

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Małgorzaty Sachy

Temat pracy doktorskiej: „Test aktywacji bazofilów (BAT) w kwalifikacji do immunoterapii swoistej (VIT) w alergii na jad owadów błonkoskrzydłych” – monografia

Promotor: prof. dr hab. Ewa Czarnobilska

Wstęp:

Według danych europejskich 56-95% populacji zostaje użądlna przez owada rzędu błonkoskrzydłych (osa, pszczoła, szerszeń) przynajmniej raz w życiu. Ryzyko wystąpienia reakcji systemowej w przebiegu alergii na jad owadów błonkoskrzydłych (HVA-SYS) wynosi 0,3-7,5% użądlnionych, a śmiertelność sięga 0,03-0,48/ 1 000 000 osób populacji ogólnej rocznie. Jedynym leczeniem przyczynowym alergii na jad owadów błonkoskrzydłych, a tym samym elementem profilaktyki HVA-SYS jest immunoterapia swoista jadem owada (VIT). VIT polega na systemowym podawaniu uczulonym pacjentom stopniowo wzrastających dawek roztworu alergenowego, a następnie dawek podtrzymujących, przez okres co najmniej 3-5 lat. Według wytycznych EAACI głównym wskazaniem do VIT jest przebiecie HVA-SYS II-IV stopnia według klasyfikacji Muellera. Ponadto niezbędne jest udokumentowanie IgE-zależnego mechanizmu nadwrażliwości na jad odpowiedniego owada za pomocą testów skórnych i/lub stężenia specyficznego IgE dla jadu owada. U części pacjentów spełniających kryteria kliniczne kwalifikacji do VIT, nie udaje się potwierdzić mechanizmu IgE zależnego (ujemne punktowe testy skórne - SPT, testy śródskórne - IDT oraz nieobecne specyficzne dla jadu IgE, istnieje rozbieżność pomiędzy wynikami tych badań lub podwójne uczulenie). W tych przypadkach pomocny może być test aktywacji bazofilów - BAT. Bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na odsetek pozytywnych wyników testów oraz sIgE dla jadu, jest też czas jaki upłynął od momentu wystąpienia reakcji poużądleniowej, do wykonania badań. Uważa się, iż zarówno SPT, jak i IDT oraz oznaczenie sIgE w surowicy, powinny być wykonane 4-6 tygodni po epizodzie HVA-SYS. Jak wskazują badania wraz z upływem czasu odsetek pozytywnych rutynowych wyników badań alergologicznych maleje. W tych przypadkach również przydatny może okazać się BAT.

Celem pracy była ocena przydatności BAT jako metody diagnostycznej w kwalifikacji do VIT.

Materiały i metody: Spośród 116 osób, które zgłosiły się z powodu podejrzenia HVA-SYS, 79 pacjentów (68%) spełniało kliniczne kryteria kwalifikacji do VIT. W tej grupie wykonano SPT, IDT z roztworami jadu osy oraz pszczoły, stosowanymi jako szczepionki alergenowe podczas VIT, oznaczono również sIgE dla ekstraktów alergenowych jadu osy i pszczoły oraz wybranych, głównych komponent alergenowych (rApi m 1 i rVes v 5) tych jadów.

Dodatkowo u każdego pacjenta wykonano BAT, zarówno z roztworami alergenowymi jadu osy jak i pszczoły, stosowanymi jako szczepionki alergenowe podczas VIT. Przy użyciu wizualnej skali analogowej (VAS) oceniono lęk przed kolejnym użądleniem przez błonkówki.

Analizy statystycznej dokonano z użyciem pakietu Statistica 12.0 (TIBCO Software Inc, USA).

