

Användning av ALLERGENKOMPONENTER öppnar för en ny era

SAMMANFATTNING

Molekylär allergologi är en genombrottsvetenskap som möjliggör kvantifiering av IgE- och IgG-antikroppar ner till enkla allergena protein-komponenter på molekylär nivå.

Diagnosen av IgE-medierad allergi baseras på sjukdomshistoriken och uppvisad sensibilisering genom allergitest. Att identifiera om sensibiliseringen är primär (artspecifik) eller om den beror på korsreaktivitet mot proteiner med liknande proteinstrukturer hjälper läkaren att utvärdera risken för allergireaktion. Detta är möjligt i dag tack vare att allergenkomponenttester numera finns tillgängliga för läkare att använda i den kliniska vardagen.

Den här artikeln fokuserar på klinisk användbarhet vid prediktion av korsreaktivitet eller primär sensibilisering, riskbedömning för reaktion mot upphettade födoämnen och riskbedömning för allvarliga kliniska symtom.

MAGNUS BORRES

är barn- och ungdomsallergolog vid Barn och Ungdomskliniken i Falun, docent vid Göteborgs universitet och medicinsk chef vid Phadia i Uppsala.

KONTAKTADRESS:

Magnus Borres
Barn och Ungdomskliniken
Falu lasarett
SE 791 82 Falun
magnus.borres@phadia.com

MAGNUS BORRES, Göteborgs Universitet

Diagnosen av IgE-medierade allergiska sjukdomar baseras på den kliniska historiken och uppvisad sensibilisering genom ett allergitest. Detektering av allergenspecifikt IgE utförs med ett *in vitro*- och/eller *in vivo*-test. I vissa fall utförs allergenprovokationstest för att bekräfta en allergidiagnos.

Vid bestämning av specifikt IgE används för närvarande allergenextrakt som testallergen – något som ger upphov till två typer av problem (1, 2). Det första är svårigheter med standardisering av de allergen som används som substrat. Dessa extrakt kan skilja sig åt med avseende på allergeninnehåll beroende på den naturliga variabiliteten hos allergenkällan och tillverkningsprocessen.

Det andra problemet är att testerna som används inte har förmåga att skilja på klinisk korsreaktivitet, primär sensibilisering och immunologisk korsreaktivitet som saknar klinisk relevans. Detta, tillsammans med den ökade prevalensen för polysensibilisering hos allergiska individer, gör det svårt för läkaren att i det dagliga arbetet tolka allergitesternas resultat.

De ovan beskrivna begränsningarna har medfört inledningen av en intensiv forskningsverksamhet inom molekylär allergologi. Termen *Component Resolved Diagnostics* (komponentupplöst diagnostik) presenterades 1999 (3) av Valenta et. al. Framställning av allergenkomponenter startades dock långt tidigare. En av de första födoämneskomponenterna, torsk Gad c 1, renades fram av Kjell Aas och El Sayed (4) redan i slutet av sextioalet i Norge.

Allergenkomponenterna

Det är viktigt att känna till vissa grunder inom molekylär allergologi för att förstå hur testerna kan användas kliniskt. Nästan allting som innehåller proteiner kan vara en allergenkälla. Varje källa innehåller många olika allergiproteiner (allergenkomponenter). På varje allergenkomponent finns vanligen flera olika epitoper. En epitop är det faktiska tredimensionella bindningsstället för motsvarande antikropp. Kunskap om proteinstrukturen, proteinfamiljerna och stabiliteten vid upphettning och spjälkning gör att användningen av allergena komponenter på kliniken optimeras.

Vissa födoämnesallergen tolereras nämligen i rätt tillstånd medan andra behöver tillagas. Vissa allergen ger upphov till kliniska reaktioner från mild till medel och svår, medan andra ger upphov till sensibilisering utan någon klinisk reaktion.

Allergenkomponenterna namnges efter det latinska släktnamnet (Ara h 1 står för allergen 1 från *Arachis hypogaea* eller jordnöt) (FIG 1).

Artspecifika allergenkomponenter är unika markörer för en specifik allergenkälla. Värdet av att identifiera artspecifika allergenkomponenter ligger i att kunna skilja ut det primära sensibiliserande ämnet som ger upphov till vissa reaktioner till endast en specifik källa, t.ex. katt (FIG 2).

Att identifiera om sensibiliseringen är primär (artspecifik) eller om den beror på korsreaktivitet mot proteiner med liknande proteinstrukturer underlättar för läkaren att utvärdera risken för reaktion vid exponering för olika allergenkällor.



Användningen av molekylär allergologi med hjälp av allergenkomponenter är ett nytt och viktigt diagnostiskt verktyg som också ger värdefull information om möjliga korsreaktioner. FOTO: COLOURBOX.COM

Utvecklingen av rekombinanta allergen och reningen av ursprungliga allergen har gjort det möjligt att lösa många av de här problemen (FIG 3). De rekombinanta allergenerna är genetiskt styrda molekyler från rekombinant DNA. Rekombinanta allergen härstammar från olika expressionsystem (*E. coli*, *Pichia pastoris* osv.).

Det huvudsakliga användningsområdet för naturligt renade eller rekombinanta allergenkomponenter återfinns med andra ord inom den precisa identifieringen av allergierna som ger upphov till sjukdomen. Hittills är det inte alla allergikällor som blivit fullständigt karakteriserade, och molekylär diagnos kan därför ännu inte ersätta användningen av allergenextrakt. De olika metoderna måste komplettera varandra. Allergenkomponenterna finns tillgängliga för läkare och används enligt samma tekniker och blodprovstagning som för vanliga ImmunoCAP® tester. Allergenkomponenter finns även tillgängliga på ImmunoCAP® ISAC biochip (se nedan).

