

PAOKC-cursus

Allergie

**Nederlandse
Vereniging voor
Klinische
Chemie**

**Woensdag 20 september 2000
Oceanium
Rotterdam**

Deze PAOKC-cursus werd mede mogelijk gemaakt door financiële bijdragen van:

Bayer B.V.

DPC B.V.

Merck Eurolab B.V.

Pharmacia & Upjohn B.V.

PROGRAMMA

Woensdag 20 september 2000

9.30 – 9.55 Ontvangst en koffie

Voorzitter: Dr. A.W. van Toorenenbergen

9.55 – 10.00 **Opening**
Dr. A.W. van Toorenenbergen

10.00 – 10.30 **Allergie tussen spreekkamer en Laboratorium**
Dr. R. Gerth van Wijk

10.30 - 11.15 **Regulatie van de IgE antistof vorming**
Prof. Dr. M.L. Kapsenberg

11.15 – 11.30 **koffie**

11.30 – 12.00 **Kliniek en klinische problematiek van allergie bij jonge kinderen**
Prof. Dr. H.P. van Bever

12.00 - 12.30 **Allergische dermatosen en mastocytose**
Dr. A.P. Oranje

12.30 – 13.45 **Lunch, met gelegenheid het Oceanium te bezoeken**

Voorzitter: Dr. P.M.W. Janssens

13.45 – 14.15 **Meting van allergeenexpositie in de woonomgeving**
Dr. S. van der Heide

14.15 – 15.00 **Structuur en biologische activiteit van allergenen**
Dr. R. van Ree

15.00 – 15.15 **thee**

15.15 – 15.45 **Monitoring van de allergische reactie**
Dr. A.E.J. Dubois

15.45 – 16.15 **Laboratoriumonderzoek bij beroepsallergie**
Dr. A.W. van Toorenenbergen

16.15 – 16.20 **Afsluiting**
Dr. P.M.W. Janssens

Drankje na afloop

INHOUD

	pagina
Allergie tussen spreekkamer en laboratorium <i>Dr. R.G. van Wijk</i>	1
Regulatie van de IgE antistofvorming <i>Prof. Dr. M.L. Kapsenberg en E.A. Wierenga</i>	4
Kliniek en klinische problematiek van allergie bij jonge kinderen <i>Prof. Dr. H.P. van Bever</i>	9
Allergische dermatosen en mastocytose <i>Dr. A.P. Oranje</i>	18
Meting van allergeenexpositie in de woonomgeving <i>Dr. S. van der Heide</i>	20
Structuur en biologische activiteit van allergenen <i>Dr. R. van Ree</i>	23
Monitoring van de allergische reactie <i>Dr. A.E.J. Dubois</i>	--
Laboratoriumonderzoek bij beroepsallergie <i>Dr. A.W. van Toorenenbergen</i>	27

ALLERGIE TUSSEN SPREEKKAMER EN LABORATORIUM

R. G. van Wijk

Epidemiologie en impact van allergische aandoeningen

Allergische - IgE gemedieerde - aandoeningen zoals waterige rhinoconjunctivitis, astma bronchiale, constitutioneel eczeem komen frequent voor. Minder vaak wordt urticaria of angioedeem en soms anafylaxis - een levensbedreigende situatie - waarbij meerdere orgaansystemen een rol spelen, gezien.

Met name allergische rhinitis is een veelvuldig voorkomende aandoening. In een in Nederland uitgevoerd cross-sectioneel onderzoek, bleek neusklachten bij 29.5% van de respondenten voor te komen. 12.7% had last van binnenhuisallergenen, 6.6% op buitenhuisallergenen en 10.2% op zowel binnen- als buitenhuisallergenen. Prevalentiecijfers uit een Nederlands onderzoek bij huisartsen variëren van 0,3% in de leeftijdscategorie van 0-4 jaar tot 14,6% in de leeftijd van 20-29 jaar. Allergische aandoeningen komen vaak geclusterd voor. Uit een multi-center onderzoek naar de effectiviteit van matrashoezen bleek meer dan 90% en circa 80% van de huisstofmijtallergische patiënten met astma, respectievelijk eczeem ook neusklachten te hebben. Bij 52% van de eczeem patiënten werd astma vastgesteld.

De prevalentie van allergische aandoeningen lijkt toe te nemen. Zo bleek uit onderzoek bij Zweedse rekruten, dat de prevalentie van rhinitis, astma en eczeem verdubbelde in 10 jaar tijd. Deze stijging wordt ook gezien bij Zweedse schoolkinderen, in Zwitserse en Britse studies. Uit het onderzoek met Zweedse rekruten bleek dat de relatieve toename in prevalentie samenhangt met het geboortjaar. Bij rekruten geboren in de zestiger jaren werd een minder grote stijging gezien dan bij dienstplichtigen geboren in de zeventiger of tachtiger jaren.

Uit Duits onderzoek blijkt dat de prevalentie van allergische aandoeningen in het vroegere Oost Duitsland lager is dan in West Duitsland. Na de Duitse eenwording lijkt het Oosten een inhaalslag te maken. Voorts valt op dat de toename in prevalentie bij Zweedse dienstplichtigen pas wordt waargenomen bij rekruten geboren na de zestiger jaren. Bovenstaande gegevens zouden erop kunnen wijzen dat onbekende factoren geassocieerd met onze Westerse levensstijl debet zijn aan de toename in allergieën. Behalve life-style veranderingen worden ook verklaringen gezocht in toegenomen allergeenexpositie, luchtverontreiniging en afname van infecties op jonge leeftijd. De laatste gedachte gaat uit van de theorie dat infecties op de jonge leeftijd de IgE synthese onderdrukken. Een consistente bevinding van veel onderzoek is het gegeven dat allergieën minder frequent gezien worden bij kinderen met meerdere broers en zusters. Dit zou kunnen passen bij een beschermend effect van luchtweginfecties op jonge leeftijd, welke meer worden gezien in dergelijke gezinnen. In dit kader zijn ook de waarnemingen, dat kinderen opgegroeid in een agrarisch milieu minder kans maken op het ontwikkelen van allergieën. Een gedachte is, dat blootstelling aan endotoxinen op jonge leeftijd mogelijk van invloed is op de allergische 'carrière'.

De socio-economische impact van IgE-gemedieerde allergieën is groot. In 1997 werden de kosten van rhinitis, astma en eczeem in Europa op respectievelijk 3 miljard, 20 miljard en 750 miljoen ECU geschat. Een studie naar de kosten van allergische rhinitis in de Verenigde Staten laat zien dat in 1987 39 miljoen personen hieraan leden. Hiervan zocht 4.8 miljoen (12.3%) medische hulp. Geschatte kosten hieraan besteed bedroegen 1.023.000.000 U.S. \$. Verder resulteerde allergische rhinitis in 811.000 gemiste werkdagen en 824.000 gemiste schooldagen.

Allergische aandoeningen leiden tot beperkingen in kwaliteit van leven, beperkingen op school en werk, ziekteverzuim en vermindering van leerprestaties.

Nederlands onderzoek heeft aangetoond dat pollinose een overall ongunstige invloed heeft op leerprestaties van jonge kinderen met allergische rhinitis in vergelijking met gezonde controlepersonen. Het bleek dat medicamenteuze behandeling ten dele een gunstig effect had.

Diagnostische benadering van de allergische patiënt

Uit populatie onderzoek is gebleken, dat een substantieel percentage van de onderzochten een IgE respons toont voor diverse allergenen zonder hiervan klachten te ondervinden. Er is wel sprake van sensibilisatie, detecteerbaar met in-vivo diagnostiek (huidtesten) en in-vitro onderzoek (specifiek IgE, histamine release test) echter er kan niet gesproken worden van een allergie, gekenmerkt door klachten en symptomen.

In een studie met 985 Zweedse teenagers toonden 18% symptomen passend bij allergie en positieve huidtesten, terwijl 25% positieve huidtesten had zonder klachten. In het ELON onderzoek uitgevoerd in Nederland bleek 15.5% van de individuen zonder neusklachten in ieder geval één positieve huidtest te hebben.

Deze cijfers laten zien dat huidtest- of serologisch onderzoek niet voldoende is voor de diagnose allergie. Door te vragen naar provocerende momenten en seizoensgebondenheid kan het aandeel van specifieke allergenen worden ingeschat. Aangezien er clusters en kruisallergieën bestaan tussen inhalatie- en voedselallergenen is het zinvol te vragen naar klachten na inname van voedsel, met name vruchten, pinda's en noten. De anamnese biedt mogelijkheid de dagelijkse allergeenexpositie te schatten. Het is dan ook noodzakelijk te vragen naar behuizing, huisdieren, beroep, hobby en andere sociale omstandigheden. De aanwezigheid van dauwworm of constitutioneel eczeem in het verleden of een belaste familieanamnese wijst in de richting van een atopische constitutie.

In de spreekkamer maakt de clinicus een keuze tussen huidtesten of serologisch onderzoek. Huidtesten kunnen worden onderverdeeld in intracutane, prik- en scratch testen. Deze testen genereren een weal and flare reactie, die maximaal is na 20 minuten. Deze vroege reactie gaat over in een minder scherp omschreven infiltratieve late reactie, die zijn maximum heeft op 6-8 uur. Scratch testen zijn vanwege hun gebrek aan standaardisatie obsoleet. Tussen intracutane en priktesten zijn in wezen geen principiële verschillen. Intracutane huidtests zijn sensitiever doch minder specifiek. Bij gebruik van intracutaan onderzoek is het - met name om redenen van veiligheid - noodzakelijk gebruik te maken van gestandaardiseerde extracten.

Hoewel met huidtesten en serologisch onderzoek hetzelfde wordt beoogd, namelijk het vaststellen van een IgE respons, wordt met behulp van huidtesten in feite celgebonden specifiek IgE en mestcelreactiviteit onderzocht, terwijl met de RAST het vrij circulerende specifieke serum IgE wordt bepaald. Serologisch onderzoek werd in het algemeen als minder gevoelig beschouwd t.o.v. huidtesten (beginnende en lichte allergieën worden met huidtesten eerder aangetoond), echter de sensitiviteit van de RAST is verbeterd. Met name als het gaat om inhalatieallergieën liggen de performance van huidtest en RAST dicht bij elkaar. De keuze dient dan ook in belangrijke mate bepaald te worden door de mogelijkheden en de expertise van de clinicus.

Discrepancies tussen huidtest en RAST worden met name gezien bij voedselallergie, sommige vormen van beroepsallergie en in zijn algemeenheid in situaties waar niet beschikt kan worden over gestandaardiseerde extracten.

Serologisch onderzoek met betrekking tot voedselallergie kent enkele valkuilen. Een positieve IgE respons op plantaardige voedselallergenen kan duiden op de aanwezigheid van specifiek IgE tegen een voor de plant specifiek kruisreagerend allergeen bijvoorbeeld het Bet V1 in berkenpollen en appel of tegen profilines, kruisreagerende allergenen die in pollen en een reeks van voedingmiddelen zitten. Tenslotte kan een RAST positief zijn door binding van IgE aan kruisreagerende koolhydraatstructuren op glycoproteïnen. IgE binding aan deze structuren, wat bij 20% van graspollenallergische patiënten wordt gezien, heeft echter geen klinische betekenis. Zowel de anamnese als in-vivo diagnostiek (huidtesten, histamine release test – zie verder-) zijn negatief.

