

# Częstość występowania wybranych epitopów reakcji alergenowych u dzieci z objawami alergii

## Prevalence of epitopes of some allergens in children experiencing allergic symptoms

JÓZEF GAWĘŁ<sup>1</sup>, RYSZARD KURZAWA<sup>2</sup>, ŁUKASZ BŁAŻOWSKI<sup>2</sup>, BEATA GABIS<sup>2</sup>, ELŻBIETA MAZUREK<sup>2</sup>, IWONA SAK<sup>2</sup>, ADAM WÓJCIK<sup>2</sup>, MARIA ŁĄCKA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Immunologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc – Oddziału Terenowego im. Jana i Ireny Rudników w Rabce-Zdroju

<sup>2</sup> Klinika Alergologii i Pneumonologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Rabce-Zdroju

### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Wprowadzony niedawno do diagnostyki laboratoryjnej Test Immuno *Solid-phase Allergen Chip* (ISAC) umożliwia jednocześnie oznaczanie alergenowo-swoistych przeciwciał w klasie IgE dla 103 lub 112 alergenów naturalnych i rekombinowanych, co pozwala na uzyskanie profilu uczulenia u każdego pacjenta.

**Cel pracy.** Celem tej pracy była analiza poziomów przeciwciał asIgE dla wybranych alergenów w surowicy krwi dzieci z objawami alergii oznaczanych przy użyciu testu ISAC.

**Materiał i metody.** Badaniem objęto 227 pacjentów w wieku rozwojowym z objawami alergii leczonych w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc Oddziału Terenowego w Rabce Zdroju. U wszystkich pacjentów wykonywano badania stężenia alergenowo-swoistych przeciwciał IgE (asIgE) zestawami Immuno-CAP® ISAC Assay Kit IgE oraz u części pacjentów zestawem Immuno-CAP Phadia - Sweden.

**Wyniki.** Najliczniej występowały alergenowo-swoiste przeciwciała dla: roztoczy kurzu domowego (*Der p 2 n*) – 54,87% i (*Der f 2 r*) – 49,78%, pyłku tymotki (*Phl p 1 r*) – 41,85%, pyłku brzozy (*Bet v 1 r*) – 41,41%, Brzoskwini (*Pru p 1 r*) – 33,92%, oraz sierści kota (*Fel d 1-r*) – 32,16%. Potwierdzono czasowe zmiany w zakresie częstości występowania przeciwciał asIgE na wybrane alergeny pokarmowe i powietrzno-pochodne w zależności od wieku pacjenta.

**Wnioski.** Analiza wyników testu Immuno-CAP-ISAC, dzięki swojej kompleksowości, pozwala ocenić zakres wielowalencyjnych uczuleń oraz precyzyjnie ustalić źródło głównego uczulenia u osób z polialergią.

**Słowa kluczowe:** alergenowo-swoiste IgE, alergia krzyżowa, panalergen, ImmunoCAP-ISAC, micromacierz, dzieci z objawami alergii, marsz alergiczny

### Summary

**Introduction.** Immuno Solid-phase Allergen Chip (ISAC) test allows a concurrent assessment of IgE levels for 103 or 112 natural and recombinated allergens, thus providing a full insight into the allergic characteristics of any patient.

**Aim of the study.** The aim of this study was to analyze the specific IgE antibody levels for selected allergens in the sera of children experiencing various allergic symptoms.

**Material and methods.** The study included 227 children at the developmental age with allergic symptoms treated in the Department of Allergology and Pneumology of the Rabka-Zdroj Branch of the National Research Institute of Tuberculosis and Pulmonary Diseases. Specific IgE (asIgE) assays were performed with ImmunoCAP® ISAC Assay Kit IgE in all children and with Immuno-CAP Phadia, Sweden, in some subjects.

**Results.** The most frequently identified antibodies against specific antigens included: house dust mite (*Der p 2 n*) 54.87% and (*Der f 2 r*) 49.78%, timothy pollen (*Phl p 1 r*) 41.85%, birch pollen (*Bet v 1 r*) 41.41%, peach pollen (*Pru p 1 r*) 33.92%, cat (*Fel d 1-r*) 32.16%. Age-related changes in the prevalence of asIgE for selected food and inhalant allergens were confirmed.

**Conclusion.** Analysis of ImmunoCAP-ISAC results, owing to its comprehensiveness, allows to assess the extent of polyvalent allergies and identify specific origin of the main allergy in subjects with multi-allergen sensitization.

**Keywords:** specific IgE, cross allergy, panallergen, ImmunoCAP-ISAC, microarray, children with allergic symptoms, allergic march

© *Alergia Astma Immunologia* 2013, 18 (4): 241-250

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 09.08.2013

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Dr n. przyr. Józef Gawęł

Pracownia Immunologii OT IGIChP

ul. Prof. J. Rudnika 3B, 34-700 Rabka-Zdrój

tel. (0-18) 26 760 60 wew. 475

e-mail: jgawel@igrabka.edu.pl

### WSTĘP

Współczesna diagnostyka alergologiczna umożliwia oznaczanie alergenowo-swoistych przeciwciał w klasie IgE przeciwko poszczególnym komponentom białkowym alergenów na poziomie molekularnym. Przy użyciu metodologii molekularnej wyprodukowano dużą i ciągle zwię-

szaną liczbę tak zwanych białek rekombinowanych. Test *Immuno Solid-phase Allergen Chip* (ISAC) jest pierwszym, który w roku 2009 wprowadzonym do użytku laboratoryjnego, komercyjnym zestawem, w którym została użyta nowa koncepcja diagnostyki alergii (*component resolved diagnosis*, CRD) i technologia mikromacierzy (*microarray*).

Umożliwia to jednoczesne oznaczanie przeciwciał w klasie IgE dla 112 alergenów naturalnych i rekombinowanych o zdefiniowanej strukturze molekularnej, co pozwala na uzyskanie częściowego uczulenia u każdego pacjenta. Dzięki wykorzystaniu alergenów reagujących krzyżowo, ułatwia wyjaśnienie niektórych reakcji krzyżowych a przez swoje szerokie spektrum alergenów pokarmowych, pozwala w przybliżeniu na oszacowanie ryzyka także reakcji groźnych dla zdrowia i życia, szczególnie u pacjentów z wielowymiarowym uczuleniem [1-4].

Celem pracy była ocena częstości występowania wybranych epitopów alergenowych w surowicy krwi u dzieci z różnymi objawami alergii przy użyciu nowoczesnego, niedawno wprowadzonego do diagnostyki laboratoryjnej, testu ImmunoCAP-ISAC oraz porównanie w grupach wiekowych.

## MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 227 dzieci w wieku od 1-18 lat, w tym 91 dziewcząt i 136 chłopców, kolejno przyjmowanych w latach 2010-2012 do Kliniki Alergologii i Pneumonologii Oddziału Terenowego Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Rabce-Zdroju w celu pogłębienia diagnostyki alergologicznej i ustalenia zasad leczenia. U wszystkich pacjentów w ramach diagnostyki rutynowej wykonywano badanie stężenia swoistych przeciwciał w klasie IgE (asIgE) zestawami ImmunoCAP® ISAC sIgE 103/112 Phadia-Sweden dla 50 taksonów/gatunków roślin/zwierząt, w tym 43 natywnych i 69 rekombinowanych. Ze względu na zmianę produkowanego zestawu przez producenta, u 158 dzieci oznaczono asIgE dla 103 alergenów, u pozostałych 69 dzieci wykonano oznaczenia dla 112 alergenów. W zestawie ISAC asIgE 112 dodano 20 nowych alergenów a 11 usunięto z poprzedniego zestawu ISAC sIgE 103. Wyniki badania ImmunoCAP-ISAC wyrażone są w jednostkach „ISU-E” (*Standardized Unit for specific IgE*). Za dodatnie uznano wyniki  $\geq 0,30$  ISU-E. Natomiast ImmunoCAP w kU/l, za dodatnie uznano wyniki  $\geq 0,35$  kU/l.

Do analizy w grupach wiekowych poszczególne alergeny zostały pogrupowane w zależności od źródła oraz przynależności do tzw. panalergenów [5]. W grupie pacjentów od 28 do 89 (w zależności od alergenu) dokonywano pomiaru dla wybranych alergenów (d1, g6, t13, e1, m6, f1, f2) także metodą Immuno-CAP dla kontroli i porównania.

## Analiza statystyczna

W celu lepszego oszacowania całościowego wszystkich alergenów dla danego dziecka, obliczano za pomocą Melioli i wsp. [1] całkowity wynik ISAC – TIS (*Total ISAC Score*) jako suma asIgE dla wszystkich epitopów oraz średni wynik ISAC – AIS (*Average ISAC Score*) dzieląc TIS przez 103 lub 112 (w zależności od grupy pacjentów). Podział na grupy wiekowe – w celu porównania – także został przejęty za tym autorem. Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu Statistica, wykorzystując do porównania w grupach wiekowych dla wybranych alergenów/grup alergenów, testy nieparametryczne ANOVA oraz Spearmana, natomiast dla porównania wartości oznaczeń ISAC z oznaczeniami Immuno-CAP współczynnik Spearmana rho (R). Za poziom istotności statystycznej przyjęto wartość  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Liczby pacjentów i częstości dodatnich oznaczeń asIgE ImmunoCAP-ISAC (ISAC), TIS i AIS w grupach wiekowych przedstawiono w tabeli I. Najliczniejszą grupą wiekową stanowili pacjenci w wieku 3-5 lat w liczbie 76 (33,5%), następnie w wieku 6-9 lat w liczbie 53 (23,3%). Ilość dzieci z dodatnimi poziomami asIgE (dla co najmniej jednego alergenu) wzrastała wraz z wiekiem, rosły też wyraźnie (poza najstarszą grupą, która jednak była najmniej liczna) wartości oraz mediany obliczonych parametrów TIS i AIS.

Zestawienie wszystkich oznaczonych alergenów znajduje się w tabelach IIa, IIb i IIc. Alergeny pogrupowano w zależności od źródła na 50 grup. Analiza wyników u konkretnego dziecka umożliwia przybliżoną ocenę

Tabela I. Liczba pacjentów i częstości dodatnich oznaczeń asIgE (ISAC), TIS i AIS w grupach wiekowych

L.p.	L.p. (+)	% (+)	Liczba asIgE (+) na pacjenta		TIS		AIS		
			Min - Max	MED	Min - Max	MED	Min-Max	MED	
Całość	227	200	88,11	1 - 55	13	0,3 - 1608,3	141,2	0,003 - 15,61	1,33
Wiek - lata									
wiek 0 - 2	39	33	84,62	1 - 32	7	1,4 - 367,1	33,8	0,01 - 3,28	0,33
wiek 3 - 5	76	66	86,84	1 - 47	11	0,8 - 1409,3	90,9	0,01 - 12,58	0,88
wiek 6 - 9	53	46	86,79	1 - 45	20	1,6 - 1450,8	285,3	0,02 - 12,95	2,77
wiek 10 - 13	37	35	94,59	1 - 55	17	0,3 - 1608,3	461,1	0,003 - 15,61	4,48
wiek 14 - 18	22	20	90,91	2 - 30	12	2,8 - 1112,3	200,2	0,03 - 9,93	1,94

L.p. – liczba pacjentów; TIS - Total ISAC Score; AIS - Average ISAC Score; MED - mediana

Tabela II a. Częstość występowania asIgE i wartości dodatnich wyników na oznaczane epitopy (n - białko natywne; r - białko rekombinowane, (+) -  $\geq 0,30$  ISU-E)

GRUPA	TAKSON [panalergen]	EPITOP	Liczba badań (+)	% (+)	Min	Max
I	Roztocze - <i>D. pter</i>	<i>Der p 2 n</i>	83	52,53	0,60	95,00
		<i>Der p 1 n</i>	101	44,49	0,30	131,00
		<i>Der p 2 r</i>	28	40,60	0,80	154,00
		[4] <i>Der p 10 r</i>	24	10,57	0,30	51,00
II	Roztocze - <i>D. far.</i>	<i>Der f 2 r</i>	113	49,78	0,90	157,00
		<i>Der f 1 n</i>	101	44,49	0,60	120,00
III	Roztocze - magazynowe	<i>Eur m 2 r</i>	69	43,94	0,70	66,00
	Roztocze - <i>Blomia trop.</i>	<i>Blo t 5 r</i>	7	10,00	0,40	41,00
	Roztocze - <i>Lepidogly. d.</i>	<i>Lep d 2 r</i>	7	10,00	0,50	48,00
IV	Tymotka łąkowa	<i>Phl p 1 r</i>	95	41,85	0,50	199,00
		<i>Phl p 5 r</i>	76	33,48	0,70	146,00
		<i>Phl p 4 n</i>	65	28,63	0,50	64,00
		<i>Phl p 6 r</i>	53	23,35	0,70	114,00
		<i>Phl p 2 r</i>	51	22,47	0,30	93,00
		<i>Phl p 11 r</i>	39	17,18	0,60	132,00
		[3] <i>Phl p 12 r</i>	19	8,37	0,40	62,00
[9] <i>Phl p 7 r</i>	9	3,96	1,10	94,00		
V	Brzoza	[1] <i>Bet v 1 r</i>	94	41,41	0,90	176,00
		[3] <i>Bet v 2 r</i>	20	8,81	0,30	51,00
		[9] <i>Bet v 4 r</i>	9	3,96	0,50	94,00
VI	Bermuda trawa	<i>Cyn d1 n</i>	82	36,12	0,40	118,00
VII	Brzoskwinia	[1] <i>Pru p 1 r</i>	77	33,92	0,40	76,00
		[2] <i>Pru p 3 r</i>	6	8,57	0,40	1,20
		[2] <i>Pru p 3 n</i>	10	6,37	0,60	41,00
VIII	Kot	<i>Fel d 1 r</i>	73	32,16	0,30	175,00
		[8] <i>Fel d 2 n</i>	31	13,66	0,50	72,00
		[7] <i>Fel d 4 r</i>	31	13,66	0,40	76,00
IX	Jabłko	[1] <i>Mal d 1 r</i>	72	31,72	0,50	181,00
X	Olsza	[1] <i>Aln g 1 r</i>	69	30,40	0,50	129,00
XI	Leszczyna	[1] <i>Cor a 1.0101 r</i>	69	30,40	0,40	135,00
		[1] <i>Cor a 1.0401 r</i>	69	30,40	0,40	115,00
		[6] <i>Cor a 9 n</i>	26	11,45	0,40	36,00
		[2] <i>Cor a 8 r</i>	8	3,52	0,50	17,00
XII	Pies	[7] <i>Can f 1 r</i>	68	29,96	0,60	151,00
		<i>Can f 5 r</i>	17	24,63	0,60	122,00
		[7] <i>Can f 2 r</i>	33	14,54	0,40	116,00
		[8] <i>Can f 3 n</i>	30	13,22	0,60	70,00
XIII	Jaja białko	<i>Gal d 1 n</i>	54	23,79	0,60	93,00
		<i>Gal d 3 n</i>	35	15,42	0,40	89,00
		<i>Gal d 2 n</i>	31	13,66	0,30	20,00
		[8] <i>Gal d 5 n</i>	15	6,61	0,50	37,00
XIV	Orzech ziemny	[1] <i>Ara h 8 r</i>	67	29,52	0,40	76,00
		[6] <i>Ara h 2 n</i>	24	15,29	1,80	79,00
		[6] <i>Ara h 1 n</i>	21	13,29	0,60	43,00
		[6] <i>Ara h 2 r</i>	8	11,42	1,50	28,00
		[6] <i>Ara h 6 n</i>	6	8,69	1,90	30,00
		[2] <i>Ara h 9 r</i>	4	5,80	0,40	4,20
		[6] <i>Ara h 1 r</i>	3	4,28	0,50	59,00
		[6] <i>Ara h 3 n</i>	8	3,52	1,70	32,00
[6] <i>Ara h 3 r</i>	1	0,44	2,50	2,50		