Allergenkomponenterna är inte enbart

användbara vid diagnostisering och riskbedömningar, utan även vid standardiseringen av immunterapiextrakt. På detta sätt kan man bestämma innehållet med avseende på varje relevant allergenkomponent. Inom en snar framtid kommer man därför att kunna skräddarsy immunterapiextrakt. Denna senare aspekt kommer inte att behandlas i denna artikel.

Typiskt exempel på hur allergenkomponenter uppfyller de kliniska behoven

Ett barn undersöks med avseende på misstanken om jordnötsallergi och uppvisar ett positivt pricktest eller *in vitro*-allergitest för jordnötsextrakt. Detta kan få mycket olika prognos om sensibiliseringen är kopplad till ett Bet v 1-lik protein eller ett lagringsprotein eller ett LTP-protein (lipid transfer protein). I det första fallet löper inte barnet någon risk för allvarlig anafylaktisk chock. I det andra och tredje fallet bör barnet alltid bära med sig injicerbart adrenalin (Epipen/Anapen). Det leder

oss till diskussionen om hur de olika allergenkomponenterna ska användas och tolkas på kliniken.

Klinisk användbarhet vid undersökning

Jordnötsallergi

Jordnötter är det vanligaste födoämnet som är kopplat till dödliga allergiska reaktioner i västvärlden. Oavsiktligt intag av jordnöt kan ge upphov till allvarliga allergiska reaktioner hos känsliga individer.

Prevalensen för jordnötsallergi har ökat och har uppskattats till så mycket som 2% i vissa regioner. Symtomen vid jordnötsintag kan variera från milda reaktioner, som urtikaria och oralt allergisyndrom (OAS), till andningssvårigheter och allvarliga systemiska reaktioner som kräver medicinsk vård, som anafylaktisk chock. Jordnötsensibilisering som fastställs genom allergenspecifik IgE-analys med blodprov eller pricktest med avseende på jordnötsextrakt har dessvärre ett lågt positivt prediktivt värde, eftersom många sensibiliserade individer är toleranta mot jordnöt.

Anledningen till denna brist på precision är korsreaktiva IgE-antikroppar med låg klinisk signifikans. Exempel på detta är IgE-antikroppar som inducerats av PR-10-proteiner i pollen som korsreagerar med sina homologer i jordnöt, med profilin eller korsreaktiva CCD (cross-reacting carbohydrate determinants). Det innebär att sensibiliseringen för jordnöt är ganska vanlig i en allmän population. Nicolaou et. al. har undersökt prevalensen för jordnötssensibilisering i deras oselektade populationsbaserade kohort i Manchester (MAAS, n=1085) (5). De fann att 12% av åttaåringarna var sensibiliserade. Av de barn som var sensibiliserade mot jordnöt hade endast 24% klinisk jordnötssallergi efter att födoämnesprovokation utförts.

Fem jordnötskomponenter är kliniskt relevanta och finns tillgängliga för läkare. Hittills har totalt 13 jordnötssallergen detekterats.

Lagringsproteinerna Ara h 1, Ara h 2 och Ara h 3 i jordnöt är alla viktiga allergen och verkar bära ansvaret för primär sensibilisering mot jordnöt hos känsliga individer. IgE-antikroppar mot jordnötspoteiner betraktas som riskmarkörer för allvarliga allergiska reaktioner hos individer som är sensibiliserade mot jordnöt. Bland lagringsproteinerna är det särskilt Ara h 2 som betraktas som markör för primär sensibilisering mot jordnöt (5). Sensibili-

sering mot flera allergen är en starkare indikation på allvarligare reaktioner än sensibilisering mot endast en av komponenterna.

Ara h 8 är ett PR10-protein, en Bet v 1-homolog, och därmed en markör för primär sensibilisering genom pollen som björk och al.

IgE mot Ara h 9 är ofta kopplat till systemiska och allvarligare reaktioner utöver OAS, i synnerhet i södra Europa. Ara h 9 är ett LTP (lipid transfer protein) och sensibilisering beror i de flesta fall troligen på primär sensibilisering mot persika eller andra frukter som innehåller LTP. Denna typ av sensibilisering är ovanlig i Skandinavien.

Ägg

Äggvita är den viktigaste allergenkällan i ägg och innehåller 23 olika glykoproteiner. De viktigaste allergenen som har identifierats och som läkaren kan testa för är ovomucoid (Gal d 1), ovalbumin (Gal d 2), ovotransferrin/conalbumin (Gal d 3) och lysozym (Gal d 4).

Även om ovomucoid endast utgör 10% av den totala mängden äggviteprotein har det visat sig vara den dominerande allergenen. Ovomucoid har flera unika egenskaper, som stabilitet mot upphettning och spjälkning genom proteinas. Det verkar även vara allergiframkallande i mycket små mängder.

Det är därför inte förvånande att

testning för ovomucoid har visat sig vara användbart i prognosen för och diagnosen av äggallergi.

Höga koncentrationer av specifikt IgE mot ovomucoid är kopplat till beständig äggallergi. När en äggallergisk person börjar utveckla tolerans mot hönsägg blir han/hon först tolerant mot upphettat ägg och senare mot rått ägg. Skillnader i IgE-antikroppar mot ovomucoid återfanns hos patienter beroende på reaktiviteten mot rått och tillagat ägg (6). Låga nivåer av IgE-antikroppar mot ovomucoid var kopplat till tolerans mot tillagade ägg. En kvantifiering av ovomucoid-antikroppar kan dessutom vara vägledande för läkaren i beslutet om provokation ska genomföras eller inte.

