

## National anbefaling for udredning af immundefekt i Klinisk Immunologi.

Ved immundefekt forstås flg. former for immundysfunktion:

- Øget infektionstendens ift. relevant baggrundsbefolkning
  - Hyppigere og/eller svære forløbende infektioner
  - Infektioner med mikroorganismer, der menes at være apatogene i raske mennesker.
- Immundysregulering: Insufficient hæmning af immunsystemet.
- Autoinflammation: persisterende overaktivering af antigen-uafhængig inflammation.

Primær immundysfunktion (PID) omfatter tilstande som ikke er sekundære til eksogene faktorer, mangeltilstande eller anden sygdom. Det er vigtigt at erkende sekundær immundysfunktion (SID) som mulig forklaring og tilpasse udredningen af immundysfunktion i henhold til dette. Immundysfunktion er ofte genetisk betinget. Arvegangen varierer stærkt i kompleksitet; fra monogene sygdomme med forventet fuld penetrans til sygdomme med polygen årsag og lav penetrans. En påvist gendefekt kan have stor behandlingsmæssig betydning for probanden, dennes slægtninge og kan evt. benyttes til prænatal diagnostik.

**Familieanamnese** er vigtig i belysningen af sandsynligheden for gendefekt hos probanden men også i opsporingen af evt. andre afficerede personer. Familieanamnesen bør afklare om der er slægtninge (1. eller 2. grads) med diagnosticeret immundysfunktion og/eller lignende symptomer, om forældrene er blodsbeslægtede og om der i familien har været tilfælde med tidlige død som evt. kan henføres til immundysfunktion. Desuden indhentes oplysninger om generel familiær disposition.

Immundysfunktion kan føre til sekundær **organskade**, fx bronkiektasier ved øget tendens til pneumonier, multiorgansvigt ved immundysregulation (fx hæmfagocytisk lymfocytose) og amyloidose ved autoinflammation. Organskade er kraftigt indicium på alvorlighed af en evt. immundysfunktion og karakteriseringen er derfor vigtig i udredningen og behandlingen af sådanne patienter.

Immundysfunktion kan have en lang række forskellige **ledsagemanifestationer**, fx autoimmunitet, malignitet, atopi, mv. Derudover kan PID være ledsaget af udviklingsanomalier og optræde som del af syndromer. Ledsgemanifestationerne kan være ganske specifikke, hvilket kan have stor diagnostisk og behandlingsmæssig betydning for den enkelte immundysfunktionstilstand.

Udredning af immundysfunktion kan være overordentlig ressourcetung. Det er derfor vigtigt at indikationen er klar og udredningsniveauet tilpasses herefter.

Henviste kan med fordel inddeles i flg. kategorier:

<b>PID</b>	<b>Forhold</b>	<b>Screening</b>	<b>Genetisk test</b>
Usandsynlig	Anamnese og fund ikke abnorme	Nej	Nej
Mulig	Anamnese forenelig med PID. SID ikke umiddelbart forklarende.	Ja	Nej
Sandsynlig	SID ikke sandsynligt forklarende og mindst 1 af flg: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dokumenteret immundysfunktion</li> <li>• Anamnese forenelig med immundysfunktion og mindst 1 af flg.: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Overensstemmende anamnese hos 1. eller 2. gradsslægtninge.</li> <li>○ Mindre barn med dårlig trivsel</li> <li>○ Dokumenteret organskade som sandsynligt er sekundært til den mistænkte type af immundysfunktion.</li> <li>○ Dokumenterede ledsagemanifestationer typisk for mistænkt PID.</li> </ul> </li> </ul>	Ja	Ja
Påvist	Genetisk påvist variant(er)	Evt.	Evt.

