

Allergia in vitro diagnosztika – új lehetőségek és perspektívák

Dr. habil. Réthy Lajos Attila
főorvos
(allergológia, gyermekgyógyászat)



Allergia

- Az immunrendszer **túlzott reakciója** idegen anyagokra : **hiperszenzitivitási reakció**.
- **Kiváltásában** számos antigén (**allergén**) szerepel
- **Érintett helyek:** bőr, légutak, gyomor-bél traktus stb.

Allergiák –tipikus példák a civilizációs betegségekre

- **Gyakori:** Lakosság minimum 20-30%-a allergiás
- **Genetikai hatások:**
- Allergiások gyermekei között a kockázati arány 50% v. a fölött is lehet!
- „high risk babies”
- **Környezeti hatások** módosíthatják a megjelenését

Atopiás dermatitis (ekcéma)-
sérült bőrön keresztül szenzibilizálhat táplálék
allergén is (pl. földimogyoró!)



A



B



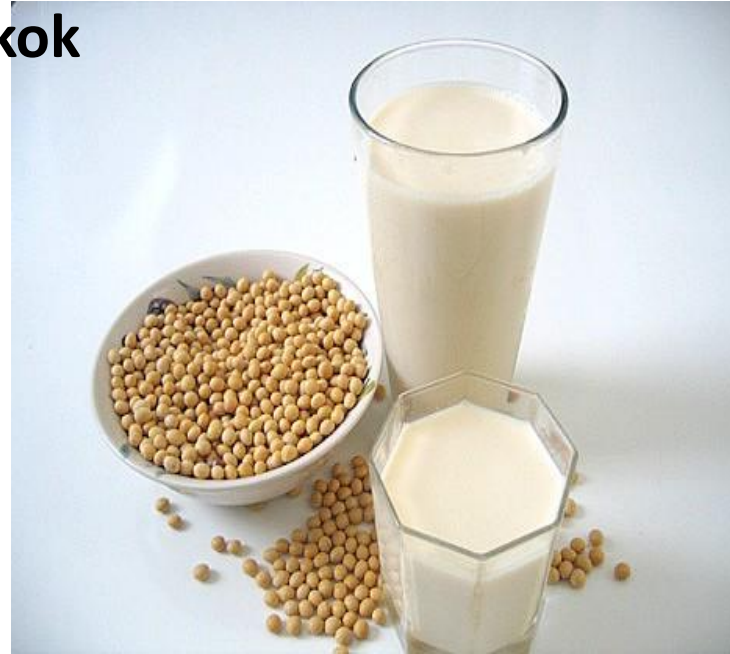
C

Később: asztma, szénanátha,



Csecsemő-kisded: Ekcéma-ételallergia,
Nagyobbak: asztma-szénanátha
„Allergiás menetelés”

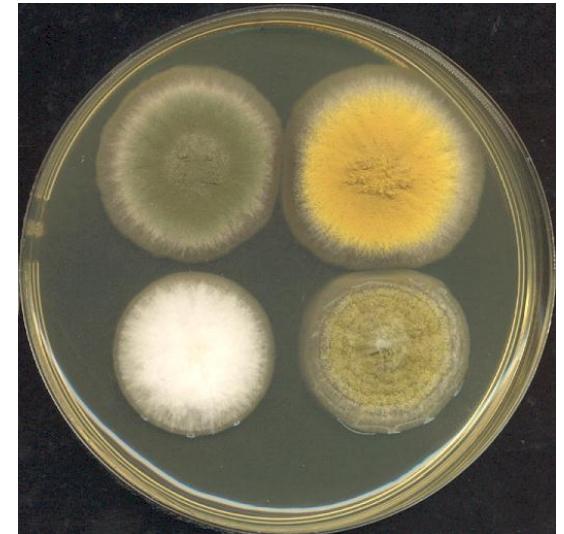
Gyakoribb allergének- 1. táplálékok



Gyermekkor: Tej-tojás , szója (ált. kinövik), földimogyoró- sokszor megmarad- Immunterápia?

Felnőtt: Ritkább, egzotikusabb ételek, rák, tenger gyümölcsei, hal, olajos magvak, fűszerek, zöldség stb...

