

Ewa Nowakowska-Świrta
Marta Wiszniewska
Jolanta Walusiak-Skorupa

ZASTOSOWANIE ALERGENÓW REKOMBINOWANYCH W DIAGNOSTYCE ZAWODOWEJ ALERGII NA LATEKS

APPLICATION OF RECOMBINANT LATEX ALLERGENS IN DIAGNOSTICS OF OCCUPATIONAL LATEX ALLERGY

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera / Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland
Klinika Chorób Zawodowych i Toksykologii / Department of Occupational Diseases and Toxicology

STRESZCZENIE

Od wielu lat alergia na lateks stanowi istotny problem wśród pracowników ochrony zdrowia. Rozpoznanie alergii zawodowej ze względu na implikacje orzecznicze (np. zrezygnowanie przez chorego z dotychczasowej pracy) wymaga zastosowania metod o wysokiej trafności diagnostycznej. Z tego powodu wraz z rozwojem metod inżynierii genetycznej coraz częściej podejmuje się próby wykorzystania w diagnostyce chorób alergicznych alergenów rekombinowanych. W niniejszej pracy omówiono przydatność badań laboratoryjnych wykorzystujących alergeny rekombinowane lateksu w diagnostyce alergii zawodowej. Alergię na lateks rozpoznaje się na podstawie obecności objawów klinicznych związanych z ekspozycją na alergeny lateksu, dodatnich wyników punktowych testów skórnych oraz obecności swoistych przeciwciał IgE dla lateksu w surowicy krwi. W niektórych przypadkach przeprowadza się także swoiste próby prowokacyjne. Z analizy dostępnego piśmiennictwa wynika, że stosując odpowiedni panel białek rekombinowanych lateksu w testach diagnostycznych, można z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć reaktywność krzyżową i/lub potwierdzić uczulenie bez konieczności przeprowadzania swoistych testów prowokacyjnych, które w przypadku alergenów lateksu związane są z wysokim ryzykiem wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego. *Med. Pr.* 2015;66(1):85–97

Słowa kluczowe: lateks gumy naturalnej, alergeny rekombinowane lateksu, alergia na lateks, metody diagnostyczne, alergia zawodowa, reaktywność krzyżowa

ABSTRACT

Over many years, allergy to natural rubber latex has been a major problem among health care workers (HCW). The diagnosis of occupational allergy requires methods of high diagnostic accuracy in view of certification implications (e.g., a sick worker quits a job). With the development of molecular methods, the frequency of application of recombinant allergens in the diagnostics of allergic diseases continues to increase. This paper reviews the applicability of laboratory tests which use recombinant allergens in the diagnostics of occupational allergy. The diagnosis of latex allergy is based on the presence of clinical symptoms linked with exposure to latex allergens, positive skin prick tests and detection of specific IgE antibodies to latex in serum. Moreover, in some cases specific challenge tests are conducted. The analysis of literature indicates that applying the panel of recombinant latex allergens in diagnostic tests, cross-reactivity can very likely be excluded and/or sensitization can be confirmed without the need for specific challenge tests, which in case of latex allergens carries a potential risk of generalized reactions. *Med Pr* 2015;66(1):85–97

Key words: natural rubber latex, recombinant latex allergens, allergy to latex, diagnostic methods, occupational allergy, cross-reactivity

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Ewa Nowakowska-Świrta, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Klinika Chorób Zawodowych i Toksykologii, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: enow@imp.lodz.pl
Nadesłano: 13 czerwca 2014, zatwierdzono: 20 stycznia 2015

WSTĘP

Częstość występowania nadwrażliwości na alergeny lateksu kauczuku naturalnego jest zależna od badanej populacji. Według jednych badaczy najrzadziej (< 1%) jest stwierdzana w populacji ogólnej [1], według innych występuje u 1–6,7% osób [2]. Szacuje się, że częstość występowania alergii na lateks u osób zawodowo eks-

ponowanych na alergeny lateksu (pracowników ochrony zdrowia, osób pracujących w przemyśle gumowym, pracowników budowlanych) wynosi 2–17% [3,4]. Od wielu lat największy problem stanowi alergia na lateks wśród pracowników ochrony zdrowia, ponieważ dotyczy wysoko wyspecjalizowanych profesjonalistów, którzy w jej wyniku zagrożeni są utratą możliwości kontynuowania pracy.

Alergię na lateks rozpoznaje się na podstawie obecności objawów klinicznych związanych z ekspozycją na alergeny lateksu, dodatnich wyników punktowych testów skórnych i/lub obecności swoistych przeciwciał IgE (alergen-specific IgE antibody – sIgE) dla lateksu w surowicy krwi, a w niektórych przypadkach przeprowadza się także swoiste próby prowokacyjne [4,5]. Podkreśla się, że ostateczne rozpoznanie alergii na alergeny lateksu nie może być postawione jedynie na podstawie obecności sIgE dla lateksu w surowicy, które mogą być również obecne u pacjentów bez objawów klinicznych. Jednocześnie wiadomo, że dla celów orzeczniczych rozpoznanie alergii zawodowej powinno być rozpoznaniem pewnym, zwykle potwierdzonym przez test swoistej prowokacji. W wielu przypadkach w diagnostyce uczulenia na lateks test ten nie może być jednak przeprowadzony ze względu na ryzyko wystąpienia u badanego reakcji uogólnionych.

Celem niniejszej pracy jest omówienie przydatności oznaczania antygenowo swoistych przeciwciał IgE w surowicy dla rekombinowanych białek lateksu w diagnostyce alergii zawodowej.

METODY PRZEGLĄDU

W niniejszej pracy dokonano przeglądu literatury poruszającej temat wykorzystania alergenów rekombinowanych lateksu w testach diagnostycznych ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki zawodowej alergii układu oddechowego na lateks. W tym celu autorki wykorzystwały następujące słowa kluczowe: recombinant latex allergens, diagnostic methods, occupational allergy, healthcare workers, skin prick test, specific antibody IgE, basophil activation test oraz ImmunoCAP Solid-phase Allergen Chip. Przeglądu piśmiennictwa dokonano z wykorzystaniem baz danych: Ebsco, PubMed, OvidSP i Elsevier.

WYNIKI PRZEGLĄDU

Alergeny rekombinowane

Alergeny rekombinowane są białkami otrzymywanymi przy użyciu technik biologii molekularnej z ekstraktu alergenowego. Obecnie produkcja białek rekombinowanych jest szeroko stosowana do celów naukowych, diagnostycznych i terapeutycznych. Odbywa się w systemach ekspresyjnych (komórkach pro- i eukariotycznych), do których wnętrza za pomocą specjalnych wektorów wprowadza się fragment genu kodującego pożądaną białko. Do najpopularniejszych systemów ekspresyjnych

należą: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Lactococcus lactis* i *Pichia pastoris* [6].

Efektywność produkowanych rekombinowanych białek zależy od wielu czynników. Oprócz wyboru właściwego systemu ekspresyjnego ważnym czynnikiem jest wybór odpowiedniego wektora ekspresyjnego (tzw. transgeny) i modyfikacja genu białka docelowego. Wybór wektora ekspresyjnego zależy od rodzaju białka, które chcemy produkować. Każdy wektor ekspresyjny oprócz replikonu (fragmentu umożliwiającego samodzielne namnażanie wektora w komórce bakteryjnej) powinien zawierać promotor, który umożliwia produkcję dużej ilości białka w komórce gospodarza, i marker selekcyjny umożliwiający selekcję komórek zawierających plazmid od bakterii, które nie uległy transformacji. Ponadto wektory powinny zawierać sekwencje, które regulują stabilność syntetyzowanych białek. Przy wyborze właściwego promotora należy uwzględnić jego rodzaj i siłę, a także możliwość kontroli ekspresji [6].

