

Received: 2013.03.26
Accepted: 2014.03.28
Published: 2014.06.09

Diagnostyka molekularna alergii pokarmowej – czy wiemy więcej?

Component-resolved diagnostics of food allergy – do we know more?

Wanda Balińska-Miśkiewicz

I Katedra Pediatrii, Klinika Alergologii i Kardiologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Streszczenie

Molekularna diagnostyka alergii (component-resolved diagnostics - CRD) jest metodą badawczą umożliwiającą oznaczenie stężeń immunoglobulin E-swoistych skierowanych przeciwko określonym komponentom alergenowym.

W pracy omówiono znaczenie diagnostyki komponentowej w rozpoznawaniu alergii pokarmowej dla najczęstszych alergenów pochodzenia zwierzęcego i roślinnego. W oparciu o najnowszą literaturę przedstawiono korzyści wynikające z zastosowania diagnostyki molekularnej w rozpoznawaniu alergii pokarmowej oraz ograniczenia w stosowaniu tej metody.

Jedną z głównych zalet tej metody jest uzyskanie informacji na temat możliwości wystąpienia reakcji krzyżowych, dotyczących alergenów wziewnych i pokarmowych, wykazujących podobieństwo strukturalne w obrębie epitopów. Wyjaśnia podłoże molekularne reakcji krzyżowych. Umożliwia odróżnienie reakcji krzyżowych, występujących po spożyciu pokarmów, u osób pierwotnie nadwrażliwych na pyłki od współwystępowania alergii wziewnej i pokarmowej. Możliwe jest też wykorzystanie metody do wybranych alergenów w przewidywaniu stopnia nasilenia ciężkości reakcji alergicznych po spożyciu uczulającego pokarmu u osób z objawami alergii pokarmowej. U małych dzieci diagnostyka komponentowa może być pomocna w prognozowaniu uzyskania tolerancji pokarmowej na niektóre alergeny. Ze względu na występujące ograniczenia metody wnioski praktyczne i wskazówki dotyczące postępowania powinny być jednak wyciągane z dużą ostrożnością. Metoda nie zastępuje obserwacji klinicznej i podwójnie zaślepionej doustnej próby prowokacji pokarmowej z użyciem placebo, która nadal jest złotym standardem w diagnostyce alergii pokarmowej.

Badania komponentów alergenowych w populacjach zamieszkujących różne strefy klimatyczne dają odmienne wyniki. Jest to spowodowane zróżnicowaniem geograficznym uczulenia na poszczególne komponenty wynikające z różnej ekspozycji na pyłki i czynniki dietetyczne. Należy zatem zauważyć, że wnioski diagnostyczne i prognostyczne na podstawie analizy wyników takich badań są ograniczone. Ostrożność jest zalecana zwłaszcza w sytuacjach szacowania ryzyka wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych.

Mimo tych ograniczeń metoda jest nowoczesnym uzupełnieniem dotychczasowej diagnostyki alergologicznej zasługująca na jej rozpowszechnienie. Dostarcza szczegółowych informacji na temat alergizujących komponentów na poziomie molekularnym, pozwalając na lepsze zrozumienie występujących objawów i indywidualizację postępowania w leczeniu pacjenta.

Słowa kluczowe: diagnostyka komponentowa • diagnostyka molekularna • alergia pokarmowa • alergia krzyżowa

Summary

Component - resolved diagnostics (CRD) is the research method that allows to determine the concentrations of specific immunoglobulin E against a particular allergenic components.

The paper discusses the importance of CRD in the food allergy diagnosis to common animal and vegetable allergens. The capabilities of the method and its limitations in the application are presented.

One of the main advantages of the CRD is to obtain information on the potential allergen cross-reactivity regarding inhalant allergens and food, which are exhibiting structural similarity within the epitopes. CRD explains on the molecular level allergens cross-reactivity.

It allows to distinguish cross-reactions occurring after ingestion of food in patients with hypersensitivity that occurs primarily to pollen from the coexistence of inhaled and food allergies. It is also possible to use the method of the CRD for selected allergens to predict the severity of allergic reactions after ingestion of allergic food in patients with symptoms of food allergy. In addition, in small children component - resolved diagnostics can be helpful in predicting achieve in food tolerance to certain allergens. Due to the present limitations, practical conclusions and guidance should be drawn with a caution. This method does not replace clinical observation and double-blind placebo-controlled food challenge, which is still the gold standard in the diagnosis of food allergy.

Due to the geographic diversity resulting in different exposure to pollen and dietary factors researches on allergen components in populations living in different climatic zones give different results. This allows to observe that the diagnostic and prognostic inference based on the analysis of CRD results is limited and should always be considered in the clinical context. Especially in situations of estimating the risk of severe allergic reactions.

Despite these limitations, the CRD method is a modern tool to the current diagnosis of allergy deserving of its popularisation. It provides information on allergenic components at the molecular level, allowing better understanding of symptoms and patient adjusted procedures.

Key words:

component-resolved diagnostics • molecular diagnostics • food allergy • cross-reactivity

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1108336>

Word count:

6966

Tables:

–

Figures:

2

References:

65

Adres autorki:

dr n. med. Wanda Balińska-Miśkiewicz, I Katedra Pediatrii, Klinika Alergologii i Kardiologii, Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu, ul. Chałubińskiego 2a, 50-368 Wrocław; e-mail: wand1@wp.pl

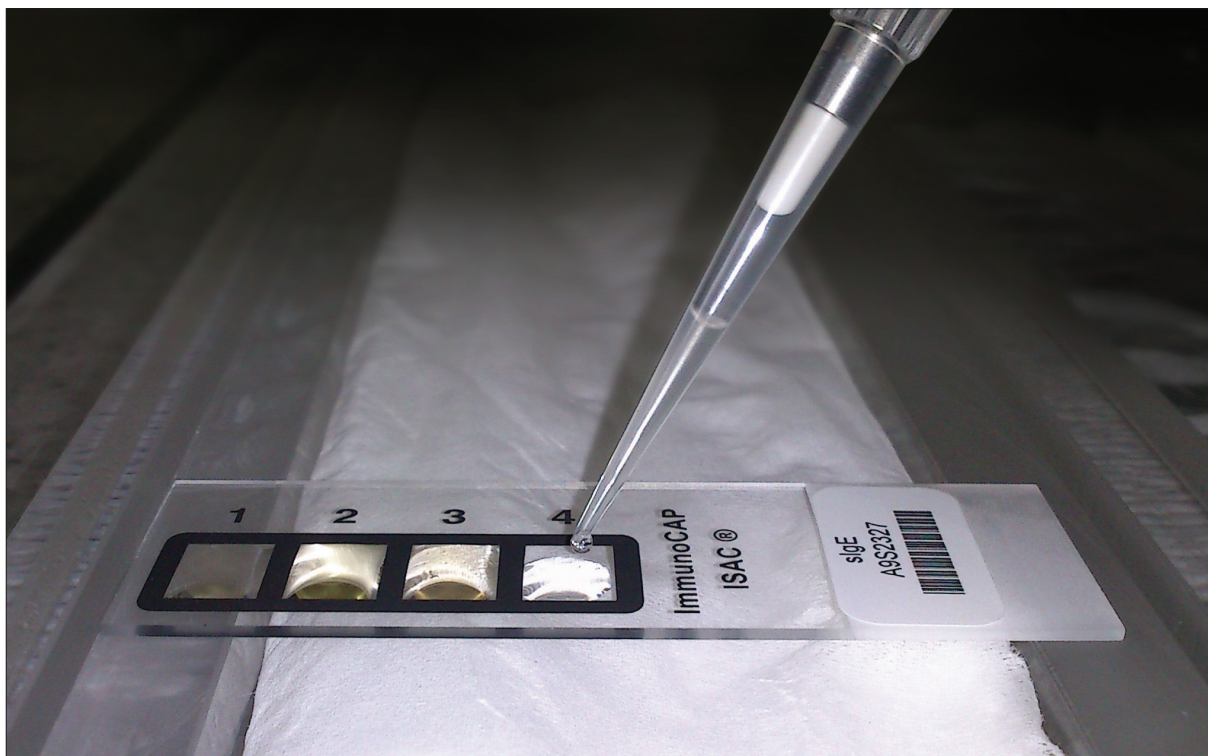
WSTĘP

Molekularna diagnostyka alergii (CRD - component-resolved diagnostics) jest obiecującą metodą badawczą i diagnostyczną służącą do oceny swoistych przeciwciał IgE skierowanych przeciwko alergenom uzyskiwanym metodą inżynierii genetycznej, tzw. alergenom rekombinowanym lub oczyszczonym naturalnym składnikiem alergenu. Jest wykonywana z użyciem biochipów, metodą mikromacierzy. Wynik badania jest wyrażany w standaryzowanych jednostkach stężeń ISAC (ISU-E). Zakres 0-0,3 ISU-E to stężenie nieoznaczalne przez 0,3-0,9 ISU-E - stężenie ni-

skie, 1-14,9 ISU-E - stężenie wysokie i >15 ISU-E - stężenie bardzo wysokie [42].

Pierwsze doniesienia dotyczące CRD pochodzą z 1999 r. [60], od tego czasu stale pojawiają się publikacje dotyczące tej metody. Jest również od kilku lat dostępna jako badanie komercyjne wykonywane laboratoryjnie w Polsce (Phadia).

Dotychczasowa diagnostyka alergologiczna (punktowe testy skórne, swoiste IgE) jest oparta głównie na ekstraktach alergenowych, które są mieszaniną wielu alergenów.



Ryc. 1. Płytkę testową z nałożonymi próbkami surowicy. Zdjęcie zamieszczono, dzięki uprzejmości Pani mgr Anny Różyło i Pani Grażyny Zuberek z Laboratorium Medi-Lite w Bielsku-Białej

Ich główną wadą jest brak odpowiedniej standaryzacji. Dotyczy to zarówno zawartych w ekstrakcie alergenów, ich stężeń, jak i ich stabilności.

