



UZ
LEUVEN



Allergische reacties Diagnostiek: recente ontwikkelingen

Dr. Sc. E. Van Hoeyveld

UZ
Leuven

Herestraat 49
B - 3000 Leuven

www.uzleuven.be
tel. +32 16 33 22 11

UNIVERSITY HOSPITALS LEUVEN



UZ
LEUVEN

Diagnose van type I allergie

- klinische geschiedenis
- huidtesten
- **bepaling van allergeen-specifieke IgE antistoffen in serum**
- (provocatietesten)

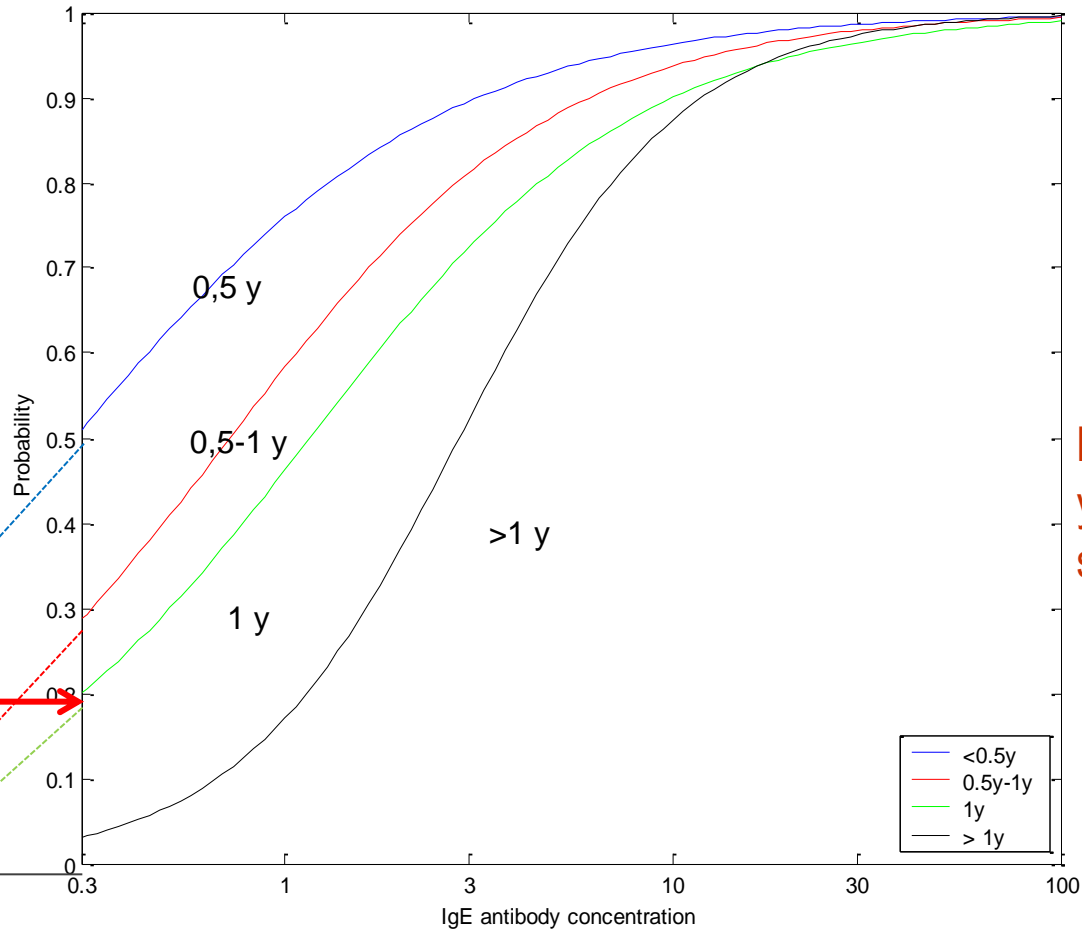
Interpretatie van de resultaten

vroeger		nu	
kU/L	interpretatie	kU/L	Interpretatie
<0,1	neg	< 0,1	IgE antistoffen afwezig of niet- detecteerbaar
0,1 – 0,35	neg		
0,35 – 0,7	dubieus		
0,7 – 3,5	pos +	≥ 0,1	IgE antistoffen aanwezig
3,5 – 17,5	pos ++		
17,5 – 50	pos +++		
50 – 100	pos ++++		
>100	pos +++++		

Aanwezigheid IgE antistoffen

- Sensibilizatie of allergie. Quid: anamnese
- Verhoogde concentraties specifiek IgE
= verhoogd risico op klinische symptomen
- **Lage waarden (0,1 – 0,35 kU/L)**
 - Belangrijk bij kleine kinderen
 - Vaak relevant bij voedsel, medicamenteuze en gif allergie

Reaction to
egg



Young
children:

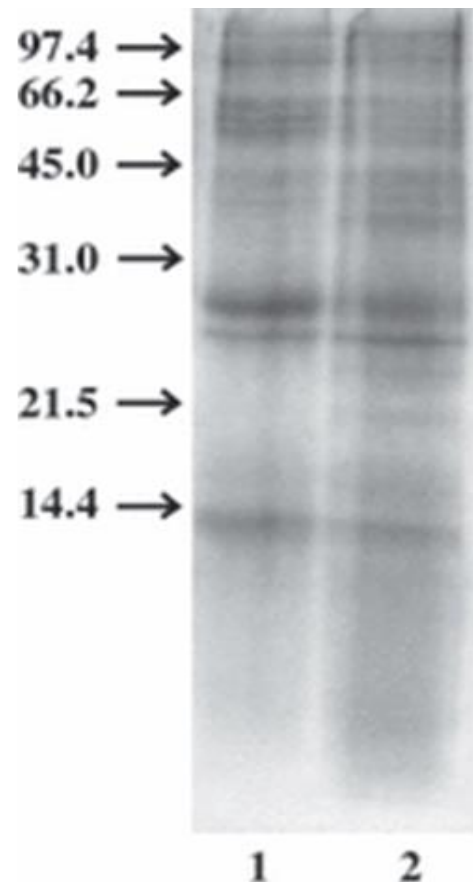
Different populations
yield different relation-
ships.