Tabela II b. Częstość występowania asIgE i wartości dodatnich wyników na oznaczane epitopy (n - białko natywne; r - białko rekombinowane, (+) -  $\geq 0,30$  ISU-E)

GRUPA	TAKSON [panalergen]	EPITOP	Liczba badań (+)	% (+)	Min	Max
XV	Soja	[1] <i>Gly m 4 r</i>	56	24,67	0,50	58,00
		[6] <i>Gly m 5 n</i>	25	11,01	0,60	7,50
		[6] <i>Gly m 6 n</i>	21	9,25	0,60	21,00
XVI	Mysz	[7] <i>Mus m 1 n</i>	46	20,26	0,80	77,00
XVII	Mleko krowie	<i>Bos d 8 n</i>	39	17,18	0,60	74,00
		<i>Bos d 5 n</i>	32	14,10	0,70	75,00
		<i>Bos d 4 n</i>	27	11,89	0,50	58,00
		[8] <i>Bos d 6 n</i>	23	10,13	0,50	27,00
		<i>Bos d lact. n</i>	8	3,52	0,40	6,90
XVIII	Cyprys	[10] <i>Cup a 1 n</i>	34	14,98	0,30	71,00
XIX	Bylica	<i>Art v 1 n</i>	32	14,10	0,40	191,00
		[2] <i>Art v 3 n</i>	19	8,37	0,60	11,00
XX	Seler	[1] <i>Api g 1 r</i>	31	13,66	0,30	64,00
XXI	Kiwi	[1] <i>Act d 8 n</i>	12	17,39	1,40	13,00
		<i>Act d 1 n</i>	27	11,89	0,30	40,00
		<i>Act d 2 n</i>	14	6,17	0,40	28,00
		[1] <i>Act d 8 r</i>	8	5,06	0,60	15,00
		<i>Act d 5 n</i>	4	1,76	0,70	6,80
XXII	Sezam ziarno	[6] <i>Ses i 1 n</i>	24	10,57	0,90	87,00
XXIII	Cedr japoński	[10] <i>Cry j 1 n</i>	24	10,57	0,40	26,00
XXIV	Lateks	<i>Hev b 3 r</i>	1	0,44	0,70	0,70
		<i>Hev b 5 r</i>	2	0,88	3,10	28,00
		<i>Hev b 6.01 r</i>	2	0,88	1,00	6,20
		[3] <i>Hev b 8 r</i>	23	10,13	0,40	75,00
XXV	Platan	<i>Pla a 1 n</i>	3	1,89	0,80	8,40
		<i>Pla a 2 n</i>	21	9,25	0,30	22,00
		[2] <i>Pla a 3 r</i>	3	4,28	0,40	1,40
XXVI	<i>Alternaria a.</i>	<i>Alt a 1 r</i>	20	8,81	1,50	64,00
		<i>Alt a 6 r</i>	6	2,64	0,70	89,00
XXVII	<i>Aspergillus f.</i>	<i>Asp f 6 r</i>	19	8,37	0,50	3,70
		<i>Asp f 3 r</i>	13	5,73	0,50	2,20
		<i>Asp f 4 r</i>	8	5,06	0,60	2,00
		<i>Asp f 1 r</i>	1	0,44	0,80	0,80
XXVIII	Koń	[7] <i>Equ c 1 r</i>	12	17,39	1,40	30,00
		[8] <i>Equ c 3 n</i>	18	7,93	0,40	19,00
XXIX	Ryba - dorsz	[11] <i>Gad c 1 r</i>	17	7,49	0,60	56,00
	Ryba - karp	[11] <i>Cyp c 1 r</i>	17	10,82	0,70	55,00
XXX	Oliwka	<i>Ole e 1 n</i>	13	5,73	0,40	95,00
		<i>Ole e 2 n</i>	17	10,82	0,80	18,00
		[2] <i>Ole e 7 n</i>	1	1,43	1,90	1,90
		<i>Ole e 9 r</i>	5	7,14	0,60	9,20
XXXI	Komosa	<i>Che a 1 r</i>	14	20,00	0,50	19,00
XXXII	Krewetka	[4] <i>Pen a 1 r</i>	4	2,55	1,90	27,00
		[4] <i>Pen i 1 n</i>	5	3,16	1,00	33,00
		[4] <i>Pen m 1 n</i>	10	4,4	0,40	40,00
		<i>Pen m 2 n</i>	3	4,28	2,50	8,80
XXXIII	Karałuch	<i>Bla g 1 r</i>	0	---	---	---
		<i>Bla g 2 r</i>	3	1,32	0,30	0,60
		<i>Bla g 5 r</i>	1	0,44	1,00	1,00
		[4] <i>Bla g 7 n</i>	9	3,96	0,60	46,00

Tabela II c. Częstość występowania aslgE i wartości dodatnich wyników na oznaczane epitopy (n - białko natywne; r - białko rekombinowane, (+) -  $\geq 0,30$  ISU-E)