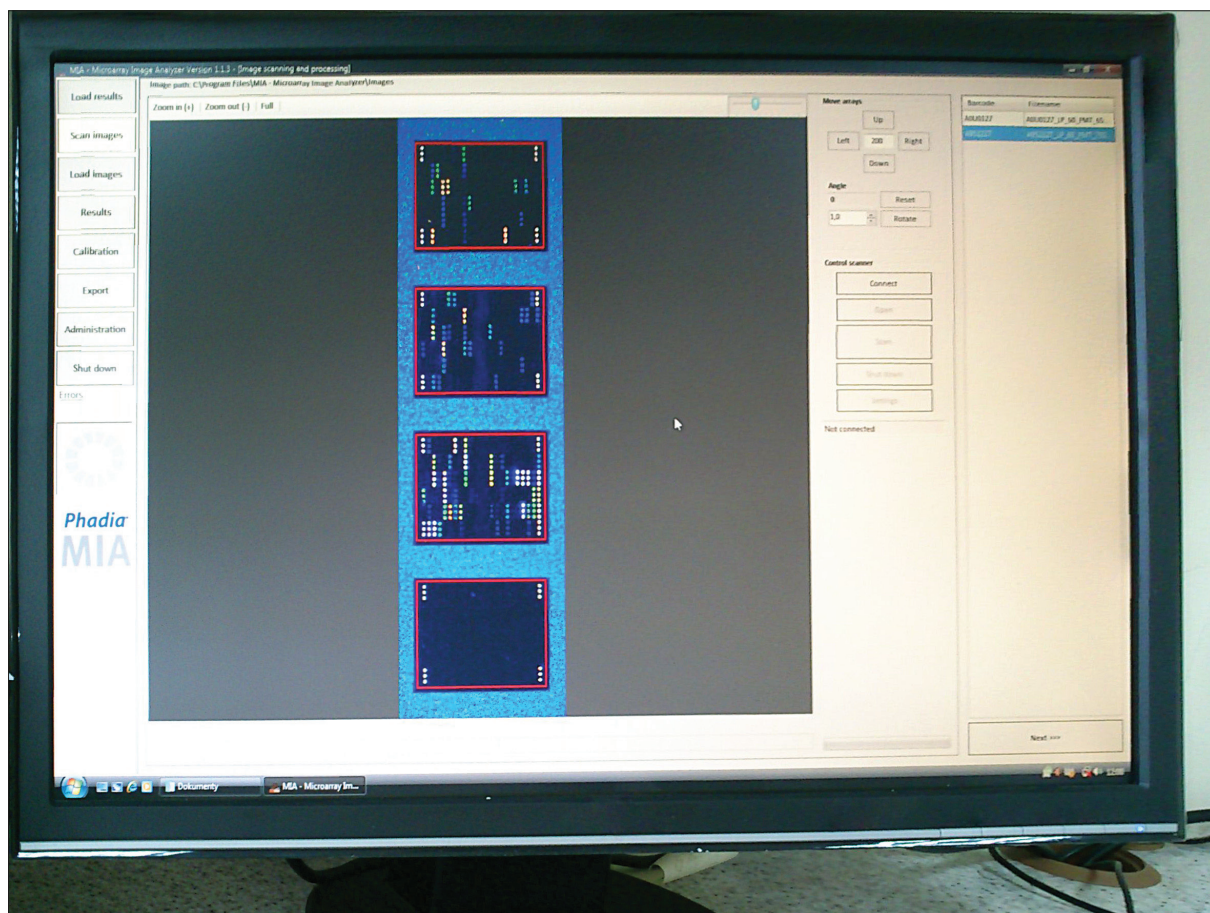
Dzięki metodzie CRD oznaczającej stężenia swoistych IgE skierowanych wobec poszczególnych komponentów alergenowych jest możliwe przedstawienie indywidualnego profilu immunologicznego alergii u pacjenta, a także precyzyjne ustalenie diagnozy i sformułowanie zaleceń dietetycznych oraz terapeutycznych. Metoda pozwala także na zwiększenie czułości i swoistości rozpoznania w stosunku do pozostałych metod diagnostyki alergologicznej opartych na ekstraktach.

Niewątpliwą zaletą metody CRD jest wielokierunkowa analiza surowicy pacjenta – w jednym badaniu można oznaczyć stężenia immunoglobulin E swoistych skierowanych przeciwko ponad 100 określonym komponentom alergenowym. CRD umożliwia szersze spojrzenie na proces alergizacji przez zdefiniowanie alergenów uczulających oraz zbadanie reaktywności krzyżowej, szczególnie cenną w alergii na białka pochodzenia roślinnego [33]. Reakcja krzyżowa polega na połączeniu określonego przeciwciała klasy IgE wytworzonego pierwotnie w kierunku jednego alergenu z antygenem o podobnej budowie pochodzącym z innego źródła. Szczególny udział alergii pokarmowej mają panalergeny – białka głównie, ale nie wyłącznie, pochodzenia roślinnego, które chociaż filogenetycznie odległe, wywołują między sobą reakcje krzyżowe. Reakcje zachodzą dzięki podobieństwu

sekwencji aminokwasów w łańcuchach białkowych oraz zbliżonej masie cząsteczkowej tych alergenów. Alergiczne reakcje krzyżowe dotyczą tych pacjentów z alergią wziewną, u których występują również dolegliwości po spożyciu niektórych owoców lub warzyw. Dzięki metodzie CRD można odróżnić pacjentów pierwotnie uczulonych na pyłki roślin reagujących krzyżowo na spożyte owoce i warzywa od pacjentów z występującą pierwotnie nadwrażliwością na owoce i warzywa (ryc. 1) [28].

Na podstawie szeroko zakrojonego badania epidemiologicznego, w którym przeprowadzono diagnostykę komponentową metodą ImmunoCAP ISAC w surowicy u 3142 pacjentów z Włoch i Austrii stwierdzono, że reakcje krzyżowe odgrywają dużo większą rolę w alergologii niż przypuszczano dotychczas oraz że występują one częściej niż współwystępowanie alergii pokarmowej i wziewnej na alergeny niewykazujące homologii [52].

Złotym standardem w diagnostyce alergii pokarmowej pozostają nadal testy prowokacji pokarmowej, jednak próby te są czasochłonne i obciążone ryzykiem wywołania ciężkich reakcji anafilaktycznych. Przewidywanie ciężkości reakcji alergicznych w alergii pokarmowej na podstawie oznaczania stężeń immunoglobulin E swoistych (ImmunoCAP) nie jest możliwe, ponieważ nie udowodniono istnienia zależności między tym stężeniem a stopniem ciężkości pojawiających się objawów [59]. Badania z zastosowaniem metody CRD nie są jednoznaczne – podkreśla się konieczność dalszych badań. Część z dostępnych badań pozwala



Ryc. 2. Obraz zeskanowanej płytki testowej. Przetwarzanie danych otrzymanych ze skanera na wynik ilościowy za pomocą programu MIA. Zdjęcie zamieszczono, dzięki uprzejmości Pani mgr Anny Różyło i Pani Grażyny Zuberek z Laboratorium Medi-Lite w Bielsku-Białej

ła na określenie komponentu odpowiedzialnego za takie reakcje i na wyłonienie grupy pacjentów narażonych po ekspozycji na dany alergen na ciężkie reakcje anafilaktyczne. Możliwe jest również wyodrębnienie innej grupy pacjentów – z podwyższonymi stężeniami immunoglobulin E-swoistych, jednak bez występujących następstw klinicznych. Przykładem mogą być badania dotyczące alergenów orzeszków ziemnych [56], soi [36], owocu kiwi [38], pszenicy [51], jabłka [26]. W takich przypadkach można ograniczyć lub zaniechać zaleceń dietetycznych, które istotnie wpływają na obniżenie jakości życia pacjenta.

Główną zaletą diagnostyki komponentowej jest ukazanie różnych profili immunologicznych alergii na orzeszki ziemne, jednego z ważniejszych alergenów pokarmowych, będącego najczęstszą przyczyną reakcji śmiertelnych w wyniku spożycia pokarmu [46]. Na podstawie badań molekularnych CRD można odróżnić grupę pacjentów uczulonych z objawami alergii (dodatni test skórny lub podwyższone swoiste IgE dla wyciągu alergenowego orzeszka ziemnego (f13)) od grupy uczulonych, ale niewykazujących objawów. Obie grupy pacjentów mają różny profil alergii na wyodrębnione komponenty Ara h 2 [21,25,48]. Pacjenci, którzy wytworzyli swoiste IgE skierowane

przeciwko większej liczbie komponentów Ara h, w tym Ara h 2 prezentują cięższe objawy alergii po spożyciu orzeszków ziemnych [57].

Na podstawie dostępnych badań oraz opinii ekspertów jest mało prawdopodobne, aby CRD mogła całkowicie zastąpić złoty standard w diagnostyce alergii pokarmowej – z podwójnie ślepą doustną próbą prowokacji pokarmowej z użyciem placebo [33]. Badania CRD mogą jednak ograniczyć liczbę prób prowokacyjnych, a na etapie obecnych badań, przynajmniej w przypadku niektórych alergenów, pozwalają przewidzieć ryzyko wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych. Ponadto na podstawie badania CRD oraz znajomości właściwości, w tym termostabilności poszczególnych alergenów, można wyciągnąć wnioski praktyczne dotyczące tolerancji danego pokarmu po obróbce termicznej.

Dzięki przeprowadzaniu szczegółowych badań CRD w odmiennych populacjach odkryto, iż różnica w występowaniu alergii na konkretne komponenty alergenowe owoców i warzyw jest zależna od regionu zamieszkiwania, z czym łączy się częstość spożywania danego alergenu oraz narażenie na odmienne stężenia i gatunki pyłków roślin. Ma to wpływ na powstawanie swoistych reakcji krzyżowych. Zróżnicowanie geograficzne występujących

alergii, a także brak dostępności w testach komercyjnych CRD wszystkich poznanych alergenów (np. z poznanych alergenów jabłka: Mal d 1, Mal d 2, Mal d 3, Mal d 4 w teście komercyjnym jest dostępny jedynie Mal d 1) ograniczają diagnostykę oraz możliwości prognostyczne i terapeutyczne. Utrudniają ponadto wyciągnięcie praktycznych wniosków klinicznych w oparciu o badania naukowe z innego regionu geograficznego.

Diagnostyka komponentowa ze względu na większą czułość i swoistość w porównaniu z badaniami opartymi o ekstrakty alergenowe, może być również wykorzystywana do ustalenia przyczyny reakcji anafilaktycznych o nieznanym podłożu. Należy jednak wspomnieć, że nie ma jeszcze pełnych danych dotyczących czułości i swoistości CRD dla każdego z alergenów u chorych z objawami alergii i zdrowych. Konieczne są dalsze badania w tym kierunku.

CRD jest metodą potencjalnie przydatną w identyfikacji konkretnego alergenu przed rozpoczęciem immunoterapii [45], choć obecnie ze względu na duży koszt badań nie jest wykorzystywana w praktyce (ryc. 2).

Dodatkową zaletą diagnostyki komponentowej jest możliwość uzyskania wielu informacji z niewielkiej ilości krwi (około 2 ml), co jest szczególnie korzystne u małych dzieci.

Omówiono, na podstawie literatury z ostatnich lat, przydatność CRD w rozpoznawaniu alergii pokarmowej oraz alergii krzyżowych na przykładach wybranych alergenów pochodzenia zwierzęcego i roślinnego.

ALERGENY POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

Mleko

Mleko krowie to najczęstszy alergen pokarmowy u dzieci, dotyczy 1-3% małych dzieci [19]. Białka mleka krowiego są odpowiedzialne aż za 13% wszystkich śmiertelnych reakcji anafilaktycznych wywołanych spożyciem pokarmu [16]. U osób z alergią na mleko krowie mogą wystąpić reakcje krzyżowe po spożyciu mleka innych ssaków, w tym najczęściej mleka koziego (92%), mleka kłaczki (4%), a także produktów mięsnych - wołowiny (10%) [58]. Historia naturalna alergii na mleko potwierdza ustępowanie z wiekiem objawów nadwrażliwości po spożyciu mleka. Jednak część osób uczulonych w dzieciństwie ma również objawy w wieku dorosłym. Długoterminowa obserwacja kliniczna 293 niemowląt w wieku 3-15 miesięcy z potwierdzoną alergią na mleko krowie wykazała ustąpienie objawów alergii u połowy z nich po 66 miesiącach obserwacji [63]. Interesującym jest możliwość przyspieszenia tolerancji mleka krowiego (tzw. „wyrastania” z alergii) przez regularne podawanie produktów z mlekiem poddanych obróbce termicznej. Autorzy podają jako przykład pieczone ciastka lub pizzę z serem. Takie postępowanie jest już przedstawiane w kategoriach zaleceń terapeutycznych w praktyce klinicznej [34].