Obecnie nowoczesna diagnostyka alergologiczna coraz częściej opiera się na stosowaniu różnych komponentów alergenu, a nie jak wcześniej – ekstraktów zawierających komponenty alergogenne. Wraz z rozwojem metod inżynierii genetycznej w diagnostyce alergii zawodowej coraz częściej wykorzystywane są alergeny rekombinowane. Są to białka, dokładnie scharakteryzowane pod względem swoich właściwości fizykochemicznych, struktury i właściwości alergizujących [7]. Wprowadzenie alergenów rekombinowanych do testów diagnostycznych podnosi wartość diagnostyczną badania, zwiększa czułość testów i pozwala na precyzyjne określenie czynnika odpowiedzialnego za uczulenie [8]. Wykazano, że użycie alergenów rekombinowanych lateksu jest narzędziem pomocnym w diagnostyce alergii zawodowej na lateks gumy naturalnej [9,10].

Alergeny lateksu

Alergeny lateksu są białkami o ciężarze cząsteczkowym od 10 kDa do ok. 100 kDa [11,12]. Do ich oznaczania wykorzystuje się technikę immunoblottingu, podczas której dokonuje się rozdziału białek na żelu poliakrylamidowym i nitrocelulozie. Rozdzielone białka identyfikuje się za pomocą monoklonalnych przeciwciał. Obecnie istnieje 14 alergenów lateksu, oznaczonych odpowiednio od Hev b1 do Hev b14, scharakteryzowanych pod względem molekularnym i oficjalnie zaakceptowanych przez Międzynarodowy Komitet ds. Nomenklatury Alergenów (The WHO International Union of Immunological Societies Allergen Nomenclature Committee) (tab. 1) [11,12].

Tabela 1. Alergeny lateksu i ich charakterystyka*
Table 1. Latex allergens and their characteristics*

Alergen Allergen	Wielkość cząsteczki Molecular size [kDa]	Nazwa biochemiczna i funkcja Biochemical name and function	Znaczenie w diagnostyce Significance in the diagnostics	Reaktywność krzyżowa Cross-reactivity
Hev b1	14	czynnik wydłużania gumy, biosynteza poliizoprenu / rubber elongation factor, biosynthesis of polyisoprene [12]	główny alergen lateksu u pacjentów z SB / mainly associated in patients with SB	reaktywność krzyżowa z Hev b3 / / cross-reactivity with Hev b3
Hev b2	35	β -1,3-glukanaza, rozkładanie β -1,3-glikanów / β -1,3-glucanase, β -1,3-glucanase defense protein	podrzędny, istotny alergen u pracowników ochrony zdrowia / secondary but relevant allergen in HCW	reaktywność krzyżowa z owocami / / cross-reactivity with fruits
Hev b3	24	białko małych cząsteczek gumy, biosynteza poliizoprenu / small rubber particle protein, biosynthesis of polyisoprene	główny alergen lateksu u pacjentów z SB / mainly associated in patients with SB	reaktywność krzyżowa z Hev b1 / / cross-reactivity with Hev b1
Hev b4	53–55	cyjanogenna glukozydaza / cyanogenic glucosidase	alergen charakterystyczny dla HCW i pacjentów z SB / associated with HCW, SB	
Hev b5	16	kwaśne białko lateksu, białko strukturalne / acidic protein, structural protein	główny alergen u pracowników ochrony zdrowia / main allergen in HCW	reaktywność krzyżowa z owocami / / cross-reactivity with fruits
Hev b6	20	Hev 6.01 – prekursor heweiny / hevein precursor Hev b6.02 – hevein / heweina Hev b6.03 – C-końcowy fragment / C-terminal portion	główny alergen u pracowników ochrony zdrowia / main allergen in HCW	potwierdzona reaktywność krzyżowa z owocami / verified cross-reactivity with fruits
Hev b7	43	białko patatynopodobne, inhibitor biosyntezy gumy / patatin-like protein, esterase inhibitor of polyisoprene	podrzędny, istotny alergen u pracowników ochrony zdrowia / secondary but relevant allergen in HCW	potwierdzona reaktywność krzyżowa z owocami / verified cross-reactivity with fruits
Hev b8	14	profilina / profilin [12]	–	panalergen, reaktywność krzyżowa z roślinami zawierającymi profiliny / panallergen, cross-reactivity with plants containing profilins
Hev b9	48	enolaza / enolase	–	reaktywność krzyżowa z grzybami <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> / cross-reactivity with fungi <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i>
Hev b10	23	manganowa dysmutaza ponadtlenkowa / superoxide dismutase (Mn)	nie opisano / not described [11]	
Hev b11	30	chitynaza I klasy / class I chitinase	nie opisano działania uczulającego / no allergenicity described [11]	panalergen, reaktywność krzyżowa z owocami / panallergen, cross-reactivity with fruits
Hev b12	9	nieswoiste białko przenoszące lipidy / non-specific lipid transfer protein	–	panalergen, reaktywność krzyżowa z roślinami / panallergen, cross-reactivity with plants
Hev b13	42	esteraza / esterase	podrzędny, ale istotny alergen u pracowników ochrony zdrowia / secondary but relevant allergen in HCW [12]	
Hev b14	30	hewamina / hevamine	nie opisano działania uczulającego / no allergenicity described [11]	

* Na podstawie / Based on: Sell, Visentainer: Natural rubber latex allergy [11], Cabanes i wsp. / et al.: Latex allergy: Position paper [12].
 HCW – pracownicy ochrony zdrowia / healthcare workers, SB – rozzczep kręgosłupa / spina bifida.

Reakcje krzyżowe

Alergiczne reakcje krzyżowe mają miejsce wtedy, gdy podobne do siebie epitopy różnych alergenów są rozpoznawane przez te same sIgE. W reakcji krzyżowej przeciwciała IgE łączy się z antygenem innym niż ten, który wytworzył odpowiedź immunologiczną, a zasadnicze znaczenie w jej powstawaniu ma budowa alergenów [13].

Liczne badania wykazały możliwość występowania reakcji krzyżowych alergenów lateksu [14,15]. Reaktywność krzyżowa lateksu zazwyczaj dotyczy białek wykazujących wiele podobieństw w swojej strukturze i zawierających elementy strukturalne o wysokim stopniu homologii, takie jak profiliny czy krzyżowo reagujące determinanty węglowodanowe (cross-reactive carbohydrate determinants – CCDs) [14].

Najwcześniej zbadanym i opisanym zjawiskiem było współwystępowanie alergii na lateks z alergią pokarmową na owoce tropikalne, takie jak banany, awokado, kiwi czy papaja [16]. Szacuje się, że zespół lateksowo-owocowy dotyczy 30–50% osób z nadwrażliwością na alergeny lateksu [2]. Do pokarmów reagujących krzyżowo z lateksem należą również seler, pomidor, ziemniak, orzechy, marchew, gruszka, migdały, winogrono i gryka [2,16,17]. Prawdopodobnie u patogenezę tego zjawiska leży m.in. duża homologia w strukturze epitopów między β -1,3-glukonazą występującą w owocach a analogicznym białkiem występującym w alergenie lateksu Hev b2, chitynazy (Hev b11) i profiliny (Hev b8) [18].

Zidentyfikowanie zespołu lateksowo-owocowego stało się podstawą do dalszych badań dotyczących występowania reakcji krzyżowych lateksu nie tylko z alergenami pokarmowymi [16], ale również z pyłkami roślin [19], jadami owadów błonkoskrzydłych [20] i pleśniami [21].

Opisano także zespół lateks–pleśnie, w którym główną rolę odgrywają enolazy i dysmutazy podtlenkowe – enzymy zaangażowane w procesy glikolizy i glukoneogenezy. Wykazano istnienie reakcji krzyżowej między enolazą lateksu (Hev b9) a enolazami grzybów gatunku *Alternaria alternata* i *Cladosporium herbarum* [21] oraz między dysmutazą podtlenkową zawierającą mangan (Hev b10) a homologicznymi proteinami z *Aspergillus fumigatus* [22].

