

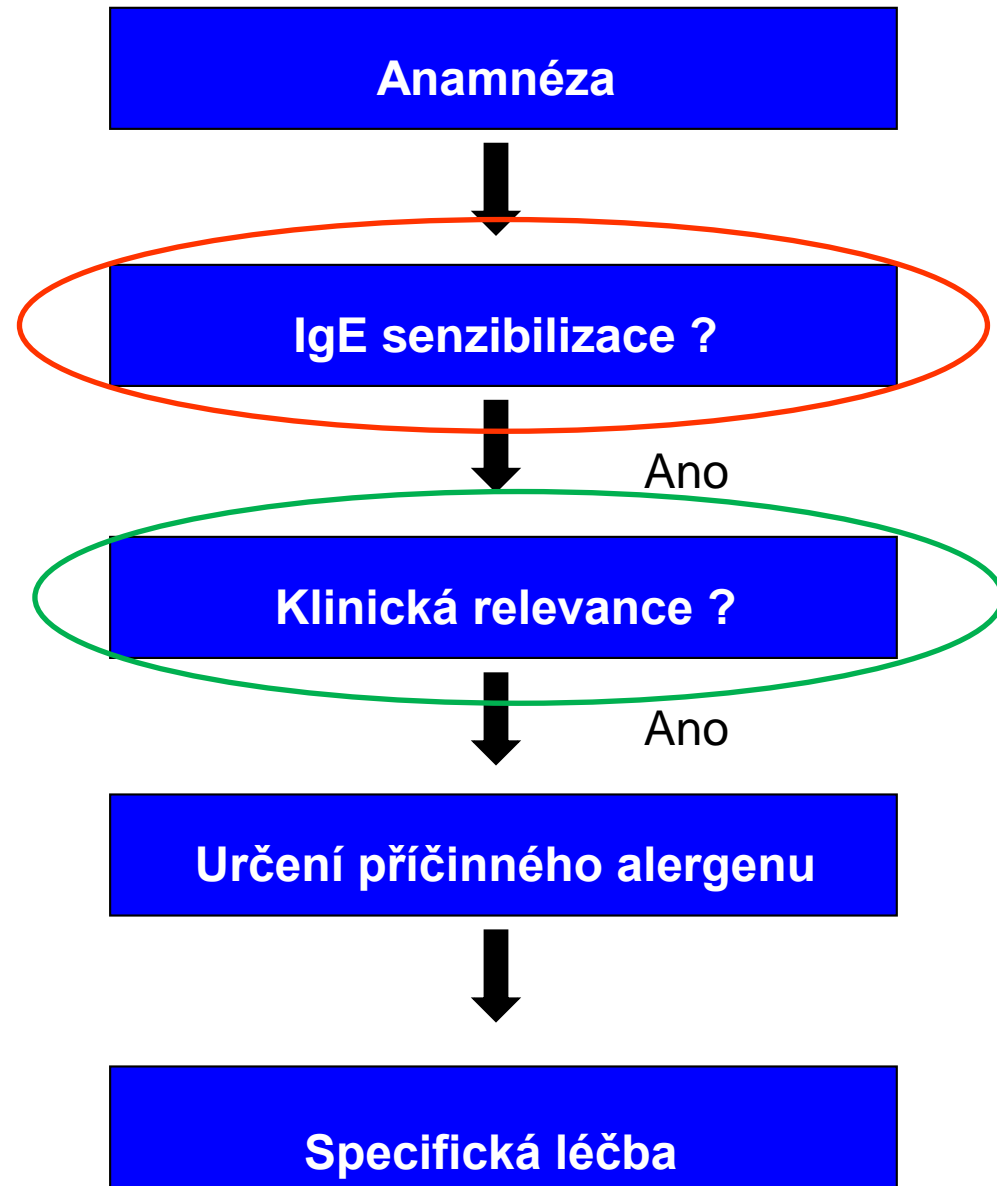
# ***Komponentová diagnostika v alergologii: Význam pro praxi***

***Petr Panzner***

***Ústav imunologie a alergologie  
LF UK a FN Plzeň***



Tato přednáška je sponzorována společností Teva Pharmaceuticals CR s.r.o.