Alergeny mleka krowiego to kazeina oraz białka serwatkowe, do których należą: beta-laktoglobulina, alfa-laktoalbumina,

albumina surowicy bydlęcej. Kazeina stanowi 80% wszystkich białek mleka, jest alergenem termostabilnym i opornym na enzymy układu trawiennego. W jej skład wchodzi cztery frakcje (alfa s1, alfa s2, beta, kappa). Pozostałe 20% alergenów mleka to białka serwatkowe, wraz z nimi na działanie wysokiej temperatury [1]. Do alergenów głównych mleka należą: alfa-laktoalbumina (Bos d 4), beta-laktoglobulina (Bos d 5), kazeina (Bos d 8). Pozostałe alergeny mleka to albumina surowicy bydlęcej (bovine serum albumin, BSA) (Bos d 6), będąca również głównym alergenem mięsa wołowego; immunoglobulina mleka krowiego (Bos d 7) oraz laktoferyna (Bos d laktoferyna). Najnowsza literatura wskazuje, że na podstawie badań diagnostyki komponentowej można uzyskać prognozę dotyczącą „wyrastania” z alergii na mleko. Obniżenie podczas wzrostu i rozwoju dziecka stężeń swoistej IgE dla alergenów Bos d 4, Bos d 5.0102, kappa-kazeiny oraz α s1-kazeiny rokują korzystnie w uzyskaniu tolerancji na mleko [1].

CRD może być również pomocna w wytypowaniu osób z potencjalnie ciężkimi objawami po spożyciu mleka i jego produktów. Badania wykazują, że przypadkowe spożycie mleka u dzieci z alergią na mleko krowie występuje często, bo aż u 40% badanych, z tego u 15% rozwijają się ciężkie reakcje anafilaktyczne. Ryzyko wystąpienia ciężkich reakcji po przypadkowym podaniu mleka dzieciom z alergią na mleko jest największe u tych, które mają duże stężenie swoistej IgE dla alergenu mleka krowiego oraz sIgE dla kazeiny (Bos d 8) [17], a zwłaszcza frakcji α s1 kazeiny [27]. Warto dodać, że częstość występowania ciężkich reakcji po spożyciu mleka jest 10-krotnie wyższa u dzieci z towarzyszącą astmą.

W badaniach amerykańskich [24] przeprowadzono doustną próbę prowokacji mlekiem oraz badania swoistej IgE dla mleka (Immuno CAP), a także badanie metodą CRD (dla Bos d 8, Bos d 4, Bos d 7 i Bos d laktoferyny) u 58 dzieci z objawami umiarkowanych i ciężkich reakcji alergicznych po spożyciu mleka w wywiadzie. Określenie stężenia swoistej immunoglobuliny E dla kazeiny (Bos d 8) z wykorzystaniem metody CRD zwiększało pozytywną (PPV) i negatywną wartość predykcyjną (NPV) w stosunku do badania sIgE dla mleka opartego na ekstrakcie alergenowym (Immuno CAP) z 93 do 96% dla PPV i z 57 do 78% dla NPV, gdy punkt odcięcia wynosi 16,6 kU/L. Autorzy podkreślają, że oznaczenie sIgE dla Bos d 8 pozwala przewidzieć wynik doustnej próby prowokacji mlekiem. Dzięki zastosowaniu diagnostyki komponentowej można ograniczyć liczbę wykonywanych prób prowokacji jedynie do pacjentów z wynikiem stężenia sIgE dla Bos d 8 niższym niż 95% wartości klinicznego punktu odcięcia (CDP - clinical decision point), który wynosi CDP > 0,60 ISU (ISAC standardized units) [24].

Jajko kurze

Jajko kurze jest źródłem wysokowartościowych białek, ważnych witamin i podstawowym składnikiem odżywczym diety [29]. Jest jednak drugą co do częstości przyczyną alergii pokarmowej u dzieci, może również być

czynnikiem reakcji anafilaktycznych zagrażających życiu [55]. Na podstawie metaanalizy prac dotyczących alergii pokarmowej opublikowanej w 2009 r. występowanie alergii na jajko kurze określono na 0,5-2,5% [54]. Alergeny główne jajka kurzego (*Gallus spp.*): owomukoid (Gal d1), owoalbumina (Gal d2), konalbumina (Gal d3) oraz lizozym (Gal d4) powodują częściej reakcje alergiczne u dzieci, natomiast alergeny mniejsze Gal d 5 i Gal d 6 wywołują częściej objawy alergii u dorosłych [29]. Opisujący „zespół drób-jajko kurze” łączy nadwrażliwość na żółtko jaja z alergią wziewną na ptasie pióra, za które jest odpowiedzialna liwetyna (Gal d 5) obecna w piórach, mięsie drobiowym i jajach kurzych. Podobnie jak w przypadku alergii na mleko obserwuje się proces „wyrastania” z alergii na jajko kurze, czyli uzyskiwania tolerancji pokarmowej na ten alergen z wiekiem. Gotowanie jajka przez co najmniej 10 min zmniejsza alergogenność o ponad 75%, a smażenie lub pieczenie zmniejsza ją jeszcze bardziej [29]. Dlatego większość dzieci z objawami alergii po spożyciu jajka surowego lub półsurowego toleruje jajko smażone oraz produkty pieczone zawierające jajko.

W badaniach Alessandri i wsp. przeprowadzonych u 68 dzieci w wieku 1-11 lat z objawami nadwrażliwości na jajko kurze (w 62% w postaci atopowego zapalenia skóry) oraz dodatnim punktowym testem skórnym lub podwyższonym stężeniem immunoglobuliny E-swoistej dla tego alergenu, wykonano doustną podwójnie zaślepioną próbę prowokacji z alergenem jajka surowego i gotowanego [4]. Wykonano punktowe testy skórne, określono stężenie swoistych IgE dla białka i żółtka jajka kurzego oraz badanie CRD z wykorzystaniem metody ISAC (test 103 mikromacierzy) dla alergenów Gal d 1, Gal d 2, Gal d 3, Gal d 5. Aż 94% pacjentów z ujemnym wynikiem dla alergenu Gal d 1 tolerowało jajko gotowane. Natomiast 95% pacjentów z dodatnim wynikiem dla alergenu Gal d 1 reagowało pojawieniem się objawów alergii na surowe jajko. Autorzy wnioskuje, że swoista IgE dla alergenu owoalbuminy (Gal d 1) jest bardzo dobrym wyznacznikiem przewidywania klinicznych objawów alergii na jajko kurze [4]. Metoda CRD jest bardzo czuła w przewidywaniu reakcji na alergen jaja kurzego, jednak wymaga uzupełnienia w postaci całościowej klinicznej oceny pacjenta. Część badaczy donosi o większej wartości swoistej IgE dla owomukoidu (Gal d 1) w porównaniu z dotychczasowymi badaniami (punktowymi testami skórnymi (SPT) i swoistej IgE dla alergenu białka jaja kurzego) w przewidywaniu wyniku doustnej próby prowokacyjnej z poddanym obróbce termicznej jajkiem (pieczonym) [6], podczas gdy inni badacze określają wartość badania sIgE dla Gal d 1 jako jedynie uzupełniające, ale niezastępujące badań SPT i sIgE dla białka jaja kurzego w przewidywaniu wyniku takiej próby [11].

Ryby

Występowanie alergii na ryby w populacji ogólnej szacuje się na 0,1-0,4% [35]. Alergeny ryb mogą także być przyczyną ciężkich reakcji anafilaktycznych. Panalergenem ryb jest parwalbumina, która należy do rodziny białek wiążących

wapń i bierze udział w skurczach mięśni ryby. Jest termostabilna, odporna na procesy proteolityczne. Objawy alergii na ryby pojawiają się nie tylko po ich spożyciu, ale również u osób silnie uczulonych po wdychaniu oparów z gotujących się ryb, reakcji kontaktowej podczas ich przygotowywania, a nawet po kontakcie z osobą, która zjadła rybę, np. przez pocałunek [43]. Parwalbumina dorsza bałtyckiego (*Gadus callarias*) Gad c 1 i parwalbumina karpia (*Cyprinus carpio*) Cyp c 1 zostały opisane u innych gatunków ryb i stanowią swoisty marker alergii na pozostałe gatunki ryb. CRD umożliwia w praktyce określenie alergii na parwalbuminę dorsza bałtyckiego Gad c 1. Około 50% osób z alergią na ryby reaguje na wszystkie gatunki ryb, pozostałe tylko na jeden gatunek. Nadwrażliwość na parwalbuminę nakazuje szczególną ostrożność w przypadku spożywania wszystkich gatunków ryb [17]. Niedawno zidentyfikowano jednak inne alergeny ryby – enolazę i aldolazę, należące do enzymów z klasy liaz [45]. W badaniach Kuehn i wsp. u 62 pacjentów uczulonych na ryby (potwierdzonych obserwacją kliniczną, dodatnimi punktowymi testami skórnymi oraz podwyższonym stężeniem IgE swoistej dla ekstraktu ryby) metodą diagnostyki komponentowej oznaczono swoiste IgE dla parwalbuminy, enolazy, aldolazy i żelatyny rybiej dla trzech często spożywanych gatunków ryb: dorsza atlantyckiego, łososia i tuńczyka [65]. Stwierdzono obecność swoistej IgE dla parwalbuminy u 72,6% badanych, dla enolazy u 62,9% badanych (0,5-95,0 kUA/L), dla aldolazy u 50% badanych (0,4-26,0 kUA/L) oraz dla żelatyny u 19,3% badanych (0,4-20,0 kUA/L). Alergeny enolazy i aldolazy są szczególnie istotne u osób z objawami alergii na ryby, u których nie stwierdzono podwyższenia stężenia swoistej IgE dla parwalbuminy. Autorzy podkreślają, że niektórzy pacjenci uczuleni na poszczególne gatunki ryb mogą mieć niewielkie stężenie sIgE dla parwalbuminy dorsza (Gad c 1). Zatem korzystne byłoby diagnozowanie alergii na ryby z określeniem uczulenia na poszczególne komponenty nowo poznanych alergenów: enolazy, aldolazy i żelatyny rybiej.

