



# **TOIDUALLERGEENIDE ASTMELISE DIAGNOSTIKA ALGORITMI VÄLJATÖÖTAMINE TALLINNA LASTEHAIGLA LABORIS**

Bakalaureusetöö

Üliõpilane: Anne-Lii Bõkovskaja 213027LAAB

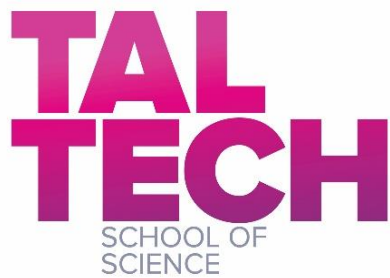
Juhendaja: Irina Golovljova,

SA Tallinna Lastehaigla, laboratooriumi osakonna juhataja

Kaasjuhendaja: Sirje Rüütel Boudinot,

Keemia ja biotehnoloogia instituut, dotsent

Õppekava: Rakenduskeemia ja geenitehnoloogia



**DEVELOPMENT OF A STEPWISE DIAGNOSTIC ALGORITHM FOR  
FOOD ALLERGENS IN THE LABORATORY OF TALLINN CHILDREN'S  
HOSPITAL**

Bachelor thesis

Student: Anne-Lii Bõkovskaja 213027LAAB

Supervisor: Irina Golovljova,

SA Tallinn Children's Hospital, Head of Laboratory Department

Co-supervisor: Sirje Rüütel Boudinot,

Department of Chemistry and Biotechnology, Associate Professor

Study program: Applied Chemistry and Gene Technolog

## Autorideklaratsioon

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Anne-Lii Bõkovskaja

29.05.2024

/digitaalselt allkirjastatud/

Töö vastab bakalaureusetööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Irina Golovljova

29.05.2024

/digitaalselt allkirjastatud/

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Indrek Koppel

[allkiri ja kuupäev]

# Sisukord

Lühendite loetelu .....	6
Sissejuhatus.....	7
1. Kirjanduse ülevaade .....	8
1.1 Allergia põhimõisted ja ajalugu .....	8
1.1.1 Terminoloogia ajalugu ja esmane defineerimine.....	8
1.1.2 Kaasaegne arusaam allergiast .....	8
1.1.3 Allergeenid ja nende roll .....	8
1.1.4 Ülitundlikkusreaktsioonide klassifikatsioon.....	8
1.2 Atoopia ja allergia.....	9
1.3 Toiduallergiad ja toidutalumatus .....	10
1.3.1 Toiduallergia ja toiduallergeenide liigitus .....	10
1.4 Immuunsüsteemi mehhanismid.....	11
1.4.1 Tolerantsus.....	12
1.4.2 Sensibiliseerimine.....	12
1.5 Toiduallergiade levik ja epidemioloogia .....	13
1.6 Diagnostilised meetodid toiduallergiade kindlakstegemiseks.....	13
1.6.1 Kliiniline läbivaatus ja anamnees .....	13
1.6.2 Diagnostilised meetodid ja spetsiifilise IgE tasemete mõõtmine .....	13
1.7 Toiduallergiade ennetamine .....	15
1.8 Toiduallergiade sümptomite leevendamine .....	15
2. Töö eesmärk.....	16
3. Materjalid ja meetodid.....	17
3.1 Andmete kogumine ja analüüs.....	17
3.2 Venossete vereproovide kogumine .....	17
3.3 Toiduallergeenide spetsiifilise IgE määramine.....	17
3.4 ImmunoCAP süsteemi kasutamine .....	18
3.5 Phadia 250 reagentide kasutamine ja kalibreerimine .....	18
3.6 Diagnostilised algoritmid.....	19
3.7 Automaatse reflekstesti seadistamine .....	20
4. Tulemused .....	22
4.1 Patsientide toiduallergeenide uuringute tulemused aastatel 2018–2023 .....	22
4.1.1 Toiduallergeenide üldine testimine ja positiivsete tulemuste osakaal.....	22

4.1.2 Toidupaneeli fx5 testide tulemused ja reflekstestimine.....	22
4.2 Uued algoritmid ja nende rakendamine toiduallergeenide testimisel .....	25
4.2.1 Uute algoritmide testimine ja esmased tulemused .....	25
4.2.2 Lehmapiima komponentide uuringu tulemused.....	27
4.2.3 Muna komponendi uuringu tulemused .....	27
4.2.4 Maapähkli ja saarapuupähkli komponentide uuringu tulemused .....	28
4.2.5 Haruldaste täisallergeenide komponentide uuringu tulemused .....	29
5. Arutelu.....	30
5.1 Järeldused .....	31
Kokkuvõte.....	32
Abstract .....	33
Kasutatud kirjanduse loetelu .....	34
Tänuavaldused .....	40
Lisad.....	41
Lisa 1. Seerumi kogus toiduallergeenide komponentide uurimiseks.....	41
Lisa 2. Kahe kuu jooksul teostatud toiduallergeenide spetsiifilise IgE uuringu tulemused .....	42
Lisa 3. Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks .....	43

## Lühendite loetelu

4-MU - 4-metüülumbelliferoon (ing.k *4-Methylumbelliferone*)

CRD - allergeenikomponentide lahutav diagnostika (ing.k *component-resolved diagnostics*)

DC - dendriitrakud (ing.k *dendritic cell*)

GALT - sooltega seotud lümfikude (ing.k *gut-associated lymphoid tissue*)

IgA - immunoglobuliin A (ing.k *immunoglobulin A*)

IgE - immunoglobuliin E (ing.k *immunoglobulin E*)

IgG - immunoglobuliin G (ing.k *immunoglobulin G*)

IL – interleukiin (ing.k *interleukin*)

LIS – labori infosüsteem (ing.k *laboratory information system*)

LTP - lipiidi transportiv valk (ing.k *lipid transfer protein*)

OAS - oraalne allergiasündroom (ing.k *oral allergy syndrome*)

OFC - suukaudne toiduallergia test (ing.k *oral food challenge*)

OIT - suukaudne immunoteraapia (ing.k *oral immunotherapy*)

OVA – ovalbumin (ing.k *ovalbumin*)

sIgE - allergeenispetsiifilise IgE (ing.k *allergen-specific immunoglobulin E*)

SPT - nahatorketest (ing.k *skin prick test*)

Th - T-abistajarakk (ing.k *T helper cell*)

TLH – Tallinna Lastehaigla (ing.k *Tallinn Children's Hospital*)

Tr1 - tüüp 1 reguleerivad T-rakud (ing.k *type 1 regulatory cells*)

Treg - reguleatoorsed T-rakud (ing.k *regulatory T cells*)

TSLP - tükümuse stromaalne lümfopoetiin (ing.k *thymic stromal lymphopoietin*)

## Sissejuhatus

Toiduallergia kujutab endast olulist rahvatervise probleemi, mis mõjutab nii lapsi kui ka täiskasvanuid ning mille esinemissagedus on viimase kahe kuni kolme aastakümne jooksul märkimisväärselt kasvanud (Mansouri, 2015). Toiduallergia diagnoosimine algab põhjaliku anamneesiga, millele järgneb raviarsti otsus, milliseid allergeene ja teste kasutada edasistes diagnostilistes protseduurides. Tavaliselt on diagnoosi panekul esmavalikuks nahatorketestid ja seerumi allergeenispetsiifilise IgE (ing. k Allergen-specific immunoglobulin E - sIgE) määramine (Foong et al., 2021).

Viimasel ajal on laialdaselt kasutusele võetud allergeenikomponentide lahutav diagnostika (ing.k *component-resolved diagnostics* - CRD), mis võimaldab eristada esmase sensibiliseerimise võimalikest ristreaktsioonidest ja hinnata süsteemsete reaktsioonide riske (Incorvaia et al., 2014).

Toiduallergeenide sIgE määramisel on Tallinna Lastehaiglas kasutusel kaks viisi. Esimene viis on sõeluuring, mis algab fx5 toidupaneeli testiga, mis võimaldab ühe uuringuga määrata kõige sagedasemad allergeenid (munavalge, lehmapiiim, kala, nisu, maapähkel, sojauba). Kui tulemus on positiivne, genereeritakse automaatselt refleksitest ja analüüsitakse patsiendi proovi individuaalsete täisallergeenide sIgE suhtes. Pärast tulemuse saamist uuring lõpetatakse ja allergeenide komponentide uuringut ei teostata. Teise viisi puhul võib raviarst tellida täisallergeenide uuringu. Sellisel juhul viiakse uuring läbi vaid arsti poolt esitatud tellimuse alusel. Allergeenide komponentide uuringu teostamiseks võib raviarst küsida laborist proovide olemasolu või kutsuda patsiendi tagasi verevõtmisele. Need protsessid on aeganõudvad ja võivad põhjustada lisastressi lapsele ja tema perele. Ideaalis peaks positiivse täisallergeeni sIgE tulemus automaatselt ja viivitamatult kajastuma ka samast proovist võetud sIgE komponentide testides.

Selleks, et sIgE määramist kiirendada ja täiustada, otsustasid Tallinna Lastehaigla (ing.k *Tallinn Children's Hospital* -TLH) allergoloogid koos laboratooriumiga rakendada uusi algoritme allergeenide komponentide sIgE määramiseks. Need algoritmid on kavandatud nii, et nad automaatselt algatavad allergeenide komponentide sIgE uuringud pärast positiivsete täisallergeenide tulemuste saamist.

Esimese sammuna analüüsiti toiduallergeenide sIgE esinemissagedust TLH patsientide seas, kasutades andmeid, mis olid kogutud labori infosüsteemist (ing.k *laboratory information system* LIS) ajavahemikul 2018–2023. Selle analüüsi tulemuste põhjal valiti välja allergeenid, millele rakendati allergeenide komponentide jätku-uuringuid ehk refleks teste.

Teiseks eesmärgiks oli juurutada algoritme, mis automaatselt genereerivad toiduallergeenide sIgE uuringuid, et tagada diagnostiliste protsesside efektiivsus ja tõhusus.

Kolmas eesmärk oli uute algoritmide testimine TLH patsientidel perioodil 13.02.2024 kuni 15.04.2024. Testimisfaas võimaldas hinnata algoritmide praktilist rakendatavust ja mõju diagnostiliste tulemuste kiirusele ning täpsusele.

# 1. Kirjanduse ülevaade

## 1.1 Allergia põhimõisted ja ajalugu

### 1.1.1 Terminoloogia ajalugu ja esmane defineerimine

Allergia termini kasutuselevõtt toimus 24. juulil 1906, kui Viini lastearst Clemens von Pirquet seda esmakordselt ajakirjas Münchener Medizinische Wochenschrift kasutas, määratledes seda kui "organismi spetsiifiliselt muutunud reaktiivsus" (Ring, 2005). Algselt kirjeldas Pirquet allergiat kui ebatavaliselt tugevat kõrvalmõju teatud ravimile, mille peale mitte kõik lapsed ei reageerinud samamoodi, ja kasutas sõna, mis on tuletatud kreeka sõnadest allos ('teine') ja ergon ('tegu, reaktsioon') (Illing, 2001).

### 1.1.2 Kaasaegne arusaam allergiast

Kaasaegses mõistes defineeritakse allergiat kui ülitundlikkusreaktsiooni, mida käivitavad immunoloogilised mehhanismid (Johansson et al., 2001). Seda ei käsitleta haigusena, vaid protsessina, mis võib viia erinevate haiguste tekkeni. Meditsiinilises praktikas avaldub allergia mitmete tervisehäiretena, nagu anafülaksia, nõgestõbi, angioödeem, allergiline nohu, silma sidekesta põletik, allergiline astma ja kontaktdermatiit. Peaaegu iga organ võib olla allergia mõju all, kuid enamasti mõjutab see nahka ja limaskestasid, mis on esmased kokkupuutepunktid organismi ja väliskeskonna vahel (Ring, 2005).

Allergiat iseloomustavad peamiselt kaks olulist omadust. Esiteks, see avaldub immuunsüsteemi ülitundlikkusreaktsioonina, mis tekib vastusena täiesti kahjutule või suhteliselt ohutule ärritajale, nagu õietolm või kassikarvad. Teiseks, allergia on spetsiifiline, mis tähendab, et allergiline reaktsioon ilmneb alati ainult konkreetsetele ärritajatele. Näiteks inimene, kes on allergiline kassikarvadele, ei hakka automaatselt reageerima koerakarvadele. Siiski, aja jooksul võib allergikute tundlikkus laieneda ja nad võivad hakata reageerima ka uutele ainetele (Illing, 2001).

### 1.1.3 Allergeenid ja nende roll

Allergeen on tavaliselt valk, mis on võimeline siduma immunoglobuliin E (ing.k *immunoglobulin E* - IgE) antikehi ja esile kutsuma allergilise reaktsiooni (Aas, 1978). Enamik allergeene on sensibiliseerivad, mis tähendab, et nad suudavad indutseerida allergeenispetsiifilisi IgE antikehi. Mitte-sensibiliseerivad allergeenid võivad põhjustada allergilisi sümptomeid ainult siis, kui eelnev kokkupuude seotud (ristreaktiivse) allergeeniga on põhjustanud sensibiliseerumise. (Dramburg et al., 2022) Näiteks on kase allergeen Bet v 1 tüüpiline sensibiliseerija, samas kui homologne õuna allergeen Mal d 1 on ristreaktiivne mitte-sensibiliseerija (Fritsch et al., 1998).

### 1.1.4 Ülitundlikkusreaktsioonide klassifikatsioon

Ülitundlikkusreaktsioonid on objektiivselt tuvastatavad sümptomid või tunnused, mis tekivad konkreetse stiimuli mõjul sellistes kogustes, mis enamikule inimestele ei põhjusta reaktsiooni (Annus, 2005). Immunoloogias klassifitseeritakse ülitundlikkusreaktsioonid nelja klassikalise vormi,



tuntud kui Coombsi ja Gell'i reaktsioonitüübid (Dispenza, 2019). Esimesed kolm tüüpi on antikehade vahendatud, samas kui neljas tüüp põhineb rakulisel ülitundlikkusel. Briti immunoloog Ivan Roitt on täiendanud klassikalisi ülitundlikkusreaktsioonide klassifikatsiooni, lisades viienda kategooria. See kategooria hõlmab antikehi, mis mõjutavad spetsiifiliselt rakupinnaretseptoreid. Näiteks kuuluvad siia kilpnääret stimuleeriva hormooni retseptori vastased stimuleerivad autoantikehad (Uibo et al., 2015).

I tüüpi ülitundlikkusreaktsioon ehk kiire reaktsioon ilmneb, kui antigeenid satuvad organismi ja aktiveerivad eelnevalt sensibiliseerunud isikute IgE-klassi antikehi (Uibo et al., 2015). See võib põhjustada ulatuslikke reaktsioone organismis, äärmuslikel juhtudel põhjustades eluohtlikke seisundeid nagu anafülaksia (Dispenza, 2019).

II tüüpi ülitundlikkusreaktsioonid tekivad peamiselt autoantikehade toimel kudedele, aktiveerides leukotsüüte, mis on seostunud nende pinnal asuvate Fc-retseptoritega või aktiveerides komplementsüsteemi. Sellised reaktsioonid võivad ilmnedas mitmetes autoimmuunsetes ja alloimmuunsetes seisundites, nagu autoimmuunne hemolüütiline aneemia ja trombotsütopeenia (Mehraj et al., 2020).