# IN VIVO

Kožní testy

Provokační testy

nosní

spojivkové

průduškové

orální

# IN VITRO

Periferní eozinofilie

FENO

ECP

Celkové IgE

Specifické IgE

extrakty alergenů

alergenové komponenty

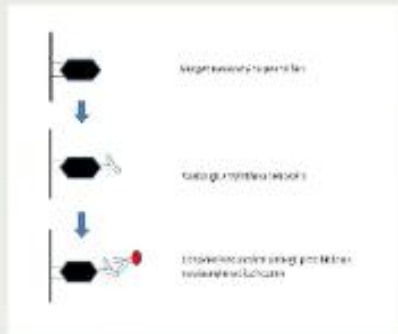
Test aktivace bazofilů

Kožní testy

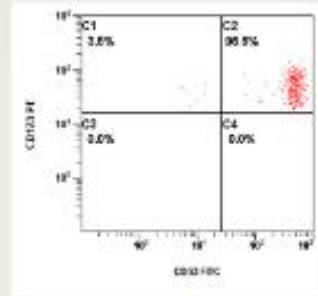


Anamnestické údaje  
Klinický obraz  
Základní laboratoř  
Pomocná vyšetření

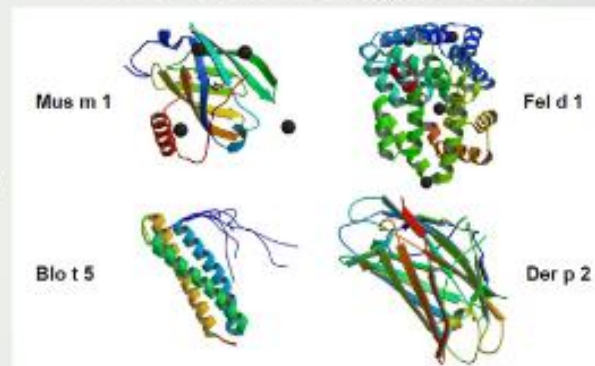
Specifické IgE



Aktivace bazofilů



Molekulární diagnostika



# IN VIVO

Kožní testy

Provokační testy

nosní

spojivkové

průduškové

orální

# IN VITRO

Periferní eozinofilie

FENO

ECP

Celkové IgE

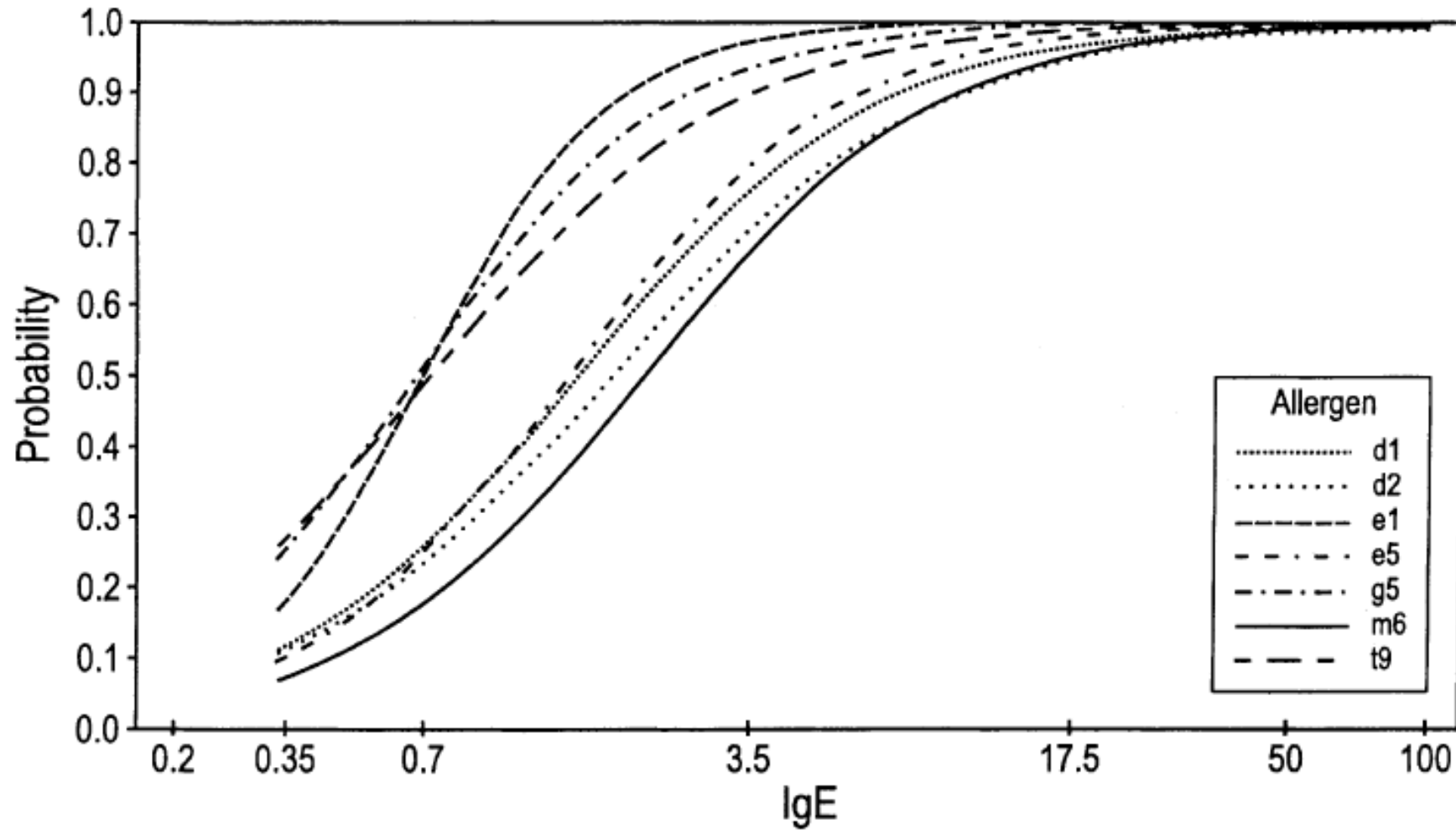
Specifické IgE

extrakty alergenů

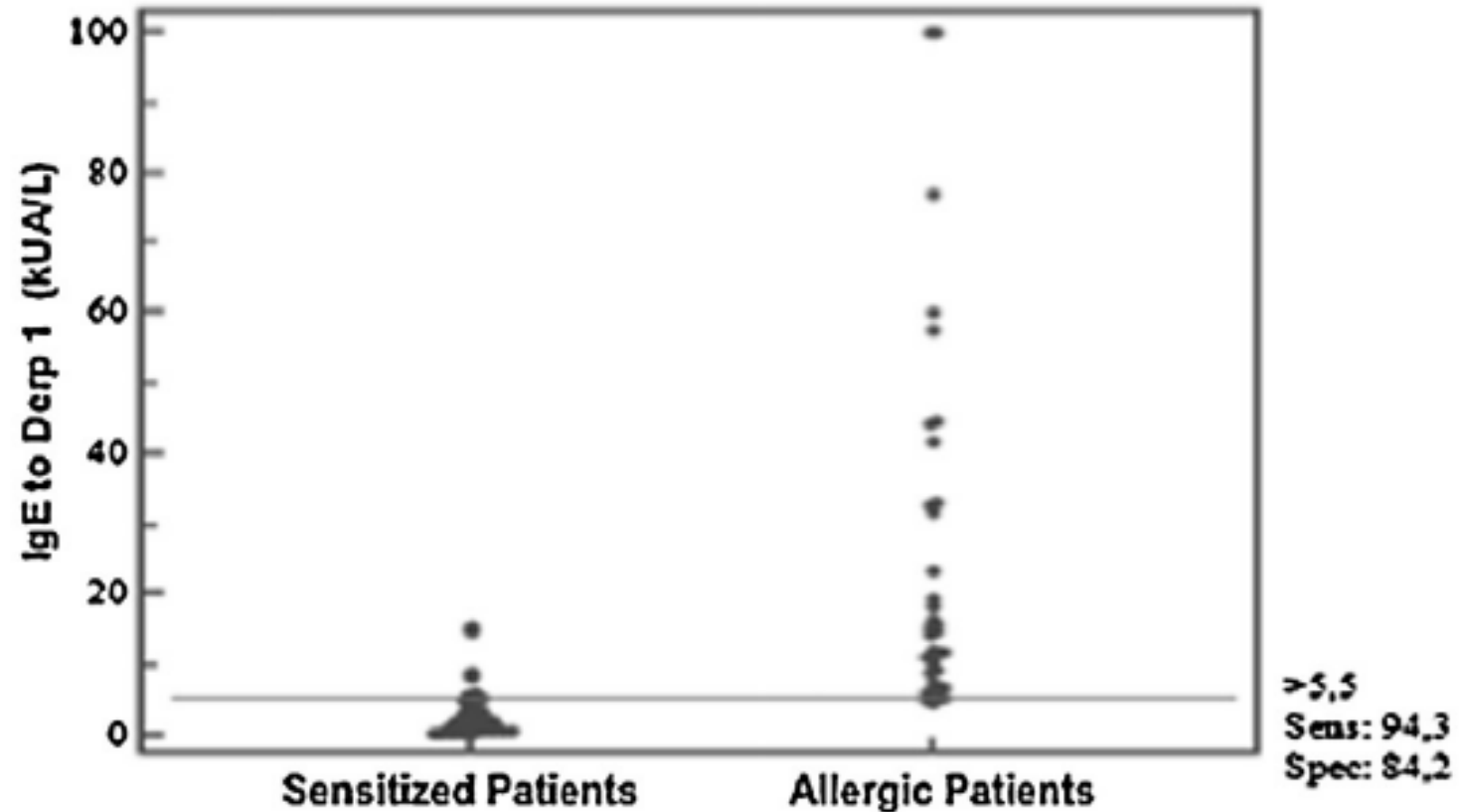
alergenové komponenty

Test aktivace bazofilů

# Vztah hladiny sIgE a klinické relevance senzibilizace



# *Může CRD napomoci k rozlišení senzibilizace a alergie?*



# IN VIVO

Kožní testy

