



# Allergia vizsgálati módszerek

---

**Berki Tímea**

Pécsi Tudományegyetem,  
Immunológiai és Biotechnológiai Intézet

# Az allergén jellemzői

---

- Olyan fehérjék vagy fehérjéhez kötődő kemikáliák, amikkel krónikusan, ismételten találkozunk
- Alacsony molekulahúly, glykoziláltak, nagy az oldékonyságuk testfolyadékokban
- Enzimatisus aktivitásuk van (lehet)
- Saját fehérjéhez kötött kismolekulák -haptén (pl. penicillin)
- T-sejt dependens immunválaszt váltanak ki
- Antigének, amelyek nem stimulálják a veleszületett immunvédekezést (nem okoznak makrofág aktivációt) → nincs IL-12, IL-18 szekréció → Th2 irány

# Allergiára hajlamosító faktorok

Medscape

## Environmental factors:

- Allergic sensitization
- Western lifestyle
- Excessive hygiene
- Excessive antibiotics
- Stable intestinal microflora
- Single child in family
- Low helminth burden
- Vaccination

## Genetic factors:

- Genes related to innate immunity, immunoregulation, Th2 differentiation, epithelial and mucosal immunity, lung function and so on

Atopy

## Intrinsic defects in target organs:

- Respiratory epithelium
- Gut epithelium
- Epidermis

## Environmental triggers:

- Allergen
- Infections
- Air pollution
- Smoking

Allergic disorder

# Allergén tulajdonságot befolyásoló faktorkok

---

## Intrinsic

- Molekulasúly
- Koncentráció
- Oldékonyság
- Stabilitás
- Idegenség
- Biokémiai aktivitás
- Emésztésnek ellenáll
- Főzésnek ellenáll

## Extrinsic

- Légszennyezés
- Cigarettafüst
- Vírusfertőzések
- Öröklődés
- Születés évszaka
- Hygénia
- Születési súly

# Allergének kémiai jellemzése

---

- Hydrolytikus enzimek – proteázok, carbohydrase, ribonuclease (atka, gomba, pollen)
- Pectin lyase, enolase, aldolase, alcohol dehydrogenasae aktivitású
- Enzim inhibitor aktivitású
- Transzportfehérjékkel homológia
- Regulátor fehérjékkel analógia

# Gastrointestinális antigének

---

## ○ Étel:

Tehéntej

Mogyoró, mandula

Gabonafélék

Gyümölcs

Tojás

Hús

Hal

Tenger gyümölcsei

## ○ Nem-étel

Bacteriális antigének

Vírus antigének

Gombák antigénjei

Férgek

Légúti antigének

Kemikáliák

Gyógyszerek

# Allergiás kontakt ekcéma okai

---

- Nikkel - Pénzérme, óra, ékszer
- Kobalt - Fémtárgyak, nedves cement
- Illatanyagok - Kozmetikumok
- Lanolin - Kozmetikumok krémek
- P-Phenylendiamin - hajfestékek, prémfestékek
- Epoxi gyanta - Ragasztóanyagok

# Légúti allergénekkal keresztreakciót mutató ételek: „Oral allergy syndrome”

---

- Nyírfa pollen
  - alma, mogyoró, csonthéjas gyümölcsök (barack, szilva, meggy) méz, burgonya, kiwi
- Fűvek
  - Dinnye, paradicsom, narancs, meggy, burgonya
- Parlagfű (ambrózia)
  - Dinnye, banán, sárgarépa, alma, kamilla, mandula, mogyoró
- Házipor atka
  - Hal, Csigá
- Latex
  - Banán, gesztenye, avokádó, kiwi, Aspergillus fumigatus