Komata T et al. JACI 2007;119:1272-4

Bepaling van allergeen-specifieke IgE antistoffen met natuurlijke extracten

- Extractie in buffer
- Verschillende proteïnen in oplossing

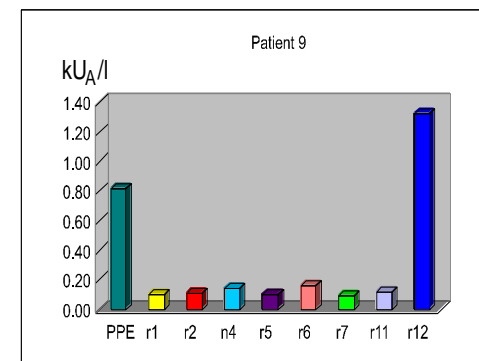
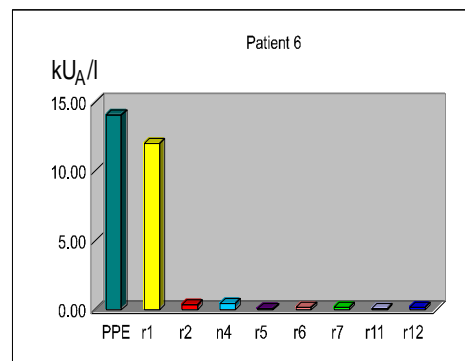
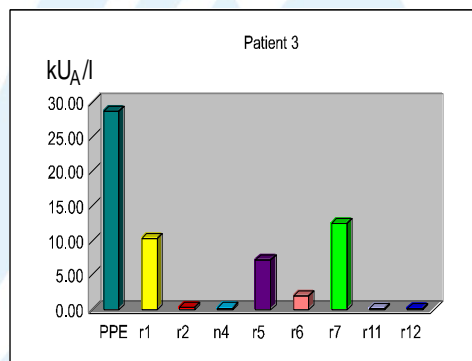
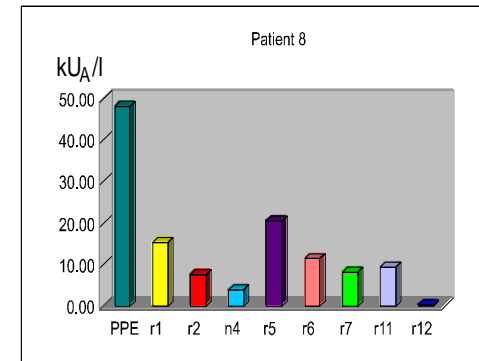
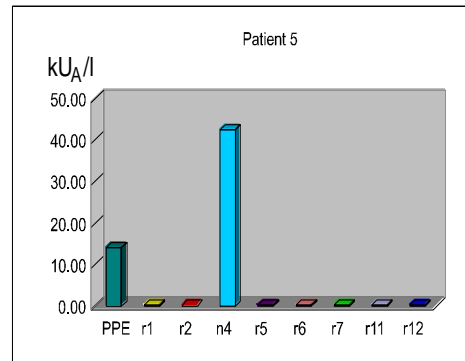
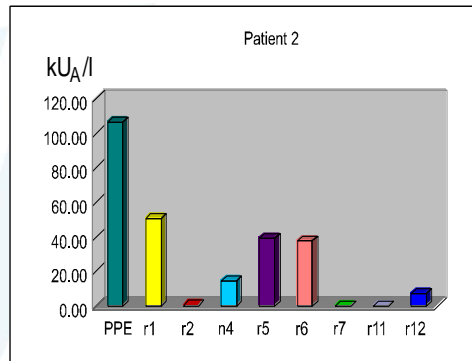
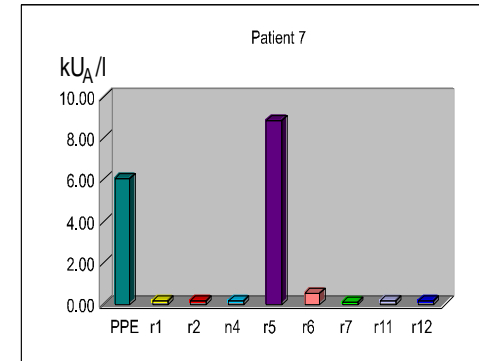
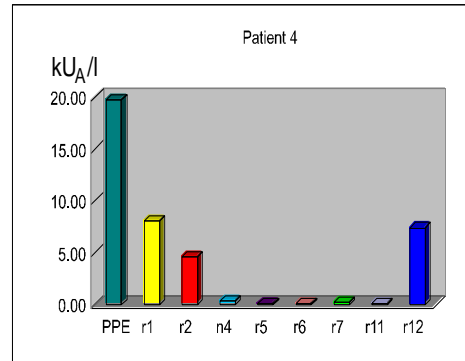
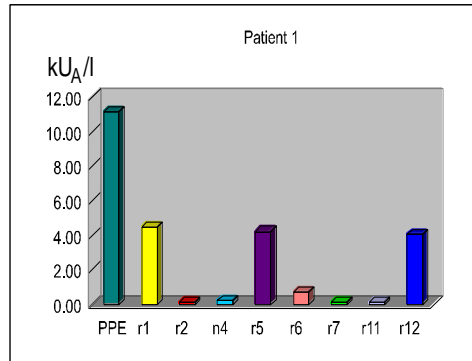
- SDS-PAGE GP



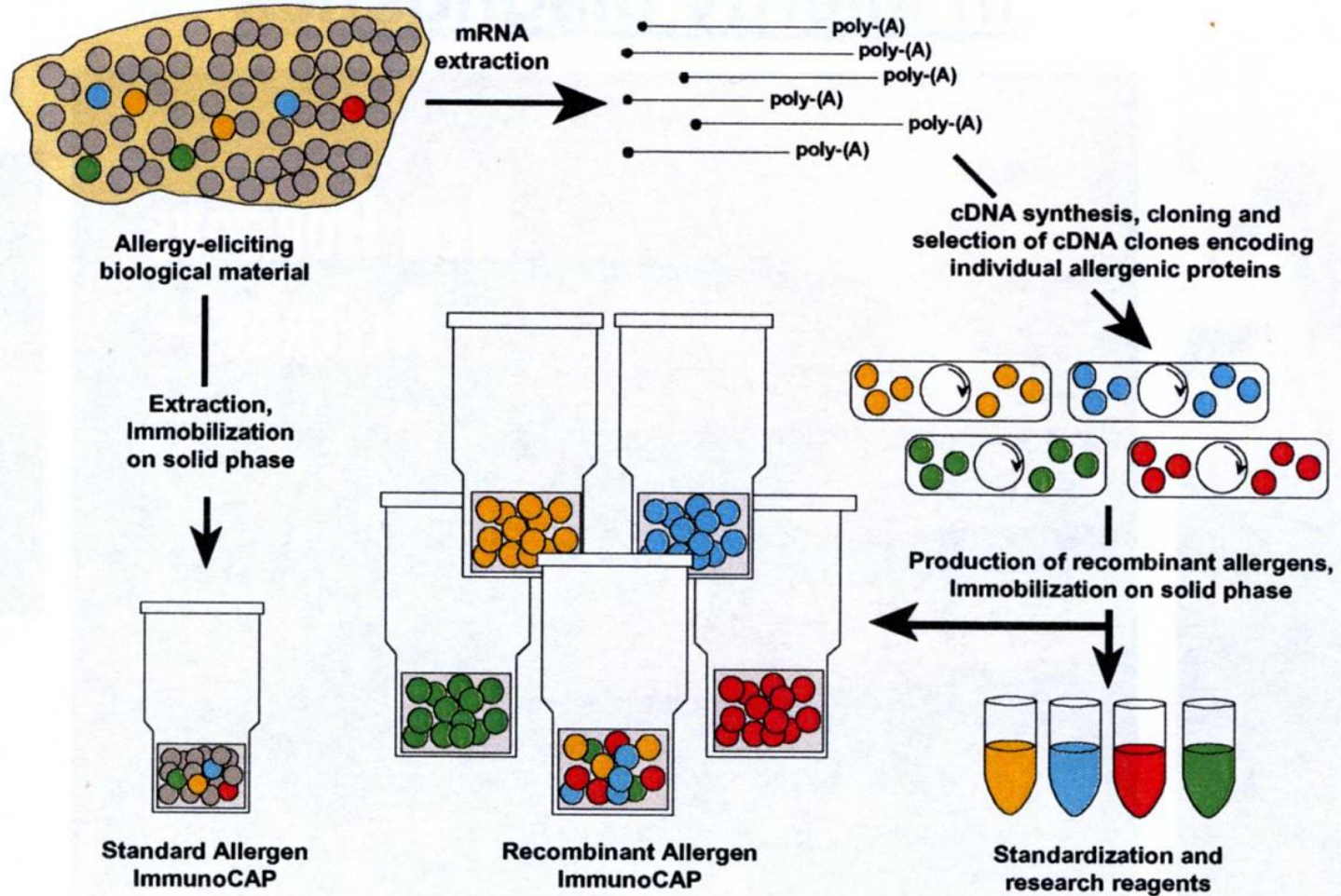
Bepaling van allergeen-specifieke IgE antistoffen met natuurlijke extracten