Feit is dat de clinicus veel patiënten ziet die gesensibiliseerd zijn voor een reeks allergenen, waarvan de klinische relevantie nog moet worden vastgesteld.

De Phadiatop of andere vormen van serologisch onderzoek waarbij de IgE-respons tegen een mengsel van allergenen wordt vastgelegd zijn met name geschikt voor screening en het uitsluiten van allergieën. In het geval van duidelijke klinische verdenking is het meer kosten besparend om direct huidtesten te verrichten c.q. specifiek IgE te bepalen.

De nasale of bronchiale allergeenprovocatie hoort niet tot het standaardarsenaal van allergologische diagnostiek. Deze matig gestandaardiseerde technieken die in feite de specifieke respons op allergeen, zijn bij gebruikmaking van een goede anamnese en gestandaardiseerd huidtest- en serologisch onderzoek zelden noodzakelijk. Bij twijfelgevallen, onduidelijkheden en specifieke beroepsvraagstukken is er echter een mogelijke plaats voor allergeenprovocaties.

Wel behoort het onderzoek naar aspecifieke hyperreactiviteit tot het diagnostische arsenaal. Met dergelijk onderzoek kan de responsiviteit van shock orgaan geschat worden. Dit onderzoek is het best gestandaardiseerd bij astma.

Gegeven de diagnostische problemen bij voedselallergie nemen de anamnese van het dieet en orale provocaties met voedselallergenen een belangrijke plaats in. Internationaal wordt de dubbelblinde placebo gecontroleerde orale provocatie als gouden standaard beschouwd.

Tenslotte is het mogelijk de allergische reactie in vitro na te bootsen. Met behulp van de histamine release test worden basofiele leukocyten geïncubeerd met allergeen. Bij aanwezigheid van specifiek IgE op het celoppervlak vindt degranulatie en release van histamine plaats. Dergelijke histamine release testen zijn slechts in enkele centra uitvoerbaar.

Conclusie

De prevalentie van allergische aandoeningen neemt sterk toe. Hiermee neemt ook de zorgvraag en het beroep van patiënten op medici toe. De clinicus zal zo effectief mogelijk met behulp van huidige en toekomstige diagnostische mogelijkheden conclusies dienen te trekken en therapie dienen in te stellen. Het laboratorium neemt hierbij een belangrijke plaats in. Voor ons liggende vragen als 'Wat is het klinische belang van kruisreactiviteit?', 'Hoe relevante allergeenbelasting te meten?' en 'Hoe zo efficiënt en kostenbesparend mogelijk te meten?' , 'Hoe kliniek en therapie te monitoren?' dienen beantwoord te worden. In dit opzicht is samenwerking tussen kliniek en laboratorium van groot belang.

Regulation of IgE production / About type 2 Th cells and dendritic cells

M.L. Kapsenberg en E.A. Wierenga

Atopic allergy is characterized by elevated levels of allergen-specific serum IgE mediating immediate hypersensitivity to inhaled or ingested allergen. IgE production by B cells is under the control of cytokines produced by T helper (Th) cells. IgE production is induced by interleukin (IL)-4 and IL-13 and downregulated by interferon-gamma (IFN- γ). It is widely-accepted now that atopic allergy is causally related with the activation of allergen-specific Th2 cells producing high levels of IL-4 and IL-13 and low levels or no IFN- γ . These aberrant cells not only mediate early phase responses but, more importantly, also late phase inflammatory responses. For instance, IL-13, locally produced in the airways of asthmatics upon allergen inhalation mediates lung obstruction through the activation of goblet cells to produce mucus, fibroblast to produce extracellular matrix and smooth muscle cells to contract. Therefore, recent series of studies on the basal pathogenesis of allergic diseases have been focused on questions such as how Th2 cells are formed in physiological conditions and in allergic disease in particular.

Th1 and Th2 cells

Th1 (producing a.o. predominantly IFN- γ) or Th2 (producing a.o. predominantly IL-4, IL-5, IL-13, IL-9) cells are effector T cells that develop from naive Th cells upon infection, depending on the type of pathogen (Mossman and Sad, 1996; Romagnani, 1997). In general, Th1 cells are recruited after infection with various intracellular microorganisms and they are protective because IFN- γ efficiently retards pathogen proliferation and stimulates the intracellular killing of pathogens in phagocytic cells. In contrast, protection against extracellular microorganisms requires Th2 cytokines that promote high production of opsonizing Ig types that bind to these pathogens resulting in their elimination by FcR-bearing phagocytizing cells. Highly polarized Th2 cells are required to protect against various species of helminths through either IL-13-mediated activation of gut tissue or IL-5-driven recruitment of eosinophils. One of the prices to pay for the occurrence of these well-focussed effector responses is the risk of diseases that follow from wrongly polarized responses, such as the Th2-polarised responses to inhalation or dietary proteins in allergic disease. To understand the reason of this aberrant response it is important to understand how in normal conditions a protective Th1 or Th2 response is matched to the type of invading pathogen.

Dendritic cells drive Th cell polarisation

A key observation is that Th1 and Th2 cell cytokine profiles are induced during peripheral maturation of the T cells. Naive T cells predominantly produce IL-2 and acquire the ability to produce the Th1 and Th2 cytokines upon stimulation and subsequent maturation. The balance between type 1 and type 2 cytokine production in these memory T cells is largely determined by microenvironmental factors present during activation of T cells, amongst them a series of soluble factors. An essential factor in this respect is an intimate interaction of Th cells with antigen-presenting cells (APC). T cells have T cell receptors (TCR) which recognize antigen only when

presented as antigen-derived peptide in association with MHC molecules on the cell surface of APC.

Specific immune responses are initiated by dendritic cells (DC) that continuously sample their environment in peripheral tissues in search of pathogen-derived antigens and that subsequently present these antigens to naïve regulatory Th cells in lymphoid organs (Banchereau and Steinman, 1998). DC can be considered, therefore, as the sentinels of the specific immune system. DC reside in a resting, immature (“naïve”) form especially in or under the epithelial layers of the skin and of the airway and gut mucosa, where the risk of pathogen entry is the highest. Upon pathogen entry, the DC are activated either directly or indirectly, via a pathogen-induced non-specific tissue response (Matzinger, 1998). Activation of immature DC (signal 0) triggers the process of their final maturation, that includes a transient increase in their rate of Ag uptake, a change of phenotype and their migration to draining lymphoid organs. The phenotypic change includes an increase in the expression of T cell costimulatory molecules and a modulation of the homing- and chemokine receptor make-up, which allows for their migration. Upon arrival in the lymph nodes, the antigen-trapping immature DC have become mature immunostimulatory effector DC, that present relevant pathogen-derived antigen (signal 1) in combination with proper costimulation (signal 2), allowing for optimal responsiveness of both naïve and memory pathogen-specific Th cells.

Efficient responses to distinct types of pathogens, thus, require a proper selection of distinct mechanisms of immunity as induced by type 1 and type 2 cytokines. Similarly, optimal effectiveness and minimal damage to local tissues need matching of the character of the response to particular body compartments. The type 1/type 2 cytokine ratio in Th cells is largely determined by polarizing signals in the microenvironment of developing naive Th cells and can occur as early as 3 days after peripheral immunization with antigens of different nature. A new concept is that these early polarising signals (signal 3) are carried by DC after they are functionally modified by local pathogen-induced conditions (Kalinski et al, 1999).

How dendritic cells drive Th polarisation

At this early stage of Th cell development, IL-12, mainly produced by different APC types upon engagement of Th cells, is an essential Th cell-polarising molecule that upregulates IFN- γ and down-regulates IL-4 production. Whereas high IL-12 concentrations result in the development of Th1 cells from naive Th cells, low IL-12 concentrations allow for the development of polarised Th2 cells. More recently, IL-18, which is also produced by APC, was found to be another Th1-polarising signal, acting probably at later stages, by perpetuating the IFN- γ production in IL-12-affected cells. Although unequivocal experiments are lacking, APC may promote Th1 polarisation by the expression of IFN- γ or ICAM-1 and Th2 polarization by the expression of prostaglandin (PG) E₂, nitric oxide, OX40L and T1/ST2L. Furthermore, also the number of MHC molecules carrying the relevant peptide (‘antigen density’) and the affinity of the complex for the TCR can modulate Th1/Th2 cell development. The physiological significance of all these factors is not entirely clear, to date, and their importance may be restricted to particular conditions.

Other factors driving Th cell polarisation

Although APC may normally set the tune, non-APC derived factors may also be important. There is hardly any doubt that IL-4 is critical for the development of strongly polarised Th2 cells. Various cell types can produce IL-4, including mast cells and eosinophils, but mouse models indicate that T cells are polarized by IL-4 derived from the T cells themselves. For instance, strong Th2 responses to *Leishmania major*

are found in BALB/c mice, because these mice harbour a high frequency of IL-4-producing Th cells that can recognise a Leishmania-derived protein sequence, thereby overruling the effect of Leishmania-induced IL-12 (Launois et al. 1998). In most conditions, IL-4 will act in a positive feedback loop, promoting further polarisation towards the Th2 phenotype in the population that started producing IL-4, thanks to the initial absence of IL-12. Other examples of non-APC-derived factors are hormones, but it is possible that their effect is mediated, at least in part, via the regulation of APC functions. Clearly, progesterone can drive Th2 responses without participation of APC (Piccini et al., 1995). Since most of the animal models of infectious diseases, autoimmunity and allergy indicate that IL-12 plays an important role in Th cell polarisation, the question of how polarised Th cells develop is tightly related to the question of how IL-12 production and IL-12 responsiveness are regulated.

DC1 and DC2

The levels of IL-12 production in effector DC are programmed depending on the conditions during the onset of their final maturation. Maturation induced by many stimuli leads to DC0 that promote the development of Th0 cells with simultaneous production of Th1 and Th2 cytokines. However, infection with or engagement with products from viruses or certain bacteria, or the presence of certain inflammatory cytokines (IFN- γ) during the onset of final DC maturation results in mature type 1 effector DC (DC1), defined as dendritic cells that promote the development of Th1 cells. In most cases DC1 induce Th1 cells because of their high levels of IL-12 upon engagement of T cells. Surprisingly, DC1 induced by viral RNA are unable to produce high IL-12 levels and induce Th1 cells according to an unknown mechanism. In contrast, the presence of helminth extracts, or PGE2 or other factors that elevate intracellular cAMP (cholera toxin B, histamin), induces mature type 2 effector DC (DC2) with an extremely low IL-12-producing capacity and with the potential to induce Th2 cell development. Thus the functional profile of effector DC depends on the conditions the DC have experienced during the onset of their maturation, e.g. by the exposure to compounds that induce or regulate IL-12 production.