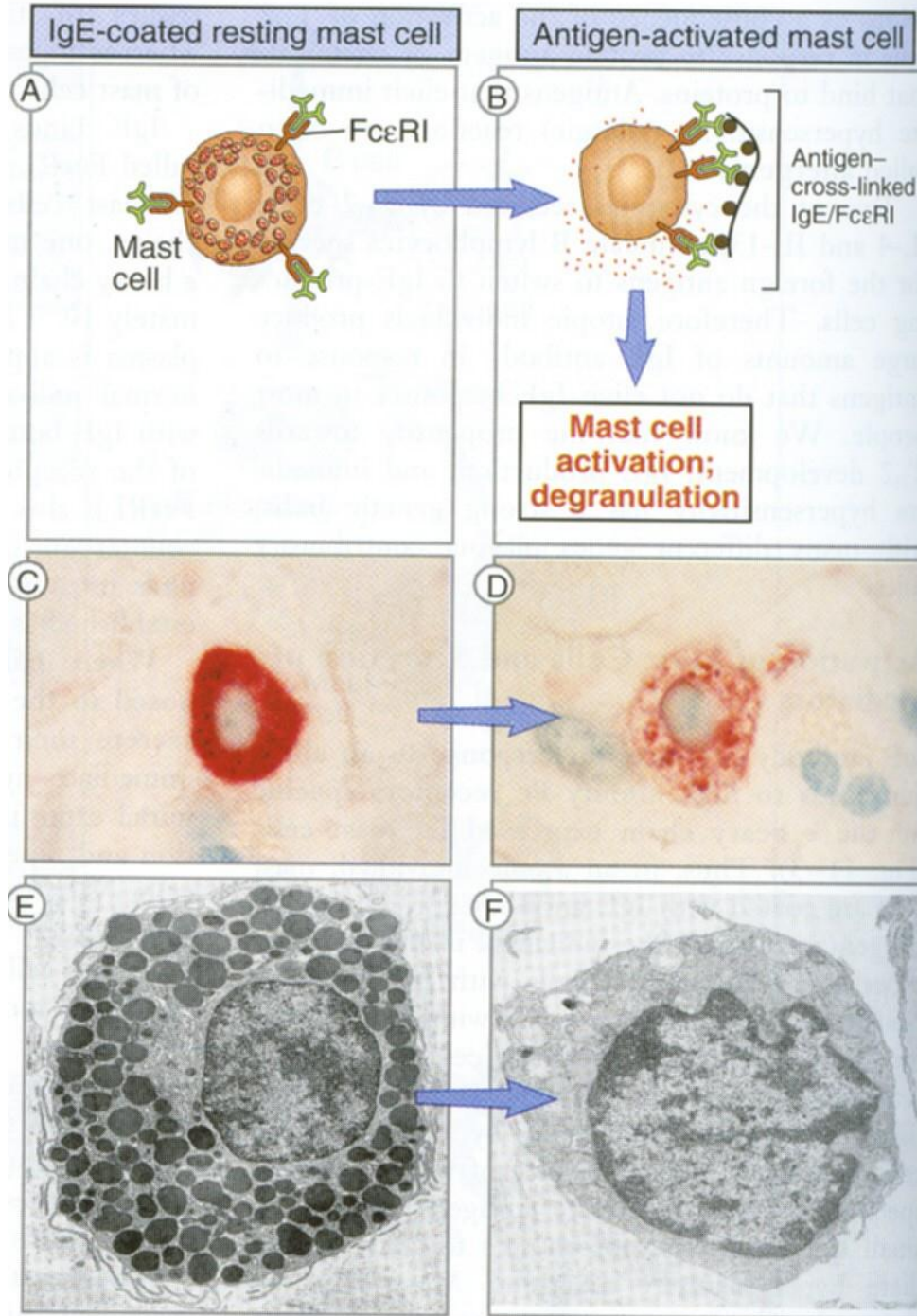
Gyakoribb allergének- 2. Légúti allergének és 3. méh/darázs méreg



Immunológiai háttér

Hiperszenzitivitási reakciók felosztása (Coombs Gell klasszifikáció)

- **I.tip. Korai: (!) –IgE ellenanyaghoz kötött (leggyakoribb forma) – gyakorlatban az allergénre specifikus IgE-t vizsgáljuk**
- II. Citotoxikus reakció (antigén/ellenanyag (IgG főleg) kötődés- komplement aktiválódás- gyulladás, sejtlízis)
- III : allergén-IgG ellenanyag komplexek komplementet aktiválnak- gyulladás
 - IgG tesztek nem alkalmasak igazolására!
- **IV: T sejttes /késleltetett válasz / kontakt ekcémák (foglalkozási ártalmak, fém/illatszer allergiák stb.**



I. típusú,
azonnali reakció:
antigén- IgE
keresztkötés

Hízósejt
degranuláció:
Hisztamin
felszabadulás:
Tünetek

Common Allergies Symptoms

Red, itchy,
watery eyes

Sneezing,
congestion,
runny nose

Itchy or sore
throat, postnasal
drip, cough

- Tünetek:
- - Mikor?
 - (szezonális/
perenniális)
- -Milyen szerv(ek)et érint?
 - pl. orr- garat, szem,
béltraktus tünetek ?
Köhögés/ nehézlégzés/
bőr?

Fizikális vizsgálat &
előzmények, anamnézis!
Alapvető tisztázni!

Extrémebb:
Angioedema,
szisztémás
reakciók



Friss allergia- diagnosztikai ajánlások és irodalom (IgE)

Ált. diagnosztika, EAACI ajánlás

Eigenmann, PAI, 2013

Réthy L.A: GYERMEKGYÓGYÁSZAT. 2014;65(3):127–32

CRD/ WAO-Consensus 2014

Sipka S: Orvosi Hetilap, 2015, 156: 1275-80,

IgE alapú tesztekre fókuszálva

Evidencia – alapú ajánlások

Evidenciaszintek	
I.	Rendszerezett áttekintő tanulmányok, meta-analízisek és jó minőségű randomizált kontrollált vizsgálatok
II.	Két csoportot összehasonlító, nem randomizált tanulmányok, pl. követéses (kohorsz) vagy eset-kontroll vizsgálatok
III.	Egy adott csoport vizsgálata, pl. beavatkozás előtt/után
IV.	Esetsorozatok
V.	Esetleírások, szakértői vélemények, leíró irodalmi áttekintések, szakmai konszenzusok
Ajánlási hierarchia:	
A	Egybeeső konklúziójú, I. evidenciaszintű vizsgálatok
B	Egybeeső konklúziójú, II-III. evidenciaszintű vizsgálatok vagy másodlagos következtetések I. szintű vizsgálatokból
C	IV. evidenciaszintű vizsgálatok vagy másodlagos következtetések II-III. szintű vizsgálatokból
D	V. evidenciaszint vagy elégtelen bizonyítékon alapuló megfigyelés, állítás

