



Alerji teşhisi için yeni bir multipleks testin değerlendirilmesi

Francesca Buzzulini^{a,*}, Mirella Da Re^a, Enrico Scala^c, Paola Martelli^a, Mariaelisabetta Conte^a, Ignazio Brusca^b, Danilo Villalta^a

^a Allergy and Immunology Unit, Santa Maria degli Angeli Hospital, Pordenone, Italy

^b Laboratory Medicine Unity of Buccheri, la Ferla Hospital, Palermo, Italy

^c IDI-IRCCS Istituto Dermatologico dell'Immacolata, Rome, Italy

Ö Z E T

Anahtar kelimeler:

Moleküler alerji

Yukarıdan aşağıya yaklaşım/ Aşağıdan yukarıya yaklaşım

Multipleks testler/ singlepleks testler

Allergy explorer-ALEX®

Bilinen: Moleküler alerji, alerji teşhisinin kalitesini önemli ölçüde artırmıştır; bununla birlikte, tanısal algoritmada tek yönlü ve multipleks tahlillerin konumlandırılması hala tartışma konusudur.

Yöntemler: Çalışmanın amacı, yakın zamanda ticarileştirilen Allergy Explorer-ALEX®'in seçilen bir popülasyonda (105 alerjik hasta ve 15 negatif kontrol) analitik performansını test etmek, bunu referans ImmunoCAP® yöntemi ve deri prick testi (DPT) ile karşılaştırmaktır.

Bulgular: Tahliller arası kalitatif karşılaştırma, ALEX® ve DPT ($k = 0.64$) arasında önemli bir uyum gösterdi. ALEX® ve ImmunoCAP® arasında IgE'nin ekstraktlara saptanmasında önemli bir uyum gösterilmiştir (inhalantlar için $k = 0.64$ ve gıda alerjenleri için $k = 0.51$), oysa moleküler bileşenlerin tespiti üzerinde daha yüksek bir uyum gösterilmiştir (inhalantlar için $k = 0.92$ ve gıda alerjenleri için $k = 0.72$). Kantitatif karşılaştırma, ALEX® ve ImmunoCAP® arasında zayıf bir korelasyon gösterdi.

Sonuç: Hem ekstraktların hem de moleküler bileşenlerin ALEX® testi ile eşzamanlı tespiti, şu anda kullanımda olan multipleks testin bazı ana sınırlamalarının potansiyel olarak üstesinden gelebilir. Bununla birlikte, ALEX®'i rutin yöntem olarak kullanmadan önce, analitik performansın (özellikle ekstraktlar için) daha büyük ölçekte daha fazla araştırılması gerekir.

1. Giriş

Moleküler alerji (MA), alerjene özgü immünoterapi seçiminde ve gıda alerjisinde riskin tabakalaşmasında önemli kademeli gerçek duyarlılıkları çapraz reaksiyonlardan ayırt etme fırsatı vererek alerji teşhisinin kalitesini önemli ölçüde artırmıştır [1, 2]. Bununla birlikte, tam potansiyeline ulaşmak için, açık bir teşhis çalışmasına ve teşhis yöntemlerine ilişkin iyi bir bilgi düzeyine dayalı olarak uygulanmalıdır.

Şu anda MA testi, tekli veya multipleks deneylerle gerçekleştirilebilir. Tek yönlü tahliller, şimdiye kadar, geleneksel bir "yukarıdan aşağıya" yaklaşımda tercih edilen yöntemdir; Bu indüktif stratejide, alerji uzmanı klinik geçmişten, deri prick testinden ve / veya IgE duyarlılığından ekstraktlara geçerek hangi moleküllerin test edilmesi gerektiğini kesin bir klinik hipoteze göre seçer. Singlepleks testler, yüksek oranda otomatikleştirilmiştir (aynı test seansında hem ekstraktları hem de molekülleri dozlama olasılığı ile), kantitatif değere sahiptir ve sağlam bir teşhis algoritmasında gerçekleştirildiklerinde uygun maliyetli olurlar. Öte yandan, bazı hassasiyetler gözden kaçabilir veya küçümsenebilir. Multipleks tahliller, kendi taraflarında, hastanın duyarlılaşma profilinin daha geniş bir vizyonunu sunar.

* Corresponding author.

E-mail address: francesca.buzzulini@as5.sanita.fvg.it (F. Buzzulini).

<https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.02.025>

Received 2 January 2019; Received in revised form 18 February 2019; Accepted 25 February 2019

Available online 26 February 2019

0009-8981/ © 2019 Published by Elsevier B.V.