Wielu badaczy potwierdziło obecność w surowicy krwi swoistych przeciwciał IgE dla różnych białek lateksu u pacjentów uczulonych m.in. na pyłki roślin [10,15,23] czy jady owadów błonkoskrzydłych [20], lecz niewykazujących objawów klinicznych po ekspozycji na alergeny lateksu. Wykazano istnienie różnorod-

nych struktur białkowych lateksu odpowiedzialnych za występowanie fałszywie dodatnich wyników testów diagnostycznych *in vitro* u osób bez symptomów alergii na lateks, m.in. profilinę lateksu Hev b8, białko Hev b2 i peroksydazę L-askorbinową [10,19]. W związku z tym ważnym etapem w procesie diagnostyki alergii zawodowej na lateks naturalny jest potwierdzenie reaktywności krzyżowej i eliminacja wyników fałszywie dodatnich, związanych m.in. z obecnością panalergenów (powszechnie występujących substancji białkowych odpowiedzialnych za reaktywność krzyżową), a zwłaszcza profiliny.

Profilina jest białkiem o ciężarze cząsteczkowym 12–15 kDa, zbudowanym z 124–153 aminokwasów. Jej nazwa wywodzi się od profilamentowych kompleksów białka i aktyny. Pełni funkcję stabilizującą aktynę poprzez połączenie z dwufosfonianem fosfatydyloinozytolu i bogatymi w prolinę polipeptydami. Występuje w cytoplazmie prawie wszystkich eukariotycznych komórek. Udowodniono jej obecność w wielu roślinach, co tłumaczy występowanie reakcji krzyżowych między alergenami pyłkowymi a niektórymi warzywami i owocami.

Do grupy profilin należy białko lateksu Hev b8. Uważa się, że profilina brzozy Bet v2 jest w 75% homologiczna z profiliną lateksu Hev b8 [24]. Obecność swoistych przeciwciał anty Hev b8 wykazali Galnglerger i wsp., badając pracowników ochrony zdrowia z udokumentowaną alergią na pyłki roślin lub zespołem lateksowo-owocowym [24].

Również inni badacze zaobserwowali obecność swoistych przeciwciał anty Hev b8 u osób z pyłkownicą [10,14]. Garnier i wsp. wykryli obecność sIgE dla rekombinowanego białka lateksu Hev b8 w grupie osób bez objawów klinicznych alergii na lateks, ale uczulonych na pyłki roślin. Co więcej, w grupie pacjentów uczulonych na lateks, a niewykazujących alergii na pyłki, obecność swoistych przeciwciał IgE dla Hev b8 została wykryta tylko u 1 osoby [10]. Wyniki te sugerują kluczową rolę profiliny Hev b8 w reakcjach krzyżowych lateksu. Potwierdzeniem jest to, że u części osób z alergią na lateks, u których wykryto przeciwciała IgE dla rekombinowanego białka lateksu Hev b8, stwierdzono także współistniejącą alergię na pyłki brzozy i obecność swoistych przeciwciał w surowicy dla białka rekombinowanego brzozy Bet v2 [25]. Z tego powodu w przypadku wykazania obecności swoistych IgE dla Hev b8 i ujemnego wyniku punktowych testów skórnych z lateksem sugeruje się stosowanie testów diagnostycznych z rekombinowanym białkiem Hev b8 w celu wykluczenia reakcji krzyżowych [10,26–28].

Bains i wsp. [19] wykazali występowanie reakcji krzyżowych między alergenami lateksu a alergenami nawłoci. Wykonany test inhibicji z ekstraktem roślinnym nawłoci wykazał znaczące (79–98%) zmniejszenie specyficznego wiązania IgE do alergenu Hev b5 lateksu. Wielkość wiązania sIgE do alergenu Hev b5 była mniejsza niż 25%. Wyniki dowodzą, że u części pacjentów stwierdzana obecność sIgE dla lateksu może być skutkiem pierwotnego uczulenia na nawłoc lub odwrotnie.

Ponadto Raulf-Heimsoth i wsp. [9] stwierdzili, że oznaczając poziom sIgE dla rekombinowanych białek lateksu u osób, u których wykazano obecność sIgE dla lateksu i kasztana naturalnego, można zróżnicować reakcje krzyżowe od rzeczywistego uczulenia. Stosując panel białek rekombinowanych rHev b8, rHev b5 i rHev b6.01, badacze udowodnili, że reaktywność krzyżowa występowała u osób, u których były obecne przeciwciała sIgE dla białka rekombinowanego rHev b8, tj. u 47% badanych.

Brak istotności klinicznej dla profiliny lateksowej Hev b8 przedstawili w swoich badaniach Quercia i wsp. [27]. U osób badanych, u których wykazano obecność swoistych przeciwciał tylko dla 1 alergenu lateksu Hev b8, możliwe jest przeprowadzenie zabiegu chirurgicznego z użyciem rękawiczek lateksowych bez większych konsekwencji [27].

Należy dodać, że powodem reakcji krzyżowych mogą być również krzyżowo reagujące determinanty węglowodanowe (CCDs), glikoproteiny zawierające α 1,3-fukozę lub ksylozę, które w postaci łańcucha przyłączone są w ściśle określonych miejscach do różnych białek [9,14]. Determinanty węglowodanowe są bardzo rozpowszechnione, zostały zidentyfikowane w wielu alergenach roślin i bezkręgowców, takich jak pyłki roślin, owoce tropikalne, mięczaki, jady owadów błonkoskrzydłych czy lateks naturalny [14]. W wyniku kontaktu z alergenem CCDs organizm zaczyna syntezować specyficzne przeciwciała IgE anty-CCD IgE, co może doprowadzić do wystąpienia alergii krzyżowej lub fałszywie dodatnich wyników testów diagnostycznych [10,23]. Istotność kliniczna CCDs jest kwestionowana przez większość badaczy [29].

Istnieją badania, w których u osób uczulonych na pyłki roślin i/lub jady owadów błonkoskrzydłych wykazano obecność swoistych przeciwciał IgE sugerujących uczulenie na lateks w związku z obecnością sIgE dla determinant węglowodanowych [9,20,29]. Mahler i wsp. [20] wykazali obecność swoistych przeciwciał anty-CCD IgE u osób uczulonych na jad owadów błonkoskrzydłych i na białka lateksu. Ich badania wykaza-

ły, że pierwotną alergią była alergia na jady owadów błonkoskrzydłych, natomiast reakcje krzyżowe alergenów przyczyniły się do wykrycia w surowicy swoistych przeciwciał anty-IgE dla lateksu.

Kolejne badania wykazały, że za reakcje krzyżowe między alergenami lateksu a białkami immunogennymi obecnymi w jadach owadów błonkoskrzydłych odpowiedzialne są łańcuchy węglowodanowe zawarte w alergenie Hev b2 lateksu (β -1,3-glukaza) oraz glikoproteiny bogate w CCDs – fosfolipaza A2 (Api m1), hialuronidaza (Api m2) i kwaśna fosfataza (Api m3), obecne w jadach owadzych [20,29]. Wykazano także, że w surowicy osób z izolowanym, manifestującym się klinicznie uczuleniem na lateks nie stwierdza się na ogół przeciwciał anty-CCD IgE, ponieważ główne alergeny lateksu Hev b5 i Hev b6 odpowiedzialne za występowanie klinicznie istotnego uczulenia na lateks nie zawierają reszt węglowodanowych [14].

Wydaje się, że problem fałszywie dodatnich wyników testów w diagnostyce alergii na lateks naturalny może zostać rozwiązany przez zastosowanie nowych technologii eliminujących interferencję krzyżowo reagujących anty-CCD IgE [30]. Taką możliwość oferuje zastosowanie alergenów rekombinowanych, pozbawionych determinant węglowodanowych podczas ich produkcji [9,31]. Białka wytwarzane w procesie rekombinacji nie ulegają potranslacyjnej glikozylacji, dlatego zaleca się, żeby u pracowników ochrony zdrowia z podejrzeniem alergii na lateks stosować testy z alergenami rekombinowanymi Hev b5 i Hev b6 [10].

Również Ebo i wsp. udowodnili, że determinanty CCDs pochodzące z jadów owadów, bylicy i tymotki mogą być przyczyną występowania wyników fałszywie dodatnich z lateksem [14,23]. W swoich badaniach potwierdzili obecność swoistych przeciwciał anty-CCD IgE u 19 z 21 pacjentów z fałszywie dodatnimi wynikami badań serologicznych w kierunku alergii na lateks. Wiadomo, że alergeny jadów owadów błonkoskrzydłych i lateks mają jednakowe CCDs, a wynik pozytywny swoistych przeciwciał sIgE dla lateksu może być spowodowany reakcją krzyżową wywołaną przez te determinanty [9,32].