Diagnosztikai tesztelés, I. tip. /azonnali reakciók- specifikus IgE függő

- Prick teszt
- Allergén-specifikus IgE alapú tesztek szérumból

1. Prick teszt- intrakután teszt)

I. tip. Allergiák (spec. IgE alapú reakció)



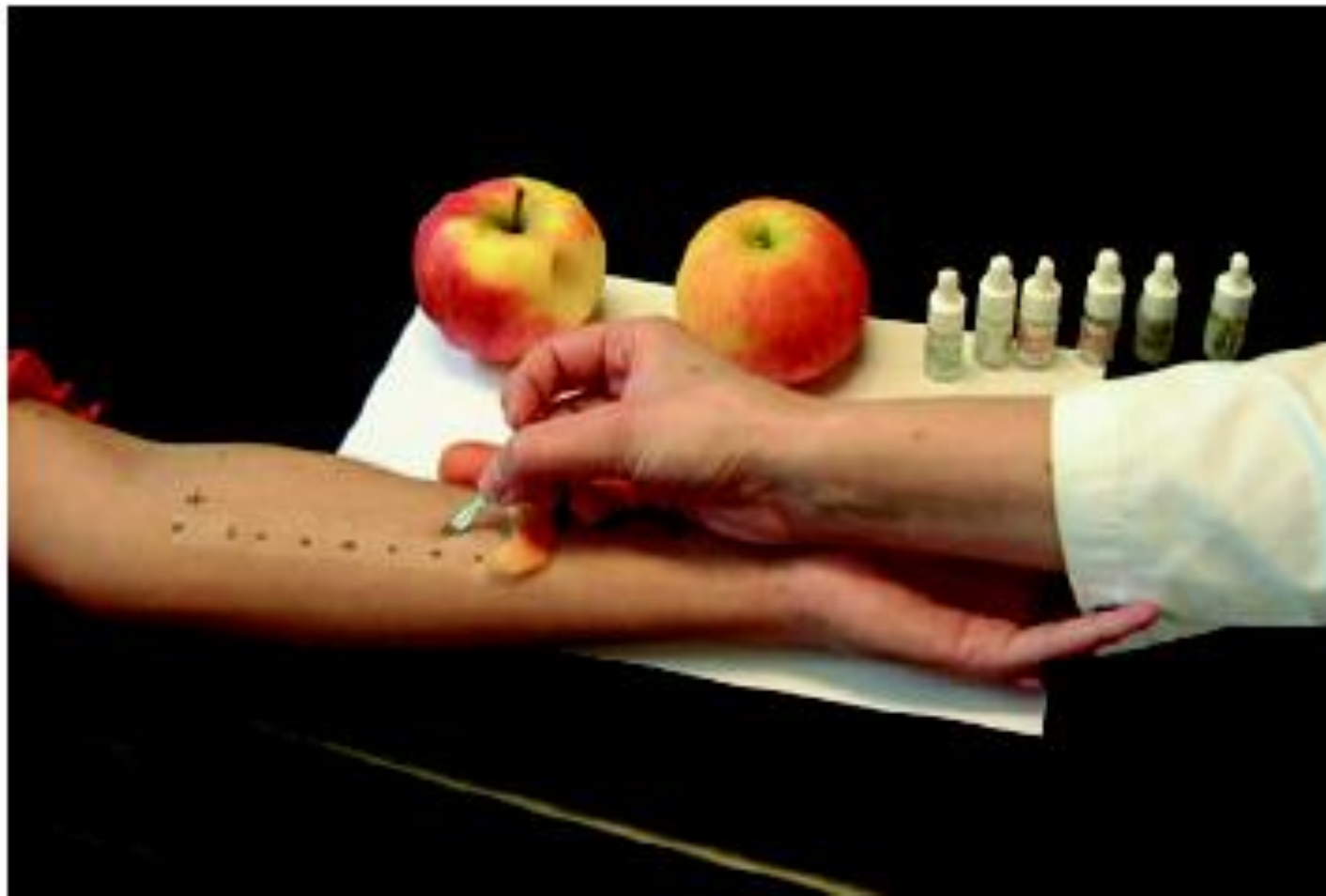
Kiértékelés: 15 perc múlva

Prick tesztelés



- Szakképzett személyzet!
- : Csalángöb: $\geq 3\text{mm}$ limit maradt
 - **Nagyobb, változatos alakú bőrreakció: a legnagyobb átmérőt mérni!**
- Standard kivonatok alkalmazása célszerű.
- Kivétel: labilis allergénkivonatok, álnegatív. gyanú: „Prick-to prick” teszt.
- Nincs életkori határ (de 2 év alatt megfontolni)

