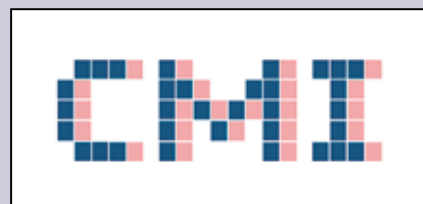
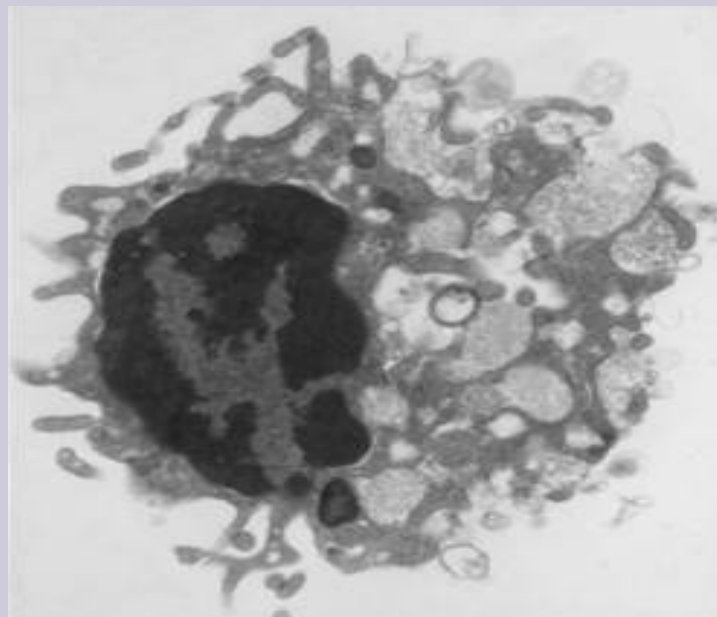


SYLLABUS

PAOKC-cursus Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde

ALLERGIE: OUDE ZIEKTE,
NIEUWE DIAGNOSTIEK!



Dinsdag 29 november 2011
Centraal Museum, Utrecht

PROGRAMMA

09.15 - 09.55	Ontvangst
09.55 - 10.00	Opening
10.00 - 10.30	Mechanismen van Allergie <i>Prof.dr. H. Savelkoul</i>
10.30 - 11.00	Waarde van IgE-diagnostiek bij verdenking voedselallergie <i>Mw. Dr.ir. Y.M. Vissers</i>
11.00-11.30	Allergiediagnostiek met componenten: toepassing van de 'allergenchip' <i>Dr. E.F. Knol</i>
11.30 - 12.15	Clinical utility of molecular allergology <i>Prof.dr. M. Wickman</i>
12.15 - 13.15	Lunch
13.15 - 13.45	Immunotherapie en IgG4 metingen <i>Dr. Th. Rispens</i>
13.45 - 14.15	Diagnostiek (voedsel) allergie: alternatieven voor IgE- meting, huidprik- en provocatietesten? <i>Mw. Dr. ir. J. Ruinemans-Koerts</i>
14.15 – 14.45	Intercollegiale Toetsing: inzicht in de kwaliteit van laboratoriumtesten <i>Dr. C.W. Weykamp</i>
14.45 - 15.15	Pauze
15.15 –16.00	Precipitinen moeten blijven! <i>Dr. J.S. van der Zee</i> Precipitinen kunnen weg <i>Dr. S. van der Heide</i>
16.00 - 16.45	Casuïstiek <i>Mw. Dr. N. Arends</i>
16.45 – 17.30	Borrel

SPREKERS

Mw. Dr. N. Arends

Kinderarts/Allergoloog
ErasmusMC, Rotterdam

Dr. S. van der Heide

Biochemicus
UMC, Groningen

Dr. E.F. Knol

Senior Onderzoeker/Docent
UMC, Utrecht

Mw. Dr.ir. J. Ruinemans-Koerts

Klinisch Chemicus
Rijnstate Ziekenhuis, Arnhem

Dr. Th. Rispens

Chemicus
Sanquin, Amsterdam

Prof.dr. H. Savelkoul

Professor en Hoofd Celbiologie en Immunologie
Wageningen Universiteit

Mw. Dr.ir. Y.M. Vissers

Onderzoeker Immunologie
FrieslandCampina, Deventer

Dr. C.W. Weykamp

Chemicus
Streekziekenhuis Koningin Beatrix, Winterswijk

Prof.dr. M. Wickman

Professor in pediatric allergology
Karolinska Institutet, Stockholm

Dr. J.S. van der Zee

Longarts
Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

ORGANISATIE

Organiserend comité

Dr. M.A. Fouraux

Albert Schweitzer Ziekenhuis, Dordrecht

Mw. Dr. I-A. Haagen

Onze Lieve Vrouwe Gasthuis, Amsterdam

Mw. Dr. D. Hamann-Wenzlau

Sanquin, Amsterdam

Drs. A.P.H. Jansen

Allergologiepraktijk, Arnhem
UMC St.Radboud, Nijmegen

Mw. Dr. S. de Lathouder

ErasmusMC, Rotterdam
Star – Medisch Diagnostisch Centrum, Rotterdam

Mw. Dr.ir. J. Ruinemans-Koerts

Rijnstate Ziekenhuis, Arnhem

Dr. C.W. Weykamp

Streekziekenhuis Koningin Beatrix, Winterswijk

SPONSORS

Deze PAOKC **Allergie: oude ziekte, nieuwe diagnostiek!** wordt mede mogelijk gemaakt door bijdragen van de volgende sponsors:

ALK Abello



Phadia
Onderdeel van Thermo Fisher Scientific



Siemens Healthcare Diagnostics



INHOUD

	Pag.
Mechanismen van Allergie <i>Prof.dr. H. Savelkoul</i>	6
Waarde van IgE-diagnostiek bij verdenking voedselallergie <i>Mw. Dr.ir. Y.M. Vissers</i>	19
Allergiediagnostiek met componenten: toepassing van de 'allergenchip' <i>Dr. E.F. Knol</i>	21
Clinical utility of molecular allergology <i>Prof.dr. M. Wickman</i>	23
Immunotherapie en IgG4 metingen <i>Dr. Th. Rispens</i>	30
Diagnostiek (voedsel) allergie: alternatieven voor IgE-meting, huidprik- en provocatietesten? <i>Mw. Dr.ir. J. Ruinemans-Koerts</i>	32
Intercollegiale Toetsing: inzicht in de kwaliteit van Laboratoriumtesten <i>Dr. C.W. Weykamp</i>	34
Precipitinen moeten blijven! <i>Dr. J.S. van der Zee</i>	50
Precipitinen kunnen weg <i>Dr. S. van der Heide</i>	52

MECHANISME VAN ALLERGIE

H.F.J. Savelkoul, professor en hoofd Celbiologie en Immunologie

Een allergische reactie is een reactie van het afweersysteem op stoffen van buiten het lichaam die normaal niet tot een dergelijke reactie leiden. Het afweersysteem is bedoeld om elementen die niet in het lichaam horen, zoals microben, op te ruimen. Bij een allergie wordt een reactie opgewekt tegen stoffen waarbij een dergelijke reactie niet hoort op te treden, zoals voedingsstoffen en stuifmeel. De (onterechte) afweerreactie van het lichaam uit zich in klachten zoals galbulten, eczeem, astma of hooikoorts. Allergie is een ingewikkeld probleem. Om allergie goed te begrijpen is begrip nodig van de belangrijkste termen in de allergie. Allergenen zijn de stoffen die in staat zijn bij bepaalde mensen een allergische reactie op te wekken. Er zijn vele duizenden allergenen bekend. Veel voorkomende allergenen zijn: luchtwegallergenen (huisstofmijt, stuifmeel van bomen en planten, huidschilfers van huisdieren), voedingsmiddelen (koemelk, pinda, kippenei, noten), geneesmiddelen (penicilline), insectengif (bijen, wespen), en allergenen die contact maken met de huid (metalen, conserveringsmiddelen in cosmetica, rubber).

Het afweersysteem is bij allergie in het verleden al eens in contact geweest met een bepaalde stof (het allergeen) en heeft daarop de mogelijkheid ontwikkeld om in het vervolg met ontsteking te reageren, dit proces wordt allergische sensibilisatie genoemd. Wanneer iemand voor een bepaald allergeen is gesensibiliseerd, blijft de mogelijkheid om allergisch te reageren in principe het hele verdere leven bestaan. Bij type I of directe type allergie ontstaan de klachten al snel: enkele minuten tot enkele uren na blootstelling aan het allergeen. Hierbij wordt door het lichaam een bepaald soort antistof gemaakt: IgE. Deze IgE antistoffen zijn in principe specifiek gericht tegen bepaalde allergenen. Contact met voedingsmiddelen waar men allergisch voor is kan in het spijsverteringskanaal voor problemen zorgen. Allereerst kunnen in de mond prikkelsensaties ontstaan en in ernstiger gevallen ook zwelling van de tong en het strottenhoofd. Verderop in het spijsverteringskanaal, in de darmen, kan

diarree een uiting zijn van allergie voor voedingsmiddelen. Soms is maar een zeer kleine hoeveelheid van het allergeen nodig om een reactie op te wekken. Bekende allergenen zijn pinda, noten, vis, schelpdieren en koemelk. Allergische reacties op voedingsmiddelen kunnen zeer ernstig verlopen en leiden tot shock.

De verschijnselen die horen bij een allergie zijn niet alleen afhankelijk van het allergisch mechanisme, maar ook van het type allergeen (stuifmeel, voedsel) en de plaats waar het allergeen het eerst contact maakt met het lichaam (luchtwegen, huid of darmen). Het vertonen van vervelende reacties op voeding noemt men in de volksmond allemaal allergie maar dat is niet zo. Naast voedselallergie bestaat er ook voedselintolerantie en pseudoallergie waarbij de reacties ook snel optreden en sterk op een allergie lijken maar het onderliggende mechanisme anders is.

Behandeling van allergische patiënten is vaak uitsluitend gebaseerd op vermijding van het contact met het (bekende) allergeen of medicamenteuze behandeling van de allergische symptomen. Daarnaast kunnen bekende allergenen die aanwezig zijn in voedingsmiddelen worden uitgeschakeld door ze te verwijderen via (bio)chemische zuivering, voedselprocessing (verhitte, bestraling, ultrasoon geluid, filtratie-technieken), of via genetische veredeling, selectie of modificatie van productiegewassen. Blootstelling aan dergelijke voedingsmiddelen leidt dan tot verminderde allergeniciteit en kan resulteren in het verdwijnen van allergische symptomen of tot verandering in de afweerreactie indien de allergenen toch het afweersysteem weten te bereiken. Als alternatief kan aanpassing van allerlei individuele leefstijlfactoren leiden tot een vermindering van de kans en de ernst van het optreden van allergische symptomen. Een betere kennis van deze processen en hun onderliggende werkingsmechanismen kan leiden tot immunomodulatie waardoor het optreden van allergie op een doeltreffende en persistente wijze kan worden voorkomen.



WAGENINGEN UNIVERSITY

Mechanismen van allergie

Huub F.J. Savelkoul



Allergie Consortium
Wageningen (ACW)



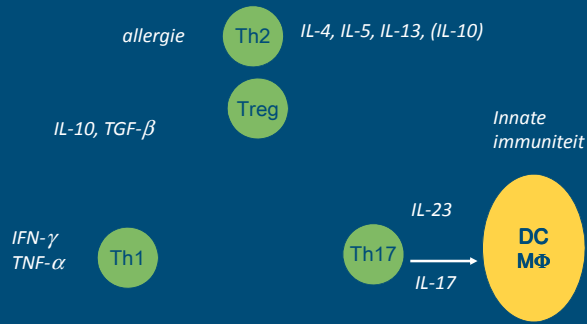
huub.savelkoul@wur.nl

www.cbi.wur.nl

www.allergie.wur.nl

www.allergymatters.org

Cross-talk en regulatie in het immuunsysteem



T-cel subset balans en allergie

Geen ontsteking

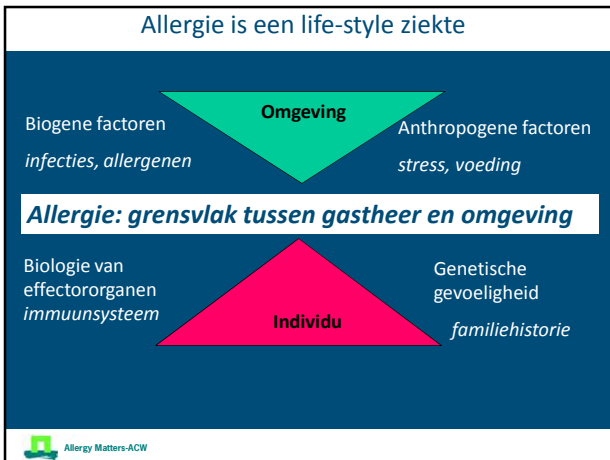
Th2 geen allergie

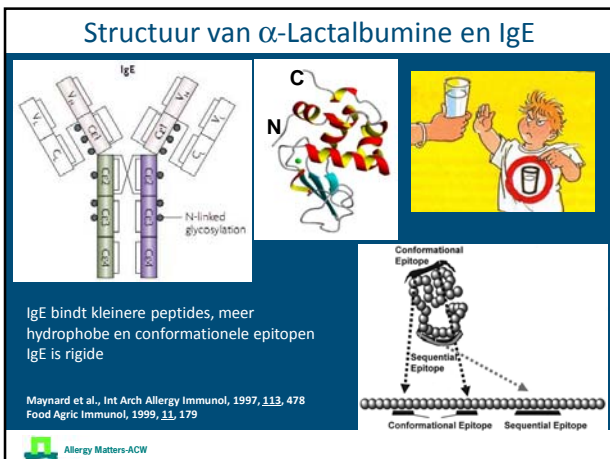
Veel Th2 en weinig Treg en allergische ontsteking