12-13'ten fazla molekülü test etmeye ihtiyaç duyulduğunda (klinik ve aynı zamanda ekonomik bir avantaj taşıyan) veya gerekli serum miktarının az olması nedeniyle pediatrik ortamda bunlar kullanılır. Önce "yukarıdan aşağıya" yaklaşımın ardından test edilecek moleküllerin panelini genişletmek ("U şekilli yaklaşım") için, geniş laboratuvar testlerinden kliniğe geçmeyi seçen klinisyenler gerektiren tüm klinik koşullarda "aşağıdan yukarıya" yaklaşımda ilk seçenek olarak görülür [3]. Bununla birlikte, mevcut multipleks tahlillerin yarı kantitatif olma ve tek yönlü yaklaşıma göre daha az duyarlı olma sınıırı vardır. Piyasada bulunan ve şu anda kullanımda olan ilk multipleks tahlil, hem rekombinant hem de doğal 112 farklı molekülün az miktarda serumla (30 µL) test edilmesini sağlayan bir mikrodizidir (ISAC®, Thermo Fisher, İsveç) [4, 5]. Yakın zamanda, başka bir makro dizi (Allergy Explorer-ALEX®, Macro-ArrayDX Wien, Avusturya) ticarileştirildi. ISAC®dan farklıdır çünkü hem alerjen özütleri (157) hem de moleküler bileşenler (125) içerir, doğası gereği kantitatif olarak ticarileştirilir ve dizinin özgüllüğü çapraz reaktif karbonhidrat determinantlarının reaktivite (CCD) inhibisyonu ile geliştirilebilir. Teknik açıdan bakıldığında, her bir alerjen için bir belirleme gerçekleştirir (ISAC, her moleküler bileşen üzerinde üçlü bir test gerçekleştirir) ve bir makro dizi olarak sunulur.

Bildiğimiz kadarıyla, ALEX® sonuçlarını piyasadaki mikroarray ISAC® [6] ile karşılaştıran bu yeni dizide yalnızca bir grup yayınladı. Bu çalışmada, ALEX®'in performansını ve IgE duyarlılaştırma profillerinin kritik bir yorumuna potansiyel katkısını açıklıyoruz.

Bu çalışmanın amacı, seçilmiş bir popülasyonda ALEX®'in analitik performansını ImmunoCAP® (Thermo Fisher, İsveç) ile karşılaştırarak test etmektir. İki yöntem nitel düzeyde (değerlendiriciler arası anlaşma) ve nicel düzeyde karşılaştırılmıştır. Daha ileri bir analiz, her bir yöntemi kalitatif sonuçlar açısından deri prick testleriyle (SPT) karşılaştırmıştır.

2. Araç ve yöntemler

2.1. Nüfus

Genel olarak, İtalya'daki iki merkezden (Alerji ve İmmünoloji Birimi, Santa Maria degli Angeli Hastanesi Pordenone, İtalya ve Buccheri Laboratuvar Tıp Birimi, la Ferla Hastanesi, Palermo, İtalya) gelen 120 serum test edilmiştir. İncelenen popülasyonun medyan yaşı, 58 erkek ve 62 kadın olmak üzere 29 yıl (dağılım 3-69 yaş) idi. Rapor edilen popülasyonun 56'sı solunum alerjisinden ve 49'u gıda alerjisinden etkilendi. Solunum yolu alerjisi alt kümesinde rinit ile başvuran kırk sekiz hasta: 6 hafif aralıklı (% 12), 2 hafif kalıcı (% 4), 5 orta-şiddetli aralıklı (% 10) ve 35 orta-şiddetli kalıcı (% 70) idi. On dört hasta alerjik astımdan etkilendi. Gıda alerjisi popülasyonundan 30 hasta lipid transfer protein (LTP) sendromu ile [5 hasta (% 16.7) hafif semptomlu, 17 hasta (% 56.6) orta semptomlu ve 8 (% 26.7) şiddetli semptomlu] ve 19 ceviz / fındık alerjisi idi [hafif semptomlu 5 hasta (% 26.3), orta semptomlu 12 hasta (% 63.1) ve şiddetli semptomlu 2 hasta (% 10.6)]. Çalışmanın klinik bölümleri ve spesifik IgE ölçümü, katılan her merkezin klinik rutininin bir parçasıydı. Hastalar, klinik verilerinin ve serumlarının anonim bir biçimde kullanılması için bilgilendirilmiş onam verdi. Çalışma, ilgili hastanelerin iç inceleme kurulu tarafından onaylandı. Çalışmanın esasen gözlemsel niteliği göz önüne alındığında, harici bir etik komite tarafından resmi bir onay gerekli değildi.

2.2. Yöntemler

Sera, ALEX® ile test edildi ve sonuçlar, daha önce geleneksel yukarıdan aşağı tanı yaklaşımını izleyerek klinik endikasyonlar üzerinde gerçekleştirilen tek pleksli IgE testi ImmunoCAP® ve DPT (şeftali için ALK Abello ve diğer tüm ekstratlar için Stallergens) ile elde edilen verilerle karşılaştırıldı. ALEX® ile ImmunoCAP®'ı karşılaştırma kararı, ALEX® performansına hem kalitatif hem de kantitatif sonuçlar açısından bakma ve hem ekstraktları hem de molekülleri değerlendirme ihtiyacından doğdu.

