

UNIVERZITA KARLOVA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



## DIPLOMOVÁ PRÁCE

**BAZOTESTY A LYMFOCYTÁRNÍ TRANSFORMAČNÍ TESTY S  
VAZBOU NA LÉKOVÉ INTOLERANCE**

**BAZOTESTS AND LYMPHOCYTE TRANSFORMATION TESTS  
LINKED TO DRUG INTOLERANCE**

**Bc. TEREZA HONSÁRKOVÁ**

**Vedoucí diplomové práce: prim. MUDr. IRENA KRČMOVÁ, CSc.**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2018**

## **Poděkování**

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí diplomové práce paní prim. MUDr. Ireně Krčmové, CSc. za odborné vedení, cenné rady, pomoc při vypracování práce a milý přístup. Také děkuji zaměstnancům laboratoří Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové, zejména paní Mgr. Karolíně Jankovičové Ph.D., kteří se mi plně věnovali během odborné stáže na tamním pracovišti. Dále děkuji pánu RNDr. Ondřeji Součkovi za konzultace a odborné rady. Pánu MUDr. Jakubovi Novosadovi, Ph.D. děkuji za vypracování statistické analýzy a paní MUDr. Adrianě Šrotové děkuji za poskytnutí zdravotnické dokumentace jejich pacientů. Poděkování patří také mé rodině za podporu.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové

.....

Tereza Honsárková

## Obsah

1.	OBSAH	
2.	ABSTRAKT .....	6
3.	ABSTRACT .....	7
4.	ÚVOD .....	8
5.	ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE .....	9
6.	TEORETICKÁ ČÁST .....	10
6.1	Lékové intolerance .....	10
6.1.1	Typy reakcí .....	11
6.1.2	Rizikové faktory .....	14
6.1.2.1	Rizikové faktory léku .....	14
6.1.2.2	Rizikové faktory hostitele .....	15
6.1.3	Diagnostika .....	16
6.1.3.1	Test aktivace bazofilů (BAT) .....	18
6.1.3.2	Lymfocytární transformační test (LTT) .....	20
6.1.3.3	Precipitace v gelu - dvojitá radiální imunodifúze .....	22
6.1.3.4	Stanovení specifických IgE protilátek .....	24
6.1.3.5	Stanovení hladiny tryptázy .....	24
6.1.3.6	Kožní testy .....	24
6.1.3.7	Provokační test lékem .....	26
6.1.4	$\beta$ -laktamová antibiotika .....	27
6.1.4.1	Peniciliny .....	28
6.1.4.2	Cefalosporiny .....	30
7.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	33
7.1	Lymfocytární transformační test .....	33
7.2	Bazotest .....	36
7.3	Základní popisná statistika .....	40
7.3.1	Pohlaví pacientů .....	40
7.3.2	Věk .....	41

7.3.3	Jiná onemocnění pacientů .....	41
7.3.4	Původce lékové alergie .....	42
7.3.5	Projevy lékové alergie .....	43
7.3.6	Celkové IgE a specifické IgE.....	44
7.3.7	Bazotesty.....	44
7.3.8	LTT testy .....	45
7.3.9	Kožní testy.....	45
7.3.10	Korelace mezi časnými příznaky a pozitivitou BAT .....	45
7.3.11	Korelace mezi časnými příznaky a pozitivitou kožních testů .....	45
7.3.12	Korelace mezi časnými příznaky, BAT a kožními testy.....	46
7.3.13	Korelace mezi pozdními příznaky a LTT .....	46
7.4	Statistické analýzy některých vybraných proměnných veličin.....	47
7.4.1	Metodika .....	47
7.4.2	Kožní testy PNC - PPL * Projevy časné .....	47
7.4.3	Kožní testy PNC - MD * Projevy časné .....	49
7.4.4	IgE * Anamnéza alergické reakce na PNC, AMP či obě antibiotika.....	51
7.4.5	Celkové IgE * Projevy časné .....	53
7.4.6	Astma bronchiale * Projevy časné .....	56
8.	DISKUSE .....	58
9.	ZÁVĚR .....	61
	POUŽITÁ LITERATURA .....	62
	POUŽITÉ ZKRATKY .....	66
	SEZNAM OBRÁZKŮ .....	68
	SEZNAM GRAFŮ .....	69
	SEZNAM TABULEK .....	70
	SEZNAM PŘÍLOH.....	71
	PŘÍLOHY.....	72

## 2. ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Bc. Tereza Honsárková

Školitel: prim. MUDr. Irena Krčmová, CSc.

Název diplomové práce: Bazotesty a lymfocytární transformační testy s vazbou na lékové intolerance

Bazotesty a lymfocytární transformační testy jsou vyšetření, která napomáhají komplexní diagnostice pacienta se suspekci lékové alergie. Správná diagnostika je důležitá pro volbu vhodného opatření, má však svá úskalí. Léková alergie je nejčastěji spojována s  $\beta$ -laktamy, především s peniciliny.

Hlavním cílem diplomové práce bylo vypracování aktuální statistiky na základě dokumentace vybraného souboru pacientů. Jednalo se o nemocné, kteří byli kompletně klinicky a laboratorně vyšetřeni. Hlavní podmínkou výběru bylo provedení kožních testů pro suspekci na lékovou alergii indikovanou antibiotiky penicilinové řady za rok 2017 na ambulanci Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové. Byla zpracována jejich data týkající se anamnézy, laboratorních vyšetření se zaměřením na bazotesty a lymfocytární transformační testy a také výsledky kožních testů.

Zpracování dat 25 pacientů poukázalo na přínosné nálezy. Zajímavým zjištěním byl fakt, že v anamnéze pacientů převládá výskyt pozdních projevů (63 %). Při statistickém vyhodnocení pacienti s pozitivním prick testem na hlavní determinantu penicilinů, měli však v anamnéze spíše časné projevy alergie, tato vazba nebyla přítomna u pacientů s pozitivním prick testem na vedlejší penicilinovou determinantu. Vyhodnocení vazeb hlavní a vedlejší determinanty s časnou či pozdní reakcí by potřebovalo větší rozsah souboru. Vzestupné kožní testy s determinantami jsou bohužel velmi pracné.

**Klíčová slova:** test aktivace bazofilů, lymfocytární transformační test, léková alergie, peniciliny

### 3. ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Science

Candidate: Bc. Tereza Honsárková

Supervisor: prim. MUDr. Inrena Krčmová, CSc.

Title of diploma thesis: Bazotests and lymphocyte transformation tests linked to drug intolerance

Basophil activation tests and lymphocyte transformation tests are methods that allow drug allergy diagnosis. The right diagnosis is crucial for treatment. Drug allergy is often associated with  $\beta$ -lactam antibiotics hypersensitivity and especially with penicillins.

The aim of this diploma thesis is to provide actual statistics based on selected patient medical reports. Those patients were completely clinically and laboratory examined. The main condition for data selection was the execution of skin tests for suspicion of drug allergy caused by penicillin-like antibiotics at the Institute of Clinical Immunology and Allergology of the Faculty Hospital Hradec Králové in 2017. Patients' anamnesis, skin tests and laboratory examination focused on basophil activation tests and lymphocyte transformation was composed.

Statistics of 25 patients shows beneficial informations. Delayed manifestations are the most prevalent (63 %) in patients which is interesting. However the patients with positive skin test on major determinant had acute drug allergy manifestation more often. The patients with positive skin test on minor determinants did not have acute drug allergy manifestation. More information about acute and delayed manifestations related to major and minor determinants would provide larger group of patients. Ascending skin tests with determinants are unfortunately very complicated.

**Key words:** basophil activation test, lymphocyte transformation test, drug allergy, penicillins

## 4. ÚVOD

Zvyšující se spotřeba léků a zavádění nových léčiv jsou doprovázeny častějšími alergickými reakcemi a novými nežádoucími účinky. Reakce mohou být závažné, a dokonce i život ohrožující, což vyžaduje substituci nebo přerušeni léčby. Přibližně u 5 % pacientů jsou vyvolány nežádoucí účinky během léčby léky a až 10 % uvádí průběh reakce v nemocnici.<sup>[1]</sup> Tyto údaje představují závažný problém veřejného zdraví.

Rizikové faktory mohou souviset s konkrétním pacientem či lékem. Při řešení reakcí je nutno znát vlastnosti podezřelého léku a včas rozpoznat ukazatele závažné lékové reakce. Páteří vyšetřovacího postupu pro úspěšnou diagnózu lékové alergie jsou podrobná pacientova anamnéza, *in vitro* testy, provokační testy a kožní testy. Součástí *in vitro* testů jsou, mimo jiné, bazotesty, které diagnostikují časně alergické reakce a lymfocytární transformační testy pro průkaz pozdních reakcí.

Diplomová práce se zabývá problematikou lékových alergií včetně jejich komplexní diagnózy se zaměřením na bazotesty a lymfocytární transformační testy. Pozornost je také věnována penicilinům a cefalosporinům, u kterých jsou lékové alergie zaznamenávány nejčastěji. Práce poskytuje statistiku vypracovanou na základě získaných dat pacientů Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové.



## **5. ZADÁNÍ – CÍL PRÁCE**

Hlavním cílem diplomové práce je vypracování aktuální statistiky na základě dokumentace vybraného souboru pacientů, kteří byli kompletně klinicky a laboratorně vyšetřeni z hlediska lékové alergie na  $\beta$ -laktamová antibiotika. Zpracování jejich dat týkajících se anamnézy, laboratorních vyšetření se zaměřením na bazotesty a lymfocytární transformační testy a také data kožních testů. Přesná diagnostika této závažné alergie je důležitá pro volbu vhodných antibiotik pro pacienta následně.

## 6. TEORETICKÁ ČÁST

### 6.1 Lékové intolerance

Základním nástrojem moderní medicíny je farmakoterapie, jež poskytuje žádoucí léčebný účinek, ale bohužel je přítomno zatížení rizikem nežádoucích účinků léků. Mezi ně jsou řazeny i lékové alergie. Podle WHO je za nežádoucí účinek léčiva považována každá reakce, která není jeho terapeutickým účinkem, a nejedná se o úmyslnou nebo náhodnou otravu, selhání léčby nebo abúzus léků. Dle WHO jsou tříděny do 6 skupin, které jsou označovány A–F.

80 % z nich představují účinky typu A, jsou závislé na dávce a předvídatelné s vazbou na farmakologické charakteristiky léků včetně vzájemných interakcí léčiv. Mezi typ B, 15 % nežádoucích účinků léků, jsou řazeny reakce nezávislé na dávce, nepředvídatelné. Představují je zejména lékové hypersenzitivní reakce, což jsou nežádoucí účinky léčiv, které svým klinickým obrazem napodobují alergické reakce. Užší pojem lékové alergie jsou lékové hypersenzitivní reakce, u kterých byl prokázán konkrétní imunologický mechanismus. Další typy nežádoucích účinků jsou: typ C chronické účinky závislé na dávce a délce léčby; typ D projevující se s odstupem od léčby, účinky jsou závislé na délce či době léčby; typ E projeví se po přerušení léčby; typ F lékové interakce.

Mnohé světové organizace mají pracovní skupiny zabývající se problematikou lékové alergie, příkladem nejvýznamnějších organizací jsou: AAAAI, EAACI, ACAAI. V roce 2013 byla v ČSAKI založena pracovní skupina pro lékové alergie.

Hypersenzitivní reakce se vyskytují u široké škály léků. Příkladem nejčastěji uváděných jsou  $\beta$ -laktamová antibiotika (především peniciliny), enzymy, barbituráty, hormony, očkovací látky vyvinuté na základě ptačích zárodků, benzodiazepiny, diagnostické a léčebné alergeny, opiáty, želatina, sulfonamidy, inzulin, radiokontrastní látky, kyselina acetylsalicylová, nesteroidní antirevmatika, krevní deriváty aj. Podkladem je genetická predispozice ve formě polymorfizmu genů se schopností organismu reagovat ve zvýšené míře na hapteny. <sup>[2,3,4,5,6]</sup>

### 6.1.1 Typy reakcí

Je známo několik teorií, které vysvětlují vznik lékové hypersenzitivity. Dle hypotézy hapténové je předpokládáno, že lék se chová jako haptén. Molekuly léku jsou pomocí pevných kovalentních vazeb ireverzibilně vázány na aminokyseliny bílkovin. Proti hapténizovaným bílkovinám se u jedince vyskytují specifické protilátky či senzibilizované lymfocyty. Hapténizovat bílkoviny mohou také prohaptény nebo fotohaptény. Jedná se o látky, z nichž se haptén stává až po jejich enzymatické přeměně (detoxikace, metabolismus) nebo po působení světla. Alternativní hypotéza, koncept farmakologické interakce s imunitním receptorem (p-i), předpokládá, že lék je chemicky neaktivní, nehapténizující. Váže se přímo na receptory a aktivuje T lymfocyty nebo se váže na molekuly HLA, které poté nepřímo aktivují T lymfocyty změnou peptidového žlábků MHC. Příkladem je vazba abacaviru na HLA-B\*57:01, při níž je indukována aktivace CD68 – pozitivních T lymfocytů a je vyvolána závažná léková hypersenzitivní reakce.<sup>[6,7]</sup>

Lékové alergie mohou být zachyceny jako časně či pozdní.

K **velmi časným** reakcím (immediate) dochází během 1 hodiny od podání léku. Projevují se kopřivkou, angioedémem, konjunktivitidou, rýmou, bronchospasmem, gastrointestinálními symptomy (nausea, zvracení, průjem, bolesti břicha), anafylaxií nebo anafylaktickým šokem. Časně reakce jsou vyvolány **IgE** mediováným **mechanismem**. Po první expozici jsou volné či konjugované léky přebírány dendritickými buňkami, které je zpracovávají a prezentují je. Následná aktivace a polarizace naivních pomocných T lymfocytů na fenotyp Th2 vede u lymfocytů B k produkci antigen-specifických IgE protilátek. Specifické IgE se váže na žírné buňky a bazofily vazbou na FcεRI receptor. Následná expozice lékem či jeho metabolity vede, překlenutím/zesíťováním receptoru FcεRI, k aktivaci bazofilů a žírných buněk s následným uvolněním zánětlivých mediátorů jako jsou například histamin, leukotrieny, prostaglandin, cytokiny (TNF-α). Mediátory jsou zodpovědné za patologické reakce hypersenzitivity.<sup>[6,8,9]</sup>

**Časně pozdní projevy** (non-immediate) jsou v intervalu delším než 1 hodina od podání léku, obvykle v intervalu 1–6 h. Tato fáze navazuje či se překrývá s velmi časnou reakcí. **Pozdní projevy** se obvykle objevují po několika dnech léčby. Často postihují kůži s příznaky, jako například makulopapulózní exantémy, opožděná kopřivka, fixní lékové erupce a další. Bývají často spojeny s opožděným typem

imunopatologického **mechanismu** závislého na **T lymfocytech**. Pro dostatečnou stimulaci T lymfocytů je nezbytné prvotní zpracování antigenu léku dendritickými buňkami. Antigen je jimi internalizován a transportován do regionálních lymfatických uzlin, kde je následně prezentován naivním T lymfocytům. Aby byla rozvinuta účinná imunitní reakce, musí být též aktivován vrozený imunitní systém, který poskytuje důležité stimulační signály. Alternativou je přímá aktivace specifických T lymfocytů lékovými antigeny. Antigen specifické T lymfocyty migrují do cílových orgánů a po opětovném kontaktu s antigenem se aktivují a produkují cytokiny, které regulují imunitní odpověď a cytotoxiny (např. perforin, granzymy a granulysiny), které způsobují poškození tkání.<sup>[6]</sup>

**Léková reakce s eosinofilií a systematickými symptomy – DRESS**, drug reaction with eosinophilia and systematic symptoms. Po 2 až 6 týdnech se objevují kožní změny. Papulózní nebo papulovezikulózní výsev provázený purpurou nebo postulami může postupovat až do exfoliativní dermatitidy. Klasické doprovodné příznaky jsou otok obličeje, lymfadenopatie, hypereozinofilie, lymfocytóza nebo lymfopenie, atypické lymfocyty, trombocytopenie, postižení jater či jiných orgánů. U starších pacientů mortalita činí až 10 %. Po odeznění reakce (4–12 týdnů) ohrožení pro pacienty představuje rozvoj hypotyreózy a diabetu mellitu. Léky, které nejčastěji DRESS vyvolávají: carbamazepin, sulfasalazin, allopurinol, vankomycin, amoxicilin.

**Toxická epidermální nekrolýza – TEN a Stevenson-Johnsonův syndrom – SJS** jsou závažné život ohrožující formy. Počáteční projevy jsou horečka, malátnost, nepříjemný pocit v očích, makulární léze je symetricky rozdělena na trupu, obličeji, dlaních a chodidlech. Léze rozvíjejí centrální ložisko a spojují se do velkých vrstev nekrotické tkáně. Dochází také k postižení očí (akutní konjunktivitida s výtokem, edém víček, erytém nebo ulcerace rohovky), bukalní a genitální sliznice. Mohou být ovlivněny i respirační a gastrointestinální trakt. Oba stavy jsou navzájem odlišovány dle velikosti zasažené plochy, SJS 10–30 % tělesného povrchu, TEN více jak 30 % povrchu těla. Zaznamenány byly například u allopurinolu, aminopenicilinu, cefalosporinu, carbamazepinu, fenytoinu.

**Makulopapulózní exantém – MPE** jedná se o nejčastěji pozorovaný typ kožní reakce vyvolané léky. Vzniká do 3 týdnů od začátku terapie, převážně 7.–10. den. Klinicky je různorodý, erytematózní vyrážky a plaky různého stupně jsou stranově symetrické s maximem projevů na vnitřní straně paží, stehna, laterální partie trupu nebo napodobují infekční exantémy. Růžové až červené makuly či papuly mají

při stlačení tendenci blednout a fialové neblednoucí skvrny (purpura) se mohou objevit v dolní částí nohou. Charakteristické doprovodné nálezy jsou otok dýchacích cest nebo obličeje, subfebrilie, zimnice, nauzea a celková únava. Může postihovat i sliznice. Zaznamenaný byl u široké škály léků, běžně se jedná především o antibiotika, zejména aminopeniciliny a cefalosporiny. [1,10]

**Tabulka 1 Klasifikace lékových alergií [6]**

Typ	Typ imunitní odpovědi	Patofyziologie	Klinické symptomy	Typická chronologie reakce
<b>I</b>	IgE	Degranulace žirných buněk a bazofilů	<ul style="list-style-type: none"> <li>Anafylaktický šok</li> <li>Angioedém</li> <li>Urtikarie</li> <li>Bronchospasmus</li> </ul>	V průběhu 1 až 6 hodin od posledního požití léku
<b>II</b>	IgG a komplement	Cytotoxicita závislá na IgG a komplementu	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cytopenie</li> </ul>	5–15 dní od začátku užívání vyvolávajícího léku
<b>III</b>	IgM nebo IgG a komplement nebo FcR	Depozice imunokomplexů	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sérová nemoc</li> <li>Urtikarie</li> <li>Vaskulitis</li> </ul>	7–8 dní u sérové nemoci/urtikarie 7–21 dní od začátku užívání vyvolávajícího léku u vaskulitidy
<b>IVa</b>	Th1 (IFN- $\gamma$ )	Monocytární zánět	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ekzém</li> </ul>	1–21 dní od začátku užívání vyvolávajícího léku
<b>IVb</b>	Th2 (IL-4 a IL-5)	Eosinofilní zánět	<ul style="list-style-type: none"> <li>Makulopapulózní exantém</li> <li>DRESS</li> </ul>	1 až několik dní od začátku užívání vyvolávajícího léku u MPE 2–6 týdnů od začátku užívání vyvolávajícího léku u DRESS
<b>IVc</b>	Cytotoxické T lymfocyty (perforin, granzym B, FasL)	Smrt keratinocytů zprostředkovaná CD4 nebo CD8	<ul style="list-style-type: none"> <li>Makulopapulózní exantém</li> <li>SJS /TEN</li> <li>pustulózní exantém</li> </ul>	1–2 dny od začátku užívání vyvolávajícího léku u fixní lékové erupce 4–28 dní od začátku užívání vyvolávajícího léku u SJS/TEN
<b>IVd</b>	T lymfocyty (IL-8/CXCL8)	Neutrofilní zánět	<ul style="list-style-type: none"> <li>Akutní generalizovaná exantematózní pustulóza</li> </ul>	Typicky 1–2 dny od začátku užívání vyvolávajícího léku (ale i později)

DRESS – Drug Reaction with Eosinophilia and Systematic Symptoms – léková reakce s eosinofilií a systematickými symptomy; MPE – maculopapular exanthema – makulopapulózní exantém; SJS – Steven-Johnson syndrome – Stevens-Johnsonův syndrom; TEN – toxic epidermal necrolysis – toxická epidermální nekrolýza; Ig – Imunoglobulin; FasL – Fas Ligand; FcR – Fc Receptor; IFN – Interferon

## 6.1.2 Rizikové faktory

Rizikové faktory vzniku lékové alergie se mohou vyskytnout jednak u léku samotného či ze strany hostitele (pacienta).