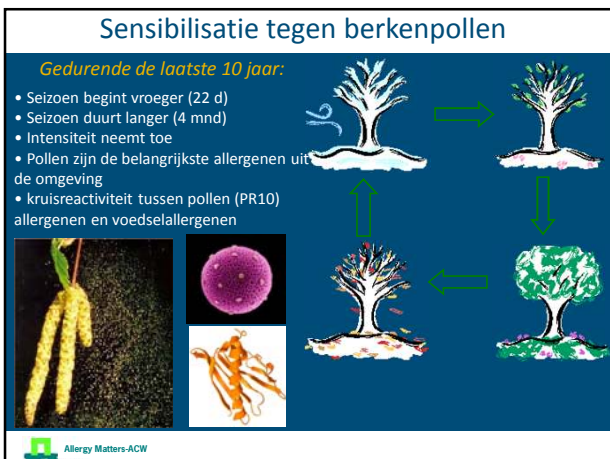
DC

T-cel









IgE kruisreactie tussen diverse allergenen

Berkenpollen Bet v 1 Kers Pru av 1

IgE

Allergy Matters-ACW

Kruisreactiviteit

Respiratoire allergiën kunnen zich ontwikkelen tot voedselallergiën:

Berkenpollen → Groenten en fruit
 Graspollen → Rijst, mais
 Huidschilfers → Melkproducten
 Kakkerlak → Kreeftachtigen

If Allergic to:	Risk of Reaction to at Least One:	Risk:
A legume* peanut	Other legumes soybean, lentil, chickpea	5%
A tree nut walnut	Other tree nuts almond, cashew, hazelnut	37%
A fish* salmon	Other fish cod, haddock, sea bream	50%
A shellfish shrimp	Other shellfish crab, lobster, scallop	75%
A grain* wheat	Other grains barley, rye	20%
Cow's milk* milk	Beef hamburger	10%
Cow's milk* milk	Goat's milk goat	92%
Cow's milk* milk	Mare's milk horse	4%
Pollen* birch	Fruits/vegetables apple, peach, kiwi, banana, honeydew	55%
Peach* peach	Other Rosaceae apple, cherry, pear	55%
Melon* cantaloupe	Other fruits apple, cherry, kiwi, banana	92%
Latex* latex glove	Fruits kiwi, banana, avocado, chestnut, pineapple	35%
Fruits kiwi, banana, avocado	Latex latex glove	11%

Allergy Matters

Onvolledige allergen contactvermijding

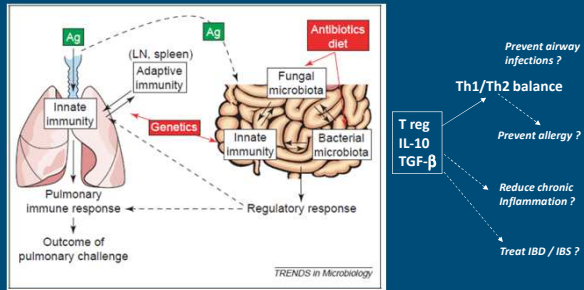
Expositie aan kat allergen

Exposure to cat (µg Fel d 1/g)	Allergie (n)	Expositie (n)
<0.60	3	3
0.70-1.69	8	10
1.70-4.39	13	15
4.40-22.90	10	16
23.00-106.00	10	16
106.00-3840.00	10	23

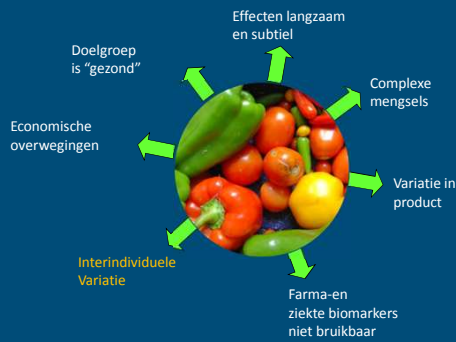
Vermijden contact met katten

Allergy Matters-ACW

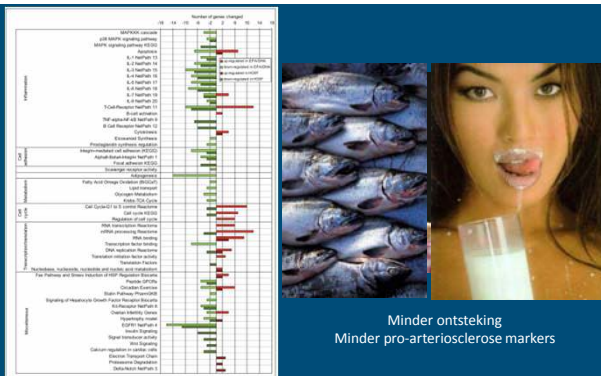
Voeding en immuunreactie



Verandering gezondheid en gedrag via voeding?



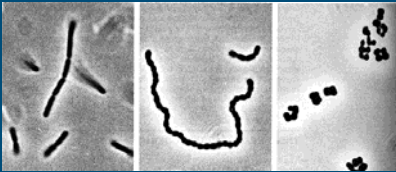
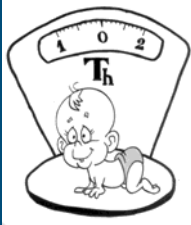
Interventie met visolie geeft "jongere" genexpressie



Bouwens et al. Am J Clin Nutr. 2009

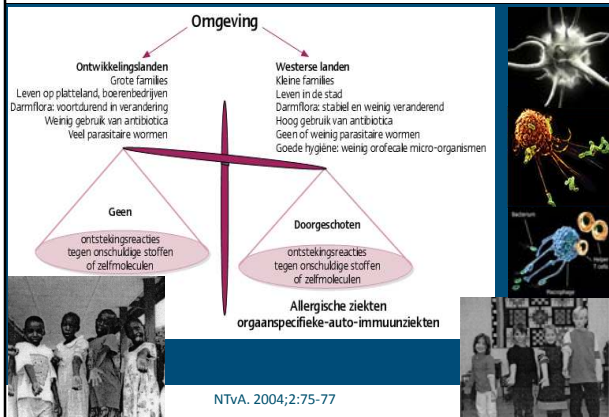
De hygiënehypothese

De afname van infecties tijdens het vroege leven leidt tot veranderingen in de opbouw en activiteit van het immuunsysteem waardoor de kans op het krijgen van allergische ziekten toeneemt.



Allergy Matters-ACW

De hygiëne hypothese



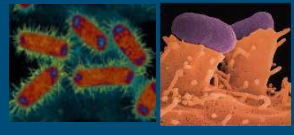
Hygiëne en versterking immuunsysteem

- Opgroeien op een boerderij
- Creche of kinderrijk gezin
- Opgroeien met huisdieren
- Infecties op jonge leeftijd




Allergy Matters-ACW


Infecties en de hygiënehypothese




Mycobacteria, probiotica



Worm infecties



Gezonde darm



Ongezonde darm

Ingestie 2500 levende T. suis ova / 3 wkn gedurende 24 weken (Summers et al., 2003)

Allergy Matters-ACW

Allergie: ontwikkeling en preventie

blootstelling

aan allergeen
stuifmeel
huisstof
voedingselwitten

genetisch ontvankelijkheid

primaire preventie

sensibilisatie

secundaire preventie

Chronische ontsteking in luchtwegen,
huid, spijsverteringskanaal

tertiaire preventie

Symptomen: astma, eczeem,
hooikoorts, voedselallergie

omgevingsfactoren

tabaksrook
luchtverontreiniging
infecties
vaccinaties
voeding
beweging
beroep

vermijding contact

symptombestrijding

verandering levensstijl

Allergy Matters-ACW

Beweging en voeding zijn belangrijk!




Allergy Matters-ACW

GRAZAX

®

Bewezen én blijvend effectief



GRAZAX®

de allergie immunotherapie tablet

Zie voor verkorte productinformatie elders in deze uitgave.

VERKORTE BIJSLUITER GRAZAX®

Farmaceutische vorm en samenstelling: GRAZAX® is een lyophilisaat voor oraal gebruik (een soort smelttablet) voor specifieke immunotherapie en bevat SQ gestandaardiseerd allergeenextract van Timothee graspollen (*Phleum pratense*) in een concentratie van 75.000 SQ-T per tablet. Therapeutische indicatie: Een behandeling met een gunstige invloed op het natuurlijke beloop van door graspollen geïnduceerde rhinitis en conjunctivitis in volwassenen en kinderen (vanaf 5 jaar) met klinisch relevante klachten en een positieve huidpriktest en/of specifieke IgE test op graspollen. Dosering en wijze van toediening: De dagelijkse dosis is één smelttablet die onder de tong wordt geplaatst. Niet slikken gedurende de eerste minuut. Het wordt aanbevolen om de eerste inname onder medisch toezicht in te nemen. Start de behandeling minstens 2 maanden voor het begin van het graspollenseizoen en ga door gedurende het jaar. Het wordt aanbevolen om elke dag GRAZAX in te nemen gedurende 3 jaar. Behandeling met GRAZAX dient te beginnen bij artsen die ervaring hebben met behandeling van allergische aandoeningen en in staat zijn allergische reacties te behandelen. Klinische effect: Dagelijkse behandeling met GRAZAX in volwassenen resulteert in een statistisch significant effect voor elk van de gemeten rhinoconjunctivitis klachten. Een gunstige invloed op het natuurlijke beloop is aangetoond door een aanhoudend effect na het afronden van de behandeling (effect is aangetoond in het eerstvolgende jaar). Er zijn geen studiegegevens beschikbaar van behandeling bij kinderen langer dan één graspollenseizoen. Contra-indicaties: Overgevoeligheid voor hulpstoffen, kwaadaardige of systemische aandoeningen die het immuunsysteem beïnvloeden, ontstekingen in de mondholte met ernstige klachten en patiënten met ongecontroleerd of ernstig astma. Bijzondere waarschuwingen en voorzorgen bij gebruik: Chirurgische ingrepen in de mond, het wisselen van het melkgebit bij kinderen, verslechtering van astma, bij kinderen met astma en een infectie van de bovenste luchtwegen. Bij patiënten die in het verleden een systemische reactie kregen op subcutane immunotherapie met graspollen, kan het risico op het optreden van een ernstige reactie met GRAZAX verhoogd zijn. Interacties met andere geneesmiddelen en andere vormen van interactie: Gelijktijdige behandeling met symptomatische anti-allergische medicatie (bijv. antihistaminica, corticosteroïden en mestcel-stabilatoren) kan de tolerantiegrens van de immunotherapie verhogen. Zwangerschap en borstvoeding: Geen klinische ervaring. Dierstudies duiden niet op een verhoogd risico. Behandeling dient niet te worden gestart tijdens de zwangerschap. Bijwerkingen: Vaak voorkomende bijwerkingen zijn milde tot matige locale allergische reacties. In studies meldde 70% van de patiënten een bijwerking in het eerste behandeljaar. Dit aantal nam aanzienlijk af in het tweede jaar bij continue behandeling. Bij de meeste patiënten beginnen de reacties bij de start van de therapie, duren enkele minuten tot uren en worden vanzelf minder binnen 1 tot 7 dagen. Indien de patiënt duidelijke bijwerkingen heeft dient anti-allergische medicatie te worden overwogen. In geval van ernstige systemische reacties zoals, angio-oedeem, problemen met slikken problemen met ademen, verandering van stem, of een vol gevoel in de keel of verslechtering van astma dient men onmiddellijk een arts te raadplegen. Bij kinderen en jongeren is het bijwerkingenprofiel vergelijkbaar met dat bij volwassenen, waarbij infecties van de bovenste luchtwegen, buikpijn en braken vaker bij kinderen werden gemeld dan bij volwassenen. Overdosering: Doseringen tot 1.000.000 SQ-T werden goed verdragen bij volwassenen. Bij kinderen zijn geen gegevens beschikbaar over blootstelling aan een dosering boven de aanbevolen dagelijkse dosis van 75.000 SQ-T. Hulpstoffen: Gelatine (afkomstig van vissen), mannitol, natriumhydroxide. Houdbaarheid: 4 jaar. Inhoud van de verpakking: Aluminium blisterkaarten met 100 tabletten. Registratiehouder: ALK-Abelló A/S Denemarken. RVG nummer: 33788 Datum: Mei 2011. Uitgebreide product informatie; Voor de volledige informatie (SmPC) en literatuurservice: ALK-Abelló BV, Postbus 60022, 1320 AA Almere, tel 036 – 539 78 40



Postbus 60022
1320 AA Almere
T 036 539 78 40
F 036 539 78 41
www.alk-abello.nl
www.grazax.nl



WAARDE VAN IgE-DIAGNOSTIEK BIJ VERDENKING VOEDSELALLERGIE

Y.M. Vissers, onderzoeker Immunologie

Het aantonen van specifiek IgE (sensibilisatieonderzoek) wordt vaak uitgevoerd met totale extracten van een bepaald voedingsmiddel. Deze extracten kunnen componenten bevatten die wel IgE kunnen binden maar geen klinische relevantie hebben wat in de praktijk vaak leidt tot asymptomatische sensibilisatie. Component-resolved diagnostics (CRD), waarbij IgE-antistoffen tegen specifieke allergenen uit voedingsmiddelen wordt bepaald, kan daarom helpen bij het vaststellen van een diagnose bij verdenking op een allergie. Voor een goede interpretatie van de gemeten IgE-waarden is het van belang dat de medicus basiskennis heeft over allergene componenten en van de klinische implicatie van een positieve IgE-test. Ook bij CRD is het nog steeds belangrijk te realiseren dat sensibilisatie niet altijd leidt tot een klinische allergie.

Als eerste zal kort de doelmatigheid van de Phadiatop® Infant screening (panel A en B) voor kinderen tot 4 jaar worden besproken, aan de hand van resultaten uit een onderzoek waarbij alle 1^e en 2^e lijns screeningsaanvragen en specifieke IgE testen die aangevraagd werden gedurende 1 jaar, werden geanalyseerd. Het invoegen van extra voedingsallergenen in de screeningstesten voor deze leeftijd bleek van weinig aanvullende klinische waarde maar wel naar schatting kostenverhogend.

