

Wyniki

Grupa pacjentów z alergią na jad osy (A) nie różniła się pod względem cech demograficznych, profilu ciężkości HVA oraz stężenia sIgE od grupy referencyjnej. Wśród pacjentów grupy A większość pacjentów prezentowała po użądleniu IgE-zależną reakcję alergiczną zagrażającą życiu (bez zajęcia układu krążenia tj. reakcję III stopnia 45.05% i reakcję z zajęciem układu krążenia tj. IV stopnia 48.35%).

U 89.1% pacjentów tej grupy, obok uczulenia na ekstrakt jadu osy za pomocą testu IDT i/lub sIgE wykazano uczulenie na co najmniej jedną z molekuł jadu osy: Ves v 1 i/lub Ves v 5, a u 10.99% na żadną z nich (punkt odcięcia wyniku dodatniego 0.35 kU/l. Zastosowanie progu detekcji 0.1 kU/l obniżyło odsetek ujemnych wyników sIgE na co najmniej jedną z molekuł do 2.19% badanych. Co więcej u pacjentów z niskimi (0.1-0.35 kU/l) stężeniami sIgE przeciwko molekułom jadu osy stwierdzano niższe stężenia cIgE ($p = 0.0007$).

Analiza zgodności wyników dodatnich oznaczeń sIgE w surowicy wobec ekstraktu i wobec co najmniej jednej molekule, Ves v1 lub Ves v 5, wykazała, że u 9.89% badanych w surowicy nie występują przeciwciała sIgE przeciwko ekstraktowi jadu, ale występują przeciwko Ves v 1 i/lub Ves v 5. U 6.69% pacjentów grupy A, wykazano obecność sIgE tylko przy pomocy testów skórnych podczas gdy w surowicy nie występowały sIgE ani przeciwko ekstraktowi jadu ani przeciwko badanym molekułom (wyniki dla punktu odcięcia wyniku dodatniego 0.35 kU/l).

W grupie chorych na jad osy wykazano, że niższe stężenia sIgE-Ves v 5 mogą wiązać się z cięższym przebiegiem reakcji alergiczej ($p = 0.048$) charakteryzującym się objawami ze strony układu krążenia (SYS IV^o). Dodatkowo w tej grupie pacjentów wykazano znamienne wyższe stężenia tryptazy w surowicy (SYS I^o+II^o+III^o vs SYS IV^o; $p = 0.02$). Nie wykazano

natomiast zależności między profilem uczuleń na alergeny główne jadu osy a przebiegiem VIT.

Grupa pacjentów z alergią na jad pszczoły (grupa B) nie różniła się pod względem cech demograficznych, profilu ciężkości HVA oraz stężenia sIgE od grupy referencyjnej. Wśród pacjentów grupy B większość pacjentów prezentowała po użądleniu IgE-zależną reakcję alergiczną zagrażającą życiu (bez zajęcia układu krążenia tj. reakcję III° 43.75%, a reakcję z zajęciem układu krążenia 46.88%).

W grupie pacjentów grupy, z alergią IgE-zależną na jad pszczoły, u 82.61% stwierdzono uczulenie na co najmniej jedną molekułę z badanego panelu tj. Api m 1, 2, 3, 5, lub 10. Najczęściej stwierdzano obecność przeciwciał przeciwko Api m 1 (60.94%) i Api m 10 (58.7%). W tej grupie chorych u 17.39% pacjentów uczulonych na ekstrakt jadu pszczoły nie wykazano uczulenia na żadną z oznaczanych molekuł (punkt odcięcia 0.35 kU/l), obniżenie punktu odcięcia dodatniego testy do 0.1kU/l obniżyło odsetek do pacjentów z ujemnym wynikiem sIgE przeciwko co najmniej jednej z badanych molekuł do 10.87%.

Analiza zgodności wyników dodatnich oznaczeń sIgE w surowicy wobec ekstraktu i wobec co najmniej jednej molekuły, wykazała u 8,7% badanych uczulenie na ekstrakt jadu, podczas gdy nie wykazano uczulenia na żadną z oznaczanych molekuł. U 4.35% badanych wykazano obecność uczulenia przeciwko co najmniej jednej z badanych molekuł, ale nie wykazano uczulenia na ekstrakt jadu.

Ponadto wykazano wyższe stężenia sIgE-Api m 5 u pacjentów z cięższym przebiegiem reakcji systemowej po użądleniu ($p = 0.03$) oraz z częstszymi powikłaniami podczas fazy wstępnej immunoterapii prowadzonej wg schematu UR ($p < 0.05$). Częstsze powikłania w tej fazie immunoterapii odnotowano również u chorych z wyższym stężeniem sIgE-Api m 1 ($p = 0.009$). Po 6 miesiącach immunoterapii stwierdzano trend do niższych wartości sIgE-Api m 1 ($p = 0.06$).