Nyligen publicerade data framlägger att en koncentration av IgE-antikroppar mot ovomucoid som är högre än ca 11 kUA/l (positiv beslutspunkt) indikerar en hög risk för reaktion mot upphettat (så väl som rått) ägg (6). Samtidigt innebär en koncentration som är lägre än ca 1 kUA/l (negativ beslutspunkt) att risken för reaktion mot upphettat ägg är låg, även om patienten mycket väl kan reagera på rått ägg.

Mjolk

De flesta mjölkallergiska patienterna är sensibiliserade mot flera komjölksproteiner. Variansen är stor hos IgE-antikropparnas respons på dessa komponenter.

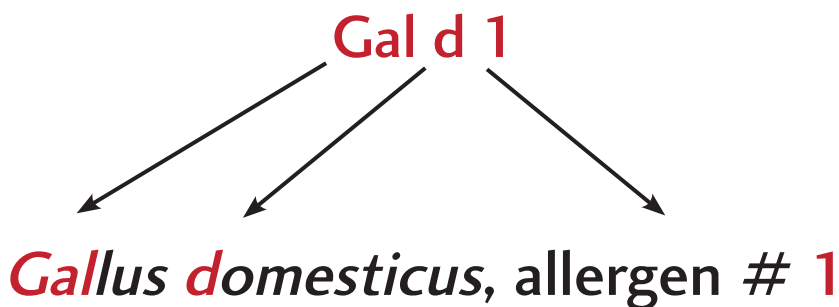
De viktigaste allergenen i mjölk är kasein (Bos d 8), beta-laktoglobulin (Bos d 5) och alfa-laktoglobulin (Bos d 4), även om allergier mot andra mindre viktiga proteiner som bovint serumalbumin (Bos d 6) också har rapporterats.

Det finns nu växande bevis för att IgE mot kasein verkar vara en viktig allergenkomponent att testa för vid behandling av en patient med komjölksallergi.

Garcia-Ara och medarbetare har följt barn med komjölksallergi. De observerade att kasein är det protein som bäst diskriminerar mellan permanent allergi och tolerans. Samma spanska grupp har även studerat reaktioner mot oavsiktlig exponering för mjölk hos barn med komjölksallergi. De fann att det var relativt vanligt och att andelen allvarliga reaktioner i gruppen var 15%. Riskfaktorerna för den typen av reaktioner innefattar höga nivåer av IgE mot komjölkskasein i kombination med astma (7).

Gern och Sampson har studerat allergiska reaktioner hos patienter med

FIGUR 1. Nomenklaturen. Allergenkomponenterna namnges efter det latinska släktnamnet. Gal d 1 står för allergen 1 från *Gallus domesticus* eller kyckling. FIGUR: MAGNUS BORRES



Prefix «r» betyder rekombinant och «n» nativt
rGal d 1 – nGal d 1

komjölksallergi som äter så kallade mjölkfria produkter (8). De fann att kasein ofta var orsaken till reaktionen. Kasein används som konsistensgivare i korv, soppor och stuvningar.

D'Urbano et. al. visade att IgE mot kasein (Bos d 8) var den mjölkallergenkomponent som oftast detekterades hos patienter med positiv födoämnesprovokation för mjölk (9).

Vete

Ett positivt svar på vetemjölsextrakt korrelerar inte alltid med kliniska symtom, vilket indikerar att *in vitro*-diagnos av allergi mot vete kan förbättras genom användning av allergena komponenter. Det finns ett antal starka kandidater bland vete-komponenterna som i dag undergår klinisk utvärdering. De kommer med största sannolikhet att förbättra handläggningen av veteallergiska patienter.

Vete korsreagerar vanligen med gräspollen, vilket ger problem med överdiagnostisering av veteallergi. Det typiska fallet är att läkaren utför ett pricktest för vete eller beställer ett ImmunoCAP®-test för vete för en gräsallergisk patient. På grund av korsreaktion kommer detta test med största sannolikhet att vara positivt. Läkaren kan tolka detta som ett tecken på veteallergi och felaktigt råda patienten att undvika vete i kosten. Det är uppenbart att det behövs en förbättrad uppbyggnad för artspecifik diagnos av vete.

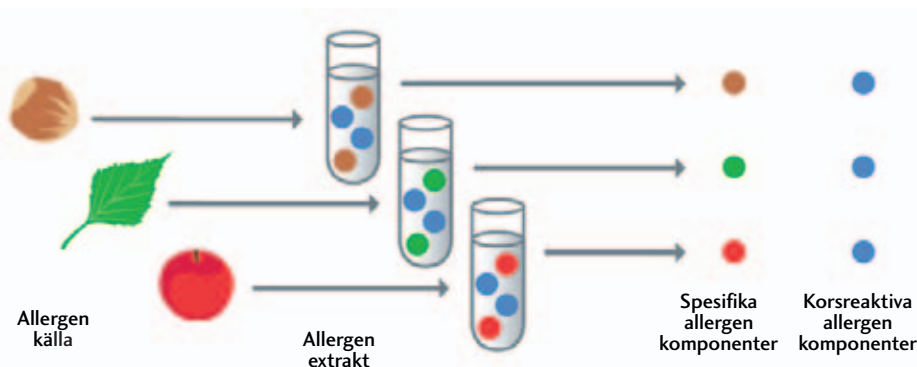
Till dags dato kan vi testa för en viktig vete-komponent vid utredning av oönskade reaktioner på vete hos barn och vuxna.

