
Tabulka 2 – Účinek léků na nosní symptomy – modifikováno podle (34).....	25
Tabulka 3 – Referenční meze pro určení výsledků specifických IgE.....	35
Tabulka 4 – Značení alergenů břízy a jednotlivých alergenních komponent břízy užívaných ve výsledcích metodou ImmunoCAP podle firmy Phadia .....	35
Tabulka 5 – Výsledky diagnostických testů vzorku 25 pacientů trpících alergickou rhinitidou.....	36-37
Tabulka 6 – Vyhodnocení metody ImmunoCAP ISAC – modifikováno podle (50) ...	41
Tabulka 7 – Výsledky studie použití rBet v 1 pro SIT – modifikováno podle (53) .....	43

## **12 Seznam použitých grafů**

Graf 1 – Přítomnost OAS u vzorku 25 pacientů s alergickou rhinitidou.....	38
Graf 2 – Ověření správnosti indikace SIT pylem břízy na základě komponentové diagnostiky.....	39