GRUPA	TAKSON [panalergen]	EPITOP	Liczba badań (+)	% (+)	Min	Max
XXXIV	Orzech włoski [6]	<i>Jug r 1 n</i>	2	2,86	5,60	6,50
		<i>Jug r 2 n</i>	8	11,43	0,40	32,00
		<i>Jug r 3 n</i>	4	5,71	0,90	2,70
XXXV	Babka [10]	<i>Pla l 1 r</i>	8	11,43	0,90	144,00
XXXVI	Orzech nerkowca [6]	<i>Ana o 2 r</i>	8	3,52	0,40	12,00
XXXVII	Marchew	<i>Dau c 1 r</i>	6	3,82	1,30	34,00
XXXVIII	Pszczoła	<i>Api m 1 n</i>	6	2,64	0,80	24,00
		<i>Api m 1 r</i>	1	0,44	1,60	1,60
		<i>Api m 4 n</i>	3	1,32	1,20	1,80
XXXIX	Pszenica [2]	<i>Tri a 14 r</i>	5	7,14	0,40	27,00
		<i>Tri a 19.0101 n</i>	4	2,53	1,60	4,30
		<i>Tri a aA_Tl n</i>	5	2,20	0,80	2,70
		<i>Tri a 18 n</i>	3	1,91	0,34	2,00
		<i>Tri a gliadin n</i>	2	1,27	3,20	3,40
XXXX	Parietaria [2]	<i>Par j 2 r</i>	4	1,76	0,50	1,30
XXXXI	<i>Cladosporium h.</i>	<i>Cla h 8 r</i>	3	1,32	0,90	13,00
XXXXII	Orzech brazylijski [6]	<i>Ber e 1 r</i>	3	1,32	1,40	3,40
XXXXIII	Osa pospolita	<i>Ves v 5 r</i>	3	4,28	0,50	1,10
XXXXIV	Annual mercury [3]	<i>Mer a 1 r</i>	24	10,57	0,40	74,00
XXXXV	CCD [5]	<i>MUXF3 n</i>	8	11,43	0,30	23,00
XXXXVI	Anisakis	<i>Ani s 1 r</i>	2	0,88	1,10	2,50
		<i>Ani s 3 r</i>	6	2,64	0,70	37,00
XXXXVII	Solanka kolczysta	<i>Sal k 1 n</i>	4	1,76	0,70	1,90
XXXXVIII	Osa klecanka	<i>Pol d 5 r</i>	2	2,89	0,30	0,60
XXXXIX	Bromelina	<i>Ana c 2 n</i>	2	1,26	1,00	1,20
XXXXX	Ambrozja [10]	<i>Amb a 1 n</i>	0	---	---	---

Panalergeny:

[1] – Białko PR-10

[2] – LTP-Lipidowe białka transferowe

[3] – Profilina,

[4] – Tropomiozyna

[5] – CCD-Determinanty węglowodanowe

[6] – Białko zapasowe

[7] – Lipokalina

[8] – Albumina surowicy

[9] – Polkalcyna (białko wiązanie wapń)

[10] – Liaza pektynowa (endoenzym, rozszczepia wiązania glikozydowe)

[11] – Parvalbumina (główny alergen ryb)



uczulenia, a wartości ISU-E mogą mówić o stopniu uczulenia na poszczególne alergeny, i tak dla alergenów roztoczy kurzu domowego, pyłków traw i drzew, często stwierdzano wartości ISU-E bardzo wysokie ( $>100$  ISU-E), co w wypadku pozostałych alergenów wziewnych (np. sierści i naskórka zwierząt domowych) dotyczyło tylko małej grupy dzieci, a dla alergenów pokarmowych było rzadkie.

W tabeli III przedstawiono rozkład częstości uczuleń na grupy alergenów: pokarmowe (mleko, jaja, owoce, orzech ziemny, soja) oraz wziewne (roztocza, pyłek traw, drzew i roślin zielnych, najczęściej uczulające zwierzęta oraz pleśń) w grupach wiekowych z wykluczeniem grupy alergenów reagujących krzyżowo: Eur m 2 dla roztoczy; dla traw – Cyn d 1, Phl p 7 i 12; dla drzew – Cor a 1.01, Cor a 8 i 9; dla psa – Can f 3; dla orzecha ziemnego – Ara h 8 i dla soi – Gly m 4.

Jeśli chodzi o alergeny pokarmowe dominującymi asIgE u pacjentów w wieku 0-2 lata są asIgE dla alergenów białka jaja kurzego (*Gal d 1 n*) – 51,3% i białka mleka krowiego (*Bos d 8 n*) – 33,3% i częstość uczulenia maleje wraz z wiekiem dzieci: w wieku 3-5 lat odpowiednio: 30,3% i 25,0%; w wieku 6-9 lat odpowiednio 13,2% i 9,4%, w wieku 10-13 lat odpowiednio 8,1% i 2,7%, w wieku 14-18 lat tylko 4,5% i 4,5%. Alergeny powietrzno-pochodne (pyłek drzew i traw): Najczęstszymi asIgE u pacjentów w wieku 0-2 lata są asIgE dla alergenów brzozy (*Bet v 1 r*) – 7,7% i tymotki łąkowej (*Phl p 4 n*) – 7,7% i częstość uczulenia rośnie: w wieku 3-5 lat odpowiednio: 35,5% i 21,1%; w wieku 6-9 lat odpowiednio 54,7% i 43,4%, w wieku 10-13 lat odpowiednio 67,6% i 40,5%, w wieku 14-18 lat odpowiednio 45,5% i 36,4%. Alergeny roztoczy kurzu domowego: Dominującymi asIgE u pacjentów w wieku 0-2 lata są dla alergenów *Dermatophagoides farinae* (*Der f 1 n*) – 25,6%, *Dermatophagoides pteronyssinus* (*Der p 1 n*) – 25,6% i częstość uczulenia rośnie: w wieku 3-5 lat odpowiednio: 39,5% i 35,5%; w wieku 6-9 lat odpowiednio 54,7% i 54,7%, w wieku 10-13 lat odpowiednio 56,8% i 59,5%, w wieku 14-18 lat odpowiednio 50,0% i 59,1%. Alergeny sierści i naskórka zwierząt domowych: Obecne asIgE już u pacjentów w wieku 0-2 lata dla alergenów kota (*Fel d 2 n*) – 25,6%, psa (*Can f 1 r*) – 23,1%.

Analiza statystyczna w poszczególnych grupach alergenów wykazała statystycznie istotne dodatnie korelacje (test Spearmana) pomiędzy wartościami ISU-E a wiekiem dziecka dla roztoczy (współczynnik  $R\ 0,20$ ,  $p<0,005$ ), pyłku traw ( $R\ 0,34$ ,  $p<0,001$ ), drzew ( $R\ 0,33$ ,  $p<0,001$ ) i roślin zielnych ( $R\ 0,23$ ,  $p<0,001$ ), dla alergenów kota ( $R\ 0,26$ ,  $p<0,001$ ) i psa ( $R\ 0,18$ ,  $p<0,001$ ), z pokarmów tylko dla owoców ( $R\ 0,25$ ,  $p<0,001$ ). Natomiast dla alergenów pokarmowych stwierdzono zależność ujemną istotną dla alergenów mleka ( $R\ -0,30$ ,  $p<0,001$ ), jaja ( $R\ -0,33$ ,  $p<0,001$ ), orzecha ziemnego ( $R\ 0,26$ ,  $p<0,001$ ) i soi ( $R\ 0,16$ ,  $p<0,05$ ). Nie stwierdzono istotnej korelacji dla alergenów pleśni. Analiza wykonana dla poszczególnych kategorii wiekowych potwierdza hipotezę „marszu alergicznego przez dzieciństwo” – rozkład częstości w sposób istotny różni się dla alergenów mleka, jaja, orzecha ziemnego, roztoczy oraz pyłku roślin (najmniej wyraźnie dla roślin zielnych), alergenów psa i kota (tab. III).

