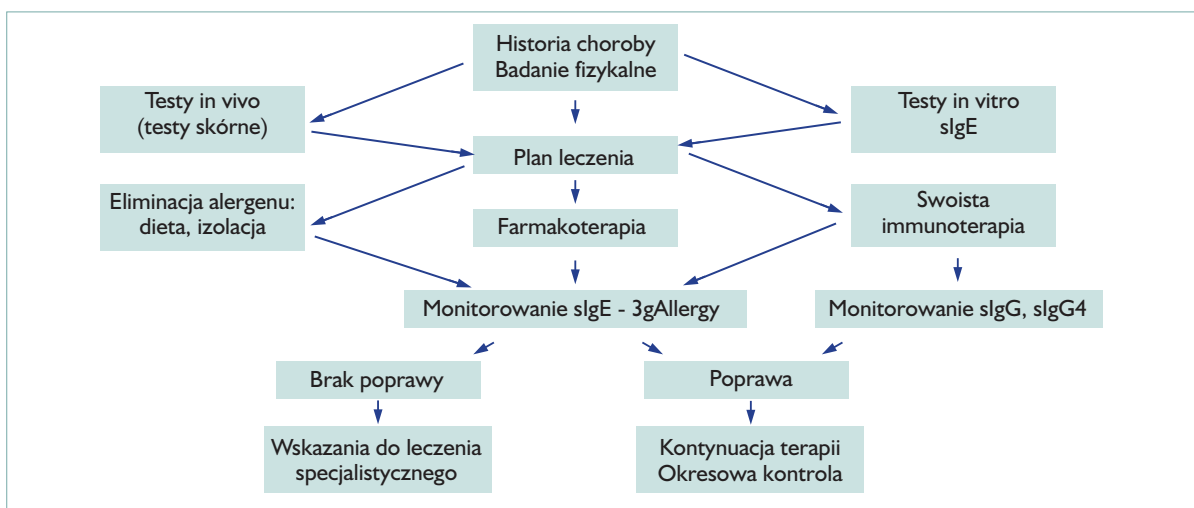


Oznaczenia alergenowo-specyficznej IgE w diagnostyce alergii zależnej od IgE

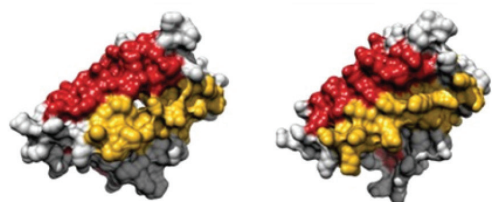
Pojawienie się reakcji alergicznej typu I, bez względu na rodzaj objawów, jest ściśle skorelowane ze stężeniem w krążeniu specyficznej dla alergenu IgE (sIgE). Ilościowe oznaczenie in vitro sIgE znalazło dzięki temu zastosowanie w diagnostyce, a ostatnio również w prognozowaniu, zależnych od IgE chorób alergicznych (atopii). W diagnostycznych testach in vivo, IgE-zależna reakcja, również bez względu na objawy i przebieg, korelowana jest z reakcją indukowaną w pobliżu miejsca kontaktu z alergenem diagnostycznym, podanym na skórę, uszkodzoną skórę, śródskórnice itd., przy czym w reakcji uczestniczą cząsteczki sIgE związane z powierzchnią miejscowych mastocytów. Oznaczenie sIgE w surowicy krwi żyłnej, wraz z testami skórnymi i wywiadem (historią choroby), wchodzi w skład kanonu ambulatoryjnej diagnostyki chorób alergicznych i atopowych, a pomiar sIgE in vitro może być stosowany równoległe z testami skórnymi lub stanowi ich alternatywę. **Badania in vitro są szczególnie przydatne u dzieci i w diagnostyce alergii prowadzonej bez zaplecza ambulatoryjnego.**



Paradygmat postępowania w chorobach alergicznych obejmujący diagnostykę oraz monitorowanie leczenia i profilaktyki.
(Nie uwzględniono metod wyskospecjalistycznych)