Recent is gebleken dat IgE analyse van specifieke pinda allergenen (o.a. Ara h 2) kan helpen bij het vaststellen van een klinisch relevante pinda allergie. Toch zijn er ook een aantal tekortkomingen aan de CRD. Vaak worden recombinante allergenen gebruikt met als gevolg dat de aanwezigheid van specifiek IgE wordt bepaald tegen 1 isovorm van het natieve, onbehandelde eiwit. Dit terwijl natieve eiwitten vaak bestaan uit een mix van isovormen en dat voedingsmiddelen, bijvoorbeeld pinda's, vaak worden gegeten na een thermische behandeling (bijv. koken en roosteren). Deze behandeling kan de eiwitstructuur en daarbij de immuunreactiviteit en allergeniciteit veranderen. In deze presentatie zal verder

worden ingegaan op het effect van behandeling op de allergeniciteit van pinda eiwitten. Belangrijke bevindingen waren dat thermische behandeling van eiwitten belangrijke eiwit-specifieke effecten kan hebben op zowel de structuur als de allergeniciteit van relevante allergenen. Daarnaast bleek uit onderzoek dat om de allergeniciteit van eiwitten te kunnen testen het niet voldoende is om alleen IgE-bindingstesten te gebruiken. Ook basofiele histamine degranulatie testen zijn hierbij van groot belang. Deze resultaten kunnen gevolgen hebben voor het stellen van een goede diagnose van voedselallergie in de dagelijkse praktijk.

Als laatste zal een onderzoek worden besproken waarbij is gekeken naar CRD in volwassen pinda- en soja-allergische patiënten. Uit dit onderzoek bleek dat het soja-allergeen Gly m 4 (Bet v 1 homoloog) een belangrijke indicator was voor ernstige soja-allergie in de soja-allergische patiënten. Dit terwijl allergeenspecifiek IgE tegen het soja extract in deze patiënten meestal negatief was. Het merendeel van de pinda-allergische patiënten die klinisch niet allergisch voor soja bleken te zijn, werd serologisch positief getest voor het soja-extract en voor allergenen uit een soja- of erwtenextract. Klinisch niet-relevante kruisreactiviteit tussen pinda-specifiek IgE en homologe soja- en erwtcomponenten kunnen dit verschijnsel verklaren en voorzichtigheid is geboden bij de interpretatie van deze IgE-testen.

ALLERGIEDIAGNOSTIEK MET COMPONENTEN: TOEPASSING VAN DE ALLERGENCHIP

E.F. Knol, senior onderzoeker/docent

Via de beschikbaarheid van gezuiverde of recombinante allergenen is de diagnostiek van allergische aandoeningen uitgebreid met de mogelijkheid voor analyse van individuele allergenen in plaats van allergeen extracten. Dit wordt “component-resolved diagnostics” (CRD) genoemd. Voor verschillende allergenen is het duidelijk dat de analyse van IgE binding aan allergene eiwitten een betere voorspelbare waarde heeft dan IgE binding aan het ruwe extract. Daarnaast is gebleken dat IgE binding aan bepaalde allergenen een voorspeller is voor de ernst van de allergische aandoening. Zo is voor appel gebleken dat reactiviteit tegen Mal d 3 en Mal d 4 meer gecorreleerd is aan een ernstige allergische reactie in tegenstelling tot reactiviteit tegen Mal d 1, dat meer gerelateerd is aan mildere, lokale klachten. Aan de andere kant is het met deze techniek beter te bepalen of kruisreactiviteit onderliggend is aan fout-positieve IgE uitslagen. Zo blijkt het berkenpollenallergeen Bet v 1, bijvoorbeeld door vergelijkbare structuur met het appelallergeen Mal d 1 of zelfs het pindaallergeen Ara h 8, een fout-positieve uitslag te geven voor respectievelijk appel- of pinda-allergie bij berkenpollen allergische patiënten.

In diverse testsystemen blijkt de toepassing van individuele allergene eiwitten een meerwaarde te hebben. In huidpriktesten is gebleken dat de pinda-allergenen Ara h 2 en Ara h 6 door meer pinda-allergische patiënten worden herkend dan Ara h 1 en Ara h 3 en tevens bij een positieve reactie tot een grotere huidreactie leiden. In de basofielactivatietest blijkt bij pinda-allergische patiënten dat Ara h 2 en Ara h 6 bij veel lagere concentraties degranulatie induceren. In de ImmunoCAP heeft IgE binding aan de latex allergenen Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5 en/of Hev b 6.02, maar niet Hev b 8 een hoge voorspelbare waarde in vergelijking met latexextract.

Hoewel de CRD op vele niveaus een betere voorspeller voor klinisch relevante responsen lijkt ontstaat er een praktisch probleem omdat nu enkele testen met extracten worden vervangen door relatief grote aantallen analyses. Zo zijn in pinda reeds 10 allergene eiwitten beschreven, waarvan Ara h 1, Ara h 2, Ara h

3, Ara h 6, Ara h 8 en Ara h 9 beschikbaar zijn voor diagnostische testen. Om de grotere hoeveelheid individuele testen en daaraan gekoppelde grotere bloedvolumes te beperken is er de mogelijkheid om middels multiplex microarray analyse IgE binding aan een grote range van allergenen te bepalen. In de huidige versie van de techniek (al langer bekend uit de gene array analyses, waarbij op 1 chip > 20.000 genen kunnen worden geanalyseerd) kan de IgE binding aan ruim 100 verschillende allergene eiwitten worden bepaald uitgaande van 20 – 30 µl bloed. Dit kleine volume maakt het mogelijk dat ook in bloed van zeer jonge kinderen de IgE binding aan een groot allergeenpanel kan worden bepaald. Hierdoor kunnen ook bijvoorbeeld groepen kruisreagerende allergenen, zoals de PR-10 (berkenpollen Bet v 1) familie worden herkend.

Naast de nieuwe mogelijkheden van deze allergeenchip zijn er ook enkele nadelen. Zo is de veel kleinere hoeveelheid allergeen per spot (1.000-10.000 x minder dan op ImmunoCAP) beperkend in de binding van IgE. Wat dit betekent in de praktijk is nog niet helemaal duidelijk. Enerzijds kunnen lage concentraties IgE worden gemist, anderzijds zou juist de relatieve ongevoeligheid kunnen leiden tot klinisch relevante resultaten bij het vervolgen van immunotherapie met allergenen. Een ander nadeel van de chip is dat slechts een selectie van allergenen beschikbaar is. Op dit moment lijkt het grootste nadeel van de allergeenchip echter vooral de enorme hoeveelheid uitslagen die met 1 druppel bloed wordt gegenereerd. De klinische relevantie van de IgE binding van meer dan 100 allergenen dient per patiënt te worden geanalyseerd. In de toekomst zal de resultaatverwerking van de individuele uitslagen per patiënt mogelijk via clusteranalyse gebeuren zodat per patiënt een individueel allergeenprofiel kan worden opgesteld.

Het moge duidelijk zijn dat de analyse van individuele allergenen middels array techniek veel mogelijkheden biedt. Op dit moment is het echter nog niet duidelijk wat de plaats van de allergeenchip in de allergiediagnostiek moet zijn.

IgE to peanut allergen components: relation to peanut symptoms and pollen sensitization in 8-year-olds

A. Asarnej^{1,2,*}, R. Movérare^{3,4,*}, E. Östblom^{5,6,7}, M. Poorafshar³, G. Lilja⁵, G. Hedlin^{2,6}, M. van Hage⁸, S. Ahlstedt^{1,6} & M. Wickman^{1,5,6}

¹National Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; ²Department of Paediatrics, Astrid Lindgren's Children's Hospital, Stockholm, Sweden; ³Phadia AB, Uppsala, Sweden; ⁴Department of Medical Sciences, Respiratory Medicine and Allergology, Uppsala University, Uppsala, Sweden; ⁵Department of Paediatrics, Sachs' Children's Hospital, Stockholm, Sweden; ⁶Centre for Allergy Research, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; ⁷Department of Clinical Science and Education, Södersjukhuset, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; ⁸Department of Medicine, Clinical Immunology and Allergy Unit, Karolinska Institutet and University Hospital, Stockholm, Sweden

To cite this article: Asarnej A, Movérare R, Östblom E, Poorafshar M, Lilja G, Hedlin G, van Hage M, Ahlstedt S, Wickman M. IgE to peanut allergen components: relation to peanut symptoms and pollen sensitization in 8-year-olds. *Allergy* 2010; **65**: 1189–1195.

Keywords

allergen components; BAMSE; childhood; IgE; peanut.

Correspondence

Anna Asarnej, MD, National Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, SE-171 77 Stockholm, Sweden.
Tel.: +46 733 200121
Fax: +46 830 4571
E-mail: anna.asarnej@ki.se

*Sharing first authorship.

Accepted for publication 28 December 2009

DOI:10.1111/j.1398-9995.2010.02334.x

Edited by: Bodo Niggemann

Abstract

Background: Allergen-specific IgE testing is often performed with crude peanut extract, but the results may be difficult to interpret because of cross-reactions between peanut and other plant allergens. The aim was to investigate IgE reactivity to peanut allergen components in children from a birch-rich region in relation to pollen sensitization and peanut symptoms.

Methods: From a birth cohort, clinical parameters were obtained through questionnaires and IgE antibody levels to peanut and birch pollen were measured. Different peanut/birch sensitization phenotypes were defined among 200 selected children. IgE reactivity to peanut and pollen allergen components was analysed using microarray technique.

Results: Peanut symptoms were reported in 87% of the children with IgE reactivity to any of the peanut allergens Ara h 1, 2 or 3 but not to Ara h 8 ($n = 46$) vs 17% of children with IgE reactivity to Ara h 8 but not to Ara h 1, 2 or 3 ($n = 23$), $P < 0.001$. Furthermore, symptoms were more severe in children with Ara h 1, 2 or 3 reactivity. Children with IgE reactivity both to Ara h 2 and to Ara h 1 or 3 more often reported peanut symptoms than children with IgE only to Ara h 2 (97% vs 70%, $P = 0.016$), particularly respiratory symptoms (50% vs 9%, $P = 0.002$).

Conclusions: IgE analysis to peanut allergen components may be used to distinguish between peanut-sensitized individuals at risk of severe symptoms and those likely to have milder or no symptoms to peanut if sensitized to pollen allergens and their peanut homologue allergens.

Peanut allergy has a prevalence between 0.6% and 1.8% (1, 2); it can be fatal (3–5) and is rarely outgrown (6). Therefore, the condition is not merely a diagnostic and therapeutic issue, but is also associated with decreased quality of life (7). However, many people who exhibit IgE antibodies to peanut report no symptoms at exposure (8). When such individuals are tested for peanut sensitization as part of a routine work

up for other underlying allergic diseases, the presence of peanut-specific IgE antibodies may be confusing. Recently, we showed that Swedish children at school age with concomitant peanut and birch pollen sensitization reported fewer symptoms to peanuts than children with sensitization to peanut only (9). Peanut sensitization without associated symptoms has recently been observed among grass-sensitized individuals (10). We, therefore, wondered if this could be explained by differences in IgE reactivity to peanut allergen components within different groups of peanut-sensitized children.

The major peanut allergens Ara h 1, Ara h 2 and Ara h 3 are proteins considered responsible for the original sensitiza-

Abbreviations

CCD, Cross-reactive carbohydrate determinant; CI, Confidence interval; IgE, Immunoglobulin E; LTP, Lipid transfer protein; SDS-PAGE, Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis.

tion to peanut in susceptible individuals (11). Ara h 2 is considered the most clinically important peanut allergen (12–15). Other peanut allergens show extensive IgE cross-reactivity between homologous allergens from various sources. Ara h 8 is homologous to the major birch pollen allergen Bet v 1 and may contribute substantially to birch pollen–peanut cross-reactivity (16). The profilins, exemplified by Ara h 5, are often involved in extensive IgE antibody cross-reactivity between various pollens and plant-derived foods (17, 18). Recently, a role for carbohydrate cross-reactive determinant (CCD) in the cross-reactivity between grass pollen and peanut has been implicated (10). Furthermore, IgE cross-reactivity between lipid transfer proteins (LTPs) in plant-derived foods (e.g. Ara h 9 in peanut and Pru p 3 in peach) has been reported (19).

The aim of this study was to investigate the IgE reactivity to different peanut, birch and grass pollen allergen components and CCD, in relation to symptoms to peanut in children from a Swedish birth cohort (BAMSE) at 8 years of age.

Methods

Study subjects

We included 4089 children (75% of the original target population) born 1994–1996 in Stockholm, Sweden, at birth in an unselected population-based birth cohort (the BAMSE cohort). Study design, enrolment, criteria for inclusion and procedures for data collection have been described elsewhere (20). Blood was drawn from 2480 of the children at 8 years of age. With a nested study design, two-hundred children representing four different patterns of sensitization to peanut and birch pollen were randomly selected to participate in the present study and were allocated into four equally sized groups: group A consisted of 50 of 52 children sensitized to peanut, but not to birch pollen; group B consisted of 50 of 141 children sensitized to both peanut and birch pollen; group C consisted of 50 of 237 children sensitized to birch pollen but not to peanut. Finally, group D consisted of 50 of 2012 children without sensitization to either peanut or birch pollen.

Symptoms of asthma, rhinitis and eczema used in the BAMSE cohort have been defined elsewhere (21). Data regarding symptoms from peanut were obtained from the questionnaire at 8 years of age prior to blood sampling. Among the 200 children, data on reported peanut symptoms were missing in two children at the 8 year follow-up. Permission for the study was obtained from the Ethics Committee of Karolinska Institutet. The parents of participating children gave informed consent for each follow-up.

Peanut-symptomatic children

Positive answer to the following question in the 8-year-questionnaire regarding the latest 12-month period: 'Is your child allergic to any food item?'. Symptom options were 'nose/eyes symptoms', 'mouth-itching', 'breathing problems', 'vomiting/diarrhoea', 'eczema', 'urticaria'. Reactions to peanut had to be indicated on at least one of these symptoms or reported as 'excluded from the diet during the last 12 months because of

previous symptoms'. Symptoms from nose/eyes or oral cavity were considered as mild symptoms, whereas wheeze or dyspnoea were considered as severe symptoms (22). Gastrointestinal symptoms, eczema and urticaria were not classified according to severity.

Peanut-tolerant children

None of the symptoms mentioned earlier was reported for peanut by the parents when child had been eating peanut or peanut containing products during the last 12 months.