Tablo 1a

İnhalantlar üzerinde tahliller arası anlaşma: özütler

	ICAP + AL+	ICAP + AL-	ICAP-AL+	ICAP-AL-	Pos agreeem	95% CI	Neg agreeem	95% CI	k
Çim poleni	22	4	0	7	0.92	0.83–0.99	0.78	0.56–0.99	0.7
Pelin otu	2	8	0	23	0.33	0.0–0.67	0.85	0.75–0.95	0.26
Kanarya otu	2	12	0	19	0.25	0.0–0.5	0.76	0.62–0.89	0.16
Huş	20	3	0	10	0.93	0.85–1	0.87	0.72–1	0.8
Zeytin ağacı	15	2	0	16	0.93	0.85–1.02	0.94	0.85–1.02	0.88
Selvi	0	14	0	19	0	0–0	0.73	0.73	0
Pellitory grass	2	1	0	30	0.8	0.41–1.1	0.98	0.95–1	0.78
Alternaria	6	0	1	26	0.92	0.77–1	0.98	0.94–1	0.9
Dermatoph. Pt.	14	2	1	6	0.9	0.79–1	0.8	0.57–1	0.7
Dermatoph. Ph.	10	5	0	8	0.8	0.62–0.97	0.76	0.55–0.96	0.58
Tümü	93	51	2	164	0.77	0.72–0.83	0.86	0.82–0.89	0.64

ALEX®'de farklı alerjenler ve bileşenler, bir kartuş çipte bir nitroselüloz membran üzerine lekelenir ve bu daha sonra çalkalama altında 0,5 mL 1: 5 seyreltilmiş serum ile inkübe edilir. Özellikle, serum seyreltici bir CCD inhibitörü içerir; ek ön inkübasyon olmaksızın bu prosedürün ardından üretici, % 85'lik bir CCD inhibisyonunu garanti eder. İki saat inkübasyondan sonra, çipler yoğun bir şekilde yıkanır ve alkalın fosfataz ile işaretlenmiş önceden hazırlanmış bir antikor IgE seyreltisi eklenir ve 30 dakika inkübe edilir. Başka bir kapsamlı yıkama döngüsünün ardından, enzim substratı eklenir ve sekiz dakika sonra reaksiyon tamamlanır. Membranlar kurutulur ve her bir alerjen noktası için renk reaksiyonunun yoğunluğu, çift şarjlı bir cihaz kamerası ile ölçülür.

Özel yazılım, görüntüleri dijitalleştirir ve alerjenleri, bileşenleri ve bunların puanlarını kUA / mL cinsinden listeleyen bir rapor hazırlar. Toplam IgE de ölçülür. Son olarak, <0,35 kUA / L, 0,35–1 kUA / L, 1–5 kUA / L, 5–15 kUA / L ve > 15 kUA'ya karşılık gelen azalan spesifik IgE konsantrasyonlarıyla dört noktanın reaksiyona sokulmasıyla rastgele bir kalibrasyon eğrisi elde edilir. / L [6]. Hem ImmunoCAP hem de ALEX® için 0.35 kUA / L konsantrasyonunu pozitif olarak değerlendirdik.

2.3. İstatistiksel analiz

ALEX® ve ImmunoCAP® arasındaki değerlendiriciler arası anlaşma, kalitatif sonuçlar (pozitif-negatif) için hesaplandı; Cohen'in kappa katsayısı (k), pozitif ve negatif anlaşma, dikkate alınan her bir özüt ve molekül için değerlendirildi. Ek olarak, her bir yöntem, deri prick testi (DPT) sonuçlarıyla kalitatif uyum açısından değerlendirildi.

Geleneksel olarak varsayıldığı gibi, kappa sonuçları şu şekilde yorumlanmıştır: k ≤ 0 uyumsuz, 0.01–0.20 hiçbirisi ile hafif arası, 0.21–0.40 adil uyuma, 0.41–0.60 orta düzeyde uyuma, 0.61–0.80 önemli ve 0.81–1.00 neredeyse mükemmel uyum.

İki farklı yöntemle (ALEX®'e karşı ImmunoCAP®) tespit edilen IgE'nin kantitatif değerleri arasındaki ilişkiyi araştırmak için Bland Altman grafikleri kullanıldı.

Tüm istatistiksel analizler, MedCal istatistiksel yazılımı, sürüm 10.4.5 (Mariakerke, Belçika) kullanılarak gerçekleştirildi.

3. Sonuçlar

3.1. İnhalantlar için testler arası anlaşma

ImmunoCAP® ve ALEX® sonuç karşılaştırması ilk olarak kalitatif düzeyde yapıldı. İnhalan alerjenleri (polenler + toz akarları) özütler için genel olarak önemli bir değerlendiriciler arası anlaşma göstermiştir (k = 0.64). İnhalantlar arasında en düşük anlaşma pelin (k = 0.26), kanarya otu (k = 0.16) ve selvi (k = 0) için gözlemlendi (Tablo 1a). İnhalant moleküler bileşenler, yakupotu özleri üzerinde gözlemlenen anlaşma profiline göre Amb a 1 için gözlemlenen en düşük performans (k = 0.35) ile genel olarak neredeyse mükemmel bir uyum (k = 0.92) gösterdi. Aksine, Art v 1 ve Cup a 1 için anlaşma sırasıyla 1 ve 0.87'lik bir k değerine ulaştı (Tablo 1b).