Pomiar stężenia sIgE posiada czułość i swoistość diagnostyczną co najmniej porównywalną z testami skórnymi, choć testy skórne wykazują niekiedy rodzaj „nadczułości”, dając wyniki dodatnie w przypadku alergenów zupełnie obojętnych dla badanego. Poza tym wymagają przygotowania, jeśli pacjent jest w trakcie leczenia antyhistaminowego. Niezgodności pomiędzy testami in vitro i in vivo, nie powinny zaskakiwać, gdyż oba testy mimo, że odzwierciedlają mechanizm sIgE-zależny, dotyczą różnych jego aspektów. Dodatnia reakcja bąblowa-rumieniowa testu skórnego dowodzi obecności sIgE na komórkach tucznych w skórze, reakcja in vitro - obecności sIgE w obwodzie, w obu przypadkach niezależnie od charakteru i objawów diagnozowanej alergii. Doskonała czułość analityczna najlepszych testów in vitro (0,10 kU/l), powoduje, że prócz diagnostycznego, posiadają również walor prognostyczny.

W pomiarach sIgE in vitro wykorzystywane są niekiedy alergeny cząsteczkowe (molekularne): rekombinantowe (r) lub wysoko oczyszczone biochemicznie (n). Są immunogennymi niewielkimi cząsteczkami, spotykanymi w alergenach natywnych - ekstraktach antygenowych - często o różnej formie i odległym pochodzeniu (pyłek-miąższ owocu). Funkcjonalnie są epitopami molekularnymi rozpoznawanymi przez sIgE, niekiedy komponentami rozstrzygającymi diagnostycznie, CRD (ang. component resolved diagnostics). Zastosowanie alergenów molekularnych umożliwia ustalenie



Bet v 1

Mal d 1

reaktywności krzyżowej pomiędzy alergenami, które mimo wspomnianych różnic działają współuczulająco. Identyfikacja u osoby uczulonej pierwotnie na pyłek brzozy IgE specyficznej dla głównego alergenu pyłku: cząsteczki Bet v1, sugeruje ryzyko rozwinęcia się u takiej osoby zespołu alergii jamy ustnej - OAS (ang. oral allergy syndrome), wtórnych, miejscowych objawów w okolicy ust i jamy ustnej, po zjedzeniu jabłka (a także innych owoców, orzechów i jarzyn). Przyczyną jest obecność w miększu jabłka silnie immunogennej cząsteczki Mal d 1 o dużej homologii sekwencji z cząsteczką Bet v1. Równocześnie jednak możliwe staje się zastosowanie immunoterapii swoistej wyłącznie dla cząsteczki Bet v1 i jej kontrola za pomocą pomiarów stężenia sIgG4.

Podobieństwo cząsteczek Bet v 1 pyłku brzozy i Mal d 1 jabłka, przyczyna OAS.