III tüüpi ülitundlikkusreaktsioonid ehk immuunkomplekside vahendatud koekahjustused tekivad, kui suured mittelahustuvad immuunkompleksid kogunevad veresoonte kapillaaridesse, neeruglomerulitesse ja liigestesse, põhjustades olulist koekahjustust. Näiteks võivad need olla seotud süsteemse luupuse või muude süsteemsete sidekoehaigustega (Mehraj et al., 2020).

IV tüüpi ülitundlikkusreaktsioonid on rakulise immuunsuse vahendatud reaktsioonid, kus sensibiliseeritud T-lümfotsüüdid aktiveeruvad ja põhjustavad koekahjustusi. Need on tavalised mitmesugustes autoimmuunhaigustes, mikroobsetes infektsioonides ja siirdatud elundite tagasilükkamises. Näiteks võib tuberkuloosibakter või muud tüüpi rakusisesed infektsioonid põhjustada olulist koekahjustust (Mehraj et al., 2020).

## 1.2 Atoopia ja allergia

Mõisteid atoopia ja allergia kasutatakse tihti sünonüümidenas, kuid tegelikult on need erinevad. Atoopia on allergiline ülitundlikkus, mis ilmneb eelsoodumusega inimestel kui liialdatud IgE - vahendatud tüüp-1 immuunvastus. See mõjutab kehaosi, mis ei puutu otseselt kokku allergeeniga, ning avaldub sageli naha, silmade, nina ja kopsude reaktsioonidenas. Geneetiline tendents atoopiliste seisundite tekkeks võib olla seotud varajaste nakkustega, mis soodustavad T-abistajaraku (ing.k *T helper cell* - Th) 1-kallutatud immuunsust, aidates seeläbi ära hoida Th2-süsteemi aktiveerimist, mis on üks peamisi atoopiat põhjustavaid mehhanisme (Reddy et al., 2008).

Allergilise reaktsiooni puhul reageerib organismi immuunsüsteem väliskeskkonnast pärinevate antigeenide ehk allergeenide vastu IgE-vahendatud põletikulise reaktsiooniga, mille tekkimiseks on eelnevalt vajalik organismi sensibiliseerimine konkreetse antigeeni suhtes. On oluline mõista, et allergia mõiste kasutamine on laiem ja hõlmab ka selliseid juhtumeid nagu kontaktdermatiit, mida põhjustavad T-rakud (IV tüüpi ülitundlikkus) vastusenas teatud välisantigeenidele, näiteks kemikaalidele ja metallioonidele nagu nikkel (Uibo et al., 2015).

## 1.3 Toiduallergiad ja toidutalumatus

### 1.3.1 Toiduallergia ja toiduallergeenide liigitus

Toiduallergia on immuunsüsteemi ebanormaalne reaktsioon, mis käivitub allergeenilise toiduvalgu allaneelamisel. Isegi väga väikesed kogused allergeenilist toitu võivad tekitada kliinilisi sümptomeid nagu seedehäired, nõgestõbi ja hingamisteede põletik, mille raskusaste võib olla kergest eluoholikuni (Yu et al., 2016).

Toiduallergiatega puhul eristatakse peamiselt kolme tüüpi (Seth et al., 2020). Esimene ja kõige põhjalikumalt uuritud vorm on IgE-vahendatud toiduallergiad, mis on seotud tõsiste või isegi eluohutlike reaktsioonide riskiga (Fiocchi et al., 2010). Kuigi sellised allergiad võivad lapsepõlves taanduda, võivad atoopilised reaktsioonid teatud toitudele nagu pähklid, puuviljad ja koorikloomad püsida täiskasvanueas (Sicherer et al., 2014). Nende allergiate levik varieerub sõltuvalt geograafilisest piirkonnast ja toitumisharjumustest; näiteks Lääne-Aafrika lastel on levinud allergiad ananassi, papaija, apelsini ja mango vastu (Hossny et al., 2019), samas kui Põhja-Ameerika laste seas esineb sagedamini allergiaid pähklite, lehmapiima, muna ja koorikloomade suhtes (Hill et al., 2016).

Teiseks tüübiks on segatüüpi toiduallergiad, millele on iseloomulikud nii IgE-sõltuvad kui ka IgE-sõltumatud reaktsioonimehhanismid. Need allergiad võivad hõlmata keerukamaid immuunvastuseid ja sageli mõjutavad need seedetrakti, nahka ning hingamisteed (Spergel, 2006).

Kolmandaks tüübiks on IgE-st mittesõltuvad allergiad, mis peamiselt mõjutavad seedetrakti ja on vähem tõenäoline, et need põhjustavad nahareaktsioone või hingamisteede sümptomeid (Cingi et al., 2010).

Toiduallergia võib tekkida mitmel viisil: otsese kokkupuutel toiduga, toiduainete vahelise ristreaktsiooni kaudu või allergeenide ja toitude vahelise ristreaktsiooni kaudu (Moriyama, 2015). Näiteks kase õietolmu ja teatud puu- ja pähkliallergia vaheline ristsensibiliseerumine on tüüpiline näide. Pru p 3, mis on levinud virsikuallergeen ja kuulub mittespetsiifiliste lipiidide ülekande valkude hulka, on tuntud oma ristreaktiivsuse ja vastupidavuse tõttu toidutöötlemisele (Treadler et al., 2017).

Oraalne allergiasündroom (ing.k *oral allergy syndrome* - OAS) on teatud tüüpi toiduallergia, mis ilmneb kohe suus sügelusena, limaskestade angioödeemi ja kõhuvaluna pärast teatud toitude söömist (Ivković-Jureković, 2015). OAS-i korral võivad kaseõietolmu allergiaga inimesed kogeda ristreaktsioone teatud toidukomponentidega, nagu maapähklikomponent Ara h 8. Seda tüüpi allergia on tavaliselt vähem tõsine kui muud IgE-vahendatud reaktsioonid, kuid teised maapähkliproteiinid (Ara h 1, Ara h 2) võivad põhjustada raskemaid ja kliiniliselt olulisi allergilisi reaktsioone (Hurlburt, 2013).

Toiduallergeenide liigitus põhineb nende keemilistel omadustel ja vastupidavusel, jagunedes kahte peamisse kategooriasse (Breiteneder et al., 2005). Esimene kategooria koosneb suurtest, vees lahustuvatest glükoproteiinidest, mis on kaetud suhkruahelatega ja näitavad vastupidavust kuumusele, hapetele ja ensüümidele. Sellised valgud suudavad säilitada oma aktiivsuse läbi

erinevate toiduaine töötlemise, säilitamise, valmistamise ja seedimise protsesside. Sellesse kategooriasse kuuluvad näiteks kaseiinid lehmapiimas, vitsiliinid kaunviljades ja pähklites, ovomukoidid munades ning mittespetsiifilised lipiide transportivad valgud, mis leiduvad laialdaselt taimsetes toiduainetes (Anca et al., 2013).

Teine kategooria sisaldab kergesti lahustuvaid aineid, mis kiiresti lagunevad kuumuse, hapete ja ensüümide toimele. Need ained ei põhjusta tavaliselt tundlikkust allaneelamisel, kuid võivad esile kutsuda tundlikkuse, kui nad puutuvad kokku nahaga või imenduvad läbi limaskestade. Näiteks kuuluvad siia kategooriasse õietolmud, nagu kask ja rohttaimed, ning teatud tüüpi puu- ja köögiviljad, sealhulgas oad, porgandid ja virsikud. See jaotus aitab mõista, kuidas erinevad toiduallergeenid võivad mõjutada inimesi erinevatel viisidel, olenevalt nende keemilisest koostisest ja vastupidavusest (Anca et al., 2013).

Sellised allergeenid nagu Pru p 3 ja teised taimset päritolu allergeenid, mis kuuluvad nelja peamise valgu perekonda—prolamiinid, kupiinid, Bet v 1 ja profiinid—moodustavad enamiku taimsetest toiduallergeenidest (Jenkins et al., 2005). Loomset päritoluga allergeenid jagunevad peamiselt kolme valgu perekonna vahel: tropomüosiinid, parvalbumiinid ja seerumi albumiinid, mis kõik on samuti tugevalt seotud allergiliste reaktsioonidega (Valério et al., 2015).

Toiduallergiatega ja toidutalumatusete eristamine on oluline, sest need kaks seisundit võivad põhjustada segadust nii diagnoosimisel kui ka ravil (Turnbull et al., 2015). Toiduülitundlikkus hõlmab nii toiduallergiaid kui ka toidutalumatusi (Taylor et al., 2001).

Talumatusete tekkepõhjuseks võivad olla ensüümide puudulikkus või toidus esinevad vasoaktiivsed farmakoloogilised ained (ensümaatiline ja farmakoloogiline talumatus) (Ortolani et al., 2006). Toidutalumatus ei hõlma inimese immuunsüsteemi ja see erineb toiduallergiast, kus isegi väikesed toidukogused võivad esile kutsuda reaktsioone. Toidutalumatusete sümptomid ilmnevad tavaliselt siis, kui tarbitakse tavapärasest suuremaid toidukoguseid. Sümptomid on mitmekesised ja võivad sarnaneda toiduallergiatega omadega, kuid enamasti tulenevad need seedetrakti võimetusest seedida või omastada teatud toiduaineid või nende komponente. Näiteks laktoositalumatus on üks levinumaid toidutalumatusete vorme, mida iseloomustab piimasuhkru ehk laktoosi seedimise raskused (Anca et al., 2013; Tedner et al., 2022).

Toiduallergia korral reageerib immuunsüsteem ebatavaliselt tugevalt teatud toiduvalkudele, mis enamikule inimestele ei põhjusta reaktsioone. Erinevalt toidutalumatusetest, kus on probleem seedimisega, põhjustab toiduallergia immuunvastust, mis võib kiiresti kujuneda tõsiseks ja potentsiaalselt eluohtlikuks seisundiks (Anca et al., 2013; Tedner et al., 2022).

## **1.4 Immuunsüsteemi mehhanismid**

Inimestel, kes põevad toiduallergiat, põhjustab toiduallergeenidele sensibiliseerumine sobimatuid põletikulisi immuunreaktsioone tavaliste toitude suhtes (Berin et al., 2013). Toiduallergiatega uurimises on oluline haigusmehhanismide väljaselgitamine ning üheks uurimissuunaks on funktsionaalse immuuntolerantsuse arendamine, mis võiks asendada toiduallergeenidele sensibiliseerumist (Satitsuksanoa et al., 2018).

### 1.4.1 Tolerantsus

Immuuntolerantsus on aktiivne protsess, mis algab potentsiaalsete toiduantigeenide omandamisega peensooles, kus asub suur osa sooltega seotud lümfikoest (ing.k *gut-associated lymphoid tissue* - GALT) (Satitsuksanoa et al., 2018). GALT-i peal paiknevad spetsiaalsed mikrovoldikuteks või M rakkudeks nimetatud rakud, samuti müeloidrakud nagu dendriittrakud (ing.k *dendritic cell* - DC) ja makrofaagid, kes on võimelised antigeene endotsüteerima sooleõõnest (Yu et al., 2016).

Umbes 2% valkudest läbib sooleepiteeli muutumatul kujul, ning seejärel võidakse neid transportida otse või kaudselt maksa või lümfoidsetesse kudedesse, kus toimub antigeenide esitus. (Chinthrajah et al., 2016).

Dendriittrakud, eriti CD103+ tüüpi, mängivad võtmerolli immuuntolerantsuse välja kujunemisel limaskestades. Need rakud toodavad transformeerivat kasvufaktorit-beeta ja retinohapet, mis soodustavad naiivsete T-rakkude diferentseerumist antigeenispetsiifilisteks regulatoorseteks T-rakkudeks (ing.k *regulatory T cells* - Treg). Samuti võivad need dendriittrakud indutseerida naiivsete CD4+ T-rakkude diferentseerumist FOXP3-, interleukiin (ing.k *interleukin* - IL) -10 sekreteerivateks T-rakkudeks, mis on tuntud kui tüüp 1 reguleerivad T-rakud (ing.k *type 1 regulatory cells* - Tr1) (Pabst et al., 2012).

Lümfikoes leiduvad CCR9+ dendriittrakud soodustavad Treg-rakkude funktsiooni, mis pärsib antigeenispetsiifilisi immuunreaktsioone, aidates kaasa limaskestade tolerantsuse arengule. CD103+ dendriittrakud toodavad ka retinohapet, mis indutseerib Treg-rakkude integriini  $\alpha\beta 7$  ekspressiooni, suunates neid soolestikku. Seal leiduvate reguleerivate T-rakkude, sealhulgas FOXP3+ Treg-rakkude ja Tr1-rakkude, arvukus sõltub toiduantigeenide kättesaadavusest ja on kriitiline immuunvastuse modereerimisel (Pabst et al., 2012).

Toiduallergia tekkesse on seotud ka IL-4 retseptor, mille inhibeerimine võib parandada Treg-rakkude teket ja tugevdada tolerantsust (Rivas et al., 2015).

### 1.4.2 Sensibiliseerimine

Ehkki IgE-tüüpi antikehadel on vereplasmas lühike eluiga, võivad nad pärast kinnitumist kudedes asuvaltel nuumakkudel püsida mitu kuud, oodates allergeeniga kokkupuudet. Seda protsessi nimetatakse sensibiliseerumiseks. Kui inimene on juba korra mingi allergeeni suhtes sensibiliseeritud, siis reageerib tema keha kiiresti ja intensiivselt. Spetsiifilised IgE-antikehad tuvastavad toiduvalgus olevad kindlad osad, mida kutsutakse epitoopideks, võimaldades valgul ja antikehal moodustada omavahel tüüpilise võtme-ja-luku tüüpi kompleksi (Liu et al., 2018; Anca et al., 2013).

Sensibiliseerumise käigus immuunsüsteem arendab vastuseid toiduallergeenidele, ja see võib muutuda, kui DC vahendatud tolerantsus toiduantigeenide suhtes on häiritud põletikuliste stiimulite mõjul, põhjustades Th2-rakkude ja teiste rakutüüpide vahendatud toiduallergilise immuunreaktsiooni (Ruiter et al., 2012). Naharakkude poolt vabastatud põletikulised tsütokiinid, sealhulgas IL-25, IL-33 ja tükumuse stromaalne lümfopoetiin (ing.k *thymic stromal lymphopoietin* -

TSLP) mõjutavad dendriittrakte ning suunavad immuunvastuse Th2-rakkudega seotud allergiliste reaktsioonide poole, mitte tolerantsust soodustavate vastuste poole (Paul et al., 2010). Näiteks kui hiirtel sensibiliseeritakse nahka ovalbumiiniga (ing.k *ovalbumin* - OVA) ja TSLP-ga ning seejärel manustatakse neile korduvalt OVA-d suu kaudu, võib see põhjustada IL-25-sõltuvat kõhulahtisust ja anafülaksiat (Han et al., 2014).

## **1.5 Toiduallergiatega levik ja epidemioloogia**

Toiduallergia epidemioloogia kohaselt algavad allergiad tavaliselt lapse esimese kahe eluaasta jooksul (Barni et al., 2020). Mõned allergiad, nagu lehmapiima- ja munavalgu suhtes, võivad lapsepõlves sageli taanduda. Vastupidiselt, maapähkli- ja sarapuupähkliallergiad, mis samuti esinevad tihti juba imikueas, kipuvad püsima täiskasvanueani (Sicherer et al., 2014).