## **PID med øget infektionstendens.**

Der forstås person med øget infektionstendens uden oplagt forklarende sekundær immundefekt. Dette bør være vurderet af infektionsmediciner/-pædiater, subspecialiseret i primær immundefekt, inden patienten henvises til Immunologisk afdeling. Ved henvisning bør der foreligge nylig resultater for koncentrationer af plasma immunglobuliner (IgA, IgM, og IgG inklusiv subklasser samt evt. IgE) og perifere leukocytsubtyper (lymfocytter, monocytter, neutrofile, basofile og eosinofile). Evt. måling af antistoffer mod modtagne vacciner

Klinisk immunologisk afdeling vurderer at der foreligger øget infektionstendens som ikke oplagt er forklaret ved sekundær immundefekt. Vurderingen foregår på baggrund af foreliggende journalmateriale, henvisning og evt. ambulans gennemgang. Der skelnes mellem dokumenterede infektioner og rene anamnesticke infektioner (evt. infektionsdagbog).

### **Screening:**

Foretages med udgangspunkt i infektionsarten:

Analyse	Pneumoni	Øvre luftvejsinfektioner	Abscesser	Svære virale infektioner	Invasive bakterielle infektioner	Svampeinfektioner
Vaccinationsforsøg	X	X			X	
Komplementaktivering	X	X			X	
Lymfocytænotypering	X	X	X	X	X	X
Lymfocytproliferation	X <sup>1</sup>			X <sup>1</sup>	X	X
Granulocyt ROS produktion	X		X		X	X

<sup>1</sup> Symptomdebut indenfor første 5 leveår

### **Vaccinationsforsøg:**

Indikation: Recidiverende og/eller svære sinopulmonale infektioner. Specielt ved personer mistænkt for B-celledysfunktion herunder CVID diagnostik.

Formål: Undersøge evne til antistofrespons mod vaccinekomponenter. Der bør måles respons mod både polysakkarid- og proteinbaserede vacciner.

Respons mod polysakkaridvacciner. "*Polysaccharide nonresponse*" er blandt hyppigste fund hos personer med recidiverende og/eller svære infektioner (Javier FC, Ann Allergy Asthma Immunol. 2000). Kan findes hos personer med (nær)intakt antistofrespons mod proteinantigener. Defekten kan være isoleret eller kombineret med yderligere antistofdefekt (IgA-deficiens, IgG2 deficiens mv). Der anvendes ikke-protein konjugeret polysakkaridvaccine (primært 23-valent pneumokok kapselpolysakkarid). Defekt kan først diagnosticeres efter andet leveår, fordi selv raske ikke kan forventes at have sufficient antistofrespons mod rene polysakkarider før. Er personen tidligere vaccineret med proteinkonjugeret polysakkaridvaccine

(indført i børnevaccinationsprogrammet), kan efterfølgende antistofrespons mod samme polysakkarider ikke antages at repræsentere sandt polysakkarid antistofrespons.

Undersøgelse udføres og vurderes i henhold til guidelines fra The American Academy of Allergy, Asthma & Immunology og the American College of Allergy, Asthma & Immunology (Bonilla FA, J Allergy Clin Immunol. 2015).

Antistofrespons mod proteinvacciner. Sjældnere defekt og generelt udtryk for svær antistofdefekt. Der kan undersøges for antistoffer mod tidligere mødte proteinvacciner. Ved ikke-beskyttende antistofkoncentrationer, gives vaccine hvorefter antistofresponsen kontrolleres 4-6 uger efter. Opnås ikke beskyttende antistofkoncentrationer tolkes responsen som nedsat. Mht. vaccinevalg foretrækkes vacciner der er ikke-infektive. Der anvendes aldrig levende svækkede vacciner til personer med betydende cellulær immundefekt. Der bør anvendes vacciner med (nær) komplet immunogenicitet i raske og hvor antistofresponsen kan kvantificeres.