Hos barn är IgE-antikroppar mot omega-5-gliadin (Tri a 19) kopplade till en risk för IgE-medierade reaktioner mot vete (10). Det har framlagts att nivån av antikroppar mot ω-5-gliadin fungerar som markör för klinisk reaktivitet och som hjälp vid beslut om veteprovokation ska genomföras eller inte.

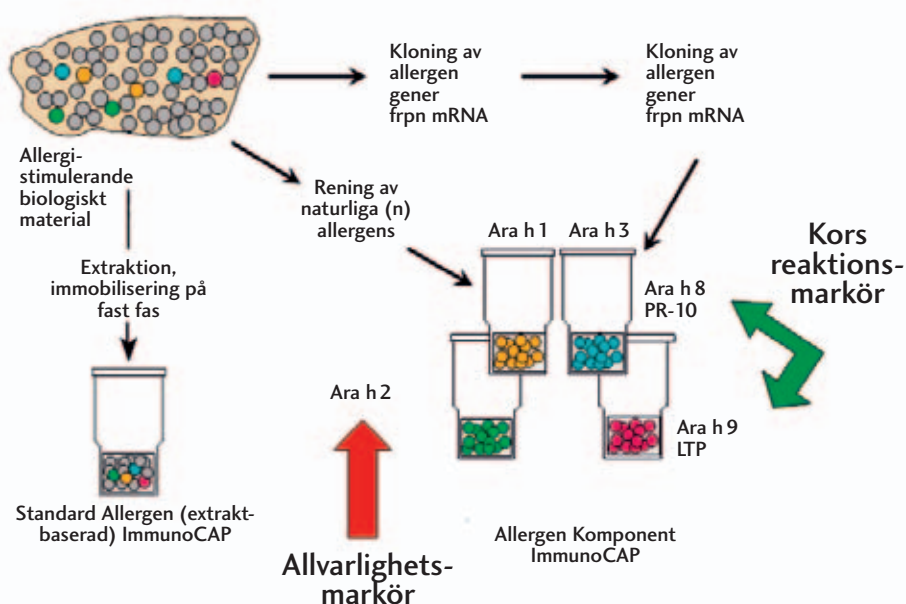
IgE-antikroppar mot Tri a 19 hos vuxna är kopplade till en risk för ansträngningsutlösta reaktioner i kombination med veteintag.

Fisk

Fiskproteiner är ibland orsak till livshotande IgE-medierade allergiska reaktioner. Parvalbumin från torsk (*Gadus morhua*), Gad c 1, och karp (*Cyprinus carpio*), Cyp c 1, är båda viktiga



FIGUR 2. Specifika och korsreaktiva allergenkomponenter. Att identifiera om sensibiliseringen är primär (artspecifik) eller om den beror på korsreaktivitet underlättar för läkaren att utvärdera risken för reaktion. FIGUR: MAGNUS BORRES



FIGUR 3. Framställningen av allergenkomponenter. De rekombinanta allergenerna är genetiskt styrda molekyler från rekombinant DNA. FIGUR: MAGNUS BORRES

parvalbuminproteiner och representativa markörer för fisksensibilisering i allmänhet. På grund av den höga graden av korsreaktivitet mellan parvalbuminer från olika arter är Gad c 1 och Cyp c 1 värdefulla verktyg vid diagnostisering av patienter med fiskallergi. Båda har en anmärkningsvärd stabilitet, vilket kan förklara varför sensibilisering kan uppstå vid intag även efter tillredning, vid kontakt och inandning av ångor.

Soja

Det är känt att allergi mot sojaböna hos barn primärt förmedlas av allergenkontakt via den gastrointestinala trakten, ofta i form av sojabaserad mjölkersättning, i synnerhet hos spädbarn med komjölksallergi. De viktigaste sojaproteiner, Gly m 5 och Gly m 6, verkar vara

de primära sensibiliserande ämnena. Sojaallergi kan även uppstå efter primär sensibilisering mot björkpollen, på grund av IgE-korsreaktivitet mellan den viktigaste allergenen i björkpollen, Bet v 1, och dess homologa protein i sojaböna, Gly m 4. Pollenmedierad sojaallergi har hittills huvudsakligen beskrivits hos vuxna. Vi har nyligen rapporterat om fyra björkpollenallergiska barn som fick allvarliga allergiska reaktioner efter intag av sojamjolk under pollensäsongen (11).

Gly m 4 har visats vara en riskfaktor för allvarligt OAS eller systemiska reaktioner mot soja hos patienter med björkpollenallergi. Gly m 4 är även korsreaktivt med Ara h 8 och ca två tredjedelar av sojaallergikerna i Europa har jordnötsallergi. Målinriktat diagnos-

test med Gly m 4 rekommenderas för pollensensibiliserade patienter där det finns misstanke om sojaallergi, i synnerhet om resultatet för sojaextrakttestet är negativt. Vissa patienter som är sensibiliserade mot Gly m 4 kan uppvisa låga eller till och med negativa IgE-resultat med sojaextrakt på grund av lågt Gly m 4-innehåll i extraktet (11).