Wyniki: Grupę 79 pacjentów badania stanowiło 39 kobiet (49%) i 40 mężczyzn (51%) w wieku 18-71 lat. Średni wiek badanych wyniósł $41,1 \pm 14,8$ lat. Wszyscy pacjenci przebyli HVA-SYS II-IV stopnia wg klasyfikacji Muellera. 51 (64,6%) osób zadeklarowało użądlenie przez osę, a 28 (35,4%) przez pszczołę. Pszczoły żądliły częściej niż osy w okolicę przedramienia i głowy, natomiast osy częściej niż pszczoły w podudzie oraz stopę. Czas od ostatniego żądlenia z HVA-SYS wynosił 2-252 miesięcy, średnio $35,1 \pm 58,8$ miesięcy. 38 (48,1%) osób było żądlonych w okresie do 1 roku od kwalifikacji do VIT, natomiast u 41 (51,9%) osób czas ten wynosił 12 miesięcy i więcej, w tym 13 osób deklarowało, iż ostatnie żądlenie miało miejsce co najmniej 5 lat przed badaniami. Wśród 13 pacjentów z podejrzeniem podwójnego uczulenia, BAT był dodatni z roztworami obu jadów u 6 osób, a u 7 (tj. 8,9% badanych) pozwolił wytypować pojedynczy jad do VIT: u 4 tylko jad pszczoły, a u 3 wyłącznie jad osy. W grupie 7 pacjentów z ujemnymi wynikami SPT, IDT oraz prawidłowym sIgE dla ekstraktu i wybranych komponent jadu osy i pszczoły, dodatni BAT potwierdził mechanizm IgE-zależny uczulenia na jad owada (osa) u 6 badanych (tj. 7,6%). Najniższą czułością diagnostyczną charakteryzowały się SPT zwłaszcza u pacjentów deklarujących żądlenie przez osę. Natomiast najwyższą czułość stwierdzono dla sIgE dla ekstraktu jadu oraz dla BAT. Czulość BAT była wyższa u pacjentów deklarujących żądlenie przez osę niezależnie od czasu od ostatniego żądlenia. W podgrupie 13 pacjentów, u których badania wykonano w czasie powyżej 5 lat od HVA-SYS w następstwie żądlenia, czulość BAT oraz sIgE była wysoka: odpowiednio 84,5% oraz 92,3%. W grupie pacjentów po przebytej HVA-SYS po użądleniu przez osę, pozytywna wartość predykcyjna (PPV) BAT oraz IDT była najwyższa i wyniosła odpowiednio 88,2% oraz 86,7%. Natomiast w grupie pacjentów żądlonych przez pszczołę, najwyższą PPV charakteryzowały się sIgE oraz BAT, wynosząc odpowiednio 92,6% oraz 85,4%. Ponadto pacjentów grupy badanej charakteryzował wysoki tj. 8,1 (SD=2,2), zmierzony skalą VAS, poziom lęku przed kolejnym żądleniem.

Wnioski: Test aktywacji bazofilów (BAT) jest użyteczną, uzupełniającą metodą diagnostyczną w kwalifikacji do VIT. Umożliwił weryfikację obecności swoistej nadwrażliwości na alergeny roztworu szczepionki stosowanej następnie w trakcie VIT i u 13 pacjentów (16,5% badanych) jego wynik pozwolił wytypować jad owada do VIT.

Summary

According to the European data, about 56-95% of population is stung by Hymenoptera insect (wasp, bee, hornet) at least once in their lifetime. The risk of HVA-SYS (Hymenoptera Venom Allergy - SYS) is estimated at 0,3-7,5% of stings and the incidence of insect-sting mortality, ranges from 0,03-0,48 /1 000 000 inhabitants annually. The only casual treatment of HVA and thereby element of prophylaxis of next HVA- SYS is venom immunotherapy (VIT). VIT involves the systemic administration of gradually increasing doses of venom to allergic patients, and then maintenance doses during at least 3-5 years. According to EAACI guidelines, patients after HVA-SYS grade II - IV Mueller's classification are eligible for VIT. Moreover, confirmation of IgE-dependent mechanism of HVA, by positive skin tests or/and increased IgE level to proper venom, is necessary. There is a group of patients meeting clinical criteria qualification for VIT, however without confirmation of IgE-dependent mechanism of HVA-SYS (negative skin tests or normal level of sIgE). Either discrepancy between these results is present or double sensitization is suspected. In such cases basophil activation test - BAT is able to be useful. A very important factor, influencing the percentage of positive skin test results and venom sIgE, is also the time between the occurrence of HVA-SYS and the performance of the tests. It is believed that both SPT and IDT, as well as serum sIgE, should be performed 4-6 weeks after an episode of HVA-SYS. Research results show, that percentage of positive results of routine allergy tests decreases over time. BAT may also be useful in these cases.