Natomiast nie ma statystycznie istotnej różnicy dla alergenów soi (3 najmłodsze grupy wiekowe mają podobną częstość uczulenia). Rośnie więc wraz z wiekiem częstość uczulenia na alergeny oddechowe oraz owoce; maleje na alergeny pokarmowe. Oczywiście grupa najbardziej odróżniająca się od pozostałych to grupa dzieci najmłodszych.

Spośród 103/112 alergenów oznaczanych w badaniu część z nich można przyporządkować do tzw. panalergenów, a więc alergenów o stosunkowo podobnej budowie i występujących w różnych źródłach. Przynależność oznaczanych epitopów do konkretnych panalergenów umieszczono w tabelach IIa, IIb i IIc. Wykaz panalergenów wraz z częstością uczulenia znajduje się w tabeli IV. Najczęściej stwierdzano uczulenie na grupę białek PR-10 (m.in. główny alergen brzozy), lipocalinę i białka zapasowe (razem zaliczono: albuminy 2S oraz tzw. cupiny: viciliny/globuliny 7S i leguminy/globuliny 11S). W teście ANOVA rozkład w grupach wiekowych różnił się dla białek PR-10 i LTP oraz białek zapasowych. Wartości ISU-E w teście Spearmana korelowały z wiekiem wyraźnie dla PR-10 ( $R\ 0,28$ ;  $p<0,001$ ) oraz w mniejszym stopniu dla LTP ( $R\ 0,14$ ;  $p<0,05$ ), profilin ( $R\ 0,14$ ;  $p<0,05$ ), liazy pektynowej ( $R\ 0,15$ ;  $p<0,05$ ) i dla panalergenu zwierzęcego tropomiozyny ( $R\ 0,14$ ;  $p<0,05$ ). Natomiast istotna korelacja ujemna wystąpiła dla białek zapasowych ( $R\ 0,22$ ;  $p<0,001$ ).

Porównywano także wyniki oznaczeń ISAC z wynikami oznaczeń ImmunoCAP (traktowanych jako test od dawna uznany za wzorcowy), wykonanych u w grupie pacjentów od 28 do 89 (w zależności od alergenu). Znaczna ilość pomiarów uznanych za dodatnie przeprowadzonych przy użyciu Immuno-CAP nie przekładała się automatycznie na dodatni wynik asIgE dla alergenów z danej grupy w metodzie ISAC. Oczywiście należy uwzględnić różnice pomiędzy samą techniką pomiaru, ale istotne jest też, że pomiar w metodzie ImmunoCAP (oznaczenie asIgE dla wybranego gatunku zwierzęcia/rośliny) nie wskazuje na konkretny alergen, jest to raczej wskazanie na zestaw alergenów uzyskiwanych z danego organizmu, nie wiadomo więc dla jakich konkretnie epitopów/białek jest oznaczane asIgE, natomiast w ISAC można określić uczulenie na jeden konkretny alergen. Skorelowano więc wartości oznaczeń w obu metodach stwierdzając istotną zależność pomiędzy:

- oznaczeniem d1 w ImmunoCAP a *Der p 1* w ISAC ( $R\ 0,78$ ;  $p<0,001$ ) dla 89 oznaczeń,
- oznaczeniem g6 w ImmunoCAP a *Phl p 1* w ISAC ( $R\ 0,82$ ;  $p<0,001$ ) dla 40 oznaczeń,
- oznaczeniem t3 w ImmunoCAP a *Bet v 1* w ISAC ( $R\ 0,94$ ;  $p<0,001$ ) dla 33 oznaczeń,
- oznaczeniem e1 w ImmunoCAP a *Fel d 1* w ISAC ( $R\ 0,66$ ;  $p<0,01$ ) dla 20 oznaczeń,
- oznaczeniem m6 w ImmunoCAP a *Alt a 1* w ISAC ( $R\ 0,74$ ;  $p<0,001$ ) dla 28 oznaczeń,
- oznaczeniem f1 w ImmunoCAP a *Gal d 1* w ISAC ( $R\ 0,75$ ;  $p<0,001$ ) dla 57 oznaczeń,
- oznaczeniem f2 w ImmunoCAP a *Bos d 8* w ISAC ( $R\ 0,59$ ;  $p<0,001$ ) dla 53 oznaczeń.

Również istotnie korelowały alergeny bylicy czy jabłka,

Tabela III. Uczulenie na alergeny z poszczególnych rodzin w różnych grupach wiekowych. Wykluczono wybrane pan-alergeny (patrz tekst). Analiza statystyczna wg grup wiekowych (test ANOVA dla wszystkich grup z analizą post-hoc dla poszczególnych grup względem siebie)

Liczba dodatnich badań ISAC w grupach wiekowych (w nawiasie częstości w %)						
Rodzina alergenów	Wyniki dodatnie (%) oraz istotność (ANOVA dla całości)	0-2 lata dziewczęta - 11 chłopcy - 28	3-5 lat dziewczęta - 30 chłopcy - 46	6-9 lat dziewczęta - 22 chłopcy - 31	10-13 lat dziewczęta - 20 chłopcy - 17	14-18 lat dziewczęta - 8 chłopcy - 14
<b>n=227 dzieci</b>		<b>n=39</b>	<b>n=76</b>	<b>n=53</b>	<b>n=37</b>	<b>n=22</b>
MLEKO	<b>58 (25,6), p&lt;0,001</b>	18 (46,2)	25 (32,9)	7 (13,2)	7 (18,9)	1 (4,5)
JAJA	<b>71 (31,3), p&lt;0,001</b>	21 (53,8) ¥	29 (38,2)	13 (24,5)	7 (18,9)	1 (4,5)
ROZTOCZA	<b>141 (62,1), p&lt;0,05</b>	17 (43,6)	44 (57,9)	38 (71,7)	26 (70,3)	16 (72,7)
TRAWY	<b>121 (53,3), p&lt;0,001</b>	4 (10,3) #&§¥	39 (51,3)	36 (67,9)	30 (81,1)	12 (54,5)
DRZEWA (brzoza+olsza+leszczyna)	<b>101 (44,5), p&lt;0,001</b>	3 (7,7) &§	30 (39,5)	32 (60,4)	25 (67,6)	11 (50,0)
OWOCE (jabłko+brzoskwinia)	<b>96 (42,3), p&lt;0,001</b>	6 (15,4) &§	29 (38,2)	30 (56,6)	23 (62,2)	8 (36,4)
ZIELNE (bylica+komosa+babka)	<b>50 (22,0), p&lt;0,01</b>	3 (7,7)	12 (15,8)	15 (28,3)	15 (40,5)	5 (22,7)
PLEŚNIE ( <i>Alternaria</i> + <i>Aspergillus</i> + <i>Cladosporium</i> )	<b>45 (19,8), p&lt;0,05</b>	3 (7,7)	12 (15,8)	17 (31,1)	8 (21,6)	5 (22,7)
KOT	<b>95 (41,9), p&lt;0,01</b>	12 (30,8)	22 (28,9) §	25 (47,2)	23 (62,2)	13 (59,1)
PIES	<b>77 (33,9), p&lt;0,05</b>	5 (12,8)	27 (35,5)	22 (41,5)	17 (45,9)	6 (27,3)
ORZECH ZIEMNY	<b>44 (19,4), p&lt;0,05</b>	12 (30,8)	19 (25,0)	9 (17,0)	4 (10,8)	0
SOJA	<b>40 (17,6), NS</b>	9 (23,1)	16 (21,1)	11 (20,8)	3 (8,1)	1 (4,5)