Serological analysis

Serum samples were tested by ImmunoCAP® (Phadia AB, Uppsala, Sweden) for allergen-specific IgE antibodies to common inhalant and food allergens with Phadiatop® and the food mix fx5 test, respectively. Positive samples were further analysed for allergen-specific IgE antibodies to single food and airborne allergens, including peanut, birch and grass pollen, using extract-based ImmunoCAP tests. The measuring range was between 0.35 and 100 kU_A/l. An IgE antibody concentration >100 kU_A/l was given the value of 101 kU_A/l in statistical evaluations.

IgE reactivity to allergen components from peanut (native Ara h 1, Ara h 2 and Ara h 3, and recombinant Ara h 8), birch pollen [recombinant Bet v 1 and Bet v 2 (profilin/Ara h 5 homologue)], timothy pollen [native Phl p 4 and recombinant Phl p 1, Phl p 5 and Phl p 12 (profilin/Ara h 5 homologue)], and peach [recombinant Pru p 3 (LTP/Ara h 9 homologue)], and to carbohydrate cross-reactive determinant (CCD) were measured using an in-house experimental semi-quantitative microarray assay based on a microspot multiplex technique (23). Native Ara h 1, Ara h 2 and Ara h 3 were affinity-purified using in-house developed monoclonal antibodies and were regarded as ~99% pure based on SDS-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometer analysis. All other allergen components including CCD were obtained from Phadia AB. The microarray method has recently been described by Constantin et al. (24). Results were calculated from triplicate spots. Individual cut-off levels for positive IgE antibody response for each allergen were established based on background fluorescence from negative samples spiked with up to 3000 kU/l of myeloma IgE (two times the mean background fluorescence with 3 standard deviations) and ranged between 400 and 600 FU. An IgE response higher than 5000 FU was regarded as a strong response.

Statistics

Prevalence is given in total numbers and/or in percentage. Binominal exact probability was used for calculation of 95% confidence interval (95% CI) of categorical data. Background factors which may influence the development of allergen-specific IgE antibodies to peanut or birch pollen were tested to detect differences among children in this study and children in the cohort. Levels of allergen-specific IgE antibodies are expressed as geometric mean and 95% CI. Fisher's exact test (two-tailed) was used for pairwise comparison of

categorical data between groups. Spearman's rank correlation test was used to establish the strength of relationship between specific IgE antibody responses in the microarray. *P*-values < 0.05 were considered significant.

Results

Comparison of children in this study compared to the study base of 4089 children

Children in the four study groups did not differ significantly in sex, parental allergy or prevalence of asthma, eczema, rhinitis or in levels of specific IgE (assessed using Phadiatop and fx5 test) at 8 years of age compared to remaining children with equal peanut- and birch sensitization of the study base or in important background factors of the whole cohort of 4089 children (data not shown).

Allergic sensitization within the 4 groups in relation to peanut allergen components

The four groups (A–D) differed substantially regarding the IgE reactivity to Ara h 1, 2, 3 and 8, CCD and profilin (Table 1). IgE reactivity to Ara h 1, 2 and 3 was most common in group A consisting of children sensitized to peanut but not to birch pollen. No child in group A had IgE reactivity to Ara h 8. IgE antibodies to Ara h 8 were common in children sensitized to birch pollen (group B and C; 38% and 22%, respectively). The prevalence of IgE reactivity to CCD was low in all groups, ranging from 0 to 18%. It was most prevalent in group B. Similarly, IgE reactivity to profilin (i.e. Bet v 2 and/or Phl p 12) was seen almost exclusively in group B (12%). None of the children in group A and B had IgE antibodies to LTP, i.e. Pru p 3.

Figure 1 shows IgE reactivity to Ara h 1, 2, 3 and 8, Bet v 1, profilin and CCD in relation to reported symptoms to peanut. No individual had IgE reactivity to Ara h 1 or Ara h 3 without an associated Ara h 2 sensitization. IgE reactivity to the peanut storage proteins (Ara h 1, 2 and 3) was present

only in children sensitized to peanut (group A and B), whereas 11 children in group C (birch pollen sensitized only) had IgE reactivity to Ara h 8. Among the Ara h 8 sensitized children, all but two had low to moderate IgE levels to Ara h 8 (< 5000 FU in the microarray assay). All (100%) sera with IgE reactivity to Ara h 8 also expressed high IgE levels to Bet v 1. Eight of 11 (73%) and 3 of 6 (50%) children with IgE reactivity to CCD and profilin, respectively, were negative for IgE to any of the tested peanut components (Ara h 1, 2, 3 and 8) in group A and B. Having IgE antibodies to CCD was instead strongly associated with IgE reactivity to Phl p 1 and/or Phl p 5 (*P* < 0.001), but not to Bet v 1 (*P* = 0.09).

When the IgE antibody levels to peanut were investigated in relation to individual IgE reactivity to the components, children with reactivity to Ara h 1, 2 or 3 but not to Ara h 8 had significantly higher IgE antibody levels (geometric mean, 95% CI) to peanut (18.9 kU_A/l, 11.5–31.0 kU_A/l, *n* = 46) than children with reactivity to Ara h 8 only (1.0 kU_A/l, 0.60–1.7 kU_A/l, *n* = 23).

Of the 100 peanut-sensitized children (group A and B), 25 were IgE negative to all tested peanut components in the microarray including CCD and profilin. In 17 of these 25 children, the peanut-specific IgE levels were below 1 kU_A/l (Fig. 2). Seven of the negative children had responses to one or more peanut-related components in the microarray just below the cut-off level (data not shown).

Reported symptoms to peanut within the 4 groups and in relation to peanut allergen components

Symptoms to peanut were more common in peanut-sensitized children without concomitant birch pollen sensitization (group A: 74%, 95% CI 60–85%) than in children sensitized to both peanut and birch pollen: (group B: 43%, 95% CI 29–58%). In birch pollen-sensitized children without sensitization to peanut, reported symptoms to peanut was less common (group C: 8%, 95% CI 2–20%). None of the children

Table 1 IgE reactivity to individual allergens and CCD in 8-year-old children with or without peanut and/or birch sensitization. Data shown as numbers and percentage with binominal exact 95% CI

Group	A* (N = 50)		B* (N = 50)		C* (N = 50)		D* (N = 50)	
	<i>n</i>	% (95% CI)	<i>n</i>	% (95% CI)	<i>n</i>	% (95% CI)	<i>n</i>	% (95% CI)
Peanut	50	100	50	100	0	0	0	0
Birch pollen	0	0	50	100	50	100	0	0
Ara h 1	25	50 (36–64)	4	8 (2–19)	0	0	0	0
Ara h 2	35	70 (55–82)	18	36 (23–51)	0	0	0	0
Ara h 3	21	42 (28–57)	4	8 (2–19)	0	0	0	0
Ara h 8	0	0	19	38 (25–53)	11	22 (12–36)	0	0
Bet v 1	0	0	47	94 (83–99)	43	86 (73–94)	1	2 (0–11)
Profilin†	0	0	6	12 (5–24)	1	2 (0–11)	0	0
CCD	2	4 (0.5–14)	9	18 (9–31)	2	4 (0.5–14)	0	0

*Group A, children sensitized to peanut, but not to birch pollen; Group B, children sensitized to both peanut and birch pollen. Group C, children sensitized to birch pollen but not to peanut; Group D: children without sensitization to either peanut or birch pollen.

†IgE reactivity to Bet v 2 and/or Phl p 12 was regarded as sensitization to profilin.

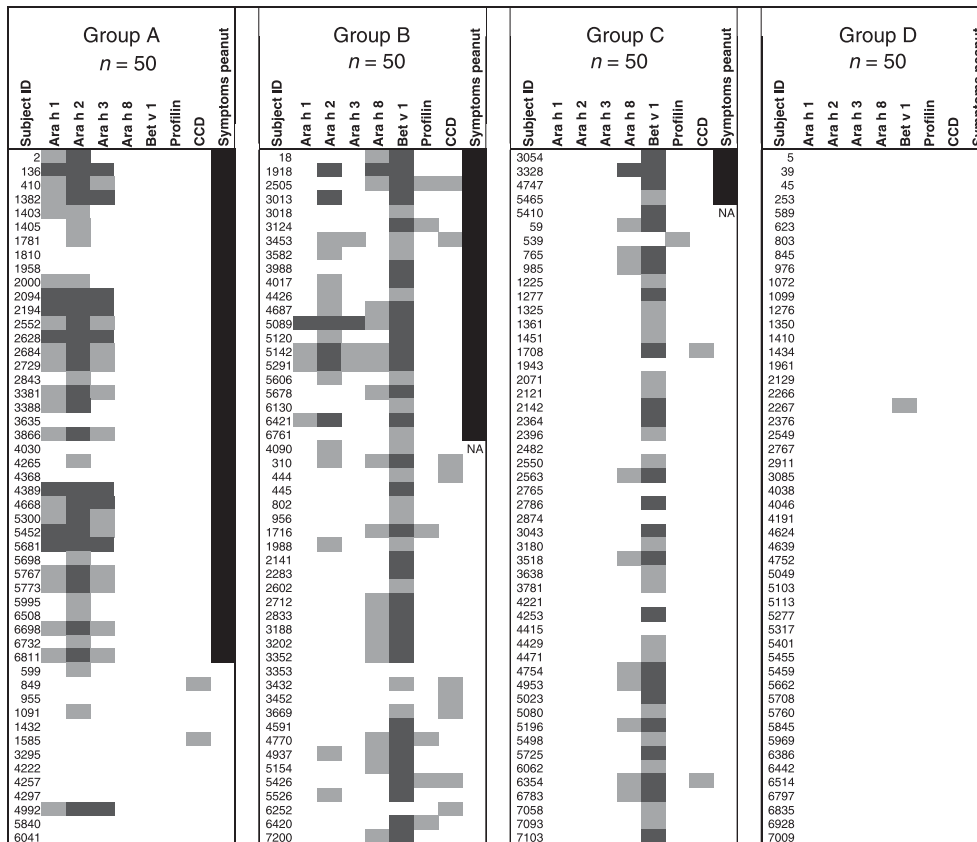


Figure 1 IgE reactivity pattern to individual peanut allergens, Bet v 1, profilin and cross-reactive carbohydrate determinant (CCD) measured in a microarray-based assay. Group A; children sensitized to peanut but not birch pollen, group B; peanut and birch pollen, group C; birch pollen but not peanut, group D; children sensitized

neither to peanut nor to birch pollen. The intensity of the IgE antibody binding is indicated as light grey (medium/low binding) and dark grey squares (high binding, >5000 FU). Subjects with self-reported peanut allergy are marked with a black square in the symptom column. NA, information not available.

sensitized neither to peanut nor to birch pollen (group D) reported symptoms to peanut (Fig. 1).

When children in groups A–D were regrouped according to whether they reported symptoms to peanut, 94% of those reporting peanut allergy, and 30% of the tolerant children, had peanut-specific IgE levels >0.35 kU_A/l (Table 2). IgE reactivity to Ara h 1, 2 and 3 was much more common in children who reported peanut allergy than in tolerant children ($P < 0.0001$). IgE reactivity to Ara h 2 was most common, being found in 73% of the children with reported allergic symptoms to peanut (Table 2). Only seven of the peanut-tolerant children (5%) had IgE antibodies to Ara h 2, all but one with low/moderate IgE reactivity (<5000 FU) (Fig. 1).

Thirty of the 53 Ara h 2-sensitized children had concomitant IgE reactivity to Ara h 1 or 3, and 97% of them reported peanut symptoms. The corresponding symptom prevalence among the 23 children with IgE reactivity only to Ara h 2 was 70% ($P = 0.016$). Respiratory symptoms were reported in 50% and 9% of the cases in the former (53 children) and latter (23 children) group, respectively ($P = 0.002$).

Reported current symptoms to peanut, i.e. symptoms during the last 12 months, were investigated among the 46 children with IgE reactivity to Ara h 1, 2 or 3 but not Ara h 8 and the 23 children with IgE reactivity to Ara h 8 only and not to Ara h 1, 2 or 3 (Fig. 3). Eighty-seven per cent of those with Ara h 1, 2 or 3 IgE reactivity reported at least one symptom to peanut, whereas only 18% of those with IgE reactivity to Ara h 8 reported symptoms ($P < 0.001$). It is worth noting the trend towards a similar difference regarding oral cavity symptoms. However, the differences were significant only for upper and lower respiratory symptoms, possibly because of the limited number of children (Fig. 3). Eczema after exposure to peanut was not reported in any of the groups.

IgE reactivity to profilin (Bet v 2 and Phl p 12), any grass pollen allergen (including both major allergen components and whole extract) or CCD was not significantly associated with reported symptoms to peanut (data not shown).

Discussion

In this study of children from a population-based birth cohort, we found that 83% of those with IgE reactivity to

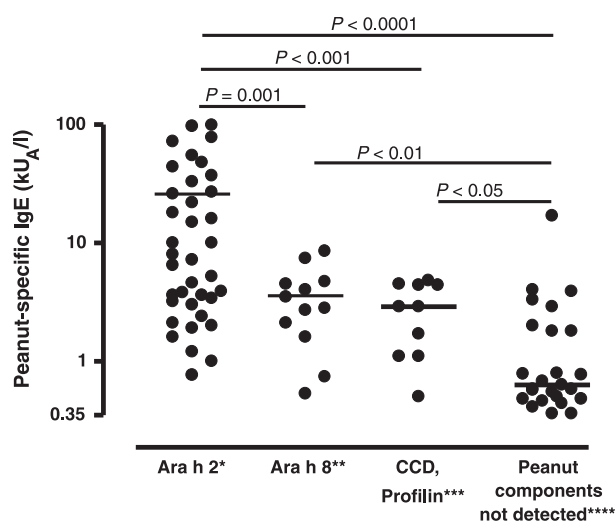


Figure 2 Peanut-specific IgE concentrations in all 100 sensitized children (i.e. group A and B) based on their IgE reactivity to allergen components: *Ara h 2 (including Ara h 1 and 3, $n = 53$), **Ara h 8 (and negative for IgE reactivity to Ara h 1, 2 and 3, $n = 12$), ***CCD or profilin (and negative for IgE reactivity to Ara h 1, 2, 3 and 8, $n = 10$) or to ****unknown peanut allergen component ($n = 25$).

the peanut storage protein Ara h 2 also reported allergic symptoms to peanut, whereas only 18% of children with IgE reactivity exclusively to Ara h 8 reported symptoms. Furthermore, the symptoms of the latter group were considerably milder. Interestingly, IgE reactivity to Ara h 1 or Ara h 3 was always combined with IgE reactivity to Ara h 2, and was associated with reported peanut allergy in more than 95% of the children. Half of the children with reactivity to both Ara h 2 and Ara h 1 or 3 reported respiratory symptoms after exposure to peanut.