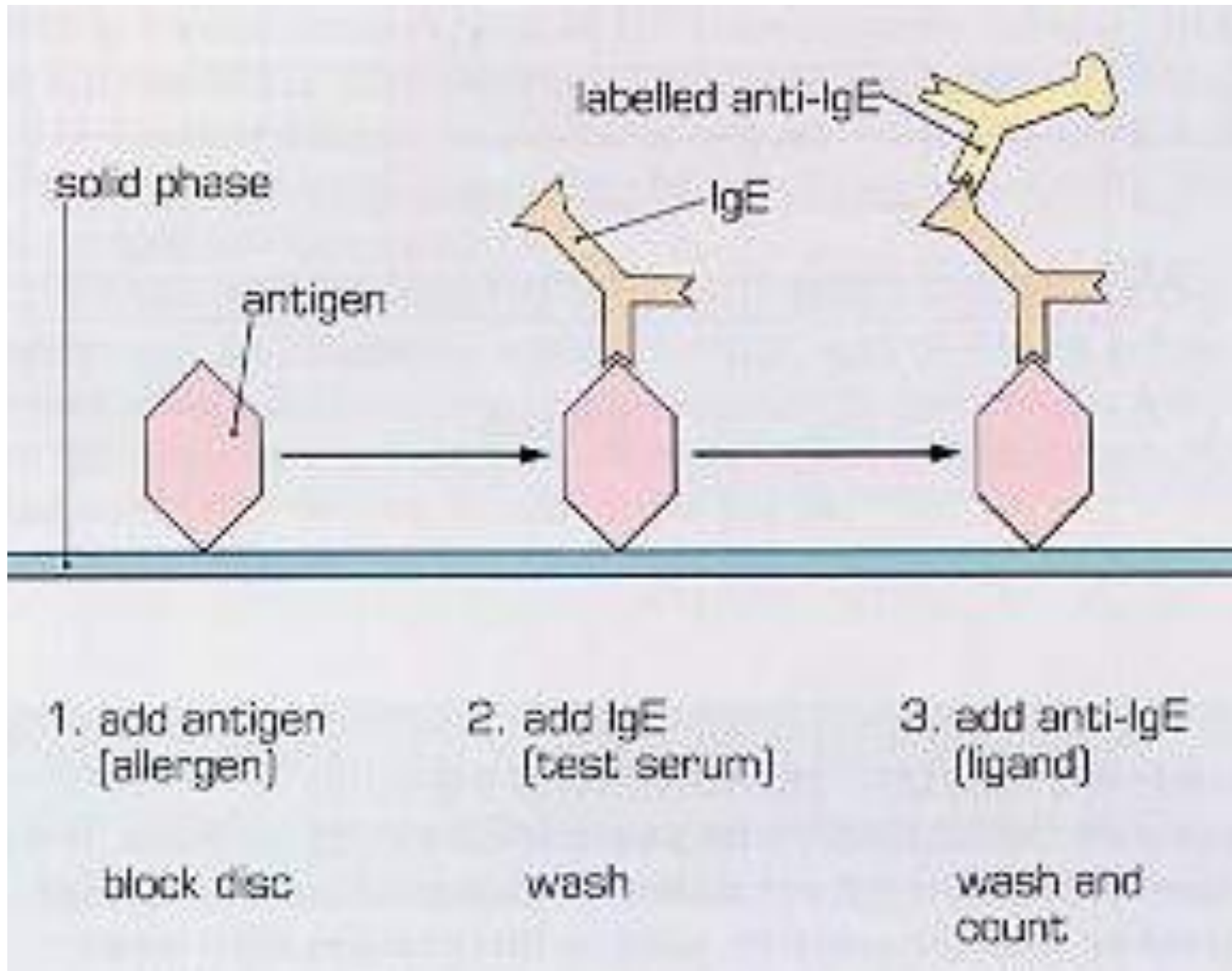
Labilis allergénkivonatok okozta álnegativitás gyanújakor : „prick by prick” módszer javasolt



Nem veszélytelen!

Figure 2. Skin prick test using the prick-to-prick method.

Vér szérumból specifikus IgE teszt- kezdetek: Radio-allergosorbent teszt (RAST)



Szérum spec. IgE mérés

(most már non-radiokativ jelzéssel)

Leginkább elterjedt eszközök

- Phadia/ImmunoCap
 - szilárd fázisú szendvics assay
- Hitachi CLA[®] allergén-specifikus IgE vizsgálat:
 - chemilunescens immuno assay
- Immulite 2000 :
 - szilárd fázisú, két lépéses chemiluminescens immuno assay
- Point of Care eszközök, pl. Fooke:
 - Lateral flow technológia
 - Meglepően jól teljesítenek (Eigenmann PAI 2013, saját vizsgálataink – Svábhegyi Intézet)

Pl. Fooke gyors labor diagnosztikai eszköz (lateral flow assay)



- sp. Ige, serum, plazma, ***teljes vérből is!***
- kis mennyiségek elegendőek (kapillárisnyi)
- 30 perc alatt lelet
- Egyidejűleg 8 tesztcsikot is képes mérni

**30 perc múlva lelet- vizuális, RAST
osztály kvantitatív. meghatározás is**



DR FOOKE



Szérum: allergén-specifikus IgE meghatározás

- $>0,1$ ill. 0.35 kU/ml poz. „cutoff” Limit,
 - de különböző tesztek nem összevethetők
- Jó szenzitivitás és NPV /Prick tesztre is igaz!-
 - főleg IgE med. táplálék-allergiákban
- **Gyengébb specificitás**: Egyes allergénekre eltérő PPV értékek-módszerfüggő is.
- A kivonatok nem standardizáltak!
 - Fals poz. -pl. fapollen/venom CH determinánsok!
- Molekuláris, **komponens alapú diagnosztika (CRD)**
PI: táplálék-allergiák: Ara h 2: földimogyoró allergia, magas anafilaxia-kockázat
- pollen allergiák: specifikus allergének és kereszt allergének elkülönítése stb...