Analiza post-hoc (zaznaczone wszystkie różnice istotne pomiędzy poszczególnymi grupami)

# - różnica istotna względem grupy 3-5 lat

& - różnica istotna względem grupy 6-9 lat

§ - różnica istotna względem grupy 10-13 lat

¥ - różnica istotna względem grupy 14-18 lat

Tabela IV. Uczulenie na pan-alergeny w różnych grupach wiekowych. Analiza statystyczna wg grup wiekowych (test ANOVA dla wszystkich grup z analizą post-hoc dla poszczególnych grup względem siebie)

		Liczba dodatnich badań ISAC w grupach wiekowych (w nawiasie częstości w %)				
Rodzina białek	Wyniki dodatnie (%) oraz istotność (ANOVA dla całości)	0-2 lata	3-5 lat	6-9 lat	10-13 lat	14-18 lat
n=227 dzieci		n=39	n=76	n=53	n=37	n=22
1 Białko PR-10	<b>110 (48,5), p&lt;0,001</b>	6 (15,4) &§	36 (47,4)	32 (60,4)	26 (70,3)	10 (45,5)
2 LTP	<b>31 (13,7), p&lt;0,05</b>	3 (7,7)	7 (9,2)	7 (13,2)	11 (29,7)	3 (13,6)
3 Profilina	<b>29 (12,8), NS</b>	2 (5,1)	7 (9,2)	10 (18,9)	6 (16,2)	4 (18,2)
4 Tropomiozyna	<b>30 (13,2), NS</b>	0	9 (11,8)	11 (20,8)	6 (16,2)	4 (18,2)
5 CCD (69 oznaczeń)	<b>8 (3,5), NS</b>	0	3 (3,9)	3 (5,7)	2 (5,4)	0
6 Białko zapasowe	<b>77 (33,9), p&lt;0,05</b>	17 (43,6)	31 (40,8)	19 (35,8)	8 (21,6)	2 (9,1)
7 Lipocalina	<b>95 (41,9), NS</b>	9 (23,1)	32 (42,1)	27 (50,9)	19 (51,4)	8 (36,4)
8 Albumina surowicy	<b>43 (18,9), NS</b>	10 (25,6)	13 (17,1)	8 (15,1)	11 (29,7)	1 (4,5)
9 Polkalcyna	<b>11 (4,8), NS</b>	0	3 (3,9)	3 (5,7)	3 (8,1)	2 (9,1)
10 Liaza pektynowa	<b>36 (15,9), NS</b>	1 (2,6)	11 (14,5)	11 (20,8)	9 (24,3)	4 (18,2)
11 Parvalbumina	<b>22 (9,7), NS</b>	3 (7,7)	10 (13,2)	5 (9,4)	3 (8,2)	1 (4,5)

Analiza post-hoc (zaznaczone wszystkie różnice istotne pomiędzy poszczególnymi grupami)

& - różnica istotna względem grupy 6-9 lat

§ - różnica istotna względem grupy 10-13 lat

ale porównanie wykonano na małej grupie oznaczeń. Natomiast – niestety też dotyczyło to małych grup (po 13 i 15 oznaczeń) – nie stwierdzono korelacji pomiędzy ocenianymi wartościami dla alergenów orzecha ziemnego i mąki pszennej.

## DYSKUSJA

Przy użyciu testów komercyjnych obecnie możemy określać asIgE dla dużej ilości alergenów rekombinowanych czy natywnych wysoko oczyszczonych (np. ImmunoCAP czy Immulite). Metodami standardowymi trudno jednak testować pacjenta na wiele różnych alergenów, np. przy użyciu licznych pojedynczych alergenów ImmunoCAP. Należy podkreślić, że jest to bardzo kosztowne. Przy użyciu nowoczesnej technologii *biochip*-u (analizy opartej na technice *microarray*) pacjent może być jednak testowany jednocześnie na dużą ilość alergenów. Pojęcie *mikromacierzy* lub *biochip* odnosi się do dystrybucji niewielkich ilości biomolekuł na powierzchni w sposób regularny, przy użyciu metod kompaktowych. W przeciwieństwie do konwencjonalnej metody, *mikromacierz* pozwala nam badać reaktywność asIgE dla wielu różnych alergenów w czasie jednego, szybkiego testu. Zaletą tego systemu jest to, że można otrzymać dla każdego pacjenta informację o wszystkich istotnych alergenach markerowych, alergenach reagujących krzyżowo i rzadkich alergenach, które mogą być istotne ze względu na swoją zdolność do wywoływania reakcji anafilaktycznych.

Określenie struktury molekularnej białek alergenowych umożliwiło ustalenie istotnych klinicznie komponentów (epitopów) alergenowych będących częścią źródłowej cząsteczki alergenu. Poszczególne komponenty alergenowe w zależności od sekwencji aminokwasów i struktury przestrzennej, które warunkują ich swoistość i trwałość, mają różne znaczenie kliniczne. Epitopy nie muszą być swoiste dla jednego alergenu lecz mogą być także częścią struktury przestrzennej innych alergenów. W ten sposób komponenty alergenowe, pozornie niezwiązane z pierwotnym uczuleniem pacjenta, mogą wywoływać objawy kliniczne, wynikające z reakcji krzyżowych pomiędzy poszczególnymi alergenami zawierającymi tę samą komponentę alergenową [2,6,7].

Porównawcze badania między ImmunoCAP-ISAC i ImmunoCAP, mogą wskazywać na różnicę w zakresie czułości, wartości pomiarów i swoistości oceny asIgE dla poszczególnych alergenów. Z istotnych klinicznie różnic sygnalizowanych [8] zwraca uwagę wynik badań dla alergenu soi (w zestawie ISAC oznaczone są jedynie 3 alergeny soi – *Gly m 4*, *5* i *6*, a nie zawiera on pozostałych alergenów soi – *Gly m 1*, *2*, *3* i *7*). Ujemny wynik testu dla ImmunoCAP alergenu soi f14 przy dodatnim wyniku testu ISAC dla komponentu alergenowego soi (f353, *rGly m 4* PR-10) może być powiązany z reakcjami miejscowymi, jednak mogą także wystąpić reakcje ogólnoustrojowe, w szczególności u pacjentów uczulonych na powiązane z brzozą pyłki drzew, po spożyciu dużych ilości nisko-przetworzonej soi, np. mleka sojowego.



