

## Alergénšpecifická imunoterapia a dôležitosť výberu správnych sérologických testov na alergie

**Atopická dermatitída psov** (Canine atopic dermatitis, CAD) je zápalové a pruritické kožné ochorenie s genetickou predispozíciou, asociované s IgE protilátkami proti alergénom prostredia<sup>1</sup>. To znamená, že CAD je chronické ochorenie a jeho genetický podklad spôsobuje, že je skoro nemožné ho vyliečiť, keďže vyhnúť sa enviromentálnym alergénom nie je možné. Je však možné ho kontrolovať a zabezpečiť dobrú kvalitu života postihnutého zvieratá.

### Alergénšpecifická imunoterapia: jediná existujúca kuratívna terapia

Alergénšpecifická imunoterapia (ASIT) je jediná liečba, ktorá môže zmeniť smerovanie ochorenia a je jedinou možnosťou kuratívnej liečby<sup>2</sup>. ASIT môže preučiť imunitný systém a transformovať ho z hyperreaktívneho na dormantný voči alergénom, voči ktorým je zviera senzitizedované. ASIT je efektívna a bezpečná cesta ako redukovať klinické príznaky AD u psov, mačiek a koní a existujú dôkazy podporujúce použitie ASIT ako terapie enviromentálnej alergie (AD) psov, mačiek a koní<sup>3</sup>. Desenzitizácia je efektívna u približne 50-75% atopických zvierat<sup>4</sup>.

Nástup účinku terapie môže byť však oneskorený o niekoľko mesiacov. Pre udržanie dobrej kvality života sa majú podľa potreby podávať protizápalové / antipruritické liečivá, kým nie je ASIT považovaná za dostatočne účinnú. Aby bolo možné posúdiť účinnosť ASIT, je potrebné zníženie dávky alebo vysadenie liečiv, pokiaľ sa dá.

### Potreba identifikácie alergénov pre výrobu ASIT

Na prípravu alergénšpecifickej imunoterapie (ASIT) je potrebné identifikovať alergény, voči ktorým je zviera hyperreaktívne. Pre výber alergénov, ktoré budú zahrnuté do ASIT, sa používa IgE sérológia alebo intradermálne testy (IDT)<sup>3</sup>. Oba testy sú na daný účel adekvátne a nebol pozorovaný rozdiel v účinnosti ASIT v závislosti od použitého testu<sup>5,6,7</sup>.

V súčasnosti je preferovaná IgE sérológia, nakoľko na priebeh testu sa vyžaduje len malé množstvo krvi.

Nevýhod IDT je veľa: potreba sedácie zvieratá (vyššie riziko), potreba strihania srsti na laterálnom hrudníku, nemožnosť robenia testu pri prítomnosti lézií, krátka expirácia alergénov (vyššie náklady), možné problémy s odčítaním a interpretáciou testu a napokon, absencia štandardizácie alergénov a ich účinnosti, čo vedie k značným rozdielom vo výsledkoch, dokonca aj medzi špecialistami v rámci jedného geografického regiónu<sup>8</sup>.

Čo sa týka IgE sérologických testov, ich spoľahlivosť závisí na dvoch základných faktoroch:

1. senzitivita a špecifita pre identifikáciu IgE (bez krížovej reakcie s IgG)
2. identifikácia a blokovanie skrížene reagujúcich karbohydrátových determinantov (CCD).

Významné rozdiely medzi laboratóriami v podstate vyplývajú zo zvýšeného počtu falošne pozitívnych výsledkov v dôsledku krížovej reaktivity IgE detegujúceho reagentu s IgG a detekcie IgE anti-CCD reakcií vedúcej k multipozitívnym výsledkom u peľov<sup>9</sup>.

Falošne pozitívne výsledky ovplyvňujú skladbu ASIT a jej terapeutickú účinnosť<sup>10</sup>.

IgE sérologické testy v LABOKLINE **nemajú problém s falošne pozitívnymi výsledkami**, lebo:

1. používajú unikátny rekombinantný fragment extracelulárnej časti alfa podjednotky ľudského vysoko afinitného receptora IgE (FcεR1a) (Heska Allercept), ktorý vykazuje silnú afinitu k psím IgE a nevykazuje skríženú reakciu s IgG<sup>11,12,1</sup>,
2. detegujú IgE proti CCD (skrížene reagujúce karbohydrátové determinanty a
3. majú systém blokovania anti-CCD IgE pri vzorkách pozitívnych na IgE proti CCD.

