

**ANNALES
ACADEMIAE MEDICAE
GEDANENSIS
TOM XXXX
2010
SUPPLEMENT 12**

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Marta Chełmińska

**RÓŻNICOWANIE REAKCJI KRZYŻOWYCH
TOWARZYSZĄCYCH ALERGII NA LATEKS
– WYBRANE ZAGADNIENIA**

*Cross reactions differentiations
concomitant latex allergy – selected problems*

Rozprawa habilitacyjna

Klinika Alergologii Katedry Pneumonologii i Alergologii
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Ewa Jassem
Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. med. Jan Marek Słomiński

GDAŃSK 2010

Wydano za zgodą
Senackiej Komisji Wydawnictw Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

REDAKTOR NACZELNY

EDITOR-IN-CHIEF
prof. dr Marek Grzybiak

KOMITET REDAKCYJNY

EDITORIAL BOARD

dr hab. Tomasz Bączek, dr hab. Zdzisław Bereznowski, prof. nadzw., mgr inż. Anna Grygorowicz,
prof. dr Andrzej Hellmann, dr hab. Jerzy Kuczkowski, dr Włodzimierz Kuta, mgr Józefa de Laval,
prof. dr Krzysztof Narkiewicz, dr hab. Michał Obuchowski, prof. nadzw.,
prof. dr Zbigniew Kmiec, prof. dr Stefan Raszeja - członek honorowy,
dr hab. Adam Szarszewski, prof. dr Julian Świerczyński, dr hab. Aleksandra Żurowska

ADRES REDAKCJI

ADDRESS OF EDITORIAL OFFICE
Annales Academiae Medicae Gedanensis
Zakład Anatomii Klinicznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk, Poland
e-mail: annales@gumed.edu.pl

Artykuły opublikowane w *Annales Academiae Medicae Gedanensis*
są zamieszczane w bazie EMBASE

Articles published in *Annales Academiae Medicae Gedanensis*
are covered by the Excerpta Medica database (EMBASE)

PL ISSN 0303–4135

Gdański Uniwersytet Medyczny

Moim bliskim

Praca uzyskała zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku z dnia 14.12.2007 (NKEBN/372/2007).

Praca naukowa została sfinansowana ze środków na naukę w latach 2008-2010 jako projekt badawczy KBN – N N404 082234 oraz praca statutowa ST-553.

SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	9
1 WPROWADZENIE.....	11
1.1 Alergia na lateks	11
1.1.1 Lateks naturalny i jego właściwości	11
1.1.2 Epidemiologia alergii na lateks	13
1.1.3 Kliniczny obraz alergii na lateks	15
1.2 Reakcje krzyżowe.....	17
1.2.1 Grupy alergenów odpowiedzialne za występowanie reakcji krzyżowych.....	17
1.2.2 Alergeny lateksu i ich udział w rozwoju reakcji krzyżowych	19
1.2.3 Występowanie reakcji krzyżowych z lateksem	20
1.3 Diagnostyka alergii na lateks.....	22
1.3.1 Testy komórkowe w diagnostyce alergii	26
1.3.2 Test aktywacji bazofilów.....	27
1.3.3 Technika mikrooznaczeń.....	33
1.4 Alergeny rekombinowane	33
1.4.1 Diagnostyka oparta na składnikach ekstraktu alergenowego.....	35
1.4.2 Test ImmunoCAP ISAC.....	38
2 CEL PRACY	41
3 MATERIAŁ I METODY	43
3.1 Materiał	43
3.1.1 Badana grupa	43
3.1.2 Grupa kontrolna.....	43
3.2 Metody.....	43
3.2.1 Wywiad, badanie ankietowe i badanie przedmiotowe	43
3.2.2 Punktowe testy skórne.....	43
3.2.3 Pobieranie materiału do badań: sIgE, tryptaza, ImmunoCAP ISAC.....	44

3.2.4	Oznaczanie swoistych IgE w surowicy	44
3.2.5	Oznaczanie tryptazy	45
3.2.6	Test ImmunoCAP ISAC.....	45
3.2.7	Test aktywacji bazofilów.....	46
3.2.8	Testy skórne płatkowe.....	48
3.2.9	Analiza statystyczna	49
4	WYNIKI.....	51
4.1	Badana populacja	51
4.2	Wyniki punktowych testów skórnych	53
4.3	Wyniki oznaczeń sIgE.....	56
4.4	Wyniki oznaczeń tryptazy	58
4.5	Wyniki testu ImmunoCAP ISAC	59
4.6	Wyniki testów aktywacji bazofilów	64
4.7	Wyniki testów płatkowych	96
4.8	Udział standardowych oraz rekombinowanych alergenów lateksu w różnicowaniu reakcji krzyżowych z pokarmami.....	96
5	DYSKUSJA.....	97
5.1	Przydatność testu ImmunoCAP ISAC w różnicowaniu reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks.....	97
5.2	Przydatność testu aktywacji bazofilów w różnicowaniu reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks.....	106
5.3	Zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej	111
6	WNIOSKI	119
7	PIŚMIENNICTWO.....	120
8	STRESZCZENIE	144
9	SUMMARY.....	148
10	ZAŁĄCZNIKI.....	152

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

- APT – *atopy patch test* / atopowy test platkowy
ASA – *acetylsalicylic acid* / kwas acetylosalicylowy
BAT – *basophiles activation test* / test aktywacji bazofilów
CAST – *cellular allergen stimulation test* / test stymulacji komórek alergeniem
CCD – *cross-reactive carbohydrate determinant* / krzyżowo reagująca determi-
nanta wodorowęglanowa
CD – *cluster of differentiation* / markery różnicowania
CRD – *component resolved diagnosis* / składniki decydujące o diagnozie
CRIT – *component resolved immunotherapy* / składniki decydujące o immunote-
rapii
DBPCFC – *double-blind, placebo-controlled, food challenge* / podwójnie ślepa
próba kontrolowana placebo
DNA – *deoxyribonucleic acid* / kwas dezoksyrybonukleinowy
DTH – *delayed type of hypersensitivity* / nadwrażliwość typu opóźnionego
EAACI – *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* / Europejska
Akademia Alergii i Immunologii Klinicznej
ECP – *eosinophil cationic protein* / eozynofilowe białko kationowe
EDTA – *ethylenediaminetetraacetic acid* / kwas etylenodiaminotetraoctowy
ELISA – *enzyme-linked immunosorbent assay* / test immunoenzymatyczny
Fc_εRI – *high-affinity receptor for Fc IgE fragment* / receptor dla fragmentu Fc
IgE o wysokim powinowactwie
FDA – *food and drug administration* / Agencja ds. Żywności i Leków
FEIA – *fluoro enzyme immunoassay* / metoda fluoroenzymoimmunologiczna
FEV₁ – *forced expiratory volume in one second* / natężona objętość wydechu
pierwszosekundowa
GM-CSF – *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* / czynnik
stymulujący powstawanie kolonii granulocytów i makrofagów
HBV – *hepatitis B virus* / wirus zapalenia wątroby typu B
HCV – *hepatitis C virus* / wirus zapalenia wątroby typu C
HCW – *health care workers* / pracownicy ochrony zdrowia
HIV – *human immunodeficiency virus* / ludzki wirus niedoboru odporności
HRT – *histamin release test* / test uwalniania histaminy
ICDRG – *International Contact Dermatitis Research Group* / Międzynarodowa
Grupa Badająca Wyprysk Kontaktowy
Ig – *immunoglobulin* / immunoglobulina
IL – *interleukin* / interleukina
IFN – *interferon* / interferon
ISAC – *ImmunoCAP Solid-phase Allergo Chip* / test alergiczny ImmunoCAP
związany z fazą stałą
ISU – *ISAC standardized unit* / standaryzowane jednostki ISAC
kDa – *kilodalton* / kilodalton

LAMP – *lysosome-associated membrane protein* / białko błonowe związane z lizozymem
LT – *leukotriene* / leukotrien
LTP – *lipid transfers protein* / lipidowe białko transportowe
MHC – *major histocompatibility complex* / główny układ zgodności tkankowej
Mn-SOD – *manganic superoxide dismutase* / dysmutaza nadtlenkowa zawierająca mangan
MW – *molecular weight* / ciężar cząsteczkowy
NRL – *natural rubber latex* / lateks naturalny
NSAIDs – *non-steroidal anti-inflammatory drugs* / niesterydowe leki przeciwzapalne
OAS – *oral allergy syndrome* / zespół alergii jamy ustnej
PEF – *peak expiratory flow* / szczytowy przepływ wydechowy
PG – *prostaglandin* / prostaglandyna
PR – *pathogenesis related* / związane z patogenezą
RAST – *radio-allergosorbent test* / test radioalergosorpcji
REF – *rubber elongation factor* / czynnik wydłużający gumę
SDS-PAGE – *sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis* / elektroforeza w żelu poliakrylamidowym w obecności siarczanu dodecyłu sodu
SIT – *specific immunotherapy* / immunoterapia swoista
sIgE – *specific immunoglobulin class E* / swoista immunoglobulina klasy E
SPT – *skin prick test* / punktowy test skórny
TRT – *tryptase release test* / test uwalniania tryptazy
VIT – *venom immunotherapy* / immunoterapia jadem

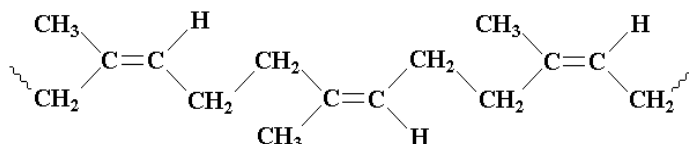
1 WPROWADZENIE

1.1 Alergia na lateks

1.1.1 Lateks naturalny i jego właściwości

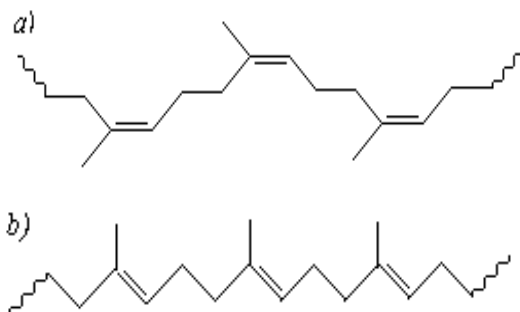
Lateks naturalny (*natural rubber latex*, NRL), nazywany mleczkiem kauczkowym, powstaje w komórkach mlecznych roślin kauczukodajnych, których poznano około 250 gatunków. Najbardziej wartościowym źródłem NRL – cennego surowca przemysłowego – jest kauczowiec brazylijski (*Hevea brasiliensis*) należący do rodziny wilczomleczowatych (*Euphorbiaceae*) [259]. Pierwotnie wywodził się z Puszczy Amazońskiej, skąd w 1876 roku Anglik Henry Wickham przemiecił nasiona tej rośliny do Londynu. Dzięki temu zaczęto uprawę kauczowiec w brytyjskich koloniach w Azji Południowo-Wschodniej [131]. Aktualnie uprawiany jest na skalę przemysłową głównie w krajach strefy międzyzwrotnikowej, takich jak: Tajlandia, Malezja, Indonezja i Brazylia. Podejmowano próby otrzymywania mlecza kauczkowego z krzewu *Parthenium argentatum*, ale koszty związane z jego otrzymywaniem znacznie ograniczyły tę możliwość [250]. Roczne zużycie NRL na świecie szacuje się na około 6-8 milionów ton [100].

Mleczko kauczkowe, będące wodną zawiesiną cis-1,4-poliizoprenu (35%), zawiera niewielkie ilości białek, cukrów, alkoholi, kwasów tłuszczowych, estrów i soli. Stężenie wszystkich substancji stałych wynosi około 40%, pozostałą część stanowi woda – 60%. Wielkość cząstek polimeru zawiera się w granicach 0,02-4 μm . Ciężar cząsteczkowy mieści się w zakresie 300-500 kilodaltonów (*kilodalton*, kDa). Szczególne właściwości produktów wykonanych z lateksu (elastyczność, podatność, idealne dopasowywanie się do kształtów, nieprzepuszczalność dla materiałów biologicznych) uwarunkowane są konfiguracją cis-. Stereoizomer o konfiguracji trans-, charakteryzujący się całkowitym brakiem elastyczności, występuje w przyrodzie jako gutaperka, balata i żywica chicle [99]. Wzór cząsteczki cis-1,4-poliizoprenu oraz wzory łańcuchów cis- i trans-przedstawiają ryciny 1 i 2.



Rycina 1. Wzór cząsteczki kauczuku naturalnego (cis-1,4-poliizopren) [99]

Figure 1. Natural rubber latex chemical formula (cis-1,4-poliisopren) [99]



Rycina 2. Łańcuchy: a) naturalnego kauczuku; b) gutaperki (stereoizomeru trans-) [99]

Figure 2. Chains: a) natural rubber latex; b) gutta-percha (trans- stereoisomer) [99]

Właściwości lateksu zależą nie tylko od gatunku rośliny, z której jest otrzymywany, a także miejsca uprawy, sposobu przechowywania oraz wielu czynników stosowanych w cyklu produkcyjnym, którego pierwszym etapem jest proces zatężania lub koagulacji pod wpływem kwasu octowego lub mrówkowego [182]. Koagulacja lateksu może także przebiegać samoistnie, w sposób niekontrolowany, pod wpływem bakterii. W celu przeciwdziałania samorzutnej koagulacji stosuje się różnego rodzaju stabilizatory, których przykładem może być amoniak. Jego dodatek powoduje zwiększenie pH, co sprzyja stabilności warstwy ochronnej, przeciwdziała aktywności bakterii i enzymów oraz powoduje wytrącanie jonów Mg^{2+} , które destabilizują lateks. Rozróżnia się wysoko- (1,6%) i niskoamoniowane (0,15-0,25%) roztwory lateksu. Bardzo popularnymi destabilizatorami są także: tlenek cynku, ditiokarbaminian sodu, parafenyldwuwamina oraz pochodne tiuramu [49, 99]. Większość z tych związków może powodować reakcje nadwrażliwości typu opóźnionego (*delayed type of hypersensitivity*, DTH) [248]. Dodatkowo za występowanie tego typu reakcji mogą być odpowiedzialne związki stosowane w procesie wulkanizacji gumy (ogrzewanie z siarką), którą w 1839 roku wprowadził Amerykanin Charles Goodyear. Należą do nich przyspieszacze wulkanizacji, a także stabilizatory i przeciwutleniacze. Proces wulkanizacji umożliwia pełne wykorzystanie najcenniejszych cech produktów kauczukowych, takich jak: elastyczność, plastyczność, odporność na ścieranie i działanie wielokrotnych odkształceń. Surowy kauczuk naturalny wykazuje te cechy jedynie w wąskich granicach temperatury (10-60 °C), co znacznie ogranicza możliwości zastosowań praktycznych. Artykuły z kauczuku w temperaturach niższych od 10 °C stają się sztywne i kruche, a w wyższych od 60 °C zbyt plastyczne, miękkie i lepkie [131]. Uzyskiwana w procesie wulkanizacji guma jest znacznie bardziej elastyczna, a jednocześnie odporna na działanie czynników mechanicznych i wykazuje te cechy w szerszym zakresie temperatur [182].

Immunogenność lateksu zależna jest od zawartych w nim białek. Ilościowe oznaczenie białka w produktach z lateksu oznacza się zmodyfikowaną metodą Lowry i analizy aminokwasów [248]. Metody te nie umożliwiają jednak oceny ilościowej białek uczulających, a jedynie pozwalają na oznaczenie białka całkowitego [26, 28]. Jednym ze sposobów redukujących właściwości uczulające produktów lateksowych jest stosowanie roztworów wodorotlenku potasu do płukania wyciągów protein, pochodzących z mleczka kauczukowego, jak i wyrobów końcowych [28]. Podejmowano także próby zastosowania wody, soli fizjologicznej, roztworu zawierającego enzym proteolityczny savinazę oraz chlorowano wyroby z lateksu, co sprzyjało wypłukiwaniu białek [164]. Wprowadzanie dodatkowych związków w końcowej fazie cyklu produkcyjnego może jednak prowadzić do kolejnych zagrożeń. Płukanie proteolitycznym enzymem-savinazą wprowadza do cyklu produkcyjnego nowe białko, mające także właściwości uczulające. Podobnie chlorowanie, poza zagrożeniem środowiskowym, niesie za sobą ryzyko wywołania wyprysku z podrażnienia. W niektórych zakładach produkujących rękawice ochronne, stosuje się kazeinę jako stabilizatora, co może stanowić zagrożenie u osób, u których rozpoznano alergię na białko mleka krowiego [297]. Większość zakładów produkcyjnych ogranicza zmiany procesu technologicznego do wielokrotnego płukania wodą wyrobów z lateksu [164].

1.1.2 Epidemiologia alergii na lateks

Częstość występowania uczulenia na lateks w ogólnej populacji wydaje się nie przekraczać 1%, ale zaledwie 0,1% mieszkańców krajów Europy reaguje objawami alergii typu natychmiastowego [266, 269]. Prowadzi się także badania dotyczące częstości występowania alergii na lateks w różnych grupach chorych. W badaniu Mari z 2007, roku przeprowadzonym w grupie ponad 6000 pacjentów leczonych z powodu różnych schorzeń układu oddechowego, ale nie zgłaszających dolegliwości pojawiających się po kontakcie z wyrobami lateksowymi, częstość występowania alergii w całej badanej grupie oceniono na 0,75%, a w grupie osób, u których wykazano cechy uczulenia na lateks, na podstawie pozytywnych punktowych testów skórnych (*skin prick test*, SPT) i/lub miana swoistych przeciwciał klasy E powyżej 0,35 kU/l (*specific immunoglobulin class E*, sIgE) na 1,2% [172]. Badania zostały także przeprowadzone w innych grupach chorych, wskazując na częstsze występowanie reakcji alergicznych po kontakcie z wyrobami lateksowymi w badanych populacjach. Poddano analizie osoby, u których zastosowano różne materiały ortodontyczne [69], dzieci chorujące na cukrzycę [57], a także osoby, które poddawano zabiegom hemodializy [142, 141]. W 2005 roku opublikowano wyniki pracy polskich badaczy, które wykazały podwyższone stężenia sIgE z ekstraktem alergenów lateksu u 17,9% dawców krwi. W grupie tej sIgE z Hev b 3, 5, 6 i 13 częściej występowały w grupie dawców dodatkowo narażonych zawodowo na lateks. Co znamienne –

najwyższe stężenia Hev b 8 wykazano u osób nie wykazujących objawów, ale z pozytywnymi wynikami SPT dla alergenów traw i drzew [74]. Może to pośrednio wskazywać na występowanie krzyżowych reakcji pomiędzy lateksem a alergenami roślinnymi.

Prowadzono także badania w grupie osób nie mających kontaktu z procedurami medycznymi, ale mających wzmogoną ekspozycję na lateks. Jedną z takich grup stanowią sportowcy korzystający ze sprzętów i odzieży zawierających elementy lateksowe [272].

Wzmogona ekspozycja na lateks dotyczy również pracowników przemysłu gumowego. Jednak najwięcej uczuleń występuje w grupie pracowników ochrony zdrowia (17%) oraz u pacjentów poddawanych zabiegom diagnostyczno-terapeutycznym układu moczowo-płciowego (60%) [8, 145, 151, 210, 267]. Lateks jest obecny w co najmniej 400 produktach związanych z wykonywaniem procedur medycznych. Należą do nich: bandaże elastyczne, plastry, cewniki, dreny, zgłębniki żołądkowe i jelitowe, sprzęt do hemodializy i sprzęt anestezyjologiczny [248]. Najbardziej narażeni na rozwój alergii na lateks są: pielęgniarki [201], pracownicy oddziałów zabiegowych, oddziałów intensywnej terapii, a także stomatolodzy oraz studenci stomatologii [261]. Ryzyko wystąpienia alergii na lateks zwiększa się wielokrotnie w grupie osób z cechami atopii w wywiadzie (8,6%) [55, 209]. Konsensus dotyczący alergii na lateks, opracowany przez Naukowy Komitet do spraw Wyrobów i Urządzeń Medycznych przy Europejskiej Komisji Zdrowia, pochodzący z 27 czerwca 2000 roku, do czynników ryzyka zalicza również wyprysk kontaktowy z podrażnienia [248].

Dodatковым czynnikiem, zwiększającym częstość występowania reakcji po kontakcie z rękawicami ochronnymi, było przez wiele lat ich talkowanie, co powodowało zwiększoną liczbę lotnych cząstek lateksu w powietrzu [260]. Poza ekspozycją zawodową, problem stanowi także powszechność stosowania wyrobów lateksowych, utrudniająca eliminację alergenu z otoczenia. Aktualnie na rynku znajduje się około 40000 wyrobów zawierających lateks (np. sprzęty gospodarstwa domowego, zabawki, opony samochodowe). Roczne zużycie kauczuku syntetycznego i naturalnego szacuje się na około 3 kg na mieszkańca Ziemi (w USA około 12 kg, w Polsce około 2 kg) [100].

Od wielu lat podejmuje się różne rozwiązania mające na celu zmniejszenie narażenia na rozwój alergii na lateks. Wiele grup badaczy postuluje wprowadzanie wszędzie tam gdzie istnieje możliwość, wyrobów medycznych nie zawierających lateksu i w miarę możliwości tworzenie placówek medycznych, a zwłaszcza oddziałów zabiegowych – „nie-lateksowych” [6, 60, 65]. Wprowadza się także programy edukacyjne informujące o zawartości lateksu w produktach oraz o konieczności ich unikania [21, 41, 226].

1.1.3 Kliniczny obraz alergii na lateks

Pierwsze opisy przypadków nadwrażliwości na lateks pochodzą z początku ubiegłego wieku. W 1927 roku Stern opisała przypadek pacjentki, u której wystąpiła pokrzywka i obrzęk Quincke'go twarzy i głośni po zastosowaniu kauczukowej płytki dentystycznej [254]. W tym samym roku Grimm przedstawił przypadki zaostrzenia astmy spowodowane wdychaniem cząstek lateksu, pochodzących z gumowego kabla lampy oraz gumowej gruszki, służącej do inhalacji [116]. Pod koniec lat 70. pojawiły się opisy przypadków pokrzywki kontaktowej, występującej po kontakcie z ochronnymi rękawicami lateksowymi [188]. Pierwsze przypadki anafilaksji odnotowano dopiero w latach 80. ubiegłego wieku [20]. Najbardziej dramatyczny opis dotyczy piętnastu chorych, u których, po kontakcie śluzówki jelita grubego z lateksowymi mankietami w czasie badań kontrastowych dolnego odcinka przewodu pokarmowego, doszło do zgonów w przebiegu wstrząsu anafilaktycznego [67]. W tym samym czasie pojawiły się liczne opisy przypadków anafilaksji, zaostrzeń astmy, objawów nieżytu nosa oraz ostrej pokrzywki wyzwalanych przez przedmioty z lateksu (smoczki dla niemowląt, nadmuchiwane baloniki, prezerwatywy i inne). Do reakcji opisywanych najczęściej należą przypadki pokrzywki kontaktowej wyzwalanej przez rękawice z lateksu [200, 248, 269]. Coraz powszechniejsze stosowanie rękawic ochronnych związane było z większą świadomością zagrożenia zakażeniami wirusowymi zapalenia wątroby typu B lub C (*hepatitis B virus*, HBV; *hepatitis C virus*, HCV) oraz ludzkim wirusem niedoboru odporności (*human immunodeficiency virus*, HIV). Zwrócono także uwagę na właściwości uczulające cząstek lateksu, przylegających do drobin talku lub skrobi kukurydzianej, używanych do przesytywania rękawic [165, 262]. Dodatkowym niekorzystnym aspektem stosowania rękawic talkowanych jest możliwość pojawienia się, u osób po przebytych zabiegach w jamie brzusznej, zrostów otrzewnowych lub ziarniniakowatego zapalenia otrzewnej. W wielu krajach wprowadzono zakaz przesytywania rękawic chirurgicznych. W 2009 roku grupa naukowców ze Stanów Zjednoczonych wystosowała petycję do Amerykańskiej agencji ds. żywności i leków (*Food and Drug Administration*, FDA) w sprawie całkowitego zakazu produkcji rękawic ochronnych przesytywanych skrobią kukurydzianą [92]. Współistnienie pokrzywki kontaktowej na rękawice ze zmianami wypryskowymi może wskazywać na jednocześnie występującą reakcję DTH na inne składniki gumy [248, 291]. Eliminacja lateksu z otoczenia nie zawsze oznacza ustąpienie objawów alergii. Opisano przypadki astmy, wywołanej uczuleniem na lateks, której objawy utrzymywały się pomimo braku dalszej ekspozycji [277, 279]. Reakcje anafilaktyczne o ciężkim przebiegu występują najczęściej w sytuacjach, w których miejscem ekspozycji są błony śluzowe. Wyniki badań Jaeger i wsp. wskazują, że narządami docelowymi alergii na lateks są najczęściej: skóra, nos i spojówki [136] (tabela 1).

Tabela 1. Objawy alergii na lateks wśród pracowników ochrony zdrowia [136]

Table 1. Latex allergy symptoms in health care workers group [136]

Objawy / <i>Symptoms</i>	%
Pokrzywka kontaktowa / <i>Contact urticaria</i>	100
Nieżyt nosa / <i>Rhinitis</i>	51
Zapalenie spojówek / <i>Conjunctivitis</i>	44
Duszność / <i>Dyspnoe</i>	31
Reakcje uogólnione / <i>Systemic reactions</i>	24
Powikłania okołoperacyjne / <i>Perioperative complications</i> Anafilaksja / <i>Anaphylaxis</i>	6

Tabela 2. Klasyfikacja nasilenia i objawów anafilaksji [264]

Table 2. Anaphylaxis severity stages and symptoms [264]

Stopień <i>Stage</i>	Nasilenie reakcji <i>Severity reaction</i>	Objawy <i>Symptoms</i>
0°	W miejscu kontaktu <i>Local reaction</i>	Ograniczona reakcja skórna <i>Local skin reaction</i>
I°	Reakcja uogólniona lekka <i>Light generalized reaction</i>	Rumień, pokrzywka, nieżyt nosa, nieżyt spojówek, niepokój, bóle głowy <i>Erythema, urticaria, rhinitis, conjunctivitis, anxiety, headache</i>
II°	Reakcja uogólniona umiarkowana <i>Moderate generalized reaction</i>	Spadek ciśnienia, tachykardia, duszność, obturacja oskrzeli, parcie na mocz/stolec <i>Hypotonia, tachycardia, dyspnoea, bronchoconstriction, vesical and rectal tenesmus</i>
III°	Reakcja uogólniona nasilona <i>Intensive generalized reaction</i>	Hipotonia znacznego stopnia, bledź skóry, narastająca obturacja oskrzeli, zaburzenia świadomości, nietrzymanie stolca/moczu <i>Significant hypotonia, skin pallor, bronchoconstriction increasing, consciousness disturbances, urinary and faecal incontinence</i>
IV°	Ciężka niewydolność narządowa <i>Severe organs insufficiency</i>	Zatrzymanie krążenia i oddechu <i>Circulatory and respiratory arrest</i>

Alergię na lateks wymienia się jako jedną z przyczyn dramatycznych reakcji pojawiających się w czasie zabiegów chirurgicznych [63, 161]. Retrospektywna ocena przyczyn tych powikłań wskazuje, że w 13% analizowanych przypadków przyczyną anafilaksji był lateks [178]. Klasyfikację stopni nasilenia i objawów reakcji anafilaktycznych przedstawiono w tabeli 2.

Przypadek wstrząsu anafilaktycznego opisano także jako powikłanie wstępnej fazy immunoterapii swoistej (*specific immunotherapy*, SIT) prowadzonej preparatem podjęzykowym z powodu rozpoznanej alergii na lateks. Powtórne przeprowadzenie terapii z zastosowaniem zmodyfikowanego schematu pozwoliło na osiągnięcie dawki tolerowanej przez chorego [10]. Autorzy pracy uważają, że pomimo początkowych trudności z uzyskaniem tolerancji preparatu, jest to metoda efektywna i bezpieczna.

1.2 Reakcje krzyżowe

Reakcje krzyżowe (*cross-reactivity*), które definiuje się jako uczulenie na wspólne epitopy wiążące swoiste IgE różnych alergenów, stanowią jeden z najistotniejszych problemów współczesnej alergologii. Występują wówczas, gdy przeciwciała klasy E, wytworzone pierwotnie w kierunku jednego alergenu, rozpoznają białko pochodzące z innego źródła. Może to prowadzić do sytuacji, w której u chorego występuje jednoczesna nadwrażliwość na alergeny wziewne, pokarmowe lub kontaktowe. Zasadnicze znaczenie patogenetyczne ma podobieństwo struktury pierwszo- i trzeciorzędowej białek alergenowych oraz sekwencja aminokwasów, której ponad 70% zgodności daje realne ryzyko wystąpienia reaktywności krzyżowej [1, 2, 181, 289].

Dodatkowymi czynnikami, poza budową alergenów, mającymi wpływ na występowanie reakcji krzyżowych są przebieg reakcji immunologicznej oraz czas trwania ekspozycji na alergen.

1.2.1 Grupy alergenów odpowiedzialne za występowanie reakcji krzyżowych

Wiodącą rolę w rozwoju reakcji krzyżowych odgrywają powszechnie występujące **panalergeny**. Należą do nich **profiliny**, **chitynazy** oraz **lipidowe białka transportowe** (*lipid transfers proteins*, LTP) [289].

Profiliny stanowią rodzinę białek o ciężarach właściwych od 15 do 18 kDa. Regulują wiązanie aktyny w komórkach eukariotycznych oraz są odpowiedzialne za przekazywanie sygnału na drodze fosfatydyloinozytolu [98]. Uczulenie na profilinę stwierdza się u 20-43% chorych z alergią pyłkową i pokarmową [18, 96]. Spotkać je można w pyłkach traw, drzew, chwastów, a także wielu owocach i warzywach. Jeden z alergenów lateksu będący profiliną (**Hev b 8**) wywołuje reakcje krzyżowe z roślinami zawierającymi profiliny [9, 17, 37, 274].

Chitynazy występują jako dwie grupy białek: chitynazy klasy I i II. Klasę I stanowi heweina – białko o ciężarze właściwym 30-45 kDa. Stanowi ono główny alergen owoców związany z tzw. zespołem lateksowo – owocowym (**Hev b 11 i Hev b 6.02**). Klasa II w 60% wykazuje homologię do klasy I. Obie klasy chitynowe stwierdza się w owocach awokado, bananach i kasztanach jadalnych [238]. Endochitynaza 4A jest alergenem głównym winogrona i odpowiada za ciężkie reakcje anafilaktyczne. Stwierdzono, że ten sam alergen utrzymuje swe własności w winie. Winogrono ma też LTP, które odpowiada za reakcje krzyżowe z brzoskwinia [202].

LTP to białka o ciężarze właściwym od 10 do 13 kDa, które są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, wysoce stabilne i odporne na trawienie pepsyną. Uczestniczą w transporcie lipidów wewnątrz błony komórkowej i mechanizmach obronnych roślin przed patogenami środowiskowymi. Obecne są w owocach, warzywach, roślinach strączkowych oraz pyłkach traw, drzew i chwastów [9, 38, 236, 227]. Jeden z alergenów lateksu (**Hev b 12**) wykazuje funkcje LTP. Uczulenie na LTP może wystąpić po doustnym kontakcie z alergenem, a także towarzyszyć pyłkowicy [236]. Nadwrażliwość na tę grupę alergenów jest powodem ciężkich reakcji anafilaktycznych [16, 98]. Objawy są zwykle silniejsze niż w przypadku zespołu alergii jamy ustnej (*oral allergy syndrome*, OAS) i mogą mieć charakter ogólnoustrojowy [38, 159]. Białka te są odporne na działanie temperatury, więc reakcje alergiczne mogą wystąpić także po zjedzeniu przetworzonego termicznie pokarmu. Reakcje krzyżowe pomiędzy LTP różnych alergenów nazywa się zespołem LTP.

Kolejną grupę alergenów wywołujących reakcje krzyżowe stanowią **enolazy**. Enzymy te będące panalergenem grzybów, odpowiedzialne są za procesy glikolizy i glukoneogenezy. Najsilniejszą reaktywność krzyżową wykazano między enolazą pochodzącą z różnych gatunków: *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarium*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium*, *Fusarium solani*. Enolaza grzybów gatunku *Alternaria alternata* (Alt a 5) i *Cladosporium* (Cla h 6) wykazuje podobieństwo sekwencji aminokwasów w około 60% do enolazy lateksu (**Hev b 9**) [98, 251, 285]. Kliniczne znaczenie mają także **dysmutazy podtlenkowe**, zawierające mangan (*manganic superoxide dismutase*, Mn-SOD), np. Asp f 6 alergen *Aspergillus fumigatus*. Międzynarodowy Komitet Nazewnictwa Alergenów zaakceptował Mn-SOD lateksu jako **Hev b 10** [185, 211].

Determinanty węglowodanowe (*cross-reactive carbohydrate determinants*, CCDs) są wspólne dla pyłku roślin, owoców i warzyw [102, 276, 283]. Są to N- i O-glikany wchodzące w skład glikoprotein roślin i organizmów bezkręgowców. Objawy kliniczne związane z CCD nie są częste, ale w pewnych grupach pacjentów mają burzliwy przebieg [173]. Obecność ich stwierdza się u osób uczulonych na jad osy i pszczoły, a także lateks [98, 130, 137, 168], zwłaszcza w populacji osób nadużywających alkoholu [52, 113, 282]. Innym istotnych

alergenem, należącym do tej grupy jest bromelina występująca w ananasiu (Ananias) [9].

Dla pozostałych alergenów pochodzenia roślinnego wywołujących reakcje krzyżowe, nie wykazano tej zależności wobec alergenów lateksu. Należą do nich **polikalcyiny** – białka alergenowe pyłku, mające zdolność wiązania wapnia [98, 174] oraz białka homologiczne z Bet v 1 **białka PR-10** (*pathogenesis related protein*, PR-10). Prowadzone są także badania nad **cyklofilinami**, **białkami taumatynowymi** oraz **białkami magazynowymi** [68, 98].

Podobnie, wśród alergenów pochodzenia nieroślinnego, stwierdza się obecność alergenów mających zdolność wywoływania reakcji krzyżowych, jednakże nie wykazano reaktywności wobec alergenów lateksu. Należą do nich: **tropomiozyna**, alergen pochodzący z włókien mięśniowych krewetek, krabów i ostryg, która jest markerem reakcji krzyżowych pomiędzy roztoczami, skorupiakami i karaluchami [14] oraz **parvalbumina**, główny alergen różnych gatunków ryb, która jest przyczyną reakcji krzyżowych pomiędzy różnymi gatunkami ryb i płazów [39, 115, 167, 258]. Alergenem związanym z reakcją na ryby jest alergen pasożyta ryb *Anisakis simplex* [2, 12]. Innym białkiem pochodzenia zwierzęcego jest **surowicza albumina**, obecna w krwi, mleku, jajkach i mięsie (kurczak, wołowina), odpowiedzialna za reakcje krzyżowe pomiędzy albuminą różnych gatunków zwierząt (zespół wieprzowina-kot, wołowina-pies) [70, 230, 239]. Drouet przedstawił przypadek ciężkiej reakcji anafilaktycznej zakończonej zgonem chorego po spożyciu mięsa dzika [71]. U chorego wcześniej rozpoznano zespół „wieprzowina-kot” [155]. Ogniwem łączącym świat roślin i zwierząt jest **lipokaina** wyizolowana zarówno z alergenów roślinnych (jabłka, wiśnie, truskawki, pieprz), jak i zwierzęcych (pies, kot, mysz, krowa, koń, karaluch) wykazująca ograniczone reakcje krzyżowe pomiędzy gatunkami [2]. W ostatnich latach alergeny te stały się bardziej dostępne, dzięki rozwijającej się technice molekularnej i zastosowaniu metody mikromacierzy.

1.2.2 Alergeny lateksu i ich udział w rozwoju reakcji krzyżowych

Do oznaczania alergenów lateksu stosuje się technikę tzw. immunoblottingu, polegającą na identyfikacji białek za pomocą przeciwciał monoklonalnych, po zastosowaniu rozdzielania z użyciem żelu poliakrylamidowego i nitrocelulozy [212]. Spośród 240 polipeptydów oznaczonych w mleczku kauczukowym, zaledwie 60 wykazuje zdolność do stymulacji produkcji sIgE u pacjentów uczulonych na lateks [28]. Ciężar cząsteczkowy (*molecular weight*, MW) poznanych alergenów, oznaczony metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym w obecności siarczany dodecylu sodu (*sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis*, SDS-PAGE), waha się od kilku do około 100 kDa. Dotychczas tylko 13 alergenów lateksu opatrzone symbolami Międzynarodowego Komitetu Nazewnictwa Alergenów, pozostałe mają nazwy zwyczajowe [185]. Hev b 2, 6.02, 8 i 11 określone zostały jako alergeny główne reakcji krzyżowych i odpo-

wiadają za występowanie zespołu lateksowo-owocowego [45, 74, 213, 225, 237], odgrywają także rolę w systemie obronnym roślin [46, 296]. Profiliny z ekstraktu alergenów lateksu określane jako Hev b 8 [13, 218] a Hev b 4, 5 oraz 8-10 są klasyfikowane jako białka strukturalne [211, 257]. Hev b 5 określana jest jako białko kwaśne lateksu. Wykazuje ono w 46% identyczną sekwencję aminokwasów jak kwaśna proteina występująca w kiwi. Hev b 13 jest głównym alergenem lateksu, dla którego nie stwierdzono dotychczas reaktywności krzyżowej podobnie jak i dla Hev b 1, 3 i 4 [227]. Charakterystykę alergenów lateksu przedstawiono w tabeli 3.

Zestawienie alergenów mogących krzyżowo reagować z lateksem przedstawiono w załączniku 1.

1.2.3 Występowanie reakcji krzyżowych z lateksem

Pokarmy stanowią najczęstszą przyczynę wystąpienia reakcji krzyżowych z lateksem [36, 66]. Na początku lat dziewięćdziesiątych zauważono występowanie reakcji krzyżowych w grupie osób uczulonych na lateks (30-80% chorych), w tym ponad 50% reakcji pojawiało się po spożyciu bananów, papai i awokado. W 30-50% przypadków odpowiedzialne za wystąpienie dolegliwości były kasztany jadalne, kiwi, mango, brzoskwinie i pomidory. U około 30% chorych objawy pojawiały się po spożyciu selera, jabłka, ananasa lub melona. Do pokarmów reagujących krzyżowo z lateksem należą także: pomarańcza, wiśnia, figa, nektarynka, śliwka, gruszka, migdał, grejpfrut, gryka i oberżyna [11, 29, 37, 59, 101]. W niewielkim odsetku przypadków zaobserwowano występowanie reakcji krzyżowych także ze szpinakiem i pieprzem [169, 170].

Przyjmuje się, że około 17-53% osób uczulonych na lateks wykazuje równocześnie cechy uczulenia na owoce tropikalne (zespół lateksowo-owocowy) [147, 295]. Dolegliwości mogą występować zarówno po spożyciu owoców w postaci naturalnej jak i przetworzonej.

Kolejną przyczyną występowania reakcji krzyżowych z lateksem są rośliny doniczkowe (*Ficus Benjamina*) [36, 66]. Opisano także przypadek reakcji anafilaktycznej u osoby z rozpoznaną alergią na lateks wywołanej przez korę winorośli *Marsdenia condurango*, pochodzącej z Ameryki Południowej [205] oraz przypadki reakcji krzyżowych z pyłkami traw, papainą i tytoniem [103, 124, 278]. Alergeny, reagujące krzyżowo z lateksem, pojawiają się także w owocach odległych gatunkowo roślin oraz tkankach zwierząt (np. profilina będąca białkiem cytoszkieletu komórkowego spotykanym w komórkach roślin i zwierząt) [27, 177].

Badanie Raulf-Heimsoth z 2007 r., obejmujące oznaczanie sIgE dla ekstraktu lateksu, a także rekombinowanych i naturalnych alergenów Hev b 1, 2, 3, 5, 6.01, 13 oraz CCD, pozwoliło na dokładne ustalenie profilu alergenowego w grupie

Tabela 3. Charakterystyka alergenów lateksu

Table 3. Latex allergens characteristics

Alergen <i>Allergen</i>	Nazwa biochemiczna <i>Biochemical name</i>	Reaktywność krzyżowa <i>Cross reactivity</i>
Hev b 1	Czynnik wydłużający gumę <i>Rubber elongation factor</i>	Nie stwierdzono <i>Not found</i>
Hev b 2	Beta-1,3-glucanaza <i>Beta-1,3-glucanase</i>	Banan <i>Banana</i>
Hev b 3	Małe cząsteczki gumy <i>Small rubber particle protein</i>	Nie stwierdzono <i>Not found</i>
Hev b 4	Lecytynaza <i>Lecithinase homologue</i>	Nie stwierdzono <i>Not found</i>
Hev b 5	Kwaśne białko lateksu <i>Latex acidic protein</i>	Kiwi <i>Kiwi</i>
Hev b 6	Heveina <i>Hevein</i>	Kapusta polna <i>Turnip</i>
Hev b 7	Patatyna <i>Patatin-like protein</i>	Ziemniak <i>Potato</i>
Hev b 8	Profilina <i>Profilin</i>	Kiwi, jabłko, ananas, banan, brzoskwinia, orzech laskowy i ziemny, pomidor, seler, papryka, marchew, pyłki roślin <i>Kiwi, apple, pineapple, banana, peach, peanut, hazelnut, tomato, celery, paprika, carrot, pollens</i>
Hev b 9	Enolaza <i>Enolase</i>	<i>Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Penicillium</i>
Hev b 10	Dysmutaza nadtlenkowa <i>Superoxide dismutase Mn</i>	<i>Aspergillus</i>
Hev b 11	I klasa chitinaz <i>Class I chitinase</i>	Awokado, banan, kasztan jadalny <i>Avocado, banana, chestnut</i>
Hev b 12	Lipidowe białko transportowe <i>Lipid transfer protein</i>	Kiwi, jabłko, banan, brzoskwinia, seler, pomidor, orzech ziemny, laskowy i włoski, pyłki roślin <i>Kiwi, apple, banana, peach, celery, tomato, peanut, hazelnut, walnut, pollens</i>
Hev b 13	Esteraza <i>Esterase</i>	Nie stwierdzono <i>Not found</i>

pracowników ochrony zdrowia (*health care workers*, HCW), u osób poddawanych licznym zabiegom medycznym, a także cierpiącym z powodu *spina bifida*.

We wszystkich badanych grupach największe stężenie dotyczyło rHev b 5. Wykazano także, że Hev b 2, 5, 6.01 i 13 są alergenami głównymi w grupie HCW, a Hev b 1 i 3 u pacjentów obciążonych *spina bifida*. Natomiast u osób po wielu interwencjach medycznych częściej stwierdza się Hev b 2 i Hev b 6.01. Zaledwie u 8,3% badanych wykazano sIgE dla CCD. Wyniki pokazały, że Hev b 1, 2, 3, 5, 6.01 i 13 są alergenami głównymi i są obecne w ekstrakcie standardowym alergenów lateksu, a CCD odgrywają mniejszą rolę [222].

W 2003 roku grupa naukowców niemieckich podjęła próbę określenia wpływu występowania reakcji krzyżowych z lateksem na przebieg procedur zabiegowych. Badacze udowodnili istotną zależność pomiędzy współistnieniem reakcji krzyżowych a zwiększonym ryzykiem niepożądanych zdarzeń w czasie znieczulenia oraz zabiegu w grupie osób z rozpoznąaną alergią na lateks [120].

1.3 Diagnostyka alergii na lateks

Podstawę diagnostyki alergologicznej stanowi **wywiad**, który, poza informacjami dotyczącymi pojawiających się objawów, powinien wyjaśniać okoliczności ich występowania. Przy podejrzeniu alergii na lateks należy zwrócić uwagę na czas pomiędzy występowaniem dolegliwości po kontakcie z wyrobami lateksowymi oraz ich brak w innych okolicznościach. Istotne jest określenie ekspozycji zarówno zawodowej jak i pozazawodowej (kontakt z różnymi wyrobami zawierającymi lateks, narażenie na rośliny z gatunku *Ficus benjamina*, ekspozycja na alergeny owoców południowych mogących reagować krzyżowo z alergenami lateksu). Dane z wywiadu należy potwierdzić testami skórnymi, badaniami laboratoryjnymi oraz próbami prowokacyjnymi. Rozpoznanie staje się możliwe po wykazaniu miana sIgE w surowicy i/lub dodatnich **punktowych testów skórnych**, które można uzupełnić wykonaniem **atopowych testów płatkowych** (*atopy patch tests*, APT), polegających na wykonaniu klasycznego testu płatkowego z użyciem alergenów atopowych [58, 186]. Zarówno SPT, jak i APT wykonuje się, wykorzystując standardowe wyciągi alergenowe lub stosując wyciągi sporządzane z produktów lateksowych [275]. Ze względu na niedostępność preparatów, zawierających poszczególne białka lateksu, celowe jest stosowanie wyciągów, zawierających możliwie wszystkie białka, będące potencjalnymi alergenami. Aktualnie podejmowane są próby uzyskania preparatów standaryzowanych, o znanym składzie alergenowym, z nadzieją wykorzystania ich w badaniach *in vivo* i *in vitro* [268]. Czułość i swoistość SPT, z dostępnymi na rynku wyciągami alergenów lateksu (Lofarma, Bencard, Allergopharma, Stallergen, ALK-Abello), ocenia się odpowiednio na 54-92% i 91-100% [31, 252, 267]. Niewątpliwą zaletą SPT, z użyciem firmowych wyciągów lateksu, jest łatwość ich wykonywania oraz niski koszt. Niebezpieczeństwem przeprowadzania SPT z lateksem (zarówno z oryginalnymi wyciągami standaryzowa-

nymi, jak i wyciągami sporządzanymi z wyrobów lateksowych) jest ryzyko anafilaksji (ze wstrząsem włącznie), która występuje u 2% badanych [143, 154]. W rozpoznawaniu uczuleń na owoce, mogących być przyczyną reakcji krzyżowych z lateksem, stosuje się rutynowo standardowe wyciągi diagnostyczne. Niektóre doniesienia wskazują na celowość wykonywania SPT z wyciągami ze świeżych owoców, które wykazują wyższą czułość niż wyciągi standardowe [192]. Są także doniesienia o fałszywie ujemnych testach skórnych, jeżeli wykonana się je zbyt wcześnie po reakcji anafilaktycznej [3]. **Testy śródskórne** z wyciągami białek lateksu nie są stosowane w diagnostyce rutynowej, jakkolwiek ich czułość i swoistość oceniane są odpowiednio na 93% i 96% [122]. **Testy płatkowe** wykorzystywane są do diagnostyki alergicznych reakcji kontaktowych, należących do reakcji nadwrażliwości typu opóźnionego.

Podstawą diagnostyki laboratoryjnej, umożliwiającej potwierdzenie rozpoznania alergii na lateks, jest **oznaczanie sIgE**. Stosuje się powszechnie dostępne metody radioimmunologiczne, chemiluminescencyjne i immunoenzymatyczne. Czułość i swoistość oznaczeń zależy od zastosowanej metody i określana jest w przedziałach wartości odpowiednio: 23-100% i 63-80% [144, 252, 267]. Użyte wyniki określone są w klasach (metoda półilościowa) lub jako miano przeciwciał w jednostkach (metoda ilościowa). Powszechnie uważa się, że miano sIgE, przekraczające wartość 0,35 kUA/l (I klasa), oznacza wynik pozytywny [36, 37, 103, 166, 169]. Jednak w opinii niektórych badaczy dopiero wartość sIgE > 0,7 kUA/l (II klasa) upoważnia do uznania wyniku badania jako dodatni [109, 128]. Wskazaniem do wykonania oznaczeń sIgE jest podejrzenie uczulenia na lateks zwłaszcza w sytuacji, w której wyniki SPT z lateksem są ujemne, pacjent obciążony jest ryzykiem anafilaksji lub stan skóry uniemożliwia prawidłowe wykonanie i interpretację prób skórnych. Istotnym problemem diagnostycznym jest ryzyko pojawienia się wyników fałszywie ujemnych oraz fałszywie dodatnich. Uważa się, że rozbieżności pomiędzy negatywnymi wynikami SPT a pozytywnymi oznaczeniami sIgE są związane z obecnością sIgE dla CCD. Badanie opublikowane w *Allergy* w 2010 roku wykazało, że w grupie osób z alergią zawodową (piekarze, rolnicy, stolarze oraz pracownicy ochrony zdrowia) rozpowszechnienie CCD wynosi jedynie 10% [292]. Wydaje się zatem, że dotychczas nie ma podstaw do włączania tego markera do panelu testów diagnostycznych alergii na lateks. Natomiast porównanie oznaczeń sIgE z wykorzystaniem ekstraktu oraz rekombinowanych alergenów lateksu wskazało niezbitcie na przewagę tych drugich w wykrywania uczulenia [129]. Ma to istotne znaczenie w prewencji zagrażających życiu reakcji anafilaktycznych, których nie udało się potwierdzić rutynową diagnostyką [129, 218]. W 2005 roku opublikowano badanie porównujące sIgE ze standardowym ekstraktem alergenowym lateksu k82 oraz ekstraktem wzbogaconym o Hev b 5 (k82+). Wykazano wysoką korelację pomiędzy zastosowanymi ekstraktami – 77,7%. Czułość i swoistość oceniono na 92,8 i 95% dla k82+ oraz na 85,7 i 100% dla k82. Podwyższone wartości sIgE dla obu zastosowanych ekstraktów stwierdzono u 37% badanych [129].