Otrzymanie ujemnego wyniku testu dla ImmunoCAP alergenów f14 oraz dodatniego wyniku testu dla ImmunoCAP komponentu alergenowego f253 nie wskazuje na wadę produktu f14 ale wynika z faktu, że komponent alergenowy *Gly m 4* jest obecny w małych ilościach w naturalnym ekstrakcie surowego materiału stosowanego do produkcji ImmunoCAP alergenów soi, f14. W naszym porównaniu zaobserwowaliśmy wysoką korelację pomiędzy wybranymi alergenami w obu oznaczeniach, szczególnie dotyczyło to tych, dla których oznaczenie w ImmunoCAP pokrywa się z alergenem większym dla danego źródła. Natomiast tam, gdzie oznaczenie ImmunoCAP obejmuje dużą grupę alergenów (np. orzech ziemny jako f13 w ImmunoCAP nie pokrywa się z *Ara h 8* w ISAC, natomiast być może korelowałby z sumą wszystkich epitopów tego orzecha; podobnie dla alergenów mąki), nie stwierdziliśmy korelacji pomiędzy wynikami, ale należy podkreślić małą ilość par do porównania.

Melioli i wsp. [9] stwierdzili dobrą powtarzalność ImmunoCAP-ISAC, dla pomiarów uważanych za dodatnie powtarzalność wahała się od 75% do 100%, pomiary ujemne miały powtarzalność pomiędzy 90% a 100%. Zauważono też, że u 58% chorych na choroby alergiczne układu oddechowego stwierdzano asIgE na poszczególne białka pokarmowe, z tego w 52% uznano je za wynik uczulenia na krzyżowo-reaktywne panalergeny. Podobne wyniki uzyskano także w badaniu Gadisseur i wsp. [10] oraz Lizasso i wsp. [11]. Autorzy wnioskują, że ISAC wykrywa uczulenie na poziomie komponentów (epitopów) i dostarcza ważnych informacji, określając zarówno krzyżowe, jak i współzależne uczulenia.

Oznaczanie asIgE przy pomocy zestawu ImmunoCAP-ISAC nie obejmuje oczywiście jednak wszystkich możliwych alergenów i dlatego ważne jest, aby mieć świadomość, które alergeny są zastosowane w tej metodzie. Występujące różnice w oznaczaniu asIgE różnymi technikami (ImmunoCAP, ELISA, FEIA, AlaSTAT), punktowymi testami skórnymi-SPT, a ImmunoCAP-ISAC mogą wynikać z różnego składu ekstraktów użytych do w/w badań i różnego stężenia poszczególnych alergenów/epitopów. Należy zaznaczyć, że ISAC jest półilościową technologią, dostarczając przydatnych informacji w jednostkach ISU (ImmunoCAP-ISAC jednostki standardowe), które są kalibrowane przez ImmunoCAP kU/l, w zakresie pomiaru 0,3 - 100 ISU. Dla pacjentów z uczuleniem na liczne alergeny z tej samej/podobnej rodziny białek, poziom ISU może wskazywać na przybliżony czynnik uczulający [12].

Rozpoznanie alergii IgE-zależnej jest oparte na historii klinicznej, a określenie uczulających czynników można dokonać poprzez zastosowania odpowiednich testów. Wskazanie, czy dane uczulenie jest pierwotne (swoiste gatunkowo) czy też jest wynikiem reakcji krzyżowych z alergenami o podobnych strukturach białkowych pomaga lekarzowi do oceny ryzyka wystąpienia reakcji alergicznej i ewentualnych postępów choroby [7]. Zaobserwowano też dość wyraźnie zróżnicowane w zależności od wieku badanej populacji i wykazano różnice w procesie uczulenia związane z ekspozycją [13].

Znajomość zależności pomiędzy poszczególnymi białkami oraz konkretnymi metodami diagnostycznymi jest bardzo przydatna, a zastosowanie szerokiej metody diagnostycznej może być istotne, np. w przypadkach niejasnej anafilaksji, w uczuleniu na lateks czy w przypadku uczuleń na wiele alergenów równocześnie. Przy użyciu metody obejmującej szeroki wachlarz alergenów można dokładnie zidentyfikować uczulenie na takie grupy białek, jak: białka PR-10, profiliny, tropomiozyny i białka przenoszące lipidy (LTP). U pacjentów z objawami po spożyciu pokarmów, w wypadku dużej ilości podejrzanych alergenów, czy w wypadku niejasnych przyczyn, badanie z wykorzystaniem *chip*-u może pomóc w zidentyfikowaniu istotnych grup alergenów czy w wykluczeniu z dużym prawdopodobieństwem nadwrażliwości zależnej od asIgE [6]. Wykazano, że ISAC może być potężnym narzędziem diagnostycznym dla pacjentów z atopowym zapaleniem skóry, ponieważ często testy skórne są niewiarygodne, a pacjenci uczuleni na wiele alergenów [14]. Przy użyciu metody ISAC możliwa jest więc jedynie przybliżona identyfikacja czynnika przyczynowego, co pomaga odróżnić alergię od nadwrażliwości niezależnej od IgE, daje możliwość przewidywania historii naturalnej, przewidywania ewentualnego nasilenia objawów klinicznych, wskazuje na alergeny, które powinny być brane pod uwagę przy kwalifikacji pacjenta do alergenowo-swoistej immunoterapii, umożliwia skuteczniejszy monitoring chorób alergicznych i staje się niezastąpiona, kiedy diagnostyka za pomocą innych technik nie jest rozstrzygająca. Jest także pomocna w przypadku chorych, u których wykonanie nie tylko SPT ale także prób prowokacyjnych nie jest możliwe ze względu na zagrożenie ciężkimi reakcjami anafilaktycznymi [15,16].

Wiele długofalowych badań epidemiologicznych udowodniło istnienie określonej sekwencji występowania chorób alergicznych. Stwierdzono, że kliniczne objawy atopowego zapalenia skóry rozwijające się u małego dziecka poprzedzają występowanie alergicznego nieżytu nosa i/lub astmy u starszych dzieci. Zjawisko to nazwano marszem alergicznym przez dzieciństwo [17]. Nasze badania potwierdziły również ten marsz alergiczny, u pacjentów w wieku 0-2 lat najczęściej uczuły alergeny białka jaja kurzego i białka mleka krowiego, istotne zaczynały być już w tym okresie alergeny roztoczy kurzu domowego. U dzieci w pozostałych grupach wiekowych zmniejszała się częstość uczulenia na ww. alergeny pokarmowe, wzrastało uczulenie na roztocza i również gwałtownie wzrastała częstość uczulenia na alergeny pyłków roślinnych. U dzieci w wieku od 10 lat białka mleka krowiego i jaja kurzego stanowiły już marginalne uczulenie, natomiast alergeny roztoczy i pyłek powodowały zdecydowaną większość objawów. Rozkład częstość w poszczególnych grupach wiekowych w sposób istotny różnił się dla alergenów mleka, jaja, orzecha ziemnego, roztoczy oraz pyłku roślin (najmniej wyraźnie dla roślin zielnych), a także alergenów psa i kota (tab. III 3), co więcej wartości asIgE ujemnie korelowały z wiekiem (mały) dla białek mleka, jaja, soi i orzecha ziemnego, a dodatnio (rosły wraz z wiekiem) dla alergenów powietrzno-pochodnych oraz owoców, co wiąże się – w polskiej populacji – z pierwotnym uczuleniem na alergeny wziewne (głównie alergen

brzozy *Bet v 1*), a dopiero wtórnej reakcji na alergeny jabłka czy brzoskwini (ich alergeny główne należą do panalergenu PR-10).