### 6.1.2.1 Rizikové faktory léku

Faktory jsou rozdílné pro jednotlivé léky. Lze však vymezit několik společných faktorů pro většinu léků:

**Charakter molekuly léku:** Častěji se alergie vyskytují u léků, které jsou složené z velkých molekul a mohou tak snáze senzibilizovat. Výskyt senzibilizace lze také očekávat u léků složených z molekul menších, které se dobře váží na nosičské bílkoviny krevního séra či membrány buněk. Mnoho vysoce alergenních léků není jednoznačně chemicky reaktivních. Je tedy pravděpodobné, že mnohem reaktivnější a odpovědnější za senzibilizaci jsou metabolické produkty léčivých látek či drobných kontaminantů. Jakmile dojde k senzibilizaci na léčivo, je pravděpodobnost reaktivity na léky s blízkým strukturním chemickým charakterem nebo na imunochemicky podobné metabolity. Riziko alergie mohou také zvýšit určité kombinace léků, zejména u cytostatik.

**Stupeň expozice:** V některých případech je rizikovým faktorem opakované podání léku, neboť dochází snadněji k senzibilizaci. Další faktorem byly prokázány vyšší dávky léku. Závažnější je přerušení cyklu středních dávek léků, které předurčuje k senzibilizaci.

**Cesta podání:** Topická aplikace léku je spojena s vysokým výskytem senzibilizace, především u zanícené kůže. Je potřeba se vyhnout určitým látkám, zejména penicilin a sulfonamidy nejsou kvůli tomuto riziku topicky používány. Intravenózní aplikace je rizikovým faktorem u řady léků. Obecně nejbezpečnějším typem parenterálního podání je perorální užívání léku. <sup>[2,11,12]</sup>

### 6.1.2.2 Rizikové faktory hostitele

Mnohé rizikové faktory se vyskytují u pacientů, lišit se mohou dle jednotlivce, následně bude několik z nich uvedeno:

**Věk a pohlaví:** Z hlediska aktivity imunitního systému je rizikovým faktorem mladší a střední věk. V tomto věku je imunitní systém dostatečně aktivní, a tím je vyšší riziko senzibilizace. Naopak u dětí a starších pacientů jsou lékové alergie méně časté. Důvodem je nezralost nebo involuce imunitní odpovědi. Také je uváděna skutečnost, že děti nejsou opakovaně vystavovány účinkům léků často. Četné studie prokázaly ženské pohlaví jako rizikový faktor pro mnoho léků, příčinou je pravděpodobně souvislost s genetickou predispozicí.

**Současně probíhající onemocnění:** Dalším rizikovým faktorem může být základní onemocnění pacienta, jež může vytvořit predispozici k rozvoji alergické reakce na lék změnou metabolické cesty a navozením změn imunologické reakce na léky. Lékové reakce by se měly méně často objevovat u jedinců s narušenou imunitní reakcí. Například u hypogamaglobulinémie je alergická reakce způsobená protilátkami vzácná, ale buněčně zprostředkované reakce, jako je kontaktní dermatitida způsobená lokálně aplikovanými léky, mohou být vyvolány snadno. Naopak, pacienti se sarkoidózou mají narušenou buněčnou přecitlivělost a je méně pravděpodobné, že by se vyskytla dermatitida či exantémy, ale může být vyvolána alergická reakce zprostředkovaná protilátkami, kopřivka aj. Ukázalo se, že některé infekce souvisí se zvýšenou pravděpodobností výskytu lékové alergie. Příkladem jsou pacienti s HIV, AIDS, herpes viry. [2,11,12]

**Genetická predispozice:** Genetické rozdíly mohou ovlivnit individuální reakce na léky tím, že ovlivní způsob, jakým je léčivo zpracováno nebo jak působí v těle. V posledních letech se studium lékařské genetiky zaměřilo na oblast HLA genotypů a jejich spojení s přecitlivělostí na léky. Jak bylo již zmíněno výše, molekuly HLA jako antigen prezentující T lymfocytům prostřednictvím receptorů T lymfocytů. HLA molekuly třídy I (HLA A, HLA B, HLA C) se nacházejí na povrchu všech jaderných buňkách těla. Prezentují intracelulární antigeny cytotoxickým lymfocytům T (CD 8+). HLA molekuly třídy II (HLA DP, HLA DQ, HLA DR) se nacházejí na imunitních buňkách a prezentují extracelulární antigeny pro pomocné lymfocyty T (CD4+). Předpokládá se, že MHC prezentace léku – antigenu hraje klíčovou roli u hypersenzitivní reakce. Bylo objeveno několik silných genetických vztahů mezi

expresí určité HLA alely a náchylnosti k specifickým formám lékové hypersenzitivity. Nejznámější je možnost závažné reakce po přípravku abacavir. U pacientů s alelou HLA B\*57:01 je přibližně 5 % rizika vzniku velmi závažné hypersenzitivní reakce. Před zahájením léčby abacavirem je prováděn screening. V asijské populaci má léková hypersenzitivita na karbamazepin asociaci s alelou HLA B\*15:02 a také s HLA A\*31:01. [2,11,12,13,14]

### 6.1.3 Diagnostika

Pro diagnostiku lékové alergie je potřeba komplexní přístup, který zahrnuje detailní anamnézu, *in vitro* testy, kožní testy a provokační testy. Cílem vyšetřování je spolehlivá diagnóza, která umožní volbu opatření: eliminace prokázaných příčinných léků, volba bezpečné náhradní léčby, premedikace a v nezbytných případech léčba desenzitizační. [4]

Úspěšná konečná diagnóza lékové alergie je obtížná, protože každý z uvedených nástrojů diagnostiky má své omezení a nevýhody. Anamnéza je obvykle spojena s nedostatečným popisem a pamětí pacientů, kteří současně užívají různé léky. Činidla pro kožní testy nejsou vždy vhodná a obvykle nejsou standardizovaná. Vhodné laboratorní testy nejsou vždy k dispozici a dostatečně citlivé k testování dané reakce. Provokační testy mohou být pro pacienta nebezpečné a nejsou vždy dostatečně citlivé. Proto by pro určení diagnózy mělo být využito více než jeden druh z uvedených vyšetření. [1]

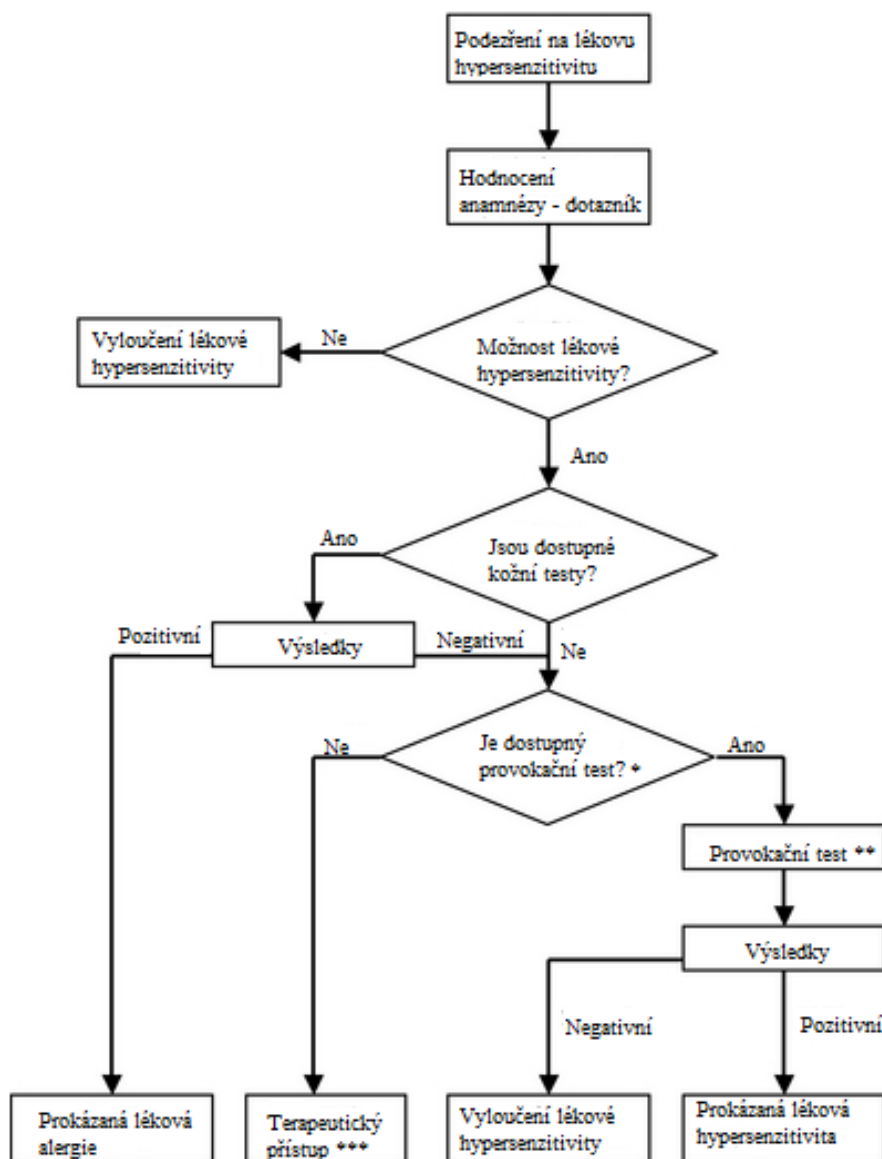
Dotazník pro získání přesné anamnézy lékové hypersenzitivity pacienta je k dispozici k nahlédnutí v příloze (příloha 1).

**Klíčové body** diagnostiky lékové hypersenzitivity:

- Pro zavedení vhodných preventivních opatření je nutná konečná diagnóza lékové hypersenzitivity.
- Nesprávné zařazení pouze na základě samotné anamnézy lékové hypersenzitivity může mít důsledky pro individuální volby léčby a je pro pacienta škodlivější než komplexní diagnostické vyšetření lékové alergie.
- Klinické nástroje, které umožňují definitivní diagnózu, zahrnují důkladnou klinickou anamnézu, standardizované kožní testy, spolehlivé *in vitro* testy a provokační testy lékem.



- Při řádném provedení je často možná spolehlivá diagnóza a může být podána bezpečná alternativní léčba.
- Screening bez předchozí anamnézy alergických reakcí není doporučen. <sup>[6]</sup>



**Obrázek 1 Schéma postupu při podezření na lékovou hypersenzitivitu dle International Consensus on drug allergy <sup>[6]</sup>**

\* V současné době dostupné biologické testy pro diagnostiku lékové alergie nemají dostatečnou citlivost.

\*\* Při absenci kontraindikací

\*\*\* Pokud není k dispozici žádná alternativa (např: neuromuskulárně blokující činidla, chemoterapeutická léčba), opětovné podání léčiva je povoleno pod pečlivým dohledem, vzhledem k premedikaci a / nebo desenzitaci.

Kdy vyšetřit lékovou hypersenzitivitu?

- Když je anamnéza lékové hypersenzitivity, lék je potřebný, nemá účinně a strukturálně odpovídají alternativu a pokud je poměr rizika / přínosu pozitivní.
- Když byla zvážena anamnéza těžké lékové hypersenzitivity pro další léky.

Kdy lékovou hypersenzitivitu nevyšetřovat?

- Případy bez jasné příčinnosti lékové alergie
  - nekompatibilní symptomatologie
  - nekompatibilní chronologie
  - následné užití léku bez reakce
  - reakce bez užití léku
  - alternativní diagnóza (erupce herpes viru, chronická kopřivka)
- U provokačního testu lékem – pokaždé, když byla reakce příliš závažná: nekontrolovatelná reakce a závažné život ohrožující reakce. <sup>[6]</sup>

#### **6.1.3.1 Test aktivace bazofilů (BAT)**

Bazofily jsou společně s žírnými buňkami klíčové efektorové buňky časně fáze alergické reakce. Jsou to granulocyty, mají segmentované jádro. Vyvíjejí se z pluripotentních progenitorových kmenových buněk (CD34+). Diferenciace a zrání bazofilů probíhá v kostní dřeni, v periferní krvi představují méně než 1 % leukocytů.

Test aktivace bazofilů, označován též jako bozotest, je řazen mezi vysoce specializovaná vyšetření. Své uplatnění nachází především u případů, kdy kožní testy a stanovení specifického IgE jsou nedostatečné pro stanovení diagnózy. Jedním z jeho přínosů je možnost rychlého výběru farmaka pro hospitalizovaného pacienta s anamnézou lékové alergie. Test se využívá například pro diagnostiku hypersenzitivity na neuromuskulární blokátory,  $\beta$ -laktamová antibiotika a nesteroidní protizánětlivé léky. Uplatnění má také u alergií na opiáty a quinolony, kde kožní testy vyvolávají falešně pozitivní reakci. BAT má vyšší senzitivitu (rozmezí 80–90 %) než stanovení specifických IgE, také poměrně vysoká specifita (téměř 100%) je jeho výhodou. Pro správné technické provedení testu je doporučeno vzorky zpracovat během 3 hodin od jejich odběru.

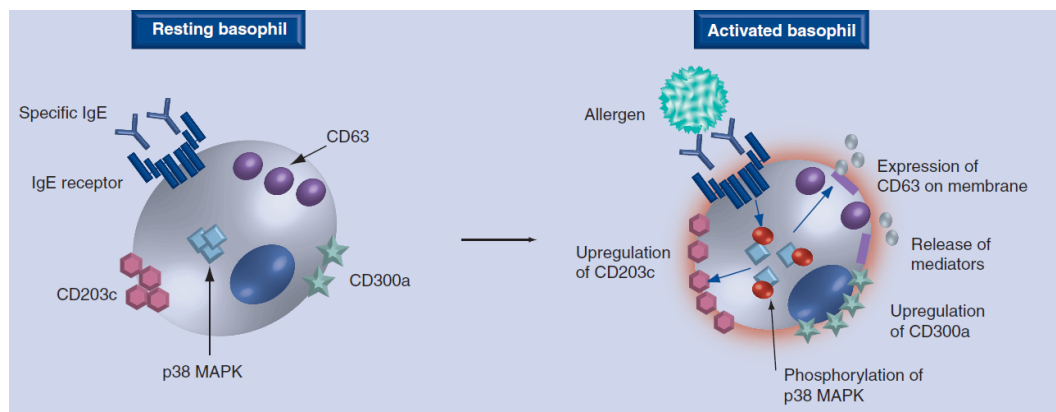
Vyšetření je prováděno z plné krve s využitím heparinu či EDTA jako protisrážlivého činidla. Je nenáročný na množství odebrané krve. Použití plné krve

má tu výhodu, že je praktičtější s jednodušší manipulací a přítomnost všech krevních složek může lépe odrážet fyziologické nebo patologické stavy *in vivo*. Skladování by mělo být při 4 °C. Vyšetření sleduje znaky aktivace objevující se na bazofilech po inkubaci krve pacienta s podezřelým alergenem. Je výhodné používat k diagnostice alergeny bez příměsí aditiv, případně rekombinantní alergeny. Pokud je pacient senzibilizován, budou bazofily aktivovány a dojde k uvolnění mediátorů z granulí uvnitř buňky. Během tohoto procesu dojde na membráně k expresi specifických znaků, které umožní identifikaci aktivovaných bazofilů. Znaky jsou značeny monoklonálními protilátkami a jejich detekce je prováděna pomocí průtokového cytometru.

Nejčastěji sledovanými znaky na bazofilech jsou CD63 a CD203c. CD63 (lysosomálně asociovaný membránový glykoprotein-3: LAMP-3) je členem transmembránové-4 nadrodiny (tetraspaniny) a je exprimován různými typy buněk, jako jsou bazofily, žírné buňky, destičky a makrofágy. V klidových bazofilech je CD63 ukotven na intracelulárních granulích s nízkou expresí na povrchové membráně. Naopak v důsledku fúze mezi granuly a membránou během exocytózy je CD63 exprimován s velkou hustotou na aktivovaných bazofilech. CD203c (glykosylovaná transmembranová molekula typu II) patří do skupiny enzymů ektonukleotidové pyrofosfatázy / fosfodiesterázy, které katalyzují hydrolýzu oligonukleotidů a nukleosidových fosfátů. Aktivaci bazofilů lze také měřit pomocí jiných intracelulárních molekul, například měřením fosforylace p38 MAPK či CD300a. P38 MAPK (protein kináza aktivována mitogenem) reguluje proliferaci buněk, diferenciaci a přežití. Proces aktivačních znaků bazofilů je znázorněn na obrázku č. 2.

Současně je za stejných podmínek inkubována negativní a pozitivní kontrola, kterou představuje plná krev s ředícím roztokem, nebo s látkou zaručující aktivaci co nejvyššího počtu bazofilů, kupříkladu s protilátkou anti-IgE.

Výsledkem vyšetření je procento aktivovaných bazofilů či vyjádření výsledků prostřednictvím stimulačního indexu, což je poměr procentuálního zastoupení bazofilů, které vykazují expresi CD63 po stimulaci lékem, k procentuálnímu zastoupení bazofilů stejného druhu před stimulací. Výsledek je hodnocen jako pozitivní při hodnotě stimulačního indexu 2 a více. Negativní hodnota BAT by neměla přesáhnout 5 % pro žádný alergen. Pro většinu alergenů je pozitivita uváděna v rozmezí 10–15 %. Výjimku prezentuje léková alergie. Léky vykazují nižší procento aktivace bazofilů než jiné alergeny, a to i v případě vyvolání alergické reakce u pacienta. <sup>[15,16,17,18,19,20]</sup>



**Obrázek 2** Rozdíl mezi aktivovaným a neaktivovaným bazofilem<sup>[9]</sup>

### 6.1.3.2 Lymfocytární transformační test (LTT)

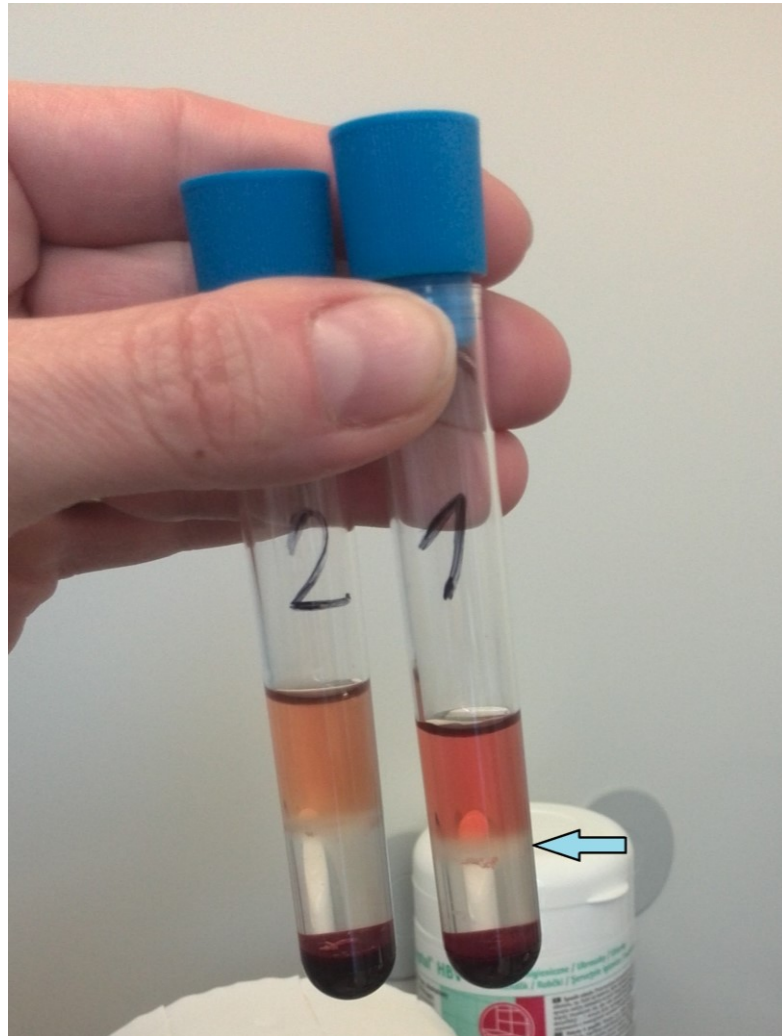
Test měří proliferaci T lymfocytů na léčivo *in vitro*. Jak bylo uvedeno výše, T lymfocyty mohou být stimulovány léky jako hapteny nebo prostřednictvím receptorů T lymfocytů. Dochází k uvolňování různých cytokinů (IL-5, IL6, TNF- $\alpha$ ) a chemokinů (IL-8).

Citlivost LTT je 56–78 % a jeho specifita se pohybuje v rozmezí 85–93 %. Hlavní výhodou tohoto testu je jeho použitelnost pro mnoho různých léků v různých imunitních reakcích, neboť specifické T lymfocyty jsou téměř vždy zapojeny do reakcí přecitlivělosti na léky. Jako nevýhoda je uváděna obtížnost převodu *in vitro* proliferace T lymfocytů k léku do klinické situace a také technická náročnost testu.