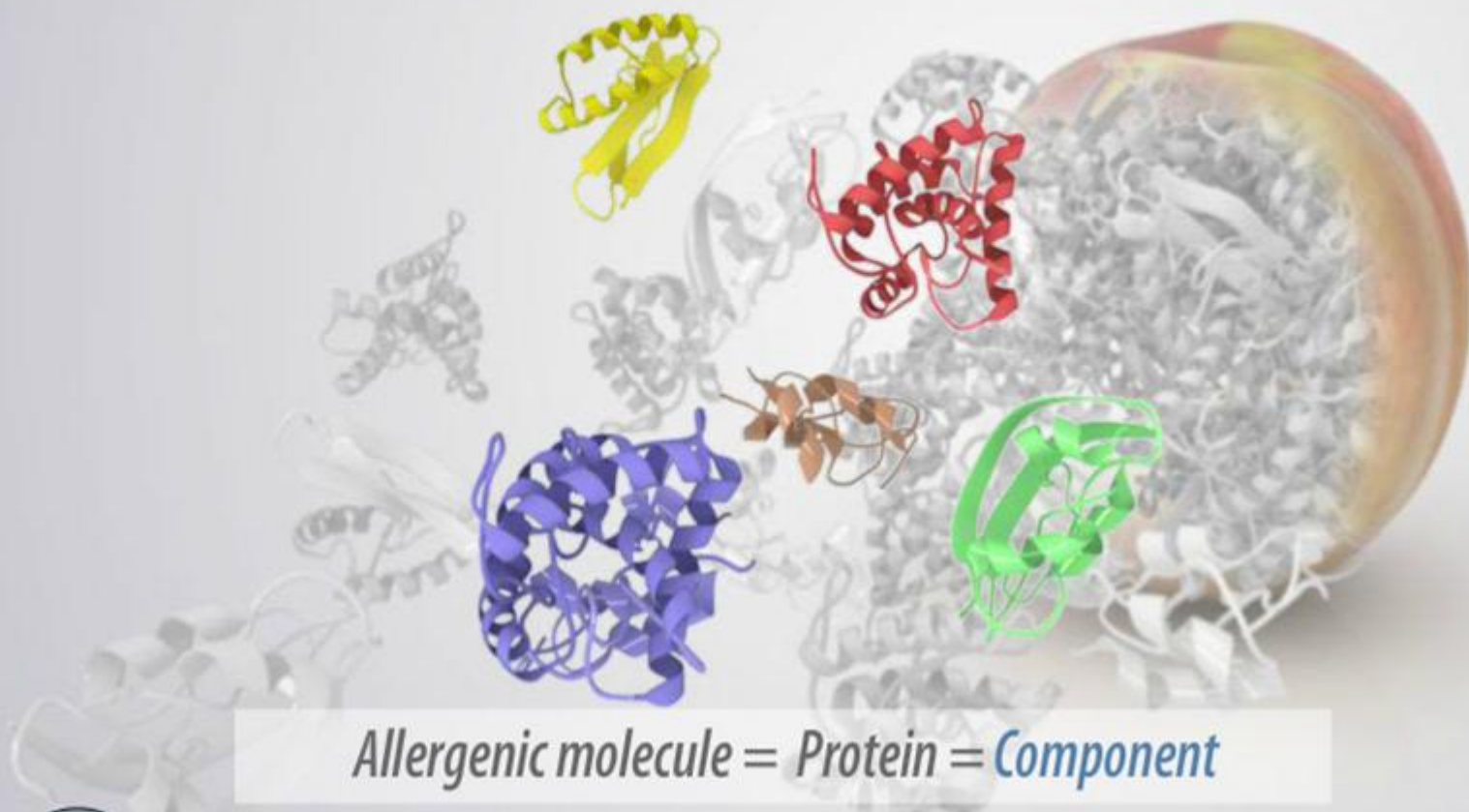
1. táblázat

Az allergénspecifikus IgE mennyiségének értékelése a szérumban

kU/l	Allergénspecifikus IgE- (RAST-) osztály	Értékelés
<0,36	0	Nincs/nem detektálható
0,36–0,71	1	Alacsony
0,72–3,59	2	Mérsékelt
3,6–17,99	3	Magas
18–49,99	4	Nagyon magas
50–99,9	5	Nagyon magas
>100	6	Nagyon magas

Komponens alapú diagnosztika (CRD)

Allergen components



Allergenic molecule = Protein = Component

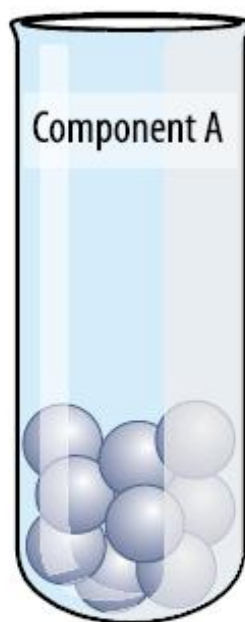
Hagyományos és új diagnosztika: Natív allergén kivonat vs. Komponensek (A, B, C stb)

a) Traditional diagnostics



Native allergen extract

b) Component Resolved Diagnostics – CRD



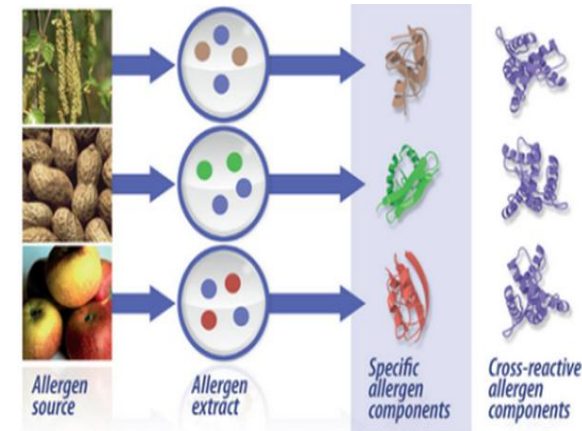
Native/recombinant proteins A, B and C

Figure 1. Different allergen compositions in tests for traditional diagnostics (a) vs. tests for Component Resolved Diagnostics (b).





Szublingvális immunterápia- SLIT

CRD – növeli a SLIT
hatékonyságot
allergiákban !