# Allergén-specifikus bőrteszt

---

DTH: késői hyperszenzitiv reakció

IgE-mediálta azonnali reakció



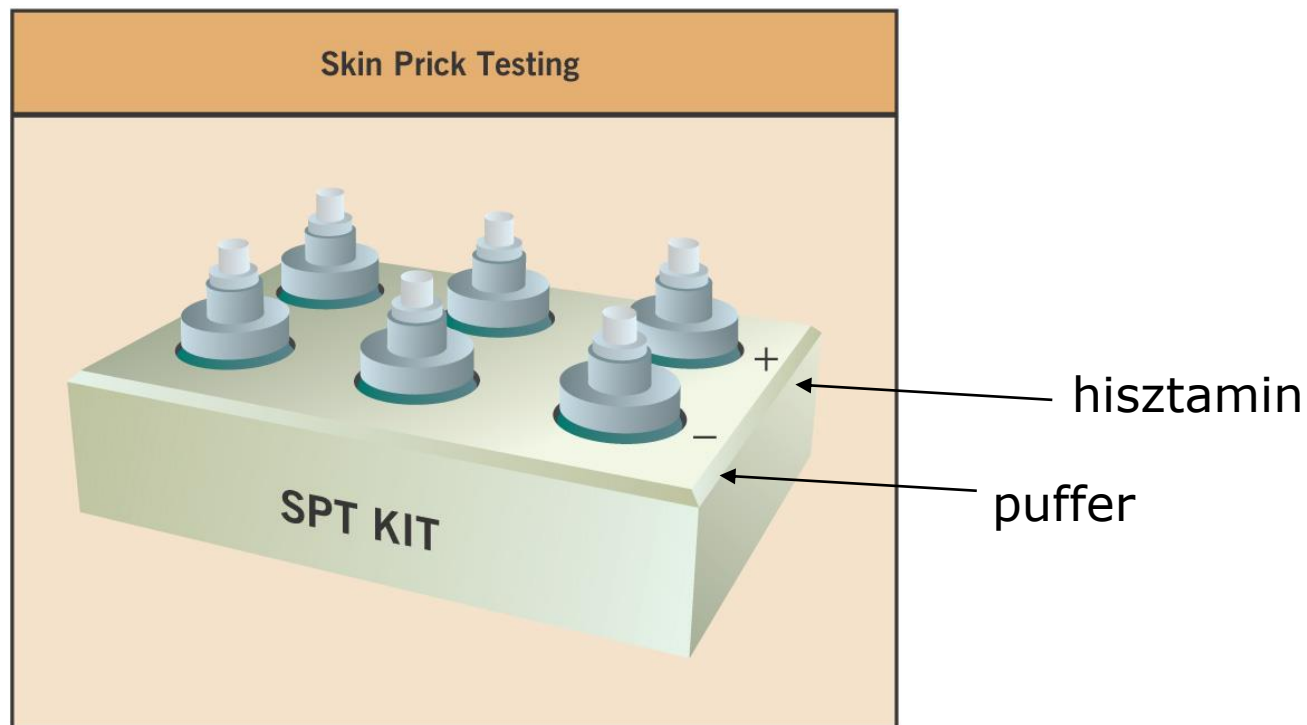
Leolvasás: 30 min



Leolvasás: 48h

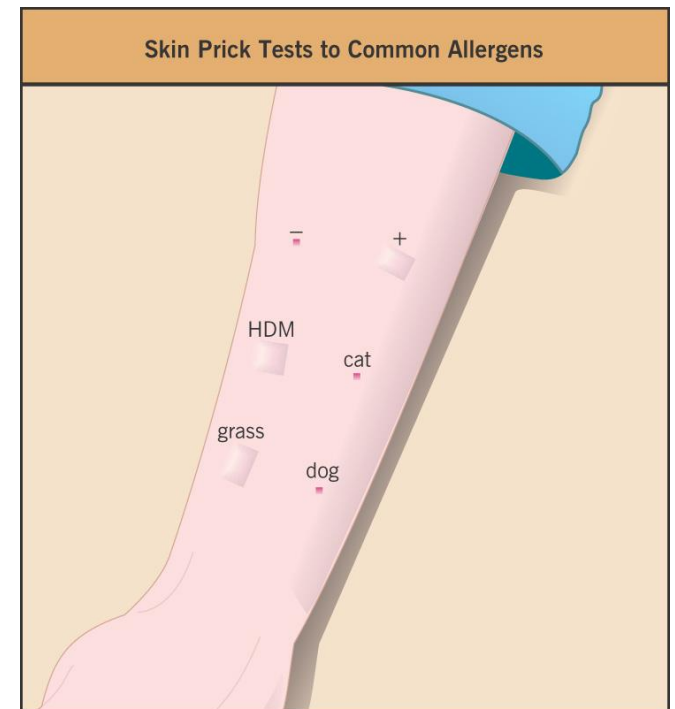
# Skin prick test (SPT)= in vivo allergén bőrteszt

- Érzékenyebb, de kevésbé specifikus, mint az allergén specifikus IgE mérés
- UK allergén csoportok: kutya, macska, házipor atka, fűvek



# Miért hasznos, mire használjuk?

- Atopia diagnózisa/kizárása
- Allergia diagnózist segíti a klinikai kép mellett
- Segít a beteggel megértetni a betegségét
- Segít döntést hozni a beteg sorsát illetően- pl kutya eltávolítása, immunotherápia választása
- Allergén-specifikus IgE-vel kiváltható