Pacientovi je odebrána krev do zkumavky s protisrážlivým činidlem. Pomocí centrifugace jsou mononukleární buňky periferní krve izolovány z plné krve gradientem hustoty (obrázek č. 3). Během následné kultivace po dobu 6 dní při 37 °C v médiu doplněném fetálním hovězím sérem a koncentračním rozmezím podezřelého léčiva, senzibilizované lymfocyty, které mají charakter paměťových buněk, se transformují v blasty. Dochází k metabolickým změnám (například: ke zvýšené syntéze fosfolipidů, DNA, RNA a proteinů). Měření syntézy DNA je využíváno ke sledování aktivace lymfocytů, za pomoci značení  $^3\text{H}$ -thymidinem, nukleotidem, který je inkorporován do nově syntetizované DNA. Thymidin ( $^3\text{H}$ -thymidin) je značen tritiem, po inkubaci buněk je množství zabudovaného nukleotidu do buněk, jako míra proliferace buněk, měřeno scintilačním spektrofotometrem. Zvýšení proliferace je vyjádřeno pomocí stimulačního indexu, tedy poměrem  $^3\text{H}$ -thymidin za přítomnosti léčiva/  $^3\text{H}$ -thymidin bez přítomnosti léčiva. Ve studii byl za pozitivní považován stimulační index  $\geq 2$ .

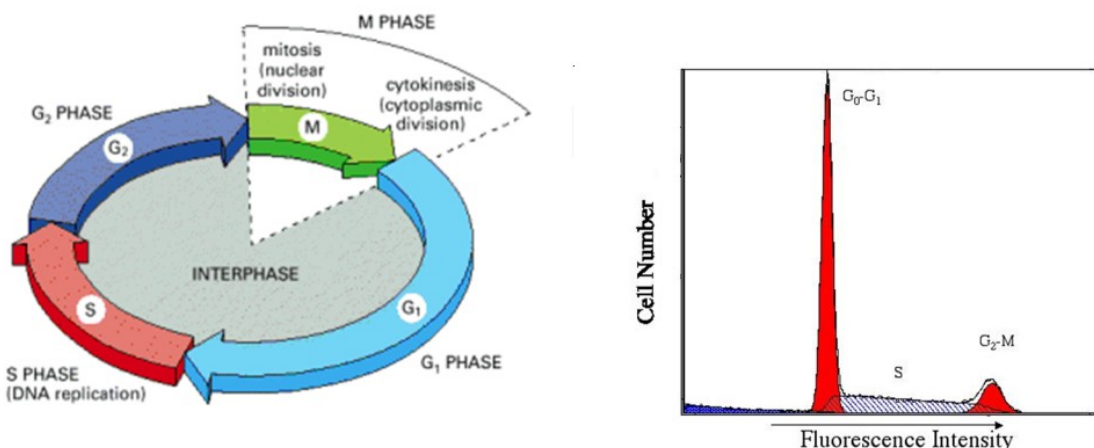
Další možností měření proliferace buněk je využití přímého kvantitativního měření DNA na průtokovém cytometru pomocí fluorescenčního barviva například propidium jodidu. Metoda využívá jako ukazatel buněčný cyklus, kdy se množství DNA liší v jeho jednotlivých fázích (viz obrázek č. 4).

Lze použít také další markery stimulace T lymfocytů, včetně sekrece mediátorů (IL-5, IL-10) a exprese specifických antigenů (CD69). [16,21,22,23,24]



**Obrázek 3 Separace lymfocytů z periferní krve** [vlastní]

První vrchní žlutá vrstva je plazma. Modrá šipka ukazuje na bílou vrstvu lymfocytů, pod kterou se nachází čirá vrstva separační tekutiny a tmavě červená vrstva granulocytů a erytrocytů.



Obrázek 4 Fáze buněčného cyklu a kvantitativní analýza DNA [24]

Buňky v  $G_2/M$  fázi obsahují dvojnásobné množství DNA a tak vykazují dvojnásobnou fluorescenci než buňky v  $G_0/G_1$  fázi.

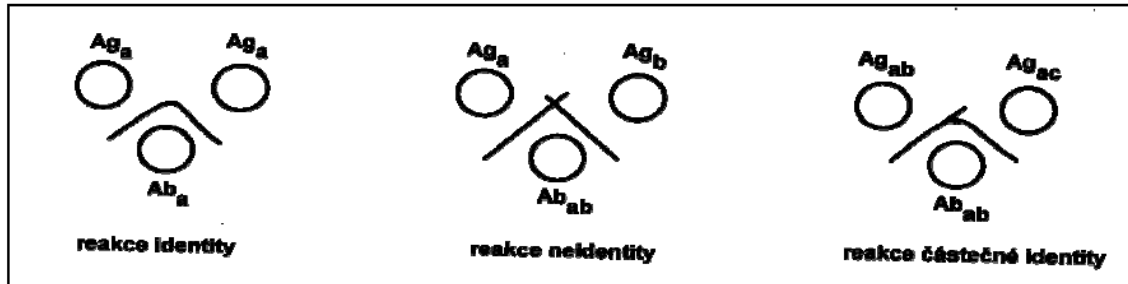
### 6.1.3.3 Precipitace v gelu - dvojitá radiální imunodifúze

Precipitace je založena na reakci rozpustného antigenu s rozpustnou protilátkou. Při interakci polyvalentního antigenu s polyvalentní protilátkou dochází k tvorbě trojrozměrné mřížkové struktury, jejímž následkem je vznik precipitátu (sraženiny). Během první fáze jsou tvořeny rozpustné imunokomplexy. Pomalejší druhá fáze je charakteristická agregací rozpustných komplexů z první fáze.

Reakce může probíhat v kapalném prostředí, jedná se o tzv. zákalové metody, kde je řazena turbidimetrie a nefelometrie. V gelovém prostředí probíhají precipitační metody difuzní, které jsou členěny na jednoduché a dvojitě difuze. Při jednoduché difuzi se v gelu pohybuje pouze jedna složka (protilátka nebo antigen) a druhá složka je rovnoměrně rozptýlená v gelu. V případě druhém, dvojitě difuze, není v gelu rozptýlená žádná složka, a tak se proti sobě obě dvě vzájemně pohybují (difundují).

Následně bude popsána metoda dvojitě radiální imunodifuze dle Ouchterlonyho, která je v praxi využívána ke kvalitativnímu stanovení protilátek proti lékům a jejich složkám v lidském séru. Je vhodná pro identifikaci antigenů a určení jejich imunochemické příbuznosti. V agarózovém gelu jsou vyřezány kruhové otvory. Pacientské sérum obsahující protilátku je dávkováno do centrální jamky. V kruhu kolem ní se nachází jamky pro antigeny. Takto připravený test se nechá několik hodin inkubovat ve vlhké komůrce. Oba reaktanty difundují z jamek radiálně. Pozitivním výsledkem je vytvoření precipitační linie. V případě použití více antigenů, lze dle charakteristického tvaru precipitační linie posuzovat, zda jsou antigeny identické,

částečně identické či zcela odlišné a dle toho posoudit příbuznost antigenních determinant. Metoda zřetelně ztrácí na významu, neboť oproti bazotestu a LTT má velmi nízkou specifickou a senzitivitu. [25,26]



Obrázek 5 Typy precipitačních linií [25]



Obrázek 6 Pozitivní léková precipitace [vlastní]

#### **6.1.3.4 Stanovení specifických IgE protilátek**

Detekce specifických IgE protilátek v séru slouží pro diagnostiku časně přecitlivělosti. Testy jsou komerčně dostupné ve formě fluorescenčních enzymových imunoanalýz (FEIA) a luminiscenčních imunoanalýz (LEIA). V klinické praxi je užitečnost vyšetření omezená. Test pro specifické IgE je dostupný jen pro omezený počet léků, mezi ně patří: ampicilin, cefalotin, cloxacilin, ibuprofen, heparin, neomycin, penicilin G, penicilin V, phenobarbital, prokain, streptomycin, tetracyclin a další.

Samotná demonstrace specifického IgE, například penicilinu, chymopapainu neumožňuje stanovit diagnózu lékové alergie. Avšak ve spojení s klinickými nálezy lze předpokládat mechanismus závislý na IgE. Proto je doporučováno, aby kožní testy na antibiotika byly prováděny po testování IgE při závažných časných reakcích.

Metoda má jistá úskalí. Přestože má vysokou specifitu, senzitivita je nízká. Pro mnohé léky není metoda dobře validovaná. <sup>[6,12,27]</sup>

#### **6.1.3.5 Stanovení hladiny tryptázy**

Dalším testem, který může být proveden, je stanovení hladiny tryptázy. Tryptázy jsou neutrální proteázy patřící do podskupiny serinových peptidáz trypsinové rodiny. Téměř všechny lidské žírné buňky vytvářejí a uchovávají tryptázy, které tvoří hlavní proteiny v sekrečních granulích. Bazofily, které pravděpodobně mají méně významnou roli při anafylaxi než žírné buňky, produkují podstatně menší množství tryptázy. Tryptázy žírných buněk jsou kódovány čtyřmi lokusy na chromozomu 16, rozmanitost je dána alelickými variacemi  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  a  $\delta$ .  $\delta$  a  $\gamma$  tryptázy se v séru nenacházejí. Pouze  $\alpha$  a  $\beta$  tryptázy tvoří cirkulující tryptázy a jen tyto dvě formy mají vztah k anafylaxi.

Pro vyšetření je vhodná krev heparinizovaná či srážlivá nebo EDTA plazma. Časný odečet, odběr mezi 15 min. a 3 hodinami od začátku reakce, pomůže potvrdit diagnózu anafylaxe. Druhý odběr, v odstupu 1 nebo více dní, je prováděn k posouzení dynamiky a k vyloučení systémové mastocytární nemoci. <sup>[1,28]</sup>

#### **6.1.3.6 Kožní testy**

Kožní testy jsou nejpoužívanějšími prostředky k potvrzení nebo vyloučení senzibilizace. Měly by být provedeny po úplném odeznění původní reakce, úplné eliminaci příčinného léku z organismu a odeznění vlivu léků použitých k léčbě reakce. Je doporučováno počkat optimálně 3 týdny až 3 měsíce nebo 1 až 6 měsíců od odeznění



reakce. Testy jsou využívány k průkazu senzibilizace zprostředkované IgE protilátkami a T lymfocyty. Před vykonáním kožních testů je potřeba eliminovat vliv léků, jimiž by mohl být ovlivněn jejich výsledek. Od silné expozice UV zářením je doporučen interval 4 týdnů, neboť také snižuje citlivost kožních testů. Testování lze provádět pouze na zdravé kůži. Kontraindikací je také gravidita či akutní horečnatý infekt.

IgE typ přecitlivosti lze prokázat metodami prick testu a intradermálního testu s časným odečtem, za 15–20 min. Prick test je doporučován jako počáteční screening pro jeho jednoduchost, rychlost, nízkou cenu a vysokou specifčnost. Intradermální testy jsou prováděny v případě, že je prick test negativní, neboť poskytují vyšší citlivost než prick test. Intradermální test má vyšší senzitivitu, ale je potřeba zvolit vhodnou formu léku – sterilní parenterální preparát, správnou techniku a znalost vhodné koncentrace pro daný lék. Technika prick testu s léky je totožná s prick testy s ostatními alergeny. Na suchou a odmaštěnou kůži předloktí či zad je nanesena kapka testovaného léku ve vhodné koncentraci. Pomocí lancety je narušena svrchní vrstva kůže. Vždy je potřeba testovat také negativní a pozitivní kontrolu. Výsledek testu je odečten po 15 min., je hodnocena velikost kožní reakce (pupenu), její nejdelší rozměr v milimetrech. Za pozitivní výsledek je považován pupen  $\geq 3$  mm. Provedení intradermálního testu je nejčastěji na volární straně předloktí. Místo aplikace je dezinfikováno a poté je testovaná látka, 0,02–0,05 ml alergenu, aplikovaná inzulinovou stříkačkou. Po správném provedení se vytvoří puchýřek, který má vzhled špendlíkové hlavičky o velikosti 3 mm. U časného odečtu je kritériem nárůst pupenu o  $\geq 3$  mm.

Pro pozdní typ reakcí s účastí T lymfocytů je užíván intradermální test s oddáleným odečtem, za 24–48 hodin, a patch test neboli epikutánní test, jenž je odečítán za 48–72 hodin. U patch testu není potřeba parenterální forma léků, jsou specifické, ale senzitivita je nižší oproti intradermálním testům s oddáleným odečtem. U pozdního odečtu intradermálního testu je za pozitivní výsledek považován infiltrovaný, palpovatelný erytém. Při patch testu je pacientovi na zdravou kůži v horní polovině zad aplikován podezřelý lék naředěný na vhodnou koncentraci vehikulem, např. bílou vazelínou pomocí komůrky či testovací náplasti. 48 hodin nepřetržitě je ponechán v kontaktu s kůží. Poté je alergen odstraněn a je proveden odečet a další odečet o 1–2 dny později. Jsou hodnoceny změny kůže. K průkazu fototoxické či fotoalergické reakce je využíván foto patch test. Projevy se vyskytují v solární lokalizaci. Mezi látky s fotosenzibilizačním potenciálem patří například sulfonamidy, tetracyklinová antibiotika, některá diuretika, antidiabetika, fenofibráty. Jsou aplikovány

2 sady shodných alergenů. Jedna sada je po 24 hodinách odstraněna a následně je tatáž oblast ozářena UV zářením. Druhá sada zůstává zalepena a je odstraněna za 48 hodin po aplikaci. Obě sady jsou vzájemně porovnány. V případě pozitivní reakce v obou sadách se jedná o prostou kontaktní alergickou dermatitidu. Pokud je pozitivní reakce pouze v ozářené sadě, jde o fotokontaktní alergickou reakci. [4,6,29,30]

#### **6.1.3.7 Provokační test lékem**

Test je prováděn na konci vyšetřovacího postupu při lékové alergii. Je zlatým standardem pro potvrzení či vyloučení lékové alergie pro mnoho léků. Může být také využit pro pacienty, u nichž po celkovém hodnocení není pravděpodobná alergie na daný lék a test by byl proveden za účelem průkazu tolerance léku. Jedná se o postup s nejlepší senzitivitou mezi všemi dostupnými diagnostickými nástroji. Avšak představuje potenciální riziko pro pacienta, je časově náročný a vyžaduje odpovídající zdravotnické zařízení a vyškolený personál. Mnohdy je jedinou možností pro potvrzení přecitlivělosti, a to v případě, že předchozí vyšetřovací kroky jsou negativní, nejsou přesvědčivé či dostupné. Pacientovi je podán pod lékařským dohledem lék. Může se jednat o sloučeninu alternativní nebo strukturně / farmakologicky příbuznou nebo o samotný podezřelý přípravek. Lék by měl být aplikován stejným způsobem, jak byl aplikován při výskytu hypersenzitivní reakce. Dávkování testovaných přípravků a časování intervalů se u studií liší. Musí být dosaženo maxima jednorázové dávky specifického léku a je žádoucí podání definované denní dávky. V závislosti na typu samotného léku, závažnosti vyšetřované lékové hypersenzitivity a jejího mechanismu, může zpoždění mezi aplikací a reakcí trvat hodiny, dny nebo i týdny. Předmětem diskuze, je otázka, zda je jedna plná terapeutická dávka dostačující k vyvolání reakcí u pacientů s pozdní odpovědí. Je tedy důležitý výše zmíněný komplexní přístup při diagnostice lékové alergie. [6,31,32]

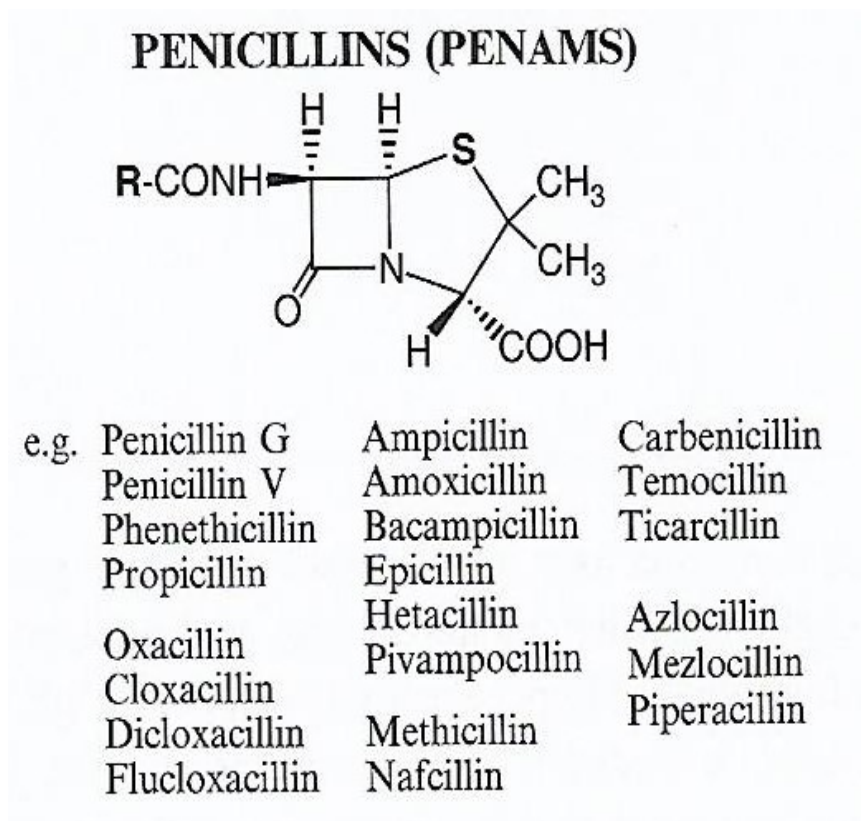
#### 6.1.4 $\beta$ -laktamová antibiotika

Následující podkapitola se bude věnovat skupině  $\beta$ -laktamových antibiotik, konkrétně penicilinům a cefalosporinům, která dlouhodobě zauímají první místo v žebříčku nejčastějších lékových alergií. Mnohé diagnózy jsou nadhodnocené, 9 z 10 pacientů je zbytečně léčeno antibiotiky druhé volby, které mají vyšší riziko vedlejších účinků, nižší účinnost a jejich cena je vyšší. Častější volba náhradních antibiotik má svůj podíl na vzestupu bakteriální rezistence. Příčinou nadhodnocení údajů, které jsou až desetkrát častější, než je skutečný výskyt, je časté založení diagnózy pouze na anamnestickém údaji nežádoucích projevů vzniklých v době léčby antibiotikem.

Základem molekuly  $\beta$ -laktamových antibiotik je čtyřčlenné  $\beta$ -laktamové jádro obsahující dusík a ketoskupinu.  $\beta$ -laktamová antibiotika jsou dělena do čtyř hlavních skupin: peniciliny, cefalosporiny, monobaktamy a karbapenemy. Skupiny se liší druhým kruhem, který je spojen s  $\beta$ -laktamovým jádrem. Rozdíly spektra účinku jsou dány odlišnou afinitou k cílovým vazebným strukturám PBP (penicillin binding proteins), schopnosti průniku do bakteriální buňky a odolnosti vůči různým mechanismům rezistence.

Jejich účinek spočívá v inhibici syntézy peptidoglykanu buněčné stěny a následné autolýze bakteriální buňky. Antibiotika jsou vázána na enzymy PBP, které představují buněčné receptory.  $\beta$ -laktamová antibiotika inaktivují PBP pomocí jejich acylace. Inhibici syntézy bakteriální stěny vyvolává blokáda transpeptidačních reakcí zpevňujících peptidoglykan (murein, mukopeptid).  $\beta$ -laktamová antibiotika aktivují v bakteriální stěně buněk i další enzymy, které řízeně katalyticky obměňují peptidoglykan, a tím je způsobena lýza a smrt bakteriální buňky. <sup>[1,28,33,34]</sup>

### 6.1.4.1 Peniciliny



**Obrázek 7 Chemická struktura a zástupci penicilinové skupiny <sup>[1]</sup>**

Penicilinová antibiotika jsou tvořena  $\beta$ -laktamovým jádrem (kyselina 6-aminopenicilanová), thiazolidinovým prstencem a postranním řetězcem (R), který se liší dle daného antibiotika. Všechny peniciliny mají rychle nastupující baktericidní účinek. Jejich využití je velmi široké jako základní léky pro léčbu komunitních i nemocničních infekcí vyvolaných citlivou bakteriální mikroflórou. Základní peniciliny mají antibakteriální spektrum úzké, zahrnuje grampozitivní mikroby. Naproti tomu širokospektré peniciliny (např. aminopeniciliny, ureidopeniciliny) mají účinnost i vůči gramnegativním mikrobům.