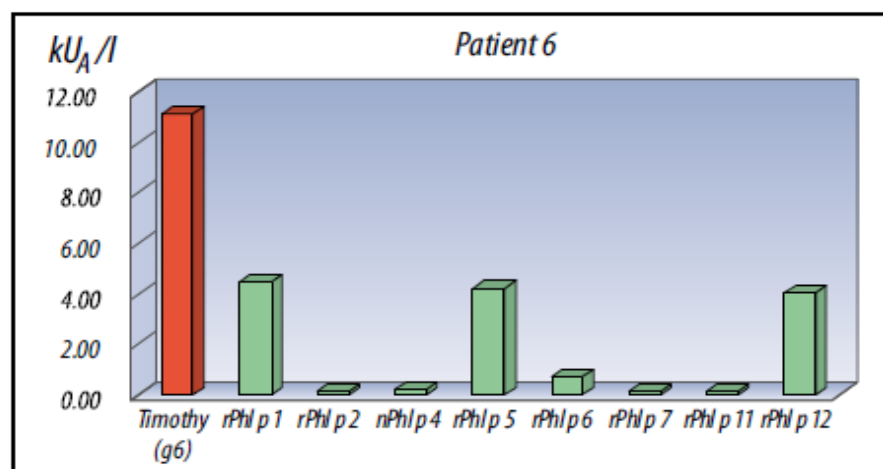
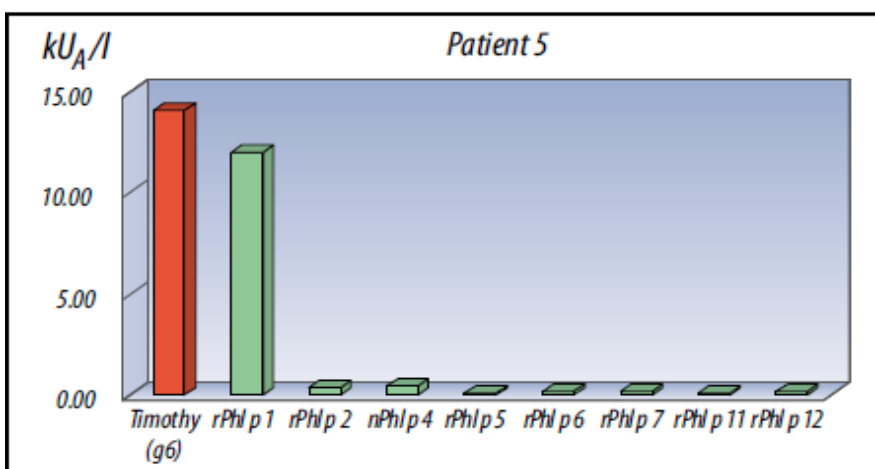
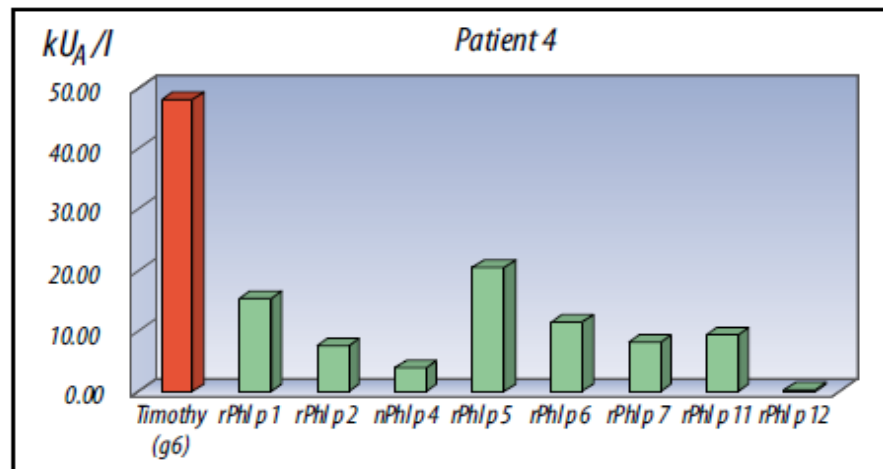
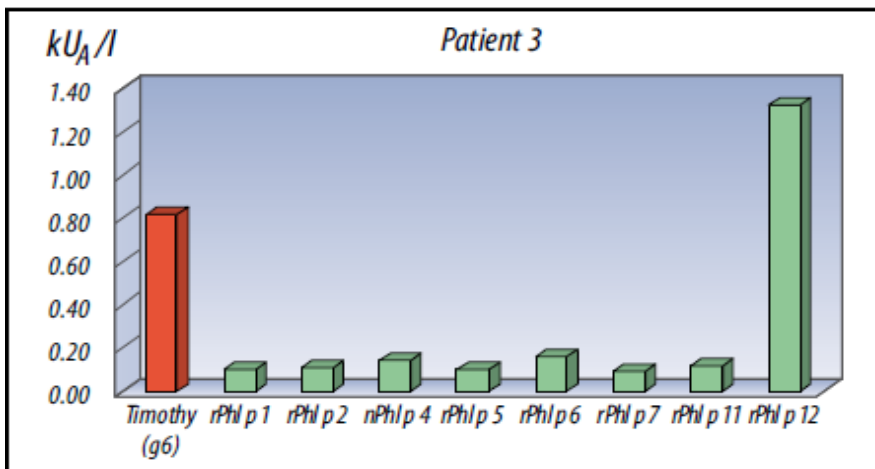
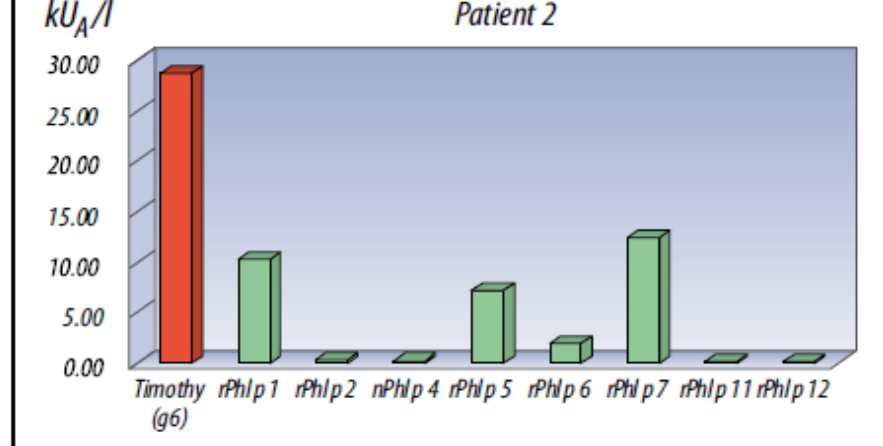
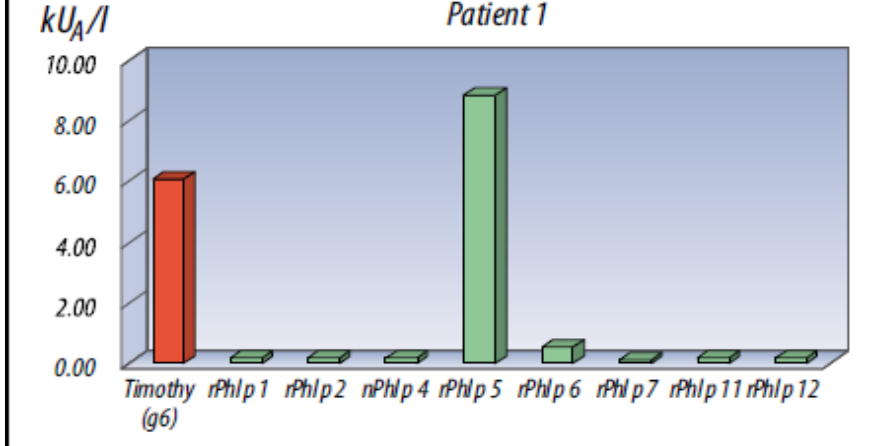
- Fű / parlagfű pollen ill (háziporatka):
 - fűkeverék,
 - parlagfű/fekete üröm
 - és kereszt allergénjeik