Specific IgE antibodies can be induced directly by allergens in food and often cause more severe reactions than cross-reacting IgE antibodies induced by pollen allergens (25, 26).

Table 2 Sensitization to allergen extracts, individual allergen components and CCD in 198* out of 200 8-year-olds reporting or not reporting symptoms on exposure to peanut. Data shown as numbers and percentage with binominal exact 95% CI

Reported symptoms to peanut	Yes ($N = 62$)		No ($N = 136$)		<i>P</i> -value
	<i>N</i>	% (95% CI)	<i>n</i>	% (95% CI)	
Peanut	58	94 (84–98)	41	30 (23–39)	<0.0001
Birch pollen	25	40 (28–54)	73	54 (45–62)	0.093
Ara h 1	28	45 (32–58)	1	1 (0–4)	<0.0001
Ara h 2	45	73 (60–83)	7	5 (2–10)	<0.0001
Ara h 3	24	39 (27–52)	1	1 (0–4)	<0.0001
Ara h 8	9	15 (7–26)	21	15 (10–23)	1.0
Bet v 1	25	40 (28–54)	64	47 (38–56)	0.44
Profilin†	2	3 (0.4–11)	5	4 (1–8)	1.0
CCD	2	3 (0.4–11)	11	8 (4–14)	0.35

P-values indicate significant differences between the groups (Fisher's exact test).

*For two children, data on symptoms to peanut were missing.

†IgE reactivity to Bet v 2 and/or Phl p 12 was regarded as sensitization to profilin.

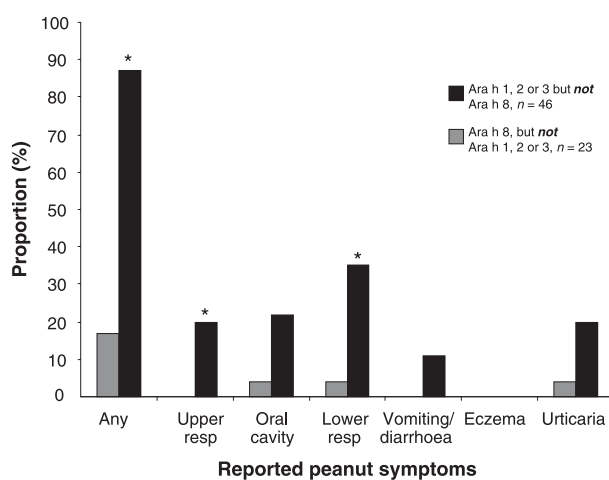


Figure 3 Parental reported symptoms to peanut during the last 12 months among children sensitized either to at least one of Ara h 1, 2 or 3 ($n = 46$, black bars) or to Ara h 8 ($n = 23$, grey bars).

The major allergens Ara h 1, Ara h 2 and Ara h 3 are considered as more clinically relevant peanut allergens. They are highly resistant to heating (roasting) and enzymatic degradation and are therefore potentially dangerous allergens (27–29). Previous studies report a prevalence of IgE reactivity to Ara h 2 in allergic individuals of about 80–100% (12–15). In our nested study, the prevalence was 73%. The slightly lower prevalence might be explained by differences in age but is most likely because of the selection of study subjects. The children in the BAMSE cohort were recruited shortly after birth on a population basis, whereas the subjects from the other studies were all recruited from clinics (12, 14, 15).

IgE reactivity to Ara h 8, on the other hand, was only seen among children sensitized to birch pollen, and almost exclusively in sera with strong IgE response to the major birch pollen allergen Bet v 1. Furthermore, a number of birch pollen-sensitized children in group C had IgE reactivity to Ara h 8 without positive results to peanut in ImmunoCAP,

reflecting the fact that peanut extract usually contains low amounts of Ara h 8 (16). The lack of correlation in our study between IgE reactivity to the birch pollen-related Ara h 8 and reported symptoms to peanut, is in accordance with the finding that co-sensitization to birch pollen and peanut less often is associated with peanut allergy than sensitization to peanut only (9). Our results are in line with previous findings that co-sensitization to peanut and timothy grass is related to milder, if any, clinical symptoms to peanut (30). A speculative explanation for the low prevalence of symptoms to peanut among children mono-sensitized to Ara h 8 is that most IgE-binding epitopes on Ara h 8 are destroyed during the roasting process or by gastric digestion (16).

Ten peanut-sensitized children without IgE antibodies to any of Ara h 1, 2, 3 or 8 had IgE antibodies to CCD and/or profilin, indicating a role for these two highly cross-reactive components in peanut sensitization. However, only one of these ten children reported any symptoms to peanut. Our results agree with another study showing a role for CCD in grass pollen-allergic patients with positive test results to peanut (10).

In our material, we did not find any IgE reactivity to Pru p 3, probably because all the children had lived in Sweden since birth. To measure IgE reactivity to Ara h 9 might have been more appropriate in our study, even if IgE reactivity to LTP is more common in the Mediterranean area (31, 32).

Twenty-five of the 100 peanut-sensitized 8-year-old children (defined as having a peanut-specific IgE level above 0.35 kU_A/l) did not show IgE reactivity above the microarray cut-off to any peanut-related component in our study. However, only eight of them exhibited IgE levels to peanut above 1 kU_A/l in ImmunoCAP, and only nine reported symptoms to peanut, generally mild ones. A possible explanation is that they might have IgE antibodies to other relevant peanut allergens not present on the microarray, i.e. the 2S albumins Ara h 6 and Ara h 7 (18), or peanut oleosin (33). Furthermore, the detection limit of the microarray might not have been low enough to identify all peanut-specific IgE antibodies at concentrations close to the ImmunoCAP cut-off at 0.35 kU_A/l. This bias in our material would only tend to dilute our results, not the opposite.

As we have only studied 8-year-old children, we cannot exclude the possibility that our results would have been slightly different if other age groups had been included. In two smaller studies of selected patients between 3–20 years, the importance of IgE to Ara h 1, 2 and 3 has been demon-

strated (13, 14). However, our study is the first investigation of IgE reactivity to peanut components in relation to symptoms and birch pollen sensitization in a population-based cohort from a birch-tree-rich region employing a nested design, i.e. with randomly selected children within a cohort. As our results are in agreement with the ones by Flinterman et al. and Astier et al. on IgE reactivity to Ara h 1, 2 and 3 these results are likely to be significant and transferable to the population of children at school age.

One weakness of this study is that no oral challenges were performed to verify clinical allergy and types of symptoms. However, it is worth noting that the likelihood of reported symptoms to peanut in relation to quantitative IgE levels to peanut in our BAMSE cohort closely resembles the pattern seen in children whose peanut allergy has been confirmed by oral challenge (9, 13, 14, 34). As over-reporting of peanut symptoms is the most likely potential error (35), we suggest that the parental reported peanut 'tolerant' children, i.e. no report of symptoms to peanut among children who eat peanut, really are tolerant. A strength in this context is that symptoms were reported prior to blood sampling and analysis of peanut-specific IgE as well as IgE to peanut allergen components.

In conclusion, we consider the use of native and recombinant allergen components as a major step forward in the diagnosis of IgE-mediated diseases and in the study of the mechanisms behind allergy. Knowledge about component-specific IgE profiles in peanut-sensitized individuals, in particular when pollen sensitized, can provide a tool to distinguish clinically relevant and potentially dangerous peanut allergy from peanut sensitization without clinical relevance. It remains to be seen whether this will reduce the need for oral peanut challenges.

Acknowledgments

We thank all the participating families and all the staff working within the BAMSE project as well as laboratory collaborators at Phadia AB.

Sources of funding

Supported by the Swedish Asthma and Allergy Foundation, the Swedish Heart and Lung Foundation, the Vardal Foundation for Health Care Sciences and Allergy Research, Stockholm County Council, The Swedish Research Council, Sweden.

References

- Hourihane JO, Aiken R, Briggs R, Gudgeon LA, Grimshaw KE, DunnGalvin A et al. The impact of government advice to pregnant mothers regarding peanut avoidance on the prevalence of peanut allergy in United Kingdom children at school entry. *J Allergy Clin Immunol* 2007;**119**:1197–1202.
- Sicherer SH, Munoz-Furlong A, Burks AW, Sampson HA. Prevalence of peanut and tree nut allergy in the US determined by a random digit dial telephone survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999;**103**:559–562.
- Bock SA, Munoz-Furlong A, Sampson HA. Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001–2006. *J Allergy Clin Immunol* 2007;**119**:1016–1018.
- Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Flabbee J, Beaudouin E, Kanny G. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy* 2005;**60**:443–451.
- Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N Engl J Med* 1992;**327**:380–384.
- Wood RA. The natural history of food allergy. *Pediatrics* 2003;**111**(6 Pt 3):1631–1637.
- Ostblom E, Egmar AC, Gardulf A, Lilja G, Wickman M. The impact of food hypersensitivity reported in 9-year-old children by

- their parents on health-related quality of life. *Allergy* 2008;**63**:211–218.
8. Ostblom E, Lilja G, Ahlstedt S, van Hage M, Wickman M. Patterns of quantitative food-specific IgE-antibodies and reported food hypersensitivity in 4-year-old children. *Allergy* 2008;**63**:418–424.
 9. Asarnej A, Ostblom E, Ahlstedt S, Hedlin G, Lilja G, van Hage M et al. Reported symptoms to peanut between 4 and 8 years among children sensitized to peanut and birch pollen - results from the BAMSE birth cohort. *Allergy* 2010;**65**:213–219.
 10. Guilloux L, Morisset M, Codreanu F, Parisot L, Moneret-Vautrin DA. Peanut allergy diagnosis in the context of grass pollen sensitization for 125 patients: roles of peanut and cross-reactive carbohydrate determinants specific IgE. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;**149**:91–97.
 11. Burks W, Sampson HA, Bannon GA. Peanut allergens. *Allergy* 1998;**53**:725–730.
 12. Bernard H, Paty E, Mondoulet L, Burks AW, Bannon GA, Wal JM et al. Serological characteristics of peanut allergy in children. *Allergy* 2003;**58**:1285–1292.
 13. Astier C, Morisset M, Roitel O, Codreanu F, Jacquenet S, Franck P et al. Predictive value of skin prick tests using recombinant allergens for diagnosis of peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2006;**118**:250–256.
 14. Flinterman AE, van Hoffen E, den Hartog Jager CF, Koppelman S, Pasmans SG, Hoekstra MO et al. Children with peanut allergy recognize predominantly Ara h2 and Ara h6, which remains stable over time. *Clin Exp Allergy* 2007;**37**:1221–1228.
 15. Koppelman SJ, Wensing M, Ertmann M, Knulst AC, Knol EF. Relevance of Ara h1, Ara h2 and Ara h3 in peanut-allergic patients, as determined by immunoglobulin E Western blotting, basophil-histamine release and intracutaneous testing: Ara h2 is the most important peanut allergen. *Clin Exp Allergy* 2004;**34**:583–590.
 16. Mittag D, Akkerdaas J, Ballmer-Weber BK, Vogel L, Wensing M, Becker WM et al. Ara h 8, a Bet v 1-homologous allergen from peanut, is a major allergen in patients with combined birch pollen and peanut allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;**114**:1410–1417.
 17. Crespo JF, James JM, Fernandez-Rodriguez C, Rodriguez J. Food allergy: nuts and tree nuts. *Br J Nutr* 2006;**96**(Suppl. 2):S95–S102.
 18. Kleber-Janke T, Cramer R, Appenzeller U, Schlaak M, Becker WM. Selective cloning of peanut allergens, including profilin and 2S albumins, by phage display technology. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;**119**:265–274.
 19. Asero R, Mistrello G, Roncarolo D, Amato S, Caldironi G, Barocci F et al. Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unrelated plant-derived foods: a clinical study. *Allergy* 2002;**57**:900–906.
 20. Wickman M, Kull I, Pershagen G, Nordvall SL. The BAMSE project: presentation of a prospective longitudinal birth cohort study. *Pediatr Allergy Immunol* 2002;**13**(Suppl. 15): 11–13.
 21. Kull I, Bergstrom A, Lilja G, Pershagen G, Wickman M. Fish consumption during the first year of life and development of allergic diseases during childhood. *Allergy* 2006;**61**:1009–1015.
 22. Muraro A, Roberts G, Clark A, Eigenmann PA, Halken S, Lack G et al. The management of anaphylaxis in childhood: position paper of the European academy of allergology and clinical immunology. *Allergy* 2007;**62**:857–871.
 23. Nystrand M. A multiplexed immunoassay for the rapid detection of specific IgE in allergy diagnosis. *Ivd Technology* 2006;**12**:37–39.
 24. Constantin C, Quirce S, Poorafshar M, Touraev A, Niggemann B, Mari A et al. Micro-arrayed wheat seed and grass pollen allergens for component-resolved diagnosis. *Allergy* 2009;**64**:1030–1037.
 25. Lidholm J, Ballmer-Weber BK, Mari A, Vieths S. Component-resolved diagnostics in food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2006;**6**:234–240.
 26. Wensing M, Akkerdaas JH, van Leeuwen WA, Stapel SO, Bruijnzeel-Koomen CA, Aalberse RC et al. IgE to Bet v 1 and profilin: cross-reactivity patterns and clinical relevance. *J Allergy Clin Immunol* 2002;**110**:435–442.
 27. Beyer K, Morrow E, Li XM, Bardina L, Bannon GA, Burks AW et al. Effects of cooking methods on peanut allergenicity. *J Allergy Clin Immunol* 2001;**107**:1077–1081.
 28. Maleki SJ, Kopper RA, Shin DS, Park CW, Compadre CM, Sampson H et al. Structure of the major peanut allergen Ara h 1 may protect IgE-binding epitopes from degradation. *J Immunol* 2000;**164**:5844–5849.
 29. Maleki SJ, Viquez O, Jacks T, Dodo H, Champagne ET, Chung SY et al. The major peanut allergen, Ara h 2, functions as a trypsin inhibitor, and roasting enhances this function. *J Allergy Clin Immunol* 2003;**112**:190–195.
 30. Mortz CG, Andersen KE, Bindslev-Jensen C. The prevalence of peanut sensitization and the association to pollen sensitization in a cohort of unselected adolescents—The Odense Adolescence Cohort Study on Atopic Diseases and Dermatitis (TOACS). *Pediatr Allergy Immunol* 2005;**16**:501–506.
 31. Krause S, Reese G, Randow S, Zennaro D, Quarantino D, Palazzo P et al. Lipid transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for a Mediterranean allergic population. *J Allergy Clin Immunol* 2009;**124**:771–778.
 32. Lauer I, Dueringer N, Pokoj S, Rehm S, Zoccatelli G, Reese G et al. The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin Exp Allergy* 2009;**39**:1427–1437.
 33. Pons L, Chery C, Romano A, Namour F, Artesani MC, Gueant JL. The 18 kDa peanut oleosin is a candidate allergen for IgE-mediated reactions to peanuts. *Allergy* 2002;**57**(Suppl. 72):88–93.
 34. Sampson HA. Utility of food-specific IgE concentrations in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;**107**:891–896.
 35. Bock SA. Prospective appraisal of complaints of adverse reactions to foods in children during the first 3 years of life. *Pediatrics* 1987;**79**:683–688.