Pacjenci z alergią na jad pszczoły i powikłaniami podczas VIT-UR mieli wyższe stężenie tryptazy 8.51 ± 5.62 vs 5.55 ± 3.42 $p = 0.019$ niż pacjenci z niepowikłanym VIT-UR.

Wnioski

1. Diagnostyka molekularna alergii na jad owadów stanowi cenne uzupełnienie, ale nie zastępuje klasycznych metod diagnostycznych opartych o testy skórne z ekstraktem, testy serologiczne z ekstraktem i ocenę cIgE.
2. W diagnostyce alergii na jad owadów zasadne jest obniżenie progu odcięcia wyniku dodatniego do 0.1 kU/l szczególnie przydatne w grupie pacjentów z alergią na jad owadów i niskimi stężeniami cIgE w surowicy.
3. Oznaczenie stężenie sIgE-Api m 5 może być czynnikiem prognostycznym reakcji systemowej z zajęciem układu krążenia.
4. Oznaczenie stężenia sIgE-Api m 1 i sIgE- Api m 5 mogą być pomocne przy prognozowaniu występowania powikłań podczas VIT-UR.
5. Złożoność profili uczuleń molekularnych na jad pszczoły może mieć związek z gorszą skutecznością immunoterapii jadem pszczoły niż jadem osy.
6. Podwyższone stężenie tryptazy w surowicy zwiększa ryzyko powikłań podczas VIT-UR jadem pszczoły.

Summary

Introduction

Hymenoptera venom (HVA) allergy is the most common cause of anaphylaxis in adults. The picture of an allergic reaction after a sting includes local reactions, mild systemic reactions and severe anaphylactic reactions which, in extreme cases, may lead to the death of an allergic person. The only effective method of preventing a severe anaphylactic reaction is venom immunotherapy (VIT). Before starting VIT, it is necessary to confirm the allergy to the venom in the IgE-dependent mechanism. For this skin tests with insect venom extract are performed and the sIgE is determined against wasp and bee venom extracts. In most cases, these tests are sufficient to confirm wasp and bee venom allergy, however, in a small group of patients, despite the diagnostics, it is not possible to clearly confirm the insect due to lack of antibodies to the wasp and bee venom extract or the presence of antibodies to both venoms. Component diagnostics in such cases is a valuable supplement to traditional diagnostic methods using venom extract. The second known application of CRD is the selection of venom for immunotherapy in people with "double allergy", i.e. allergic to both venoms

The availability of modern methods of molecular diagnostics in allergy and particularly allergy to insect venoms raises the question of their rational use and the possibility of replacing traditional methods such as intradermal tests or serological tests with venom allergen extract.

Additionally, other areas of application of CRD are being considered, i.e. usefulness of CRD in identifying patients at increased risk of adverse reactions during VIT.

Another potential benefit of CRD may be its usefulness in typing the profile of patients, especially among those allergic to bee venom, predicting success or failure of classical venom immunotherapy.

The presented work presents the role of component diagnostics in the diagnosis of venom allergy and in the safety of venom immunotherapy.

Objectives

The main aim of the study was to assess the usefulness of component diagnostics in qualifying and monitoring immunotherapy with Hymenoptera venom. The next objectives of the study were to assess the profiles of insect venom allergies and their relationship to the severity of the post-stinging reaction, as well as the safety and effectiveness of immunotherapy.

Method and material

The study group consisted of 167 patients with HVA qualified for immunotherapy with insect venom at the Department of Internal Diseases, Pneumology and Allergology. The reference group consisted of 816 patients with HVA who underwent allergen immunotherapy (VIT) in 2012-2018. Qualification for VIT in both groups was carried out in accordance with the EAACI criteria and using the same protocol.

167 Patients from the study group were divided into 3 subgroups: A (N = 91 with wasp venom allergy and VIT- qualified wasp venom, aged 11 to 74), B (N = 58 with bee venom allergy and bee venom qualified for VIT aged 13 to 71) and C (N = 12 with allergy to both venoms and qualified for VIT with two venoms). In patients qualified for immunotherapy with wasp venom, apart from the IDT assessment, and sIgE against the venom extract, sIgE was additionally determined against the main wasp venom molecules: Ves v 1 and Ves v 5, while in the group of patients allergic to bee venom, sIgE was additionally determined against: Api m 1, Api m 2, Api m 3, Api m 5 and Api m 10 bee venom molecules. Serum tryptase concentration was determined in both groups. In some bee venom allergic patients, sIgE was also determined against the venom molecules after at least 6 months of VIT. The ELISA method was used to assess the concentration of sIgE

in the serum against the venom extracts (sIgE), the ImmunoCAP System method against the wasp and bee venom molecules and the serum tryptase concentration.

In the induction phase, venom immunotherapy was carried out using the "ultra-rush" method according to the Mueller protocol, reaching a total dose of 111.1 mcg of venom within 3.5 hours. In the induction phase, Pharmalgen (Alk Abello) wasp venom and bee venom were used. Treatment during the maintenance phase was carried out according to the protocol of EAACI and the vaccine manufactured Alutard Alk Abello.