Tablo 1b

İnhalantlar üzerinde tahliller arası anlaşma: moleküler bileşenler.

	ICAP + AL +	ICAP + AL-	ICAP-AL +	ICAP-AL-	Pos agreem	95% CI	Neg agreem	95% CI	k
Phl p 1	26	0	1	6	0.9811	0.94–1	0.9231	0.77–1	0.9043
Phl p 5	17	0	0	16	1	1	1	1	1
Art v 1 ^a	2	0	0	31	1	1–1	1	1–1	1
Amb a 1 ^a	4	9	0	20	0.47	0.17–0.76	0.81	0.69–0.93	0.35
Bet v 1	18	0	1	14	0.97	0.92–1	0.96	0.89–1	0.93
Ole e 1 ^b	12	0	0	21	1	1	1	1	1
Cup a 1 ^c	19	1	1	12	0.95	0.882–1	0.92	0.81–1	0.87
Par j 2	3	0	0	30	1	1	1	1	1
Alt a 1	7	0	0	26	1	1	1	1	1
Der p 1	11	0	0	12	1	1	1	1	1
Der p 2	7	0	0	16	1	1	1	1	1
Der p 23	15	0	0	8	1	1	1	1	1
Tümü	129	10	3	191	0.95	0.92–0.97	0.96	0.94–0.98	0.92

^a Native in ImmunoCAP®.^b Native in ALEX®.^c Native in ImmunoCAP® and ALEX®.

3.2. Besin alerjenleri için tahliller arası anlaşma

Gıda alerjenleri için genel anlaşma, özler için orta düzeyde bir anlaşma ($k = 0.47$) ve moleküler bileşenler için önemli bir anlaşma ($k = 0.72$) ile sonuçlandı.

Verilerin eleştirel bir yorumuna olanak sağlamak için, gıda alerjenleri için anlaşma iki farklı popülasyon alt grubu üzerinde gerçekleştirilmiştir.

İlki, Palermo'da seçilmiş bir popülasyondur ve tipik bir Akdeniz örneği (30 örnek) olarak belirtilen, lipid transfer protein (nsLTP) duyarlılığı ile kesin olarak karakterize edilmiştir [7]. İkincisi, ceviz / fındık duyarlılığı için seçilen bir popülasyondur (19 örnek). LTP'ye duyarlı hale getirilmiş popülasyonda şeftali özleri ve Pru p 3 mükemmel bir uyumla sonuçlandı; bunun tersine, hem yer fıstığı özütü ($k = 0.25$) hem de Ara h9 ($k = 0.63$) daha düşük uyum gösterdi (Tablo 2a). Ceviz / Fındık duyarlılığı olan hastalarda Cor a 8 için daha yüksek uyum ve Cor a 14 ile 2S Albumin ailesi için en düşük uyum gözlenmiştir ($k = 0.21$) (Tablo 2b). Tüm sonuçlar Tablo 2a ve 2b'de ayrıntılı olarak verilmiştir, ancak bunlar özellikle pozitif / negatif örneklerdeki dengesizlikten derinden etkilenmiştir.

3.3. ImmunoCAP® and ALEX® vs Yöntemleri rutin klinik uygulama bağlamında değerlendirmek için ALEX® ve ImmunoCAP® sonuçlarını DPT sonuçlarıyla karşılaştırdık. Her bir yöntem arasındaki karşılaştırma, hem ImmunoCAP® ($k = 0.73$, aralık 0.66–0.81) (Tablo 3a) ve ALEX® ($k = 0.62$, aralık 0.53–0.70) için önemli bir uyum gösterdi (Tablo 3b).

En düşük anlaşma ImmunoCAP® ile DPT analizinde pellitory çimen için ve önceki analizden beklendiği gibi ALEX® değerlendirmesinde pelin, kanarya otu ve selvi için gözlenmiştir.

Tablo 2a

Gıda alerjenleri üzerinde testler arası anlaşma: LTP'ye duyarlı popülasyon.

	ICAP + AL +	ICAP + AL-	ICAP-AL +	ICAP-AL-	Pos agreem	95%CI	Neg agreem	95%CI	k
Peach extract	29	0	0	1	1	1–1	1	1–1	1
Peanuts extract	6	13	0	11	0.48	0.23–0.72	0.62	0.44–0.81	0.25
Overall	35	13	0	12	0.84	0.76–0.93	0.65	0.47–0.83	0.51
Pru p 3	29	0	0	1	1	1–1	1	1–1	1
Ara h 9	21	4	0	5	0.91	0.82–0.99	0.71	0.84–0.98	0.63
Overall	50	4	0	6	0.93	0.92–0.99	0.75	0.51–0.98	0.71

3.4. Ekstraktlar ve moleküller arasındaki kantitatif korelasyon (ImmunoCAP vs ALEX)

Bland-Altman Grafiği, hem özütler hem de moleküller için düşük titrelerde ALEX® ve yüksek titrelerde ImmunoCAP® aşırı tahminini gösterdi (Şekil 1a ve b).