Kolejną metodą badawczą, która może znaleźć szerokie zastosowanie w diagnostyce pokarmowych reakcji krzyżowych, jest technika **immunoblottingu**. Pierwszym etapem badania jest elektroforeza białek zawartych w ekstrakcie alergenowym w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE). Białka rozdzielane są w zależności od ich mas cząsteczkowych. Następnie rozdzielone białka przenoszone są na matrycę o dużych zdolnościach absorpcyjnych, gdzie wykrywa się je za pomocą swoistych pierwszorzędowych obecnych w surowicy przeciwciał i przeciwciał drugorzędowych antyimmunoglobulinowych znakowanych. Stosuje się różne metody detekcji – enzymatyczne, chemiluminescencyjne, bioluminescencyjne i chemifluorescencyjne. W pierwszej części badania może dojść do niezaplanowanej denaturacji białka, a to niesie za sobą możliwość zniszczenia części epitopów. W konsekwencji, niemożliwe może być prawidłowe oznaczenie sIgE przeciw epitopom alergenowym odpowiedzialnym za ich powstanie. Pomimo opisanych ograniczeń metodycznych, immunoblotting może stanowić cenne uzupełnienie rutynowej diagnostyki, zwłaszcza w odniesieniu do problemów związanych z rozpoznaniem alergii pokarmowej. Prowadzi się także ocenę immunoblottingu w rozpoznawaniu innych jednostek chorobowych. Na przykład w grupie osób z objawami nieżytu nosa i spojówek jego czułość i swoistość wynosiły odpowiednio 56,1% i 100%, predykcja dodatnia i ujemna 100% i 93,3% a dokładność 94,4% [121]. Test ten stosuje się także do różnicowania reakcji krzyżowych w zespole lateksowo-owocowym, a to umożliwia właściwe zaplanowanie SIT w tej grupie chorych [160].

Każdorazowo w przypadku niezgodności pomiędzy wywiadem a wynikami badań dodatkowych, diagnostyka powinna być uzupełniona o wykonanie **prób prowokacyjnych**. Istotnym problemem jest brak standardów dotyczących ich przeprowadzania, a to powoduje ryzyko pojawiania się wyników zarówno fałszywie dodatnich jak i ujemnych. Do najczęstszych przyczyn nieprawidłowości zalicza się różnice w doborze dawki, czasu ekspozycji oraz sposobu oceny objawów. Wiadomo też, że objawy alergii nie zawsze pojawiają się po każdorazowym kontakcie z alergenem. Warunkiem wystąpienia objawów może być równoczesowa ekspozycja na uczulający alergen i działanie czynników nieswoistych. Odpowiada to zasadzie sumowania się bodźców, która ma znaczenie w pokarmowych anafilaksjach powysiłkowych i niektórych przypadkach pokrzywki. Mimo braku danych literaturowych na temat znaczenia mechanizmu sumowania się bodźców w niektórych przypadkach alergii na lateks, wydaje się on prawdopodobny. Ze względu na częstą lokalizację objawów dotyczącą skóry, największe znaczenie praktyczne mają testy tego narządu: **test ekspozycji skóry rękawicą lateksową** i tak zwany „**test potarcia**” **rękawicą** [123, 229]. Metody te cechuje różna czułość, która zależy od rodzaju rękawic. Uważa się, że czułość prób z lateksem można zwiększyć, wykonując je na skórze uprzednio pozbawionej powierzchniowej warstwy naskórka (technika „stripping”) [123, 248]. **Test ekspozycji spojówek**, który po raz pierwszy został opisany przez Abelsona [4], w diagnostyce alergii na lateks i nietolerancji wyrobów lateksowych wykony-

wany jest sporadycznie. **Test prowokacji błony śluzowej nosa** przez wiele lat oceniany był jedynie na podstawie nasilenia subiektywnych objawów i makroskopowej oceny reakcji błony śluzowej nosa. Wprowadzenie metody rynomatometrii umożliwiło obiektywizację jednej z cech reakcji, którą jest upośledzenie drożności. W rozpoznawaniu alergii na lateks, metodę tę wprowadziła Jaeger i wsp. [135]. Walusiak i Pałczyński uzupełnili ocenę rynomatometryczną o badanie cytologiczne i biochemiczne popłuczyn nosowych, pozyskiwanych przed i po ekspozycji śluzówki nosa na lateks [198]. Czułość i swoistość próby prowokacji błony śluzowej nosa lateksem szacowana jest odpowiednio na 84% i 100% [198]. Kolejne badania oceniają czułość na 96%, a swoistość, predykcję ujemną i predykcję dodatnią odpowiednio na 100%, 98% i 100% [271]. **Próby prowokacji wziewnej** znajdują zastosowanie w rozpoznawaniu astmy w przebiegu alergii na lateks. Jedną z odmian prób prowokacji wziewnej, stosowanych w diagnostyce astmy zawodowej, jest odtworzenie warunków stanowiska pracy poprzez manipulowanie talkowanymi rękawicami gumowymi przez 20-60 minut lub do chwili pojawienia się cech obturacji oskrzeli. Próbę tę wykonuje się także, wykorzystując technikę, polegającą na rozpyleniu ekstraktu lateksu w pomieszczeniu za pomocą nebulizatora i umieszczeniu tam chorego na 15 minut lub na taki czas, w jakim pojawiają się cechy obturacji oskrzeli. U wszystkich badanych, bez względu na rodzaj użytej metody, monitoruje się szczytowy przepływ wydechowy (*peak expiratory flow*, PEF) i natężoną objętość wydechową pierwszosekundową (*forced expiratory volume in one second*, FEV₁) przez okres 24 godzin [199]. Próby prowokacji wziewnej lateksem wiążą się z ryzykiem anafilaksji większym niż próby ekspozycji skóry i powinny być wykonywane w warunkach szpitalnych przez zespół dysponujący doświadczeniem i możliwościami technicznymi podjęcia natychmiastowej resuscytacji. Próba wziewnej ekspozycji na lateks może wywołać zarówno wczesną, jak i późną reakcję obturacyjną oskrzeli. Opisano występowanie izolowanych reakcji wczesnych i późnych, jak też reakcji dwufazowych [206]. Biorąc pod uwagę możliwość uzyskania fałszywie ujemnego lub fałszywie dodatniego wyniku próby prowokacji, stwierdzenie wyniku ujemnego nie wyklucza ostatecznie podejrzenia alergii. Wynik dodatni nie zwalnia od obowiązku uwzględnienia innych czynników, mogących wyzwać objawy. Należą do nich uprzednio niezidentyfikowane alergeny nie związane z lateksem, wpływ czynników nieswoistych oraz obecne w produktach gumowych przyspieszacze wulkanizacji i przeciwutleniacze, mogące być przyczyną reakcji alergicznych typu DTH.

W diagnostyce alergii na pokarmy, w tym także owoce reagujące krzyżowo z lateksem, stosuje się próby prowokacyjne otwarte z pokarmem niezamaskowanym oraz pojedyncze ślepe próby. Jednakże jako złoty standard diagnostyki alergii pokarmowej uznaje się **podwójnie ślepą próbę kontrolowaną placebo** (*double-blind, placebo-controlled, food challenge*, DBPCFC) [24]. Trudności związane z prawidłowym wykonaniem badania oraz ryzyko wywołania ciężkiej reakcji anafilaktycznej znacznie ograniczają możliwości jej stosowania. Okre-

ślenie alergenowo swoistych przeciwciał, podobnie jak w diagnostyce alergii na lateks, wykonuje się jedną z dostępnych metod laboratoryjnych. Jednakże obserwuje się brak korelacji pomiędzy objawami nadwrażliwości na pokarmy a obecnością sIgE w surowicy. Wyniki badań międzynarodowego programu EuroPrevall pokazały konieczność prowadzenia pełnej diagnostyki alergologicznej, zwłaszcza w grupie dzieci w wieku szkolnym, u których podejrzewa się alergię pokarmową. Oznaczenia sIgE z badanymi pokarmami, jako jedyne narzędzie badawcze wykazują ograniczoną przydatność diagnostyczną [171]. Badania dotyczące polskiej populacji młodych zdrowych mężczyzn wykazały, że częstość uczulenia na pokarmy wykazana za pomocą sIgE sięga 11% [22]. Podobne badania, wykonane wśród dorosłych mieszkańców Łodzi, wykazały, że wśród osób zgłaszających objawy po spożyciu pokarmów jedynie 7% ma objawy alergii pokarmowej potwierdzonej dodatnimi wynikami testów skórnych i oznaczeń sIgE [138]. Uzupełnienie diagnostyki o wykonanie DBPFC zwielokrotnia szanse na prawidłowe rozpoznanie, a jest to konieczne, zwłaszcza w grupie osób, u których występowanie objawów może być związane z alergenami wywołującymi ciężkie reakcje anafilaktyczne, takimi jak np. orzechy [119]. Bardzo często, zarówno w grupie dzieci, jak i dorosłych, alergja pokarmowa związana jest z alergenami inhalacyjnymi, głównie pyłkami. Klasycznymi przykładami są wcześniej opisywane zespoły lateksowo-owocowy i alergii jamy ustnej. Za zjawisko to odpowiedzialnych jest 14 klas białek PR. Narażenie rośliny na infekcję, uszkodzenie, środki chemiczne (zbyt długa konserwacja, metody służące przyspieszaniu sztucznego wzrostu) prowadzą do ochronnego wytwarzania białek PR i innych alergenów. Chroni to pokarmy przed zakażeniami oraz infestacjami, i jest podstawą biotechnologicznych procesów uprawy roślin. Istotne wydaje się, aby pojawiające się w związku z powyższym problemy alergologiczne były dyskutowane w aspekcie biotechnologii rolnictwa. Wzajemne zrozumienie spowoduje uprawę zdrowej żywności, co jest ważne zwłaszcza dla tej części populacji, która jest predysponowana do reagowania alergicznie na białka PR [228].

1.3.1 Testy komórkowe w diagnostyce alergii

Próby wykorzystania degranulacji bazofilów w diagnostyce alergologicznej podejmowane były od wielu lat. W 1984 roku Górski przedstawił wyniki badania polegającego na degranulacji bazofilów w diagnostyce alergologicznej *in vitro* na przykładzie astmy pyłkowej, ukazując, że jest to wartościowe, specyficzne narzędzie diagnostyczne [114].

Pomimo niewielkiej reprezentacji bazofilów we krwi obwodowej, odgrywają one zasadniczą rolę w patogenezie reakcji alergicznych i to na nich oparto większość stosowanych testów komórkowych. **Test uwalniania histaminy** (*histamin release test*, HRT) pod wpływem swoistego antygeny lub bodźca nieswoistego może być badaniem pomocnym w rozpoznaniu czynnika alergizującego. Dodat-

kowo określa podatność bazofilów na degranulację i uwalnianie histaminy, co ma zasadnicze znaczenie w terapii lekami przeciwhistaminowymi. HRT pozwala na odróżnienie populacji pacjentów, których bazofile nie odpowiadają na stymulację (*non-releasers*). Uwalnianie tryptazy z bazofilów (*tryptase release test*, TRT) jest wykonywane sporadycznie, traktuje się tę endoproteazę jako główny marker komórek tucznych. Coraz więcej uwagi poświęca się granzynom B (GzmB), będącym serynowymi proteazami, które są *de novo* syntetyzowane i uwalniane z bazofilów przez egzocytozę na drodze zarówno alergicznej, jak i niealergicznej [117].

Testy komórkowe, polegające na wykorzystaniu innych niż bazofile komórek, wykonuje się rzadziej. **Test stymulacji komórek alergenem** (*cellular allergen stimulation test*, CAST) umożliwia ocenę produkcji *de novo* sulfidoleukotrienów (*sulfdoleukotriens*, SLTs) przez wyizolowane leukocyty krwi obwodowej stymulowane swoistym alergenem w obecności niewielkich stężeń interleukiny 3 i 5 (*interleukin*, IL) lub czynnika stymulującego powstawanie kolonii granulocytów i makrofagów (*granulocyte-macrophage colony stimulating factor*, GM-CSF). Wykazano dużą zgodność tego testu z próbami skórnymi i sIgE, a mimo to jego wartość diagnostyczna jest umiarkowana [300]. Metody takie, jak: oznaczanie mediatorów biochemicznych: **tryptazy i eozynofilowego białka kationowego** (*eosinophil cationic protein*, ECP), **testy transformacji blastycznej limfocytów** oraz **hamowania migracji leukocytów i makrofagów** nie znalazły zastosowania w rutynowej diagnostyce i są wykorzystywane jedynie w badaniach naukowych [189, 288]. W różnicowaniu reakcji krzyżowych i uczuleń wieloważnych wykorzystuje się głównie testy oparte na stymulacji bazofilów.

1.3.2 Test aktywacji bazofilów

Test aktywacji bazofilów (*basophil activation test*, BAT) jest metodą stosowaną w diagnostyce reakcji anafilaktycznych, których przyczyny nie udaje się rozstrzygnąć na podstawie rutynowej diagnostyki alergologicznej (SPT, sIgE). Ze względu na bezpieczeństwo związane z wykonywaniem tego badania, powinno znaleźć zastosowanie u osób, u których istnieje duże ryzyko ponownej nasilonej reakcji w trakcie wykonywania swoistej próby prowokacyjnej. Najczęściej wykorzystuje się je w przypadku diagnostyki reakcji występujących po pokarmach lub użądleniach przez owady błonkoskrzydłe, a także reakcji polekowych. W kilku opracowaniach wykazano wartość BAT w diagnostyce reakcji anafilaktycznych po kontakcie z lateksem, barwnikami, konserwantami i środkami kontrastowymi. Jednakże, ze względu na wysoki koszt odczynników stosowanych do testu oraz konieczność wyposażenia pracowni diagnostycznej w cytometr przepływowy, nie znalazł on dotychczas zastosowania w rutynowej diagnostyce alergologicznej, pozostając narzędziem badań naukowych [34, 40, 61, 64, 85, 90, 214, 245, 263, 273].

BAT, będący metodą bezpieczną dla chorego, wymaga jedynie odstawienia leków przeciwhistaminowych (podobnie jak przy wykonywaniu SPT), glikokortykosteroidów stosowanych ogólnie i leków przeciwdepresyjnych. Warto wspomnieć, że badania zespołu Wolańczyk-Mędrali z 2009 roku, dotyczące wpływu podania cetyryzyny na wynik BAT, nie potwierdziły konieczności odstawiania leków przeciwhistaminowych. Badanie przeprowadzono dwukrotnie i z dwoma rozcieńczeniami alergenów, przed i 2 godziny po przyjęciu 20 mg cetyryzyny. Uzyskane wyniki nie wykazały istotnej różnicy wyniku BAT [294].

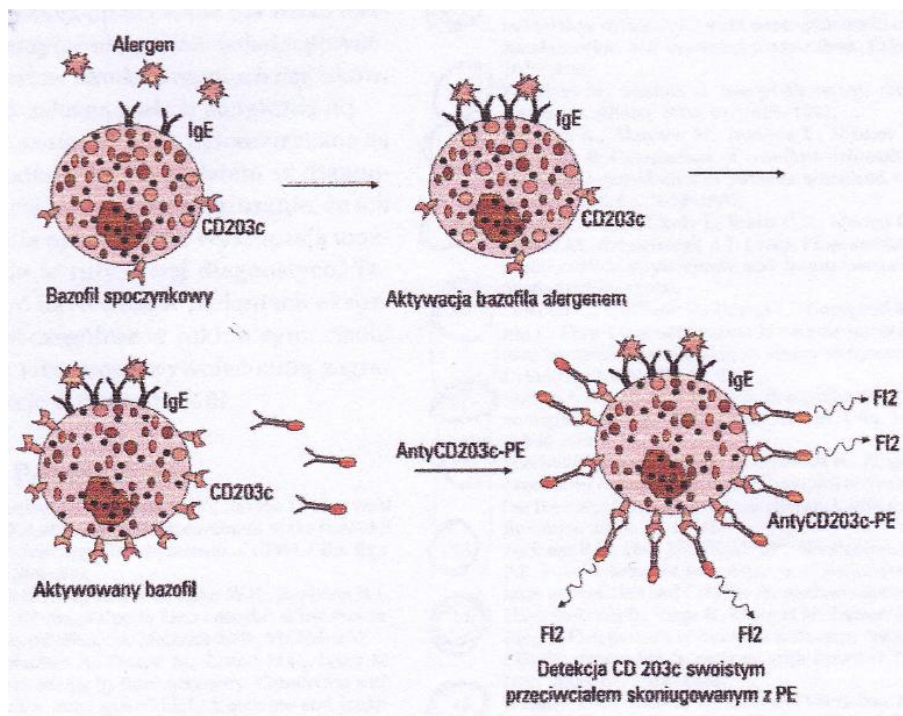
W omawianej metodzie krew chorego po inkubacji z dodanym alergenem poddaje się analizie w cytometrze przepływowym, oceniając stopień aktywacji bazofilów. Najczęściej w badaniu wykorzystuje się markery różnicowania CD63 i CD203c (*cluster of differentiation*, CD), będące markerami pojawiającymi się na powierzchni bazofila po aktywacji. Antygen CD63, należący do nadrodziny białek transbłonowych, pojawia się na różnych rodzajach komórek: bazofilach, mastocytach, płytkach krwi i makrofagach. Nazywany jest białkiem błonowym związanym z lizozymem (*lysosome-associated membrane protein*, LAMP-3). Uważa się, że jest najbardziej wiarygodnym markerem aktywacji, chociaż ostatnie opracowania częściej wykorzystują marker CD203c, którego swoistość jest porównywalna, bliska 100%. Marker CD203c (*ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 as a type II transmembrane protein*), należący do wielogenowej rodziny pirofosfataz/fosfodiesteraz, nazywany jest neuronalnym powierzchniowym antygenem różnicowania neuronów. Jest on charakterystyczny dla bazofilów i nieobecny na innych limfocytach. Został po raz pierwszy zastosowany do badania BAT w 2001 roku przez Platz'a [207]. Uważa się, że ekspresja CD203c ujawnia się po aktywacji receptorów dla fragmentów Fc immunoglobuliny klasy E [34].

Podjęte próby wykorzystania innych markerów do BAT. W ostatnim czasie zidentyfikowano CD13, CD164 i CD107a, z których dwa pierwsze wykazują podobieństwo do CD203c, trzeci z badanych markerów odpowiada ekspresji CD63. Nie znalazły jednak dotychczas zastosowania w rutynowej diagnostyce [34].

W badaniach dotyczących alergii na lateks najwyższą czułość wykazano wykorzystując do BAT, CD203c [35]. Poniższa rycina (wg Potapińskiej i wsp.) przedstawia schemat oceny aktywacji bazofilów na podstawie ekspresji tego markera [214].

Dotychczas nie udało się ustalić standardów dotyczących rozcieńczeń badanych alergenów [84, 89, 103, 180, 215, 244]. Podobnie, próbuje się ustalić, jakie jest optymalne rozcieńczenie histaminy [47, 231, 232]. Udowodniono jedynie, że niskie stężenia, a więc wysokie rozcieńczenia histaminy, hamują ekspresję CD203c [47]. Przeprowadzono także badanie dokumentujące wpływ flawonoidów takich jak np. quercetin (różne stężenia) na aktywność markerów zarówno CD63 jak i CD203c [48]. W 1991 roku Knol, jako pierwszy, przedstawił koncepcję zastosowania markerów aktywacji bazofilów w diagnostyce immunolo-

gicznej. Zastosował pomiar ekspresji CD63, która jest glikoproteiną o MW 53 kDa obecną w błonie lizosomalnej i jest wyrażona przez wysoką gęstość zaktwowanej błony bazofilów [148].



Rycina 3. Ocena aktywacji bazofilów z wykorzystaniem ekspresji antygeny CD203c (połączenie fragmentu Fab IgE na powierzchni komórki z antygenem → degranulacja komórki → wzrost ekspresji CD203c → detekcja przeciwciała sprzężonego z fluorochromem) [214]

Figure 3. Basophil activation scheme using CD203c antigen as activation marker (secondary to IgE binding to its receptor → basophil degranulation → increased CD203c antigen expression → detection conjugated antibody with fluorescent dye) [214]

Wskazaniem do wykonania BAT są ciężkie reakcje anafilaktyczne pojawiające się po użądleniach przez owady błonkoskrzydłe, lekach, pokarmach i latakach.

A. Jady owadów błonkoskrzydłych

Po raz pierwszy w 1970 roku Lichtenstein, a następnie Sobotka stosowali test uwalniania histaminy z bazofilów dla scharakteryzowania składu alergeno-

wego jadu owadów błonkoskrzydłych [162, 253]. Kilkanaście lat później badania Przybilli w większej grupie pacjentów, pozwoliły określić czułość i swoistość metody. Zauważono, że uwalnianie histaminy zależne jest od pochodzenia jadu [216]. Próbowano także zastosować BAT w celu przewidywania działań niepożądanych w trakcie prowadzenia immunoterapii swoistej (*venom immunotherapy*, VIT) stosowanej u chorych z rozpoznąą alergią na jad owadów błonkoskrzydłych. Badania przeprowadzono przed rozpoczęciem terapii, nie stwierdzono różnic w zależności od stopnia reakcji przed leczeniem a wynikiem BAT [78, 82, 87, 94, 150, 176, 204, 255]. Prowadzone są także badania różnicujące reakcje krzyżowe pomiędzy różnymi gatunkami owadów [79]. Sainte-Laudy przeprowadził badania porównujące BAT z HRT oraz wydzielaniem leukotrienu C4 (*leukotriene C4*, LTC4). Wyniki autora były porównywalne dla BAT i wydzielania LTC4 i znacznie lepsze niż w przypadku HRT [234, 235]. BAT wykonywano także, próbując określić udział poszczególnych alergenów jadu osy (*Ves v 1*, *Ves v 2*, *Ves v 5*) i pszczoły (*Api m 1*, *Api m 2*, *Api m 4*), jako potencjalnych przyczyn reakcji anafilaktycznej. Binder, wykorzystując marker CD203c, ustalił, że wśród badanej populacji, częstość *Ves v 5* i *Ves v 2* była porównywalna i nieznacznie przewyższała udział *Ves v 1*. W grupie osób, u których występowały reakcje po użądleniach przez pszczoły, najczęstszym czynnikiem sprawczym był *Api m 2*, w nieco mniejszym odsetku *Api m 1*, natomiast u nikogo nie stwierdzono uczulenia na *Api m 4* [32]. Czułość i swoistość BAT w tej grupie chorych przy wykorzystaniu CD63 wynosi 85-100% i 83-100% oraz 83-100% i 89-100% przy wykorzystaniu CD203c [73, 76, 77, 80, 87, 149, 158, 203, 255].

B. Leki

Najwięcej opracowań dotyczy zastosowania BAT w diagnostyce reakcji po lekach miejscowo znieczulających i zwiotczających mięśnie [5, 109, 256] oraz antybiotykach [75, 91], przy czym wśród tych ostatnich najczęściej opracowań dotyczy grupy beta-laktamów [62, 233, 240]. Podejmowano także próby przeprowadzenia tej metody w odniesieniu do leków przeciwzapalnych (metylprednizolon, aspiryna i inne leki niesterydowe przeciwzapalne) [30, 44]. Czułość i swoistość powyższych badań oceniono odpowiednio na 36-97,7% i 95% dla leków zwiotczających mięśnie, 50% i 90% dla beta-laktamów oraz 66-75% i 93% dla niesterydowych leków przeciwzapalnych [83, 127, 241, 243]. Zespół badaczy Uniwersytetu Medycznego w Łodzi przeprowadził badanie, którego celem była ocena wpływu aspiryny i innych niesterydowych leków przeciwzapalnych (*non steroid anti inflammatory drugs*, NSAIDs) na ekspresję CD63 na bazofilach krwi obwodowej oraz uwalnianie histaminy przez bazofile. Badanie wykonane u chorych z pokrzywkowo-obrzekową postacią nadwrażliwości na aspirynę i inne niesterydowe leki przeciwzapalne w porównaniu do osób zdrowych bez nadwrażliwości, wykazało, że NSAIDs, inne niż kwas acetylosalicy-

lowy (*acetylsalicylic acid*, ASA), w zróżnicowany sposób wpływają na aktywację bazofili w badanych grupach [156]. BAT stosowany jest także w badaniach naukowych oceniających efektywność stosowanych leków. Przykładem może być porównanie trzech leków stosowanych w agresywnej mastocytozie (imatinib, nilotinib, midostaurin), które to badanie wykazało najwyższą efektywność działania midostaurinu [153]. Opublikowano także przypadek chorej, u której, w trakcie embolizacji dróg żółciowych z powodu raka, po podaniu cisplatyny, gemcitabiny i mitomycyny, doszło do ciężkiej reakcji anafilaktycznej. BAT z użyciem CD63 umożliwił ustalenie przyczyny anafilaksji, którą była cisplatyna [281]. Podejmuje się także próby wykorzystania BAT do monitorowania skuteczności leczenia anty-IgE [187].

C. Pokarmy

Reakcje anafilaktyczne po spożyciu pokarmów stanowiły jedno z pierwszych wskazań do wykonania BAT, zwłaszcza u chorych, u których próby prowokacyjne wiązały się z dużym ryzykiem ponownej reakcji. Wykonywano je także w celu różnicowania z reakcjami krzyżowymi, głównie z alergenami pyłkowymi. Wśród wielu badań opisujących powyższe zjawisko spotkać można takie, w którym uczulonych na pyłki traw badano w kierunku reakcji krzyżowej z jabłkiem [84], czy też wśród uczulonych na pyłek brzozy badania przeprowadzono z selerem, marchwią, orzechem włoskim i jabłkiem [93, 95]. Autorzy większości prac uważają, że pomimo nadal obowiązującego złotego standardu jakim jest DBPCFC, BAT może być wartościowym uzupełnieniem diagnostyki, cechującym się pełnym bezpieczeństwem badania. BAT wykorzystano także w badaniu wielu innych alergenów pokarmowych: ryb, oberżyny, awokado, banana, brzoskwini, orzechów ziemnych i jaj [88, 106, 107, 190, 219]. Czułość i swoistość BAT w diagnostyce alergii pokarmowej ocenia się odpowiednio na 76-89,5% i 94,1-97,1% [179, 190, 249].

D. Lateks

Od około 10 lat prowadzone są badania wykorzystujące BAT w diagnostyce alergii na lateks. Czułość i swoistość BAT w tej grupie chorych przy wykorzystaniu CD63 wynosi 75-87% i 87-100% oraz 50% i 100% przy wykorzystaniu CD203c [35, 242]. W badaniu wykorzystuje się zarówno ekstrakty standardowych alergenów, jak i alergeny rekombinowane. Opracowanie Sanz'a z 2006 roku, dotyczące 23 chorych i 10 zdrowych dzieci, obejmowało określenie profilu uczulenia na lateks. SIgE wykonano z rekombinowanymi alergenami lateksu: rHev b1, 2, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11 oraz k82, natomiast do BAT wykorzystano alergeny rekombinowane rHev b 5 i rHev b 6.01 oraz naturalny Hev b 6.02. W badaniu określano także liczbę przebytych interwencji medycznych, wykluczając zabiegi dotyczące układu moczowo-płciowego, w grupie dzieci ze *spina bifida*. Dodatkowo sIgE z rHev b 5 stwierdzono u 10 badanych, z rHev b 6.01 u 16,

z rHev b 6.02 u 15 oraz z rHev b 8 u czworga dzieci. W grupie dzieci, które przebyły 2 lub więcej zabiegów, istotne różnice stwierdzono jedynie w przypadku rHev b 5. U dzieci z zespołem lateksowo-owocowym stwierdzono alergię jedynie na rHev b 6.02. Wśród dzieci atopowych statystycznie częściej dodatnie były oznaczenia z rHev b 8, rHev b 9 i rHev b 11. U czworga dzieci mających objawy pyłkowicy stwierdzono rHev b 8. Czulość i swoistość sIgE dla k82 oceniono na 100%. BAT oceniono jako dodatni dla k82 u 22 z 23 chorych, w tym z rHev b 5 u 14, rHev b 6.01 u 7 i rHev b 6.02 u 19 badanych. W grupie kontrolnej wszystkie badania były negatywne. Autorzy pracy wnioskowali przyjęcie BAT jako standardu diagnostyki *in-vitro* [244].

E. Powszechne aeroalergeny

Przydatność BAT wykazano także w rozpoznawaniu przyczyn reakcji anafilaktycznych pojawiających się po kontakcie z alergenami pyłków traw i brzozy u chorych, u których inne testy diagnostyczne były ujemne [234]. Metodę tę wykorzystuje się także w diagnostyce reakcji anafilaktycznych występujących po kontakcie z innymi aeroalergenami: alergenem kota oraz *Dermatophagoides pteronnyssinus*, przy czym testy te miały zadowalające wartości czulości (93,3%) i swoistości (98,4%) metody [191, 246].

F. Badania ekstraktów alergenowych

Działy Naukowo-Badawcze firm farmaceutycznych produkujących ekstrakty alergenowe, wykorzystują BAT w ocenie aktywności alergenowej modyfikowanych alergenów. Wyniki badań wskazują, że alergoidy mają znacznie zredukowane zdolności aktywacji bazoofilów w porównaniu do niemodyfikowanych ekstraktów [140].

Wadą wykorzystywania bazoofilów w omawianej powyżej metodzie jest brak odpowiedzi na stymulację alergenową w niektórych przypadkach. Dotyczy to około 5% badanych, określanych jako „nie-uwalniaczy” (*non-releasers*), u których nie dochodzi do degranulacji pod wpływem wiązania z IgE. Zjawisko to dotyczy zarówno populacji chorych, jak i zdrowych osób i może być przyczyną fałszywie ujemnych wyników. Zjawisko nie uwalniania histaminy związane jest z brakiem kinaz tyrozynowych Lyn i Syk [300]. Badania innych autorów ukazujące wyższy odsetek „nie-uwalniaczy” (28%) wskazują na istotny związek z obniżeniem ekspresji receptora dla fragmentu Fc IgE o wysokim powinowactwie (*high-affinity receptor for Fc IgE fragment*, FcεRI) [72, 157, 220, 298].

Istotnym ograniczeniem stosowania BAT, poza kosztami, jest brak jednokowych zestawów odczynników produkowanych przez firmy. Prowadzi to do stosowania przez badaczy różnych kontroli oraz różnych rozcieńczeń badanych substancji. W związku z powyższym w 2007 roku podjęto inicjatywę (*EuroBAT initiative*) w celu opracowania szczegółowych zaleceń dotyczących wykonywa-

nia testu. Kolejnym ograniczeniem metody jest konieczność wykonania badania maksymalnie w ciągu 24 godzin od pobrania materiału.

Pomimo tych ograniczeń, niewątpliwą zaletą jest bezpieczeństwo, mała inwazyjność dla chorego (niewielka ilość materiału niezbędna do wykonania BAT) oraz podkreślana przez większość autorów, wysoka czułość.

1.3.3 Technika mikrooznaczeń

Technika mikrooznaczeń została wprowadzona do nowoczesnej diagnostyki przed kilkunastu laty. Polega ona na miniaturyzacji, która umożliwiła jednoczesne wykonywanie wielu oznaczeń w fazie stałej mikroplątki, na której związane są różnego rodzaju cząsteczki. Mają one zdolność swoistego reagowania z różnymi cząsteczkami w badanym materiale. Metodę tę pierwotnie zastosowano w badaniach dotyczących ekspresji genów, z zastosowaniem kwasów nukleinowych. Obecnie coraz częściej wykorzystuje się tę technikę do mikrooznaczeń białek (*protein microarray*). Po raz pierwszy technika ta została wykorzystana przez Zhu, który umieścił na płytce 6300 białek kodowanych przez *Saccharomyces cerevisiae* [299].

Aktualnie do techniki mikrooznaczeń używa się płytek o niskiej (od kilkunastu do około 100 cząsteczek) i wysokiej gęstości (do kilku tysięcy cząsteczek). Na używanej do badania mikroplątkie inkubuje się badany materiał, a następnie dokonuje odczytu. Technika *protein microarray* znalazła zastosowanie w badaniu ekspresji białek komórkowych, wykrywania mikroorganizmów, komórkowych antygenów powierzchniowych, przeciwciał oraz analizy proteomu. Wykorzystywana jest także w diagnostyce alergologicznej, wypierając pomału dotychczas stosowane testy diagnostyczne. Mikroplątki stosowane w diagnostyce alergologicznej zawierają ekstrakty, wysoko oczyszczone rekombinanty lub naturalne komponenty alergenowe.

Od około 20 lat prowadzi się badania nad uzyskaniem alergenów rekombinowanych, które otrzymuje się z wykorzystaniem technologii rekombinacji kwasu dezoksyrybonukleinowego (*deoxyribonucleic acid*, DNA). Termin „rekombinowany alergen” oznacza, że jest on wytwarzany przez inny organizm niż ten, z którego pierwotnie pochodzi. Przeważnie wykorzystuje się w tym celu bakterie *E. coli* lub komórki drożdży. Technika rekombinacji stwarza możliwość uzyskania nieograniczonych ilości doskonale oczyszczonego alergenu o dokładnie zdefiniowanej strukturze. Wykorzystuje się to między innymi do uzyskiwania hipoalergicznymi preparatów do SIT, np. do leczenia osób, u których wykazano reaktywność krzyżową związaną z obecnością profilin [290].

1.4 Alergeny rekombinowane

Termin „alergen główny” oznacza, że uczulonych jest ponad 50% chorych reagujących na materiał będący źródłem alergenów, natomiast „alergen mniej-

szy” uczuła względnie mały odsetek pacjentów. To właśnie alergeny główne są w centrum uwagi w pracach nad alergenami rekombinowanymi, ponieważ stanowią ligandy dla znacznego odsetka swoistych alergenowo przeciwciał klasy E wywołujących reakcję alergiczną [54]. Rutynowa diagnostyka alergologiczna, a także swoista immunoterapia oparte są na pełnych ekstraktach alergenowych. Jednym z istotnych problemów ich stosowania są trudności związane ze standaryzacją preparatów. Konsekwencją tego jest brak możliwości określenia prawidłowego składu alergenowego stosowanego ekstraktu, brak możliwości uzyskania właściwego stężenia alergenu oraz niestabilność preparatu. Dodatkowym problemem może być pojawienie się nowego uczulenia na inne składniki ekstraktu. Powyższe problemy skłoniły do poszukiwania nowych rozwiązań. Stało się to możliwe wraz z rozwojem inżynierii genetycznej, która umożliwiła wprowadzenie rekombinowanych alergenów zarówno do diagnostyki *in vivo* jak i *in vitro*. Pozwoliło to na określenie właściwej cząsteczki uczulającej. Alergeny rekombinowane są dokładnie scharakteryzowane zarówno pod kątem sekwencji aminokwasów, jak i konfiguracji przestrzennej, właściwości fizykochemicznych, jak i immunogenności. Podstawą ich otrzymywania jest znajomość genów odpowiedzialnych za ekspresję konkretnego białka i wprowadzenie materiału genetycznego kodującego cząsteczki poszczególnych alergenów do komórek drożdży, bakterii lub wirusów, w których są następnie syntetyzowane [300]. Opublikowane w 2010 roku wyniki badań niemieckich autorów wykazały, że zastosowanie *Pichia pastoris* gwarantuje uzyskanie największych ilości rozpuszczalnych, odpowiednio złożonych i biologicznie aktywnych alergenów rekombinowanych [208]. Jakość wyciągu alergenowego zależy od źródła, z którego pochodzi, a także od ekstrakcji i oczyszczania. Jednym z najistotniejszych elementów jest prawidłowa standaryzacja. Konieczne są powtarzalne warunki, aby zapewnić powtarzalny skład. Istotą standaryzacji jest wykazanie zgodności składu białkowego oraz profilu IgE reaktywnych alergenów w połączeniu z oceną ilościową zawartości poszczególnych alergenów. Dodatkowym osiągnięciem jest eliminacja białek niealergenowych, uniknięcie wprowadzenia alergenów z innego źródła oraz czynników infekcyjnych z materiału źródłowego [54].

Tylko w niewielu przypadkach wyciąg zawiera 1 główny alergen i ewentualnie dodatkowo nieistotne mniejsze alergeny. Najlepszym tego przykładem jest Fel d 1 oraz Bet v 1 [217]. Dlatego też stosowanie SIT w tych przypadkach jest niezwykle skuteczne. Najwięcej trudności jest z alergenami traw, np. tymotki. Wprawdzie najczęściej pacjenci reagują na Phl p 5, to jednak wyciągi zawierają jeszcze kilka alergenów, które także mogą uczulać. Podobne trudności spotkać można w przypadku *Dermatophagoides pteronyssimus*, który ma 16 alergenów, chociaż najczęściej chorych uczuła Der p 1 i Der p 2. Niewątpliwą zaletą alergenów rekombinowanych jest optymalizacja składu preparatów w celu najbardziej celowanej terapii. Doskonałym przykładem zastosowania w terapii są wyniki pracy badaczy austriackich, którzy oznaczając 6 alergenów rekombinowanych brzozy i traw, wykazali u 30 chorych odmienne profile uczulenia. Pozwoliło to

na wybór najwłaściwszej terapii wśród chorych leczonych objawowo z powodu alergicznego nieżytu nosa i spojówek, bez zadowalającej poprawy [270].

1.4.1 Diagnostyka oparta na składnikach ekstraktu alergenicznego

Badania molekularne białek alergeniczych umożliwiły poznanie najbardziej alergizujących pojedynczych cząsteczek pochodzących z materiału źródłowego alergenów. Nowoczesna diagnostyka alergologiczna umożliwiająca precyzyjne określenie molekuł alergogenicznych, opiera się na ocenie poszczególnych składników ekstraktu alergenicznego (*component resolved diagnosis*, CRD). Indywidualizowane szczepionki oparte na składnikach ekstraktów alergeniczych (*component resolved immunotherapy*, CRIT) są tematem wielu badań naukowych i stanowią przełom w immunoterapii chorób alergicznych. CRIT jest dużo lepiej tolerowana przez chorych aniżeli SIT, wykazuje wyższą skuteczność i cechuje się lepszym profilem bezpieczeństwa. Jednym z zasadniczych powodów zadowalającej skuteczności jest stałe, wysokie stężenie alergenu.

Aktualnie podejmuje się próby wykorzystywania CRD w różnych badaniach. Jednym z istotnych kierunków jest próba zastosowania CRD do różnicowania reaktywności krzyżowej od podwójnego uczulenia. Służą one do ustalania indywidualnego profilu alergenicznego u osób uczulonych na alergeny pyłkowe, u których pojawiają się reakcje anafilaktyczne po spożyciu owoców. Badanie takie przeprowadzono u chorych uczulonych na pyłek brzozy, u których występowały objawy OAS po zjedzeniu jabłka. W przeprowadzonym modelu zastosowano zarówno standardowe alergeny jabłka, jak i Mal d 1 [81].

Badacze japońscy opublikowali doniesienie dotyczące dwóch chorych, u których objawy OAS i nieżytu nosa pojawiały się po spożyciu mleka sojowego oraz owoców. Diagnostyka obejmowała oznaczenie sIgE (soja, brzoza, olcha, rGly m 4, rBet v 1, rBet v 2, rBet v 6s), SPT (soja, truskawka, kiwi, jabłko, arbuz, ananas, pomidor, melon, lateks, rBet v 1 i 2, Art via-GAM, cedr japoński), testy „prick by prick” (mleko sojowe, ziarno soi, kielki soi, zielone ziarno soi) oraz mikrooznaczenia (Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, beta conglycininą, glicyniną, CCD, Gly m 4). Objaw chorzy mieli dodatnie wyniki SPT z mlekiem sojowym oraz obecność swoistych przeciwciał przeciwko Gly m 4 w surowicy. Jednak po zastosowaniu techniki mikrooznaczeń wykazano w obu przypadkach Bet v 1. Wszystkie pozostałe oznaczenia z białkami soi, orzecha ziemnego, krzyżowo reagujących CCD i profilin były u obu badanych ujemne. Po wykonaniu powyższych badań ustalono rozpoznanie, wskazując na Gly m 4 jako czynnik sprawczy. Autorzy wielu opracowań poświęconych zastosowaniu CRD w różnicowaniu rzeczywistego uczulenia od reakcji krzyżowych uważają, że powinno zastąpić DBPCFC jako złotego standardu [163, 265]. Wieloośrodkowe badanie (Dania, Szwajcaria, Hiszpania) koordynowane w Danii, dotyczące chorych, u których objawy występowały po spożyciu orzecha laskowego, obejmowało oznaczenie sIgE z ekstraktem oraz rekombinowanymi alergenami. Grupę kontrolną

stanowili chorzy uczuleni na pyłki, ale tolerujący orzech laskowy oraz zdrowi ochotnicy. SIgE z ekstraktem wykazano u 91% Szwajcarów, 100% Hiszpanów i 75% Duńczyków. Uczulenie na Cor a 1.04 stwierdzono u 100% Duńczyków i Szwajcarów, i zaledwie u 18% Hiszpanów. Odwrotnie, uczulenie na LTP (rCor a 8) przeważało u Hiszpanów (71%), natomiast w populacji Szwajcarów i Duńczyków stwierdzono odpowiednio w 15 i 5% badanych. Uczulenie na profiliny (rCor a 2) we wszystkich populacjach prezentowało się podobnie i zawierało w przedziale 45-50%. Ciekawe wyniki uzyskano w grupie kontrolnej. SIgE z ekstraktem wykazano w 61% przypadków, z pozostałymi alergenami rCor a 1.04, rCor a 2, rCor a 8, rCor a 11 – odpowiednio w 69, 34, 8-10 i 6% [125]. Fernandez-Rivas i wsp. przedstawili różnicowanie z wykorzystaniem CRD u dwóch chorych, u których prezentowane objawy sugerowały alergię pokarmową. Pierwszy z badanych demonstrował objawy alergii pyłkowo-pokarmowej (OAS) zależne od profiliny, natomiast u drugiego stwierdzona obecność LTP była powodem reakcji systemowych po spożyciu brzoskwini i jabłka. Oznaczanie rekombinowanych molekuł alergenowych pozwoliło w obu przypadkach na różnicowanie rodzaju reakcji pojawiających się po spożyciu pokarmów [97]. Kolejne badanie obejmowało 24 chorych, u których DBPCFC z selerem potwierdziło związek przyczynowo-skutkowy pojawiających się dolegliwości, 20 chorych wykazujących objawy alergii pyłkowej oraz 20 zdrowych ochotników. W całej badanej grupie oznaczano rApi g 1.01, rApi g 4, rApi g 5, rBet v 1, rBet v 2, CCD oraz ekstrakty selera, brzozy, bylicy i tymotki. Zastosowanie diagnostyki opartej na CRD pozwoliło na wzrost czułości z 67 do 88% w porównaniu do diagnostyki opartej na ekstraktach. Uczulenie na rApi g 5 było przypisywane częściowo obecności glicyanów, ale nie miało wpływu na czułość diagnostyczną [25].

W 2009 roku badacze z Austrii opublikowali wyniki pracy dotyczącej różnicowania „astmy piekarzy”, alergii pokarmowej wywoływanej przez pszenicę oraz alergii pyłkowej. Zastosowali technikę mikrooznaczeń z rekombinowanymi alergenami mąki pszennej i traw. Następnie porównali uzyskane wyniki z testami opartymi na nieoczyszczonej mące pszennej, pyłku pszenicy oraz pyłkach traw (ekstrakty). Zidentyfikowali alergeny mąki pszennej, wywołujące uczulenie u pacjentów cierpiących z powodu „astmy piekarzy” a nie stwierdzili ich obecności u pacjentów z alergią pokarmową (pszenica) oraz alergią pyłkową. rPhl p 1 i rPhl p 5 były zidentyfikowane jako przyczyny alergii pyłkowej (trawy). Ekstrakt alergenów pyłków traw można używać do diagnozowania alergii oraz identyfikowania pacjentów, którzy mają objawy pszeniczno-zależnej alergii pokarmowej. Profiliny zostały zidentyfikowane jako alergeny krzyżowo reagujące we wszystkich badanych grupach. Wyniki badań wskazują, że istnieje możliwość skonstruowania testów serologicznych opartych na technice mikrooznaczeń z zastosowaniem rekombinowanych alergenów ziaren pszenicy i pyłków traw w rozróżnianiu tych trzech grup pacjentów [51]. Nicolau i wsp. przeprowadzili badanie w grupie dzieci, u których objawy mogły sugerować podejrzenie nieto-

lerancji orzechów ziemnych. W całej badanej populacji wykonano doustną próbę prowokacyjną z orzechem ziemnym, SPT, sIgE, a następnie za pomocą mikrooznaczeń wykorzystujących CRD porównano przydatność powyższych metod w różnicowaniu alergii od nietolerancji. Wyniki pracy wykazały, że u większości dzieci, które podejrzewano o nietolerancję orzechów na podstawie podstawowych testów diagnostycznych, wykluczono alergię przy zastosowaniu CRD [184]. Kolejne, duże badanie populacyjne przeprowadzono w grupie 1329 chorych z rozpoznaną alergią pyłkową. W badanej grupie wykonano sIgE z 13 oczyszczonymi alergenami, zawierającymi alergeny główne i panalergeny, wykorzystując technologię ADVIA-Centaur oraz SPT z panalergenami i standardowymi ekstraktami. Wyniki pracy wykazały, jak cennym narzędziem jest technika CRD. Autorzy, podobnie jak i wielu innych uważają, że technika ta powinna być wprowadzona do codziennej praktyki alergologicznej, co pomoże zwiększyć skuteczność diagnostyczną [23].

Technikę mikrooznaczeń w ocenie atopowego zapalenia skóry zastosowano dotychczas w niewielu badaniach. Badacze niemieccy w 2010 roku opublikowali wstępne doniesienie wykorzystujące powyższą metodę w tej grupie chorych oraz porównujące z rutynowo stosowanymi metodami diagnostycznymi, np. metodami fluoroenzymoimmunologicznymi (*fluoro enzymo immunoassay*, FEIA). W badanej grupie ujawniono średnio po 21 uczulających alergenów, u 65% badanych wykazano sIgE przeciwko alergenom krzyżowo uczulającym, do których należały między innymi - alergen główny pyłku brzozy Bet v 1, olchy Aln g 1, jabłka Mal d 1 i selera Api g 1. Autorzy pracy uważają, że technika mikrooznaczeń jest obiecującym badaniem w tej grupie chorych, ale wymaga to w przyszłości oznaczeń w mniej wyselekcjonowanej, większej grupie pacjentów [194].

Borghesan i wsp. podjęli badania mające na celu porównanie kosztów badań diagnostycznych chorób alergicznych *in vivo* i *in vitro*. W grupie 50 chorych, u których objawy sugerowały podejrzenie sezonowego nieżytu nosa, wykonali SPT ze standardowymi ekstraktami alergenowymi oraz sIgE z zastosowaniem CRD. Koszty badań *in vitro* wprawdzie wielokrotnie przewyższały wartość badań *in vivo*, ale informacje kliniczne uzyskane przy wykorzystaniu rekombinowanych alergenów pozwoliły na ustalenie cząsteczek uczulających, a to umożliwiło indywidualizację składów preparatów przygotowanych do SIT. Ostatecznie spowodowało to znaczącą redukcję całkowitych kosztów ponoszonych przez system ochrony zdrowia [33]. Do podobnych wniosków doszli badacze włoscy, którzy wykonywali SPT z zastosowaniem CRD u 200 chorych z alergią pyłkową. Precyzyjnie przeprowadzona diagnostyka umożliwiła znaczną redukcję kosztów związanych z terapią w tej grupie chorych [15].

Pod patronatem Unii Europejskiej prowadzone są badania dotyczące alergii pokarmowej w ramach Szóstego Programu Ramowego, pod nazwą EuroPrevall. Projekt ten, wykorzystujący CRD, ma dostarczyć dane dotyczące struktury białek alergenowych zaangażowanych w alergii pokarmowej [132]. Zespół z Łodzi,

biorący udział w tym badaniu, opublikował wstępne wyniki dotyczące zarówno populacji dzieci, jak i dorosłych. Wszyscy autorzy podkreślają dużą rozbieżność pomiędzy danymi z wywiadu a rutynowo stosowanymi metodami diagnostycznymi (sIgE), [119, 138, 171].

Technikę CRD wykorzystuje się także w diagnostyce alergii na lateks. Badanie Ebo z 2010 roku, z zastosowaniem CRD, wykorzystujące BAT oraz technikę mikrooznaczeń, obejmowało oznaczanie wybranych alergenów Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5 i Hev b 6.02. Wyniki pokazały wyższy odsetek oznaczeń rHev b 5 i/lub rHev b 6.02, który w grupie chorych objawowych wynosił 75%. U nikogo nie stwierdzono jednoczesnego uczulenia na rHev b 1, 3, 5 i 6.02 [86].

1.4.2 Test ImmunoCAP ISAC

Poznanie molekularnej struktury białek alergenowych umożliwiło ustalenie najsilniej alergizujących pojedynczych cząsteczek występujących w źródłowym materiale alergenowym. ImmunoCAP ISAC (*ImmunoCAP Solid-phase Allergo Chip*, ISAC), stanowiący połączenie CRD z techniką *microarray*, jest nowoczesnym narzędziem badawczym umożliwiającym jednoczesne określenie ponad stu molekuł z 40 źródeł alergenowych. Analiza alergenowo swoistych IgE w tak szerokim zakresie umożliwiła ustalenie indywidualnego profilu uczulenia oraz wyjaśnienie współistniejących reakcji krzyżowych.