The signal 3 concept

Therefore, DC can not only provide T cells with stimulatory and co-stimulatory signals, but also with a polarizing signal 3. The message provided by this signal results from the character of a "danger" signal, reflecting the pathogen type and the type of affected tissue. For instance, infection with intracellular viruses and bacteria will programme the development of type 1 DC which drive Th1 responses. If DC themselves are not infected by these pathogens, DC1 and Th1 responses may still develop under the influence of IFN- γ produced by infected bystander cells, such as natural killer cells. Various cell types, especially monocytes, macrophages and epithelial cells, produce the DC2-driving factor PGE2. PGE2 levels are particularly high in the Th2-biased mucosal tissues, such as the airways and the gut, which may explain the Th2 bias of the responses triggered in these tissues. Certain helminths may induce strongly polarized type 2 DC as a result of compounds that upregulate cAMP. Like for Th1 and Th2 cells, DC1 and DC2 cells are genuine effector cells with a stably polarised phenotype, that cannot easily be repolarized, which prevents crossregulation by events that are irrelevant for the elimination of the pathogen for which DC carry the antigen. The plasticity of the immature DC makes them a likely link between the character of nonspecific immunity to a pathogen and the nature of the Ag-specific immune response. This adds to the picture of DC as the basic carrier of information within the immune system.

APC subsets and allergy

In contrast to Th cells, the characteristics of APC in allergy are poorly studied, so far. Various mouse model studies have underscored the stimulatory role of B7.h (Abbas and Sharpe, 1999, Coyle et al., 2000) and T1/ST2L (Coyle et al. 1999) and the suppressive role of IL-12 (Wills Karp, 1998) in airway inflammation and airway hyperreactivity. In a rat model it was shown that resting respiratory tract DC produce low levels of IL-12 and high levels of IL-10 mRNA and preferentially stimulate Th2 responses (Stumbles et al., 1998). Allergic asthma, therefore, may be related to decreased IL-12 levels in tissue DC. Indeed, successful immunotherapy in allergic asthma is associated with increased expression of IL-12 mRNA during allergen-induced late skin responses (Hamid, 1995). Also, *in vitro* studies have shown that monocytes from allergic patients are type 2-biased APC as they produce less IL-12 compared to monocytes from nonallergic controls and this is associated with low levels of IFN- γ (Kapsenberg et al. 1998). This finding may be relevant, as monocytes do not only differentiate into macrophages, but also into immature sentinel DC. In addition, the generation of DC2-biased DC in atopic allergics may be promoted by an aberrant local tissue microenvironment. In (pro-) inflamed airway tissue many cell types will contribute to the characteristics of this DC microenvironment, amongst them the infiltrating monocytes differentiating into macrophages. An interesting observation in this respect is that monocytes from atopics produce more PGE₂, which promotes DC2 development and Th2 responses. The poor current data on the occurrence of polarised DC in allergic inflammation and the conditions in which they mature, urge for further studies on these issues.

Literature

1. AK Abbas and AH Sharpe. 1999. T-cell stimulation: an abundance of B7s. *Nature Med* 12:1345-1369.
2. J Banchereau and RM Steinman. 1998 Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 392:245-252.
3. AJ Coyle, C Loyd, J Tia et al. 1999. Crucial role of T1/ST2 in Th2-mediated lung mucosal immune responses. *J Exp Med* 190:895-902.
4. AJ Coyle, S Lehar, C. Lloyd et al. 2000. The CD28-related molecule ICOS is required for effective Th2 immune responses. *In press*.
5. Q.A. Hamid, E. Schotman, MR Jacobson, SM Walker and SR Durham. 1997 Increases in IL-12 mRNA cells accompany inhibition of allergen-induced late skin responses after successful grass pollen immunotherapy. *J All Clin Immunol* 99:254-260
6. P Kalinski, CMU Hilkens, EA Wierenga and ML Kapsenberg. 1999. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today*. 20: 561-568
7. P Matzinger. 1998 An innate sense of danger. *Sem Immunol* 10: 399-415
8. TR Mosmann and S Sad. 1996. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 17:138-146.
9. P Launois, F Conceicao-Silva, H Himmerlich et al. 1998. Setting in motion the immune mechanisms underlying genetically determined resistance and susceptibility to infection with *Leishmania major*. *Parasite Immunol* 20:223-230.

10. MP Piccini, MG Giudizi, R Bagotti et al. 1995. Progesterone favors the development of human Th cells producing Th2 cytokines. *J Immunol* 155:128-133.
11. GJ Randolph, K Inaba, DF Robbani, RM Steinman and WA Muller. 1999. Differentiation of phagocytic monocytes into lymph node dendritic cells in vivo. *Immunity* 11:753-761.
12. S. Romagnani. 1997. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today* 18:263-266.
13. PA Stumbles, JA Thomas, CL Pimm, PT Lee, TJ Venaille, S Procksch and PG Holt. 1998. Resting respiratory tract DC preferentially stimulate Th2 cell type responses and require obligatory signals for induction of Th1 immunity. *J Exp Med* 188:2019-2031.
14. M Wills-Karp. 1998. IL-12 as a target for modulation of the inflammatory response in asthma. *Allergy* 53:113-119.
15. M Wills-Karp. 1999 Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness. *Ann Rev Immunol* 17:255-281.

Kliniek en klinische problematiek van allergie en astma bij kinderen

H.P. Van Bever

1. Inleiding

In verschillende studies kon aangetoond worden dat het voorkomen van atopie (= familiale aanleg om IgE te vormen tegenover allergenen) toeneemt, zodat atopie momenteel op de 6^{de} plaats komt van de meest frequente aandoeningen bij kinderen en adolescenten (1,2). Niet enkel zijn er meer patiënten met atopische ziektebeelden zoals astma en eczeem, maar ook wordt atopie frequenter gedetecteerd bij gezonde personen (in sommige studies vond men dat 39 % van de gezonde kinderen specifiek IgE tegenover allergenen vertoont). Verder is het bekend dat allergische reacties tegenover bepaalde allergenen (bv. berkenpollen) nu reeds kunnen aangetroffen worden bij jonge patiënten (bv. bij 2-jarigen) hetgeen vroeger slechts uitzonderlijk voorkwam. Alhoewel de exacte verklaring voor de toename van atopie nog grotendeels onbekend is, denkt men dat de oorzaak dient gezocht te worden in onze westerse leefstijl waardoor we meer "gevoelig" worden voor ons milieu met een verhoogd risico op expressie van potentieel atopische reacties (3,4). Als voornaamste oorzaken worden pollutie en verhoogde vroege allergeenblootstelling aangehaald, maar deze factoren kunnen nooit volledig verantwoordelijk gesteld worden voor de globale toename (pollutie is niet steeds gecorreleerd aan allergische reacties en, behalve voor huisstofmijt, zijn allergeenblootstellingen niet allen spectaculair toegenomen), zodat andere factoren zeker voldoende aandacht verdienen (bv. voeding, medicatiegebruik, infecties en vaccinaties) (5-7). Een interessante vaststelling hieromtrent is dat antroposofisch opgevoed kinderen minder allergieën vertonen dan niet-antroposofisch opgevoede kinderen, alhoewel beide groepen doorgaans in hetzelfde milieu verblijven (5).

2. Mechanismen

Recentelijk is het wetenschappelijk onderzoek zich meer en meer gaan toespitsen op de studie van de cytokinen, gesecreteerd door T lymfocyten, die instaan voor de regulatie van de IgE-productie en een belangrijke immuunmodulerende rol spelen. T helper lymfocyten kunnen op basis van hun cytokineproductie onderverdeeld worden in T_{h0} , T_{h1} en T_{h2} cellen. Indien de lymfocyt voornamelijk interferon- γ (IFN- γ), interleukine-2 (IL-2) en IL-12 produceert, dan vertoont deze cel een T_{h1} profiel. Secreteert de cel echter vooral IL-4, IL-5, IL-10 en IL-13, dan spreekt men van een T_{h2} profiel. De T_{h0} cellen zijn minder gedifferentieerd en produceren zowel T_{h1} als T_{h2} cytokinen. Bij allergie is de balans tussen T_{h1} en T_{h2} eigenschappen verstoort in het voordeel van het T_{h2} cytokineprofiel. De productie van IL-4 en IL-13 stimuleert de secretie van IgE door B lymfocyten, terwijl IL-5 eosinofielen activeert. Aan de basis van deze verstoorde T_{h1} - T_{h2} balans ligt enerzijds een verhoogde T_{h2} stimulatie, door intenser contact met

allergenen, waarbij de vroeg postnatale, en vermoedelijk ook de prenatale, periode een belangrijke rol spelen. Anderzijds is er een verminderde T_{h1} stimulatie door verminderde aanwezigheid van infectieuze stimuli, die vooral vroeg postnataal van belang zijn in de opbouw en conditionering van het natuurlijke immuunsysteem (verbetering van de levensstandaard en hygiëne, minder infecties door kleinere gezinnen en gestegen gebruik van breed spectrum antibiotica). Hierdoor ontstaat een verstoring van de T_{h1} - T_{h2} -balans in het voordeel van T_{h2} -expressie, hetgeen aanleiding geeft tot het gemakkelijker ontstaan van klinisch belangrijke atopische reacties (zie Tabel 1) (8).

AtTabel 1 : Atopie = verstoring van de T_{h1}-T_{h2} balans
<p>A. Verminderde T_{h1} stimulatie (door minder infectieuze stimuli)</p> <ul style="list-style-type: none"> - verbetering van de levensstandaard en de hygiëne - gestegen gebruik van breed spectrum-antibiotica - minder contact met infecties (o.a. door reductie van het aantal gezinsleden)
<p>B. Verhoogde T_{h2} stimulatie</p> <ul style="list-style-type: none"> - intenser contact met allergenen (prenataal en vroeg-postnataal) - contact met potentere allergenen (via pollutie)

Bovendien werd in een recente studie door Prescott en medewerkers duidelijk aangetoond dat het T lymfocytprofiel bij de geboorte meer kenmerken vertoont van een T_{h2} -profiel dan van een T_{h1} -profiel en dat het vooral door postnatale infectieuze stimulatie is dat het normale conditionering van het immuunsysteem, naar een T_{h1} -profiel, ontstaat (9).

Een ander terrein dat recentelijk in de aandacht kwam is dat van de antigeen presenterende cel (APC) (monocyten, dendritische cellen). Er bestaan meer en meer argumenten die erop wijzen dat de APC een belangrijke rol speelt, via secretie van o.m. IL-12 en prostaglandine E_2 , in de conditionering van het T-cel systeem. Indien de APC IL-12 secreteert induceert dit voornamelijk T_{h1} -cellen, terwijl secretie van prostaglandine E_2 vooral aanleiding geeft tot het ontstaan van T_{h2} -cellen (10,11). Het zou dus best kunnen dat in de toekomst zal aangetoond worden dat het vooral de (genetische) eigenschappen van de APC zijn die verantwoordelijk zijn voor het al dan niet ontstaan van allergische reacties.