Pälsdjur

Korsreaktioner förekommer även mellan våra vanligaste husdjur såsom katt, hund och häst. Detta är ny kunskap och kan förklara varför många av våra patienter med pälsdjursallergi ofta är sensibiliserade mot mer än ett pälsdjur. I den tyska MAS-kohorten identifierade Matricardi och medarbetare 56 barn som var sensibiliserade mot katt vid 10 års ålder och 57% rapporterades ha åtföljande allergisk sensibilisering mot hund. 41 barn var sensibiliserade mot hund och 73% var även sensibiliserade mot katt (12). Liccardi och medarbetare identifierade 35 vuxna som var sensibiliserade mot häst, av vilka 23 rapporterades ha åtföljande allergisk sensibilisering mot hund och 25 sensibilisering mot katt (13).

Fel d 1 är den viktigaste allergenkomponenten hos katt, vilket indikerar primär sensibilisering (Fig 4 A, B). Ca 60–90% av patienterna med kattallergi har IgE-antikroppar mot Fel d 1. Denna allergenkomponent kan användas som specifik markör, vilket indikerar att immunoterapibehandling för katt sannolikt är av kliniskt värde. Bland kattallergiker fann Grönlund och medarbetare högre IgE-nivåer mot Fel d 1 hos barn med astma jämfört med barn med allergisk rinokonjunktivit (14). Detta indikerar att Fel d 1 skulle kunna användas som markör för ökad risk för nedre luftvägssjukdom hos kattsensibiliserade individer. Fel d 2 och Fel d 4 är andra kattkomponenter som finns tillgängliga för test.

Bilden över primär sensibilisering mot hund är mer komplex. Hittills har Can f 1, Can f 2 och Can f 5 funnits vara specifika allergenkomponenter som indikerar primär sensibilisering. Ca 50–90%, 20–33% och 70% av hundallergikerna har IgE-antikroppar mot Can f 1, 2 respektive 5. Helt nytt är att man nyligen även identifierat Can f 4 som ytterligare en artspecifik allergenkomponent för hund. Denna komplexa bild kan förklara varför den kliniska

bilden över hundallergi i vissa fall kan vara svår. Det är relativt vanligt att patienter med hundallergi berättar för läkaren att han/hon kan tolerera vissa hundar men reagerar vid kontakt med andra. Framtida forskning kommer att förklara om hundallergenkomponenternas sammansättning skiljer sig åt mellan olika hundraser och således kan förklara den kliniska bilden.

Equ c 1, ett lipokalin, anses vara huvudallergenen i hästmjäll. Nya data har visat att Equ c 1 korsreagerar med Fel d 4 som tillhör samma proteinfamilj. Med denna nya kunskap och insikt kanske vi för närvarande överdiagnostiserar hästallergi. Det kan vara så att patienterna endast är sensibiliserade mot katt, men att vi tolkar det som att de även är allergiska mot häst, och tvärtom. Nu har vi verktygen för att förstå de underliggande mekanismerna bakom sensibiliseringen mer i detalj. Som en konsekvens av detta bör vi vara försiktigare med att ge råd om att undvika djurmjäll innan vi känner till det primära sensibiliserande ämnet.

IgE mot kattserumalbumin, Fel d 2, korsreagerar troligen med de flesta andra däggdjursalbuminerna, som Can f 3 från hund, Ecu c 3 från häst, Sus s PSA från gris och Bos d 6 från ko. Det kan även ge upphov till reaktion vid intag av fläskkött (katt-fläskköttssyndromet). Ca 15–40% av de kattallergiska patienterna har IgE mot Fel d 2.

Allergenkomponenter på microarray

Med termen microarray eller biochip avses fördelningen av små volymer lösning av biomolekyler på en yta enligt ett ordnat och kompakt förfarande. I kontrast till konventionell diagnostik kan man med microarray undersöka IgE-reaktivitet mot ett stort antal olika molekyler eller allergenkomponenter med ett enkelt och snabbt test.

Mängden patientserum som krävs är mycket mindre än vid konventionell immunoassay. Så lite som 20 µl räcker för att fastställa IgE för hundratals enskilda allergen, medan konventionella tester kräver 50 µl för varje allergen som testas.

Detta underlättar användningen av tekniken på pediatrika patienter, eftersom en så liten mängd serum kan erhållas från ett enkelt blodprov.

Microarray-instrumentet genererar en bild över fluorescensen som analyseras av en särskild programvara som beräknar IgE-resultaten semikvantitativt för varje

allergenkomponent. IgE-koncentrationen mäts i arbiträra enheter, så kallade ISAC Standardized Units (ISU), och dessa värden delas in i fyra klasser (negativ, låg, medel och hög).

ISAC är en IgE-antikroppssassay som är specifikt utformad för att hjälpa läkare att identifiera förekomsten och kvantifiera graden av korsreaktiva IgE-antikroppar bland de olika födoämnes- och pollenallergengrupper som är kända för att dela en omfattande homologi (15).

Att tolka 130 testresultat för allergenkomponenter per patient är utmanande för läkaren. Microarray-tekniken kommer därför inom en snar framtid att kombineras med ett pc-baserat intelligent tolkningsstöd. Kliniska prövningar har genomförts och preliminära data visar att detta tolkningsverktyg hjälper den praktiserande allergispecialisten att tillägna sig och tolka den stora mängd IgE-antikroppsdata från den chipbaserade microarray-analysen. På det här sättet bör problematiken med korsreaktivitet hos födoämnen bli mer hanterbar för den praktiserande läkaren.

Är det möjligt att molekyllär allergologi kan ersätta födoämnesprovokation?