ALERGENY POCHODZENIA ROŚLINNEGO

Soja

Soja (*Glycine max*) jest źródłem białka, które przez wiele lat było wprowadzane w postaci mieszanek mlekozastępczych do diety niemowląt z objawami alergii na mleko krowie. Badania wykazały jednak, że prawie 14% dzieci reagujących objawami nadwrażliwości na mleko wykazuje również objawy alergii na soję [65]. Dlatego soja nie jest już zalecana jako produkt zastępujący mleko krowie u niemowląt. Ponadto lecytyna sojowa, która jest szeroko wykorzystywana jako emulgator w procesach technologicznych przemysłu spożywczego, farmaceutycznego i kosmetycznego może być również źródłem tzw. ukrytych alergenów [30]. Nadwrażliwość na soję wymaga od uczulonych unikania produktów m.in. z lecytyną sojową, co nie zawsze jest możliwe do realizacji, ze względu na powszechność jej stosowania (m.in. słodycze, wędliny, majonezy, sosy sałatkowe, kapsułki leków, kosmetyki i wiele innych) oraz wpływa negatywnie na jakość życia pacjenta.

Wczesne wprowadzenie soi jako mieszanki mlekozastępczej powoduje również częstsze występowanie ryzyka alergii na orzeszki ziemne, ze względu na reakcje krzyżowe białek soi i orzeszków ziemnych [36]. Badania z wykorzystaniem CRD wskazują, że nadwrażliwość na białka spichrzeniowe soi (Gly m 5 (wicilina), Gly m 6 (legumina)), należące do nadrodziny kupin, jest związana z ciężkimi reakcjami anafilaktycznymi u osób z alergią na soję [32]. Potwierdzono to w badaniach u osób z alergią na soję, u których wywołano reakcje anafilaksji podczas doustnej próby prowokacji. Uzyskanie podwyższonego stężenia swoistej IgE dla alergenów Gly m 5 i Gly m 6 w badaniu CRD wskazuje na możliwość wystąpienia reakcji zagrażających życiu. Kliniczne znaczenie głównego alergenu soi Gly m 4, należącego do rodziny białek PR-10, jest natomiast nadal w trakcie badań [62]. Badania holenderskie wskazują, że spośród alergenów soi jedynie stężenia swoistej alergenowo IgE dla Gly m 4 były podwyższone u wszystkich pacjentów z potwierdzonymi objawami alergii na soję [62]. Możliwe, że alergen Gly m 4 jest bardziej istotny w wykrywaniu klinicznej alergii na soję niż Gly m 5 m i Gly m 6. Autorzy podkreślają jednak, że nie można wykluczyć odmiennego profilu nadwrażliwości na soję w innych regionach geograficznych.

Pozostałe alergeny soi: Gly m1 (białko hydrofobowe), Gly m2 (defensyna), Gly m3 (profilina), Gly m 7 (biotynylowane białko nasion), Gly m 8 (albumina S2) mają jak dotąd mniejsze znaczenie w rozpoznawaniu alergii pokarmowej [5]. Badanie CRD jest przydatne również do ustalenia reakcji krzyżowych między soją a orzeszkami ziemnymi, orzechami laskowymi czy też roślinami strączkowymi.

Pszenica/gluten

Zróznicowana odpowiedź na alergeny pszenicy (*Triticum aestivum*) jest związana z różnymi fenotypami klinicznymi: alergią na pyłki pszenicy, alergią pokarmową na pszenicę, astmą piekarzy czy też anafilaksją indukowaną wysiłkiem po spożyciu zbóż. Różnicowanie tych fenotypów umożliwia diagnostyka komponentowa CRD [22].

Białko pszenicy Tri a 14 jest białkiem należącym do lipidowych białek transportujących (lipid transfer protein - LTP). Białka te należą do rodziny białek związanych z systemem obronnym roślin PR-10. Są panalergenami – występują powszechnie w ziarnach i orzechach, warzywach i owocach. Odporne na działanie enzymów trawiennych i termostabilne, dlatego też reakcje nadwrażliwości mogą występować także po spożyciu ugotowanych produktów. Białka pszenicy mogą wywołać objawy zespołu alergii jamy ustnej z objawami z pozostałych odcinków przewodu pokarmowego aż do ciężkich objawów anafilaktycznych. U osób z podwyższonym stężeniem IgE swoistej dla białka pszenicy Tri a 14 mogą się pojawiać objawy alergii powstałe w mechanizmie reakcji krzyżowych po spożyciu innych zbóż, nasion strączkowych, orzechów, warzyw i owoców.

Objawy anafilaksji prowadzące do wstrząsu anafilaktycznego mogą się pojawić po spożyciu pokarmu i następowym wysiłku – ten typ reakcji określa się mianem ana-

filaksji powysiłkowej związanej ze spożyciem pokarmu (food-dependent exercise-induced anaphylaxis (FDEIA)). FDEIA występuje rzadko. Badania epidemiologiczne z Japonii szacują jej występowanie na 0,017% u dzieci w wieku szkolnym [2]. Jednak pszenica jest tam najczęstszym czynnikiem wywołującym reakcje anafilaksji powysiłkowej związanej ze spożyciem pokarmu (wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis (WDEIA)). U ponad 80% pacjentów po przebyciu reakcji anafilaktycznej WDEIA stwierdzono podwyższone stężenia IgE-swoistej dla białka pszenicy ω -5-gliadyny [44]. Diagnostyka komponentowa CRD umożliwiającą potwierdzenie występowania IgE zależnej reakcji w stosunku do rekombinowanego białka spichrzeniowego pszenicy Tri a 19 (ω -5-gliadyna) u pacjentów z FDEIA ułatwia rozpoznanie, potwierdzając ciężką postać alergii na pszenicę oraz większe ryzyko wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego po spożyciu produktów z pszenicą przed wysiłkiem fizycznym [44]. Zdaniem innych badaczy czułość i swoistość diagnostyki komponentowej sięgające 100% pozwalają u pacjentów z reakcjami anafilaktycznymi WDEIA na postawienie rozpoznania bez wykonywania niebezpiecznej dla nich próby prowokacji pszenicą i narażenia na wstrząs anafilaktyczny w wyniku działań diagnostycznych [51]. Pozostałe białka pszenicy (Tri a 12, Tri a 18, Tri a 19, Tri a 25, Tri a 26, Tri a 36, Tri a 37) mają mniejsze znaczenie w diagnostyce alergii pokarmowej [5].

Orzeszki ziemne

Orzeszki ziemne mogą wywoływać ciężkie i gwałtowne reakcje alergiczne u osób uczulonych. Alergia na orzeszki utrzymuje się przez całe życie. Częstość występowania alergii na orzeszki ziemne jest odmienna w różnych krajach i szacuje się na 0,5-1,5% [61]. Jest to alergen najczęściej wywołujący reakcje śmiertelne w wyniku spożycia pokarmu w społeczeństwach zachodnich [46]. Z powodu powszechnego stosowania oleju arachidowego w przetwórstwie spożywczym orzeszki są ukrytym alergenem m.in. w słodczykach czy produktach orientalnych. Olej arachidowy wykorzystywany jest również do produkcji kosmetyków. Unikanie alergenu jest trudne i wpływa negatywnie na jakość życia pacjentów, a przypadkowe spożycie zdarza się stosunkowo często i może prowadzić do ciężkich zagrażających życiu reakcji systemowych.

Znanych jest trzynaście alergenów orzeszków ziemnych (Ara h 1-13) [50, 64], w tym Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3, które stanowią alergeny główne. Ara h 1 i Ara h 3 należą do nadrodziny kupin, Ara h 5 należy do nadrodziny profilin, Ara h 2, 6, 7, 9 należą do nadrodziny prolamin. Ara h 1 ma homologiczną strukturę z Ara h 6. Ara h 3 i 4 mają niemal identyczne struktury. Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3 są proteinami termostabilnymi, powodującymi reakcje alergiczne również po ugotowaniu lub uprażeniu, dzięki czemu odgrywają najistotniejszą rolę w alergii pokarmowej. Dodatkowo prażenie orzeszków ziemnych zwiększa aktywność alergenową Ara h 1 i Ara h 3 [61]. Natomiast Ara h 5 i Ara h 8 są termolabilne, Ara h 8 jest proteiną należącą do białek PR-10 związanych z systemem obronny ro-

ślin i homologiczną z alergenem głównym brzozy Bet v 1. Białko Ara h 8 jest odpowiedzialne za reakcje krzyżowe z pyłkami roślin z rodziny bukowatych, w tym: brzozy, olchy, leszczyny, grabu i dębu [12]. Ara h 9 to białko transportujące lipidy - ważny alergen w krajach śródziemnomorskich [37]. Właściwości alergenowe Ara h 10-13 są jeszcze mało poznane. Ara h 10 i Ara h 11 to białka oleo-yny, Ara h 13, Ara h 14 to defensyny.

Pacjenci uczuleni na orzeszki stanowią heterogenną grupę, a różnice kliniczne i epidemiologiczne znajdują wyjaśnienie w badaniach molekularnych. Główną zale- tą diagnostyki komponentowej w przypadku pacjentów z nadwrażliwością na orzeszki ziemne jest możliwość udo- wodnienia występowania różnych profili fenotypowych uczulenia, co pozwala na odróżnienie grupy uczulonej z objawami alergii od grupy uczulonej bezobjawowo, a także grupy pacjentów wykazujących ciężkie, anafilaktyczne objawy alergii po spożyciu orzeszków od osób reagujących łagodnie, jedynie miejscowo (zespół alergii jamy ustnej - OAS).

W badaniach Nicolaou i wsp. 11% z 933 badanych dzieci w wieku 8 lat miało dodatnie punktowe testy skórne lub podwyższone stężenie swoistej IgE dla orzeszków ziemnych, jednak tylko 2% dzieci prezentowało objawy kliniczne alergii [48]. Obie grupy dzieci uczulonych bezobjawowo i z objawami alergii miały różny profil uczuleń na komponenty Ara h. Ara h 2 najlepiej różnicowało te grupy - dzieci z podwyższonym stężeniem sIgE dla Ara h 2 miały częściej objawy alergii po spożyciu orzeszków.

Różnorodność występowania alergii na orzeszki zależy od umiejscowienia geograficznego i klimatycznego, które warunkują odmienną ekspozycję na pyłki roślin oraz czę- stotliwość i postaci spożywanych produktów [61]. Diagnostyka komponentowa umożliwia określenie czy objawy alergii pokarmowej wynikają z pierwotnej nadwrażliwości na orzeszki ziemne, czy też są wynikiem reakcji krzyżo- wej u osób uczulonych pierwotnie na pyłki. Badania CRD mogą mieć także istotne znaczenie w oszacowaniu ryzyka wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych po spożyciu orzeszków ziemnych u osób prezentujących wcześniej objawy nadwrażliwości na te orzeszki.