IMMUNOTHERAPIE EN IgG4 METINGEN

Th. Rispens, chemicus

Slechts 3-4% van humaan IgG bestaat uit IgG4. Bij langdurige blootstelling aan antigeen (zoals bij imkers met bijengif) kan uiteindelijk echter meer dan 90% van de *specifieke* antistofrespons uit IgG4 bestaan.

IgG4 wordt vaak als 'blokkerende' antistof beschouwd: hij bindt wel antigeen, maar activeert het immuunsysteem vervolgens niet. IgG4 kan dus een belangrijke rol spelen bij het ontwikkelen van tolerantie. IgG4 heeft enkele bijzondere structurele eigenschappen die maken dat deze antistoffen het immuunsysteem vrijwel niet activeren. In het bijzonder is IgG4 een dynamische antistof waarbij zogenaamde 'Fab arm exchange' optreedt: uitwisseling van antigeenbindingsdomeinen. Het resultaat is een antistof die niet cross-linken kan en vorming van grote immuuncomplexen tegengaat. Verder heeft het een lage affiniteit voor de meeste Fc-gamma receptoren en C1q.

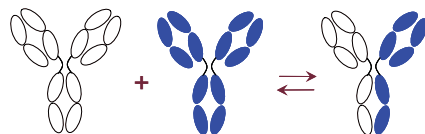


Fig. 1 Fab-arm exchange van IgG4

Regulatie van IgG4 productie is niet goed begrepen. IgG4 wordt vaak gevormd bij langdurige blootstelling aan antigeen. In het bijzonder wordt dit bij diverse allergenen gevonden gedurende immunotherapie. IgG4 wordt daarom ook vaak gemeten als marker voor de progressie tijdens immunotherapie. Zoals hierboven geschetst kunnen de IgG4 antistoffen bijdragen aan het verminderen van ongewenste immuunresponsen. Ook bij gezonde individuen wordt dit gevonden: in serum van imkers die lange tijd werkzaam zijn en geen allergische klachten hebben, zijn hoge titers PLA-2-specifieke IgG4 antistoffen aantoonbaar, die meer dan 90% van de totale respons kunnen representeren.

IgG4 vorming kan ook ongewenst zijn. Bij behandeling met therapeutische eiwitten (bijvoorbeeld infliximab) kan een immunrespons optreden waarbij soms veel IgG4 tegen het eiwit wordt gevonden. Deze antistoffen kunnen de werking van de drug sterk verminderen.

Wij onderzoeken de mechanismen die ten grondslag liggen aan IgG4 productie. In het bijzonder is het onduidelijk waarom het meestal maanden duurt voordat er veel IgG4 gevormd wordt en waaróm hiervoor herhaalde blootstelling aan antigeen nodig is. Meer inzicht in de regulatie van IgG4 productie geeft mogelijk aanknopingspunten om IgG4 productie te voorkomen of juist sneller te induceren. Dit zou eventueel ook een efficiëntere immunotherapie mogelijk maken.

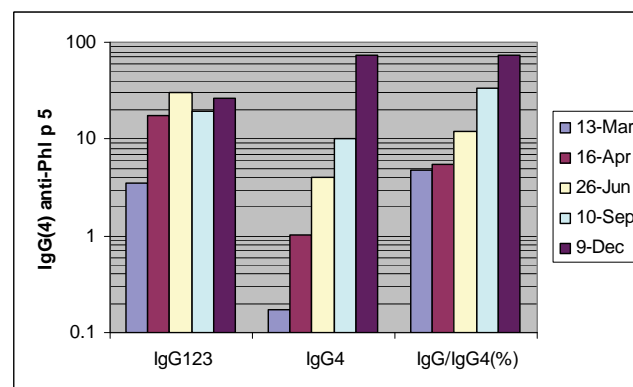


Fig. 2 IgG antistof waarden gedurende subcutane immunotherapie met graspollen extract (Clin. Exp. Allergy, 2009, 39, 469). IgG (total) and IgG4 waarden waarden gemeten met protein G en anti-IgG4 gekoppeld aan Sepharose. Antistoffen werden gedetecteerd met ¹²⁵I-gelabeld, gezuiverd Phl p 5 allergeen. De data is omgezet naar arbitraire eenheden. De waarde van IgG1+2+3 is berekend als het verschil tussen eenheden IgG (total) en IgG4. Merk op dat niet alleen absolute waarden van IgG4 stijgen, maar ook de relatieve waarden t.o.v. de waarden van totaal IgG.

DIAGNOSTIEK (VOEDSEL) ALLERGIE: ALTERNATIEVEN VOOR IgE-METING, HUIDPRIK- EN PROVOCATIETESTEN?

J. Ruinemans-Koerts, klinisch chemicus

Overgevoeligheid voor (voedsel)allergenen kan verlopen via een niet-immunologisch (intolerantie) en immunologisch (allergie) mechanisme. Bij een immunologisch mechanisme wordt er onderscheid gemaakt tussen een IgE- en niet-IgE gemedieerde allergie. Onder de niet-IgE gemedieerde voedselallergieën vallen o.a. Food Protein–Induced Enterocolitis Syndrome (FPIES), proctocolitis, enteropathie en eosinofiele oesofagitis. De pathofysiologie van deze allergieën wordt verondersteld te verlopen via een type IV (T-cel gemedieerd) mechanisme.

Voor de diagnostiek naar een IgE-gemedieerde allergie wordt veel gebruik gemaakt van allergeenspecifieke IgE metingen en huidpriktesten. Echter, deze testen zijn een maat voor sensibilisatie maar tonen geen klinische relevantie aan. De dubbelblinde placebogecontroleerde voedselprovocatietest (DBPGVP) is nog steeds de gouden standaard, echter deze is duur, belastend en niet geheel zonder risico. Voor de diagnose van een type IV voedselallergie is een eliminatie/provocatie dieet en/of een endoscopisch onderzoek/biopt noodzakelijk [Sicherer 2010].

Om de klinische relevantie van een allergie aan te tonen is er de laatste jaren veel onderzoek gedaan naar de mogelijkheden van functionele *in vitro* testen waarbij na allergeen stimulatie de activatie/proliferatie van bepaalde bloedcellen, zoals T-cellen en basofielen, wordt gemeten. Een maat voor activatie is up-regulatie van intracellulaire- of celmembraanmarkers [Giavi 2012; Kimura 2012; de Weck 2008; Rubio 2010] of de excretie van mediators van deze cellen zoals cytokinen, leukotriënen en histamine [Ballmer-Weber 2008; Sato 2011; Vocca 2011]. Resultaten van deze studies laten zien dat functionele *in vitro* testen de potentie hebben om het aantal DBPGVP-en te doen verminderen. Echter, voorzichtigheid is wel geboden omdat uit de opzet van deze studies blijkt dat classificatie van IgE en niet-IgE gemedieerde allergieën niet eenduidig is en patiëntenpopulatie karakteristieken (bv. leeftijd) sterk verschillen.

De mogelijkheden van functionele testen hebben ook meer inzicht opgeleverd in de pathofysiologie van allergieën. Zo zijn er inmiddels aanwijzingen dat niet alleen activatie van basofielen/mestcellen via IgE binding anafylactische reacties kunnen geven, maar ook activatie van neutrofielen/basofielen via IgG [Jönsson, 2011; Lowell 2011; Mukai 2009; Tsujimura 2008].

Referenties

1. Ballmer-Weber et al. Predictive value of the sulfidoleukotriene release assay in oral allergy syndrome to celery, hazelnut, and carrot. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008;18:93-9.
2. Giavi et al. Lymphocyte stimulation test for the diagnosis of non-IgE-mediated cow's milk allergy: a step closer to a noninvasive diagnostic tool? *Int Arch Allergy Immunol.* 2012; 157: 1-2.
3. Jönsson et al. Mouse and human neutrophils induce anaphylaxis. *J Clin Invest* 2011; 121: 1481-96.
4. Kimura et al. Usefulness of lymphocyte stimulation test for the diagnosis of intestinal cow's milk allergy in infants. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 157; 58-64.
5. Lowell. Neutrophils give us a shock. *J Clin Invest* 2011; 121: 1260-63.
6. Mukai et al. New insights into the roles for basophils in acute and chronic allergy. *Allergology International* 2009; 58: 11-19.
7. Rubio et al. Benefit of the basophil activation test in deciding when to stop cow's milk in allergic children. *Allergy.* 2011;66:92-100.
8. Sato et al. Utility of the peripheral blood basophil histamine release test in the diagnosis of hen's egg, cow's milk, and wheat allergy in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;155 S1:96-103.
9. Sicherer and Sampson, Food Allergy. *J Allergy Clin Immunology* 2010; 125: S116-25.
10. Tsujimura et al. Basophils play a pivotal role in immunoglobulin-G-mediated but not immunoglobulin-E-mediated systemic anaphylaxis. *Immunity* 2008; 28: 581-89.
11. Vocca et al. Peripheral immune response elicited by beta-lactoglobuline in childhood cow's milk allergy. *Pediatr Res.* 2011 Aug 18.
12. de Weck et al. Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;146:177-89.



SIEMENS

Siemens 3gAllergy™

Dé test waarmee mijn allergie wordt vastgesteld.

www.siemens.nl/diagnostics/allergie

Sinds de introductie van de Siemens allergietesten in 1988 heeft deze productlijn belangrijke ontwikkelingen doorgemaakt. Zo genereert de huidige IMMULITE-technologie een volledig geautomatiseerd testresultaat binnen 65 minuten. Het 3gAllergy assay-design stelt het laboratorium in staat om Specifiek IgE, IgG én IgG4 tegen meer dan 486 allergenen en allergeenpanels te meten.

Siemens heeft een trend gezet met het meten van specifiek IgE vanaf 0.1 kU/L met een ongeëvenaarde nauwkeurigheid. Deze eigenschap biedt mogelijkheden om allergeen specifiek IgE te meten bij kinderen jonger dan 4 jaar.

Answers for Life.

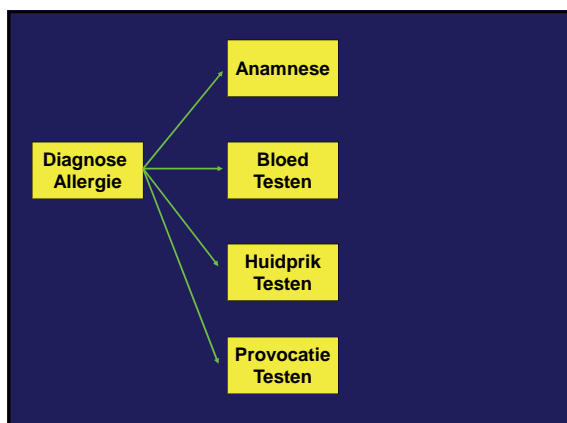
INTERCOLLEGIALE TOETSING: INZICHT IN DE KWALITEIT VAN LABORATORIUMTESTEN

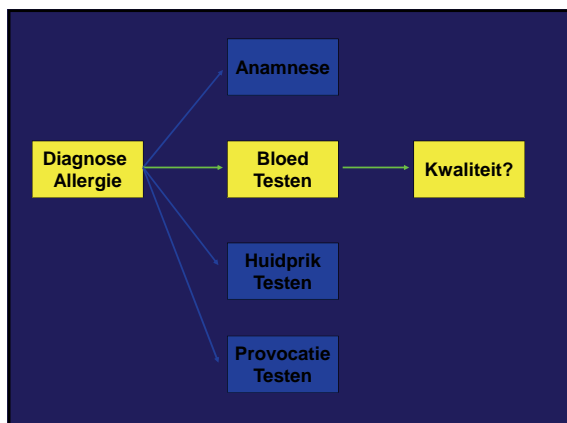
C.W. Weykamp, chemicus

Intercollegiale Toetsing
Inzicht in de Kwaliteit van Laboratoriumtesten



Cas Weykamp
Streekziekenhuis Koningin Beatrix, Winterswijk.
SKML (Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria)
Utrecht, 29 november 2011, PAOKC Allergie





Kwaliteit Bloedtesten IgE antistoffen?

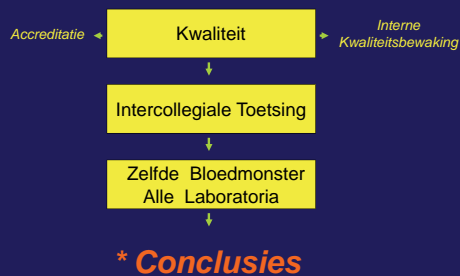
3 vragen van de arts/patiënt

Komt het voor dat laboratoria een blunder maken bij de meting?

Als ik dezelfde test laat doen in een ander Laboratorium, krijg ik dan hetzelfde resultaat?

Als ik resultaat bloedtest vergelijk met resultaat huidpriktest, anamnese en provocatietest, is de diagnose dan hetzelfde?