# Allergén-specifikus bőrteszt

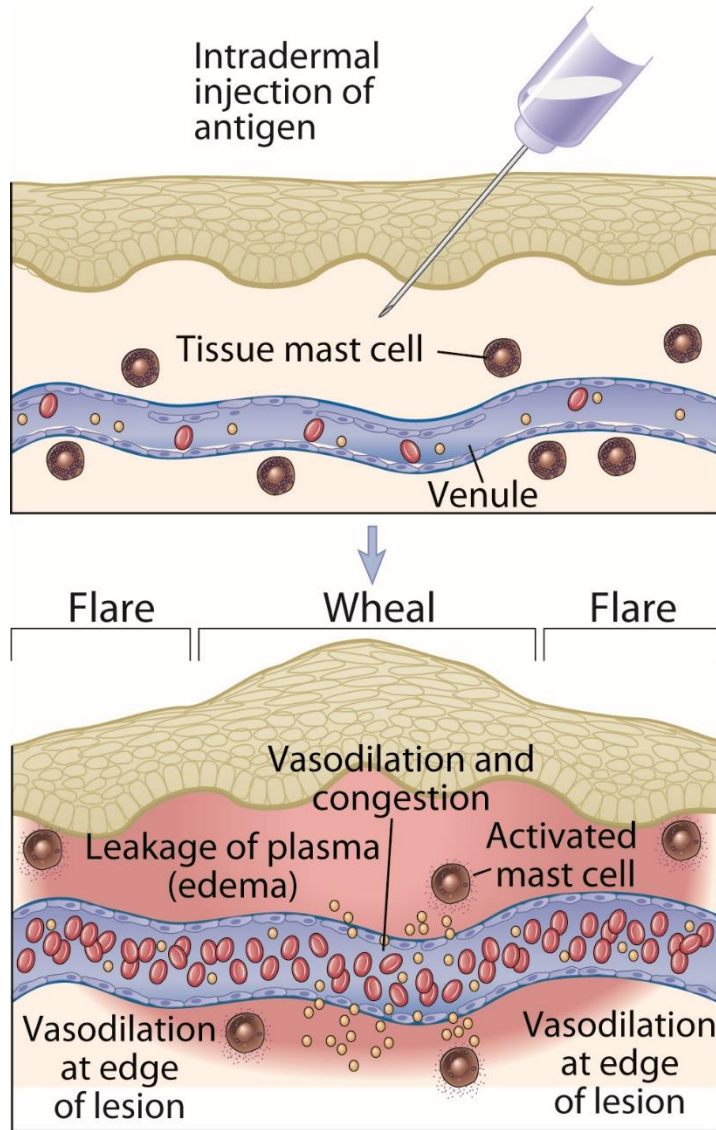


Fig. 19-8

# Mikor javasolt allergiás vérvizsgálat?

---

Akkor javasolt, ha valamilyen ok miatt nem értékelhető vagy ellenjavallt a bőrteszt. Ilyen esetek lehetnek:

- A beteg nem képes tolerálni a bőrteszttel járó intradermalis tűszúrásokat.
- Olyan, a bőrteszt eredményét befolyásoló gyógyszerek szedése, melyeket még pár napra sem hagyhat abba a beteg. Ide tartoznak egyes antidepresszánsok, az antihisztaminok és a szisztémás szteroidok.
- A betegnek súlyos asztmában szenved, vagy rossz az általános állapota, például szívbetegsége van.
- A beteg súlyos generalizált ekcémában, psoriasisban vagy egyéb, nagy felületet érintő bőrbetegségben szenved.
- Anamnézisében bőrteszt során súlyos allergiás reakció szerepel, vagy korábban életveszélyes anafilaxiás reakció lépett fel nála.
- Az allergiatesztek eredményét a diagnózis felállításán túl az immunterápia hatékonyságának a nyomon követésére, illetve a bőrtesztek eredményének a megerősítésére is fel lehet használni.