3.5. Negatif kontrollerin analizi

Ekstreler üzerinde 2335 ve moleküler bileşenler üzerinde 1875 testi oluşturan 15 negatif kontrol üzerinde bir analiz yapılmıştır. Biri hariç tüm vakalarda ALEX® sonucu negatifti ve% 0.00042'lik bir yanlış pozitif oranı veriyordu.

3.6. CCD analizi

CCD analizi için veriler, sadece inhalant duyarlılaştırılmış popülasyon (33 serum) için mevcuttu.

Beklendiği gibi, ALEX® üzerindeki CCD inhibisyonuna dayanarak, ImmunoCAP® ve ALEX® arasında CCD kalitatif sonuçlarının karşılaştırmasında düşük bir anlaşma bulduk ($k = 0.11$, ICAP + ALEX + $n = 1$, ICAP + ALEX- $n = 10$, ICAP- ALEX + $n = 0$, ICAP-ALEX- $n = 22$).

11/33 serum (% 33.3), ImmunoCAP® kullanılarak CCD pozitif olarak sonuçlandı ve ALEX® kullanılarak tam bir CCD inhibisyonu gösterdi (Şekil 2).

4. Tartışma

Çalışmamız, polenlere, toz akarlarına ve gıda alerjeni ekstraktlarına ve moleküllerine karşı IgE antikorlarının tespitinde yeni multiplex test ALEX®'in performansını araştırdı. ALEX®'i singleplex testi ImmunoCAP® ile karşılaştıran kalitatif ve kantitatif bir analiz yapıldı.

4.1. Polen ekstraktlarının ve moleküllerinin analizi

Polen özütlerinin analizi, 3/10 özütte > 0.81 bir k değeri ile önemli bir

Table 2b

Inter-assay agreement on food allergens: Walnut/Hazelnut population.

	ICAP + AL +	ICAP + AL -	ICAP-AL +	ICAP-AL -	Pos agreem	95%CI	Neg agreem	95%CI	k
Ceviz özütü	18	1	0	0	0.97	0.92–1	0	0–0	0
Fındık özütü	13	5	0	1	0.83	0.69–0.97	0.28	0.15–0.72	0.21
Tümü	31	6	0	1	0.91	0.84–0.98	0.25	0.1–0.6	0.21
Jug r 1 ^a	16	3	0	0	0.91	0.81–1	0	0.1–1	na
Cor a 8	4	0	0	15	1	1–1	1	1–1	1
Cor a 9 ^b	7	1	0	11	0.93	0.8–1	0.95	0.87–1	0.89
Cor a 14 ^b	6	9	0	4	0.57	0.31–0.82	0.47	0.17–0.76	0.21
Tümü	33	13	0	30	0.86	0.77–0.94	0.85	0.75–0.93	0.70

^a Native in ALEX®.^b Native in ImmunoCAP® and ALEX®.

deneyler arası anlaşma gösterdi; en düşük anlaşma selvi (k = 0), pelin (k = 0.26) ve kanarya otu (k = 0.16) için gözlemlendi. Tablo 1a'da bildirildiği gibi, ImmunoCAP® çoğu zaman pozitif iken ALEX® negatif kalır. Varsa, bu tür sonuçların klinik ilgisini araştırmak için klinik verileri analiz ettik. Polisensitize edilmiş hastalarda klinik olarak ilgili alerjenin tanımlanması genellikle zordur, ancak çalışılan popülasyonda hastalar semptomlarını bildirmek için App Allergy monitörünü kullandılar ve bu da semptom skorlarını polen sayılarıyla eşleştirme imkanı verdi. Büyük tutarsızlıklara sahip iki alerjen olan yakupotu ve selvi üzerinde yapılan analiz, yakupotu için 3/12 (% 25) hastada ve selvi için 3/14 (% 21.4) hastada ImmunoCAP sonuçlarının klinik ilgisini ortaya çıkardı. IgE için doğrudan moleküler bileşenlerle elde edilen sonuçlar karşılaştırılırken, genel uyum neredeyse mükemmeldi (k = 0.92), en düşük performans Amb a 1 (yakupotu majör belirleyicisi) için gözlemlendi. Diğer tüm moleküller için sonuçlar, farklı moleküller arasında iyi bir tutarlılık göstermektedir (0,87 ile 1 arasında değişen k). Selvi poleni moleküler bileşeni (Cup a 1) ve pelin moleküler bileşeni (Art v 1) neredeyse mükemmel bir uyum gösterdi, böylece özü belirlemede gözden kaçan selvi ve pelin duyarlılığı olan hastaların tanımlanmasına izin verdi.