Jest to półilościowa metoda, w której fazę stałą stanowi szklana powierzchnia. W celu wykrycia IgE na pole testowe (chip) nakłada się badaną surowicę i poddaje inkubacji. Na powierzchni nośnej związane są swoiste IgE, które wykrywane są przez dodanie fluorescencyjnie znakowanych przeciwciał. Odczyt natężenia fluorescencji wykonywany jest poprzez zastosowanie skanera (laser i układ optyczny) dla techniki mikrooznaczeń. Odczyt przetwarzany jest komputerowo poprzez rozpoznanie sygnału natężenia fluorescencji poszczególnych alergenów. Wyniki przedstawiane są w standaryzowanych jednostkach (*ISAC standardized unit*, ISU). Dotychczasowe badania z zastosowaniem tej metody pokazują jej wysoką czułość i swoistość, zwłaszcza dla alergenów pokarmowych [134].

Zaletą zastosowania nowoczesnych metod badawczych takich jak CRD czy *protein microarray* jest możliwość jednoczesnego wykonania wielu oznaczeń, co ma umożliwić ustalenie indywidualnego profilu uczulenia, a także poprawę skuteczności zastosowanego leczenia poprzez celowaną terapię. Należy także nadmienić, że powinny one zdecydowanie zmniejszyć koszty leczenia. Ważne jest też, że są to metody wymagające niewielkiej ilości materiału (50-100 μ l). Dodatkową zaletą jest możliwość jednoczesnego uwzględniania zarówno alergenów głównych, jak i mniejszych w celu różnicowania reakcji krzyżowych od uczuleń poliwalentnych.

Metoda ta spotkała się jednak z głosami krytycznymi. Aktualnie nie dysponuje się bowiem wystarczającą liczbą rekombinowanych alergenów, stosowa-

nych w testach mikrooznaczeń, w porównaniu do źródeł naturalnych – może to prowadzić do niedostatecznego ustalenia profilu uczulenia u danego chorego. Na płytkach umieszczane są nie wszystkie, ale wybrane cząsteczki, co też może spowodować niedodiagnozowanie chorego. Alergeny rekombinowane po modyfikacji mogą nie mieć epitopów stwierdzanych w przypadku alergenów naturalnych. Nie bez znaczenia jest oczywiście koszt stosowania powyższej metody.

Od kilku lat publikowane są wyniki prac dotyczące wykorzystania ISAC w diagnostyce alergologicznej. Badanie porównawcze z rutynowo stosowanymi metodami (SPT i sIgE ze standardowymi ekstraktami) przeprowadzono w grupie chorych zgłaszających objawy alergicznego okresowego nieżytu nosa i spojówek. Następnie wykonano ISAC, oceniając powszechne aeroalergeny (kurz, sierść kota, brzoza, trawa i bylica). Czułość obu metod dla alergenów traw, brzozy i kota była porównywalna, podczas gdy dla alergenów kurzu czułość CRD była nieznacznie mniejsza. W przypadku bylicy (czułość około 40%) należy poszukiwać nowych składników alergenowych [293]. Zadowolające wyniki uzyskali badacze wykonujący test w grupie dzieci z podejrzeniem alergii na mleko krowie oraz jaja kurze. Wykonano sIgE, SPT natywne, próby prowokacyjne oraz ISAC test z wybranymi 8 alergenami jaja i mleka. Autorzy określili metodę jako skuteczną, mało inwazyjną, bezpieczniejszą od prób prowokacyjnych oraz łatwiejszą do wykonania u małych dzieci (średnia wieku badanych wynosiła 14 miesięcy) [193]. Metodę tę wykorzystano także do próby oceny uczulenia na orzechy laskowe (dodatknie wyniki sIgE) w grupie dzieci poniżej 1 roku życia chorujących na atopowe zapalenie skóry. Wykonanie badania ISAC umożliwiło wykazanie u 60% badanych uczulenia na Cor a 9 (11S legumina). W tej grupie dzieci nie stwierdzono uczulenia na Cor a 1 (PR-10) oraz Cor a 8 (LTP). Połowa z ww. 60% demonstrowała dodatkowo uczulenie na Ara h 8 (LTP), pięcioro w tej grupie miało oznaczalne stężenie Gly m 6 (11S legumina). U żadnego z badanych, nie mającego dodatniego sIgE z ekstraktem orzecha laskowego, nie wykazano Cor a 1, Cor a 8 i Cor a 9. W konkluzji autorzy uważają, że Cor a 9 stanowi główną przyczynę pojawiających się dolegliwości, ale tak wczesne uczulenie i jego kliniczne manifestacje pozostają trudne do wyjaśnienia [280]. ISAC wykorzystuje się także w badaniach populacyjnych. Pierwsze doniesienie dotyczące takiego badania przedstawili Scala i wsp., którzy wykonali badanie u 23 077 chorych. Pozwoliło to na wykazanie rankingu najczęściej uczulających molekuł alergenowych (Cup a 1 42,7%, Der f 2 38,7%, Phl p 1 37,9%). Dodatkowo potwierdzili pierwsze miejsce Pru p 3 wśród alergenów pokarmowych (15 miejsce w rankingu, 9,79%). Wykazano także różnice w częstości uczulających alergenów w zależności od grup wiekowych. Badanie to umożliwiło lepsze zrozumienie procesu uczulenia [247].

ISAC stanowi cenne uzupełnienie diagnostyki zwłaszcza w przypadku osób, u których z powodu ciężkich reakcji anafilaktycznych wykonywanie SPT i prób prowokacyjnych jest ograniczone. Badacze włoscy w 2009 roku opublikowali wyniki pracy dotyczącej wyizolowania i scharakteryzowania pierwszego alerge-

nu morwy (Mor n 3), będącego LTP. Owoce morwy powszechnie spożywane wśród ludności południowej Europy są jedną z przyczyn ciężkich reakcji anafilaktycznych [50].

W 2009 roku opublikowano wyniki pracy dotyczące zastosowania CRD przy użyciu ISAC w grupie 26, osób u których wywiad sugerował objawy alergii na lateks, nie znalazło to jednak potwierdzenia w badaniach SPT i sIgE; 20 osób, u których dane z wywiadu potwierdzone zostały dostępną diagnostyką (SPT i sIgE) i 20 osób bezobjawowych, u których SPT oceniono ujemnie, ale wykazano obecność dodatnich sIgE. W badaniu wykorzystano oznaczanie Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6.02 i Hev b 8, co pozwoliło na odróżnienie rzeczywistej alergii od uczulenia (w zakresie zastosowanych alergenów). Wśród osób, u których stwierdzono alergię, 75% badanych miało dodatnie Hev b 5 i/lub Hev b 6.02. Nieliczni badani demonstrowali obecność Hev b 1 i/lub Hev b 3. Żaden z badanych nie wykazywał uczulenia na wszystkie 4 ww. alergeny. U 75% wykazano uczulenie na Hev b 8, czego nie potwierdzono metodą tradycyjną (ImmunoCAP) [86].

W 2008 roku opublikowano badanie przeprowadzone w grupie 130 dzieci, u których analizowano podejrzenie alergii na mleko krowie i jajo kurcze. Autorzy pracy podkreślali przydatność ISAC w diagnostyce alergii na mleko krowie i jajko kurcze, jedne z najpowszechniej uczulających alergenów wśród dzieci, a zwłaszcza małą inwazyjność i znacznie większe bezpieczeństwo aniżeli próby prowokacyjne z pokarmami [193].

Podkreśla się także możliwość wykorzystania ISAC w diagnostyce atopowego zapalenia skóry w grupie dorosłych pacjentów. Ott i wsp. wykazali w swoim badaniu, iż z alergenów mających właściwości wywoływania reakcji krzyżowych najczęściej stwierdzano uczulenie na alergeny z grupy PR-10 [194].

Badania Gadermaier i wsp. wykorzystujące ISAC do oceny reakcji krzyżowych pomiędzy Art v 3 a LTP brzoskwini i orzecha laskowego uzupełniono o próbę porównania aktywności biologicznej dwu izoform LTP bylicy – Art v 3.0201 i Art v 3.0301. Aktywność, którą oceniano poprzez pomiar mediatorów uwalnianych z bazofilów, oceniono podobnie jak w przypadku Art v 3 [105].

Prowadzone są badania nad usprawnieniem wykonywania ISAC, tzn. przyspieszeniu procedury poprzez zastosowanie różnych nośników. Badacze włoscy zastosowali nowy polimer (DMA-co-NAS) na płytce szklanej, który zmienił czas trwania badania. Standardowy, konwencjonalny protokół trwający około 2 godzin został skrócony do około 10 minut, poprzez zastąpienie płytki wzmocnieniem powodującym zwiększenie dynamiki procesu. Zastosowany kopolimer ma możliwość unieruchamiania alergenów w ich natywnej konformacji i w ten sposób pierwszy etap badania, jakim jest inkubacja, odbywa się w formie dynamicznej. Badanie to wykazało wysokie powinowactwo wiązania IgE i nieznacznie obniżone dla IgG [53].

2 CEL PRACY

Cel główny

Celem badania była próba różnicowania reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks za pomocą testów ImmunoCAP ISAC i aktywacji bazofilów.

Cele szczegółowe

1. Określenie przydatności diagnostycznej testu ImmunoCAP ISAC w badanej populacji
2. Określenie przydatności diagnostycznej testu aktywacji bazofilów w badanej populacji
3. Porównanie wartości obu testów do standardowo stosowanych metod diagnostycznych
4. Wykazanie najczęściej uczulających molekuł alergogennych zarówno tych mających zdolność wywoływania reakcji krzyżowych jak i tych, dla których takiej zależności dotychczas nie wykazano
5. Ocena zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej.

Uzasadnienie podjęcia badań

Diagnostyka oparta na wyciągach alergenowych umożliwia co najwyżej określenie źródła alergenów, podczas gdy diagnostyka z użyciem alergenów rekombinowanych pozwala na dokładne określenie cząsteczki alergenu, na który dana osoba jest uczulona. Taka unowocześniona diagnostyka umożliwiająca analizę uczulenia na poszczególne składniki ekstraktu sprawia, że u osób do tej pory uznawanych za „nieme” immunologicznie można rozpoznać alergię. Umożliwia zróżnicowanie pomiędzy reakcją krzyżową a podwójnym uczuleniem. Stanowi ponadto narzędzie indywidualnego dobierania terapii dla pacjenta w taki sposób, by mógł on odnieść jak najwięcej korzyści z prowadzonego leczenia.

Zróżnicowanie pomiędzy reakcją krzyżową a wielokierunkową sensytyzacją ma istotne implikacje kliniczne, ponieważ w przypadku reakcji krzyżowych leczeniem z wyboru jest immunoterapia, a w przypadku alergii wieloważnej zalecanym postępowaniem jest leczenie objawowe. Określenie rodzaju uczulenia pozwala przewidywać dalszy rozwój choroby, a tym samym ocenić potencjalne ryzyko wystąpienia reakcji anafilaktycznej.

Ryzyko wystąpienia reakcji o ciężkim przebiegu jest jednym z powodów poszukiwania nowych bezpiecznych metod i udoskonalania już poznanych technik diagnostycznych w celu ograniczenia do minimum możliwości wywołania objawów.

Chęć poznania problemu (aspekt poznawczy), dokonanie wyboru najlepszej terapii dla chorych (dobór leczenia) oraz poszukiwanie bezpiecznych metod diagnostycznych (zmniejszenie ryzyka zagrożenia życia) były przyczyną, dla której podjęto badania dotyczące oceny przydatności testów ImmunoCAP ISAC i aktywacji bazofilów w różnicowaniu reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks.

3 MATERIAL I METODY

3.1 Materiał

3.1.1 Badana grupa

Badaniem objęto chorych powyżej 18 roku życia, leczonych w Klinice Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz w Przyklinicznej Poradni Alergologicznej, u których po kontakcie z wyrobami lateksowymi występowały objawy chorób alergicznych (Grupa A).

3.1.2 Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowili chorzy leczeni w Klinice Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego oraz w Przyklinicznej Poradni Alergologicznej, u których objawy alergiczne występowały bez związku z kontaktem z wyrobami lateksowymi (Grupa B) oraz zdrowi ochotnicy - pracownicy szpitala (Grupa C).

Przed rozpoczęciem badania, zarówno chorzy z grupy badanej, jak i kontrolnej oraz zdrowi ochotnicy, otrzymywali pisemną informację o badaniu, a następnie podpisywali zgodę na udział.

Kryterium wyłączenia z badania była ciąża oraz współistniejące schorzenia o ciężkim przebiegu.

3.2 Metody

3.2.1 Wywiad, badanie ankietowe i badanie przedmiotowe

Badanie podmiotowe przeprowadzono opierając się na standardowym kwestionariuszu (Allergopharma) wykorzystywanym w grupie chorych ze schorzeniami alergicznymi, a badanie przedmiotowe wykorzystując standardowy kwestionariusz używany w Klinice Alergologii.

3.2.2 Punktowe testy skórne

Punktowe testy skórne wykonano w całej badanej populacji zgodnie z zaleceniami Europejskiej Akademii Alergii i Immunologii Klinicznej (*European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, EAACI) na dłoniowej powierzchni przedramion, w odległości 5 cm od nadgarstka i zgięcia łokciowego, nakłuwając prostopadle powierzchnię warstwę skóry lancetami (Allergopharma), poprzez krople standardowych wyciągów alergenowych. Wszystkie badane substancje nakładano na skórę w odstępach około 4 cm pomiędzy nimi. Odczyn skóry określano po 20 minutach, oceniając średnią średnicę bąbla (mm).

Jako kryterium reakcji dodatniej przyjęto średnią średnicę bąbla ≥ 3 mm (pole powierzchni bąbla większe niż 7 mm^2), korygując otrzymane wyniki o wynik kontroli ujemnej. Poza kontrolą dodatnią (0,1% roztwór chlorowodoru histaminy), kontrolą ujemną (roztwór glicerolu w soli fizjologicznej konserwowany 0,4% fenolem) oraz wyciągiem alergenów lateksu, badanie wykonano z powszechnymi aeroalergenami: *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, mieszanki traw, traw i zbóż, drzew 1, drzew 2, chwastów, zarodniki grzybów pleśniowych 1, zarodniki grzybów pleśniowych 2, pióra, sierść kota, sierść psa (Allergopharma) oraz pokarmami: banan, kiwi, avocado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, orzech włoski, orzech laskowy, orzech ziemny, jabłko (Stallergenes).

3.2.3 Pobieranie materiału do badań: sIgE, tryptaza, ImmunoCAP ISAC

W celu uzyskania surowicy od pacjentów i grupy kontrolnej pobierano 10 ml krwi żyłnej do probówek, nie zawierających antykoagulantu. Pobraną krew wiorowano przez 10 minut przy prędkości 2500 obrotów/minutę (Wirówka stołowa z chłodzeniem MPW-350, MPW Med. Instruments, Spółdzielnia Pracy, Warszawa).

Tak uzyskaną surowicę przenoszono do sterylnych ependorfów w ilości około 500 μl . Zabezpieczone surowice chorych, jak i grupy kontrolnej przechowywano do dalszej analizy w temperaturze -20°C (Chłodziarko-zamrażarka LCE 618A, Mastercook by Fagor, Wrocław).

3.2.4 Oznaczanie swoistych IgE w surowicy

Oznaczenia sIgE dla następujących alergenów: banan, kiwi, avocado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, orzech włoski, orzech laskowy, orzech ziemny, jabłko, lateks oraz rekombinowane alergeny lateksu – rHev b 1, rHev b 3, rHev b 5, rHev b 6.01, rHev b 6.02, rHev b 8, rHev b 9 i rHev b 11 wykonano metodą fluoroimmunoenzymatyczną ImmunoCAP Phadia System (Upsala, Sveden). Wyniki przedstawiano ilościowo w jednostkach kUA/l oraz w klasach (0-6), przy czym klasie 0 odpowiadają wartości $< 0,35$ kUA/l, klasie 1 – 0,35-0,7 kUA/l, klasie 2 – 0,7-3,5 kUA/l, klasie 3 – 3,5-17,5 kUA/l, klasie 4 – 17,5-50,0 kUA/l, klasie 5 – 50,0-100,0 kUA/l oraz klasie 6 – $>100,0$ kUA/l. Oznaczenia przeprowadzono w całej badanej populacji.

Badanie wykonano w Pracowni Biologii Molekularnej przy Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

3.2.5 Oznaczanie tryptazy

Oznaczenia tryptazy w surowicy, w całej badanej populacji, wykonywano metodą fluoroimmunoenzymatyczną ImmunoCAP Phadia System (Upsala, Szwecja), minimum 4 tygodnie od wystąpienia reakcji anafilaktycznej, w celu ewentualnego wykluczenia mastocytozy. Wartości tryptazy wyrażano w $\mu\text{g/l}$.

Badanie wykonano w Pracowni Biologii Molekularnej przy Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

3.2.6 Test ImmunoCAP ISAC

W całej badanej populacji wykonano badanie ImmunoCAP ISAC test (Phadia Upsala, Szwecja), który zawierał 103 molekuly alergenowe. Wykaz badanych alergenów przedstawiono w załączniku 2.

Wyniki testu przedstawiano w jednostkach (ISU) oraz w klasach (0-3). Klasy korespondują ze stężeniem przeciwciał wyrażanych w jednostkach stężeń 0-100 kUA/l IgE mierzonych przy użyciu ImmunoCAP. Porównanie wartości testu w klasach i w kUA/l przedstawiono w poniższej tabeli 4.

Tabela 4. Porównanie wyników ImmunoCAP ISAC testu w klasach i jednostkach
Table 4. Comparison ImmunoCAP ISAC results in classes and units

ImmunoCAP ISAC			
Klasy <i>Classes</i>		ISU	kUA/l
0	nieoznaczalna <i>not determinable</i>	< 0,3	< 0,3
1	niska <i>low</i>	0,3 < oraz \leq 1,0	0,3 < oraz \leq 1,0
2	średnia-wysoka <i>intermediate – high</i>	1,0 < oraz \leq 15,0	1,0 < oraz \leq 15,0
3	bardzo wysoka <i>very high</i>	> 15,0	> 15,0

Badanie wykonywano początkowo w firmie Genosense Diagnostics GmbH w Wiedniu (Austria), a następnie, po utworzeniu przedstawicielstwa ww. firmy w Polsce, w firmie Medi-Lite Anna Różyło w Bielsku-Białej.

3.2.7 Test aktywacji bazofilów

Badanie przeprowadzono w całej grupie A z alergenami lateksu oraz z alergenami pokarmowymi u osób, u których wykazane zostały pozytywne wyniki SPT i/lub sIgE dla alergenów pokarmowych w celu zróżnicowania uczulenia od reakcji krzyżowych oraz w przypadku ujemnych wyników sIgE i/lub SPT dla wymienionych alergenów, pomimo danych z wywiadu sugerujących uczulenie. W grupie B, BAT z alergenami lateksu wykonywano u osób, u których stwierdzono dodatnie wyniki SPT i/lub sIgE z lateksem, pomimo braku danych z wywiadu, a także u tych samych osób z alergenami pokarmowymi w razie braku zgodności danych z wywiadu z uzyskanymi wynikami sIgE i/lub SPT.

W badaniach zastosowano metodę cytometrii przepływowej, pozwalającą na identyfikację populacji komórek bazofilów w krwi pełnej oraz ilościową ocenę ich stopnia aktywacji pod wpływem zastosowanego alergenu.

Bazofile identyfikowane były na podstawie stwierdzenia jednoczesnej obecności ekspresji powierzchniowych antygenów CD203c i CRTH2 przy braku antygeny CD3. Nieaktywowane i spoczynkowe bazofile identyfikowano na podstawie fenotypu:

- CRTH2^{pos} CD203c^{dim} CD3^{neg}

Komórki bazofilów, które uległy aktywacji pod wpływem zastosowanego alergenu, identyfikowano na podstawie fenotypu:

- CRTH2^{pos} CD203c^{bright} CD3^{neg}

W badaniach wykorzystywano roztwory alergenów stosowane do testów skórnych (Stalergenes). Przyjęto dwa rozcieńczenia alergenów, dla których wykonywana była ocena aktywacji komórek bazofilów. Rozcieńczenia alergenów stanowiły odpowiednio 1:10 i 1:1000 stężenia wyjściowego alergenu. Powyższe stężenia ustalono zgodnie z danymi literaturowymi oraz na podstawie wcześniej wykonanego badania pilotażowego [84, 89, 106, 107, 133, 180, 244].

Badanym materiałem była krew pełna pobierana na antykoagulant – kwas etylenodiaminotetraoctowy (*ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA). Próbkę krwi analizowane były do 24 godzin od momentu pobrania. W trakcie przechowywania materiału biologicznego przestrzegano warunków środowiskowych 18-25 °C.

Do identyfikacji bazofilów i określenia stopnia ich aktywacji stosowano zestaw odczynnikowy Allergenicity Kit (Beckman Coulter). Oznaczenia wykonywano ściśle wedle specyfikacji producenta zestawu odczynnikowego. Główne etapy wykonania oznaczenia obejmowały:

- barwienie próbki krwi obwodowej mieszaniną przeciwciał CRTH2-FITC / CD203c-PE / CD3-PC7
- inkubację z alergenem w temperaturze 37 °C

- lizę erytrocytów roztworem chlorku amonu i utrwalenie komórek leukocytów roztworem formaliny
- odczyt w cytometrze przepływowym i analizę danych (akwizycja minimum 500 bazofilów)
- odczyt przygotowanych próbek krwi w cytometrze przepływowym Cytomics FC500 (Beckman Coulter)
- akwizycję i analizę danych przeprowadzono przy pomocy oprogramowania CXP Analysis Software (Beckman Coulter).

Do kalibracji układu pomiarowego zastosowano następujące kalibratory (Beckman Coulter):

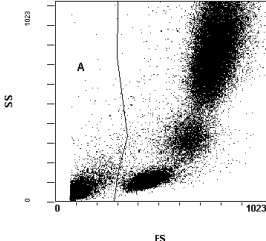
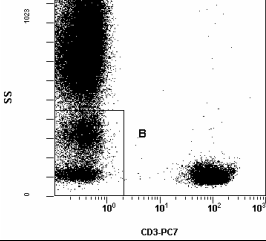
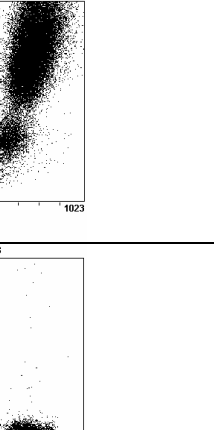
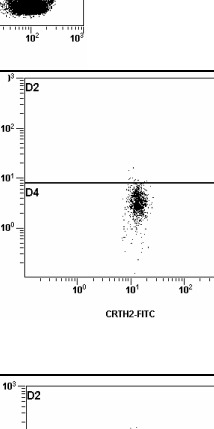
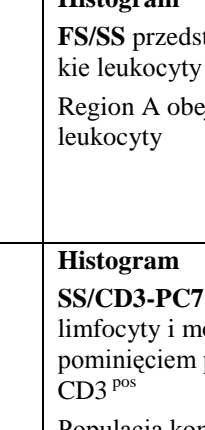
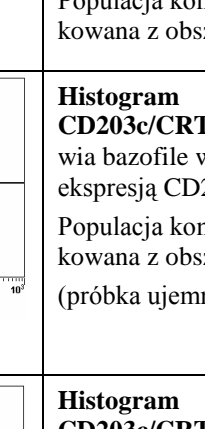
- flow Check Fluorospheres oraz Flow Check 770 Fluorospheres
sprawdzenie poprawności działania układu optycznego i strumieniowego cytometru przepływowego, wykonywane przed każdą serią oznaczeń
- flow – Set Fluorospheres oraz Flow – Set 770 Fluorospheres
kalibracja parametrów rozpraszania światła i natężenia fluorescencji, wykonywana przed użyciem nowego zestawu odczynnikowego
- cyto – Comp Cell Kit, CD45–FITC, CD45–PE, CD45–PC7
kalibracja parametru kompensacji fluorochromów, wykonywana przed użyciem nowego zestawu odczynnikowego

Dodatkowo dla każdej oznaczanej próbki krwi wykonywane było oznaczenie próbki „pozytywnej”, stanowiącej zaktywowane komórki bazofilów niespecyficznym odczynnikiem chemicznym. Analiza takiej próbki pozwalała na sprawdzenie prawidłowości wykonanej analizy. Dla ustalenia poziomu intensywności fluorescencji CD203c populacji niezaktywowanych komórek bazofilów, dla każdej badanej próbki, analizowano próbki nie stymulowane alergenem. Względem ustalonego w ten sposób poziomu intensywności fluorescencji CD203c określano stopień aktywacji bazofilów stymulowanych alergenem.

Uzyskane rezultaty przedstawiane były jako odsetek bazofilów wykazujących większą intensywność fluorescencji względem populacji komórek niestymulowanych oraz jako mediana średniego położenia populacji komórek bazofilów na osi fluorescencji CD203c. Jako wynik dodatni przyjmowano „cut-off” $\geq 15\%$ dla alergenów pokarmowych oraz $\geq 10\%$ dla lateksu. Wyniki korygowano o wynik kontroli negatywnej, dla której „cut-off” ustalono na poziomie 5%.

Badanie wykonano w Laboratorium Immunologii Klinicznej Akademickiego Centrum Klinicznego Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Podczas analizy danych postępowano zgodnie z poniższym schematem:

	<p>Histogram FS/SS przedstawia wszystkie leukocyty i „<i>derbis</i>” Region A obejmuje jedynie leukocyty</p>	
	<p>Histogram SS/CD3-PC7 przedstawia limfocyty i monocyty z pominięciem populacji CD3^{pos} Populacja komórek bramkowana z obszaru A</p>	
		<p>Histogram CD203c/CRTH2 przedstawia bazofile w obszarze C z ekspresją CD203c^{dim} Populacja komórek bramkowana z obszaru A i B (próbka ujemna)</p>
		<p>Histogram CD203c/CRTH2 przedstawia bazofile w obszarze C z ekspresją CD203c^{dim} Populacja komórek bramkowana z obszaru A i B (próbka dodatnia / alergen)</p>

3.2.8 Testy skórne płatkowe

Płatkowe testy skórne wykonywano u osób zgłaszających w wywiadzie objawy mogące odpowiadać reakcji kontaktowej skóry na wyroby lateksowe, zgodnie z zaleceniami i według zasad opracowanych przez Międzynarodową Grupę Badającą Wyprysk Kontaktowy (*International Contact Dermatitis Research Group*, ICDRG). Do badania wykorzystano następujące zestawy alergenów diagnostycznych: guma i jej składniki, standard 1 i standard 2 (Firma Produk-

cyjna Testów Naskórkowych Do Wykrywania Alergii, mgr farm. Edmund Jaworski, Katowice, Polska).

Badane alergeny nanoszono do komór testowych (Hofman Enterprise, EpitestLtd Oy), po wcześniejszym ich oznakowaniu. Przylepce z komorami testowymi umieszczano na niezmienionej skórze pleców okolicy międzyłopatkowej na 48 godzin, po których dokonywano pierwszego odczytu, a następnego po 72 godzinach od założenia testu. Odczyn skóry oceniano przyjmując powszechnie stosowane kryteria odczytu: brak reakcji (0); rumień (+); rumień i grudki (++); rumień, grudki i pęcherzyki (+++); wyraźny obrzęk i pęcherzyki (++++).

3.2.9 Analiza statystyczna

Statystyczna analiza wyników została opracowana na podstawie komputerowej bazy danych. Do statystycznego opisu zebranego materiału użyto w przypadku cech ilościowych podstawowych miar położenia i rozproszenia oraz wskaźników struktury w przypadku cech jakościowych. Badanie zależności pomiędzy cechami jakościowymi w badanej populacji oparto o czteropolowe i wielopolowe tablice kontyngencji, z zastosowaniem nieparametrycznego testu niezależności χ^2 (chi-kwadrat) z poprawką Yatesa. W analizie jednoczynnikowej zastosowano test U-Manna Whitney'a oraz współczynnik korelacji Pearson'a. Generalnie przyjęto przy weryfikacji poziom istotności 0,05. Moc diagnostyczną testów określano przy użyciu krzywych ROC (*receiver operating characteristic curves*). Pole pod krzywą ROC – AUC (*area under curve*) było sprawdzianem zdolności rozdzielczej testu. Wnioskowanie statystyczne oparto na wybranych testach z pakietów programów STATISTICA (wersja 8.0) i MedCalc (wersja 11.4).

Dla niektórych parametrów oceniano trafność diagnostyczną wykonywanych badań (s – czułość, f – swoistość, p – dokładność, v – wartość predyktywną dodatnią i g – wartość predyktywną ujemną), stosując następujące wzory [112]:

$$s = [a / (a+c)]100\%$$

$$f = [d / (b+d)]100\%$$

$$p = [(a+d) / (a+b+c+d)]100\%$$

$$v = [a / (a+b)]100\%$$

$$g = [d / (c+d)]100\%$$

gdzie:

a – liczba osób z wynikiem prawdziwie dodatnim (TP – *true positive*) – pacjenci z objawami alergii po kontakcie z rękawicami lateksowymi, potwierdzonej dodatnim wynikiem badania.

b – liczba osób z wynikiem fałszywie dodatnim (FP – *false positive*) – pacjenci bez objawów alergii po kontakcie z rękawicami lateksowymi z dodatnim wynikiem badania.

c – liczba osób z wynikiem fałszywie ujemnym (*FN – false negative*) – pacjenci z objawami alergii po kontakcie z rękawicami lateksowymi z ujemnym wynikiem badania.

d – liczba osób z wynikiem prawdziwie ujemnym (*TN – true negative*) – pacjenci bez objawów alergii po kontakcie z rękawicami lateksowymi z ujemnym wynikiem badania.

4 WYNIKI

4.1 Badana populacja

W badaniu wzięło udział 100 osób w wieku od 18 do 69 lat (średnia wieku wynosiła 36,6). W grupie tej były 72 kobiety i 28 mężczyzn. Podział na grupy badanych przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Charakterystyka badanych grup
Table 5. Characteristics of study groups

Cecha / Property	Grupa / Group A	Grupa / Group B	Grupa / Group C
Liczba / Number	39	41	20
Kobiety / Females	35	21	16
Mężczyźni / Males	4	20	4
Wiek / Age	18-68	18-59	21-69
Średnia wieku / Mean age	39,77	32,56	38,70

Na podstawie danych uzyskanych z wywiadu ustalono, jakie dolegliwości pojawiały się po kontakcie z wyrobami lateksowymi w grupie A (tabela 6).

Tabela 6. Objawy występujące po kontakcie z wyrobami lateksowymi
Table 6. Symptoms occurring after latex product contact

Objawy / Symptoms	Grupa A / Group A (N = 39)	
	n	%
Pokrzywka kontaktowa / Contact urticaria	38	97,44
Nieżyt nosa / Rhinitis	8	20,51
Zapalenie spojówek / Conjunctivitis	8	20,51
Astma / Bronchial asthma	7	17,95
Zespół atopowego wyprysku/zapalenia skóry Atopic eczema/dermatitis syndrome	4	10,26
Wstrząs anafilaktyczny / Anaphylactic shock	3	7,69
Powikłania okołoperacyjne / Perioperative complications	0	0

Informacje dotyczące współistnienia chorób alergicznych, których przebieg nie miał związku z ekspozycją na lateks, przedstawiono poniżej (tabela 7).

Tabela 7. Objawy chorób alergicznych
Table 7. Allergic diseases symptoms

Objawy <i>Symptoms</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N = 39)		Grupa B <i>Group B</i> (N = 41)		P (χ^2)
	n	%	n	%	
Nieżyt nosa <i>Rhinitis</i>	24	61,54	36	87,81	0,0141
Zapalenie spojówek <i>Conjunctivitis</i>	21	53,85	29	70,73	0,1841
Zespół alergii jamy ustnej <i>Oral allergy syndrome</i>	15	38,46	13	31,71	0,6902
Astma <i>Bronchial asthma</i>	17	43,59	32	78,05	0,0034
Pokrzywka/obrzęk naczynioruchowy <i>Urticaria/angioneuroticum oedema</i>	16	41,03	17	41,46	0,8513
Nadwrażliwość na pokarmy <i>Food hypersensitivity</i>	19	48,72	23	56,10	0,6623
Zespół atopowego wyprysku/zapalenia skóry <i>Atopic eczema/dermatitis syndrome</i>	10	25,64	7	17,07	0,1644
Wstrząs anafilaktyczny <i>Anaphylactic shock</i>	1	2,56	7	17,07	0,0736
Nadwrażliwość na jady owadów błonkoskrzydłych <i>Venom hypersensitivity</i>	7	17,95	5	12,20	0,6839
Nadwrażliwość na leki <i>Drug hypersensitivity</i>	14	35,90	16	39,02	0,9539

W obu badanych grupach stwierdzono istotne różnice dotyczące częstości występowania chorób alergicznych, różnice te dotyczyły nieżyty nosa (test χ^2 , $p=0,0141$) i astmy (test χ^2 , $p=0,0034$). W przypadku pozostałych zaburzeń nie stwierdzono różnic pomiędzy badanymi grupami (test χ^2 , $p<0,05$).

W tabeli 8 zawarto dane dotyczące pokarmów, po których występowały dolegliwości.

Tabela 8. Pokarmy wywołujące objawy nadwrażliwości
Table 8. Food cause hypersensitivity symptoms

Pokarm / <i>Food</i>	Grupa B <i>Group B</i> (N = 39)		Grupa B <i>Group B</i> (N = 41)		P (χ^2)
	n	%	n	%	
Banan / <i>Banana</i>	7	17,95	1	2,44	0,0526
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	8	20,51	3	7,32	0,1650
Awokado / <i>Avocado</i>	5	12,82	1	2,44	0,1811
Ziemniak / <i>Potato</i>	3	7,69	2	4,88	0,9539
Pomidor / <i>Tomato</i>	2	5,13	4	9,76	0,7182
Seler / <i>Celery</i>	3	7,69	5	12,20	0,7655
Marchew / <i>Carrot</i>	1	2,56	2	4,88	0,9648
Papryka / <i>Paprika</i>	0	0	2	4,88	0,4962
Orzech włoski / <i>Walnut</i>	6	15,38	7	17,07	0,9215
Orzech ziemny / <i>Peanut</i>	0	0	2	4,88	0,4962
Orzech laskowy / <i>Hazelnut</i>	6	15,38	8	19,51	0,8483
Jabłko / <i>Apple</i>	7	17,95	4	9,76	0,4600
Inne / <i>Others</i>	16	41,03	19	46,34	0,7998

W badanej populacji nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami dotyczących częstości zgłaszania objawów nietolerancji poszczególnych pokarmów (test χ^2 , $p < 0,05$), jakkolwiek w przypadku bananów wykazano tendencję do częstszego występowania nietolerancji tego alergenu u chorych zgłaszających objawy po kontakcie z wyrobami lateksowymi.

4.2 Wyniki punktowych testów skórnych

Wyniki SPT przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Wyniki SPT

Table 9. SPT results

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N = 39)		Grupa B <i>Group B</i> (N = 41)		Grupa C <i>Group C</i> (N = 20)		p (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
<i>Dermatophagoides farinae</i>	13	33,33	13	31,70	3	15,0	0,9334	0,5908
<i>Dermatophagoides pt.</i>	15	38,46	16	39,02	4	20,0	0,8588	0,7148
Trawy / <i>Grasses</i>	13	33,33	25	60,98	2	10,0	0,0244	0,3795
Trawy/zboża <i>Grasses/cereal</i>	13	33,33	26	63,41	2	10,0	0,0136	0,2993
Drzewa 1 / <i>Trees 1</i>	9	23,08	18	43,90	1	5,00	0,0832	0,5167
Drzewa 2 / <i>Trees 2</i>	10	25,64	20	48,78	2	10,0	0,0567	0,3842
Chwasty / <i>Weeds</i>	9	23,08	22	53,66	1	5,00	0,0100	0,1903
Pióra / <i>Feathers</i>	2	5,13	5	12,20	1	5,00	0,4701	0,6394
Pleśnie 1 / <i>Moulds 1</i>	3	7,69	5	12,20	0	0	0,7655	0,7740
Pleśnie 2 / <i>Moulds 2</i>	10	25,64	6	14,63	0	0	0,3418	0,0683
Kot / <i>Cat</i>	10	25,64	14	34,15	1	5,00	0,5581	0,9058
Pies / <i>Dog</i>	7	17,85	11	26,83	1	5,00	0,4946	0,9625
Banan / <i>Banana</i>	8	20,51	7	17,07	1	5,00	0,9144	0,4810
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	10	25,64	6	14,63	0	0	0,3418	0,0683
Awokado / <i>Avocado</i>	8	20,51	6	14,63	1	5,00	0,6911	0,3434
Ziemniak / <i>Potato</i>	7	17,95	8	19,51	2	10,0	0,9144	0,9434
Pomidor / <i>Tomato</i>	8	20,51	6	14,63	1	5,00	0,6911	0,3434
Seler / <i>Celery</i>	8	20,51	10	24,39	1	5,00	0,8829	0,9625
Marchew / <i>Carrot</i>	5	12,82	5	12,20	1	5,00	0,7998	0,8906
Papryka / <i>Paprika</i>	7	17,95	7	17,07	3	15,0	0,8483	0,9434
Orzech włoski / <i>Walnut</i>	9	23,08	4	9,76	2	10,0	0,1898	0,1281
Orzech ziemny / <i>Peanut</i>	6	15,38	6	14,63	3	15,0	0,8265	0,8407
Orzech laskowy / <i>Hazelnut</i>	9	23,08	8	19,51	2	10,0	0,9075	0,5689
Jabłko / <i>Apple</i>	1	2,56	2	4,88	0	0	0,9648	0,6917
Lateks / <i>Latex</i>	13	33,33	3	7,32	0	0	0,0086	0,0005

W badanej populacji stwierdzono istotną różnicę pomiędzy badanymi grupami, dotyczącą częstości występowania dodatnich SPT z alergenami lateksu w grupie B w odniesieniu do grupy A (test χ^2 , $p=0,0086$). Porównując całą badaną populację (tzn. włączając do analizy grupę C), wykazano podobną zależność (test χ^2 , $p=0,0005$). Istotnych różnic nie wykazano w odniesieniu do alergenów pokarmowych (test χ^2 , $p<0,05$).

Tabela 10. Czulość, swoistość, dokładność, wartość predykcyjna dodatnia i ujemna SPT z lateksem i alergenami pokarmowymi

Table 10. Sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value SPT with latex and food allergens

Alergen <i>Allergens</i>	Czulość <i>Sensitivity</i> (%)	Swoistość <i>Specificity</i> (%)	Dokładność <i>Accuracy</i> (%)	WPD <i>PPV*</i> (%)	WPU <i>NPV**</i> (%)
Banan / <i>Banana</i>	50	87	84	25	95
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	27	85	79	19	91
Awokado <i>Avocado</i>	33	86	83	13	95
Ziemniak / <i>Potato</i>	40	84	82	12	96
Pomidor / <i>Tomato</i>	33	86	83	13	95
Seler / <i>Celery</i>	63	85	83	26	96
Marchew <i>Carrot</i>	0***	89	86	0***	97
Papryka / <i>Paprika</i>	0***	83	81	0***	98
Orzech włoski <i>Walnut</i>	31	87	80	27	89
Orzech ziemny <i>Peanut</i>	0***	85	83	0***	98
Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	50	86	81	37	91
Jabłko / <i>Apple</i>	0***	97	86	0***	89
Lateks / <i>Latex</i>	33	95	71	81	69

*WPD / PPV wartość predykcyjna dodatnia / *positive predictive value*

**WPU / NPV wartość predykcyjna ujemna / *negative predictive value*

***brak wyników TP / *absence of true positive results*

Czułość, swoistość, dokładność, wartość predykcji dodatniej i ujemnej SPT przedstawiono w tabeli 10.

Czułość i swoistość SPT z alergenami lateksu wyniosły odpowiednio 33 i 95%. Dla alergenów pokarmowych czułość zawierała się w przedziale od 27 do 65%, swoistość odpowiednio od 83 do 97%.

4.3 Wyniki oznaczeń sIgE

Wyniki oznaczeń sIgE przedstawiono w tabeli 11. W badanej populacji nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami dotyczących częstości występowania dodatnich sIgE z alergenami lateksu i pokarmowymi (test χ^2 , $p < 0,05$). Jedynie w przypadku marchwi wykazano istotnie częstsze występowanie sIgE z tym alergenem w grupie B w odniesieniu do grupy A (test χ^2 , $p = 0,0410$). Porównując całą badaną populację (tzn. włączając do analizy grupę C), zależności tej nie wykazano.

Czułość, swoistość, dokładność oraz wartość predykcijną dodatnią i ujemną oznaczeń sIgE z lateksem i wybranymi alergenami pokarmowymi przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 11. Wyniki sIgE

Table 11. sIgE results

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
Lateks (k82) <i>Latex (k82)</i>	7	17,95	5	12,20	0	0	0,6839	0,2509
Hev b 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
Hev b 3	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
Hev b 5	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,6818
Hev b 6.01	3	7,69	1	2,44	0	0	0,5724	0,3254
Hev b 6.02	4	10,26	1	2,44	0	0	0,3262	0,1448
Hev b 8	1	2,56	4	9,76	0	0	0,3863	0,6721
Hev b 9	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
Hev b 11	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,6818
Banan / <i>Banana</i>	4	10,26	6	14,63	0	0	0,7998	0,7846

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	3	7,69	4	9,76	0	0	0,9448	0,8534
Awokado / <i>Avocado</i>	3	7,69	9	21,95	0	0	0,1410	0,4566
Ziemnia / <i>Potato</i>	2	5,13	7	17,07	0	0	0,1815	0,4693
Pomidor / <i>Tomato</i>	3	7,69	7	17,07	0	0	0,3524	0,7846
Seler / <i>Celery</i>	2	5,13	7	17,07	0	0	0,1815	0,4693
Marchew / <i>Carrot</i>	1	2,56	8	19,51	0	0	0,0410	0,1499
Papryka / <i>Paprika</i>	1	2,56	5	12,20	0	0	0,2262	0,4684
Orzech włoski / <i>Walnut</i>	0	0	4	9,76	0	0	0,1367	0,2674
Orzech ziemny <i>Peanut</i>	1	2,56	3	7,32	0	0	0,6442	0,9499
Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	6	15,39	13	31,71	0	0	0,1465	0,6344
Jabłko / <i>Apple</i>	3	7,69	4	9,76	0	0	0,9448	0,8534

Tabela 12. Czulość, swoistość, dokladność, wartość predykcijna dodatnia i ujemna sIgE z lateksem i alergenami pokarmowymi

Table 12. Sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value sIgE with latex and food allergens

Alergen <i>Allergens</i>	Czulość <i>Sensitivity</i> (%)	Swoistość <i>Specificity</i> (%)	Dokladność <i>Accuracy</i> (%)	WPD <i>PPV*</i> (%)	WPU <i>NPV**</i> (%)
Lateks / <i>Latex k82</i>	18	92	63	58	64
Hev b 1	0***	98	60	0***	61
Hev b 3	0***	98	60	0***	61
Hev b 5	3	98	61	50	61
Hev b 6.01	8	98	63	75	63
Hev b 6.02	10	98	64	80	63
Hev b 8	3	93	58	20	60

Alergen <i>Allergens</i>	Czułość <i>Sensitivity</i> (%)	Swoistość <i>Specificity</i> (%)	Dokładność <i>Accuracy</i> (%)	WPD <i>PPV*</i> (%)	WPU <i>NPV**</i> (%)
Hev b 9	0***	98	60	0***	61
Hev b 11	3	98	61	50	61
Banan / <i>Banana</i>	25	91	86	20	93
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	18	94	86	29	90
Awokado/ <i>Avocado</i>	17	88	84	8	94
Ziemniak / <i>Potato</i>	40	93	90	22	97
Pomidor / <i>Tomato</i>	0***	89	84	0***	93
Seler / <i>Celery</i>	25	92	87	22	93
Marchew / <i>Carrot</i>	0***	91	88	0***	97
Papryka / <i>Paprika</i>	0***	94	92	0***	98
Orzech wł/ <i>Walnut</i>	15	98	87	50	89
Orzech ziemny <i>Peanut</i>	0***	96	94	0***	98
Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	43	85	79	32	90
Jabłko / <i>Apple</i>	9	93	84	14	89

*WPD / PPV wartość predykcijna dodatnia / *positive predictive value*

**WPU / NPV wartość predykcijna ujemna / *negative predictive value*

***brak wyników TP / *absence of true positive results*

Czułość i swoistość sIgE z alergenami lateksu (k82) wyniosły odpowiednio 18 i 92%. Dla alergenów pokarmowych czułość zawierała się w przedziale od 9 do 40%, swoistość odpowiednio od 85 do 98%.

4.4 Wyniki oznaczeń tryptazy

Oznaczenia tryptazy wykazały podwyższone stężenie u 5 badanych – 2 z grupy A, 2 z grupy B i 1 z grupy C. U 4 osób przeprowadzono pełną diagnostykę w kierunku mastocytozy, potwierdzając rozpoznanie mastocytozy układowej w dwóch przypadkach. Jedna osoba odmówiła przeprowadzenia dodatkowej diagnostyki (wartość tryptazy 14,8 µg/l).

4.5 Wyniki testu ImmunoCAP ISAC

Wyniki ImmunoCAP ISAC testu dla alergenów lateksu oraz alergenów reagujących krzyżowo z lateksem przedstawiono w tabeli 13.

Tabela 13. Wyniki ImmunoCAP ISAC (alergeny lateksu oraz reagujące krzyżowo z lateksem)

Table 13. ImmunoCAP ISAC results (latex and cross-reactivity with latex allergens)

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
<i>Alergeny lateksu / Latex allergens</i>								
rHev b 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
rHev b 3	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207
rHev b 5	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207
rHev b 6	4	10,26	0	0	0	0	0,1117	0,0424
rHev b 8	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
<i>LTP / Non-specific lipid transfer protein 1</i>								
rPru p 3	0	0	0	0	0	0	-	-
rCor a 8	0	0	0	0	0	0	-	-
nArt v 3	2	5,13	7	17,07	0	0	0,1815	0,4693
rPar j 2	0	0	0	0	0	0	-	-
<i>Bromelina / Bromelain</i>								
nAna c 2	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
<i>Profiliny / Profilins</i>								
rBet v 2	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818
nOle e 2	0	0	0	0	0	0	-	-
rHev b 8	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
rMer a 1	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818
rPhl p 12	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
<i>Enolaza / Enolase</i>								
rAlt a 6	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
<i>Mn dysmutaza nadtlenkowa / Mn superoxide dismutase</i>								
rAsp f 6	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818

Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami dotyczących częstości występowania rekombinowanych alergenów lateksu oraz reagujących krzyżowo z lateksem (test χ^2 , $p < 0,05$). Porównując całą badaną populację (tzn. włączając do analizy grupę C), wykazano częstsze występowanie rHev b 6 w grupie osób zgłaszających objawy po kontakcie z wyrobami lateksowymi (test χ^2 , $p = 0,0424$).

Udział pozostałych alergenów pochodzenia roślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem, przedstawiono w tabeli 14. Umieszczono w niej alergeny, dla których uzyskano minimum jeden wynik dodatni.

Tabela 14. Wyniki ImmunoCAP ISAC (alergeny pochodzenia roślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem)

Table 14. ImmunoCAP ISAC results (plant allergens without cross-reactivity with latex allergens)

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
<i>PR-10 / Pathogenesis-related protein 10</i>								
rBet v 1	7	17,95	10	24,39	1	5,00	0,6668	0,7978
rAln g 1	5	12,82	4	9,76	0	0	0,9365	0,4782
rCor a 1.0101	4	10,26	5	12,20	0	0	0,9365	0,9943
rCor a 1.0401	4	10,26	8	19,51	1	5,00	0,3977	0,7282
rMal d 1	4	10,26	5	12,20	0	0	0,9365	0,9943
rPru p 1	3	7,69	6	14,63	0	0	0,5298	0,9943

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
rGly m 4	1	2,56	4	9,76	0	0	0,3863	0,6721
rAra h 8	1	2,56	4	9,76	0	0	0,3863	0,6721
rApi g 1	2	5,13	0	0	0	0	0,4520	0,2917
rDau c 1	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207
nAct d 8	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
<i>Białko taumatynowe / Thaumatin-like protein</i>								
nAct d 2	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
<i>Policalcyny / Polcalcins</i>								
rBet v 4	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207
rPhl p 7	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,6818
<i>Białka zapasowe / Storage proteins</i>								
nCor a 9	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nSes i 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nAra h 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nGly m 5	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818
nGly m 6	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207
<i>Pozostałe alergeny / Other allergens</i>								
nCyn d 1	6	15,38	15	36,59	0	0	0,0574	0,3950
rPhl p 1	11	28,21	17	41,46	1	5,00	0,3133	0,9316
rPhl p 2	9	23,08	16	39,02	3	15,0	0,1947	0,5167
nPhl p 4	4	10,26	12	29,27	1	5,00	0,0650	0,2450
rPhl p 5	6	15,38	16	39,02	0	0	0,0343	0,3033
rPhl p 6	2	5,13	7	17,07	0	0	0,1815	0,4693
rPhl p 11	5	12,82	7	17,07	0	0	0,8265	0,9096
nCry j 1	0	0	1	2,44	1	5,00	0,9799	0,6818
nCup a 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		P (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
nOle e 1	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,6818
nPla a 2	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nArt v 1	3	7,69	11	26,83	0	0	0,0503	0,1772
nAct d 1	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,8207
nTri a 18	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207

Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami dotyczących częstości występowania rekombinowanych alergenów pochodzenia roślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem (test χ^2 , $p < 0,05$). Jedynie w przypadku rPhl p 5 wykazano istotnie częstsze występowanie tego alergenu w grupie B w odniesieniu do grupy A (test χ^2 , $p = 0,0343$). Porównując całą badaną populację (tzn. włączając do analizy grupę C), zależności tej nie wykazano.