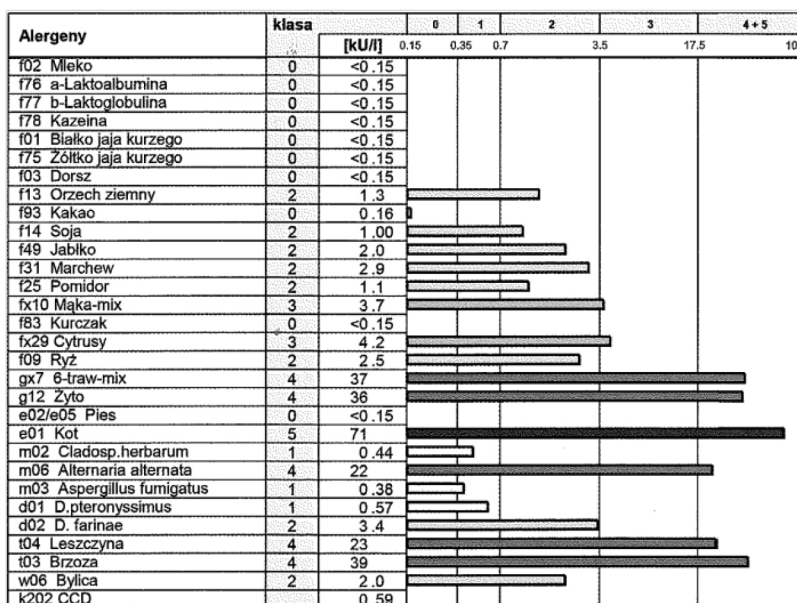
Wysoka czystość alergenów molekularnych eliminuje wpływ na wynik testu pochodzenia materiału wyjściowego, stosowanego do produkcji natywnych alergenów diagnostycznych. W przypadku alergenów roślinnych i jadu owadów, reaktywność krzyżowa sIgE może wiązać się ze wspólnymi dla nich, egzogennymi resztami cukrowymi CCD (ang. cross-reactive carbohydrate determinants), nieobecnymi w endogennych glikoproteinach człowieka. Przeciwciała IgE anti-CCD wykazują małe powinowactwo do receptorów Fc immunoglobuliny, a same CCD, jako struktury monowalenne, nie indukują reakcji alergicznej in vivo, jednakże mogą zawyżać wynik oznaczenia poliwalentnej sIgE in vitro. W momencie, gdy panel badanych alergenów uwzględni CCD jako oddzielną pozycję, możliwe jest określenie udziału CCD w reaktywności poszczególnych sIgE. sIgE dla CCD stwierdzono u 20% uczulonych na pyłek pojedynczych traw (w przypadku uczulenia na pyłek wielu gatunków traw procent ten rośnie nawet do 70).

Niepodważalnym atutem oznaczeń sIgE in vitro jest całkowite bezpieczeństwo i dostępność w rutynowych laboratoriach diagnostycznych. Nie wymagają ponadto odstawienia preparatów antyhistaminowych i leków przeciwzapalnych w okresie poprzedzającym badanie. U dzieci za oznaczeniem sIgE in vitro przemawiają: **krótkotrwały stres** spowodowany pobraniem niewielkiej ilości krwi żyłnej, **kontrastujący z długotrwałym dyskomfortem towarzyszącym testowi skórnemu**: nanoszeniu alergenu na skórę, skaryfikacji skóry, oczekiwaniu na wynik. Badania in vitro praktycznie nie ograniczają liczby sIgE oznaczanych równocześnie. Zlecenie oznaczeń w odpowiednio dobranych panelach liczących 10, 20 lub więcej alergenów ułatwia diagnozę w przypadku, gdy uzyskanie satysfakcjonującego wywiadu jest niemożliwe. Oznaczeniu sIgE dla szerokiego panelu alergenów może mieć charakter badania przesiewowego, potwierdzanego oznaczeniami dla alergenów pojedynczych. U danej osoby, pomiary sIgE wykonywane różnymi systemami analitycznymi in vitro mogą się różnić, a akceptowalna różnica wynosi jedną klasę RAST. Różnice wynikają z konfiguracji testu oraz składu i właściwości fizycznych alergenów diagnostycznych. W panelach typu dot-blot alergeny w postaci prążków wiązane są z podłożem, co wpływa na ich trójwymiarową strukturę i kinetykę wiązania IgE, obniżając czułość metody. W systemie immunochemicznym Immulite, czułość oznaczeń jest wyższa, gdyż alergeny i przeciwciała łączą się w fazie ciekłej z zachowaniem naturalnej struktury trójwymiarowej obu elementów. Metoda ta ograniczona jest jednak do oznaczeń pojedynczych alergenów i wąskich paneli.

Mimo standaryzacji diagnostycznych alergenów natywnych (ekstraktów antygenowych) wskazane jest, by preparaty antygenowe produkowane były z materiału pochodzącego z możliwie nieodległego regionu, dla minimalizacji różnic w tzw. antygenach małych, mogących różnić alergen diagnostyczny od alergenu naturalnie uczulającego.