Incidence hypersenzitivní reakce na peniciliny je kolem 1–2 % pacientů. Mohou vyvolat všechny čtyři typy hypersenzitivní reakce: prostřednictvím IgE typ I. reakce jako urtikárie, angioedém, bronchospasmus a anafylaxe; typ II. zprostředkovan protilátkami: hemolytická anemie a trombocytopenie; typ III. prostřednictvím komplementu například sérová nemoc a vaskulitidy; typ IV. působením T lymfocytů nejčastěji kontaktní dermatitidy, vyrážky.

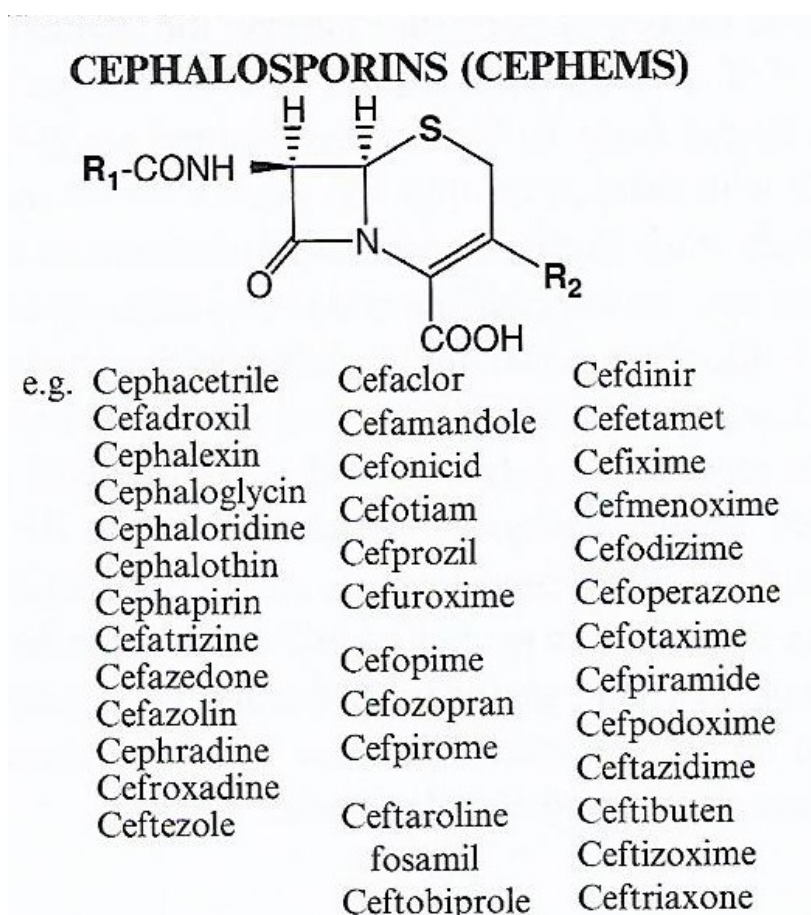
Z hlediska farmakodynamiky jsou řazena mezi antibiotika s účinkem nezávislým na koncentraci, dávkování je cíleno na dostatečně dlouhé udržování účinných koncentrací nad minimálními inhibičními koncentracemi citlivých patogenů alespoň po dobu 40 % dávkovacího intervalu. Peniciliny jsou velmi málo toxické. Farmakokinetika penicilinů je příznačná poměrně dobrým průnikem do biologických tekutin a malým průnikem do buněk. Dominuje vylučování ledvinami. Peniciliny mají krátký biologický poločas, kolem jedné hodiny. Jedná se o velmi malé molekuly, k vyvolání imunitní odpovědi musí dojít k haptenizaci, ke kovalentnímu navázání na větší molekulu (tkáňový či sérový protein).

$\beta$ -laktamy podstupují spontánní degradaci při fyziologických podmínkách za vzniku reaktivních intermediátů. Tím se liší od většiny antibiotik, které musí být enzymaticky metabolizovány na meziproducty, které jsou schopné vazby na hostitelské proteiny. Kondenzovaná fúze struktury  $\beta$ -laktamového kruhu s thiazolidovým kruhem způsobuje zvýšené napětí v rámci  $\beta$ -laktamového kruhu. V důsledku vzniklého napětí dochází v průběhu metabolismu k otevření  $\beta$ -laktamového kruhu penicilinu, které umožní karbonylové skupině vytvořit amidovou vazbu na aminoskupinu nosičského proteinu. Nově vzniklá vazba, peniciloylová skupina, patří mezi hlavní antigenní determinanty, až 95 % penicilinu vázaného na tkáň je v této podobě. Zbývající část penicilinu degraduje na řadu derivátů, které jsou také schopny haptenizace. Mezi nejvýznamnější z nich patří peniciloat a peniloat, které jsou řazeny mezi minoritní antigenní determinanty. Další klinicky významnou determinantou je postranní řetězec, který je, mimo jiné, zodpovědný za zkřížené reakce. Příkladem výrazné zkřížené reaktivity mezi peniciliny je mezi třemi strukturálně příbuznými peniciliny obsahujícími fenylisoxazolyl v postranním řetězci oxacilin – kloxacilin – dikloxacilin.

Předvídatelná degradace penicilinu na stabilní hlavní a vedlejší antigenní determinanty umožňuje standardizaci kožních testů, při kterých by měly být použity majoritní i minoritní determinanty. Komerční diagnostické kožní testy (prick testy a vzestupně intradermální testy) firmy Diater jsou jako jediné registrované v Evropské unii. Jsou určeny k průkazu alergie časného typu. Obsaženy jsou 2 alergenní determinanty: hlavní alergenní determinanta (PPL – peniciloyl-poly-L-lyysin) a vedlejší alergenní determinanta (MDM – benzylpenicilin minor detrmnat mix). Při testování je postupováno od neředěného prick testu přes intradermální test v ředění 1:10 a intradermální test neředěný. Tento postup je uplatněn pro obě determinanty. Testování je tedy velmi časově náročné.

Stanovení specifických IgE proti hlavní determinantě je méně citlivé než kožní testy. Vedlejší determinanty pro specifické IgE nejsou komerčně dostupné. Až 80 % pacientů, kteří mají anamnézu alergické reakce na peniciliny, vykazují negativitu specifických IgE protilátek proti hlavní determinantě. Senzitivita BAT pro antibiotika penicilinového typu je kolem 50 %, specifita 93,3 %. LTT má pro peniciliny senzitivitu kolem 60 % a specifitu kolem 90 %. [1,2,28,33,34,35,36]

#### 6.1.4.2 Cefalosporiny



**Obrázek 8 Chemická struktura a zástupci cefalosporinové skupiny [1]**

U cefalosporinů je  $\beta$ -laktamové jádro (kyselina 7-aminocefalosporinová) rozšířeno o šestičlenný dihydrothiazinový kruh a dva postranní řetězce ( $R_1$  a  $R_2$ ). Rozdílnost v aktivitě a trvání účinku jednotlivých cefalosporinů je závislá na různých postranních řetězcích. Využití cefalosporinů je široké především jako alternativní léky penicilinů. Podle antimikrobní účinnosti je skupina dělena do pěti generací. S posloupností jednotlivých generací dochází k poněkud horší účinnosti vůči gram pozitivním mikrobům, avšak podstatně je zlepšována účinnost vůči

gramnegativním bakteriím. U posledních dvou generací, 4. a 5., je spojena vysoká aktivita na grampozitivní i gramnegativní mikroorganismy.

Bezpečnostní profil cefalosporinů je dobrý, jsou velmi málo toxické. Incidence hypersenzitivních reakcí na cefalosporiny se pohybuje mezi 1–3 %, v literatuře nejčastěji figuruje 1 %. Nejčastěji se jedná o kožní reakce, převážně vyrážku a urtikárii, s frekvencí výskytu kolem 1–3 %. Anafylaxe je výjimečná. Vzácné jsou těžké kožní reakce jako jsou Stevens-Johnsonův syndrom a exfoliativní dermatitidy.

Farmakodynamicky patří cefalosporiny mezi antibiotika s účinkem nezávislým na koncentraci. Cílem dávkování je alespoň po dobu 50 % dávkovacího intervalu dostatečně dlouhé udržování účinných koncentrací nad minimálními inhibičními koncentracemi citlivých patogenů. Farmakokinetika cefalosporinů je charakterizována poměrně dobrým průnikem do biologických tekutin, avšak malým průnikem do buněk. Některé cefalosporiny jsou významně metabolizovány, většina je vylučována močí, jejich biologický poločas je krátký, většinou se pohybuje v rozmezí 0,5–3 hodiny. Ceftriaxon je výjimkou, jeho biologický poločas eliminace je 8 hodin.

Struktura jádra cefalosporinů je v porovnání s peniciliny méně reaktivní a pomaleji dochází ke konjugaci s proteiny. Případné otevření  $\beta$ -laktamového jádra vede k vytvoření velmi nestabilního proteinového konjugátu, který je označován jako cefalosporinová determinanta. Podléhá další degradaci rozpadem dihydrothiazinového kruhu za vzniku více antigenních fragmentů. Vytvoření několika nestabilních produktů degradace komplikuje izolaci a identifikaci antigenních determinant. Důsledkem je nedosažení standardizace kožních testů pro cefalosporiny.

Imunitní systém může rozpoznat celou molekulu  $\beta$ -laktamu či jeho různě velkou část, část postranního řetězce, celý postranní řetězec či kombinace bočního řetězce a části  $\beta$ -laktamového kruhu. Proto hypersenzitivní reakce mohou být na konkrétní cefalosporin, na více cefalosporinů, které mají stejný nebo podobný postranní řetězec nebo jako zkřížená reakce na jiná  $\beta$ -laktamová antibiotika. O hypersenzitivní reakci pouze na konkrétní cefalosporin vykazuje nedostatek zkřížené reaktivity s dalšími cefalosporiny, v tomto případě se imunitní reakce účastní celá molekula cefalosporinu. Zkřížená reaktivita mezi cefalosporiny je způsobena podobností postranních řetězců,  $R_1$  a  $R_2$ . Příkladem reaktivity způsobené identickými či podobnými  $R_1$  postranních řetězců je například mezi cefuroxim – cefotaxim či cefotacim – ceftriaxon – ceftazidim. Příkladem reaktivity na základě identického  $R_2$  postranního řetězce je mezi cefoperazonem – cefamandolem.

Největší riziko pro pacienta s alergií na penicilin představuje penicilinová skupina, jeho riziko reakce na cefalosporiny 1. generace je nižší než 10 % a na cefalosporiny 2. a vyšší generace je mnohem nižší. U pacientů s časnou formou alergie na cefalosporiny výskyt zkřížené reaktivity k penicilinům činil 25 %. Jako příklad může být uveden pacient s alergickou reakcí na kombinovaný preparát amoxicilin s kyselinou klavulanovou. Může proběhnout imunitní reakce zaměřená na  $\beta$ -laktamové jádro a to by znamenalo riziko alergie na přinejmenším na všechny peniciliny. Pokud by byla pacientova imunitní reakce namířena na postranní řetězec, může tolerovat základní peniciliny, a naopak reagovat na cefalosporiny se shodným postranním řetězcem, cefadroxil a cefprozil. Pozornost je potřeba věnovat také možné zkřížené reaktivitě u skupiny ampicilin – cefalexin – cefaclor.<sup>[1,28,33,34,35,37]</sup>



## 7. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V rámci diplomové práce proběhla odborná stáž v laboratořích Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové. Dle tamních standardních operačních postupů jsou uvedeny následující postupy. Stáž proběhla s cílem seznámení se s testy prakticky.

### 7.1 *Lymfocytární transformační test*

Pracovní postup:

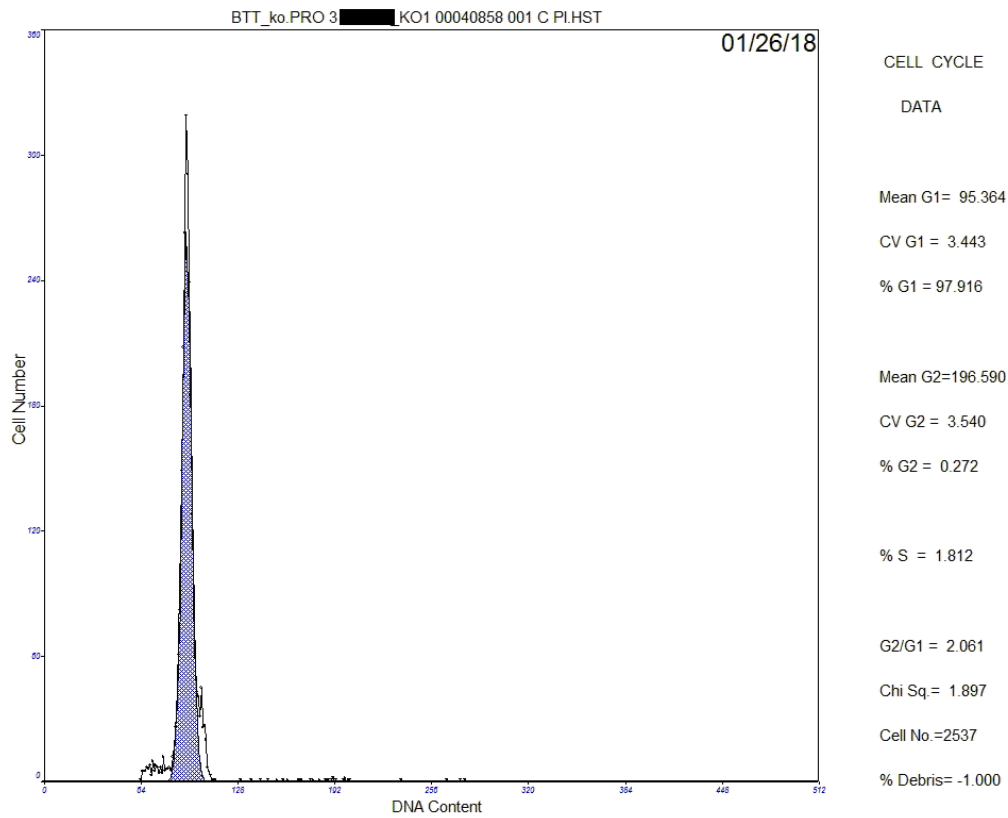
1. Separace lymfocytů z periferní krve
2. Ředění alergenů
3. Ředění lymfocytů
4. Vlastní postup
5. Zpracování a hodnocení dat

Separace lymfocytů byla provedena z periferní krve, která byla naředěna Hanksovým médiem vytemperovaným na 37 °C v poměru 1:1. Naředěná krev byla opatrně navrstvena na separační medium ochlazené na 4 °C tak, aby krev tvořila 2/3 sloupce ve zkumavce. Naředěná krev byla navrstvena pomalu, aby nedošlo ke smíchání obou vrstev. Zkumavka byla centrifugována 20 min. při 2300 otáčkách/min. za laboratorní teploty. Pasterkou byl odsán supernatant (světle žlutá vrstva až k vrstvě lymfocytů, která byla tvořena plazmou). Střední bílá vrstva lymfocytů byla přemístěna do nové označené zkumavky. Lymfocytární suspenze byla promyta médiem a centrifugována 10 min. při 1600 otáčkách/min. Po centrifugaci byl supernatant odsán a lymfocytární suspenze byla jemně rozklepána. Lymfocytární suspenze byla opět promyta médiem a centrifugována 7 min. při 1400 otáčkách/min. Poté byl supernatant odsán a suspenze jemně rozklepána. Byl přidán 1 ml media s 10% bovinním fetálním sérem, ve kterém bude lymfocytární suspenze kultivována. Reverzně bylo napipetováno 20 µl suspenze do cytometrické zkumavky, bylo přidáno 0,5 ml fyziologického roztoku a reverzně 25 µl suspenze polystyrenových kuliček Flow-count. Počet lymfocytů byl změřen na průtokovém cytometru. Dle získaného počtu bylo pomocí výpočtové tabulky v laboratorním systému vypočteno množství pro správné ředění léků a pro ředění lymfocytů. Do jamek sterilní mikrotitrační destičky byla napipetována 2x

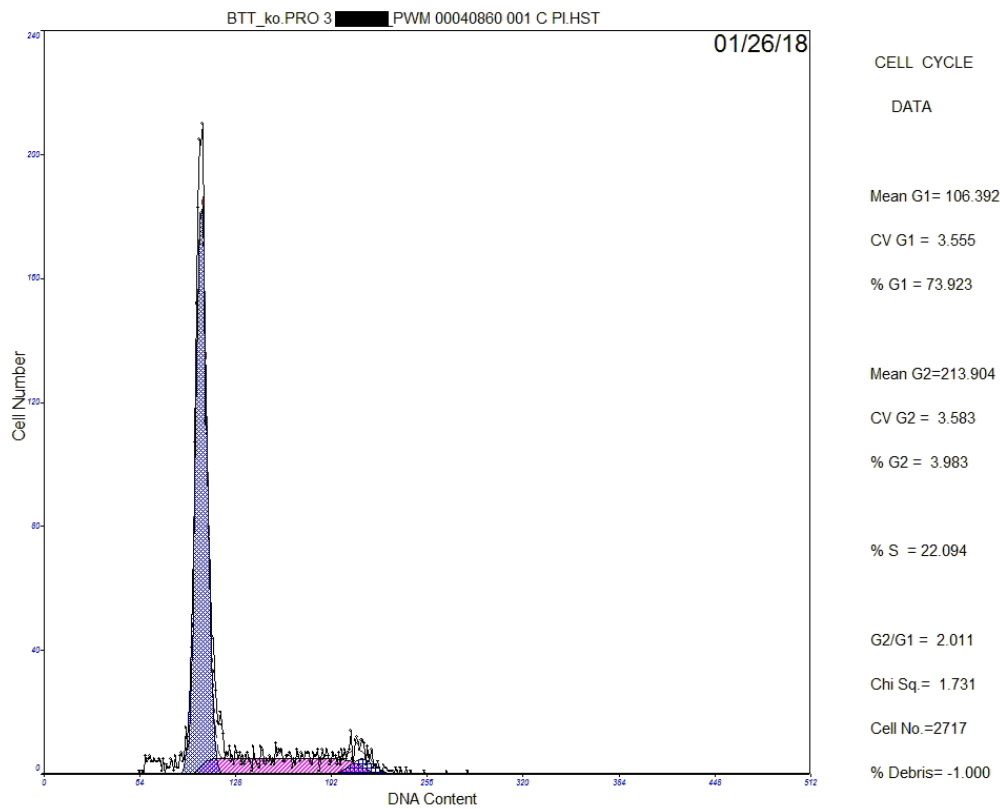
nestimulovaná kontrola (vzorky inkubované bez léku – lymfocytární suspenze + bovinní fetální sérum), 1x pozitivní kontrola (Pokeweed mitogen + lymfocytární suspenze) a 2x příslušný alergen (testovaný lék + lymfocytární suspenze). Destička byla protřepána a inkubována 6 dní.

Po inkubaci byly suspenze odebrány z destičky do zkumavek. Do každé zkumavky byl přidán 1 ml lyzačního roztoku ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  +  $\text{KHCO}_3$  + EDTA) pro DNA analýzu. Následovalo protřepání a inkubace 5 min. Zkumavky byly centrifugovány 10 min. při 1100 otáčkách/min. Supernatant byl odstraněn a buněčný sediment byl protřepán. Byly zopakovány předchozí kroky (přidání lyzačního roztoku, inkubace, centrifugace a odstranění supernatantu). Buněčný sediment byl protřepán. Bylo přidáno 500  $\mu\text{l}$  promývacího roztoku a poté 50  $\mu\text{l}$  4% paraformaldehydu na fixaci buněčné stěny. Po 5 min. inkubaci následovala centrifugace po dobu 10 min. 1100 otáček/min. Supernatant byl odstraněn. Do každé zkumavky bylo přidáno 500  $\mu\text{l}$  0,5% roztoku tweenu pro permeabilizaci buněčné membrány, 50  $\mu\text{l}$  roztoku ribonukleázy, 50  $\mu\text{l}$  barviva propidium iodidu. Zkumavky byly uzavřeny víčkem a byly vloženy do inkubátoru s  $\text{CO}_2$  na 60 min. (čas pro stechiometrické navázání propidium iodidu na DNA).

Vzorky byly měřeny na průtokovém cytometru, bylo analyzováno 4000–5000 buněk. Množství DNA v buňkách bylo měřeno nepřímě, na základě fluorescence propidium iodidu, který s DNA tvoří nekovalentní komplexy. Vyhodnocení proběhlo pomocí softwaru Multicycle, který poskytl údaje o procentuálním zastoupení lymfocytů a lymfoblastů v  $G_0/G_1$ , S a  $G_2/M$  fázích buněčného cyklu. Podíl proliferujících buněk byl dán součtem buněk nacházejících se v S a  $G_2/M$  fázi, uvedeným v procentech. Výsledek byl vyjádřen jako stimulační index SI (podíl hodnoty proliferační odpovědi vzorku stimulovaného testovaným lékem a hodnota proliferační odpovědi nestimulovaného vzorku). Výsledek do hodnoty  $SI \leq 2$  byl hodnocen jako negativní,  $SI = 2-3$  jako hraniční a  $SI > 3$  jako pozitivní. Každý pacient byl posuzován individuálně i podle kontroly.