Allergenkomponenter har potentialen att ersätta födoämnesprovokation i framtiden. Vi är inte där än, eftersom alla allergikällor i de olika födoämnen ännu inte är fullständigt karakteriserade och utvärderade. Ur ett hälsoekonomiskt perspektiv skulle hälsosektorn spara pengar och minska riskerna om allergenkomponenter skulle användas i stället för födoämnesprovokation. Vi behöver således en ännu säkrare och bättre metod än de provokationer vi använder idag. Dubbelblind placebokontrollerad födoämnesprovokation (DBPCFC) har länge ansetts vara guldstandarden inom diagnostiseringen av födoämnesallergi som riktmärkestest, utifrån vilket de diagnostiska egenskaperna i anamnes, pricktest och IgE-antikroppsserologi ska bedömas. Öppen provokation kan ge falskt positiva resultat från 20–71% (15). Positiva placeboaktioner som kan uppstå under DBPCFC kan dock vara så stora som 35%. Falskt negativa öppna provokationer förekommer i 1–3% av fallen. Den allmänna bristen på standardiserade metoder för orala provokationer är en primär begränsning hos DBPCFC.

Identifiera den genuina sensibiliseringen



Björkpollen – Bet v 1



Hund – Can f 1, 2, 5



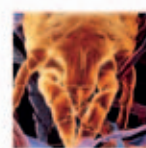
Kvalster – Der p 1, 2



Profilin – Bet v 2



Serumalbumin – Can f 3



Tropomyosin – Der p 10



Gräspollen – Phl p 1, 5



Katt – Fel d 1, 4



Bi – Api m 1



Profilin – Phl p 12



Serumalbumin – Fel d 2



CCD – MUXF3



Gråbopollen – Art v 1



Häst – Equ c 1



Geting – Ves v 5



LTP – Art v 3



Serumalbumin – Equ c 3



CCD – MUXF3

FIGUR 4 A OG 4 B. Identifiering av genuina resp korsreaktiva komponenter. Fel d 1 är den viktigaste allergenkomponenten hos katt, vilket indikerar primär sensibilisering. FIGUR: MAGNUS BORRES

Problemet idag är dessutom att alltför få patienter erbjuds eller vill genomgå en provokation, på grund av knappa resurser och risken för allvarliga reaktioner. Få patienter som misstänks ha nöt- eller jordnötsallergi undergår provokation. Det finns därför ett stort behov av förbättrad diagnostisering där testning av allergena komponenter kan vara till stor hjälp. Knulst och medarbetare har utfört födoämnesprovokation på denna grupp och funnit att 58% av individerna hade undvikit hasselnötter och 33% jordnötter i onödan (16).

D'Urbano och medarbetare har undersökt barn med misstänkt komjölkallergi och jämfört mjölkallergenkomponenter med mjölkprovokationer (9). Resultaten visar att seriell testning av IgE mot mjölk och microarray ImmunoCAP® ISAC har en klinisk prestanda som ligger mycket nära födoämnesprovokation. Denna tvåstegsmetod skulle ha predikterat en korrekt indikation om att 27 av 29 barn skulle ha en mjölkfri kost. Om man bara använde IgE mot komjölk skulle det ha eliminerat behovet av provokation för ca 27% av patienterna. Den sekventiella användningen av de två testen skulle ha lett till en minskning av antalet provokationer med 50%. Än mer noterbart är att man på detta sätt minskade antalet positiva provokationer till 5 mot tidigare 17. Dessa data är mycket lovande när det gäller att minska riskerna för allergiska barn.

Inligt D'Urbano et. al. skulle seriell

användning av de två testen kunna beaktas i kliniskt användningsperspektiv baserat på möjligheten att:

- på första vårdnivån (distriktsläkare eller barnläkare i öppenvård) enkelt identifiera patienter med hög sannolikhet för allergi, baserat på IgE mot komjölk.
- endast screena de återstående patienterna med microarray på andra eller tredje vårdnivån där födoämnesprovokation ska genomföras.

Klinisk nytta av microarray

Allergiska patienter med en komplex symtomatologi, som svåra eksem, instabil astma, kronisk urtikaria osv. är särskilt lämpade för undersökning av IgE-reaktivitet med microarray. Antalet molekylära allergen ger omfattande och detaljerad information om patientens sensibiliseringsprofil.

Tillsammans med kolleger vid Linköpings universitetssjukhus har vi genomfört en 18 års uppföljningsstudie över 64 individer från födelsen. Majoriteten hade en hög risk för att utveckla allergier och blodprov togs vid 6 och 18 månaders ålder samt vid 6 års och 18 års ålder (17). I den här studien analyserades sera från dessa fyra tillfällen med en komponentupplöst in vitro-diagnostik där microarray assay, ImmunoCAP® ISAC användes.