Udział pozostałych alergenów pochodzenia nieroślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem przedstawiono w tabeli 15. Analogicznie jak w przypadku alergenów pochodzenia roślinnego, w tabeli umieszczono alergeny, dla których uzyskano minimum jeden wynik dodatni.

Tabela 15. Wyniki ImmunoCAP ISAC (alergeny pochodzenia nieroślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem)

Table 15. ImmunoCAP ISAC results (non-plant allergens without cross-reactivity with latex allergens)

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		p (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
<i>Proteaza cysteiny / Cystein protease</i>								
nDer p 1	4	10,26	6	14,63	1	5,00	0,7998	0,8906
nDer f 1	4	10,26	6	14,63	1	5,00	0,7998	0,8906

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		p (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
<i>Rodzina NPC2 / NPC2 family</i>								
rDer f 2	7	17,95	7	17,07	0	0	0,8483	0,5389
nDer p 2	7	17,95	7	17,07	0	0	0,8483	0,5389
rEur m 2	3	7,69	5	12,20	0	0	0,7655	0,7740
<i>Parvalbumina / Parvalbumin</i>								
rCyp c 1	1	2,56	2	4,88	0	0	0,9648	0,6917
nGad c 1	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,6818
<i>Tropomiozyna / Tropomyosin</i>								
rPen a 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nPen m 1	0	0	1	2,44	1	5,00	0,9799	0,6818
rDer p 10	0	0	0	0	1	5,00	-	0,8207
nBla g 7	1	2,56	1	2,44	1	5,00	0,4962	0,6917
rAni s 3	0	0	1	2,44	1	5,00	0,9799	0,6818
<i>Surowicza albumina / Serum albumin</i>								
nFel d 2	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nCan f 3	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nEqu c 3	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nGal d 5	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
<i>Lipokalina / Lipocalin</i>								
rFel d 4	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818
rCan f 1	2	5,13	7	17,07	0	0	0,1815	0,4693
rCan f 2	1	2,56	3	7,32	0	0	0,6442	0,9499
nMus n 1	0	0	2	4,88	0	0	0,4962	0,6818
<i>Pozostałe alergeny / Other allergens</i>								
nGal d 3	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nBos d lactoferrin	2	5,13	2	4,88	0	0	0,6442	0,9499
rBla g 1	1	2,56	1	2,44	0	0	0,4962	0,6818

Alergen <i>Allergen</i>	Grupa A <i>Group A</i> (N=39)		Grupa B <i>Group B</i> (N=41)		Grupa C <i>Group C</i> (N=20)		p (χ^2)	
	n	%	n	%	n	%	A v. B	A v. B+C
rFel d 1	6	15,38	9	21,95	0	0	0,6415	0,8407
rAlt a 1	0	0	3	7,32	0	0	0,2571	0,4207
rAsp f 1	2	2,56	2	4,88	0	0	0,6442	0,9499
rCla h 8	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
rAni s 1	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207
nApi m 1	0	0	1	2,44	0	0	0,9799	0,8207
nApi m 4	1	2,56	0	0	0	0	0,9799	0,8207

Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami dotyczących częstości występowania rekombinowanych alergenów pochodzenia nieroślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem (test χ^2 , $p < 0,05$).

4.6 Wyniki testów aktywacji bazofilów

Wyniki BAT dla poszczególnych alergenów przedstawiają tabele 16 – 28. Wyniki, które oceniono dodatnio, zaznaczono pogrubioną czcionką. Następnie porównywano dane z wywiadu oraz wynikami SPT i sIgE, co pozwoliło na wyłonienie trzech grup badanych:

1. wywiad potwierdzono dodatnimi wynikami SPT i/lub sIgE,
2. wywiadu nie udało się potwierdzić żadnym z wykonanych badań (SPT i sIgE),
3. pomimo ujemnego wywiadu uzyskano dodatnie wyniki SPT i/lub sIgE.

Tak uporządkowane wyniki BAT przedstawiono graficznie na rycinach od 4 do 15. U 6 badanych osób badania BAT nie wykonano, ponieważ nie zgłosili się na dokończenie diagnostyki.

Tabela 16. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE i alergenów lateksu

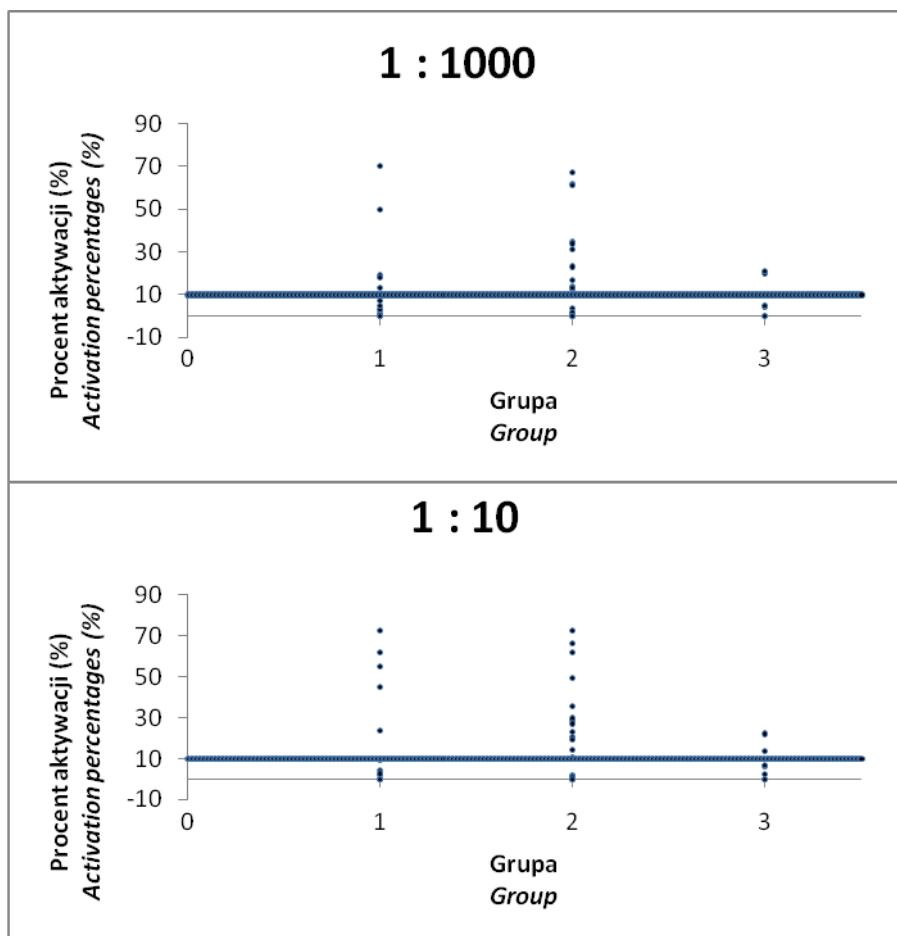
Table 16. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE and latex allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>			
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000
1-RW	A	1,24	87,14	3,37	8,57
3-ASz	A	4,34	47,11	39,74	38,94
6-KK	A	3,42	91,04	2,81	2,46
7-AG	A	4,87	83,91	15,34	17,53
8-MC	A	0	68,11	4,32	3,26
17-KR	A	1,4	81,74	3,35	4,93
22-BS	A	4,22	78,42	24,89	21,16
23-NK	A	4,29	49,15	33,20	5,52
25-PC	B	1,46	81,19	23,58	21,62
27-UK	A	1,65	79,91	25,12	14,88
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77
37-MS	A	5,78	79,53	20,16	3,74
38-AG	A	1,44	63,52	3,17	0,46
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95
46-EL	A	2,08	86,83	51,42	33,13
49-ESM	A	5,00	79,33	66,92	67,10
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32
51-ATG	A	10,81	87,67	10,44	12,01
52-TC	A	3,17	61,11	32,87	37,20
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94
55-AK	A	0,58	54,41	0,40	0,79

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>			
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38
60-MW	A	8,82	79,52	18,23	13,56
64-JS	A	6,95	64,07	61,80	56,60
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18
66-JR	A	7,27	79,61	30,35	20,52
69-AP	A	7,03	84,14	5,63	8,81
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36
76-KC	A	3,87	67,29	76,25	71,13
77-AZ	A	1,02	42,04	2,05	0,99
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49
94-IS	A	4,13	84,61	31,26	27,29
96-MH	A	7,75	74,78	6,25	5,94

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami lateksu wykonano u 41 badanych. BAT oceniono dodatkowo w 21 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 19 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+
grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE
grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 4. Wyniki BAT z alergenami lateksu (cut-off 10%)

Figure 4. BAT results – latex allergens (cut-off 10%)

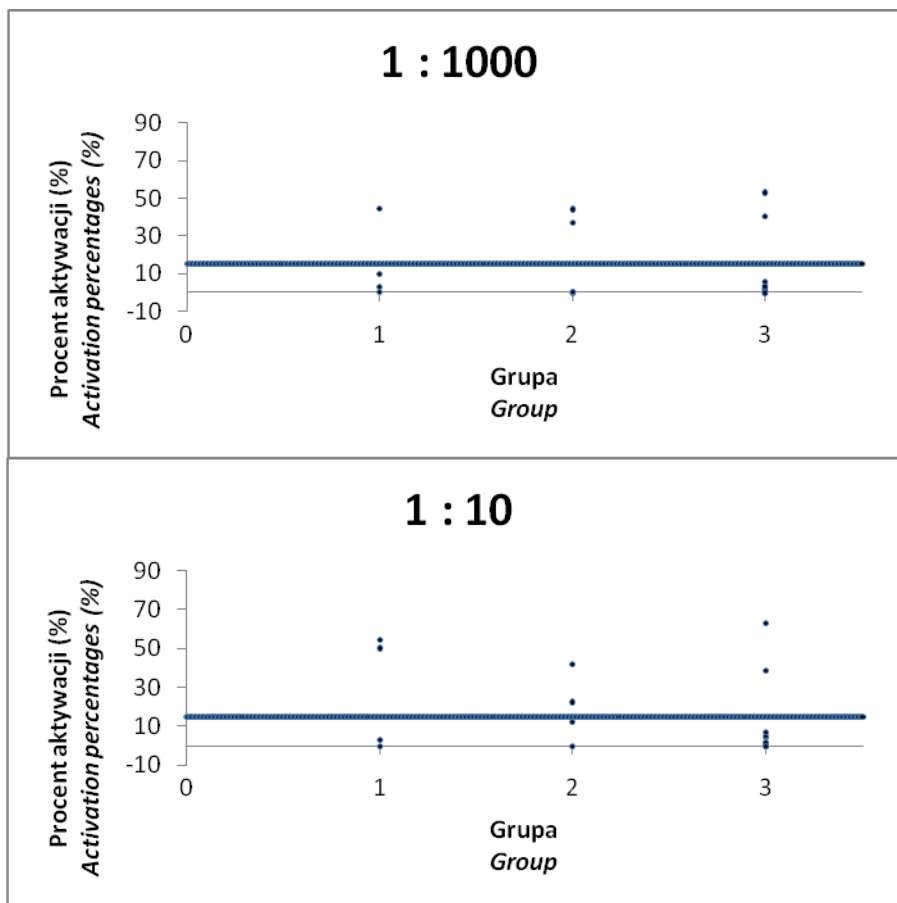
Tabela 17. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i banana

Table 17. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and banana allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Banan / <i>Banana</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
1-RW	A	1,24	87,14	3,37	8,57	1,01	1,63
3-ASz	A	4,34	47,11	39,74	38,94	43,25	44,92
6-KK	A	3,42	91,04	2,81	2,46	2,81	2,46
17-KR	A	1,40	81,74	3,35	4,93	2,62	1,32
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77	15,60	3,77
38-AG	A	1,44	63,52	3,17	0,46	2,96	2,85
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	6,48	4,38
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	57,55	17,39
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	45,60	48,08
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	2,89	4,16
51-ATG	A	10,81	87,67	10,44	12,01	1,48	6,35
52-TC	A	3,17	61,11	32,87	37,20	25,71	40,00
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	65,77	55,80
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	57,04	47,01
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	5,20	5,38
60-MW	A	8,82	79,52	18,23	13,56	14,01	12,21
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	2,45	3,13
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	12,66	11,24
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	5,55	2,45
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	2,77	3,18

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami banana wykonano u 20 badanych. BAT oceniono dodatnio w 6 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 5 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE-

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 5. Wyniki BAT z alergenami banana (cut-off 15%)

Figure 5. BAT results – banana allergens (cut-off 15%)

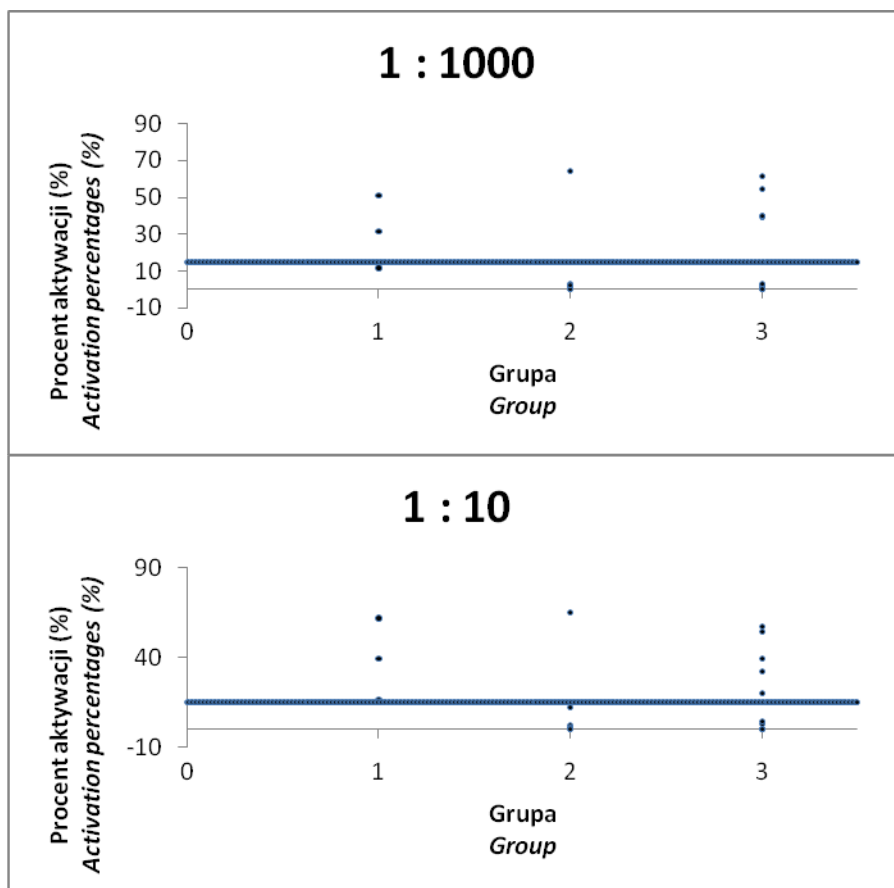
Tabela 18. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i kiwi

Table 18. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and kiwi fruit allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Kiwi / <i>Kiwi Fruit</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
1-RW	A	1,24	87,14	3,37	8,57	3,58	2,92
3-ASz	A	4,34	47,11	39,74	38,94	43,67	43,94
6-KK	A	3,42	91,04	2,81	2,46	3,85	1,54
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	2,08	7,61
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77	15,60	3,77
38-AG	A	1,44	63,52	3,17	0,46	0,83	1,27
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79	4,42	6,80
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	24,06	19,13
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	69,17	68,33
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	4,87	3,00
52-TC	A	3,17	61,11	32,87	37,20	65,11	54,23
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	25,00	5,34
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	59,85	64,28
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	41,62	33,93
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	2,71	5,03
60-MW	A	8,82	79,52	18,23	13,56	13,37	11,71
64-JS	A	6,95	64,07	61,80	56,60	39,1	47,05
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	3,24	3,55
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	59,82	59,82
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	3,52	2,19

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami kiwi wykonano u 20 badanych. BAT oceniono dodatnio w 8 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 6 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE-

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 5. Wyniki BAT z alergenami kiwi (cut-off 15%)

Figure 5. BAT results – kiwi allergens (cut-off 15%)

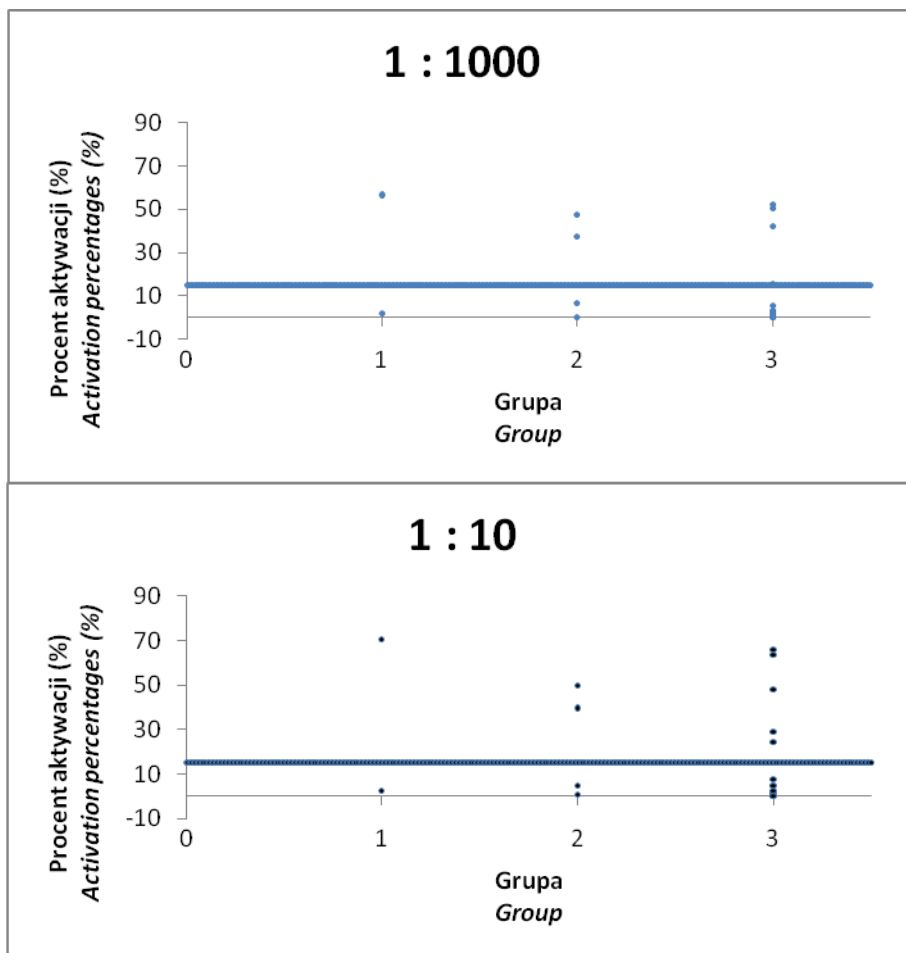
Tabela 19. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i awokado

Table 19. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and avocado allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Awokado / <i>Avocado</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
6-KK	A	3,42	91,04	2,81	2,46	4,00	3,68
22-BS	A	4,22	78,42	24,89	21,16	28,57	19,61
23-NK	A	4,29	49,15	33,20	5,52	33,45	7,39
25-PC	B	1,46	81,19	23,58	21,62	8,96	3,35
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	3,75	3,87
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77	8,59	10,39
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	7,28	5,20
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	77,9	64,00
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	53,63	51,31
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	3,10	3,00
51-ATG	A	10,81	87,67	10,44	12,01	8,88	9,88
52-TC	A	3,17	61,11	32,87	37,20	42,85	40,35
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	50,87	44,86
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	65,83	52,94
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	4,82	4,16
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	5,90	2,82
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	77,90	64,00
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	10,09	11,11
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	2,05	3,31
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	2,56	3,74

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami awokado wykonano u 20 badanych. BAT oceniono dodatnio w 8 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 7 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 6. Wyniki BAT z alergenami awokado (cut-off 15%)

Figure 6. BAT results – avocado allergens (cut-off 15%)

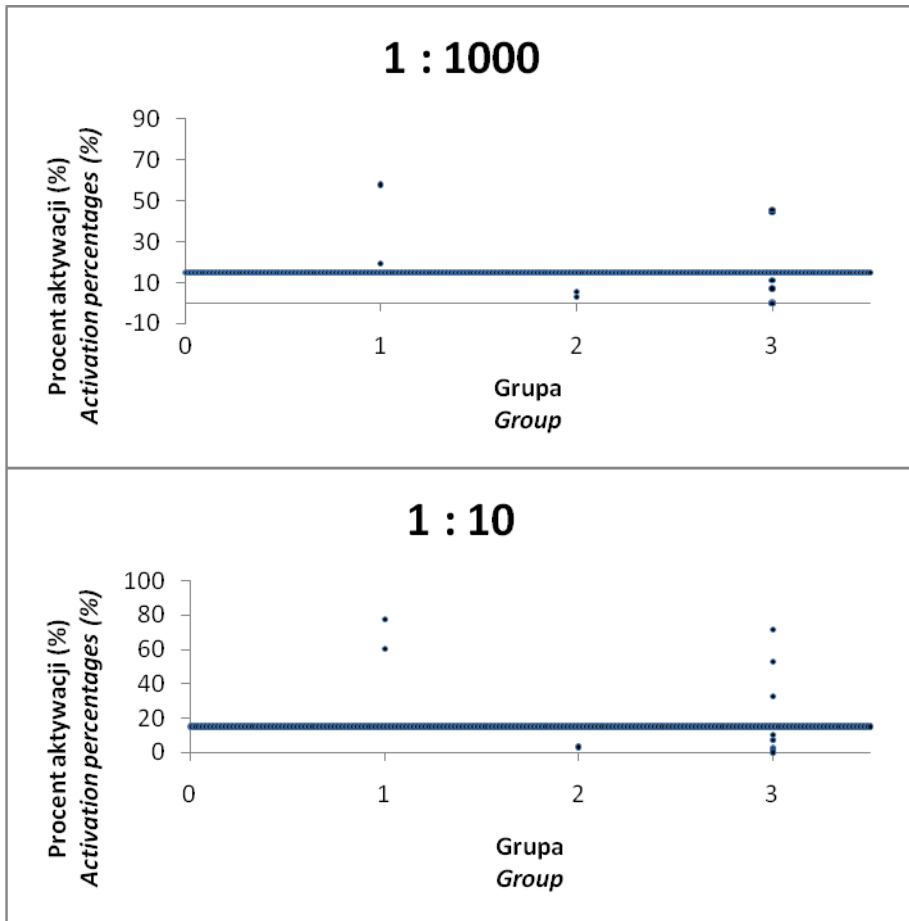
Tabela 20. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i ziemniaka

Table 20. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and potato allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Ziemniak / <i>Potato</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
23-NK	A	4,29	49,15	33,20	5,52	7,04	4,02
25-PC	B	1,46	81,19	23,58	21,62	11,51	2,00
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	2,05	4,59
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79	7,50	6,92
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	9,43	2,20
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	84,86	26,98
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	6,99	9,51
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	8,76	8,90
51-ATG	A	10,81	87,67	10,44	12,01	7,20	8,89
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	55,35	47,14
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	62,73	60,19
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	5,08	2,10
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	38,22	16,66
76-KC	A	3,87	67,29	76,25	71,13	75,52	49,63
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	1,41	1,53
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	2,22	2,59

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami ziemniaka wykonano u 16 badanych. BAT oceniono dodatnio w 5 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 4 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+
 grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE-
 grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 7. Wyniki BAT z alergenami ziemniaka (cut-off 15%)

Figure 7. BAT results – potato allergens (cut-off 15%)

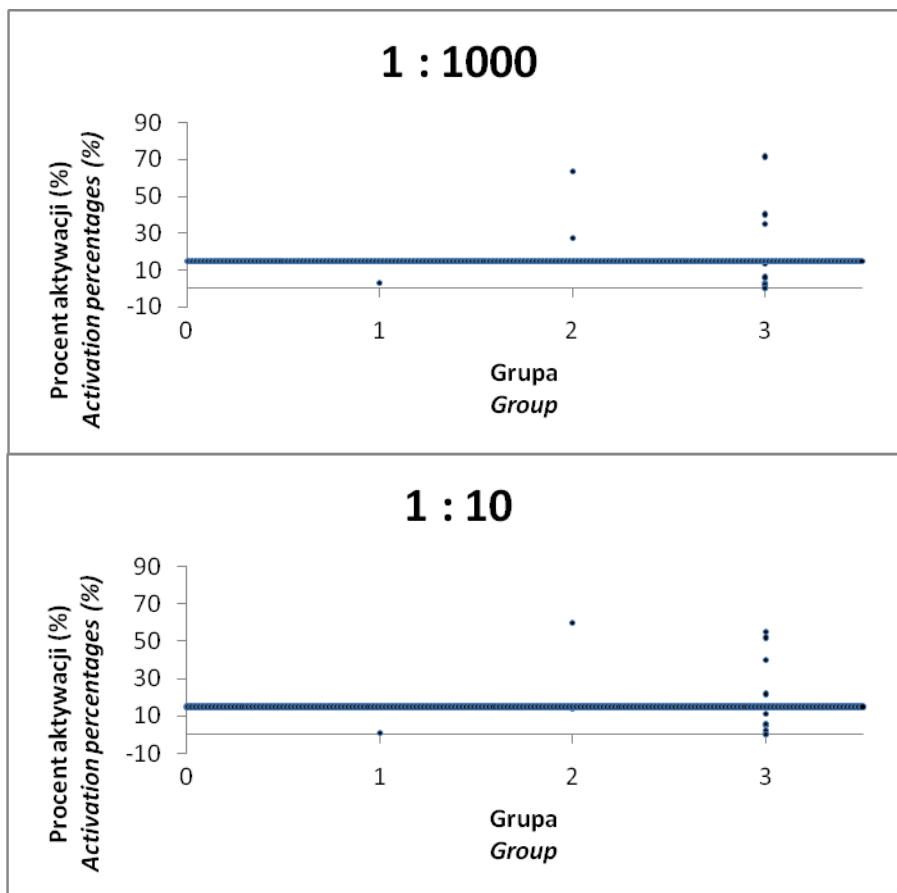
Tabela 21. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i pomidora

Table 21. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and tomato allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Pomidor / <i>Tomato</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
1-RW	A	1,24	87,14	3,37	8,57	2,43	4,16
25-PC	B	1,46	81,19	23,58	21,62	6,47	2,49
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	3,02	3,46
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79	1,50	9,40
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	13,59	3,96
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	29,25	10,65
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	17,93	31,17
49-ESM	A	5,00	79,33	66,92	67,10	65,21	68,84
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	58,03	43,04
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	42,30	37,50
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	7,82	8,57
60-MW	A	8,82	79,52	18,23	13,56	14,48	10,84
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	3,44	2,57
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	64,00	83,69
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	7,88	18,66
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	3,36	4,68

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami pomidora wykonano u 16 badanych. BAT oceniono dodatnio w 5 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 5 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+
 grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE
 grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 8. Wyniki BAT z alergenami pomidora (cut-off 15%)

Figure 8. BAT results – tomato allergens (cut-off 15%)

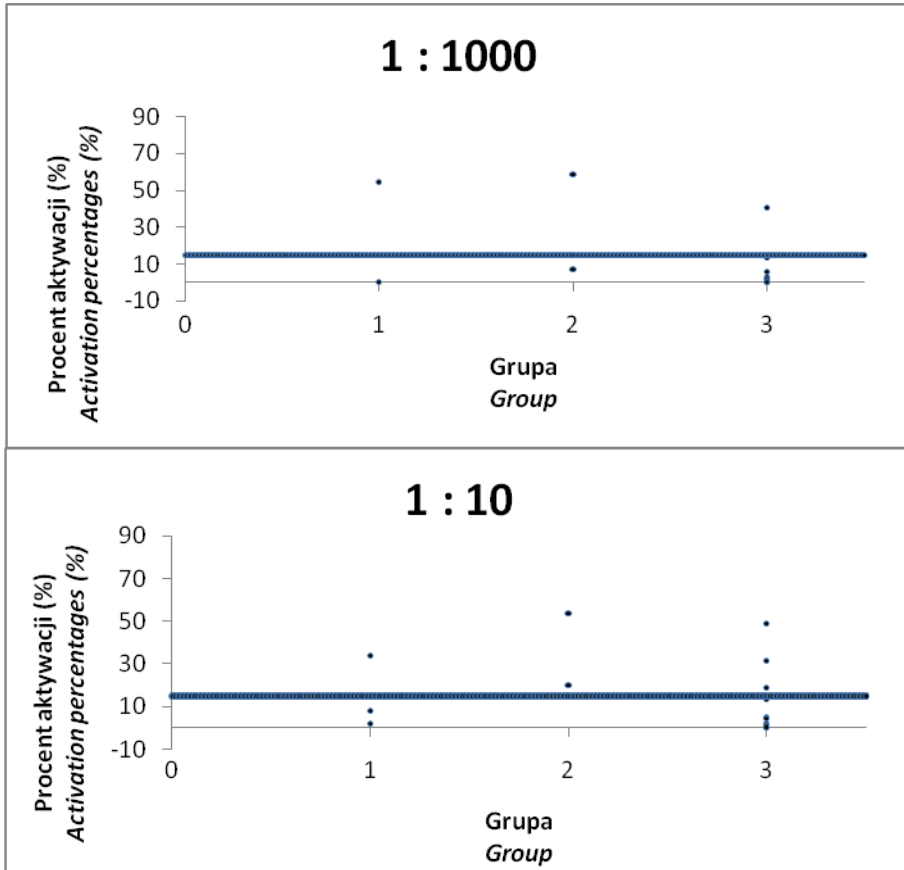
Tabela 22. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i selera

Table 22. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and celery allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Seler / <i>Celery</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
22-BS	A	4,22	78,42	24,89	21,16	23,07	18,22
23-NK	A	4,29	49,15	33,20	5,52	2,63	4,24
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	7,19	6,74
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77	8,49	9,42
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	6,78	5,00
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	27,32	14,33
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	57,91	62,90
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	15,21	3,22
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	5,69	1,66
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	36,42	56,69
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	4,34	2,89
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	11,37	2,86
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	7,42	26,24
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	54,25	18,77
76-KC	A	3,87	67,29	76,25	71,13	35,56	44,35
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	5,89	4,60

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami selera wykonano u 16 badanych. BAT oceniono dodatnio w 6 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 3 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 9. Wyniki BAT z alergenami selera (cut-off 15%)

Figure 9. BAT results – celery allergens (cut-off 15%)

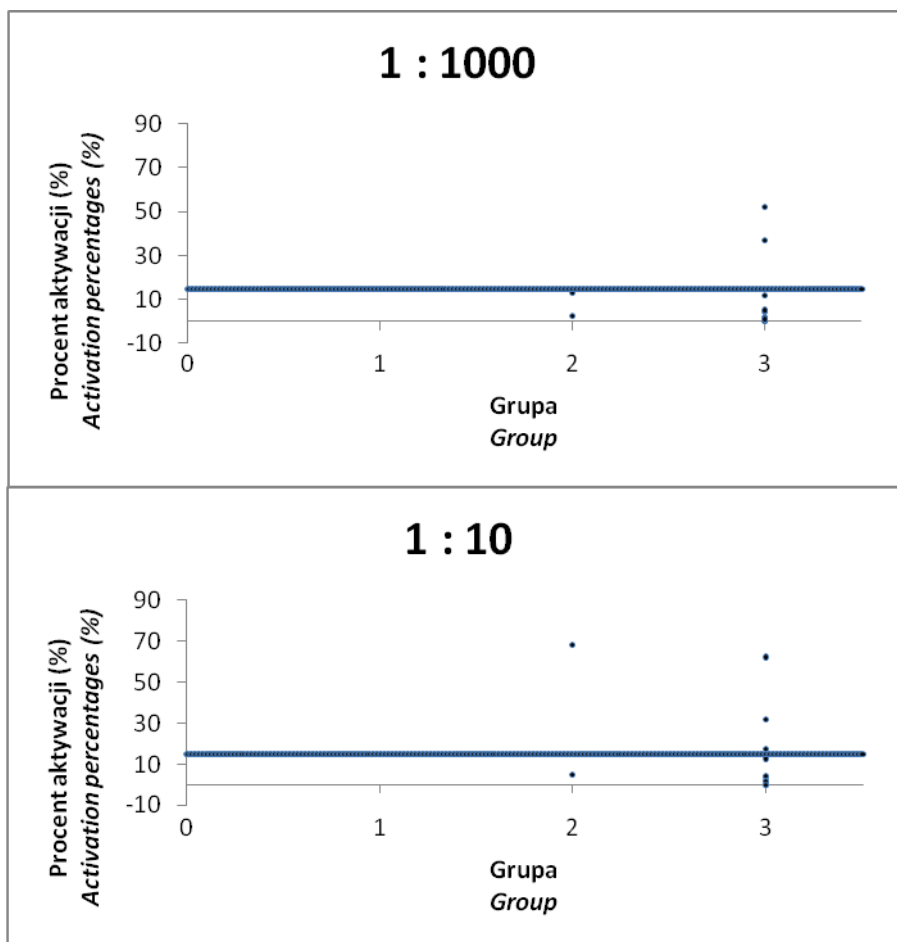
Tabela 23. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i marchwi

Table 23. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and carrot allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Marchew / <i>Carrot</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
8-MC	A	0	68,11	4,32	3,26	4,72	2,66
22-BS	A	4,22	78,42	24,89	21,16	18,64	15,9
25-PC	B	1,46	81,19	23,58	21,62	14,19	3,20
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	6,06	4,22
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	72,19	16,95
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	5,79	6,27
52-TC	A	3,17	61,11	32,87	37,20	34,92	40,29
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	2,91	3,41
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	64,97	54,77
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	4,04	2,77
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	1,98	1,21
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	7,14	10,10
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	22,64	10,57
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	5,68	3,04
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	4,80	6,40

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami lateksu wykonano u 15 badanych. BAT oceniono dodatnio w 4 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 2 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 10. Wyniki BAT z alergenami marchwi (cut-off 15%)

Figure 10. BAT results – carrot allergens (cut-off 15%)

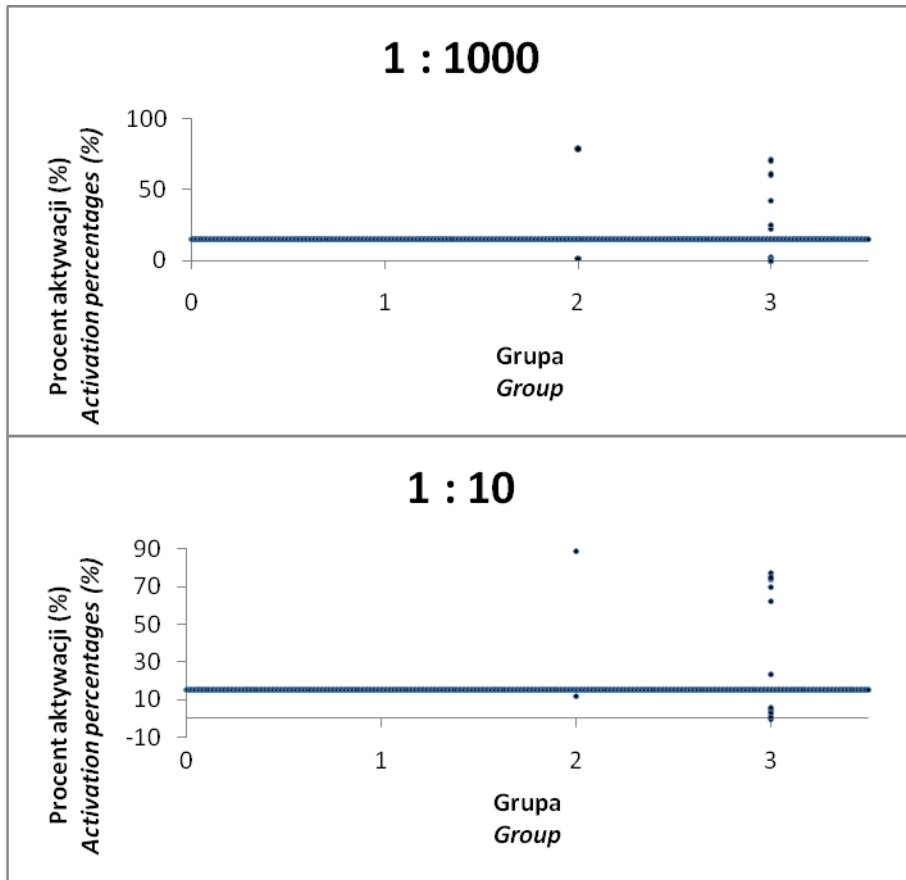
Tabela 24. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i papryki

Table 24. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and paprika allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Papryka / <i>Paprika</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
1-RW	A	1,24	87,14	3,37	8,57	1,22	1,00
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	6,21	6,84
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	84,32	78,09
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	92,69	82,85
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	13,75	2,95
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	9,18	7,14
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	76,11	63,04
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	8,21	2,51
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	6,36	3,91
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	75,05	27,63
76-KC	A	3,87	67,29	76,25	71,13	65,97	46,35
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	27,16	1,84
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	80,22	30,30

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z papryki lateksu wykonano u 13 badanych. BAT oceniono dodatnio w 7 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 6 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+
 grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE
 grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 11. Wyniki BAT z alergenami papryki (cut-off 15%)

Figure 11. BAT results – paprika allergens (cut-off 15%)

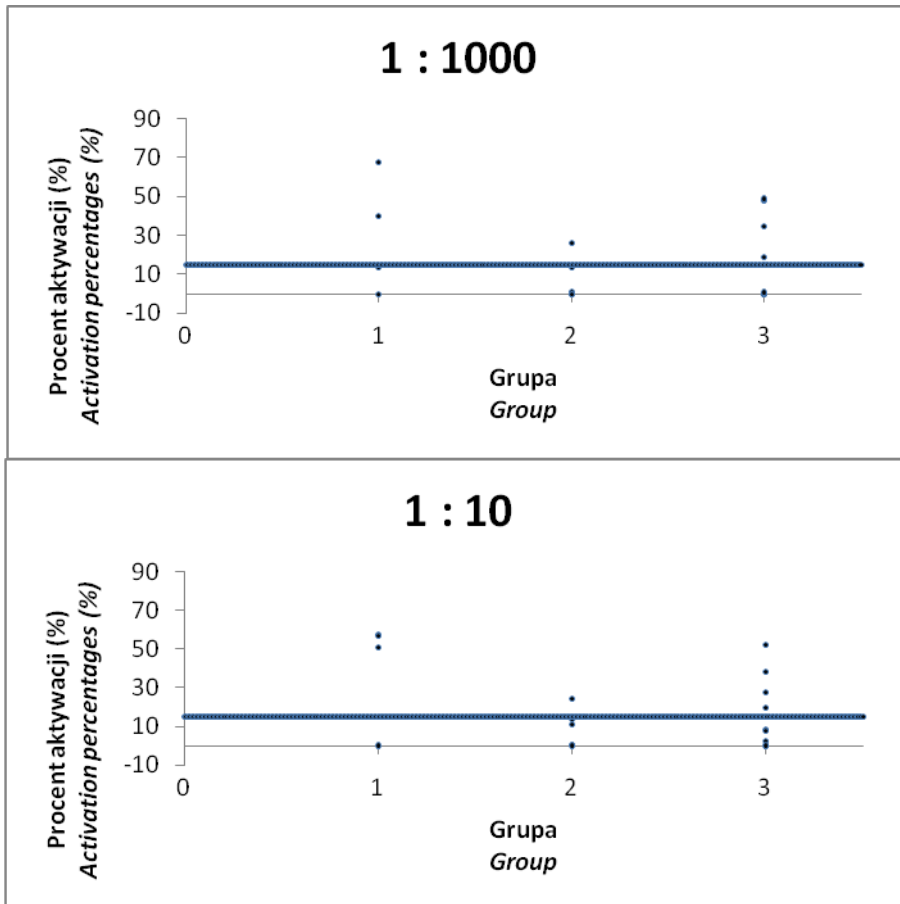
Tabela 25. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i orzecha włoskiego

Table 25. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and walnut allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Orzech włoski / <i>Walnut</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
3-ASz	A	4,34	47,11	39,74	38,94	31,95	38,94
22-BS	A	4,22	78,42	24,89	21,16	23,79	18,99
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	1,47	2,96
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79	4,21	5,13
42-NC	B	2,32	24,49	16,26	23,43	4,81	2,06
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	65,07	20,91
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	17,56	30,19
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	0,00	0,00
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	55,15	50,79
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	52,94	42,38
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	2,27	2,00
60-MW	A	8,82	79,52	18,23	13,56	17,04	9,55
64-JS	A	6,95	64,07	61,80	56,60	45,13	55,81
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	60,14	71,22
66-JR	A	7,27	79,61	30,35	20,52	31,70	20,89
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	23,22	2,71
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	13,14	24,09
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	3,26	5,00

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami orzecha włoskiego wykonano u 18 badanych. BAT oceniono dodatkowo w 8 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 6 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+
 grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE
 grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 12. Wyniki BAT z alergenami orzecha włoskiego (cut-off 15%)

Figure 12. BAT results – walnut allergens (cut-off 15%)

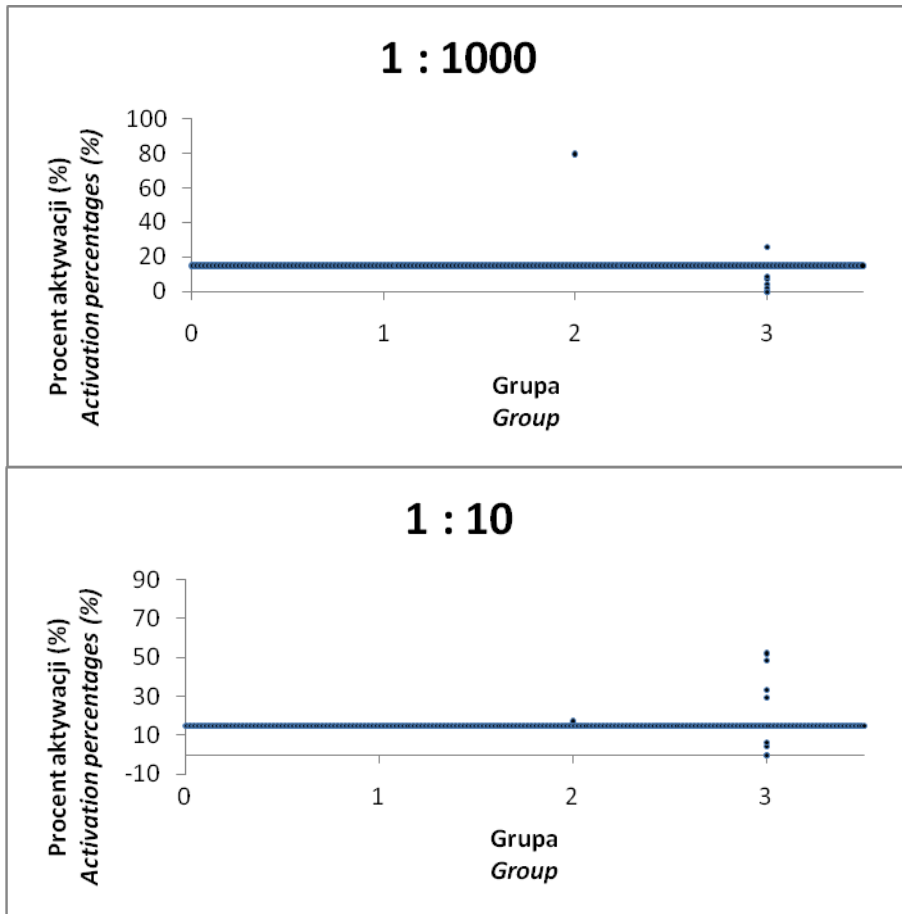
Tabela 26. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i orzecha ziemnego

Table 26. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and peanut allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Orzech ziemny / <i>Peanut</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
28-BL	A	5,33	77,84	4,10	6,48	2,68	3,43
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77	7,69	7,97
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	55,91	14,36
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	21,14	83,55
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	8,15	3,83
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	2,03	4,67
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	1,79	0,40
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	64,15	37,86
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	34,63	13,91
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	3,60	2,27
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	38,59	4,79

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami orzecha ziemnego wykonano u 11 badanych. BAT oceniono dodatnio w 5 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 2 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 13. Wyniki BAT z alergenami orzecha ziemnego (cut-off 15%)

Figure 13. BAT results – peanut allergens (cut-off 15%)

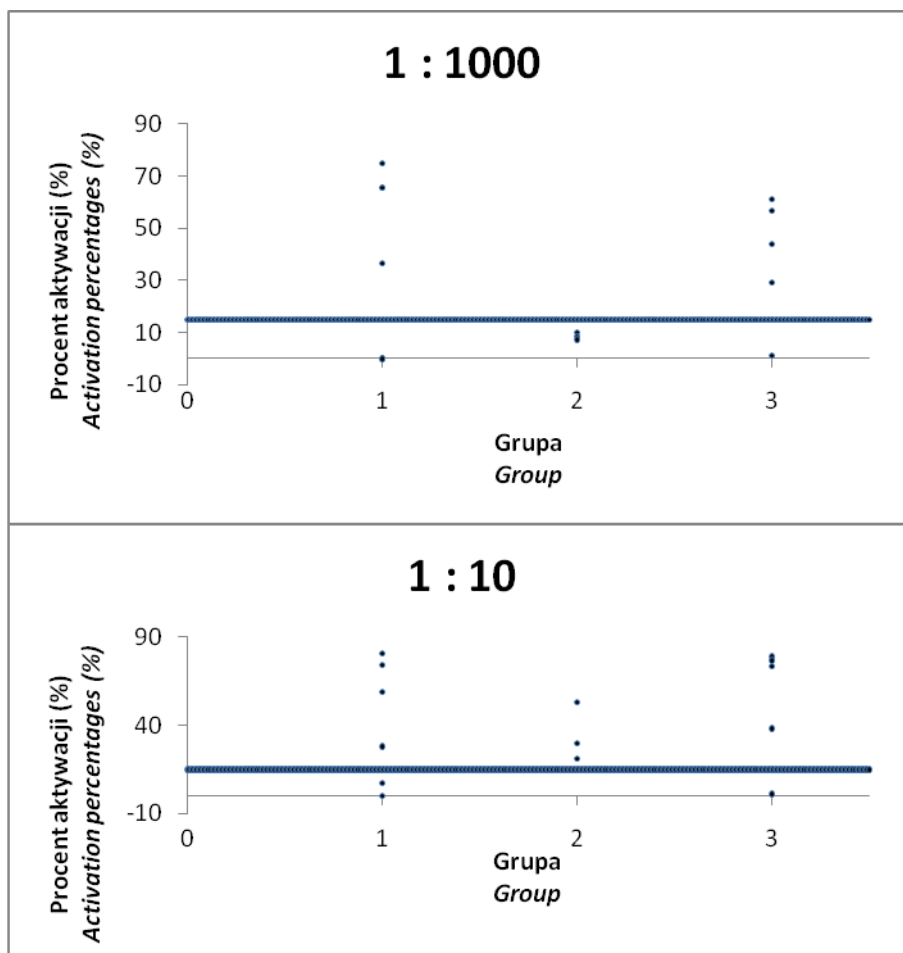
Tabela 27. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i orzecha laskowego

Table 27. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and hazelnut allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
3-ASz	A	4,34	47,11	39,74	38,94	42,57	48,14
22-BS	A	4,22	78,42	24,89	21,16	19,33	33,52
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79	84,81	78,83
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	60,57	17,40
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	33,76	12,56
49-ESM	A	5,00	79,33	66,92	67,10	83,90	66,21
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	2,70	3,57
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	79,47	59,47
58-ES	A	2,30	39,81	75,00	72,45	30,34	38,94
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	3,65	3,46
65-TK	B	3,48	67,84	1,93	3,18	62,54	69,10
66-JR	A	7,27	79,61	30,35	20,52	28,42	14,64
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	85,85	77,61
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	78,94	20,52
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	12,73	5,16

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami orzecha laskowego wykonano u 15 badanych. BAT oceniono dodatnio w 12 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 9 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+

grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE

grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 14. Wyniki BAT z alergenami orzecha laskowego (cut-off 15%)

Figure 14. BAT results – hazelnut allergens (cut-off 15%)

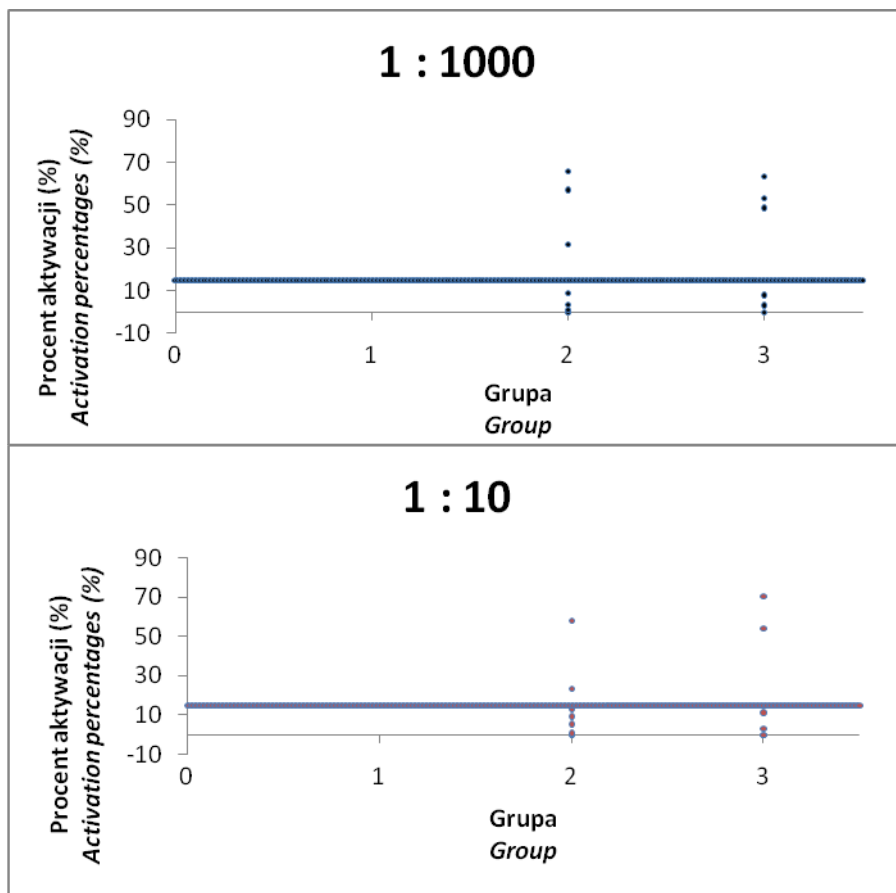
Tabela 28. Odsetek aktywowanych bazofilów pod wpływem PBS, anti-IgE, alergenów lateksu i jabłka

Table 28. Percentages of activated basophiles after PBS, anti-IgE, latex and apple allergens

Pacjent <i>Patient</i>	Grupa <i>Group</i>	% aktywacji bazofilów / % <i>basophiles activation</i>					
		Kontrola / <i>Control</i>		Lateks / <i>Latex</i>		Jabłko / <i>Apple</i>	
		N*	P**	1:10	1:1000	1:10	1:1000
6-KK	A	3,42	91,04	2,81	2,46	1,75	3,27
33-AW	A	3,54	67,42	14,07	13,77	8,89	6,85
41-GS	A	3,85	80,43	49,05	22,79	2,36	11,83
43-MM	A	7,39	69,35	69,54	25,64	16,66	16,12
44-RJ	B	3,92	55,88	23,31	17,95	16,64	69,81
49-ESM	A	5,00	79,33	66,92	67,10	63,24	62,16
50-WJ	B	1,74	75,09	4,17	6,32	12,98	4,94
52-TC	A	3,17	61,11	32,87	37,20	26,47	34,66
53-TH	A	4,61	64,10	0,97	1,94	4,48	4,28
57-DB	A	2,76	52,69	68,91	64,18	57,05	56,14
59-JNG	A	2,45	73,15	5,20	5,38	3,24	3,37
72-MN	A	12,00	77,77	3,02	4,05	82,21	75,35
73-MG	B	5,42	63,23	11,63	10,36	8,69	54,21
79-JL	B	3,96	82,99	10,87	1,66	2,15	0,62
87-AT	B	5,37	76,12	2,39	2,49	3,09	5,10

N* negatywna / *negative*; P** pozytywna / *positive*

Test aktywacji bazofilów z alergenami jabłka wykonano u 15 badanych. BAT oceniono dodatnio w 4 przypadkach dla rozcieńczenia 1:10 i 6 dla rozcieńczenia 1:1000.



grupa / group 1 – wywiad+/SPT i/lub sIgE+ / case history+/SPT and/or sIgE+
 grupa / group 2 – wywiad+/SPT i sIgE- / case history+/SPT and sIgE-
 grupa / group 3 – wywiad-/SPT i/lub sIgE+ / case history-/SPT and/or sIgE+

Rycina 15. Wyniki BAT z alergenami jabłka (cut-off 15%)

Figure 15. BAT results – apple allergens (cut-off 15%)

Łącznie wykonano 472 oznaczenia. Dla obu rozcieńczeń badanych alergenów obliczono czułość, swoistość, dokładność, wartość predykcji dodatniej i ujemnej. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 29.