Provokační testy

nosní

spojivkové

průduškové

orální

# IN VITRO

Periferní eozinofilie

FENO

ECP

Celkové IgE

**Specifické IgE**

extrakty alergenů

**alergenové komponenty**

Test aktivace bazofilů

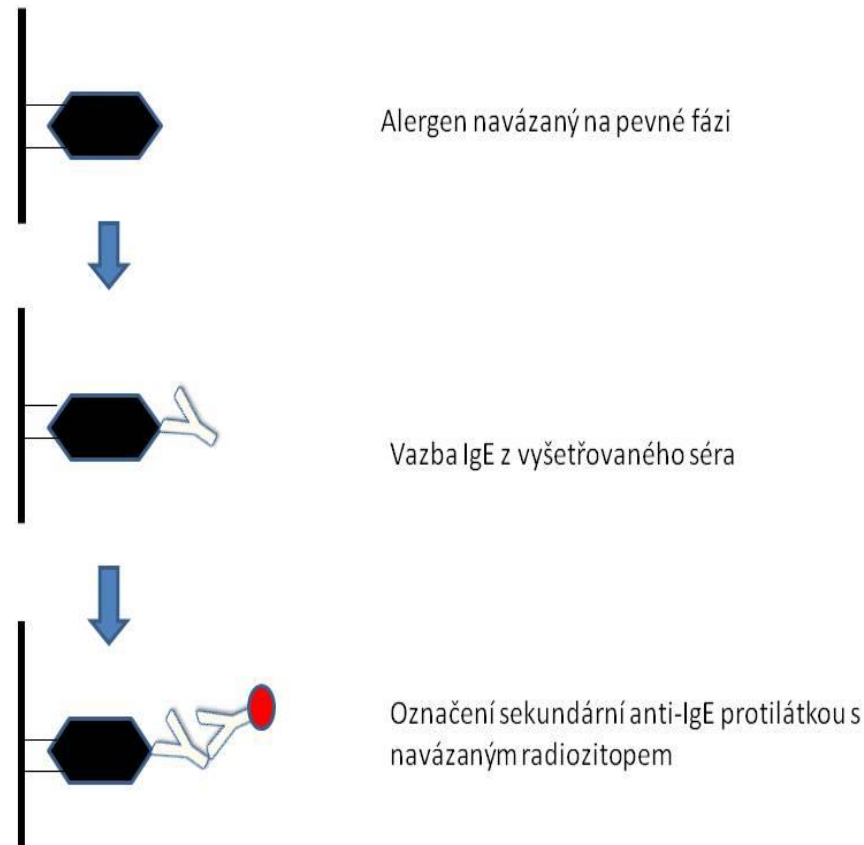


# *In-vitro* průkaz IgE-mediované senzibilizace

- Průkaz přítomnosti IgE reagujícího s extraktem alergenu nebo alergenem samotným
- Průkaz přítomnosti IgE reagujícího se složkami daného alergenu

# Vyšetření specifických IgE protilátek v séru

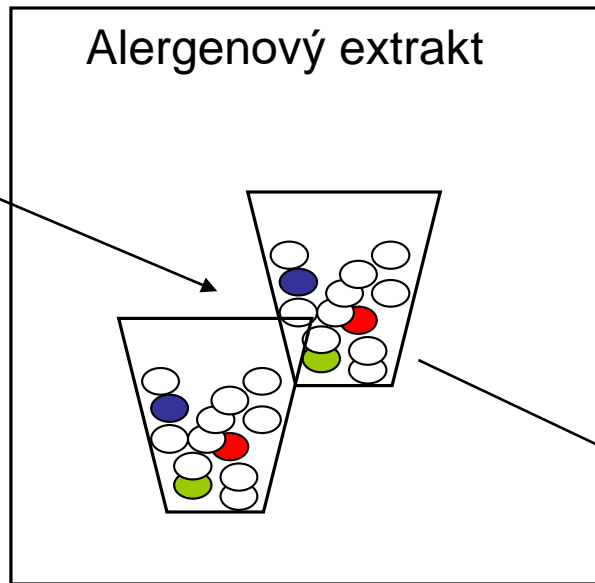
- Metody vyšetření vycházejí z původní metodiky z 60.let 20.století, označované jako RAST (RadioAllergo Sorbent Test)



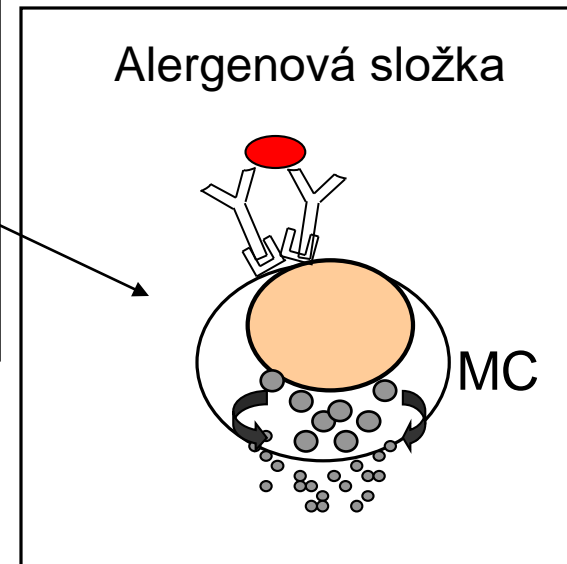
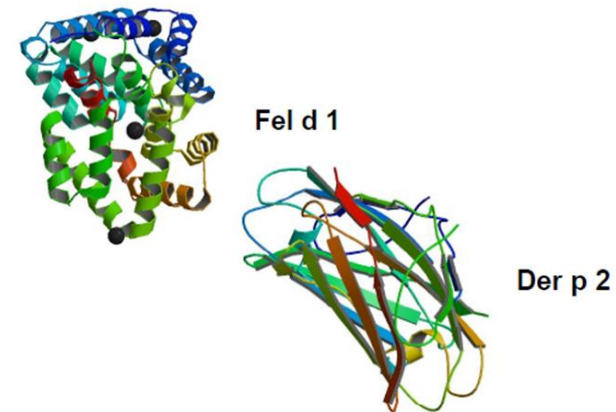




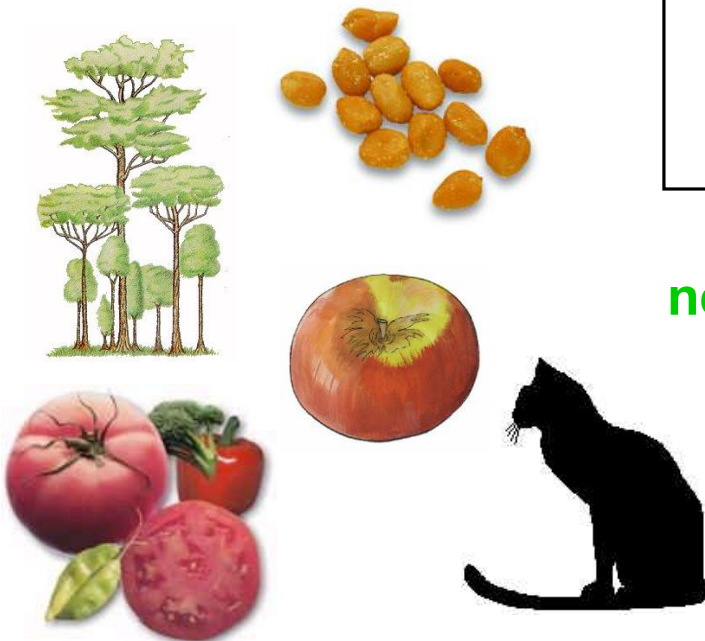
# Koncept alergenu / alergénové molekuly