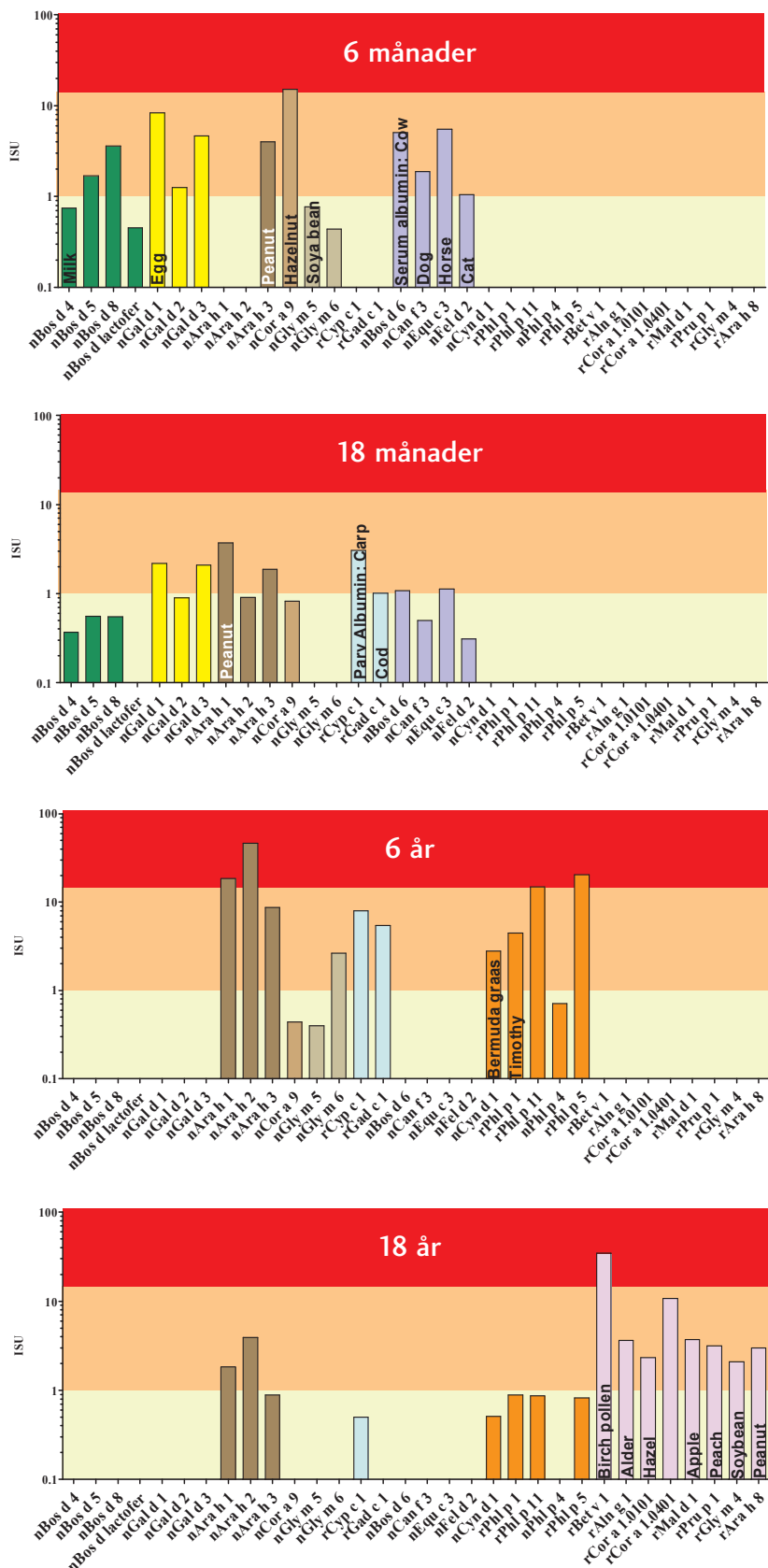
Analysresultaten för IgE-antikroppar jämfördes med varje patients medicinska historik. Två fall med komplexa medicin-

ska historiker beskrivs nedan för att demonstrera värdet med komponentupplöst diagnostik.

Fall 1

En pojke med två allergiska föräldrar utvecklade allvarligt atopiskt eksem och födoämnesallergi redan vid två månaders ålder. Mjölk, ägg och fisk diagnostiserades som de skadliga allergenerna och undveks. Sojattillägg användes på grund av otillräcklig mängd bröstmjölk. Han hade även problem med väsende andning i tidig ålder och diagnostiserades med astma vid sex månaders ålder. Allergisk rinit diagnostiserades vid två års ålder och han var sensibiliserad mot pollen och pälsdjur. Eksemet försvann vid 10 års ålder och hans allvarliga astma övergick till mild vid 15 års ålder. Vid 18 års ålder hade han allergisk rinit och mild astma och var sensibiliserad mot björk och timotej.

KOMPONENTRESULTAT: Förekomst av IgE-antikroppar mot flera äggvite- och mjölkkomponenter (SE FIG. 5) bekräftar ägg- och mjölkallergin i tidig barndom. Parallellt i tidig ålder sågs även positiva värden för hasselnöt (Cor a 9), jordnöt (Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3) och soja (Gly m 5, Gly m 6). Pojken erfor senare andningsproblem när han åt nötter och jordnötter. Retrospektivt var han med största sannolikhet allergisk mot soja, eftersom sojattillägget orsakade kolik och eksemet inte förbättrades helt. Värdena



FIGUR 5. Testresultat från ett fall. Förekomst av IgE-antikroppar mot flera äggvite- och mjölkkomponenter bekräftar ägg- och mjölkallergin i tidig barndom. Parallellt i tidig ålder sågs även positiva värden för hasselnöt (Cor a 9), jordnöt (Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3) och soja (Gly m 5, Gly m 6). Värdena för fisk (Cyp c 1 och Gad c 1) var som högst vid 6 års ålder, i enlighet med den medicinska historiken. Vid 6 års ålder var värdet för timotejpollenkomponenten (Phl p 5) högt och relativt lågt vid 18 års ålder. Vid 18 års ålder var däremot värdet för björkkomponenten (Bet v 1) mycket högt medan det var negativt vid 6 års ålder, i enlighet med den medicinska historiken. FIGUR: MAGNUS BORRES

för fisk (Cyp c 1 och Gad c 1) var som högst vid 6 års ålder, i enlighet med den medicinska historiken. Vid 6 års ålder var värdet för timotejpollenkomponenten (Phl p 5) högt och relativt lågt vid 18 års ålder. Vid 18 års ålder var däremot värdet för björkkomponenten (Bet v 1) mycket högt medan det var negativt vid 6 års ålder, i enlighet med den medicinska historiken.

Fall 2

En pojke med allvarligt atopiskt eksem och födoämnesallergi (kräkning), vilket började vid tre månaders ålder, studerades. Ägg, fisk och björkpollen var positiva i pricktest och diagnostiserades som de skadliga allergenen. Dessutom rapporterades OAS-liknande symtom mot jordnöt och skaldjur vid sex års ålder, även om dessa reaktioner aldrig bekräftades med något test. Vid 18 års ålder förekom fortfarande andningsproblem vid intag av jordnöt.

KOMPONENTRESULTAT: Förekomsten av IgE-antikroppar mot flera ägg-, fisk- och björkpollenkomponenter bekräftar de diagnostiserade allergierna. Dessutom registreras IgE-antikroppar mot jordnötskomponenter (Ara h 1, 2 och 3) och skaldjurskomponenter (tropomyosin) innan reaktionerna på jordnöt och skaldjur rapporterades. Resultaten med allergenkomponenterna visar tydligt allergimarschen för dessa två barn. Om komponentresultaten hade funnits vid tiden för den medicinska undersökningen skulle behandlingen av patienten varit en annan. En bättre förståelse för de underliggande orsakerna till symtomen skulle dessutom ha varit möjlig.

Slutsats

Användning av allergenkomponenter kommer att bereda väg för ett mer personligt förhållningssätt vid utredning och omhändertagande av våra patienter med misstanke om allergisk sjukdom. Vi kan redan nu med hjälp av molekyllär allergologi bättre diagnostisera, prognostisera och gradera de allergiska sjukdomarna. Vi kan också få hjälp med att välja en mer individualiserad behandling och få bättre stöd beträffande vilka individer som ska rådats att undvika speciella allergen.

Referenser

1. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010 Aug 2. [Epub ahead of print]
2. Lucas JM. Microarrays: Molecular allergology and nanotechnology for personalised medicine (I). *Allergol Immunopathol*. 2010; 38: 153–61.
3. Valenta R, Lidholm J, Niederberger V, Hayek B, Kraft D, Grönlund H The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin Exp Allergy*. 1999; 29: 896–904.
4. Aas K, Elsayed SM. Characterization of a major allergen (cod). Effect of enzymic hydrolysis on the allergenic activity. *J Allergy* 1969; 44: 333–43.
5. Nicolaou N, Poorafshar M, Murray C, Simpson A, Winell H, Kerry G, Härlin A, Woodcock A, Ahlstedt S, Custovic A. Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125: 191–7.
6. Ando H, Movérare R, Kondo Y, Tsuge I, Tanaka A, Borres MP, Urisu A. Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 122: 583–8.
7. Boyano-Martínez T, García-Ara C, Pedrosa M, Díaz-Pena JM, Quirce S. Accidental allergic reactions in children allergic to cow's milk proteins. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; 123: 883–8
8. Gern JE, Yang E, Evrard HM, Sampson HA. Allergic reactions to milk-contaminated «nondairy» products. *N Engl J Med*. 1991; 324: 976–9.
9. D'Urbano LE, Pellegrino K, Artesani MC, Donnanno S, Luciano R, Riccardi C, Tozzi AE, Ravà L, De Benedetti F, Cavagni G. Performance of a component-based allergen-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin Exp Allergy*. 2010 Jul 13. [Epub ahead of print]
10. Ito K, Futamura M, Borres MP, Takaoka Y, Dahlstrom J, Sakamoto T, Tanaka A, Kohno K, Matsuo H, Morita E. IgE antibodies to omega-5 gliadin associate with immediate symptoms on oral wheat challenge in Japanese children. *Allergy*. 2008; 63: 1536–42.
11. Kosma P, Sjölander S, Landgren E, Borres MP, Hedlin G. Severe reactions after intake of soy drink in birch pollen allergic children sensitized to Gly m 4. (submitted)
12. Matricardi PM, Bockelbrink A, Beyer K, Keil T, Niggemann B, Grüber C, Wahn U, Lau S. Primary versus secondary immunoglobulin E sensitization to soy and wheat in the Multi-Centr. Allergy Study cohort. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38: 493–500.
13. Liccardi G, Salzillo A, Piccolo A, D'Amato. Skin Prick Test to Horse should be included in the standard panel for diagnosis of respiratory allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2010; 20: 93–4
14. Grönlund H, Saarne T, Gafvelin G, van Hage M. The major cat allergen, Fel d 1, in diagnosis and therapy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010; 151: 265–74
15. Eckman J, Saini SS, Hamilton RG. Diagnostic evaluation of food-related allergic diseases. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2009; 5: 2.
16. Zijlstra WT, Flinterman AE, Soeters L, Knulst AC, Sinnema G, L'Hoir MP, Pasmans SG. Parental anxiety before and after food challenges in children with suspected peanut and hazelnut allergy. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010; 21: 439–45.
17. Irander K, Borres MP. An 18-year follow-up of allergy development related to nasal metachromatic cell findings during infancy. *Allergol Int*. 2010; 59: 193–200.