## In vitro tesztek: – 1: totál IgE

---

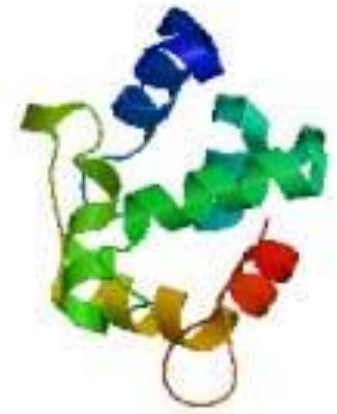
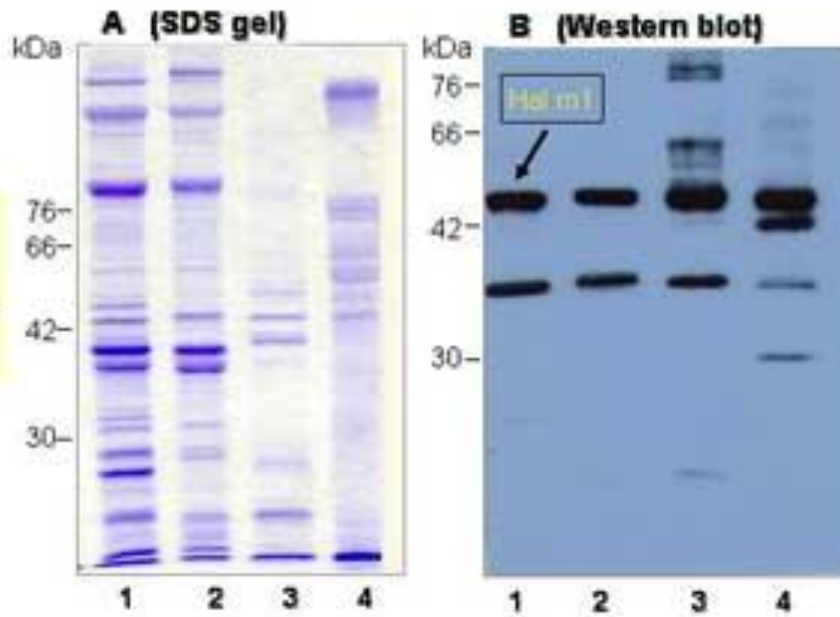
- Szérum IgE 10 000x kevesebb, mint az IgG
- Köldökzsínór vérben 1ng/ml
- Normál < 200ng/ml
- Allergia: 3-600 ng/ml

# Allergének izolálása

---

- Eredeti allergénből vizes extrakcióval – majd kromatográfia
- Allergén specifikus monoklonális ellenanyaggal
- DNS technika: allergén klónozása

- 1. *H. midae*
- 2. *H. rubra*
- 3. Cooked *H. midae*
- 4. Dried *H. midae*

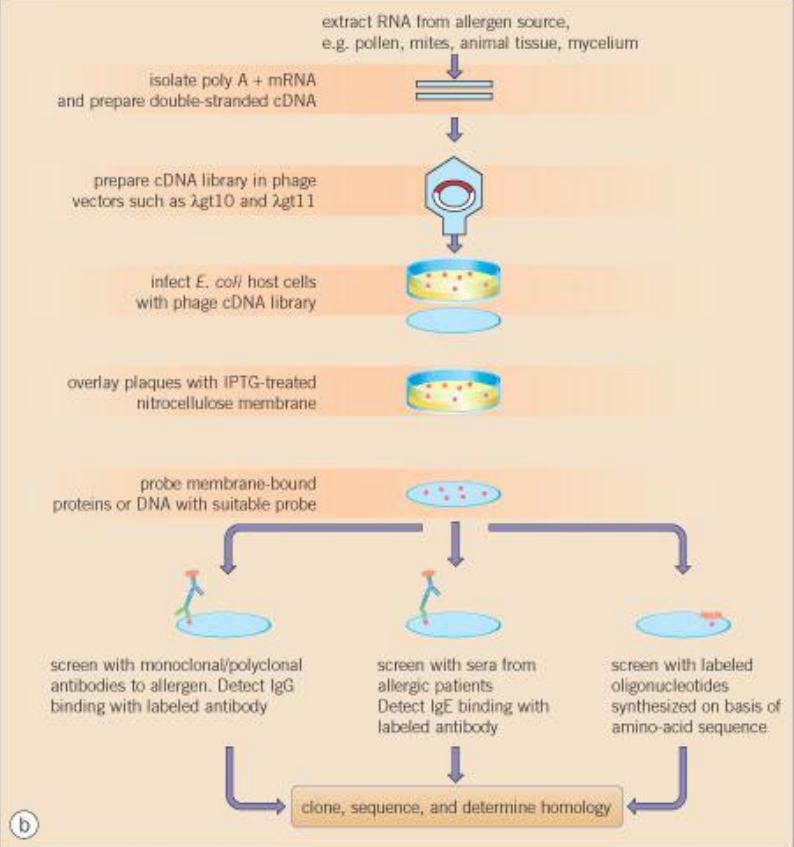
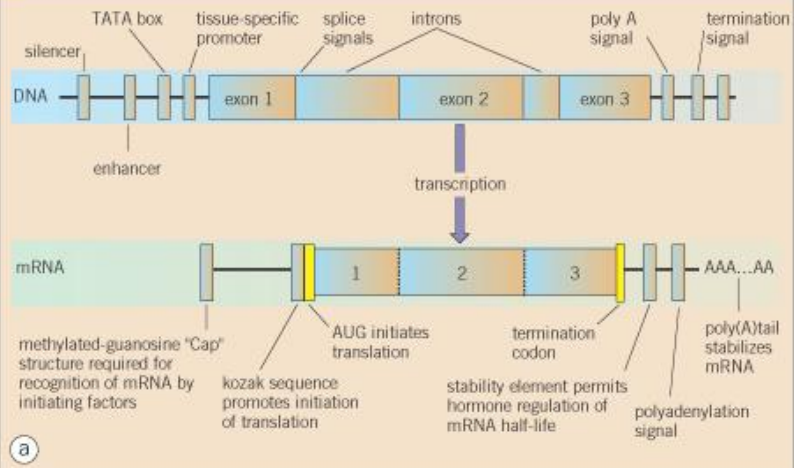