1993-1994. aastatel Eestis läbi viidud uuringu tulemus näitas, et tsirkuleerivate IgE antikehade tase munade ja lehmapiima suhtes tõusis poole aasta vanustel lastel 13%-lt kahe aastaseks saamisel 36%-ni (Julge et al., 2001).

Koolieas, noorukieas ja täiskasvanuna esineb laialdaselt ristreaktiivseid toiduallergiaid. Need allergiad on sageli seotud õhus levivate allergeenidega ja inimese varasema kokkupuutega nendega (Werfel et al., 2015). Vahemere riikides on levinud sensibiliseerumine toidu lipiidide transportivate valkude (ing.k *lipid transfer protein* - LTP) suhtes, mille tuntumad näited on virsiku Pru p 3, sarapuupähkli Cor a 8, maapähkli Ara h 9 ja kreeka pähkli Jug r 3. Need valgud omavad sarnaseid struktuurilisi omadusi, mis on tihedalt seotud süsteemsete reaktsioonide suurenenud riskiga (Treadler et al., 2017).

## **1.6 Diagnostilised meetodid toiduallergiatega kindlakstegemiseks**

### **1.6.1 Kliiniline läbivaatus ja anamnees**

Diagnostilised protseduurid toiduallergiatega kindlakstegemiseks algavad põhjaliku kliinilise läbivaatuse ja anamneesiga, mis keskenduvad spetsiifilistele riskifaktoritele nagu atoopiline dermatiit ja perekondlik eelsoodumus atoopilistele haigustele. Kui arst kahtlustab IgE-vahendatud toiduallergiat, on esmased sammud üldise ja allergeenispetsiifilise IgE tasemete mõõtmine patsiendi seerumis ning nahatorketestide (ing.k *skin prick test* - SPT) läbiviimine. Need testid aitavad tuvastada allergiat esile kutsuvaid toiduaineid, kuid üksinda diagnoosi ei kinnita (Panel, 2010).

### **1.6.2 Diagnostilised meetodid ja spetsiifilise IgE tasemete mõõtmine**

Nahatorketestid viiakse läbi, kandes nahale allergeeniekstrakti ja torgates seejärel naha epiteelbarjääri skalpelliga, et allergeenid saaksid immuunsüsteemiga kokku puutuda (Yu et al., 2016). Kui torkekohal tekib paistetus ja nõgestõbi, mõõdetakse reaktsiooni suurust 15 minuti pärast. Teatud toiduainete, nagu maapähklite puhul, on olemas spetsiifilised SPT läviväärtused, mis näitavad suurt tõenäosust allergiale. Näiteks maapähkli SPT, mis tekitab  $\geq 8$ mm läbimõõduga nõgestõve, on tugev allergia indikaator (Roberts et al., 2005).

Sellest hoolimata, spetsiifilised IgE tasemed ja SPT viitavad vaid sensibiliseeritusele, mis on vajalik toiduallergia esinemiseks, kuid mitte piisav tõend selle kliiniliseks olulisuseks (Roberts et al., 2005). Lisaks on nii SPT kui ka spetsiifilised IgE testid seotud kõrge valepositiivsete tulemuste osakaaluga, mida võib põhjustada homologsete valkude ristreaktiivsus (Kattan et al., 2020). Valepositiivsed tulemused võivad tekkida ka seetõttu, et nahk ja sooleepiteel kohtuvad toiduvalkudega erinevalt – nahas on kokkupuude terve valgu molekuliga, samas kui soolestikus toimub seedeptsessis lagundatud valkudega kohtumine (Yu et al., 2016).

Rahvusvaheliselt on leitud, et enamik toidust tingitud allergilisi reaktsioone, eriti laste seas, on seotud kaheksa peamise allergeeni grupiga. Need on tuntud kui “suur kaheksa” ning hõlmavad lehmapiima, muna, nisu, soja, maapähkleid, pähkleid, kala ja koorikloomi (Allen et al., 2012; Suther et al., 2020).

Viimastel aastakümnetel on immunoanalüüside, nagu ensüümiga seotud immunosorbentanalüüs ja fluoromeetiline analüüs, areng ning automatiseerimise võimalused toonud kaasa olulisi tehnilisi parendusi (Ahsan, 2022). Need edusammud sisaldavad suurenenud täpsust uute kalibreerimissüsteemide abil, suuremat tundlikkust ja kiiremat tulemuste saamist. Turu suuremad osalised, nagu ImmunoCap (ThermoFisher, endine Phadia), Immulite (Siemens) ja Hytec-288 (Hycor), kasutavad sarnast meetodit allergeenispetsiifilise IgE määramiseks (Hamilton et al., 2010). Meetodi esimeses etapis seob allergeen seerumi spetsiifilise IgE-ga, olgu see vedelikus või tahkes faasis. Teises etapis kasutatakse ensüümiga konjugeeritud teist anti-IgE antikeha, mis katalüüsib substraadi muundumist, mille tulemusel saab mõõta värvust või fluorestsentsi. Erinevused süsteemides ilmnevad tahke faasi maatriksi, detekteerimisantikehaga seotud ensüümi ja reaktsiooni substraadi osas (Goikoetxea et al., 2013).

Lisaks traditsioonilistele meetoditele pakub CRD täpsemat diagnostikavõimalust, kuna see ei kasuta toorest allergeeniekstrakti, vaid puhastatud või rekombinantseid allergeene (Lidholm et al., 2006), mis võimaldavad mõõta spetsiifilise IgE ja immunoglobuliin G (ing.k *immunoglobulin G* - IgG) 4 vastust üksikutele allergeenvalkudele (Borres et al., 2016).

Basofiilide aktivatsiooni test, mis kasutab allergilisi valke stiimulitena, suurendades basofiilide pinnal spetsiifiliste valkude, nagu CD63 ja CD203c, taset, aitab eristada allergiaid ja tolerantsust, pakkudes väärtuslikku teavet allergilise reaktsiooni mehhanismide kohta (Briceno Noriega et al., 2021).

Toiduallergia kindlakstegemise peamine ja täpsem meetod on suukaudne toiduallergia test (ing.k *oral food challenge* - OFC), mille puhul manustatakse potentsiaalsele allergeenile järk-järgult suurenevaid annuseid kindlates ajavahemikes, kuni tekib allergiline reaktsioon või saavutatakse maksimaalne annus. Ideaalis peaksid kliinilised keskkonnad, kus teostatakse toiduallergia nahatorketeste ja mõõdetakse spetsiifilist IgE-taset, kasutama suunamissüsteemi, mis võimaldab saada kindlaid tulemusi OFC kaudu (Calvani et al., 2019).

Toiduallergia diagnoosimise algfaasid sisaldavad kliinilist anamneesi ja füüsilist läbivaatust, rõhutades olulisi riskitegureid nagu atoopiline dermatiit ja peres esinev eelsoodumus atoopilistele haigustele (Panel, 2010). Kuigi OFC on endiselt toiduallergia tuvastamise kuldstandard, piirab nende kasutamist sellega kaasnevad riskid ja nõutavad ressursid. Seepärast püütakse leida alternatiivseid

meetodeid nagu SPT ja spetsiifilise IgE määramine ning arendatakse uusi molekulaarseid meetodeid, mis võimaldaksid toiduallergia tuvastamist ilma suukaudse toidutestita (Calvani et al., 2019).

## 1.7 Toiduallergiatega ennetamine

Varajane kokkupuude potentsiaalsete toiduallergeenidega võib tegelikult vähendada toiduallergiatega tekkimise riski lastel (Comberiati et al., 2019). Näiteks on leitud, et emade raseduse ajal tarbitud toiduallergeenid võivad vähendada nende laste toiduallergiatega riski (Bunyavanich et al., 2014). Samuti võib varases lapsepõlves mitmekesise toiduvaliku tutvustamine aidata vähendada allergiliste haiguste riski (Roduit et al., 2014). Uuringud on näidanud, et varajases eas maapähklite tarbimise alustamine, vahemikus 4–11 kuud, võib ennetada maapähkliallergia tekkimist, tõstes maapähklispetsiifilise IgG4 taset, samas kui vältimisgrupis tõuseb maapähklispetsiifilise IgE tase (Du Toit et al., 2015).

Toidutaluvuse kujunemist mõjutavad oluliselt naha ja soolestiku mikrofloora normaalselt asustavad mikroorganismid, mis omavad tähtsat rolli immuunsüsteemi arengus ning võivad edendada või piirata toidutaluvuse teket (Gensollen et al., 2016; Shen et al., 2015). Lisaks on D-vitamiin tuntud kui tõhus immunomodulaator, mille puudus võib mitte ainult häirida üldisi taluvusefekte, vaid ka suurendada vastuvõtlikkust seedetrakti infektsioonidele. Sellised infektsioonid võivad kahjustada seedetrakti epiteelbarjääri ja vähendada immuunrakkude tolerantsust toiduvalkude antigeenide suhtes (Vassallo et al., 2010). Uuringud on näidanud, et D-vitamiini puudulikkusega imikutel oli maapähkli- või munavalguallergia esinemissagedus oluliselt suurem (Allen et al., 2016).

## 1.8 Toiduallergiatega sümptomite leevendamine

Toiduallergiatega laialdane esinemine ja nendega seotud kulud rõhutavad efektiivsete ennetus- ja ravimeetodite kliinilist tähtsust. Hetkel on toiduallergiatega standardseks raviks toiduallergeenide vältimine (Panel, 2010) ja adrenaliiniga ravimine, mis on suunatud süsteemsete reaktsioonide, nagu ödeem, nõgestõbi, bronhospasm, madal vererõhk ja seedetrakti sümptomid, kiirele leevendamisele (Cardona et al., 2020). Kiire tegutsemine on eluliselt tähtis, et ära hoida potentsiaalselt surmaga lõppevaid anafülaktilisi reaktsioone (Lieberman, 2005).

Lisaks adrenaliinile kasutatakse teisi ravimeid, nagu antihistamiinid, sh difenhüdramiin (Fleischer et al., 2013). Seedetrakti sümptomite korral kasutatakse H<sub>2</sub> retseptori blokeerijaid, nagu famotidiin (Nurmatov et al., 2014).

Paljud kliinilised uuringud keskenduvad toiduallergeeni immunoteraapiale. Sellise ravi käigus antakse toiduallergiaga inimesele algul väikesed doosid allergenilisi toiduvalke, mis järk-järgult suurenevad mitme kuu jooksul (Wood, 2016). See protseduur võimaldab immuunsüsteemil aeglaselt kohaneda ja vähendab allergilise reaktsiooni tekkimise tõenäosust (Yu et al., 2016). Sellised strateegiad on osutunud paljutootavaks, et suurendada ohutust ja efektiivsust allergiaravi puhul, aidates seeläbi vähendada toiduallergiatega tulenevat mõju inimeste igapäevaelule (Wood, 2016).

Lisaks on täheldatud, et immunoteraapia tulemusena suurenevad immuunglobuliin A (ing.k *immunoglobulin A* - IgA) 2 tasemed lastel, kes põevad munaallergiat, eriti neil, kelle algne IgA2 tase oli madalam kui kontrollrühma lastel (Konstantinou et al., 2014). Edukas suukaudne immunoteraapia (ing.k *oral immunotherapy* - OIT) on aja jooksul, mõnest kuust aastani, viinud desensibiliseerumiseni ja mõnel juhul on see isegi viinud püsiva mittetundlikkuse tekkimiseni toiduallergeenide suhtes, avades uusi võimalusi allergia ravis (Bellanti, 2023).

## 2. Töö eesmärk

Töö eesmärgiks oli kiirendada ja täiustada toiduallergeenide spetsiifilise IgE määramist Tallinna Lastehaigla laboris.

Töö eesmärgid:

- Analüüsida toiduallergeenide IgE antikehade levimus/esinemissagedust Tallinna Lastehaigla patsientidel.
- Optimeerida parameetrid, mille alusel otsustatakse, millistele allergeenidele lisada automaatselt komponentide uuring.
- Juurutada automaatselt genereeriva allergeenikomponentide põhised allergiauuringute algoritmid.



### 3. Materjalid ja meetodid

#### 3.1 Andmete kogumine ja analüüs

TLH patsientide toiduallergeenide spetsiifiliste IgE uuringute tulemused koguti retrospektiivselt kasutades LIS-programmi “LabStat” ajavahemikus 01.01.2018 kuni 01.10.2023. Esmased andmed kodeeriti ning analüüsimisel kasutati uuringu teostamise kuupäeva ja uuringu tulemusi.

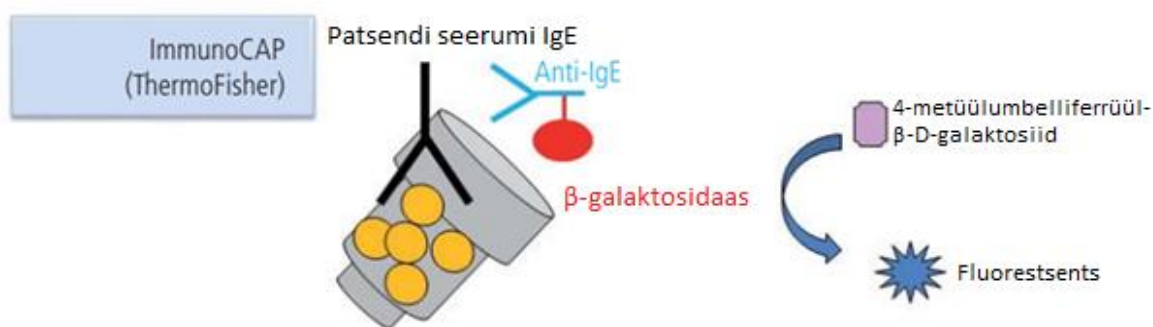
Andmete analüüsimiseks kasutati MS Excel ja statistikatarkvara StataIC 13 (64-bit), mis võimaldas läbi viia põhjaliku statistilise, et hinnata toiduallergiatega levikut ja mustreid TLH patsientide seas. Tabeleid ja skeeme kujundati MS Exceli abil. Andmete visualiseerimiseks kasutati ka Matplotlibi, mis on põhjalik objekt-orienteeritud teek tulpdiagrammide kujundamiseks Pythoni versioonis 3.12.3. Kirjanduse ülevaate teksti ümbersõnastamisel kasutati ChatGPT keelemudelit ning inglise keelseid teadusartikleid tõlgiti DeepL tõlgiga.

#### 3.2 Venosseste vereproovide kogumine

Patsientide venosseste vereproovi koguti Tallinna Lastehaigla protseduurikabinetides või Kesklinna Polikliinikus, järgides raviarsti poolt soovitatud analüüsi tellimusi. Vereproove võeti vaakumkatsutisse, misjärel lasti neil toatemperatuuril hüübida. Seejärel tsentrifuugiti proovid 10 minutit kasutades tsentrifugaaljõudu 3000g. Proovid analüüsiti 24 tunni jooksul pärast vere kogumist. Peale analüüsi külmutati seerumid ja säilitati -20 °C juures kuni kolm nädalat, mis võimaldas vajadusel edasiseid uuringuid või kordusanalüüse.