**Obrázek 9 Negativní výsledek LTT testu [stáž]**



**Obrázek 10 Pozitivní výsledek LTT testu [stáž]**

## 7.2 Bazotest

Pracovní postup:

1. Ředění alergenů
2. Inkubace heparinizované krve s alergeny
3. Značení monoklonálními protilátkami
4. Lýza erytrocytů, promytí
5. Měření na průtokovém cytometru
6. Zpracování a hodnocení dat



**Obrázek 11 BasoFlowEx Kit – souprava Exbio pro bazotest** <sup>[vlastní]</sup>

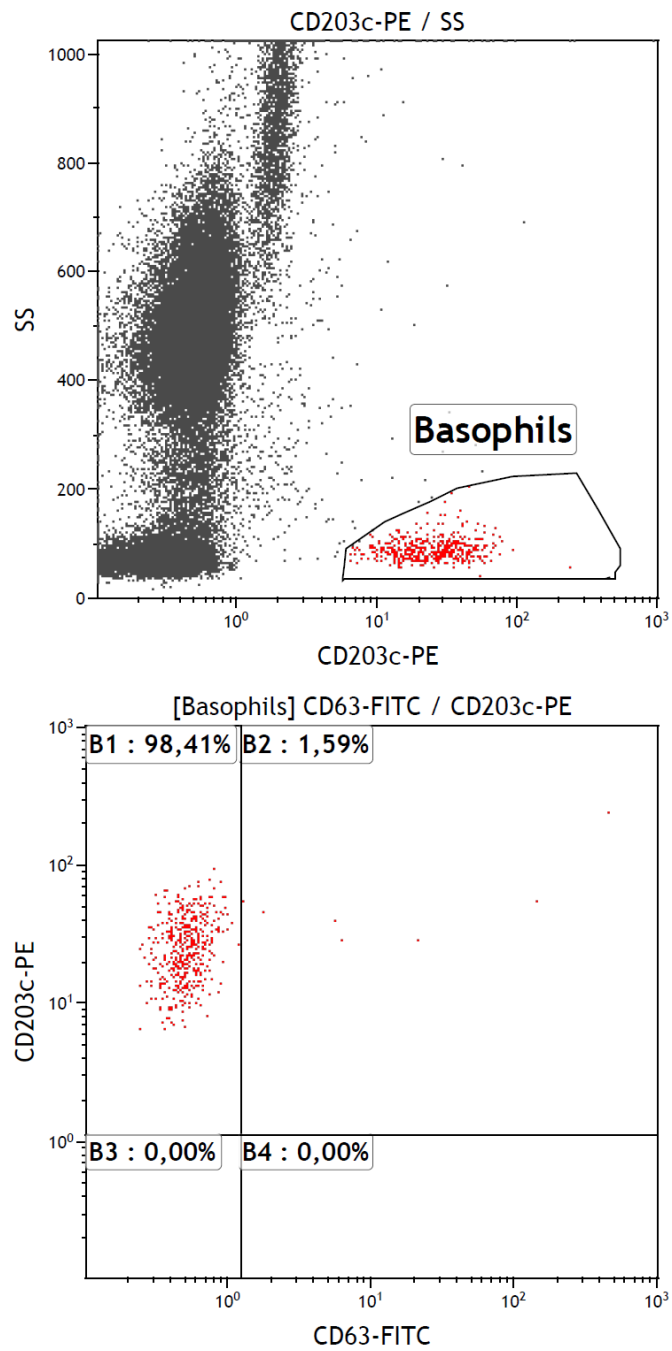
Souprava obsahuje: Stimulation Buffer – lyofilizovaný stimulační pufr, Stimulation Control – lyofilizovaný stimulant pozitivní kontroly, Staining Reagent – koktejl protilátek anti-CD63 a anti-CD203c, Lysing Solution – lyzační roztok

Byly připraveny cytometrické zkumavky, do kterých bylo napipetováno 50  $\mu$ l stimulačního pufu. Do první zkumavky, sloužící jako negativní kontrola, nebylo přidáno již nic. Do druhé zkumavky, sloužící jako pozitivní kontrola, byly napipetovány 2  $\mu$ l stimulační kontroly Exbio. Do třetí zkumavky byl přidán naředěný alergen. Do všech tří zkumavek bylo přidáno 100  $\mu$ l čerstvé nesrážlivé heparinizované krve, která byla řádně protřepaná. Takto připravené zkumavky byly 15 min. inkubované

ve vodní lázni temperované na 37 °C. Po skončení inkubace byly zkumavky přeneseny do ledové lázně, ve které bylo do všech tří zkumavek pipetováno 20 µl koktejlu monoklonální protilátky anti-CD63(FITC) a monoklonální protilátky anti-CD203c(PE). Vzorky byly inkubovány 15 min. v ledové lázni v dolní části lednice. Poté byly vyndány z lázně a bylo přidáno 300 µl lyzačního činidla Exbio. Ponechaly se 5 minut lyzovat při laboratorní teplotě. Do každé zkumavky byly dodány 3 ml destilované vody a byly inkubovány do vyčerení cca 10 min. Následovala centrifugace 5 min. při 1200 otáčkách/min., supernatant se slil a sediment byl řádně roztřepán a resuspendován ve 2 ml PBS (fosfátový pufrovaný fyziologický roztok). Znovu proběhla centrifugace 5 min. při 1200 otáčkách/min., odstranění supernatantu a resuspendace v 600 µl PBS.

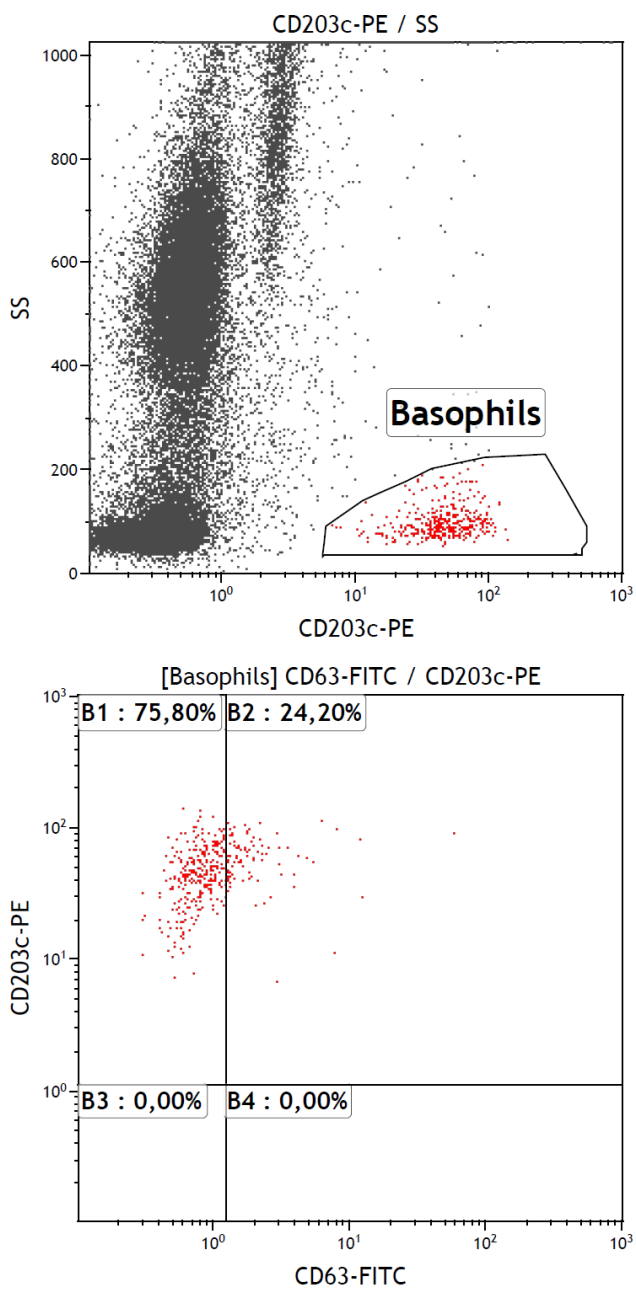
Vzorky byly změřeny na průtokovém cytometru. Bylo hodnoceno % CD63 pozitivních bazofilů, 10-15 % bylo hodnoceno jako hraniční, >15 % jako pozitivní. SI (podíl % CD63 pozitivních bazofilů po stimulaci alergenem a % CD63 pozitivních bazofilů bez stimulace)> 2 označoval pozitivitu.

## Ampicilin c2



Obrázek 12 Negativní výsledek bazotestu <sup>[stáž]</sup>

# Amoksiklav c1



Obrázek 13 Pozitivní výsledek bazotestu [stáž]

### 7.3 Základní popisná statistika

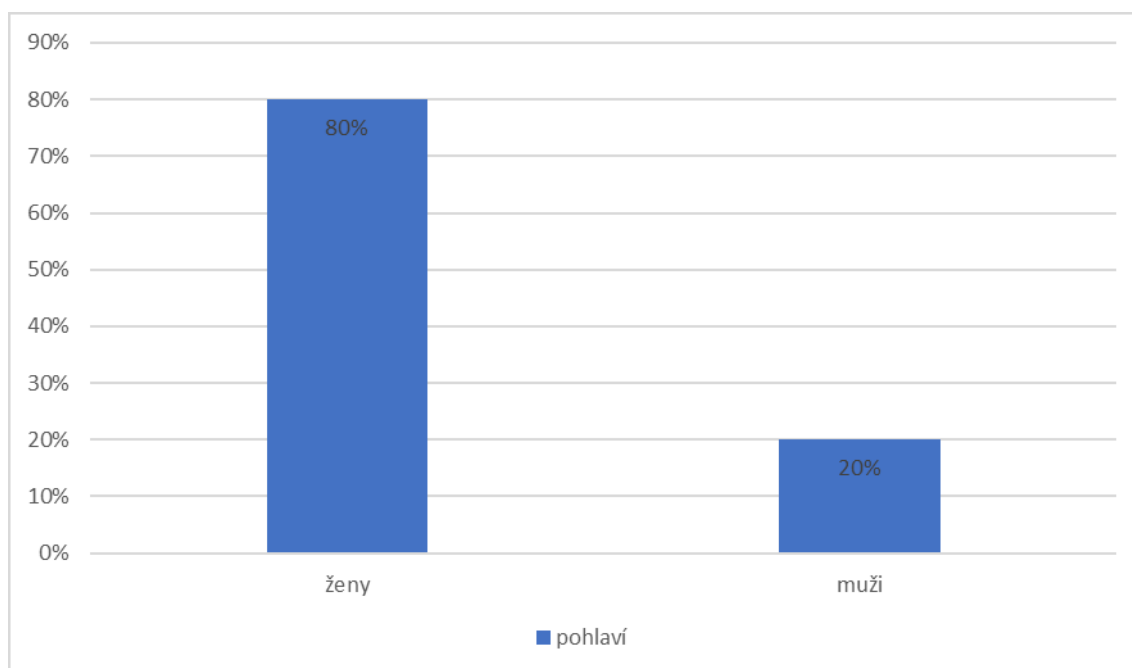
Pro statistiku byla použita zdravotní dokumentace pacientů, kteří byli kompletně klinicky a laboratorně vyšetřeni na ambulanci Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové za kalendářní rok 2017. Z tohoto počtu byli vybráni pouze ti nemocní (soubor 25 pacientů), u kterých byly pro potvrzení lékové alergie / intolerance provedeny kožní testy pro vysokou suspekci na hrozící riziko indikovaného antibiotiky. Celé tabulky, do kterých byla zapsána data z patientské dokumentace, jsou k dispozici v příloze (příloha 2).

#### 7.3.1 Pohlaví pacientů

Ve sledovaném souboru dominovalo ženské pohlaví. 20 žen představovalo 80 % pacientů a 5 mužů prezentovalo 20 % souboru.

**Tabulka 2 Pohlaví**

	Počet	Podíl v %
Muži	5	20
Ženy	20	80



**Graf 1 Pohlaví**



### 7.3.2 Věk

Věkový průměr skupiny v době vzniku alergické reakce byl vyhodnocen na 23,48 let.

**Tabulka 3 Věk**

Pacient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Věk (roky)	5	65	15	5	10	10	33	42	42	5	40	18	19

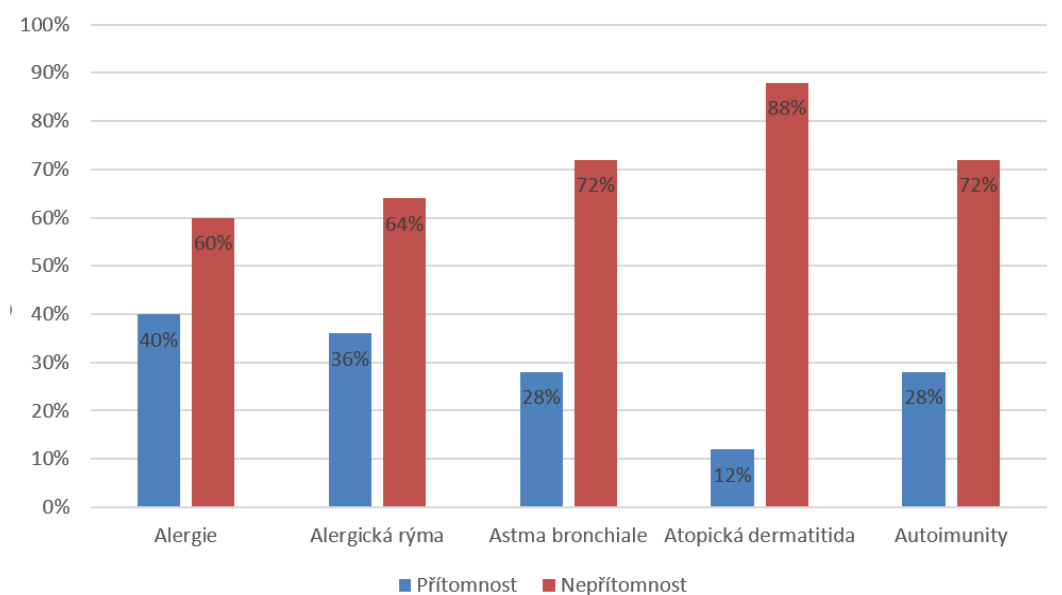
Pacient	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	<b>průměr</b>
Věk (roky)	1	5	5	5	29	37	47	18	40	34	9	48	<b>23,48</b>

### 7.3.3 Jiná onemocnění pacientů

U souboru 25 pacientů bylo zjišťováno, zda se jedná o alergiky. U 10 z nich (40 %) byl potvrzen výskyt alergie. Alergická rýma se vyskytovala u 9 (36 %) pacientů. 7 (28 %) pacientů mělo astma bronchiální a 3 (12 %) atopickou dermatitidu. Autoimunity u 7 pacientů představovaly 28 %.

**Tabulka 4 Jiná onemocnění**

Nemoc	Alergik	Alergická rýma	Astma bronchiální	Atopická dermatitida	Autoimunity
přítomnost počet (podíl v %)	10 (40)	9 (36)	7 (28)	3 (12)	7 (28)
nepřítomnost počet (podíl v %)	15 (60)	16 (64)	18 (72)	22 (88)	18 (72)



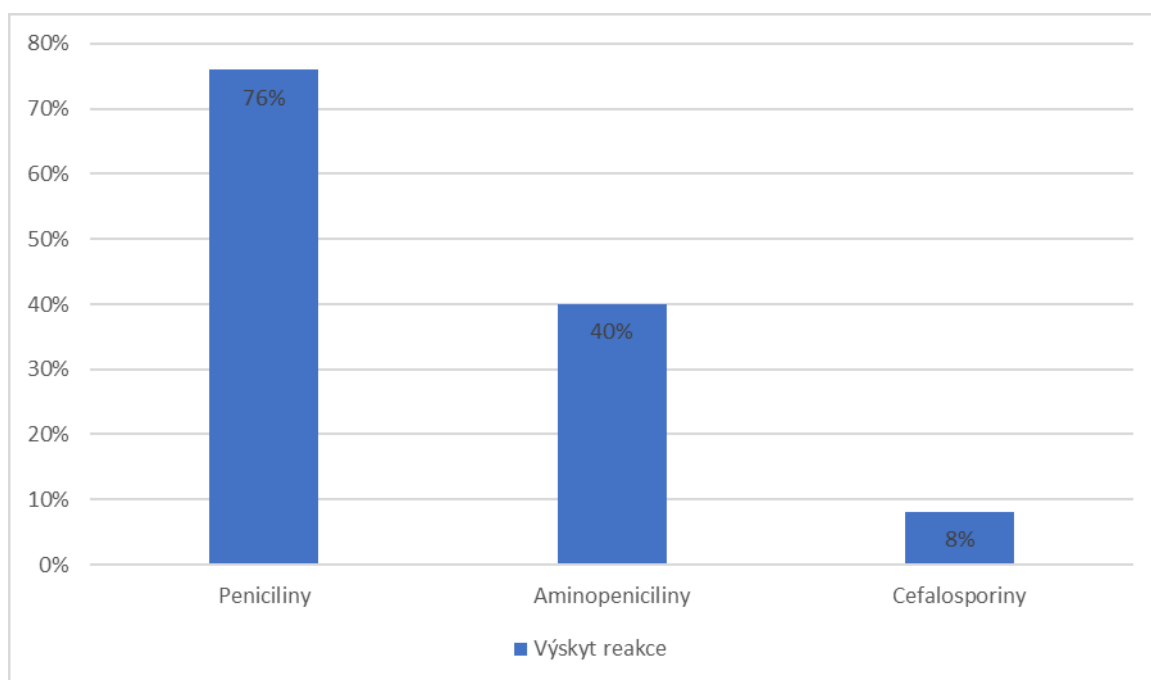
**Graf 2 Jiná onemocnění**

### 7.3.4 Původce lékové alergie

Nejčastější příčinou byly uváděny peniciliny, a to až v 19 případech (76 %). Druhé nejčastější byly aminopeniciliny, které byly u 10 pacientů (40 %) ze sledované skupiny. Důvodem reakce byly u 2 (8 %) pacientů cefalosporiny. 4x se vyskytlo současné uvedení penicilinů a aminopenicilinů, 1x současně peniciliny a cefalosporiny a 1x aminopeniciliny a cefalosporiny.

**Tabulka 5 Původci lékové alergie**

	Peniciliny	Aminopeniciliny	Cefalosporiny
počet reakcí (podíl v %)	19 (76)	10 (40)	2 (8)



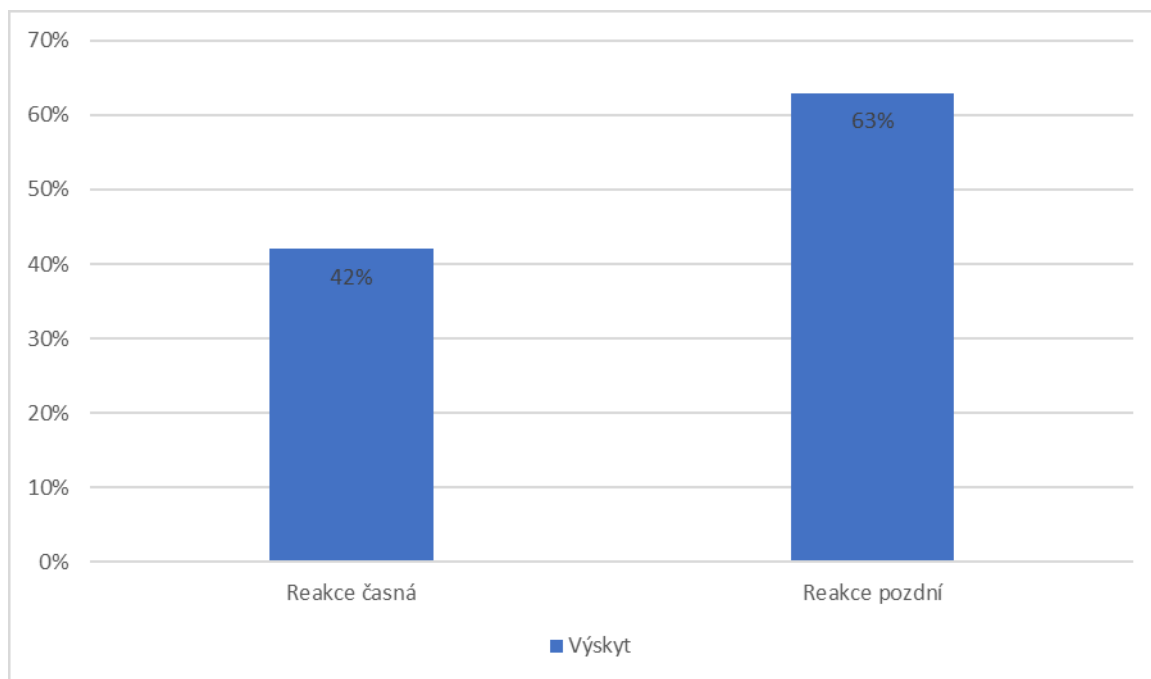
**Graf 3 Původci lékové alergie**

### 7.3.5 Projevy lékové alergie

Pacientka č. 1 si nemohla vzpomenout na projevy reakce. U ostatních pacientů byly časné projevy zastoupeny u 10 (42 %) pacientů. Projevy pozdní se objevily u 15 (63 %) pacientů. U jednoho pacienta byly zaznamenány jak projevy časné, tak i pozdní.