Szczególne rolę glikoprotein w reakcjach krzyżowych potwierdzili Fuchs i wsp. [15], którzy wykazali, że reszty węglowodanowe odgrywają istotną rolę w procesie wiązania przeciwciał IgE. U części osób uczulonych na lateks obserwowano również obecność sIgE dla alergenów kiwi, awokado, banana, orzecha włoskiego, ambrozji, bylicy, pyłków tymotki, brzozy Bet v1 oraz Bet v2. Przeprowadzony test inhibicji surowic z ekstraktami tymotki, pyłków traw i chwastów

wykazał zwiększone zahamowanie wiązania IgE do antygenów lateksu, co potwierdziło występowanie między nimi reakcji krzyżowych wynikających ze strukturalnego podobieństwa między epitopami oraz istotną rolę węglowodanów w reakcjach krzyżowych.

Powyższe dane obrazują skalę problemu dotyczącego precyzyjnej diagnostyki *in vitro* alergii zawodowej typu I związanej z obecnością CCDs. Jak już wspomniano, obecność przeciwciał anti-CCDs może przyczynić się do występowania fałszywie dodatnich wyników diagnostycznych testów komercyjnych – zwłaszcza u osób uczulonych na pyłki roślin lub jady owadów błonkoskrzydłych i lateks [9,14,20].

Badania laboratoryjne stosowane w diagnostyce alergii na lateks gumy naturalnej z wykorzystaniem alergenów rekombinowanych lateksu

Schemat postępowania w rozpoznawaniu zawodowej alergii układu oddechowego na lateks gumy naturalnej obejmuje wywiad, badanie przedmiotowe i badania laboratoryjne.

Do podstawowych testów wykonywanych w diagnostyce zawodowej alergii na lateks należą testy skórne i oznaczanie stężenia swoistych przeciwciał IgE w surowicy dla lateksu gumy naturalnej. W praktyce wykonuje się zazwyczaj oba wymienione badania, które w połączeniu z wywiadem pozwalają w przybliżeniu określić stopień ryzyka wystąpienia reakcji ogólnoustrojowej. Jeżeli na podstawie wyników tych badań nie można postawić diagnozy, dalsza diagnostyka (jeśli jest to możliwe) powinna obejmować rozszerzenie testów *in vitro* o testy aktywacji komórkowej, alergeny rekombinowane, alergenowy test mikrooznaczeń i swoiste testy prowokacyjne z lateksem.

Testy skórne

Punktowe testy skórne (skin prick tests – PST) znajdują szerokie zastosowanie w rozpoznawaniu alergii IgE-zależnej. Uważa się, że testy te są głównym badaniem potwierdzającym odpowiedź alergiczną. Wskazaniem do ich wykonania jest podejrzenie, że przyczyną choroby jest alergia typu natychmiastowego. Metoda opiera się na reakcji między alergenem a odpowiednimi swoistymi przeciwciałami IgE związanymi poprzez specyficzne receptory FcεR1 z błoną komórkową mastocytów skórnych. Efektem połączenia alergenu z przeciwciałem jest degranulacja mastocyta i uwolnienie mediatorów [33,34]. Punktowe testy skórne z lateksem charakteryzują się różną czułością i swoistością w zależności od rodzaju zastosowanego ekstraktu alergenowego [12,35].

W procesie diagnostycznym alergii na lateks PTS najczęściej wykonywane są z komercyjnie dostępnymi ekstraktami lateksu, które są mieszaniną wielu alergenów. Ich wadą jest brak standaryzacji alergenów wchodzących w skład mieszaniny [35,36]. Wykazano, że największą czułość wykazują ekstrakty alergenowe lateksu zawierające naturalne mleczko kauczukowe. Ich czułość Turjama [37] określiła na około 88–100%. Z kolei czułość PTS z wyciągami sporządzanymi z wyrobów lateksowych oceniana jest na 64–96% [37]. W innych badaniach czułość PTS z dostępnymi na rynku ekstraktami lateksu (prod. Lofarma SpA, Italy; prod. Stallergenes, Italy; prod. ALK-Abello, Spain) wynosiła 65–96%, natomiast swoistość oszacowano na 88–94% [38]. Z kolei Blanco i wsp. wśród 50 pracowników ochrony zdrowia z objawami sugerującymi uczulenie na lateks wykazali 98-procentową czułość i 100-procentową swoistość punktowych testów skórnych z użyciem naturalnego ekstraktu lateksu [39].

Obecnie dąży się do stosowania testów charakteryzujących się jak największą czułością i swoistością, co można osiągnąć, wzbogacając je alergenami rekombinowanymi lub stosując ich mieszaninę.

Yip i wsp. [40] w swoich badaniach określili czułość i swoistość PTS odpowiednio na 93% i 100%, stosując mieszaninę rekombinowanych alergenów lateksu Hev b5, Hev b6 oraz Hev b7. Udowodnili, że zastosowanie mieszaniny rekombinowanych białek lateksu może z powodzeniem zastąpić dotychczasowe ekstrakty alergenowe lateksu.

Z kolei Sussman i wsp. [41] wykorzystali rekombinowane alergeny lateksu (Hev b2, Hev b3, Hev b5, Hev b6, Hev b7 i Hev b8) w punktowych testach skórnych u pracowników ochrony zdrowia z rozpoznaną alergią na lateks. Czuość i swoistość PTS dla rekombinowanych białek lateksu Hev b5, Hev b6 i Hev b7 wynosiła odpowiednio 93% i 100%. Dane te wskazują, że zastosowanie wybranego panelu białek rekombinowanych lateksu znacznie poprawia czułość diagnostyczną w testach *in vitro*.

Do podobnych wniosków doszedł Bernstein i wsp. [42], którzy stosując panel rekombinowanych białek Hev b2,5,6.01 i 13 w testach skórnych, uzyskali wyniki dodatnie u ponad 60% pracowników ochrony zdrowia. Badacze potwierdzili, że ww. białka lateksu są głównymi alergenami wywołującymi odpowiedź alergiczną u pracowników ochrony zdrowia, a ich stosowanie w testach *in vitro* pozwala na dokładne ustalenie profilu alergenowego w grupie badanych osób i na eliminację wyników fałszywie dodatnich.

Stosowanie testów charakteryzujących się wysoką czułością i swoistością ma ogromne znaczenie w diagnostyce chorób alergicznych o etiologii zawodowej. Należy pamiętać, że dodatni test skórny z lateksem nie jest dowodem na istnienie klinicznej manifestacji uczulenia. Na pewne rozpoznanie alergii zawodowej na lateks pozwala dodatni wynik punktowego testu skórniego, obecność sIgE dla lateksu, pojawienie się objawów występujących w wyniku ekspozycji na ten swoisty alergen zawodowy oraz dodatni wynik testu swoistej prowokacji z lateksem.

U osób z dodatnimi wynikami testów skórnych, ale bez klinicznych objawów alergii, do diagnostyki alergologicznej należy stosować punktowe testy skórne zawierające mieszaninę białek Hev b1,3,5,6 w celu wykluczenia wyników fałszywie dodatnich, często związanych z reaktywnością krzyżową. U osób, u których wykazano obecność sIgE dla lateksu, a PTS z lateksem dały wynik ujemny, diagnostykę alergologiczną należy rozszerzyć, oznaczając sIgE dla białek Hev b1,3,5,6,7,8,9 i 10 [28].

Testy *in vitro* – oznaczanie alergenowo swoistych przeciwciał IgE w surowicy

Badania *in vitro* w diagnostyce alergii zawodowej na lateks najczęściej dotyczą oznaczania alergenowo swoistych przeciwciał IgE dla tego alergenu. Wskazaniem do badań *in vitro* u osób z podejrzeniem wziewnej alergii zawodowej na lateks jest brak możliwości wykonania punktowych testów skórnych ze względu na stan skóry pacjenta uniemożliwiający wykonanie testów skórnych, przyjmowanie przez niego leków mogących mieć wpływ na wynik PTS oraz ryzyko wystąpienia u pacjenta reakcji anafilaktycznej po kontakcie z alergenem [43].