Tertiary structure of Parvalbumin, the major allergen found in most fish species

Novel allergens identified in *Haliotis midae* (abalone)



## Cloning of Allergens

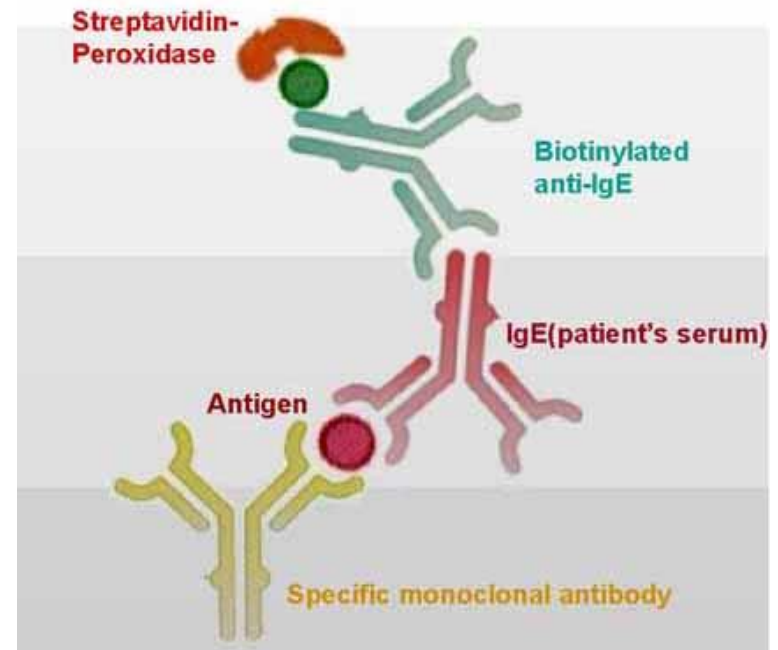
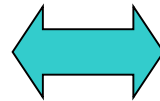
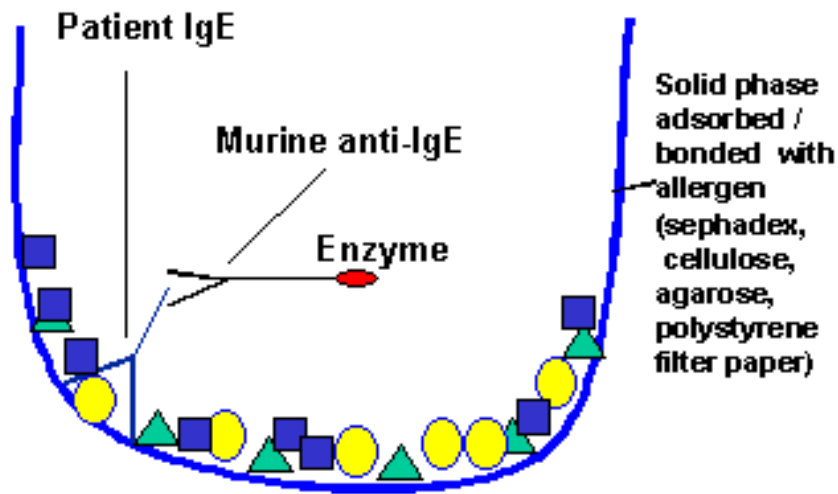