#### 3.3 Toiduallergeenide spetsiifilise IgE määramine

Toiduallergeenide spetsiifilise IgE määramiseks kasutati Phadia 250 seadet (Thermo Fisher Scientific). Väärtused, mis on  $\geq 0,35$  kU/L, loeti positiivseks. SIgE tuvastamine põhineb fluorestsents-ensüümimmuunanalüüsi tehnoloogial (Joonis 1) (Thermo Fisher Scientific, 2012). See meetod võimaldas määrata kvantitatiivselt patsiendi veres olevaid IgE antikehasid erinevate allergeenide vastu, s.h toiduainetele (Thermo Fisher Scientific, 2012). Analüüsi viidi läbi automatiseeritud süsteemis, mis tagas analüüside kiire ja usaldusväärse töötlemise, ning võimaldas arstidel saada täpset informatsiooni patsiendi sensibiliseerumise profiilist.



Joonis 1. Spetsiifilise IgE määramise meetod Phadia 250 abil (Goikoetxea et al., 2013)

### 3.4 ImmunoCAP süsteemi kasutamine

ImmunoCAP süsteemis on allergeen kinnitatud kovalentsete sidemetega tahkele faasile, mis koosneb hüdrofiilsest polümeerist. Protsessi esimeses sammus lisati reaktsiooninõusse 40 µl patsiendi proovi. Patsiendi IgE antikehad seostusid tahkel faasil asetseva allergeeniga ning neid inkubeeriti 30 minutit temperatuuril 37°C. Antikehad, mis ei ole selle allergeeni suhtes spetsiifilised, ei seondunud ja neid eemaldati pesemise käigus (Thermo Fisher Scientific, 2012).

Teises sammus lisati reaktsiooninõusse konjugaat (ImmunoCAP Specific IgE Conjugate 400) ning inkubeeriti 24 minutit temperatuuril 37°C. See konjugaat koosnes ensüümiga ( $\beta$ -galaktosidaas) märgistatud hiire monoklonaalsetest antikehadest, mis on suunatud inim-IgE Fc-osa vastu (Thermo Fisher Scientific, 2012).

Pärast konjugaadiga inkubeerimist pesti reaktsioonianumat kolm korda, et eemaldada seondumata konjugaat (Thermo Fisher Scientific, 2012).

Reaktsiooni kolmandas järgus lisati substraat (Development Solution) ja seda hoidi 9 minutit temperatuuril 37°C. Substraat sisaldas 4-metüülumbelliferrüül- $\beta$ -D-galaktosiidi (substraat). Selles etapis lõhustas konjugaadiga seotud ensüüm substraadi, vabastades fluorofoori 4-metüülumbelliferooni (ing.k *4-Methylumbelliferone* - 4-MU) (Thermo Fisher Scientific, 2012).

Reaktsiooni neljandas etapis lisati stopp-lahus, mis on 4% naatriumkarbonaadi lahus (Stop Solution). See muudatus pH tasemes peatab ensüümi tegevuse. Lisaks põhjustab pH muutus 4-MU-i OH-rühma muutumist O-rühmaks. 4-MU on aine, mis eraldab fluorestsentsi ainult negatiivselt laetud olekus (Thermo Fisher Scientific, 2012).

Seejärel kanti eluaat fluoromeetri ja mõõtmised algasid. Tehti kokku 30 mõõtmist, kuid esimesed kolm eirati. Fluorestsentsi hulka mõõdeti fluoromeetris ja seda väljendati reageerimisühikutes. Need ühikud teisendati kontsentratsiooniks (kU/L) kasutades kalibreerimiskõverat. Fluorestsentsi intensiivsus sõltub saadud 4-MU kontsentratsioonist ja on korrelatsioonis allergeeniga seotud IgE tasemega (Thermo Fisher Scientific, 2012).

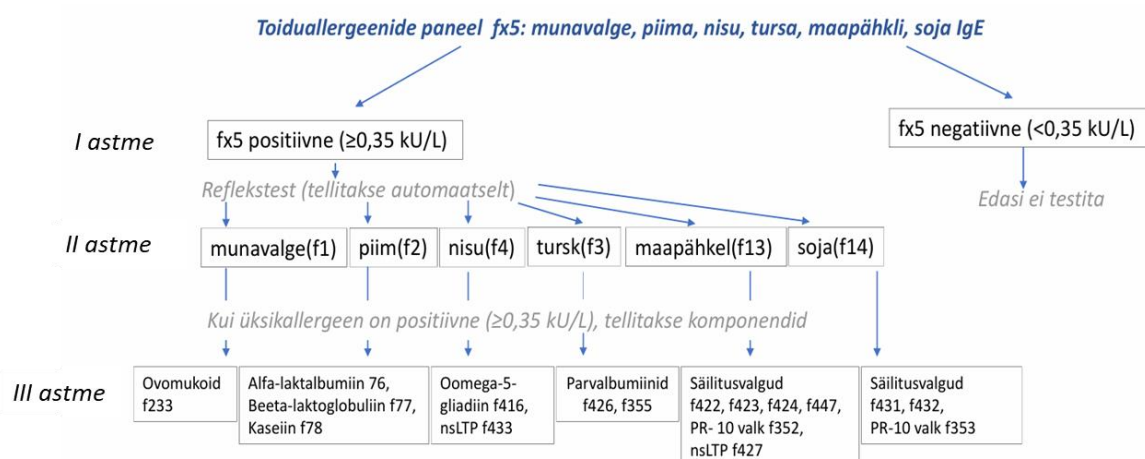
### 3.5 Phadia 250 reagentide kasutamine ja kalibreerimine

Laboris on Phadia 250 reagentide kasutamine ja kalibreerimine kriitilise tähtsusega spetsiifilise immunoglobuliini E (IgE) täpseks mõõtmiseks. Iga kuu viidi läbi reagentide kalibreerimist, kasutades ImmunoCAP Specific IgE Calibrator Strip 0-100, mis aitas luua kalibreerimiskõvera. Reagentide ja analüsaatori igapäevast funktsioneerimist kontrolliti ImmunoCAP Specific IgE Curve Control Stripiga. Lisaks jälgiti reagentide kvaliteeti iganädalaselt, kasutades ImmunoCAP Specific IgE Control komplekti, mis sisaldab madala, keskmise ja kõrge kontrolli. Juhul kui proovides tuvastati spetsiifilise IgE sisaldus üle 100 kU/L, lahjendati neid ImmunoCAP IgE/ECP/Tryptase Sample Diluentiga, et tagada mõõtmiste piiridesse jäämine. Teises reaktsioonietapis kasutati ImmunoCAP Specific IgE Conjugate 400. Ensüümreaktsiooni kolmandas etapis kasutati lahust Development Solution ja neljandas etapis peatati reaktsioon lahusega Stop Solution. Pesemine toimus Washing Solution lahusega, et eemaldada seondumata ained, vältides saastumist ja tagades testi täpsuse. (Thermo Fisher Scientific, 2012)

### 3.6 Diagnostilised algoritmid

Tallinna Lastehaigla laboris rakendatud toiduallergiaste spetsiifiliste IgE diagnostika algoritmid enne 13.02.2024 põhinesid toidupaneeli fx5 tellimisel, mis aktiveeriti vastavalt esialgsele testi tulemusele. Kui uuringu tulemus ületas 0,35 kU/L, käivitati automaatselt reflekstestid, mis hõlmasid täiendavat testimist üksikute täisallergeenide, nagu munavalge (f1), lehmapiim (f2), kala (f3), nisu (f4), maapähkel (f13) ja sojauba (f14), jaoks, mis on teise taseme uuringud. Kui valiti võimalus “Mitte avada”, jäeti täisallergeenide uuring vahele, olenemata esmase paneeli tulemustest. Allergeenikomponentide uuring teostati vaid siis, kui raviarst oli selle eraldi tellinud, sõltumata esialgse testi tulemustest.

Uute algoritmidega, mis võeti kasutusele alates 13.02.2024, eemaldati võimalus valida “Mitte avada” toidupaneeli fx5 LIS programmis, tagades, et kõik testid viidi läbi, kui algne tulemus oli positiivne, mis aitas suurendada diagnoosi täpsust. Tellimuse “Ava kui positiivne” korral käivitati automaatselt kõik positiivsed tulemused (sIgE  $\geq$  0,35 kU/L) reflekstestina teise taseme allergeenidele, nagu varem praktiseeritud. Lisaks genereeriti iga positiivse üksikallergeeni tulemuse järel (sIgE  $\geq$  0,35 kU/L) automaatselt reflekstestid ka vastavatele allergeenikomponentidele, lisades kolmanda testimise taseme, mis võimaldas veelgi detailsemalt tuvastada allergiat põhjustavaid komponente (Joonis 2).



**Joonis 2. Toiduallergeenide paneeli kolmeastmine algoritm.** Allergiatestimise joonis kirjeldab toidupaneeli (fx5: munavalge, lehmapiim, nisu, tursk, maapähkel, soja IgE) tulemuste tõlgendamist ja järgnevate testide protsessi. Kui toidupaneeli fx5 test oli positiivne ( $\geq$ 0,35 kU/L), tehti automaatselt täiendavad testid teise astme allergeenidele: munavalge, lehmapiim, nisu, tursk, maapähkel ja soja. Positiivse tulemuse korral ( $\geq$ 0,35 kU/L) telliti vastavad kolmanda astme komponendid. Kui toidupaneel fx5 on negatiivne (<0,35 kU/L), edasisi teste ei tehti. Kolmanda astme analüüsid hõlmasid spetsiifilisi allergeenikomponente, näiteks ovomukoid, alfa-laktalbumiin, parvalbumiinid ja säilitusvalgud, mis aitasid täpsustada allergia allikat.

Üksikute täisallergeenide puhul, mis olid positiivsed esimeses uuringus (sIgE  $\geq$  0,35 kU/L), genereeriti automaatselt reflekstestina komponentide uuringut (Joonis 3).

### Positiivsete üksikallergeenide avamine

Muna f1+f245	→	Ovomukoid f233
Piim f2	→	Alfa-laktalbumiin f76, beeta-laktoglobuliin f77, kaseiin f78
Nisu f4	→	Oomega-5-gliadiin f416, nsLTP f433
Soja f14	→	Säilitusvalgud f431, f432, PR-10 valk f353
Maapähkel f13	→	Säilitusvalgud f422, f423, f424, f447, PR- 10 valk f352, nsLTP f427
Sarapuupähkel f17	→	Säilitusvalgud f440, f439, nsLTP f425, PR-10 valk f428
Kreeka pähkel f256	→	Säilitusvalk f441, nsLTP f442
India pähkel f202	→	Säilitusvalk f443
Seesami seemned f10	→	Säilitusvalk f449
Õun f49	→	PR-10 valk f434, nsLTP f435
Virsik f95	→	PR-10 valk f419, nsLTP f420, profiilin f421, GRP f454
Krevetid f24	→	Tropomüosiin f351
Kala: tursk f3, lõhe f41	→	Parvalbumiinid f426, f355

**Joonis 3. Positiivsete toiduallergeenide automaatne refleksstide genereerimine.** Kui tuvastati positiivne reaktsioon, tehti täiendavad testid spetsiifiliste komponentide määramiseks. Näiteks muna puhul uuriti ovomukoidi (f233) ja lehmapiima puhul alfa-laktalbumiini (f76), beeta-laktoglobuliini (f77) ja kaseiini (f78). Sinisega on esile toodud uued toiduallergeenide komponendid, mida võeti kasutusele 13. veebruaril 2024.

### 3.7 Automaatse refleksstesti seadistamine

Suhtlus LIS ja Phadia 250 vahetarkvara "Phadia Prime" vahel toimus Medisofti loodud liidestusdraiveri, Pharmateci, kaudu. Pharmatec on paigaldatud Phadia Prime arvutisse ning seob need kaks süsteemi läbi LIS süsteemi.

Reflekstestimine võimaldas automaatselt teostada lahjendusi proovidele, mille tulemused ületavad mõõtepiiri, ning analüüsida allergeenide segusid kuni komponentide tasemeni. Phadia Prime vahetarkvaras seadistatud refleksstide reeglid kehtivad kõikidele tellimustele. Kui refleksstestimist ei soovita, lisati tellimusele läbi liidestuse "Suppress Reflex" väärtus. Pharmatecis on see väärtus igal testil määratud, kas lubades (0) või pärssides (1) refleksstestimist.

Phadia Prime süsteemis on loodud algoritm täisallergeenide ja komponentide testimiseks, mille jaoks tehti mitmeid seadete muudatusi vastavalt uutele refleksstide reeglitele. Need seadistused hõlmavad täisallergeeni nimetuse ja koodi, meetodi, soovitud testi koodi, tulemuse tüübi ning väärtuse sisestamist, mille korral täisallergeen suunatakse refleksstestile.

Toidupaneeli fx5 kaheastmeline algoritm on disainitud selliselt, et pärast teist sammu ei käivitu kolmas etapp automaatselt, vaid nõuab laborispetsialisti kinnitust. See meede on rakendatud selleks, et laborispetsialist saaks kontrollida proovi mahtu visuaalselt või kasutades automaatpipetti ja hinnata, kas patsiendi seerumit on piisavalt kolmanda astme testide jaoks. Laboris on olemas tabel, mis näitab, kui palju seerumit on vajalik iga positiivse täisallergeeni komponentide uurimiseks (Lisa 1).

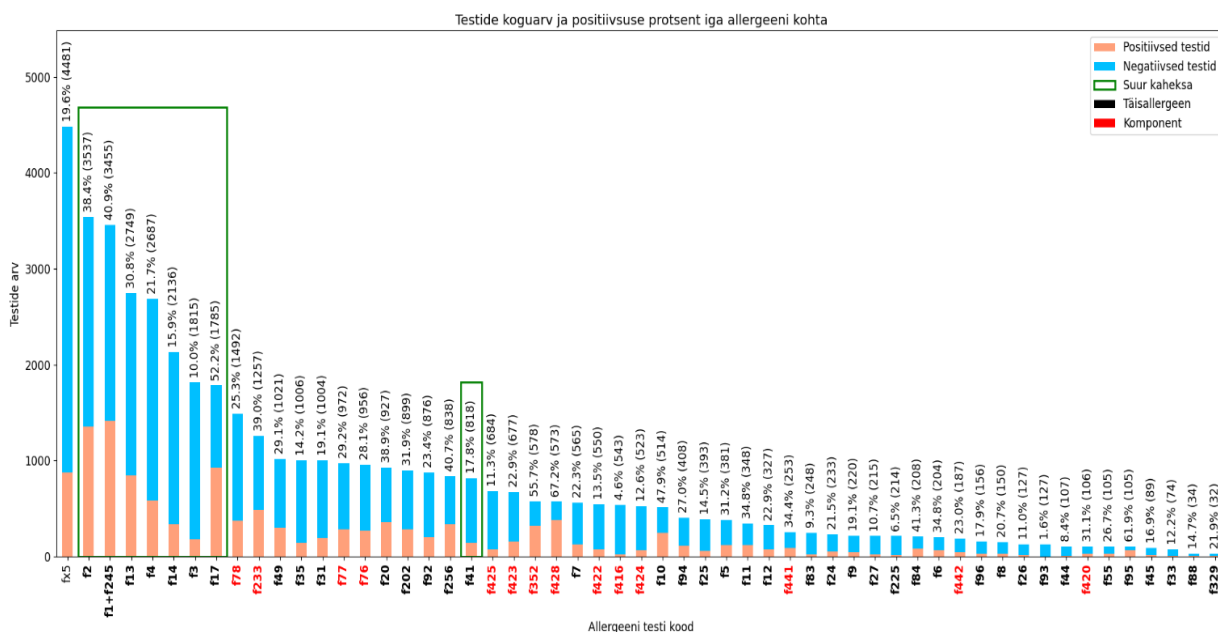
## 4. Tulemused

### 4.1 Patsientide toiduallergeenide uuringute tulemused aastatel 2018–2023

#### 4.1.1 Toiduallergeenide üldine testimine ja positiivsete tulemuste osakaal

Tallinna Lastehaiglas on aastatel 2018–2023 uuriti 8893 patsiente ning tehti 54775 teste spetsiifiliste IgE antikehade tuvastamiseks. Joonis 4 annab põhjaliku ülevaate viimase viie aasta jooksul tehtud toiduallergeenide testide arvust ja nende positiivsuse määrast. See illustreerib kõikide allergeenide (täisallergeenid ja komponendid) testide koguarvu, jagab need positiivseteks ja negatiivseteks ning rõhutab niinimetatud “suur kaheksat” - peamised toiduallergeenid (lehmapiim, muna, nisu, soja, maapähklid, pähklid, kala ja koorikloomad), mis on eriti laste seas levinud toiduallergiatega põhjustajad (Nwaru et al., 2014). Koorikloomade testimine ei ole Tallinna Lastehaigla laste seas laialdaselt levinud ning ka kreeka- ja india pähklite testide arv on madal.