Oferta alergologiczna sieci DIAGNOSTYKA obejmuje oznaczenia sIgE w kilku systemach analitycznych, które można podzielić na metody przesiewowe, potwierdzeniowe i weryfikacyjne.

Panele liczące 10 lub więcej alergenów oparte na zasadzie dot-blotu mają charakter badań przesiewowych. Wskaźnikiem reakcji jest wysycenie zabarwienia uzyskanego w metodzie immunoenzymatycznej. Alergeny (lub ich składniki) i standardy dla krzywej kalibracyjnej naniesione są na pasek nitrocelulozowy. Wyniki uzyskane dla badanej próbki odnoszone są do własnej krzywej kalibracyjnej, uzyskanej w identycznych warunkach. Wynik wyliczony jest komputerowo na podstawie odczytu skanera. Zakres liniowości testów plasuje się pomiędzy 0,15/0,35 (w zależności od systemu) a 100 kU/l. Wynik ilościowy (w kU/l), oddzielny dla każdego alergenu, przedstawiany jest dodatkowo graficznie, przypisywany do klasy RAST i opatrzoney zwięzłym komentarzem klinicznym.

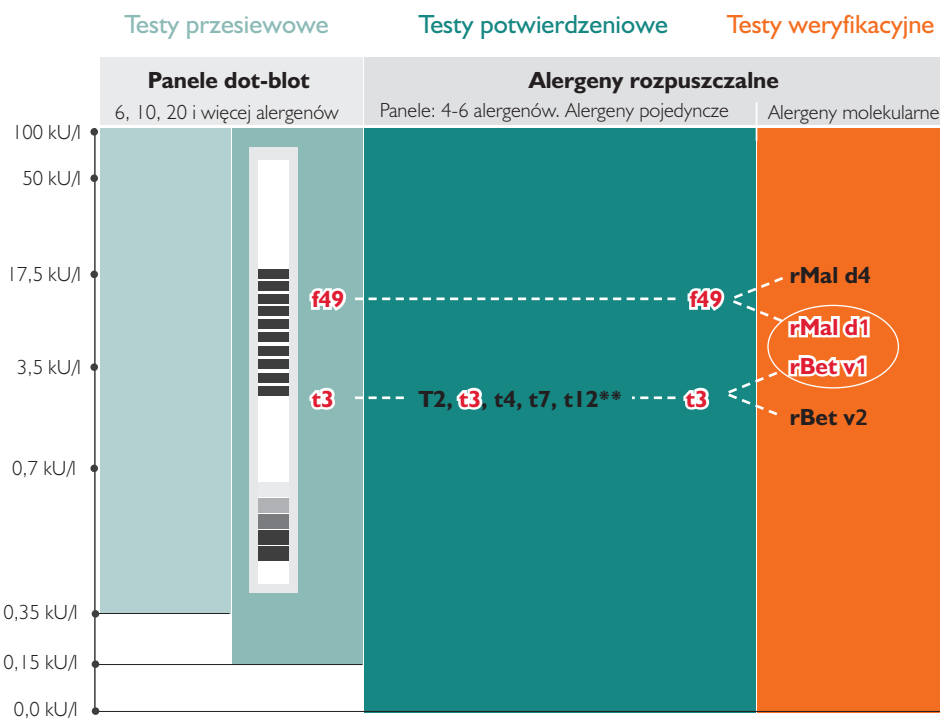


klasa	Stężenie [kU/l]	Omówienie	klasa	Stężenie [kU/l]	Omówienie
0	<0.35	Brak wykrywalnych przeciwciał.	4	17.5 - <50	Wysokie stężenie przeciwciał.
1	0.35 - <0.7	Bardzo niskie stężenie przeciwciał.	5	50 - <100	Bardzo wysokie stężenie przeciwciał.
2	0.7 - <3.5	Niskie stężenie przeciwciał.	6	> 100	Ekstremalnie wysokie stężenie przeciwciał.
3	3.5 - <17.5	Wyraźne stężenie przeciwciał.			