The information was collected in the form of a database which was statistically analyzed using the STATISTICA12 software. The following tests were used to analyze the variables: Shapiro-Wilk, t-student, U Mann-Whitney and Chi square. Pearson's and Spearman's correlation coefficients were used to demonstrate the relationship between continuous variables.

Results

The group of patients with wasp venom allergy (A) did not differ from the reference group in terms of demographic characteristics, HVA severity profile and sIgE concentration. Among patients in group A, the majority of patients presented with an IgE-mediated life-threatening allergic reaction (without cardiovascular involvement,: III° reaction 45.05% and reaction with cardiovascular involvement : IV° 48.35%).

In 89.1% of patients in this group, apart from being allergic to wasp venom extract using the IDT and / or sIgE test, allergy to at least one of the wasp venom molecules: Ves v 1 and / or Ves v 5 was shown, and in 10.99% to none of them (the positive cut-off point of 0.35 kU /l). The use of a detection threshold of 0.1 kU/l lowered the percentage of negative ssIgE results on at least one of the molecules to 2.19%. Moreover, in patients with low (0.1-0.35 kU/l)

concentrations of sIgE against the molecules wasp venom lower concentrations of cIgE were found ($p = 0.0007$).

Analysis of positive serum sIgE results against the extract and against at least one molecule, Ves v1 or Ves v 5, showed that 9.89% of the subjects had no sIgE antibodies against the venom extract, but had against Ves v 1 and / or Ves v 5. In 6.69% of patients in group A, sIgE was demonstrated only by skin tests, while serum sIgE was neither against the venom extract nor against the tested molecules (0.35 kU/l positive cut-off results).

In the group of patients with wasp venom, it was shown that lower concentrations of sIgE-Ves v 5 may be associated with a more severe course of an allergic reaction ($p = 0.048$) characterized by symptoms from the circulatory system (SYS IV°). Additionally, in this group of patients, significantly higher serum tryptase levels were found (SYS I° + II° + III° vs SYS IV°; $p = 0.02$). However, no correlation was found between the profile of sensitization to the main allergens of wasp venom and the course of VIT.

The group of patients with bee venom allergy (group B) did not differ from the reference group in terms of demographic characteristics, HVA severity profile and sIgE concentration. In group B patients, the majority of patients presented with an IgE-mediated life-threatening allergic reaction (no cardiovascular involvement, III° reaction of 43.75%, and a reaction with cardiovascular involvement 46.88%).

In the group of patients with an IgE-dependent allergy to bee venom, 82.61% were allergic to at least one molecule from the examined panel; Api m 1, 2, 3, 5, or 10. The presence of antibodies against Api m 1 was the most common (60.94%) and Api m 10 (58.7%). In this group of patients, 17.39% of patients allergic to bee venom extract were not allergic to any of the tested molecules (cut-off point 0.35 kU/l), lowering the positive cut-off point to 0.1 kU/l reduced the percentage of patients with negative sIgE results up to 10.87%.

The analysis of sIgE concentration in the serum for the extract and for at least one molecule, showed in 8.7% of the respondents allergy to the venom extract, while no allergy to any of the analyzed molecules was shown. 4.35% of the examined showed the presence of allergy to at least one of the molecules tested, but no allergy to the venom extract was found.

Moreover, higher levels of sIgE-Api m 5 were found in patients with more severe course of systemic reaction after stinging ($p = 0.03$) and more frequent complications during the initial phase of immunotherapy according to the UR regimen ($p < 0.05$). More frequent complications in this phase of immunotherapy were also noted in patients with higher levels of sIgE-Api m 1 ($p = 0.009$). After 6 months of immunotherapy, there was a trend towards lower sIgE-Api m 1 values ($p = 0.06$).

Patients with bee venom allergy and complications during VIT-UR had higher tryptase levels 8.51 ± 5.62 vs 5.55 ± 3.42 $p = 0.019$ than patients with uncomplicated VIT-UR.

Conclusions

1. Molecular diagnostics of insect venom allergy is a valuable supplement, but not a substitute for classic diagnostic methods based on skin tests with the extract, serological tests with the extract and cIgE assessment.
2. In the diagnosis of insect venom allergy, it is reasonable to lower the positive cut-off threshold to 0.1kU/l, especially useful in the group of patients with insect venom allergy and low serum levels of cIgE.
3. Determination of the concentration of sIgE-Api m 5 may be a prognostic factor of a systemic reaction with cardiovascular involvement.
4. Determination of sIgE-Api m 1 and sIgE-Api m 5 concentrations may be helpful in predicting the occurrence of complications during VIT-UR.

5. The complexity of the molecular sensitization profiles to bee venom may be related to the lower effectiveness of bee venom immunotherapy vs wasp venom immunotherapy.

6. Increased serum tryptase concentration increases the risk of complications during VIT-UR with bee venom.