- Allergische en niet-allergische proteïnen
- Moeilijk te standaardiseren
- Koolhydraten aanwezig op proteïnen *van plantaardige oorsprong* kunnen niet-specifieke IgE binding veroorzaken (CCD)
- **Geen informatie over de aard van het uitlokkend molecuul**

Diversiteit van IgE specificiteiten (GP)



Zuivering van allergeen componenten



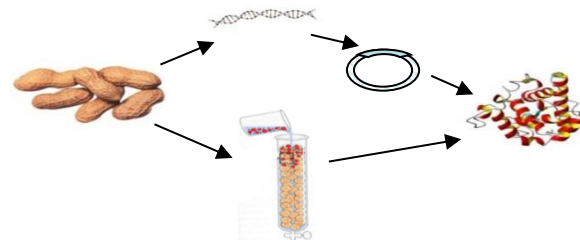
Benaming allergene componenten

- t3 (berk): *Betula verucosa* Bet v 1, 2, 4
- g6 (timotheegras): *Phleum pratense* Phl p 1, ..5,..7,.....12
- d1 (huismijt): *Dermatophagoides pteronys* Der p 1, 2, 3,10
- e1 (kat): *Felis domesticus* Fel d 1, 2, 3
- f13 (pinda): *Arachis hypogaea* Ara h 1, 2, 3,8

Voorafgegaan door:

r : recombinant protein **rBet v 1**

n : natural purified protein **nDer p1**



Eigenschappen van allergeen componenten

Allergenen: proteïnen

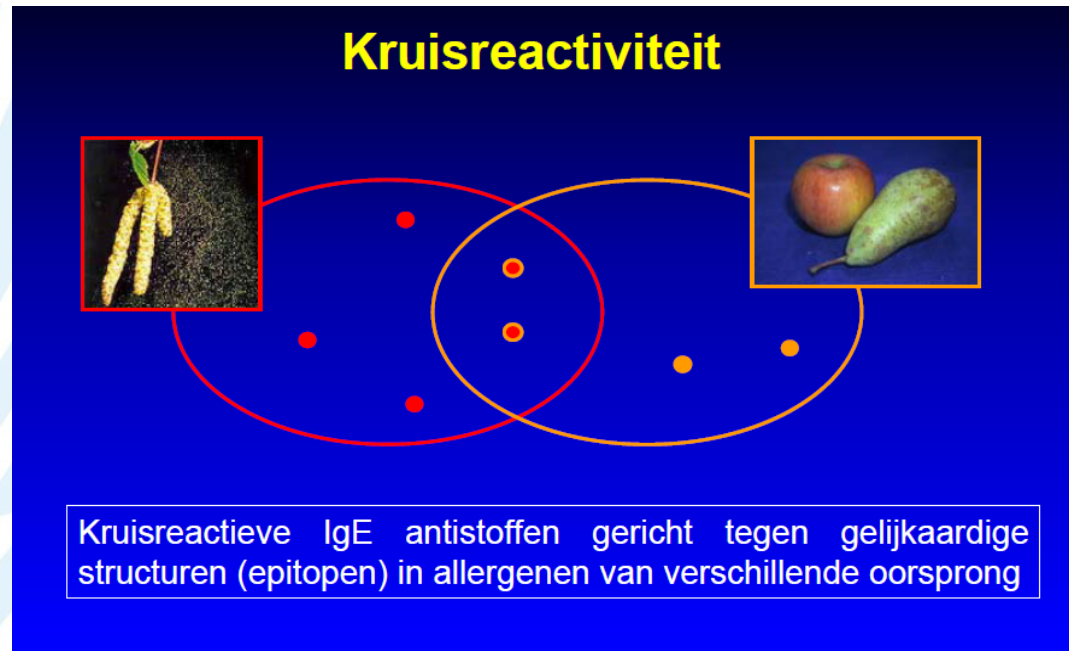
- specifiek
- kruisreactief
- stabiel/labiel

Kruisreactiviteit

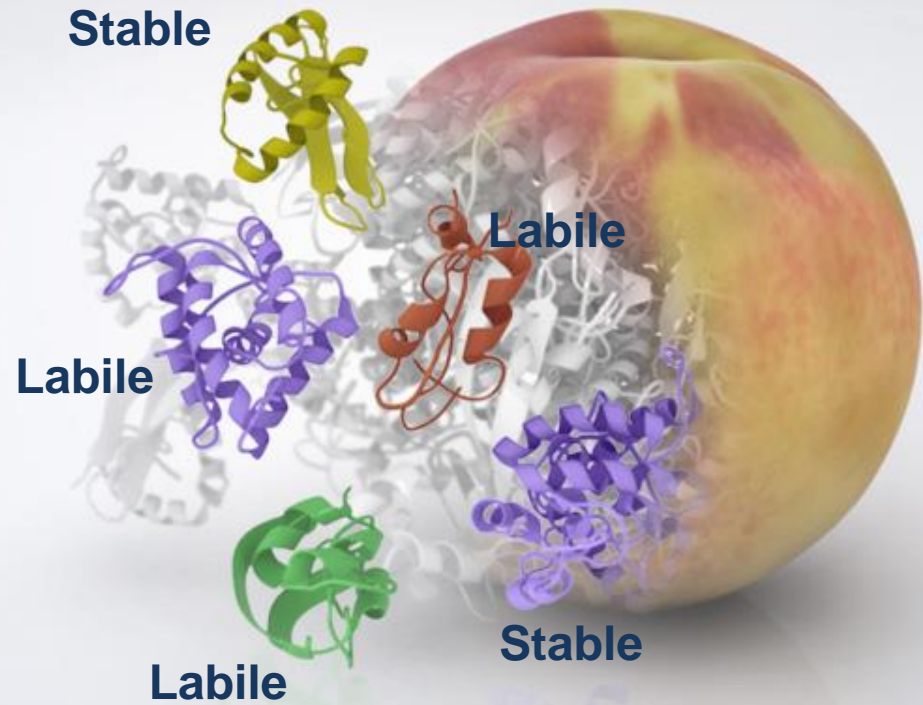
proteïnen waarvan analoge structuren voorkomen in andere soorten

biologisch verwante soorten
(eg. berk, hazelaar, wilg)

biologisch niet-verwante soorten
(eg. berk en appel, peer, kers, perzik ...)



Protein stability

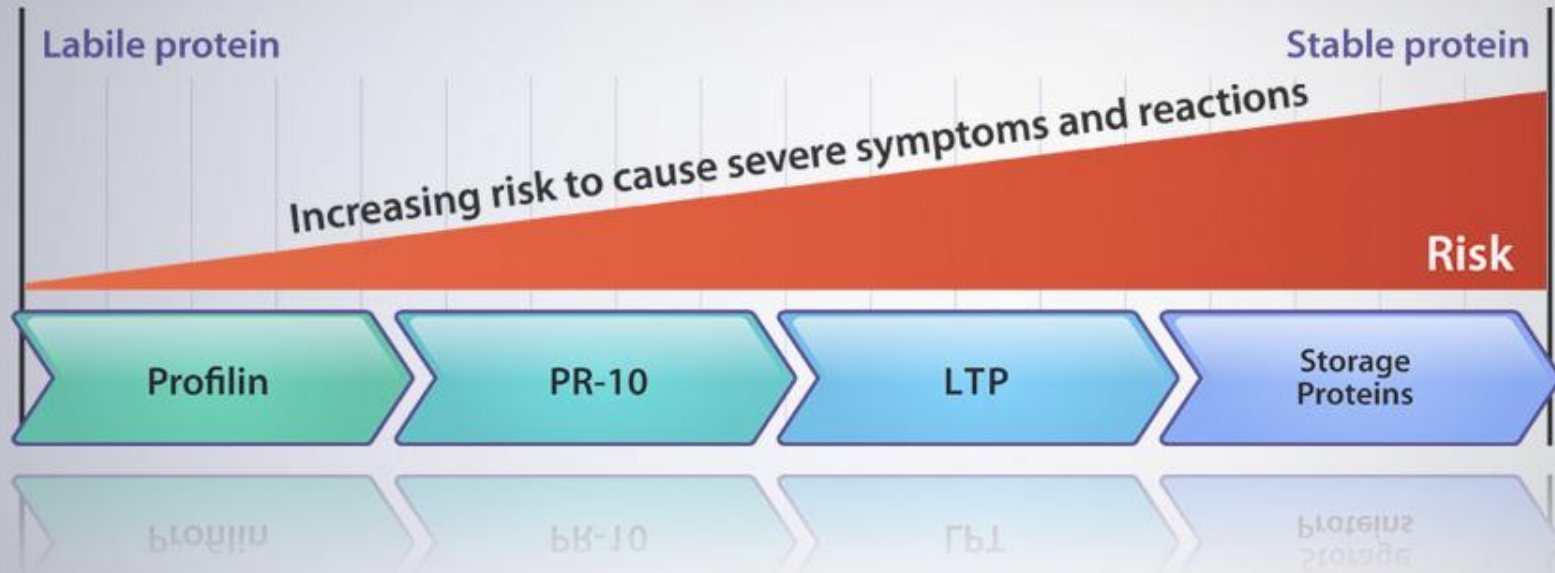


Eigenschappen van allergeen componenten

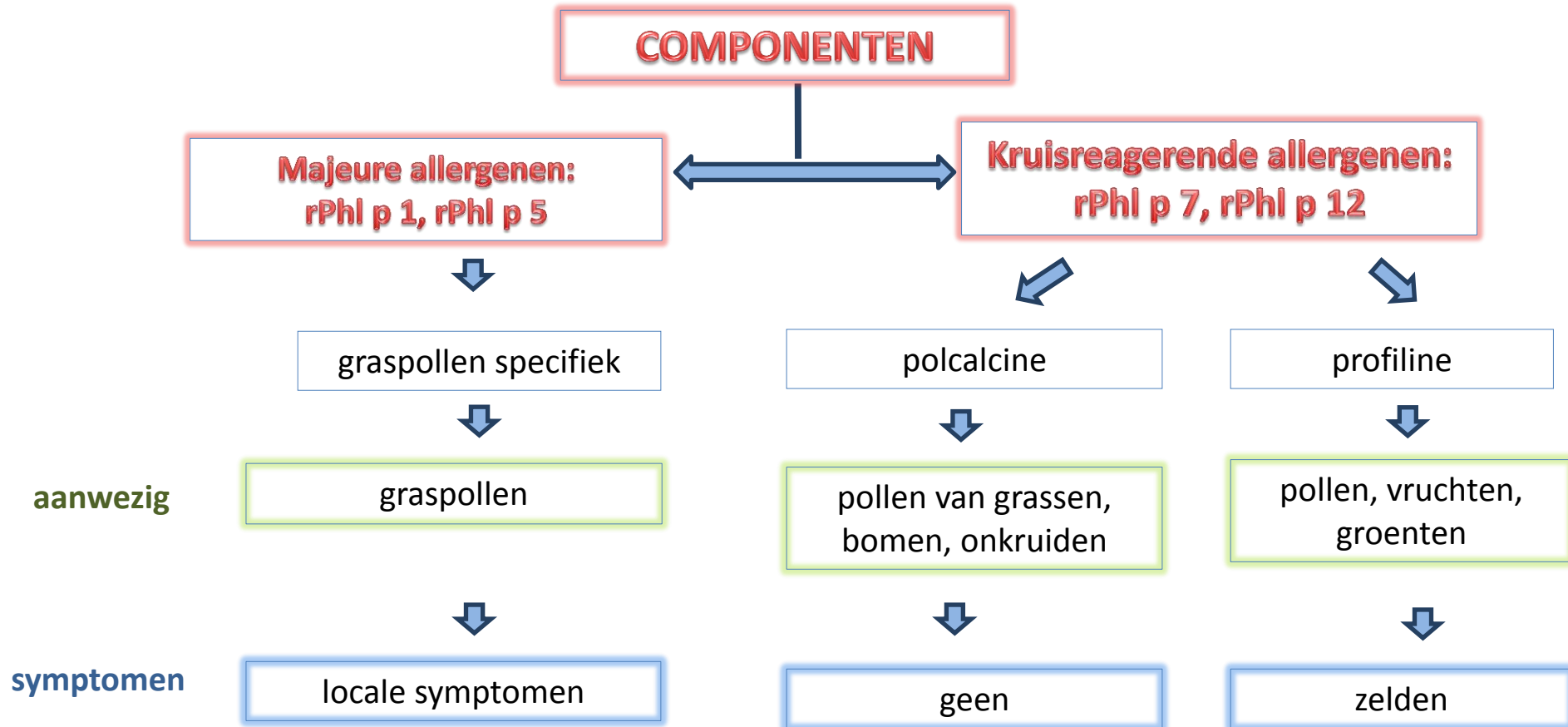
- warmte-labiele proteïnen
proteïnen gevoelig voor enzymatische digestie
(eg. PR-10, polcalcine, profiline)
→ **milde/locale symptomen**
- proteïnen resistent voor warmte en/of
enzymatische digestie (eg. LTP, stapeleiwitten)
→ **ernstige klinische reacties**

Proteïne familie/functie	Eigenschappen	Bron	Allergenen	Kruisreactiviteit	Klinische symptomen
PR-10 proteïnen (Bet v 1 superfamilie)	Majeur berken-pollen allergeen warmte labiel	berk hazelaar perzik kiwi pinda soja selder	Bet v 1 Cor a 1 Pru p 1 Act d 8 Ara h 8 Gly m 4 Api g 1	pollen en plantaardige voeding	lokale symptomen (OAS)
stapelproteïnen	stabiel, warmte resistent	hazelnoot pinda soja tarwe	Cor a 9, Cor a 14 Ara h1, 2, 3 Gly m 5, m 6 Tri a 19	geen/zelden	matig tot ernstig ook reactie op gekookte voeding
nsLTP	stabiel voor warmte, enzymatische digestie	bijvoet hazelnoot pinda perzik	Art v 3 Cor a 8 Ara h 9 Pru p 3	pollen en plantaardige voeding	systemische en ernstige reacties naast OAS Reacties op gekookte voeding
polcalcines	grassen, onkruid en boom pollen, niet in plantaardige voeding	grassen berk	Phl p 7 Bet v 4	pollen (pollen polysensibilisatie)	geen
profiline	Actine-bindend proteïne	grassen berk perzik latex	Phl p 12 Bet v 2 Pru p 4 Hev b 8	pollen, plantaardige voeding	zelden

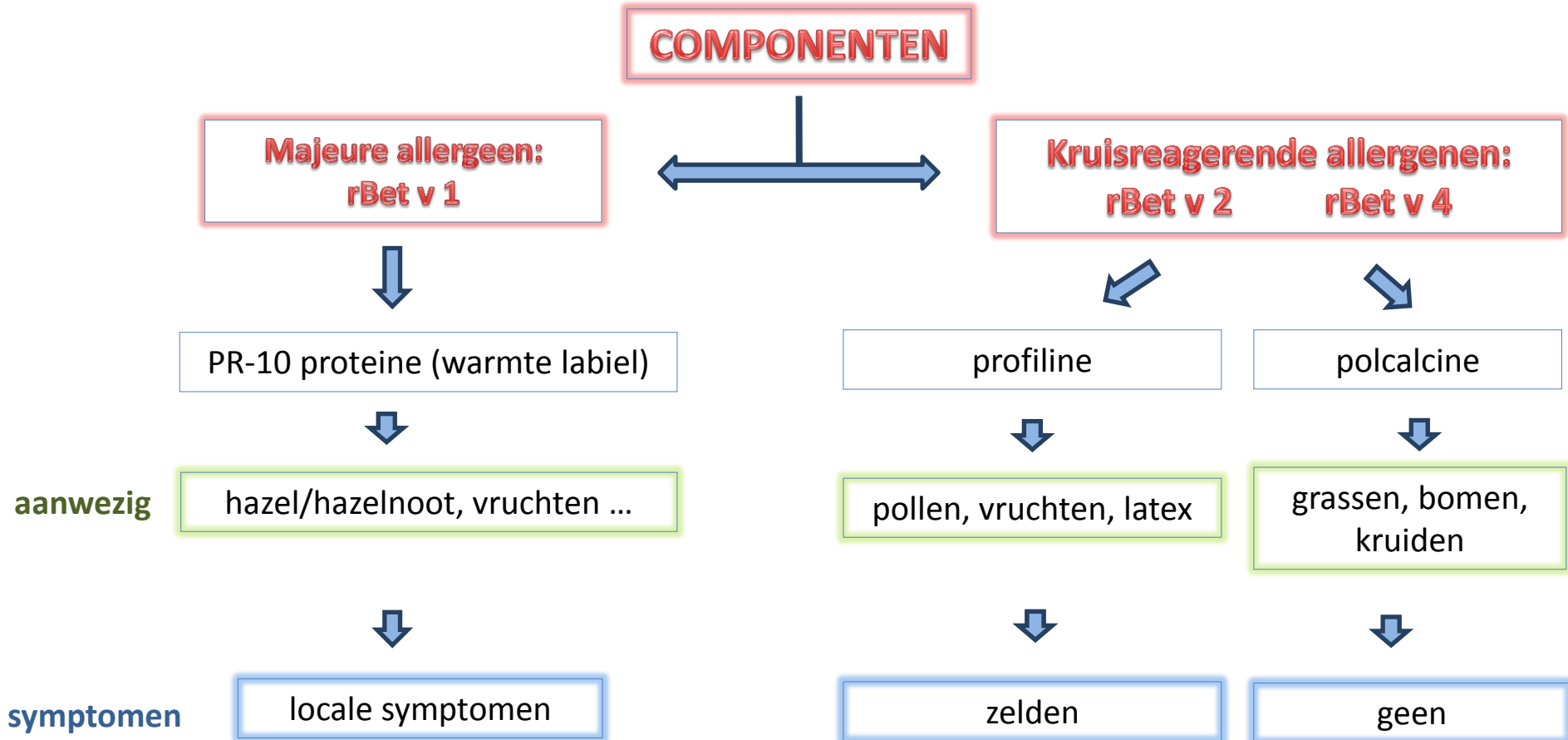
Risk assessment



Timothee graspollen extract (Phleum pratense): pos



Berkenpollen extract: pos



Klinisch voorbeeld

Patient 1 en 2: ernstige rhinoconjunctivitis: februari - mei

CAP	Pt 1 (kU/l)	Pt 2 (kU/L)
berkenpollen	15	8,5
graspollen	6.3	11.3
	<i>Diagnose: BP+ GP allergie ?!</i>	<i>Diagnose: BP+ GP allergie?!</i>
rBet v 1 (PR-10)	10.1	<0.1
rBet v 2 (profiline)	<0.1	6.3
rBet v 4 (polcalcine)	5.2	<0.1
rPhl p 1 (specifiek)	<0.1	7.3
rPhl p 5 (specifiek)	<0.1	<0.1
rPhl p 12 (profiline)	<0.1	5.7
rPhl p 7 (polcalcine)	5.8	<0.1
	Diagnose: BP allergie	Diagnose: GP allergie

Berkenpollen – fruit syndroom

- Tot 80% van BP allergische patienten ontwikkelen allergie voor voeding, vnl. **appel**, ook steenfruit (e.g. **perzik**), hazelnoot
- Belangrijkste componenten:
 - Appel: rMal d 1 (**PR-10**) en rMal d 3 (**LTP**)
 - Perzik: rPru p 1 (**PR-10**) en rPru p 3 (**LTP**)

Klinisch voorbeeld (1)

Patient 1 en 2: rhinoconjunctivitis in lente en vroege zomer (5 jaar geleden)

CAP (kU/L)	Pt 1	Pt 2
Berkenpollen	16	12

Diagnose: **BP allergie.**

Klinisch voorbeeld (2)

Huidige consultatie:

Patient 1: toegenomen rhinoconjunctivitis, orale jeuk na eten appel

Patient 2: stabiele rhinoconjunctivitis, zwelling in keel na eten van appel

CAP	Pt 1 (kU/l)	Pt 2 (kU/L)
berkenpollen	22.4	15.8
appel	16.2	12.7
rBet v 1 (PR-10)	21.1	14.6
rBet v 2 (profiline)	<0.1	<0.1
rMal d 1 (PR-10)	15.3	8.2
rMal d 3 (LTP)	<0.1	6.4
	<p>Diagnose: BP + appel allergie (PR-10 afh) Vermijdt rauwe appels</p>	<p>Diagnose: BP + appel allergie (LTP afh) Vermijdt appels, ook opgepast vr ander fruit, zelfs na verwarming</p>

Hazelnoot allergie

- incidentie: ↑ kinderen en volwassenen
- Leeftijdsgebonden sensibilisatie profiel
 - **Pre-school en schoolgaande kinderen:**
 - Eerste symptomen: atopische dermatitis
 - Vaak veralgemeende reacties op rauwe en op verwerkte hazelnoten
 - Antistoffen tegen **nCor a 9** en **rCor a 14** (stapeleiwitten), **rCor a 8 (LTP)**
 - **Primaire hazelnoot allergie**

Hazelnoot allergie

- Leef tijdsgebonden sensibilisatie profiel

- **Volwassenen:**

- Meestal patiënten met berkenpollen allergie
 - Klachten: OAS, tgv kruisreactie tussen **rCor a 1** (PR-10 proteïne van hazelnoot) en **rBet v 1** van berk
 - Reactie op rauwe noten

(cf. studie Ebo et al., 2014)

Hazelnoot: voorstel test profiel

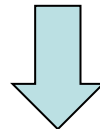
Hazelnoot + rCor a 1 (**PR-10**) + rCor a 9 en rCor a 14 (**stapel proteïnen**) + rCor a 8 (**LTP**)

Hazelnoot:	pos
rCor a 1:	neg
nCor a 9:	neg
rCor a 14:	neg
rCor a 8:	neg



Zeer laag risico voor reacties op hazelnoot Profiline?

Hazelnoot:	pos
rCor a 1:	pos
nCor a 9:	neg
rCor a 14:	neg
rCor a 8:	neg



Laag risico voor ernstige reacties op hazelnoot.
Mogelijks OAS tgv berkenpollen allergie

Hazelnoot:	pos
rCor a 1:	pos/neg
nCor a 9:	pos
rCor a 14:	pos
en/of Cor a 8:	pos/neg



Hoog risico voor ernstige reacties op hazelnoot
Ook op gekookte voeding

Klinisch voorbeeld 1

Jongen, 6 jaar oud

Sinds 2 jaar: rhinoconjunctivitis februari → mei

Anamnese: vermoeden van hazelnoot allergie. Mag patient hazelnoten eten??

CAP	kU/l
Hazelnoot	7.5
rBet v 1 (Pr-10)	67

CAP	kU/l
rCor a 1 (PR-10)	7.7
rCor a 8 (LTP)	<0.1
nCor a 9 (stapeleiwit)	<0.1
rCor a 14 (stapeleiwit)	<0.1

Klinisch voorbeeld 2

Meisje, 2 jaar oud

Urticaria en angiooedeem na tweede maal Nutella op fopspeen

CAP	kU/l
Hazelnoot	15

CAP	kU/l
rCor a 1 (PR-10)	<0,1
rCor a 8 (LTP)	<0.1
nCor a 9 (stapeleiwit)	0.7
rCor a 14 (stapeleiwit)	14.3



Soja allergie: test profiel

Soja + rGly m 4 (**PR-10**) + nGly m 5 en nGly m 6 (**stapelproteinen**)

Soja	Gly m 4	Gly m 5 / Gly m 6
pos	pos	neg
pos (neg)	neg	pos

- rGly m 4 (**PR10**):
 - OAS tgv berkenpollen allergie. **Opgelet:** vaak reacties op sojamelk (weinig verhitting)
 - warmte en enzyme gevoelig
- nGly m 5 en nGly m 6 (**stapelproteinen**):
 - geassocieerd met ernstige reacties
 - warmte en enzyme resistent

Klinisch voorbeeld 1

Meisje , 12 jaar oud

Sinds 5 jaar: rhinoconjunctivitis februari → april

Sinds 2 jaar: OAS na eten van appel, perzik

Recent: rhinoconjunctivitis, piepende ademhaling na soja drank

CAP	kU/I
rBet v 1 (Pr-10)	67
appel	4.3
soja	<0.1
CAP	kU/I
rPru p 1 (PR-10)	5.5
rPru p 3 (LTP)	<0.1
rGly m 4 (PR-10)	15.4

Klinisch voorbeeld 2

Jongen , 2 jaar oud

Sinds leeftijd van 4 m: eczeem; sinds leeftijd van 1 j: episodes van erytheem in gelaat, 1 maal na eten van nutella. Regelmatig diarree. Neemt sojamelk.

CAP	kU/l
hazelnoot	14.51
soja	13.43
CAP	kU/l
rCor a 8 (LTP)	0.19
nCor a 9 (stapeleiwit)	13.3
rCor a 14 (stapeleiwit)	0.17
nGly m 5 (stapeleiwit)	2.45
nGly m 6 (stapeleiwit)	12.67

**Noten en soja vrij dieet
ingesteld.
Klachtenvrij.**

Pinda allergie: test profiel

Pinda + rAra h 8 (**PR-10**) + rAra h 1/rAra h 2/rAra h 3 (**stapelproteinen**) + rAra h 9 (**LTP**)

Pinda	rAra h 8	rAra h 1/rAra h 2/rAra h 3	rAra h 9
pos	pos	neg	<i>pos</i>
pos (neg)	neg	pos	<i>neg</i>

- rAra h 8 (**PR-10**):
 - OAS tgv berkenpollen allergie
 - warmte en enzyme gevoelig
- rAra h 1/rAra h 2/rAra h 3 (**stapelproteinen**):
 - geassocieerd met ernstige reacties
 - warmte en enzyme resistent

Klinisch voorbeeld: vroegere consultatie

CAP	kU/L
Berk	23.1
Pinda	7.3
Hazelnoot	12.4
Cat	10.2
Dog	4.2
Diagnose	allergie aan berkenpollen, pinda, noten, huisdieren
Behandeling	pinda en noten-vrij dieet, vermijden contact met huisdieren

Huidige consultatie– Allergeen componenten

slgE test results (kU _A /l)			
Pinda	7.3	Hazelnoot	12.4
rAra h 1 (stapeleiwit)	0.2	Cor a 1 (PR-10)	12.8
rAra h 2 (stapeleiwit)	4.3	Cor a 8 (LTP)	<0.1
rAra h 3 (stapeleiwit)	<0.1	Berk	23.1
rAra h 8 (PR-10)	1.4		
rAra h 9 (LTP)	<0.1		

Besluit en consequenties

Wat zou gebeuren bij eten van pinda noten?

- Het test resultaat van Ara h 2 (stapeleiwit) duidt op een verhoogd risico voor ernstige reacties bij eten van pinda noten. Strikt vermijden van pinda is noodzakelijk.

Wat zou gebeuren bij eten van hazelnoten?

- Het test resultaat van Cor a 1 (PR-10) wijst op pollen-gerelateerde voedsel allergie die locale reacties in de mond kan veroorzaken bij eten van hazelnoten

Wat met de berkenpollen allergie?

- Sensibilizatie aan berkenpollen, medicamenteuze behandeling of IT

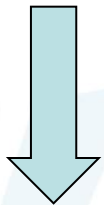
Tarwe allergie

- Frequent bij kinderen, ook bij volwassenen
- Kinderen: meestal uitgroei op schoolleeftijd
soms blijvend + ernstige reacties
- Teenagers en volwassenen: anafylaxie tgv
inspanning na tarwe consumptie
(**WDEIA**: wheat dependent exercise induced
anafylaxis)

Tarwe allergie: voorstel test profiel

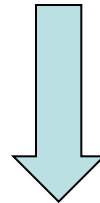
Tarwe en componenten

rTri a 14 (LTP)



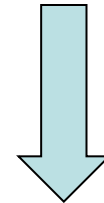
Risico voor klinische reacties

Gluten/Gliadine (α , β , γ , ω)



Risico voor ernstige, systemische reacties

rTri a 19 (ω -5 gliadine)



Risico voor ernstige systemische reacties

FDEIA?

*Opm: - gluten bevat naast gliadine ook nog glutenines
- persisterende IgE antistoffen tegen gliadine zijn geassocieerd met tragere tolerantie*

Klinisch voorbeeld

Patiënte, 53 jaar oud

Spoedopname (3x). Symptomen: urticaria, angioedeem, bewustzijnsverlies tijdens matige inspanning (dansen, snel wandelen) na een pasta maaltijd

CAP	kU/I
tarwemeel	0.48
CAP	kU/I
gluten	2.73
ω -5 gliadine (rTri a 19)	5.57

R/: inspanning vermijden tot 4 uur na een tarwe-rijke maaltijd
+ EpiPen 0.3 mg standby

FDEI anaphylaxis

Co-factoren

- NSAID
- Alcohol
- Hormonen
- Weersomstandigheden

Voeding geassocieerd met FDEI anaphylaxis

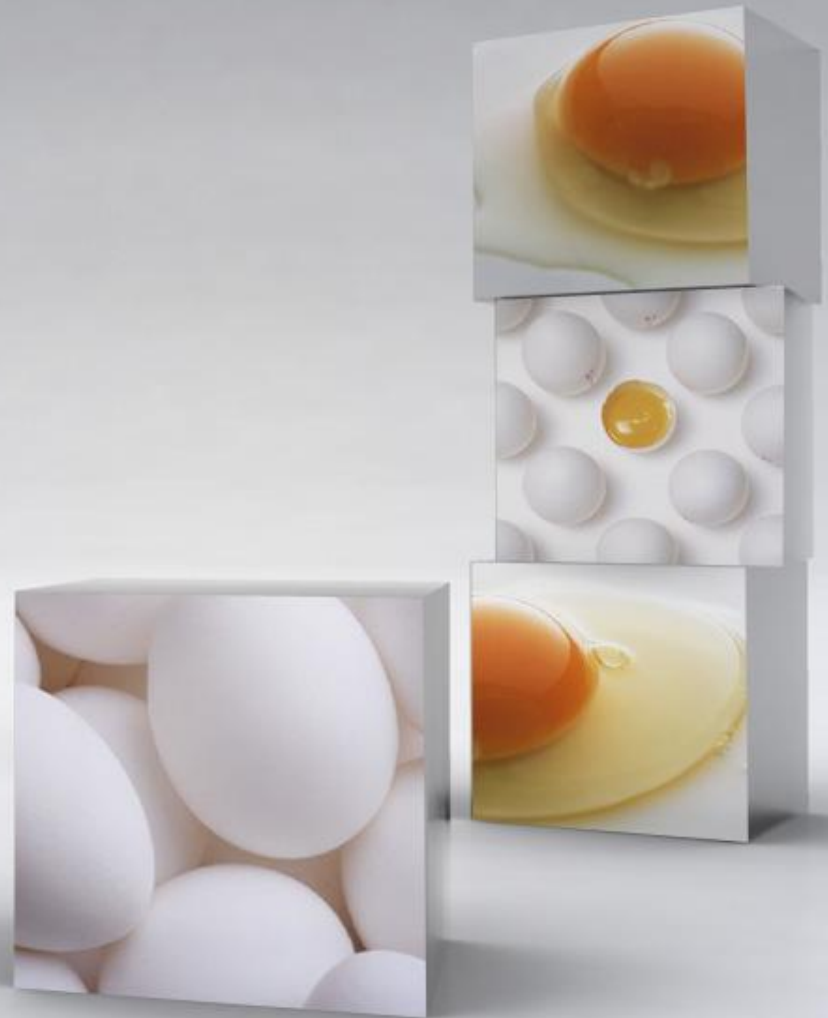
GHB: 78 patienten met “FDEIA”

	Aantal	%
Tarwe	22	28
Zeevruchten	19	24
Groenten	17	22
Fruit	5	6
Noten	5	6
Vlees	4	5
Melk	2	2.6
Ongedefinieerd	9	11.5

Allergenen van dierlijke oorsprong en dierlijke voedingsmiddelen

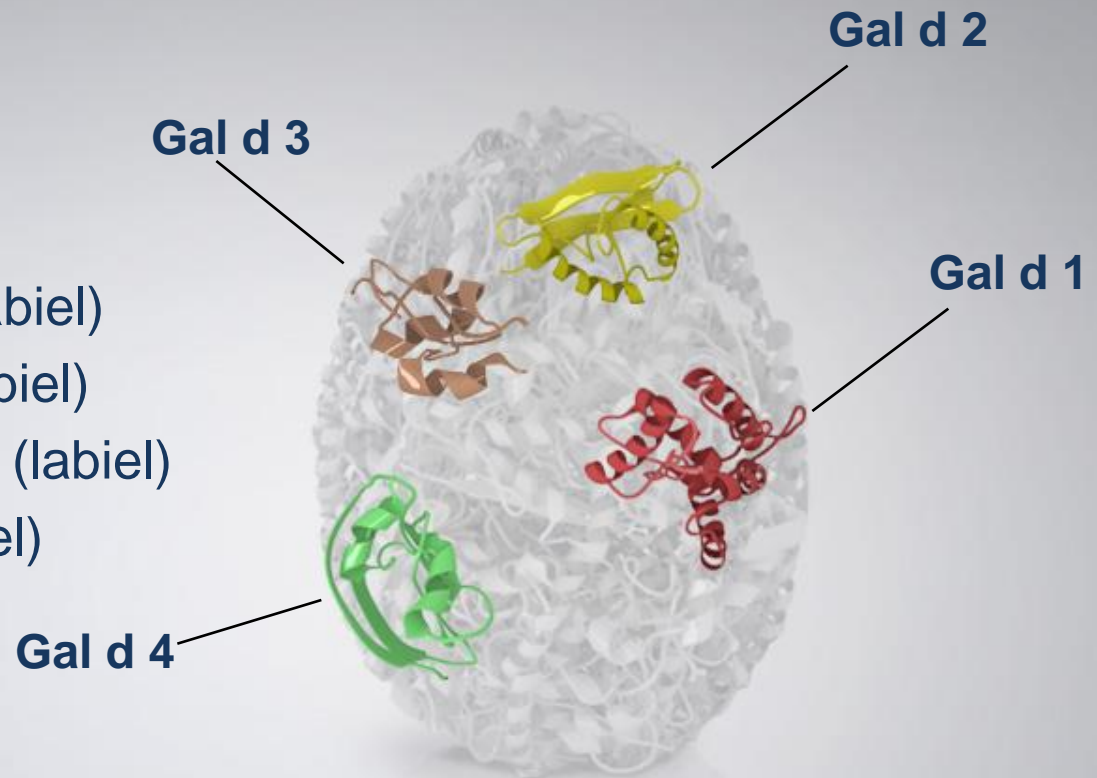
Ei allergie

- Belangrijke allergie bij kleine kinderen
- Verdwijnt vaak op school leeftijd
- Symptomen:
 - atopische dermatitis, urticaria, asthma, anafylaxie
- Prevalentie: 1-2%
- Gekookte/verwarmde eieren worden vaak verdragen



Belangrijkste ei componenten

- Ovomucoïd – Gal d 1 (stabiel)
- Ovalbumine – Gal d 2 (label)
- Ovotransferrine – Gal d 3 (label)
- Lysozyme – Gal d 4 (label)



Latijnse benaming: Gal d – *Gallus domesticus*

Sensibilizatie aan **ovomucoïd**:

- Risico op een reactie voor alle vormen van ei
- Persistente ei allergie
- Risico op systemische reacties

Afwezigheid van sensibilizatie aan **ovomucoïd**:

- Tolerantie voor gekookte eieren
- Quid: reactie op ovalbumine, conalbumine, lysosyme

Koemelk allergie: test profiel

melk



Bos d 4
 α -lactalbumine

Bos d 5
 β -lactoglobuline

Bos d
lactoferrine

Bos d 8
caseine

Bos d 6
BSA



warmte label
reactie verse melk
tolerantie mogelijk

warmte **stabiel**
reactie verse en
gekookte melk
hoge waarden:
persisterende
allergie

warmte label
reactie op
verse melk
in vlees/
epitheel
zoogdieren

Vlees allergie (galactose- α -1,3-galactose): Klinisch voorbeeld

VJ, 50 jaar oud

Anaphylactische shock: diffuus urticaria, angioedeem, kortademigheid, BD onmeetbaar

Geen voorafgaande medicatie

1 uur voordien: warme maaltijd: chipolata, aardappelen, rode kool, water

2x voordien: korte episode van kortademigheid en urticaria na maaltijd

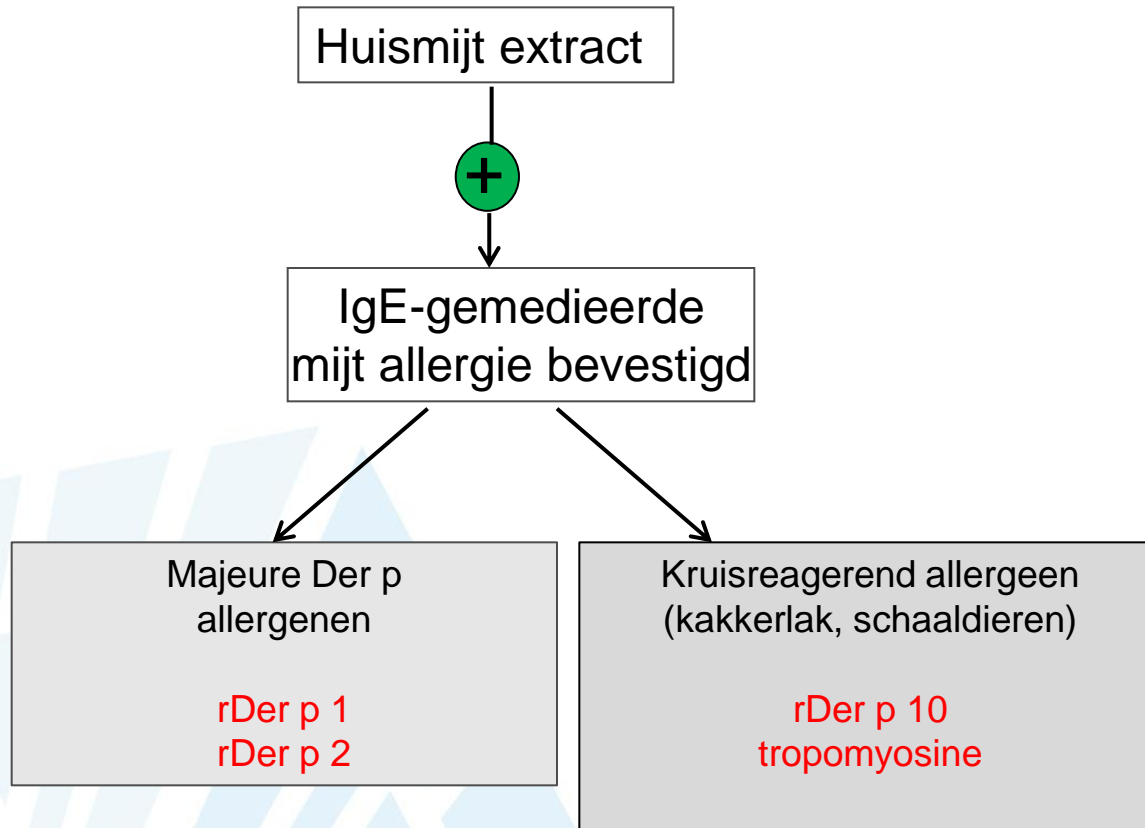
CAP	kU/L
rundsvlees	16.2
varkensvlees	11.9
kippenvlees	<0.1
koemelk	3.84
α -Gal	84.5

α -Gal: koolhydraat epitoom op glycoproteïnen bij zoogdieren

Reacties op α -Gal

- Vertraagde reactie tot 6 u na inname
- Meestal veralgemeende reacties: urticaria tot anaphylactische shock
- Gevogelte wordt verdragen
- Niet alle vlees-bevattende maaltijden veroorzaken symptomen. Reden ? (bereiding, dosis?)
- Opgelet: reactie mogelijk
 - op gelatine-bevattende medicatie (Gelofusin) en –voeding
 - op cetuximab

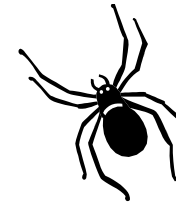
**Patienten met onverklaarbare urticaria of anaphylaxie:
test voor vlees allergie / α -Gal**



Immunologische verwantschap tussen invertebraten: **tropomyosine (rPen a 1)**



- **Schaaldieren: e.g. garnaal, krab, kreeft**
- **Weekdieren: e.g. schelpen, mosselen, oesters, slakken, inktvis**
- **Spinachtigen: e.g. mijten, spinnen**
- **Kakkerlak**



Reese G et al. Immunol 1999;119:247-58

Klinisch voorbeeld

Adolescent, 16 j

Sinds leeftijd van 3 j: rhinoconjunctivitis en asthma tgv huismijt.

Zomer 2010, na fietsen: eet voor eerste maal 3 scampi's:
veralgemeend urticaria en jeuk, zweten, duizeligheid

CAP	kU/l
Huismijt	12.40
Garnaal	47.30
rDer p 10 (HM tropomyosine)	28.30

CAP	kU/l
rPen a 1 (garnaal tropomyosine)	30.70

Parvalbumine: (rCyp c 1), rGad c 1

- rCyp c 1: Parvalbumine van karper
- rGad c 1: Parvalbumine van kabeljauw
- Parvalbumines zijn **stabiele allergenen**
- Parvalbumines zijn kleine (12-kDa) proteïnen met een opmerkelijke weerstand tegen warmte en proteolytische enzymen.
- Verantwoordelijk voor sensibilisatie van > 95% vis allergische patiënten



Bepaling van IgE antistoffen tegen componenten:

- toont aan voor welke allergenen de patient gesensibiliseerd en/of allergisch is
- detecteert species – specifieke allergenen
- detecteert merkers van kruisreactiviteit
- **merker om risico op ernstige reacties te voorspellen**