3. Risicofactoren en vroege kenmerken van atopie

- *Risicofactoren :*

Momenteel kent men een aantal risicofactoren tot ontwikkeling van atopie (12). De voornaamste zijn: een familiale belasting voor atopie (indien vader atopisch is wordt de kans op atopie bij nakomelingen 30 %, indien moeder: 40 % en indien beide ouders: tot 70 %), een laag geboortegewicht (ook bij term geboren kinderen), materneel roken (= stimulans van IgE-productie via een IL-4 gemedieerd mechanisme), vroeg optreden van bepaalde respiratoire infecties (vooral van RSV-bronchiolitis), vaccinatie tegen *Bordetella pertussis* (tijdelijke toename van IgE), en vroeg contact met allergenen (huis-

stofmijt, huisdieren en pollen) (13-18). Dit laatste schijnt uiterst belangrijk te zijn omdat hierdoor T_{H2} -eigenschappen worden geïnduceerd die jaren (via geheugen T-cellen) kunnen aanwezig blijven. Bovendien bestaan er een aantal argumenten die erop wijzen dat prenatale sensibilisatie voor allergenen ook belangrijk is als vroegtijdige inductie van atopie (dit is waarschijnlijk mogelijk vanaf de 20^{ste} zwangerschapsweek) (19). Anderzijds zijn er argumenten die erop wijzen dat het doormaken van bepaalde infecties (bv. tbc) of vaccinaties (bv. tegen mazelen) een beschermend effect zouden hebben op het ontwikkelen van atopie (20).

- Vroege merkers van atopie :

Een aantal vroege merkers van atopie werd reeds geïdentificeerd. De voornaamste zijn: een verhoogd totaal IgE op navelstrengbloed, een positieve huidtest op kippe-eiwit of huisstofmijt tijdens het eerste levensjaar en een vroegtijdige aanwezigheid van specifiek IgE (tegenover voedings- en inhalatieallergenen) (21). Andere vroege merkers zijn nog volop onder research en zeker nog niet te gebruiken in het routine-onderzoek (zie Tabel 2) (22,23). Een interessante merker bij astmatische zuigelingen blijkt het eosinofiel cationisch proteïne (ECP) te zijn dat een voorspellende waarde zou hebben op het al dan niet persisterend karakter van allergisch astma (24,25).

Tabel 2 : Vroege merkers van atopie

1. Verhoogd totaal IgE op navelstrengbloed
2. Positieve huidtest met kippe-eiwit en huisstofmijt
3. Specifiek IgE tijdens eerste levensjaar
4. Aanwezigheid van IgG-anti-IgE immuuncomplexen
5. Verhoogde vrijzetting van mediators door basofielen
6. Maturatiestoornissen van CD4+ cellen
7. Deficiëntie van suppressor T-cellen (CD8+)
8. Verhoogde productie van T_{H2} -cytokines (IL-4)
9. ECP (merker van eosinofiel-activatie)

4. Onderzoek van het navelstrengbloed als merker van atopie

Er bestaan argumenten dat onderzoek van navelstrengbloedlymfocyten mogelijk een waardevol diagnosticum zou kunnen worden in het vroegtijdig detecteren van atopie.

De aanwezigheid van proliferatieve responsen van navelstrengbloedlymfocyten tegenover voedings- en inhalatieallergenen duidt erop dat sensibilisatie reeds intra-uterien begint, mogelijk reeds vanaf de 20^{ste} zwangerschapsweek (19,26,27). De meeste studies tonen echter aan dat deze responsen zowel bij atopisch belaste als bij niet-atopisch belaste pasgeborenen aantoonbaar zijn (28-30). Wel vinden enkele groepen verhoogde stimuleerbaarheid van navelstrengbloedlymfocyten bij kinderen die later allergische klachten vertonen (27). Andere studies op navelstrengbloed relateren de cytokineproductie door mononucleaire cellen aan de familiale belasting op atopie (22,28-33). Deze studies verschillen onderling voornamelijk in de manier van celstimulatie en in de cytokinen die werden gedetecteerd. Buiten de eensgezindheid wat betreft IL-2 productie, die niet verschillend is tussen atopisch en niet-atopisch belaste neonati, zijn de resultaten wat betreft de productie van IL-4- en INF- γ tegenstrijdig : sommige groepen vinden een verminderde IFN- γ productie bij atopisch belaste kinderen, terwijl anderen dit niet kunnen bevestigen. Bepalingen van cytokinen

op navelstrengbloed werden ook in relatie gebracht met de atopische status van het kind zelf, welke uiteindelijk de enige gouden standaard is. Verschillende auteurs vinden een verminderde IFN- γ productie door mononucleaire cellen uit het navelstrengbloed bij kinderen die later allergische klachten en positieve huidtesten vertonen (34,35). Martinez echter vindt een verminderde productie van IFN- γ en IL-2 op de leeftijd van 9 maanden (en niet op navelstrengbloed) bij kinderen met positieve huidtesten op de leeftijd van 6 jaar (22).

In een aantal studies vond men namelijk verschillen in eigenschappen van lymfocyten tussen gezonden en potentiële atopici. Navelstrengbloedlymfocyten van atopici vertonen volgende eigenschappen: een verhoogde lymfocytentransformatietest (LTT) na incubatie met voedingsallergenen, een verminderde secretie van INF- γ na stimulatie met allergenen en mitogenen, een verhoogde secretie van IL-6, een verminderd aantal CD25+ lymfocyten (= geactiveerde T-cellen) en een verminderd aantal CD4+ CD45R-O+ lymfocyten (= geheugen T-cellen) (27,32,34,36,37). Deze verschillen wijzen erop dat lymfocyten van atopici meer T_{h2}- en minder T_{h1}-kenmerken vertonen dan lymfocyten van normalen en dat deze eigenschappen reeds van bij de geboorte kunnen gedetecteerd worden (38,39). Uiteraard zijn deze testen nog niet geschikt voor routinegebruik, maar zijn ze het onderwerp van intense research.

5. Atopische ziektebeelden

- Een centrale eigenschap bij atopische aandoeningen is het bestaan van een IgE-geïnduceerde inflammatie ter hoogte van de shockorganen (bronchi, huid,...). Deze inflammatie is de rechtstreekse aanleiding tot het optreden van symptomen en vormt het belangrijkste verschil tussen patiënten en gezonden met specifiek IgE (waarbij deze inflammatie niet aanwezig is). Dat het wel degelijk gaat om een chronische inflammatie (die ook aanwezig blijft tijdens klachtenvrije intervallen) kon aangetoond worden via het opsporen van markers van celactivatie in het bloed van kinderen met astma: deze markers (bv. ECP en IL2-R) blijven verhoogd bij kinderen met astma tijdens klachtenvrije intervallen, zelfs onder behandeling met geïnhalede corticosteroïden (40).

- Atopie kan gedetecteerd worden bij een groot aantal ziekten zoals: rhinitis, sinusitis, otitis, laryngitis (?), astma, eczeem, urticaria, angio-oedeem, migraine, gastro-intestinale aandoeningen, shock en immuundeficiënties. Het aandeel van atopische reacties in deze ziekten neemt toe volgens de leeftijd (zuigelingen < kleuters < oudere kinderen). De oorzaak hiervan is dat er een sensibilisatieperiode nodig is alvorens atopische reacties zich klinisch zullen manifesteren (bv. bij zuigelingen met astma kan atopie slechts zelden aangetoond worden). Bovendien kunnen al deze ziektebeelden voorkomen zonder dat atopie erbij kan opgespoord worden (verband atopie en symptomen ?), zodat kan gesteld worden dat de klachten (symptomen) van atopie doorgaans niet pathognomonisch zijn, tenzij in uitzonderlijke gevallen (bv. anafylactische shock).

Bij zuigelingen en jonge kinderen kan atopie tussenkomen in volgende ziektebeelden :

- *Astma (overgevoelige luchtwegen)* : alhoewel waarschijnlijk reeds aanwezig, is atopie doorgaans niet detecteerbaar (slechts bij < 5 %) bij infantiel astma (zonder begeleidend eczeem of gastro-intestinale stoornissen). Meestal worden de klachten uitgelokt door virale infecties, pollutie of gastro-oesofageale reflux. Soms vindt men een positieve huidtest voor allergenen (vooral kippeï) en het is bij die kinderen dat de prognose minder gunstig is met verhoogd risico op evolutie op persisterend astma.

- *Eczeem* : een voedingsallergie kan hiervan de oorzaak zijn, doch bij heel wat zuigelingen met eczeem kan geen atopie opgespoord worden (= pre-atopisch eczeem, constitutioneel eczeem). Meestal betreft het een allergie voor koemelk of kippeïeren en soms is de overgevoeligheid enkel aan te tonen na een proefdieet (+ provocatie). Dit is vooral bij zuigelingen met een ernstige vorm van eczeem. Bij mild eczeem is het aandeel van atopie waarschijnlijk uiterst miniem, alhoewel hierover geen goed gecontroleerde studies bestaan.

- *Gastro-intestinale stoornissen (braken, diarree, afbuigende gewichtscurve, occult bloedverlies, etc)* : kan te wijten zijn aan een voedingsallergie (koemelk), maar andere pathologieën dienen zeker uitgesloten te worden (bv. coeliakie, koolhydratenmalabsorpties, mucoviscidose). Koemelkeiwitallergie kan IgE-gemedieerd zijn maar tevens voorkomen zonder tussenkomst van IgE, via vooralsnog onbekende mechanismen.

- *Urticaria* : zijn doorgaans niet-allergisch gemedieerd bij zuigelingen, maar berusten meestal op een toxische reactie (infectie, medicatie). Anderzijds kan in zeldzame gevallen een IgE-gemedieerde voedingsallergie aan de basis liggen van urticaria bij zuigelingen (bv. kippe-eieren, vis, koemelk, pinda).

6. Astma bij kinderen

Bronchiaal astma is de meest frequente respiratoire aandoening bij kinderen. Bij een aantal kinderen, doch zeker niet bij allen, wordt bronchiaal astma uitgelokt en onderhouden door allergische reacties (bv. tegenover huisstofmijt). In een aantal recente studies werd aangetoond dat de prevalentie van astma toeneemt (cfr. ISAAC-studies). Dit heeft niet enkel met de toename van allergie te maken, daar men ook een toename kon vaststellen van niet-allergisch astma bij jonge kinderen. Omdat astma onder verschillende klinische vormen voorkomt, wordt meer en meer aangenomen dat er verschillende fenotypes bestaan en dat de terminologie "**Astma-syndroom**" eigenlijk een betere benaming is dan astma. Het gemeenschappelijk kenmerk van al deze vormen is het bestaan van een chronische bronchiale inflammatie die aan de basis ligt van de eigenschap bronchiale hyperreactiviteit en van de klachten van astma (piepende ademhaling, benauwdheid, hoesten, sputumproductie). Astma is een ziekte die (grotendeels) erfelijk vastligt, alhoewel er vormen zijn die louter exogeen kunnen ontstaan (bv. astma na een ernstige virale luchtwegeninfectie). Bij de meerderheid van de patiënten komt de ziekte tot uiting als gevolg van een interactie tussen aanleg en exogeen uitlokkende factoren. Deze uitlokkende factoren (triggers) zijn wisselend per patiënt en bij eenzelfde patiënt wisselend volgens de leeftijd. De belangrijkste exogene triggers zijn : allergenen (zie hoger), infecties en pollutie. Ook bestaan er een aantal constitutionele factoren die aanleiding kunnen geven tot symptomen van astma. Deze zijn: gastro-oesofageale reflux,

immuunstoornissen, pathologie van de bovenste luchtwegen (bv. chronische sinusitis) en specifieke respiratoire aandoeningen (bv. cystic fibrosis, structurele longanomalieën, etc...). In onderstaande tabel wordt een indeling van astma weergegeven die gebaseerd is op de verschillende triggers en onderhoudende factoren ervan.