Navyše, nezávislá štúdia variability testov ukázala výnimočnú úroveň reprodukovateľnosti

v rámci testov aj medzi nimi a rovnakú úroveň účinnosti u psov aj mačiek.

**Absolútna špecifita detekcie IgE: alfa podjednotka receptora pre IgE**

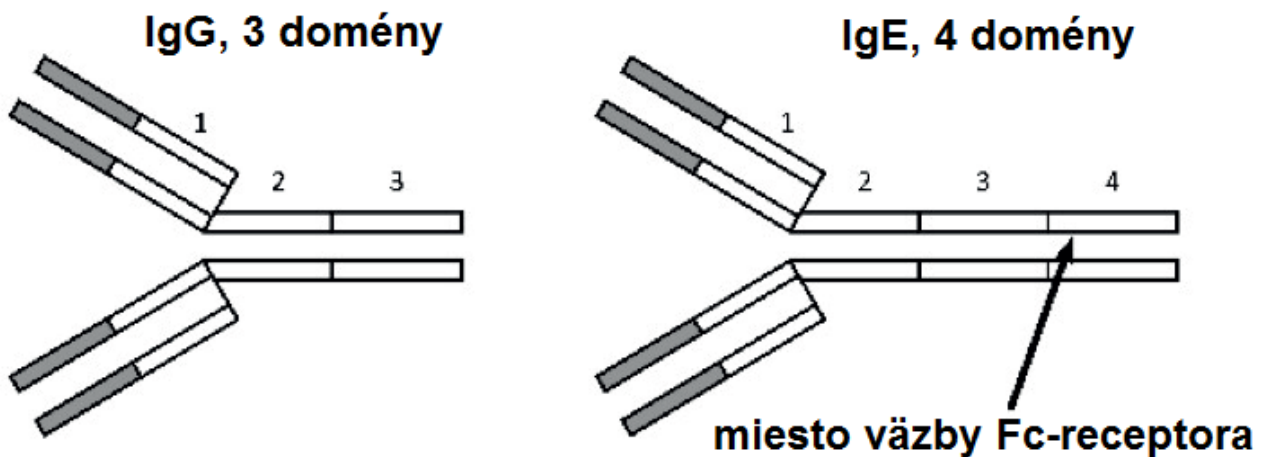
Použitie reťazca Fc-ε receptora (FcεR1α) prekonáva potenciálny problém skríženej reakcie s IgG, čo je najväčší a najbežnejší problém pri používaní polyklonálnych a monoklonálnych protilátok<sup>15</sup>.

IgE sú špecifické protilátky spojené s hypersenzitivitou a sú jediné relevantné pre

hodnotenie alergickej odpovede. Produkované sú aj IgG a sú v sére prítomné v koncentráciách 10 000 až 100 000 krát vyšších ako IgE. Rozlíšiť IgE molekuly od IgG v takýchto pomeroch je veľmi náročné a špecifita reagentu detegujúceho IgE je kľúčová.

Sila väzby a avidita Fc-ε receptora pre IgE je jedna z najsilnejších, aké v prírode môžeme nájsť.

Jej disociačná konštanta (Kd) je  $10 \times 10^{-10} M$  u väčšiny druhov zvierat, čo zaisťuje senzitivitu a špecifitu týchto testov.



**Čo sú skrížene reagujúce karbohydrátové determinanty?**

Peľové alergény sú zložené zo špecifických proteínov a bežných karbohydrátových reťazcov. Skrížene reagujúce karbohydrátové determinanty sú definované karbohydrátové časti glykoproteínových molekúl bunkového povrchu, bežné u mnohých rastlinných a hmyzích druhov<sup>12</sup>. Cicavce rozpoznávajú CCD ako cudzie antigény a môžu proti nim vyvinúť humorálnu imunitnú odpoveď<sup>16</sup>.

Anti-CCD IgE sú klinicky irelevantné, ale 20 až 37% ľudí a zvierat alergických na trávy a jedy hmyzu vytvára anti-CCD IgE<sup>17, 18</sup>.