W badaniach porównujących podłoże immunologiczne i objawy kliniczne alergii na orzeszki ziemne w popu- lacjach zamieszkujących odmiennie regiony geograficz- ne: amerykańskiej (Nowy Jork), szwedzkiej (Gothenburg i Sztokholm) oraz hiszpańskiej (Madryt) stwierdzono róż- ne profile alergii w badanych regionach [61]. Pacjenci hiszpańscy byli najczęściej uczuleni na Ara h 9 (60%), termostabilne białko transportujące lipidy (LTP), mające homologiczną strukturę do alergenu brzoskwini Pru p 3. Uczulenie u tych osób pojawiało się najczęściej dopiero po wystąpieniu alergii na inne pokarmy roślinne zawie- rające w swej strukturze białka transportujące lipidy, tak- ie jak: brzoskwinię, orzechy drzew, rośliny strączkowe, kiwi [61]. Pacjenci szwedzcy mieli częściej niż pacjen- ci hiszpańscy podwyższone IgE swoiste dla alergenów

orzeszków ziemnych Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3 oraz Ara h 8, który jest homologiem pyłku brzozy Bet v 1 oraz bez- pośrednio na alergen brzozy Bet v 1. Wynika to z częstej i intensywnej ekspozycji na pyłek brzozy w tym regionie geograficznym. Pacjenci amerykańscy mieli często pod- wyższone stężenia przeciwciał swoistych IgE dla Ara h 1 do 3 (56,7 do 90,0%) i prezentowali ciężkie objawy po zje- dzeniu orzeszków ziemnych. Amerykańscy pacjenci aler- gizowali się najczęściej w pierwszym roku życia natomiast hiszpańscy i szwedzcy w drugim roku życia lub później.

W innych badaniach szwedzkich [46] przeprowadzonych wśród 74 pacjentów w wieku 16-61 lat, którzy w badaniu ankietowym zgłosili objawy alergii po spożyciu orzeszków ziemnych, badano swoiste IgE dla orzeszków ziemnych oraz stężenia sIgE dla alergenów komponentowych: Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 8, Ara h 9, a także alergenu pyłku brzozy Bet v 1. Wśród 48 osób z potwierdzoną alergią na Ara h 1, Ara h 2 lub Ara h 3 aż 60% miało podwyższone sIgE >15 kUa/l dla alergenów orzeszków ziemnych, podczas gdy 100% pacjentów bez wykrywalnego IgE w kierunku alergenów Ara h 1, Ara h 2 i Ara h 3 miało również sIgE < 10 kUa/l. Stężenia komponentów Ara h 8 i r Bet v 1 wy- kazały istotnie statystycznie znaczącą korelację ($r_s = 0,94$, $p < 0,0001$). Wyniki tego badania wskazują, że podwyższo- ne stężenia swoistych IgE dla alergenów Ara h 1, Ara h 2 oraz Ara h 3 są związane z ciężkimi reakcjami wywołany- mi przez orzeszki ziemne u szwedzkich pacjentów. Osoby z nadwrażliwością na Ara h 8 lub Ara h 9 doświadczały głównie miejscowych łagodnych reakcji alergicznych.

Badana była kilkakrotnie możliwość zastosowania dia- gnostyki CRD do przewidywania odpowiedzi na doust- ną próbę prowokacji pokarmowej u osób uczulonych na orzeszki ziemne w celu ograniczenia lub zastąpienia jej bezpieczniejszymi badaniami laboratoryjnymi [21,25,48]. Stężenie swoistej IgE dla Ara h 2 najlepiej korelowało z możliwością wystąpienia ciężkich reakcji po spożyciu orzeszków ziemnych w doustnej próbie prowokacji we wszystkich badaniach. Natomiast różne były punkty od- cięcia („cut-off”) w zależności od regionu geograficznego i badanej populacji. W badaniu Codreanu i wsp. przepro- wadzonym we Francji (Nancy) stężenie swoistej IgE dla Ara h 2 wynosiło > 0,23 kU/L (czułość 96%; swoistość 93%) i stanowiło optymalną wartość umożliwiającą określenie, u których pacjentów wystąpią objawy, a którzy będą to- lerować spożyte orzeszki [21]. Aby osiągnąć czułość 100% swoistej IgE dla Ara h 2 badacze proponowali punkt od- cięcia o wartości > 0,29 kU/L.

W badaniach Nicolau i wsp. przy stężeniu IgE swoistej dla Ara h 2 wynoszącym > 0,35 kU/L uzyskiwano czułość 100% i swoistość 96% [47,48]. Natomiast, gdy stężenie IgE swoistej dla Ara h 2 wynosiło >0,55 kU/L uzyskiwano czułość 93% i swoistość 100%. Badacze podkreślili, że ze względu na istotę znaczenia prawidłowego rozpoznania alergii na orzeszki u dzieci optymalny punkt odcięcia „cut-off” wynosi 0,35 kU/L w badanej przez nich popula- cji dzieci szkolnych w Wielkiej Brytanii. Zauważyli jednak konieczność określenia wartości punktu odcięcia dla Ara

h 2 w populacjach zamieszkujących inne regiony geograficzne przed wprowadzeniem określonej wartości do powszechnego wykorzystania.

Natomiast w badaniu Eller E. i wsp. uznano punkt odcięcia dla Ara h 2 o wartości > 1,63 kU/L za wystarczający dla rozpoznania pacjentów z klinicznie jawną alergią na orzeszki ziemne [25]. Na podstawie uzyskanych wyników w badanej populacji pacjentów duńskich stwierdzono, że u 55% pacjentów można byłoby zaniechać wykonania próby prowokacji doustnej alergenem. Podkreślono różnice wynikające z odmiennych regionów geograficznych w porównaniu z poprzednimi badaniami (Francja, Wielka Brytania, Dania). Stanowi to przesłankę do konieczności określenia wartości progowych dla każdej populacji oddzielnie.

Metoda CRD jest również przydatna w określaniu alergii krzyżowych u pacjentów uczulonych na orzeszki ziemne. Ara h 1 jest przyczyną występowania reakcji krzyżowych z soją, groszkiem i soczewicą oraz łubinem [31,39], Ara h 2 z orzechami laskowymi, migdałami i orzechami brazylijskimi [23], natomiast Ara h 3 z soją, groszkiem i orzechami laskowymi [14]. Znajomość tych reakcji umożliwia wysunięcie praktycznych wniosków w celu ustalenia diety pacjentom z alergią na orzeszki ziemne.

Orzechy drzew

W komercyjnych testach CRD są dostępne alergeny orzechów drzew: brazylijskiego (Ber e 1), laskowego (Cor a 1.0401, Cor a 8, Cor a 9), nerkowca (Ana o 2) i włoskiego (Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3).

W Europie najwięcej reakcji alergicznych spośród wszystkich orzechów drzew jest spowodowanych spożyciem orzechów laskowych (*Corylus avellana*) [64]. Alergen główny orzecha laskowego Cor a 1.0401 jest białkiem ochronnym z grupy PR-10, będącym homologiem alergenu brzozy Bet v 1. Alergen Cor a 1.0401 może być przydatny do oceny potencjalnej reaktywności krzyżowej między białkami PR-10 różnych alergenów pyłkowych. Obecność białka PR-10 stwierdzono nie tylko w pyłkach rodziny bukowatych (*Fagaceae*), której przedstawicielami są: brzoza, olcha, leszczyna, grab, dąb, a także w wielu owocach i warzywach, takich jak jabłka, marchew, seler, owoce pestkowe. W Europie obserwuje się zróżnicowanie geograficzne alergii na orzechy laskowe. Badania dowodzą, że mieszkańcy Europy Środkowej i Północnej są głównie uczuleni na Cor a 1. Nadwrażliwość na Cor a 1 jest związana z łagodniejszymi reakcjami miejscowymi, np. zespół alergii jamy ustnej (OAS). Pozostałe alergeny orzecha laskowego to: Cor a 2, należący do grupy profilin; Cor a 8, będący alergenem głównym i białkiem transportującym lipidy LTP; Cor a 9 – alergen główny, globulina 11S, należący do nadrodziny kupin [15]; Cor a 11 – białko spichrzeźniowe - vicilina 7S oraz Cor a 12 i Cor a 13 – oleozyna, Cor a 14 – 2S albumina [5]. Wśród osób z alergią na orzecha laskowego zamieszkujących południe Europy dominuje natomiast nadwrażliwość na Cor a 8 (lipidowe białko

transportujące, LTP). Jest to białko termostabilne i odporne na procesy trawienia. Alergen Cor a 8 jest związany z ciężkimi reakcjami alergicznymi po spożyciu orzechów laskowych, w tym zagrażającymi życiu reakcjami anafilaktycznymi [56].

WARZYWA I OWOCE

Seler

Objawy nadwrażliwości po zjedzeniu selera (*Apium graveolens*), mogą występować w przebiegu reakcji krzyżowych z alergenami pyłków brzozy i bylicy, a także marchwi i przyprawami, znane jako zespoły „brzoza-bylica-seler” lub „brzoza-bylica-marchew-seler-przyprawy”. Alergen główny selera Api g 1 jest homologiem alergenu brzozy Bet v 1. Pozostałe alergeny to: Api g 2 (białko transportujące lipidy typu 1, należące do nadrodziny prolamin), Api g 3 (białko wiążące chlorofil), Api g 4 (profilina), Api g 5 (glikoproteina) [9] oraz niedawno odkryty alergen – Api g 6 (białko transportujące lipidy typu 2, należące do nadrodziny prolamin) [5]. Spośród tych białek jedynie alergen główny Api g 1 wchodzi w skład dostępnych komercyjnie zestawów testów do diagnostyki komponentowej. Większość alergenów selera jest związana z występowaniem miejscowych reakcji w obrębie jamy ustnej (zespół alergii jamy ustnej, OAS), natomiast alergen Api g 1 jest podejrzewany o wywoływanie reakcji anafilaktycznych. W Europie seler stosunkowo często jest odpowiedzialny za reakcje anafilaksji powysiłkowej związanej ze spożyciem pokarmu. Przypadek takiej reakcji opisywany był również w Polsce [10]. Jak dotąd nie wykryto alergenu odpowiedzialnego jednoznacznie za reakcje anafilaktyczne po spożyciu selera, choć uważa się, że ciężkie reakcje alergiczne występują u osób z alergią na pyłki bylicy [9]. Metoda CRD przy oznaczeniu trzech alergenów: Api g 1, Api g 4 i Api g 5 w przypadku diagnostyki alergii na seler pozwala na zwiększenie czułości z 67 do 88% w porównaniu z rozpoznaniem opartym na badaniach wykorzystujących ekstrakty alergenowe [13].

Marchew

Marchew (*Daucus carota*) jest częstą przyczyną alergii pokarmowej w Europie. Badania epidemiologiczne dotyczące alergii pokarmowej na naszym kontynencie wskazywały na występowanie alergii na warzywa u 1,4% badanych [62]. W innym badaniu dotyczącym wybranych losowo 4522 młodych osób dorosłych z 13 krajów Europy analizowano IgE swoiste dla 24 składników pokarmowych. Występowanie uczulenia na marchew stwierdzono u 3,6% badanych [20]. Nadwrażliwość na marchew jest obserwowana najczęściej u pacjentów z towarzyszącą alergią na pyłki brzozy i bylicy. Alergeny marchwi nie wchodzi obecnie w skład zestawu komercyjnego CRD.