Ekstraktlar ve moleküler bileşenler üzerinde yapılan birleşik analiz sonucunda bazı tutarsızlıklar bulduk. Kapsamlı analizde, üç durumda (pelin için 2 ve zeytin özü için 1) CCD varlığı, ImmunoCAP® özütlerinde yanlış pozitif sonuçlar vermiş olabilir. Diğer iki hastada, analiz iki yöntem arasında sadece özütler açısından değil, aynı zamanda moleküler bileşenler açısından da anlaşmazlık gösterdi; ImmunoCAP®'da yakupotu ve Amb a 1 pozitif ve ALEX®'de negatif; Amb a 1, ImmunoCAP®'de doğal ve ALEX®'de rekombinant olduğundan, bu durumlarda CCD'nin de bir rol oynamış olabileceği göz ardı edilemez. Şu ana kadar yakupotu için gözlemlenen düşük k, CCD paraziti ışığında dikkatlice yorumlanmalıdır.

Ayrıca, Hemmer ve arkadaşları tarafından yakın zamanda bildirildiği üzere, ImmunoCAP'de katı faz alerjen taşıyıcısı olarak kullanılan selüloz, yüksek anti-CCD IgE antikor düzeyine sahip hastalarda glikosile olmayan rekombinant alerjenlerle yanlış pozitif test sonuçlarına neden olmak için

Tablo 3a

DPT ve ImmunoCAP arasındaki anlaşma

	SPT + CAP +	SPT + CAP -	SPT -CAP +	SPT -CAP -	Pos agreem	95% CI	Neg agreem	95% CI	k
Çim poleni	25	2	1	5	0.94	0.87–1	0.76	0.51–1	0.71
Pelin otu	5	2	5	21	0.58	0.31–0.86	0.85	0.75–0.96	0.45
Kanarya otu	8	0	6	19	0.72	0.5–0.9	0.86	0.75–0.97	0.6
Huş	18	1	5	9	0.85	0.74–0.97	0.75	0.55–0.94	0.61
Zeytin ağacı	12	1	5	15	0.8	0.64–0.95	0.83	0.7–0.96	0.63
Selvi	11	3	3	16	0.78	0.61–0.95	0.84	0.71–0.96	0.62
Pellitory grass	2	2	1	28	0.57	0.13–1.0	0.94	0.89–1	0.52
Alternaria	5	0	1	27	0.90	0.73–1	0.98	0.94–1	0.89
Dermatoph. Pt.	16	1	0	6	0.96	0.91–1	0.92	0.77–1.1	0.89
Dermatoph. Ph.	15	1	0	7	0.96	0.9–1	0.93	0.8–1	0.9
Tümü	117	13	27	153	0.85	0.8–0.89	0.88	0.84–0.92	0.73

yeterli miktarda CCD içerebilir [8].

Her durumda, rapor edilen hususlardan herhangi biri için, % 95 CI tarafından yansıtılan numune sayısındaki sınırlamanın sonuçlara bakılırken dikkate alınması gerektiği dikkate alınmalıdır.

4.2. Besin alerjenlerinin analizi

Her iki popülasyonda da beklendiği gibi, ekstrale moleküllere kıyasla daha düşük bir uyum gösterdi.

Moleküler bileşenler açısından anlaşma Pru p 3 için mükemmel yakın ve Ara h 9 için orta düzeydeydi; ancak ALEX®'in negatif sonuçlar verdiği ikincisinde ImmunoCAP® düşük titrelerde (<1 kU / L) pozitif.

Ceviz / fındık duyarlılaştırılmış popülasyon üzerinde yapılan analiz, LTP ailesi üyesi için neredeyse mükemmel bir uyum olduğunu ortaya koydu (Cor a 8); depolama proteini ailesi arasında iyi bir uyum seviyesi sadece Cor a 9 (11S globulin) için gözlemlendi ve Cor a 14 (2S albumin) dışında, 6 hasta Cor a 14 için ALEX® üzerinde negatif ve ImmunoCAP® üzerinde yüksek titrelerde pozitif sonuçlandı (> 1 kU / l). Cor a 14'ün ALEX®'de doğal ve ImmunoCAP®'da rekombinant olduğunun altı çizilmelidir. ImmunoCAP®'ın kabuklu yemiş alerjisinin belirlenmesinde daha yüksek hassasiyeti, şu anda kullanılmakta olan multiplex yöntemle (ISAC®) karşılaştırıldığında da yakın zamanda gösterilmiştir [9].