**Tabulka 6 Projevy lékové alergie**

Projevy	Časné	Pozdní
Počet (podíl v %)	10 (42)	15 (63)



**Graf 4 Projevy lékové alergie**

### 7.3.6 Celkové IgE a specifické IgE

Celkové IgE bylo zvýšeno (> 200 IU/ml) u 3 (12 %) pacientů. Specifické IgE bylo zastoupeno pouze u 2 (8 %) pacientů – u jednoho pro penicilin V a u druhého jak pro penicilin V, tak i G.

**Tabulka 7 IgE**

	zvýšené celkové IgE
počet (podíl v %)	3 (12)

	specifické IgE
Počet (podíl v %)	2 (8)

### 7.3.7 Bazotesty

U 14 (56 %) pacientů byl pozitivní bazotest. Z této zaznamenané positivity pacientů byla pozitivita bazotestu na penicilin G u 10 pacientů s průměrem reagujících buněk 20,50 %, pozitivita bazotestu na penicilin V u 8 pacientů s průměrem reagujících

buněk 18,56 % a pozitivita u aminopenicilinů se týkala 5 pacientů s průměrem reagujících buněk 27,56 %.

Současná pozitivita bazotestů pro penicilin G a penicilin V se vyskytla u 5 pacientů, současná pozitivita penicilinu G a aminopenicilinu byla zaznamenána u 1 pacienta a 1 pacient se vyznačoval pozitivitou pro penicilin G, penicilin V i aminopeniciliny. Pozitivita pouze na penicilin G byla u 3 pacientů, u 2 pacientů pozitivita pouze na penicilin V a pozitivita pouze na aminopeniciliny se vyskytla u 2 pacientů.

### **7.3.8 LTT testy**

U pacientky č. 2 s časnými projevy nebyl LTT proveden. Z ostatních výsledků byl LTT pozitivní u 6 (25 %) pacientů. Pozitivita LTT u penicilinu G byla u 4 pacientů s průměrným SI 2,85. U 3 pacientů byla zastoupena LTT pozitivita penicilinu V s průměrným SI 2,7. 1 pacient měl pozitivitu LTT pro aminopeniciliny, který měl SI 2,7. Současná pozitivita byla zaznamenána pro penicilin V a penicilin G u 1 pacienta a pro penicilin G a aminopeniciliny u 1 pacienta.

### **7.3.9 Kožní testy**

U pacientky č. 1 nebyly provedeny kožní testy, z důvodu jasné positivity prokázané laboratorními testy. Z ostatních provedení byla pozitivita u 10 (42 %) pacientů. Pozitivita pro hlavní alergenní determinantu penicilinu byla potvrzena u 7 pacientů a pro vedlejší alergenní determinantu penicilinu u 6 pacientů. 5 pacientů mělo prokázanou pozitivitu pro kožní testy na penicilin G a 3 pacienti pro aminopeniciliny.

### **7.3.10 Korelace mezi časnými příznaky a pozitivitou BAT**

Z 10 pacientů, kteří měli projevy časné, byl prokázán pozitivní bazotest u 3 (30 %) z nich.

### **7.3.11 Korelace mezi časnými příznaky a pozitivitou kožních testů**

Pozitivita při kožních testech byla z 10 pacientů s časnými příznaky zaznamenána u 6 (60 %) z nich.

### **7.3.12 Korelace mezi časnými příznaky, BAT a kožními testy**

Ze zástupců s časnými příznaky byl pouze jeden pacient (č. 24), který měl pozitivní BAT i kožní testy.

### **7.3.13 Korelace mezi pozdními příznaky a LTT**

Z 15 pacientů s pozdními příznaky byla pozitivita LTT u 5 (33 %) z nich.

## 7.4 Statistické analýzy některých vybraných proměnných veličin

### 7.4.1 Metodika

Sledované proměnné jsou popisovány průměry a směrodatnými odchylkami (v případě kontinuálních proměnných s normálním rozdělením), respektive mediány a interkvartilovým rozpětím (v případě kontinuálních proměnných s nenormálním rozdělením). Kategoriální proměnné jsou prezentovány četnostmi.

Vzájemné asociace mezi kategoriálními proměnnými jsou analyzovány pomocí Pearsonova  $X^2$  testu. Pro výpočet závislostí kontinuálních proměnných na proměnných kategoriálních byly použity testy: Kruskal-Wallisův test pro více kategorií, respektive Mann-Whitneyův test pro dvě kategorie. Hodnota  $p < 0,05$  byla považována za statisticky významnou.

### 7.4.2 Kožní testy PNC - PPL \* Projevy časné

Crosstab					
			Projevy časné		Total
			Ne	ano	
Kožní testy PNC – PPL	Ne	Count	12	4	16
		% within Kožní testy PNC - PPL	75,0%	25,0%	100,0%
		% within Projevy časné	92,3%	40,0%	69,6%
		% of Total	52,2%	17,4%	69,6%
	ano	Count	1	6	7
		% within Kožní testy PNC - PPL	14,3%	85,7%	100,0%
		% within Projevy časné	7,7%	60,0%	30,4%
		% of Total	4,3%	26,1%	30,4%
Total	Count	13	10	23	
	% within Kožní testy PNC - PPL	56,5%	43,5%	100,0%	
	% within Projevy časné	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	56,5%	43,5%	100,0%	

### Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	7,304 <sup>a</sup>	1	,007		
Continuity Correction <sup>b</sup>	5,043	1	,025		
Likelihood Ratio	7,756	1	,005		
Fisher's Exact Test				,019	,012
Linear-by-Linear Association	6,987	1	,008		
N of Valid Cases	23				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,04.

b. Computed only for a 2x2 table

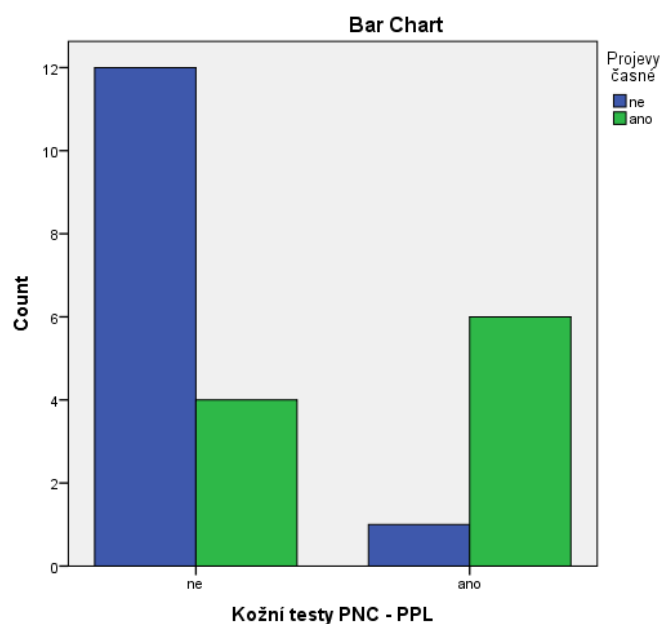
### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	,491			,007
Interval by Interval	Pearson's R	,564	,167	3,126	,005 <sup>c</sup>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,564	,167	3,126	,005 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		23			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.





### 7.4.3 Kožní testy PNC - MD \* Projevy časné

Crosstab

			Projevy časné		Total
			Ne	ano	
Kožní testy PNC – MD	Ne	Count	11	6	17
		% within Kožní testy PNC – MD	64,7%	35,3%	100,0%
		% within Projevy časné	84,6%	60,0%	73,9%
		% of Total	47,8%	26,1%	73,9%
	ano	Count	2	4	6
		% within Kožní testy PNC – MD	33,3%	66,7%	100,0%
		% within Projevy časné	15,4%	40,0%	26,1%
		% of Total	8,7%	17,4%	26,1%
Total	Count	13	10	23	
	% within Kožní testy PNC – MD	56,5%	43,5%	100,0%	
	% within Projevy časné	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	56,5%	43,5%	100,0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,776 <sup>a</sup>	1	,183		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,729	1	,393		
Likelihood Ratio	1,780	1	,182		
Fisher's Exact Test				,341	,197
Linear-by-Linear Association	1,699	1	,192		
N of Valid Cases	23				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,61.

b. Computed only for a 2x2 table

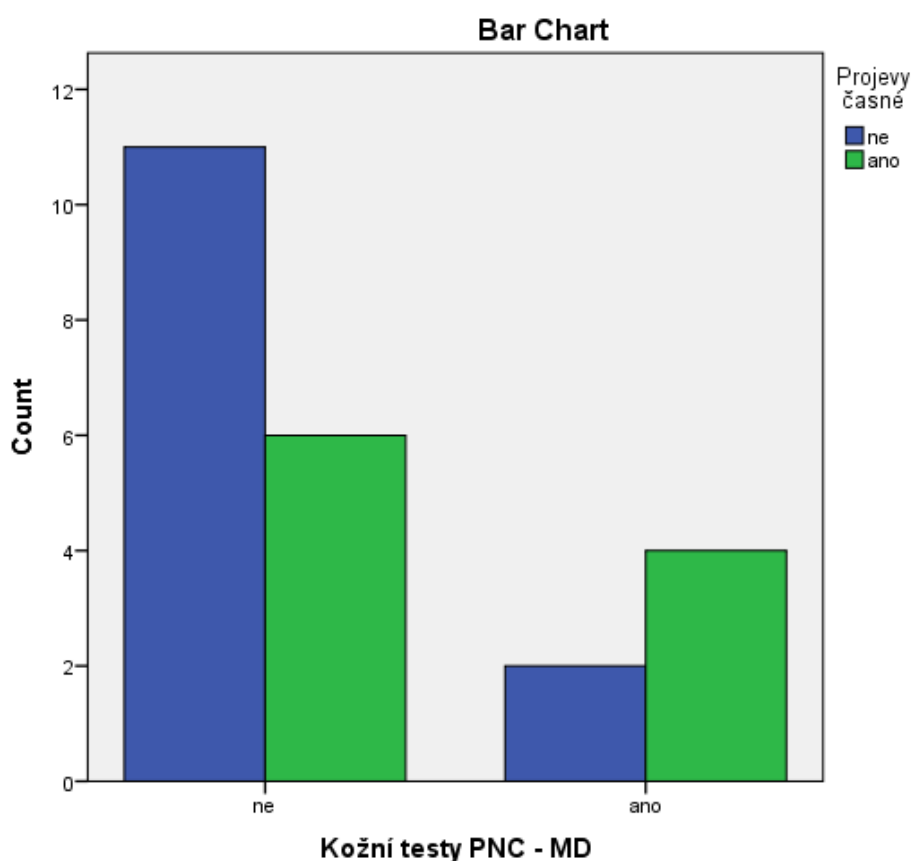
### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	,268			,183
Interval by Interval	Pearson's R	,278	,201	1,326	,199 <sup>c</sup>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,278	,201	1,326	,199 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		23			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.



Pacienti, kteří měli pozitivní prick test na PNC-PPL měli v anamnéze spíše časné projevy alergie ( $p=0,007$ ), tato vazba však nebyla přítomna u pacientů s pozitivním prick testem na PNC-MD ( $p=0,183$ ).

#### 7.4.4 IgE \* Anamnéza alergické reakce na PNC, AMP či obě antibiotika

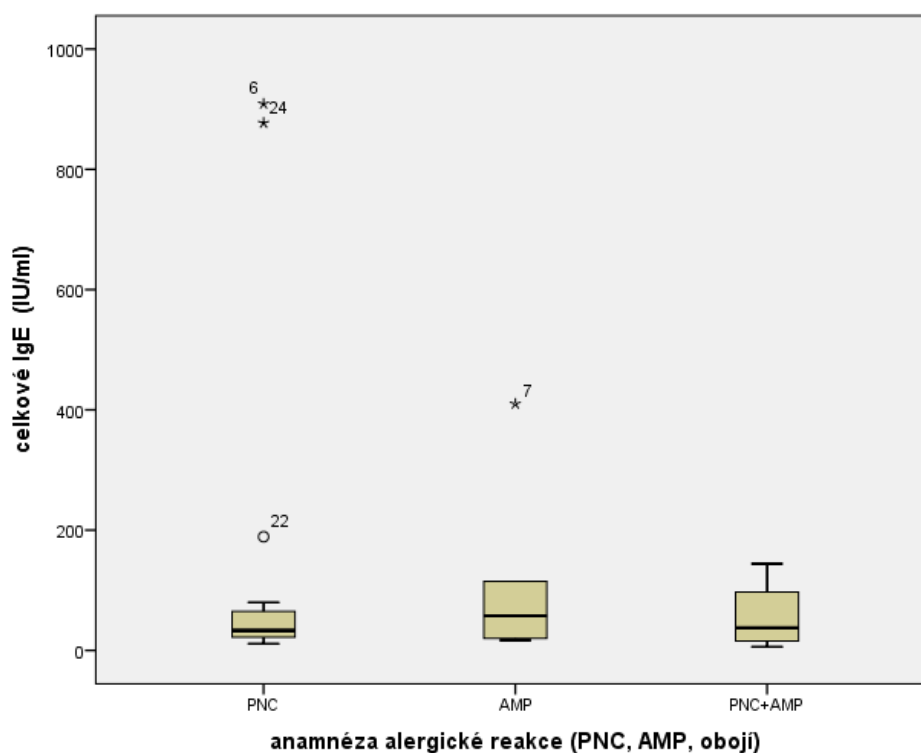
##### Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	anamnéza alergické reakce (PNC, AMP, obojí)	N	Mean Rank
celkové IgE (IU/ml)	PNC	15	12,73
	AMP	6	14,58
	PNC+AMP	4	11,63
	Total	25	
BAT % reagujících buněk PNC G	PNC	15	11,07
	AMP	6	17,17
	PNC+AMP	4	14,00
	Total	25	
BAT % reagujících buněk PNC V	PNC	15	13,00
	AMP	6	13,83
	PNC+AMP	4	11,75
	Total	25	
BAT % reagujících buněk AMP	PNC	2	3,50
	AMP	5	7,40
	PNC+AMP	4	5,50
	Total	11	
specifické IgE PNC G (IU/ml)	PNC	15	13,33
	AMP	6	12,50
	PNC+AMP	4	12,50
	Total	25	
specifické IgE PNC V (IU/ml)	PNC	15	13,67
	AMP	6	12,00
	PNC+AMP	4	12,00
	Total	25	
specifické IgE AMP	PNC	2	5,50
	AMP	5	5,50
	PNC+AMP	3	5,50
	Total	10	

Test Statistics <sup>a,b</sup>							
	celkové IgE (IU/ml)	BAT % reagujících buněk PNC G	BAT % reagujících buněk PNC V	BAT % reagujících buněk AMP	specifické IgE PNC G (IU/ml)	specifické IgE PNC V (IU/ml)	specifické IgE AMP
Chi-Square	,437	3,864	,280	2,519	,667	1,389	,000
Df	2	2	2	2	2	2	2
Asymp. Sig.	,804	,145	,869	,284	,717	,499	1,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: anamnéza alergické reakce (PNC, AMP, obojí)



Celková hladina IgE, % reagujících buněk v bazotestech či hladina specifického IgE nebyla významně závislá s vazbou na anamnézu alergické reakce na PNC, AMP či obě antibiotika. Z výsledků lze dovést, že druh užitého  $\beta$ -laktamového antibiotika zásadně nesouvisel s výše uvedenými sledovanými proměnnými.

## 7.4.5 Celkové IgE \* Projevy časné

### NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Doba od reakce (roky)	25	18,72	14,715	1	69
celkové IgE (IU/ml)	25	130,80	244,334	6	909
specifické IgE PNC G (IU/ml)	25	2,3280	11,64000	,00	58,20
specifické IgE PNC V (IU/ml)	25	2,4056	11,33220	,00	56,70
specifické IgE AMP	10	,0000	,00000	,00	,00
BAT % reagujících buněk PNC G	25	8,1980	13,04700	,00	56,90
BAT % reagujících buněk PNC V	25	5,9400	8,96256	,00	24,30
BAT % reagujících buněk AMP	11	12,5273	19,13275	,00	62,10
Negativní kontrola BAT%	25	2,0120	1,88819	,00	4,90
pozitivní kontrola BAT %	25	43,6600	42,07372	,00	96,70
LTT SI PNC G	24	,4750	1,14825	,00	4,40
LTT SI PNC V	24	,3375	,92493	,00	3,30
LTT SI AMP	12	,2250	,77942	,00	2,70
Projevy časné	24	,4167	,50361	,00	1,00

## Mann-Whitney Test

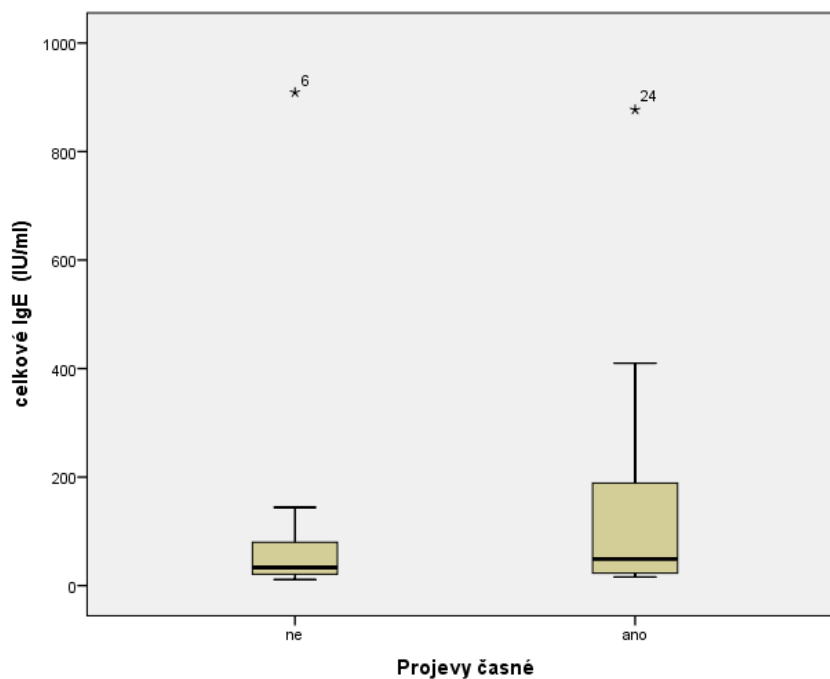
### Ranks

	Projevy časné	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Doba od reakce (roky)	ne	14	13,54	189,50
	ano	10	11,05	110,50
	Total	24		
celkové IgE (IU/ml)	ne	14	11,93	167,00
	ano	10	13,30	133,00
	Total	24		
specifické IgE PNC G (IU/ml)	ne	14	12,00	168,00
	ano	10	13,20	132,00
	Total	24		
specifické IgE PNC V (IU/ml)	ne	14	12,32	172,50
	ano	10	12,75	127,50
	Total	24		
specifické IgE AMP	ne	7	5,00	35,00
	ano	2	5,00	10,00
	Total	9		
BAT % reagujících buněk PNC G	ne	14	13,00	182,00
	ano	10	11,80	118,00
	Total	24		
BAT % reagujících buněk PNC V	ne	14	14,29	200,00
	ano	10	10,00	100,00
	Total	24		
BAT % reagujících buněk AMP	ne	7	5,86	41,00
	ano	3	4,67	14,00
	Total	10		
Negativní kontrola BAT%	ne	14	15,04	210,50
	ano	10	8,95	89,50
	Total	24		
pozitivní kontrola BAT %	ne	14	14,00	196,00
	ano	10	10,40	104,00
	Total	24		
LTT SI PNC G	ne	14	12,96	181,50
	ano	9	10,50	94,50
	Total	23		
LTT SI PNC V	ne	14	11,82	165,50
	ano	9	12,28	110,50
	Total	23		

Test Statistics <sup>a</sup>													
	Doba od reakce (roky)	celkové IgE (IU/ml)	specifické IgE PNC G (IU/ml)	specifické IgE PNC V (IU/ml)	specifické IgE AMP	BAT % reagujících buněk PNC G	BAT % reagujících buněk PNC V	BAT % reagujících buněk AMP	Negativní kontrola BAT%	pozitivní kontrola BAT %	LTT SI PNC G	LTT SI PNC V	LTT SI AMP
Mann-Whitney U	55,500	62,000	63,000	67,500	7,000	63,000	45,000	8,000	34,500	49,000	49,500	60,500	10,500
Wilcoxon W	110,500	167,000	168,000	172,500	10,000	118,000	100,000	14,000	89,500	104,000	94,500	165,500	16,500
Z	-,852	-,469	-1,183	-,305	,000	-,471	-1,822	-,608	-2,187	-1,293	-1,452	-,322	-,612
Asymp. Sig. (2-tailed)	,394	,639	,237	,760	1,000	,637	,068	,543	,029	,196	,146	,747	,540
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,403 <sup>b</sup>	,666 <sup>b</sup>	,709 <sup>b</sup>	,886 <sup>b</sup>	1,000 <sup>b</sup>	,709 <sup>b</sup>	,154 <sup>b</sup>	,667 <sup>b</sup>	,036 <sup>b</sup>	,235 <sup>b</sup>	,403 <sup>b</sup>	,877 <sup>b</sup>	,776 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Projevy časné

b. Not corrected for ties.