## In vitro tesztek: – 2: allergén specifikus IgE

---

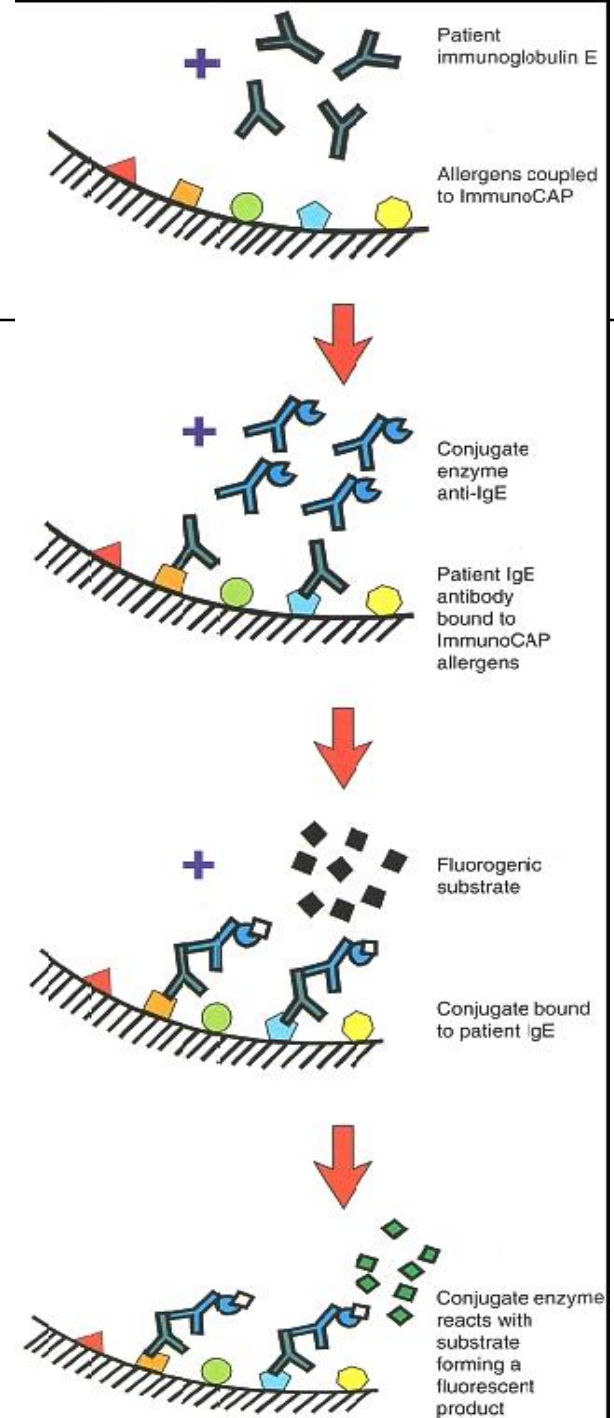
- RIA
- ELISA
- Kemilumineszcens módszerek
- Western blot - Immunoblot
- Basophil hisztamin release

# Allergén specifikus IgE ELISA szűrőteszt – szolid fázisú



Tisztított allergén helyett allergén specifikus mAb

# ELISA lépései:



## ALLERGYSCREEN PANELEK

Inhalatív panelek			
Kódszám: R1012			
Mérőhely	10 Resp B	Mérőhely	10 Resp C
1.	D.pteronysinus	11.	macska
2.	D.farinae	12.	kutya
3.	égerfa	13.	tengerimalac
4.	nyírfa	14.	nyúl
5.	mogyoró	15.	aranyhőrcsög
6.	12 fűkeverék*	16.	tollkeverék**
7.	rozs	17.	Penicillium not.
8.	fekete üröm	18.	Cladosporium
9.	lándzsás útifű	19.	Aspergillus fum.
10.	parlagfű	20.	Alternaria alt.
	pozitív kontroll		pozitív kontroll

Meghatározható 33 allergén

Elszámolható 20 allergén

Nutritív panelek			
Kódszám: F1012			
Mérőhely	10 Food B	Mérőhely	10 Food C
1.	tojásfehérje	11.	mogyoró
2.	tojássárgája	12.	földimogyoró
3.	tej	13.	szójabab
4.	kazein	14.	alma
5.	búzaliszt	15.	dió
6.	rozsliszt	16.	sárgarépa
7.	szezámag	17.	zeller
8.	mandula	18.	paradicsom
9.	tőkehal	19.	burgonya
10.	rák	20.	narancs
	pozitív kontroll		pozitív kontroll

Meghatározható 20 allergén

Elszámolható 20 allergén

Inhalatív panel	
Kódszám: R1412; R1424	
Mérőhely	14 Resp A
1.	D. pteronyssinus
2.	D. farinae
3.	korán virágzók fakeveréke (éger, nyír, mogyoró)
4.	12 fűkeverék*
5.	fekete üröm
6.	lándzsás útifű
7.	parlagfű
8.	macskaszőr
9.	kutyaszőr
10.	tollkeverék**
11.	állati epithel (tengerimalac, nyúl, aranyhőrcsög)
12.	gomba mix (Penicillium not., Asperg. fum.)
13.	Cladosporium herbarum
14.	Alternaria alternata
	pozitív kontroll