Pomiaru stężenia alergenowo swoistych przeciwciał IgE w surowicy dokonuje się z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych testów, stosując metody radioimmunologiczne, chemiluminescencyjne i immunoenzymatyczne. Czuość (wynosząca 30–100%) i swoistość (60–80%) oznaczeń zależy od zastosowanej metody i rodzaju alergenów użytych w danej metodzie [44].

Uważa się, że testy *in vitro* charakteryzują się większą czułością i mniejszą swoistością niż punktowe testy skórne i mogą być przyczyną uzyskania błędnych wyników [28,45]. W celu wyeliminowania wyników fałszywych obecnie wzbogaca się je alergenami rekombinowanymi. Badania Lundberga i wsp. [46] potwierdziły, że dodanie rekombinowanego białka Hev b5 do podstawowego testu ImmunoCAP (prod. Pharmacia Diagnostics, Szwecja) pozwoliło na wykrycie swoistych przeciwciał u dodatkowych 7% pacjentów z podejrze-

niem uczulenia na lateks (u których uprzednio wykazano wynik ujemny) oraz stwierdzenie wyższego poziomu wykrytych swoistych przeciwciał sIgE dla lateksu u 16% badanych [46].

Inni badacze [9,47] porównywali czułość i swoistość testów, stosując test k82 ze standardowym ekstraktem lateksu (prod. Pharmacia Diagnostics, Szwecja) oraz test k82+ wzbogacony rekombinowanym alergenem Hev b5. Wyliczona czułość i swoistość testu wzbogaconego rekombinowanym białkiem lateksu Hev b5 (k82+) wynosiła odpowiednio: 93% i 94%, natomiast czułość i swoistość testu dla ekstraktu lateksu (k82): 86% i 100%. Dzięki wzbogaconemu testowi k82+ wykryto obecność swoistych przeciwciał u 6 z 29 osób z negatywnym wynikiem k82 dla lateksu. Omawiane wyżej badania [9,47] potwierdziły, że wzbogacanie testu k82 rekombinowanym alergenem lateksu Hev b5 znacznie zwiększa jego czułość, co ma szczególne znaczenie w procesie diagnostyki osób narażonych na alergen lateksu w miejscu pracy. Do podobnych wniosków doszli Hamilton i wsp., wykazując większą czułość dla testu wzbogaconego alergenem rekombinowanym Hev b5 [5].

W diagnostyce osób z podejrzeniem zawodowej alergii wziewnej na lateks gumy naturalnej wprowadzenie alergenów rekombinowanych do testów diagnostycznych ma istotne znaczenie, ponieważ swoiste przeciwciała IgE dla lateksu mogą również występować w surowicy osób zdrowych. Ich niskie stężenie w surowicy u osób dorosłych może świadczyć jedynie o nadwrażliwości immunologicznej na dany alergen lub reaktywności krzyżowej.

Wykryta obecność swoistych przeciwciał IgE dla lateksu u osób bez objawów klinicznych często prowadzi do błędnego postawienia diagnozy [48]. W takiej sytuacji nie jest możliwe rozpoznanie zawodowej choroby alergicznej bez dalszych badań z wykorzystaniem alergenów rekombinowanych lateksu. Dzięki zastosowaniu w testach diagnostycznych odpowiednio dobranego panelu białek rekombinowanych lateksu możliwe jest rozróżnienie właściwego uczulenia na dane białko od reakcji krzyżowej.

Z licznych badań wynika, że najistotniejszymi białkami odpowiedzialnymi za rozwój reakcji alergicznych u pracowników ochrony zdrowia narażonych na lateks są białka Hev b6.01,6.02,5 i Hev b13 [9,10,23,26,49–51]. Obecność w surowicy przeciwciał dla Hev b6.01 silnie koreluje z dodatnimi wynikami PTS, natomiast oznaczenie poziomu sIgE dla rekombinowanego białka Hev b5 ma szczególne znaczenie w przypadku rozbieżności

miedzy wynikami *in vivo* a danymi z wywiadu klinicznego. Istnieją doniesienia wskazujące, że przeciwciała IgE dla Hev b6.01 i Hev b5 nie są stwierdzane u osób niewykazujących objawów klinicznych alergii na lateks [9,10,49]. Dzięki stosowaniu w testach laboratoryjnych alergenów rekombinowanych lateksu możliwe jest wyselekcjonowanie alergenów istotnych klinicznie u osób eksponowanych zawodowo na ten alergen.

Raulf-Heimsoth i wsp. [9] w badaniach z wykorzystaniem alergenów rekombinowanych ustalili profile białkowe lateksu odpowiedzialne za występowanie uczulenia w poszczególnych grupach narażonych na ten alergen. U pracowników ochrony zdrowia wykazali istotne znaczenie sIgE w surowicy dla rekombinowanych białek lateksu Hev b2,5,6.01,13. W grupie osób z rozszczepem kręgosłupa obecność swoistych przeciwciał wykazano dla rekombinowanych białek lateksu Hev b1,3, natomiast w grupie osób poddawanych częstym zabiegom chirurgicznym częściej obserwowano obecność sIgE dla Hev b2,6.01 [9].

Również Kurup i wsp. [49] stosując alergeny rekombinowane lateksu w testach diagnostycznych, potwierdzili obecność sIgE dla rekombinowanych białek lateksu Hev b2,5,6 i 13 u ponad 80% badanych pracowników ochrony zdrowia, stosując w badaniach mieszaninę 11 białek alergenowych lateksu. Autorzy sugerują, że stosowanie mieszaniny alergenów Hev b2,3,5,6 i 13 umożliwia ustalenie profilu białkowego i wykrycie prawdziwej alergii na lateks gumy naturalnej (natural rubber latex – LGN) w tej grupie zawodowej [49].

Podobne wyniki uzyskali Mari i wsp., badając 22 osoby z dodatnimi wynikami przeciwciał sIgE dla ekstraktu lateksu i dodatnim wywiadem klinicznym [50]. Autorzy udowodnili, że w przypadku zastosowania komercyjnych testów zawierających alergeny rekombinowane większość surowic (77%) reagowała z Hev b5,6.01 i 6.02 [50].

Obecnie u osób z podejrzeniem zawodowej alergii na lateks istnieje możliwość stosowania testów laboratoryjnych zawierających w swoim składzie rekombinowane alergeny lateksu. Niestety ze względu na zbyt wysokie koszty oznaczeń nie zawsze są one stosowane w praktyce.

Testy komórkowe

Testy komórkowe są używane w przypadku rozbieżnych wyników testów skórnych i pomiarów swoistych IgE. Ważną cechą tych testów jest ich duża czułość i swoistość, wynosząca 92–100% [26,52], jednak nie są to metody powszechnie stosowane [53].

W większości testów komórkowych ocenia się stopień aktywacji bazofila pod wpływem stymulacji swoistym alergenem. Mimo wysokich kosztów i konieczności posiadania specjalistycznej aparatury istnieją duże szanse, że testy te w przyszłości zastąpią stosowane dzisiaj klasyczne metody diagnostyczne – szczególnie wtedy, gdy badania *in vivo* mogą wywołać u pacjenta reakcję zagrażającą życiu. Aktywacja bazofilów może być zmierzona stopniem zmian morfologicznych (ekspresja antygenów na powierzchni komórki) lub pomiarem stężeń substancji przez nie uwolnionych: sulfidoleukotrienów – leukotrienu C4 (leukotriene C4 – LTC4), leukotrienu D4 (leukotriene D4 – LTD4), leukotrienu E4 (leukotriene E4 – LTE4); histaminy, cytokin i interleukin – interleukiny 4 (interleukin 4 – IL-4) i interleukiny 13 (interleukin 13 – IL-13).