Zajímala nás otázka, zda výše celkového IgE souvisí s reakcí časného typu, neboť se jedná s naprostou převahou o reakce IgE – mediované. Pacienti s anamnézou polékové reakce časného typu měli lehce zvýšené hladiny celkového IgE, nicméně tento rozdíl nebyl statisticky významný ( $p=0,639$ ) při malém souboru pacientů.

## 7.4.6 Astma bronchiale \* Projevy časné

### Crosstabs

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Astma bronchiale * Projevy časné	24	96,0%	1	4,0%	25	100,0%

#### Astma bronchiale \* Projevy časné Crosstabulation

			Projevy časné		Total
			ne	ano	
Astma bronchiale	Ne	Count	10	7	17
		% within Astma bronchiale	58,8%	41,2%	100,0%
		% within Projevy časné	71,4%	70,0%	70,8%
		% of Total	41,7%	29,2%	70,8%
	ano	Count	4	3	7
		% within Astma bronchiale	57,1%	42,9%	100,0%
		% within Projevy časné	28,6%	30,0%	29,2%
		% of Total	16,7%	12,5%	29,2%
Total		Count	14	10	24
		% within Astma bronchiale	58,3%	41,7%	100,0%
		% within Projevy časné	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	58,3%	41,7%	100,0%

#### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,006 <sup>a</sup>	1	,939		
Continuity Correction <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,006	1	,940		
Fisher's Exact Test				1,000	,643
Linear-by-Linear Association	,006	1	,941		
N of Valid Cases	24				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,92.

b. Computed only for a 2x2 table



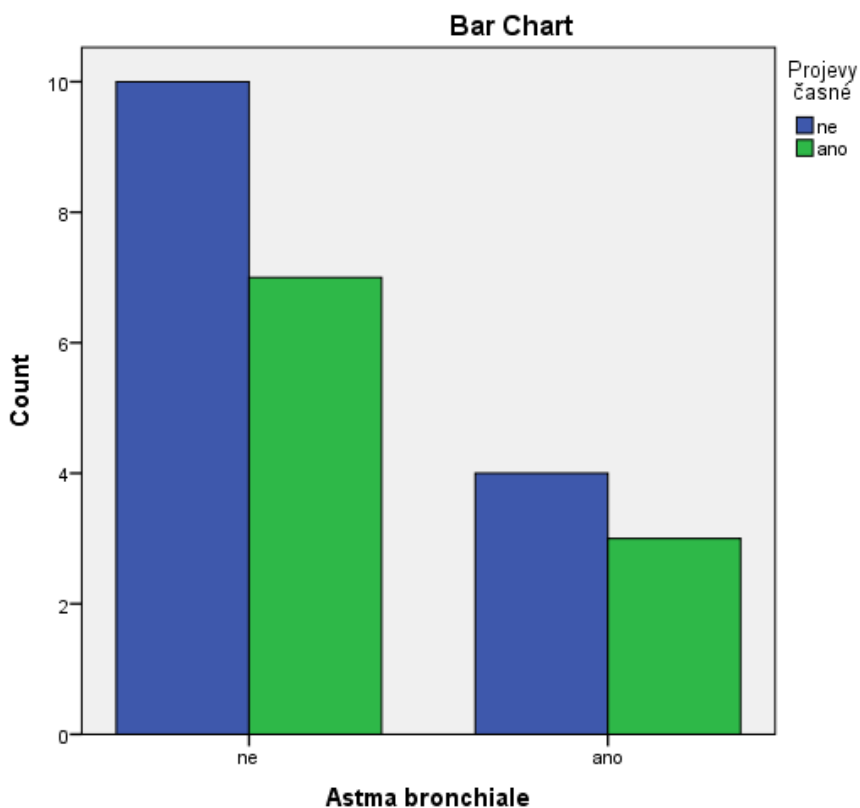
### Symmetric Measures

		Value	Asymp. Std. Error <sup>a</sup>	Approx. T <sup>b</sup>	Approx. Sig.
Nominal by Nominal	Contingency Coefficient	,015			,939
Interval by Interval	Pearson's R	,015	,205	,073	,943 <sup>c</sup>
Ordinal by Ordinal	Spearman Correlation	,015	,205	,073	,943 <sup>c</sup>
N of Valid Cases		24			

a. Not assuming the null hypothesis.

b. Using the asymptotic standard error assuming the null hypothesis.

c. Based on normal approximation.



Pacienti s lékovou alergickou reakcí časného typu jsou více ohroženi anafylaktickými příznaky, mezi které patří i bronchospasmus. Z těchto důvodů hodnotíme astmatiky jako rizikovou skupinu u časných reakcí, neboť mají významnou bronchiální hyperreaktivitu. V našem souboru však ve skupině astmatiků nebylo statisticky významně vyšší zastoupení anamnézy časných reakcí ( $p=0,939$ ).

## 8. DISKUSE

Pro statistiku byla využita data ze zdravotní dokumentace pacientů ambulance Ústavu klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové, kteří byli za rok 2017 kompletně klinicky a laboratorně vyšetřeni pro suspekci lékové alergie indikované  $\beta$ -laktamovými antibiotiky. Z tohoto počtu byl vybrán soubor 25 pacientů, pouze nemocní s provedenými kožními testy pro potvrzení rizika.

Ve sledovaném souboru dominovalo ženské pohlaví. 20 žen představovalo 80 % pacientů a 5 mužů prezentovalo 20 % souboru. Jako jeden z rizikových faktorů udává ve své publikaci ženské pohlaví také Baldo a Pham.<sup>[1]</sup> Pravděpodobná je souvislost s genetickou predispozicí.<sup>[2]</sup> Věkový průměr sledované skupiny v době vzniku alergické reakce byl vyhodnocen na 23,48 let. Pacienti ve věku od 20 do 49 let jsou nejvíce ohrožení akutní alergickou reakcí (především anafylaxí) na peniciliny.<sup>[35]</sup> V mladším věku je imunitní systém dostatečně aktivní a tím zvyšuje riziko senzibilizace.<sup>[2]</sup>

Z hlediska komorbidit v souboru 25 pacientů, bylo zjišťováno, zda se jedná o alergiky, u 10 z nich (40 %) byl potvrzen výskyt alergie. Alergická rýma se vyskytovala u 9 (36 %) pacientů. 7 (28 %) pacientů mělo astma bronchiale a 3 (12 %) atopickou dermatitidu. Autoimunity u 7 pacientů představovaly 28 %. Atopie se nezdá být hlavním rizikovým faktorem pro většinu lékových alergií.<sup>[11]</sup> Pacienti s astmatem však mohou být pravděpodobně více ohroženi anafylaktickou reakcí na peniciliny, neboť mají vyšší pohotovost k bronchospazmu.<sup>[35]</sup>

Nejčastější příčinou nežádoucí reakce na  $\beta$ -laktamová antibiotika byly v našem souboru uváděny peniciliny, a to až v 19 případech (76 %). Druhé nejčastější byly aminopeniciliny, které byly u 10 pacientů (40 %) ze sledované skupiny. Důvodem reakce byly u 2 (8 %) pacientů cefalosporiny. 4x se vyskytlo současné uvedení penicilinů a aminopenicilinů, 1x současně peniciliny a cefalosporiny a 1x aminopeniciliny a cefalosporiny. Alergie na penicilin a další  $\beta$ -laktamová antibiotika dlouhodobě zaujímá první místo v žebříčku nejčastějších lékových alergií.<sup>[28]</sup>

Z hlediska typů reakcí si pacientka č. 1 si nemohla vzpomenout na projevy reakce. U ostatních pacientů byly časně projevy zastoupeny u 10 (42 %) pacientů. Projevy pozdní se objevily u 15 (63 %) pacientů. U jednoho pacienta byly zaznamenány jak projevy časně, tak i pozdní.

V parametrech laboratorních bylo celkové IgE zvýšeno ( $> 200$  IU/ml) u 3 (12 %) pacientů a celkové IgE se nejeví jako rizikovým faktorem pro vznik alergické reakce na  $\beta$ -laktamová antibiotika. Specifické IgE bylo zastoupeno pouze u 2 (8 %) pacientů – u jednoho pro penicilin V a u druhého mladého pacienta s reakcí v nedávné anamnéze jak pro penicilin V, tak i G. Pozitivní výsledek specifického IgE při korespondující klinice potvrzuje alergii, negativní výsledek ji nevyloučí, protože test má nízkou senzitivitu. [28]

U 14 (56 %) pacientů byl bazotest hodnocen jako pozitivní. Z této zaznamenané pozitivity pacientů byla pozitivita bazotestu na penicilin G u 10 pacientů s průměrem reagujících buněk 20,50 %, pozitivita bazotestu na penicilin V u 8 pacientů s průměrem reagujících buněk 18,56 % a pozitivita u aminopenicilinů se týkala 5 pacientů s průměrem reagujících buněk 27,56 %. Současná pozitivita bazotestů pro penicilin G a penicilin V se vyskytla u 5 pacientů, současná pozitivita penicilinu G a aminopenicilinu byla zaznamenána u 1 pacienta a 1 pacient se vyznačoval pozitivitou pro penicilin G, penicilin V i aminopeniciliny. Pozitivita pouze na penicilin G byla u 3 pacientů, u 2 pacientů pozitivita pouze na penicilin V a pozitivita pouze na aminopeniciliny se vyskytla u 2 pacientů.

U pacientky č. 2 s časnými projevy nebyl LTT proveden. Z ostatních výsledků byl LTT pozitivní v nižší míře než bazotest, pouze u 6 (25 %) pacientů. Pozitivita LTT u penicilinu G byla u 4 pacientů s průměrným SI 2,85. U 3 pacientů byla zastoupena LTT pozitivita penicilinu V s průměrným SI 2,7. 1 pacient měl pozitivitu LTT pro aminopeniciliny, který měl SI 2,7. Současná pozitivita byla zaznamenána pro penicilin V a penicilin G u 1 pacienta a pro penicilin G a aminopeniciliny u 1 pacienta.

Testy *in vivo* jsou zásadní pro potvrzení laboratorních nálezů, ale tyto parametry spolu nemusí korelovat. Pouze u jedné pacientky (č. 1) nebyly provedeny kožní testy z důvodu jasné pozitivní anamnézy potvrzenou laboratorními parametry (BAT, LTT). Kožní testy byly provedeny u celého souboru mimo výše uvedené pacientky. Z ostatních provedení byla pozitivita u 10 (42 %) pacientů. Pozitivita pro hlavní alergenní determinantu penicilinu byla potvrzena u 7 pacientů a pro vedlejší alergenní determinantu penicilinu u 6 pacientů. 5 pacientů mělo prokázanou pozitivitu pro kožní testy na penicilin G a 3 pacienti pro aminopeniciliny.

Hodnotili jsme korelace mezi časnými příznaky a pozitivitou BAT, popisně z 10 pacientů, kteří měli projevy časné, byl prokázán pozitivní bazotest u 3 (30 %) z nich.

Pokud jsme sledovali vzájemnou vazbu mezi časnými příznaky a pozitivitou kožních testů, tak z 10 pacientů s časnými příznaky byly zaznamenány u 6 (60 %) z nich pozitivita kožních testů. Ze zástupců s časnými příznaky byl pouze jeden pacient (č. 24), který měl jak pozitivní BAT, tak i kožní testy.

Zajímavá by mohla být vazba mezi LTT a pozdními příznaky reakce. Z 15 pacientů s pozdními příznaky byla pozitivita LTT u 5 (33 %) z nich.

Dle popisné analýzy souboru jsme si položili některé otázky a provedli jsme statistické analýzy daných vybraných proměnných veličin (viz metodika – statistická analýza).

Zajímala nás otázka, zda výše celkového IgE souvisí s reakcí časného typu, neboť se jedná s naprostou převahou o reakce IgE – mediované. Pacienti s anamnézou polékové reakce časného typu měli lehce zvýšené hladiny celkového IgE, nicméně tento rozdíl nebyl statisticky významný ( $p=0,639$ ) při malém souboru pacientů.

Celková hladina IgE, % reagujících buněk v bazotestech či hladina specifického IgE nebyla významně závislá na anamnéze alergické reakce dle rozdělení jednotlivých ATB – na PNC, AMP či obě antibiotika. Z výsledků lze dovodit, že druh užitého  $\beta$ -laktamového antibiotika zásadně nesouvisel s výše uvedenými sledovanými proměnnými (IgE, bazotest, spec.IgE).

Ač se jedná o malý soubor, tak bylo zajímavým nálezem, že pacienti s pozitivním prick testem na hlavní determinantu PNC (PPL), měli v anamnéze spíše časné projevy alergie ( $p=0,007$ ), tato vazba však nebyla přítomna u pacientů s pozitivním prick testem na vedlejší determinantu PNC (MD) ( $p=0,183$ ).

Pacienti s lékovou alergickou reakcí časného typu jsou více ohroženi anafylaktickými příznaky, mezi které patří i bronchospasmus. Z těchto důvodů hodnotíme astmatiky jako rizikovou skupinu u časných reakcí, neboť mají významnou bronchiální hyperreaktivitu. V našem souboru však ve skupině astmatiků nebyl náš předpoklad potvrzen a nebylo statisticky významně vyšší zastoupení anamnézy časných reakcí ( $p=0,939$ ).

## 9. ZÁVĚR

Komplexní diagnostika lékové alergie je obtížná a je nezbytné propojit anamnézu, *in vitro* testy (bazotesty, lymfocytární transformační testy) a *in vivo* testy. Kožní testy jsou velmi pracné a v terénu pacientů mohou být i rizikové. Z důvodu jejich náročnosti náš hodnocený soubor za rok 2017 byl menší (25 pacientů). V statistickém souboru je věnována pozornost určitým vazbám, jako jsou například vztah lékové alergie k pohlaví a věku pacientů, vztah hladiny IgE s časnými projevy lékové alergie a pozornost si zaslouží vztah projevů časných s prick testem na hlavní determinantu penicilinů, kde pacienti měli v anamnéze spíše časné projevy alergie, tato vazba však nebyla zachycena u pacientů s pozitivním prick testem na vedlejší penicilinovou determinantu.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. BALDO, B. A. a N. H. PHAM. *Drug allergy: clinical aspects, diagnosis, mechanisms, structure-activity relationships*. New York: Springer, c2013. ISBN 978-1-4614-7260-5.
2. ŠPIČÁK, V. a P. PANZNER. *Alergologie*. Praha: Galén, 2004. ISBN 80-726-2265-X.
3. SEDLÁČKOVÁ, L. *Pracovní skupina pro lékové alergie v ČSAKI* [online]. [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: [https://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3700\\_10\\_001.pdf](https://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3700_10_001.pdf)
4. SEDLÁČKOVÁ, L. a kol. Kožní testy v diagnostice lékové alergie: Doporučení Pracovní skupiny pro lékové alergie ČSAKI. *Alergie: Časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii* [online]. 2015, 2015, (4), 268 - 276 [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: <http://uia.fnplzen.cz/sites/users/uia/Kozni%20testy%20v%20diagnostice%20lekove%20alergie%20Doporuceni%20Pracovni%20skupiny%20pro%20lekove%20alergie%20CSAKI.pdf>
5. KRČMOVÁ, I. Provokační testy lékových alergií v klinické praxi. *Alergie: Časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii*. 2008, **10**(2), 57. ISSN 1212-3536.
6. DEMOLY, P., N. F. ADKINSON, K. BROCKOW, et al. International Consensus on drug allergy. *Allergy* [online]. 2014, **69**(4), 420-437 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1111/all.12350. ISSN 01054538. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/all.12350>
7. JÍLEK, P. Molekulární mechanizmy lékové přecitlivělosti. *Alergie: Časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii*. 2008, **10**(2), 56-57. ISSN 1212-3536.
8. STONE, S. F., E. J. PHILLIPS a et. al. Immediate-type hypersensitivity drug reactions. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2014, **78**(1), 1-13 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1111/bcp.12297. ISSN 03065251. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/bcp.12297>
9. LEYSEN, J., V. SABATO a et. al. The basophil activation test in the diagnosis of immediate drug hypersensitivity. *Expert Review of Clinical Immunology* [online]. 2014, **7**(3), 349-355 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1586/eci.11.14. ISSN 1744-666x. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/eci.11.14>
10. MIČANÍKOVÁ, H. Přehled polékových exantémů. *Medicína pro praxi*. Solen, 2017, **14**(1), 39-44. ISSN 1214-8687.

11. THONG, B. Y-H. a T.-CH. TAN. Epidemiology and risk factors for drug allergy. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2011, **71**(5), 684-700 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03774.x. ISSN 03065251. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2125.2010.03774.x>
12. THONG, B. a D. VERVLOET. Drug Allergies. *World allergy organization* [online]. 2017 [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: <http://www.worldallergy.org/education-and-programs/education/allergic-disease-resource-center/professionals/drug-allergies>
13. PIRMOHAMED, M., D. A. OSTROV a B. K. PARK. New genetic findings lead the way to a better understanding of fundamental mechanisms of drug hypersensitivity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. 2015, **136**(2), 236-244 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.06.022. ISSN 00916749. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009167491500874X>
14. KUČERA, P. *Léková alergie a hypersenzitivita – interakce léčiva a reaktivity jedince* [online]. [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: [https://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3700\\_10\\_006.pdf](https://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3700_10_006.pdf)
15. HONZOVÁ, S. Možnosti laboratorní diagnostiky alergie. *Interní medicína pro praxi* [online]. 2009, 2009, **11**(4), 168-170 [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: <https://www.internimedcina.cz/pdfs/int/2009/04/05.pdf>
16. ELZAGALLAI, A. A. a M. J. RIEDER. In vitro testing for diagnosis of idiosyncratic adverse drug reactions: Implications for pathophysiology. *British Journal of Clinical Pharmacology* [online]. 2015, **80**(4), 889-900 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1111/bcp.12505. ISSN 03065251. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/bcp.12505>
17. EBO, D. G., C. H. BRIDTS a et al. Basophil activation test by flow cytometry: Present and future applications in allergology. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry* [online]. 2008, **74B**(4), 201-210 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1002/cyto.b.20419. ISSN 15524949. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/cyto.b.20419>
18. BARTŮŇKOVÁ, J. a E. VERNEROVÁ. Test aktivace bazofilů. *SEKK - Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi* [online]. 2015, 2007 [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/D/BNADT.htm>
19. KOVÁČOVÁ, Z. a kol. Naše zkušenosti s využitím bazofil aktivčního testu při vyšetření liekových alergií. *Alergie: Časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii*. 2008, **10**(2), 116 - 117. ISSN 1212-3536.
20. ŠETINOVÁ, I. a M. HAVRANOVÁ. *Test aktivace bazofilů a jeho místo v diagnostice alergií* [online]. [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: [https://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3300\\_10\\_001.pdf](https://www.solen.cz/incpdfs/inf-990000-3300_10_001.pdf)

21. PICHLER, W. J. a J. TILCH. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* [online]. 2004, **59**(8), 809-820 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2004.00547.x. ISSN 0105-4538. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1398-9995.2004.00547.x>
22. KARAMI, Z., M. MESDAGHI a et al. Evaluation of Lymphocyte Transformation Test Results in Patients with Delayed Hypersensitivity Reactions following the Use of Anticonvulsant Drugs. *International Archives of Allergy and Immunology* [online]. 2016, **170**(3), 158-162 [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1159/000448284. ISSN 1018-2438. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/448284>
23. HYBENOVÁ, M. a I. ŠTERZL. Lymfocytární transformační test, jeho využití a modifikace. *Alergie: Časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii* [online]. 2007, 2007, (1), 45 - 49 [cit. 2018-02-07]. Dostupné z: [http://www.tigis.cz/images/stories/Alergie/2007/01/06\\_hybenova\\_al\\_1-07.pdf](http://www.tigis.cz/images/stories/Alergie/2007/01/06_hybenova_al_1-07.pdf)
24. TABLL, A. a H. ISMAIL. The Use of Flow Cytometric DNA Ploidy Analysis of Liver Biopsies in Liver Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma. *Liver Biopsy* [online]. InTech, 2011, 2011-09-06 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.5772/19384. ISBN 978-953-307-644-7. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/liver-biopsy/the-use-of-flow-cytometric-dna-ploidy-analysis-of-liver-biopsies-in-liver-cirrhosis-and-hepatocellul>
25. BARTOŠ, V. a kol. *Imunoanalytické metody*. Ostrava: Ostravská univerzita, 2013.
26. KOLEKTÍV AUTOROV. *Vyšetřovací metody v imunologii*. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislavě, 2011.
27. ANONYMOUS. Ústav klinické imunologie a alergologie: Alergologie: specifické IgE. *Fakultní nemocnice Hradec Hrálové* [online]. [cit. 2018-03-15]. Dostupné z: <https://www.fnhk.cz/ukia/seznam-metod/alergologie>
28. SEDLÁČKOVÁ, L. Alergie na beta-laktamová antibiotika dnes. *Medicína pro praxi*. Solen, 2017, **14**(4), 193-195. ISSN 1214-8687.
29. BROCKOW, K., A. ROMANO a et al. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* [online]. 2002, , 45 - 51 [cit. 2018-01-24]. ISSN 0105-4538. Dostupné z: [http://www.eaaci.org/attachments/899\\_GeneralConsiderations%20on%20Drug%20Hyper.pdf](http://www.eaaci.org/attachments/899_GeneralConsiderations%20on%20Drug%20Hyper.pdf)
30. LANGEROVÁ, M. a kol. Epikutánní testy v praxi. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2011, **5**(3), 171 - 174 [cit. 2018-01-24]. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/03/14.pdf>
31. ABERER, W. a et al. Drug provocation testing in the diagnosis of drug hypersensitivity reactions: general considerations. *Allergy* [online]. 2003, 854 -863