Haiglas laialdaselt kasutatakse fx5 toidupaneeli. See paneel sisaldab kuute peamist “suurde kaheksasse” kuuluvat täisallergeeni (munavalge, lehmapiim, maapähkel, tursk, nisu ja soja) ja võimaldab ImmunoCAP meetodil määrata teatud toiduallergeenide rühma IgE üldtaseme (sIgE). Toidupaneeli fx5 test annab ülevaate kõikide paneelis sisalduvate allergeenide üldisest reaktsioonist. Kui fx5 toidupaneel osutus positiivseks ehk näitas kõrget sIgE taset ( $\geq 0,35$  kU/L), teostas Phadia 250 automaatselt konkreetsete spetsiifiliste IgE tasemete mõõtmise iga allergeeni kohta.



**Joonis 4. Toiduallergeenide testide arv ja positiivsuse määr viie aasta jooksul.** Joonisel on kujutatud testide koguarv igale allergeenile, jaotades need positiivseteks ja negatiivseteks tulemusteks. X-teljel on näidatud allergeenide testikoodid ja y-teljel on testide arv. Näha on, et fx5 toidupaneel, mis hõlmab kuut peamist “suure kaheksa” allergeeni, on kõige sagedamini testitud, 19.6% positiivsete tulemustega. Joonisel on esile tõstetud ka täisallergeenid ja nende komponendid.

#### 4.1.2 Toidupaneeli fx5 testide tulemused ja reflekt testimine

Toidupaneel fx5 osutus suurima testide arvuga (4481 testi). Sellele järgnevad “suure kaheksa” gruppi kuuluvad allergeenid, mida joonisel rohelise kastiga rõhutatakse – lehmapiim f2, millele tehti 3537 testi; muna f1+f245 (3455 testi); maapähkel f13 (2749 testi); nisu f4 (2687 testi); soja f14 (2136 testi); kala - tursk f3 (1815 testi) ja lõhe f41 (818 testi). Lisaks on märkimisväärne arv teste tehtud sarapuupähkli f17 suhtes (1785), mis ei kuulu haigla toidupaneeli, kuid mida arstid sageli tellivad. Samuti, õuna (f49), kartuli (f35), porgandi (f31), mandli (f20), india pähkli (f202), banaani (f92) ja kreeka pähkli (f256) täisallergeene testide arv on suhteliselt suur. Nende allergeenide kõrge testimise maht võib viidata nende tähtsale rollile laste toiduallergiatega esilekutsumisel. Suur testimissagedus võib kajastada kasvanud teadlikkust ja paremat juurdepääsu diagnoosimisele, mitte ainult sensibiliseerumise laialdasemat levikut.

“Suur kaheksa” allergeenide seas on positiivsete testide protsent Tallinna Lastehaiglas kõrge, eriti muna (f1+f245) puhul 40,9%, sarapuupähkli (f17) puhul 52,2% ja lehmapiima (f2) puhul 38,4%, mis näitas nende allergeenide kõrget sensibiliseerimise taset haigla patsientide seas. Väga palju positiivseid vastuseid näitas virsiku (f95) täisallergeen - 61,9%. Võrreldes nendega on kala – tursk (f3), lõhe (f41) ning soja (f14) positiivsete tulemuste protsendid madalamad, vastavalt 10%, 17,8% ja 15,9%. See võib olla tingitud nende allergeenide spetsiifilisusest või nende toiduainete suhtes vähem levinud sensibiliseerumisest. Mõned toiduallergiad, nagu kala ja soja, on sageli seotud kindlate geograafiliste piirkondade ja toitumisharjumustega ning võivad Tallinnas ja Põhja-Eestis olla vähem levinud. Lisaks võib positiivsete tulemuste madal protsent olla tingitud sellest, kuidas teste telliti – näiteks, kui teste telliti selektiivselt, lähtuvalt ainult anamneesist või konkreetsetest sümptomitest, võib see viia vähem positiivsete tulemusteni võrreldes laiaulatuslikuma sõeluuringuga.

Kuigi fx5 toidupaneeli testide arv on suur ja paneeli refleksitest genereeriti automaatselt positiivse tulemuse korral (kui arst on tellinud “Ava kui positiivne” refleks testi funktsiooni), on positiivsete testide protsent suhteliselt madal, vaid 19,6%. See on tingitud asjaolust, et paneel kasutati sõeltestina. Sõeltesti kasutamine võimaldab vältida detailsemate ja kallimate testiprotseduuride rakendamist patsientidele, kelle sensibiliseerumise muster on ebaselge, aidates seeläbi vähendada tarbetuid kulusid ja keskenduda ainult potentsiaalselt sensibiliseeritud isikutele.

Pärast fx5 toidupaneeli automaatset avanemist ilmnevad kõige sagedamini positiivsed tulemused lehmapiima (f2) puhul, mille positiivsuse protsent on 60.58%. Järgnevad muna (f1) 44.42% positiivsete tulemustega ja maapähkel (f13) 23.26%. Nende allergeenide kõrge positiivsete testide protsent peegeldas nende laialdast esinemist ja olulisust allergia diagnoosimisel. Soja (f14) ja tursa (f3) positiivsuse protsendid on vastavalt 15.24% ja 4.34%, mis on samuti olulised, kuid märkimisväärselt madalamad võrreldes lehmapiimaga. Pärast toidupaneeli avamist ja positiivse täisallergeeni kindlakstegemist on oluline automaatselt jätkata komponentide uuringutega. See võimaldab raviarstil kiiresti kindlaks teha patsiendi sensibiliseerimismustri, mis aitab kaasa täpsema diagnoosi seadmisele ja asjakohase ravi kavandamisele.

Tallinna Lastehaiglas uuritud perioodil 2018–2023 oli võimalik tellida mitmeid allergeenikomponente (Tabel 1), kuid täisallergeeni spetsiifilise IgE positiivse tulemuse korral automaatset komponentide uuringu teostamise võimalust ei olnud.

Toidu täisallergeen	Komponentide kood	Komponentide nimetus	Valgu perekond
f1 (munavalge)	f233	nGal d 1	Ovomukoid
f2 (lehmapiim)	f76	nBos d 4	Alfa-laktalbumiin
	f77	nBos d 5	Beeta-laktoglobuliin
	f78	nBos d 8	Kaseiin
f4 (nisu)	f416	rTri a 19	Oomega-5 gliadiin
f13 (maapähkel)	f422	rAra h 1	7S globuliin, säilitusvalk
	f423	rAra h 2	2S albumiin, säilitusvalk
	f424	rAra h 3	11S globuliin, säilitusvalk
	f352	rAra h 8	PR-10 valk
f17 (sarapuupähkel)	f425	rCor a 8	Mittespetsiifiline LTP (nsLTP)
	f428	rCor a 1	PR-10 valk
f256 (kreeka pähkel)	f441	rJug r 1	2S albumiin, säilitusvalk
	f442	rJug r 3	Mittespetsiifiline LTP (nsLTP)
f95 (virsik)	f420	rPru p 3	Mittespetsiifiline LTP (nsLTP)

**Tabel 1. Tallinna Lastehaiglas aastatel 2018–2023 uuritud toiduallergeenide ja nende komponentide loetelu.** Iga täisallergeen, nagu munavalge (f1), lehmapiim (f2) ja nisu (f4), on seotud konkreetsete komponentidega, näiteks ovomukoid, alfa-laktalbumiin ja oomega-5 gliadiin. Tabelist selgub ka maapähkli (f13) erinevad komponendid, nagu 7S globuliin ja PR-10 valk. Samuti on esindatud sarapuupähkel, kreeka pähkel ja virsik koos nende vastavate komponentidega.

Täisallergeenide spetsiifiliste IgE uuringute arv on tavaliselt suurem kui nende komponentide testide arv. Näiteks, lehmapiima f2 spetsiifilise IgE uuringute arv oli 3537, samas kui selle komponente –  $\alpha$ -laktalbumiini f76,  $\beta$ -laktoglobuliini f77 ja kaseiini f78 – testiti vastavalt 956, 972 ja 1492 korda (Joonis 4). See võib peegeldada diagnoosimisel kasutatavate meetodite erinevust, kus esmases uuringus kasutatakse täisallergeeni ja positiivse tulemuse saamisel edaspidi allergeeni komponente ei uurita, või tellitakse järgmises uuringus.

Suurt osa proovidest, mis andsid positiivse tulemuse täisallergeenide uuringutes, ei uuriti edasi komponentide suhtes (Tabel 2). Näiteks lehmapiima puhul, mis on üks sagedasemaid allergeene Tallinna Lastehaigla lastepatsientide seas, jäid komponendid uurimata 70,62% positiivsetest juhtudest. See suur protsent uurimata juhtumitest võib viidata vajadusele optimeerida diagnostilisi protseduure, et saada parem ülevaade allergeenide spetsiifilisusest ja võimalikest ristreaktiivsustest, mis võiks omakorda aidata täpsemalt suunata ravi valikuid ja vältida üldistamist diagnoosimisel.

Täisallergeen	Positiivsed spetsiifiliste IgE tulemused		
	Kokku	Komponendid on testitud (%)	Komponendid ei ole testitud (%)
Muna (f1+f245)	1414	714 (50.5%)	700 (49.5%)
Lehmapiim (f2)	1358	399 (29,38%)	959 (70.62%)
Nisu (f4)	582	175 (30.07%)	407 (69.93%)
Maapähkel (f13)	847	329 (38.84%)	518 (61.16%)
Sojauba (f14)	339	ei ole testitud	ei ole testitud
Tursk (f3) + Lõhe (f41)	203	ei ole testitud	ei ole testitud
Sarapuupähkel f17	931	416 (44.68%)	515 (55.32%)
India pähkel (f202)	286	ei ole testitud	ei ole testitud
Kreeka pähkel (f256)	341	100 (29.33%)	241 (70.67%)
Sesami seemned (f10)	246	ei ole testitud	ei ole testitud
Õun (f49)	297	ei ole testitud	ei ole testitud
Virsik (f95)	65	40 (61.54%)	25 (38.46%)
Krevetid (f24)	110	ei ole testitud	ei ole testitud

**Tabel 2. Positiivsete toiduallergeenide ja nende komponentide uuringute arv ja osakaal Tallinna Lastehaiglas aastatel 2018–2023.** Näiteks munavalge (f1+f245) puhul on 1414 positiivset teste, millest 50,5% puhul testiti ka komponente. Lehmapiima (f2) positiivsetest testidest (1358) testiti komponente 29,38% juhtudest. Tabelist selgub, et soja, kala, india pähkli, seesami, õuna ja krevetide komponente ei ole testitud.

Mõnda täisallergeeni, nagu sojauba, tursk, lõhe, seesami seemned, õun ja krevetid, ei ole seni olnud võimalikud komponentide tasemel uurida. Uuringu tulemuste põhjal otsustati rakendada uut allergiatestide algoritmi: esimese sammuna avati positiivse toidupaneeli fx5 ja uuriti täisallergeeni komponente, nagu see seni oli tehtud. Seejärel teostati teise sammuna automaatselt komponentide uuringu reflektestina (Joonis 2).

## 4.2 Uued algoritmid ja nende rakendamine toiduallergeenide testimisel

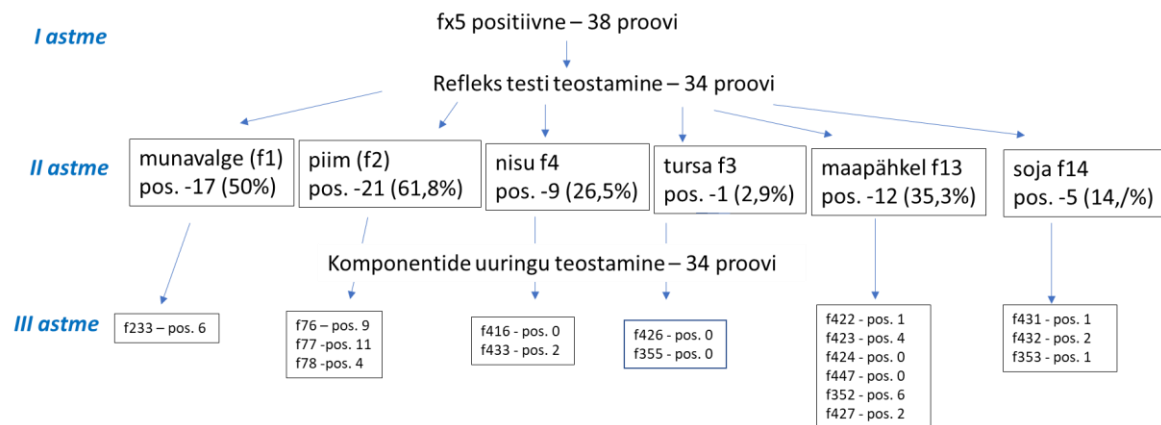
### 4.2.1 Uute algoritmide testimine ja esmased tulemused

Uute allergiauuringu algoritmi rakendamist alustati 13. veebruaril 2024 ja jälgiti protsessi kahe kuu vältel kuni 15. aprillini 2024. Lõplik tulemuste analüüs on planeeritud 01.09.2024.

Tallinna Lastehaiglas kahe kuu jooksul uuriti 332 patsienti, kellele teostati kokku 2755 toiduallergeenide spetsiifilise IgE uuringut. Nende uuringute tulemused ja positiivsuse osakaal on esitatud lisas 2.

Kahekuulise perioodi jooksul viidi läbi 199 toidupaneeli fx5 uuringut, millest 161 testi olid negatiivsed ja 38 (19,1%) positiivsed. Positiivsetest proovidest oli 34 läbinud üksikute täisallergeenide uuringu (II samm), millele järgnes kõikide nende proovide edasine uurimine komponentide suhtes (III samm) (Joonis 5).