W wielu doniesieniach naukowych test aktywacji bazofilów (basophil activation test – BAT) opisuje się jako pomocny zwłaszcza w diagnostyce osób uczulonych na lateks, leki czy jad owadów błonkoskrzydłych [14,26,54,55]. Metoda testu komórkowego BAT polega na oznaczaniu ekspresji charakterystycznych, powierzchniowych markerów aktywacji bazofilów (CD63 i CD203c) przy pomocy cytometrii przepływowej po wcześniejszej stymulacji *in vitro* wyizolowanych bazofilów odpowiednim alergenem [56,57]. Ekspresja antygeny CD63 na powierzchni komórki bazofila silnie koreluje z jego degranulacją, a wysoki odsetek komórek CD63-pozytywnych sugeruje obecność reakcji alergicznej. W formie spoczynkowej bazofila wykazują bardzo słabą ekspresję antygeny CD203c, natomiast po stymulacji właściwym alergenem jego ekspresja gwałtownie wzrasta. Istnieją doniesienia sugerujące, że antygen CD203c jest bardziej czułym markerem aktywacji bazofilów niż antygen CD63 [53].

Sanz i wsp. udowodnili przydatność testu aktywacji bazofilów w diagnostyce *in vitro* alergii na lateks [58]. Czułość tej metody u osób uczulonych na alergeny lateksu wynosiła 93%, a swoistość – 100% przy badaniu ekspresji antygeny CD63. Inni autorzy [52] wykazali dodatnią korelację między ekspresją antygeny CD63 a obecnością sIgE dla alergenu lateksu oraz uwalnianiem sulfidoleukotrienów w teście komórkowym stymulowania alergenami (Cellular Antigen-Stimulation Test – CAST). Hemery i wsp. wykazali, że w badaniach z wykorzystaniem alergenów lateksu test oceniający ekspresję antygenów CD203c ma o 50% wyższą czułość niż test oceniający ekspresję CD63 [47].

W diagnostyce alergii na lateks Ebo i wsp. udowodnili, że test aktywacji bazofilów w cytometrii przepły-

wowej jest bardziej wiarygodnym testem niż testy skórne i nie wymaga obciążania pacjenta ryzykiem związanym z ekspozycją *in vivo* na ten alergen. Badacze wykazali ekspresję antygeny CD63 wyłącznie w przypadku istotnej klinicznie alergii na lateks (zdefiniowanej jako obecność w surowicy swoistych IgE dla lateksu oraz dodatniego wyniku PTS z lateksem i objawów alergii w kontakcie z LGN) [52].

Sanz i wsp. [26] wykorzystali do aktywacji bazofilów oprócz naturalnego ekstraktu lateksu rekombinowane alergen lateksu Hev b5 i Hev b6.01. Na podstawie wyników badań u pacjentów oceniono profil uczulenia na lateks, a zastosowanie rekombinowanych białek lateksu w teście BAT pozwoliło badaczom na rozpoznanie alergii na lateks u 22 z 23 osób. Czułość i swoistość tej metody wynosiły odpowiednio: 96% i 100%. Autorzy sugerują, żeby test aktywacji bazofilów i oznaczanie sIgE z wykorzystaniem alergenów rekombinowanych lateksu stanowiły w przyszłości testy „pierwszego rzutu” w diagnostyce osób uczulonych na ten alergen [26].

Niestety główną wadą testów komórkowych jest brak wystandaryzowanych odczynników używanych w metodach oraz konieczność wykonania oznaczeń w ciągu 24 godz. od momentu pobrania krwi. Chociaż metodę cechuje wysoka czułość i swoistość, z powodu wysokich kosztów i konieczności użycia specjalistycznej aparatury jest ona stosowana jedynie w wyspecjalizowanych ośrodkach badawczych.

Test BAT ma największą wartość diagnostyczną, kiedy jest wykonywany łącznie z testami skórnymi i oznaczeniami sIgE w surowicy. W przypadku ujemnych wyników testów skórnymi i swoistych IgE lub rozbieżności w tych wynikach test BAT pozwala na identyfikację alergenu odpowiedzialnego za reakcję immunologiczną u większości pacjentów oraz potwierdza lub wyklucza występowanie reaktywności krzyżowej [59]. Test znajduje zastosowanie u osób z podejrzeniem alergii zawodowej na lateks, u których wykonanie testów skórnymi czy przeprowadzenie testów prowokacyjnych wiąże się z wysokim ryzykiem wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego. Ponadto prowadzone są badania nad użytecznością tego testu w monitorowaniu przebiegu immunoterapii, w której wykorzystywane są alergen rekombinowane lateksu Hev b6.01 i Hev b6.02.

Alergenowy test mikrooznaczeń

Technika mikrooznaczeń jest stosunkowo nową metodą, stosowaną w diagnostyce alergologicznej i opartą na technologii biochip [60]. Biochip (mikromacierz) to stałe podłoże szklane lub plastikowe, na którym zosta-

ły umieszczone rekombinowane lub natywne alergenowe molekuly (component resolved diagnosis – CRD). Mają one zdolność swoistego reagowania z różnymi cząsteczkami znajdującymi się w badanym materiale.

Metoda związana jest z miniaturyzacją, dzięki której możliwe jest jednoczesne wykonywanie wielu oznaczeń w małej ilości badanego materiału i przy wykorzystaniu małej ilości odczynnika. Technika mikromacierzy charakteryzuje się wielokierunkowością (pozwala na jednoczesne badanie dużej liczby alergenów) i równoległością (możliwe jest jednoczesne badanie różnorodnych parametrów, np. swoistych IgE i IgG). Zaletą testu jest możliwość uzyskania z jednego badania wyników wskazujących na dokładny profil uczulenia i stosunkowo krótki czas wykonania analizy [60].

Do najbardziej popularnych obecnie na rynku testów alergologicznych wykorzystujących technologię biochip należy test ImmunoCAP ISAC (ImmunoCAP Solid-phase Allergen Chip, prod. Phadia, Szwecja). Diagnostyka CRD za pomocą testu mikromacierzy ISAC umożliwia analizę profilu uczulenia na poszczególne składniki alergenu oraz identyfikację reakcji krzyżowych między alergenami pochodzącymi z różnych źródeł biologicznych [61,62]. Niestety ze względu na wysokie koszty testy te nie są często stosowane. Wadą badania jest też niewystarczająca liczba alergenów rekombinowanych stosowanych w testach w stosunku do naturalnych źródeł ekstraktu alergenowego. Nie wszystkie alergenowe molekuly są umieszczane na płytce, co w niektórych przypadkach uniemożliwia postawienie właściwej diagnozy.

Test ISAC wykorzystali Ebo i wsp. [23] w diagnostyce alergii na lateks. Celem badania była ocena przydatności testu w diagnostyce alergii na lateks i wyjaśnienie istnienia reakcji krzyżowych u osób z obecnością sIgE dla lateksu w surowicy krwi bez objawów klinicznych. U 75% badanych testem ISAC wykazano obecność przeciwciał sIgE dla Hev b8 (profiliny), której nie potwierdzono metodą ImmunoCAP. Ponadto autorzy zaobserwowali większą przydatność testu ImmunoCAP w wykrywaniu uczulenia na CCD związanego z reaktywnością krzyżową. Ebo i wsp. sugerują konieczność rozszerzenia panelu rekombinowanych białek lateksu w teście mikromacierzy [23].

Obecnie panel tych rekombinowanych białek lateksu naniesiony na płytkę mikromacierzy nie obejmuje całego spektrum alergenów lateksu, przez co nie jest możliwe ustalenie prawidłowego rozpoznania z uwzględnieniem występowania reakcji krzyżowych, zwłaszcza w zespole lateksowo-owocowym. Sprawia to,

że kiedy trzeba różnicować reakcje krzyżowe towarzyszące alergii na lateks, test mikromacierzy wykazuje ograniczone możliwości wynikające z niepełnego panelu alergenów umieszczonych na płytce [23].

Mimo tych danych Schuler i wsp. sugerują wykonywanie testu mikromacierzy z alergenami rekombinowanymi lateksu zwłaszcza u pacjentów z obecnością przeciwciał sIgE dla lateksu i ujemnymi wynikami SPT oraz u osób, u których nie jest możliwe przeprowadzenie testów skórnych [28].

WNIOSKI

W ostatnich latach zwiększa się częstość stosowania alergenów rekombinowanych w diagnostyce alergologicznej. Nowe metody diagnostyczne dają możliwość dokładnego poznania mechanizmów powstawania odpowiedzi immunologicznej na poziomie molekularnym i pozwalają na dokładne ustalenie profilu alergenicznego badanej osoby.