Směs alergenních a nealergenních molekul



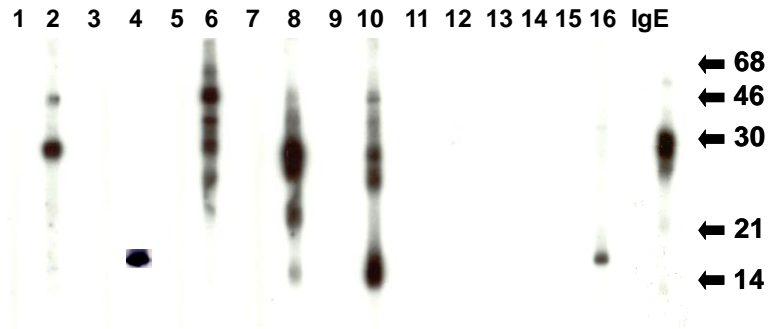
Molekula odpovědná za alergickou reakci



# Obsah hlavních alergenů v komerčně dostupných extraktech

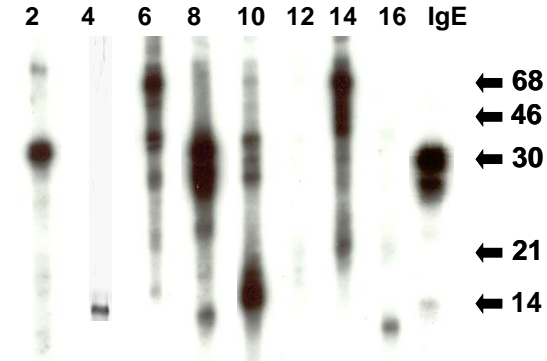
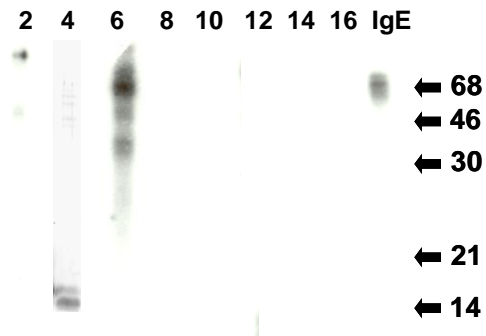
Bojínek luční

Extrakt č. 1



Extrakt č. 4

Extrakt č. 5



2= Phl p 1  
4= Phl p 2  
6= Phl p 4  
8= Phl p 5  
10= Phl p 6  
12=  $\alpha$ -Phl p 12  
14= Phl p 13  
16= Phl p 7  
IgE= patient

# *Obsah Phl p 5 v preparátech k provádění kožních testů od různých výrobců*

---

Manufacturer	Conc.	Phl p 5 ( $\mu\text{g/ml}$ )
Allergopharma	50 000 SBE/ml	8.75
ALK-Abelló	10 HEP	4.19
Allergy Therapeutics	10 000 DU/ml	0.15
HAL Allergy	10 000 AU/ml	18.30
Stallergenes	100 RI	2.70

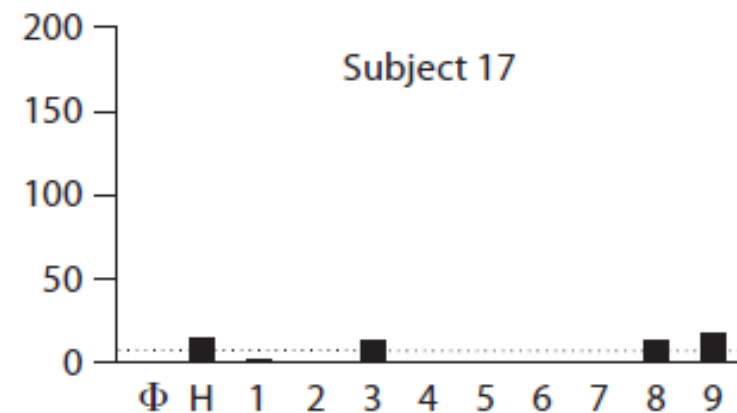
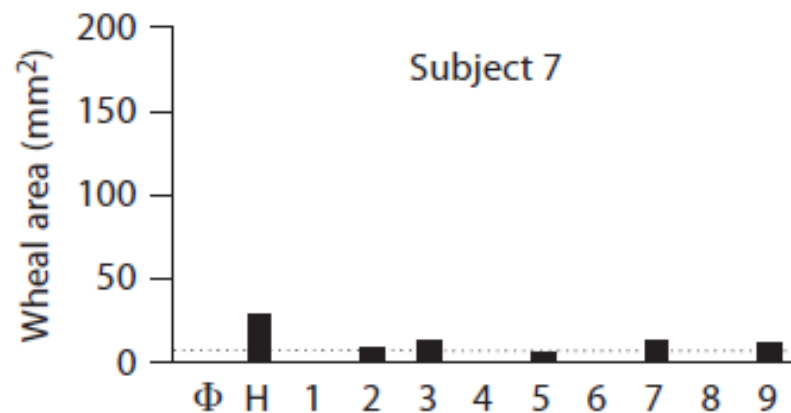
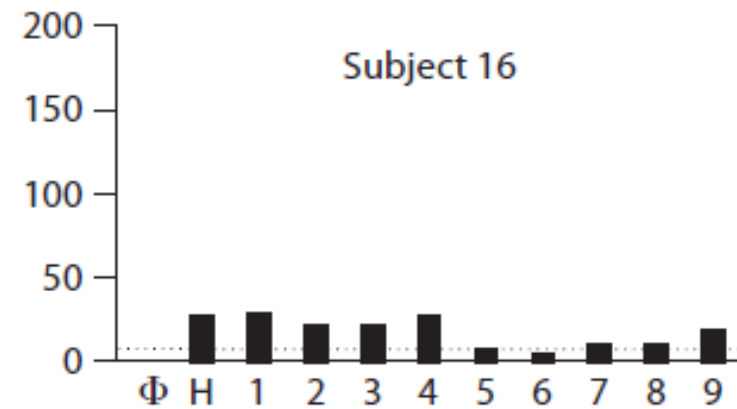
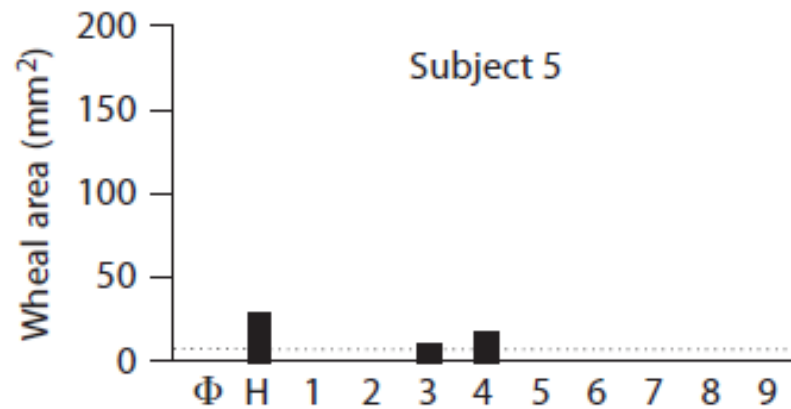
---