**Joonis 5. Uued toiduallergeenide testimise algoritmid ja esimesed tulemused.** Protsessi jaotati kolmeks astmeks: esimeses astmes testiti toidupaneeli (fx5) ning positiivse tulemuse ( $\geq 0,35$  kU/L) korral liigutakse teise astme testide juurde, kus uuriti üksikuid allergeene nagu munavalge, lehmapiim, nisu, tursk, maapähkel ja soja. Positiivse tulemuse korral ( $\geq 0,35$  kU/L) liigub protsess kolmandasse astmesse, kus teostati spetsiifiliste komponentide uuringud.

Kõik 34 patsiendi proovi oli analüüsitud komponentide suhtes ja nende sensibiliseerimise muster oli välja selgitatud. Antud andmed kinnitavad uue kaheastmelise algoritmi tõhusust ja vajalikkust täpsemaks allergiadiagnostikaks.

Kahekuulise perioodi jooksul rakendatud uue algoritmi abil viidi läbi täisallergeenide uuringud ning teostati kokku 1023 komponentide uuringut (Tabel 3). 12,2% juhtudest, kus täisallergeenid osutusid positiivseks, ei järgnenud komponentide uuringuid. Peamiseks takistuseks oli piisava seerumi koguse puudumine.

Täisallergeen	Positiivsed spetsiifiliste IgE tulemused		
	Kokku	Komponendid on testitud (%)	Komponendid ei ole testitud (%)
Muna (f1+f245)	54	53 (98.15%)	1 (1.85%)
Lehmapiim (f2)	56	48 (85.71%)	8 (14.29%)
Nisu (f4)	27	23 (85.19%)	4 (14.81%)
Maapähkel (f13)	49	44 (89.8%)	5 (10.2%)
Sojauba (f14)	24	21 (87.5%)	3 (12.5%)
Tursk (f3 + f41)	13	10 (76.92%)	3 (23.08%)
Sarapuupähkel f17	48	44 (91.67%)	4 (8.33%)
India pähkel (f202)	19	16 (84.21%)	3 (15.79%)
Kreeka pähkel (f256)	22	19 (86.36%)	3 (13.64%)
Sesaami seemned (f10)	19	11 (57.89%)	8 (42.11%)
Õun (f49)	12	11 (91.67%)	1 (8.33%)
Virsik (f95)	7	7 (100.0%)	0 (0.0%)
Krevetid (f24)	2	2 (100.0%)	0 (0.0%)
Kokku	352	309 (87,8%)	43 (12,2%)

**Tabel 3. Uue algoritmi kasutamisel positiivsete toiduallergeenide ja nende komponentide uuringute arv ja osakaal.** Näiteks munavalge (f1+f245) puhul on 54 positiivset tulemust, millest 98,15% juhtudel testiti ka komponente. Lehmapiima (f2) ja nisu (f4) puhul on vastavad osakaalud 85,71% ja 85,19%. Kõrgeimad komponendi testimise osakaalud on virsikul (f95) ja krevetidel (f24), mõlemal 100%. Kokku tehti 352 positiivset testi, millest 87,8% puhul uuriti ka komponente.

Enamik positiivsetest proovidest (87,8%) uuriti komponentide tasemel. Kuigi teostatud uuringute koguarv ei oli väga suur, võimaldavad saadud tulemused siiski teha esialgseid järeldusi. Hoolimata väiksemast seerumi proovikogusest, võib uut algoritmi siiski kasutada TLH patsientidel.

## 4.2.2 Lehmapiima komponentide uuringu tulemused

Pärast positiivsete tulemuste saamist lehmapiima (f2) allergeeni osas genereeriti automaatselt 48 reflekstesti, mis käsitlesid lehmapiima komponentide analüüsi. Lehmapiima komponentide uuring võimaldas eristada nelja sensibiliseerimismustrit (Tabel 4).

Stabiilne valk f78	Labiilsed valgud		Reflekstestid	Tulemuste tõlgendamine
	f76	f77		
+	+	+	17	Patsientidel on kõrge risk kliinilistele reaktsioonidele piimatoodele. Nad peavad vältima igasuguseid piimatooteid (sh kuumtöödeldud lehmapiim). Neil on väiksem tõenäosus piimataluvuse kujunemiseks.
+	-	-	4	
-	+	+	23	Patsientidel on suurem tõenäosus taluda kuumutatud (keedetud või küpsetatud) lehmapiima, kuid toore lehmapiima tarbimine võib põhjustada kliinilisi sümptomeid. Neil on suur tõenäosus aja jooksul piimataluvus välja kujundada.
-	-	-	4	Patsientidel on kõik komponendid negatiivsed. Seda sensibiliseerimismustrit esineb siis, kui seerumi IgE antikehad tuvastavad täisallergeenides ühe või mitu spetsiifilist molekuli, mis ei ole komponentide testis saadaval.

**Tabel 4. Lehmapiima komponentide uuringu tulemused, mis kategoriseerivad patsientide reaktsioone erinevate piimavalgude suhtes.** Veerud "Labiilsed valgud" (f76, f77) ja "Stabiilne valk" (f78) näitavad, kas tulemused on positiivsed (+) või negatiivsed (-). Tabelist selgub, et patsiendid, kellel on kõik testid positiivsed, peavad vältima igasuguseid piimatooteid, kuna neil on kõrge risk kliinilistele reaktsioonidele. Patsientidel, kelle kõik testid on negatiivsed, puuduvad kliinilised sümptomid piimavalgu suhtes.

## 4.2.3 Muna komponendi uuringu tulemused

Peale munavalge (f1) ja/või munakollase (f245) allergeeni positiivsete tulemuste saamist genereeriti automaatselt 53 reflekstesti. Muna komponentide uuring võimaldas eristada järgmised sensibiliseerimismustrit (Tabel 5).

Stabiilne valk, ovamukoid f233	Reflekstestid	Tulemuste tõlgendamine
+	30	Patsientidel on kõrge risk raskete allergiliste reaktsioonide tekkeks muna tarbimisel. Neil on väiksem tõenäosus munataluvuse kujunemiseks.
-	23	Need patsiendid võivad taluda termiliselt töödeldud muna (näiteks küpsetatud või keedetud), kuid toore muna tarbimine võib esile kutsuda allergilisi reaktsioone. Edaspidi tuleb kaalutada võimalust lisada tulevikus uuringutesse kolm täiendavat muna komponenti: ovalbumiin (f232), konalbumiin (f323) ja lüsoosüüm (k208). Need komponendid aitavad viidata riskile reageerida toorele munale ja tõenäosusele, et on olemas tolerantsus ulatuslikult kuumutatud munale.

**Tabel 5. Muna komponentide uuringu tulemused, mis näitavad patsientide allergilisi reaktsioone ovamukoidi (f233) suhtes.** Patsientidel, kelle test on positiivne (+), on suur risk raskete allergiliste reaktsioonide tekkeks muna tarbimisel ning väiksem tõenäosus munataluvuse kujunemiseks. Need, kelle test on negatiivne (-), võivad taluda termiliselt töödeldud muna, kuid toore muna tarbimine võib esile kutsuda allergilisi reaktsioone.

## 4.2.4 Maapähkli ja saarapuupähkli komponentide uuringu tulemused

Pärast maapähkli allergeeni (f13) positiivse tulemuse saamist käivitati automaatselt 44 reflektstesti, et uurida patsientide reaktsiooni maapähkli spetsiifilistele komponentidele. Maapähkli komponentide uuring võimaldas eristada kaheksa sensibiliseerimismustrit (Tabel 6).

PR-10 valk (f352)	nsLTP (f427)	Säilitusvalgud (f422, f423, f424)	Reflektstetid	Tulemuste tõlgendamine
+	+	+	7	Suur tõenäosus maapähkliallergia ja tõsiste süsteemsete reaktsioonide tekkeks, mistõttu on vajalik maapähklite täielik vältimine. Raviarst otsustab epinefriini autoinjektori määramise vajalikkuse.
+	-	+	3	
-	+	+	2	
-	-	+	7	
-	+	-	2	Võimalik ristreaktsioon, näiteks kase õietolmuga, võib põhjustada peamiselt lokaalseid reaktsioone, nagu oraalne allergia sündroom, kuid võib esineda ka süsteemseid reaktsioone. Sellisel juhul võib epinefriini autoinjektori määramine olla otstarbekas.
+	+	-	2	
+	-	-	17	Tõenäoliselt on tegemist ristreaktsiooniga kase õietolmule, mistõttu on patsiendil oht lokaalsete reaktsioonide, nagu oraalne allergia sündroomi, tekkeks, kuid raske süsteemse reaktsiooni tõenäosus on väike.
-	-	-	4	See võib viidata sensibiliseerumisele mõne veel testimata komponendi suhtes või antikehade madalale tasemele, mis ei ületa komponentide testide kvantifitseerimise piiri.

**Tabel 6. Maapähkli komponentide uuringu tulemused.** Patsientidel, kelle testid on positiivsed kõikide toodud valkude suhtes, on suur risk maapähkliallergia ja tõsiste süsteemsete reaktsioonide tekkeks, mistõttu on vajalik maapähklite täielik vältimine ja vajadusel epinefriini autoinjektori kasutamine. Negatiivsete testidega patsientidel võib esineda ristreaktsioone teiste allergeenidega või sensibiliseerumist testimata komponentide suhtes, mille puhul reaktsioonid on tavaliselt kergemad.

Pärast sarapuupähkli (f17) allergeeni positiivsete tulemuste saamist loodi automaatselt 44 reflektstesti. Sarapuu pähkli komponentide uuring võimaldas eristada kuut sensibiliseerimismustrit (Tabel 7).

PR-10 valk (f428)	nsLPT (f425)	Säilitusvalgud (f440, f439)	Reflektstetid	Tulemuste tõlgendamine
+	+	+	6	On suur tõenäosus kliiniliseks pähkliallergiaks ja tõsiste süsteemsete reaktsioonide tekkeks. Sarapuupähklit ei tohi tarbida üheski vormis. Epinefriini automaatsüstla määramise otsustab raviarst.
-	+	+	1	
-	-	+	7	
+	-	+	5	
-	+	-	1	Süsteemsed ja lokaalsed sümptomid, nagu OAS, on võimalikud. Potentsiaalsed ristreaktsioonid võivad tekkida teiste nsLTP-d sisaldavate toiduainetega (näiteks virsik, nisu, pähklid) ning õietolmuga (umbrohi ja puud). Epinefriini automaatsüstla määramine on soovitatav.
+	-	-	24	Tõsine pähkliallergia ja rasked süsteemsed reaktsioonid on vähem tõenäolised. Ristreaktsioonid võivad tõenäoliselt tekkida teistele PR-10 valke sisaldavatele õietolmudele ja taimsetele toiduainetele.

**Tabel 7. Sarapuupähkli komponentide uuringu tulemused, mis näitavad patsientide allergilisi reaktsioone PR-10 valgu (f428), nsLTP (f425) ja säilivusvalkude (f440, f439) suhtes.** Patsientidel, kelle testid on positiivsed, on suur risk kliinilisteks pähkliallergiateks ja tõsisteks süsteemseteks reaktsioonideks, mistõttu peavad nad vältima sarapuupähkleid ning vajadusel kasutama epinefriini autoinjektorit. Need, kelle testid on negatiivsed, võivad siiski kogeda süsteemseid ja kohalikke sümptomeid, nagu OAS, ning ristreaktsioone teiste nsLTP-d sisaldavate toiduainetega.

#### **4.2.5 Haruldaste täisallergeenide komponentide uuringu tulemused**

Seesamiseemnete puhul saadi 11 refleksitesti tulemusena kaks positiivset vastust säilivusvalgu f449 suhtes, mis näitab, et positiivseid tulemusi on vähe. Seetõttu tuleb edaspidi kaaluda, kas selle komponendi lisamine diagnostilistesse algoritmidesse on üldse otstarbekas. India pähkli uuringus genereeriti 16 refleksitesti, millest 14 näitas positiivset reaktsiooni säilivusvalgu f443 suhtes, toetades uute komponentide lisamise olulisust diagnostilistesse protsessidesse. Kreeka pähklite analüüsis käivitati 18 refleksitesti, millest 10 olid positiivsed kas säilivusvalgu f256 või nsLTP f442 suhtes, viidates võimalikele süsteemsetele reaktsioonidele; lisaks ilmnes kolmes testis ristreaktsioonid PR-10 valgu f442 suhtes, samas kui kolm testi olid negatiivsed.

Nisu puhul viidi läbi 19 refleksitesti, millest 11 olid negatiivsed, mis seab kahtluse alla nende komponentide kasutamise vajaduse tulevikus. Soja analüüsis tehtud 21 refleksitestist 14 osutusid positiivseks säilivusvalkude suhtes, viidates nende tähtsusele allergiliste reaktsioonide määratlemisel. Kalaga seotud 10 refleksitestist 7 olid positiivsed, mis kinnitab peamiste allergeenikomponentide rolli diagnoosimisel. Krevettide puhul tehti vaid kaks refleksitesti, millest üks oli positiivne ja teine negatiivne, jättes tulemused ebakindlaks ja nõudes edasist uurimist.

Puuviljade, nagu õun ja virsik, puhul tehtud testid näitasid sensibiliseerumismustreid, kuid andmete vähesuse tõttu on vajalik edasine jälgimine.

## 5. Arutelu

Selle uurimistöö peamiseks eesmärgiks oli juurutada uued algoritmid toiduallergeenide komponentide spetsiifilise IgE määramineks TLH laboris.

Selleks, et optimeerida algoritmide parameetreid, analüüsisime IgE esinemissagedust, kasutades andmeid, mis olid kogutud Tallinna Lastehaigla patsientidelt läbi LIS programmi aastatel 2018 kuni 2023. Analüüsi tulemuste põhjal valisime välja allergeenid, millele rakendati jätku-uuringuid ehk refleks-teste. Uute algoritmide testimine algas 13. veebruaril 2024 ja esialgsed tulemused koguti ning analüüsiti LIS-süsteemis 15. aprilliks 2024. Lõplikud algoritmide testimised on kavandatud 1. septembriks 2024. Kuigi kahekuuline periood ei võimalda koguda piisavalt suurt andmehulka, on meil võimalik teha esialgsed järeldused.

Esimese rakendatud algoritmina kasutusele võetud kolmeastmeline toidupaneeli fx5 avanemine näitas, et 89,5% toidupaneeli fx5 proovidest oli võimalik kaasata kolmeastmelisse toiduallergeenide uuringusse. Lisaks selgitati 34 TLH patsiendi sensibiliseerimise mustri 24 tunni jooksul. Sarnast algoritmi kasutati ka uurimistöös, mis käsitles atoopilise dermatiidiga patsiente. Uurimuse autorid leidsid, et spetsiifilise IgE määramine täis- ja komponentanalüüsi kaudu pärast toidupaneeli fx5 avamist on kasulik toiduallergia ennustamisel atoopilise dermatiidiga patsientidel (Frischmeyer-Guerrero et al., 2019).

Üheks piiranguks lastepatsientide puhul on väike proovikogus, mis sageli ei võimalda kolmeastmelist uuringut läbi viia. Selle probleemi lahendamiseks ja proovikoguse piisavuse kontrollimiseks rakendasime süsteemi, mis võimaldab alustada kolmest etappi ainult pärast laboritöötaja kinnitust. See tagab, et iga proovi käsitletakse optimaalselt, vastavalt saadaoleva materjali kogusele ja kvaliteedile.