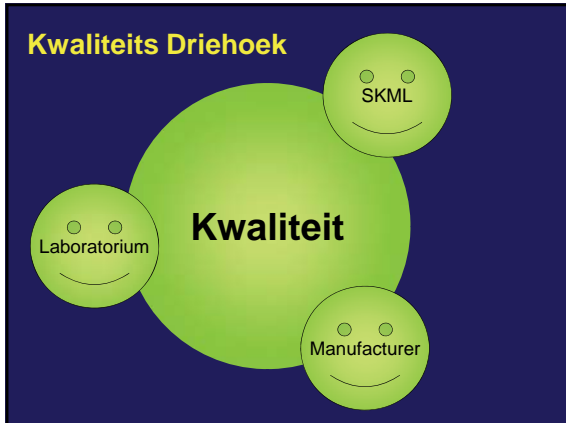
Medisch Laboratorium

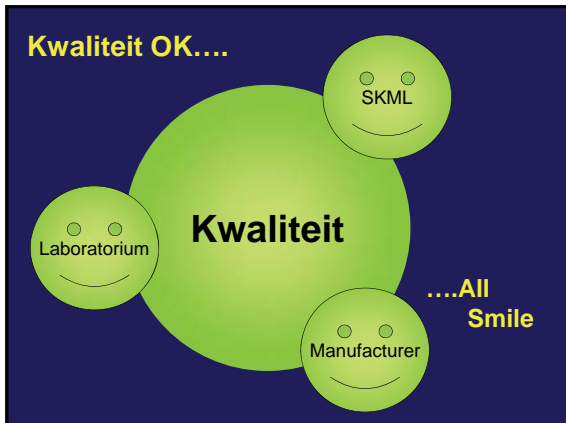


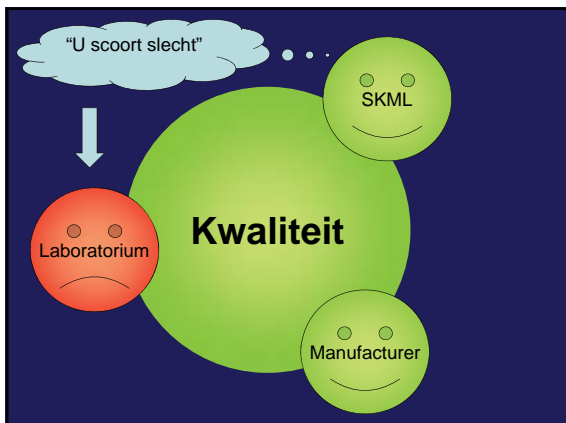
Intercollegiale Toetsing

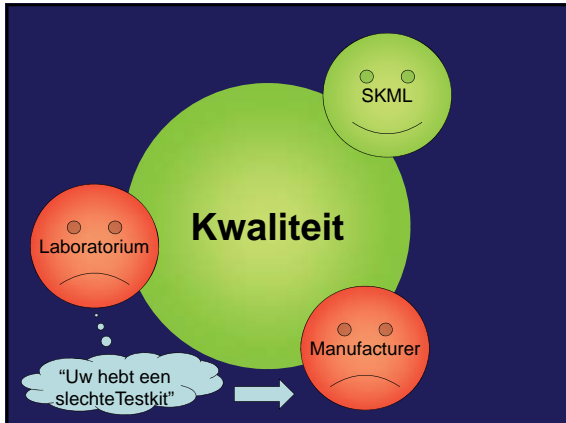


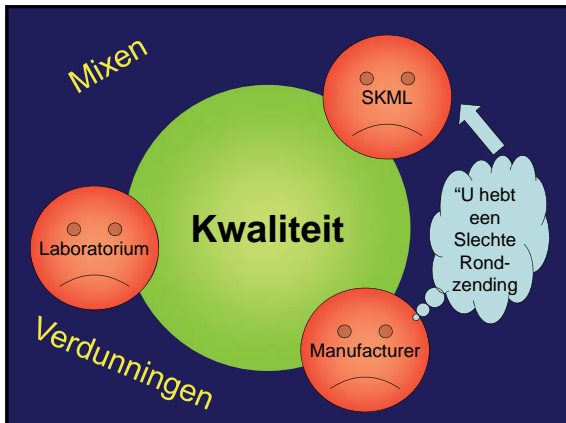
Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoria

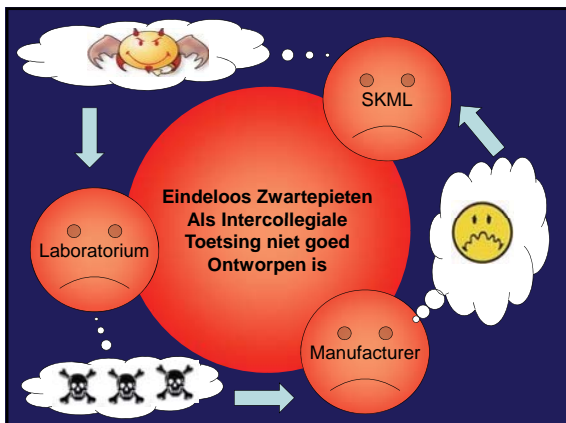


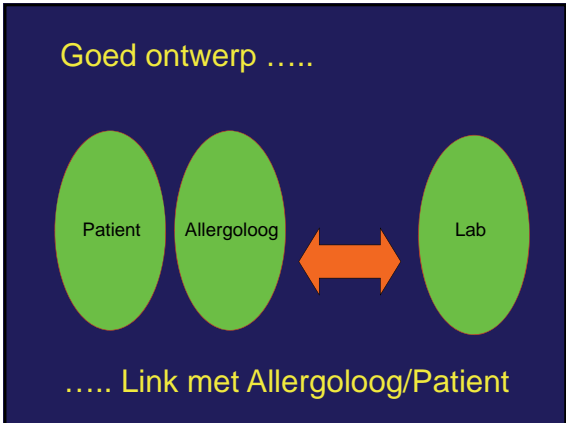














Design: Jaarcyclus

Monsters: 12 natieve monsters in 1 zending in Februari door labs ingevroren na ontvangst geanalyseerd in 4 series van 3 monsters in Februari, Mei, Augustus en November

Assays: Standaard: 3 specifieke allergenen
Opties: Mix, Voedsel Mix, Inhalatie Mix and Totaal IgE

Rapporten: Interim Rapport per 3 monsters
Review Report per jaar

Deelnemers 2010

Methode	Belgie (1)	Nederland (2)	Finland (3)	Portugal (4)	Totaal
Pharmacia	105	67	19	11	202
Siemens	43	39	7	9	98
Others	2	1	2	1	6
Total	150	107	28	21	306

1 = Institute Public Health, Dr. Christel van Campenhout

2 = SKML, Dr. C. Weykamp

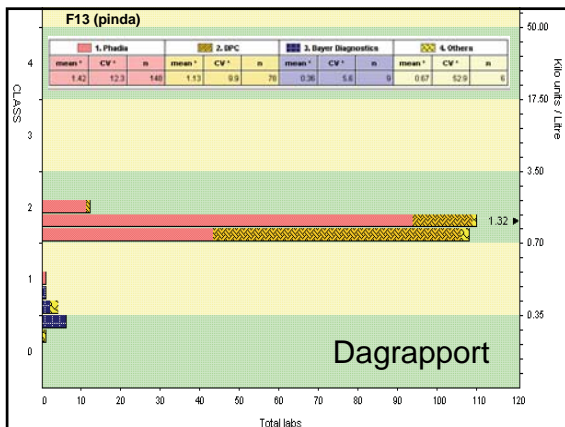
3 = LabQuality, Dr. A. Vanhanen

4 = PNAEQ, Dr. M.A. Gomes

Rapporten

Units en Klassen
Klinische Beschrijving
Dag Rapport
Historisch Rapport

Paper is out: Alles Internet



História Clínica Amostra 2006.3



História

O doente é conhecido na clínica de alergias, por ter uma forte alergia a pólen de árvores. Em Setembro de 2003 foi iniciada uma imunoterapia alérgico-específica (Purethal treepollen), que decorreu sem quaisquer problemas. Numa avaliação mais recente, em 2005, o doente indicou não ter beneficiado com a terapia e foi decidido terminá-la.

À parte dos sintomas sazonais, o doente também sofre de hiperactividade nasal persistente, para a qual usa 180 mg diárias de Telfast, bem como spray nasal de Nasacort e gotas oculares de Emadine. Devido aos congestionamentos nasais, o doente ressona (e tem distúrbios de sono). Possui também uma pele demográfica persistente (e urticária paroxismal) bem como um inchaço (edema) devido a alergia alimentar (queixas de alergia devido ao síndrome de bétula). A anamnese do tracto geral e respiratório não mostra qualquer particularidade.

Discussão e Conselho

Tratamento sintomático na próxima estação polínica: Telfast 180 mg diárias, Rhinocort TH, Livocab gotas oculares, se necessário, e prednisone ocasional. No pico da estação polínica o alergologista fará o acompanhamento na clínica de alergias.

Casus Monster 2006.3



Anamnese:

42-jarige vrouw, is hier bekend met een sterke boompollenallergie waarvoor in september 2003 werd gestart met allergeenspecifieke immunotherapie (Purethal boompollen). De priktoke verliep probleemloos en zonder vertraging. Bij de recente evaluatie over 2005 blijkt ze toch in de praktijk weinig effect te merken van de kuur. Besloten werd hiermee te staken.

Naast de seizoensgebonden klachten heeft ze ook meer persistente neusklachten (hyperactiviteit) waarvoor ze nog dagelijks medicatie gebruikt: Telfast 180 mg, Nasacort neusspray en Emadine oogdruppels. Door de neuscongestie heeft ze last van hinderlijk snurken (mede daardoor slaapproblemen), onveranderd een demografische huid (en paroxismaal urticaria) en nog steeds veel hinder van haar voedselallergie (oral allergy klachten door een para birch syndroom). De algemene en de tractusanamnese vermelden geen bijzonderheden.

Bepreking en advies:

In het komende pollenseizoen wordt symptomatisch behandeld: Telfast 180 mg daags, Rhinocort TH, Livocab oogdruppels zodanig en incidenteel een prednisone tablet. In de piek van het pollenseizoen zal ik haar controleren op mijn poli in het Radboudziekenhuis en daar tevens de KNO arts raadplegen. U ontvangt nader bericht.

Historisch Overzicht

back

Allergy scheme **historisch overzicht** Streekliekenhuis Koningin Beatrix
Klinisch chemisch laboratorium
W.A.Nijhof

analyte: E3 your method: 2 Siemens (BPC) resulte 2000/0500 D

sample / your lab	1. Phadia			2. Siemens (BPC)			3. Bayer Diagnostics			4. Others			
	mean *	CV %	n	mean *	CV %	n	mean *	CV %	n	mean *	CV %	n	
2006.01	2.67	0.60	57	145	2.33	11.4	69	1.27	9.8	9	0.48	34.1	6
2006.04	0.11	0.32	268	143	0.10	0.0	82	0.36	1.3	7	0.14	63.1	6
2006.05	1.3	0.36	79	148	1.36	12.0	60	0.69	29.8	7	0.43	19.0	6
2007.06	8.3	2.67	15.0	139	6.46	6.2	65	1.65	17.2	8	1.65	26.6	7
2007.07	0.11	0.33	20.4	145	0.10	0.0	66	0.35	0.0	7	0.20	79.3	7
2007.10	0.11	0.31	32.4	137	0.10	0.0	63	0.35	1.4	4	0.24	19.6	6
2008.02	0.42	0.33	20.0	138	0.45	7.3	69	0.39	15.1	3	0.46	15.9	7
2009.05	0	2.38	6.4	142	0.01	10.1	64	1.87	0.0	1	1.74	27.4	4
2009.12	0	2.71	7.4	136	0.97	7.8	60	7.62	0.0	1	1.71	48.1	6
2009.01	0.04	0.23	27.3	140	0.83	6.2	70	0.06	-	0	0.26	52.2	7

* Trimmed mean and CV per method group (10% lowest and 10% highest results from 'n' are left out).

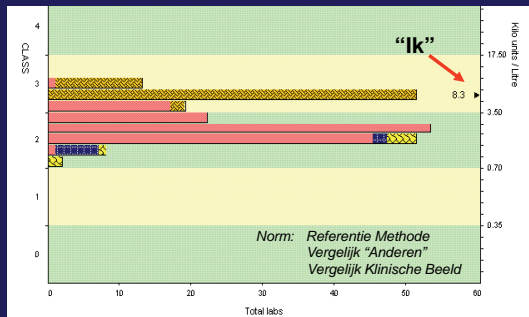
Low resultaat behoort tot de 5% van de laboratoria met hoogste en laagste resultaat.

Powered by GeoSite 4-10-2009 © SHM, MCA 2009

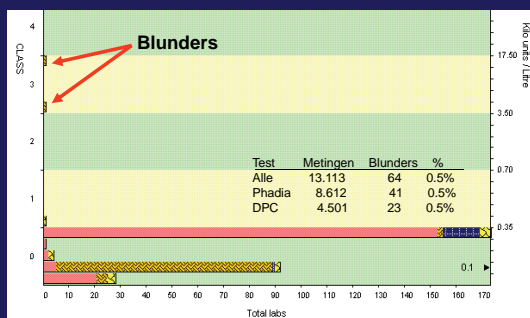
Interpretatie Rapporten

- *Meet ik zelf goed?*
- *Hoe vaak blunderen Collegae?*
- *Verschillen tussen Landen?*
- *Verschillen tussen Laboratoria?*

Meet ik zelf goed?