## **Obsah hlavních molekul roztočů v preparátech k provádění kožních testů od různých výrobců**

Manufacturers	Der p 1 <i>D. pteronyssinus</i>	Der f 1 <i>D. farinae</i>	Mite group 2 <i>D. pteronyssinus</i>	Mite group 2 <i>D. farinae</i>
	Mean* (±SD)	Mean* (±SD)	Mean* (±SD)	Mean* (±SD)
1	36.2 (±5.7)	122.9 (±17.3)	31.7 (±7.6)	3.3 (±0.7)
2	9.6 (±1.7)	36.5 (±3.8)	8.5 (±1.0)	3.6 (±0.2)
3	n.a.	196.1 (±7.7)	6.1 (±0.01)	1.3 (±0.2)
4	11.1 (±1.5)	115.7 (±26.9)	1.3 (±0.1)	2.4 (±0.5)
5	21.7 (±1.6)	190.4 (±26.5)	23.4 (±1.0)	10.4 (±2.1)
6	20.4 (±2.8)	59.1 (±1.7)	0.7 (±0.1)	1.5 (±0.2)
7	12.8 (±2.2)	114.0 (±11.1)	2.4 (±0.7)	2.0 (±0.06)
8	15.7 (±2.1)	26.5 (±6.8)	2.6 (±0.3)	4.0 (±0.4)



# Variabilita výsledků kožních testů s devíti různými komerčními roztočovými extrakty



# ***Obsah hlavních molekul plísni v preparátech k provádění kožních testů od různých výrobců***

	<i>Alt a (1)</i>	<i>Asp f (2)</i>	<i>Asp f (3)</i>	<i>Cla h (4)</i>	<i>Pen ch (5)</i>	<i>Asp v (6)</i>
Company A	101	234	0.1	8	170	–
Company B	27	256	0.001	7	430	–
Company C	3	–	–	19	7	–
Company D	1	35	0.0001	13	87	–
Company E	5	0.3	0.01	–	150	–
Company F	4	16	0.006	240	29	–
Company G	0.2	70	0.013	68	–	–
Company H	–	–	–	–	–	167
Company I	–	–	–	–	–	23

# Obsah hlavních alergenů v komerčně dostupných extraktech (pes)

Allergen extract*	Der p 1 (ng/ml)	Der p 2 (ng/ml)	Can f 1 (µg/ml)
A (SPT)	33.4 ± 1.9†	31.3 ± 1.9†	169.8 ± 12.3†
B (SPT)	5.1	3.0	11.1
C (SPT)	29.6	7.5	13.3
D (SPT)	0.4‡	<0.56‡	3.8
E (SPT)	1.9‡	<1.1‡	59.4
F (RAST)	101.1	72.3	535.0
G (RAST)	275.3	334.0	1,272.6

# *Potenciální nevýhody užití alergenových extraktů pro stanovení sIgE*

- potenciální problémy s obsahem jednotlivých alergenních molekul v extraktu, což je dáno přirozenou variabilitou alergenového zdroje  
→ snížená senzitivita testu
- potenciální problémy s přítomností alergenních molekul z jiných zdrojů (znečištění)  
→ snížená specifita testu

# *Potenciální nevýhody užití alergenových komponent pro stanovení sIgE*

- detekce spec. IgE pouze k jedné nebo několika alergenovým molekulám – není vyloučena senzibilizace pacienta exkluzivně na jinou molekulu daného alergenového zdroje  
→ snížená senzitivita testu

# *Průkaz přítomnosti sIgE reagujícího s extraktem alergenů*

- nemá schopnost rozlišit mezi **primární senzibilizací** k danému alergenů (druhově specifické markery) a senzitivitou, která je dána **zkříženou reaktivitou** (sekvenční homologie - podobnost epitopů, panalergeny)

# *Alergenové molekuly*

➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6

# *Alergenové molekuly*

➤ Vedlejší alergenové molekuly:

rozpoznávány <50% pacientů

často odpovědné za zkřížené reaktivity

např. profiliny: Bet v 2, Phl p 12

polcalciny: Bet v 4, Phl p 7

tropomyosiny: Der p 10

sérové albuminy: Fel d 2, Can f 3, Equ c 3, Bos d 6



# ***Průkaz přítomnosti IgE reagujícího s konkrétní alergenovou molekulou***

→ význam pro předpověď závažnosti a charakteru reakcí

→ význam pro předpověď možnosti zkřížených klinických reakcí

→ význam pro indikaci alergenové imunoterapie

# ***Průkaz přítomnosti IgE reagujícího s konkrétní alergenovou molekulou***

→ význam pro předpověď závažnosti a charakteru reakcí

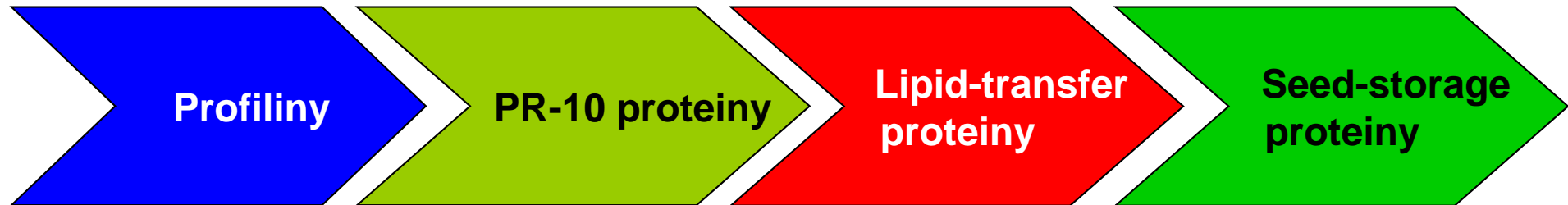
→ význam pro předpověď možnosti zkřížených klinických reakcí

→ význam pro indikaci alergenové imunoterapie

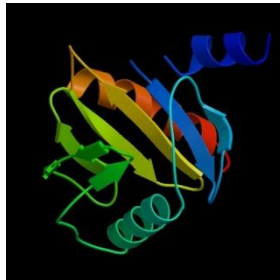
# *Alergenové složky – biomarkery predikce závažnosti klinické reakce*

Labilní proteiny  
Menší množství

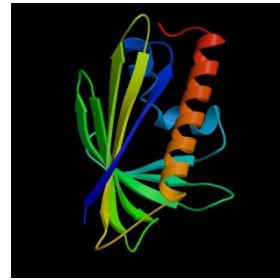
Stabilní proteiny  
Větší množství



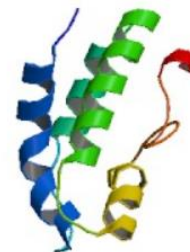
Zvyšující se riziko klinické reakce



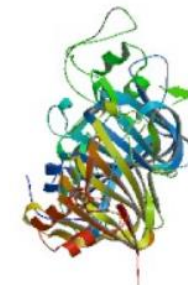
Bet v 2



Bet v 1



Pru av 3



Cor a 9

# *Molekulární diagnostika potravinové alergie*

- **Ara h 2 > 2 IU/ml** – svědčí silně pro klinicky významnou alergii na arašídny
- **Cor a 9 > 2 IU/ml** a/nebo **Cor a 14 > 5 IU/ml** – svědčí silně pro klinicky významnou alergii na lískové oříšky
- **Ana o 3 > 0,35 IU/ml** – svědčí silně pro klinicky významnou alergii na pistácie a kešu
- **Gly m 8 > 5 IU/ml** – svědčí relativně silně pro klinicky významnou alergii na sóju
- **Tri a 19 > 2 IU/ml** – svědčí mírně pro klinicky významnou alergii na pšeničnou mouku

# Molekulární diagnostika alergie na blanokřídlý hmyz

## Hlavní alergeny

- včela fosfolipáza A2 (**Api m 1**)
- vosa antigen 5 (**Ves v 5**)  
fosfolipáza A1 (**Ves v 1**)



CRD významně zlepšuje diagnostiku alergie na blanokřídlý hmyz a indikaci VIT.