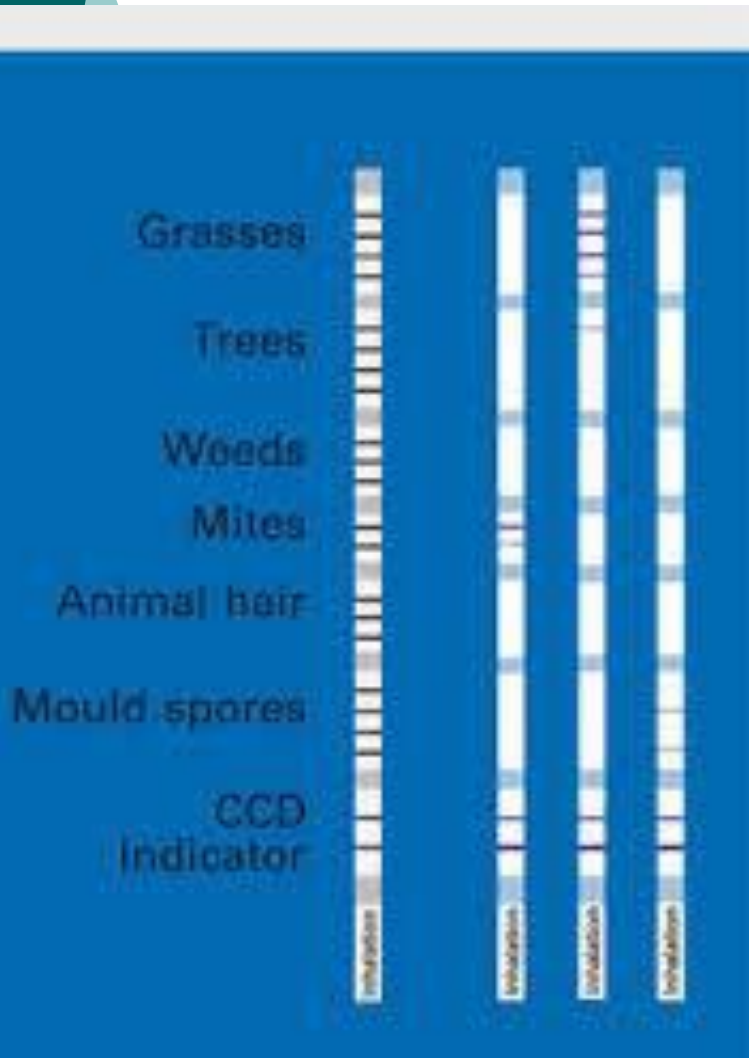
Meghatározható 34 allergén

Nutritív panel	
Kódszám: F1412; F1424	
Mérőhely	14 Food A
1.	tojásfehérje
2.	tojássárgája
3.	tej
4.	kazein
5.	liszkeverék (búzaliszt, rozsliszt)
6.	olajos magvak (mogyoró, földimogyoró, dió)
7.	zöldségkeverék (sárgarépa, zeller)
8.	paradicsom
9.	szójabab
10.	burgonya
11.	narancs
12.	alma
13.	tőkehal, rák
14.	szezámag, mandula
	pozitív kontroll

Meghatározható 20 allergén

Inhalatív + Venom panel	
Kódszám: V2012; V2024	
Mérőhely	P5
1.	D.pteronysinus
2.	D.farinae
3.	égerfa
4.	nyírfa
5.	mogyoró
6.	12 fűkeverék*
7.	rozs
8.	fekete üröm
9.	lándzsás útifű
10.	macska
11.	ló
12.	kutya
13.	tengerimalac
14.	méh
15.	darázs
16.	parlagfű
17.	Penicillium notatum
18.	Cladosporium herbarum
19.	Aspergillus fumigatus

# Immunoblot Technology



## Pollen - étel keresztallergiák

Pollen

Zöldség / Gyümölcs



Nyírfa



alma



körte



cseresznye



őszibarack



sárgabarack



szilva



kiwi



zeller



sárgarépa



burgonya



mogyoró



mandula

Fű



sárgadinnye



burgonya



görögdinnye



narancs



paradicsom



mogyoró

Parlagfű



görögdinnye



banán



uborka



cukkini

Űröm



zeller



sárgarépa



napraforgómag



méz

### Pollen-étel keresztallergia sajátosságai

IgE mediált reakció

Allergiás rhinitis mindig van

Tünetek pollenszezonban kifejezettek, de...

Orális reakció (OAS): ajak, nyelv, torok  
nyálkahártya duzzanat

OAS-t okozó allergének: paradicsom, paprika,  
zeller, répa, fokhagyma, petrezselyem, mango,  
kiwi, kömény  
latex-gyümölcsök

Felnőttkori étel allergia 60%-a ilyen!