Tabela 29. BAT – czułość, swoistość, dokładność, wartość predykcji dodatniej i ujemnej
 Table 29. BAT – sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value.

Alergen <i>Allergen</i>	Czułość <i>Sensitivity</i> (%)		Swoistość <i>Specificity</i> (%)		Dokładność <i>Accuracy</i> (%)		WPD <i>PPV**</i> (%)		WPU <i>NPV***</i> (%)	
	1:10	1:1000	1:10	1:1000	1:10	1:1000	1:10	1:1000	1:10	1:1000
Lateks / <i>Latex</i>	56	50	71	71	59	54	91	90	25	23
Banan / <i>Banana</i>	50	38	83	83	70	65	67	60	71	67
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	44	33	55	64	50	50	44	33	55	54
Awokado / <i>Avocado</i>	50	50	64	71	60	65	38	43	75	77
Ziemniak / <i>Potato</i>	50	50	75	83	69	75	40	50	82	83
Pomidor / <i>Tomato</i>	33	66	69	77	63	75	20	40	82	91
Seler / <i>Celery</i>	75	50	75	92	75	81	50	66	90	85
Marchew / <i>Carrot</i>	50	0*	77	85	73	73	25	0*	91	85
Papryka / <i>Paprika</i>	50	50	46	55	46	54	14	17	83	86
Orzech włoski <i>Walnut</i>	44	33	55	55	50	44	50	43	50	46
Orzech ziemny <i>Peanut</i>	100	100	60	90	64	91	20	50	10 0	10 0
Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	78	44	17	17	53	33	58	33	33	17
Jabłko / <i>Apple</i>	25	38	71	57	47	47	50	50	46	44

* brak wyników TP / *absence of true positive results*

** WPD / PPV wartość predykcji dodatnia / *positive predictive value*

*** WPU / NPV wartość predykcji ujemna / *negative predictive value*

Wykorzystując krzywą ROC obliczono efektywność diagnostyczną BAT. Jako wynik dodatni przyjęto przypadki, w których wywiad potwierdził przynajmniej jednym z wcześniej wykonanych badań (SPT i/lub sIgE). Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 30.

Tabela 30. Efektywność diagnostyczna BAT
Table 30. BAT diagnostics effectiveness

Alergen <i>Allergen</i>		AUC	SE	P	SEN	SPE	LR		PV	
							+	-	+	-
Lateks <i>Latex</i>	1:10	0,593	0,085	0,2709	61,54	57,14	1,44	0,67	40,0	76,2
	1:1000	0,558	0,085	0,4979	61,54	50,00	1,23	0,77	36,4	73,7
Banan <i>Banana</i>	1:10	0,625	0,155	0,4193	50,00	75,00	2,00	0,67	33,3	85,7
	1:1000	0,500	0,137	1,0000	25,00	75,00	1,00	1,00	20,0	80,0
Kiwi <i>Kiwi fruit</i>	1:10	0,824	0,059	<0,0001	100,0	64,71	2,83	0,00	33,3	100,0
	1:1000	0,686	0,176	0,2902	66,67	70,59	2,27	0,47	28,6	92,3
Awokado <i>Avocado</i>	1:10	0,556	0,257	0,8288	50,00	61,11	1,29	0,82	12,5	91,7
	1:1000	0,583	0,256	0,7452	50,00	66,67	1,50	0,75	14,3	92,3
Ziemniak <i>Potato</i>	1:10	0,893	0,057	<0,0001	100,0	78,57	4,67	0,00	40,0	100,0
	1:1000	0,929	0,049	<0,0001	100,0	85,71	7,00	0,00	50,0	100,0
Seler <i>Celery</i>	1:10	0,571	0,259	0,7825	50,00	64,29	1,40	0,78	16,7	90,0
	1:1000	0,679	0,255	0,4832	50,00	85,71	3,50	0,58	33,3	92,3
Orzech włoski <i>Walnut</i>	1:10	0,696	0,142	0,1653	75,00	64,29	2,10	0,39	37,5	90,0
	1:1000	0,571	0,159	0,6531	50,00	64,29	1,40	0,78	28,6	81,8
Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	1:10	0,611	0,119	0,3511	33,33	88,89	3,00	0,75	66,7	66,7
	1:1000	0,556	0,137	0,6856	66,67	44,44	1,20	0,75	44,4	66,7

AUC pole pod krzywą (*area under curve*), SE błąd standardowy (*standard error*), SEN czułość (*sensitivity*), SPE swoistość (*specificity*), LR wskaźnik wiarygodności (*likelihood ratio*), PV wartość predykcyjna (*predictive value*)

Dla pozostałych alergenów (pomidor, marchew, papryka, orzech ziemny, jabłko) obliczenie efektywności diagnostycznej BAT nie było możliwe ze względu na brak wyników prawdziwie dodatnich.

Zgodność i korelację wyników badań BAT i sIgE z alergenami lateksu i pokarmów przedstawiono w tabeli 31.

Tabela 31. Zgodność i korelacja pomiędzy wynikami BAT i sIgE z alergenami lateksu i pokarmów

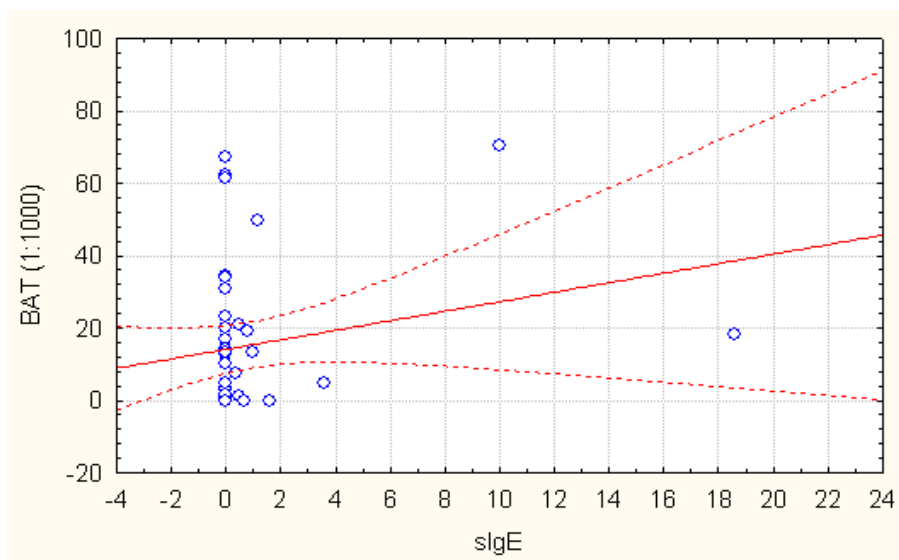
Table 31. Concordance and correlation between BAT and sIgE results to latex and food allergens

Alergen / Allergen	Zgodność / Concordance (%)		Korelacja / Correlation (r)*	
	1:10	1:1000	1:10	1:1000
Lateks / <i>Latex</i>	54	59	0,42	0,21
Banan / <i>Banana</i>	45	40	0,03	0,01
Kiwi / <i>Kiwi fruit</i>	65	75	0,35	0,37
Awokado / <i>Avocado</i>	50	55	0,18	0,19
Ziemniak / <i>Potato</i>	63	56	0,65	0,34
Pomidor / <i>Tomato</i>	56	44	-0,11	-0,17
Seler / <i>Celery</i>	44	50	0,42	-0,03
Marchew / <i>Carrot</i>	47	47	-0,04	-0,13
Papryka / <i>Paprika</i>	62	69	0,35	0,47
Orzech włoski / <i>Walnut</i>	50	67	0,34	0,55
Orzech ziemny / <i>Peanut</i>	82	73	0,23	-0,04
Orzech laskowy / <i>Hazelnut</i>	53	73	0,60	0,43
Jabłko / <i>Apple</i>	60	60	-0,12	0,28

* Korelacja Pearson'a / *Pearson's correlation* $p < 0,05$

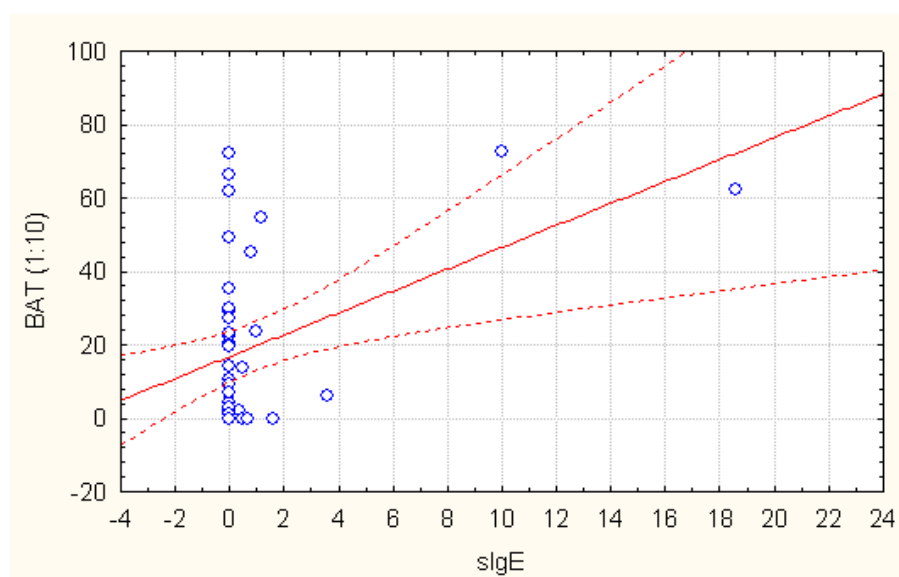
Przy wykorzystaniu rozcieńczenia 1:10 stosowanych ekstraktów alergenowych najwyższy współczynnik korelacji uzyskano w przypadku ziemniaka i orzecha laskowego. Dla rozcieńczenia 1:1000 zależność taką stwierdzono w przypadku orzecha włoskiego i papryki. Odpowiednio, najniższe wartości współczynnika korelacji wykazano dla banana i marchwi w przypadku rozcieńczeń 1:10 oraz banana, selera i orzecha ziemnego dla rozcieńczenia 1:1000.

Korelacje dotyczące sIgE oraz BAT z obydwooma rozcieńczeniami alergenów lateksu przedstawiają ryciny 16 oraz 17.



Rycina 16. Korelacja BAT (1:1000) oraz sIgE dla alergenów lateksu

Figure 16. Correlation between BAT (1:1000) and sIgE results to latex allergens



Rycina 17. Korelacja BAT (1:10) oraz sIgE dla alergenów lateksu

Figure 17. Correlation between BAT (1:10) and sIgE results to latex allergens

4.7 Wyniki testów płatkowych

Testy płatkowe wykonano łącznie u 11 osób z grupy A, które dodatnio oceniono w 4 przypadkach (parafenulodwuamina w dwóch przypadkach i tiuram w dwóch przypadkach) oraz 7 osób z grupy B, które oceniono dodatnio u 2 badanych (w obu przypadkach nikiel).

4.8 Udział standardowych oraz rekombinowanych alergenów lateksu w różnicowaniu reakcji krzyżowych z pokarmami

W grupie osób zgłaszających w wywiadzie objawy nietolerancji pokarmów analizowano udział standardowych oraz rekombinowanych alergenów lateksu, a także pokarmowych oraz pyłkowych alergenów reagujących krzyżowo z lateksem, mogących wywoływać powyższe objawy. Analizie poddano także pozostałe alergeny pochodzenia roślinnego, które mogą być odpowiedzialne za rozwój reakcji krzyżowych, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej wobec alergenów lateksu (białka PR-10, białka taumatynowe, białka wiążące Ca).

Wykorzystując test U Manna Whitney’ a przeprowadzono analizę rozkładu wyników sIgE (k82, rHev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11, banan, kiwi, awokado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, orzech włoski, orzech ziemny, orzech laskowy, jabłko) oraz wybranych alergenów zawartych w teście ISAC, dla których udowodniono reaktywność krzyżową (Artv 3, Bet v 4, Phl p 7, Phl p 12, Bet v 2, Ana c 2, Bet v 1, Aln g 1, Ara h 8, Pru p 1, Mal d 1, Dau c 1, Api g 1, Act d 8, Gly m 4, Cor a 1.0101, Cor a 1.0401, Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5, Hev b 6, Hev b 8). Wyniki te analizowano u osób, które w wywiadzie zgłaszały objawy nietolerancji pokarmów, w zależności od przynależności do grupy A lub B badanej populacji. Uzyskane wartości testu U były większe niż U_k (wartości krytyczne), co pozwoliło przyjąć hipotezę, iż badane grupy nie różnią się między sobą pod kątem współistniejących uczuleń dotyczących alergenów wymienionych powyżej oznaczanych w testach sIgE i ISAC. Różnic nie wykazano w przypadku grup osób zgłaszających objawy nietolerancji kiwi, selera, orzecha włoskiego, orzecha laskowego i jabłka. W przypadku pozostałych badanych pokarmów, ze względu na zbyt małą liczebność grup badanych, test U Manna Whitne’ a nie był możliwy do wykonania.

Udział standardowych oraz rekombinowanych alergenów lateksu w różnicowaniu reakcji krzyżowych z pokarmami przedstawiono w załączniku 3.

5 DYSKUSJA

Jednym z najistotniejszych dylematów współczesnej alergologii są problemy związane z precyzyjnym ustaleniem przyczyny pojawiających się reakcji anafilaktycznych. Rutynowa diagnostyka alergologiczna nie odpowiada jednoznacznie na pytanie, jaki alergen jest odpowiedzialny za pojawiające się dolegliwości chorego. Zdarza się tak zwłaszcza u osób, u których objawy występują po spożyciu złożonego posiłku lub przyjęciu kilku leków w krótkim czasie. Podstawowa diagnostyka alergologiczna obarczona jest ryzykiem pojawienia się wyników zarówno fałszywie dodatnich, jak i fałszywie ujemnych. Przyczyną pojawienia się fałszywie dodatnich SPT może być, między innymi, nasilony dermatografizm lub nieswoiste drażniące działanie badanej substancji. Ryzyko wystąpienia wyników fałszywie ujemnych związane jest przede wszystkim z działaniem aktualnie stosowanych przez chorego leków. Dodatkowym problemem związanych z wykonywaniem SPT jest ryzyko wywołania reakcji anafilaktycznej. Podobne ograniczenia metodyczne mają oznaczenia sIgE. Istnieje bowiem ryzyko pojawienia się wyników fałszywie ujemnych, jeżeli badanie wykonano zbyt szybko (mniej niż 4 tygodnie po kontakcie z podejrzanym alergenem) lub jeżeli cała pula przeciwciał pozostaje związana na bazofilach. Wykonanie próby prowokacyjnej, która mogłaby ułatwić rozpoznanie, nie zawsze jest możliwe do przeprowadzenia, zwłaszcza w grupie chorych, którzy przebyli ciężkie reakcje anafilaktyczne. Brak możliwości ustalenia ostatecznego rozpoznania stał się jednym z powodów poszukiwania nowych, doskonalszych metod diagnostycznych, których zastosowanie ma największe znaczenie w przypadku alergenów pokarmowych, jadów owadów błonkoskrzydłych, lateksu oraz leków.

5.1 Przydatność testu ImmunoCAP ISAC w różnicowaniu reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks

Podjęte badania miały na celu określenie przydatności klinicznej testów ImmunoCAP ISAC i BAT w różnicowaniu rzeczywistego uczulenia od reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks. Pomimo pojawienia się przed kilku laty na rynku badania ISAC, do 2009 roku opublikowano wyniki zaledwie kilku prac dotyczących wartości tego testu w chorobach alergicznych. W 2010 roku pojawiły się wyniki badań wielu grup badaczy, w tym 3 dotyczące problematyki związanej z alergią na lateks [86, 111, 195]. Przegląd badań, w których wykorzystano test ISAC przedstawiono w tabeli 32.

Tabela 32 . ImmunoCAP ISAC - przegląd badań

Table 32. ImmunoCAP ISAC - review of studys

Autorzy, rok publikacji, pozycja piśmiennictwa <i>Authors, years of the study, references</i>	Grupa badana/metody diagnostyczne <i>Study group/diagnostic methods</i>
Ott i wsp. 2006 [196]	n=47/CAP, ISAC
Ott i wsp. 2008 [193]	n=130/ SPT, CAP, ISAC
Krauze i wsp. 2009 [152]	n=25/CAP, ISAC, SDS-PAGE immunoblot
Gadermaier i wsp. 2009 [105]	n=??/ISAC, badania genetyczne / <i>genetic tests</i>
Ebo i wsp. 2010 [81]	n=37/ISAC, SPT, CAP FEIA, BAT
Ebo i wsp. 2010 [86]	n=68/CAP, ISAC, SPT, BAT
Scala i wsp. 2010 [247]	n=16408/ISAC
Ciardello i wsp. 2010 [50]	n=5/ISAC, SPT, Western Blot, BAT
Verweij i wsp. 2010 [280]	n=29/CAP, ISAC
Goikoetxea i wsp. 2010 [111]	n=2/ CAP, ISAC, SPT
Ott i wsp. 2010 [194]	n=60/CAP, ISAC
Ott i wsp. 2010 [195]	n=102/CAP, ISAC
D'Urbano i wsp. 2010 [56]	n=104/ SPT, CAP, ISAC, doustne próby prowokacyjne z pokarmami / <i>oral food challenges</i>
Villalta i wsp. 2010 [284]	n=42/ CAP, ISAC

Porównanie własnych wyników z cytowanymi pracami jest utrudnione ze względu na inne kryteria włączania chorych do badania, inne liczebności badanych grup, a także poddanie ocenie różnych grup alergenów. Dodatkowe utrudnienie stanowi fakt zmiany zestawu alergenów w badaniu ISAC w czasie trwania projektu. Planując podjęcie badań z wykorzystaniem powyższej metody, zakładano oznaczenie Hev b 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 i 11. Jednakże w 2008 roku producent testu – firma Genosense Diagnostics (Wiedeń, Austria), zmienił panel alergenów, ograniczając alergeny lateksu do Hev b 1, 3, 5, 6 i 8. Wśród wycofanych alergenów był Hev b 7, będący patatyną umożliwiającą różnicowanie reakcji krzyżowych z ziemniakiem, Hev b 11, który jest jedynym markerem wśród alergenów lateksu należącym do I klasy chitinaz, oraz Hev b 9 (enolaza) i Hev b 10 (manganowa dysmutaza nadtlenkowa), odpowiedzialne za reakcje krzyżowe z alergenami grzybów. Zmiany dotyczyły także kilku innych grup.

Spośród alergenów, dla których udowodniono reaktywność krzyżową, wycofano tropomiozynę – Per a 7, LTP – Par j 1 oraz profiliny – Cyn d 12, Pho d 2, Hel a 2 oraz Par j 3.

Test ISAC nie zawiera alergenów dla części pokarmów odpowiedzialnych za reakcje krzyżowe z lateksem, które były przedmiotem rozprawy (banan, awokado, ziemniak, pomidor). Jedynymi reprezentantami profilin, jednej z najszerszej rozpowszechnionych grup panalergenów, poza Hev b 8, są alergeny pyłkowe (brzoza – Bet v 2, szczyr roczny – Mer a 1, oliwka – Ole e 2, tymotka – Phl p 12). Żaden z alergenów pokarmowych będących profiliną nie został umieszczony w zestawie. I to zarówno dla pokarmów poddanych badaniu (jabłko – Mal d 4, seler – Api g 4, marchew – Dau c 4, pomidor – Lyc e 1, kiwi – Acd d 9, orzech ziemny – Ara h 5, papryka – Cap a 2) jak i innych (soja – Gly m1, ananas – Ana c 1, gruszka – Pyr c 4, brzoskwinia – Pru p 4). Podobnie LTP reprezentowane jest jedynie przez 4 alergeny (Art v 3, Cor a 8, Pru p 3, Par j 2). Jednakże, ze względu na burzliwy przebieg reakcji anafilaktycznych wywoływanych przez tę grupę, korzystne dla diagnostyki reakcji krzyżowych z lateksem byłoby wzbogacenie testu ISAC o Hev b 12 oraz alergeny pokarmowe (banan – Mus a 3, seler – Api g 2, kiwi – Act d 10, orzech ziemny – Ara h 9, jabłko – Mal d 3, gruszka – Pyr c 3, cytryna – Cit l 3, pomidor – Lyc e 3). Brak w aktualnym zestawie Hev b 7, wymienianego wcześniej reprezentanta patatyn, dotyczy także alergenów pokarmowych (ziemniak – Sol a 1). Ten sam problem dotyczy reprezentantów I klasy chitinaz (Hev b 11, awokado – Pers a 1, banan – Mus a 2). Do różnicowania reakcji krzyżowych o mniejszym stopniu ryzyka, służą te – wywoływane przez Hev b 2 (beta-1,3-glukanaza) oraz alergen banana Mus a 5 i oliwki Ole e 9. Nie zostały jednak uwzględnione w badaniu ISAC. Spośród alergenów istotnych dla oceny reakcji krzyżowych z lateksem pozostawiono w teście ISAC bromelinę (Ana c 2), enolazę (Alt a 6), a także manganową dysmutazę nadtlenkową (Asp f 6).

Najliczniej reprezentowaną w badaniu grupą alergenów mających reaktywność krzyżową są białka PR-10. Mimo że nie wykazują zależności krzyżowej z alergenami lateksu, mają istotną rolę w ocenie reakcji pomiędzy alergenami pokarmowymi i pyłkowymi. I tak, w zestawie zawarto wiele alergenów tej grupy wykazujących homologię z Bet v 1. Należą do nich Aln g 1, Cor a 1.0101, Cor a 1.0401, Mal d 1, Pru p 1, Gly m 4, Ara h 8, Api g 1, Dau c 1 i Act d 8. Ze względu na coraz większą uwagę poświęcaną białkom taumatynowym wydaje się istotne zweryfikowanie obecności innych aniżeli alergen kiwi – Act d 2. Do różnicowania reakcji z lateksem istotne jest rozważenie obecności w zestawie dodatkowych białek taumatynowych (banan – Mus a 4, jabłko – Mal d 2, brzoskwinia – Pru p 2). Kontrowersje związane z dobozem alergenów z grupy polkalcyen nie stanowią problemu w różnicowaniu pokarmowych reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks, ponieważ służą głównie do diagnostyki alergii pyłkowej, ewentualnie, reakcji z pogranicza pyłkowo-pokarmowych. W teście

ISAC umieszczono dwa spośród istotnych alergenów pyłkowych należących do pokalcyn (brzoza – Bet v 4, tymotka – Phl p 7).

Niektóre z alergenów, których zasadność umieszczenia w zestawie postulowano powyżej, można oznaczyć pojedynczo wykorzystując metodę ImmunoCAP. Aktualnie możliwość taka istnieje dla Hev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11 oraz zaledwie kilku spośród analizowanych alergenów (bromelina – Ana c 2, manganowa dysmutaza nadtlenkowa – Asp f 6, przedstawiciele LTP – Art v 3, Par j 2, Cor a 8, Pru p 3, Ara h 9 oraz profiliny – Phl p 12, Bet v 2, Pru p 4). Zarówno ImmunoCAP, jak i ImmunoCAP ISAC produkowane są od dwóch lat przez tę samą firmę Phadia (Upsala, Sweden), co warunkuje zgodność stosowanych w badaniach alergenów pochodzących z tego samego źródła. Podsumowując, istotne jest aby wszystkie zaangażowane grupy alergenów, zwłaszcza te, odpowiedzialne za reakcje anafilaktyczne o ciężkim przebiegu (LTP), były w sposób miarodajny reprezentowane w zestawie oraz, aby wszystkie alergeny pokarmowe miały swoją reprezentację. Dla wielu innych zespołów chorobowych alergeny zawarte w teście ISAC są zapewne wystarczające. Dla różnicowania reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks zdecydowanie zabrakło alergenów banana, awokado, ziemniaka, pomidora i papryki. W grupie osób, u których wykazano stężenia sIgE > 0,35 kU/l dla pełnych ekstraktów alergenów, nie było możliwości przeanalizowania, która składowa ma istotne znaczenie w wywoływaniu objawów.

W badanej populacji wyodrębniono 3 grupy: A – obejmującą 39 osób zgłaszających objawy po kontakcie z wyrobami lateksowymi, B – 41 chorych z objawami chorób alergicznych nie mających związku z lateksem oraz C – grupę kontrolną, którą stanowiło 20 zdrowych ochotników. Łącznie w badaniu wzięło udział 100 osób. W badanej populacji stwierdzono obecność rHev b 6 u 4 spośród 39 (10,26%) osób zgłaszających objawy po kontakcie z wyrobami lateksowymi. W tej samej grupie wykazano także obecność rHev b 3 i rHev b 5 u jednego chorego (2,56%). W grupie osób bezobjawowych stwierdzono obecność rHev b 1 i rHev b 8 u jednej osoby (2,44%). U nikogo z grupy kontrolnej nie wykazano obecności jakiegokolwiek z badanych alergenów lateksu. Częstość stwierdzanych uczuleń była zdecydowanie mniejsza aniżeli w badaniu Ott i wsp., gdzie autorzy wykazali w badanej populacji (102 osoby, w tym 52 objawowe i 50 bezobjawowych) obecność rHev b 6.02 w 69% przypadków i rHev b 5, rHev b 8, rHev b 1 i rHev b 3 odpowiednio w 44, 31, 23 i 2% przypadków. Wykazano także, że Hev b 11 oznaczano jedynie u osób, u których jednocześnie wykazano Hev b 6.02. Autorzy wiązali to z 60% obecnością homologii sekwencji aminokwasów obu omawianych alergenów [195]. W populacji, stanowiącej materiał omawianej rozprawy, współwystępowanie Hev b 6.02 i Hev b 11 wykazano jedynie w dwóch przypadkach osób z objawami alergii na lateks (5,13%). Ott w swojej pracy wykazał także różnice pomiędzy wynikami dotyczącymi Hev b 8. W badaniu sIgE stwierdził obecność tego alergenu u 15% badanej populacji, natomiast w teście ISAC u 31% badanych. Autorzy pracy nie

znaleźli przyczyny powyższych rozbieżności. Zważywszy na jednakowe pochodzenie materiału źródłowego do produkcji alergenów, wydaje się to niezrozumiałe. W badaniu Ebo zasadniczą grupę stanowili chorzy z objawami alergii na lateks, u których wcześniej alergię potwierdzono dodatnimi SPT i sIgE (22 osoby), grupy kontrolne stanowiły osoby bezobjawowe, ale z dodatnimi sIgE i ujemnymi SPT (20 osób) oraz 26 zdrowych ochotników. W tej pracy uzyskano znacznie wyższy odsetek oznaczeń rHev b 5 i/lub rHev b 6.02, który w grupie chorych objawowych wynosił 75%. rHev b 1 i 3 stwierdzono w pojedynczych przypadkach, odpowiednio u 4 i 3 badanych. U nikogo nie stwierdzono jednoczesnego uczulenia na rHev b 1, 3, 5 i 6.02 [86]. Być może przyczyną rozbieżności prezentowanych wyników od cytowanych w piśmiennictwie były inne kryteria włączenia chorych do badania. W omawianej pracy jedynym kryterium były dane z wywiadu wskazujące na zależność pomiędzy pojawianiem się objawów a kontaktem z wyrobami lateksowymi. Wykonanie SPT i sIgE stanowiło kolejny etap badania. W pracy Ott [195] do badania kwalifikowano osoby, u których dane z wywiadu były potwierdzone dodatnim SPT, w pracy Ebo [86] dane z wywiadu potwierdzono wcześniej wykonanymi SPT i sIgE.

Nieco inaczej przedstawiały się wyniki sIgE wykonywane metodą ImmunoCAP, które stwierdzono u nieznacznie większej grupy badanych. Różnica dotyczyła między innymi profiliny rHev b 8, której obecność wykazano u 1 (2,6%) osoby „objawowej” i 4 (9,8%) – „bezobjawowych”. Częstsze występowanie rHev b 8 u osób uczulonych, klinicznie niemych, było zgodne z danymi literaturowymi [86, 195]. Obecność ekstraktu lateksu (k82) oraz pozostałych rekombinowanych alergenów lateksu w grupie „objawowej” przedstawiała się następująco: k82 – 18%, rHev b 5 – 2,6%, rHev b 6.01 – 7,7%, rHev b 6.02 – 10,3% oraz rHev b 11 – 2,6% badanych. W grupie „bezobjawowej” oznaczono k82 u 12,2%, rHev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 9 i 11 u 2,4% badanych. Ciekawym spostrzeżeniem był fakt stwierdzenia jednoczesnej obecności k82 oraz wszystkich badanych alergenów (rHev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11) u tej samej chorej z grupy osób bezobjawowych, czego nie potwierdzono badaniem ISAC, w którym wynik dodatni był jedynie dla rHev b 1.

W prezentowanej pracy nie tylko wykonane oznaczenia sIgE z alergenami lateksu, ale także pokarmów, wykazały znacznie ograniczoną czułość, natomiast swoistość była zadowalająca i wahała się od 85 do 98%. Dla czterech spośród badanych pokarmów (pomidor, marchew, papryka, orzech ziemny) określenie czułości nie było możliwe ze względu na brak wyników prawdziwie dodatnich, (*true positive*), co oznacza, że u żadnego z badanych, który zgłaszał występowanie dolegliwości po spożyciu ww. pokarmów, nie uzyskano wartości sIgE $\geq 0,35$ kU/l. Podobnie jak w przypadku pokarmów, wartości czułości sIgE z alergenami lateksu też nie były zadowalające. Być może, jednym z powodów była mylna interpretacja przez badanych, pojawiających się dolegliwości. Wykonane oznaczenia sIgE dla alergenów pokarmowych potwierdziły uczulenie u 2 spośród 8 osób zgłaszających dolegliwości po spożyciu banana, odpowiednio u

1/6 w przypadku awokado, 1/11 – kiwi, 1/11 – jabłka, 2/5 ziemniaka, 0/6 pomidora, 0/3 marchwi, 2/8 selera, 0/2 papryki, 0/2 orzecha ziemnego, 2/13 orzecha włoskiego i 6/14 orzecha laskowego. Opublikowane dotychczas badania dotyczące czułości i swoistości znacząco różnią się między sobą. Odmienne wyniki spowodowane są najpewniej, podobnie jak w prezentowanej rozprawie, różnymi kryteriami włączania do badania, jak też zastosowaniem innych metod diagnostycznych. Oznaczając sIgE dla alergenów orzecha laskowego (rCor a 1.0401, rCor a 2, rCor a 8, rCor a 11 oraz nCor a 9) wykazano sIgE z ekstraktem od 75 do 100% osób „objawowych”, natomiast sIgE z poszczególnymi alergenami od 2 do 75% [125]. Inne badanie wykazało sIgE z ekstraktem orzecha laskowego u 92% badanych, ale z Cor a 8, będącym LTP w 85% przypadków. Cor a 8 jest najczęściej uczulającym głównym alergenem orzecha laskowego [126]. sIgE z alergenami selera stwierdzano w 20% przypadków, wykazując dodatkowo wysoką korelację oznaczeń Api g 5 (glycoproteina) i CCD. Najczęściej stwierdzanym sIgE w przypadku selera jest Api g 1 (PR-10), w mniejszym odsetku przypadków profilina Api g 4, sporadycznie Api g 5. Wprowadzenie do diagnostyki techniki CRD podniosło czułość wykonywania sIgE z 67 do 88% [25]. Próby wykorzystania CRD w różnicowaniu reakcji krzyżowych alergenów pokarmowych omawianych w rozprawie są omawiane przez wielu autorów. Uważa się, między innymi, że za reakcje krzyżowe papryki i lateksu odpowiada Hev b 2 (β -1,3-glukanaza) [286], kolejny alergen wycofany z zestawu ISAC.

Na podstawie profilu uczulenia na alergeny brzozy i tymotki można przewidzieć fenotyp kliniczny, dotyczący nietolerancji pokarmów takich jak: jabłko, orzech laskowy, orzech ziemny i seler. Najlepszą korelację wykazano dla powyższych pokarmów z Bet v 2 (profilina) i Phl p 7 (białko wiążące Ca). Nieznaczną korelację wykazano z Bet v 1 i brak jakiegokolwiek zależności w przypadku uczulenia na Phl p 1, Phl p 2 i Phl p 5 [270]. W prezentowanej pracy stwierdzono korelacje wyników Bet v 2 i Phl p 7 ze zgłaszanymi objawami nietolerancji orzecha laskowego, co potwierdzono dodatnim oznaczeniem sIgE. Dla pozostałych pokarmów zależności takich nie wykazano.

Kazuistyczne doniesienie Goikoetxea i wsp., także z 2010 roku, dotyczące 2 przypadków dzieci, u których wykorzystano w diagnostyce między innymi ISAC test, w jednym przypadku wykazało obecność sIgE przeciwko alergenom lateksu. Dramatyczne napady pokrzywki, astmy oraz zespołu alergii jamy ustnej wiązano z uczuleniem na lateks oraz współistniejącym uczuleniem na alergeny banana, kasztana jadalnego, kiwi oraz orzecha ziemnego. Wykorzystując zastosowane techniki badawcze, wykazano uczulenie nie na główne alergeny lateksu, a na profiliny, w tym Hev b 8 [111].

W badanej populacji, wśród pacjentów grupy A nie wykazano obecności większości alergenów reagujących krzyżowo z lateksem, zawartych w teście ISAC (profiliny rBet v 2, nOle e 2, rHev b 8, rMer a 1, rPhl p 12, enolaza rAlt a 6, manganowa dysmutaza nadtlenkowa rAsp f 6 oraz lipidowe białka transportowe rPru p 3, rCor a 8, rPar j 2). Obecność LTP wykazano jedynie w

dwóch przypadkach (5,13%), w których oznaczono nArt v 3. W grupie B obecność nArt v 3 wykazano u 7 badanych (17,07%). Stwierdzono także obecność profilin - rBet v 2, rMer a 1 i rPhl p 12 u 2 osób (4,88%) oraz omawianą już wcześniej rHev b 8 u 1 osoby (2,44%). Bromelinę – nAna c 2 i enolazę – rAlt a 6 stwierdzono w jednym przypadku (2,44%), natomiast manganową dysmutazę nadtlenu – rAsp f 6 wykazano u dwóch badanych (4,88%).

Obecność rAlt a 6 wykazano u jednej z dwóch osób, u których jednocześnie stwierdzono rAsp f 6. W wywiadzie chory nie zgłaszał żadnych dolegliwości pojawiających się po kontakcie z wyrobami lateksowymi, w związku z czym, w prowadzonym badaniu zakwalifikowany został do grupy B. Dolegliwości natomiast (nieżyt nosa i spojówek, astma, zespół atopowego wyprysku/zapalenia skóry, nietolerancja pokarmów - orzech laskowy i włoski) występowały przewlekłe. Zaostrzenia chory wiązał z przebywaniem w wilgotnych i zakurzonych pomieszczeniach. W wykonanym SPT wykazano dodatnie wyniki dla traw, mieszanek pleśni 1 i 2, sierści kota i psa, papryki, orzecha włoskiego, orzecha ziemnego oraz lateksu. W badaniu ImmunoCAP stwierdzono obecność sIgE przeciwko następującym alergenom: lateks, banan, awokado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, jabłko, orzech ziemny, orzech laskowy i orzech włoski. ISAC test wykazał obecność przeciwciał dla alergenów roślinnych: nCyn d 1, rPhl p 1, rPhl p 5, rPhl p 6, nArt v 1, nArt v 3 i nieroślinnych: rCan f 1, rFel d 1, rAlt a 1, rAlt a 6, rAsp f 6, rCla h 8. W związku z brakiem zgodności danych z wywiadu z uzyskanymi wynikami badań zaplanowano BAT z lateksem i pokarmami, który oceniono dodatnio jedynie w przypadku papryki i orzecha ziemnego, co pozwoliło na rozpoznanie rzeczywistego uczulenia na te pokarmy.

Druga z osób, u której podobnie jak u chorego omówionego powyżej, wykazano obecność rAsp f 6, także nie zauważyła żadnych dolegliwości po kontakcie z lateksem, a tym samym zakwalifikowana została do grupy B. W wywiadzie zgłaszała przewlekłe objawy (nieżyt nosa i spojówek, astma, nietolerancja pokarmów - mleko krowie, jaja kurze), których zaostrzenia nie wiązała z żadnymi okolicznościami. Wykonane SPT oceniono dodatnio wobec wszystkich badanych aeroalergenów oraz pokarmów takich jak: kiwi, awokado, ziemniak, pomidor, seler, papryka, orzech laskowy. U chorej stwierdzono także dodatnio sIgE z wszystkimi oznaczanymi alergenami, łącznie z rekombinowanymi alergenami lateksu. W teście ISAC wykazano obecność jednego z alergenów lateksu – rHev b 1, bromeliny – nAna c 2, LTP – nArt v 3, białek PR-10 – rBet v 1, rAln g 1, rCor a 1.0101, rCor a 1.0401, rGly m 4, rPru p 1, rAra h 8, białek magazynowych - nAra h 1, nCor a 9, nGly m 5 oraz kilku innych alergenów roślinnych: nCyn d 1, nPhl p 4, rPhl p 5, nCry j 1, nCup a 1, nOle e 1, nPla a 2, nArt v 1 i nAct d 1. Wykazano także obecność alergenów pochodzenia nieroślinnego należących do rodziny NPC2 – nDer p 2, rDer f 2, rEur m 2, grupy proteazy cysteiny – nDer p 1, nDer f 1, parvalbuminy – rCyp c 1, rGad c 1, tropomiozyny – nPen m 1, surowiczej albuminy – nFel d 2, nCan f 3, nEqu c 3, nGal d 5, lipoka-

liny - rFel d 4, rCan f 1, rCan f 2, nMus m 1, a także Fel d 1, nGal d 3 oraz nBos d lactoferin. Podobnie jak w poprzednim omawianym przypadku, w związku z niezgodnościami danych z wywiadu i uzyskanymi wynikami badań, podjęto decyzję o wykonaniu BAT z lateksem oraz pokarmami. Test oceniono dodatkowo z kiwi, ziemniakiem, selerem, marchwią, papryką, orzechem włoskim, orzechem ziemnym, orzechem laskowym i jabłkiem, co potwierdziło rzeczywiste uczulenie na te pokarmy.

W obu omówionych przypadkach do pełniejszej oceny profilu uczulenia zabrakło wycofanych w 2008 roku z badania ISAC alergenów lateksu: rHev b 9 oraz rHev b 10, alergenów odpowiedzialnych za występowanie reakcji krzyżowych z alergenami pleśni.

U jednej z omawianych chorych wykazano obecność przeciwciał przeciwko bromelinie – nAna c 2. Był to jedyny wynik dodatni w badanej populacji. Wielu autorów uważa, iż CCD nie występuje nigdy w przypadku uczuleń monowalencyjnych. CCD pochodzące z jadów owadów, tymotki i bylicy może być przyczyną fałszywie dodatnich wyników sIgE z alergenami lateksu [83]. W omawianym przypadku wykazano zarówno alergeny tymotki, jak i bylicy – co mogło być jedną z przyczyn fałszywie dodatniego wyniku sIgE z lateksem. Brak możliwości określenia istotności klinicznej oznaczeń sIgE z alergenami lateksu wykazały także badania Ebo i wsp., które opublikowano w bieżącym roku. Autorzy, którzy uzyskali wyniki podobne do prezentowanych powyżej, wiązali obecność wyników fałszywie dodatnich z krzyżowo reagującymi białkami takimi jak CCD lub profiliny. Mikrooznaczenia u pacjentów z objawami alergii na lateks wykazały selektywne wiązanie z Hev b 1, 3, 5 i 6.02. Chorzy uczuleni, ale nie demonstrujący objawów, mieli jedynie przeciwciała przeciw Hev b 8. Wyniki te pokazały, że CRD oznaczane techniką mikrooznaczeń jest pomocne w diagnostyce, w odróżnieniu od pojedynczo oznaczanych sIgE dających dużo mniej informacji mających implikacje terapeutyczne [86].

W grupie C nie wykazano obecności żadnego z badanych alergenów lateksu, jak też i alergenów reagujących krzyżowo z lateksem.

Dla alergenów pochodzenia roślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem, najliczniej przedstawiała się reprezentacja białek PR-10. Obecność przeciwciał przeciw tym alergenom wykazano zarówno w grupie A, jak i B, w następującym odsetku przypadków: rBet v 1 17,95% w grupie A i 24,39% w grupie B, następnie odpowiednio rAln g 1 12,82% i 9,76%, rCor a 1.0101 10,26% i 12,20%, rCor a 1.0401 10,26% i 19,51%, rMal d 1 10,26% i 12,20%, rPru p 1 7,69% i 14,63%, rGly m 4 2,56% i 9,76%, rAra h 8 2,56 i 9,76%, rApi g 1 5,13% w grupie A, rDau c 1 2,56% w grupie A oraz nAct d 8 w 2,44% przypadków grupy B. W grupie kontrolnej (C) stwierdzono jedynie obecność przeciwciał przeciw rBet v 1 i rCor a 1.0401 u jednej osoby. Obecność przeciwciał przeciw polikalcyinom rBet v 4 stwierdzono u 1 osoby z grupy A (2,56%) oraz rPhl p 7 u 1 osoby zarówno „objawowej” (2,56%) jak i „bezobjawowej” (2,44%). Uzyskane wyniki badań nie zawsze były zgodne

z doniesieniami innych autorów. Największe badanie z wykorzystaniem ISAC zaprezentował Scala, który przeprowadził badanie populacyjne u 23077 osób. W swojej pracy poza wykorzystaniem szerszego zestawu alergenów lateksu (rHev b 5, 6, 7, 8, 9, 10 i 11), przedstawił zależności pomiędzy 75 składowymi testu ISAC. Porównywał między innymi, jakie alergeny odgrywają główną rolę w zależności od płci oraz w odpowiednich grupach wiekowych. Podobieństwo wyników prezentowanej pracy dotyczyło jedynie częstości występowania profilin: rBet v 2 i rMer a 1, bromeliny nAna c 2 i białka wiążącego wapń rPhl p 7 [247]. Niewystarczającą reprezentację wszystkich grup alergenów w teście ISAC postulował nie tylko Scala, ale i inni autorzy. Ott i wsp., którzy w grupie osób leczonych z powodu atopowego zapalenia skóry, stwierdzili istotną większą częstość występowania białek PR-10 aniżeli innych alergenów. W badanej populacji najczęściej stwierdzano obecność alergenów brzozy, olchy, jabłka i selera [194]. Ta sama grupa badaczy wykazała podobne zależności w grupie 47 chorych z astmą oskrzelową zewnątrzpochodną [196]. Obecność białek PR-10, polikalcyln i białek taumatynowych nie umożliwiła różnicowania reakcji krzyżowych z lateksem, a jedynie wskazała na obecność współlistniejących uczuleń. Badanie Raulf-Heimsoth i wsp., przedstawiające wyniki badań 19 osób, u których stwierdzono sIgE z kasztanem naturalnym i lateksem, które miało na celu zróżnicowanie rzeczywistego uczulenia od reakcji krzyżowych, wykazało obecność rHev b 6.01 w 58%, rHev b 5 32%, a rHev b 12 u 30,8% badanych, rHev b 7.02 i 11 u 21%, natomiast rHev b 1 u 2 z 19 badanych (10,5%). rHev b 8 było obecne u 9 (47%) badanych i w tej właśnie grupie wykazano reaktywność krzyżową [221].

Wielu autorów postuluje wykorzystywanie w diagnostyce pojedynczych reprezentantów poszczególnych grup alergenów, np. profilin czy LTP. Może to jednak spowodować niedodiagnozowanie chorego. Podobnie jak w omawianej pracy, wielu autorów prezentowało różne odsetki stwierdzanych sIgE w grupie osób zgłaszających objawy po spożyciu owoców lub warzyw. Reindl analizujący grupę osób, u których objawy występowały po spożyciu bananów i ananasów, stwierdził obecność sIgE dla tych owoców u 40% badanych [223]. Kolejnym argumentem przeczącym wykorzystywaniu w diagnostyce tylko wybranych przedstawicieli poszczególnych grup alergenowych jest fakt nie zawsze wystarczającej homologii aminokwasów porównywanych alergenów. Dla rHev b 8 wykazano homologię z profiliną banana w 81% i ananasa w 80% [223]. Dla alergenów pyłkowych wyniki różnych grup badaczy nieznacznie różnią się między sobą: homologia rBet v 2 z rHev b 8 wynosi 75% [224], według innej grupy 81,7% [108]. Dla wielu innych profilin homologię z rHev b 8 wykazano odpowiednio w 82,4% z Ole e 2, 80,12% z Cyn d 12, 78,6% z Mer a 1, 75,6% z Phl p 12, 71,8% z Hel a 2, 87,1% z Pyr c 4, 84,1% z Pru av 4, 81,1% z Api g 4, 80,2% z Gly m 3 oraz 76,5% z Ara h 5 [108]. Jeszcze w innych pracach można spotkać wyniki, w których homologię rHev b 8 z alergenami pyłków roślin określono w przedziale pomiędzy 52,6 a 100% [19]. Dla alergenów z grupy chitinas

wyniki są mniej zadowalające. I tak, dla hevaminy lateksu i daktyla chińskiego (Ziz m 1), łańcuchy aminokwasów wykazują identyczność w 45,2% dla innych chitinaz, wartości te kształtują się pomiędzy 41 a 45% [160]. Profilina Ara h 5 ma homologię z Cuc m 2 w 84,7%, z Phl p 12 w 78,6%, z Bet v 2 w 75,2% i z Hel a 2 w 69,9% [42]. Problem ten dotyczy także innych alergenów. Białka PR 10 – Dau c 1 i Api g 1 wykazują homologię w 81%, ale już Dau c 1 i Bet v 1 zaledwie w 38%, a Dau c 1 i Bet v 11 (hypoalergiczna izoforma) w 35% [175]. Białko magazynowe orzecha laskowego – Cor a 9 jest identyczne w 46% z alergenem soi Gly m 6 [118].