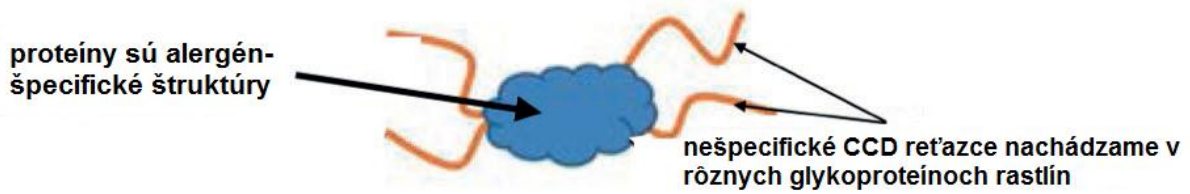
Jedy hmyzu tiež výrazne indukujú CCD špecifické IgE protilátky a pozitívne výsledky na peľové alergény je možné nájsť aj u osôb bez atopie, ale s alergiou na hmyzie jedy<sup>19, 20</sup>.

Alergickí pacienti produkujú špecifické IgE proti špecifickým proteínom alergénu. Môžu byť zároveň produkované aj anti-CCD IgE, ktoré nie sú relevantné pre alergické ochorenie, ale spôsobujú falošne pozitívne výsledky<sup>21</sup>.

**Relevancia identifikácie anti-CCD IgE**

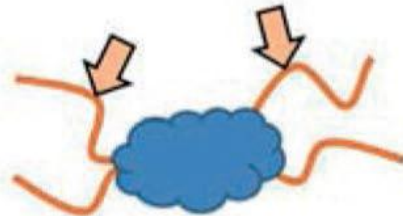
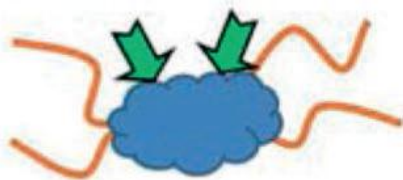
Anti CCD IgE reakcie nie sú alergénšpecifické, nie sú spojené s klinickým ochorením a produkujú falošne multipozitívne výsledky. Vedú k veľmi vysokým hodnotám IgE v testoch na peľ a hmyz<sup>22</sup>.

Testovanie pozitívne na anti-CCD IgE vedie k falošne pozitívnym výsledkom. Zahnutie irelevantných alergénov do ASIT ovplyvňuje účinnosť hyposenzibilizačnej terapie.



**ALERGICKÁ REAKCIA**  
IgE alergénšpecifické (zelené šípky)

**CCD REAKCIA**  
CCD-IgE (oranžové šípky)



každý alergén je proteín

CCD sú bežné štruktúry v rastlinných glykoproteínoch

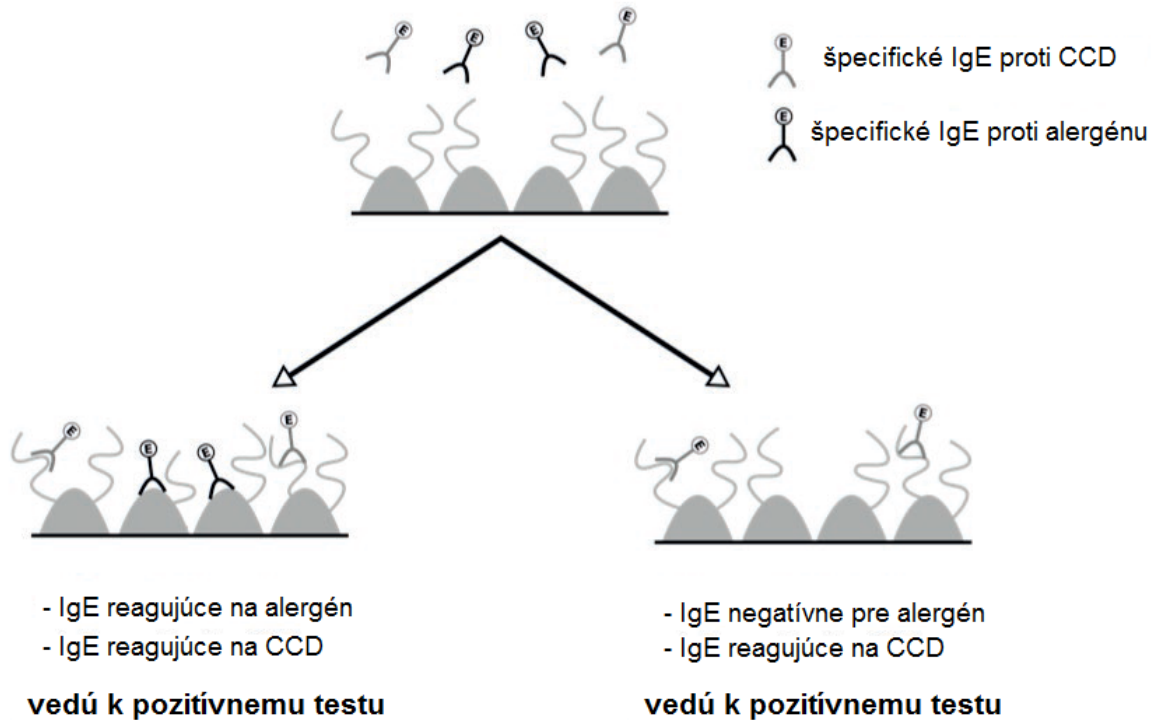
každá alergénšpecifická molekula IgE reaguje so špecifickým proteínom = alergénom