## ALLERGYSCREEN OAS PANELEK

<b>OAS PARLAGFŰ+ÜRÖM</b>	
Parlagfű - fekete ürömmel keresztreakáló allergének	
mérő- hely	allergén megnevezése
1.	<b>paragfű</b>
2.	<b>fekete üröm</b>
3.	zeller
4.	paprika
5.	paradicsom
6.	sárgarépa
7.	burgonya
8.	napraforgó
9.	kivi
10.	kamilla
11.	pitypang
12.	12 fűkeverék*

meghatározható 23 allergén

elszámolható 20 allergén

<b>OAS FŰ</b>	
Füvekkel keresztreakáló allergének	
mérő- hely	allergén megnevezése
1.	<b>12 fűkeverék*</b>
2.	mandula
3.	meggy
4.	őszibarack
5.	burgonya
6.	szója
7.	földimogyoró
8.	bab
9.	borsó
10.	rozsliszt
11.	búzaliszt
12.	szezámag

meghatározható 23 allergén

elszámolható 20 allergén

<b>OAS NYÍR</b>	
Nyírfával keresztreakáló allergének	
mérő- hely	allergén megnevezése
1.	<b>nyírpollen</b>
2.	zeller
3.	mogyoró
4.	dió
5.	mandula
6.	alma
7.	cseresznye
8.	kivi
9.	sárgarépa
10.	burgonya
11.	szója
12.	12 fűkeverék*

meghatározható 23 allergén

elszámolható 20 allergén

\* fűkeverék= rozs, mezei komócsin, réti csenkesz, franciaperje, borjúpázsit, puha rozsnok, tarackbúza, csomós ebír, angol perje, ecsetpázsit, pelyhes selyemperje, csillagpázsit



## Molekuláris, komponens alapú allergia diagnosztika

**Új diagnosztikus megközelítés**, allergén szenzitizáció igazolása molekuláris szinten, tisztított természetes vagy rekombináns allergéneket használva egyedi vagy multiplex mérési technikával

Poliszenzitizált betegekben elkülöníthető az **eredeti és a keresztreakáló** allergén

Ételallergiás betegeknel/ orális allergia szindróma esetén az allergén okozta **súlyos, szisztémás** vagy enyhe, helyi reakciók valószínűségének meghatározása

Segítségével az allergia **prognózisa** meghatározható

Segíti az **immunterápia** indikációjának felállítását és tervezését

Provokációs tesztek ritkábban szükségesek, **megkönnyíti a terápiás/ diétás** tanácsadást

## Fehérje családok okozta keresztreakciók:

**LTP (lipid-transfer protein)**

pollen/zöldség, gyümölcs

**Tropomiozin**

rák/poratka, csótány

**Lipocalin**

szőrös állatok

**Parvalbumin**

halak/halak/ kétéltűek

**Szérum albumin**

tehéntej/marhahús

**PR-10 protein**

pollen/zöldség, gyümölcs/mogyoró

**Polcalcin (calcium binding proteins)**

gyom növények/fa pollen/fű pollen

**Profillin**

latex/fű pollen/ fa pollen

**CCD (cross reactive carbohydrate determinants)**

pollen/méh-darázs toxin

Tápanyag fehérje	HIGH RISK komponens	LOW RISK komponens
Tej	Bos d 8, 9, 11, 12	Bos d 4,5, 6 10, Lf
Tojás	Gal d 1	Gal d 2, 3, 4
Szója	Glyn m 5, 6 (4)	Profilin, CCD
Földimogyoró	Ara h 1, 2, 3, 9	Ara h 8 , PF, CCD
Mogyoró	Cor a 8, 9	Profilin, CCD
Dió	Jug r 1, 2, 3	Profilin, CCD
Liszt	Tri a 14, 19	Profilin, CCD

Tulajdonság	HIGH RISK komponens	LOW RISK komponens
Hőre	stabil	labil
Emésztésre	stabil	labil
Diéta	sem nyersen sem sütve, sem főzve nem ehető	sütve, főzve ehető
Reakció	súlyos szisztémás anafilaxia veszély	nincs vagy lokális vagy OAS
Kinövés	ritkán kinőhető	kinőhető
Specifikus immunterápia	érdemes	nem érdemes

# Terápiás lehetőségek

Anti-IgE antibody

omalizumab

Bind free IgE  
Disrupt FcεRI:IgE complex  
Decrease FcεRI expression

DARPinS

Monovalent: E2\_79; E3\_54  
Bivalent: E2\_79/E2\_79  
Biparatopic: bi53\_79; D11\_E53  
DE53-Fcγ

Bind IgE and FcεRI  
Disrupt IgE:FcεRI complex  
Block FcεRI signaling  
Decrease FcεRI expression

FcγRIIb-FcεRI coaggregation

Fcε-Fcγ fusion proteins  
DARPin DE53-Fc  
DARPin D11\_E53  
Anti-IgE IgG antibody

Block FcεRI signaling

Inhibit FcεRI-induced mediator release  
Inhibit IgE-mediated anaphylaxis

DARPinS = designed ankyrin repeat proteins