Teiseks rakendatud algoritmiks oli automaatne uuring spetsiifilise IgE toiduallergeenide komponentide suhtes positiivsetel juhtudel. See algoritm võimaldas meil kiiresti kindlaks teha patsientide sensibiliseerimismustrid. Näiteks tuvastasime, et umbes 44% lehmapiima suhtes uuritud patsientidest on kõrge risk kliiniliste reaktsioonide tekkeks piimatoodete suhtes. Sellised patsiendid peavad vältima kõiki piimatooteid, sealhulgas kuumtöödeldud lehmapiima, ning neil on väiksem tõenäosus piimatoodete suhtes tolerantsuse kujunemiseks. Ligikaudu 57% patsientidest, kellel tuvastati muna slgE, näitasid mustrit, mis viitab suurele riskile raskete allergiliste reaktsioonide tekkeks muna tarbimisel. Maa- ja sarapuupähkli allergeeni komponentide uurimine võimaldas tuvastada patsiente, kellel on suur risk süsteemsete reaktsioonide tekkeks ning patsiente, kelle puhul esineb võimalikke ristreaktsioone.

Hiljutine meta-analüüs, mis keskendus allergia diagnostikatestide täpsusele, näitas, et komponentide slgE testimisel on kõrge spetsiifilisus allergia diagnostikas: kaseiini slgE – 93%, ovomukoidi slgE – 92%, Ara h 2 slgE – 92% ja Cor a 14 slgE – 95% (Riggioni et al., 2024).

Kuigi andmekogus teiste allergeenide komponentide spetsiifilise IgE kohta ei ole ulatuslik, näitasid uuringud kreeka- ja india pähklite ning puuviljade - õun ja virsik - ja kalade - tursk ja lõhe - komponentidega seotud tulemused, et nende lisamine diagnostilistesse protsessidesse on otstarbekas. Seevastu seesamiseemnete komponentide spetsiifilise IgE tulemused ei olnud

rahuldavad, kuna ainult 18% patsientidest olid positiivsed, kuigi seesamiallergia diagnoosimisel on seesami spetsiifilisi komponente, nagu Ses i 1, varasemates uuringutes kirjeldatud kui olulisi (Maruyama et al., 2016). Seetõttu tuleb edaspidi kaaluda, kas seesamiseemnete komponentide lisamine diagnostilistesse algoritmidesse on põhjendatud.

## 5.1 Järeldused

1. Kolmeastmeline toidupaneeli fx5 algoritm on osutunud efektiivseks meetodiks toiduallergeenide sensibiliseerimise mustrite tuvastamisel. Siiski on selle rakendamise piiranguks proovide kogus, mis võib mõjutada algoritmi täpsust ja usaldusväärsust.
2. Allergeenikomponentide spetsiifilise IgE automaatne määramine on tõhus kõigi uuritud komponentide puhul, välja arvatud seesamiseemnete spetsiifiline IgE. Seesami komponentide spetsiifilise IgE määramise madal positiivsete tulemuste määr viitab vajadusele hinnata selle komponendi kasutamise otstarbekust edasistes diagnostilistes protsessides.
3. Mõlemad rakendatud algoritmid aitavad kaasa diagnostiliste tulemuste kiiremale saamisele, lühendades sellega patsientide ootusaega ja võimaldades kiiremat sekkumist. See on eriti oluline allergiliste reaktsioonide puhul, kus kiire diagnoosimine ja ravi alustamine võivad oluliselt mõjutada tulemusi.

## Kokkuvõte

Toiduallergia uurimine on hädavajalik, arvestades selle üha suurenevat levikut ja sageli raskeid kulge, mis võivad põhjustada ulatuslikke terviseprobleeme ning märkimisväärset mõju laste elukvaliteedile. Käesolev töö keskendub toiduallergiatega efektiivsema ja kiirema diagnostika meetodite arendamisele spetsiifilise immunoglobuliini E määramise teel.

Töö esimeseks eesmärgiks oli analüüsida toiduallergeenide IgE antikehade levimus/esinemissagedust Tallinna Lastehaigla patsientidel. Uuring kasutas andmeid aastatest 2018–2023, et mõõta ja määratleda peamised allergeenid, mis mõjutavad haigla patsiente. Selle teadmise põhjal töötati välja sihipärased jätku-uuringud.

Teiseks eesmärgiks oli optimeerida parameetrid, mille alusel otsustatakse, millistele allergeenidele lisada automaatselt komponentide uuring. See hõlmas algoritmide arendamist, mis identifitseerivad, millistel juhtudel on vajalik ja tõhus teostada täiendavaid teste, et täpsustada allergeenide spetsiifilisi komponente.

Kolmandaks eesmärgiks oli juurutada automaatselt genereerivaid allergeenikomponentide põhiseid allergiauurimise algoritme. Need algoritmid on loodud selleks, et automaatselt käivitada allergeenikomponentide testid, kui esialgsed sIgE testid on positiivsed.

Esialgsed tulemused näitasid, et algoritmide rakendamine aitas märkimisväärselt kiirendada diagnostilisi protsesse ja parandada diagnostiliste testide täpsust. Näiteks, 89,5% toidupaneeli fx5 proovidest oli võimalik integreerida kolmeastmelisse uuringusse ja määrata nende sensibiliseerimismuster 24 tunni jooksul. Uuritud allergeenikomponentide, nagu lehmapiima, muna ja pähklike puhul tuvastati kõrge risk allergiliste reaktsioonide tekkeks.

Kolmeastmeline toidupaneeli fx5 algoritm on osutunud efektiivseks meetodiks toiduallergeenide sensibiliseerimise mustrite tuvastamisel. See algoritm võimaldab kiiresti tuvastada ja reageerida allergeenidele, parandades seeläbi diagnoosi kiirust ja täpsust. Siiski tuleb arvestada, et selle rakendamise piiranguks on proovide kogus, mis võib mõjutada algoritmi täpsust ja usaldusväärsust.

Allergeenikomponentide spetsiifilise IgE automaatne määramine on tõhus kõigi uuritud komponentide puhul, välja arvatud seesamiseemnete spetsiifiline IgE. Uuring näitas, et seesami komponentide spetsiifilise IgE madal positiivsete tulemuste määr viitab vajadusele hinnata selle komponendi kasutamise otstarbekust edasistes diagnostilistes protsessides.

Rakendatud algoritmid aitavad kaasa diagnostiliste tulemuste kiiremale saamisele, lühendades sellega patsientide ootusaega ja võimaldades kiiremat sekkumist. See on eriti oluline allergiliste reaktsioonide puhul, kus kiire diagnoosimine ja ravi alustamine võivad oluliselt mõjutada tulemusi.

Edasiarenduseks ja tuleviku uurimistööks soovitatakse töö algoritme veelgi täiustada ja laiendada, kaasates rohkem allergeenide komponente ja uurides algoritmide mõju erinevatele patsiendigruppidele.

## Abstract

The study of food allergies is essential, considering its increasing prevalence and often severe progression, which can lead to extensive health problems and significantly impact children's quality of life. This study focuses on developing more effective and faster diagnostic methods for food allergies through the determination of specific immunoglobulin E.

The first objective of this study was to analyze the prevalence/incidence of food allergen IgE antibodies among patients at Tallinn Children's Hospital. The study used data from 2018 to 2023 to measure and define the main allergens affecting hospital patients. Based on this knowledge, targeted follow-up investigations were developed.

The second objective was to optimise the parameters for deciding which allergens must be included in the component survey. This involved the development of algorithms that identify cases where additional tests are necessary and effective to specify the specific components of allergens.

The third objective was to implement automatically generating algorithms for allergen component-based allergy testing. These algorithms are designed to automatically initiate tests for allergen components when initial sIgE tests are positive.

Preliminary results showed that the implementation of the algorithms significantly accelerated diagnostic processes and improved the accuracy of diagnostic tests. For example, 89.5% of fx5 food panel samples could be integrated into a three-step assay and their sensitisation patterns determined within 24 hours. High risks of allergic reactions were identified for studied allergen components such as cow's milk, eggs, and nuts.

The three-stage food panel fx5 algorithm has proven to be an effective method for detecting patterns of sensitization to food allergens. This algorithm allows for quick detection and response to allergens, thereby improving the speed and accuracy of diagnoses. However, it is important to note that a limitation of its implementation is the quantity of samples, which can affect the accuracy and reliability of the algorithm.

The automatic determination of specific IgE for allergen components is effective for all of the components studied, except for specific IgE for sesame seeds. The study showed that the low rate of positive results for sesame component-specific IgE indicates the need to assess the usefulness of this component in future diagnostic processes.

The implemented algorithms contribute to faster acquisition of diagnostic results, thereby shortening patients' waiting times and enabling quicker intervention. This is particularly important in the case of more severe allergic reactions, where quick diagnosis and treatment initiation can significantly affect outcomes.

For further development and future research, it is recommended to further refine and expand the scope of the algorithms, incorporating more allergen components and studying the impact of the algorithms on various patient groups.



## Kasutatud kirjanduse loetelu

Aas, K. (1978). What makes an allergen an allergen. *Allergy*, 33(1).

Ahsan, H. (2022). Monoplex and multiplex immunoassays: approval, advancements, and alternatives. *Comparative clinical pathology*, 31(2), 333-345.

Allen, K. J., & Koplin, J. J. (2012). The epidemiology of IgE-mediated food allergy and anaphylaxis. *Immunology and Allergy Clinics*, 32(1), 35-50.

Allen, K. J., & Koplin, J. J. (2016). Prospects for prevention of food allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 4(2), 215-220.

Anca A., Sussman L. G. (2013). Suur toiduallergia käsiraamat. Toiduainete talumatus, sellega toimetulek ja 150 retsepti tervislikuks toitumiseks.

Annus, T. (2005). Allergy in Estonian schoolchildren: time trends and characteristics (Vol. 114). *Tartu University Press*.

Barni, S., Liccioli, G., Sarti, L., Giovannini, M., Novembre, E., & Mori, F. (2020). Immunoglobulin E (IgE)-mediated food allergy in children: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, prevention, and management. *Medicina*, 56(3), 111.

Bellantini, J. A. (2023). Mechanisms of desensitization with oral immunotherapy and epicutaneous immunotherapy. *Journal of Food Allergy (USA)*, 5(1), 10-18.

Berin, M. C., & Sampson, H. A. (2013). Mucosal immunology of food allergy. *Current biology*, 23(9), R389-R400.

Borres, M. P., Maruyama, N., Sato, S., & Ebisawa, M. (2016). Recent advances in component resolved diagnosis in food allergy. *Allergology International*, 65(4), 378-387.

Bradshaw N. (2018). Go molecular!

Breiteneder, H., & Mills, E. C. (2005). Molecular properties of food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115(1), 14-23.

Briceno Noriega, D., Teodorowicz, M., Savelkoul, H., & Ruinemans-Koerts, J. (2021). The basophil activation test for clinical management of food allergies: recent advances and future directions. *Journal of Asthma and Allergy*, 1335-1348.

Bunyavanich, S., Rifas-Shiman, S. L., Platts-Mills, T. A., Workman, L., Sordillo, J. E., Camargo Jr, C. A., ... & Litonjua, A. A. (2014). Peanut, milk, and wheat intake during pregnancy is associated with reduced allergy and asthma in children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(5), 1373-1382.

Calvani, M., Bianchi, A., Reginelli, C., Peresso, M., & Testa, A. (2019). Oral food challenge. *Medicina*, 55(10), 651.

- Cardona, V., Ansotegui, I. J., Ebisawa, M., El-Gamal, Y., Rivas, M. F., Fineman, S., ... & Worm, M. (2020). World allergy organization anaphylaxis guidance 2020. *World allergy organization journal*, 13(10), 100472.
- Chinthrajah, R. S., Hernandez, J. D., Boyd, S. D., Galli, S. J., & Nadeau, K. C. (2016). Molecular and cellular mechanisms of food allergy and food tolerance. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(4), 984-997.
- Comberiati, P., Costagliola, G., D'Elisio, S., & Peroni, D. (2019). Prevention of food allergy: the significance of early introduction. *Medicina*, 55(7), 323.
- Dispenza, M. C. (2019, November). Classification of hypersensitivity reactions. In *Allergy & Asthma Proceedings* (Vol. 40, No. 6).
- Dramburg, S., Hilger, C., Santos, A. F., de Las Vecillas, L., Aalberse, R. C., Acevedo, N., ... & Hoffmann-Sommergruber, K. (2022). EAACI molecular allergology user's guide 2.0. *Pediatric Allergy and Immunology*, 34, e13854.
- Du Toit, G., Roberts, G., Sayre, P. H., Bahnson, H. T., Radulovic, S., Santos, A. F., ... & Lack, G. (2015). Randomized trial of peanut consumption in infants at risk for peanut allergy. *New England Journal of Medicine*, 372(9), 803-813.
- Fiocchi, A., Brozek, J., Schünemann, H., Bahna, S. L., von Berg, A., Beyer, K., ... & Vieths, S. (2010). World Allergy Organization (WAO) diagnosis and rationale for action against cow's milk allergy (DRACMA) guidelines. *World Allergy Organization Journal*, 3(4), 57-161.
- Fleischer, D. M., Burks, A. W., Vickery, B. P., Scurlock, A. M., Wood, R. A., Jones, S. M., ... & Consortium of Food Allergy Research (CoFAR). (2013). Sublingual immunotherapy for peanut allergy: a randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *Journal of allergy and clinical immunology*, 131(1), 119-127.
- Foong, R. X., Dantzer, J. A., Wood, R. A., & Santos, A. F. (2021). Improving diagnostic accuracy in food allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 9(1), 71-80.
- Fritsch, R., Bohle, B., Vollmann, U., Wiedermann, U., Jahn-Schmid, B., Krebitz, M., ... & Ebner, C. (1998). Bet v 1, the major birch pollen allergen, and Mal d 1, the major apple allergen, cross-react at the level of allergen-specific T helper cells. *Journal of allergy and clinical immunology*, 102(4), 679-686.
- Gensollen, T., Iyer, S. S., Kasper, D. L., & Blumberg, R. S. (2016). How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*, 352(6285), 539-544.
- Goikoetxea, M. J., Sanz, M. L., García, B. E., Mayorga, C., Longo, N., Gamboa, P. M., ... & de la Calle Toral, A. (2013). Recommendations for the use of in vitro methods to detect specific immunoglobulin E: are they comparable. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 23(7), 448-454.
- Hamilton, R. G., & Williams, P. B. (2010). Human IgE antibody serology: a primer for the practicing North American allergist/immunologist. *Journal of allergy and clinical immunology*, 126(1), 33-38.