ImmunoCAP ISAC umożliwił ustalenie rozpoznania w przypadku 2 osób (30-KG, 66-JR), u których objawy pokrzywki i zaostrzenia astmy były trudne do opanowania. W obu przypadkach ISAC ujawnił obecność przeciwciał przeciwko *Anisakis*, co pozwoliło na wdrożenie leczenia prowadzącego do ustąpienia dolegliwości.

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe rozważania należy przyjąć, iż wskazane jest, aby test przesiewowy, jakim jest ImmunoCAP ISAC, poszerzyć o alergeny, które umożliwią pełniejszy obraz profilu uczulenia u badanych i wykorzystanie go w sytuacjach, w których rutynowa diagnostyka alergologiczna nie umożliwia ustalenia prawidłowego rozpoznania.

5.2 Przydatność testu aktywacji bazofilów w różnicowaniu reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks

Test aktywacji bazofilów jest stosowany od wielu lat, a pomimo tego nie doczekał się ostatecznych rozwiązań metodycznych. Istnieje wiele kontrowersji dotyczących stosowania odpowiednich rozcieńczeń ekstraktów alergenowych, które różnią się pomiędzy sobą w zależności od stosowanego w badaniu alergenu. Nie wszyscy autorzy korygują uzyskane rezultaty badań o wynik kontroli ujemnej. Porównanie własnych wyników do prac, w których wykorzystano BAT, jest jedynie przybliżone. Poniższa tabela 33 przedstawia publikacje, w których stosowano omawianą metodę badawczą.

Zaledwie w trzech pracach wykorzystywano ten sam marker powierzchniowy bazofilów (CD203c) co w prezentowanej pracy [50, 146, 215]. Kolejnym problemem utrudniającym przeprowadzenie dokładnej analizy porównawczej jest fakt zastosowania CD203c w pracach, w których liczebności grup badanych wynosiły odpowiednio 5, 1 i 13 osób. Pozostałe publikacje dotyczą innych alergenów (morwa, wołowina, trawy, roztocza kurzu domowego) niż te, które były tematem prezentowanej rozprawy.

Tabela 33. BAT – przegląd badań
 Table 33. BAT – review of studys

Autorzy, rok publikacji, pozycja piśmiennictwa <i>Authors, years of the study, references</i>	Grupa badana/alergeny/marker <i>Study group/allergens/maker</i>
Monneret i wsp. 1999 [180]	n=44/lateks, jad pszczoły, mleko, roztocza kurzu domowego/CD63 <i>n=44/latex, bee venom, cow milk, house dust mite/CD63</i>
Ebo i wsp. 2002 [89]	n=103/lateks/CD63 <i>n=103/latex/CD63</i>
Ebo i wsp. 2005 [84]	n=61/jabłko/CD63 <i>n=61/apple/CD63</i>
Gamboa i wsp. 2005 [106]	n=2/lateks, awokado, banan, kasztan, oberżyna/? <i>n=2/latex, avocado, banana, chestnut, aubergine/?</i>
Nettis i wsp. 2006 [183]	n=43/lateks/CD63 <i>n=43/latex/CD63</i>
Sanz i wsp. 2006 [244]	n=33/lateks/CD63 <i>n=33/latex/CD63</i>
Raap i wsp. 2007 [219]	n=1/liczi/CD63 <i>n=1/lychee/CD63</i>
Jones i wsp. 2009 [139]	n=39/orzech ziemny/CD63 <i>n=39/peanut/CD63</i>
Gamboa i wsp. 2009 [107]	n=32/brzoskwinia, jabłko/? <i>n=32/peach, apple/?</i>
Potapińska i wsp. 2009 [215]	n=13/trawy, roztocza kurzu domowego/CD203c <i>n=13/grasses, house dust mite/CD203c</i>
Ebo i wsp. 2009 [86]	n=68/lateks/CD63 <i>n=68/latex. CD63</i>
Palacin i wsp. 2010 [197]	n=31/brzoskwinia/? <i>n=31/peach/?</i>
Cases i wsp. 2010 [43]	n=17/melon/? <i>n=17/watermelon/?</i>
Ebo i wsp. 2010 [81]	n=37/ jabłko/CD63 <i>n=37/apple/CD63</i>

Autorzy, rok publikacji, pozycja piśmiennictwa <i>Authors, years of the study, references</i>	Grupa badana/alergeny/marker <i>Study group/allergens/maker</i>
Ciardello i wsp. 2010 [50]	n=5/morwa/CD203c n=5/mulberry/CD203c
Kim i wsp. 2010 [146]	n=1/wołowina/CD203c n=1/beef/CD203c

Test aktywacji bazofilów wykonano 236 razy, wykorzystując po 2 rozcieńczenia alergenów (łącznie 472 oznaczenia). W 28 (12%) przypadkach oznaczeń stwierdzono różnice w wyniku testu w zależności od zastosowanego do BAT rozcieńczenia alergenów. W tym 23 razy (10%) test został oceniony jako dodatni przy rozcieńczeniu 1:10 i ujemny dla rozcieńczenia 1:1000 (2x lateks, 1x banan, 2x kiwi, 1x awokado, 1x ziemniak, 1x pomidor, 3x seler, 2x marchew, 1x papryka, 3x orzech włoski, 3x orzech ziemny, 3x orzech laskowy). W pięciu przypadkach (5%) test był ujemny dla rozcieńczenia alergenu 1:10, a dodatni dla 1:1000 (1x pomidor, 2x orzech włoski, 2x jabłko). Przyczyna powyższych rozbieżności pozostaje niejasna. Dla pozostałych oznaczeń BAT oceniono dodatnio dla obu stosowanych rozcieńczeń alergenów. Wśród osób zgłaszających objawy BAT został oceniony ujemnie w 47 (20%) przypadkach - dla rozcieńczenia 1:10 i odpowiednio w 55 (23%) - dla rozcieńczenia 1:1000. Uzyskanie wyniku ujemnego BAT pozwoliło na rozpoznanie reakcji krzyżowych w tej grupie badanych. Ze względu na możliwość przynależności chorych do grupy tzw. *non releasers* (wg różnych autorów od 5 do 28% populacji) [157, 298] podjęto próbę analizy, czy odsetek wyników fałszywie ujemnych nie jest z tym związany. Uzyskany w kontroli dodatknej % aktywacji bazofilów jednoznacznie wykluczył taką możliwość dla grupy osób poddanych BAT.

Uzyskane wyniki badań pozwoliły na określenie czułości, swoistości, dokładności, wartości predykcji dodatniej i ujemnej badania BAT. Dla rozcieńczenia 1:10 najwyższe wartości czułości uzyskano w przypadku orzecha ziemnego (100%) i laskowego (78%), swoistości w przypadku banana (83%) i marchwi (77%), dokładności – selera (75%) i marchwi (73%), wartości predykcji dodatniej – lateksu (91%) i banana (67%) oraz predykcji ujemnej – orzecha ziemnego (100%) i marchwi (91%). W przypadku rozcieńczenia 1:1000, najwyższą czułość uzyskano w przypadku orzecha ziemnego (100%) i pomidora (66%), swoistość – selera (92%) i orzecha ziemnego (90%), dokładność – orzecha ziemnego (91%) i selera (81%), wartość predykcji dodatniej – lateksu (90%) i selera (66%), a wartość predykcji ujemnej dla orzecha ziemnego (100%) i pomidora (91%). Wykazano, że w przypadku alergenów lateksu, banana, orzecha włoskiego oraz orzecha laskowego znacznie wyższe wartości czułości, dokładności,

wartości predykcji dodatniej i ujemnej uzyskano w przypadku rozcieńczenia 1:10. Dla tych alergenów nie wykazano różnicy w swoistości badania w zależności od zastosowanego rozcieńczenia. Odwrotnie przedstawiała się sytuacja dla awokado, ziemniaka, orzecha ziemnego i pomidora, gdzie rozcieńczenie 1:1000 pozwoliło uzyskać znacznie lepsze wartości oceny trafności wykonywanych badań. Dla alergenów kiwi, selera, marchwi oraz jabłka nie uzyskano zgodności oceny w zależności od zastosowanego rozcieńczenia, co nie pozwoliło na jednoznaczne ustalenie, jakie rozcieńczenie byłoby korzystniejsze w przyszłych badaniach.

Współczynnik korelacji pomiędzy wynikami sIgE i BAT w przypadku alergenów lateksu wyniósł 0,42 dla rozcieńczenia 1:10 oraz 0,21 dla rozcieńczenia 1:1000. Dla pozostałych alergenów najwyższy współczynnik korelacji uzyskano przy wykorzystaniu rozcieńczenia 1:10 stosowanych ekstraktów alergenowych, w przypadku ziemniaka i orzecha laskowego. Dla rozcieńczenia 1:1000 zależność taką stwierdzono w przypadku orzecha włoskiego i papryki. Odpowiednio najniższe wartości współczynnika korelacji wykazano dla banana i marchwi w przypadku rozcieńczeń 1:10 oraz banana, selera i orzecha ziemnego dla rozcieńczenia 1:1000.

Porównując badania własne z wynikami innych autorów, należy odnieść się, między innymi, do jednego z pierwszych badań dotyczących powyższej metodyki, które opublikowała Monneret w 1999 roku. Wykonując BAT zastosowała 7 rozcieńczeń 1:10, 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:500 i 1:1000 ekstraktów alergenów lateksu, jadu pszczoły i roztoczy kurzu domowego. Wykorzystując marker CD63, uzyskała 100% swoistość badania [180]. Badania Nettisa, dotyczące alergenów lateksu, w których wykorzystano rozcieńczenia 1:50, 1:100 i 1:500, wykazały najwyższą czułość i swoistość dla rozcieńczenia alergenów 1:500. Uzyskane wartości prezentowały się następująco: czułość – 95%, swoistość i wartość predykcji dodatniej – 100% oraz wartość predykcji ujemnej – 95% [183]. Różnice uzyskanych wartości, podobnie jak w teście ISAC, spowodowane były prawdopodobnie inną kwalifikacją chorych do badania. Objawy zgłaszane przez chorych, potwierdzone były wykonanymi wcześniej badaniami sIgE, SPT i próbami prowokacyjnymi z rękawicą lateksową. Podobnie Ebo, który także wykonywał badanie z alergenami lateksu, uzyskał inne wartości dotyczące trafności stosowanej metody w związku z potwierdzaniem objawów wcześniej przeprowadzanym testem ekspozycyjnym z rękawicą lateksową. Uzyskane wartości czułości i swoistości w omawianej pracy wynosiły odpowiednio 93 i 91%. Wyniki swoich badań Ebo korygował o możliwość występowania zjawiska *non-releasers* (13,3%). Po odrzuceniu wyników tej grupy czułość i swoistość wyniosła odpowiednio 87 i 89%. W pracy tej wykonywano BAT jedynie z rozcieńczeniem 1:10 [89]. Ta sama grupa autorów w bieżącym roku opublikowała wyniki kolejnego badania przeprowadzonego w grupie 68 osób, które wykonała, wykorzystując 4 rozcieńczenia i uzupełniła je o test ISAC. Badanie obejmowało oznaczanie wybranych alergenów Hev b 1, Hev b 3, Hev b 5 i Hev b 6.02. Wy-

niki pokazały wyższy odsetek oznaczeń rHev b 5 i/lub rHev b 6.02, który w grupie chorych objawowych wynosił 75%. U nikogo nie stwierdzono jednoczesnego uczulenia na rHev b 1, 3, 5 i 6.02 [86]. Kolejne badanie, pochodzące z 2006 roku, przeprowadziła Sanz, która kwalifikując chorych do BAT, wykonała wcześniej test prowokacji spojówek, SPT, sIgE (ekstrakt, Hev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11). Przeprowadzone przez autorkę badanie w grupie 33 osób (23 zgłaszających objawy i 10 z grupy kontrolnej) wykazało 96% czułość i 100% swoistość. W badaniu wykorzystywano rozcieńczenia 1:100 i 1:1000. Sanz, podobnie jak w prezentowanej rozprawie, wykorzystując korelację Pearson'a, podjęła próbę wykazania zależności pomiędzy uzyskanymi wynikami sIgE i BAT w badanej grupie. W przypadku obu zastosowanych rozcieńczeń autorka wykazała znaczącą korelację jedynie dla rHev b 5. Znaczącą zgodność wykonanych badań uzyskała dla Hev b 5 (73,9%), Hev b 6.01 (52,2%) oraz Hev b 6.02 (62,5%). Dla ekstraktu lateksu zgodność wyniosła 95,6% [244]. We wszystkich pięciu cytowanych powyżej badaniach zastosowano marker CD63, a nie jak w prezentowanej rozprawie – CD203C. Gamboa w 2005 roku opublikował opis dwóch przypadków nawracających reakcji anafilaktycznych o ciężkim przebiegu, w diagnostyce których wykorzystano między innymi BAT. Zastosowanie alergenów lateksu, oberżyny, awokado, banana i kasztana jadalnego umożliwiło zróżnicowanie reakcji krzyżowych od rzeczywistego uczulenia u badanych chorych [106]. BAT do różnicowania reakcji krzyżowych wykorzystał także Ebo w badaniu poświęconym chorym uczulonym na pyłek brzozy, u których OAS występował po spożyciu jabłka. W omawianych wynikach zabrakło jednak podania czułości i swoistości badania [81]. Pełne porównanie własnych wyników BAT wykonywanych z alergenami pokarmowymi nie jest możliwe ze względu na zaledwie kilka prac poświęconych tej tematyce. Jones i wsp. w 2009 roku opublikowali wyniki badania, w którym BAT wykonywali z orzechem ziemnym, stosując trzy rozcieńczenia (1:10, 1:100 i 1:1000). Badanie dotyczyło oceny skuteczności VIT. Niestety autorzy także nie zaprezentowali uzyskanej czułości i swoistości badania [139]. Podobnie Gamboa w swoim badaniu, które wykonywał w grupie osób z rozpoznaną alergią na brzoskwinie, przedstawił jedynie czułość i swoistość dla tego owocu (72% i 97%), chociaż wykonywał także BAT z jabłkiem i brzozą [107]. W 2005 roku Ebo opublikował wyniki kolejnego badania, w którym wykonywał BAT z jabłkiem, dla którego czułość i swoistość ocenił odpowiednio na 88 i 75% [84].

W omawianej populacji najczęstszym wskazaniem wykonywania BAT były dodatnie SPT u osób bez dodatniego wywiadu i z sIgE < 0,35 kU/l (78 oznaczeń), następnie, brak potwierdzenia danych z wywiadu wykonanymi SPT i sIgE (62 oznaczenia) oraz sIgE > 0,35 kU/l u chorych bez dodatniego wywiadu i z ujemnymi SPT (38 oznaczeń). Dwie spośród badanych osób nie odstawiły leków przeciwhistaminowych przed wykonaniem BAT. W obu przypadkach nie miało to wpływu na wynik testu, dla wszystkich oznaczanych alergenów test oceniono dodatnio. Potwierdza to wyniki polskich autorów o braku wpływu leków prze-

ciwhistaminowych na wynik badania BAT [294]. Wykonanie BAT z alergenami lateksu oraz wybranymi alergenami pokarmowymi umożliwiło zróżnicowanie reakcji krzyżowych od rzeczywistego uczulenia.

Pomimo uzyskania ujemnych wyników oznaczeń sIgE (ImmunoCAP), jak i ImmunoCAP ISAC, potwierdzenie rzeczywistego uczulenia (BAT) uzyskano u 18 osób objawowych (46%) i 3 bezobjawowych (7%). Nie tylko kwalifikacja chorych do badania na podstawie danych z wywiadu spowodowała inne niż literaturowe odsetki oznaczonych rekombinowanych alergenów lateksu. Dodatkowym problemem był fakt niewłaściwej interpretacji objawów przez badanych. Rozwiązaniem tego problemu jest niewątpliwie możliwość wykonywania prób prowokacyjnych, co w swoich pracach podkreślają Sanz (test prowokacji spojówek lateksem) [244] oraz Ebo i Raulf-Heimsoth (test ekspozycji skóry rękawicą lateksową) [89, 222].

Porównanie uzyskanych wyników badań zarówno metodą ImmunoCAP i ImmunoCAP ISAC w połączeniu z wynikami SPT i BAT przedstawiono w tabeli 34. W tabeli uwzględniono jedynie tych chorych, dla których uzyskano przynajmniej w jednej z ww. metod pozytywny wynik z alergenami lateksu.

BAT stanowi cenne uzupełnienie rutynowej diagnostyki alergologicznej. Umożliwia nie tylko zróżnicowanie reakcji krzyżowej od rzeczywistego uczulenia, ale także eliminuje możliwość popełnienia błędu diagnostycznego związanego z występowaniem wyników zarówno fałszywie dodatnich, jak i ujemnych, w czasie wykonywania SPT i oznaczania sIgE.

5.3 Zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej

Kolejnym etapem badania była próba oceny zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej.

Zgłaszane przez chorych objawy różniły się w zależności od grupy. Stwierdzono istotne różnice dotyczące częstości występowania chorób z kręgu alergii, różnice te dotyczyły nieżyty nosa (test χ^2 , $p=0,0141$) i astmy (test χ^2 , $p=0,0034$). W przypadku pozostałych rozpoznań, nie stwierdzono różnic pomiędzy badanymi grupami (test χ^2 , $p<0,05$). Częstsze występowanie nieżyty nosa i astmy w grupie B związane było niewątpliwie z kwalifikowaniem chorych do badania. W grupie tej znaleźli się pacjenci Kliniki Alergologii i Przyklinicznej Poradni Alergologicznej, w której chorzy leczeni z powodu tych właśnie jednostek chorobowych (nieżyt nosa i astma) stanowią zdecydowaną większość. Niewielki odsetek spośród naszych chorych (poza populacją leczoną z powodu rozpoznanej alergii na jady owadów błonkoskrzydłych) przebył wstrząs anafilaktyczny.

Pacjent <i>Patient</i>	Wwiad <i>Case history</i>	SPT	ImmunoCAP											ImmunoCAP ISAC				BAT		
			Ekstrakt <i>Extract</i>	1	3	5	6.01	6.02	8	9	11	1	3	5	6	8				
52-TC	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
53-TH	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55-AK	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57-DB	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
58-ES	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
59-JNG	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60-MW	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64-JS	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
65-TK	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66-JR	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
69-AP	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72-MN	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
73-MG	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
74-JR	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
76-KC	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
77-AŻ	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79-JL	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87-AT	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90-IB	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
94-IŚ	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
96-MH	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(X) badania nie wykonywano

(X) *assay not performed*

W prezentowanej rozprawie objawy wstrząsu po kontakcie z wyrobami lateksowymi stwierdzono u 3 osób, po kontakcie z innymi alergenami u kolejnych 8 badanych. Zbiorcze przedstawienie wyników badań u ww. chorych przedstawiono w tabeli 35. Dla badań SPT, ImmunoCAP i ImmunoCAP ISAC umieszczono jedynie wyniki, które oceniono dodatnio.

Analizując lateks jako potencjalną przyczynę wstrząsu anafilaktycznego, zaledwie w jednym przypadku (41-GS) uzyskano zgodność wszystkich zastosowanych metod diagnostycznych. BAT oceniono dodatnio nie tylko z lateksem, ale i orzechem laskowym, którego nietolerancję chora zgłaszała w wywiadzie.

Tabela 35. Wyniki SPT, ImmunoCAP, ImmunoCAP ISAC oraz BAT u osób z przebytym wstrząsem anafilaktycznym

Table 35. SPT, ImmunoCAP, ImmunoCAP ISAC and BAT results in patients with anaphylactic shock in the past history

Pacjent <i>Patient</i>	Wywiad <i>Case history</i>	SPT	ImmunoCAP	ImmunoCAP ISAC	BAT
1-RW	L→WA NN, NS, AO, VA, PO, AZS, PO, NL, NP (B, K, P)	L, Pl 1, B, P, Pa	L, rHev b 6.02	(-)	(-) L, B, K, P, Pa
7-AG	V→WA L→NS NN, NS, AO, OAS, PO, VA	T, C	(-)	Cyn d 1, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 4, Phl p 5	(+) L
28-BL	L→WA, PO NN, OAS, AO, VA, NL	L, D 1 i 2, C, Pl 2, Ko, K, A, Z, P, S, Pa, OW, OZ	L, rHev b 5, rHev b 6.02	rHev b 5, Phl p 2, Art v 1	(-) L, K, A, Z, P, S, Pa, OW, OZ
41-GS	L→WA, PO, NN, NS NP (K, Z, OW, OL), VA	L, Dp, Df, T, D 1 i 2, Ko, Pi, P, OW, OL	L, J, OL	Hev b 6, Phl p 1, Bet v 1, Aln g 1, Cor a 1.0101, Mal d 1, Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2, Fel d 1	(+) L, OL (-) K, Z, P, OW, J
44-RJ	S?→WA NN, NS, AO, NP (S, OW, OL, J)	T, C, Ko	(-)	Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Art v 1, Act d 2, Alt a 1	(+) L, B, K, A, P, S, M, Pa, J, OW, OL, OZ (-) Z

Pacjent <i>Patient</i>	Wywiad <i>Case history</i>	SPT	ImmunoCAP	ImmunoCAP ISAC	BAT
47-IZM	S?→WA NN, NS, PO, VA, NP (S, P, M)	T, C, S	(-)	Phl p 1, Phl p 4, Phl p 5, Phl p 11, Art v 1, Art v 3	ND
65-TK	S?→WA NN, NS, AO, OAS, PO, NP (S, OW, OL)	Dp, Df, T, D 1 i 2, C, K, Z, S, Pa, OW, OL, OZ	L, B, A, Z, P, S, M, Pa, OW, OL	Cyn d 1, Phl p 1, Phl p 5, Phl p 6, Art v 1, Art v 3, Ses i 1, Der f 1, Der p 1, Fel d 1	(+) OW, OL (-) L, B, K, A, Z, P, S, M, Pa, OZ
67-LK	PI→WA NN, NS, AO, OAS, AZS, PO, NL, NP (P)	Dp, Df, T, C, Pl 1 i 2, Ko, Pi, B, P, S, Pa, OW, OZ, OL	(-)	Cyn d 1, Phl p 1, Can d 1, Fel d 1, Mus m 1	ND
79-JL	V→WA NN, AO, PO	L, Dp, Df, T, C, Pl 1, B, K, A, Z, M, Pa, OZ, J	(-)	Der p 1, Der p 2, Der f 1, Der f 2, Eur m 2	(-) L, B, K, A, Z, Ma, J, OZ (+) Pa
89-MO	Dr→WA	Dp, Df, C, Ko, Pi, S	OL	Art v 1, Art v 3, Pru p 1, Mal d 1, Der p 2, Der f 2, Cor a 1.0401	ND
99-MM	Dr→WA AO	(-)	(-)	(-)	ND

WA – wstrząs anafilaktyczny (*anaphylactic shock*), PO – pokrzywka (*urticaria*), AO – astma (*bronchial asthma*), NN – nieżyt nosa (*rhinitis*), NS – zapalenie spojówek (*conjunctivitis*), OAS – zespół alergii jamy ustnej (*oral allergy syndrome*), AZS – zespół wyprysku/ atopowego zapalenia skóry (*atopic eczema/dermatitis syndrome*), VA – alergia na jady owadów błonkoskrzydłych (*venom allergy*), NL – nadwrażliwość na leki (*drug hypersensitivity*), NP – nadwrażliwość na pokarmy (*food hypersensitivity*), L – Lateks (*Latex*), B – banan (*banana*), K – kiwi (*kiwi fruit*), A

– awokado (*avocado*), Z – ziemniak (*potato*), P – pomidor (*tomato*), S – seler (*celery*), M – marchew (*carrot*), Pa – papryka (*paprika*), OL – Orzech laskowy (*hazelnut*), OW – orzech włoski (*walnut*), OZ – orzech ziemny (*peanut*), J – jabłko (*apple*), T – trawy (*grasses*), D – drzewa (*trees*), C – chwasty (*weeds*), Pl – pleśnie (*moulds*), Pi – pies (*dog*), Ko – kot (*cat*), V – jad owadów błonkoskrzydłych (*insect venom*), Dr – lek (*drug*), Dp – *Dermatophagoides pteronyssinus*, Df – *Dermatophagoides farinae*, (-) wynik ujemny (*negative results*), (+) wynik dodatni (*positive results*), ND – badania nie wykonywano (*assay not done*)

Dla tego alergenu uzyskano także pełną zgodność uzyskanych wyników badań (SPT, sIgE, rCor a 1.0101). Przyczyną pozostałych zgłaszanych objawów nietolerancji pokarmów (kiwi, ziemniak, orzech włoski) może być reakcja krzyżowa z lateksem. Ujemny wynik BAT wykluczył rzeczywiste uczulenie na wymienione pokarmy. U dwóch pozostałych chorych (1-RW, 28-BL) nie potwierdzono danych z wywiadu badaniem BAT. W obu przypadkach uzyskano dodatnie SPT i stwierdzono obecność sIgE > 0,35 kU/l dla ekstraktu alergenów lateksu oraz dla rHev b 6.02. Dodatkowo u jednej z badanych wykazano również sIgE dla rHev b 5, zarówno w badaniu ImmunoCAP, jak i ISAC. BAT z pokarmami oceniono ujemnie u obu chorych dla wszystkich badanych alergenów. Ze względu na jednoznaczny wywiad, dodatnie badania SPT i sIgE, których nie potwierdzono badaniem BAT, wysunięto przypuszczenie, iż obie chore należą do grupy „*non releasers*”. Jednakże odsetek aktywowanych bazofilów w kontroli dodatniej u badanych (28-BL 77,84%, 1-RW 87,14%) przeczy powyższemu rozpoznaniu. W obu przypadkach ujemny wynik BAT z lateksem wykluczył rozpoznanie alergii na lateks.

Wśród pozostałych 8 osób, które przebyły wstrząs anafilaktyczny, stwierdzono jako przyczynę w dwóch przypadkach użądlenie przez owada błonkoskrzydłego, w dwóch kolejnych – przyjęcie kwasu acetylosalicylowego, w trzech – spożycie pokarmu (seler?). U jednej osoby objawy wstrząsu anafilaktycznego pojawiły się w czasie kontaktu ze starymi, wilgotnymi sprzętami. U 4 z powyższych osób badania BAT nie wykonywano, ponieważ nie zakładał takiego postępowania protokół badania. Wśród pozostałych czterech badanych BAT z alergenami lateksu oceniono dodatnio w dwóch przypadkach. Chora, u której wstrząs anafilaktyczny wystąpił po użądleniu przez osę, do projektu włączona została z powodu objawów zapalenia spojówek, pojawiających się po kontakcie z lateksem. Rutynowa diagnostyka (SPT i sIgE z alergenami lateksu) nie potwierdziła rozpoznania. Kolejny chory, u którego BAT z lateksem oceniono dodatnio, nie zgłaszał żadnych dolegliwości po kontakcie z wyrobami lateksowymi, a objawy wstrząsu wystąpiły po złożonym posiłku. Wg chorego najbardziej prawdopodobnym czynnikiem sprawczym był seler (?). Dla żadnego z badanych alergenów pokarmowych nie uzyskano dodatnich wyników SPT i nie wykazano obecności sIgE, poza alergenem kiwi nAct d 2 stwierdzonym w teście ISAC. Wykonane badanie BAT oceniono dodatnio zarówno dla lateksu, jak i wszystkich badanych pokarmów, poza ziemniakiem; jakkolwiek w wywiadzie

chory zgłaszał objawy nietolerancji, poza ww. selerem także jabłka oraz orzechów włoskich i laskowych. Dwie pozostałe osoby, u których objawy wstrząsu wystąpiły po spożyciu selera (?), dodatkowo były obciążone współistnieniem schorzeń z kręgu atopii i w wykonanych SPT prezentowały uczulenie na powszechne aeroalergeny oraz w jednym przypadku dodatkowo na kiwi, seler, paprykę, orzech włoski, laskowy i ziemny. Dodatkowo SPT z pokarmami pokrywało się z danymi z wywiadu dotyczącymi selera, orzecha włoskiego i laskowego oraz z sIgE z pokarmami (banan, awokado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, orzech ziemny, laskowy i włoski). U tej samej osoby stwierdzono także sIgE z lateksem. U pierwszej z omawianych chorych testu BAT nie wykonywano (rozpoznano mastocytozę uogólnioną), u drugiej natomiast badanie to potwierdziło rzeczywiste uczulenie na orzech włoski i laskowy. Należy więc przypuszczać, iż objawy wstrząsu po spożyciu selera stanowiły reakcję krzyżową, prawdopodobnie z orzechem włoskim lub laskowym. Kolejny przypadek dotyczył chorej, u której wstrząs anafilaktyczny wystąpił w czasie pobytu w starym, wilgotnym pomieszczeniu. Chora od wielu lat leczyla się z powodu schorzeń alergicznych. W wykonanych badaniach SPT i ISAC stwierdzono liczne uczulenia na powszechne aeroalergeny oraz dodatkowo w SPT na pokarmy (banan, pomidor, seler, papryka, orzech włoski, orzech laskowy, orzech ziemny), oraz w ISAC na sierść myszy. Badania BAT w tym przypadku nie wykonywano. Ostatnia z omawianych chorych przeżyła wstrząs po użądleniu przez osę, a BAT wykonano z lateksem, w związku ze stwierdzeniem dodatniego SPT z tym alergenem. Badanie to wykonywano także z pokarmami, w przypadku niezgodności danych z wywiadu z badaniami dodatkowymi. Jako dodatni BAT oceniony został w przypadku papryki (brak danych w wywiadzie dotyczących dolegliwości po spożyciu papryki). U dwóch chorych objawy wstrząsu anafilaktycznego wystąpiły po przyjęciu kwasu acetylosalicylowego. W jednym z przypadków, pomimo braku jakichkolwiek danych z wywiadu wskazujących na współistnienie objawów alergii, dodatkowo stwierdzono dodatnie SPT z alergenami roztoczy, chwastów, sierści kota i psa oraz selera. Wykazano także sIgE > 0,35 kU/l dla alergenów orzecha laskowego oraz dodatnie oznaczenia dla alergenów bylicy, roztoczy, a także orzecha laskowego, brzoskwini i jabłka. W obu przypadkach nie wykonywano BAT, ponieważ nie zakładał tego protokół badania.

Analiza zależności pomiędzy obecnością poszczególnych molekuł uczulających, a występowaniem dolegliwości innych aniżeli wstrząs anafilaktyczny (nieżyt nosa, zapalenie spojówek, astma, zespół atopowego wyprysku/zapalenia skóry), nie wykazała istotnych różnic w badanej populacji.

Wszystkie omówione metody badawcze wykazują pewne ograniczenia metodyczne, a także nie zawsze cechują się zadowalającą czułością i swoistością. SPT wymagają odstawienia leków i wiążą się z ryzykiem wystąpienia reakcji anafilaktycznej, ale za to są proste do wykonania i nie są kosztowne. Oznaczenia sIgE wymagają minimum czterech tygodni okresu karencji od kontaktu z podej-

rganym alergenem, są kosztowniejsze i wymagają zaplecza laboratoryjnego. Przeprowadzenie prób prowokacyjnych, podobnie jak SPT, wiąże się z ryzykiem wystąpienia reakcji anafilaktycznej i wymaga doskonale przygotowanego zespołu medycznego. ImmunoCAP ISAC jest badaniem kosztownym i nie we wszystkich jednostkach chorobowych daje jednoznaczną odpowiedź dotyczącą profilu uczulenia, co związane jest z niepełnym panelem alergenów. BAT poza wysokim kosztem badania, wymaga także specjalistycznego sprzętu (cytometr przepływowy). Jednakże nowoczesna diagnostyka alergologiczna nie może wyeliminować żadnej z powyższych metod, które powinny się wzajemnie uzupełniać. Poza rutynowymi metodami należy wykorzystywać nowoczesne metody, oparte na wyciągach alergenowych. Diagnostyka z użyciem alergenów rekombinowanych pozwala na dokładne określenie cząsteczki alergenu, na który dana osoba jest uczulona, co może mieć istotne znaczenie w klinicznej praktyce. Postępowaniem z wyboru w przypadku reakcji krzyżowych jest bowiem immunoterapia, a w przypadku wieloważnej alergii – leczenie objawowe. Określenie rodzaju uczulenia pozwala przewidywać dalszy rozwój choroby, a tym samym ocenić potencjalne ryzyko wystąpienia reakcji anafilaktycznej.

6 WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. ImmunoCAP ISAC opierający się na technice CRD stanowi uzupełnienie diagnostyki alergologicznej, jednakże w przypadku różnicowania reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks wykazuje ograniczone możliwości w związku z niepełnym panelem alergenów
2. Niezbędne wydaje się uzupełnienie testu ImmunoCAP ISAC o dodatkowe alergeny, które umożliwią określenie pełniejszego profilu uczulenia u badanych
3. Wskazane wydaje się wykonywanie testu ImmunoCAP ISAC w przypadku chorych, u których dostępnymi metodami diagnostycznymi nie udało się ustalić przyczyny występujących dolegliwości (np. reakcje anafilaktyczne o nieznannej etiologii – np. uczulenie na *Anisakis*)
4. Test aktywacji bazofilów jest cennym narzędziem badawczym umożliwiającym zróżnicowanie reakcji krzyżowej od rzeczywistego uczulenia, a to umożliwi zastosowanie właściwego leczenia (immunoterapia w reakcjach krzyżowych v. leczenie objawowe w przypadku poliwalentnego uczulenia)
5. Test aktywacji bazofilów eliminuje możliwość popełnienia błędu diagnostycznego związanego z występowaniem wyników zarówno fałszywie dodatnich, jak i ujemnych w czasie wykonywania SPT i oznaczania sIgE
6. Test aktywacji bazofilów wymaga dalszych badań w celu określenia standardów wykonywania tej metody w zależności od zastosowanego alergenu i proponowanego rozcieńczenia badanego ekstraktu
7. Zarówno ImmunoCAP ISAC, jak i BAT, powinny być zalecane u osób, u których ryzyko wystąpienia reakcji anafilaktycznej wyklucza możliwość wykonania SPT i próby prowokacyjnej
8. W badanej populacji nie wykazano istotnych różnic w częstości występowania molekuł alergogennych zarówno tych, mających zdolność wywoływania reakcji krzyżowych z lateksem jak i tych, dla których takiej zależności dotychczas nie wykazano
9. Wykonane badania nie wykazały zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej.

7 PIŚMIENICTWO

1. Aalberse R.C., Akkerdaas J., van Ree R.: Cross-reactivity of IgE antibodies to allergens. *Allergy*. 2001, 56, 478-490.
2. Aalberse R.C.: Structural biology of allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, 106, 228-238.
3. Aalto-Korte K., Mäkinen-Kijunen S.: False negative SPT after anaphylaxis. *Allergy*. 2001, 56, 461-462.
4. Abelson M.B., Chambers W.A., Smith L.M.: Conjunctival allergen challenge. A clinical approach to studying allergic conjunctivitis. *Arch. Ophthalmol.* 1990, 108, 84-88.
5. Abuaf N., Rajoely .B, Ghazouani E., Levy D.A., Pecquet C., Chabane H., Leynadier F.: Validation of a flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of muscle relaxant allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999, 104, 411-418.
6. Aldlyami E., Kulkarni A., Reed M.R., Muller S.D., Partington P.F.: Latex-free gloves. Safer for Whom? *J Arthroplasty*. 2010, 25, 27-30.
7. Alenius H., Kalkkinen N., Lukka M., Reunala T., Turjanmaa K., Mäkinen-Kiljunen S., Yip E., Palosuo T.: Prohevein from rubber tree (*Hevea brasiliensis*) is a major latex allergen. *Clin. Exp. Allergy*. 1995, 25, 659-665.
8. Alenius H., Palosuo T., Kelly K., Kurup V., Reunala T., Mäkinen-Kiljunen S., Turjanmaa K., Fink J.: IgE reactivity to 14-kD and 27-kD natural rubber proteins and latex-allergic children with spina and other congenital anomalies. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1993, 102, 61-66.
9. Allergen Nomenclature. IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee. www.allergen.org
10. Antico A., Pagani M., Crema A.: Priming-like effect and successful desensitization after anaphylactic shock by latex sublingual immunotherapy. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2007, 39, 259-261.
11. Antico A.: Oral allergy syndrome induced by chestnut (*Castanea sativa*). *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1996, 76, 37-40.
12. Antón J., Escudero R., Fernández-Benítez M.: Anaphylaxis induced by Anisakis. *Allergol. Immunopathol (Madr)*. 2008, 36, 53-55.
13. Antonicelli L., Micucci C., Mistrello G., Roncarolo D., Zanotta S., Cinti B., Garritani M.S., Bonifazi F.: Improving latex-allergy diagnosis: the clinical role of Hev b 8 – specific IgE. *Allergy*. 2008, 63, 620-621.
14. Arlian L.G., Morgan M.S., Vyszynski-Moher D.L., Sharra D.: Cross-reactivity between storage and dust mites and between mites and shrimp. *Exp. Appl. Acarol.* 2009, 47, 159-172.
15. Asero R., Jimeno L., Barber D.: Preliminary results of a skin test-based study of the prevalence and clinical impact of hypersensitivity to pollen

- panalergens (polcalcin and profiling). *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010, 20, 35-38.
16. Asero R., Mistrello G., Roncarolo D., Amato S., Caldironi G., Barocci F., van Ree R.: Immunological cross-reactivity between lipid transfer proteins from botanically unreleated plant-derived foods: a clinical study. *Allergy.* 2002, 57, 900-906.
 17. 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.
 18. Asero R., Monsalve R., Barber D.: Profilin sensitization detected in the office by skin prick test: a study of prevalence and clinical relevance of profiling as a plant food allergen. *Clin. Exp. Allergy.* 2008, 38, 1033-1037.
 19. Assarehzadegan M.A., Amini A., Sankian M., Tehrani M., Jabbari F., Varasteh A.: Sal k 4, a New alergen of *Salsola Kali*, is profili: a predictive value of conserved conformational regions in cross-reactivity with Rother plant-derived profilins. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010, 74, 1441-1446.
 20. Axeleson J.G., Johansson S.G., Wrangsjö K.: IgE-mediated anaphylactoid reactions to rubber. *Allergy.* 1987, 42, 46-50.
 21. Azofra Garcia J.: Type I latex allergy: a follow-up study. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2007, 17, 164-167.
 22. Bant A., Kruszewski J.: Increased sensitization prevalence to common inhalant and food allergens in young adult polish males. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2008, 15, 21-27.
 23. Barber D., de la Torre F., Lombardero M., Antepara I., Colas C., Davila I., Tabar A.I., Vidal C., Villalba M., Salcedo G., Rodriguez R.: Component-resolved diagnosis of pollen allergy based on skin testing with profiling, polcalcin and lipid transfer protein pan-allergens. *Clin. Exp. Allergy.* 2009, 39, 1764-1773.
 24. Bartuzi Z.: *Alergia na pokarmy*. Łódź: Mediton Oficyna Wydawnicza, 2006. ISBN 83-923866-0-4.
 25. Bauermeister K., Ballmer-Weber B.K., Bublin M., Fritsche P., Hanschmann K.M., Hoffmann-Sommergruber K., Lidholm K., 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.
 26. Baur X., Chen Z., Raulf-Heimsoth M., Degens P.: Protein and allergen content of various natural latex articles. *Allergy.* 1997, 52, 661-664.
 27. Baur X., Chen Z.: Vorschlag von Luft – und Produktgrenzwerten für Naturgummilatax – Allergene. *Allergo J.* 1998, 7, 148-150.

28. Baur X., Rennert J., Chen Z.: Latex allergen elimination in natural latex sap and latex gloves by treatment with alkaline potassium hydroxide solution. *Allergy*. 1997, 52, 306-311.
29. Beezhold D.H., Sussman G.L., Liss G.M., Chang N.S.: Latex allergy can induce clinical reactions to specific foods. *Clin. Exp. Allergy*. 1996, 26, 416-422.
30. Ben Said B., Leray V., Nicolas J.F., Rozieres A., Berard F.: Methylprednisolone-induced anaphylaxis: diagnosis by skin test and basophil activation test. *Allergy*. 2010, 65, 531-532.
31. Bernardini R., Pucci N., Azzari C., Novembre E., de Martino M., Milani M.: Sensitivity and specificity of different skin prick tests with latex extracts in pediatric patients with suspected natural rubber latex allergy – A cohort study. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2008, 19, 315-318.
32. Binder M., Fierlbeck G., King T., Valent P., Buhning H.J.: Individual hymenoptera venom compounds induce upregulation of basophil activation marker ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (CD203c) in sensitized patients. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002, 129, 160-168.
33. Borghesan F., Bernardi D., Plebani M.: In vivo and in vitro allergy diagnostics: it's time to re-appraise the costs. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2007, 45, 391-395.
34. Boumiza R., Debard A.L., Monneret G.: The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin. Mol. Allergy*. 2005, 3, 9.
35. Boumiza R., Monneret G., Forissier M.F., Savoye J., Gutowski M.C., Powell W.S., Bienvenu J.: Marked improvement of basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clin. Exp. Allergy*. 2003, 33, 259-265.
36. Brehler R., Abrams E., Sedlmayr S.: Cross-reactivity between *Ficus benjamina* (weeping fig) and natural rubber latex. *Allergy*. 1998, 53, 402-406.
37. Brehler R., Theissen U., Mohr C., Luger T.: "Latex-fruit syndrome": frequency of cross-reacting IgE antibodies. *Allergy*. 1997, 52, 404-410.
38. Breiteneder H., Mills C.: Nonspecific lipid-transfer proteins in plant foods and pollens: an important allergen class. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005, 5, 275-279.
39. Bugajska-Schretter A., Eltman L., Fuchs T., Kapiotis S., Rumpold H., Valenta R., Spitzauer S.: Parvalbumin, a cross-reactive fish allergen, contains IgE-binding epitopes sensitive to periodate treatment and Ca²⁺ depletion. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998, 101, 67-74.
40. Buhning H.J., Streble A., Valent P.: The basophil-specific ectoenzyme E-NPP3 (CD203c) as a marker for cell activation and allergy diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2004, 133, 317-329.

41. Buss Z.S., Kupek E., Frode T.S.: Screening for latex sensitization by questionnaire: diagnostic performance in health care workers. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2008, 18, 12-16.
42. Cabanos C., Tandang-Silvas M.R., Odijk V., Brostedt P., Tanaka A., Utsumi S., Maruyama N.: Expression, purification, cross-reactivity and homology modeling of peanut profiling. *Protein Expr. Purif.* 2010, 73, 36-45.
43. Cases B., Pastor-Vargas C., Gil Dones F., Perez-Gordo M., Maroto A.S., de las Heras M., Vivanco F., Cuesta-Herranz J.: Watermelon profiling: characterization of a major allergen as a model for plant-derived food profilins. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2010, 153, 215-222.
44. Celik G.E., Schroeder J.T., Hamilton R.G., Saini S.S., Adkinson N.F.: Effect of in vitro aspirin stimulation on basophils in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Clin. Exp. Allergy.* 2009, 39, 1522-1531.
45. Chen Z., Posch A., Lohaus C., Raulf-Heimsoth M., Meyer H.E., Baur X.: Isolation and identification of hevein as a major IgE-binding polypeptide in *Hevea* latex. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 1997, 99, 402-409.
46. Chen Z., Posch A., Lohaus C., Raulf-Heimsoth M., Meyer H.E., Baur X.: Isolation and identification of hevein as a major IgE-binding polypeptide in *Hevea* latex. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 99, 402-409.
47. Chirumbolo S., Brizzi M., Ortolani R., Vella A., Bellavite P.: Inhibition of CD203c membrane up-regulation in human basophils by high dilutions of histamine: a controlled replication study. *Inflamm. Res.* 200, 58, 755-764.
48. Chirumbolo S., Conforti A., Ortolani R., Vella A., Marzotto M., Bellavite P.: Stimulus-specific regulation of CD63 and CD203c membrane expression in human basophils by the flavonoid quercetin. *Int. Immunopharmacol.* 2009, 10, 183-192.
49. Chwała C., Buczyłko K., Wagner A.: Uczulenie na parafenylenodiaminę powikłane uczuleniem na miejscowe glikokortykosteroidy – opis przypadku. *Alerg. Astma Immunol.* 2010, 15, 79-80.
50. Ciardiello M.A., Palazzo P., Bernardi M.L., Carratore V., Giangrieco I., Longo V., Melis M., Tamburrini M., Zennaro D., Mari A., Colombo P.: Biochemical, immunological and clinical characterization of cross-reactive lipid transfer protein 1 from mulberry. *Allergy.* 2010, 65, 597-605.
51. Constantin C., Quirce S., Poorafshar M., Touraev A., Niggemann B., Mari A., Ebner C., Akerstrom 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.
52. Coutinho V., Vidal C., Garrido M., Gude F., Lojo S., Linneberg A., Gonzalez-Quintela A.: Interference of cross-reactive carbohydrates in the determination of specific IgE in alcohol drinkers and strategies to minimize

- it: the example of latex. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2008, 101, 394-401.
53. Cretich M., Di Carlo G., Giudici C., Pokoj S., Lauer I., Scheurer S., Chiari M.: Detection of allergen specific immunoglobulins by microarrays coupled to microfluidics. *Proteomics.* 2009, 9, 2098-2107.
 54. Cromwell O., Suck R., Kahlert H., Nandy A., Weber B., Fiebig H.: Transition of recombinant allergens from bench to clinical application. *Methods.* 2004, 32, 300-312.
 55. Cudowska B., Kaczmarek M.: Alergia na lateks u dzieci i młodzieży. *Alergia Astma Immunologia.* 2003, 8, 129-134.
 56. D'Urbano L.E., Pellegrino K., Artesani M.C., Donnanno S., Luciano R., Riccardi C., Tozzi A.E., Rava L., De Benedetti F., Cavagi 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.
 57. Danne T., Niggemann B., Weber B., Wahn U.: Prevalence of latex-specific IgE antibodies in atopic and nonatopic children with type I diabetes. *Diabetes Care.* 1997, 20, 476-478.
 58. Darsow U., Vieluf D., Ring J.: Atopy patch test with different vehicles and allergen concentrations: An approach to standardization. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995, 95, 677-684.
 59. De Maat-Bleeker F., Stapel SO.: Cross-reactivity between buckwheat and latex. *Allergy.* 1998, 53, 538-539.
 60. De Queiroz M., Combet S., Berard J., Pouyau A., Genest H., Mouriquand P., Chassard D.: Latex allergy in children: modalities and prevention. *Pediatric Anesthesia.* 2009, 19, 313-319.
 61. De Weck A.D., Sanz M.L., Gamboa P.M., Aberer W., Bienvenu J., Blanca M., Demoly P., Ebo D.G., Mayorga L., Monneret G., Sainte Laudy J.: Diagnostic tests based on human basophils: more potentials and perspectives than pitfalls. II. Technical issues. *J. Investig. Allergol Clin. Immunol.* 2008, 18, 143-155.
 62. De Weck A.L., Sanz M.L., Gamboa P.M., Aberer W., Sturm G., Bilo M.B., Montroni M., Blanca M., Torres M.J., Mayorga L., Campi P., Manfredi M., Drouet M., Sainte-Laudy J., Romano A., Merk H., Weber J.M., Jermann T.M., and members of ENDA (European Network for Drug Allergy). Diagnosis of immediate-type β -lactam allergy in vitro by flow-cytometric basophil activation test and sulfidoleukotriene production: a multicenter study. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2009, 19, 91-109.
 63. Delaunay F., Blasco V.: Latex induced anaphylactic shock during caesarean section: two cases from Guadeloupe. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 2008, 27, 1023-1025.

64. Demoly P., Lebel B., Arnoux B.: Allergen-induced mediator release tests. *Allergy*. 2003, 58, 553-558.
65. Deval R., Ramesh V., Prasad G.B.K.S., Kumar Jain A.: Natural rubber latex allergy. *Indian. J. Dermatol. Venerol. Leprol.* 2009, 74, 304-310.
66. Diez-Gomez M.L., Quirce S., Aragonese E., Cuevas M.: Asthma caused by *Ficus benjamina* latex: evidence of cross-reactivity with fig fruit and papain. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 199, 80, 24-30.
67. Dillard S.F., MacCollum M.A.: Reports to FDA: allergic reactions to latex containing medical devices. *International latex conference: sensitivity to latex in medical devices.* 1992, 23.
68. Dooper M.M., Plassen C., Holden L., Lindvik H., Faeste C.K.: Immunoglobulin E cross-reactivity between lupine conglutins and peanut allergens in serum of lupine-allergic individuals. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2009, 19, 283-91.
69. Dos Santos R.L., Pithon M.M., Martins F.O., Romanos M.T., de Oliveira Ruellas A.C.: Evaluation of the cytotoxicity of latex and non-latex orthodontic separating elastics. *Orthod. Craniofac. Res.* 2010, 13, 28-33.
70. Drouet M., Boutet S., Lauret M.G., Chène J., Bonneau J.C., Le Sellin J., Hassoun S., Gay G., Sabbah A.: The pork-cat syndrome or crossed allergy between pork meat and cat epithelia (1). *Allerg. Immunol.* 1994, 26, 166-168, 171-172.
71. Drouet M., Sabbah A., Le Sellin J., Bonneau J.C., Gay G., Dubois-Gosnet C.: Fatal anaphylaxis after eating wild boar meat in a patient with pork-cat syndrome. *Allerg. Immunol.* 2001, 33, 163-165.
72. Du Buske L.M.: Introduction: basophil histamine release and the diagnosis of food allergy. *Allergy Proc.* 1993, 14, 243-249.
73. Dubois A.E., van der Heide S.: Basophil-activation tests in *Hymenoptera* allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2007, 7, 346-349.
74. Dudek W., Walusiak J., Wittczak T., Krakowiak A., Marciniak-Bielak D., Raulf-Heimsoth M., Pałczyński C.: Natural rubber latex allergy: antigen specific IgE in polish blond donors, prevalence and risk factors – preliminary data. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 2005, 18, 35-42.
75. Eberlein B., Leon Suarez I., Darsow U., Rueff F., Behrendt H., Ring J.: A new basophil activation test using CD63 and CCR3 in allergy to antibiotics. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, 40, 411-418.
76. Eberlein B.: Basophil activation test in the diagnosis of insect venom allergies. *Clin. Exp. Allergy.* 2009, 39, 1633-1634.
77. Eberlein-Konig B., Rakoski J., Behrendt H., Ring J.: Use of CD63 expression as marker of in vitro basophil activation in identifying the culprit in insect venom allergy. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2004, 14, 10-16.