každá CCD-IgE reaguje proti mnohým rastlinným alergénom

**KLINICKY RELEVANTNÉ**

**KLINICKY NERELEVANTNÉ**

sérum obsahujúce anti-CCD IgE môže a nemusí byť pozitívne pre špecifické IgE proti alergénu



- IgE reagujúce na alergén  
- IgE reagujúce na CCD

- IgE negatívne pre alergén  
- IgE reagujúce na CCD

**vedú k pozitívnemu testu**

**vedú k pozitívnemu testu**

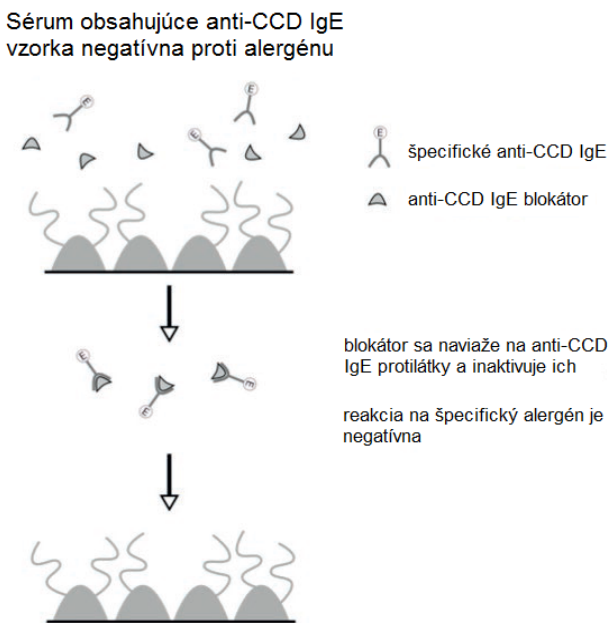
nie je možné odhadnúť % reaktivity spojenej s klinicky relevantnou alergénšpecifickou reakciou

pozitívny výsledok zakrýva absenciu klinicky relevantnej alergénšpecifickej reakcie

## Ako sa dá zabrániť falošne pozitívnym výsledkom spojeným s CCD?

LABOKLIN využíva unikátny CHO test, Fc-epsilon receptorový test, na identifikáciu anti-CCD IgE. Keď CHO deteguje anti-CCD IgE v sére pacienta, beží nový test, v ktorom je CCD reakcia blokováná. CHO test a blokovanie CCD reakcie sa používajú u všetkých vzoriek psov a mačiek pri všetkých sérologických testoch sezónnych a hmyzích alergénov. Pri experimente robenom na 500 prípadoch z celej Európy boli anti-CCD IgE detegované v 30% prípadov. Sensitivita testu je vyššia ako 88% a špecificita viac ako 94%.