Tabel 3 : De verschillende vormen van astma : het Astma-syndroom

1. Primair astma

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">a. Viraal astmab. Allergisch astmac. Aspecifiek astma (door pollutie, inspanning, etc...) |
|---|

2. Secundair astma

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">a. Astma als gevolg van bovenste luchtwegenpathologieb. Astma als gevolg van gastro-oesofageale reflux |
|---|

3. Astma bij specifieke luchtwegenpathologieën

7. Preventie van atopie

Preventie van het ontwikkelen van atopie bestaat vooral uit het mijden van vroege allergeencontacten (zowel voedings- als inhalatieallergenen) en het mijden van pollutie (o.a. passief roken). Waarschijnlijk dient deze allergeeneliminatie reeds prenataal te worden toegepast, maar onvoldoende gegevens hierover zijn momenteel beschikbaar. Het nut van borstvoeding is nog twijfelachtig maar wordt door de meeste onderzoekers als gunstig beschouwd tijdens de eerste levensjaren (41). Bij ernstig atopische kinderen zou het tevens aangewezen zijn dat de moeder een hypo-allergene voeding neemt tijdens het borstvoeden (bv. geen koemelk, geen kippe-eieren). Het geven van hypo-allergene melken (zgn. HA-melken) zou enkel de kans op ontwikkeling van een koemelkeiwitallergie inhiberen (42). Na de twee eerste levensjaren zou het effect van borstvoeding onbestaande zijn. Ook het laatijdig invoeren van bijvoedingen (na de 6de levensmaand) werd in een aantal studies als gunstig ervaren. Bij kinderen met atopisch eczeem wordt aangeraden om geen kippeëieren te geven tot na het eerste levensjaar.

Of het vroegtijdig toedienen van medicatie de evolutie naar atopische aandoeningen kan voorkomen is nog onvoldoende bewezen. Een beperkt aantal studies suggereren dat ketotifeen en cetirizine, toegediend aan zuigelingen met eczeem, de evolutie naar astma zouden afremmen. Meer studies hieromtrent zijn echter nodig – vooral studies op lange termijn - voordat deze preparaten hiervoor kunnen geadviseerd worden. Het vroegtijdig gebruik van bepaalde vormen van immunotherapie (switch van T_{h2} - naar T_{h1} -lymfocyten induceren) blijkt een andere mogelijkheid voor de toekomst en verdient zeker voldoende aandacht, maar is momenteel niet van toepassing. Een praktisch overzicht van maatregelen die men kan nemen om atopie te voorkomen (bv. bij

pasgeborenen met een belaste familiale anamnese op atopie) wordt weergegeven in Tabel 3.

Tabel 4 : Preventieve maatregelen om het ontstaan van klinische expressie van atopie te voorkomen.

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1. Vroege screening (IgE op navelstrengbloed)2. Contact met allergenen vermijden (stofvrije slaapkamer en geen contact met huisdieren, vooral katten) (reeds prenatale maatregelen : ?)3. Geen passief roken4. Borstvoeding (dieet van de moeder : ?)5. Late introductie van bijvoedingen (bv. geen eieren)6. Zuinig met (breedspectrum) antibiotica7. Bij klachten: onmiddellijk behandelen |
|--|

8. Conclusie

Atopie neemt toe. Door betere en vroege screening zal in de toekomst de risicopatiënt sneller geïdentificeerd kunnen worden. Primaire preventieve en vroegtijdige behandeling blijken een gunstig effect te hebben op het verloop van atopische aandoeningen op lange termijn. De ideale vroege merker(s) van atopie ontbreken vooralsnog.

Referenties

1. Aberg N, Engström I, Lindberg U. Allergic diseases in Swedish school children. *Acta Paediatr Scand* **78**: 246-252, 1989.
2. Wichmann HE. Possible explanation for the different trends of asthma and allergy in East and West Germany. *Clin Experim Allergy* **26**: 621-623, 1996.
3. Seaton A, Godden DJ, Brown K. Increase in asthma: a more toxic environment or a more susceptible population? *Thorax* **49**: 171-174, 1994.
4. Von Mutius E, Martinez FD, Fritsch C, Nicolai T, Roell G, Thiemann H-H. Prevalence of asthma and atopy in two areas of West and East Germany. *Am J Respir Crit Care Med* **149**: 358-364, 1994.
5. Alm J, Swartz J, Lilja G, Scheynius A, Pershagen G. Atopy is less common in children of antroposophic families. *J Allergy Clin Immunol* **103**, S21, 1999.
6. Devalia JL, Rusznak C, Herdman MJ, Trigg CJ, Tarraf H, Davies RJ. Effect of nitrogen dioxide and sulphur dioxide on airway response of mild asthmatic patients to allergen inhalation. *Lancet* **344**: 1668-1671, 1994.
7. Diaz-Sanchez D, Tsien A, Casillas A, Dotson AR, Saxon A. Enhanced nasal cytokine production in human beings after in vivo challenge with diesel exhaust particles. *J Allergy Clin Immunol* **98**: 114-123, 1996.
8. Holt P. A potential vaccine strategy for asthma and allied atopic diseases during early childhood. *Lancet* **344**: 456-458, 1996.
9. Prescott SL, Macaubas C, Smallacombe T, Holt BJ, Sly PD, Holt PG. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet* **353**: 196 – 200, 1999.

10. Hilkens CMU, Snijders A, Snijdwint FGM, Wieringa EA, Kapsenberg ML. Modulation of T-cell cytokine secretion by accessory cell-derived products. *Eur Respir J* **9**, suppl 22: 90s – 94s, 1996.
11. Kalinski P, Hilkens CMU, Snijders A, Snijdwint FGM, Kapsenberg ML. IL-12 deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E₂, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells. *J Immunol* **159**: 28 – 35, 1997.
12. Björkstén B. Risk factors in early childhood for the development of atopic diseases. *Allergy* **49**: 400-407, 1994.
13. Ownby RD. Environmental factors versus genetic determinants of childhood inhalant allergies. *J Allergy Clin Immunol* **86**: 279-287, 1990.
14. Ronchetti R, Macri F, Ciofetta G, Indinnimeo L, Cutrera R, Bonci E, Antognoni G, Martinez FD. Increased serum IgE and increased prevalence of eosinophilia in 9-year-old children of smoking parents. *J Allergy Clin Immunol* **86**: 400-407, 1990.
15. Lucas A, Brooke OG, Cole TJ, Morley R, Bamford MF. Food and drug reactions, wheezing, and eczema in preterm infants. *Arch Dis Childh* **65**: 411-415, 1990.
16. Karachaliou F-H, Panagiotopoulou K, Manousakis M, Sinaniotis K, Papageorgiou F. Month of birth, atopic disease, and sensitization to common aeroallergens in Greece. *Pediatr Allergy Immunol* **6**: 216-219, 1995.
17. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Björkstén B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* **95**: 500-505, 1995.
18. Sporik R, Holgate ST, Platts-Mills TAE, Cogswell JJ. Exposure to house-dust mite allergen (*Der p 1*) and the development of asthma in childhood. *N Engl J Med* **323**: 502-507, 1990.
19. Warner JA, Jones AC, Miles EA, Colwell BM, Warner JO. Maternofetal interaction and allergy. *Allergy* **51**: 447-451, 1996.
20. Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ, Barker DJP, Heyes CB, Shiell AW, Goudiaby A. Measles and atopy in Guinea-Bissau. *Lancet* **347**: 1792-1796, 1996.
21. Kjellman NIM, Croner S. Cord blood IgE determination for allergy prediction - a follow-up to seven years of age in 1651 children. *Ann Allergy* **53**: 167-171, 1984.
22. Martinez FD, Stern DA, Wright AL, Holberg CJ, Taussig LM, Halonen M. Association of interleukin-2 and interferon- γ production by blood mononuclear cells in infancy with parental allergy skin tests and with subsequent development of atopy. *J Allergy Clin Immunol* **96**: 652-660, 1995.
23. Sasai K, Furukawa S, Muto T, Baba M, Yabuta K, Fukuwatari Y. Early detection of specific IgE antibody against house dust mite in children at risk of allergic disease. *J Pediatr* **128**: 834-840, 1996.
24. Ingram JM, Rakes GP, Hoover GE, Platts-Mills TAE, Heymann PW. Eosinophil cationic protein in serum and nasal washes from wheezing infants and children. *J Pediatr* **127**: 558-564, 1995.
25. Koller DY, Wojnarowski C, Frischer T, Eichler I. High levels of eosinophil cationic protein in wheezing infants predict the development of asthma. *Eur Respir J* **9**, suppl23: 242s, 1996.
26. Jones AC, Miles EA, Warner JO, Colwell BM, Bryant TN, Warner JA. Fetal peripheral blood mononuclear cell proliferative responses to mitogenic and allergenic stimuli during gestation. *Ped Allergy Immunol* **7**: 109 – 116, 1996.
27. Kobayashi Y, Kondo N, Shinoda S, Agata H, Fukutomi O, Orii T. Predictive values of cord blood IgE and cord blood lymphocyte responses to food antigens in allergic disorders during infancy. *J Allergy Clin Immunol* **94**: 907-916, 1994.

28. Prescott SL, Macaubas C, Yabuhara A, et al. Developing patterns of T cell memory to environmental allergens in the first two years of life. *Int Arch Allergy Immunol* **113**: 75 – 79, 1997.
29. Prescott SL, Macaubas C, Holt BJ et al. Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J Immunol* **160**: 4730 – 4737, 1998.
30. Szepfalusi Z, Nentwich I, Gerstmayr M et al. Prenatal allergen contact with milk proteins. *Clin Experim Allergy* **27**: 28 – 35, 1997.
31. Rinas U, Horneff G, Wahn V. Interferon- γ production by cord blood mononuclear cells is reduced in newborns with a family history of atopic disease and is independent from cord blood IgE-levels. *Ped Allergy Immunol* **4**: 60 – 64, 1993.
32. Liao SY, Liao TN, Chiang BL, Huang MS, Chen CC, Chou CC, Hsieh KH. Decreased production of IFN- γ and increased production of IL-6 by cord blood mononuclear cells of newborns with a high risk of allergy. *Clin Experim Allergy* **26**: 397-405, 1996.
33. Piccinni D, Bockelmann C, Förster K, Rieger CHL, Schauer U. Neonates at risk for atopy show impaired production of interferon-gamma after stimulation with bacterial products (LPS and SEE). *Allergy* **52**: 732 – 738, 1997.
34. Tang MLK, Kemp AS, Thorburn J, Hill DJ. Reduced interferon- γ secretion in neonates and subsequent atopy. *Lancet* **344**: 983-985, 1994.
35. Kondo N, Kobayashi Y, Shinoda R, et al. Reduced interferon gamma production by allergen-stimulated cord blood mononuclear cells is a risk factor for allergic disorders. A 6-year follow-up study. *Clin Experim Allergy* **28**: 1340 – 1344, 1998.
36. Van Bever HP, Hagendorens M, Mertens C, De Clerck LS, Bridts CH, Stevens WJ. Lymphoblastic transformation test and subpopulations of cord blood lymphocytes of cord blood lymphocytes of newborns of atopic and non-atopic parents. *J Allergy Clin Immunol* **101**, 1 (part 2), abs 773, 1998.
37. Warner JA, Miles EA, Jones AC, Quint DJ, Colwell BM, Warner JO. Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? *Clin Experim Allergy* **24**: 423-430, 1994.
38. Aebischer I, Stadler BM. Th1-Th2 cells in allergic responses: at the limits of a concept. *Adv Immunol* **61**: 341-403, 1996.
39. O'Garra A, Murphy K. Role of cytokines in development of Th1 and Th2 cells. *Chem Immunol Basel, Karger*. **63**: 1-13, 1996.
40. Van Bever HP, Bridts CH, De Clerck LS, Mertens AV, Stevens WJ. Effect of a bronchial provocation test with house dust mite on blood eosinophils, eosinophil cationic protein, soluble interleukin-2 receptor, and interleukin 6 in asthmatic children. *Allergy* **48**: 443 – 449, 1993.
41. Saarinen UM, Kajosaari M. Breastfeeding as prophylaxis against atopic disease: prospective follow-up study until 17 years old. *Lancet* **346**: 1065-1069, 1995.
42. Vandeplass Y, Hauser B, Van den Borre C, Clybouw C, Mahler T, Hachimi-Idrissi S, Deraeve L, Malfroot A, Dab I. The long-term effect of a partial whey hydrolysate formula on the prophylaxis of atopic disease. *Eur J Pediatr* **154**: 488-494, 1995.

Allergische dermatosen en mastocytose

A.P. Oranje

Allergische dermatosen en mastocytose worden kort besproken met de nadruk op de door mij te volgen strategie om de aanwezigheid van allergie bij de patiënt vast te stellen.

Atopisch eczeem

Het belang van voedsel- en aero-allergie bij atopisch eczeem is een controversieel onderwerp. De reden hiertoe is ondermeer gelegen in het feit dat er door de verschillende onderzoekers in de diverse centra verschillende patiëntenpopulaties gezien worden, verscheidene criteria voor beoordeling van de eczeemactiviteit en allergie gehanteerd worden, en verschillend gedacht wordt over de methodiek van eliminatie en provocatie. De rol van voedsel- versus aero-allergie is sterk leeftijdsafhankelijk, zodat in het hiernavolgende een onderverdeling in de volgende leeftijdscategorieën wordt gemaakt: jonger dan 1 jaar, tussen 1 en 3 jaar, en ouder dan 3 jaar.

Als serologische screeningstest kan de voedselmix RAST (koemelk, kippenei-eiwit, tarwe, soja, vis en pinda) of aeroallergenen mix (huisstofmijt, graspollenmix, kat, hond, kruidenmix, boompollenmix, schimmelmix) verricht worden. Een nieuwe, verbeterde versie bestaat in de zogenaamde CAP-RAST FEIA- Phadiatop® methode van Pharmacia. Positieve en negatieve voorspellende waarden van de CAP-RAST zouden vergelijkbaar zijn met die van de priktests. Aan huid priktests worden grotere betekenis gehecht. Er zijn nogal wat variaties (priktest, prick priktest, allergeen –vers of commercieel-), daarnaast is er de ‘skin application food test’ SAFT (gebaseerd op contacturticaria), die alleen geschikt is bij kinderen met atopisch eczeem jonger dan 4 jaar.

Tabel 1. Diagnostische handleiding van atopisch eczeem

Indicatie > 3 jaar	< 1 jaar	1- 3 jaar
1. Serologisch onderzoek -Voedselmix	-Voedselmix	-Phadiatop

-Geselecteerde
allergenen
-Phadiatop

2. Huidtests
voedselaller-

KM, ei, pinda,

-KM,ei, pinda

SAFT of
(Prick) prik test

op indicatie

op indicatie
-Aero ag

genen
op indicatie
-Aero ag

3. Eliminatie

- Kmhydrol

op indicatie

-

4.Provocatie

-KM
-op indicatie

op indicatie

-

Voedsel mx = phadiatop voedselmix, bestaande uit koemelk, kippenei-eiwit, vis,
tarwe, sojaboon en pinda.

KM = koemelk

KMhydrol = koemelk hydrolysaat

Huidtests zijn in sommige gevallen gecontraïndiceerd:

- (1) bij dermografie;
- (2) ernstig eczeem;
- (3) antihistaminicagebruik dat niet gestaakt kan worden;
- (4) verdenking op anafylactoïde reactie op verdacht voedingsmiddel.

Medicamenten, die huidtests beïnvloeden en die gestaakt dienen te worden, zijn:

- (1) antihistaminica (1 week; astemizol 4 weken),
- (2) tricyclische antidepressiva (1 week),
- (3) orale steroïden (afhankelijk van dosering, enkele weken),
- (4) beta-agonisten (12 uur), -verhogen het risico op anafylactoïde reacties
- (5) theophylline (12 uur),
- (6) di-natrium cromoglycaat (12 uur).
- (7) langdurig gebruik van sterkere lokale steroïden op het te testen huid

Contact allergisch eczeem

Contact allergie kan leiden tot een eczeem, dat bij voorkeur zich bevindt op blootgestelde lichaamsdelen. Epicutaan contact allergologisch onderzoek is dan aangewezen. Latexallergie kan zich ook uiten door hand- of gelaatseczeem. IgE RAST onderzoek is eerst aangewezen.

Mastocytosen

Mastocytose bestaat uit een groep van aandoeningen met als gemeenschappelijk kenmerk onverklaarbare significante toename van het aantal mestcellen in een of meerdere organen al dan niet gepaard gaande met lokale of algemene symptomen. Indicaties voor screening zijn: persisterende zichtbare huidafwijkingen suggestief voor mastocytose, onverklaarde anafylactische reacties, onverklaarde flushing, onverklaarde bij herhaling gemeten, verhoogde N-methylhistamine in de urine en/of serum tryptase, osteoporose of maagdarmklachten.

Meting van allergeenexpositie in de woonomgeving

S. van der Heide

Inleiding

Blootstelling aan inhalatie-allergenen binnenshuis is een belangrijke oorzaak van klachten bij allergische patiënten die gesensibiliseerd zijn voor deze allergenen. Ook het proces van allergische sensibilisatie is, naast andere factoren, geassocieerd met de mate van blootstelling aan allergenen¹. Adviezen voor vermijding of reductie van de blootstelling aan allergenen van huisstofmijten, katten en honden, schimmels, of kakkerlakken, nemen dan ook een belangrijke plaats in bij de behandeling van allergische ziekten.

De vraag wanneer een allergeensaneringsmaatregel moet worden geadviseerd aan allergische patiënten hangt af van verschillende factoren. Ten eerste moet de patiënt gesensibiliseerd zijn voor de allergeenbron waarvoor de maatregel ontworpen is, b.v. allergeenwerende matrashoezen bij een overgevoeligheid voor huisstofmijten. Ten tweede moet informatie over de ernst van de symptomen en het gebruik van medicijnen meegenomen worden in de besluitvorming. Tenslotte is kennis over de huidige blootstelling aan het specifieke allergeen van belang. Het vaststellen van de expositie aan allergenen in onze woonomgeving kan belangrijke informatie opleveren voor de behandelende arts als ook voor de patiënt.

Wanneer is het zinvol om de allergeenblootstelling te bepalen?

Het bepalen van de allergeenblootstelling thuis kan zinvol zijn om na te gaan of de patiënt blootstelling heeft aan het allergeen waarvoor het gesensibiliseerd blijkt te zijn. Wat is de blootstelling op verschillende locaties in huis? Is er bij patiënten met een allergie voor katten thuis aanzienlijke blootstelling aan dit allergeen ondanks het feit dat er geen kat gehouden wordt? Wat is de blootstelling aan huisdierallergenen in openbare gebouwen zoals scholen, crèches, etc?

Daarnaast kan het meten van de allergene blootstelling zinvol zijn om na te gaan of een geadviseerde saneringsmaatregel goed is uitgevoerd, zeker wanneer de klachten van de patiënt niet verminderen². Verder is reeds gebleken dat het meten van de allergene blootstelling binnenshuis belangrijke informatie heeft opgeleverd over de relatie tussen expositie aan allergenen en het optreden van sensibilisatie bij jonge kinderen¹. Tenslotte kan het meten van de expositie aan bepaalde allergenen op de werkplek van groot belang zijn voor onderzoek naar werkgerelateerde aandoeningen.

Hoe kan de allergeenblootstelling gemeten worden?

Eerst moet geprobeerd worden de vraag te beantwoorden in wat voor type stofmonster de natuurlijke blootstelling aan allergenen het best benaderd wordt: stofmonsters van vloeren, matrassen, etc. versus luchtmonsters. Bij astmatische patiënten worden de klachten veroorzaakt door het inademen van de allergene deeltjes die in de lucht zweven. Het meten van de concentratie allergenen in de lucht als maat voor de blootstelling aan deze allergenen zou dan ook de beste benadering moeten zijn. Helaas is dit om verschillende redenen (nog) niet het geval. Ten eerste zijn de ons tot beschikking staande methoden niet gevoelig genoeg om alle allergenen in de lucht betrouwbaar te meten. Dit komt o.a. door het gedrag van bepaalde allergenen zoals die van huisstofmijten die alleen na turbulentie in een

kamer door opwarren in de lucht terecht komen en waarvan de concentratie in de lucht dus zeer sterk varieert³. De allergenen van katten of honden zijn echter aan kleinere stof- deeltjes gebonden dan die van huisstofmijten en deze kleinere deeltjes blijven veel langer in de lucht zweven en daarom kan de concentratie van deze allergenen in de lucht wel bepaald worden⁴. Op grond van het bovenstaande wordt nog steeds de voorkeur gegeven aan het meten van de allergene concentratie in stofmonsters van oppervlakken als vloeren, matrassen, etc. als indirecte maat voor de blootstelling aan allergenen.

Er zijn verschillende allergeenbepalingen. De oudste methode is de morfologische bepaling, b.v. het tellen van huisstofmijten in stofmonsters⁵, het tellen van gras- of boompollen in luchtmonsters en het meten van schimmelsporen via het tellen van z.g. Colony Forming Units (CFU's) op een voedingsbodem. In alle gevallen is de methode arbeidsintensief en vereist een gedegen kennis van de structuren van huisstofmijten, schimmels of pollen om de verschillende soorten te kunnen herkennen en onderscheiden. Daarnaast hoeft het tellen van morfologisch herkenbare structuren niet altijd overeen te komen met de hoeveelheid allergeen. Bij schimmels worden bij de hiervoor beschreven methode alleen de levensvatbare sporen gemeten terwijl dode sporen of andere structuren van de schimmel die wel allergenen kunnen bevatten, niet herkend worden. De ontwikkeling van allergeenspecifieke antistoffen (polyklonale maar vooral monoklonale antilichamen) heeft de bepaling van allergenen in stofmonsters sterk vergemakkelijkt en versneld⁶. Met deze immuno-assays kunnen grote aantallen stofextracten vlot geanalyseerd worden op de concentratie aan verschillende allergenen. M.b.v. deze assays was het mogelijk om de effecten van allergeenwerende maatregelen te bestuderen^{7,8} en kon in bevolkingsstudies belangrijke informatie verkregen worden over de effecten van allergeenblootstelling op de allergische sensibilisatie van kinderen¹.