Gdy analizowaliśmy częstość uczulenia na poszczególne panalergeny oraz wartości oznaczeń dla nich w zależności od wieku, nie dziwi wzrost częstości uczulenia wraz z wiekiem właśnie na panalergeny o pierwotnie oddechowym źródle uczulenia (PR-10, profiliny czy LTP). Natomiast białka roślinne, na których uczulenie jest pierwotnie pokarmowe (białka zapasowe) wykazywały trend malejący wraz z wiekiem. Jedyny panalergen zwierzęcy, dla którego wartości oznaczeń wzrastały wraz z wiekiem to tropomiozyny: *Der p 10*, *Pen m 1*, *Pen i 1*, *Pen a 1*, *Bla g 7*, *Ani s 3* (jednak nie wykazując statystycznej istotności pod względem częstości oznaczeń dodatnich), co może wynikać z narastającej wraz z wiekiem alergii na roztocza, ale być może również ze zwiększającą się dostępnością do owoców morza.

Należy się zgodzić z autorami [6,7,18], że dla pełnego wykorzystania metody ISAC kluczowym pozostaje dokładny wywiad; w niektórych przypadkach nadal niezbędne są testy prowokacyjne do potwierdzenia wiarygodnej diagnozy. Ze względu na kompleksowość wyników do pełnej oceny niezbędna jest głęboka wiedza z zakresu alergologii. Nie jest więc rekomendowane szerokie użycie *chip*-ów alergenowych jako metody do screeningu uczulenia. Istnieje bowiem ryzyko otrzymania dużej ilości wyników dodatnich u pacjentów z całkowicie nieprzystającą historią choroby, co może prowadzić do nieporozumień i niepotrzebnych dodatkowych procedur diagnostycznych. Wybór metod oznaczania aslgE zależy więc w głównej mierze od analizy

objawów chorobowych oraz dostępnej wiedzy na temat swoistości, czułości i wartości predykcyjnej danej metody. Czułość i swoistość oznaczeń aslgE dla alergenów pokarmowych jest mniejsza niż w przypadku alergenów wziewnych. W alergii pokarmowej pozostaje więc złotym standardem diagnostycznym próba prowokacyjna – podwójna ślepa próba kontrolowana placebo [19,20].

## WNIOSKI

1. W badanej grupie dzieci najczęściej stwierdzano obecność aslgE dla alergenów: roztoczy kurzu domowego, pyłku tymotki i brzozy, oraz alergenów naskórkowych (sierść kota), a z alergenów pokarmowych dla brzoskwini i jabłka.
2. Stwierdzono zmiany częstości występowania aslgE na wybrane alergeny w zależności od wieku badanych dzieci, co pozytywnie wpisuje się w koncepcję marszu alergicznego przez dzieciństwo.
3. Mimo dobrej korelacji pomiędzy wartościami oznaczeń dla wybranych alergenów metodą ISAC a testem ImmunoCAP, stwierdzano często wyraźne różnice, które mogą być spowodowane m.in. różnicą swoistości przeciwciał aslgE w stosunku do alergenów naturalnych i rekombinowanych używanych w obu tych metodach.
4. Analiza wyników testu ImmunoCAP-ISAC, pozwala w sposób przybliżony ocenić zakres wieloważnych uczuleń i precyzuje również źródło uczulenia u osób z polialergią.

## Piśmiennictwo

1. Melioli G, Marcomini L, Agazii A i wsp. The IgE repertoire in children and adolescents resolved at component level: A cross-sectional study. *Pediatr Allergy Immunol* 2012; 23: 433-40.
2. Panaszek B, Szmagierewski W. Podstawy patomechanizmu alergii krzyżowej w grupie alergenów pochodzenia roślinnego. *Alergia* 2010; 3/45: 39-46.
3. Scala E, Alessandri C, Palazzo P i wsp. IgE Recognition Patterns of Profilin, PR-10 and Tropomyosin Panallergens Tested in 3113 Allergic Patients by Allergen Microarray-Based Technology. *PLoS ONE* 6(9): e24912.
4. ImmunoCAP® Cross-Reactivity Map (dostępne na stronie [www.thermoscientific.com/phadia](http://www.thermoscientific.com/phadia))
5. [www.allergen.org](http://www.allergen.org)
6. Schmid-Grendelmeier P. Rekombinante Allergene. Routine diagnostics or still only science? *Der Hautarzt* 2010; 6: 946-53.
7. Borres MP, Ebisawa M, Eigenmann PA. Use of allergen components begins a new era in pediatric allergology. *Pediatr Allergy Immunol* 2011; 22: 454-61.
8. Notatka Bezpieczeństwa/Ważna Informacja Bezpieczeństwa: Warszawa, dnia 14.12.2011
9. Melioli G, Bonifazi F, Bonini S i wsp. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin Biochem* 2011; 44: 1005-11.
10. Gadisseur R, Chapelle JP, Cavalier E. A new tool in the field of in vitro diagnosis of allergy: preliminary results in the comparison of ImmunoCAP 250 with the ImmunoCAP ISAC. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 277-80.
11. Lizaso MT, Garcia BE, Tabar AI i wsp. Comparison of conventional and component-resolved diagnostics by two different methods (Advia-Centraur/ microarray-ISAC) in pollen allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2011; 107: 35-41.
12. Q&A - ImmunoCAP ISAC Version 1, March 2012.
13. Scala E, Alessandri C, Bernardi ML i wsp. Cross-sectional survey on immunoglobulin E reactivity in 23 077 subjects using an allergenic molecule-based microarray detection system. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 911-21.
14. Ott H, Fölster-Holst R, Mark HF i wsp. Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur J Dermatol* 2010; 20: 1-8.
15. Sanz ML, Blazquez AB, Gracia BE. Microarray of allergenic component-based diagnosis in food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 204-9.
16. Onell A, Hjalte L, Borres M. Exploring the temporal development of childhood IgE profiles to allergen components. *Clin Transl Allergy* 2012; 2: 24-9.
17. Kaczmarek J, Kuna P. Marsz alergiczny u dzieci – czy interwencja lekarska może go zatrzymać? *Terapia* 2011; 19: 70-5.
18. Pfiffner P, Stadler BM, Rasi C i wsp. Cross-reactions vs co-sensitization evaluated by in silico motifs and in vitro IgE microarray testing. *Allergy* 2012; 67: 210-16.
19. Glücklich J. Wykrywanie swoistych IgE – In vivo czy In vitro? *Alergia Astma Immunologia* 2012; 17: 51-6.
20. Sastre J. Molecular diagnosis in allergy. *Clin Exp Allergy* 2010; 40: 1442-60.