ImmunoCAP Pollen Component testing to differentiate between specific and cross-reactive allergen sensitization

Species	Specific		Cross-reactive
TREE			
Birch	rBet v 1	(t215)	rBet v 2* (t216) rBet v 4* (t220) MUXF3** (o214)
Cypress	nCup a 1**	(t226)	
Olive	rOle e 1	(t224)	
Plane tree	rPla a 1 	(t241)	
GRASS			
Bermuda	nCyn d 1**	(g216)	rPhl p 7* (g210) rPhl p 12* (g212) MUXF3** (o214)
Timothy	rPhl p 1	(g205)	
	rPhl p 5 b	(g215)	
WEED			
Ragweed	nAmb a 1	(w230)	rPhl p 7* (g210) rPhl p 12* (g212) MUXF3** (o214)
Mugwort	nArt v 1	(w231)	
	nArt v 3	(w233)	
Wall pellitory	rPar j 2	(w211)	rPhl p 7* (g210) rPhl p 12* (g212) MUXF3** (o214)
Plantain	rPla l 1 	(w234)	
Saltwort	nSal k 1**	(w232)	

Indication for SIT

Uncertain SIT efficacy, especially in absence of pollen specific sensitization. **Continue to search for the specific component.**



molekuláris diagnosztika (CRD) -anaphylaxia kockázat becslés

Forrás	Magas kockázat	Alacsony kockázat
Földimogyoró	Ara h 1, 2, 3, 9	Ara h 8, profilin, CCD
Mogyoró	Cor a 8, 9, 14	Profilin, CCD
Dió	Jug r 1, 2, 3	Profilin, CCD
Szója	Gly m 5, 6, (4)	Profilin, CCD
Rosaceák (például alma)	Pru p 3, Mal d 3	Pru p 1, Mal d 1, profilin, CCD
Búza	Tri a 14, Tri a 19	Profilin, CCD

CCD = keresztreagáló szénhidrátszerkezet.

Földimogyoró

All available peanut components are needed for a complete risk assessment

Risk assessment with ImmunoCAP® Molecular Allergology

f 13 (peanut) + Ara h 1 + Ara h 2 + Ara h 3

f 13 + Ara h 2

f 13 + Ara h 9

f 13 + Ara h 8

Risk for reaction

Risk for severe reaction

High risk for severe reaction

FACTORS TO CONSIDER:

- Sensitization to several allergen components
- Local exposure
- Level of exposure
- Level of Specific IgE

PROTEIN GROUPS:

Storage proteins:

- Ara h 1
- Ara h 2
- Ara h 3
 - Associated with severe reactions
 - Stable to heat and digestion

Pathogenesis-Related Bet V1 homolog (PR 10)

PR-10 protein:

- Ara h 8
 - Associated with local reactions (e.g. OAS)
 - Labile to heat and digestion
 - Associated with allergy to birch and birch related tree pollens

LTP:

Lipid Transfer Protein

- Ara h 9
 - Associated with both severe and local reactions
 - Stable to heat and digestion
 - Associated with allergy to peach and peach related fruits

Méh- darázs méreg, diagnosztika

Complete extracts and recombinant components are both needed for precise patient assessment



ImmunoCAP®
COMPLETE EXTRACTS

i1 (Honey bee), i3 (Common Wasp), i77 (Paper Wasp)

ImmunoCAP®
COMPONENTS

rApi m 1 (i208), rVes v 1 (i211), rVes v 5 (i209), rPol d 5 (i210)

rApi m 1

rApi m 1 + rVes v 1 and/or rVes v 5/rPol d 5*

rVes v 1, rVes v 5, rPol d 5*

SIT CANDIDATE

Honey bee

Honey bee + Common/Paper Wasp

Common/Paper Wasp



*rPol d 5: Common especially in the Mediterranean areas.