Wykorzystanie alergenów rekombinowanych lateksu w testach diagnostycznych może być szczególnie przydatne wtedy, gdy wyniki oznaczeń alergenowo swoistych przeciwciał IgE w surowicy krwi nie korelują z objawami klinicznymi. Dzięki oznaczeniom sIgE dla alergenów rekombinowanych istnieje możliwość odróżnienia osób z uczuleniem poliwalentnym od tych, u których obecność swoistych przeciwciał IgE wywołana jest uczuleniem krzyżowym. Niektórzy badacze sugerują wręcz, żeby w badaniach przesiewowych podczas diagnostyki alergii na lateks stosować testy diagnostyczne z alergenami rekombinowanymi właśnie w celu wykluczenia lub potwierdzenia reakcji krzyżowych [28].

Stosując odpowiedni panel białek rekombinowanych lateksu, można z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć reaktywność krzyżową lub potwierdzić uczulenie bez konieczności przeprowadzania swoistych testów prowokacyjnych, które związane są z wysokim ryzykiem wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego [30,60]. Być może w przyszłości testy diagnostyczne z alergenami rekombinowanymi białek lateksu całkowicie wyliminują stosowanie testów prowokacyjnych z LGN.

PIŚMIENNICTWO

1. Reunala T., Alenius H., Turjanmaa K., Palosuo T.: Latex allergy and skin. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2004;4:397–401, <http://dx.doi.org/10.1097/00130832-200410000-00011>
2. Palosuo T., Antoniadou I., Gottrup F., Phillips P.: Latex medical gloves: Time for reappraisal. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2011;156:234–246, <http://dx.doi.org/10.1159/000323892>
3. Risenga S.M., Shivambu G.P., Rakgole M.P., Makwela M.L., Nthuli S., Malatji T.A.P. i wsp.: Latex allergy and its clinical features among healthcare workers at Mankweng Hospital, Limpopo Province, South Africa. *S. Afr. Med. J.* 2013;103(6):390–394, <http://dx.doi.org/10.7196/SAMJ.6011>
4. Vandenplas O.: Occupational Asthma: Etiologies and risk factors. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2011;3(3):157–167, <http://dx.doi.org/10.4168/aair.2011.3.3.157>
5. Hamilton R.G., Peterson E.L., Ownby D.R.: Clinical and laboratory-based methods in the diagnosis of natural rubber latex allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002;110, Supl. 1:S47–S56, <http://dx.doi.org/10.106/mai.2002.125334>
6. Nuc P., Nuc K.: Produkcja rekombinowanych białek w *Escherichia coli*. *Postępy Biochem.* 2006;52(4):448–456
7. Jutel M., Solarewicz-Madejek K., Smolińska S.: Recombinant allergens: The present and the future. *Hum. Vacc. Immunother.* 2012;8(10):1534–1543, <http://dx.doi.org/10.4161/hv.22064>
8. Schmid-Grendelmeier P.: Recombinant allergens. For routine use or still only science? *Hautarzt* 2010;61(11):946–953, <http://dx.doi.org/10.1007/s00105-010-1967-y>
9. Raulf-Heimsoth M., Rihs H.-P., Rozynek P., Cremer R., Gaspar A., Pires G. i wsp.: Quantitative analysis of immunoglobulin E reactivity profiles in patients allergic or sensitized to natural rubber latex (*Hevea brasiliensis*). *Clin. Exp. Allergy* 2007;37(11):1657–1667, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02833.x>
10. Garnier L., Selmán L., Rouzair P., Bouvier M., Roberts O., Bérard F. i wsp.: Molecular allergens in the diagnosis of latex allergy. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2012;44(2):73–79
11. Sell A.M., Visentainer J.E.: Natural rubber latex allergy. W: Pereira C. [red.]. *Allergic diseases – Highlights in the clinic, mechanisms and treatment*. InTech, Brazylia 2012, ss. 289–310, <http://dx.doi.org/10.5772/25712>
12. Cabanes N., Ilgea J.M., de La Hoz B.: Latex allergy: Position paper. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2012;22(5):313–330
13. Ferreira F., Hawranek T., Gruber P., Wopfner N., Mari A.: Allergic cross-reactivity: From gene to the clinic. *Allergy* 2004;59(3):243–267, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1398-9995.2003.00407.x>
14. Ebo D.G., Hagendorens M.M., Bridts C.H., De Clerck L.S., Stevens W.J.: Sensitization to cross-reactive carbohydra-

- te determinants and the ubiquitous protein profilin: Mimickers of allergy. *Clin. Exp. Allergy* 2004;34(1):137–144, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.01837.x>
15. Fuchs T., Spitzauer S., Vente C., Hevler J., Kapiotis S., Rumpold H. i wsp.: Natural latex, grass pollen, and weed pollen share IgE epitopes. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997;100(3):356–364, [http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749\(97\)70249-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70249-5)
16. Brehler R., Theissen U., Mohr C., Luger T.: „Latex-fruit syndrome”: Frequency of cross-reacting IgE antibodies. *Allergy* 1997;52(4):404–410, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.1997.tb01019.x>
17. Schmidt M.H.H., Raulf-Heimsoth M., Posch A.: Evaluation of patatin as a major cross-reactive allergen in latex-induced potato allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2002;89:613–618, [http://dx.doi.org/10.1016/1081-1206\(10\)62110-2](http://dx.doi.org/10.1016/1081-1206(10)62110-2)
18. Barre A., Culierrier R., Granier C., Selman L., Peumans W.J., van Damme E.J.M.: Mapping of IgE-binding epitopes on the major latex allergen Hev b2 and the cross-reacting 1,3 β -glucanase fruit allergens as a molecular basis for the latex-fruit syndrome. *Mol. Immunol.* 2009;46(8–9):1595–1604, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2008.12.007>
19. Bains S.N., Hamilton R.G., Abouhassan S., Lang D., Han Y., Hsieh F.H.: Identification of clinically relevant cross-sensitization between *Solidago virgaurea* (goldenrod) and *Hevea brasiliensis* (natural rubber latex). *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010;20(4):331–339
20. Mahler V., Gutgesell C., Valenta R., Fuchs T.: Natural rubber latex and Hymenoptera venoms share immunoglobulin E-epitopes accounting for cross-reactive carbohydrate determinants. *Clin. Exp. Allergy* 2006;36(11):1446–1456, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2006.02587.x>
21. Wagner S., Breiteneder H., Simon-Nobbe B., Susani M., Krebitz M., Niggemann B.: Hev b9, an enolase and a new cross-reactive allergen from *Hevea* latex and molds. Purification, characterization, cloning and expression. *Eur. J. Biochem.* 2000;267(24):7006–7014, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01801.x>
22. Wagner S., Sowka S., Mayer C., Cramer R., Focke M., Kurup V.P.: Identification of a *Hevea brasiliensis* latex manganese superoxide dismutase (Hev b10) as a cross-reactive allergen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001;125(2):120–127, <http://dx.doi.org/10.1159/000053805>
23. Ebo D.G., Hagendorens M.M., de Knop K.J., Verweij M.M., Bridts C.H., de Clerck L.S. i wsp.: Component-resolved diagnosis from latex allergy by microarray. *Clin. Exp. Allergy* 2010;40(2):348–358, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03370.x>
24. Ganglberger E., Radauer C., Wagner S., Riordain G.O., Beezhold D.H., Brehler R. i wsp.: Hev b8, the *Hevea brasiliensis* latex profilin, is a cross-reactive allergen of latex, plant foods and pollen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2001;125(3):216–227, <http://dx.doi.org/10.1159/000053819>
25. Ott H., Schröder C., Raulf-Heimsoth M., Mahler V., Ocklenburg C., Merk H.F.: Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: A novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010;20(2):129–138
26. Sanz M.L., Garcia-Aviles M.C., Tabar A.I., Anda M., Garcia B.E., Barber D. i wsp.: 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(2):148–156, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3038.2005.00359.x>
27. Quercia O., Stefanini G.F., Scardovi A., Asero R.: Patients monosensitized to Hev b8 (*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
28. Schuler S., Ferrari G., Schmid-Grendelmeier P., Harr T.: Microarray-based component-resolved diagnosis of latex allergy: Isolated IgE-mediated sensitization to latexprofilin Hev b8 may act as confounder. *Clin. Transl. Allergy* 2013;3(1):11, <http://dx.doi.org/10.1186/2045-7022-3-11>
29. 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, <http://dx.doi.org/10.1159/0000-7022-3-11>
30. Malandain H., Giroux F., Cano Y.: The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* 2007;39:216–220
31. Sander I., Rozynek P., Rihs H.-P., van Kampen V., Chew F.T., Lee W.S. i wsp.: Multiple wheat flour allergens and cross-reactive carbohydrate determinants bind IgE in baker’s asthma. *Allergy* 2011;66:1208–1215, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02636.x>
32. Quirce S., Salcedo G.: The role of cross-reactive carbohydrate determinants in the diagnosis of occupational allergy. *Clin. Exp. Allergy* 2010;40(7):962–964, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03537.x>
33. Bousquet J., Heinzerling L., Bachert C., Papadopoulos N.G., Bousquet P.J., Burney P.G. i wsp.: Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy* 2012;67(1):18–24, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x>