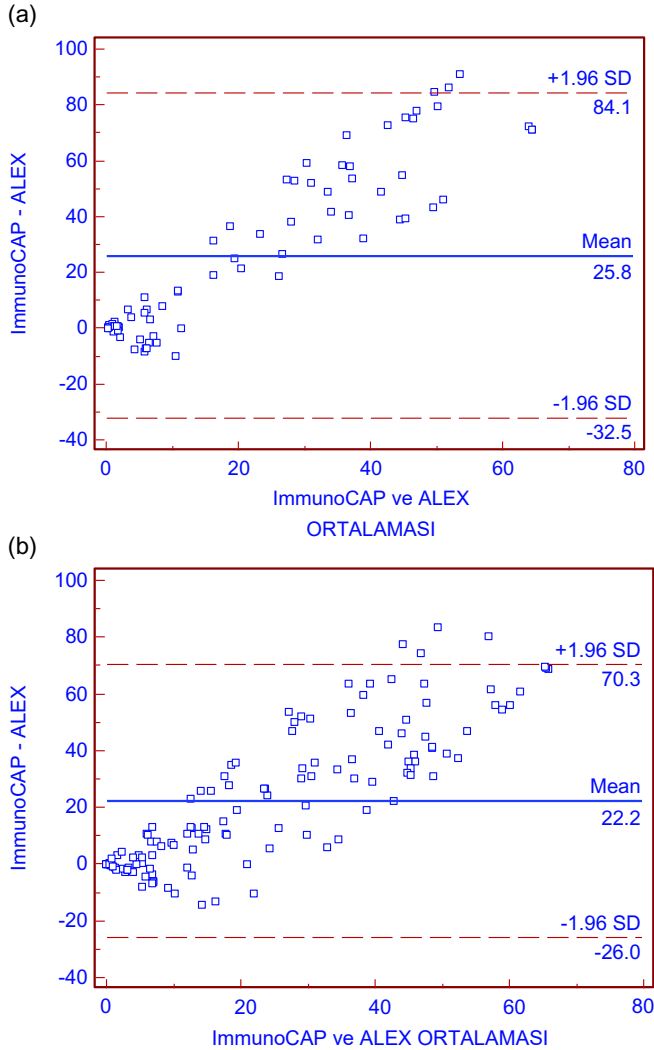
4.3. SPT vs ImmunoCAP ve ALEX®

ImmunoCAP® ve ALEX® ile DPT arasındaki anlaşma her iki yöntem için de önemli olarak rapor edildi. Bununla birlikte, ALEX® muhtemelen özütlerdeki düşük alerjen konsantrasyonundan dolayı pelin, kanarya otu ve selvi üzerinde zayıf bir anlaşma gösterdi. Hem ImmunoCAP® hem de ALEX®'in DPT ile mükemmel olmaktan çok uzak bir anlaşma sunduğu unutulmamalıdır. Deri testi ile in vitro test arasındaki tartışma bağlamında [10,11], bu veriler DPT'nin duyarlılığı ve bileşimi ve şimdiki kadar bunların teşhis algoritmasındaki ilk adım olarak konumlandırılmasıyla ilgili endişeleri ortaya çıkarmaktadır. DPT için literatür raporları, DPT duyarlılığını 97-99'a kadar artırma garantisi olan klinik geçmişi olan inhalantlar için % 70-95 duyarlılık ve % 80-97 özgüllük.

Tablo 3b

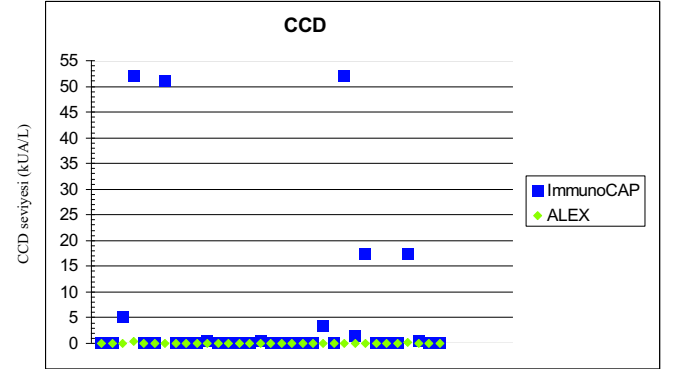
SPT ve ALEX arasındaki uyum.

	DPT + AL +	DPT + AL -	DPT -AL +	DPT - AL -	pos agreeem	95% CI	neg agreeem	95% CI	k
Çim poleni	22	5	0	6	0.89	0.80–0.98	0.7	0.45–0.95	0.61
Pelin oto	1	6	1	25	0.22	0.13–0.58	0.87	0.78–0.96	0.14
Kanarya otu	1	6	0	25	0.4	0–0.78	0.89	0.8–0.97	0.33
Huş	17	2	3	11	0.87	0.76–0.98	0.81	0.65–0.97	0.68
Olive tree	11	2	4	16	0.78	0.6–0.95	0.84	0.71–0.96	0.62
Selvi	0	14	0	19	0	0–0	0.73	0.59–0.86	0
Pellitory grass	2	2	0	29	0.66	0.23–1.1	0.96	0.92–1	0.63
Alternaria	5	0	2	26	0.83	0.6–1	0.96	0.91–1	0.79
Dermatoph. Pt.	15	2	0	6	0.93	0.85–1	0.85	0.66–1	0.79
Dermatoph. Ph.	10	6	0	7	0.76	0.58–0.94	0.70	0.47–0.92	0.50
Tümü	85	45	10	170	0.77	0.69–0.81	0.86	0.82–0.89	0.62

**Şekil 1. a.** Genel ekstrler için Altman Grafiği **b.** Genel olarak moleküler bileşenler için Altman Grafiği.

Besin alerjenleri üzerindeki performans, alerjene ve yaklaşım tipine bağlı olarak sırasıyla% 30-90 ve% 20-60 oranında bildirilen duyarlılık ve özgüllük daha düşüktür (özüt vs prick testi ile delme) [12,13].