W jednym z najnowszych badań oznaczano IgE swoiste dla poszczególnych alergenów marchwi przy wykorzystaniu metody CRD w trzech odmiennych geograficznie regionach obejmujących Hiszpanię, Szwajcarię i Danię [9]. Do badania

włączono 49 pacjentów z objawami alergii po zjedzeniu marchwi, 71 pacjentów z alergią na pyłki, ale tolerujących marchew i 63 pacjentów nieatopowych jako grupę kontrolną. Surowicę pacjentów poddano badaniom ImmunoCAP – IgE swoiste dla alergenu marchwi (ekstraktu) oraz alergenów rekombinowanych marchwi (rDau c 1 (izoformy Dau c 1,0104 i rDau c 1,0201, będące homologiem Bet v1)); profilinę (rDau c 4); izoflawony reduktazy (rDau c 5 (rDau c IFR 1 i rDau c IFR 2)); cyklofilinę (rDau c Cyc). Czulość testu IgE-swoistej dla alergenu marchwi wynosiła 82%. Stosowanie alergenów rekombinowanych zwiększało czulość badania do 90%. Izoformy alergenu Dau c 1 były alergenami głównymi wśród pacjentów szwajcarskich i duńskich, natomiast profilina (rDau c 4) wśród pacjentów hiszpańskich. Stężenia swoistej IgE dla izoflawonów reduktazy (RDau c IFR 1 i rDau c IFR 2) były podwyższone u 6 i 20% pacjentów z alergią na marchew, ale nie przyczyniły się do wzrostu czulości. Wśród pacjentów uczulonych na pyłki 34% miało podwyższone stężenie IgE swoiste dla ekstraktu marchwi, 18% pacjentów miało podwyższone IgE swoiste odpowiednio dla każdego z alergenów: rDau c 1,0104, 1,0201 i rDau c 4; 8% z IgE rDau c IFR 1 i 7% z IgE rDau c IFR 2. Uczulenie na cyklofilinę (rDau c Cyc) wystąpiło u jednego pacjenta z alergią na marchew i jednego pacjenta alergicznego w grupie kontrolnej [9].

Badanie CRD wykazało istotną różnicę w profilu uczulenia IgE między regionami geograficznymi i w częstotliwości występowania uczulenia na alergeny marchwi między pacjentami z klinicznie istotną alergią na marchew a pacjentami z alergią na pyłki roślin, tolerującymi spożywaną marchew.

Pomidor

Do poznanych alergenów pomidora (*Solanum lycopersicum*) należą: Sola l 1 (profilina - białko z rodziny PR-10 związane z systemem obronnym roślin, mające homologiczną strukturę z alergenem głównym brzozy Bet v 1); Sola l 2 (beta-fruktofuranozydaza); Sola l 3 (lipidowe białko transportujące - LTP, białko termostabilne, odporne na procesy trawienia, związane z ciężkimi reakcjami alergicznymi); Sola l 4 (wewnątrzkomórkowe białko TSI-1 należące do nadrodziny białek Bet v 1) [5]. Alergeny Sola l 1 i Sola l 4 mogą spowodować reakcje krzyżowe u osób uczulonych na pyłki brzozy [9]. Większość reakcji po spożyciu pomidora jest miejscowa i obserwowana u pacjentów uczulonych na profilinę, jednak notowane były również ciężkie reakcje anafilaktyczne [7]. W badaniach włoskich przeprowadzonych wśród 54 pacjentów, u których odnotowano wystąpienie anafilaksji powysiłkowej związanej ze spożyciem pokarmu, pomidory były najczęstszą, bo występującą aż u 29% badanych przyczyną tych reakcji [53]. Inne alergeny zawarte w pomidorach, takie jak chitynaza i glukonaza mogą powodować reakcje krzyżowe z lateksem. CRD umożliwia wyodrębnienie podgrup klinicznych wśród pacjentów z objawami alergii na pomidora, które mają różne stopnie ryzyka wystąpienia ciężkich reakcji alergicznych po spożyciu pomidora [7]. Niestety alergeny pomidora nie wchodzi obecnie w skład zestawu komercyjnego CRD [41].

Brzoskwinia

W badaniu ECRHS (European Community Respiratory Health Survey) brzoskwinia (*Prunus persica*) była najczęściej alergizującym owocem (5,4%), wyprzedzając: jabłko (4,2%), kiwi (3,6%), banana (2,5%) oraz melona (1,6%) [20]. W komercyjnych testach CRD są dostępne obecnie dwa alergeny brzoskwini Pru p 1 i Pru p 3 [41]. Pru p 1 jest homologiem alergenu brzozy Bet v 1, jest termolabilny; Pru p 3 – należy do lipidowych białek transportujących (LTP), jest alergenem głównym, białkiem termostabilnym oraz odpornym na procesy trawienia, należy do nadrodziny prolamin. Znane są ponadto alergeny Pru p 2, będący panalergenem z rodzaju białek podobnych do taumatyny oraz Pru p 4 – profilina, Pru p 7 – białko regulowane przez gibberelinę (GASA1 - gibberellin-regulated protein 1).

Uważa się, że pacjenci z nadwrażliwością na Pru p 3 mają większe ryzyko wystąpienia ciężkich reakcji uogólnionych. Objawy alergii na brzoskwinie szczególnie często występują w krajach basenu Morza Śródziemnego. Prawie 80% to uczulenia na nieswoiste białko transportujące lipidy (LTP) Pru p 3, należące do nadrodziny prolamin, zawarte głównie w skórce brzoskwini [9]. Wiedza dotycząca alergii na poszczególne białka komponentowe u pacjenta i znajomością umiejscowienia konkretnych alergenów w jadalnych częściach owoców i warzyw umożliwia zalecić, choć nadal z dużą ostrożnością, odpowiednie ograniczenia dietetyczne. Ponad 90% pacjentów w badaniach hiszpańskich uczulonych na brzoskwinie tolerowało miąższ owocu, natomiast zgłaszało objawy po spożyciu skórki tego owocu, w której znajduje się alergen główny Pru p 3 [18].

Przydatność diagnostyki komponentowej w stosunku do alergenu Pru p 3 i określenia ryzyka ciężkości reakcji anafilaktycznej po zjedzeniu brzoskwini nie została jak dotąd jednoznacznie wyjaśniona. Ocenę swoistych IgE dla alergenów rekombinowanych brzoskwini przeprowadzono u dzieci włoskich. Grupa 44 dzieci z alergią na brzoskwinie potwierdzoną podwójnie ślepą próbą prowokacji kontrolowaną placebo (DBCP) została podzielona na 2 podgrupy w zależności od nasilenia objawów: grupa pierwsza – pacjenci z łagodnym zespołem alergii jamy ustnej (oral allergy syndrom - OAS) i grupa druga – pacjenci z objawami ogólnoustrojowymi (systemie symptoms - SS). Badano obecność swoistych IgE dla alergenów Pru p 1, Pru p 3 i Pru p 4. Stwierdzono, że u włoskich dzieci z potwierdzoną alergią na brzoskwinie obecność swoistych IgE dla alergenu Pru p 3 nie jest związana z reakcjami systemowymi, a wyższe stężenie swoistych alergenowo IgE dla Pru p 3 nie koreluje z nasileniem reakcji.

Jabłko

Wśród owoców jabłko (*Malus domestica*) jest drugim, co do częstości po brzoskwini alergenem pokarmowym (4,2%) [20]. W Europie północnej i środkowej występowanie alergii na jabłko jest często obserwowane wraz z alergią na pyłek brzozy i ma postać łagodniejszą, natomiast w Europie południowej alergia na jabłko towarzyszy alergiom na inne

owoce, takie jak śliwka, brzoskwinia i może przybierać ciężkie postaci, włącznie z reakcjami systemowymi (>35%). Ta postać alergii pojawia się wcześniej niż u pacjentów z pyłkowicą i towarzyszącą jej alergią krzyżową na jabłko [26,40]. Jak dotąd zidentyfikowano cztery alergeny jabłka: Mal d 1, będący homologiem alergenu brzozy Bet v 1, który jest białkiem termolabilnym; Mal d 2 to białko podobne do taumatyny (thaumatin like proteins – TLP), jest termostabilne; Mal d 3, nieswoiste białko transportujące lipidy, należące do nadrodziny prolamin, jest odporne na wysoką temperaturę i procesy trawienia, należy do nadrodziny prolamin; Mal d 4, jest profiliną, homologiczną z alergenem głównym brzozy Bet v 1, która ma właściwości termolabilne. Ze względu na powszechność występowania w świecie roślin profiliny należą do panalergenów i są odpowiedzialne za liczne reakcje krzyżowe alergenów wziewnych z alergenami produktów spożywczych pochodzenia roślinnego. Nadwrażliwość na profilinę może być związana z alergią na owoce cytrusowe, melona, banana i pomidora [8]. Alergen główny jabłka Mal d 1 jest odpowiedzialny za reakcje krzyżowe jabłka i pyłku brzozy. Pacjenci z podwyższonym stężeniem IgE swoistej dla Mal d 1 lub Mal d 4 mają najczęściej objawy miejscowe w postaci zespołu alergii jamy ustnej (OAS). Częściej tolerują gotowane lub pieczone jabłka, mimo występowania u nich objawów po zjedzeniu surowych owoców. W testach komercyjnych CRD jest obecny alergen Mal d 1 jabłka. Od stężenia Mal d 1 w jabłkach zależy stopień tolerancji poszczególnych odmian przez ludzi uczulonych na te owoce [49]. Również sposób i czas przechowywania wpływa na stężenia tego alergenu, co ma związek z nasileniem objawów. Natomiast pacjenci z podwyższonym stężeniem IgE swoistej dla termostabilnego alergenu Mal d 3 mają większe ryzyko wystąpienia reakcji systemowych po spożyciu tego owocu [26].

Kiwi

Kiwi (*Actinidia*) jest uznawane za jeden z najczęstszych alergenów pokarmowych wśród owoców. Objawy po zjedzeniu tego owocu mają postać od łagodnych do ciężkich objawów anafilaktycznych [38]. Alergia na kiwi może być pierwotna lub krzyżowa u osób uczulonych na pyłki traw, brzozy oraz lateks. Znanych jest 11 alergenów kiwi (*Actinidia deliciosa*, gatunek kiwi zielone), z tego obecnie 4 alergeny kiwi są zawarte w zestawie do diagnostyki komponentowej [41].

Do alergenów kiwi należą: Act d 1 (aktynidyna z rodziny proteaz cysteinylowych) będąca alergenem głównym; Act d 2 (taumatyna) – odpowiadająca za reakcje krzyżowe z alergenami roztoczy i zarodników grzybów pleśniowych; Act d 5 jest białkiem kiwelliną; Act d 8 (białko obronne roślin PR-10) jest homologiem Bet v 1 odpowiedzialnym w głównej mierze za miejscowe reakcje w obrębie jamy ustnej (OAS) oraz za reakcje krzyżowe z brzozą; Act d 9 to profilina; natomiast Act d 10 (nieswoiste białko transportujące lipidy, należące do nadrodziny prolamin) oraz Act d 11, nieujęte w zestawie CRD, odpowiadają za reakcje krzyżowe z lateksem.