Senzitivita Api m 1 – 80 %

Senzitivita Ves v 1 + Ves v 5 – 98 %

# ***Průkaz přítomnosti IgE reagujícího s konkrétní alergenovou molekulou***

→ význam pro předpověď závažnosti a charakteru reakcí

→ význam pro předpověď možnosti zkřížených klinických reakcí

→ význam pro indikaci alergenové imunoterapie

# *Alergenové molekuly*

➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6

# *Alergenové molekuly*

➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6



# *Alergenové molekuly*

➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6

# *Alergenové molekuly*

➤ Vedlejší alergenové molekuly:

rozpoznávány <50% pacientů

často odpovědné za zkřížené reaktivity

např. profiliny: Bet v 2, Phl p 12

polcalciny: Bet v 4, Phl p 7

tropomyosiny: Der p 10

sérové albuminy: Fel d 2, Can f 3, Equ c 3, Bos d 6

# ***Průkaz přítomnosti IgE reagujícího s konkrétní alergenovou molekulou***

→ význam pro předpověď závažnosti a charakteru reakcí

→ význam pro předpověď možnosti zkřížených klinických reakcí

→ význam pro indikaci alergenové imunoterapie

# *Alergenové molekuly*

➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6

# *Alergenové molekuly*

➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6

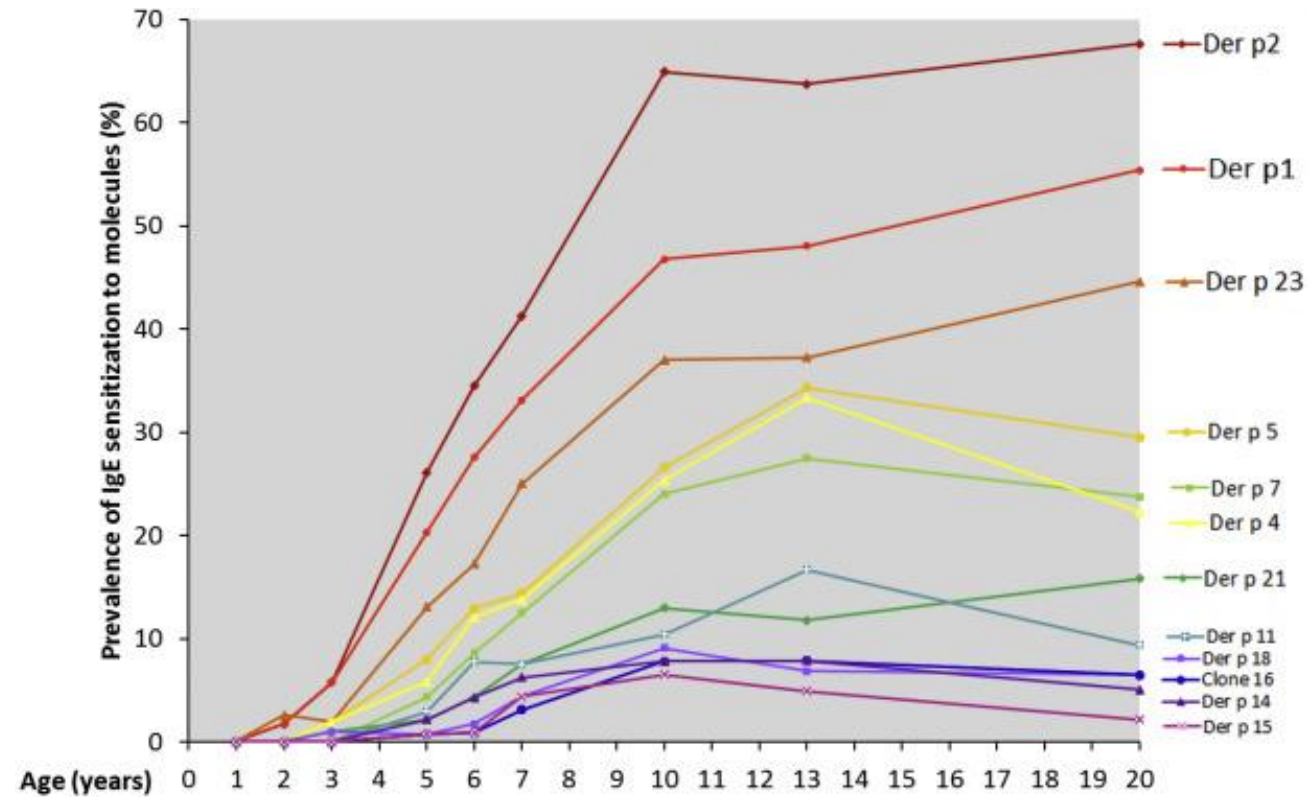
# *Alergenové molekuly*

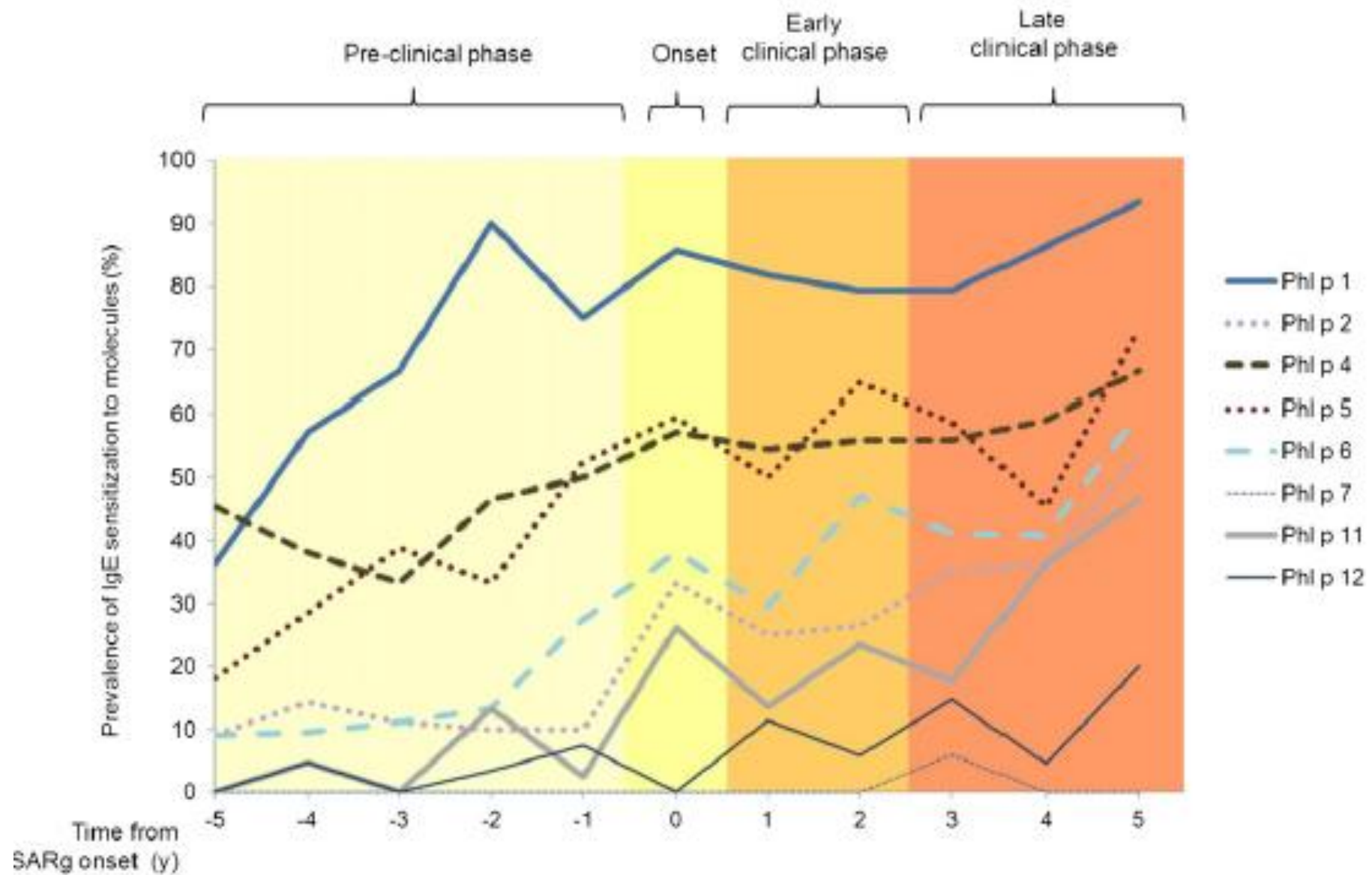
➤ Hlavní alergenové molekuly:

rozpoznávány >50% pacientů  
obvykle druhově specifické

např.	pyly stromů:	Bet v 1
	pyly trav:	Phl p 1, Phl p 5
	roztoči:	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2
	kočka:	Fel d 1, Fel d 4
	pes:	Can f 1, Can f 5
	alternaria:	Alt a 1, Alt a 6

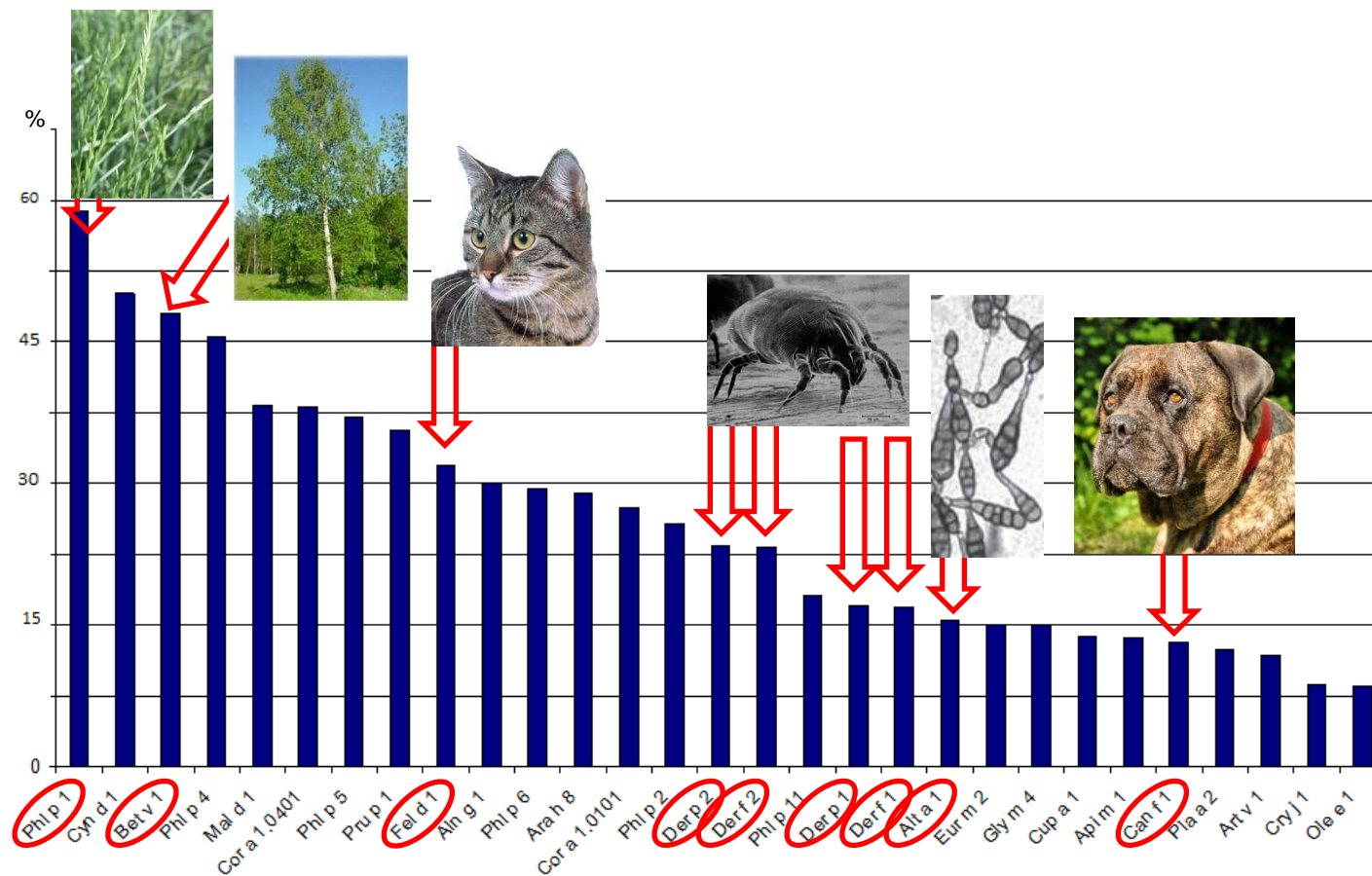
# *Přirozený vývoj IgE senzibilizace na alergeny roztočů*