HBununla birlikte, majör ve minör alerjenik determinantların standardizasyonu, partiden partiye tutarlılık ve kurum içi referans materyalin kullanımı, DPT sonuçlarının yorumlanması için hala resmi önyargı temsil etmektedir.[13–16]. Bu senaryoda ve verilerimize dayanarak, multiplex testin (hem özütleri hem de molekülleri içeren) uygulanması, özellikle düşük miktarda alerjen (DPT özütlünde) veya zayıf stabilite durumunda, en

**Şekil 2.** ImmunoCAP® ve ALEX® ile polen alerjisinde CCD tespiti.

azından birinci basamak test olarak rolleri açısından eleştirel olarak araştırılmayı hak etmektedir [11]. Bununla birlikte, verileri yorumlarken, yöntem ne olursa olsun, bir IgE duyarlılaşma modelinin gösterilmesinin, klinik geçmiş herhangi bir ilişkili klinik semptomu ortadan kaldırıncaya kadar yalnızca bir duyarlılık kanıtı olarak kaldığını hatırlamak önemlidir.

4.4. Tahliller arası kantitatif karşılaştırma

Tahliller arası kantitatif karşılaştırma doğrusal bir korelasyon gösterdi, ancak titrerler açısından çeşitli dağılımlara sahipti, ALEX daha yüksek seviyeleri olduğundan daha az ve düşük titreleri olduğundan fazla tahmin etti. Bu şaşırtıcı değildir, çünkü kalibrasyon eğrileri aynı uluslararası standartla enterepol edilmiş olsa bile, spesifik IgE değerleri açısından farklılıklar konsolide testler arasında zaten gösterilmiştir [17,18].

5. Sonuç

Bizim çalışmamız, bildiğimiz kadarıyla, multiplex makroarray ALEX® ve singleplex test ImmunoCAP® arasında doğrudan bir karşılaştırma bildiren ilk çalışmadır.

Sonuçlar, hem inhalantlar hem de gıda alerjenleri için IgE'nin belirlenmesinde özütlerde moleküler bileşenlere göre biraz daha düşük bir anlaşma ile iki yöntem arasında önemli bir uyum gösterdi.

ALEX®, kantitatif bir analiz gerçekleştirerek multiplex IgE antikor testlerine atanan ana sınırlardan birinin üstesinden geliyor. Teknik özellikler, birinci nesil multiplex testlere kıyasla enstrümantasyon maliyetlerini potansiyel olarak azaltabilir. Uygulama açısından, ALEX® multiplex test teknolojisinin tüm avantajlarını artırır. Nihai sonucu etkileyebilecek faktörlerin net bir şekilde tanımlanmasıyla birlikte öğrenmesi kolay bir yöntem olarak sunulur. ISAC® ile karşılaştırıldığında, üçlü tayin yerine her alerjen için tek bir tayin yapılmasını gerektirir. Bununla birlikte, bu özellik hata yönetimi ve sonuçların yorumlanması açısından bir ön test endişesi olsa bile,

bizim ayarımızda ImmunoCAP® sonuçlarıyla yapılan anlaşma, verilerin önemli bir tutarlılığının tanığıdır.

Bununla birlikte, rutin klinik ortamda ALEX® değerinin doğrulanması gerekir. Özellikle, ileri çalışmalar, bazı reaktiflerin optimizasyonu, analitik duyarlılık (özellikle saptama sınırı-LoD için) ve tanısız duyarlılık ve özgüllük üzerine odaklanmalıdır. ABelirtildiği gibi, numune boyutundaki sınır, özellikle tek özüt / moleküler bileşenin değerlendirilmesinde anlaşma oranını etkileyebilirdi. Ek olarak, IgE'nin aracılık ettiği insan bağışıklık tepkisinin poliklonal olduğu ve genetiğin etkilerine tabi olduğu unutulmamalıdır. Alerjen özütleri heterojen olabilir ve ince moleküler seviyede standardize edilmesi zor olabilir ve Mueller'in [19] vurguladığı gibi, rekombinant moleküller öngörülemeyen davranışlara sahip olabilir. En az 300 farklı reaktifin analiz edilmesiyle elde edilen çok büyük miktardaki veriler üzerinde yapılan kapsamlı bir analizin yanı sıra ailesel kümelenmiş bileşenlerin (ör. LTP'ler, tropomyosinler) değerlendirilmesi bu sapmanın azaltılmasına yardımcı olabilir.

Hem özütlerin hem de moleküler bileşenlerin varlığı, analitik performansı kolaylaştırmada ve muhtemelen hızlandırmada bir rol oynamalıdır, ancak "aşağıdan yukarıya" bir yaklaşımda referans teknik olarak ALEX®'i kullanmadan önce, verilerin büyük ölçekte doğrulanması ve klinik verilerin ışığında yorumlanması gerekir.

Her durumda, sağlam bilimsel verilere dayandığında yeni bir multipleks testin varlığı, Moleküler Alerji ortamında araştırmaya bir destek sağlar.

Bu makale İstanbul Alerji tarafından çevrilmiştir. İstanbul Alerjinin izni olmadan kopyalanamaz.