78. Eberlein-Konig B., Schmidt-Leidescher C., Behrendt H., Ring J.: Predicting side-effects in venom immunotherapy by basophil activation? *Allergy*. 2006, 61, 897.
79. Eberlein-Konig B., Schmidt-Leidescher C., Rakoski J., Behrendt H., Ring J.: In vitro basophil activation using CD63 expression in patients with bee and wasp venom allergy. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2006, 16, 5-10.
80. Eberlein-Konig B., Varga R., Mempel M., Darsow U., Behrendt H., Ring J.: Comparison of basophil activation tests using CD63 or CD203c expression in patients with insect venom allergy. *Allergy*. 2006, 61, 1084-1085.
81. Ebo D.G., Bridts C.H., Verweij M.M., de Knop K.J., Hagendorens M.M., de Clerck L.S., Stevens W.J.: Sensitization profiles in birch pollen-allergic patients with and without oral allergy syndrome to apple: lessons from multiplexed component-resolved allergy diagnosis. *Clin. Exp. Allergy*. 2010, 40, 339-347.
82. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J.: *Hymenoptera* venom allergy: taking the sting out of difficult cases. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2007, 17, 357-360.
83. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J.: Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants and the ubiquitous protein profiling: mimickers of allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 2004, 34, 137-144.
84. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Bridts C.H., Schuerwegh A.J., de Clerck L.S., Stevens W.J.: Flow cytometric analysis of in vitro activated basophils, specific IgE and skin tests in the diagnosis of pollen-associated food allergy. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2005, 64, 28-33.
85. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Bridts C.H., Schuerwegh A.J., de Clerck L.S., Stevens W.J.: In vitro allergy diagnosis: should we follow the flow? *Clin. Exp. Allergy*. 2004, 34, 332-339.
86. Ebo D.G., Hagendorens M.M., de Knop K.J., Verweij M.M., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J.: Component-resolved diagnosis from latex by microarray. *Clin. Exp. Allergy*. 2010, 40, 348-358.
87. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Schuerwegh A.J., Beirens L.M.N., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J.: Flow-assisted quantification of in vitro activated basophils in the diagnosis of wasp venom allergy and follow-up of wasp venom immunotherapy. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2007, 72, 196-203.
88. Ebo D.G., Kuehn A., Bridts C.H., Hilger C., Hentges F., Stevens W.J.: Monosensitivity to pangasius and tilapia caused by allergens other than parvalbumin. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010, 20, 84-88.
89. Ebo D.G., Lechkar B., Schuerwegh A.J., Bridts C.H., De Clerck L.S., Stevens W.J.: Validation of a two-color flow cytometric assay detecting

- in vitro* basophil activation for the diagnosis of IgE-mediated natural rubber latex allergy. *Allergy* 2002, 57, 706-712.
90. Ebo D.G., Lechkar B., Schuerwegh A.J., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J.: Correspondence: Regarding Boumiza R, Monneret G, Forrissier MF et al. Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clin. Exp. Allergy*. 2003, 33, 849-853.
 91. Ebo D.G., Verheecke G., Bridts C.H., Mertens C.H., Stevens W.J.: Perioperative anaphylaxis from locally applied rifamycin SV and latex. *Br. J. Anaesth.* 2006, 96, 738-741.
 92. Edlich R.F., Long W.B., Gubler K.D., Rodeheaver G.T., Thacker J.G., Borel L., Chase M.E., Cross C.L., Fisher A.L., Lin K.Y., Cox M.J., Zura R.B.: Citizen's petition to food and drug administration to ban cornstarch powder on medical gloves: maltese cross birefringence. *J. Emerg. Med.* 2009, 27, 227-235.
 93. Erdmann S.M., Heussen N., Moll-Slodowy S., Merk H.F., Sachs B.: CD63 expression on basophils as a tool for the diagnosis of pollen-associated food allergy: sensitivity and specificity. *Clin. Exp. Allergy*. 2003, 33, 607-614.
 94. Erdmann S.M., Sachs B., Kwiecien R., Moll-Slodowy S., Sauer I., Merk H.F.: The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy. *Allergy*. 2004, 59, 1102-1109.
 95. Erdmann S.M., Sachs B., Schmidt A., Merk H.F., Scheiner O., Moll-Slodowy S., Sauer I., Kwiecien R., Maderegger B., Hoffmann-Sommergruber K.: In vitro analysis of birch-pollen-associated food allergy by use of recombinant allergens in the basophil activation test. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2005, 136, 230-238.
 96. Fedorov A.A., Ball T., Mahoney N.M., Valenta R., Almo S.C.: The molecular basis for allergen cross-reactivity: crystal structure and IgE-epitope mapping of birch pollen profilin. *Structure*. 1997, 15, 33-45.
 97. Fernandez-Rivas M., Benito C., Gonzalez-Mancebo E., de Durana D.A.: Allergies to fruits and vegetables. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2008, 19, 675-681.
 98. Ferreira F., Hawranek T., Gruber P., Wopfner N., Mari A.: Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. *Allergy*. 2004, 59, 243-267.
 99. Florjańczyk Z., Penczk S.: *Chemia polimerów tom I*. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 1998. ISBN 83-72072-65-5.
 100. Florjańczyk Z., Penczk S.: *Chemia polimerów tom II*. Warszawa: Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 1997. ISBN 83-72073-68-6.
 101. Focke M., Hemmer W., Wohrl S., Gotz M., Jarisch R.: Cross-reactivity between *Ficus Benjamina* latex and fig fruit in patients with clinical fig allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 2003, 33, 971-977.

102. Foetisch K., Westphal S., Lauer I., Retzek M., Altmann F., Kolarich D., Scheurer S., Vieths S.: Biological activity of IgE specific for cross-reactive carbohydrate determinants. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003, 111, 889-896.
103. Frezzolini A., Cadoni S., de Pita O.: Usefulness of the CD63 basophil activation test in detecting Anisakis hypersensitivity in patients with chronic urticaria: diagnosis and follow-up. *Clin. Exp. Dermatol.* 2010, 35, 765-770.
104. Fuchs T., Spitzauer S., Vente C., Hevler J., Kapiotis S., Rumpold H., Kraft D., Valenta R.: Natural latex, grass pollen, and weed pollen share IgE epitopes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 100, 356-364.
105. Gadermaier G., Harrer A., Girbl T., Palazzo P., Himly M., Vogel L., Briza P., Mari A., Ferreira F.: Isoform identification and characterization of Art v 3, the lipid-transfer protein of mugwort pollen. *Mol. Immunol.* 2009, 46, 1919-1924.
106. Gamboa P.M., Sanchez-Monge R., Diaz-Perales A., Salcedo G., Anso-tegui I., Sanz M.L.: Latex-vegetable syndrome due to custard apple and aubergine: new variations of the hevein symphony. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2005, 15, 308-311.
107. Gamboa P.M., Sanz M.L., Lombardero M., Barber D., Sanchez-Monje R., Goikoetxea M.J., Antepara I., Ferrer M., Salcedo G.: Component-resolved in vitro diagnosis in peach-allergic patients. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 2009, 19, 13-20.
108. Ganglberger E., Radauer C., Wagner S., Riordain G., Beezhold D.H., Brehler R., Niggemann B., Scheiner O., Jensen-Jarolim E., Breiteneder H.: Hev b 8, the *Hevea brasiliensis* latex profiling, is a cross-reactive allergen of latex, plant foods and pollen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001, 125, 216-227.
109. Garcia-Ortega P., Marin A.: Usefulness of the basophil activation test (BAT) In the diagnosis of life-threatening drug anaphylaxis. *Allergy.* 2010, 65, 1204.
110. Gassner-Bachmann M., Wüthrich B.: Zur Prävalenz der Sensibilisierung auf Naturlatex bei Schulkindern. *Allergo J.* 1999, 8, 189-194.
111. Goikoetxea M.J., Cabrera-Freitag P., Sanz M.L., Fernandez-Benitez M.: The importance of in vitro component-resolved diagnosis in paediatric patients. *Allergol. Immunopathol.* 2010, 38, 37-40.
112. Goldman L.: Quantitative aspects of clinical reasoning. In: Goldman L. (red.): *Principles of internal medicine.* New York: McGraw-Hill, 1987, 5-11.
113. Gonzalez-Quintela A., Garrido M., Gude F., Campos J., Linneberg A., Lojo S., Vidal C.: Sensitization to cross-reactive carbohydrate determinants in relation to alcohol consumption. *Clin. Exp. Allergy.* 2007, 38, 152-160.

114. Górski P., Grzegorzczak J., Roźniecki J.: Test de granulacji bazofilów w diagnostyce alergicznej *In vitro* na przykładzie dychawicy pyłkowej. *Pol. Tyg. Lek.* 1984, 31, 1039-1040.
115. Griesmeier U., Vázquez-Cortés S., Bublin M., Radauer C., Ma Y., Briza P., Fernández-Rivas M., Breiteneder H.: Expression levels of parvalbumins determine allergenicity of fish species. *Allergy.* 2010, 65, 191-198.
116. Grimm A.: Überempfindlichkeit gegen Kautschuk als Ursache von Urticaria und Quinckeschem Ödem. *Klin. Wochenschr.* 1927, 6, 1479.
117. Grzegorzczak J.L., Kujawiak M., Kłos Z.: Testy aktywacji komórek w alergii i nadwrażliwości. *Alerg. Astma Immunol.* 2008, 13, 67-72.
118. Guo F., Kothary M.H., Wang Y., Yu X., Howard A.J., Fu T.J., Zhang Y.Z.: Purification and crystallization of Cor a 9, a major hazelnut allergen. *Acta Cryst.* 2009, 65, 42-46.
119. Gwardys T., Lewandowska-Polak A., Jędrzejczak-Czechowicz M., Kowalski M.L.: Obraz kliniczny alergii na orzechy u dzieci i dorosłych. *Alerg. Astma Immunol.* 2010, 15, 75.
120. Haeberle H.A., Lupic D., Midoro-Horiuti T., Kiefer R.T., Schroeder T.H., Unertl K., Dieterich H.J.: Role of cross-allergies to latex in clinical routine of anesthesia. *J. Clin. Anesth.* 2003, 15, 495-504.
121. Hamid O.A., Elfedawy S., Mohamed S.K., Mosaad H.: Immunoblotting technique: a New accurate *in vitro* test for detection of allergen-specific IgE in allergic rhinitis. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 2009, 266, 1569-1573.
122. Hamilton R.G., Adkinson N.F.: Natural rubber latex skin testing reagents: Safety and diagnostic accuracy of nonammoniated latex, ammoniated latex, and latex rubber glove extracts. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996, 98, 872-883.
123. Hamilton R.G., Adkinson N.F.: Validation of the latex glove provocation procedure in latex-allergic subjects. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1997, 79, 266-272.
124. Hänninen A.R., Kalkkinen N., Mikkola J.H., Helin J., Turjanmaa K., Reunala T., Palosuo T.: Prohevein-like defense protein of tobacco is a cross-reactive allergen for latex-allergic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, 106, 778-779.
125. Hansen K.S., Ballmer-Weber B.K., Sastre J., Lidholm J., Andersson K., Oberhofer H., Lluch-Bernal M., Ostling J., Mattsson L., Schocker F., Vieths S., Poulsen L.K.: Component-resolved *in vitro* diagnosis of hazelnut allergy in Europe. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 123, 1134-1141.
126. Hartz C., Lauer I., Del Mar San Miguel Moncin M., Cistero-Bahima A., Foetisch K., Lidholm J., Vieths S., Scheurer S.: Comparison of IgE-binding capacity, cross-reactivity and biological potency of allergenic non-specific lipid transfer proteins from peach, cherry and hazelnut. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2010, 153, 335-346.

127. Hausmann O.V., Gentinetta T., Bridts C.H., Ebo D.G.: The basophil activation test in immediate-type drug allergy. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 2009, 29, 555-566.
128. Helbling A., Kamm S., Schnyder B.: Latex Allergy in Highly and Occasionally Exposed Individuals-Relationship to *Ficus benjamina* (weeping fig) exposure? *Allergo J.* 1999, 8, 183-188.
129. Hemery M.L., Arnoux B., Rongier M., Barbotte E., Bousquet J., Demoly P.: Correlation between former and new assays of latex IgE-specific determination using the k82 and k82 recombinant allergens from the Pharmacia Diagnostics laboratory. *Allergy.* 2005, 60, 131-132.
130. Hemmer W., Focke M., Kolarich D., Dalik I., Gotz M., Jarisch R.: Identification by immunoblot of venom glycoproteins displaying immunoglobulin E-binding N-glycans as cross-reactive allergens in honeybee and yellow jacket venom. *Clin. Exp. Allergy.* 2004, 34, 460-469.
131. Herlinger J.J.: Niezwykłe perypetie odkryć i wynalazków. Warszawa: Nasza Księgarnia, 1974. ISBN 83-10077-06-8.
132. Hoffmann-Sommergruber K., Mills E.N.: Food allergen protein families and their structural characteristics and application in component-resolved diagnosis: new data from the EuroPrevall project. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009, 395, 25-35.
133. Hufnagl K., Wagner B., Winkler B., Baier K., Hochreiter R., Thalhammer J., Kraft D., Scheiner O., Breiteneder H., Wiedermann U.: Induction of mucosal tolerance with recombinant Hev b 1 and recombinant Hev b 3 for prevention of latex allergy in BALB/c mice. *Clin. Exp. Immunol.* 2003, 133, 170-176.
134. ImmunoCAP ISAC – broszura producenta.
135. Jager D., Engelke S., Rennert S., Czuppon A.B., Baur X.: Stepwise diagnosis of respiratory latex allergy. *Pneumologie.* 1993, 47, 491-496.
136. Jager D., Kleinhans D., Czuppon A.B., Baur X.: Latex-specific proteins causing immediate-type cutaneous, nasal, bronchial, and systemic reactions. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992, 89, 759-768.
137. Jappe U., Raulf – Heimsoth M., Hoffmann M., Burow G., Hubsch – Muller C., Enk A.: In vitro hymenoptera venom allergy diagnosis: improved by screening for cross – reactive carbohydrate determinants and reciprocal inhibition. *Allergy.* 2006, 61, 1220-1229.
138. Jędrzejczak-Czechowicz M., Lewandowska-Polak A., Makowska J., Kowalski M.L.: Charakterystyka kliniczna osób z nipożądanymi reakcjami po pokarmach wśród dorosłych mieszkańców Łodzi. *Alerg. Astma Immunol.* 2010, 15, 75.
139. Jones S.M., Pons L., Roberts J.L., Scurlock A.M., Perry T.T., Kulis M., Shreffler W.G., Steele P., Henry K.A., Adair M., Francis J.M., Durham S., Vickery B.P., Zhong X., Burks A.W.: Clinical efficacy and immune

- regulation with peanut oral immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 124, 292-300.
140. Kahlert H., Weber B., Cromwell O., Fiebig H.: Evaluation of allergenicity of allergoids and hypoallergenic recombinant allergens using basophil activation by detection of CD203c. *Allergopharma Nexter.*
141. Kalpaklioglu A.F., Aydin G., Ozdemir N.: Prevalence of latex sensitivity among patients with chronic renal failure – a new risk group? *Nephrol. Dial. Transplan.* 1998, 13, 1899-1900.
142. Kalpaklioglu A.F., Aydin G.: Renal failure – a new risk group for latex allergy? *Allergy.* 1999, 54, 406-407.
143. Kelly K.: The diagnosis of natural rubber latex allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1994, 93, 813-816.
144. Kelly K.J., Kurup V., Zacharisen M., Resnick A., Fink J.N.: Skin and serologic testing in the diagnosis of latex allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1993, 91, 1140-1145.
145. Kelly K.J., Pearson M., Kurup V.: A cluster of anaphylactic reactions in children with spina bifida during general anaesthesia: epidemiological features, risk factors, and latex hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1994, 94, 53-61.
146. Kim J.H., An S., Kim J.E., Choi G.S., Ye Y.M., Park H.S.: Beef-induced anaphylaxis confirmed by the basophil activation test. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2010, 2, 206-208.
147. Kim K.T., Hussain H.: Prevalence of food allergy in 137 latex-allergic patients. *Allergy Asthma Proc.* 1999, 20, 95-107.
148. Knol E.F., Mul F.P., Jansen H., Calafat J., Roos D.: Monitoring human basophil activation via CD63 monoclonal antibody 435. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1991, 88, 328-338.
149. Korosec P., Erzen R., Silar M., Bajrovic N., Kopac P., Kosnik M.: Basophil responsiveness in patients with insect sting allergies and negative venom-specific immunoglobulin E and skin prick test results. *Clin. Exp. Allergy.* 2009, 39, 1730-1737.
150. Kosnic M., Silar M., Bajrovic N., Music E., Korosec P.: High sensitivity of basophils predicts side-effects in venom immunotherapy. *Allergy.* 2005, 60, 1401-1406.
151. Kowalski M.L., Łucka D., Kowalewski M.: Objawy alergii na wyroby lateksowe wśród lekarzy i pielęgniarek oddziałów zabiegowych. *Medycyna* 2000. 1995, 53-54, 45-48.
152. Krause S., Reese G., Randow S., Zennaro D., Quarantino D., Palazzo P., Ciardiello M.A., Petersen A., Becker W.M., Mari A.: JLIp1d transfer protein (Ara h 9) as a new peanut allergen relevant for Mediterranean allergic population. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 124, 771-778.
153. Krauth M.T., Mirkina I., Hermann H., Baumgartner C., Kneidiger M., Valent P.: Midostaurin (PKC412) inhibits immunoglobulin E-dependent

- activation and mediator release in human blood basophils and mast cells. *Clin. Exp. Allergy*. 2009, 39, 1711-1720.
154. Kruszewski J., Maleszka P., Płusa T.: Przypadek wstrząsu anafilaktycznego w czasie punktowych testów skórnych. *Pneumonol. Alergol.* 1994, 62, 405-409.
155. Kucharczyk A., Niedziałkowski P.: Zespół wieprzowina-kot (Pork-cat syndrome). *Alergol. Współ.* 2007, 1, 21-24.
156. Kujawiak M., Lech Z., Makowska J., Bieńkiewicz B., Kowalski M.L., Grzegorzczak J.: Wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych na aktywność bazofoili u pacjentów z pokrzywkowo-obrzękową postacią nadwrażliwości na aspirynę i osób zdrowych. *Alerg. Astma Immunol.* 2010, 15, 55-56.
157. Kumar P., Singh B., Lal R., Rembhotkar G.W., Singh A.B.: Association between reduced levels of total serum IgE and FcεRI expression in non-releaser basophils. *Immunobiology*. 2009, 214, 377-383.
158. Lambert C., Guilloux L., Dzvinga C., Gourgaud-Massias C., Genin C.: Flow cytometry versus histamine release analysis of in vitro basophil degranulation in allergy to *Hymenoptera* venom. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2003, 52, 13-19.
159. 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.
160. Lee M.F., Tsai J.J., Hwang G.Y., Lin S.J., Chen Y.H.: Identification of immunoglobulin I (IgE)-binding epitopes and recombinant IgE reactivities of a latex cross-reacting *Indian jujube* Ziz m 1 allergen. *Clin. Exp. Immunol.* 2008, 152, 464-471.
161. Leynadier F., Pecquet C., Dry J.: Anaphylaxis to latex during surgery. *Anaesthesia*. 1989, 44, 547-550.
162. Lichtenstein L.M., Levy D.A., Ishizaka K.: In vitro reversed anaphylaxis: characteristics of anti-IgE mediated histamine release. *Immunology*. 1970, 19, 831-842.
163. Lidholm J., Ballmer-Weber B.K., Mari A., Vieths S.: Component-resolved diagnostics in food allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2006, 6, 234-240.
164. Lundberg M., Wrangsjö K., Eriksson-Widblom K., Johansson S.G.: Reduction of latex-allergen content in Swedish medical catheter balloons-a survey of 3 years' production. *Allergy*. 1997, 52, 1057-1062.
165. Lundberg M., Wrangsjö K., Johansson S.G.O.: Latex allergy from glove powder-an unintended risk with the switch from talc to cornstarch? *Allergy*. 1997, 52, 1222-1228.
166. Lundberg M., Wrangsjö K., van Hage-Hamsten M.: Diagnosis of latex allergy. *Allergy*. 1997, 52, 1042-1043.

167. Ma Y., Griesmeier U., Susani M., Radauer C., Briza P., Erler A., Bublin M., Alessandri S., Himly M., Vázquez-Cortés S., de Arellano I.R., Vassilopoulou E., Saxoni-Papageorgiou P., Knulst A.C., Fernández-Rivas M., Hoffmann-Sommergruber K., Breiteneder H.: Comparison of natural and recombinant forms of the major Fish allergen parvalbumin from cod and carp. *Mol. Nutr. Food. Res.* 2008, 52, 196-207.
168. Mahler V., Gutgesell C., Valenta R., Fuchs T.: Natural rubber latex and *hymenoptera* venoms share ImmunoglobulinE-epitopes accounting for cross-reactive carbohydrate determinations. *Clin. Exp. Allergy.* 2006, 36, 1446-1456.
169. Maillard H., Drouet M., Sabbah A.: Allergies associées au poivron et au latex: nouvelle allergie croisée? *Allerg Immunol.* 1995, 27, 292-294.
170. Maillard H., Lemerle E., Garot D., Leclech C., Machet L.: Crossed spinach-latex allergy revealed by exercise-induced anaphylaxis. *Allerg. Immunol.* 1999, 31, 156-157.
171. Majkowska-Wojciechowska B., Łuczyńska M., Wardzyńska A., Kowalski M.K., Jędrzejczak M., Lewandowska-Polak A., van Ree R., Kowalski M.L.: Stężenia sIgE wobec alergenów pokarmowych a objawy nadwrażliwości na pokarmy u dzieci. Wyniki badań międzynarodowego programu EuroPrevall. *Alerg. Astma Immunol.* 2010, 15, 74.
172. Mari A., Scala E., D'Ambrosio C., Breiteneder H., Wagner S.: Latex allergy within a cohort of not-at-risk subjects with respiratory symptoms: prevalence of latex sensitization and assesment of diagnostic tools. *Journal Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007, 143, 135-143.
173. Mari A.: IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002, 129, 286-295.
174. Mari A.: Multiple pollen sensitization: a molecular approach to the diagnosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001, 125, 57-65.
175. Markovic-Housley Z., Basle A., Padavattan S., Maderegger B., Schirmer T., Hoffmann-Sommergruber K.: Structure of the major carrot allergen Dau c 1. *Acta Cryst.* 2009, 65, 1206-1212.
176. Mikkelsen S., Bibby B.M., Dolberg M.K., Dahl R., Hiffmann H.J.: Basophil sensitivity through CD63 or CD203c is a functional measure for specific immunotherapy. *Clin. Mol. Allergy.* 2010, 16, 2.
177. Möller M., Kayma M., Vieluf D., Paschke A., Steinhart H.: Determination and characterisation of cross-reacting allergens in latex, avocado, banana, and kiwi fruit. *Allergy.* 1998, 53, 289-296.
178. Moneret-Vautrin DA, Laxenaire MC. The risk of allergy related to general anaesthesia. *Clin. Exp. Allergy.* 1993; 23: 629-633.
179. Moneret-Vautrin D.A., Sainte-Laudy J., Kanny G., Fremont S.: Human basophil activation measured by CD63 expression and LTC4 release in

- IgE-mediated food allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1999, 82, 33-40.
180. Moneret G., Gutowski M.C., Bienvenu J.: Detection of allergen-induced basophil activation by expression of CD63 antigen using a tricolour flow cytometric method. *Clin. Exp. Immunol.* 1999, 115, 393-396.
181. Mygind N., Dahl R., Pedersen S., Thestrup-Pedersen K.: *Alergologia*. Wrocław: Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, 1998. ISBN 83-85842-98-5.
182. Nenitescu C.D.: *Chemia organiczna tom II*. Warszawa: Wrocławska Drukarnia Naukowa PWN, 1969.
183. Nettis E., Colanardi M.C., Dambra P.P., Capuzzimati L., Loria M.P., Ferrannini A., Vacca A., Tursi A.: Flow cytometric basophil activation test: detection of CD63 expression as a useful aid to diagnosis of latex allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2006, 97, 715-716.
184. Nicolau N., Poorafshar M., Murray C., Simpson A., Winell H., Kerry G., Harlin A., Woodcock A., Ahistedt 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.
185. Nienhaus A., Kromark K., Raulf-Heimsoth M., van Kampen V., Merget R.: Outcome of occupational latex allergy-work ability and quality of life. *PLoS One.* 2008, 3, e3459.
186. Niggemann B., Reibel S., Wahn U.: The atopy patch test (APT) – a useful tool for the diagnosis of food allergy in children with atopic dermatitis. *Allergy.* 2000, 55, 281-285.
187. Nopp A., Johansson S.G., Ankerst J., Bylin G., Cardell L.O., Gronneberg R., Irander K., Palmqvist M., Oman H.: Basophil allergen threshold sensitivity: a useful approach to anti-IgE treatment efficacy evaluation. *Allergy.* 2006, 61, 298-302.
188. Nutter A.F.: Contact urticaria to rubber. *Brit. J. Derm.* 1979, 101, 597-598.
189. Obojski A.: Występowanie alergii na lateks w populacji pracowników służby zdrowia i ocena przydatności testu CAST-ELISA w rozpoznawaniu tej nadwrażliwości. Rozprawa doktorska. Wrocław: Akademia Medyczna we Wrocławiu, 1998.
190. Ocmant A., Mulier S., Hanssens L., Goldman M., Casimir G., Mascart F., Schandene L.: Basophil activation tests for the diagnosis of food allergy in children. *Clin. Exp. Allergy.* 2009, 39, 1234-1245.
191. Ocmant A., Peignois Y., Mulier S., Hanssens L., Michlis A., Schandene L.: Flow cytometry for basophil activation markers: the measurement of CD203c up-regulation is as reliable as CD63 expression in the diagnosis of cat allergy. *J. Immunol. Methods.* 2007, 320, 40-48.

192. Ortolani C., Ispano M., Pastorello E.A., Ansaloni R., Magri G.C.: Comparison of results of skin prick tests (with fresh foods and commercial food extracts) and RAST in 100 patients with oral allergy syndrome. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 1989, 83, 683-690.
193. Ott H., Baron J.M., Heise R., Ocklenburg C., Stanzel S., Merk H.F., Niggemann B., Beyer K.: Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy.* 2008, 63, 1521-1528.
194. Ott H., Folster-Holst R., Merk H.F., Baron J.M.: Allergen microarrays: a novel tool for high-resolution IgE profiling in adults with atopic dermatitis. *Eur. J. Dermatol.* 2010, 20, 54-61.
195. Ott H., Schroder C., Raulf-Heimsoth M., Mahler V., Ocklenburg C., Merk H.F., Baron J.M.: Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: a new tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010, 20, 129-138.
196. Ott H., Schroder C.M., Stanzel S., Merk H.F., Baron J.M.: Microarray-based IgE Detection in capillary blood samples of patients with atopy. *Allergy.* 2006, 61, 1146-1152.
197. Palacin A., Tordesillas L., Gamboa P., Sanchez-Monge R., Cuesta-Herranz J., Sanz M.L., Barber D., Salcedo G., Diaz-Perales A.: Characterization of peach thaumatin-like proteins and their identification as major peach allergens. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, 40, 1422-1430.
198. Palczynski C., Walusiak J., Ruta U., Gorski P.: Nasal provocation test in the diagnosis of rubber latex allergy. *Allergy.* 2000, 55, 34-41.
199. Pałczyński C., Walusiak J.: Alergia na lateks-nowy problem zdrowia publicznego. *Klinika (Alergologia).* 1998, 5, 412-416.
200. Pałczyński C., Walusiak J., Ruta U., Górski P.: Occupational allergy to latex – life threatening reactions in health care workers. Reports of three cases. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 1997, 10, 297-301.
201. Pałczyński C., Walusiak J., Hanke W., Górski P.: Latex allergy in Polish nurses. *Am. J. Ind. Med.* 1999, 35, 413-419.
202. Pastorello E.A., Farioli L., Pravettoni V., Ortolani C., Fortunato D., Giffrida M.G., Perono Garoffo L., Calamari A.M., Brenna O., Conti A.: Identification of grape and wine allergens as as endocitinase 4, a lipid-transfer protein, and a thaumatin. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003, 111, 350-359.
203. Peternelj A., Silar M., Bajrovic N., Adamic K., Music E., Kosnik M., Korosec P.: Diagnostic value of the basophil activation test in evaluating *Hymenoptera* venom sensitization. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2009, 121, 344-348.
204. Peternelj A., Silar M., Erzen R., Kosnik M., Korosec P.: Basophil sensitivity in patients not responding to venom immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008, 146, 248-254.

205. Pfützner W., Thomas P., Rueff F., Przybilla B.: Anaphylactic reaction elicited by condurango bark in a patient allergic to natural rubber latex. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 1998, 101, 281-282.
206. Pisati G., Baruffini A., Bernabeo F., Stanizzi R.: Bronchial provocation testing in the diagnosis of occupational asthma due to latex surgical gloves. *Eur. Respir. J.* 1994, 7, 332-336.
207. Platz I.J., Binder M., Marxer A., Lischka G., Valent P., Buhring H.J.: *Hymenoptera*-venom-induced upregulation of the basophil activation marker ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 in sensitized individuals. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001, 126, 335-342.
208. Pokoj S., Lauer I., Fotisch K., Himly M., Mari A., Enrique E., Miquel-Moncin Mdel M., Lidholm J., Vieths S., Scheurer S.: *Pichia pastoris* is superior to *E. coli* for the production of recombinant allergenic non-specific lipid-transfer proteins. *Protein Expr. Purif.* 2010, 69, 68-75.
209. Porri F., Lemiere C., Birnbaum J.: Prevalence of latex allergy in atopic and non-atopic subjects from the general population. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1995, 95, 154.
210. Porri F., Pradal M., Lemiere C., Birnbaum J., Mege J.L., Lanteaume A., Charpin D., Vervolet D., Camboulives J.: Association between latex sensitization and repeated latex exposure in children. *Anesthesiology.* 1997, 86, 599-602.
211. Posch A., Chen Z., Raulf-Heimsoth M., Baur X.: Latex allergens. *Clin. Exp. Allergy.* 1998, 28, 134-140.
212. Posch A., Chen Z., Wheeler C., Dunn M.J., Raulf-Heimsoth M., Baur X.: Characterization and identification of latex allergens by two-dimensional electrophoresis and protein microsequencing. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 99, 385-395.
213. Posch A., Wheeler C.H., Chen Z., Flagge A., Dunn M.J., Papenfuss F., Raulf-Heimsoth M., Baur X.: Class I endochitinase containing a hevein domain is the causative allergen in latex-associated avocado allergy. *Clin. Exp. Allergy.* 1999, 29, 667-672.
214. Potapińska O., Demkow U., Wąsik M.: Cytometryczna ocena aktywacji bazofilów w diagnostyce chorób alergicznych. *Pneumonol. Alergolol. Pol.* 2009, 77, 152-158.
215. Potapińska O., Górka E., Zawadzka-Krajewska A., Kulus M., Wąsik M., Demkow U.: Przydatność diagnostyczna antygeny CD203c w ocenie aktywacji bazofilów pod wpływem antygenów pyłków traw i *Dermatophagoides pteronyssinus*. Badania wstępne. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2009, 77, 138-144.
216. Przybilla B., Ring J., Wielgosch J.: The basophilic histamine liberation test as a diagnostics method in *Hymenoptera* venom allergy. *Hautarzt.* 1988, 39, 662-670.

217. Purohit A., Niederberger V., Kronqvist M., Horak F., Grönneberg R., Suck R., Weber B., Fiebig H., van Hage M., Pauli G., Valenta R., Cromwell O. Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. *Clin. Exp. Allergy*. 2008, 38, 1514-1525.
218. Quercia O., Stefanini G.F., Scardovi A., Asero R.: Patients monosensitized to Hev b 8 (*Hevea brasiliensis* latex profiling) may safely undergo major surgery in a normal (non-latex safe) environment. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 41, 112-116.
219. Raap U., Schaefer T., Kapp A., Wedi B.: Exotic food allergy: anaphylactic reaction to lychee. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2007, 17, 199-201.
220. Radermecker M.F., Leclercq M.D., Mariz S.D., Louis R.E.: Basophil releasability in patients with *hymenoptera* venom allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1993, 101, 283-287.
221. Raulf-Heimsoth M., Kespohl S., Crespo J.F., Rodriguez J., Feliu A., Bruning T., Rihs H.P.: Natural rubber latex and chestnut allergy: cross-reactivity or co-sensitization? *Allergy*. 2007, 62, 1277-1281.
222. Raulf-Heimsoth M., Rihs H.P., Rozynek P., Cremer R., Gaspar A., Pires G., Yeang H.Y., Arif S.A., Hamilton R.G., Sander I., Lundberg M., Bruning T.: Quantitative analysis of immunoglobulin E reactivity profiles in patients allergic or sensitized to natural rubber latex (*Hevea brasiliensis*). *Clin. Exp. Allergy*. 2007, 37, 1657-1667.
223. Reindl J., Rihs H.P., Scheurer S., Wangorsch A., Haustein D.: IgE reactivity to profiling in pollen-sensitized subjects with adverse reactions to banana and pineapple. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002, 128, 105-114.
224. Rihs H.P., Chen Z., Rozynek P., Baur X., Lundberg M., Cremer R.: PCR-based cloning, isolation, and IgE-binding properties of recombinant latex profilin (rHev b 8). *Allergy*. 2000, 55, 712-717.
225. Rihs H.P., Dumont B., Rozynek P., Lundberg M., Cremer R., Bruning T., Raulf-Heimsoth M.: Molecular cloning, purification, and IgE-binding of a recombinant class I chitinase from *Hevea brasiliensis* leaves (rHev b 11.0102). *Allergy*. 2003, 58, 246-251.
226. Rolland J.M., O'Hehir R.E.: Latex allergy: a model for therapy. *Clin. Exp. Allergy*. 2008, 38, 898-912.
227. Romano A., Fernandez-Rivas M., Caringi M., Armato S., Mistrello G., Asero R.: Allergy to peanut lipid transfer protein (LTP): frequency and cross-reactivity between peanut and peach LTP. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 41, 106-111.
228. Ronchetti R., Kaczmarek M.G., Hałuszka J., Jesenak M., Villa M.P.: Food allergies, cross-reactions and agroalimentary biotechnologies. *Adv. Med. Sci.* 2007, 52, 98-103.

229. Ruëff F., Przybilla B.: Soforttyp-Allergie gegen Naturlatex. *Allergo J.* 1999, 8, 181-182.
230. Sabbah A., Lauret M.G., Chene J., Boutet S., Drouet M.: The pork-cat syndrome or crossed allergy between pork meat and cat epithelia (2). *Allerg. Immunol.* 1994, 26, 173-174, 177-180.
231. Sainte-Laudy J., Belon P.: Improvement of flow cytometric analysis of basophil activation inhibition by high histamine dilutions. A novel basophil specific marker: CD 203c. *Homeopathy.* 2006, 95, 3-8.
232. Sainte-Laudy J., Belon P.: Inhibition of basophil activation by histamine: a sensitive and reproducible model for the study of the biological activity of high dilutions. *Homeopathy.* 2009, 98, 186-197.
233. Sainte-Laudy J., Boumediene A., Touraine F., Orsel I., Brianchon C., Bonnaud F., Cogne M.: Use of both CD63 up regulation and IgE down regulation for the flow cytometric analysis of allergen induced basophil activation. Definition of an activation index. *Inflamm. Res.* 2007, 65, 291-296.
234. Sainte-Laudy J., Sabbah A., Vallon C., Guerin J.C. : Analysis of anti-IgE and allergen induced human basophil activation by flow cytometry. Comparison with histamine release. *Inflamm. Res.* 1998, 47, 401-408.
235. Sainte-Laudy J., Sabbah M., Drouet M., Lauret M.G., Loiry M.: Diagnosis of venom allergy by flow cytometry. Correlation with clinical history, skin tests, specific IgE, histamine and leukotriene C4 release. *Clin. Exp. Allergy.* 2000, 30, 1166-1171.
236. San Miguel-Moncín M., Krail M., Scheurer S., Enrique E., Alonso R., Conti A., Cisteró-Bahíma A., Vieths S.: Lettuce anaphylaxis: identification of a lipid transfer protein as a major allergen. *Allergy.* 2003, 58, 511-517.
237. Sanchez-Monge R., Blanco C., Diaz-Perales A., Collada C., Carrillo T., Aragoncillo C., Salcedo G.: Isolation and characterization of major banana allergens: identification as fruit class I chitinases. *Clin. Exp. Allergy.* 1999, 29, 673-680.
238. Sánchez-Monge R., Blanco C., Perales A.D., Collada C., Carrillo T., Aragoncillo C., Salcedo G.: Class I chitinases, the panallergens responsible for the latex-fruit syndrome, are induced by ethylene treatment and inactivated by heating. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, 106, 190-195.
239. San-Juan S., Lezaun A., Caballero M.L., Moneo I.: Occupational allergy to raw beef due to cross-reactivity with dog epithelium. *Allergy.* 2005, 60, 839-840.
240. Sanz M.L., Gamboa P.M., Antepara I., Uasuf C., Vila L., Garcia-Aviles C., Chazot M., de Weck A.L.: Flow cytometric basophil activation test by detection of CD63 expression in patients with immediate-type reactions to betalactam antibiotics. *Clin. Exp. Allergy.* 2002, 32, 277-286.

-
241. Sanz M.L., Gamboa P.M., de Weck A.L.: Cellular tests in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Curr. Pharm. Des.* 2008, 14, 2803-2808.
 242. Sanz M.L., Gamboa P.M., Garcia-Aviles C., Vila L., Dieguez I., Antepara I., de Weck A.L.: Flow-cytometric cellular allergen stimulation test in latex allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003, 130, 33-39.
 243. Sanz M.L., Gamboa P.M., Mayorga C.: Basophil activation tests in the evaluation of immediate drug hypersensitivity. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009, 9, 298-304.
 244. Sanz M.L., Garcia-Aviles M.C., Tabar A.I., Anda M., Garcia B.E., Barber D., Salcedo G., Rihs H.P., Raulf-Heimsoth M.: Basophil Activation Test and specific IgE measurements using a panel of recombinant natural rubber latex allergens to determine the latex allergen sensitization profile in children. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2006, 17, 148-156.
 245. Sanz M.L., Maselli J.P., Gamboa P.M., Oehling A., Dieguez I., de Weck A.L.: Flow cytometric basophil activation test: a review. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2002, 12, 143-154.
 246. Sanz M.L., Sanchez G., Gamboa P.M., Vila L., Uasuf C., Chazot M., Dieguez I., de Weck A.L.: Allergen-induced basophil activation: CD63 cell expression detected by flow cytometry in patients allergic to *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Lolium perenne*. *Clin. Exp. Allergy.* 2001, 31, 1007-1013.
 247. Scala E., Alessandri C., Bernardi M.L., Ferrara R., Palazzo P., Pomponi D., Quarantino D., Rasi C., Zaffiro A., Zennaro D., Mari A.: Cross-sectional survey on immunoglobulin E reactivity in 23 077 subjects using an allergenic molecule-based microarray detection system. *Clin. Exp. Allergy.* 2010, 40, 911-921.
 248. Scientific Committee on Medicinal Products and Medical Devices. Opinion on Natural Rubber Latex Allergy. 27.06.2000, 1-34.
 249. Shreffler W.G.: Evaluation of basophil activation in food allergy: present and future applications. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2006, 6, 226-233.
 250. Siler D.J., Cornish K., Hamilton R.G.: Absence of cross-reactivity of IgE antibodies from subjects allergic to *Hevea brasiliensis* latex with a new source of natural rubber latex from guayule (*Parthenium argentatum*). *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996, 98, 895-902.
 251. Simon-Nobbe B., Probst G., Kajava A.V., Oberkofler H., Susani M., Cramer R., Ferreira F., Ebner C., Breitenbach M.: IgE-binding epitopes of enolases, a class of highly conserved fungal allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, 106, 887-895.
 252. Slater J.E.: Latex allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1994; 94: 139-149.
 253. Sobotka AK, Valentine MD, Benton AW, Lichtenstein LM. Allergy to insect stings: I. Diagnosis of IgE-mediated *Hymenoptera* sensitivity by

- venom-induced histamine release. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1974, 53, 170-184.
254. Stern G.: Überempfindlichkeit gegen Kautschuk als Ursache von Urticaria und Quinckeschem Ödem. *Klein. Wochenschr.* 1927, 6, 1096-1097.
255. Sturm G.J., Bohm E., Trummer M., Weiglhofer I., Heinemann A., Aberer W.: The CD63 basophil activation test in *Hymenoptera* venom allergy: a prospective study. *Allergy.* 2004, 59, 1110-1117.
256. Sudheer P.S., Hall J.E., Read G.F., Rowbottom A.W., Williams P.E.: Flow cytometric investigation of peri-anaphylaxis using CD63 and CD203c. *Anaesthesia.* 2005, 60, 251-256.
257. Sunderasan E., Samsidar H., Sharifah H.: Latex B-serum β -1,3-glucanase (Hev b II) and a component of the microhelix (Hev b IV) are major latex allergens. *J. Nat. Rubb. Res.* 1995, 10, 82-99.
258. Swoboda I., Bugajska-Schretter A., Verdino P., Keller W., Sperr W.R., Valent P., Valenta R., Spitzauer S.: Recombinant carp parvalbumin, the major cross-reactive fish allergen: a tool for diagnosis and therapy of fish allergy. *J. Immunol.* 2002, 168, 4576-4584.
259. Szweykowska A., Szweykowski J.: *Botanika tom II. Systematyka.* Warszawa: PWN, 1993.
260. Tarlo S.M., Sussman G., Contala A., Swansos M.C.: Control of airborne latex by use of powder-free latex gloves. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1994, 93, 985-989.
261. Tarlo S.M., Sussman G., Holness D.L.: Latex sensitivity in dental students and staff: a cross-sectional study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 99, 396-401.
262. Tomazic V.J., Shampaine E.L., Lamanna A., Withrow T.J., Adkinson N.F. Jr, Hamilton R.G.: Cornstarch powder on latex products is an allergen carrier. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1994, 93, 751-758.
263. Triggiani M., Marone G.: Basophil's secrets revealed by flow cytometry. *Allergy.* 2006, 61, 1025-1027.
264. Tryba M., Ahnfeld F.W., Barth J.: Akuttherapie anaphylaktoider Reaktionen. Ergebnisse einer interdisziplinären Konsensuskonferenz. *Allergo J.* 1994, 3, 211-224.
265. Turcanu V.: Could T cell component-resolved diagnosis differentiate between food sensitization and food allergy? *Clin. Exp. Allergy.* 2010, 40, 531-533.
266. Turjanmaa K., Alenius H., Mäkinen-Kiljunen S., Reunala T., Palosuo T.: Natural rubber latex allergy. *Allergy.* 1996, 51, 593-602.
267. Turjanmaa K., Makinen-Kiljunen S., Reunala T.: Natural rubber latex allergy. *Immunol. and Allergy Clinics of North America.* 1995, 15, 71-88.
268. Turjanmaa K., Palosuo T., Alenius H., Leynadier F., Autegarden J.E., André C., Sicard H., Hrabina M., Tran T.X.: Latex allergy diagnosis: in

- vivo and in vitro standarization of natural rubber latex extract. *Allergy*. 1997, 52, 41-50.
269. Turjanmaa K.: Allergy to Natural Rubber Latex: a Growing Problem. *Ann. Med.* 1994, 26, 297-300.
270. Twardosz-Kropfmuller A., Singh M.B., Niederberger V., Horak F., Kraft D., Spitzauer S., Valenta R., Swoboda I.: Association of allergic patients' phenotypes with IgE reactivity to recombinant pollen marker allergens. *Allergy*. 2010, 65, 296-303.
271. Unsel M., Mete N., Ardeniaz O., Goksel S., Ersoy R., Sin A., Gulbahar O., Kokuludag A.: The importance of nasal provocation test in the diagnosis of natural rubber latex allergy. *Allergy*. 2009, 64, 862-867.
272. Untersmayr E., Lukschal A., Hemmer W., Harwanegg C., Breiteneder H., Jarisch R., Scheiner O., Jensen-Jarolim E.: Exercise with latex sport bands represents a risk for latex allergic patients. *Immunol. Lett.* 2008, 115, 98-104.
273. Valent P., Hauswirth A.W., Natter S., Sperr W.R., Buhning H.J., Valenta R.: Assays for measuring in vitro basophil activation induced by recombinant allergens. *Methods*. 2004, 32, 265-270.
274. Valenta R., Duchêne M., Pettenburger K., Sillaber C., Valent P., Bettelheim P., Breitenbach M., Rumpold H., Kraft D., Scheiner O.: Identification of profiling as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. *Science*. 1991, 253, 557-560.
275. Valsecchi R., Leghissa P., Cortinovis R., Cologni L., Pomesano A.: Contact urticaria from latex in healthcare workers. *Dermatology*. 2000, 201, 127-131.
276. Van der Veen M.J., van Ree R., Aalberse R.C., Akkerdaas J., Koppelman S.J., Jansen H.M., van der Zee J.S.: Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, 100, 327-334.
277. Vandenplas O., Delwiche J.P., Evrard G., Aimont P., van der Brempt X., Jamart J., Delaunois L.: Prevalence of occupational asthma due to latex among hospital personnel. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995, 151, 54-60.
278. Vandenplas O., Vandezande L.M., Halloy J.L., Delwiche J.P., Jamart J., Looze Y.: Association between sensitization to natural rubber latex and papain. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996, 97, 1421-1424.
279. Vandenplas O.: Occupational asthma caused by natural rubber latex. *Eur. Respir. J.* 1995, 8, 1957-1965.
280. Verweij M.M., Hagendorens M.M., de Knop K.J., Bridts C.H., de Clerck L.S., Stevens W.J., Ebo D.G.: Young infants with atopic dermatitis can display sensitization to Cor a 9, an 11S legumin-like seed-storage protein from hazelnut (*Corylus avellana*). *Pediatr. Allergy Immunol.* 2010,

281. Viardot-Helmer A., Ott H, Sauer I, Merk H.F.: Basophil activation test as in vitro assay for cisplatin allergy. *Hautarzt*. 2008, 59, 883-884.
282. Vidal C., Vizcaino L., Diaz-Peromingo J.A., Garrido M., Gomez-Rial J., Linneberg A., Gonzalez-Quintela A.: Immunoglobulin-E reactivity to a glycosylated food allergen (peanuts) due to interference with cross-reactive carbohydrate determinants in heavy drinkers. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2009, 33, 1322-1328.
283. Vieths S., Scheurer S., Ballmer-Weber B.: Current understanding of cross-reactivity of food allergens and pollen. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2002, 964, 47-68.
284. Villalta D., Asero R.: Is the detection of IgE to multiple Bet v 1-homologous food allergens by means of allergen microarray clinically useful? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010, 125, 1158-1161.
285. Wagner S., Breiteneder H., Simon-Nobbe B., Susani M., Krebitz M., Niggemann B., Brehler R., Scheiner O., Hoffmann-Sommergruber K.: Hev b 9, an enolase and a new cross-reactive allergen from *Hevea* latex and molds. Purification, characterization, cloning and expression. *Eur. J. Biochem.* 2000, 267, 7006-7014.
286. Wagner S., Radauer C., Hafner C., Fuchs H., Jensen-Jarolim E., Wutrich B., Scheiner O., Breiteneder H.: Characterization of cross-reactive bell pepper allergens involved in the latex-fruit syndrome. *Clin. Exp. Allergy*. 2004, 34, 1739-1746.
287. Wagner S., Sowka S., Mayer C., Cramer R., Focke M., Kurup V.P., Scheiner O., Breiteneder H.: Identification of *Hevea brasiliensis* latex manganese superoxide dismutase (Hev b 10) as a cross-reactive allergen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001, 125, 120-127.
288. Walusiak J.: Występowanie alergii na lateks w wybranych grupach ryzyka. Ocena uwarunkowań, objawów i przebiegu choroby – rozprawa doktorska. Instytut Medycyny Pracy w Łodzi. 1998.
289. Weber R.W.: Patterns of pollen cross-allergenicity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003, 112, 229-239.
290. Westritschnig K., Linhart B., Focke-Tejkl M., Pavkov T., Keller W., Ball T., Mari A., Hartl A., Stocklinger A., Scheibelhofer S., Thalhamer J., Ferreira F., Vieths S., Vogel L., Bohm A., Valent P., Valenta R.: Hypoallergenic vaccine obtained by tail-to-head restructuring of timothy grass pollen profiling, Phl p 12, for treatment of cross-sensitization to profiling. *J. Immunol.* 2007, 179, 7624-7634.
291. Wilkinson S.M., Beck M.H.: Allergic contact dermatitis from latex rubber. *Br. J. Dermatol.* 1996, 134, 910-914.
292. Wiszniewska M., Zgorzelska-Kowalik J., Nowakowska-Swirta E., Palczynski C., Walusiak-Skorupa J.: Cross-reactive carbohydrate determinants in diagnostics of occupational allergy - preliminary results. *Allergy*. 2010, 65, 664-666.