### V skutočnosti negatívne vzorky (prípád 1):

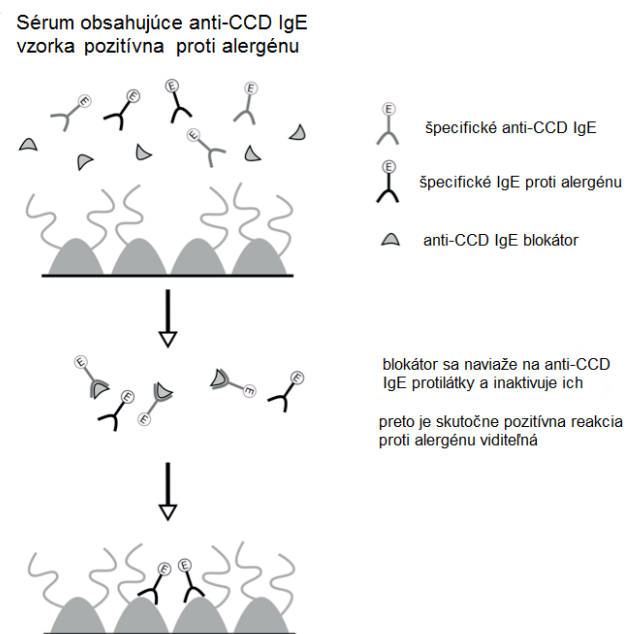


Blokovanie IgE-CCD zaistí, že sú detegované len IgE proti proteínovým alergénom. Predchádzajúci silne pozitívny výsledok bude transformovaný na skutočný slabšie pozitívny alebo na skutočne negatívny výsledok<sup>21</sup>.

Výsledky s blokovaním alebo bez neho sú vysvetlené v nasledujúcich schémach.

Tieto situácie budú viesť k špecifickej IgE reakcii, ktorá nie je klinicky relevantná. Výsledok IgE testu nie je interpretovateľný.

### Skutočne pozitívne vzorky (prípád 2):



### Závery:

1. ASIT je efektívna a bezpečná cesta na redukovanie klinických príznakov AD u psov, mačiek a koní a jediná možnosť terapie, ktorá môže byť kuratívna.
2. Na výrobu ASIT je potrebné identifikovať alergény, na ktoré je zviera alergické.
3. Sérologické testy sú jednoduché na vykonanie a na výber alergénov do ASIT rovnako vhodné ako intradermálny test.
4. Výber IgE testu môže mať najväčší vplyv na pozitívne/negatívne výsledky a následné terapeutické odporúčania<sup>24</sup>.

5. Použitie unikátneho Fc-ε receptorového alfa reťazca (FcεR1α) rieši potenciálny problém skříženej reaktivity s IgG.

6. Identifikácia anti-CCD IgE CHO testom a ich blokovanie zabraňuje falošne pozitívnym výsledkom a robí sérologické testy LABOKLINU najspoľahlivejšie na trhu.

7. LABOKLIN uľahčuje diagnostiku a terapiu alergií vám a vašim pacientom.





*Alergénšpecifická imunoterapia pomáha našim psom a mačkám byť bez klinických príznakov. Kvalita života je pri dobrej kontrole ochorenia oveľa vyššia.*