The aim of this study was to assess BAT as diagnostic method in qualification for VIT.

Material and methods:

Among 116 patients with suspected HVA-SYS, clinical criteria qualification for VIT were met by 79 patients (68%). In this group of patients skin prick tests (SPT), intradermal tests (IDT) using bee and wasp venom included in VIT vaccines solutions, were performed. The level of serum sIgE to wasp and bee venom extracts and selected main components of these venoms: rApi m 1 and rVes v 5, were also measured.

BAT was performed in each patient with both wasp and bee venom allergen solutions used as vaccines during VIT. The level of anxiety of the next Hymenoptera sting, using visual analogue scale (VAS) was assessed.

Statistical analysis was conducted with Statistica 12.0 (TIBCO Software Inc, USA).

Results:

The study population consisted of 79 patients - 39 women (49%) and 40 men (51%), aged 18-71 years. Mean (SD) age was 41,1 (14,8) years. The patients experienced HVA-SYS grade II-IV according Muller's classification. 51 (64,6%) subjects reported wasp stinging and 28 (35,4%) subjects were stung by bee. Bees stung more often than wasps in the area of the forearm and head, while wasps more often than bees in the lower leg and foot. Time since last sting with HVA-SYS was 2-252 months. Mean (SD) time was 35,1 (58,8) months. 38 (48,1%) subjects reported being stung in the 1 year prior to the qualification for VIT, while in 41 (51,9%) patients this time was 12 months or more, including 13 patients, who reported that the last sting took place at least 5 years before diagnostic tests. Among 13 patients with suspected double sensitization, BAT was positive with solutions of both venoms in 6 patients, and in 7 (8,9% of the subjects) it allowed to select a single venom for VIT: in 4 only bee venom, and in 3 only wasp venom. In the group of 7 patients with negative SPT, IDT results and normal sIgE for wasp and bee venom extracts, positive BAT confirmed the IgE-mediated mechanism of sensitization to insect (wasp) venom in 6 patients (7,6% of the subjects). The SPT had the lowest sensitivity, especially in patients declaring a wasp sting. The highest sensitivity was found for sIgE for the venom extract and for BAT. BAT sensitivity was higher in patients reporting wasp stings regardless of the time since the last sting. In the subgroup of 13 patients who were tested more than 5 years after HVA-SYS following a sting, the sensitivity of BAT and sIgE was high: 84,5% and 92,3%, respectively. In the group of patients with a history of HVA-SYS after a wasp sting, the positive predictive value (PPV) of BAT and IDT was the highest and amounted to 88,2% and 86,7%, respectively. While in the group of patients stung by a bee, the highest (PPV) was found for sIgE and BAT, amounting to 92,6% and 85,4%, respectively.

Moreover, the patients of the study group were characterized by a high i.e. 8,1 (SD=2,2) level of anxiety of the next sting, measured using VAS.

Conclusion

Basophil activation test (BAT) is useful, complementary diagnostic method in qualification for VIT. BAT allowed verification of the presence of specific hypersensitivity to allergens of the vaccine solution used during VIT and in 13 patients (16,5% of the subjects) its result allowed to select the insect venom for VIT.