Blunderende Labs

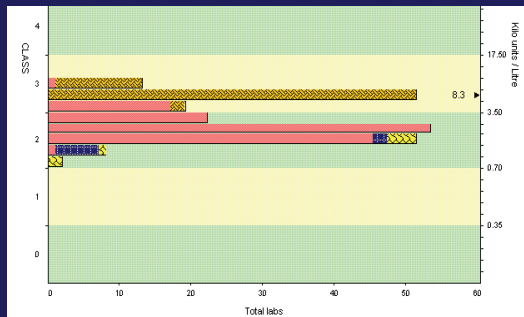


Verschillen* tussen Landen

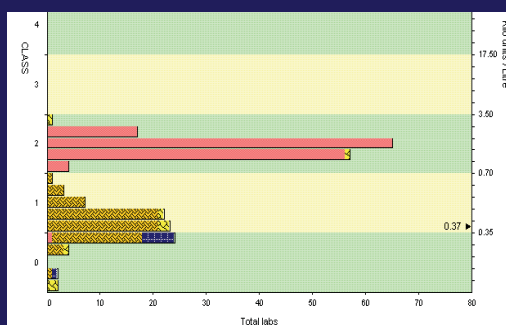
Land	Aantal	Phadia	DPC
Nederland	103	13.2	16.6
Belgie	152	12.9	16.7
Portugal	29	13.1	16.3
Finland	27	13.6	16.1
Overig	8	12.7	16.9

* Gemiddeld gemeten KUL in 35 monsters >0.35 en <100 door beide manufacturers 2007 (n Phadia = 8612; n DPC = 4501)

Verschillen tussen Laboratoria



Verschil tussen Methoden



Verschillen laboratoria: Relatie Analyse Methode

Methode	Interlab CV (% KU/L)*	Spreiding 95% Laboratoria Uitgedrukt in Klassen	Klinisch Relevant
Alle	38%	1.6	Ja
Phadia	7%	0.3	Nee
Siemens	11%	0.4	Nee

* Gemiddelde berekend uit 35 monsters met KU/L >0.35 en <100 door beide manufacturers (n Phadia = 8612; n Siemens = 4501) in de jaren 2006 en 2007

Interlab Variatie

**Belangrijkste Oorzaak:
Bent u Phadia of Siemensgebruiker**

Gezien: Gemiddelde van 35 allergenen

Intermezzo

**Hetzelfde Monster naar
300 Laboratoria.**

Hoe doe je dat?













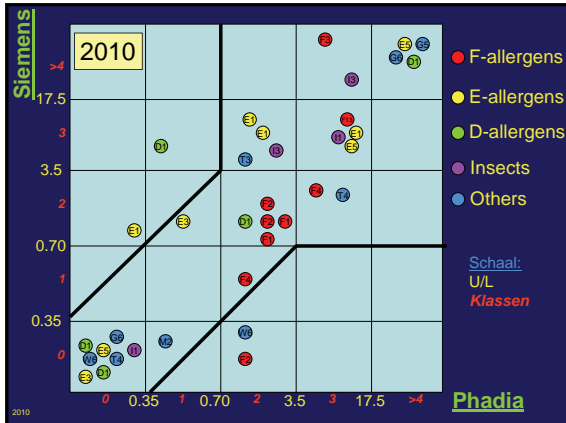


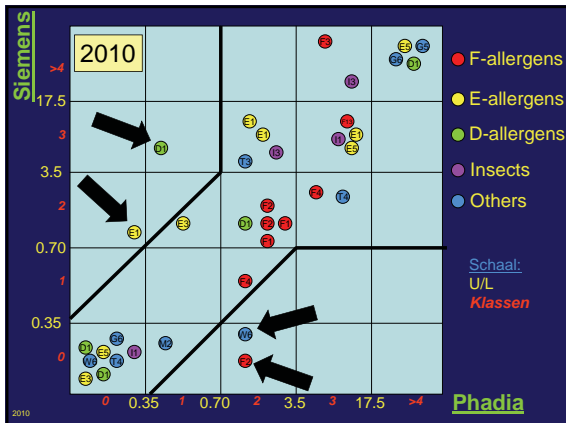


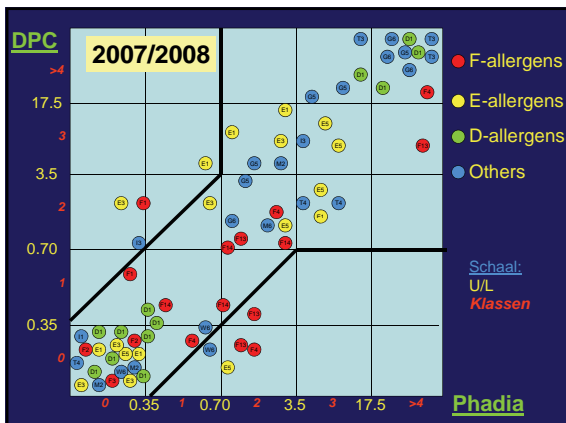
Laatste Stukje...

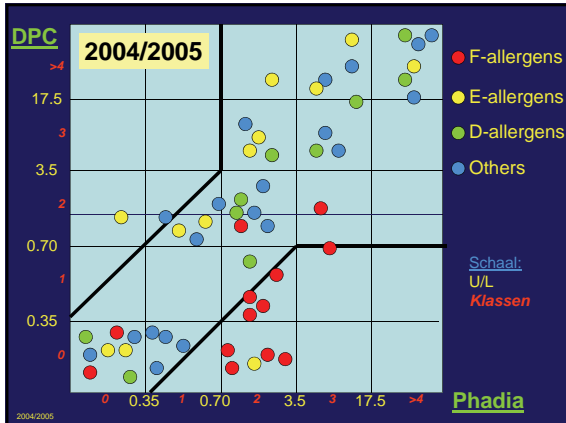
Verschillen Phadia/Siemens

- Hoe vaak?
- Hoe ernstig?
- Wie heeft gelijk (relatie kliniek)







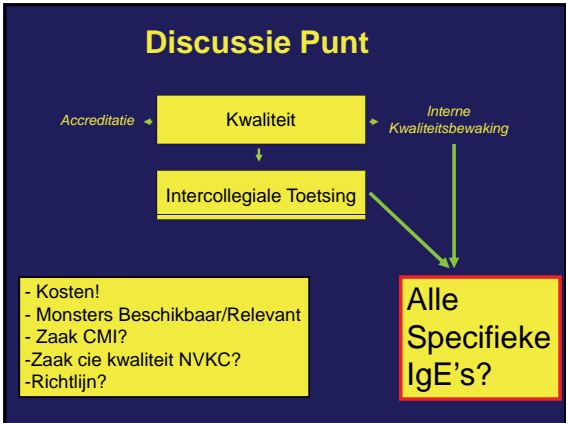


Samenvatting

1. Intercollegiaal toetsingsprogramma
2. Voorbeeld "Interdisciplinaire Samenwerking"
3. Individuele Lab: goed/niet goed
4. Algemeen inzicht
 - Geen verschil tussen landen
 - Laboratoria blunderen 0.5%
 - Interlabvariatie: Phadia/Siemens
5. Verschil Phadia/Siemens
 - Analytisch vrij groot
 - Klinisch meestal niet relevant
 - Verschil vooral bij voedselallergenen en Kat

**Intercollegiaal Toetsings Programma
Kwaliteitsverbeterend**

- * *Het Individuele Laboratorium blijft scherp*
- * *Prikkelt Phadia en DPC*
- * *Klinisch Chemicus kijkt ook Door het oog van de allergoloog*



Bedankt voor uw Aandacht

Met Dank aan

- Ad Jansen, Allergoloog Arnhem
- Janneke Brouwer, klinisch chemicus Arnhem
- SKML, Sectie Humorale Immunologie

PRECIPITINEN MOETEN BLIJVEN!

J.S. van der Zee, longarts

Extrinsieke Allergische Alveolitis (EAA) met de “Duivenmelkers Long” en de “Boeren Long” als meest bekende vertegenwoordigers is een ernstige interstitiële longaandoening op basis van een immunologische overgevoelighedsreactie die zich in het alveolaire compartiment van de long afspeelt. Klassiek wordt de EAA beschouwd als een type III overgevoelighedsreactie volgens de indeling van Gel en Coombs, maar we weten ondertussen dat ook cellulaire mechanismen een belangrijke rol spelen.

De diagnostiek is vaak lastig en kent een aantal major en minor criteria (tabel 1). Serologie vormt volgens deze criteria maar een beperkt onderdeel van de diagnostiek en is vooral van belang bij het vaststellen van expositie aan relevante antigenen.

Bij klassieke vormen van EAA is er sprake van zeer hoge titers complement fixerende IgG antistoffen tegen het uitlokkende agens. Dit verklaart waarom de relatief ongevoelige Ouchterlony dubbeldiffusie (precipitinen) techniek vaak positief is. Het is duidelijk dat EAA kan voorkomen in afwezigheid van positieve testen voor IgG antistoffen. Het is eveneens duidelijk dat een positieve test op zich niet een bevestiging is voor de diagnose EAA, maar slechts duidt op dermate hoge expositie aan het antigeen dat een (sterke) humorale immuunrespons is opgetreden. Kortom de test heeft zeker niet een hoge specificiteit en de sensitiviteit is ook beperkt.

Waarom is het dan toch een waardevolle test die moet blijven?

1. De test is simpel, gemakkelijk en snel uit te voeren met materialen waarvan geen commercieel verkrijgbare extracten beschikbaar zijn. Er zijn veel, met name beroepsgebonden, luchtweg blootstellingen aan dierlijke of plantaardige producten waarbij een EAA kan optreden. Juist in deze situaties met verdenking op een beroepsmatige expositie is een precipitine test met een extract van dergelijke producten zeer waardevol om een antistofrespons te detecteren.

2. De test is relatief ongevoelig en toont daardoor alleen zeer sterke antistof responsen aan. Er zijn natuurlijk allerlei andere technieken om IgG antistoffen aan te tonen zoals ELISA, RIA ed. Het nadeel van dergelijke testen is de noodzaak om antigenen te koppelen aan een vaste drager. Verder is de aanzienlijk grotere gevoeligheid van degelijke testen hier juist een nadeel omdat de specificiteit daardoor nog verder afneemt. Relevant in het kader van een EAA is immers het aantonen van een sterke IgG antistofrespons.

Tabel 1

Major criteria:

1. Symptomen passend bij EAA
2. Aanwijzingen voor blootstelling aan een antigeen waarvan bekend of aannemelijk is dat het EAA kan veroorzaken (anamnese of aantonen van een immuun respons met behulp van de precipitine test)
3. Afwijkingen op de X-thorax of op de hoge resolutie-CT scan passend bij een EAA
4. Lymfocytose in de broncho-alveolaire lavage
5. Histologische veranderingen in het longbiopt passend bij EAA
6. Opwekken van de typische klachten, veranderingen in het bloed en veranderingen in de longfunctie na provocatie met het verdachte agens

Minor criteria:

1. Beiderzijds basale knetters bij auscultatie
2. Afgenomen diffusiecapaciteit
3. Arteriële hypoxaemie

PRECIPITINEN KUNNEN WEG

S. van der Heide, biochemicus

In de vijftigerjaren beschreef Ouchterlony een test waarmee in een agarose gel z.g. precipiterende antistoffen (precipitinen) konden worden aangetoond tegen geïnhaleerde antigenen. In deze test (dubbelimmunodiffusie test (DID)) precipiteren complexen van antistoffen met antigenen als de condities voor de vorming van deze complexen zodanig zijn dat er grote complexen kunnen ontstaan die uiteindelijk neerslaan in de agarose.

In 1961 publiceerden Pepys en collega's een artikel waarin beschreven werd dat in sera van boeren met een extrinsieke allergische alveolitis (EAA) tengevolge van blootstelling aan hooi, precipiterende antilichamen (precipitinen) in het serum werden gevonden tegen hooi- en schimmelextracten. Afhankelijk van de oorzakelijke antigenen worden patiënten met EAA ook aangeduid met boerenlong, duivenmelkerslong, etc. In de Angelsaksische literatuur is de veel gebruikte naam voor EAA hypersensitivity pneumonitis (HP).

De laatste 30 jaar zijn enzymimmunoassays (EIA, ELISA) ontwikkeld waarmee gemakkelijker de concentraties van deze antistoffen te bepalen zijn. Sommige van deze ELISA zijn nu commercieel verkrijgbaar (o.a. de ImmunoCap van Thermo Fisher Scientific (Phadia) en de Immulite van Siemens).

In de diagnostiek van EAA neemt de bepaling van antistofconcentratie tegen betrokken antigenen een belangrijke plaats in. In beide methoden (DID en ELISA) wordt met het meten van de antistofconcentratie vooral informatie verkregen over de mate van blootstelling. Helaas is de mogelijkheid om goed onderscheid te kunnen maken tussen EAA patiënten en gezonde (maar wel blootgestelde personen) beperkt. De sensitiviteit van beide methoden is goed maar de specificiteit is te laag: de helft van gezonde vogelhouders hebben een (sterk) verhoogde DID of ELISA met de relevante vogelantigenen. Het lijkt er echter op dat de gevonden specificiteit afhankelijk is van de antigeenbron.

In studies waarin de resultaten van de DID zijn vergeleken met die van een ELISA bij de diagnose EAA, worden wel verschillen gevonden maar een deel van die verschillen zouden verklaard kunnen worden door verschillen in de

gebruikte antigene extracten (duivenserum, duivenfeces of duivenveren, etc.). Maar in een ELISA worden waarschijnlijk ook andere antistoffen gedetecteerd dan in de DID. In het UMCG werd in een vergelijkende studie in 758 sera, waarbij in beide methoden hetzelfde extract van *A.fumigatus* was gebruikt, een redelijke correlatie gevonden ($r = 0,57$) tussen DID (aantal precipitinen) en de ELISA titer.

De voordelen van toepassing van een ELISA t.o.v. de DID zijn talrijk. Een ELISA is te automatiseren (inclusief de verwerking van uitslagen), de uitslagen zijn reproduceerbaar, op korte termijn beschikbaar en (meestal) onafhankelijk van de uitvoerende analist. De DID is arbeids-intensief, de uitslag is er pas na 3 - 5 dagen en het aflezen van het aantal precipitinen en de sterkte van elk precipitaat vereist een grondige kennis en training van de betrokken analist.

Verbeteringen in de bepaling van IgG antistoffen tegen de betrokken antigeenbronnen moeten niet gaan via (her-)introductie van de DID maar in het verbeteren van beschikbare EIA. Vooral de relatief lage specificiteit van ELISA kan waarschijnlijk (sterk) verbeterd worden door gebruik te maken van gezuiverde antigene extracten of van geïsoleerde (recombinante) antigenen. Daardoor zal in de toekomst de ELISA beter onderscheid kunnen maken tussen EAA patiënten en gezonde personen met een vergelijkbare blootstelling.