Naar analogie van de dipsticks die ontwikkeld zijn voor bepaalde klinisch-chemische toepassingen, wordt er nu gewerkt aan de ontwikkeling van dipsticks waarmee op een eenvoudige en snelle manier semi-kwantitatieve informatie verkregen wordt over de blootstelling aan relevante allergenen in onze woonomgeving.

Literatuur

1. U. Wahn, S. Lau, R. Bergmann, M. Kulig, J. Forster, K. Bergmann, C.P. Bauer, and I. Guggenmoos-Holzmann. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J.Allergy Clin.Immunol.* 99:763-769, 1997.
2. S. van der Heide, H.F. Kauffman, A.E.J. Dubois, and J.G.R. de Monchy. Allergen avoidance measures in homes of house-dust-mite-allergic asthmatic patients: effects of acaricides and mattress encasings. *Allergy* 52 (9):921-927, 1997.
3. F. de Blay, P.W. Heymann, M.D. Chapman, T.A.E. Platts-Mills. Airborne dust mite allergens: comparison of group II allergens with group I mite allergen and cat-allergen Fel d I. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:919-26
4. Custovic A, Simpson A, Pahdi H, Green RM, Chapman MD, Woodcock A. Distribution, aerodynamic characteristics, and removal of the major cat allergen Fel d 1 in British homes. *Thorax* 1998;53:33-8.
5. F.Th.M. Spieksma and M.I. Spieksma-Boezeman. The mite fauna of house dust with particular reference to the house-dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart, 1897) (Psoroptidae: Sarcopitiformes). *Acarologia.* 9 (1):226-241, 1967.

6. M.D. Chapman, P.W. Heymann, S.R. Wilkins, M.J. Brown, and T.A. Platts-Mills. Monoclonal immunoassays for major dust mite (*Dermatophagoides*) allergens, Der p I and Der f I, and quantitative analysis of the allergen content of mite and house dust extracts. *J.Allergy Clin.Immunol.* 80 (2):184-194, 1987.
7. S. van der Heide, H.F. Kauffman, A.E.J. Dubois, and J.G.R. de Monchy. Allergen reduction measures in houses of allergic asthmatic patients: effects of air-cleaners and allergen-impermeable mattress covers. *Eur.Respir.J.* 10 (6):1217-1223, 1997.
8. S. van der Heide, W.M.C. van Aalderen, H.F. Kauffman, A.E.J. Dubois, and J.G.R. de Monchy. Clinical effects of air cleaners in homes of asthmatic children sensitized to pet allergens. *J.Allergy Clin.Immunol.* 104 (2 Pt 1):447-451, 1999.

Structuur en biologische activiteit van allergenen

R. van Ree

Inleiding

Allergiediagnostiek wordt tot op heden voornamelijk uitgevoerd met ruwe allergeenextracten. Dit geldt zowel voor *in vivo* methoden (skin prick testen en intradermale huidtesten) als voor *in vitro* assays (RAST, ELISA etc.). Een breed spectrum inhalatie- en voedingsallergenen is hiervoor beschikbaar. De gebruikte allergeen extracten zijn complexe mengsels van belangrijke en minder belangrijke allergenen alsmede vele niet-allergene structuren. Verbeteringen aan diagnostische bepalingen werden tot voor kort voornamelijk gezocht in verbeterde kwaliteit van de gebruikte extracten, uitbreiding van het beschikbare aantal verschillende extracten, en hogere gevoeligheid. In de afgelopen decennia is veel vooruitgang geboekt op het gebied van identificatie, zuivering en karakterisatie van allergenen. Vele zijn inmiddels ook beschikbaar als recombinant allergenen. In deze bijdrage zal ingegaan worden op de mogelijkheden die deze nieuwe vorderingen bieden voor verbetering van de diagnostiek van inhalatie- en voedingsallergieën.

Probleemstelling

Sterk vereenvoudigd kunnen we twee uitersten onderscheiden bij problemen met diagnostische bepalingen: fout-negatieve en fout-positieve uitslagen. Daartussen zit het hele spectrum 'correcte' resultaten, waarvan de klinische relevantie echter sterk kan verschillen. Fout-negatieve resultaten zijn te herleiden tot een te lage gevoeligheid van de test voor een bepaald allergeen. Dit wordt veroorzaakt door ondervertegenwoordiging van allergenen in testreagentia, al dan niet verbandhoudend met labiliteit van allergenen in het gebruikte extract. Fout-positieve uitslagen worden zelden veroorzaakt door niet-specifieke binding van IgE antistoffen. Technisch gesproken zijn de huidige testen doorgaans van hoge kwaliteit. Fout-positieve testen zijn grofweg in twee categorieën onder te verdelen. Allereerst kunnen allergeenextracten verontreinigd zijn met vreemde allergenen. Ten tweede kan het gemeten specifiek IgE zonder klinische relevantie blijken te zijn. Voor al deze problemen biedt de toegenomen kennis op het gebied van allergenen en de beschikbaarheid van recombinant allergenen perspectieven voor verbetering. Aan de hand van een aantal voorbeelden zal dit worden toegelicht.

Variabiliteit in allergeensamenstelling van extracten

Het maken van een allergeenextract begint met de keuze van de grondstof. Er zijn diverse voorbeelden, waarbij de grondstofkeuze aanleiding geeft tot verschillen in diagnostische performance. Huisstofmijt extracten worden soms gemaakt van totaal cultures (mijtenlichamen plus groeibodem), waarin mijtenfaeces prominent aanwezig zijn. Dit leidt tot een relatieve oververtegenwoordiging van groep 1 allergeen (uitgescheiden enzym) ten opzichte van groep 2 allergeen (niet uitgescheiden eiwit). Bij extracten gebaseerd op gezuiverde mijtenlichamen ('whole-body') zijn beide

allergenen min of meer evenredig vertegenwoordigd. Doorgaans bevatten beide typen extracten voldoende groep 2 allergeen voor het detecteren van specifiek IgE. Er zijn echter ook allergenen die in een cultuurextract onder de detectielimiet komen. Een duidelijk voorbeeld hiervan is het groep 10 allergeen van de huisstofmijt. Dit is het spiereiwit tropomyosine. Alleen bij toepassing van 'whole-body' extracten worden specifieke IgE antistoffen hiertegen opgepikt.

Extracten voor het diagnostiseren van allergie voor katten kunnen gemaakt zijn van huidschilfers, haren of hele vacht. In de eerste twee gevallen zal er relatief weinig albumine in de extracten zitten. Alleen het extract van de hele vacht bevat voldoende van dit minor allergeen om specifiek IgE efficiënt te detecteren. Ook voor andere bronnen van inhalatieallergie, zoals bv. schimmels is duidelijk dat de keuze van de grondstof mede bepaalt welke patiënten wel en welke niet correct gediagnostiseerd worden. Tegenwoordig zijn voor veel belangrijke allergenen specifieke testen beschikbaar waarmee te meten is of deze in een extract in voldoende mate vertegenwoordigd zijn. Sinds enige tijd is het echter ook mogelijk om extracten te vervangen door mengsels van gezuiverde recombinant allergenen. Zo kan kattenallergie uitstekend gediagnostiseerd worden met een mengsel van recombinant Fel d 1 en katalbumine. Ook voor graspollen en berkenpollen is het mogelijk om met een beperkt aantal recombinant allergenen goede diagnostiek te bedrijven. Samenvattend bieden de ontwikkelingen op het gebied van de recombinant technologie de mogelijkheid om een einde te maken aan de variabiliteit van reagentia voor allergiediagnostiek.

Labiliteit van allergenen

Een ander probleem dat aanleiding kan geven tot verminderde gevoeligheid van diagnostische testen is de labiliteit van sommige allergenen. Het duidelijkste voorbeeld hiervan is het kruisreactieve major allergeen van berkenpollen, Bet v 1. IgE antistoffen tegen dit allergeen kruisreageren met verwante eiwitten in vruchten en noten, zoals appel, perzik en hazelnoot. Patiënten met dergelijke antistoffen hebben dikwijls orale allergische aandoeningen na consumptie van dergelijke voedingsmiddelen. Huidtest-preparaten voor het diagnostiseren geven zeer vaak fout-negatieve resultaten. Dit is te verklaren door de labiliteit van Bet v 1-gerelateerde allergenen in voedingsextracten. Voor betrouwbare in vivo diagnostiek nemen veel klinici dan ook hun toevlucht tot huidtesten met verse vruchten of noten. Het beschikbaar komen van recombinant versies van de Bet v 1-gerelateerde voedingsallergenen zoals Mal d 1 (appel), Pru p 1 (perzik) en Cor a 1 (hazelnoot) biedt een ander alternatief. Deze reagentia zijn stabiel omdat proteolytische enzymen uit voedingsextracten niet aanwezig zijn. Zowel in huidtest als in in vitro diagnostiek hebben deze reagentia inmiddels hun bruikbaarheid bewezen.

Verontreiniging met vreemde allergenen

Fout-positieve uitslagen kunnen soms herleid worden op de aanwezigheid van allergenen die niet in een extract thuishoren. Extracten voor de diagnostiek van allergie voor huisdieren kunnen verontreinigd zijn met huisstofmijt allergenen. Dit is aangetoond voor diagnostica voor honden- en kattenallergie. Natuurlijk kunnen tegenwoordig dergelijke verontreinigingen met gevoelige specifieke testen worden opgespoord. Het voorkomen van verontreinigingen is echter moeilijker. Grondstof voor dergelijke extracten wordt vaak nog bij dierenartsenpraktijken verkregen. Gegarandeerd huis- stofmijtvrij is derhalve uitgesloten. Wederom bieden hier recombinant allergenen een uitkomst. Het is uitgesloten dat recombinant Fel d 1

verontreinigd is met Der p 1. Voor toepassing in huidtesten wordt hiermee tevens voorkomen dat potentiële ziektekiemen overgedragen worden van huisdier op mens.