Do badania EuroPrevall będącego częścią wielośrodkowego badania europejskiego włączono 311 pacjentów

z alergią na kiwi pochodzących z 12 krajów Europy i reprezentujących 4 strefy klimatyczne [38]. Stężenie immunoglobulin IgE swoistych dla 6 alergenów kiwi (Act d 1, Act d 2, Act d 5, Act d 8, Act d 9 and Act d 10) i dla ekstraktu owocu kiwi zostało określone w badaniu ImmunoCAP. Pacjenci z Islandii (klimat subpolarny morski) byli częściej uczuleni na Act d 1 (32%), osoby z zachodniej/centralnej i wschodniej Europy głównie uczulone na Act d 8 (odpowiednio 58 i 44%), a mieszkańcy Europy południowej głównie uczuleni na Act d 9 (31%) i Act d 10 – nieswoiste białko przenoszące lipidy (22%). Korzystanie z panelu 6 alergenów kiwi w ImmunoCAP zwiększa czułość diagnostyczną do 65% w porównaniu z 20% dla testów skórnych i 46% z użyciem ekstraktu z kiwi (ImmunoCAP). Na podstawie badania wyciągnięto wnioski, że w Europie istnieje zróżnicowanie geograficzne w stosunku do poszczególnych komponentów owocu kiwi, a alergia na Act d 1 oraz zamieszkiwanie w Islandii są niezależnie istotnymi czynnikami ryzyka ciężkiej alergii na owoc kiwi [38].

Banan

Częstość alergii wywołanej spożyciem banana (*Musa acuminata*) określa się na 2,5 % [20]. Objawy kliniczne alergii po spożyciu tego owocu pojawiają się zwykle jako łagodne miejscowe objawy, m.in. w postaci zespołu alergii jamy ustnej, jednak opisywane były cięższe reakcje, a także przypadki reakcji anafilaktycznych. Alergeny banana wywołują reakcje krzyżowe z alergenami lateksu. Prawie 35% pacjentów z nadwrażliwością na lateks prezentuje objawy po zjedzeniu owoców, takich jak: banan, kiwi, awokado [58]. Jak dotąd poznanych jest pięć alergenów banana (Mus a 1-5) [3]. Mus a 1 jest profiliną, panalergenem odpowiedzialnym m.in. za reakcje krzyżowe z pyłkami roślin i innymi owocami. Mus a 2 należy do chitynaz klasy 1, białek obronnych roślin odpowiedzialnych za zespół „lateks-owoce”. Mus a 3 należy do białek transportujących lipidy (LTP). Mus a 4 jest białkiem podobnym do taumatyny. Mus a 5 jest beta-1,3-glukanazą, która również należy do białek obronnych roślin oraz może powodować reakcje krzyżowe z alergenem lateksu [3].

Badania dotyczące alergii na banana w kontekście diagnostyki komponentowej są nieliczne. W Hiszpanii badano 51 dzieci z objawami alergii wywołanych spożyciem banana, z dodatnimi testami punktowymi oraz podwyższonym stężeniem immunoglobuliny E alergenowo swoistej dla banana. Dzięki metodzie CRD możliwe było określenie komponentów najczęściej uczulających w populacji hiszpańskich dzieci. Były to komponenty Mus a 4 i Mus a 5. IgE swoiste alergenowo dla Mus a 4 i Mus a 5 były podwyższone u ponad 70% dzieci z objawami alergii wywołanej spożyciem banana [50].

PODSUMOWANIE

Diagnostyka molekularna komponentów alergenowych to nowoczesna metoda badawcza, polegająca na pomiarze stężeń swoistych immunoglobulin IgE skierowanych przeciwko ściśle określonym sekwencjom

alergenowym. Pozwala szczegółowo scharakteryzować profil uczulenia pacjenta oraz określić możliwość występowania reakcji krzyżowych między alergenami wziewnymi i pokarmowymi. Umożliwia indywidualizację postępowania dietetycznego. Jest nadal w trakcie badań naukowych stale poszerzających jej rzeczywistą przydatność kliniczną. Przyczynia się do zwiększenia czułości i specyficzności badań w diagnostyce alergii w stosunku do dotychczas stosowanych opartych o ekstrakty alergenowe. Jak dotąd CRD nie może całkowicie zastąpić obecnie uznanego złotego standardu w diagnostyce alergii pokarmowej – podwójnie ślepej doustnej próby prowokacji pokarmowej. Jednocześnie jednak coraz więcej badań dowodzi, że CRD jest przydatnym narzędziem diagnostycznym, które pozwala określić ryzyko wystąpienia reakcji alergicznych, w tym ciężkich reakcji anafilaktycznych. Jest użyteczna w prognozowaniu wyrastania z alergii u małych dzieci.

Zróznicowanie geograficzne uczulenia na poszczególne komponenty alergenowe związane z odmienną ekspozycją na alergeny wziewne i stosowaną dietę są przyczyną trudności w wyciągnięciu praktycznych wniosków na postawie badań przeprowadzonych w innych regionach klimatycznych. Wysokie koszty badania również wpływają na dostępność i popularyzację metody.

Metoda CRD jest dostępna jako badanie komercyjne wykonywane laboratoryjnie i pozwala na określenie alergii na ponad 100 komponentów alergenowych. Nie umożliwia jednak poszerzenia badania o wszystkie poznane komponenty dla danego alergenu, co ogranicza jej praktyczne wykorzystanie.

Mimo występujących ograniczeń, metoda CRD jest cennym uzupełnieniem dotychczasowej diagnostyki w alergii pokarmowej, będącej jednym z najtrudniejszych problemów współczesnej alergologii.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahrens B., Lopes de Oliveira L.C., Grabenhenrich L., Schulz G., Niggemann B., Wahn U., Beyer K.: Individual cow's milk allergens as prognostic markers for tolerance development? *Clin. Exp. Allergy*, 2012; 42: 1630-1637
- [2] Aihara Y., Takahashi Y., Kotoyori T., Mitsuda T., Ito R., Aihara M., Ikezawa Z., Yokota S.: Frequency of food-dependent, exercise-induced anaphylaxis in Japanese junior-high-school students. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001; 108: 1035-1039
- [3] Aleksic I., Popovic M., Dimitrijevic R., Andjelkovic U., Vassilopoulou E., Sinaniotis A., Atanaskovic-Markovic M., Lindner B., Petersen A., Papadopoulos N.G., Gavrovic-Jankulovic M.: Molecular and immunological characterization of Mus a 5 allergen from banana fruit. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2012; 56: 446-453
- [4] Alessandri C., Zennaro D., Scala E., Ferrara R., Bernardi M.L., Santoro M., Palazzo P., Mari A.: Ovomucoid (Gal d 1) specific IgE detected by microarray system predict tolerability to boiled hen's egg and an increased risk to progress to multiple environmental allergen sensitisation. *Clin. Exp Allergy*, 2012; 42: 441-450
- [5] Allergen Nomenclature. www.allergen.org (06.04.2014)
- [6] Ando H., Moverare R., Kondo Y., Tsuge I., Tanaka A., Borres M.P., Urisu A.: Utility of ovomucoid-specific IgE concentrations in predicting symptomatic egg allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 122: 583-588
- [7] Asero R.: Tomato allergy: clinical features and usefulness of current routinely available diagnostic methods. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2013; 23: 37-42
- [8] Asero R., Mistrello G., Roncarolo D., Amato S., Zanoni D., Barocci F., Caldironi G.: Detection of clinical markers of sensitization to profilin in patients allergic to plant-derived foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 112: 427-432
- [9] Ballmer-Weber B.K., Hoffmann-Sommergruber K.: Molecular diagnosis of fruit and vegetable allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 11: 229-235
- [10] Barg W., Wolańczyk-Mędrala A., Obojski A., Wytrychowski K., Panaszek B., Mędrala W.: Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: possible impact of increased basophil histamine releasability in hyperosmolar conditions. *J. Investig Allergol. Clin. Immunol.*, 2008; 18: 312-315
- [11] Bartnikas L.M., Sheehan W.J., Larabee K.S., Petty C., Schneider L.C., Phipatanakul W.: Ovomucoid is not superior to egg white testing in predicting tolerance to baked egg. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.*, 2013; 1: 354-360
- [12] Bartuzi Z.: Nowe spojrzenie na alergeny pokarmowe. *Alergia*, 2011; 2: 31-37
- [13] Bauermeister K., Ballmer-Weber B.K., Bublin M., Fritsche P., Hanschmann K.M., Hoffmann-Sommergruber K., Lidholm J., Oberhuber C., Randow S., Holzhauser T., Vieths S.: Assessment of component-resolved *in vitro* diagnosis of celeriac allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 124: 1273-1281
- [14] Beardslee T.A., Zeece M.G., Sarath G., Markwell J.P.: Soybean glycinin G1 acidic chain shares IgE epitopes with peanut allergen Ara h 3. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2000; 123: 299-307
- [15] Beyer K., Grishina G., Bardina L., Grishin A., Sampson H.A.: Identification of an 11S globulin as a major hazelnut food allergen in hazelnut-induced systemic reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002; 110: 517-523
- [16] Bock S.A., Muñoz-Furlong A., Sampson H.A.: Further fatalities caused by anaphylactic reactions to food, 2001-2006. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 119: 1016-1018
- [17] Boyano-Martínez T., García-Ara C., Pedrosa M., Díaz-Pena J.M., Quirce S.: Accidental allergic reactions in children allergic to cow's milk proteins. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 123: 883-888
- [18] Boyano-Martínez T., Pedrosa M., Belver T., Quirce S., García-Ara C.: Peach allergy in Spanish children: tolerance to the pulp and molecular sensitization profile. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2013; 24: 168-172
- [19] Boyce J., Assa'ad A., Burks A.W., Jones S.M., Sampson H.A., Wood R.A., Plaut M., Cooper S.F., Fenton M.J., Arshad S.H., Bahna S.L., Beck L.A., Byrd-Bredbenner C., Camargo C.A. Jr, Eichenfield L. et al.: Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: summary of the NIAID sponsored expert panel report. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010; 126: 1105-1118
- [20] Burney P., Summers C., Chinn S., Hooper R., van Ree R., Lidholm J.: Prevalence and distribution of sensitization to foods in the European Community Respiratory Health Survey: a EuroPrevall analysis. *Allergy*, 2010; 65: 1182-1188
- [21] Codreanu F., Collignon O., Roitel O., Thouvenot B., Sauvage C., Vilain A.C., Cousin M.O., Decoster A., Renaudin J.M., Astier C., Monnez J.M., Vallois P., Morisset M., Moneret-Vautrin D.A., Brulliard M.,