[cit. 2018-01-24]. ISSN 0105-4538. Dostupné z:  
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.669.9521&rep=rep1&type=pdf>

32. CHIRIAC, A. M. a P. DEMOLY. *Drug provocation tests: up-date and novel approaches* [online]. 2013, **9**(1), 12- [cit. 2018-01-24]. DOI: 10.1186/1710-1492-9-12. ISSN 1710-1492. Dostupné z:  
<http://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-9-12>
33. MAREK, J. *Farmakoterapie vnitřních nemocí*. 3., zcela přeprac. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2005. ISBN 80-247-0839-6.
34. LINCOVÁ, D. a H. FARGHALI. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2007. ISBN 978-80-7262-373-0.
35. ROLAND, S. Hypersensitivity Reactions to Beta-Lactam Antibiotics. *Clinical Reviews in Allergy* [online]. 2003, **24**(3), 201-202 [cit. 2018-03-15]. ISSN 10800549. Dostupné z: [https://link.springer-com.ezproxy.is.cuni.cz/article/10.1385/CRIAI%3A24%3A3%3A201](https://link.springer.com.ezproxy.is.cuni.cz/article/10.1385/CRIAI%3A24%3A3%3A201)
36. PETRŮ, V. a I. KRČMOVÁ. *Anafylaktická reakce*. Praha: Maxdorf, c2006. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 80-734-5099-2.
37. DICKSON SD a SALAZAR KC. Diagnosis and management of immediate hypersensitivity reactions to cephalosporins. *Clinical Reviews In Allergy* [online]. 2013, **45**(1), 131-42 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1007/s12016-013-8367-x. ISSN 15590267. Dostupné z:  
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?authtype=shib&custid=s1240919&direct=true&db=mdc&AN=23546989&site=eds-live&scope=site&lang=cs>

## POUŽITÉ ZKRATKY

<b>AAAAI</b>	American Academy of Allergy Asthma and Immunology
<b>ACAAI</b>	American Collage of Allergy Asthma and Immunology
<b>AIDS</b>	Acquired Immune Deficiency Syndrome
<b>AMP</b>	Aminopenicilin
<b>ATB</b>	Antibiotika
<b>BAT</b>	Basophil Activation Test
<b>ČSAKI</b>	Česká společnost alergologie a klinické imunologie
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic Acid
<b>DRESS</b>	Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms
<b>EDTA</b>	Ethylenediaminetetraacetic Acid
<b>FasL</b>	Fas Ligand
<b>FEIA</b>	Fluoroenzymoimunoanalýza
<b>FITC</b>	Fluorescein Isothiocyanate
<b>HIV</b>	Human Immunodeficiency Virus
<b>HLA</b>	Human Leukocyte Antigen
<b>ICON</b>	International CONsensus on drug allergy
<b>IFN</b>	Interferon
<b>Ig</b>	Imunoglobulin
<b>IL</b>	Interleukin
<b>LAMP</b>	Lysosyme Associated Membrane Protein
<b>LEIA</b>	Luminoenzymoimunoanalýza
<b>LTT</b>	Lymphocyte Transformation Test
<b>MAPK</b>	Mitogen Activated Protein Kinase
<b>MDM</b>	Minor Detrminat Mix

<b>MHC</b>	Major Histocompatibility Complex
<b>MPE</b>	Maculopapular Exanthema
<b>PBP</b>	Penicillin Binding Proteins
<b>PBS</b>	Phosphate Buffered Saline
<b>PE</b>	Phycoerythrin
<b>PNC</b>	Peniciliny
<b>PPL</b>	Peniciloyl Poly L Lysin
<b>RNA</b>	Ribonucleic Acid
<b>SJS</b>	Steven Johnson Syndrome
<b>TEN</b>	Toxic Epidermal Necrolysis
<b>TNF</b>	Tumor Necrosis Factor
<b>UV</b>	Ultraviolet
<b>WHO</b>	World Health Organization

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma postupu při podezření na lékovou hypersenzitivitu dle International Consensus on drug allergy <sup>[6]</sup> .....	17
Obrázek 2 Rozdíl mezi aktivovaným a neaktivovaným bazofilem <sup>[9]</sup> .....	20
Obrázek 3 Separace lymfocytů z periferní krve <sup>[vlastní]</sup> .....	21
Obrázek 4 Fáze buněčného cyklu a kvantitativní analýza DNA <sup>[24]</sup> .....	22
Obrázek 5 Typy precipitačních linií <sup>[25]</sup> .....	23
Obrázek 6 Pozitivní léková precipitace <sup>[vlastní]</sup> .....	23
Obrázek 7 Chemická struktura a zástupci penicilinové skupiny <sup>[1]</sup> .....	28
Obrázek 8 Chemická struktura a zástupci cefalosporinové skupiny <sup>[1]</sup> .....	30
Obrázek 9 Negativní výsledek LTT testu <sup>[stáž]</sup> .....	35
Obrázek 10 Pozitivní výsledek LTT testu <sup>[stáž]</sup> .....	35
Obrázek 11 BasoFlowEx Kit – souprava Exbio pro bazotest <sup>[vlastní]</sup> .....	36
Obrázek 12 Negativní výsledek bazotestu <sup>[stáž]</sup> .....	38
Obrázek 13 Pozitivní výsledek bazotestu <sup>[stáž]</sup> .....	39

## SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Pohlaví .....	40
Graf 2 Jiná onemocnění .....	42
Graf 3 Původci lékové alergie.....	43
Graf 4 Projevy lékové alergie .....	44

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Klasifikace lékových alergií <sup>[6]</sup> .....	13
Tabulka 2 Pohlaví .....	40
Tabulka 3 Věk .....	41
Tabulka 4 Jiná onemocnění .....	41
Tabulka 5 Původci lékové alergie .....	42
Tabulka 6 Projevy lékové alergie .....	43
Tabulka 7 IgE .....	44

## **SEZNAM PŘÍLOH**

Příloha 1 Dotazník pro anamnézu .....	73
Příloha 2 Kompletní tabulky s daty patientské dokumentace.....	77

## **PŘÍLOHY**



# Příloha 1 Dotazník pro anamnézu

## LÉKOVÁ HYPERSENZITIVITA

Číslo protokolu: .....  
Datum protokolu: .....

### VYŠETŘUJÍCÍ:

Jméno: ..... Pracoviště: .....  
Adresa: ..... Tel / Fax / E-mail: .....

### PACIENT:

Jméno: ..... Datum narození: ..... Věk: ..... let  
Váha: ..... kg Výška: ..... cm

Povolání: ..... Původ: ..... Pohlaví:  M  Ž  
Riziková skupina:  zdravotník  farmaceutický průmysl  farmář  jiné / specifikujte .....

### NYNĚJŠÍ ONEMOCNĚNÍ:

### LÉKOVÁ REAKCE:

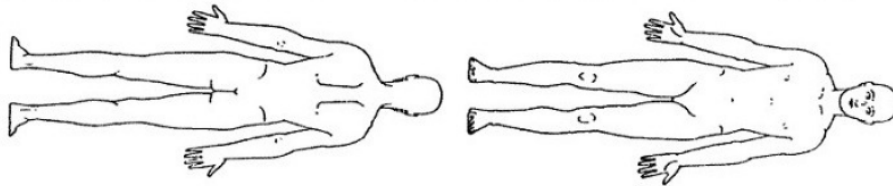
(Lze zatrhnout více možností, ev. zdůrazněte podtržením; pořadí vyjádřete čísly)

#### ■ KOŽNÍ PŘÍZNAKY:

- makulopapulózní exantém
- makulózní exantém
- urtikariální exantém
- AGEP (akutní generalizovaná exantematózní pustulóza)
- ekzematózní exantém
- erytéma exudativum multiforme
- bulózní exantém
- Stevens-Johnsonův syndrom / TEN (M. Lyell)
- fixní lékový exantém
- purpura - > počet trombocytů: .....
- palpovatelná  hemoragicko-nekrotická
- postižení vnitřních orgánů: .....
- kontaktní dermatitis  topická příčina  hematogenní příčina
- urtikariální vaskulitis
- JEN pruritus
- urtikarie
- angioedém / lokalizace: .....
- konjunktivitis
- jiné / specifikace: .....

morfologie / lokalizace: .....

#### ■ EFLORESCENCE: Distribuce / Dynamika (↑ ↓)



#### ■ GASTROINTESTINÁLNÍ A RESPIRAČNÍ PŘÍZNAKY

- nauzea / zvracení
- průjem
- břišní křeče
- kašel
- dysfonie
- dušnost PEF nebo FEV1: .....
- pískoty / bronchospasmus
- rýma

generalizované

#### ■ PŘIDRUŽENÉ PŘÍZNAKY:

- postižení:  jater  ledvin  jiné / specifikujte: .....
- horečka ..... °C
- malátnost
- bolest / pálení  lokalizace: .....
- otok  lokalizace: .....
- artralgie / myalgie  lokalizace: .....
- lymfadenopatie
- jiné / specifikujte: .....

#### ■ KARDIOVASKULÁRNÍ PŘÍZNAKY:

### DATUM REAKCE:

#### ■ DIFERENCIÁLNÍ DIAGNÓZA:

#### ■ SPOLUPŮSOBÍCÍ FAKTORY:

- virové infekce:  chřipkovitá  jiná: .....
- horečka
- fotosenzitivita?  ne  ano  není známo
- stres
- fyzická námaha
- jiné / specifikujte: .....

#### ■ VÝVOJ:



- výtok z nosu  
 kýchání  
 nosní obstrukce  
 jiné / specifikujte: .....  
 tachykardie puls: ..... /min  
 hypotenze TK: ..... mmHg  
 kolaps  
 arytmie  
 jiné / specifikujte: .....

■ **PSYCHICKÉ PŘÍZNAKY:**

- strach / panická reakce       závrať  
 mdloba  
 parestezie / hyperventilace  
 pocení  
 jiné / specifikujte: .....

■ **POSTIŽENÍ DALŠÍCH ORGÁNŮ:**

- (periferní neuropatie, postižení plic, cytopenie atd.)  
 .....  
 .....  
 .....

■ **KLINICKÝ PRŮBĚH:** .....

■ **Seznam všech léků včetně volně prodejných, přírodních léčivých prostředků a potravin obsahujících aditiva v době reakce:**

■ **SUSPEKTNÍ LÉKY:**

Generický název léku ± aditiva / indikace:	Denní dávka / cesta podání / délka terapie:	Interval mezi dávkou a reakcí	Předchozí léčba tímto lékem:
1.	..... mg/d; .....; ..... d		<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> není známo <input type="checkbox"/> ano -> příznaky: .....
2.	..... mg/d; .....; ..... d		<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> není známo <input type="checkbox"/> ano -> příznaky: .....
3.	..... mg/d; .....; ..... d		<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> není známo <input type="checkbox"/> ano -> příznaky: .....
4.	..... mg/d; .....; ..... d		<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> není známo <input type="checkbox"/> ano -> příznaky: .....
5.	..... mg/d; .....; ..... d		<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> není známo <input type="checkbox"/> ano -> příznaky: .....
6.	..... mg/d; .....; ..... d		<input type="checkbox"/> ne <input type="checkbox"/> není známo <input type="checkbox"/> ano -> příznaky: .....

- SOUČASNÁ MEDIKACE: .....  
 antihistaminika .....  
 β-blokátory .....

■ **OPATŘENÍ POUŽITÁ KE ZVLÁDNUTÍ AKUTNÍ LÉKOVÉ REAKCE:**       bez léčby

- vysazení suspektního léku č. ....  
 antihistaminika       lokálně       systémově  
 kortikosteroidy       lokálně       systémově  
 bronchodilatancia       lokálně       systémově  
 léčba šoku       adrenalin       plazmaexpandéry  jiné: .....  
 nahrazení jiným lékem:  
 typ / název: .....  
 tolerance: .....  
 jiné / specifikujte: .....  
 snížení dávky (lék .....)  
 jiná / specifikujte .....

**OSOBNÍ ANAMNÉZA:**

- 1) BYLY PODOBNÉ PŘÍZNAKY POZOROVÁNY I BEZ POŽÍVÁNÍ SUSPEKTNÍHO LÉKU?  ano  ne  není známo



- |                          |  |                          |                          |                          |
|--------------------------|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                          | <input type="checkbox"/> test aktivace bazofilů (specifikujte: ..... | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|                          | <input type="checkbox"/> CAST test                                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|                          | <input type="checkbox"/> jiné: .....                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| <u>Provokační testy:</u> | <input type="checkbox"/> lokální anestetika: .....                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | <input type="checkbox"/> NSAID: .....                                | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | .....  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | <input type="checkbox"/> aspirin                                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | <input type="checkbox"/> paracetamol                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | <input type="checkbox"/> nimesulid                                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | <input type="checkbox"/> β-laktamová antibiotika: .....              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | .....  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |
|                          | <input type="checkbox"/> jiné: .....                                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |                          |

**INTERPRETACE:**

- |   |             |
|---|-------------|
| <input type="checkbox"/> reakce I. typu (IgE mediovaná)           | na: A ..... |
| <input type="checkbox"/> reakce II. typu (protilátkami mediovaná) | na: B ..... |
| <input type="checkbox"/> reakce III. typu (imunokomplexová)       | na: C ..... |
| <input type="checkbox"/> reakce IV. typu (buněčná, pozdní)        | na: D ..... |
| <input type="checkbox"/> cytotoxická reakce, buněčná              | na: E ..... |
| <input type="checkbox"/> pseudoalergická reakce                   | na: F ..... |
| <input type="checkbox"/> farmakologická reakce                    | na: G ..... |
| <input type="checkbox"/> psychofyziologická reakce                | na: H ..... |
| <input type="checkbox"/> jiná: .....                              | na: I ..... |

■ ŠKÁLA PRAVDĚPODOBNOTI PŘÍČINNÉHO VZTAHU MEZI LÉKEM A REAKCÍ:  
(na škále vyznačte lék písmenem)



Specifikujte: .....

POSÍLÁNO HLÁŠENÍ?  ne  ano  komu?: ..... datum: .....

**POZNÁMKY:** .....  
.....

## Příloha 2 Kompletní tabulky s daty patientské dokumentace

Pacient	Pohlaví	Věk	Alergik	Alergická rýma	Astma bronchiální	Atopická dermatitida	Autoimunita	Peniciliny	AMP	Cefalosporiny	Doba od reakce (roky)	Projevy časně	Projevy pozdní
1.	1	31	0	0	0	0	1	1	1	0	26	N	N
2.	1	66	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
3.	1	43	0	0	0	0	0	1	1	0	28	0	1
4.	1	28	1	1	0	0	1	0	1	0	23	0	1
5.	1	22	1	1	1	1	1	1	0	0	12	1	0
6.	1	32	1	1	0	1	0	1	0	0	22	0	1
7.	1	53	1	1	0	0	1	0	1	0	20	1	0
8.	1	43	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0
9.	1	49	0	0	0	0	0	1	0	0	7	1	0
10.	1	35	1	1	1	0	0	1	1	0	30	0	1
11.	0	43	1	0	1	0	0	1	0	0	3	0	1
12.	0	43	1	1	1	0	0	1	0	1	25	0	1
13.	1	48	0	0	0	0	1	1	0	0	29	1	1
14.	1	34	0	0	0	0	0	1	0	0	33	1	0
15.	1	19	0	0	0	0	0	1	0	0	14	0	1
16.	1	35	0	0	0	0	0	1	1	0	30	0	1
17.	1	24	0	0	0	0	0	0	1	0	19	0	1
18.	1	39	1	1	0	1	1	0	1	0	10	0	1
19.	1	57	0	0	0	0	0	1	0	0	20	0	1
20.	1	62	0	0	0	0	0	0	1	0	15	0	1
21.	0	87	0	0	0	0	0	1	0	0	69	1	0
22.	1	41	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0
23.	0	35	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
24.	0	18	1	1	1	0	0	1	0	0	9	1	0
25.	1	68	0	0	1	0	1	1	0	0	20	0	1

1 = ženy  
0 = muži

1 = ano  
0 = ne  
N = neví

Pacient	celkové IgE (IU/ml)	specifické IgE PNC G (IU/ml)	specifické IgE PNC V (IU/ml)	specifické IgE AMP	BAT pozitivita PNC G	BAT % reagujících buněk PNC G	BAT pozitivita PNC V	BAT % reagujících buněk PNC V	BAT pozitivita AMP	BT % reagujících buněk AMP	Negativní kontrola BAT%	pozitivní kontrola BAT %	LTT pozitivita PNC G	LTT SI PNC G	LTT pozitivita PNC V	LTT SI PNC V	LTT pozitivita AMP	LTT SI AMP
1.	6	0	0	0	1	20,3	1	17	0	0	4,4	62,8	1	2,3	1	3,3	0	0
2.	16	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	N	N	N	N	N	N
3.	25	0	0	N	0	0	0	0	1	11,7	2,9	96,7	0	0	0	0	0	0
4.	115	0	0	0	1	19,2	1	21	N	N	4,2	50,8	0	0	0	0	0	0
5.	20	0	0	N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.	909	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	0	0	1	2,4	N	N
7.	410	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8.	60	0	0	0	1	20,5	0	0	1	23,3	3,6	85,2	0	0	0	0	0	0
9.	23	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	0	0	0	0	N	N
10.	144	0	0	0	0	0	0	0	1	17	2,7	95,8	1	4,4	0	0	0	0
11.	11	0	0	N	1	15,6	1	24,3	N	N	3,2	88,7	1	2,5	0	0	N	N
12.	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13.	50	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	0	0	1	2,4	N	N
14.	48	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	0	0	0	0	N	N
15.	30	0	3,44	N	1	15,4	1	16	N	N	4,9	74,6	0	0	0	0	N	N
16.	50	0	0	0	1	12,2	0	0	0	0	3,6	30,2	0	0	0	0	0	0
17.	20	0	0	0	1	11,15	0	0	1	23,7	3,5	87,9	0	0	0	0	0	0
18.	17	0	0	N	1	56,9	1	18,5	1	62,1	4,4	68,2	1	2,2	0	0	1	2,7
19.	33	0	0	0	0	0	1	17,6	N	N	3,2	72,3	0	0	0	0	N	N
20.	55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21.	27	0	0	N	1	18,5	0	0	N	N	2,8	95,9	0	0	0	0	N	N
22.	189	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	0	0	0	0	N	N
23.	34	0	0	N	0	0	0	0	N	N	0	0	0	0	0	0	N	N
24.	877	58,2	56,7	N	1	15,2	1	16,9	N	N	3	96	0	0	0	0	N	N
25.	80	0	0	N	0	0	1	17,2	N	N	3,9	86,4	0	0	0	0	N	N

1 = pozitivní

0 = negativní

N = nevyšetřeno

Pacient č.	Kožní testy PNC - PPL	Kožní testy PNC - MD	Kožní testy PNC G	Kožní testy AMP
1.	N	N	N	N
2.	1	1	1	N
3.	1	1	1	1
4.	0	1	1	0
5.	0	0	0	0
6.	0	0	0	0
7.	1	0	0	0
8.	0	0	0	0
9.	1	1	1	N
10.	N	N	1	1
11.	0	0	0	1
12.	0	0	0	0
13.	1	1	N	N
14.	0	0	0	N
15.	0	0	0	N
16.	0	0	0	0
17.	0	0	0	0
18.	0	0	0	0
19.	0	0	0	N
20.	0	0	0	0
21.	0	0	0	N
22.	1	1	N	N
23.	0	0	0	N
24.	1	0	N	N
25.	0	0	0	N

1 = pozitivní

0 = negativní

N = neprovedeno