## Bibliografia

- Olivry T, DeBoer DJ, Griffin CE, Halliwell RE, Hill PB, Hillier A, Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:143–146. doi: 10.1016/S0165-2427(01)00343-9
70. Saridomichelakis MN, Olivry T. An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J.* 2016;207:29–37. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.09.016.
- Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, et al. Treatment of canine atopic dermatitis: 2010 clinical practice guidelines from the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis. *Vet Dermatol.* 2010;21:233–48. doi: 10.1111/j.1365-3164.2010.00889.x.
- Loewenstein C, Mueller RS. A review of allergen-specific immunotherapy in human and veterinary medicine. *Vet Dermatol.* 2009;20(2):84–98. doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00727.x.
- Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C. Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.* 2015; 11: 196. Published online 2015 Aug 11. doi: 10.1186/s12917-015-0515-5
- Olivry T, Paps J. Evaluation of the agreement between allergen-specific intradermal or IgE serological tests and a point-of-care immunodot assay in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2011;22(3):284–285. doi: 10.1111/j.1365-3164.2010.00936.x.
- Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014;25(1):15–e16. doi: 10.1111/vde.12104
- Park S, Ohya F, Yamashita K, Nishifuji K, Iwasaki T. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *J Vet Med Sci.* 2000;62(9):983–988. doi: 10.1292/jvms.62.983.
- Hensel P. Differences in allergy skin testing among dermatologists within the same geographical region in the USA. *Vet Dermatol.* 2012;23(Suppl. 1):60.
- Aberer W, Holzweber F, Hemmer W, Koch L, Bokanovic D, Fellner W, Altmann F. Inhibition of cross-reactive carbohydrate determinants (CCDs) enhances the accuracy of in vitro allergy diagnosis. *Allergol Select.* 2017; 1(2): 141–149. Published online 2017 Aug 4. doi: 10.5414/ALX01638E
28. Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014;25:15–e6. doi: 10.1111/vde.12104.
- Wassom DL, Grieve RB. In vitro measurement of canine and feline IgE: a review of FcεR1a-based assays for detection of allergen-reactive IgE. *Vet Dermatol.* 1998;9:173–178. doi: 10.1046/j.1365-3164.1998.00121.x.
- Stedman K, Lee K, Hunter S, Rivoire B, McCall C, Wassom D. Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human high affinity IgE receptor. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;78(3-4):349–355. doi: 10.1016/S0165-2427(01)00242-2.
- Structure of the Fc fragment of human IgE bound to its high-affinity receptor FcεR1α. Scott C. Garman et al. *Nature* 406 (2000) 259–266.
- Thom N, et al. Intra- and interlaboratory variability of allergen-specific IgE levels in atopic dogs in three different laboratories using the Fc-ε receptor testing. *Vet. Immunol. & Immunopathol.* 133 (2010) 183–189.
- Stedman et al. Measurement of canine IgE using the alpha chain of the human highaffinity IgE receptor. *K. Veterinary Immunology and Immunopathology* 78 (2001) 349–355.
- Pia Gattinger, Irene Mittermann, Christian Lupinek, Gerhard Hofer, Walter Keller, Urska Bidovec Stojkovic, Peter Korosec, Christine Koessler, Natalija Novak, Rudolf Valenta. Recombinant glycoproteins resembling carbohydrate-specific IgE epitopes from plants, venoms and mites. *EBioMedicine.* 2019 Jan; 39: 33–43. Published online 2018 Dec 20. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.12.002 PMID: PMC6354707
- Levy BJ, DeBoer DJ. A preliminary study of serum IgE against cross-reactive carbohydrate determinants (CCD) in client-owned atopic dogs. *Veterinary Dermatologist.* 2018. Volume 29, Issue 3.
- Yokoi H, Yoshitake H, Matsumoto Y, Kawada M, Takato Y, Shinagawa K, Sakurai H, Saito K. Involvement of cross-reactive carbohydrate determinant-specific IgE in pollen allergy testing. *Asia Pac Allergy.* 2017 Jan; 7(1): 29–36. Published online 2017 Jan 26. doi: 10.5415/apallergy.2017.7.1.29.
- Mahler V, Gutgesell C, Valenta R, Fuchs T. Natural rubber latex and hymenoptera venoms share Immunoglobulin E-epitopes accounting for crossreactive carbohydrate determinants. *Clin Exp Allergy.* 2006; 36: 1446–1456. CrossRef PubMed
- Kochuyt AM, Van Hoeyveld EM, Stevens EA. Prevalence and clinical relevance of specific immunoglobulin E to pollen caused by sting-induced specific immunoglobulin E to cross-reacting carbohydrate determinants in Hymenoptera venoms. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35: 441–447.
- Friedrich Altmann. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int.* 2016; 25(4): 98–105. Published online 2016 Jun 25. doi: 10.1007/s40629-016-0115-3
- Holzweber F, Svehla E, Fellner W, Dalik T, Stubler S, Hemmer W & Altmann F. Inhibition of IgE binding to cross-reactive carbohydrate determinants enhances diagnostic selectivity. *Allergy.* 2013 Oct; 68(10): 1269–1277. Published online 2013 Sep 21. doi: 10.1111/all.12229
- Plant JD, Neradelik MB, Polissar NL, Fadok VA, Scott BA. Agreement between allergen-specific IgE assays and ensuing immunotherapy recommendations from four commercial laboratories in the USA. *Vet Dermatol.* 2014 Feb; 25(1): 15–e6. Published online 2014 Jan 24. doi: 10.1111/vde.12104