### **Komplementaktivering:**

Screening af komplementsystemet udføres ved mistanke om komplement defekt (komplement faktor defekter og/eller komplement regulator defekt), herunder ved mistanke om Immundefekt med øget tendens til bakterielle infektioner, specielt *S. pneumoniae* eller *N. meningitidis* samt ved immunkompleks medieret autoimmunsygdom (bla SLE) og visse nyresygdomme som f.eks C3 glomerulopatiser.

Der bør måles på aktiviteten i henh. klassisk, lektin og alternativ aktiveringsvej.

Anbefalet metode: ELISA baseret måling af dannelsen af TCC/MAC/C5b-9. Metoden kan være kommerciel (fx Wieslab Complement System Screen Test) eller lokal opsat metode.

Ved nedsat aktivitet anbefales en gentagelse af analysen på ny prøve og derefter yderligere udredning vha. måling af enkelte faktor(er) og genetisk analyse.

### **Lymfocytænotypering**

Udføres som udgangspunkt på alle patienter der udredes for immundysfunktion. Overordnet formål er kvantitativ undersøgelse af patientens lymfocytsubsets ift. forventet for aldersmatchede, raske personer. Udføres ved flow cytometri. Undersøgte subsets bør som minimum være T-celler (total og subsets), B-celler (total og subsets) og NK-celler (total).

T-celle subsets: CD4+ (naive og memory), CD8+ (naive og memory), CD4-CD8-, TCR $\gamma\delta$  udtrykkende samt aktiverede (HLA-DR positive). Naive og memory T-celler defineres i henhold til Appay V, Cytometry A, 2008.

B-celle subsets: Transitionale, Naive, klasseskiftede memory, marginalzone-like og plasmablaste. B-celle subsets defineres i henhold til Warnatz K, Cytometry B Clin Cytom. 2008.

Subsets bestemmes som antalskoncentration og som andel af benævnt population.

Mistænkes bestemt immundysfunktion suppleres med evt. relevant yderligere fænotypering.

### **Lymfocytproliferation**

Indikation: Mistanke om primær immundefekt, herunder mistanke om specielle og svære cellulære/T-celle signalerings defekter (DiGeorge-syndrom, svær kombineret immundefekt etc.), eller kombinerede T- og B-celle defekter (CID, Wiskott Aldrich syndrom, ataxia telangiectasia, common variable immunodeficiency / CVID, etc.), hvor T-cellefunktionen kan være svækket.

Evaluering af T-cellefunktion hos patienter med sekundær immundefekt, enten sygdomsrelateret eller iatrogen.

Anbefalet metode: Flowcytometrisk måling af fluorofore fortynding i delende CD4pos T-celler. Analysen undersøger CD4 T-cellers evne til at proliferere som respons på hhv. mitogen (PHA) og direkte stimulation af T-celleceptoren med CD3/CD28 koblede beads.

<https://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/60591>

### **Granulocyt ROS produktion:**

Analysens formål er at undersøge for kronisk granulomatøs sygdom/Chronic granulomatous disease (CGD). CGD-patienter har meget høj hyppighed af de anførte infektionstyper (Winkelstein JA et al, Medicine (Baltimore) 2000 & Marciano BE et al, Clin Infect Dis. 2015). CGD vil forventeligt være en sjælden årsag til de anførte infektionstyper. Sygdommens alvorlighed og analysens simplicitet retfærdiggør dog undersøgelse allerede under indledende udredning.

CGD erkendes langt oftest hos mindre børn, men nogle gange først hos voksne (van den Berg JM et al, PLoS One\_ 2009). Der kan derfor ikke meningsfyldt defineres øvre aldersgrænse for, hvornår analysen ikke længere er relevant.