- Han, H., Thelen, T. D., Comeau, M. R., & Ziegler, S. F. (2014). Thymic stromal lymphopoietin-mediated epicutaneous inflammation promotes acute diarrhea and anaphylaxis. *The Journal of clinical investigation*, *124*(12), 5442-5452.
- Hill, D. A., Grundmeier, R. W., Ram, G., & Spergel, J. M. (2016). The epidemiologic characteristics of healthcare provider-diagnosed eczema, asthma, allergic rhinitis, and food allergy in children: a retrospective cohort study. *BMC pediatrics*, *16*, 1-8.
- Hurlburt, B. K., Offermann, L. R., McBride, J. K., Majorek, K. A., Maleki, S. J., & Chruszcz, M. (2013). Structure and function of the peanut panallergen Ara h 8. *Journal of Biological Chemistry*, *288*(52), 36890-36901.
- Illing S. (2001). Minu laps on allergiline.
- Incorvaia, C., Rapetti, A., Aliani, M., Castagneto, C., Corso, N., Landi, M., ... & Scala, E. (2014). Food allergy as defined by component resolved diagnosis. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, *8*(1), 59-73.
- Ivković-Jureković, I. (2015). Oral allergy syndrome in children. *International Dental Journal*, *65*(3), 164-168.
- Jenkins, J. A., Griffiths-Jones, S., Shewry, P. R., Breiteneder, H., & Mills, E. C. (2005). Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: an in silico analysis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *115*(1), 163-170.
- Johansson, S. G. O., Hourihane, J. B., Bousquet, J., Brujnzeel-Koomen, C., Dreborg, S., Haahtela, T., ... & Wüthrich, B. (2001). A revised nomenclature for allergy: an EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy*, *56*(9), 813-824.
- Julge, K., Vasar, M., & Björkstén, B. (2001). Development of allergy and IgE antibodies during the first five years of life in Estonian children. *Clinical & Experimental Allergy*, *31*(12), 1854-1861.
- Kattan, J. D., & Wang, J. (2013). Allergen component testing for food allergy: ready for prime time?. *Current allergy and asthma reports*, *13*, 58-63.
- Konstantinou, G. N., Nowak-Węgrzyn, A., Bencharitiwong, R., Bardina, L., Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2014). Egg-white-specific Ig A and Ig A 2 antibodies in egg-allergic children: Is there a role in tolerance induction?. *Pediatric Allergy and Immunology*, *25*(1), 64-70.
- Lidholm, J., Ballmer-Weber, B. K., Mari, A., & Vieths, S. (2006). Component-resolved diagnostics in food allergy. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, *6*(3), 234-240.
- Lieberman, P. (2005). Biphasic anaphylactic reactions. *Annals of allergy, asthma & immunology*, *95*(3), 217-226.
- Liu, C., & Sathe, S. K. (2018). Food allergen epitope mapping. *Journal of agricultural and food chemistry*, *66*(28), 7238-7248.

- Mansouri, M. (2015). Food allergy: a review. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*, 3(3).
- Maruyama, N., Nakagawa, T., Ito, K., Cabanos, C., Borres, M. P., Movérare, R., ... & Ebisawa, M. (2016). Measurement of specific IgE antibodies to Ses i 1 improves the diagnosis of sesame allergy. *Clinical & Experimental Allergy*, 46(1), 163-171.
- Mehraj, U., Nisar, S., Sheikh, B. A., Suhail, S., Qayoom, H., & Mir, M. A. (2020) Type II Hypersensitivity (Antibody-Mediated Cytotoxic Hypersensitivity). *The Fundamentals of Hypersensitivities and Allergies*, 105.
- Moriyama, T. (2015). Diversity of food allergy. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 61(Supplement), S106-S108.
- Nurmatov, U. B., Rhatigan, E., Simons, F. E. R., & Sheikh, A. (2014). H2-antihistamines for the treatment of anaphylaxis with and without shock: a systematic review. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 112(2), 126-131.
- Ortolani, C., & Pastorello, E. A. (2006). Food allergies and food intolerances. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 20(3), 467-483.
- Oyoshi, M. K., Larson, R. P., Ziegler, S. F., & Geha, R. S. (2010). Mechanical injury polarizes skin dendritic cells to elicit a TH2 response by inducing cutaneous thymic stromal lymphopoietin expression. *Journal of allergy and clinical immunology*, 126(5), 976-984.
- Pabst, O., & Mowat, A. M. (2012). Oral tolerance to food protein. *Mucosal immunology*, 5(3), 232-239.
- Palladino, C., & Breiteneder, H. (2018). Peanut allergens. *Molecular immunology*, 100, 58-70.
- Panel, N. S. E. (2010). Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(6), S1-S58.
- Paul, W. E., & Zhu, J. (2010). How are TH2-type immune responses initiated and amplified?. *Nature reviews immunology*, 10(4), 225-235.
- Reddy, A., & Fried, B. (2008). Atopic disorders and parasitic infections. *Advances in parasitology*, 66, 149-191.
- Riggioni, C., Ricci, C., Moya, B., Wong, D., van Goor, E., Bartha, I., ... & Santos, A. F. (2024). Systematic review and meta-analyses on the accuracy of diagnostic tests for IgE-mediated food allergy. *Allergy*, 79(2), 324-352.
- Ring, J. (2005). Allergy in practice. *Springer Science & Business Media*.
- Rivas, M. N., Burton, O. T., Wise, P., Charbonnier, L. M., Georgiev, P., Oettgen, H. C., ... & Chatila, T. A. (2015). Regulatory T cell reprogramming toward a Th2-cell-like lineage impairs oral tolerance and promotes food allergy. *Immunity*, 42(3), 512-523.

- Roberts, G., Lack, G., & Avon Longitudinal Study of Parents and Children Study Team. (2005). Diagnosing peanut allergy with skin prick and specific IgE testing. *Journal of allergy and clinical immunology*, 115(6), 1291-1296.
- Roduit, C., Frei, R., Depner, M., Schaub, B., Loss, G., Genuneit, J., ... & Pasture Study Group. (2014). Increased food diversity in the first year of life is inversely associated with allergic diseases. *Journal of allergy and clinical immunology*, 133(4), 1056-1064.
- Ruiter, B., & Shreffler, W. G. (2012). The role of dendritic cells in food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 129(4), 921-928.
- Satitsuksanoa, P., Jansen, K., Głobińska, A., Van de Veen, W., & Akdis, M. (2018). Regulatory immune mechanisms in tolerance to food allergy. *Frontiers in immunology*, 9, 2939.
- Seth, D., Poowutikul, P., Pansare, M., & Kamat, D. (2020). Food allergy: a review. *Pediatric annals*, 49(1), e50-e58.
- Shen, N., & Clemente, J. C. (2015). Engineering the microbiome: a novel approach to immunotherapy for allergic and immune diseases. *Current allergy and asthma reports*, 15, 1-10.
- Sicherer, S. H., & Sampson, H. A. (2014). Food allergy: epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(2), 291-307.
- Spergel, J. M. (2006). Nonimmunoglobulin E-mediated immune reactions to foods. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 2, 1-8.
- Suther, C., Moore, M. D., Beigelman, A., & Zhou, Y. (2020). The gut microbiome and the big eight. *Nutrients*, 12(12), 3728.
- Taylor, S. L., & Hefle, S. L. (2001). Food allergies and other food sensitivities. *Food Technology-Champaign Then Chicago-*, 55(9), 68-84.
- Tedner, S. G., Asarnej, A., Thulin, H., Westman, M., Konradsen, J. R., & Nilsson, C. (2022). Food allergy and hypersensitivity reactions in children and adults—A review. *Journal of internal medicine*, 291(3), 283-302.
- Thermo Fisher Scientific (2012). Phadia 250 User Manual.
- Tordesillas, L., Goswami, R., Benedé, S., Grishina, G., Dunkin, D., Järvinen, K. M., ... & Berin, M. C. (2014). Skin exposure promotes a Th2-dependent sensitization to peanut allergens. *The Journal of clinical investigation*, 124(11), 4965-4975.
- Treudler, R., & Simon, J. C. (2017). Pollen-related food allergy: an update. *Allergo Journal International*, 26, 273-282.
- Turnbull, J. L., Adams, H. N., & Gorard, D. A. (2015). The diagnosis and management of food allergy and food intolerances. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 41(1), 3-25.

Uibo R., Kisand K., Peterson P. & Reimand K. (2015). Immunoloogia: õpik kõrgkoolidele.

Valério, M., Gomes, R. S., Almeida, M., Gomes, A. M., & Neves, A. M. (2015). Food Allergens-an Overview on Molecular Properties and Diagnosis. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 52-60.

Vassallo, M. F., & Camargo Jr, C. A. (2010). Potential mechanisms for the hypothesized link between sunshine, vitamin D, and food allergy in children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(2), 217-222.

Werfel, T., Asero, R., Ballmer-Weber, B. K., Beyer, K., Enrique, E., Knulst, A. C., ... & Hoffmann-Sommergruber, K. (2015). Position paper of the EAACI: food allergy due to immunological cross-reactions with common inhalant allergens. *Allergy*, 70(9), 1079-1090.

Wood, R. A. (2016). Food allergen immunotherapy: current status and prospects for the future. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137(4), 973-982.

Yu, W., Freeland, D. M. H., & Nadeau, K. C. (2016). Food allergy: immune mechanisms, diagnosis and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 16(12), 751-765.

## **Tänuavaldused**

Tahaksin tänada oma juhendajaid Irina Golovljova ja Sirje Rüütel Boudinot nõuannete ning abivalmiduse eest selle bakalaureusetöö koostamisel. Samuti tänan Tallinna Lastehaigla teadus- ja koolitusosakonna juhatajat Marika Tammaru StataC 13 programmi tutvustamise eest ning allergoloogiakollegiumi juhatajat Silvi Plado soovitatud juhiste eest.

## Lisad

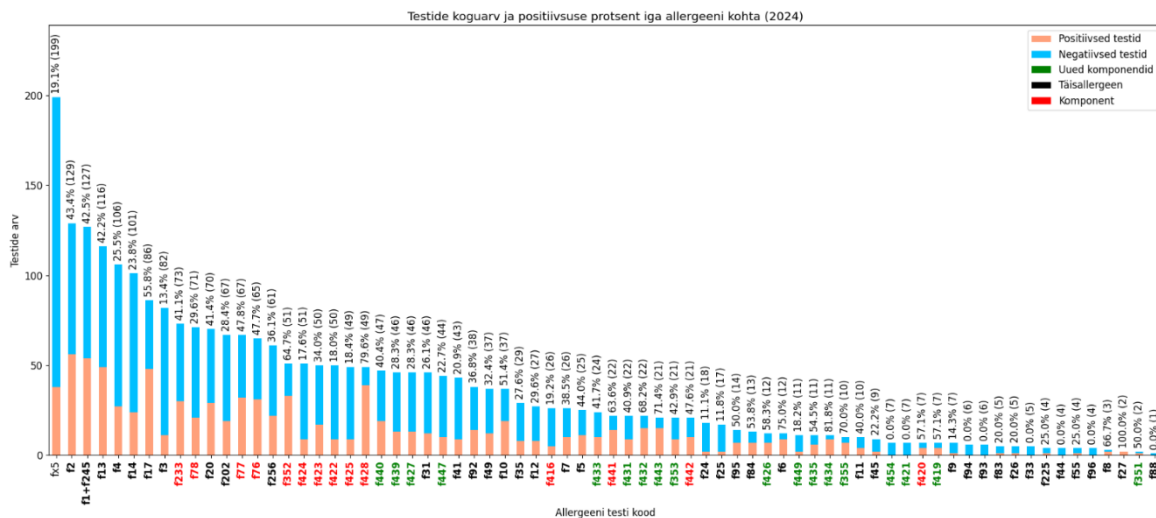
### Lisa 1. Seerumi kogus toiduallergeenide komponentide uurimiseks

Positiivne allergeen	Reflektstest	Komponentide nimetus	Valgu perekond	Seerumi kogus	Vere kogus
f1 (munavalge)	f233	nGal d 1	Ovomukoid	50 ul	100 ul
f2 (lehmapiim)	f76	nBos d 4	Alfa-laktalbumiin	130 ul	260 ul
	f77	nBos d 5	Beeta-laktalbumiin		
	f78	nBos d 8	Kaseiin		
f4 (nisu)	f416	rTri a 19	Omega-5 gliadiin	90 ul	180 ul
	f433	rTri a 14	nsLTP		
f13 (maapähkel)	f422	rAra h 1	7S globuliin, säilitusvalk	250 ul	500 ul
	f423	rAra h 2	2S albumiin, säilitusvalk		
	f424	rAra h 3	11S globuliin, säilitusvalk		
	f447	rAra h 6	2S albumiin, säilitusvalk		
	f352	rAra h 8	PR-10		
	f427	rAra h 9	LTP		
f14 (soja)	f353	rGly m 4	PR-10	130 ul	260 ul
	f431	rGly m 5	Beeta-konglütsiniin		
	f432	rGly m 6	Glütsiniin		
f17 (sarapuupähkel)	f425	rCor a 8	LTP	170 ul	340 ul
	f428	rCor a 1	PR-10		
	f439	rCor a 14	2S albumiin, säilitusvalk		
	f440	nCor a 8	11S globuliin, säilitusvalk		
f 256 (kreeka pähkel)	f441	rJug r 1	2S albumiin, säilitusvalk	90 ul	180 ul
	f442	rJug r 3	LTP		
f202 (india pähkel)	f443	rAna o 3	2S albumiin, säilitusvalk	50 ul	100 ul
f10 (sesaam)	f449	rSes i 1	2S albumiin, säilitusvalk	50 ul	100 ul
f3 (tursk), f41 (lõhe)	f426	rGad c 1	Parvalbumiin	90 ul	180 ul
	f355	rCyp c 1	Parvalbumiin		
f49 (õun)	f434	rMal d 1	PR-10	90 ul	180 ul
	f435	rMal d 3	nsLTP		
f95 (virsik)	f419	rPru p 1	PR-10	170 ul	340 ul
	f420	rPru p 3	nsLTP		
	f421	rPru p 4	Profiilin		
	f454	rPru p 7	GPR		
f24 (krevetid)	f351	rPen a 1	Tropomüosiin	50 ul	100 ul

**Lisa 1. Seerumi kogus toiduallergeenide komponentide uurimiseks.** Tabel näitab positiivseid allergeene, reflektsteste, komponentide nimetusi ja valgu perekondi. Lisaks on märgitud vajalikud seerumi ja vere kogused iga testi jaoks. Näiteks munavalgu (f1) uurimiseks kasutatakse ovomukoidi (f233) ja nõutav seerumi kogus on 50 µl, vere kogus 100 µl. Lehmapiima (f2) puhul uuritakse erinevaid valke, nagu alfa-laktalbumiin (f76) ja beeta-laktoglobuliin (f77), nõudes 130 µl seerumit ja 260 µl verd. Sarapuupähkli (f17) uurimiseks on vajalikud kogused 170 µl seerumit ja 340 µl verd.



## Lisa 2. Kahe kuu jooksul teostatud toiduallergeenide spetsiifilise IgE uuringu tulemused



Lisa 2. Tallinna Lastehaiglas kahe kuu jooksul teostatud toiduallergeenide spetsiifilise IgE uuringu tulemused. Lisa näitab testide koguarvu ja positiivsuse protsenti iga allergeeni kohta, kus x-teljel on allergeenide testikoodid ja y-teljel testide arv. Positiivsed tulemused on tähistatud oranžiga ja negatiivsed sinisega. Kõrgeima positiivsuse protsendiga allergeenid on f2 (lehmapiim), f1 (muna) ja f3 (maapähkel). Rohelisega on märgitud uued kasutusele võetud komponendid, *Mustafa* täisallergeenid ja punasega täisallergeenide komponendid.

### **Lisa 3. Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Lisa  
rektori 29.05.2024 käskkirjale nr 1-8/17

#### **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks<sup>1</sup>**

Mina Anne-Lii Bõkovskaja

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose  
*“Toiduallergeenide astmelise diagnostika algoritmi väljatöötamine Tallinna Lastehaigla laboris”,*

mille juhendajateks on Irina Golovljova ja Sirje Rüütel Boudinot

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

29.05.2024

---

<sup>1</sup> Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingu tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtajaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.