RECOMMENDED TESTS:

ImmunoCAP Tryptase
Measure tryptase baseline levels before SIT to assess risk for severe reactions

MUXF3 CCD α214 (from Bromelain)
– Pure CCD containing only the MUXF3 carbohydrate epitope
– Cross-reactivity marker for CCDs

Szérum triptáz

- Hízósejtekben, szerint proteáz
- Mastocytá aktivitással szintje összefügghet (korlátok között)
- **Anafilaxiában (méh/darázs) emelkedett lehet-anafilaxia igazolására alkalmas**
- **Mastocytosisban is emelkedett lehet (fokozott anaphylaxia kockázat!)**
- **Méh-darázs IT kezdetén és közben monitorozni (EAACI)**

Anaphylaxia, gyermekkor

Főként táplálék! De rovarméreg is! IgE

- Akut epizód alatt: szérumot eltenni (spec IgE , tryptase)
- **Tryptase** : 1-3. órában mérendő (de normális is lehet)
- Későbbi vizsgálatok: Prick v. Prick to Prick megfontolandó (szenzitívebb)
- **SplgE tesztek: 4-6 hétig anergia** miatt negatívak lehetnek! (E) Később: rekombináns allergének fokozhatják a szenzitivitást.
- Provokációs teszt: Ha nincs korreláció a tünetek és allergiatesztek között
- **Tryptase teszt: Elérhető – Svábhegyi Gyógyintézet**

Útravaló-tudnivaló I.

Allergia diagnózis csak akkor, ha:

- Allergiára utaló tipusos előzmény/tünet + alátámasztó spIgE pozitivitás!
- Allergiás tünet+ egyéb nem allergiás okok kizárhatók

Sp IgE pozitivitás tünetek nélkül: álpozitivitás vagy szenzibilizáltság, de nem allergia!

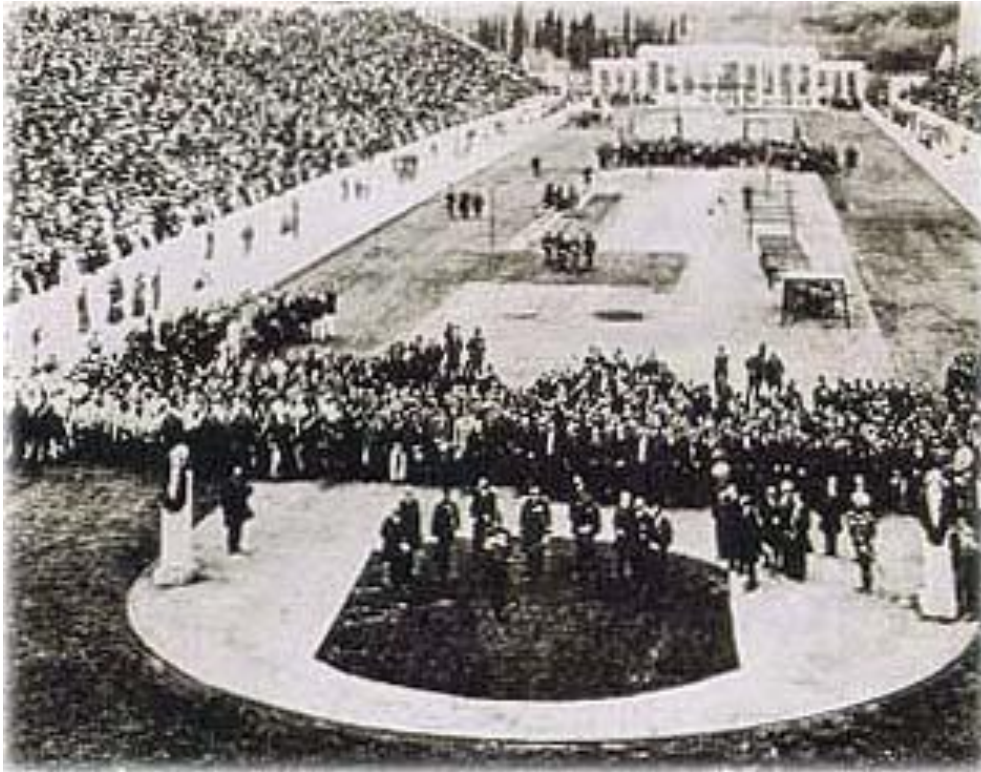
+1: Magasabb spec. IgE érték nem az allergia klinikai súlyosságát, hanem a tünetek várható megjelenését valószínűsíti!

II: Komponens-alapú diagnosztika -CRD

- **immunterápiák** hatékonyságának pontosabb előre jelzése (pl. **fűkeverék, parlagfű/fekete üröm, nyír !**)
- diagnosztikai pontosság fokozása (**légúti, méh-darázs, tápl., !**)
- táplálék (**kereszt**) **reakciók** hatékonyabb előre jelzése
- Eredmény: kevesebb téves diagnózis és fölösleges diéta , Javuló életminőség!

Athén, 1896. április 6.: I. Újkori Olimpia megnyitó

Hajós Alfréd



Köszönöm a figyelmet!

Diszkusszió?

EAACI 2013: Össz IgE –nincs szerepe az allergia *specifikus* diagnosztikájában

Össz IgE szint mérés, indikációk:

- I. Omalizumab terápiában a dózis meghatározásban segíthet
- II. Diagnosztikus paraméter allergiás bronchopulmonáris aspergillosisban
- III. **Provokációs tesztek reaktivitásának meghatározásában az egyik lehetséges algoritmus-paraméter / „Atopiás hajlam” !**
(Itt lehet gyakorlati szerepe)