Anbefalede metode: Flow cytometri med dihydrorhodamine-123 (fx. Vowells SJ et al. J Immunol Methods. 1995 Jan 13;178(1):89-97)

### **Genetisk test:**

Ved indikation for genetisk diagnostik bør assay baseret på massiv parallel sekventering som udgangspunkt foretrækkes. Targeteret sekventering af genpanel kan være rationelt, men begrænser i sagens natur undersøgelsen til de inkluderede gener. Whole exome sequencing, alternativt whole genome sequencing, med in silico targetering ved filtrering af data er et fleksibelt og fremtidssikret alternativ, disse analyser kræver informeret samtykke af patienten. Bioinformatikken bør udføres af akademisk personale med

indsigt i PID og dataanalysen. Vurdering af fund ift. klinik og øvrige fund bør udføres i samråd med speciallæge i klinisk immunologi med indsigt i PID. Påviste varianter som ikke er oplagte for immundysfunktionen bør verificeres på ny prøve fra patienten og/eller dennes 1. grads slægtninge. Hvis slægtninge, nulevende eller evt. kommende, kan bære varianten, anbefales genetisk rådgivning. Varianter med udokumenteret funktionel betydning bør tilstræbes karakteriseret alternativt svares med passende forbehold. Tilfældige fund er genetiske varianter, der ikke med rimelighed kan forventes at have betydning for den undersøgte immundysfunktion men som med stor sandsynlighed kan have anden biologisk betydning. Risikoen for tilfældige fund bør minimeres ved targetering som ovenfor skitseret. Tilfældige fund bør kun rapporteres, hvis ønsket af patienten. Konkret problematik med tilfældigt fund kan med fordel diskuteres med speciallæge i Klinisk Genetik.

Undersøgelse for enkelte, specifikke varianter kan gøres med en række assays. Enkelte gener vil ofte kunne undersøges med Sanger sekventering, men det bør vurderes om dette er en rationel tilgang dvs. om klinikken er så entydig, at der kun forventes varianter tilstede i et enkelt eller ganske få gener.

## **Immundysregulering**

Defekter primært involverende lymfocytter med fx excessiv immunaktivering (fx HLH) eller manglende evne til at regulere lymfocytters homeostase (fx ALPS).

Relevante differentialdiagnoser overvejes grundigt, men flere af sygdommene kræver subakut behandling (fx kemoterapi), hvorfor immunologisk udredning ofte bør udføres ved førstkomende lejlighed. Udredningen bør indeholde undersøgelse af lymfocytsubpopulationer, specialanalyser afstemt efter den mistænkte tilstand og genetiske undersøgelser. Kan den lokale Immunologiske afdeling ikke umiddelbart udføre relevante specialanalyser og/eller den genetiske udredning, anbefales udredningen udført i samarbejde med anden national afdeling alternativt udenlandsk.

Strategien for genetisk udredning anbefales som beskrevet ved "PID med øget infektionstendens/Genetisk test."

### **Autoinflammatoriske tilstande**

Patogen inflammation (ofte periodisk) som opstår på ikke infektiøs baggrund (eller hvor graden af inflammation er excessiv ifht antigen-stimulus fx vaccination). Tilbagevende og/eller svær inflammation kan være organskadende og svært invaliderende.

Udover som nævnt generelt for immundysfunktion, bør der bære beskrevet alder ved debut samt typisk frekvens, forløb, varighed og biokemi under anfald (leukocytter, CRP og SR). Desuden effekt af evt. behandling. Ledsagemanifestationer er især feber, hudaffektion, serositis (diverse), arthritis, uveitis, konjunktivitis, meningitis, mavesmerter, lymfadenopati, splenomegali og på lang sigt amyloidose.

Differentialdiagnostisk bør især overvejes kroniske infektioner, onkologisk og reumatologisk lidelse.

Enkelt varianter i en længere række af gener kan give anledning til defekterne. Afhængig af defekten kan der ofte vælges rationel behandling fx med monoklonale terapeutiske antistoffer. Varianters funktionelle betydning kan evt. sandsynliggøres i stimulationsforsøg med måling af cytokinrespons.

Laboratorieudredningen er især baseret på genetiske undersøgelser. Strategien er som beskrevet ved "PID med øget infektionstendens/Genetisk test."