Specifiek IgE met uiteenlopende klinische relevantie

Aan een 'correcte' positieve RAST of CAP is niet altijd af te lezen wat de klinische relevantie van deze uitslag is. In het geval van een duidelijk positieve RAST voor bijvoorbeeld graspollen of huisstofmijt is doorgaans ook sprake van een klinische inhalatieallergie, al valt er niet uit af te leiden of het om rhinitis of astma gaat. Bij een positieve in vitro diagnose voor voedingsmiddelen ligt dit veel minder duidelijk. Fout-positieve uitslagen komen hier zeer frequent voor. Dit fenomeen wordt vaak waargenomen bij patiënten met pollenallergie. Pollen bevatten diverse kruisreactieve structuren die aanleiding geven tot positieve testresultaten voor plantaardige voedingsmiddelen. Sommige hebben ook klinisch betekenis, zoals bij het reeds genoemde berk-appel syndroom. Het duidelijkste voorbeeld van kruisreactieve IgE antistoffen die zelden of nooit in verband gebracht worden met klinische voedingsallergie zijn IgE antistoffen gericht tegen suikergroepen op glycoproteïnen. De verklaring van het gebrek aan biologische activiteit is nog niet gevonden. Wel zijn er mogelijkheden om de detectie van IgE antistoffen tegen suikergroepen te voorkomen. Suikergroepen kunnen als remmer worden toegevoegd aan diagnostische testen voor voedingsallergie. Een andere mogelijkheid is om recombinant voedingsallergenen met bewezen klinische relevantie toe te passen. Een bijkomend voordeel van deze laatste benadering is dat niet alleen het voorkomen van fout-positieve uitslagen kan worden teruggedrongen, maar dat tevens onderscheid gemaakt kan worden tussen zwakke en sterke voedingsallergenen. De meeste (zo niet alle) tot nu toe geïdentificeerde voedingsallergenen die in verband gebracht worden met ernstige (soms levensbedreigende) voedingsallergieën blijken zeer stabiele eiwitten. De zure en proteolytische omgeving in het maagdarmkanaal tast hun allergeniciteit niet aan. Voorbeelden hiervan zijn de major allergenen uit pinda en garnaal. Recent is ook in appel en perzik een zeer stabiel allergeen geïdentificeerd, het zgn. lipid transfer proteïne (LTP). Inmiddels zijn een aantal van deze LTPs als recombinant eiwitten beschikbaar. Ook dit allergeen kan bij patiënten anafylactische reacties veroorzaken, dit in tegenstelling tot het met berkenpollen kruisreactieve appelallergeen Mal d 1. Wanneer een appel-extract als diagnosticum wordt gebruikt kan geen onderscheid gemaakt worden tussen milde orale en potentieel levensbedreigende voedingsallergie. Het beschikbaar komen van recombinant Mal d 1 en recombinant Mal d 3 (LTP) biedt de mogelijkheid om diagnostische bepalingen op een dergelijke wijze te verfijnen.

Samenvatting

De vooruitgang die geboekt is op het gebied van allergenenonderzoek biedt goede perspectieven voor verbetering van diagnostische bepalingen. Met name de nog altijd matige kwaliteit van diagnostiek van voedingsallergie kan sterk profiteren van deze vooruitgang. Recombinant allergenen spelen hierbij een hoofdrol.

Monitoring van de allergische reactie

A.E.J. Dubois

MANUSCRIPT OP MOMENT VAN DRUK NOG NIET BESCHIKBAAR

Laboratoriumonderzoek bij beroeps allergie

A.W. van Toorenenbergen

Contact met materiaal uit de werkomgeving kan longklachten en huidaandoeningen veroorzaken, deels op basis van een abnormale immunologische reactie op dit materiaal. Bij de westerse bevolking is beroepsastma thans de belangrijkste van de beroepsgebonden longaandoeningen. Bij 2-15% van de patiënten bij wie astma op volwassen leeftijd ontstaat is deze aandoening tijdens het werk ontstaan.

Vergeleken met beroepsastma krijgt door het beroep veroorzaakte rhinitis relatief weinig aandacht in de literatuur. De meerderheid van patiënten met beroepsastma heeft tevens klachten van rhinitis.

Allergie speelt een rol bij ongeveer 10% van de door het beroep veroorzaakte huidaandoeningen; 30% van allergische beroepsdermatosen bestaat uit contact urticaria en 70% uit contact dermatitis.

In 1713 beschreef Ramazzini het optreden van longklachten bij bakkers, die meelstof inademden. Door de introductie van nieuwe productie-processen en materialen in de chemische industrie is het aantal stoffen, waaraan men in de werk-omgeving kan worden blootgesteld, sterk toegenomen; inmiddels zijn ongeveer 250 verschillende materialen beschreven, welke beroepsastma kunnen veroorzaken. Deze stoffen worden in twee categorieën verdeeld: hoogmoleculaire verbindingen (MW > 3000), veelal afkomstig uit plantaardige en dierlijke materialen, en laag-moleculaire verbindingen, vooral afkomstig uit de chemische industrie. Enkele voorbeelden zijn in onderstaande tabel vermeld.

Hoogmoleculaire beroepsallergenen, welke beroepsastma veroorzaken		
Categorie	Bron	Beroep
<i>Dierlijke eiwitten</i>	- Rat, Muis (vacht, urine, serum) - Rund - Krab, Garnaal - Vogels (veren, serum) - Kippenei-eiwit	- Research laboratorium - Veeteelt - Visserij - Vogelhouders - Voedsel
<i>Insecten</i>	- Voorraadmijt, Meelworm	- Landbouw, Graanoverslag

	- Hommels	- Glastuinbouw
<i>Enzymen</i>	- Aspergillus amylase - Pancreas poeder	- Bakkers - Apotheek, Farmaceut. industrie
<i>Plant aardige eiwitten</i>	- Graan, Meel - Latex - Kruiden & Specerijen - Stuifmeel (groenten, sierbloemen)	- Bakkers, Graanoverslag - Gezondheidszorg - Horeca, Industrie - Glastuinbouw, Bloemenhandel

Een tweede indeling van astma veroorzakende verbindingen is gebaseerd op de snelheid, waarmee de klachten optreden na het eerste contact met het materiaal. Kenmerkend voor allergisch astma is dat er de eerste maanden of jaren van blootstelling geen of relatief weinig klachten zijn. Verondersteld wordt dat er tijdens deze fase zich een immunologische sensibilisatie voor het materiaal ontwikkelt, terwijl ontstekingsreactie en hyperreactiviteit nog in geringe mate aanwezig zijn. Bij de hoogmoleculaire stoffen worden tijdens deze latentie-periode IgE antistoffen tegen deze materialen gevormd. Bij laagmoleculaire stoffen is de sensibilisatie fase korter dan bij HMW- materialen. Laag-moleculaire verbindingen kunnen na binding aan eiwitten structuren vormen, waartegen IgE antistoffen kunnen worden opgewekt; deze kunnen echter slechts bij een minderheid van de patiënten worden aangetoond. De wijze waarop immunologische sensibilisatie optreedt voor laag moleculaire stoffen is nog grotendeels onbekend.

Laagmoleculaire chemicaliën, welke beroepsastma veroorzaken	
Categorie	Bron/Beroep
- Di-isocyanaten - Pthaalzuur anhydriden - Houtstof (plicatinezuur in rood cederhout) - Antibiotica - Metalen: platina-zouten, nikkel, cobalt	- Verven, polyurethaanschuim - Fabricage van kunststoffen, epoxy harsen - Houtzagerij, timmerlieden - Farmaceutische industrie. - Metaalbewerking.

Zowel de HMW als de LMW allergenen induceren een ontstekingsproces, dat leidt tot hyperreactiviteit van de luchtwegen. Histologisch onderzoek van longbiopten toont grote overeenkomsten tussen het HMW- en LMW geïnduceerde ontstekings proces. Bij beroepsdermatosen wordt allergische contacturticaria vooral veroorzaakt door HMW- allergenen uit bijvoorbeeld latex of voedingsmiddelen, terwijl allergische contactdermatitis primair door LMW allergenen wordt veroorzaakt.

Laboratorium onderzoek neemt bij de diagnostiek van beroeps allergie dezelfde plaats in als bij niet- werkgebonden allergie. Huidtest en serologisch onderzoek naar

allergeen-specifiek IgE worden gebruikt om immunologische sensibilisatie voor – vooral hoogmoleculaire – allergenen te onderzoeken. Bernstein gaf in 1999 aan dat de huidtest doorgaans gevoeliger is dan een bepaling van allergeen-specifiek IgE bij diagnostisch onderzoek naar beroepsallergie. Reagentia voor IgE bepalingen tegen de belangrijkste beroeps allergenen zijn commercieel beschikbaar; IgE bepalingen tegen nieuwe hoogmoleculaire allergenen zijn in centra met de benodigde faciliteiten relatief eenvoudig op te zetten.

Het komt niet zelden voor dat een patient met IgE tegen materiaal uit de werkomgeving geen IgE antistoffen heeft tegen gangbare inhalatie-allergenen. Een negatief resultaat in mengsel-RASTs als PhadiaTop of AlaTop sluit de aanwezigheid van IgE, gericht tegen een specifiek beroepsallergeen niet uit; ook bij niet-atopici kan een hoge expositie aan allergenen in de werkomgeving tot vorming van IgE tegen deze beroepsallergenen leiden. Atopie en roken vergroten beide de kans op het ontstaan van IgE- afhankelijke allergie voor beroeps allergenen.

‘Boerenlong’ en ‘vogelhouderslong’ zijn beroeps- (of hobby-) gebonden longaandoeningen, waarbij ingeademd organisch materiaal allergische alveolitis veroorzaakt: ontsteking van de longblaasjes. De expositie aan allergeen leidt bij dit ziektebeeld tot zodanig hoge titers van allergeen-specifiek IgG, dat deze middels immunoprecipitatie-in-gel zichtbaar kunnen worden gemaakt. Deze ‘precipiterende antistoffen’ worden echter ook gevonden bij asymptotische personen ; deze test op ‘precipitinen’ wordt tegenwoordig aangevuld met of vervangen door een ELISA van allergeen-specifieke IgG antistoffen.

Enkele voorbeelden van allergische alveolitis	
- Boerenlong - Vogelhouderslong - Air conditioner's Disease	- Thermofiele actinomyceten in hooi - Veren, serum, mest - Schimmels etc (in luchtbevochtigings en ventilatie systemen)

Onderzoek naar de allergeen belasting in de werkomgeving vindt tot op heden vooral in het kader van research plaats, doordat de benodigde immuno-assays doorgaans niet commercieel verkrijgbaar zijn. In een literatuur overzicht gaf Baur onlangs grenswaarden aan, waarboven immunologische sensibilisatie en/of klinische symptomen optreden. Voor meelstof ligt deze grens bij 1 – 2 mg totaal meelstof per m³. Dit meelstof bevat ongeveer 5 ng tarwe antigeen per mg stof. Voor alpha-amylase (een deegverbetermiddel) en latex antigeen werden grenswaarden van dezelfde orde grootte gevonden, 0,25 ng / m³ respectievelijk 0,6 ng / m³.

De intensiteit van allergeen expositie kan indirect onderzocht worden door middels huidtest of bepaling van allergeen-specifieke IgE antistoffen de sensibilisatie van de werknemers in een bedrijf vast te stellen. Hierbij dient men bedacht te zijn op het ‘healthy workers’ effect: medewerkers met meer klachten, veroorzaakt door de werkomgeving, zullen sneller het bedrijf verlaten.

Aanbevolen literatuur

1. M Chan-Yeung, J-L Malo. Occupational Asthma. *New Engl J Med.* 1995;333:107-112.
2. Bernstein. Allergic reactions to workplace allergens. *JAMA* 1997;278:1907-1913. Chapter 12 uit: *Primer on allergic and immunologic diseases – fourth edition.* JR Baker, editor. *JAMA* 1997;278:1799-2030.
3. X Baur, Z Chen, V Liebers. Exposure-response relationships of occupational inhalative allergens. *Clin Exp Allergy* 1998;28:537-544.
4. DI Bernstein, IL Bernstein. Occupational Asthma. Chapter 67 (pp 963-980) in: *Allergy, Principles & Practice*, 5th edition, E Middleton et al., eds, 1998, Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri, USA.