Raport wyniku testu Polycheck „EMMA”

W uniwersalnym, immunochemicznym systemie chemiluminescencyjnym Immulite, Siemens, oznaczana jest sIgE dla kilkuset alergenów pojedynczych (w tym kilkudziesięciu molekularnych istotnych dla decyzji o swoistej immunoterapii) oraz dla niewielkich paneli alergenów (4-5) dobranych tematycznie: np. pyłków traw wczesnych i późnych, pleśni itd. Test jako pierwszy, tzw. test 3-ciej generacji - Immulite 2000 3gAllergy^(TM) Specific IgE ma walor testu potwierdzeniowego i weryfikującego (alergeny molekularne). Zakres raportowania wynosi 0,10 - 100 kU/l, stężenia niższe oznaczane są jako <0,10 kU/l, wyższe > 100 kU/l. Wynik ilościowy w kU/l przypisywany jest równocześnie do jednej z klas 0-6 skali RAST. W przypadku oznaczeń dla panelu wynik podawany jest dla każdego z alergenów panelu oddzielnie. Unikalna czułość analityczna testu pozwala na wykrywanie śladowych ilości sIgE spotykanych u niemowląt, umożliwiając prognozowanie „marszu alergicznego” - kolejnych etapów uczulenia: przykładowo od alergii pokarmowej na białka jaja kurzego do uczulenia na alergeny wziewne w wieku późniejszym. Pomiar stężeń sIgE w przedziale 0,1 - 0,35 kU/l, pomijanych przy historycznym, wynikającym z ograniczeń technicznych „horyzoncie zdażeń” 0,35 kU/l, okazuje się istotny w przypadku uczulenia na roztocza domowe, jad owadów i u chorych na mastocytozę.

Algorytm stosowania badań alergeno-specyficznej IgE w obecnej w ofercie Diagnostyki



* Panel pediatryczny (dot blot) 20 alergenów (mieszany)
 orzech ziemny (f13), mleko (f2), białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), ziemniak (f35), marchew (f31), dorsz (f3), jabłko (f49), soja (f14), mąka pszen-
 na (f4); pyłki: brzozy brodawkowej (t3), tymotka łąkowa (g6), bylicy sp. (w6); D. pteronyssinus (t1), D. farinae (d2); naskórki: psa (e2/e5), kota (e1), konia (e3);
 Aspergillus fumigatus (m3), Cladosporium herbarum (m2).

**Panel drzew 8 (alergeny rozpuszczalne)
 olsza (t2), brzoza brodawkowata (t3), leszczyna (t4), dąb biały (t7), wierzba (t12)

Oznaczenia sIgE wykonywane są w bardzo niewielkich, mikrolitrowych objętościach surowicy: w przypadku alergenów pojedynczych w 50 µl, w przypadku paneli, w przeliczeniu na jeden alergen, w 10 µl surowicy, co dla panelu 20 alergenów daje jedynie 200 µl.

W dużych panelach (ponad 10) alergeny dobierane są na ogół na podstawie drogi uczulenia: wziewne, pokarmowe lub adresatów: panel pediatryczny, atopowy; w mniejszych stosowane jest specjalizacja np. jady owadów, pyłki drzew, alergeny mleka.

ALERGENY W PANELACH

Panel atopowy, 30 alergenów, badanie 723

mleko (f2), alfa-laktoalbumina (f76), beta-laktoglobulina (f77), kazeina (f78), białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), dorsz (f3), orzech ziemny (f13), kakao (f93), soja (f14), jabłko (f49), marchew (f31), pomidor (f25), mąka (mix), mięso kurczak (f83), cytrusy (mix), ryż (f9); pyłek traw (mix), pyłek żyta (g12); naskórki: psa (e2) i kota (e1); Cladosporium herbarum (m2), Alternaria tenuis - alternata (m6), Aspergillus fumigatus (m3), D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); pyłki: leszczyny (t4), brzozy (t3), bylicy pospolitej (w6), CCD.