-
293. Wohrl S., Vigl K., Zehetmayer S., Hiller R., Jarisch R., Prinz M., Stingl G., Kopp T.: The performance of component-based allergen-microarray in clinical practice. *Allergy*, 61, 633-639.
 294. Wolanczyk-Medrała A., Gogolewski G., Liebhart J., Gomulka K., Litwa M., Panaszek B., Lindner K., Medrała W.: A new variant of the basophil activation test for allergen-induced basophil CD63 upregulation. The effect of cetirizine. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2009, 19, 456-473.
 295. Yagami A., Nakazawa Y., Suzuki K., Matsunaga K.: Curry Spice allergy associated with pollen-food allergy syndrome and latex fruit-syndrome. *J. Dermatol.* 2009, 36, 45-49.
 296. Yagami T., Sato M., Nakamura A., Komiyama T., Kitagawa K., Akasawa A., Ikezawa Z.: Plant defence-related enzymes as latex antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998, 101, 379-385.
 297. Ylitalo L., Mäkinen-Kiljunen S., Turjanmaa K., Palosuo T., Reunala T.: Cow's milk casein, a hidden allergen in natural rubber latex gloves. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999, 104, 177-180.
 298. Youssef L.A., Schuyler M., Gilmartin L., Pickett G., Bard J.D.J., Tarleton C.A., Archibeque T., Qualls C., Wilson B.S., Oliver J.M.: Histamine release from the basophils of control and asthmatic subjects and a comparison of gene expression between "releaser" and "nonreleaser" basophils. *J. Immunol.* 2007, 178, 4584-4594.
 299. Zhu H., Bilgin M., Bangham R., Hall D., Casamayor A., Bertone P., Lan N., Jansen R., Bidlingmaier S., Houfek T., Mitchell T., Miller P., Dean R.A., Gerstein M., Snyder M.: Global analysis of protein activities using proteome chips. *Science*. 2001, 293, 2101-2105.
 300. Żbikowska-Gotz M., Bartuzi Z.: Diagnostyka alergii pokarmowej. *Współczesna Alergologia info.* 2009, 4, 58-64.

8 STRESZCZENIE

Wydaje się, że nowoczesna diagnostyka wykorzystująca rekombinowane alergeny umożliwi dokładne określenie cząsteczki, na który dana osoba jest uczulona. Ma to istotne implikacje kliniczne, pozwalające na różnicowanie pomiędzy reakcją krzyżową, w której leczeniem z wyboru jest immunoterapia, a podwójnym uczuleniem, w którym zaleca się leczenie objawowe. Celem podjętych badań była próba różnicowania reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks za pomocą testów ImmunoCAP ISAC oraz aktywacji bazofilów. Cele szczegółowe obejmowały określenie przydatności diagnostycznej powyższych testów, porównanie ich wartości do standardowo stosowanych metod diagnostycznych, wykazanie najczęściej uczulających molekuł alergogennych mających zdolność wywoływania reakcji krzyżowych oraz ocenę zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej.

Badaniami objęto 100 osób powyżej 18 r.ż. (średnia wieku 36,6), w tym 72 kobiety i 28 mężczyzn. Badaną populację stanowiło 39 osób, które zgłaszały objawy po kontakcie z wyrobami lateksowymi (grupa A). Grupa kontrolna obejmowała 41 chorych leczonych z powodu chorób alergicznych, u których objawy pojawiały się bez związku z kontaktem z lateksem (grupa B) oraz 20 zdrowych ochotników (grupa C). Po przeprowadzeniu badania ankietowego wykonano punktowe testy skórne z alergenami lateksu, powszechnymi aeroalergenami (roztocza I, roztocza II, mieszanki traw, traw i zbóż, drzew, chwastów, zarodniki grzybów pleśniowych, pióra, sierść kota, sierść psa) oraz wybranymi alergenami pokarmowymi (banan, kiwi, awokado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, orzech laskowy, orzech włoski, orzech ziemny, jabłko). Kolejny etap badania polegał na wykonaniu oznaczeń sIgE z pełnym ekstraktem alergenów lateksu, wybranymi rekombinowanymi alergenami lateksu (rHev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11) oraz alergenami pokarmowymi, które mogą wywoływać reaktywność krzyżową (banan, kiwi, awokado, ziemniak, pomidor, seler, marchew, papryka, orzech laskowy, orzech włoski, orzech ziemny, jabłko). Badanie wykonano metodą ImmunoCAP (UniCAP-System, Phadia, Uppsala, Sweden). U badanych, u których stwierdzono pozytywne wyniki sIgE dla ww. alergenów (lateksu i pokarmowych) oraz u osób, u których nie uzyskano zgodności danych z wywiadu z SPT i sIgE, przeprowadzono test aktywacji bazofilów. W badaniu wykorzystano dwa rozcieńczenia ekstraktów alergenów – 1:10 i 1:1000. Ekspresję antygeny CD203c oceniano z wykorzystaniem cytometru przepływowego Cytomics FC500 za pomocą testu Allergenicity Kit. Kolejny etap badania obejmował wykonanie u wszystkich badanych, testu ImmunoCAP ISAC (Phadia Uppsala, Sveden). Do statystycznej analizy wyników opracowanej na podstawie komputerowej bazy danych wykorzystano test chi-kwadrat z po-

prawką Yatesa, test U-Manna Whitney'a oraz współczynnik korelacji. Moc diagnostyczną testów określano przy użyciu krzywych ROC. We wszystkich analizach wartość $p < 0,05$ przyjęto za statystycznie istotną.

Na podstawie badania podmiotowego wykazano, że 97% osób z grupy A zgłaszało objawy pokrzywki kontaktowej, natomiast nieżyty nosa i zapalenia spojówek po 21%, astmy 18%, zespołu atopowego wyprysku/zapalenia skóry 10%. Przebyte wstrząsy anafilaktycznego po kontakcie z wyrobami lateksowymi zgłaszało 8% badanych grupy A. W grupie B wstrząs anafilaktyczny wystąpił bez związku z kontaktem z wyrobami lateksowymi u 17% badanych. Objawy nadwrażliwości na pokarmy zgłaszało 49% chorych z grupy A i 56% z grupy B. W obu badanych grupach stwierdzono istotne różnice dotyczące częstości występowania chorób alergicznych a różnice te dotyczyły nieżyty nosa (test χ^2 , $p=0,0141$) i astmy (test χ^2 , $p=0,0034$). Pokarmami mogącymi wywoływać reaktywność krzyżową, wyzwalającymi objawy nadwrażliwości w grupie A były: banan 18%, kiwi 21%, awokado 13%, ziemniak 8%, pomidor 5%, seler 8%, marchew 3%, jabłko 18%, orzech włoski i orzech laskowy po 15%. W grupie B odpowiednio banan i awokado po 2%, kiwi 7%, ziemniak, marchew, papryka i orzech ziemny 5%, pomidor i jabłko 10%, seler 12%, orzech włoski 17% i orzech laskowy 20%. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami, dotyczących częstości zgłaszania objawów nietolerancji poszczególnych pokarmów (test χ^2 , $p < 0,05$). W badanej populacji stwierdzono istotną różnicę pomiędzy badanymi grupami, dotyczącą częstości występowania dodatnich SPT z alergenami lateksu w grupie A w odniesieniu do grupy B (test χ^2 , $p=0,0086$). Istotnych różnic nie wykazano w odniesieniu do alergenów pokarmowych (test χ^2 , $p < 0,05$). Czułość SPT z lateksem wyniosła 33 a swoistość 95%. Czułość SPT z pokarmami zawierała się w przedziale od 27 do 63% a swoistość od 83 do 97%. Oznaczenia tryptazy we krwi wykazały podwyższone stężenie u 5 badanych: 2 – z grupy A, 2 – z grupy B i 1 – z grupy C. U 4 osób przeprowadzono diagnostykę, która umożliwiła rozpoznanie mastocytozy układowej u 2 badanych. sIgE z alergenami lateksu oceniono pozytywnie w przypadku 7 chorych z grupy A i 5 z grupy B. sIgE z rHev b1 i rHev b 3 były dodatnie u jednego chorego z grupy B, rHev b 5 u jednego z grupy A i jednego z grupy B, rHev b 6.01 u 3 z grupy A i 1 z grupy B, rHev b 6.02 u 4 z grupy A i 1 z grupy B, rHev b 8 u jednego z grupy A i 4 z grupy B, rHev b 9 stwierdzono zaledwie u jednego chorego z grupy B i rHev b 11 u 1 jednego chorego z grupy A i 1 z grupy B. Czułość i swoistość sIgE dla alergenów lateksu oceniono na 18 i 92%. Czułość dla alergenów pokarmowych zawierała się w przedziale od 15 do 43%, a swoistość od 85 do 98%. W badanej populacji nie stwierdzono istotnych różnic między badanymi grupami, dotyczących częstości występowania dodatnich sIgE z alergenami lateksu i pokarmowymi (test χ^2 , $p < 0,05$). Jedyne w przypadku marchwi wykazano istotnie częstsze występowanie sIgE z tym alergenem w grupie B w odniesieniu do grupy A (test χ^2 , $p=0,0410$). Wyniki badania ISAC nie wykazały istotnych różnic między badanymi grupami, dotyczących

częstości występowania rekombinowanych alergenów lateksu oraz reagujących krzyżowo z lateksem (test χ^2 , $p < 0,05$). Porównując całą badaną populację (tzn. włączając do analizy grupę C), wykazano częstsze występowanie rHev b 6 w grupie osób zgłaszających objawy po kontakcie z wyrobami lateksowymi (test χ^2 , $p = 0,0424$). Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami, dotyczących częstości występowania rekombinowanych alergenów pochodzenia roślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem (test χ^2 , $p < 0,05$). Jedynie w przypadku rPhl p 5 wykazano istotnie częstsze występowanie tego alergenu w grupie B w odniesieniu do grupy A (test χ^2 , $p = 0,0343$). Porównując całą badaną populację (tzn. włączając do analizy grupę C), zależności tej nie wykazano. Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy badanymi grupami, dotyczących częstości występowania rekombinowanych alergenów pochodzenia nieroślinnego, dla których nie wykazano reaktywności krzyżowej z lateksem (test χ^2 , $p < 0,05$). Test aktywacji bazofilów z alergenami lateksu oceniono dodatnio w 21 przypadkach wykorzystując rozcieńczenie 1:10, oraz 19 dla rozcieńczenia 1:1000. Czułość i swoistość BAT (rozcieńczenie 1:10) dla alergenów lateksu oceniono na 56 i 71%, banana 50 i 83 %, kiwi 44 i 55%, awokado 50 i 64%, ziemniaka 50 i 75%, pomidora 33 i 69%, selera 75 i 75%, marchwi 50 i 77%, papryki 50 i 46%, orzecha włoskiego 44 i 55%, orzecha ziemnego 100 i 60%, orzecha laskowego 78 i 17%, jabłka 25 i 71%. Wartości te przy rozcieńczeniu 1:1000 przedstawiały się następująco: dla alergenów lateksu 50 i 71%, banana 50 i 83 %, kiwi 33 i 64%, awokado 50 i 71%, ziemniaka 50 i 83%, pomidora 66 i 77%, selera 50 i 92%, papryki 50 i 55%, orzecha włoskiego 33 i 55%, orzecha ziemnego 100 i 90%, orzecha laskowego 44 i 17% oraz jabłka 38 i 57%. Swoistość dla marchwi oceniono na 85%. Wykorzystując krzywą ROC obliczono efektywność diagnostyczną BAT. Jako wynik dodatni, przyjęto przypadki, w których wywiad potwierdził przynajmniej jednym z wcześniej wykonanych badań (SPT i/lub sIgE). Uzyskane wyniki wykazały 100% czułość w przypadku kiwi i ziemniaka w odniesieniu do rozcieńczenia 1:10, oraz ziemniaka przy rozcieńczeniu 1:1000. Odpowiednio najwyższą swoistość dla rozcieńczenia 1:10 uzyskano dla orzecha laskowego 89% oraz odpowiednio dla rozcieńczenia 1:1000, dla selera i ziemniaka po 86%. Zgodność wyników BAT i sIgE z alergenami lateksu dla rozcieńczenia 1:10 wyniosła 54% a dla rozcieńczenia 1:1000 odpowiednio 59%. Dla alergenów pokarmowych uzyskano najwyższą zgodność dla rozcieńczenia 1:10 dla orzecha ziemnego – 82% oraz dla rozcieńczenia 1:1000 dla kiwi – 75%. Przy wykorzystaniu rozcieńczenia 1:10 ekstraktu alergenów lateksu, współczynnik korelacji BAT i sIgE wyniósł 0,42, a dla rozcieńczenia 1:1000 – 0,21. Dla alergenów pokarmowych, przy wykorzystaniu rozcieńczenia 1:10, najwyższy współczynnik korelacji uzyskano w przypadku ziemniaka (0,65) i orzecha laskowego (0,60). Dla rozcieńczenia 1:1000 zależność taką stwierdzono w przypadku orzecha włoskiego (0,55) i papryki (0,47). Odpowiednio najniższe wartości współczynnika korelacji wykazano dla

banana i marchwi w przypadku rozcieńczeń 1:10 oraz banana, selera i orzecha ziemnego dla rozcieńczenia 1:1000.

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano wnioski odpowiadające na pytania zawarte w celach pracy. Wykazano, że ImmunoCAP ISAC stanowi uzupełnienie diagnostyki alergologicznej, jednakże w przypadku różnicowania reakcji krzyżowych towarzyszących alergii na lateks wykazuje ograniczone możliwości, w związku z niepełnym panelem alergenów. W związku z powyższym niezbędne wydaje się uzupełnienie testu ImmunoCAP ISAC o dodatkowe alergeny, które umożliwią określenie pełniejszego profilu uczulenia u badanych. Wskazane wydaje się wykonywanie testu ImmunoCAP ISAC w przypadku chorych, u których dostępnymi metodami diagnostycznymi nie udało się ustalić przyczyny występujących dolegliwości. Przeprowadzone badania pokazały, że test aktywacji bazofilów jest cennym narzędziem badawczym umożliwiającym zróżnicowanie reakcji krzyżowej od rzeczywistego uczulenia a co za tym idzie zastosowanie właściwego leczenia, eliminuje także możliwość popełnienia błędu diagnostycznego związanego z występowaniem wyników zarówno fałszywie dodatnich jak i ujemnych w czasie wykonywania SPT i oznaczania sIgE. Wymaga jednak dalszych badań w celu określenia standardów wykonywania tej metody w zależności od zastosowanego alergenu i proponowanego rozcieńczenia badanego ekstraktu. Zarówno ImmunoCAP ISAC jak i BAT powinny być zalecane u osób, u których ryzyko wystąpienia reakcji anafilaktycznej wyklucza możliwość wykonania SPT i próby prowokacyjnej. W badanej populacji nie wykazano istotnych różnic w częstości występowania molekuł alergogennych zarówno tych mających zdolność wywoływania reakcji krzyżowych z lateksem jak i tych, dla których takiej zależności dotychczas nie stwierdzono, nie wykazano także zależności pomiędzy stwierdzeniem obecności molekuł uczulających a przebiegiem reakcji anafilaktycznej.

9 SUMMARY

Modern diagnostics methods, which use recombinant allergens, enable to precisely determine the sensitization molecule. It is important for therapeutic decisions, which depend on diagnosis (specific immunotherapy in cross reaction and symptoms therapy in polyvalent sensitization). The aim of this study was to attempt to differentiate between cross reactions which accompany latex allergy, using ImmunoCAP ISAC and basophil activation tests. Detailed aims included determining the usefulness of this methods, comparing them with routine diagnostic methods, showing the most sensitizing allergen molecules which are able to bring about cross reactions and estimating the correlation between sensitization molecules and their influence on anaphylactic reaction.

The study group included 100 adults between 18 and 69 (mean age: 36.6), the female/male ratio was 72/28. This group was divided according to clinical characteristics into three subgroups. Group A consisted of 39 patients who had latex allergy symptoms, group B consisted of 41 allergic patients without symptoms after latex contact. Twenty healthy volunteers were included as control subjects (group C). The first step of the study was a questionnaire examination. Then the skin prick tests with extracts of latex, common aeroallergens (house dust mite, grasses, weeds, trees, moulds, feathers, cat, dog) and selected food allergens having cross-reactivity to NRL (banana, kiwi, avocado, potato, tomato, celery, carrot, paprika, chestnut, peanut, walnut and apple) were performed. During the next stage of the study specific IgE (sIgE) with whole latex extract, recombinant NRL allergens: rHev b 1, 3, 5, 6.01, 6.02, 8, 9, 11, and food having cross-reactivity to NRL (banana, kiwi, avocado, potato, tomato, celery, carrot, paprika, chestnut, peanut, walnut and apple) were measured by ImmunoCAP using a commercially available test (UniCAP-System, Phadia, Uppsala, Sweden). The patients who had showed positive sIgE with latex and food allergens mentioned above and those whose questionnaire data had not been in accordance with SPT and sIgE were put to the basophil activation test at two concentrations (1:10 and 1:1000) of the allergen extracts. Basophil activation was measured by the breakdown of antigen CD203c expression with Allergenicity Kit, using Cytomics FC 500 flow cytometer. Then the ImmunoCAP ISAC test was performed for all patients (Phadia Upsala, Sveden). Data were analyzed using the statistical program. The analysis included the usage of chi-squared test with Yate's correction, Mann and Whitney U test and correlation coefficient. Diagnostic effectiveness was determined using ROC curves. For all statistical data the significance level of p-value was assumed to be below 0.05.

The following symptoms were reported for patients from group A: contact urticaria 97%, rhinoconjunctivitis 21%, bronchial asthma 18%, contact dermatitis 10% and anaphylactic shock 8%; for group B: anaphylactic shock 17%. Food

intolerance symptoms were reported for 49% of the patients from group A and 56% from group B. In both groups significant differences concerning the frequency of rhinitis (test χ^2 test, $p=0.0141$) and asthma (test χ^2 , $p=0.0034$) were noted. The food causing cross-reactivity with NRL in group A included: banana 18%, kiwi 21%, avocado 13%, potato 8%, tomato 5%, celery 89%, carrot 3%, apple 18%, walnut and hazelnut 15%; in group B: banana and avocado 2%, kiwi 7%, potato, carrot, paprika and peanut 5%, tomato and apple 10%, celery 12%, walnut 17% and hazelnut 20%. No significant differences concerning the frequency of food intolerance symptoms were noted (χ^2 test, $p<0.05$). There was an important difference between the groups concerning the frequencies of positive SPT with latex allergens (χ^2 test, $p=0.0086$). No important difference was shown in the case of food allergens (test χ^2 , $p<0.05$). Sensitivity and specificity of SPT with latex extract were 33% and 95% respectively, in the case of food extracts the sensitivity was between 27 and 63% and the specificity between 83 and 97%. The tryptase determinations showed an increased level in 5 cases: 2 from group A, 2 from group B and 1 from group C. In 2 cases systemic mastocytosis was diagnosed. Specific IgE was positive against NRL in 7 patients from group A and 5 from group B. Specific IgE to rHev b1 and rHev b3 were found in the case of 1 patient from group B, to rHev b 5 – 1 from group A and 1 from group B, to rHev b 6.01 – 3 from group A and 1 from group B, to rHev b 6.02 – 4 from group A and 1 from group B, to rHev b 8 – 1 from group A and 4 from group B, to rHev b 9 – 1 from group B and to rHev b 11 – 1 from group A and 1 from group B. Finally, sensitivity and specificity of the specific IgE for NRL were 18 and 92% respectively. The sensitivity for food was between 15 to 43%, the specificity between 85 to 98%. In the examined population there were no significant differences between the groups concerning the frequencies of positive sIgE with latex and food allergens (χ^2 test, $p<0.05$). Only in the case of carrot the presence of sIgE with this allergen was considerably more frequent in group B than in group A (χ^2 test, $p=0.0410$). The results of ISAC examination did not show important differences between the groups concerning the frequencies of recombinated latex allergens and those having a cross reaction with latex (χ^2 test, $p<0.05$). After taking into account the whole population (i.e. including group C), it was shown that rHev b 6 occurred more often among those reporting symptoms after having contact with latex (χ^2 test, $p=0.0424$). There were no significant differences between the groups concerning the frequencies of plant origin recombinated allergens, which did not show a cross reaction with latex (χ^2 test, $p<0.05$). Only in the case of rPhl p 5 it was shown that this allergen occurred much more often in group B than in group A (χ^2 test, $p=0.0343$). Regarding the whole population (i.e. including group C) this dependence was not shown. There were no significant differences between the groups concerning the frequencies of non-plant origin recombinated allergens, which did not show a cross reaction with latex (χ^2 test, $p<0.05$). The BAT against the NRL extract using 1:10 dilution was positive in 21 cases and against NRL with 1:1000 dilution in 19 cases.

The BAT (1:10 dilution) sensitivity to NRL was 56% and the specificity was 71%, for banana it was 50 and 83% respectively, for kiwi – 44 and 55%, avocado – 50 and 64%, potato – 50 and 75%, tomato – 33 and 69%, celery – 75 and 75%, carrot – 50 and 77%, paprika – 50 and 46%, walnut – 44 and 55%, peanut – 100 and 60%, hazelnut – 78 and 17%, apple – 25 and 71%. In the case of 1:1000 dilution the BAT sensitivity to NRL was 50% and the specificity was 71%, for banana it was 50 and 83% respectively, for kiwi – 33 and 64%, avocado – 50 and 71%, potato – 50 and 83%, tomato – 66 and 77%, celery – 50 and 92%, paprika – 50 and 55%, walnut – 33 and 55%, peanut – 100 and 90%, hazelnut – 44 and 17%, apple – 38 and 57%. The specificity for carrot was 85%. Diagnostic effectiveness BAT was determined using ROC curve. Positive results were the cases with the history confirmed by at least one of previous examinations (SPT and/or sIgE). The BAT sensitivity was 100% to kiwi and potato in the case of 1:10 dilution and to potato in 1:1000 dilution. The specificity was 89% in the case of hazelnut (1:10 dilution) and 86% in the case of celery and potato (1:1000 dilution). The accordance between BAT and sIgE to latex was 54% (1:10) and 59% (1:1000) respectively. The maximum accordance to food allergens were in the case of peanut – 82% (1:10) and kiwi – 75% (1:1000). The BAT and sIgE correlation coefficient to latex was 0.42 (1:10) and 0,21 (1:1000) respectively. In the case of food allergens, the maximum correlation coefficient for 1:10 dilution was achieved for potato – 0.65 and hazelnut – 0.60; and for 1:1000 dilution it was for walnut – 0.55 and paprika – 0.47. The minimum correlation coefficient was shown for banana and carrot (1:10) and for banana, celery and peanut (1:1000).

The study allowed to formulate conclusions answering to the aims of this study. It has been shown that ImmunoCAP ISAC is a supplement for allergological diagnostics, but it demonstrates limited possibilities in the case of differentiation of cross reactions with latex (limited allergens list). That is why it is necessary to complete the ISAC test with extra allergens, which enable determining the complete allergy profile. ImmunoCAP ISAC should be done in the cases when the routine diagnostic methods do not manage to find out reasons for diseases. The examinations performed showed that basophil activation test is a valuable diagnostic method enabling differentiation between cross-reactions and true sensitizations. It also eliminates possibility of making a diagnostic mistake (false positive and false negative results during routine diagnostic methods – SPT and sIgE). However it is necessary to perform further investigations to determine the BAT standards (allergens extracts dilutions). Both ImmunoCAP ISAC and BAT should be performed for patients with severe anaphylactic reactions in anamnesis (when it is impossible to perform SPT and provocation tests). In this study no significant differences between prevalence frequencies of allergen molecules were shown. It concerns both molecules able to provoke cross reactivity with latex and those without this ability. Moreover there was no rela-

tion shown between the presence of allergen molecules and the process of anaphylactic reaction.

10 ZAŁĄCZNIKI

Załącznik 1. Alergeny lateksu oraz reagujące krzyżowo z lateksem wybrane alergeny pleśni, pokarmowe i pyłkowe

Annex 1. Latex allergens and mould, food and pollen allergens with cross reactivity with latex

Alergen Allergen MW- kDa	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
Hev b 2 (34)	Lateks <i>Para rubber tree (Latex)</i>	<i>Hevea brasiliensis</i>	Beta-1,3-glukanaza? <i>Beta-1,3-glukanase</i>
Hev b 5 (16)			Kwaśne białko lateksu <i>Latex acidic protein</i>
Hev b 6 (20)			Heveina <i>Hevein</i>
Hev b 7 (42)			Patatyna <i>Patatin-like protein</i>
Hev b 8 (15)			Profilina <i>Profilin</i>
Hev b 9 (51)			Enolaza <i>Enolase</i>
Hev b 10 (26)			Dysmutaza nadtlenkowa <i>Superoxide dismutase</i>
Hev b 11 (30)			I klasa chityna <i>Class I chitinase</i>
Hev b 12 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Alt a 6 (45)	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria alternata</i>	Enolaza <i>Enolase</i>
Asp f 6 (26,5)	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Mn dysmutaza nadtlenkowa <i>Mn superoxide dismutase</i>
Asp f 22 (46)			Enolaza <i>Enolase</i>
Cla h 6 (46)	<i>Cladosporium</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	Enolaza <i>Enolase</i>

Alergen Allergen MW- kDa	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
Cur l 2 (48)	<i>Curvularia</i>	<i>Curvularia lunata</i>	Enolaza <i>Enolase</i>
Pen c 22 (46)	<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	Enolaza <i>Enolase</i>
Mal s 11	<i>Malassezia</i>	<i>Malassezia sympodialis</i>	Dysmutaza nadtlenkowa <i>Superoxide dismutase</i>
Act d 9 (14)	Kiwi <i>Kiwi fruit</i>	<i>Actinidia deliciosa</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Act d 10 (10)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Act d 11 (17)			Główne białko lateksu <i>Major latex protein</i>
Act c 10 (10)	Kiwi <i>Gold kiwi fruit</i>	<i>Actinidia chinesis</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pers a 1 (32)	Awokado <i>Avocado</i>	<i>Persea ameri- cana</i>	I klasa chityna <i>Class I chitinase</i>
Mal d 3 (9)	Jabłko <i>Apple</i>	<i>Malus domes- tica</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Mal d 4 (?)			Profilina <i>Profilin</i>
Pru p 3 (10)	Brzoskwinia <i>Peach</i>	<i>Prunus persi- ca</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pru p 4 (14)			Profilina <i>Profilin</i>
Ana c 1 (15)	Ananas <i>Pineapple</i>	<i>Ananas com- osus</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Ana c 2 (?)			Bromelina <i>Bromelain</i>
Mus a 1 (15)	Banan <i>Banana</i>	<i>Musa acumi- nata</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Mus a 2 (33)			I klasa chityna <i>Class I chitinase</i>
Mus a 3 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>

Alergen Allergen MW- kDa	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
Mus a 5 (30)			Beta-1,3-glukanaza <i>Beta-1,3-glukanase</i>
Cuc m 2 (14)	Melon <i>Muskmelon</i>	<i>Cucumis melo</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cit l 3 (9,6)	Cytryna <i>Lemon</i>	<i>Citrus lemon</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Cit r 3 (9)	Mandarynka <i>Tangerine</i>	<i>Citrus reticu- lata</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Cit s 2 (14)	Pomarańcza <i>Orange</i>	<i>Citrus sinensis</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cit s 3 (9,46)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Fra a 3 (10)	Truskawka <i>Strawberry</i>	<i>Fragaria ananassa</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Fra a 4 (13)			Profilina <i>Profilin</i>
Pru ar 3 (9)	Morela <i>Apricot</i>	<i>Prunus Arme- niaca</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pru av 3 (10)	Czereśnia <i>Sweet cherry</i>	<i>Prunus avium</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pru av 4 (15)			Profilina <i>Profilin</i>
Pyr c 3 (N.A.)	Gruszka <i>Pear</i>	<i>Pyrus commu- nis</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pyr c 4 (14)			Profilina <i>Profilin</i>
Rub i 3 (11)	Malina <i>Red raspberry</i>	<i>Rubus idaeus</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Vit v 1 (9)	Winogrono <i>Grape</i>	<i>Vitis vinifera</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pru d 3 (9)	Śliwka <i>Plum</i>	<i>Prunus do- mestica</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Ara h 5 (15)	Orzech ziemny <i>Peanut</i>	<i>Arachis hypo- gaea</i>	Profilina <i>Profilin</i>

Alergen Allergen MW- kDa	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
Ara h 9 (9,8)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Cor a 2 (14)	Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	<i>Corylus avellana</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cor a 8 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Jug r 3 (9)	Orzech włoski <i>Walnut</i>	<i>Juglans regia</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pru du 3 (9)	Migdał <i>Almond</i>	<i>Prunus dulcis</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pru du 4 (14)			Profilina <i>Profilin</i>
Cas s 5 (?)	Kasztan jadalny <i>Chestnut</i>	<i>Castanea sativa</i>	I klasa chityna <i>Class I chitinase</i>
Cas s 8 (12-13)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Api g 2 (9)	Seler <i>Celery</i>	<i>Apium graveolens</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Api g 4 (14)			Profilina <i>Profilin</i>
Dau c 4 (14)	Marchew <i>Carrot</i>	<i>Daucus carota</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cap a 2 (14)	Papryka <i>Paprika</i>	<i>Capsicum annum</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Lyc e 1 (14)	Pomidor <i>Tomato</i>	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Lyc e 3 (6)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Sola t 1 (43)	Ziemniak <i>Potato</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	Patatyna <i>Patatin-like protein</i>
Lac s 1 (9)	Salata <i>Lettuce</i>	<i>Lactuca sativa</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Bra o 3 (9)	Kapusta <i>Cabbage</i>	<i>Brassica oleracea</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>

Alergen Allergen MW- kDa	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
Bra r 2 (25)	Kapusta polna <i>Turnip</i>	<i>Brassica rapa</i>	Homologia z heveiną <i>Prohevein homologue</i>
Beta v 2 (14)	Burak <i>Sugar beet</i>	<i>Beta vulgaris</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Pha v 3 (8,8-9)	Fasola <i>Green bean</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Aspa o 1 (9)	Szparag <i>Asparagus</i>	<i>Asparagus officinalis</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Zea m 12 (14)	Kukurydza <i>Maize</i>	<i>Zea mays</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Zea m 14 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Len c 3 (9)	Soczewica <i>Lentil</i>	<i>Lens culinaris</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Gly m 3 (14)	Soja <i>Soybean</i>	<i>Glycine max</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Ory s 12 (14)	Ryż <i>Rice</i>	<i>Oryza sativa</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Hor v 12 (14)	Jęczmień <i>Barley</i>	<i>Hordeum vulgare</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Tri a 12 (14)	Pszenica <i>Wheat</i>	<i>Triticum aestivum</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Tri a 14 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Hel a 2 (14,7)	Słonecznik <i>Sunflower</i>	<i>Helianthus annuus</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Hel a 3 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Sin a 3 (12,3)	Gorzycza biała <i>Yellow mustard</i>	<i>Sinapsis alba</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Sin a 4 (13/14)			Profilina <i>Profilin</i>
Cro s 2 (14)	Szafran <i>Saffron crocus</i>	<i>Crocus sativus</i>	Profilina <i>Profilin</i>

Alergen <i>Allergen</i> MW- kDa	Źródło alergenu <i>Allergen source</i>	Gatunek <i>Species</i>	Nazwa biochemiczna <i>Biochemical name</i>
Cyn d 12 (14,5)	Trawa bermudzka <i>Bermuda grass</i>	<i>Cynodon dactylon</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cyn d 22w (?)			Enolaza <i>Enolase</i>
Phl p 12 (14)	Tymotka <i>Timothy</i>	<i>Phleum pratense</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Amb a 6 (10)	Ambrozja <i>Short ragweed</i>	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Amb a 8 (14)			Profilina <i>Profilin</i>
Art v 3 (12)	Bylica pospolita <i>Mugwort</i>	<i>Artemisia vulgaris</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Art v 4 (14)			Profilina <i>Profilin</i>
Mer a 1 (14)	Szczyr roczny <i>Annual mercury</i>	<i>Mercurialis annua</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Par j 1 (15)	Parietaria <i>Pellitory-of-the-Wall</i>	<i>Parietaria judaica</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Par j 2 (10-14)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Par j 3 (?)			Profilina <i>Profilin</i>
Par o 1 (15)	Parietaria <i>Pellitory</i>	<i>Parietaria officinalis</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Ama r 2 (14)	Szarłat szorstki <i>Redroot pigweed</i>	<i>Amaranthus retroflexus</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Che a 2 (14)	Komosa biała <i>Chenopodium album</i>	<i>Pigweed</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Sal k 4 (14,4)	Solanka kolczysta <i>Russian thistle</i>	<i>Salsola kali</i>	Profilina <i>Profilin</i>

Alergen Allergen MW- kDa	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
Pho d 2 (14)	Daktylowiec <i>Date palm</i>	<i>Phoenix dactylifera</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Bet v 2 (15)	Brzoza <i>Birch</i>	<i>Betula verucosa</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cor a 2 (14)	Leszczyna <i>Hazel</i>	<i>Corylus avellana</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Cor a 8 (9)			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Ole e 2 (15)	Oliwka <i>Olive</i>	<i>Olea europea</i>	Profilina <i>Profilin</i>
Ole e 9 (46)			Beta-1,3-glukanaza <i>Beta-1,3-glukanase</i>
Pla a 3 (10)	Platan <i>Plane tree</i>	<i>Platanus acerifolia</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
Pla or 3 (11)	Platan orientalny <i>Oriental plane</i>	<i>Platanus orientalis</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>

Załącznik 2. ImmunoCAP ISAC – wykaz alergenów
 Annex 2. ImmunoCAP ISAC – allergens list

Alergen Allergen MW [kDa]	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
nCyn d 1	Trawa bermudzka <i>Bermuda grass</i>	<i>Cynodon dactylon</i>	Beta-ekspansyna <i>Beta-expansin</i>
rPhl p 1	Tymotka <i>Timothy</i>	<i>Phleum pratense</i>	Beta-ekspansyna <i>Beta-expansin</i>
rPhl p 2			2 grupa alergenów traw <i>Grass group II</i>
rPhl p 4			Enzym wiążący berberynę <i>Berberin binding enzyme</i>
rPhl p 5			5 grupa alergenów traw <i>Grass group V</i>
rPhl p 6			5 grupa alergenów traw <i>Grass group V</i>
rPhl p 7			Polickalcyna <i>Polcalcin</i>
rPhl p 11			Inhibitor tripsyny <i>Trypsine inhibitor</i>
rPhl p 12			Profilina <i>Profilin</i>
rBet v 1			Brzoza <i>Birch</i>
rBet v 2	Profilina <i>Profilin</i>		
rBet v 4	Polickalcyna <i>Polcalcin</i>		
rAln g 1	Olcha <i>Alder</i>	<i>Alnus glutinosa</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
rCor a 1.0101	Leszczyna <i>Hazel</i>	<i>Corylus avellana</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>

Alergen <i>Allergen</i> MW [kDa]	Źródło alergenu <i>Allergen source</i>	Gatunek <i>Species</i>	Nazwa biochemiczna <i>Biochemical name</i>
nCry j 1	Cedr japoński <i>Sugi</i>	<i>Cryptomeria japonica</i>	Liaza pektynowa <i>Pectate lyase</i>
nCup a 1	Cyprys <i>Cypress</i>	<i>Cupressus arizonica</i>	Liaza pektynowa <i>Pectate lyase</i>
nOle e 1	Oliwka (drzewo) <i>Olive</i>	<i>Olea europaea</i>	Inhibitor trypsyny Trypsine inhibitor
nOle e 2			Profilina <i>Profilin</i>
rPla a 1	Platan <i>London plane tree</i>	<i>Platanus acerifolia</i>	Inhibitor inwertazy <i>Invertase inhibitor</i>
nPla a 2			Poligalakturonaza <i>Polygalacturonase</i>
nAmb a 1	Ambrozja <i>Short ragweed</i>	<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Liaza pektynowa <i>Pectate lyase</i>
nArt v 1	Bylica <i>Mugwort</i>	<i>Artemisia vulgaris</i>	Defensyna <i>Defensin</i>
nArt v 3			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
rPar j 2	Parietaria <i>Pellitory-of-the-Wall</i>	<i>Parietaria judaica</i>	LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
nSal k 1	Solanka kolczysta <i>Russian thistle</i>	<i>Salsola kali</i>	Metylesteraza pektynowa <i>Pectin methylesterase</i>
rMer a 1	Szczyr roczny <i>Annual mercury</i>	<i>Mercurialis annua</i>	Profilina <i>Profilin</i>
nAct d 1	Kiwi <i>Kiwi fruit</i>	<i>Actinidia deliciosa</i>	Proteaza cysteiny <i>Cysteine protease</i>
nAct d 2			Białko taumatynowe <i>Thaumatatin-like protein</i>
nAct d 5			Kiwellina <i>Kiwellin</i>
nAct d 8			PR 10 <i>Pathogenesis-related</i>

Alergen Allergen MW [kDa]	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
			<i>protein-10</i>
rApi g 1	Seler <i>Celery</i>	<i>Apium graveolens</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
rDau c 1	Marchew <i>Carrot</i>	<i>Daucus carota</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
rMal d 1	Jabłko <i>Apple</i>	<i>Malus domestica</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
rPru p 1	Brzoskwina <i>Peach</i>	<i>Prunus persica</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
nPru p 3			LTP Non-specific lipid transfer protein 1
rAna o 2	Orzech nerkowca <i>Cashew</i>	<i>Anacardium occiden- tale</i>	Białko zapasowe, 2S albu- mina Storage protein, legumin protein
nAra h 1	Orzech ziemny <i>Peanut</i>	<i>Arachis hypogaea</i>	Białko zapasowe, 7S globu- lina, vicilina Storage protein, cupin , vicillin, 7S globulin
nAra h 2			Białko zapasowe, 2S albu- mina, conglutynina Storage protein, 2S albumin, conglutin
nAra h 3			Białko zapasowe, 11S glo- bulina, glycinina, legumina Storage protein, 11S globu- lin, cupin legumin, glycinin
rAra h 8			PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>

Alergen Allergen MW [kDa]	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
rBer e 1	Orzech brazylijski <i>Brazil nut</i>	<i>Bertholletia excelsa</i>	Białko zapasowe, 2S albumina <i>Storage protein, 2S albumin</i>
rCor a 1.0401	Orzech laskowy <i>Hazelnut</i>	<i>Corylus avellana</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
rCor a 8			LTP <i>Non-specific lipid transfer protein 1</i>
nCor a 9			Białko zapasowe, 11S globulina, legumina <i>Storage protein, 11S globulin, legumin</i>
rGly m 4	Soja <i>Soybean</i>	<i>Glycine max</i>	PR 10 <i>Pathogenesis-related protein-10</i>
nGly m 5			Białko zapasowe, 7S globulina, beta-conglycynina <i>Storage protein, 7S globulin, beta-conglycinin</i>
nGly m 6			Białko zapasowe, 11S globulina glicynina <i>Storage protein, 11S globulin, glicinin</i>
nSes i 1	Sezam ziarno <i>Sesame</i>	<i>Sesamum indicum</i>	Białko zapasowe, 2S albumina <i>Storage protein, 2S albumin</i>
nTri a 18	Pszenica <i>Wheat</i>	<i>Triticum aestivum</i>	Agglutyninian izoleucyny <i>Agglutinin isolectin</i>
nTri a Gliadin			Nieoczyszczona gliadyna <i>Crude gliadin</i>
rTri a 19.0101			Omega-5 gliadyna, prolamina <i>Omega-5 gliadin, seed storage protein</i>
nTri a aA_TI			Alfa amylaza/inhibitor trypsyny

Alergen Allergen MW [kDa]	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
			<i>Alfa-amylase/trypsin inhibitor</i>
rHev b 1	Lateks <i>Para rubber tree</i> (<i>Latex</i>)	<i>Hevea brasiliensis</i>	REF <i>Rubber elongation factor</i>
rHev b 3			Małe cząsteczki gumy <i>Small rubber particle protein</i>
rHev b 5			Kwaśne białko lateksu <i>Acidic protein latex</i>
rHev b 6			Heveina <i>Hevein</i>
rHev b 8			Profilina <i>Profilin</i>
nAna c 2	Ananas <i>Pineapple</i>	<i>Ananas comosus</i>	Bromelina <i>Bromelain</i>
nBos d 4	Bydło domowe <i>Domestic cattle</i>	<i>Bos domesticus</i>	Alfa laktoalbumina <i>Alpha-lactoglobulin</i>
nBos d 5			Beta laktoalbumina <i>Beta-lactoglobulin</i>
nBos d 6			Surowicza albumina <i>Serum albumin</i>
nBos d 8			Kazeina <i>Caseins</i>
nBos d lactoferin			Laktoferyna <i>Lactoferrin</i>
nGal d 1	Kurczak <i>Chicken</i> (białko jaja kurzego)	<i>Gallus domesticus</i>	Owomukoid <i>Ovomucoid</i>
nGal d 2			Owoalbumina <i>Ovalbumin</i>
nGal d 3			Owotransferyna <i>Ovotransferin</i>
nGal d 5	Kurczak <i>Chicken</i> (żółtko jaja kurzego)		Liwetyna, surowicza albumina <i>Livetyna, serum albumin</i>

Alergen Allergen MW [kDa]	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
nCyp c 1	Karp <i>Carp</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Parvalbumina <i>Parvalbumin</i>
rGad c 1	Dorsz <i>Baltic cod</i>	<i>Gadus callarias</i>	Parvalbumina <i>Parvalbumin</i>
rPen a 1	Krewetka <i>Shrimp</i>	<i>Penaeus aztecus</i>	Tropomiozyna <i>Tropomyosin</i>
nPen i 1		<i>Penaeus indicus</i>	Tropomiozyna <i>Tropomyosin</i>
nPen m 1	Gigantyczne krewetki tygrysie <i>Black tiger shrimp</i>	<i>Penaeus monodon</i>	Tropomiozyna <i>Tropomyosin</i>
nDer f 1	Roztocze kurzu domowego (amerykańskie) <i>American house dust mite</i>	<i>Dermatophagoides farinae</i>	Proteaza cysteiny <i>Cysteine protease</i>
rDer f 2			Rodzina NPC2 <i>NPC2 family</i>
nDer p 1	Roztocze kurzu domowego (europejskie) <i>European house dust mite</i>	<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	Proteaza cysteiny <i>Cysteine protease</i>
nDer p 2			Rodzina NPC2 <i>NPC2 family</i>
rDer p 10			Tropomiozyna <i>Tropomyosin</i>
rEur m 2	Roztocze kurzu domowego <i>House dust mite</i>	<i>Euroglyphus maynei</i>	Rodzina NPC2 <i>NPC2 family</i>
rCan f 1	Pies <i>Dog</i>	<i>Canis familiaris</i>	Lipocalina <i>Lipocalin</i>
rCan f 2			Lipocalina <i>Lipocalin</i>
nCan f 3			Surowicza albumina <i>Serum albumin</i>
nEqu c 3	Koń <i>Domestic horse</i>	<i>Equus caballus</i>	Surowicza albumina <i>Serum albumin</i>
rFel d 1	Kot	<i>Felis domesticus</i>	Uteroglobulina

Alergen Allergen MW [kDa]	Źródło alergenu Allergen source	Gatunek Species	Nazwa biochemiczna Biochemical name
	<i>Cat</i>		<i>Uteroglobulin</i>
nFel d 2			Albumina <i>Albumin</i>
rFel d 4			Lipocalina <i>Lipocalin</i>
nMus m 1	<i>Mysz Mouse</i>	<i>Mus musculus</i>	Lipocalina <i>Lipocalin</i>
rAlt a 1	<i>Alternaria Alternaria rot fungus</i>	<i>Alternaria alternata</i>	Kwaśna glikoproteina <i>Acidic glycoprotein</i>
rAlt a 6			Enolaza <i>Enolase</i>
rAsp f 1	<i>Aspergillus Aspergillus</i>	<i>Aspergillus fumigates</i>	Rodzina mitogilin <i>Mitogillin family</i>
rAsp f 2			Białka wiążące fibrinogen <i>Fibrinogen binding protein</i>
rAsp f 3			Białko szoku termicznego <i>Thermal shock protein</i>
rAsp f 4			Nieznane <i>Unknown</i>
rAsp f 6			Mn dysmutaza nadtlenkowa <i>Mn superoxide dismutase</i>
rCla h 8	<i>Cladosporium Cladosporium</i>	<i>Cladosporium herbarum</i>	Dehydrogenaza mannitolu <i>Mannitol dehydrogenase</i>
nApi m 1	<i>Pszczoła miodna Honey bee</i>	<i>Apis mellifera</i>	Fosfolipaza A2 <i>Phospholipase A2</i>
nApi m 4			Melityna <i>Melittin</i>
rBla g 1	<i>Karaluch German cock- roach</i>	<i>Blattella germanica</i>	1 grupa alergenów kara- luchów <i>1 Group cockroach aller- gens</i>
rBla g 2			Proteaza asparaginowa <i>Aspartic protease</i>
rBla g 4			Calycina

Alergen <i>Allergen</i> MW [kDa]	Źródło alergenu <i>Allergen source</i>	Gatunek <i>Species</i>	Nazwa biochemiczna <i>Biochemical name</i>
			<i>Calycin</i>
rBla g 5			S-transferaza glutationu <i>Glutathione S-transferase</i>
nBla g 7			Tropomiozyna <i>Tropomyosin</i>
rAni s 1	Nicienie <i>Anisakis</i>	<i>Anisakis simplex</i>	Inhibitor proteazy seryny <i>Protease serine inhibitor</i>
rAni s 3			Tropomiozyna <i>Tropomyosin</i>

Załącznik 3. Udział standardowych oraz rekombinowanych alergenów lateksu w różnicowaniu reakcji krzyżowych z pokarmami

Annex 3. Standard and recombinant latex allergens participation in cross-reacting differentiation with food

Pacjent Patient	Wywiad History			SPT			ImmunoCAP						ISAC		BAT	
	L	F	P	L	F	P	L _{k82} *	rHev b 6.01	rHev b 6.02	rHev b 8	rHev b 11	F	rHev b 6	nArt v 3**	L	F
<i>Banan / Banana</i>																
1-RW	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6-KK	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33-AW	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43-MM	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
52-TC	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
58-ES	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
59-JNG	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Kiwi / Kiwi fruit</i>																
1-RW	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6-KK	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16-HM	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
33-AW	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41-GS	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
43-MM	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
52-TC	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
58-ES	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
59-JNG	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
88-EL	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Awokado / Avocado</i>																
6-KK	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33-AW	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43-MM	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+

Pacjent <i>Patient</i>	Wywiad <i>History</i>			SPT			ImmunoCAP						ISAC		BAT	
	L	F	P	L	F	P	L.k82*	rHev b 6.01	rHev b 6.02	rHev b 8	rHev b 11	F	rHev b 6	nArt v 3**	L	F
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
52-TC	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
59-JNG	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ziemniak / Potato</i>																
41-GS	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
43-MM	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
58-ES	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
78-BM	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Pomidor / Tomato</i>																
1-RW	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
16-HM	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
47-IZM	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
49-ESM	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
67-LK	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Marchew / Carrot</i>																
8-MC	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
47-IZM	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Papryka / Paprika</i>																
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
50-WJ	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Seler / Celery</i>																
40-DK	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	X	X
43-MM	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
47-IZM	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
58-ES	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+

Pacjent <i>Patient</i>	Wywiad <i>History</i>			SPT			ImmunoCAP						ISAC		BAT	
	L	F	P	L	F	P	L k82*	rHev b 6.01	rHev b 6.02	rHev b 8	rHev b 11	F	rHev b 6	nArt v 3**	L	F
65-TK	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
75-ML	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
96-MH	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Orzech ziemny / Peanut</i>																
44-RJ	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
95-MS	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Orzech laskowy / Hazelnut</i>																
40-DK	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
41-GS	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+
43-MM	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
45-MR	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	X	X
48-TM	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	X	X
53-TH	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58-ES	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
65-TK	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+
66-JR	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
72-MN	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
87-AT	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
91-MB	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
95-MS	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Orzech włoski / Walnut</i>																
40-DK	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
41-GS	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
43-MM	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
45-MR	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
53-TH	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58-ES	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+

Pacjent <i>Patient</i>	Wywiad <i>History</i>			SPT			ImmunoCAP						ISAC		BAT	
	L	F	P	L	F	P	L k82*	rHev b 6.01	rHev b 6.02	rHev b 8	rHev b 11	F	rHev b 6	nArt v 3**	L	F
65-TK	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
66-JR	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
72-MN	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
87-AT	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
91-MB	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
95-MS	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
<i>Jabłko / Apple</i>																
6-KK	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33-AW	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40-DK	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	X	X
43-MM	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
44-RJ	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
49-ESM	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
52-TC	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
53-TH	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59-JNG	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78-BM	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X
81-AR	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	X	X

X badania nie wykonywano / *assay not performed*

L Lateks / *Latex*

F Pokarm / *Food*

P Pyłki / *Pollen*