- Ogier V., Castelain M.C., Kanny G., Bihain B.E., Jacquenet S.: A novel immunoassay using recombinant allergens simplifies peanut allergy diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2011; 154: 216-226
- [22] Constantin C., Quirce S., Poorafshar M., Touraev A., Niggemann B., Mari A., Ebner C., Akerström H., Heberle-Bors E., Nystrand M., Valenta R.: Micro-arrayed wheat seed and grass pollen allergens for component-resolved diagnosis. *Allergy*, 2009; 64: 1030-1037
- [23] de Leon M.P., Drew A.C., Glaspole I.N., Suphioglu C., O'Hehir R.E., Rolland J.M.: IgE cross-reactivity between the major peanut allergen Ara h 2 and tree nut allergens. *Mol. Immunol.*, 2007; 44: 463-471
- [24] D'Urbano L.E., Pellegrino K., Artesani M.C., Donnanno S., Luciano R., Riccardi C., Tozzi A.E., Ravà L., De Benedetti F., Cavagni G.: Performance of a component-based allergen-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 2010; 40: 1561-1570
- [25] Eller E., Bindslev-Jensen C.: Clinical value of component-resolved diagnostics in peanut-allergic patients. *Allergy*, 2013; 68: 190-194
- [26] Fernández-Rivas M., Bolhaar S., González-Mancebo E., Asero R., van Leeuwen A., Bohle B., Ma Y., Ebner C., Rigby N., Sancho A.I., Miles S., Zuidmeer L., Knulst A., Breiteneder H., Mills C., Hoffmann-Sommergruber K., van Ree R.: Apple allergy across Europe: how allergen sensitization profiles determine the clinical expression of allergies to plant foods. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006; 118: 481-488
- [27] Fiocchi A., Bouygue G.R., Albarini M., Restani P.: Molecular diagnosis of cow's milk allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 11: 216-221
- [28] Fiocchi A., Nowak-Węgrzyn A.: The fascinating world of molecular diagnosis in the management of food allergy: *nondum matura est*. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 11: 200-203
- [29] Fu T.J., Maks N., Banaszewski K.: Effect of heat treatment on the quantitative detection of egg protein residues by commercial enzyme-linked immunosorbent assay test kits. *J. Agric. Food Chem.*, 2010; 58: 4831-4838
- [30] Gu X., Beardslee T., Zeece M., Sarath G., Markwell J.: Identification of IgE-binding proteins in soy lecithin. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2001; 126: 218-225
- [31] Guarneri F., Guarneri C., Benvenega S.: Identification of potentially cross-reactive peanut-lupine proteins by computer-assisted search for amino acid sequence homology. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2005; 138: 273-277
- [32] Holzhauser T., Wackermann O., Ballmer-Weber B.K., Bindslev-Jensen C., Scibilia J., Perono-Garoffo L., Utsumi S., Poulsen L.K., Vieths S.: Soybean (*Glycine max*) allergy in Europe: Gly m 5 (beta-conglycinin) and Gly m 6 (glycinin) are potential diagnostic markers for severe allergic reactions to soy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009; 123: 452-458
- [33] Kim J.S., Nowak-Węgrzyn A.: Component-resolved diagnostics: shedding light on the so-called 'squishy science' of food allergies? *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2011; 156: 231-233
- [34] Kim J.S., Nowak-Węgrzyn A., Sicherer S.H., Noone S., Moshier E.L., Sampson H.A.: Dietary baked milk accelerates the resolution of cow's milk allergy in children. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 128: 125-131
- [35] Kuehn A., Hilger C., Lehnert-Weber C., Codreanu-Morel F., Morriset M., Metz-Favre C., Pauli G., de Blay F., Revets D., Müller C.P., Vogel L., Vieths S., Hentges F.: Identification of enolases and aldolases as important fish allergens in cod, salmon and tuna: component resolved diagnosis using parvalbumin and the new allergens. *Clin. Exp. Allergy*, 2013; 43: 811-822
- [36] Lack G., Fox D., Northstone K., Golding J.: Factors associated with the development of peanut allergy in childhood. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 9779-9785
- [37] Lauer I., Dueringer N., Pokoj S., Rehm S., Zoccatelli G., Reese G., Miguel-Moncin M.S., Cistero-Bahima A., Enrique E., Lidholm J., Vieths S., Scheurer S.: The non-specific lipid transfer protein, Ara h 9, is an important allergen in peanut. *Clin. Exp. Allergy*, 2009; 39: 1427-1437
- [38] Le T.M., Bublin M., Breiteneder H., Fernández-Rivas M., Asero R., Ballmer-Weber B., Barreales L., Bures P., Belohlavkova S., de Blay F., Clausen M., Dubakiene R., Gislason D., van Hoffen E., Jedrejczak-Czechowicz M. i wsp.: Kiwifruit allergy across Europe: Clinical manifestation and IgE recognition patterns to kiwifruit allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 131: 164-171
- [39] Lopez-Torres G., Salcedo G., Martín-Esteban M., Díaz-Perales A., Pascual C.Y., Sánchez-Monge R.: Len c 1, a major allergen and vicilin from lentil seeds: protein isolation and cDNA cloning. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2003; 112: 1208-1215
- [40] Ma Y., Zuidmeer L., Bohle B., Bolhaar S.T., Gadermaier G., González-Mancebo E., Fernández-Rivas M., Knulst A.C., Himly M., Asero R., Ebner C., van Ree R., Ferreira F., Breiteneder H., Hoffmann-Sommergruber K.: Characterization of recombinant Mal d 4 and its application for component-resolved diagnosis of apple allergy. *Clin. Exp. Allergy*, 2006; 36: 1087-1096
- [41] Medi-Lite. <http://www.alergia.bielsko.pl> (06.04.2014)
- [42] Medi-Lite. Informacje dla lekarzy. http://www.alergia.bielsko.pl/medi-lite_informacje_dla_lekarzy.html (04.01.2014)
- [43] Monti G., Bonfante G., Muratore M.C., Peltran A., Oggero R., Silvestro L., Mussa G.C.: Kiss-induced facial urticaria and angioedema in a child allergic to fish. *Allergy*, 2003; 58: 684-685
- [44] Morita E., Matsuo H., Chinuki Y., Takahashi H., Dahlstrom J., Tanaka A.: Food-dependent exercise-induced anaphylaxis – Importance of omega-gliadin and HMW-glutenin as causative antigens for wheat-dependent exercise-induced anaphylaxis. *Allergol. Int.*, 2009; 58: 493-498
- [45] Mothes N., Valenta R., Spitzauer S.: Allergy testing: the role of recombinant allergens. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006; 44: 125-132
- [46] Movérare R., Ahlstedt S., Bengtsson U., Borres M.P., van Hage M., Poorafshar M., Sjölander S., Akerström J., van Odijk J.: Evaluation of IgE antibodies to recombinant peanut allergens in patients with reported reactions to peanut. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2011; 156: 282-290
- [47] Nicolaou N., Murray C., Belgrave D., Poorafshar M., Simpson A., Custovic A.: Quantification of specific IgE to whole peanut extract and peanut components in prediction of peanut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 127: 684-685
- [48] Nicolaou N., Poorafshar M., Murray C., Simpson A., Winell H., Kerry G., Härlin A., Woodcock A., Ahlstedt S., Custovic A.: Allergy or tolerance in children sensitized to peanut: prevalence and differentiation using component-resolved diagnostics. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010; 125: 191-197
- [49] Nybom H., Cervin-Hoberg C., Andersson M.: Oral challenges with four apple cultivars result in significant differences in oral allergy symptoms. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2013; 161: 258-264
- [50] Palacin A., Quirce S., Sanchez-Monge R., Bobolea I., Diaz-Perales A., Martin-Muñoz F., Pascual C., Salcedo G.: Sensitization profiles to purified plant food allergens among pediatric patients with allergy to banana. *Pediatr. Allergy Immunol.*, 2011; 22: 186-195
- [51] Park H.J., Kim J.H., Kim J.E., Jin H.J., Choi G.S., Ye Y.M., Park H.S.: Diagnostic value of the serum-specific IgE ratio of ω -5 gliadin to wheat in adult patients with wheat-induced anaphylaxis. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2012; 157: 147-150
- [52] Pfiffner P., Stadler B.M., Rasi C., Scala E., Mari A.: Cross-reactions vs co-sensitization evaluated by in silico motifs and in vitro IgE microarray testing. *Allergy*, 2012; 67: 210-216
- [53] Romano A., Di Fonso M., Giuffreda F., Papa G., Artesani M.C., Viola M., Venuti A., Palmieri V., Zeppilli P.: Food-dependent exercise-induced anaphylaxis: clinical and laboratory findings in 54 subjects. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 2001; 125: 264-272

- [54] Rona R.J., Keil T., Summers C., Gislason D., Zuidmeer L., Sodergren E., Sigurdardottir S.T., Lindner T., Goldhahn K., Dahlstrom J., McBride D., Madsen C.: The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2007; 120: 638-646
- [55] Sampson H.A., Mendelson L., Rosen J.P.: Fatal and near-fatal anaphylactic reactions to food in children and adolescents. *N. Engl. J. Med.*, 1992; 327: 380-384
- [56] Schocker F., Lüttkopf D., Scheurer S., Petersen A., Cisteró-Bahima A., Enrique E., San Miguel-Moncín M., Akkerdaas J., van Ree R., Vieths S., Becker W.M.: Recombinant lipid transfer protein Cor a 8 from hazelnut: a new tool for in vitro diagnosis of potentially severe hazelnut allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 113: 141-147
- [57] Shreffler W.G., Beyer K., Chu T.H., Burks A.W., Sampson H.A.: Microarray immunoassay: association of clinical history, in vitro IgE function, and heterogeneity of allergenic peanut epitopes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2004; 113: 776-782
- [58] Sicherer S.H.: Clinical implications of cross-reactive food allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001; 108: 881-890
- [59] Steckelbroeck S., Ballmer-Weber B.K., Vieths S.: Potential, pitfalls, and prospects of food allergy diagnostics with recombinant allergens or synthetic sequential epitopes. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008; 121: 1323-1330
- [60] Valenta R., Lidholm J., Niederberger V., Hayek B., Kraft D., Grönlund H.: The recombinant allergen-based concept of component-resolved diagnostics and immunotherapy (CRD and CRIT). *Clin. Exp. Allergy*, 1999; 29: 896-904
- [61] Vereda A., van Hage M., Ahlstedt S., Ibañez M.D., Cuesta-Herranz J., van Odijk J., Wickman M., Sampson H.A.: Peanut allergy: clinical and immunologic differences among patients from 3 different geographic regions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 127: 603-607
- [62] Vissers Y.M., Jansen A.P., Ruinemans-Koerts J., Wichers H.J., Savelkoul H.F.: IgE component-resolved allergen profile and clinical symptoms in soy and peanut allergic patients. *Allergy*, 2011; 66: 1125-1127
- [63] Wood R.A., Sicherer S.H., Vickery B.P., Jones S.M., Liu A.H., Fleischer D.M., Henning A.K., Mayer L., Burks A.W., Grishin A., Stablein D., Sampson H.A.: The natural history of milk allergy in an observational cohort. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013; 131: 805-812
- [64] Wróblewska B.: Wielka ósemka alergenów pokarmowych. *Alergia*, 2002; 4: 15
- [65] Zeiger R.S., Sampson H.A., Bock S.A., Burks A.W. Jr., Harden K., Noone S., Martin D., Leung S., Wilson G.: Soy allergy in infants and children with IgE-associated cow's milk allergy. *J. Pediatr.*, 1999; 134: 614-622

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.