Panel atopowy 20 alergenów, badanie 758

mleko krowie (f2), kazeina (f72), -laktoalbumina (f76), -laktoglobulina (f77), surowicza albumina wołowa (Bos d 6, Bos d 6.0101, dawniej BSA); białko i żółtko jaja kurzego (f1/ f75), ryż (f9), soja (f14), banan (f72); wieprzowina (f26); cielęcina (wołowina)(f27), mięso kurczaka (f83); mieszanka mąki zbóż zawierających gluten, mix: pszenicy (f4), żyta (f5), jęczmienia (f6), owsa (f7); drożdży (f45); mieszanka roztoczy kurzu domowego, mix: D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); mieszanka pleśni, mix : Cladosporium herbarum (m2), Alternaria alternata (m6); pyłek drzew późnych (brzozy t3, dębu t7); drzew wczesnych (olchy t2, leszczyny t4); 6 traw, mix: tymotki łąkowej (g6), kłosówki (g13), kupkówki pospolitej (g3), rajgrasu angielskiego (g5), wiechliny łąkowej (g8), kostrzewy łąkowej (g4); IgE całkowita.

Panel pediatryczny 20 alergenów (mieszany), badanie 704

orzech ziemny (f13), mleko (f2), białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), ziemniak (f35), marchew (f31), dorsz (f3), jabłko (f49), soja (f14), mąka pszenna (f4); pyłki: brzozy brodawkowej (t3), tymotka łąkowa (g6), bylicy sp. (w6); D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); naskórki: psa (e2/ e5), kota (e1), konia (e3); Aspergillus fumigatus (m3), Cladosporium herbarum (m2).

Panel pediatryczny (mieszany), 28 alergenów badanie 805

pyłki GX-trawy; pyłki: brzozy brodawkowatej (t3), bylicy (w6); D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); naskórki: psa (e2), kota (e1), konia (e3); Cladosporium herbarium (m2), Aspergillus fumigatus (m3), Alternaria alternata (m6), białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), mleko (f2), dorsz (f3), alfa-laktoalbumina (f76), beta-laktoglobulina (f77), kazeina (f78), albumina surowicy wotu (e204), mąka pszenna (f4), ryż (f9), soja (f14), orzech ziemny (f13), orzech laskowy (f17), marchew (f31), ziemniak (f35), jabłko (f49), CCD.

Panel pokarmowy 20 alergenów, badanie 705

orzech laskowy (f17), orzech ziemny (f13), orzech włoski (f16), migdał (f20), mleko (f02), białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), kazeina (f78), ziemniak (f35), seler (f85), marchew (f31), pomidor (f25), dorsz (f03), krewetka (f24), brzoskwinia (f95), jabłko (f49), soja (f14), mąka pszenna (f4), sezam (f10), mąka żytnia (f5).

Panel pokarmowy, 21 alergenów, badanie 806

białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), mleko (f2), drożdże piekarskie (f45), mąka pszenna (f4), mąka żytnia (f5), ryż (f9), soja (f14), orzech ziemny (f13), orzech laskowy (f17), migdał (f20), jabłko (f49), kiwi (f84), morela (f237), pomidor (f25), marchew (f31), ziemniak (f35), seler (f85), dorsz (f3), krab (f23), CCD.

Panel oddechowy 20 alergenów, badanie 706

pyłki: brzozy brodawkowej (t3), olszyny szarej (t2), leszczyny (t4), dębu (t7), tymotki (g6), żyta (g12), bylicy sp. (w6), babki lancetowatej (w9); D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); naskórki: psa (e2/e5), kota (e1), konia (e3), świnki morskiej (e6), chomika (e84), królika (e82); Aspergillus fumigatus (m3), Cladosporium herbarum (m2), Penicillium notatum (m1), Alternaria alternata (m6).