34. Heinzerling L., Mari A., Bergmann K.C., Bresciani M., Burbach G., Darsow U.: The skin prick test – European standards. *Clin. Transl. Allergy* 2013;3:3, <http://dx.doi.org/10.1186/2045-7022-3-3>
35. Van Kampen V., de Blay F., Folletti I., Kobierski P., Moscato G., Olivieri M. i wsp.: Evaluation of commercial skin prick test solutions for selected occupational allergens. *Allergy* 2013;68:651–658, <http://dx.doi.org/10.1111/all.12116>
36. Gabriel M.F., Tavares-Ratado P., Peixinho C.M., Romeira A.M., Taborda-Barata L., Postigo I. i wsp.: Evaluation and comparison of commercially available latex extracts for skin prick tests. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2013;23(7):478–486
37. Turjanmaa K., Palosuo T., Alenius H., Leynadier F., Autegarden J.-E., Andre C. i wsp.: Latex allergy diagnosis: *In vivo* and *in vitro* standardization of natural rubber latex extract. *Allergy* 1997;52(1):41–50, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.1997.tb02544.x>
38. 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(4):315–318, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3038.2007.00662.x>
39. Blanco C., Carrillo T., Ortega N., Alvarez M., Dominguez C., Castillo R.: Comparison of skin-prick test and specific serum IgE determination for the diagnosis of latex allergy. *Clin. Exp. Allergy* 1998;28:971–976, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2222.1998.00339.x>
40. Yip L., Hickey V., Wagner B., Liss G., Slater J., Breiteneder H. i wsp.: Skin prick test reactivity to recombinant latex allergens. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2000;121(4):292–299, <http://dx.doi.org/10.1159/000024342>
41. Sussman G.L., Beezhold D.H., Kurup V.P.: Allergens and natural rubber proteins. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002;110(2, Supl. 1):33–39, <http://dx.doi.org/10.1067/mai.2002.124969>
42. Bernstein D.I., Biagini R.E., Karnani R., Hamilton R., Murphy K., Bernstein C. i wsp.: *In vivo* sensitization to purified *Hevea brasiliensis* proteins in health care workers sensitized to natural rubber latex. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003;111(3):610–616, <http://dx.doi.org/10.1067/mai.2003.164>
43. Accetta Pedersen D.J., Klančnik M., Elms N., Wang M.L., Hoffmann R.G., Kurup V.P. i wsp.: Analysis of available diagnostic tests for latex sensitization in an at-risk population. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2012;108:94–97, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2011.11.009>
44. Vandenplas O., Binard-Van Cangh F., Brumagne A., Carroyer J.-M., Thimpont J., Sohy C. i wsp.: Occupational asthma in symptomatic workers exposed to natural rubber latex: Evaluation of diagnostic procedures. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001;107:542–547, <http://dx.doi.org/10.1067/mai.2001.113519>
45. Dolen W.K.: IgE antibody in the serum – Detection and diagnostic significance. *Allergy* 2003;58:717–723, <http://dx.doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00281.x>
46. Lundberg M., Chen Z., Rihs H.-P., Wrangsjö K.: Recombinant spiked allergen extract. *Allergy* 2001;56(8):794–795, <http://dx.doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.056008794>
47. Hemery M.-L., Arnoux B., Rongier M., Barbotte E., Bouquet 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(1):131–132, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2005.00649.x>
48. Unsel M., Mete N., Ardeniz O., Sin A., Gulbahar O., Kukuludaq A.: Diagnostic value of specific IgE analysis in latex allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2012;158(3):281–287, <http://dx.doi.org/10.1159/000332929>
49. Kurup V.P., Sussman G.L., Yeang H.Y., Elms N., Breiteneder H., Arif S.A.M. i wsp.: Specific IgE response to purified and recombinant allergens in latex allergy. *Clin. Mol. Allergy* 2005;3:11, <http://dx.doi.org/10.1186/1476-7961-3-11>
50. 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 assessment of diagnostic tools. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2007;143:135–143, <http://dx.doi.org/10.1159/000099080>
51. Ott H., Schroder C., Raulf-Heimsoth M., Mahler V., Ocklenburg C., Merk H.F. i wsp.: Microarrays of recombinant *Hevea brasiliensis* proteins: A novel tool for the component-resolved diagnosis of natural rubber latex allergy. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 2010;20(2):129–138
52. Ebo D.G., Sainte-Laudy J., Bridts C.H., Mertens C.H., Hagendorens M.M., Schuerwegh A.J.: Flow-assisted allergy diagnosis: Current applications and future perspectives. *Allergy* 2006;61(9):1028–1039, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.01039.x>
53. Boumiza R., Monneret G., Forissier M.F., Savoye J., Gutowski M.C., Powell W.S. i wsp.: Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clin. Exp. Allergy* 2003;33(2):259–265, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01594.x>
54. McGowan E.C., Saini S.: Update on the performance and application of basophil activation tests. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2013;13(1):101–109, <http://dx.doi.org/10.1007/s11882-012-0324-x>

55. Nettis E., Colanardi M.C., Dambra P.P., Capuzzimati L., Loria M.P., Ferrannini A. i wsp.: Flow cytometric basophil activation test: Detection of CD63 expression as a useful aid to diagnosis of latex allergy. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2006;97(5):715–716, [http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61109-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61109-X)
56. Valent P.: Basophil activation antigens: Molecular mechanisms and clinical implications. *Open Allergy J.* 2010;3:52–59
57. De Weck A.L., Sanz M.L., Gamboa P.M., Aberer W., Bienvenu J., Blanca M. i wsp.: Diagnostic tests based on human basophils: More potentials and perspectives than pitfalls. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008;146(3):177–189, <http://dx.doi.org/10.1159/000115885>
58. Sanz M.L., Gamboa P.M., García-Avilés C., Vila L., Diéguez I., Antépara I. i wsp.: Flow-cytometric cellular allergen stimulation test in latex allergy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003;130(1):33–39, <http://dx.doi.org/10.1159/000068367>
59. Khan F.M., Ueno-Yamanouchi A., Serushago B., Bowen T., Lyon A.W., Lu C. i wsp.: Basophil activation test compared to skin prick test and fluorescence enzyme immunoassay for aeroallergen-specific immunoglobulin-E. *Allergy Asthma Clin. Immunol.* 2012;8(1):1, <http://dx.doi.org/10.1186/1710-1492-8-1>
60. Sastre J.: Molecular diagnosis in allergy. *Clin. Exp. Allergy* 2010;40(10):1442–1460, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.2010.03585.x>
61. Mari A., Alessandri C., Bernardi M.L., Ferrara R., Scala E., Zennaro D.: Microarrayed allergen molecules for the diagnosis of allergic diseases. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2010;10(5):357–364, <http://dx.doi.org/10.1007/s11882-010-0132-0>
62. Shreffler W.G.: Microarrayed recombinant allergens for diagnostic testing. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011;127(4):843–849, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2011.02.011>