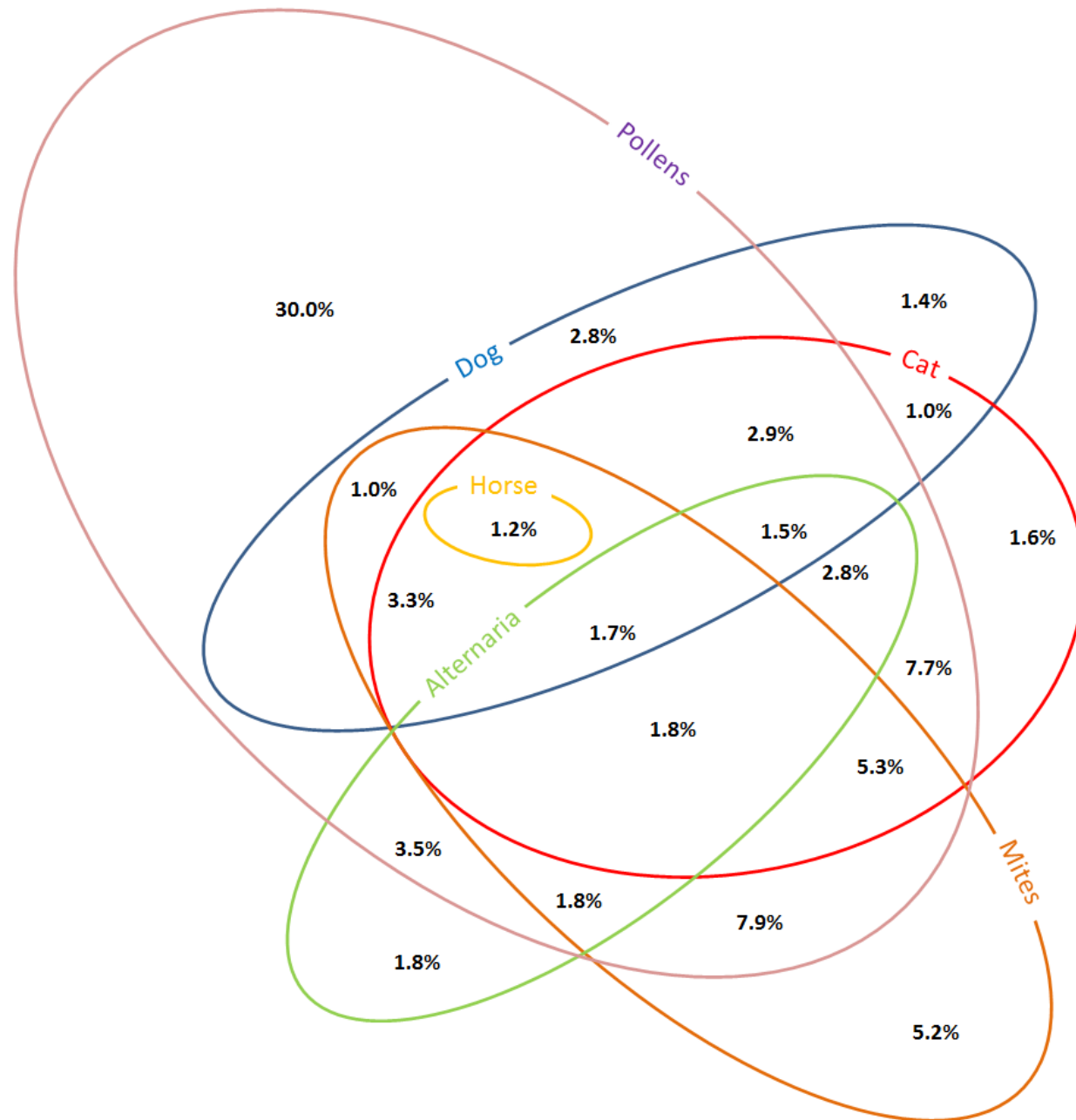






# Nejčastější senzibilizace k inhalačním alergenům



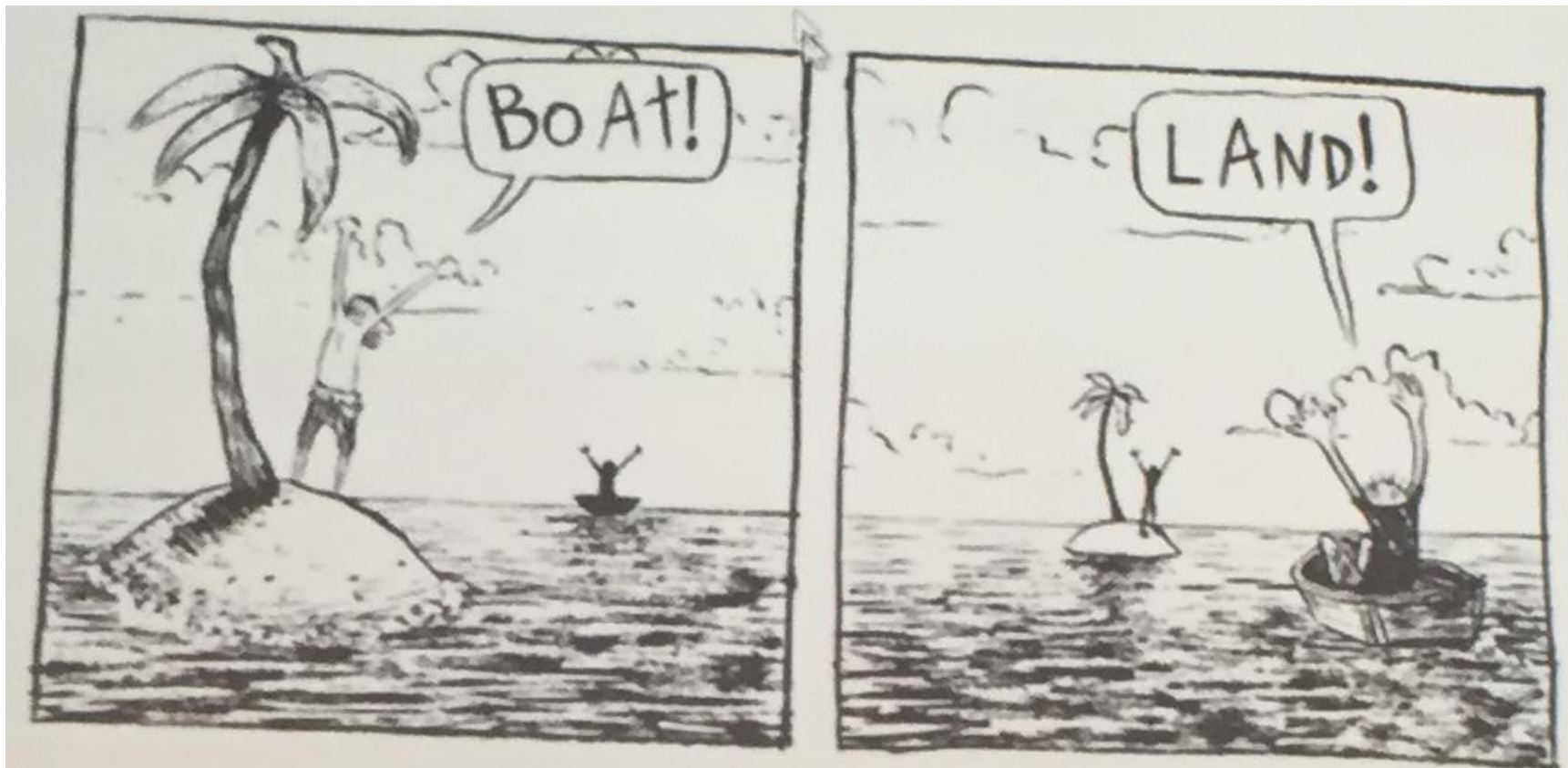


## *Inhalační alergený - závěr*

- Pyl trav – Phl p 1 (+ Phl p 5)
- Pyl břízovitých stromů – Bet v 1
- Roztoč D. pteronyssinus
  - Der p 1 + Der p 2 + Der p 23
- Kočka – Fel d 1
- Pes – Can f 5 + Can f 1

*Pro diagnostiku příušné alergie jsou pravděpodobně lepší než extrakt.*

Jsou molekuly opravdu lepší než  
extrakty?



.... záleží na úhlu pohledu.

# Poděkování



**Martina  
Vachová**



**Petra  
Vítovcová**



**Martin  
Liška**



**Tomáš  
Vlas**



**Jana  
Bojčuková**



**Marek  
Malý**