Panel oddechowy, 21 alergenów, badanie 807

pyłki: tomka wonna (g1), kubkówka pospolita (g3), tymotka łąkowa (g6), żyto (g12); olcha (t2), brzoza brodawkowa (t3), leszczyna (t4), dąb (t7); ambrozja bylicolistna (w1), bylica (w6), babka lancetowata (w9); D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); naskórki: psa (e2), kota (e1), konia (e3); Penicillium notatum (m1), Cladosporium herbarum (m2), Aspergillus fumigatus (m3), Alternaria alternata (m6), CCD.

Panel oddechowy III 10 alergenów, badanie 707

pyłki: brzozy (t3), mieszaniny 6 traw (tymotki łąkowej (g6), kłosówki (g13), kupkówki pospolitej (g3), rajgrasu angielskiego (g5), wiechliny łąkowej (g8) i kostrzewy łąkowej (g4)), żyta (g12); bylicy (w6); D. pteronyssinus (d1), D. farinae (d2); naskórki: psa (e2/e5), kota (e1); mieszanina alergenów piór ptasich (gęsi (e70), kury (e 85), kaczki (e86) i indyka (e89)); mieszanina zarodników pleśni (Cladosporium herbarium (m2), Alternaria alternata (m6).

Panel pokarmowy III 10 alergenów, badanie 708

mleko (f2), białko jajka kurzego (f1), żółtko jajka kurzego (f75), kazeina (f78), soja (f14); ryż (f9); kakao (f93), jabłko (f49); marchew (f31); mieszanina mąki zbóż zawierających gluten: pszenicy (f4), żyta (f5), jęczmienia (f6) i owsa (f7).

Panel pokarmowy IV 10 alergenów, badanie 709

orzech ziemny (f13), sezam (f10), wieprzowina (f26), mięso kurczaka (f83), wołowina (f27), dorsz (f3), mieszanina owoców cytrusowych: cytryny (f208), limonki (f306), pomarańczy (f33), mandarynki (f302); seler (f85), brzoskwinia (f95), pomidora (f25).

Panel pokarmowy: mąka i mięso (10 alergenów), badanie 765

Mąka: pszenna (f4), żytnia (f5), ryż (f9), owsiana (f7), gluten (f79); dorsz (f3), wieprzowina (f26), wołowina (f27), kurczak (f83), krewetka (f24), CCD.

Panel pokarmowy: nabiał i orzechy (10 alergenów), badanie 766

białko jaja kurzego (f1), żółtko jaja kurzego (f75), mleko (f2), kazeina (f78); orzechy: ziemny (f13), laskowy (f17), migdał (f20), włoski (f256), kakao (f73), glutaminian (f336), CCD.

Panel pokarmowy: owoce (10 alergenów), badanie 767

jabłko (f49), kiwi (f84), morela (f 237), truskawka (f44), banan (f92), brzoskwinia (f95), wiśnia (f97), oliwka (f122), arbuz (f329), mix cytrusów (grejpfrut, cytryna, pomarańcza, mandarynka (fs32), CCD.

Panel pokarmowy: warzywa (10 alergenów), badanie 768

soja (f14), pomidor (f25), marchewka (f31), ziemniak (f35), seler (f85), sezam (f10), pietruszka (f86), papryka (46), ogórek (f244), kukurydza (f292), CCD.

MOLEKULARNE ALERGENY

3950	IgE sp. epitop rBet v1, brzoza	3956	IgE sp. epitop rMal d1, jabłko
3951	IgE sp. epitop rBet v2, brzoza	3957	IgE sp. epitop rMal d4, jabłko
3952	IgE sp. epitop nDer f1, roztocze	773	Pyłki DPA-Dx, 8 alergenów (tymotka łąkowa, brzoza)
3953	IgE sp. epitop nDer f2, roztocze	781	Mieszany DPA-Dx, 14 alergenów (mleko, jajo kurze, orzeszki ziemne, brzoza)
3954	IgE sp. epitop nDer p1, roztocze	782	Białka mleka DPA-Dx, 6 alergenów
3955	IgE sp. epitop nDer p2, roztocze	854	Jady owadów DPA-Dx (osa, pszczoła)

Kontakt z Działem Obsługi Klienta DIAGNOSTYKI: